

СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ВЛАСЕНКО ЄВГЕНІЙ КОСТЯНТИНОВИЧ

УДК: 619:636.2:616-098

ДИСЕРТАЦІЯ

ПРОФІЛАКТИКА ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ РЕЧОВИН
ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ

21 – Ветеринарна медицина

211 – Ветеринарна медичина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Є.К. Власенко

Науковий керівник: **Шкромада Оксана Іванівна**
доктор ветеринарних наук, професор

Суми – 2026

АНОТАЦІЯ

Власенко Є. К. Профілактика порушення обміну речовин високопродуктивних корів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 Ветеринарна медицина – Сумський національний аграрний університет, МОН України, Суми, 2026.

У роботі досліджений вплив пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56 на корів глибокого сухостійного періоду та роздій після отелення за субклінічного кетозу та запропонована схема його використання. Встановлені основні причини виникнення метаболічних розладів у корів та зниження продуктивності. Також досліджені імуностимулюючі та метаболічні властивості *Bacillus Pumilus* L A 56, визначені ефективні дози його застосування у господарствах. Було доведено позитивний вплив на фекальну мікробіоту та молочну продуктивність у корів після отелення.

Проводилися дослідження культуральних властивостей штаму *Bacillus pumilus*, який характеризується певними ознаками: клітини паличкоподібні, прямі, $0,5-0,7 \times 2-3$ мкм, рухомі; також може утворювати ендоспори еліптичної форми, розташовані центрально; за забарвленням (за Грамом) – грампозитивні

Штам *Bacillus pumilus* невимогливий до факторів росту. Він добре росте на звичайних живильних середовищах (СПА, МПА, МПБ). На агаризованих середовищах мікроорганізм утворює дрібні, круглі, білі колонії, блискучі, з рівним краєм. Оптимальна температура зростання *Bacillus pumilus* 37°C, pH 7,0-7,2.

Культуру підтримували пересіванням на щільних середовищах, зберігали в ліофільно-висушеному стані. Фізіологічні ознаки штаму.

Штам *Bacillus pumilus* розщеплює глюкозу, мальтозу, манозу, сахарозу та арабінозу, не розщеплює – сорбіт, лактозу, рамнозу та маніт.

Також проводилися дослідження чистоти культури *Bacillus pumilus*. Дослідження проводилися методом дисків, просичених різними антибіотиками з культурою штаму *Bacillus pumilus*.

За результатами проведених досліджень було встановлено, що *Bacillus pumilus* L A 56 чутливий до певних антибіотиків, тому діаметр затримки росту складав: канаміцин – 24 мм, бацтрацин – 12 мм, рифампіцин – 18 мм, гентаміцин – 20 мм, лінкоміцин – 16 мм, окситетрациклін – 15 мм, ампіцилін – 17 мм, стрептоміцин – 20 мм, хлорамфенікол – 26 мм, пеніцилін – 12 мм, ванкомцин – 20 мм, оксацилін – 6 мм, полімиксин – 12 мм, фраміцетин – 16 мм, метіцилін – 6 мм та бензилпеніцилін – 12 мм.

У результаті визначення властивостей пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56 було встановлено, що найбільш чутливими до пробіотику *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ATCC 10231 до штаму *Bacillus pumilus* L A 56. Культура *Aspergillus niger* нечутлива та мала антагоністичну активність.

Отримані результати моніторингу захворюваності корів за три тижні до отелення та три тижні після показують, що найбільшій відсоток складала кетоз (21 %), субклінічний мастит (16 %), гіпокальціємія (13 %) та субклінічна гіпокальціємія (14 %). Виявлення та лікування саме цих захворювань є складним завданням для виробників молока.

Тому негативний енергетичний баланс призводить до ендокринних і метаболічних змін, ініційованих низьким рівнем інсуліну, високим споживанням глюкози, зниженням фактору росту інсуліну і високою активністю гормону росту, що викликає реакцію організму на накопичення високої концентрації неестерифікованих жирних кислот, які повинні окислюватися в печінці для підтримки енергії, що призводить до кетозу і в накінець до розвитку жирової дистрофії печінки через накопичення тригліцеридів.

Низькі концентрації кальцію в першу добу після пологів серед корів, де первістки складала 1,2 %. Цей показник збільшився у групі тварин другої

лактації на 3,3 %, а третьої лактації вірогідно – на 5,1 %, порівняно до первісток. Ймовірно пов'язане з гіпокальціємією захворювання на кульгавість також прогресує у корів третьої лактації на 6,2 %, порівняно до першої. Затримка посліду у дійних корів не пов'язана із періодом лактації і знаходиться у приблизно однакових межах у всіх групах.

Метрит же є інфекційним захворюванням і частота його прояву збільшується з кількістю лактацій: у другій – на 3,4 %, у третій – на 7,7 %, порівняно до первісток.

Дуже часто мастит виникає у корів у перші тижні після отелення і має тенденцію від субклінічного до клінічного перебігу. У корів другої лактації мастит виникав частіше на 4,9 %, та у третьої – на 5,8 %, порівняно до першої, що може вказувати на прихований субклінічний перебіг маститу, який проявився після наступних пологів.

Кетоз частіше виявляється при клінічному перебігу після отелення, тоді як субклінічний кетоз часто виникає в період сухостою, однак не має виражену клінічну картину для діагностування.

Пологи у корів відіграють роль стресового фактору, при якому приховані захворювання у субклінічній формі набувають характерних проявів в період рецидиву. Так кетоз у корів другої лактації проявлявся частіше на 13,7 %, у третьої – на 25,0 %, порівняно до корів-первісток.

Результати моніторингу захворюваності корів за три тижні до отелення та три тижні після пологів показують, що найбільшій відсоток складає кетоз (13,7–25,0 %), субклінічний мастит (4,9–5,8 %), гіпокальціємія (3,3–5,1 %), метрит (3,4–7,7 %), кульгавість (3,3 %) залежно від лактації.

При проведенні експерименту було встановлено, що у дослідних тварин групи пізнього сухостою у 27 голів рівень кетонових тіл був нижчий ніж на початку дослідження (1,0–0,2 ммоль/л), а також і після семи діб застосування пробіотику (0,9–0,2 ммоль/л). Достовірної різниці в показниках по групі на початок та кінець дослідження не було, однак середній показник по групі покращився на 17,80 %. Ефективність пробіотику у групі сухостій становить

100 %, випадків же підвищення кетонових тіл не було виявлено із перевірених 27 голів.

У групі роздою 54 голів корів через сім діб після отелення у крові рівень кетонових тіл коливався від 3,5 до 0,3 ммоль/л. На 14 добу після отелення показники коливались від 2,4 до 0 ммоль/л. Різниця між початковими значеннями та кінцевими склала 25,6 %. Крім того із 54 голів групи роздою мали ознаки клінічного кетозу 15 голів.

Так корова № 6852 на сьому добу після отелення мала вміст кетонових тіл на 80 % менше, порівняно із закінченням дослідження на 14 добу. Протягом всього експерименту рівень β -кетонів знизився у тварин № 0340 на 9,09 %, у № 6905 – на 33,33 %, у № 6266 – на 27,27 %, у № 3940 – на 35,71 %, № 6915 – на 69,56 %, № 2545 – на 46,15 %, № 3061 – на 64,28 %, №3891 – на 55,00 %, № 107 – на 100 %, № 6949 – на 62,50 %, № 2563 та № 7603 – на 66,66 %, № 7642 – на 57,89 %, порівняно з початком дослідження.

Додатково лікувались ще 15 корів, одужало – 14 голів, у однієї відбувся рецидив хвороби. Також треба відмітити, що була достовірна різниця між аналогічними показниками початку та закінчення експерименту у групах глибокого сухостою та роздою після отелення. Всім тваринам, в яких були підвищені показники кетонових тіл, було призначено специфічне лікування препаратами на основі гепатопротекторів та мінеральних речовин.

Встановлено, що у корів у групі глибокого сухостою на відповідному раціоні вміст кетонових тіл коливався в межах норми від 0,2 до 1,0 ммоль/л. Після застосування пробіотику середній показник кетонових тіл по групі покращився на 17,80 %. Ефективність застосування пробіотику у групі сухостій складала 100 %.

У групі роздою через сім діб після отелення у крові корів рівень кетонових тіл коливався від 0,3 до 3,5 ммоль/л, рівень захворюваності складав 27 %. Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був в межах 2,4 до 0 ммоль/л, що складало зменшення на 25,6 %, порівняно з початком дослідження. Тварини краще підлягають відновленню, коли у них зменшився

показник кетонових тіл, а також до мінімуму знижуються рецидиви. Всі тварини, в яких був підвищений рівень кетонів зберегли молочну продуктивність, а після завершення лікування швидше набирали загальну вагу. Загальний показник захворюваності становив 27 % із 100 %, ефективність лікування становила 73 %.

Встановлено, що концентрація бутирату була максимально низькою у корів на сьому добу до пологів (24,16 %) та через одну добу після (79,52 %), а також лактат значно збільшився через сьому (327,20 %), чотирнадцяту (245,60 %) та двадцяту добу після пологів (239,20 %) та в групі кетозу – 246,40 %). Рівень глюкози значно знизився (78,01 %), а β -кетони значно збільшилися на двадцяту (56,60 %) до пологів та на першу (111,32 %), сьому (13,19 %), чотирнадцяту (107,54 %) та двадцяту добу після отелення (88,79 %), а також у групі кетозу (303,77 %).

На початку дослідження у корів був підвищений вміст загального білка на 8,30–11,04 %, глобулінів – на 8,52–11,00 %, альбумінів – на 10,7–14,54 %. По завершенню експерименту вміст сечовини та азоту сечовини зменшився на 2,60–0,82 %. Рівень АСТ у сироватці крові корів на початку дослідження був вищий на 6,68–10,63 %. Через сім діб застосування пробіотику АЛТ збільшився на 10,04–29,96 %. Вміст Са, Р та вітаміну D знизився протягом лікування, однак відновився рівень Калію, вітамінів групи А та Е.

Встановлено, що у корів з ознаками кетозу відбувається зміна складу фекальної мікробіоти. Спостерігали зниження корисної мікрофлори *Lactobacillus sp.* у першій групі на 53,45 %, у другій – на 33,27 %, у третій – на 59,27 %, порівняно з результатами в контролі; *Bifidobacterium* у корів першої дослідної групи на 63,56 %, у другої – на 63,41 %, у третьої – на 50,23 %. Водночас відбулось збільшення вмісту умовно-патогенної мікрофлори, порівняно з мікробіотою здорових корів. Після використання пробіотику рівень умовно-патогенної мікрофлори у групах: 15 г – *Clostridium* знизився на 22,22 %, *Escherichia coli* – на 38,26 %, *Staphylococcus* – на 21,90 %, грибки *Candida* – на 8,53 %, *Enterobacteriaceae* – на 12,35 %; 25 г – *Clostridium* – на

46,98 %, *Escherichia coli* – на 63,76 %, *Staphylococcus* – на 17,85 %, грибки *Candida* – на 8,53 %, *Enterobacteriaceae* – на 5,05 %; 35 г – *Clostridium* – на 65,71 %, *Escherichia coli* – на 57,68 %, *Staphylococcus* – на 47,61 %, *Candida* – на 61,89 %, *Enterobacteriaceae* – на 28,93 %.

Коровам у групі роздою після отелення, хворим на кетоз, разом з концентрованими кормами задавали пробіотик *Bacillus pumilus* L A 56 (1×10^9 , КУО/г) в дозі 35 г на тварину протягом 30 діб. Визначали вміст β -кетонів у крові корів на початку дослідження на 14 та 28 добу застосування пробіотику.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що рівень β -кетонів у контролі був у межах норми (до 1,0 ммоль/л). У корови № 6905 вміст кетонових тіл був підвищений на сьому добу на 71,42 %, на 14 – на 66,67 %, порівняно з контролем. По завершенню дослідження на 28 добу рівень кетонів дорівнював 0. На початок експерименту у корови № 6852 рівень β -кетонів був підвищений на 185,71 %, на 14 добу – на 100 %, знижений на 28 добу – на 66,67 %.

Рівень кетонових тіл на сьому добу у корови № 6915 був підвищений на 157,14 %, на 14 добу – на 100 %, на 28 добу знизився – на 16,67 %, порівняно з контролем. У корови № 7642 на початку досліджень був підвищений вміст кетонів на 171,42 %, на 14 добу – на 33,33 %, на 28 добу – знизився до 0. На сьому добу експерименту вміст β -кетонів у корови № 6187 був збільшений на 200 %, на 14 добу – на 116,67 %, знизився на 28 добу на 16,67 %. У корови № 2563 рівень кетонів через тиждень після отелення вміст кетонів мав підвищений рівень на 114,28 %, на 14 добу – на 16,65 %, знизився до 0 по завершенню дослідження. На початку лікування у корови № 3891 рівень β -кетонів був на 85,71 % більше, на 14 добу менше – на 16,67 %. На момент завершення експерименту рівень β -кетонів наблизився до 0. Проведений експеримент продемонстрував ефективність *Bacillus pumilus* L A 56 при кетозі корів групи роздою після отелення.

З наведених даних можна зробити висновок, що у здорової тварини в контролі продуктивність на 14 добу експерименту збільшилась на 8,39 %, на

28 добу – на 12,37 %, порівняно з початком. Кислотність молока знаходилась у межах нормативних показників і не мала значних коливань протягом місяця. Вміст мікроорганізмів у молоці корів та соматичних клітин вказує на наявність запалення вимені. У контролі КМАФАнМ зменшився на 14 добу досліджень на 9 %, на 28 добу – на 16,27 %. На 14 добу експерименту КСК зменшилося на 18,19 % та на 28 добу – на 38,43 %, порівняно з початком експерименту. Отримані результати показують, що молоко у контролі придатне для споживання та відповідає гатунку «екстра». За результатами проведеного експерименту встановлено, що вміст мікроорганізмів та соматичних клітин мали пряму кореляцію з продуктивністю і на 28 добу молоко всіх дослідних корів було придатне до вживання та відповідало гатунку «екстра».

Під час дослідження встановлено, що у крові корів у групі роздою після отелення через сім діб після отелення рівень кетонових тіл коливався від 1,0 до 2,1 ммоль/л, Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був в межах 0,5 до 1,2 ммоль/л. По завершенню експерименту вміст β -кетонів у молоці корів наближувався до 0. При дослідженні продуктивності встановлено її відновлення до показників здорових тварин на 28 добу після отелення на рівні 28-29 кг/добу. При цьому вміст мікроорганізмів та соматичних клітин мав пряму кореляцію з продуктивністю, і на 28 добу молоко всіх дослідних корів було придатне до вживання та відповідало гатунку «екстра». На цьому добу досліджень співвідношення молочного жиру та білка в молоці хворих на кетоз корів мало дисбаланс. По завершенню експерименту на 28 добу співвідношення жир/білок наблизилося до референтного рівня 1:1 у всіх дослідних тварин.

Ключові слова: корови, кетонові тіла, пробіотик, метаболічні розлади, негативний енергетичний баланс, активність ферментів, вітаміно-мінеральний баланс, молочна продуктивність.

ABSTRACT

Vlasenko Ye. Prevention of metabolic disorders in high productive cows. – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor Philosophy in specialty 211 Veterinary Medicine – Sumy National Agrarian University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2026.

The paper presents the study of the probiotic strain *Bacillus pumilus* L A 56 effect on cows in the deep dry period and after calving with subclinical ketosis and proposes a scheme for its use. The main causes of metabolic disorders in cows and decreased productivity have been identified. The immunostimulating and metabolic properties of *Bacillus pumilus* L A 56 were also investigated, and effective doses for its use in farms were determined. A positive effect on fecal microbiota and milk production in cows after calving has been proven.

Studies were conducted on the cultural properties of the *Bacillus pumilus* strain, which is characterized by certain features: rod-shaped cells, straight, 0.5-0.7×2-3 µm, motile; it can also form elliptical endospores, located centrally; gram-positive.

The *Bacillus pumilus* strain is undemanding to growth factors. It grows well on common nutrient media (SPA, MPA, MPB). On agar media, the microorganism forms small, round, white colonies, shiny, with a smooth edge. The optimal growth temperature of *Bacillus pumilus* is 37°C, pH 7.0-7.2.

The culture was maintained by subculture on dense media and stored in a freeze-dried state. Physiological characteristics of the strain.

The *Bacillus pumilus* strain breaks down glucose, maltose, mannose, sucrose, and arabinose, but does not break down sorbitol, lactose, rhamnose, and mannitol.

Studies of the purity of the *Bacillus pumilus* culture were also conducted. The studies were conducted using the method of discs impregnated with various antibiotics with a culture of the *Bacillus pumilus* strain.

According to the results of the studies, it was found that *Bacillus pumilus* L A 56 is sensitive to certain antibiotics, so the diameter of growth inhibition was:

kanamycin - 24 mm, bacitracin - 12 mm, rifampicin - 18 mm. gentamicin - 20 mm, lincomycin - 16 mm, oxytetracycline - 15 mm, ampicillin - 17 mm, streptomycin - 20 mm, chloramphenicol - 26 mm, penicillin - 12 mm, vancomycin - 20 mm, oxacillin - 6 mm, polymyxin - 12 mm, framycetin - 16 mm, methicillin - 6 mm and benzylpenicillin - 12 mm.

As a result of determining the properties of the probiotic strain *Bacillus pumilus* L A 56, it was found that the most sensitive to the probiotic were *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ATCC 10231. The *Aspergillus niger* culture was insensitive and had low antagonistic activity.

The results of monitoring the incidence of cows three weeks before calving and three weeks after show that the highest percentages were ketosis (21 %), subclinical mastitis (16 %), hypocalcemia (13 %), and subclinical hypocalcemia (14 %). Identifying and treating these diseases is a challenging task for milk producers.

Therefore, negative energy balance leads to endocrine and metabolic changes initiated by low insulin levels, high glucose consumption, decreased insulin growth factor, and high growth hormone activity, which causes the body to respond by accumulating high concentrations of non-esterified fatty acids that must be oxidized in the liver to maintain energy, leading to ketosis and ultimately to the development of fatty liver disease due to triglyceride accumulation.

Low calcium concentrations were found on the first day after calving among cows where primiparous cows constituted 1.2 %. This indicator increased in the group of animals of the second lactation by 3.3 %, and of the third lactation probably by 5.1 %, compared to primiparous cows. Lameness, probably related to hypocalcemia, also progresses in cows in the third lactation by 6.2% compared to the first. Postpartum retention in dairy cows is not related to the lactation period and is within approximately the same limits in all groups.

Metritis is an infectious disease and its frequency increases with the number of lactations: in the second - by 3.4 %, in the third - by 7.7 %, compared to first-

borns.

Mastitis very often occurs in cows in the first weeks after calving and tends to range from subclinical to clinical. In cows of the second lactation, mastitis occurred 4.9% more often, and in cows of the third lactation - 5.8 %, compared to the first, which may indicate a hidden subclinical course of mastitis that manifested itself after subsequent calving.

Ketosis is more often detected in the clinical course after calving, while subclinical ketosis often occurs during the dry period, but does not have a pronounced clinical picture for diagnosis.

Calving plays the role of a stress factor, in which latent diseases in subclinical form acquire characteristic manifestations during the period of relapse. Thus, ketosis in cows of the second lactation was manifested more often by 13.7 %, in the third - by 25.0%, compared to primiparous cows.

The results of monitoring the incidence of cows three weeks before calving and three weeks after giving birth show that the highest percentage is ketosis (13.7-25.0 %), subclinical mastitis (4.9-5.8 %), hypocalcemia (3.3-5.1 %), metritis (3.4-7.7 %), and lameness (3.3 %), depending on lactation.

During the experiment, it was found that in the experimental animals of the late dry group of 27 animals, the level of ketone bodies was lower than at the beginning of the study (1.0–0.2 mmol/l), as well as after seven days of probiotic use (0.9–0.2 mmol/l). There was no significant difference in the group scores at the beginning and end of the study, but the average score for the group improved by 17.80%. The effectiveness of the probiotic in the dry matter group is 100%, and no cases of increased ketone bodies were detected from the 27 animals tested.

In the group of 54 cows, seven days after calving, the level of ketone bodies in the blood ranged from 3.5 to 0.3 mmol/l. On the 14th day after calving, the indicators ranged from 2.4 to 0 mmol/l. The difference between the initial and final values was 25.6 %. In addition, out of the 54 cows in the group of 54 cows, 15 cows showed signs of clinical ketosis.

Thus, cow No. 6852 on the seventh day after calving had an 80% lower ketone body content compared to the end of the study on the 14th day. Throughout the experiment, the level of β -ketones decreased in animals No. 0340 by 9.09%, in No. 6905 by 33.33 %, in No. 6266 by 27.27 %, in No. 3940 by 35.71 %, in No. 6915 by 69.56 %, in No. 2545 by 46.15 %, in No. 3061 by 64.28 %, in No. 3891 by 55.00 %, in No. 107 by 100 %, in No. 6949 by 62.50 %, in No. 2563 and No. 7603 by 66.66 %, in No. 7642 by 57.89 %, compared to the beginning of the study.

Additionally, 15 more cows were treated, 14 recovered, and one had a relapse of the disease. It should also be noted that there was a significant difference between similar indicators at the beginning and end of the experiment in the deep dry and post-calving groups. All animals with elevated ketone body levels were prescribed specific treatment with drugs based on hepatoprotectors and minerals.

It was found that in cows in the deep dry-age group on the corresponding diet, the content of ketone bodies ranged within the normal range from 0.2 to 1.0 mmol/l. After the use of the probiotic, the average indicator of ketone bodies in the group improved by 17.80 %. The effectiveness of the use of the probiotic in the dry-age group was 100 %.

In the group with a split seven days after calving, the blood ketone levels of cows ranged from 0.3 to 3.5 mmol/L, with a prevalence of 27 %. Two weeks after probiotic administration, ketone levels ranged from 2.4 to 0 mmol/L, a 25.6 % decrease from baseline. Animals recover better when their ketone levels are reduced, and relapses are minimized. All animals with elevated ketone levels maintained milk production and gained weight more quickly after treatment. The overall incidence rate was 27% out of 100%, with a treatment efficacy of 73 %.

It was found that the concentration of butyrate was the lowest in cows on the seventh day before calving (24.16 %) and one day after calving (79.52 %), and lactate significantly increased on the seventh (327.20 %), fourteenth (245.60%) and twentieth days after calving (239.20 %) and in the ketosis group - 246.40 %). Glucose levels significantly decreased (78.01 %), and β -ketones significantly increased on the twentieth (56.60 %) day before calving and on the first (111.32 %),

seventh (13.19 %), fourteenth (107.54 %) and twentieth days after calving (88.79 %), and in the ketosis group (303.77 %).

At the beginning of the study, the content of total protein in cows was increased by 8.30–11.04 %, globulins by 8.52–11.00 %, albumins by 10.7–14.54 %. At the end of the experiment, the content of urea and urea nitrogen decreased by 2.60–0.82 %. The level of AST in the blood serum of cows at the beginning of the study was higher by 6.68–10.63 %. After seven days of probiotic use, ALT increased by 10.04–29.96 %. The content of Ca, P and vitamin D decreased during treatment, but the level of Potassium, vitamins A and E recovered.

It was found that in cows with signs of ketosis, the composition of fecal microbiota changes. A decrease in beneficial microflora *Lactobacillus* sp. was observed in the first group by 53.45%, in the second - by 33.27 %, in the third - by 59.27 %, compared with the results in the control; *Bifidobacterium* in cows of the first experimental group by 63.56 %, in the second - by 63.41 %, in the third - by 50.23 %. At the same time, there was an increase in the content of opportunistic microflora, compared to the microbiota of healthy cows. After using the probiotic, the level of opportunistic microflora in the groups: 15 g - *Clostridium* decreased by 22.22 %, *Escherichia coli* - by 38.26 %, *Staphylococcus* - by 21.90 %, *Candida* fungi - by 8.53 %, *Enterobacteriaceae* - by 12.35 %; 25 g - *Clostridium* - by 46.98 %, *Escherichia coli* - by 63.76%, *Staphylococcus* - by 17.85%, *Candida* fungi - by 8.53%, *Enterobacteriaceae* - by 5.05 %; 35 g - *Clostridium* - by 65.71 %, *Escherichia coli* - by 57.68 %, *Staphylococcus* - by 47.61 %, *Candida* - by 61.89 %, *Enterobacteriaceae* - by 28.93 %.

Cows in the post-calving group suffering from ketosis were given the probiotic *Bacillus pumilus* L A 56 (1×10^9 , CFU/g) at a dose of 35 g per animal for 30 days, along with concentrated feed. The content of β -ketones in the blood of cows was determined at the beginning of the study, on the 14th and 28th day of probiotic administration.

According to the results of the study, it was found that the level of β -ketones in the control was within normal limits (up to 1.0 mmol/l). In cow No. 6905, the content

of ketone bodies was increased on the seventh day by 71.42 %, on the 14th day - by 66.67 %, compared to the control. At the end of the study, on the 28th day, the ketone level was 0. At the beginning of the experiment, in cow No. 6852, the level of β -ketones was increased by 185.71 %, on the 14th day - by 100 %, and decreased on the 28th day - by 66.67 %.

The level of ketone bodies on the seventh day in cow No. 6915 was increased by 157.14 %, on the 14th day – by 100 %, on the 28th day decreased – by 16.67 %, compared to the control. In cow No. 7642 at the beginning of the study, the ketone content was increased by 171.42 %, on the 14th day – by 33.33 %, on the 28th day – decreased to 0. On the seventh day of the experiment, the β -ketone content in cow No. 6187 was increased by 200 %, on the 14th day – by 116.67 %, and decreased by the 28th day by 16.67 %. In cow No. 2563, the ketone level was increased by 114.28 % a week after calving, by 16.65 % on day 14, and decreased to 0 at the end of the study. At the beginning of treatment, the β -ketone level in cow No. 3891 was 85.71 % higher, and by day 14 it was 16.67 % lower. At the end of the experiment, the β -ketone level approached 0. The experiment demonstrated the effectiveness of *Bacillus pumilus* L A 56 in ketosis of cows in the calving group.

From the above data, it can be concluded that in a healthy animal in the control, productivity increased by 8.39% on the 14th day of the experiment, and by 12.37 % on the 28th day, compared to the beginning. The acidity of milk was within the normative values and did not have significant fluctuations during the month. The content of microorganisms in the milk of cows and somatic cells indicates the presence of udder inflammation. In the control, KMAFAnM decreased by 9% on the 14th day of the study, and by 16.27 % on the 28th day. On the 14th day of the experiment, the SCC decreased by 18.19 % and on the 28th day – by 38.43 %, compared to the beginning of the experiment. The results obtained show that the milk in the control is suitable for consumption and corresponds to the “extra” grade. According to the results of the experiment, it was established that the content of microorganisms and somatic cells had a direct correlation with productivity and on the 28th day, the milk of all experimental cows was suitable for consumption and

corresponded to the «extra» grade.

During the study, it was found that in the blood of cows in the post-calving group, the level of ketone bodies ranged from 1.0 to 2.1 mmol/l seven days after calving. Two weeks after the use of the probiotic, the level of ketones was in the range of 0.5 to 1.2 mmol/l. At the end of the experiment, the content of β -ketones in the milk of cows approached 0. In the study of productivity, its recovery to the indicators of healthy animals on the 28th day after calving was established at the level of 28-29 kg/day. At the same time, the content of microorganisms and somatic cells had a direct correlation with productivity, and on the 28th day the milk of all experimental cows was suitable for consumption and corresponded to the «extra» grade. On the seventh day of the study, the ratio of milk fat and protein in the milk of cows with ketosis had an imbalance. Upon completion of the experiment on the 28th day, the fat/protein ratio approached the reference level of 1:1 in all experimental animals.

Keywords: cows, ketone bodies, probiotic, metabolic disorders, negative energy balance, enzyme activity, vitamin-mineral balance, milk production.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Scopus:

1. Shkromada, O., Vlasenko, Ye., Panasenko, O., Baydevliatov, Yu., & Fotin, A. (2023). Prevention of subclinical ketosis in cows during drying off and after calving. Scientific Horizons, 26(5), 9-20. <https://doi.org/10.48077/scihor5.2023.09> *(Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).*

Наукові праці, опубліковані у наукових фахових виданнях України:

2. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2023). Захворювання, викликані метаболічними зрушеннями, у корів сухостійного та післяпологового періоду. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина, (4(59), 70-75. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.4.11> *(Здобувач спільно зі співавторами провів дослідження, проаналізував та узагальнив результати).*

3. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2024). Визначення продуктивності корів при кетозі за використання пробіотика. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин, 25(1), 241-250. <https://doi.org/10.36359/scivp.2024-25-1.30> *(Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).*

4. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2025). Дослідження фекального мікробіому корів при кетозі. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина, (2(69), 125-129. <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2025.2.18>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Власенко, Є. К. Профілактика порушення метаболізму у дійних корів. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 14-18 листопада 2022 року: тези доповіді. С. 149.

6. Власенко, Є. К., Шкромада, О. І. Профілактика виникнення кетозу у високоудійних корів Матеріали Х наукової конференції «НАУКОВІ ПІДСУМКИ 2021» 20 грудня 2022 С. 73 м. Харків, Україна <https://entc.com.ua/uk/konferentsii/610-naukovi-pidsumky-roku> (Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).

7. Власенко Є., Грек В. Порухення метаболізму у дійних корів. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 13-17 листопада 2023 року: тези доповіді. С. 219. (Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).

8. Власенко, Є. К. Основні причини виникнення субклінічного маститу у корів. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 13-17 листопада 2024 року: тези доповіді. С. 266.

9. Власенко, Є. К. Метаболічні захворювання корів у перехідний перод. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 14-18 квітня 2025 року: тези доповіді. С. 211.

10. Шкромада, О.І., Власенко Є.К. Вплив негативного енергетичного балансу у корів транзитного періоду на метаболізм рубця. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Інноваційні підходи у ветеринарній медицині: контроль заразних та незаразних хвороб тварин», присвячена 80-річчю від дня народження професора, доктора ветеринарних наук, Андрія Володимировича Березовського, 27 – 28 листопада 2025 року, м. Суми: тези доповіді. С. 73. (Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).

Науково-практичні рекомендації

11. Шкромада О.І. Власенко Є.К. «Профілактика та лікування метаболічних розладів у корів глибокого сухостою та після отелення». Суми, 2025. 30 с. (затверджені Вченою радою СНАУ, протокол № 4, від 29.09.2025 року). (Здобувач проаналізував результати досліджень, підготував та оформив матеріали для методичних рекомендацій).

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	20
ВСТУП.....	21
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	27
1.1 Захворювання викликані метаболічними розладами у корів сухостійного та післяродового періоду.....	27
1.2 Вплив негативного енергетичного балансу на мікробіом рубця та продуктивність дійних корів	36
1.3 Сучасні способи лікування та профілактики метаболічних розладів у корів	45
1.4 Висновки з огляду літератури	52
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	54
2.1 Матеріали досліджень	54
2.2 Методи досліджень	55
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	62
3.1 Дослідження культуральних властивостей штаму <i>Bacillus pumilus</i> <i>L A 56</i>	62
3.2 Визначення антагоністичної активності <i>Bacillus pumilus L A 56</i> методом відтермінованого антагонізму	66
3.3 Визначення антагоністичної активності <i>Bacillus pumilus</i> стосовно еталонних штамів бактерій та грибів методом прямого інкубування ..	67
3.4. Моніторинг метаболічних захворювань у дійних корів перехідного періоду.....	68
3.5 Результати дослідження корів на кетоз	72
3.6. Дослідження метаболізму рубця у корів перехідного періоду.....	75
3.7 Результати дослідження біохімічних показників сироватки крові корів за використання пробіотику	78
3.8 Вплив <i>Bacillus pumilus L A 56</i> на фекальний мікробіом корів при кетозі	85

3.9. Визначення продуктивності корів при кетозі	89
за використання пробіотику	89
УЗАГАЛЬНЕННЯ, АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ	
РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	99
ВИСНОВКИ	108
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	111
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	112
ДОДАТКИ.....	137

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АЛТ - аланінамінотрансфераза
- АСТ – аспартатамінотрансфераза
- АТФ – аденозинтрифосфат
- ВНВА – β -гідроксибутират
- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
- ДС – добове споживання
- ДСТУ – Національний стандарт України
- ЄС – Європейський Союз
- КМАФАнМ – мезофільні аеробні і факультативно анаеробні мікроорганізми
- КСК – кількість соматичних клітин у молоці.
- КУО – колонієутворювальні одиниці
- ЛЖК – леткі жирні кислоти
- МК – молочний комплекс
- МПА – м'ясопептонний агар
- МПБ – м'ясопептонний бульйон
- НЕБ – негативний енергетичний баланс
- НЕЖК - неестерифіковані жирні кислоти
- ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
- ПП – приватне підприємство
- ПР – простежувальний рецидив
- ТОВ – товариство з обмеженою відповідальністю

ВСТУП

Актуальність теми.

Період у корів за три тижні перед отеленням (пізній сухостій) і три тижні після отелення, є стресовим періодом, через метаболічні розлади. У цей період можуть виникнути проблеми зі здоров'ям [173]. Своєчасна післяпологова та метаболічна адаптація до цього нового фізичного стану вимагає правильних стратегій управління для задоволення потреб корови для успішного переходу до цієї фази.

Технологія виробництва молока визначає рентабельність виробництва. Захворювання у корів спричинюють збільшення витрат на ветеринарне обслуговування. Корови після отелення часто мають такі захворюваннями як: кетоз, жировий гепатоз, рубцевий ацидоз, мастит, субклінічна гіпокальціємія, затримка плаценти, метрит.

Кетоз є поширеним метаболічним захворюванням, яке спричинює значні економічні втрати для молочних господарств. Не зважаючи на те, що селекційний відбір щодо стійкості до кетозу вивчався великою кількістю науковців [159], генетичні та біологічні причини кетозу погано досліджені.

Негативний енергетичний баланс є однією з причин кетозу у післяродовий період і може спричинювати метаболічні та імунологічні зміни у корів. Стійкість імунного захисту має велике значення для захисту тварини від інфекційних захворювань [29]. Однак на даний час відсутні дослідження стосовно того, яким чином негативний баланс впливає на резистентність організму.

Негативний енергетичний баланс призводить підвищеного утворення кетонів в результаті мобілізації великої кількості ліпідів в організмі. Порушення метаболізму призведе до зниження запліднювання та лактації. На практиці застосовують пропіленгліколь, який зменшує негативний енергетичний баланс для зниження синтезу кетонових тіл.

Однак велика доза препарату (понад 500 г/добу) має токсичну дію та побічні ефекти у корів. Таким чином, існує потреба в подальших дослідженнях метаболізму корів після отелення [168].

Всі дійні корови мають негативний енергетичний баланс, оскільки на початку роздоювання необхідність в енергії для вироблення молока більша, ніж надходить з кормами [33].

Негативний енергетичний баланс не завжди є причиною кетозу, а основна проблема полягає у тому, як корова подолає метаболічну адаптацію під час перехідного періоду від тільності до родів. Однак дослідники не пропонують методи допомоги корові в період адаптації та відновлення нормального обміну речовин.

Для ефективної та прибуткової роботи господарства необхідні конкретні результати, включаючи успішну адаптацію корів до метаболічних розладів під час перехідної фази з мінімальним рівнем захворювань або без них, без вибракування та високими репродуктивними показниками.

У дисертаційному дослідженні запропонований метод профілактики метаболічних розладів в організмі дійних корів за використання пробіотику в період глибокого сухостою та після отелення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є окремим фрагментом науково-дослідної роботи Сумського національного аграрного університету за темою «Вивчення патогенетичних механізмів розвитку запальної реакції, метаболічних та імунологічних процесів протидії біотичних та абіотичних факторів за акушерсько-гінекологічної та хірургічної патології в тварин» (державний реєстраційний номер 0121U107733).

Мета та завдання досліджень. Мета роботи – дослідження впливу пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56 на корів глибокого сухостійного періоду і роздію після отелення та розробка схеми його застосування за субклінічного кетозу.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання:**

- дослідити властивості пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56
- провести моніторинг метаболічного статусу корів під час сухостою та післяродового періоду;
- дослідити клінічний стан корів за субклінічного кетозу;
- дослідити метаболізм рубця у корів перехідного періоду;
- визначити біохімічні показники у корів за використання пробіотику;
- дослідити вплив пробіотику на фекальний мікробіом корів при кетозі;
- визначити продуктивність корів при кетозі за використання пробіотику;
- дослідити якість отриманого молока при кетозі за використання *Bacillus pumilus* L A 56;

Об'єкт дослідження – метаболізм корів, біохімічні показники крові, фекальний мікробіом, продуктивність та якість отриманої продукції за використання пробіотику.

Предмет дослідження – метаболічні, імуностимулюючі властивості *Bacillus pumilus* L A 56, профілактична ефективність використання пробіотику за субклінічного кетозу.

Методи дослідження. У роботі використані такі методи досліджень: клінічні (визначення клінічного стану тварин), біохімічні (біохімічні показники крові); метаболічні (вплив на органи і системи організму), мікробіологічні (визначення складу фекального мікробіому); фізіологічні (вплив на продуктивність тварин), статистичні, аналітичні (аналіз літературних джерел), узагальнення результатів досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в Україні у виробничих умовах був випробуваний для профілактики метаболічного розладу у корів глибокого сухостійного періоду та роздою після отелення пробіотичний штам *Bacillus pumilus* L A 56.

Встановлені основні причини виникнення метаболічних розладів у корів та зниження продуктивності. Досліджені імуностимулюючі та метаболічні властивості *Bacillus pumilus* L A 56, розроблена схема його застосування у господарствах.

Доведений позитивний вплив на фекальний мікробіом та молочну продуктивність у корів після отелення.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами проведених досліджень розроблено настанову по застосуванню пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56. Впроваджене у серійне виробництво в ПП «Кронос Агро» в якості пробіотичної добавки дійним коровам для профілактики субклінічного кетозу у період глибокого сухостою та роздою після отелення з лікувальною метою.

Результати дисертаційного дослідження були додані до курсу лекційних та практичних занять з дисциплін «Метаболічні розлади у тварин» та «Превентивна, етіотропна, патогенетична, симптоматична та замісна терапія в акушерстві, гінекології» та при підготовці здобувачів вищої освіти у галузі 21 «Ветеринарна медицина» зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» у Сумському національному аграрному університеті.

Були розроблені науково-практичні рекомендації «Профілактика та лікування метаболічних розладів у корів глибокого сухостою та після отелення», в процесі роботи над дисертаційним дослідженням. Рекомендації можна використовувати в якості додаткового практичного матеріалу для лікарів ветеринарної медицини у господарствах з вирощування великої рогатої худоби, та наукового літературного джерела для самостійної роботи здобувачів вищої освіти, лекційних та лабораторно-практичних занять зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».

Виробничі дослідження були проведені у господарствах у ТОВ «Агрофірма Лан» с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області; ТОВ «Комишуватський МК» с. Миколо-Комишувата, Красноградського району, Харківської області.

Особистий внесок здобувача. Здобувач особисто брав участь у виконанні виробничих досліджень з випробувань пробіотику для корів глибокого сухостою та роздій після отелення. Відбирав зразки для досліджень: фекальні маси, кров, молоко. Також здобувач особисто виконав підбір

літературних джерел та опрацював методики. Аспірантом було проведене узагальнення та статистичні підрахунки отриманих результатів. Разом з керівником були оформлені результати власних досліджень, висновки та пропозиції для виробництва.

Апробація результатів досліджень. Основні положення дисертації викладено на:

- Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів Сумського національного аграрного університету м. Суми, Україна, 14-18 листопада 2022 року;

- Міжнародній науковій конференції «Наукові підсумки 2021» м. Харків, Україна 20 грудня 2022;

- Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів Сумського національного аграрного університету м. Суми, Україна, 13-17 листопада 2023 року;

- Всеукраїнській науковій конференції викладачів, студентів та аспірантів Сумського національного аграрного університету м. Суми, Україна, 13-17 листопада 2024 року.

- Всеукраїнській науковій конференції викладачів, студентів та аспірантів Сумського національного аграрного університету м. Суми, Україна, 14-18 квітня 2025 року.

- Ветеринарний конгрес AVC 2025, м. Алмати, Казахстан, 17-18 вересня 2025 року.

- Міжнародна науково-практична конференція «Інноваційні підходи у ветеринарній медицині: контроль заразних та незаразних хвороб тварин», присвячена 80-річчю від дня народження професора, доктора ветеринарних наук, Андрія Володимировича Березовського м. Суми, Україна, 27 – 28 листопада 2025 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 1 – у науково-метричних базах (Scopus), 3 – у наукових фахових виданнях України, 6 – у матеріалах конференцій, 1 – науково-практичні

рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 111 сторінках основного тексту, ілюстрована 12 таблицями та 10 рисунками і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів власних досліджень, узагальнення, аналізу та обговорення отриманих результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків. Список використаних джерел літератури включає 176 найменувань.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Захворювання викликані метаболічними розладами у корів сухостійного та післяродового періоду

Транзитний період від трьох тижнів тільності до родів та до трьох тижнів після родів є критично важливим для здоров'я, продуктивності та прибутковості молочних корів. У цей час відбувається більшість розладів здоров'я. Порівняно з іншими етапами циклу лактації, відносно мало відомо про фундаментальні біологічні процеси під час перехідного періоду [147].

Лактуюча високопродуктивна корова споживає велику кількість глюкози, проте страждає від стану негативного енергетичного балансу протягом раннього післяродового періоду [141].

Регуляція та координація ліпідного обміну між жировою тканиною, печінкою, кишечником і молочною залозою є ключовими компонентами адаптації до лактації. Накопичення ліпідів у печінці може спричинити порушення метаболізму та зниження утворення молока [136].

Відсутні дані про ключові контрольні точки метаболізму довголанцюгових жирних кислот у печінці, розуміння впливу гормонів, цитокінів, які викликають стрес [161].

Останні дані [144] вказують на те, що надмірна кількість ліпідів або обмежене їх споживання перед родами можуть викликати скоординований набір метаболічних змін у синтезі довголанцюгових жирних кислот, включаючи пероксисомальне бета-окислення, можливо, опосередковано зумовлене рецепторами.

Надходження амінокислот і глікогенних сполук може бути нижче необхідної кількості, тоді як кетогенних, ліпогенних сполук і довголанцюгових жирних кислот може бути в надлишку. Оскільки дієтичні

жири не пригнічують мобілізацію ліпідів в організмі, у ранній післяродовий період додатковий жир може ще більше дисбалансувати метаболізм і призвести до зниження споживання сухої речовини [103, 160].

Для молочної худоби період, що включає перехід від пізньої вагітності до ранньої лактації, який називають перехідним є складною фазою. У цей період можуть виникнути проблеми зі здоров'ям [173]. Своєчасна післяродова та метаболічна адаптація до цього нового фізичного стану вимагає правильних стратегій годівлі та утримання для успішного проходження корови цієї фази [17].

Серед стратегій управління одним із найбільш досліджених методів профілактики стресу, пов'язаного з перехідним періодом, є кормові добавки. Дієтичні компоненти прямо чи опосередковано впливають на експресію певних генів, які, як вважають, беруть участь у реакціях, пов'язаних зі стресом, протягом перехідного періоду [9, 76].

Нутрігеноміка, міждисциплінарний підхід, який поєднує науку про годівлю, відкриває нові шляхи для вивчення геному та складні взаємодії з кормами. Ця революційна техніка підкреслює важливість взаємодії годівлі та спадковості у різних фізіологічних і метаболічних механізмах. У тваринництві нутрігеноміка спрямована на покращення умов утримання корів та підвищення їх продуктивності шляхом корекції раціонів [22, 154]. З цією метою зростаючий обсяг досліджень показує, що кормові добавки можна ефективно використовувати для боротьби з метаболічним стресом, який зазнають корови під час перехідного періоду [145].

Було доведено, що ці кормові добавки, включаючи поліненасичені жирні кислоти, вітаміни, дієтичні амінокислоти та фітохімічні речовини, модулюють енергетичний гомеостаз різними шляхами, що призводить до вирішення метаболічних проблем у корів перехідного періоду [61]. Ця революційна техніка підкреслює важливість взаємодії кормів та генів у різних фізіологічних і метаболічних механізмах.

Для ефективної та економічно обгрунтованої роботи господарства необхідні конкретні результати, включаючи успішну адаптацію корів до

метаболических проблем під час перехідного періоду з мінімальним рівнем захворювань або без них, без вибракування та високими репродуктивними показниками.

Метаболічні порушення є ключовою проблемою в перехідний період корів і часто виникають до початку інших патологій. Вони головним чином виникають через труднощі, з якими тварини стикаються в адаптації до змін і порушень, що відбуваються в організмі, а також через невідповідність між надходженням і потребами в поживних речовинах. Адаптація – це функціональний і цілеспрямований процес, що охоплює весь організм, і тому його не можна звести до окремих факторів.

Більшість патологій, що виникають в організмі корів у транзитному періоді, можна профілактувати різними способами. Щоб зрозуміти механізми адаптації, необхідно враховувати взаємозв'язок поліненасичених жирних кислот і поживних речовин у метаболічних процесах.

Корови легше адаптуються та уникають дисфункціональних процесів у перехідний період, коли відсутній розрив між потребами в поживних речовинах та енергії. Молочні ферми дуже різняться залежно від умов утримання тварин. Складність процесів годівлі та метаболізму, а також їх значні варіації в різних масштабах не дають можливості передбачити результат адаптації тварин у конкретній ситуації в господарстві. Будь-які методи, напружені на зменшення поширеності порушень обміну речовин та пов'язаних з ними виробничих захворювань повинні спиратися на постійний та комплексний моніторинг з відповідними показниками на рівні господарства.

Крім того, низький рівень порушень та захворювань слід розглядати як ще одну важливу мету поряд із високою продуктивністю. У довгостроковій перспективі низький рівень захворюваності можна досягти лише тоді, коли будуть враховані всі потреби тварин при формуванні раціону [139].

Молочні корови з високими генетичними ознаками утримуються у досить неоднорідних умовах годівлі та догляду. Тим не менш, вони здатні

адаптуватися та підтримувати гомеостаз в умовах змін та порушень, одночасно маючи високу продуктивність. Однак окремі тварини суттєво відрізняються своїми адаптаційними можливостями. Адаптація до змін та порушень у навколишньому середовищі вимагає регуляції на різних рівнях в межах організму та має спільну мету: вижити якомога довше [26, 151].

Таким чином, адаптація – це функціональний та цілеспрямований процес, який можна оцінити в довгостроковій перспективі шляхом вимірювання тривалості життя. У короткостроковій перспективі ознаки метаболічних та фертильних порушень, а також субклінічні та клінічні захворювання вказують на різний ступінь адаптивності. Коли виникають розлади, це є ілюстрацією того, що тварини мають труднощі у подоланні зовнішніх та внутрішніх умов, що ставить під загрозу їхню здатність виживати [14].

Оскільки сільськогосподарські тварини не можуть змінити умови утримання, їх здатність до адаптації залежить від того, наскільки навколишнє середовище впливає на них, та від рівня їхньої реакції, щоб підтримувати або відновлювати гомеостатичний стан. Будь-який стимул (зовнішній чи внутрішній), який порушує гомеостаз, можна розглядати як стресор [16]. Зміни в біологічних функціях відбуваються, коли тварина намагається реагувати на стресові фактори та пов'язані з ними ускладнення.

Протягом останніх десятиліть основна увага в молочній промисловості була зосереджена на максимізації надоїв молока, створюючи тим самим «магістраль поживних речовин», по якій поживні речовини з щоденного раціону та резервів організму потрапляють безпосередньо до вимені для синтезу молока [80].

Проте для ефективної роботи аграрні підприємства потребують не лише у високопродуктивних, але й у здорових тваринах, що довго не втрачають репродуктивну функцію. З цієї точки зору, хвороби обміну речовин також несуть додаткові витрати, на які фермери можуть реагувати по-різному [87]. Наприклад, хвороби обміну речовин можна розглядати як небажані побічні

ефекти виробничого процесу та враховувати як пов'язані з ними витрати. Як альтернатива, фермери можуть використовувати інвестиції та свою робочу силу для оптимізації умов утримання та проведення профілактичних заходів для зменшення виникнення цих хвороб та мінімізації витрат, пов'язаних з ними. Однак, в цьому випадку фермери мають більші економічні затрати на проведення профілактичних заходів.

Перехідна фаза, що визначається як період від трьох тижнів до та трьох тижнів після родів [127], є найбільш складним і критичним періодом щодо стану здоров'я корови протягом лактації. У цей період відбуваються основні фізіологічні, метаболічні та імунологічні зміни, оскільки виробничий цикл корови переходить від сухостою до початку інтенсивного синтезу та секреції молока [137].

Корови мають метаболічно адаптуватися до різкого збільшення потреб в енергії та поживних речовинах, необхідних для забезпечення утворення молока в наступній лактації. Різниця між потребою в поживних речовинах і їх надходженням у перші тижні перехідного періоду можуть збігатися зі суттєвими коливаннями вмісту поживних речовин у раціоні та добового споживання (ДС) сухої речовини, що вимагає комплексної адаптації та регуляції метаболізму. Порушення одного або кількох метаболічних процесів, пов'язані з регуляцією певного метаболіту в рідинах організму, відомі як метаболічні розлади [83] і є проявом нездатності корови компенсувати метаболічні розлади [23]. Клінічними захворюваннями, найбільш пов'язаними з недоліками у годівлі, є кетоз, молочна лихоманка, затримка плаценти, метрит, зміщення сичуга та кульгавість [106]. Асоціації різних метаболічних порушень та їх зв'язки з іншими захворюваннями, зокрема інфекційними та запальними процесами в період ранньої лактації, взаємопов'язані та стали центральним об'єктом інтересу до метаболічних захворювань великої рогатої худоби [62].

Не достатньо даних про обмеження здатності корів адаптуватися до змін та порушень умов утримання, а також про різницю між надходженням та

потребою в поживних речовинах. Виникають такі питання: як оцінити, що є вирішальним для адаптації в конкретних умовах ферми. Знаходження компромісів між різними типом годівлі та фізіологічними процесами вимагає подальшого глибокого дослідження щодо регулювання процесами, які беруть участь у метаболічних реакціях, та можливих наслідків.

Коровам необхідно адаптуватися до мінливих умов утримання, стикаючись з різним рівнем різниці між індивідуальними потребами та запасами, а також зі змінами навколишнього середовища або раптовими та непередбаченими порушеннями. Реакція на стрес може бути як неадаптивною, що призводить до підвищення захворюваності та смертності, так і адаптивною, що сприяє загальному покращенню клінічного стану та підкреслює амбівалентний характер стресу. Не тільки стресові фактори різноманітні; реакції тварин на один і той самий або різні стресори дуже різняться. Адаптивні реакції окремої тварини можуть бути специфічними для даного стресора або загальними та незалежними від типу стресора. Таким чином, адаптивний процес залежить не лише від рівня та типу стресора та від реакції організму, але й, перш за все, від взаємодії між ними [15].

Для опису результатів реакцій на зміни та порушення використовуються різні терміни. У цьому контексті «стійкість» можна розглядати як властивість бути міцним та здоровим за конституцією. Цей термін означає певний опір порушенням та подразненням, який запобігає змінам у системі. Таким чином, стійкість передбачає витривалість, але не обов'язково адаптацію, яка є особливим способом толерантності до патологій шляхом активного моніторингу порушень та компенсації їх впливу.

Термін «стійкість» з латину ререкладається як здатність повертатися до початкової форми, положення тощо після згинання, стиснення або розтягування. На відміну від «стійкості», зміни у складі системи, які відбулися через порушення, але були лише тимчасовими. В екології цей термін стосується «здатності екосистеми повертатися до свого початкового стану після порушення» [18]. Щодо сільськогосподарських систем, «стійкість»

зосереджується на тому, щоб дати системі змогу справлятися з неочікуваними змінами та порушеннями» [30]. У випадку корів цей термін може використовуватися для опису здатності тварини відновлювати стан у межах нормального фізіологічного діапазону та/або відновлюватися після розладів та хвороб.

Термін «адаптація» використовується в біології стосовно того, як живі істоти адаптуються до навколишнього середовища. Зіткнувшись зі змінами та порушеннями, реакції організмів призводять до змін у складі їхньої системи, які залишаються чинними та є більш-менш постійними.

Адаптивність — це здатність системи регулювати, відповідно до обставин, свій стан та свій зв'язок із навколишнім середовищем, в результаті чого, якщо стан достатньо близький до межі життєздатності [38].

Конкретна швидкість функціонування кожного органу, що описує конкретний діапазон, у якому він здатний функціонувати, визначається регуляторною системою відповідно до умов навколишнього середовища та внутрішніх умов. Процес стає неконтрольованим, коли — через те, що його особливі якості обмежують діапазон модуляції — він не в змозі виконувати те, що йому показує регуляторна підсистема в рамках певного режиму адаптації. Захворювання та розлади можна розуміти як негативні явища, коли частина організму не може належним чином виконувати одну зі своїх біологічних функцій [124].

Біологічні функції інтерпретуються як специфічні причинно-наслідкові наслідки частини, що сприяє складній мережі взаємних взаємодій, які, у свою чергу, підтримують організацію і, отже, саму частину. Загалом кажучи, добре адаптована система — це сукупність взаємодіючих та взаємозалежних сутностей, що утворюють інтегроване ціле, які разом здатні реагувати на зміни навколишнього середовища або зміни у взаємодіючих частинах.

Біологічна гнучкість перед обличчям вимог навколишнього середовища є фундаментальною передумовою в регуляторних фізіологічних системах [128]. Більше того, необхідна регуляція широкого спектру фізіологічних та

розвивальних умов. У минулому були створені різні концепції та терміни, які стосуються необхідних змін у регуляторних процесах.

У теоретичній біології існує стійка традиція, яка робить великий акцент на ідеї, що біологічні системи використовують те, що можна назвати «самодетермінацією» [100].

Це здатність конститутивної організації системи сприяти визначенню та підтримці власних умов існування через наслідки своєї діяльності. Після фундаментальної роботи Бернарда у першій половині 20-го століття самодетермінація спочатку досліджувалася як «гомеостаз» і математично виражалася кібернетикою через петлі зворотного зв'язку [12]. Гомеостатична регуляція відображає «стан, який може змінюватися, але є відносно постійним» [138]. Поширеним прикладом пояснення гомеостазу є здатність організму підтримувати концентрацію глюкози в крові в певному діапазоні, незважаючи на значні зміни в постачанні та потребі в глюкозі, а також у швидкості обміну речовин («стабільність завдяки сталості»).

Щоб підтримувати концентрацію глюкози в крові в межах фізіологічного діапазону, в організмі повинні відбуватися зміни, що регулюються, головним чином, нейроендокринною та ендокринною системами.

Необхідність підтримувати концентрацію глюкози в певному діапазоні є вирішальною також у контексті метаболічних порушень і буде обговорена більш детально нижче. Гомеостаз традиційно розглядається як частина короткострокових фізіологічних адаптацій. Сельє [129] шукав концепцію, що виходить за рамки гомеостазу, яка також описувала б довгострокові адаптації, які він назвав «гетеростазом» і визначив як «встановлення нового стаціонарного стану шляхом екзогенної стимуляції адаптивних механізмів через розвиток і підтримку сплячих захисних реакцій тканин».

Науковець Лет'є [81] припустив, що гомеостаз слід інтерпретувати як «гомеорезис», що означає стабільність динаміки, а не стабільність стану. Вирішальним кроком у теоретичному розвитку розуміння біологічного

самовизначення є трактування. Його основна ідея полягала в інтеграції двох притаманних біологічним системам вимірів в єдину цілісну картину: термодинамічну відкритість та організаційну замкнутість.

На думку Піаже, біологічні системи самовизначаються, оскільки вони організовані, а вони організовані, оскільки реалізують замкнутість. Організаційна замкнутість є основою багатьох наступних поглядів біологічного самовизначення [66].

Однією з найвідоміших теорій є концепція «аутопоезу». У контексті виробництва молочної продукції дослідник Беінхард [10] посилаються на «гомеорезис» щодо регуляторних механізмів розподілу поживних речовин та фізіологічних процесів на різних стадіях життєвого циклу, наприклад, ссавець, що годує, знаходиться в іншому гомеостатичному стані, ніж вагітна самка.

Подібна концепція («реостаз») включає зміни в регуляції стану під час циркадних ритмів. Науковці [27] використовували терміни «метаболічне навантаження» та «метаболічний стрес». Метаболічне навантаження визначалося як «навантаження, що накладається синтезом та секрецією молока», тоді як метаболічний стрес визначався як «та величина метаболічного навантаження, яку неможливо підтримувати, так що деякі енергетичні процеси, включаючи ті, що підтримують загальне здоров'я, повинні бути знижені».

Термін «алостаз» був введений Стерлінгом та Айєром [98] для позначення змін регуляторних систем («стабільність через зміни»). Алостаз можна розглядати як процес максимізації придатності в умовах змін навколишнього середовища, а також непередбачуваних викликів. Регуляторні механізми повинні змінюватися, щоб підтримувати або досягати стану, що відповідає часу доби чи року, та у відповідь на порушення.

Мак'юен [94] розвинув концепцію алостазу далі та ввів термін «алостатичне навантаження» для опису потенційного постійного перевантаження гомеостатичних процесів, наприклад, хворобами. Можна уявити, що алостатичне навантаження зростає через зростання енергетичних

витрат на підживлення регуляторних процесів. Відповідно, алоstaticчне навантаження – це сума енергії, необхідної для підтримки базового гомеостазу та адаптації до змінних умов навколишнього середовища. Тут енергія вважається сумою потреб індивіда (включаючи білок, незамінні жирні кислоти, вітаміни, мінерали тощо) у будь-якому заданому стані.

Мак'юен та Вінгфілд [95] розширили цю ідею далі. Вони розглядають алоstaticзу як процес коригування морфології, фізіології та поведінки для подолання алоstaticчного навантаження, тоді як алоstaticчний стан – це гормональний стан, необхідний для регулювання передбачуваних змін у життєвому циклі особини, а також непередбачуваних порушень. Енергетичні потреби особини можуть ще більше посилюватися травмами, хворобами або соціальним стресом, що може призвести до кумулятивного алоstaticчного навантаження, перш ніж будуть враховані всі інші енергетичні витрати, пов'язані з життєвим циклом. Зміни можуть відбуватися як варіації в межах норми. Передбачувані зміни з часом часто виникають у життєвому циклі особини. Однак, можливо, також доведеться враховувати непередбачувані події, включаючи багато потенційних стресових факторів, що вимагають негайного фізіологічного та поведінкового коригування. Порушення можуть відбуватися повільно або раптово, наприклад, зміни в раціоні, кліматичних умовах (тепловий стрес), тиску патогенів, конкуренції з іншими особинами, що може зменшити доступ до трофічних ресурсів, травм, хвороб та інших проблем. Наслідки можуть накопичуватися протягом годин, днів і тижнів, бути руйнівними або призводити до аномальної активності.

1.2 Вплив негативного енергетичного балансу на мікробіом рубця та продуктивність дійних корів

Перехідний період корови визначається як період від 3 тижнів до отелення до 3 тижнів після отелення, протягом якого корова переходить від вагітності до родів та лактації. Різкі зміни, що відбуваються протягом цього часу, створюють метаболічні труднощі для молочної корови, що згодом

призводить до розладів здоров'я, таких як кетоз. Перехідний період має критично важливе значення для здоров'я, продуктивності та прибутковості молочних корів. Порівняно з іншими стадіями лактаційного циклу, про фундаментальні біологічні процеси протягом перехідного періоду відомо відносно мало. Регуляція та координація ліпідного обміну між жировими тканинами, печінкою, кишечником та молочними залозами є ключовими компонентами адаптації до лактації.

Різкі зміни, що відбуваються протягом цього часу, створюють метаболічні труднощі для корови [153].

Задоволення потреб високопродуктивних корів у годівлі є складним завданням, особливо в період отелення. Споживання корму протягом тижня перед отеленням знижується на 30 % [55], тоді як споживання корму протягом перших 5 тижнів лактації недостатнє для задоволення зростаючих енергетичних потреб лактації. Протягом цього часу вихід енергії у вигляді молока перевищує надходження енергії у вигляді корму, що призводить до негативного енергетичного балансу (НЕБ) або кетозу [121]. Енергетичний метаболізм жуйних тварин відрізняється від метаболізму моногастричних тварин. Енергія надходить переважно шляхом мікробної ферментації в рубці [113]. Співвідношення оцтової кислоти, пропіонової кислоти та масляної кислоти, що утворюється в рубці, залежить від типу корму та виду та кількості бактерій рубця [118].

У нормальному стані вуглеводи ферментуються різноманітними бактеріями в рубці та перетворюються на леткі жирні кислоти (ЛЖК) відповідними ферментами. У жуйних тварин приблизно 90 % глюкози утворюється шляхом глюконеогенезу, причому від 50 до 60% цієї кількості походить з пропіонату [2].

Таким чином, пропіонат відіграє дуже важливу роль у синтезі глюкози шляхом глюконеогенезу; однак бракує опублікованих досліджень, що досліджують зміни в структурі мікрофлори рубця та ЛЖК протягом перехідного періоду або в результаті кетозу у корів. Метою дослідження було

дослідити зв'язок між складом бактерій та концентрацією ЛЖК у рубці протягом перехідного періоду або у випадку кетозу у молочних корів, щоб визначити стратегії, які можуть полегшити або уникнути НБ та кетозу шляхом регуляції мікробної ферментації в рубці.

Кетоз є поширеним метаболічним захворюванням, яке спричинює значні економічні втрати для господарств. Не зважаючи на те, що селекційний відбір щодо стійкості до кетозу вивчався великою кількістю науковців [159] генетичні та біологічні причини кетозу погано досліджені.

Негативний енергетичний баланс є однією з причин кетозу у післяродовий період і може спричинювати метаболічні та імунологічні зміни у корів. Стійкість імунного захисту має велике значення для захисту тварини від інфекційних захворювань [29]. Однак на даний час відсутні дослідження стосовно того, яким чином негативний баланс впливає на резистентність організму.

Технологія виробництва молока визначає рентабельність виробництва. Захворювання у корів спричинюють збільшення витрат на ветеринарне обслуговування. Корови після отелення часто мають такі захворювання як: кетоз, жировий гепатоз, рубцевий ацидоз, мастит, субклінічна гіпокальціємія, затримка плаценти, метрит.

Негативний енергетичний баланс призводить підвищеного утворення кетонів в результаті мобілізації великої кількості ліпідів в організмі. Порушення метаболізму призводять до зниження запліднювання та лактації. Дослідники Zhang та ін. [169], доводять, що пропіленгліколь зменшує негативний енергетичний баланс через глюконеогенез і інгібувати синтез кетонових тіл. Однак велика доза препарату (понад 500 г/добу) має токсичну дію та побічні ефекти у корів. Таким чином, існує потреба в подальших дослідженнях метаболізму корів після отелення.

Всі дійні корови мають негативний енергетичний баланс, оскільки на початку роздоювання необхідність в енергії для вироблення молока більша, ніж потрапляє з кормами [33]. Негативний енергетичний баланс (НЕБ) не

завжди є причиною кетозу, а основна проблема полягає у тому, як корова подолає метаболічну адаптацію під час перехідного періоду від тільності до родів. Однак дослідники не пропонують методик допомоги корові в період адаптації та відновити нормальний обмін речовин.

Науковці [109] розглядали можливі фактори ризику для корів у передродовий період. Було встановлено, що важливо контролювати адаптаційні зміни у корів під час сухостою та після отелення. Однак в дослідженнях не враховано схильність певних порід великої рогатої худоби до метаболічних захворювань.

Також одним із поширених захворювань перехідного періоду разом із метаболічними порушеннями дійних корів є мастит, який має клінічний або субклінічний прояв [166]. Субклінічний мастит можна діагностувати тільки шляхом визначення показників запалення або збудників маститу в молоці [46]. Однак наразі недостатньо інформації, що до взаємозв'язку між розвитком субклінічного кетозу та запаленням вимені у дійних корів під час сухостою та після отелення.

Дослідження науковців [99] доводять, що у високий рівень гормону росту у післяродовий період у крові корів з субклінічним кетозом спричинює мобілізацію ліпідів, що призводить до гіперкетонемії. Відбувається зниження рівня амінокислот та глікогену, і навпаки надлишок кетогенних і ліпогенних сполук [103]. Однак в цих дослідженнях бракує інформації що до механізму розвитку післяродових метаболічних розладів у дійних корів.

У дослідженнях [33] визначали відмінності у метаболізмі в перший тиждень після отелення між здоровими та коровами, хворими на кетоз. Було встановлено, що метаболічні зрушення можна передбачити за рівнем кетонових тіл у перший тиждень після отелення. У хворих корів рівень β -кетонів був значно вищим (10,9–18,5 %), ніж у здорових корів (2,5–9,1 %). Також у хворих на кетоз корів була тенденція до підвищеного рівня загального білірубіну та АСТ. Проведені дослідження дають можливість ранньої діагностики кетозу у корів після отелення, однак не було запропоновано

можливого способу профілактики захворювання.

Проведені генетичні дослідження [156] показали схильність корів породи голштин до проявів кетозу особливо у післяродовий період. Дослідники не пропонують у своїй роботі можливих шляхів вирішення цієї проблеми. Також відомо [21], що корови з клінічним кетозом мають високі показники гематокриту та гемоглобіну, при цьому кількість лейкоцитів (нейтрофілів та еозинофілів) була значно нижча, ніж у здорових. Крім того, у корів хворих на кетоз спостерігається підвищення рівня неестерифікованих жирних кислот в крові. Однак, відсутні дослідження про зв'язок кетозу під час глибокого сухостою та післяродового періоду з біохімічними параметрами сироватки крові [43, 155].

Корови зазвичай відчувають стан дефіциту енергії під час переходу від останнього триместру вагітності до початку лактації, що є результатом збільшення потреб в енергії для утворення молока і зменшення споживання сухої речовини. Внаслідок виникнення енергетичного дисбалансу виникають проблеми зі здоров'ям та продуктивністю тварин. Відбувається зниження фертильності, загальної резистентності організму корів та продуктивність [88, 20].

Щоб адаптуватися до дефіциту енергії, корови мобілізують ліпіди, які циркулюють у крові у вигляді неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК). НЕЖК можуть використовуватися безпосередньо як джерело енергії, а також в процесі метаболізму перетворюватись в печінці на кетонові тіла або на тригліцериди. Коли печінка перевантажена НЕЖК, кетонові тіла виробляються в надлишку, у корови спостерігається гіперкетонемія [98].

У багатьох відношеннях цей перехідний період негативного енергетичного балансу у молочної худоби схожий на діабет у людей.

Субклінічний кетоз, клінічний мастит та субклінічний мастит були найдорожчими змодельованими захворюваннями, що призвело до середньорічних глобальних втрат приблизно 18 млрд доларів США, 13 млрд доларів США та 9 млрд доларів США відповідно [119].

Ссавці, які переходять від вагітності до лактації, зазнають помітних фізіологічних [49, 59] та метаболічних [73] змін для підтримки розвитку плода та новонародженого, а також початку лактації. Надмірне утворення молока у молочних корів до рівнів, що перевищують потреби телят, є важливим для задоволення потреб людини в їжі [96].

Однак 30–50 % молочних корів після родів не в змозі впоратися з величезним надоем та мобілізацією енергії та білка, що призводить до метаболічних порушень або післяродових захворювань (таких як кетоз, молочна лихоманка, зміщення сичуга, затримка плаценти, маткові інфекції та кульгавість) [78]. Ці захворювання є поширеною проблемою на молочних фермах, спричиняючи значні економічні втрати та втрати для добробуту тварин [19]. Середня тривалість життя молочних корів становить лише 3–4 роки, що значно коротше, ніж у корів у природних умовах (20 років).

Кетоз – це сумнозвісне метаболічне захворювання у корів після отелення, яке визначається як надмірна експресія кетонових тіл та одночасний низький рівень глюкози в крові [123]. Більш, ніж у 20% молочних корів після отелення діагностують кетоз [90]. Надмірна циркуляція кетонових тіл пов'язана з порушенням репродуктивної та продуктивної діяльності [118] і потенційно викликає інші післяродові захворювання [146]. Ускладнення у корів з кетозом, як наслідок, знижують параметри росту потомства. Середня вартість одного випадку кетозу становить 289 доларів США. Патогенез кетозу досліджувався і іншими авторами [172].

Після отелення вихід енергії на доїння та підтримання продуктивності зростає швидше, ніж збільшення споживання енергії, створюючи негативний енергетичний баланс та мобілізацію жиру та білка в організмі. Печінкове окислення неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК), які походять із жирових запасів, може задовольнити потреби у підтримці життєдіяльності організму корови та лактації. Однак, надлишок ацетил-КоА внаслідок окислення НЕЖК використовує обмежену кількість оксалооцтової кислоти в циклі трикарбонових кислот та утворює надлишок кетонових тіл. Отже, рівень

оксалооцтової кислоти та глюкози в організмі визначає продукти утворення ацетил-КоА. У молочних корів приблизно 90% глюкози утворюється шляхом глюконеогенезу, 50–60% якої походить з пропіонату рубця [52]. Пропіонат виробляється трьома мікробними шляхами (ферментація, катаболізм амінокислот, біосинтетичний шлях) [120].

Отже, його утворення в рубці залежить насамперед від чисельності та виду мікробів. Однак досі невідомо, чи впливають динамічні зміни в мікробіомі рубця протягом перехідного періоду (3 тижні до та після отелення) на виникнення та прогресування кетозу.

Мікробіота рубця переважно представлена фібролітичними мікробами протягом перипартального періоду та амілолітичними та протеолітичними мікробами протягом післяродового періоду [35]. Подібно до хазяїна, мікробіом рубця також потребує перехідного періоду (приблизно 14 днів) для стабілізації після родів [175]. Цікаво, що скорочення цього перехідного періоду за допомогою технології трансплантації мікробіоти рубця показало, що мікробіом рубця пов'язаний з енергетичним метаболізмом хазяїна [71].

Великий набір даних, що включав 277 молочних корів, також показав, що мікробний склад рубця краще відображає варіації кетонових тіл, ніж генетика хазяїна [51]. Дійсно, два перехресні дослідження, що включали корів з кетозом у різні дні після отелення, виявили зменшення кількості мікробів, що продукують пропіонат [152], тоді як кількість мікробів, що продукують бутират, збільшувалася у корів з кетозом, незалежно від часу після отелення [91]. Однак, інші дослідження показують, що склад мікробіоти рубця різко змінюється після отелення [7, 114].

Аналіз фекальної мікробіоти корів у стані кетозу показав, що більшість генів, задіяних у розгалуженому метаболізмі амінокислот у кишкової мікробіоті, значно змінюються на 14-й день, а не на 7-й день [85]. Нещодавнє дослідження також підкреслило важливість часу збору зразків [4]. Таким чином, висновки дослідження мікробіоти рубця за участю молочних корів у перипартальний період можуть залежати від часу збору зразків. Крім того,

динамічні зміни показників вуглеводного та ліпідного обміну у перехідних молочних корів є суперечливими та складними [68]. Наприклад, отримано дані щодо рівнів β -гідроксибутирату у крові свідчать про те, що середній час максимальної концентрації β -гідроксибутирату після отелення становить 9,6 діб [11].

Був досліджений зв'язок між часом жування та надоем молока, також показало, що цей зв'язок відрізняється протягом тижнів у корів після родів [25]. Отже, необхідне масштабне групове дослідження молочних корів, щоб визначити роль мікробіоти рубця у вуглеводному та ліпідному обміні протягом післяродового періоду. Крім того, метагеноміка може лише виявити «функціональний потенціал» мікробіоти [105]. Отже, використання метаболоміки та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з абсолютною кількісною оцінкою для профілювання метаболітів та мікробіоти в рубці може точніше ідентифікувати взаємодію між господарем та мікробіотою.

Дослідниками [72], була висунута гіпотеза, що особливий перехідний шлях мікробіоти рубця від родів до післяродового періоду сприяє розвитку кетозу, регулюючи метаболізм господаря. Було зібрано 810 зразків вмісту рубця та 789 зразків сироватки крові від 61 корови з кетозом та 84 здорових контрольних тварин від -21 дня до +21 дня та інтегрували профілі бактеріального складу та показники енергетичного метаболізму сироватки крові разом з параметрами ферментації в рубці для встановлення кореляції.

На основі результатів секвенування гена 16S рРНК були використані інструменти мульти-оміки (метагеномічне секвенування та метаболоміка) для подальшого з'ясування потенційних механізмів, що задіяні, та ролі пропіонату в розвитку кетозу. У дослідженні було визначено роль мікробіоти рубця в енергетичному метаболізмі корів у перинатальному періоді та зрозуміти патогенез кетозу в перинатальний період. Було встановлено, що у корів з кетозом склад бактерій рубця після родів різко змінився і потребував більше часу для відновлення.

Молярні пропорції пропіонату були нижчими у корів з кетозом, ніж у

здорових корів, на 3-й та 7-й дні та негативно корелювали з рівнями β - гідроксибутирату (BHBA) у сироватці крові. Шлях ферментації метаболізму пропіонату та часткові шляхи глікогенних амінокислот були знижені на 3-й день. Введення пропіонату коровам з кетозом потенційно знижувало концентрацію BHBA у сироватці [32].

Науковці A. Sammad та інші [125] встановили, що існує негативна кореляція між утворенням молока та репродукцією, оскільки інтенсивний синтез молока підтримується за рахунок репродуктивного здоров'я. Величезне споживання поживних речовин молочною системою призводить до змін у фізіології репродукції. Високопродуктивна корова, що споживає багато глюкози страждає від стану негативного енергетичного балансу протягом раннього післяродового періоду [136].

Науковці C. Zhang та інші [170] вивчали роль кишкової мікробіоти в енергетичному метаболізмі та метаболічних захворюваннях у людей та щурів. Було встановлено, що миші з певною мікробіотою більше страждають на діабет 1 типу. Цей тісний зв'язок між кишковим мікробіотою та різними метаболічними порушеннями, включаючи ожиріння, діабет та серцево-судинні захворювання, був широко досліджений у людей [5] і було виявлено, що він впливає на вроджену імунну систему тварин та енергетичний метаболізм у відповідь на метаболіти мікробного походження та клітинні структури.

За словами авторів, кишкова мікробіота впливає на тварину, модулюючи її вроджену імунну систему та енергетичний метаболізм через реакцію на бактеріальні сполуки та бактеріальні метаболіти харчових сполук. L. Pan [108] встановив, що у дітей з діабетом 1 типу значно збільшилася кількість бактерій роду *Clostridium* та *Veillonella*, зменшилася *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, порівняно зі здоровими дітьми. Цікаво, що кількість бактерій, що продукують молочну та масляну кислоти, а також бактерій, що розщеплюють муцин, які, як доведено, є важливими для здоров'я кишечника, була значно знижена у дітей з діабетом 1 типу.

Wickramasinghe [157] виявив, що телята, яких годують молоком корів, з

високим вмістом *Faecalibacterium spp.* у фекаліях, мають значно вищий приріст маси тіла. Однак у дослідженні [68], де порівнювали склад бактеріальної спільноти та концентрацію летких жирних кислот у рубці протягом перехідного періоду у молочних корів, не було виявлено різниці в мікробіоті рубця.

1.3 Сучасні способи лікування та профілактики метаболічних розладів у корів

Робота імунної системи в перехідний період порушена. У цей час найважливішим фактором, що спричиняє пригнічення імунітету у високопродуктивних корів, є метаболічний стрес, що виникає внаслідок гормональних та метаболічних коливань, негативного енергетичного балансу, дефіциту білків, мінералів та вітамінів, необхідних для задоволення потреб плода, а також початку лактації. Цей стрес може активувати гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальну вісь, що призводить до підвищення рівня кортикостероїдів у плазмі крові [117].

В результаті концентрація кортизолу в перехідний період зростає в кілька разів, особливо в день отелення. Кортизол є потужним імуносупресивним агентом. Під час стресу цей гормон викликає пригнічення проліферації лейкоцитів та їх функцій. Зниження фагоцитозу нейтрофілів, зниження цитотоксичної здатності лімфоцитів, а також пригнічення активності їхніх цитокінів унеможливають нормальне, ефективне материнське імунне розпізнавання та відторгнення плодових оболонок, зрештою, призводить до їх затримки [79].

Метаболічний перипартулярний стрес також активує вироблення катехоламінів, особливо адреналіну. Адреналін активує адренорецептори міометрія, а потім викликає гіпотонію або атонію матки. Таким чином, кортизол та адреналін пригнічують відторгнення та вигнання плодових оболонок і спричиняють їх затримку. Ці механізми затримки плаценти часто мають метаболічну етіологію та виникають у стадах, де відсутні або

запобігають важливим інфекційним захворюванням, що викликають запалення плаценти [101].

Найпоширенішими методами профілактики метаболічних порушень у корів є всі методи, які фермери використовують для усунення та мінімізації різних потенційних етіологічних причин. Забезпечення адекватного збалансованого раціону (енергія та мінерали) у сухостійний період та профілактична годівля під час отелення, а також клінічний та лабораторний моніторинг стад відіграють фундаментальну роль. Ці профілактичні заходи можуть виявити, але часто не можуть усунути проблеми з метаболічним здоров'ям, а також часто спотервігаються рецидиви (ПР). Окрім покращення годівлі у проблемних стадах молочних корів голштинсько-фризької породи, для профілактики ПР можна використовувати інші стратегії, такі як покращення умов утримання тварин, гігієна під час отелення, зменшення стресу, інфекцій, ідіопатичних факторів, гормонального дисбалансу, а також ветеринарна підтримка родів шляхом використання простагландину PGF2 α або окситоцину [28].

Однак, іншим ефективним методом є використання димеру лізоциму – імуномодулятора перед отеленням [39] або введення під час отелення одразу після вигнання плода [174]. Це, здається, оптимальний час для введення димеру лізоциму з метою підтримки імунного відторгнення плодових оболонок у корів. Димер лізоциму стимулює утворення інтерлейкінів: IL-1, IL-2, IL-6 та інших цитокінів, таких як інтерферон (INF- γ) та фактор некрозу пухлини (TNF- α), та активує проліферацію різних типів лейкоцитів, а також нейтрофілів та лімфоцитів. Димер лізоциму модулює синтез та секрецію TNF- α у різних видів тварин та активує фагоцитоз гранулоцитів та макрофагів *in vivo*, а також захищає від пригнічення імунітету антибіотиками [167].

Усі властивості димеру лізоциму необхідні для ефективної імунно-запальної відповіді матері під час розпізнавання та відторгнення плаценти плода. Усі ці імуностимулюючі дії димеру лізоциму контрастують з імуносупресивною дією кортизолу, який присутній у вищих концентраціях у

сироватці крові під час метаболічного стресу під час родів. Дія димеру лізоциму може нейтралізувати майже всі імуносупресивні ефекти кортикостероїдів та сприяє відторгненню плодових оболонок під час отелення. Однак використання димеру лізоциму є симптоматичним і не усуває первинні випадки. Дослідження показують, що в перипартулярний період нижчі рівні концентрації лізоциму в сироватці крові у корів (близько 1,3 мкг/мл), що спостерігаються особливо у досліджених високопродуктивних молочних тварин з низьким індексом функціональності печінки, які мають проблеми зі здоров'ям печінки та інші проблеми, корелюють з вищим рівнем ІЛ-6 та вищою концентрацією церулоплазміну [142].

Дослідники також спостерігали в випробуваннях *in vitro* значний зв'язок між вищими концентраціями лізоциму понад 4,5 мкг/мл та підвищеною спонтанною секрецією цитокіну ІЛ-8, що позитивно впливає на хемотаксис нейтофілів та лімфоцитів. Частота виникнення РР у корів, які отримували імунну підтримку шляхом однієї внутрішньом'язової ін'єкції димеру лізоциму в дозі 0,01 г/кг маси тіла одразу після отелення, була майже втричі нижчою порівняно з коровами, які не отримували цієї імунної підтримки одразу після вигнання плода [143].

Відсоток корів з РР, які отримували імунологічну підтримку під час отелення, був значно нижчим, особливо в проблемних у корів, яким надавали рододопомогу (в середньому близько 16% у групі корів без підтримки та в середньому близько 5% у групі корів з підтримкою димером лізоциму). Результати клінічних спостережень пізніше були підтверджені на більшій популяції корів, близько 200 тварин, на кількох проблемних фермах. Імунна модуляція шляхом використання димеру лізоциму під час отелення виявилася дуже ефективною для молочних корів у проблемних стадах, особливо з високою захворюваністю на РР, де інші методи профілактики були неефективними.

Використання імунної модуляції для профілактики РР було показано як вигідний метод профілактики у корів, особливо у тих, де була необхідна

рододопомога під час родів. Тому ймовірно, що загальноприйняті допоміжні засоби для отелення, такі як надання плоду правильного розташування у родових шляхах за допомогою мотузок або ланцюгів під час отелення, можуть спричинити додатковий стрес та мати значний негативний вплив на вигнання плодових оболонок.

Сучасні знання вказують на важливість материнської імунної системи, яка найефективніше розпізнає та відторгає плаценту плода як чужорідну тканину, подібно до алогенного трансплантата, а також імунно-запальну реакцію під час родів. Під час отелення імуномодулятор підтримує відновлення та стимуляцію пригніченої імунної системи. Це дуже важливо з точки зору метаболічного патогенезу ПР у корів, які народжують у нормальний термін. Цей метод може бути засобом імунологічної підтримки в критичний момент родів у високопродуктивних корів зі зрілою плацентою.

Ця імунологічна підтримка також застосовується як терапія маститу у корів, а також різних інших інфекцій травної, дихальної та репродуктивної систем у тварин [69]. У цих випадках підтримка імунної системи є дуже важливою та необхідною для терапії, особливо тому, що при інфекції застосовують антибіотики, які знищують бактерії. Однак антибіотики, що використовуються під час терапії також знижують функції імунної системи.

Симптоматична профілактика ПР, спричиненого метаболічним стресом у молочних корів, може бути запроваджена під час отелення не лише за допомогою препаратів, що пригнічують активність каразололу, але й шляхом застосування препаратів, що зменшують вплив адреналіну, що негативно впливає на моторику матки. Бета-блокатори можуть бути використані для захисту матки від атонії або гіпотонії, спричиненої підвищенням утворенням адреналіну внаслідок стресу. Бета-блокатори ефективно блокують адренорецептори міометрія під час профілактики та терапії ПР, спричиненої стресом або важкими родами у корів, а також під час терапії післяродового метриту та затримки інволюції матки, також у поєднанні з іншими препаратами, такими як $\text{PGF2}\alpha$ та антибіотики [8].

У дослідженні, проведеному на дуже проблемних стадах корів, вплив блокатора бета-адренорецепторів (каразололу), що вводився одразу після родів у дозі 5 або 0,5 мг клопростенолу для профілактики ПР, був ефективним, оскільки ці випадки траплялися з частотою 14,2% у групі каразололу, близько 38% у групі клопростенолу та близько 55% у контрольній групі без профілактики. Було показано, що метод підтримки нормальної моторики матки з використанням однієї внутрішньом'язової ін'єкції пропранололу – бета-блокатора в дозі 50 мг на корову під час родів, є ефективним [102].

У спостереженні на кількох фермах кількість корів, яких лікували пропранололом одразу після вигнання плода та у яких спостерігався ПР, була значно меншою (майже у два з половиною рази) порівняно з коровами, які не отримували цієї блокади бета-адренорецепторів одразу після вигнання плода (5,2% у групі пропранололу та 12,7% у контрольній групі).

Фосфор є критично важливим для життя та незамінним елементом для біологічно поширених органічних молекул, таких як ДНК, АТФ та фосфопротеоми. Бутафосфан – це синтетично отримана органічна фосфорна (фосфонова кислота) сполука, яка містить 17,3% фосфору. Він не належить до групи біологічно поширених органічних фосфорних сполук.

Бутафосфан використовується багатьма видами тварин як метаболічний стимулятор, що порушує енергетичний обмін. Вітамін B12 (VB12) – це унікальний вітамін, що містить кобальт. Він функціонує як кофактор для ферментів метіонінсинтази та метил-малоніл-КоА-мутази. Він необхідний для перетворення пропіонату на сукциніл-КоА у жуйних тварин. Комбінація бутафосфану та VB12 (iBC) доступна для ветеринарного застосування з 1958 року, а перша публікація про неї у корів з'явилася в 1970-х роках. Однак перші молекулярно-біологічні дослідження щодо його механізму дії з'явилися на початку 2000-х років.

Нещодавні дослідження показали, що iBC має значний вплив на вуглеводний та ліпідний обмін. Дослідження, що проводилися між 1970 і 1994 роками, були зосереджені переважно на коровах з ризиком метаболічних та

репродуктивних захворювань у сухостійний період. Дослідження, що проводилися станом на 2000 рік, вивчали його ефективність для профілактики та лікування субклінічного та вторинного кетозу, допоміжної/підтримуючої терапії при операції зі зміщенням сичуга, молочної лихоманки, покращення післяопераційної активності рубця, інволюції матки та маститу у молочних корів у перехідному періоді [36].

Для лікування як гіпофосфатемії, так і гіпокаліємії було розроблено болюсне введення дикалійфосфату (K Phos-Boost), оскільки клінічні ознаки обох станів подібні та виникають у ранньому післяродовому періоді. Метою дослідження була оцінка ефективності та застосування болюсу для профілактики та лікування метаболічних захворювань, поширених у системах молочного виробництва. Дослідження 1 (Фармакокінетичне дослідження): здорові корови після родів або не отримували лікування, або отримували два болюси K Phos-Boost через 0, 24 та 48 годин. Кров брали через $t = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24$ та 52 години після лікування для аналізу загальних мінералів сироватки крові. Спостерігалось підвищення рівня фосфору в сироватці до нормального рівня протягом 2 годин після лікування болюсом, але у контрольних корів залишалася гіпофосфатемія. Рівень калію в сироватці крові значно підвищився через 2 години після болюсного введення порівняно з контролем, тоді як рівень кальцію, магнію, натрію та хлоридів не зазнав впливу болюсного введення K Phos-Boost. Дослідження 2 (лікування корів зі зниженим рівнем годівлі): болюси K Phos-Boost вводили коровам, які не реагували на внутрішньовенну терапію кальцієм і не могли стояти більше 24 годин («корови зі зниженим рівнем годівлі»). Більшість корів (16 з 19), яких отримували два болюси, стояли без сторонньої допомоги протягом 1–24 годин після лікування, а рівень фосфору в сироватці крові підвищився до нормального рівня у п'яти з п'яти дослідних тварин. Дослідження 3 (лікування кетозу): коровам з клінічним кетозом вводили пропіленгліколь та болюси K Phos-Boost ($n = 29$) або лише пропіленгліколь ($n = 23$). Корови, яких отримували болюс K Phos-Boost, показали швидше відновлення завдяки збільшенню синтезу молока (3,9

кг/день) та швидкості жуйки (97 хв/день).

Дослідження 4 (зміцнення здоров'я): корови в стадах з післяродовою гіпофосфатемією >40% отримували болюсні ін'єкції K Phos-Boost (n = 130) або не отримували лікування (n = 146) після отелення. Спостерігалася тенденція до вищого надоя молока у тварин другої лактації після 30 днів денної відгодівлі (49,1 проти 46,2 кг/день; P = 0,09). Не було виявлено суттєвих відмінностей між контрольною групою та тваринами, які отримували болюсне лікування, у частоті субклінічного кетозу, загальних проявах захворювання після отелення або рівнях вибракування. Болюсне застосування K Phos-Boost є новим продуктом і має потенціал для лікування та профілактики кількох важливих метаболічних захворювань у молочній худоби [149].

У Європейському Союзі зростає потреба в продуктах для годівлі сільськогосподарських тварин, позитивний вплив яких може замінити антибіотики, що активно використовуються десятиліттями. Таким чином, використання пробіотиків почало зростати за останні кілька років. У цьому дослідженні було проведено опитування щодо практичного використання пробіотиків на фермах молочного скотарства та відповідного досвіду експертів з харчування на фермах. Крім того, ми провели опитування щодо виробництва та розповсюдження пробіотиків.

Після прямого телефонного запиту експерти з годівлі, відповідальні за програми годівлі на фермах у 23 великих комерційних фермах молочного скотарства, та вісім менеджерів різних компаній-дистриб'юторів кормів заповнили відповідні онлайн-анкети у 2018 році. Результати показують, що 69,6 % опитаних ферм використовували пробіотики, найчастіше з метою оптимізації ферментації рубця, захисту від стресових факторів та доповнення медикаментозного лікування. Найпоширенішими очікуваними корисними ефектами пробіотиків були ефективніше вирощування телят, більший надій молока, стабільніша ферментація рубця та покращена стійкість до стресу. Жоден з респондентів не вказав на негативні наслідки.

П'ять з восьми опитаних кормових компаній виробляли пробіотичні

продукти для великої рогатої худоби, а одна просто розповсюджувала їх. Керівники компаній загалом вважали, що експерти з годівлі на фермах не мають найсучасніших знань про пробіотики, тому ці продукти часто використовуються неефективно, і знання експертів слід розширювати. Власні експерименти компаній-дистриб'юторів показали, що пробіотичні продукти можуть покращити засвоюваність корму, ефективність вирощування телят та репродуктивні показники корів. Згідно з очікуваннями дистриб'юторів, наступне покоління пробіотичних продуктів буде мікрокапсульованим і міститиме різні штами та види бактерій, а також пребіотики. Метою розробки продукту є створення пробіотиків з кращою ефективністю за розумною ціною, з комплексним впливом та легшим застосуванням на рівні стада. Дослідження показало, що пробіотики вже часто використовуються для профілактики захворювань у стадах корів [148].

Виходячи з вище вказаного, можна зробити висновок, що є простір для вдосконалення, особливо щодо передачі знань про найефективніше використання пробіотичних штамів мікроорганізмів.

1.4 Висновки з огляду літератури

У перехідний період високопродуктивні молочні корови демонструють значний ризик виникнення метаболічних порушень, імунних дисфункцій та різних проблем зі здоров'ям. Метаболічні порушення мають аліментарну етіологію та часто виникають у дійних корів внаслідок негативного енергетичного балансу та нестачі мінералів і вітамінів. Крім того, ці метаболічні порушення викликають стрес, що може призвести до порушення відділення плодових оболонок та, як наслідок, їх затримки під час отелення. Харчові та метаболічні причини перехідного періоду дуже важко усунути на сучасних молочних фермах. У перспективі коровам постійно потрібно оптимізувати умови годівлі та утримання, а також інші методи для ефективної

підтримки імунної системи протягом перипартуріантного періоду у корів. Управління здоров'ям перехідного періоду для репродуктивної продуктивності молочних корів, а також специфічна профілактика та моніторинг стада щодо метаболічних порушень (негативний енергетичний баланс, кетоз або гіпокальціємія) та пригнічених імунних функцій є важливими на сучасних фермах. Систематичний, періодичний діагностичний моніторинг з використанням аналізів крові та молока в репрезентативних групах корів часто може бути недостатнім для виявлення багатьох важливих, особливо субклінічних захворювань. Сучасна практика потребує постійного щоденного моніторингу здоров'я молочних корів для контролю їх молочної продуктивності та різних потенційних ризиків, особливо в критичний перехідний період. Системний моніторинг молочних стад вимагає використання ширшого спектру діагностики, відповідно до проблем зі здоров'ям або ризиків.

З метою покращення імунітету та профілактики метаболічних розладів у корів перехідного періоду рекомендується використовувати пробіотичні засоби. В роботі будуть проведені дослідження та аналіз отриманих результатів, що до застосування пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Матеріали досліджень

Дисертаційне дослідження було проведено з 2022 по 2025 рік на кафедрі акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету.

Виробничі дослідження проводились в умовах ТОВ «Агрофірма Лан» с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області; ТОВ «Комишуватський МК» с. Миколо-Комишувата, Красноградського району, Харківської області.

Перший етап роботи був присвячений дослідженню властивостей пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56

На **другому етапі дослідження** проводили моніторинг метаболічного статусу корів під час сухостою та післяродовий період.

Метою третього етапу роботи було дослідити клінічний стан корів за субклінічного кетозу у виробничих умовах. При цьому будуть враховані такі показники: клінічний та фізичний стан тварин, клінічний аналіз крові на вміст β -кетонів. Дослідження проводили у корів групи глибокого сухостою та роздій після отелення.

Четвертий етап полягав у дослідженні біохімічних показників у корів за використання пробіотику. Визначали відхилення у метаболізмі корів на фоні субклінічного кетозу.

На **п'ятому етапі** досліджували продуктивність корів при кетозі за використання пробіотику. Визначали ефективність застосування пробіотичного штаму для покращення лактації.

Метою шостого етапу роботи було визначення якості отриманого молока при кетозі за використання *Bacillus pumilus* L A 56.

Дослідження проводили за схемою яка наведена на рис. 2.1.

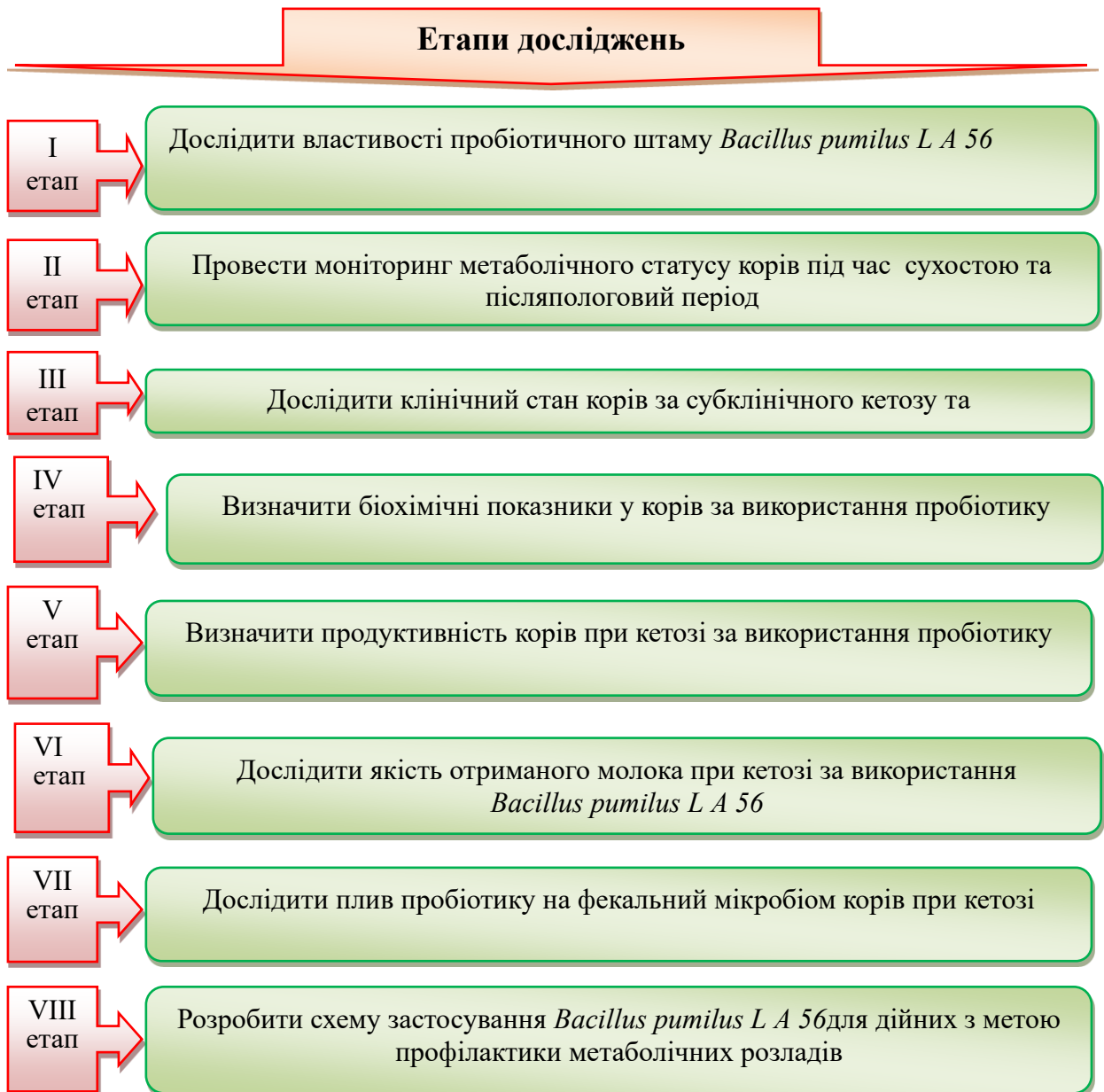


Рис.2.1. Загальна схема проведення досліджень

На **сьомому етапі** досліджень визначали вплив пробіотику на фекальний мікробіом корів при кетозі. Досліджували вміст корисної та умовно-патогенної мікрофлори до та після застосування пробіотику.

Завданням **восьмого етапу** було розробити схему застосування *Bacillus pumilus* L A 56 для дійних з метою профілактики метаболічних розладів.

2.2 Методи досліджень

Дослідження властивостей штаму *Bacillus pumilus* L A 56. Для

культивування штаму *Bacillus pumilus* у лабораторії використовували середовище наступного складу г/л: пептон - 10, дріжджовий екстракт - 5, глюкоза - 5, вода дистильована - інше. Культивування проводили при температурі 37°C та інтенсивній аерації до досягнення фази уповільнення росту. Потім висівали окремі колонії на чашки Петрі та інкубували при температурі 28°C протягом 24 годин для отримання чистих культур, а потім використовувати їх для підготовки посівних культур у рідкому середовищі при 37°C зі струшуванням (200 об/хв) для досягнення достатньої біомаси для подальшого застосування.

Визначення антагоністичної активності *Bacillus pumilus* методом відтермінованого антагонізму. Антагоністичну активність *Bacillus pumilus* визначали за класичним методом відтермінованого антагонізму. Для цього штами вирощували протягом доби при t 37°C до окремих макроколоній на пластинках 2 % м'ясопептонного агару. Безпосередньо перед використанням індикаторних штамів підрощували 6 годин у м'ясопептонного бульйоні при t 37°C. Чашки Петрі з колоніями дослідних культур обробляли парами хлороформу протягом 50 хвилин. Наступні 50 хв їх підсушували на повітрі під кварцевою лампою. Свіжі бульйонні культури індикаторних штамів об'ємом 0,1 мл змішували з 5,0 мл 0,7% розплавленого і потім охолодженого до 48°C м'ясопептонного агару. Цією сумішшю заливали попередньо підготовлені тестові культури на пластинках агару, швидко розподіляючи її по поверхні агару з колоніями. Облік результатів проводили після інкубації чашок протягом 24 годин при t 37°C. Якщо навколо колонії спостерігали помітну зону інгібування індикатора, то вважали, що штам *Bacillus pumilus* виявив антагоністичну активність.

Проведення моніторингу метаболічних захворювань у дійних корів глибокого сухостою та роздій після отелення. Дослідження проводились у господарстві ТОВ агрофірма «Лан» Північно-східного регіону України на 166 коровах породи голштин у період березень-серпень 2022 року. До дослідження були залучені корови першої лактації 45, другої – 56 та третьої – 65 голів.

Досліджували клінічний стан корів, відокремлення посліду, стан та скорочувальну активність матки, колір слизу та консистенцію. Контролювали раціон та надій щоденно.

Дослідження корів на кетоз. Визначали рівень β -кетонів в крові корів за допомогою кетометра KetoSens (FDA). Кров для дослідження брали вранці до годівлі. Визначали показники у корів глибокого сухостою (три тижні до отелення) на початку застосування пробіотику та через сім діб. Також визначали рівень кетонових тіл у корів на сьому та на чотирнадцяту добу після отелення. За рівнем β -кетонів визначали хворих корів, яким застосовували додаткове лікування.

Метаболічні зміни у вмісті рубця та крові корів перехідного періоду. Дослідження проводили у дослідному господарстві факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету на коровах породи голштин. У дослідженні брали участь п'ять корів за 20 діб до отелення на протязі наступних 20 діб після. В контрольній групі п'ять голів були не тільки здорові корови та з ознаками кетозу також п'ять голів.

Вміст рубця відбирали перед вранішньою годівлею. У випадку корів глибокого сухостою зразки збирали за 20, 14 та 7 діб до родів та на 1, 7, 14 та 20 добу після отелення. Вміст рубця фільтрували через чотири шари стерильної марлі, переносили у стерильні пробірки, заморожували у морозильній камері та зберігали при температурі -20°C . Рівень летких жирних кислот (ацетат, пропіонат та бутират) визначали за допомогою газової хроматографії. Зразки крові відбирали з яремної вени. Вміст глюкози та β -кетонів визначали за допомогою глюкометра-кетометра.

Дослідження мікробіому корів за метаболічних розладах та при застосування пробіотику. Проводили випробування ефективності застосування пробіотику на основі експериментального зразка штаму *Bacillus pumilus* L A 56 в концентрації 1×10^9 , КУО/г виробництва компанії ПП приватне підприємство «Кронос Агро». Дозування пробіотику на групу роздій після отелення становив 15-35 г на тварину.

Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (кМАФАНМ) визначали згідно з ДСТУ 7357, ДСТУ 7089, ДСТУ ISO 4833, ДСТУ IDF 100B. Підрахунок мікроорганізмів проводили після культивування на елективних середовищах, визначали кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (КУО/г).

Дослідження застосування пробіотику в господарстві за субклінічного кетозу. Дослідження були проведені в період із жовтня по листопад 2021 року на коровах породи голштин у господарстві ТОВ у товаристві з обмеженою відповідальністю агрофірми «Лан» Північно-східного регіону України. Загалом у дослідженні були задіяні 81 тварина, з яких 27 голів глибокого сухостою та 54 – роздій після отелення.

Проводили випробування ефективності застосування пробіотику на основі експериментального зразка штаму *Bacillus pumilus* L A 56 в концентрації 1×10^9 , КУО/г виробництва компанії ПП приватне підприємство «Кронос Агро». Дозування пробіотику на групу роздій після отелення становив 35 грам на тварину, в групі глибокого сухостою 30 грам. Тварини отримували раціон згідно виробничої групи (Таблиця 2.1-2.3).

Таблиця 2.1

Раціон для корів, залежно від виробничої групи

Раціон	роздій 7 діб після отелення	роздій 14 діб після отелення	пізній сухостій
Кількість голів	133	152	42
силос	28	28	22
сінаж	12	12	-
сіно	3	3	1,5
солома	-	-	1,5
кукурудза консервована	6,5	6,5	2
комбікорм № 2	8,5	8,5	-
Комбікорм № 4	-	-	3,5

Таблиця 2.2

Рецепт комбікорму № 2 для корів (група роздою після отелення)

№ п/п	Компонент	% вводу	на 500 кг	на 1 тону, кг	на 1,5 тони, кг	на 2 тони, кг
1	Ячмінь+Пшениця	89	445	890	1335	1780
2	Премікс ТК ВМП КД	7	35	70	105	140
3	Пробіотик	3	15	30	45	60
4	Інсорб	1	5	10	15	20
	Всього	100	500	1000	1500	2000

Таблиця 2.3.

Рецепт комбікорму № 4 для корів (пізній сухостій)

№ п/п	Компонент	% вводу	на 500 кг	на 1 тону, кг	на 1,5 тони, кг	на 2 тони, кг
1	Ячмінь+Пшениця	26	130	260	390	520
2	Шрот соняшниковий	67	335	670	1005	1340
3	Інсорб	1	5	10	15	20
4	Прорбіотик	1	5	10	15	20
5	Премікс ТК ВМП КС	5	25	50	75	100
	Всього	100	500	1000	1500	2000

Примітка: Премікс ТК ВМП КС компанії Текро (Чеська республіка), яка включає набір вітамінів та мікроелементів, відповідно до виробничої групи (сухостій або лакуючи корови).

Дослідження біохімічних показників сироватки крові корів.

Визначали показники метаболізму у семи корів з групи роздою після отелення

з підвищеним рівнем кетонових тіл на початку та по закінченню дослідження . Визначали вміст загального білку (СОП-БП-02-2017), сечовини (СОП-БП-03-2017), альбуміну (СОП-БП-25-2018), азоту сечовини, Са/Р та глобулінів методом розрахунку, загального холестерину (СОП-БП-07-2017), аспартатамінотрансферази АСТ (СОП-БП-09-2017), аланінамінотрансферази АЛТ (СОП-БП-08-2017), загального Са (СОП-БП-05-2017), неорганічного Р (СОП-БП-04-2017), Магнію (СОП-БП-06-2017), Калію (СОП-БП-11-2017), вітаміну Е (СОП-БП-12-2018), вітаміну А (СОП-БП-14-2018), вітаміну D (25ОН) (СОП-БП-18-2020).

Дослідження якості молока. Проби молока отримували з кожної чверті виміні окремо у період максимальної лактації у окремий стерильний стаканчик у кількості 50 мл. Пробу на мастит за допомогою каліфорнійського тесту проводили на місці у чашках Петрі. Молоко змішували із реактивом, якщо на дні чашки отримували згусток, ставили діагноз субклінічний мастит [13]. В умовах лабораторії робили мазки молока. Висушували за температури 18–20 °С та фарбували по Романовському-Гімза. Мікроскопічний тест для підрахунку загальної кількості соматичних клітин проводили методом Прескотта і Бритта [115] та з визначенням їх видового складу. Для визначення вмісту кальцію та неорганічного фосфору застосовувати тести фірми Pliva Lachema (Чехія). Рівень β -кетонів в крові корів визначали за допомогою кетометра KetoSens (FDA).

Статистичний аналіз. Розрахунок статистичних даних проводили за допомогою методу Фішера-Стьюдента з урахування статистичних похибок та вірогідності порівнювальних аналогічних показників. Показники вважали вірогідними з рівнем більше 95 % ($p < 0,05$).

Біоетика. Усі експериментальні дослідження проведено згідно сучасних методологічних підходів та з дотриманням відповідних вимог і стандартів, зокрема відповідають вимогам ДСТУ ISO/IEC 17025:2005 (2006) та відповідно до директиви 2010/63/ЄС [60], які затверджені висновком комісії з питань етики та біоетики факультету ветеринарної медицини Сумського

національного аграрного університету від 05.03.2022 року. Утримання тварин та всі маніпуляції здійснювали відповідно до положень Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах [77], Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [44].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Дослідження культуральних властивостей штаму

Bacillus pumilus L A 56

У сучасних умовах скорочення та обмеженого використання антибіотиків, деякі патогени та стресори викликають оксидативний стрес кишечника у тварин, що призводить до зниження споживання корму, повільного або застою росту та розвитку, і навіть смерті, що призводить до величезних економічних втрат.

Пробіотики широко використовуються для профілактики запальних захворювань кишечника у тварин. Займаючи кишкову нішу як домінуюча флора, пробіотичні бактерії полегшують вплив патогенних бактерій на тварин *Bacillus spp.* демонструють високу толерантність до кислот та жовчних солей, а також стійкість до високих температур, виживають та ростуть у кишечнику, утворюючи біоплівки та виділяючи антимікробні препарати.

Штам *Bacillus pumilus* демонструє значно підвищену стійкість до оксидативного стресу, спричиненого перекисом водню, порівняно з родичами, що належать до видового комплексу *Bacillus*. Розуміння механізму цього явища може допомогти покращити стійкість до оксидативного стресу інших виробничих штамів, які вже використовуються.

Штам *Bacillus pumilus* характеризується певними ознаками. Клітини паличкоподібні, прямі, $0,5\text{--}0,7 \times 2\text{--}3$ мкм, рухомі. Штам може утворювати ендоспори еліптичної форми, розташовані центрально. За забарвленням за Грамом – грампозитивні (рис.3.1.).

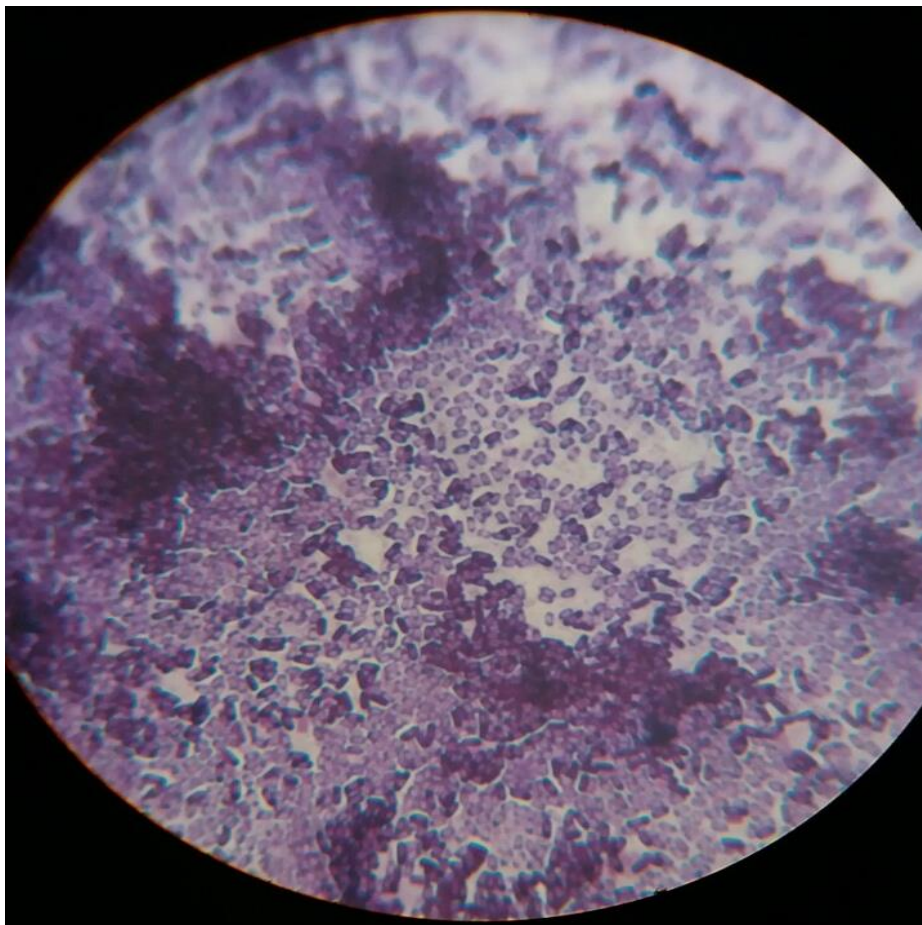


Рис 3.1. Світлова мікроскопія *Bacillus Pumilus* L A 56
(збільшення $\times 4000$)

Штам *Bacillus pumilus* невимогливий до факторів росту, добре росте на звичайних живильних середовищах (СПА, МПА, МПБ). На агаризованих середовищах мікроорганізм утворює дрібні, круглі, білі колонії, блискучі, з рівним краєм. Оптимальна температура зростання *Bacillus pumilus* 37°C, рН 7,0-7,2.

Культуру підтримували пересіванням на щільних середовищах, зберігали в ліофільно-висушеному стані. Фізіологічні ознаки штаму.

Штам *Bacillus pumilus* розщеплює глюкозу, мальтозу, манозу, сахарозу та арабінозу, не розщеплює – сорбіт, лактозу, рамнозу та маніт (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

Біохімічні властивості *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56)

Середовище Гісса з	Розщеплення цукрів
Глюкоза	+
Сорбіт	-
Мальтоза	+
Лактоза	-
Маноза	+
Сахароза	+
Рамноза	-
Маніт	-
Арабіноза	+

Також проводили дослідження чистоти культури *Bacillus pumilus*. Дослідження проводили методом дисків, просічених різними антибіотиками з культурою штаму *Bacillus pumilus* (рис.3.2).

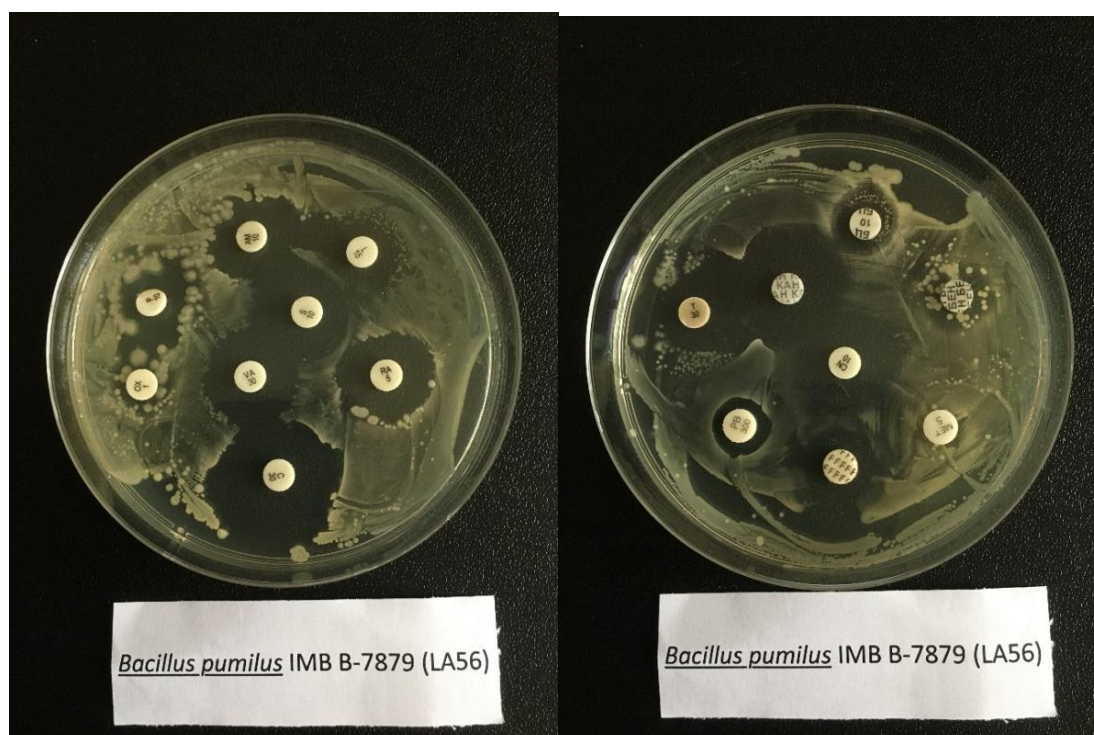


Рис.3.2 Визначення чутливості до антибіотиків культури *Bacillus pumilus* L A 56

Визначали зону затримки росту та заносили в таблицю (табл.3.2).

Таблиця 3.2

Стійкість до антибіотиків *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB В-7879 (LA56)

Назва антибіотика	Діаметр зони затримки росту, мм (разом з діаметром диску 6 мм)
Гентаміцин	20
Ампіцилін	17
Бацитрацин	12
Рифампіцин	18
Канаміцин	24
Лінкоміцин	16
Окситетрациклін	15
Пеніцилін	12
Оксацилін	6
Хлорамфенікол	26
Стрептоміцин	20
Ванкоміцин	20
Метіцилін	6
Бензилпеніцилін	12
Фраміцетин	16
Поліміксин	12

За результатами проведених досліджень було встановлено, що *Bacillus pumilus* L A 56 чутлива до певних антибіотиків (рис.3.2), тому діаметр затримки росту складав: канаміцин – 24 мм, бацитрацин – 12 мм, рифампіцин – 18 мм. гентаміцин – 20 мм, лінкоміцин – 16 мм, окситетрациклін – 15 мм, ампіцилін – 17 мм, стрептоміцин – 20 мм, хлорамфенікол – 26 мм, пеніцилін – 12 мм, ванкоміцин – 20 мм, оксацилін – 6 мм, поліміксин – 12 мм, фраміцетин – 16 мм, метіцилін – 6 мм та бензилпеніцилін – 12 мм.

3.2 Визначення антагоністичної активності *Bacillus pumilus* L A 56 методом відтермінованого антагонізму

Рівень кіллерної активності виражали умовно як низький, середній, високий та дуже високий. Антагоністична активність низького рівня визначалась, коли на газоні індикатора утворювались зони діаметром від 7 мм до 14 мм. Середній та високий рівень активності характеризувався зоною інгібування з діаметрами 14–26 мм і 27–36 мм відповідно. У якості індикаторних культур використовували еталонні штами: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E. coli* K12 NCTC 10538, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger*. Отримані результати були статистично оброблені. Після інкубування посівів проведено замірювання зон затримки росту і визначено середні величини для клінічних штамів мікроорганізмів

Отримані результати абсолютних значень зон затримки росту індикаторних культур під дією *Bacillus pumilus* LA56 дозволили проаналізувати активність відносно різних видів трестованих бактерій та грибів і визначити рівень антагоністичної активності. Так, для всіх видів досліджених клінічних культур активність *Bacillus pumilus* L A 56 була різною.

- Культура *P.aeruginosa* ATCC 15442 *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56), (відсутність зони затримки росту).

- Культура *E. coli* K12 NCTC 10538 *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56) (відсутність зони затримки росту).

- Культура *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 середньо чутлива *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56) (діаметр затримки росту 15 мм).

- Культура *Salmonella typhimurium* високочутлива до *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56) (діаметр затримки росту 34мм),

- Культура *Candida albicans* ATCC 10231 високочутлива до *Bacillus pumilu,s* номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56) (діаметр затримки росту 35 мм),

- Культура *Aspergillus niger* нечутлива до *Bacillus pumilus*, номер в депозитарії IMB B-7879 (LA56) та навпаки мала антагоністичну активність стосовно пробіотичного штаму.

3.3 Визначення антагоністичної активності *Bacillus pumilus* стосовно еталонних штамів бактерій та грибів методом прямого інкубування

В умовах даного методу на чашку з 2% пластинчатим поживним агаром по центру наносим культуру *Bacillus pumilus* L A 56 і відразу штрихами засіваємо культури еталонних штамів.

Використовували еталонні штами:

№1 - *E. coli* K12 NCTC 10538;

№2 - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538;

№3 - *Salmonella typhimurium*;

№4 - *P.aeruginosa* ATCC 15442;

№5 - *Candida albicans* ATCC 10231.

Також для визначення використовували міцелярний гриб *Aspergillus niger*.

Облік результатів проводили після інкубації чашок протягом 24 годин при $t\ 37^{\circ}\text{C}$.

Отримані результати зменшення та затримки росту індикаторних культур під дією *Bacillus pumilus* дозволили проаналізувати активність відносно різних видів тестованих бактерій та грибів і визначити рівень антагоністичної активності. Так, для всіх видів досліджених клінічних культур активність *Bacillus pumilus* L A 56 була різною, але в основному збігається з визначенням методом відтермінованого антагонізму (рис.3.3).

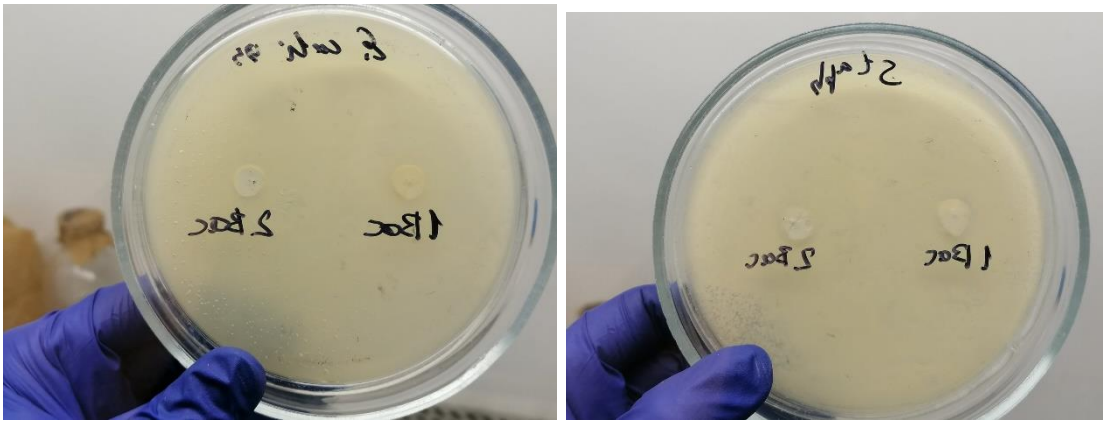


Рис.3.3 Визначення антагоністичної активності *Bacillus pumilus* стосовно еталонних штамів бактерій.

Висновок: Найбільш чутливими виявились еталонні штами *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ATCC 10231 до штаму *Bacillus pumilus* LA 56. Культура *Aspergillus niger* нечутлива до LA56 та мала антагоністичну активність.

3.4. Моніторинг метаболічних захворювань у дійних корів перехідного періоду

Перехід від пізньої тільності до ранньої лактації є складним періодом для дійних корів. Успішний перехідний період залежить від метаболічної адаптації до нового фізіологічного стану на початку лактації та належного догляду за потребами корови.

Субклінічні метаболічні захворювання набагато важче відрізнити, ніж клінічні, оскільки вони потребують додаткових скринінгових тестів, і отримати повну картину хвороби, як правило, складно. Також необхідно враховувати їх вплив на збільшення ризику розвитку інфекційних захворювань і розладів фертильності. Наразі існує обмежена кількість інформації з цих питань, зокрема у випадку субклінічного кетозу.

Лактуюча високопродуктивна корова споживає велику кількість глюкози та страждає від стану негативного енергетичного балансу протягом раннього післяродового періоду.

Регуляція та координація ліпідного обміну між жировою тканиною, печінкою, кишечником і молочною залозою є ключовими компонентами адаптації до лактації. Накопичення ліпідів у печінці може спричинити порушення здоров'я та зниження синтезу молока.

На початку дослідження був проведений моніторинг захворювань у корів, які виникають у цей період (рис.3.4.).



Рис.3.4. Моніторинг захворювань у корів під час сухостою та післяродовий період

Отримані результати моніторингу захворюваності корів за три тижні до отелення та три тижні після родів показують, що найбільший відсоток складає кетоз (21 %), субклінічний мастит (16 %), гіпокальціємія (13 %) та субклінічна

гіпокальціємія (14 %). Виявлення та лікування саме цих захворювань є складним завданням для виробників молока.

Негативний енергетичний баланс призводить до ендокринних і метаболічних змін, ініційованих низьким рівнем інсуліну, високим споживанням глюкози, зниженням фактору росту інсуліну і високою активністю гормону росту, що призводить до відповіді на неестерифіковані жирні кислоти. Вони окислюються в печінці для підтримки енергії, що призводить до кетозу, і в кінцевому підсумку призводить до розвитку жирової дистрофії печінки через накопичення тригліцеридів.

Низькі концентрації кальцію в першу добу після родів серед корів первісток складала 1,2 % (табл.3.3). Цей показник збільшився у групі тварин другої лактації на 3,3 %, а третьої лактації вірогідно – на 5,1 %, порівняно до первісток.

Таблиця 3.3

Статистика захворюваності корів залежно від лактації

Кіль- кість лактації	n	Захворювання, %					
		кетоз	Кульга- вість	Затримка посліду	метрит	гіпо- кальціємія	мастит
1	45	22,5±0,5	1,3±0,07	7,5±0,05	2,6±0,03	1,2±0,03	1,4±0,02
2	56	36,2±0,6*	2,5±0,05	8,1±0,07	6,0±0,07*	4,5±0,05	6,3±0,04*
3	65	47,5±0,5*	7,5±0,04*	10,6±0,10	10,3±0,05*	6,3±0,07*	7,2±0,06*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно до першої лактації.

Ймовірно, пов'язане з гіпокальціємією, захворювання кульгавість, також прогресує у корів третьої лактації на 6,2 %, порівняно до першої.

При цьому затримка посліду у дійних корів не пов'язана із періодом лактації і знаходиться у приблизно однакових межах у всіх групах.

Метрит є інфекційним захворюванням і частота його прояву збільшується з кількістю лактацій: у другій – на 3,4 %, у третій – на 7,7 %, порівняно до первісток.

Дуже часто мастит виникає у корів у перші тижні після отелення і має тенденцію від субклінічного до клінічного перебігу. У корів другої лактації мастит виникав частіше на 4,9 %, та у третьої – на 5,8 %, порівняно до першої, що може вказувати на прихований субклінічний перебіг маститу, який проявляється після наступних родів.

Кетоз частіше виявляється при клінічному перебігу після отелення, тоді як субклінічний часто виникає в період сухостою, однак не має виражену клінічну картину для діагностування. Роди у корів відіграють роль стресового фактору, при якому приховані захворювання у субклінічній формі набувають характерних проявів в період рецидиву. Так кетоз у корів другої лактації проявлявся частіше на 13,7 %, у третьої – на 25,0 %, порівняно до корів-первісток.

Виходячи з отриманих результатів, найбільший відсоток захворюваності серед корів у післяродовий період складає кетоз. Його профілактика пов'язана із правильною годівлею тільних корів.

Висновки. Результати моніторингу захворюваності корів за три тижні до отелення та три тижні після родів показують, що найбільшій відсоток складає кетоз, субклінічний мастит, гіпокальціємія та субклінічна гіпокальціємія. Кульгавість у корів третьої лактації, особливо у перші тижні після родів, прогресує на 6,2 %.

Залежно від кількості лактацій збільшуються випадки гіпокальціємії у корів другої лактації на 3,3 %, а третьої лактації вірогідно – на 5,1 %. Прояви метриту збільшуються у другій лактації на 3,4 %, у третій – на 7,7 %, порівняно до первісток. Мастит у корів другої лактації виникає частіше на 4,9 %, у третьої – на 5,8 %. Захворювання на кетоз у корів другої лактації проявлявся частіше на 13,7 %, у третьої – на 25,0 %, порівняно до корів-первісток. В результаті проведених досліджень визначені захворювання, які виникають у корів на фоні метаболічних зрушень у період сухостою та перших трьох тижнів після родів.

3.5 Результати дослідження корів на кетоз

Дослідження починали з визначення рівня кетонових тіл у тварин в сухості та після отелення (табл. 3.4). Під час проведення експерименту у всіх тварин в групі глибокого сухостою (три тижні до отелення) із застосування преміксу на основі *Bacillus pumilus* L A 56 на відповідному раціоні показники коливалися в межах норми від 0,2 до 1,0 ммоль/л.

Таблиця 3.4

Рівень кетонових тіл у крові корів при застосуванні пробіотичного преміксу

Група пізнього сухостою			Група роздою після отелення					
№ тварини	Початок дослідження	Через 7 діб	№ тварини	7 доба після отелення	14 доба після отелення	№ тварини	7 доба після отелення	14 доба після отелення
7658	1,0	0,8	7351	0,7	0	107	1,0	0
6266	1,0	0,8	6852	3,5	0,7	2522	0,9	0
6915	0,7	0,7	7658	0,7	0	3861	0,7	0
0357	0,7	0,5	1627	0,8	0	9683	0,7	0
0944	1,0	0,4	0340	1,1	1,0	6707	0,8	0
6949	0,8	0,8	6905	1,5	1,0	6896	0,5	0
7632	1,0	0,9	6266	1,1	0,8	2514	0,7	0
3061	0,7	0,6	3940	1,4	0,9	0982	0,4	0
1941	0,7	0,7	0944	0,8	0	6949	1,6	0,6
7603	0,7	0,8	6886	0,6	0	3928	0,5	0
7791	0,7	0,5	4089	0,7	0	6187	3,8	2,4
6281	0,7	0,6	6915	2,3	0,7	7633	0,7	0
6674	0,6	0,4	7497	0,6	0	2563	1,8	0,6
6870	0,6	0,7	4077	0,4	0	0357	0,7	0
1981	0,6	0,6	2545	1,3	0,7	7603	1,2	0,4
3929	0,5	0,6	3630	0,8	0	4636	0,6	0

Продовження таблиці 3.4.

7327	0,6	0,4	3061	1,4	0,5	7328	0,6	0
4584	0,2	0,2	19706	0,7	0	6657	1,0	0
1008	0,7	0,7	1941	0,5	0	3853	0,7	0
6661	0,8	0,7	3086	0,6	0	7614	0,8	0
6843	0,7	0,6	6302	0,6	0	5892	0,6	0
6872	0,8	0,8	0314	0,8	0	7642	1,9	0,8
4325	1,0	0,5	7781	0,5	0	7696	0,5	0
3956	0,9	0,4	6133	0,5	0	7331	0,4	0
4853	0,7	0,6	3870	0,5	0	6674	0,3	0
1983	0,8	0,6	7640	0,8	0	9765	0,9	0
3942	0,7	0,5	3891	2,0	0,9	7791	0,4	0
Середнє значення	0,73 ±0,03	0,60 ±0,03	Середнє значення	-	-	-	1,79 ±0,19*	1,33 ±0,20*

Примітка: * – $p \leq 0,05$, у порівнянні аналогічних показників групи пізнього сухостою з групою роздою після отелення.

При проведенні експерименту було встановлено, що у дослідних тварин групи пізнього сухостою 27 голів рівень кетонових тіл був нижчий ніж на початку дослідження (1,0–0,2 ммоль/л), так і після семи діб застосування преміксу (0,9–0,2 ммоль/л). Достовірної різниці в показниках по групі на початок та кінець дослідження не було, однак середній показник по групі покращився на 17,80 %. Ефективність преміксу у групі сухостою становить 100 %, випадків підвищення кетонових тіл не було виявлено із перевірених 27 голів.

Корови в період глибокого сухостою, які кульгають, мають ризик до розвитку захворювань таких як кетоз, метрит, затримку плаценти, гіпокальціємію та зміщення сичуга. Тому велику увагу приділяють у господарстві всім тільним тваринам, особливо у перехідний сухостійний та післяродовий період.

У групі роздою 54 голови через сім діб після отелення у крові корів рівень кетонових тіл коливалась від 3,5 до 0,3 ммоль/л. На 14 добу після отелення

показники коливались від 2,4 до 0 ммоль/л. Різниця між початковими значеннями та кінцевими склала 25,6 %. Крім того, із 54 голови групи роздою мали ознаки клінічного кетозу 15 голів.

Так корова № 6852 на сьому добу після отелення мала вміст кетонових тіл на 80 % менше, порівняно із закінченням дослідження на 14 добу. Протягом всього експерименту рівень β -кетонів знизився у тварин № 0340 на 9,09 %, у № 6905 – на 33,33 %, у № 6266 – на 27,27 %, у № 3940 – на 35,71 %, № 6915 – на 69,56 %, № 2545 – на 46,15 %, № 3061 – на 64,28 %, №3891 – на 55,00 %, № 107 – на 100 %, № 6949 – на 62,50 %, № 2563 та № 7603 – на 66,66 %, № 7642 – на 57,89 %, порівняно початком дослідження.

Додатково лікувались 15 голів, вилікувалися 14 голів, у 1 корови відбувся рецидив хвороби. Також треба відмітити, що була достовірна різниця між аналогічними показниками початку та закінчення експерименту у групах глибокого сухостою та роздою після отелення. Всім тваринам в яких були підвищені показники кетонових тіл було призначено специфічне лікування препаратами на основі гепатопротекторів та мінеральних речовин, тварини краще підлягають відновленню, у них зменшується показник кетонових тіл, рецидиви зменшилися до мінімуму, всі тварини, в яких були підвищені кетонові тіла зберегли молочну продуктивність, після завершення лікування швидше набирали вагу. Загальний показник захворюваності становить 27 % із 100 %, ефективність лікування становить 73 %.

Висновок. Встановлено, що у корів в групі глибокого сухостою на відповідному раціоні вміст кетонових тіл коливався в межах норми від 0,2 до 1,0 ммоль/л. Після застосування пробіотику середній показник кетонових тіл по групі покращився на 17,80 %. Ефективність застосування пробіотику у групі сухостою складала 100 %.

У групі роздою через сім діб після отелення у крові корів рівень кетонових тіл коливався від 0,3 до 3,5 ммоль/л, рівень захворюваності складав 27 %. Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був в межах 2,4 до 0 ммоль/л, що складає зменшення на 25,6 %, порівняно з початком дослідження.

3.6. Дослідження метаболізму рубця у корів перехідного періоду

Перехідний період є серйозним випробуванням для корів. Забезпечення глюкозою не може задовольнити потреби, і жирові відкладення мобілізуються, що потенційно призводить до негативного енергетичного балансу, кетозу або жирової дистрофії печінки. Метою роботи було визначити вплив кетозу на вміст летких жирних кислот та глюкози у рубці корів сухостійного періоду та після отелення. Дослідженнями було встановлено, що рівень ацетату, пропіонату, бутирату та глюкози знижується, але концентрація лактату збільшилася у вмісті рубця корів перехідного періоду.

Були досліджені концентрації ЛЖК, а саме ацетату, пропіонату, бутирату та лактату у вмісті рубця, а також глюкози та кетонів у крові, і ці результати наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5.

Метаболічні зміни у вмісті рубця та крові корів транзитного періоду

Показники	Періоди								
	20 Доба до родів	14 Доба до родів	7 доба до родів	1 доба після отелення	7 доба після отелення	14 доба після отелення	20 доба після отелення	Корови з кетозом	Контроль (не тільні корови)
ацетат, ммоль/л	44,72± 3,41*	43,50± 2,73*	40,24± 2,30*	41,82± 3,52*	45,52 ± 2,81*	48,74± 2,5*	49,0± 3,22*	37,92± 2,40*	63,50 ± 2,21
пропіонат, ммоль/л	17,54± 2,41*	17,42± 3,20*	16,30± 2,81*	16,73± 2,22*	19,24 ± 2,21*	19,43 ± 1,50*	19,64 ± 2,10*	15,0 ± 1,92*	25,72 ± 2,0
бутират, мкмоль/л	8,12± 1,24	8,23 ± 1,30	7,0 ± 1,41*	7,34 ± 1,52*	8,51 ± 1,60	8,63 ± 1,42	8,80 ± 1,51	6,24 ± 1,22*	9,23 ± 1,53
лактат, ммоль/л	1,32 ± 0,22	1,45 ± 0,31	1,43 ± 0,52	2,83 ± 0,22*	5,34 ± 0,64*	4,32 ± 0,41*	4,24 ± 0,23*	4,33 ± 0,34*	1,25 ± 0,24
глюкоза, ммоль/л	3,21 ± 0,40	3,0 ± 0,22	2,83 ± 0,31*	2,52 ± 0,23*	2,24 ± 0,34*	2,15 ± 0,21*	2,23 ± 0,25*	1,83 ± 0,12*	3,23 ± 0,45
β-кетони, ммоль/л	0,56 ± 0,03	0,61 ± 0,04	0,83 ± 0,04	1,12 ± 0,05*	1,22 ± 0,04*	1,10 ± 0,03*	1,0 ± 0,05*	2,41 ± 0,05*	0,53 ± 0,04

Примітка: $p < 0,05^*$ порівняно з контрольною групою.

Порівняно з контрольною групою, концентрації ацетату та пропіонату значно знизилися у корів транзитного періоду та хворих на кетоз. Вміст у рубці ацетату був нижчий на двадцятую добу до родів на 29,62 %, на чотирнадцятую – на 31,49 %, на сьому – на 36,62 %, у корів з кетозом – на 40,28 %, порівняно з контрольною групою. Після отелення рівень ацетату підвищувався на першу добу – на 65,80 %, на сьому – на 71,68 %, чотирнадцятую – на 76,75 %, на двадцятую – на 77,16 %. Рівень пропіанату знижувався до родів у корів на двадцятую добу до родів на 31,80 %, на чотирнадцятую – на 32,27 %, на сьому – на 36,62 %, у корів з кетозом – на 41,67 %. У період роздій після отелення вміст пропіанату підвищувався на першу добу – на 65,04 %, на сьому – на 74,80 %, чотирнадцятую – на 75,54 %, на двадцятую – на 76,36 %, порівняно з контролем.

Складність підвищених потреб в енергії ближче до отелення посилюється тим, що споживання сухої речовини починає знижуватися приблизно за три тижні до родів і різко знижується протягом останнього тижня. Таким чином, концентрація глюкози в крові відіграє важливу роль у підтримці енергетичного балансу.

У жуйних тварин більша частка глюкози забезпечується шляхом глюконеогенезу. Леткі жирні кислоти з рубця транспортуються в печінку та піддаються глюконеогенезу. Таким чином, тварина швидко відновлює рівень глюкози у крові. Пропіонат є найважливішим субстратом для глюконеогенезу, а концентрація пропіонату в рубці залежить від кількості та типу бактерій, що генерують пропіонат.

Протягом останніх чотирьох тижнів вагітності потреби дійних корів в енергії збільшується на 23 % для підтримки росту плода та вагітної матки. З сьомої доби до родів та одразу після отелення поглинання глюкози молочною залозою збільшується. Вміст бутирату до родів мав тенденцію до зниження на двадцятую добу на 12,02 %, на чотирнадцятую – на 10,83 %, на сьому – на 24,16 %, у корів з кетозом – на 32,39 %. Однак після отелення вміст бутирату поступово підвищувався на першу добу на 79,52 %, на сьому – на 92,19 %, на чотирнадцятую – на 94,49 %, на двадцятую – на 95,34 %.

Мікрофлора рубця ферментує лактат до ацетату, пропіонату та бутирату. Однак зниження кількості корисної мікрофлори та кетоз негативно впливають на перетворення лактату (молочної кислоти). У групі корів глибокого сухостою вміст лактату був вище за контроль на двадцятую добу 5,50 %, на чотирнадцяту – на 16,0 %, на двадцятую – на 14,40 %. Після отелення рівень лактату суттєво збільшився на першу добу – на 126,40 %, на сьому – на 327,20 %, на чотирнадцяту – на 245,60 %, на двадцятую – на 239,20 % у корів з кетозом – на 246,40 %.

Концентрація глюкози була нижчою протягом транзитного періоду та у корів з кетозом, ніж у контролі. Вміст глюкози в крові корів на двадцятую добу до отелення знизився на 0,60 %, на чотирнадцяту – на 7,12 %, на двадцятую – на 12,38 % та у групі кетозу – на 43,34 %. Після родів у корів рівень глюкози поступово підвищувався на першу добу на 78,01 %, на сьому – на 69,34 %, на чотирнадцяту – на 66,56 %, на двадцятую – на 69,04 %, порівняно до контролю.

Пропіонат є найважливішим компонентом для глюконеогенезу, а концентрація пропіонату в рубці залежить від кількості мікроорганізмів, що ферментують пропіонат. У цьому дослідженні концентрація глюкози була нижчою протягом перехідного періоду та у корів з кетозом, ніж у корів, які не перебували в перипартальному періоді.

Основною причиною гіпоглікемії може бути порушення мікробіому рубця, що призводить до зниження утворення пропіонату, що потенційно сприяє розвитку кетозу. Тому можна зробити висновок, що ознаки кетозу можна зменшити або уникнути шляхом регуляції мікробної ферментації, зокрема шляхом збільшення кількості корисної мікрофлори рубці.

Рівень β -кетонів в крові тільних корів збільшився на сьому добу на 5,66 %, на чотирнадцяту – на 15,09 %, на двадцятую – на 56,60 %. Також значно збільшився вміст кетонових тіл на першу добу після отелення на 111,32 %, на сьому – на 13,19 %, на чотирнадцяту – на 107,54 %, на двадцятую на 88,79 % та у корів хворих на кетоз на 303,77 %, порівняно з контрольною групою.

№ з/п	Початок досліджу	Показники							
	Кінець досліджу	Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	Глобуліни, г/л	Альбуміни, %	Глобуліни, %	(А/Г), од	Сечовина, ммоль/л	Азот сечовини, мг/дл
№ тварини		СОП-БП-02-2017	СОП-БП-25-2018	Розрахунок				СОП-БП-03-2017	Розрахунок
1	6905	75,09 ±0,45	35,42 ±0,68*	40,67 ±0,33	46,45 ±0,62*	53,63 ±0,80*	0,84 ±0,04	8,26 ±0,50*	22,43 ±0,48*
		74,90 ±0,09	31,61 ±0,96	42,34 ±1,13	42,33 ±0,54	57,50 ±0,43	0,76 ±0,06	5,37 ±0,61	14,69 ±0,73
		86,80 ±0,81*	31,40 ±0,58	55,20 ±0,50*	36,75 ±0,39	63,33 ±0,37*	0,58 ±0,01*	6,35 ±0,04*	17,72 ±0,15
2	6852	73,54 ±0,76	33,35 ±0,47	40,66 ±0,85	45,24 ±0,43*	54,81 ±0,51	0,82 ±0,01	6,96 ±0,07	19,48 ±0,29
		79,48 ±0,30*	33,55 ±0,28	45,62 ±0,34	42,37 ±0,31	57,53 ±0,39	0,73 ±0,04	8,43 ±0,28	23,45 ±0,37

Продовження таблиці 3.6.

		72,88 ±0,36	32,59 ±0,37	40,60 ±0,85	43,62 ±0,57	56,03 ±0,67	0,76 ±0,06	8,21 ±0,14	23,26 ±0,39
4	7642	81,35 ±0,33*	31,18 ±0,41*	50,42 ±0,46*	38,26 ±0,40*	61,67 ±0,69*	0,63 ±0,05*	5,87 ±0,33	16,57 ±0,43
		89,19 ±0,47	23,92 ±0,19	65,17 ±0,62	26, 80 ±0,75	73,11 ±0,56	0,37 ±0,02	6,31 ±0,53	17,31 ±0,50
5	6187	72,24 ±0,61*	36,42 ±0,54	35,63 ±0,83*	50,20 ±0,65*	49,84 ±0,77*	1,01 ±0,01	7,98 ±0,30*	22,18 ±0,42*
		75,63 ±0,37	32,33 ±0,48	43,31 ±0,46	42,67 ±0,71	57,36 ±0,53	0,73 ±0,04	6,18 ±0,44	17,26 ±0,49
6	2563	68,39 ±0,40*	30,70 ±0,71*	37,73 ±0,68*	44,88 ±0,18*	55,42 ±0,47*	0,83 ±0,05*	6,83 ±0,18	19,11 ±0,68
		95,70 ±0,18	24,77 ±0,72	71,08 ±0,48	25,63 ±0,41	74,22 ±0,43	0,35 ±0,04	6,53 ±0,40	18,13 ±0,93
7	3891	63,39 ±0,56*	31,81 ±0,21	31,77 ±0,53*	49,57 ±0,41*	50,26 ±0,80*	0,95 ±0,15	5,14 ±0,40	14,51 ±0,47*
		87,08 ±0,69	31,12 ±0,39	55,79 ±0,29	35,64 ±0,58	64,42 ±0,54	0,56 ±0,12	4,32 ±0,39	11,49 ±0,32
Референтні значення		59-85	27-43	25-45	38-50	50-62	0,6-1,1	3,30-6,70	8-20

Примітка: * – $p \leq 0,05$, порівняно до початку дослідження.

Встановлено, що у корови № 6905 рівень альбуміну був вірогідно вищий на 10,7 %, порівняно з початком закінченням досліджень, але в межах фізіологічної норми. Вміст сечовини та азоту сечовини був підвищеним на 34,98 % і виходив за межі референтного рівня. На початку дослідження фермент АСТ був вірогідно вище на 24,18 %, порівняно з завершенням лікування. Низький рівень альбуміну зазвичай вказує на печінкову недостатність.

Вітамінно-мінеральний обмін у тварини № 6905 був у межах фізіологічної норми, а вміст вітаміну А збільшився на завершення дослідження на 6,81 %. У

корови № 6852 рівень загального білка, глобулінів та альбумінів був вище допустимих меж референтного рівня на початку лікування. По завершенню дослідження всі показники повернулись до норми. Початкові дослідження у корови № 6852 були вірогідно вищі вміст загального білка на 11,04 %, глобулінів – на 8,52 %, альбумінів – на 14,54 %. Рівень сечовини та азоту сечовини був вищий на 9,60 – 9,93 % відповідно.

Рівень ферменту АСТ був вищий референтного рівня на початку дослідження. По завершенню експерименту рівень АСТ вірогідно зменшився на 12,95 %. Однак рівень АЛТ на початку лікування був нижчий на 50,34 %, порівняно з даними через сім діб. Це доводить, що рівень АЛТ пов'язаний із проявами кетозу у корів і може коливатися протягом лікування.

Вміст кальцію та фосфору в сироватці крові тварини був в межах фізіологічної норми і практично на відрізнявся протягом всього періоду дослідження. Рівень Калію в крові корови № 6852 на момент завершення дослідження збільшився на 30,52 % і виходив за верхню межу референтного рівня. Крім того, збільшився вміст вітаміну Е на 56,30 %, вітаміну А – на 10,42 % та вітаміну D – на 29,27 % вірогідно. Треба вказати, що рівень Магнію в сироватці крові тварин хворих на кетоз був у межах фізіологічної норми.

Таблиця 3.7

Біохімічні дослідження сироватки крові корів, $M \pm m$, $n=3$

№ з/п	Початок дослідження	Показники						
	Закінчення дослідження	Заг. Холестерин ммоль/л	АСТ, од/л	АЛТ, од/л	(АСТ/АЛТ), од	Загальний Са, ммоль/л	Неорганіч. Р, ммоль/л	Са/Р, од
№ тварини		СОП-БП-07-2017	СОП-БП-09-2017	СОП-БП-08-2017	Розрахунок	СОП-БП-05-2017	СОП-БП-04-2017	Розрахунок
1	6905	5,81 ±0,47	106,45 ±3,07*	30,85 ±1,05	2,74 ±0,25	2,20±0,16	2,27±0,41	1,19±0,13
		3,51 ±0,48	80,70 ±0,84	31,687 ±0,49	3,41 ±0,35	1,98±0,26	1,79±0,13	1,11±0,06

Продовження таблиці 3.7

2	6852	3,08 ±0,52	113,22 ±1,52*	18,97 ±1,19*	6,14 ±0,77*	2,93±0,14	1,93±0,18	1,54±0,40
		4,44 ±0,41	98,55 ±3,33	28,52 ±1,00	3,38 ±0,54	2,19±0,32	2,01±0,12	1,08±0,04
3	6915	4,13 ±0,47	108,47 ±4,84	24,68 ±0,54*	4,42 ±0,58	2,84±0,09	2,04±0,26	1,36±0,36
		3,10 ±0,35	101,18 ±1,17	27,16 ±0,45	3,70 ±0,22	2,13±0,30	1,88±0,20	1,18±0,37
4	7642	2,76 ±0,52	91,64 ±3,84	25,50 ±0,46*	3,65 ±0,25	2,48±0,26	2,30±0,28	1,08±0,05
		2,12 ±0,48	85,51 ±1,00	17,86 ±0,77	4,54 ±0,72	1,68±0,31	2,20±0,29	0,74±0,03
5	6187	5,62 ±0,92	147,4 ±2,46*	33,37 ±0,45	4,33 ±0,51*	2,42±0,28	2,06±0,37	1,16±0,34
		5,02 ±0,58	67,32 ±0,51	32,52 ±0,57	2,09 ±0,21	2,11±0,55	2,04±0,38	1,07±0,05
6	2563	2,09 ±0,54	113,26 ±1,55*	15,33 ±0,42	7,36 ±0,75*	1,85±0,28	2,04±0,18	0,95±0,10
		2,31 ±0,47	78,96 ±0,88	16,28 ±1,03	4,72 ±0,45	2,06±0,51	2,02±0,17	1,07±0,17
7	3891	1,88 ±0,46*	90,70 ±1,44*	17,54 ±0,40*	5,14 ±0,55	2,03±0,48	2,37±0,34	0,88±0,16
		4,39 ±0,58	79,81 ±0,7	20,81 ± 0,58	3,83 ±0,66	2,13±0,67	2,12±0,19	1,04±0,04
Референтні значення		2,20-6,60	48-108	17-40	1,0-3,4	1,98-3,12	1,50-2,90	1,1-1,6

Примітка: * – $p \leq 0,05$, порівняно до початку дослідження.

На сьому добу після отелення корова № 6915 мала підвищений рівень загального білка на 8,30 %, вірогідно за рахунок дисбалансу в бік глобулінів на 15,16 %, порівняно з альбуміном. Через сім діб використання преміксу на основі пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* LA 56 рівень глобулінів зменшився на 11,00 %. Рівень сечовини був високим і виходив за верхню межу фізіологічної норми. По завершенню експерименту вміст сечовини та азоту

сечовини зменшився на 2,60 % та 0,82 % відповідно, однак показники все ще виходили за референтні межі. Рівень АСТ в сироватці крові корови №6915 на початку дослідження був вищий на 10,63 %. Через сім діб АЛТ навпаки збільшився на 10,04 %. При цьому співвідношення АСТ/АЛТ було вище на 16,28 % і виходило за межі референтного рівня. Рівень кальцію та фосфору був у межах норми протягом всього періоду дослідження. Також на 14 добу дослідження збільшився рівень Калію на 33,74 %, вітаміну Е – на 55,18 %, вітаміну А – на 8,46 та вітаміну D – на 15,18 %, однак все в межах фізіологічної норми.

Треба зауважити, що в проведених дослідженнях вміст загального холестерину в сироватці крові хворих на кетоз корів протягом всього періоду лікування коливався у корів № 6905, № 6852 та № 6915 і не виходив за межі референтного рівня. Виняток склали тварини № 2563 та № 3891, яких на початку дослідження рівень холестерину був нижчий на 10,52 % та 133,51 % відповідно, що вказує на відновлення роботи печінки. Також у тварини № 7642 рівень холестерину на кінець дослідження зменшився на 23,18 %. При цьому рівень АСТ у тварини № 7642 знизився по завершенню дослідження на 6,68 %, АЛТ – на 29,96 % вірогідно, загального Са – на 3,25 %, неорганічного Р – на 4,34 %. Також у корови № 7642 вміст загального білка зменшився на 9,63 %, альбуміну – на 23,28 %, збільшився глобуліну – на 29,25 %, порівняно з початком дослідження. Вміст глобулінів виходив за верхню допустиму межу референтного рівня на початку та по завершенню дослідження. Також у тварини вміст Калію та Магнію не змінювався протягом досліджень, підвищився вітаміну Е на 25,53 %, вітаміну А – на 4,94 %, знизився вітаміну D – на 44,09 % (нижче референтного рівня), порівняно до початку. Отримані результати вказують на важку метаболічну адаптацію у корови № 7642 під час перехідного періоду.

Загальна частота кетозу у молочних корів складає 26 % з всіх обстежених тварин. До групи хворих на кетоз тварин увійшли корови з кондицією тіла більше трьох балів, у яких також спостерігали такі ускладнення як затримку плаценти та метрит.

У тварини № 6187 рівень загального білка збільшився на 4,69 %, глобулінів на 21,55 %, зменшився альбумінів – на 11,23 %, Показник вмісту сечовини був підвищений на 22,55 % та азоту сечовини – на 22,18 %, порівняно з початком досліджень та вище референтного рівня.

Таблиця 3.8

Вітаміно-мінеральний склад крові корів

№ з/п	Початок дослідження	Показники				
	Закінчення дослідження	Магній, ммоль/л	Калій, ммоль/л	Вітамін Е, мкг/мл	Вітамін А, мкг%	Вітамін D (25ОН), нг/мл
№ тварини		СОП-БП-06-2017	СОП-БП-11-2017	СОП-БП-12-2018	СОП-БП-14-2018	СОП-БП-18-2020
1	6905	1,02±0,05	4,15±0,58	3,19±0,51	44,48±0,82*	22,07±0,38
		1,03±0,04	4,56±0,36	4,30±0,74	47,52±0,55	22,54±0,56
2	6852	1,11±0,08	4,39±0,37	3,41±0,35	45,10±0,63*	32,55±0,61*
		0,88±0,23	5,73±0,72	5,33±0,74	49,80±0,95	23,02±0,64
3	6915	1,01±0,09	4,15±0,14	3,43±0,35	44,43±0,45*	36,16±0,53*
		0,95±0,15	5,55±0,70	5,27±0,78	48,19±0,52	41,65±0,42
4	7642	1,08±0,20	5,03±0,87	3,87±0,84	44,25±0,34	22,52±0,64
		1,06±0,07	5,18±0,79	4,86±0,41	46,44±0,73	12,59±0,36
5	6187	0,97±0,12	4,92±0,53	3,62±0,24	44,93±0,63*	20,06±0,55
		0,90±0,14	5,60±0,70	4,72±0,57	47,94±0,54	22,35±0,66
6	2563	1,10±0,31	3,73±0,32	3,16±0,24	43,76±0,94*	43,0±0,89*
		0,79±0,07	5,62±0,71	4,90±0,65	49,19±0,63	24,94±0,51
7	3891	1,01±0,23	4,07±0,55	3,00±0,33	46,19±0,67	55,06±0,60*
		0,95±0,14	6,40±1,02	5,20±0,82	48,16±0,58	16,67±0,74
Референтні значення		0,70-1,23	4,0-5,3	2,0-9,0	25,0-80,0	20-50

Примітка: * – $p \leq 0,05$, порівняно до початку дослідження.

Рівень загального білка у тварини № 2563 збільшився на 39,93 %, ймовірно за рахунок глобулінів – на 88,39 %, при цьому знизився вміст альбумінів – на 19,31 %. Вміст сечовини та азоту сечовини зменшився на 4,39 % та 10,71 % відповідно. Показники виходили за межі референтного рівня.

По закінченню експерименту рівень ферменту АСТ знизився на 30,28 %, а АЛТ збільшився на 6,19 %. На початку дослідження рівень АСТ та АЛТ виходив за межі фізіологічної норми. Вміст загального Са був нижчим за допустимі показники на початку дослідження на 11,35 %, порівняно з закінченням лікування. Також у корови № 2563 рівень Калію збільшився на 50,67 %, вітаміну Е – на 55,06 %, вітаміну А – на 12,40 % та зменшився вітаміну D – на 42,00 %.

На період завершення дослідження у корови № 3891 збільшився вміст загального білка на 37,37 %, глобулінів – на 75,60 % і виходив за межі референтного рівня. Вірогідно зменшився рівень сечовина на 15,95 % та азоту сечовини – на 20,81 %, порівняно з початком досліджень. Рівень ферменту АСТ зменшився на 12,0 %, АЛТ збільшився – на 18,64 %, СА/Р співвідношення – на 18,18 %, порівняно з початком дослідження. Вміст Калію суттєво збільшився на 57,27 %, вітаміну Е – на 73,33 %, вітаміну А – на 4,26 %, зменшився вітаміну D – на 30,23 %.

За результатами проведених досліджень доведений позитивний ефект від застосування коровам хворим на кетоз пробіотику на основі *Bacillus pumilus* L A 56 в концентрації 1×10^9 , КУО/г у сухостійний період 30 г на тварину, та 35 г на тварину після отелення.

Висновок. Загальний показник захворюваності в групі роздою після отелення складав 27 % із 100 %, терапевтична ефективність застосування пробіотику становить 73 %. Додаткового лікування потребували 15 корів із 54, повністю одужали 14 голів, у однієї тварини був рецидив захворювання.

Дослідження метаболічних зрушень в організмі корів показали, що рівень сечовини був високим і виходив за верхню межу фізіологічної норми. На

початку дослідження у корів був підвищений вміст загального білка на 8,30–11,04 %, глобулінів – на 8,52–11,00 %, альбумінів – на 10,7–14,54 %. По завершенню експерименту вміст сечовини та азоту сечовини зменшився на 2,60–0,82 %. Рівень АСТ в сироватці крові корів на початку дослідження був вищий на 6,68–10,63 %. Через сім діб застосування пробіотику АЛТ збільшився на 10,04–29,96 %. Вміст Са, Р та вітаміну D знизився протягом лікування, однак відновився рівень Калію, вітамінів А та Е.

3.8 Вплив *Bacillus pumilus* L A 56 на фекальний мікробіом корів при кетозі

Проблема субклінічного кетозу виникає у корів сухостійного періоду через не збалансований раціон. Особливо сильно збільшуються симптоми у період глибокого сухостою через припинення лактації та одразу після отелення. З розвитком сучасних методів молочного скотарства спостерігається стійке зростання світового виробництва молока. Тим не менш, це збільшення створює значні ризики для здоров'я молочних корів після родів. Після родів молочні корови відчують стрес, знижене споживання корму та підвищені потреби в енергії для лактації, що призводить до фізіологічних змін, таких як негативний енергетичний баланс, ендокринний дисбаланс, змінена ферментація в рубці та пригнічення. Негативний енергетичний баланс може призвести до метаболічних порушень, таких як кетоз та жирова дистрофія печінки, які не тільки знижують надій молока, але й скорочують тривалість життя корів, негативно впливаючи на прибутковість ферми. За результатами огляду хворих корів було встановлено, що у них спостерігаються гіпотонія рубця, діарея, в'ялість, зниження апетиту, залежування. Тому на початку дослідження визначали склад фекальної мікрофлори у корів хворих на кетоз (рис. 3.5).

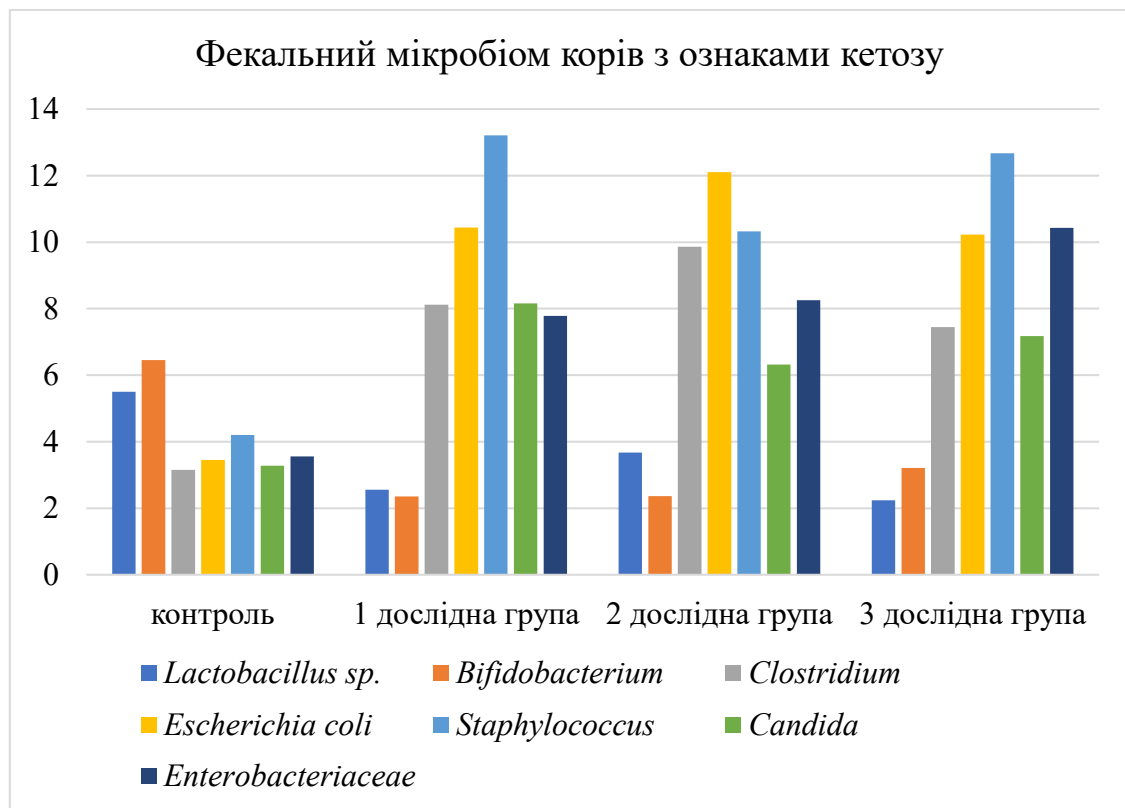


Рис.3.5. Склад фекального мікробіому корів, хворих на кетоз. Концентрація мікроорганізмів в 1 см³ ($\times 10^5$).

В результаті проведених досліджень встановлено, що кількість корисної мікрофлори зменшена, порівняно з контрольною групою здорових корів. У першій дослідній групі вміст *Lactobacillus sp.* був знижений на 53,45 %, у другій – на 33,27 %, у третій – на 59,27 %, порівняно з результатами в контролі. Рівень *Bifidobacterium* був нижчий у хворих на кетоз корів першої дослідної групи на 63,56 %, у другої – на 63,41 %, у третьої – на % 50,23 %. При цьому підвищувався рівень умовно патогенної мікрофлори в фекальних масах. Вміст *Clostridium* був вище у першій дослідній групі на 157,77 %, у другій – на 213,01 %, у третій – на 136,50 %.

Кількість бактерій *Escherichia coli* була збільшена, порівняно з контролем, у першій групі на 202,60 %, у другій – на 250,72 %, у третій – на 196,52 %. Вміст *Staphylococcus* також був вищим у першій групі на 214,52 %, у другій – на 145,71 %, у третій – на 201,66 %. Вміст мікроскопічних грибів *Candida* був вище у першій дослідній групі на 148,78 %, у другій – на 92,68 %, у третій – на

118,90 %, порівняно з показниками у здорових корів. Умовно патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) мали більшу концентрацію у тварин першої дослідної групи на 118,53 %, другої – на 131,74 %, третьої – на 192,97 %, порівняно з контролем.

У зв'язку з виявленням у корів субклінічного кетозу було вирішено застосувати експериментальне лікування із використанням *Bacillus pumilus* L A 56 у різних концентраціях, які поступово збільшували до досягнення терапевтичного ефекту. Пробіотик згодовували тваринам разом із стандартним раціоном для дійних корів. Досліджували зміну складу фекального мікробіому у корів хворих на кетоз та за використання пробіотику (рис. 3.6).

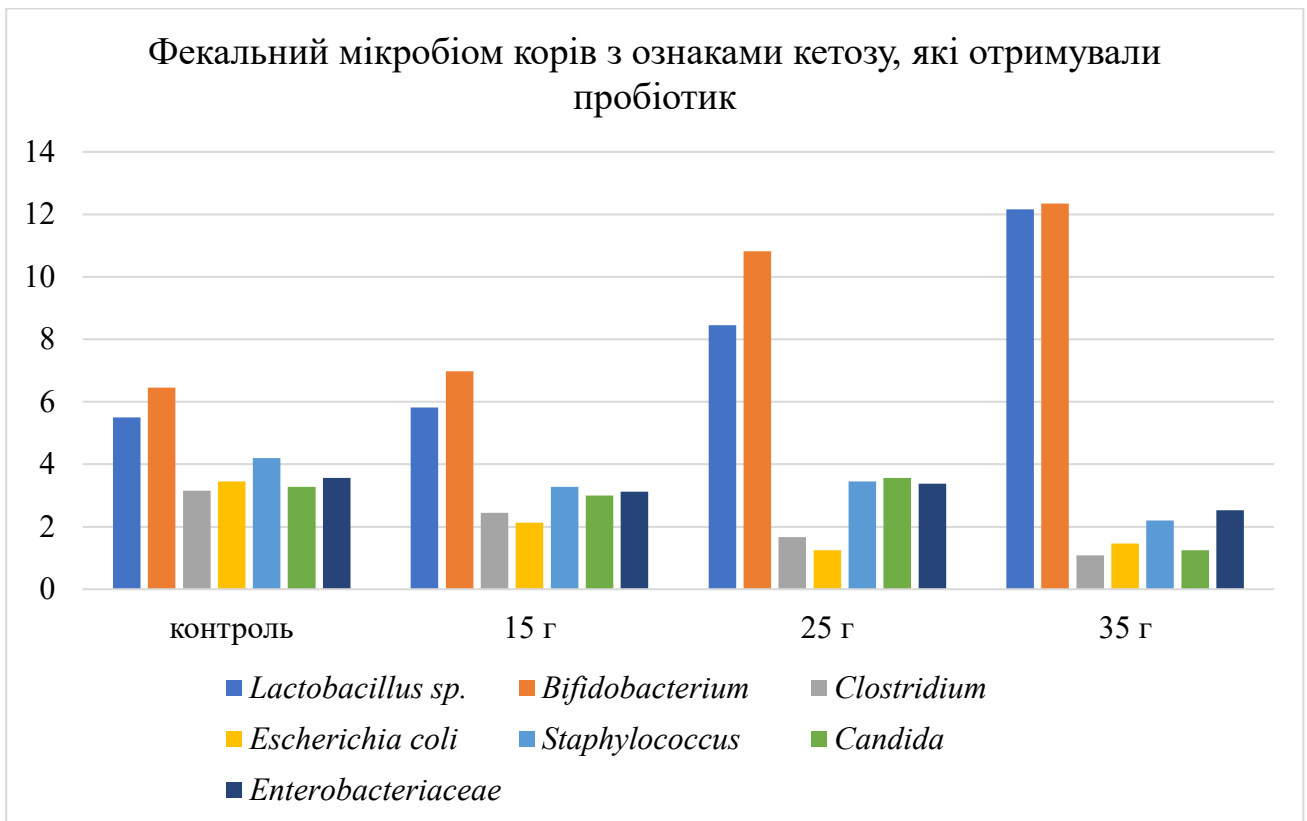


Рис. 3.6. Вплив *Bacillus pumilus* L A 56 на формування мікрофлори шлунково-кишкового тракту корів хворих на кетоз. Концентрація мікроорганізмів в 1 см³ ($\times 10^5$).

Застосування пробіотику в дозі 15 г сприяло збільшенню корисної мікрофлори, а саме *Lactobacillus sp.* на 5,81 % та *Bifidobacterium* на 8,21 % порівняно з контрольною групою. Пробіотик проявив антагоністичну дію

стосовно умовно-патогенної мікрофлори. Вміст *Clostridium* знизився на 22,22 %, *Escherichia coli* на 38,26 %, *Staphylococcus* – на 21,90%, грибки *Candida* – на 8,53 %, *Enterobacteriaceae* – на 12,35 %, порівняно з показниками у здорових тварин.

Збільшення концентрації пробіотику до 25 г на тварину позитивно вплинуло на збільшення *Lactobacillus sp.* на 53,63 % та *Bifidobacterium* на 67,75 %. А також сприяло пригніченню *Clostridium* на 46,98 %, *Escherichia coli* на 63,76 %, *Staphylococcus* – на 17,85%, грибки *Candida* – на 8,53 %, *Enterobacteriaceae* – на 5,05 %, порівняно з контролем.

Найбільш виражений позитивний ефект на мікробіом кишечника був отриманий при збільшенні концентрації пробіотику до 35 г. В результаті дослідження вміст *Lactobacillus sp.* був більше на 121,09 % та *Bifidobacterium* на 91,47 % порівняно зі здоровими коровами. Також відбулось пригнічення умовно-патогенної мікрофлори *Clostridium* – на 65,71 %, *Escherichia coli* – на 57,68 %, *Staphylococcus* – на 47,61 %, *Candida* – на 61,89 %, *Enterobacteriaceae* – на 28,93 %, порівняно з контролем.

Висновок. Встановлено, що у корів з ознаками кетозу відбувається зміна складу мікробіому. Спостерігали зниження корисної мікрофлори *Lactobacillus sp.* у першій групі на 53,45 %, у другій – на 33,27 %, у третій – на 59,27 %, порівняно з результатами в контролі; *Bifidobacterium* у корів першої дослідної групи на 63,56 %, у другої – на 63,41 %, у третьої – на % 50,23 %. Водночас відбулось підвищення вмісту умовно-патогенної мікрофлори, порівняно з мікробіотою здорових корів.

Встановлений терапевтичний ефект *Bacillus pumilus L A 56* (1×10^9 КУО/г) на тварину у корів з ознаками кетозу. Після застосування пробіотику, залежно від дози, збільшилась кількість корисної мікрофлори: за застосування 15 г – *Lactobacillus sp.* на 5,81 % та *Bifidobacterium* на 8,21 %; 25 г – *Lactobacillus sp.* на 53,63 % та *Bifidobacterium* на 67,75 %; 35 г – *Lactobacillus sp.* на 121,09 % та *Bifidobacterium* на 91,47 %. Відбулось одночасне зниження рівня умовно-патогенної мікрофлори за використання пробіотику 15 г – *Clostridium* знизився

на 22,22 %, *Escherichia coli* на 38,26 %, *Staphylococcus* – на 21,90%, грибки *Candida* – на 8,53 %, *Enterobacteriaceae* – на 12,35 %; 25 г – *Clostridium* на 46,98 %, *Escherichia coli* на 63,76 %, *Staphylococcus* – на 17,85%, грибки *Candida* – на 8,53 %, *Enterobacteriaceae* – на 5,05 %; 35 г – *Clostridium* – на 65,71 %, *Escherichia coli* – на 57,68 %, *Staphylococcus* – на 47,61 %, *Candida* – на 61,89 %, *Enterobacteriaceae* – на 28,93 %.

3.9. Визначення продуктивності корів при кетозі за використання пробіотику

Коровам у групі роздою після отелення, хворим на кетоз, разом з концентрованими кормами задавали спори *Bacillus pumilus* L A 56 (1×10^9 , КУО/г,) в дозі 35 г на тварину протягом 30 діб. Визначали вміст β -кетонів у крові корів на початку дослідження, на 14 та 28 добу застосування пробіотику (рис. 3.7).

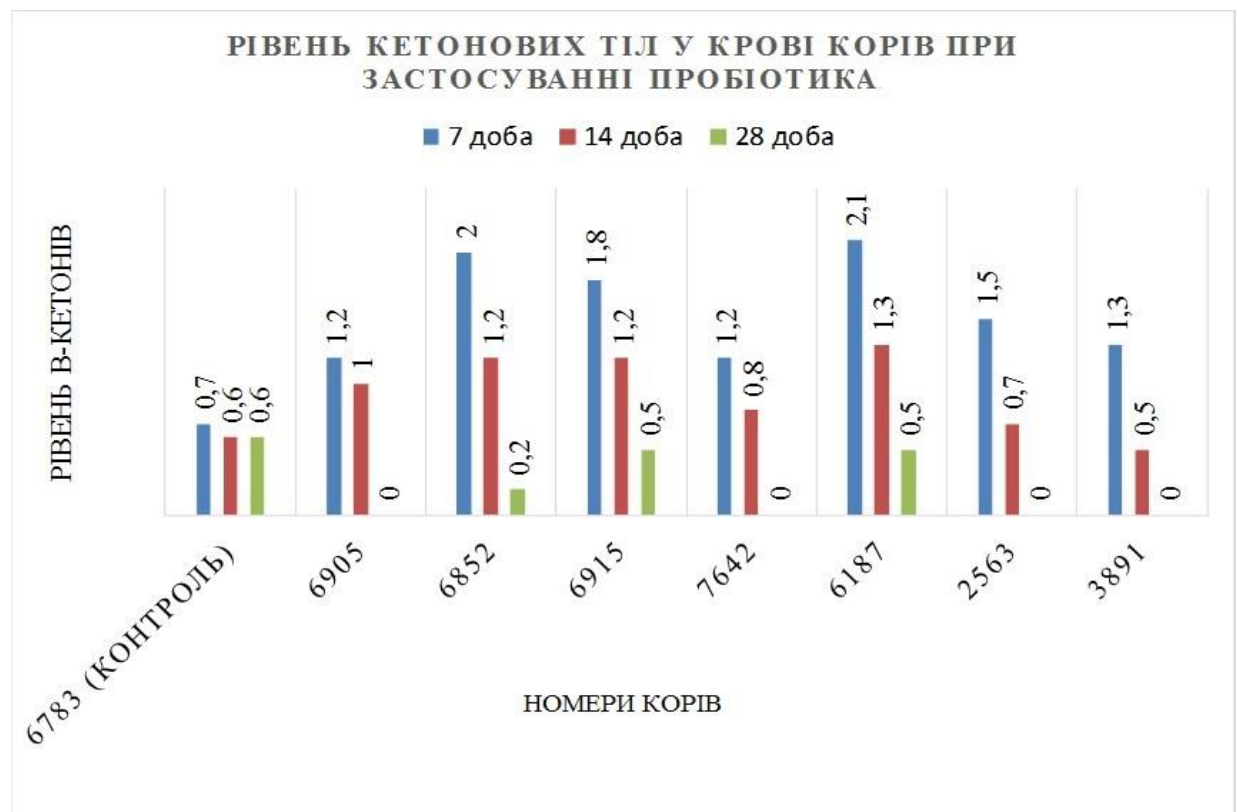


Рис. 3.7. Вміст β -кетонів у молоці корів при лікуванні пробіотиком.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що рівень β -кетонів у контролі був у межах норми (до 1,0 ммоль/л). У корови 6905 вміст кетонових тіл був підвищений на сьому добу на 71,42 %, на 14 – на 66,67 %, порівняно з контролем.

По завершенню дослідження на 28 добу рівень кетонів дорівнював 0. На початок експерименту у корови 6852 рівень β -кетонів був підвищений на 185,71%, на 14 добу – на 100 %, знижений на 28 добу – на 66,67 %. Рівень кетонових тіл на сьому добу у корови 6915 був підвищений на 157,14 %, на 14 добу – на 100 %, на 28 добу знизився – на 16,67 %, порівняно з контролем.

У корови 7642 на початку досліджень був підвищений вміст кетонів на 171,42 %, на 14 добу – на 33,33 %, на 28 добу – знизився до 0. На сьому добу експерименту вміст β -кетонів у корови 6187 був збільшений на 200 %, на 14 добу – на 116,67 %, знизився на 28 добу на 16,67 %.

У корови 2563 рівень кетонів через тиждень після отелення вміст кетонів мав підвищений рівень на 114,28 %, на 14 добу – на 16,65%, знизився до 0 по завершенню дослідження. На початку лікування у корови 3891 рівень β -кетонів був на 85,71 % більше, на 14 добу менше – на 16,67 %.

На момент завершення експерименту рівень β -кетонів наблизився до 0. Проведений експеримент продемонстрував ефективність *Bacillus pumilus* L A 56 при кетозі корів групи роздою після отелення.

Під час проведення експерименту визначали якість отриманого молока та молочну продуктивність (табл.3.9).

З наведених даних можна зробити висновок, що у здорової тварини в контролі продуктивність на 14 добу експерименту збільшилась на 8,39 %, на 28 добу – на 12,37 %, порівняно з початком.

Таблиця 3.9

**Продуктивність корів (група роздою після отелення) при застосуванні
Bacillus pumilus, (M±m), n=5**

№ тварин	№ лактації	Продуктивність, кг/добу	Кислотність молока, Th°	КМАФАнМ, тис. КУО/см ³	КСК, тис/см ³
6783 (контроль)	2	26,34±0,25	17,23±0,12	119,44±5,58	471,40±14,23
7 доба після отелення					
14 доба після отелення					
28 доба після отелення	2	28,55±0,32	16,59±0,23	108,65±3,77	385,65±5,80
28 доба після отелення	2	29,60±0,34	16,32±0,12	100,00±5,39	290,20±5,57
6905	2	20,43±0,45*	19,27±0,45	521,24±10,08*	733,18±38,95*
7 доба після отелення					
14 доба після отелення					
28 доба після отелення	2	24,95±0,75*	18,12±0,45	236,86±8,76*	430,40±10,93
28 доба після отелення	2	29,36±0,23	17,34±0,10	81,60±2,65*	199,10±34,14
6852	2	18,43±0,45*	19,35±0,22	615,45±9,72*	651,45±5,96*
7 доба після отелення					
14 доба після отелення					
28 доба після отелення	2	22,64±0,38*	18,50±0,56	371,00±9,77*	498,84±20,72
28 доба після отелення	2	27,39±0,54	17,23±0,19	76,66±2,44*	261,2±4,65
6915	3	21,56±0,56*	19,31±0,25	464,82±5,97*	565,25±35,86*
7 доба після отелення					
14 доба після отелення					
14 доба після отелення	3	24,75±0,76*	18,07±0,35	268,83±4,37*	420,00±30,54

Продовження таблиці 3.9

28 доба після отелення		29,59±0,39	17,54±0,45	67,70±1,34*	284,64±19,03
7642	3				
7 доба після отелення		25,12±0,28	19,34±0,32	367,98±6,30*	585,12±18,95*
14 доба після отелення		28,27±0,56	19,34±0,12	300,07±5,18*	343,21±12,67*
28 доба після отелення		32,50±0,49	16,37±0,18	80,70±1,65*	275,20±16,05
6187	3				
7 доба після отелення		20,32±0,42*	19,32±0,46	605,76±9,38*	593,60±17,55*
14 доба після отелення		22,45±0,34*	18,12±0,30	435,10±8,12*	298,64±16,83*
28 доба після отелення		28,58±0,76	17,22±0,22	73,38±1,39*	222,85±19,81
2563	2				
7 доба після отелення		19,36±0,45*	18,12±0,20	556,21±9,60*	723,08±38,29*
14 доба після отелення		23,12±0,63	18,23±0,09	255,30±5,75*	295,23±19,53
28 доба після отелення		29,56±0,36	16,34±0,34	90,44±2,48*	253,45±19,73*
3891	3				
7 доба після отелення		20,28±0,65*	18,05±0,34	355,22±8,29*	670,65±39,11
14 доба після отелення		25,61±0,39	17,30±0,25	216,00±6,16*	334,24±24,63
28 доба після отелення		30,36±0,68	16,34±0,54	92,59±3,34*	244,45±16,64

Примітка: * $P \leq 0,05$ порівняно до контролю

Кислотність молока знаходилась у межах нормативних показників і не мала значних коливань протягом місяця. Вміст мікроорганізмів у молоці корів та соматичних клітин вказує на наявність запалення вимені. У контролі КМАФАнМ зменшився на 14 добу досліджень на 9 %, на 28 добу – на 16,27 %. На 14 добу експерименту КСК зменшилось на 18,19 % та на 28 добу – на 38,43 %, порівняно з початком експерименту. Отримані результати показують, що молоко у контролі придатне для споживання та відповідає гатунку «екстра».

У хворої на кетоз корови **6905** продуктивність на початок проведення експерименту була на 22,43 % менше, на 14 добу на 12,60 %, порівняно з контролем ($P \leq 0,05$). По завершенню експерименту на 28 добу продуктивність була аналогічно показникам здорової корови. Титрована кислотність молока знаходилась у референтних межах, однак на момент завершення експерименту її показник знизився на 10 %, порівняно з початком. Мікробне забруднення молока у корови **6905** було вірогідно більше ($P \leq 0,05$) на сьому добу на 336,4 %, на 14 добу – на 118 %, вірогідно менше на 28 добу – на 18,4 %, порівняно з контролем. Кількість соматичних клітин була вірогідно більше ($P \leq 0,05$) на сьому добу досліджень на 55,53 %, на 14 добу – на 11,6 %, менше на 28 добу – на 31,39 %, порівняно з контролем.

Отриманий результат демонструє позитивний вплив пробіотику *Bacillus pumilus* L A 56 на зменшення у молоці факторів запального процесу: кількість мікроорганізмів та вміст соматичних клітин.

У корови в досліді **6852** продуктивність на початок досліджень була менше на 30 %, на 14 добу на – 20,7 %, на 28 добу – на 7,4 %, порівняно з контролем. Титрована кислотність молока не виходила за нормативні показники, а на 28 добу експерименту зменшилась на 10 %. Кількість мікроорганізмів у молоці була більше ($P \leq 0,05$) на початку дослідження на 415,27 %, на 14 добу – на 241,46 %, але мала тенденцію до зниження на 28 добу – на 23,34 %, порівняно до контрольної тварини. На момент початку

експерименту КСК була більше ($P \leq 0,05$) на 38,1 %, на 14 добу – на 29,35 %, зменшилась на 28 добу на 9,99 %, порівняно з контролем.

Кетоз у корів знижує резистентність організму та призводить до запалення у вимені – початок субклінічного маститу.

У корови **6915** продуктивність у перший тиждень після отелення у зв'язку із підвищеним вмістом кетонових тіл була менше на 18,14 %, на 14 добу – на 13,3 %, на 28 добу аналогічно контролю. Титрована кислотність молока відповідала нормі протягом експерименту. Показник КМАФАнМ був підвищений ($P \leq 0,05$) на сьому добу дослідження на 289,16 %, на 14 – на 147,42 %, зменшився на 28 добу на 32,3 %, порівняно з контролем. Вміст соматичних клітин в молоці корів на 7 добу дослідження був вище на 19,90 %, на 14 добу – на 8,9 %, нижче на 28 добу – на 1,9 % ($P \leq 0,05$), в порівнянні з контролем.

Продуктивність у корови **7642** на початок дослідження була менше на 4,63 %, порівняно з контролем. Через два тижні експерименту продуктивність була ідентична показникам у контролі. По завершенню дослідження лактація у корови **7642** збільшилась на 9,7 %, порівняно з контролем. Кислотність молока була у межах референтного рівня протягом експерименту. Вміст мікроорганізмів був вірогідно ($P \leq 0,05$) вище на початок дослідження на 208 %, на 14 добу – на 97,23 %, нижче на 28 добу – на 19,3 %, порівняно до контролю. У молоці КСК була більше на сьому добу на 24,12 %, менше на 14 – на 11 % та на 28 – на 5,16 %, порівняно з контрольними показниками. Зниження продуктивності, підвищені показники КМАФАнМ та КСК вказують на порушення метаболізму та ураження вимені. На початок дослідження у корови **6187** продуктивність була нижча на 22,8 %, на 14 добу – на 21,36 %, на 28 добу – на 3,44 %, порівняно з показниками здорової корови. Титрована кислотність молока відповідала референтному рівню. Показник КМАФАнМ був підвищений ($P \leq 0,05$) на сьому добу дослідження на 407,16 %, на 14 – на 300,46 %, зменшився на 28 добу на 26,62 %, порівняно з контролем. Вміст соматичних клітин в молоці на 7 добу дослідження був вище на 25,92 %, порівняно з контролем.

нижче на 14 добу – на 22,56 %, на 28 добу – на 23,20 % ($P \leq 0,05$), в порівнянні з контролем.

У хворої корови **2563** продуктивність на початок проведення експерименту була на 26,49 % менше, на 14 добу на 19 %, порівняно з контролем ($P \leq 0,05$). По завершенню експерименту продуктивність була ідентична контролю. Титрована кислотність молока знаходилась у референтних межах, однак на момент завершення експерименту її показник знизився на 10 %, порівняно з початком. Вміст мікроорганізмів у молоці був вірогідно більше ($P \leq 0,05$) на сьому добу на 365,68 %, на 14 добу – на 134,97 %, менше на 28 добу – на 9,56 %, порівняно з контролем. Кількість соматичних клітин була вірогідно більше ($P \leq 0,05$) на сьому добу досліджень на 53,38 %, менше на 14 добу – на 23,44 %, на 28 добу – на 12,66 %, порівняно з контролем.

Продуктивність у корови **3891** на початок дослідження була менше на 23 %, на 14 добу – на 10,29 %, порівняно з контролем. По завершенню дослідження лактація у корови **3891** збільшилась на 2,56 %, порівняно з контролем. Кислотність молока була у межах референтного рівня протягом експерименту. Вміст мікроорганізмів був вірогідно ($P \leq 0,05$) вище на початок дослідження на 197,4 %, на 14 добу – на 98,8 %, нижче на 28 добу – на 7,41 %, порівняно до контролю. У молоці КСК була більше на сьому добу на 42,26 %, менше на 14 – на 13,33 % та на 28 – на 15,76 %, порівняно з контрольними показниками.

За результатами проведеного експерименту встановлено, що вміст мікроорганізмів та соматичних клітин мали пряму кореляцію з продуктивністю і на 28 добу молоко всіх дослідних корів було придатне до вживання та відповідало гатунку «екстра».

Визначали у хворих на кетоз корів вміст жиру та білка в молоці корів на 7 та 28 добу після отелення (рис. 3.8, 3.9).

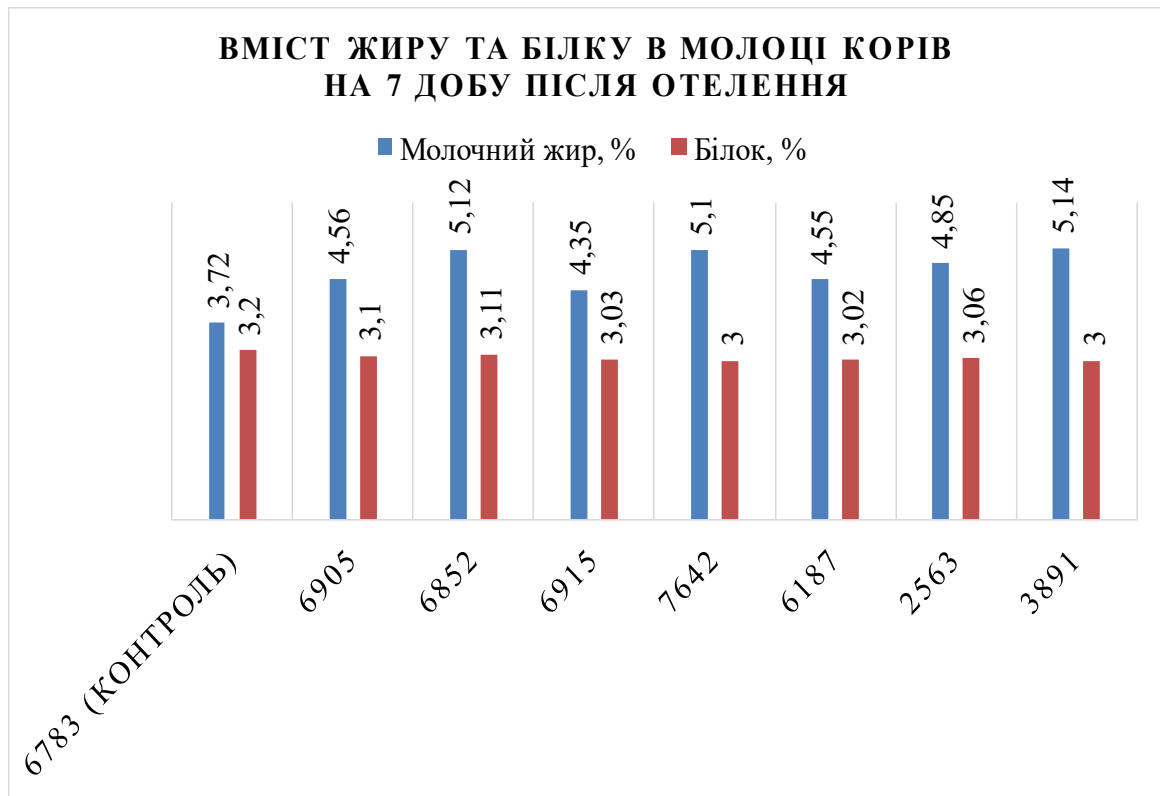


Рис. 3.8. Вміст молочного жиру та білка у молоці дослідних корів на 7 добу після отелення.

Вміст жиру та білка у молоці перебувають у співвідношенні від 1,1:1 до 1,5:1 в нормі. Однак, при порушенні метаболізму відбувається зсув у бік молочного жиру понад 1,5. Активна мобілізація жиру у крові та молоці корів є одним з симптомів кетозу. Це явище також має назву негативного енергетичного балансу, що безпосередньо пов'язане з незбалансованим харчуванням корів під час глибокого сухостою. Також стрес, отриманий під час отелення погіршує стан корів. Надання лікувальної допомоги тваринам у перший тиждень після отелення має критичне значення для відновлення продуктивності та здоров'я корів. Протягом всього дослідного періоду у контролі відсоткове співвідношення молочного жиру та білка у молоці було 1:1, що відповідає нормі. У корови **6905** на сьому добу досліджень вміст жиру був на 32 % більше, порівняно з білком, що є ознакою кетозу. На 28 добу відсоток жиру та білка в молоці дослідної корови відповідав нормі.

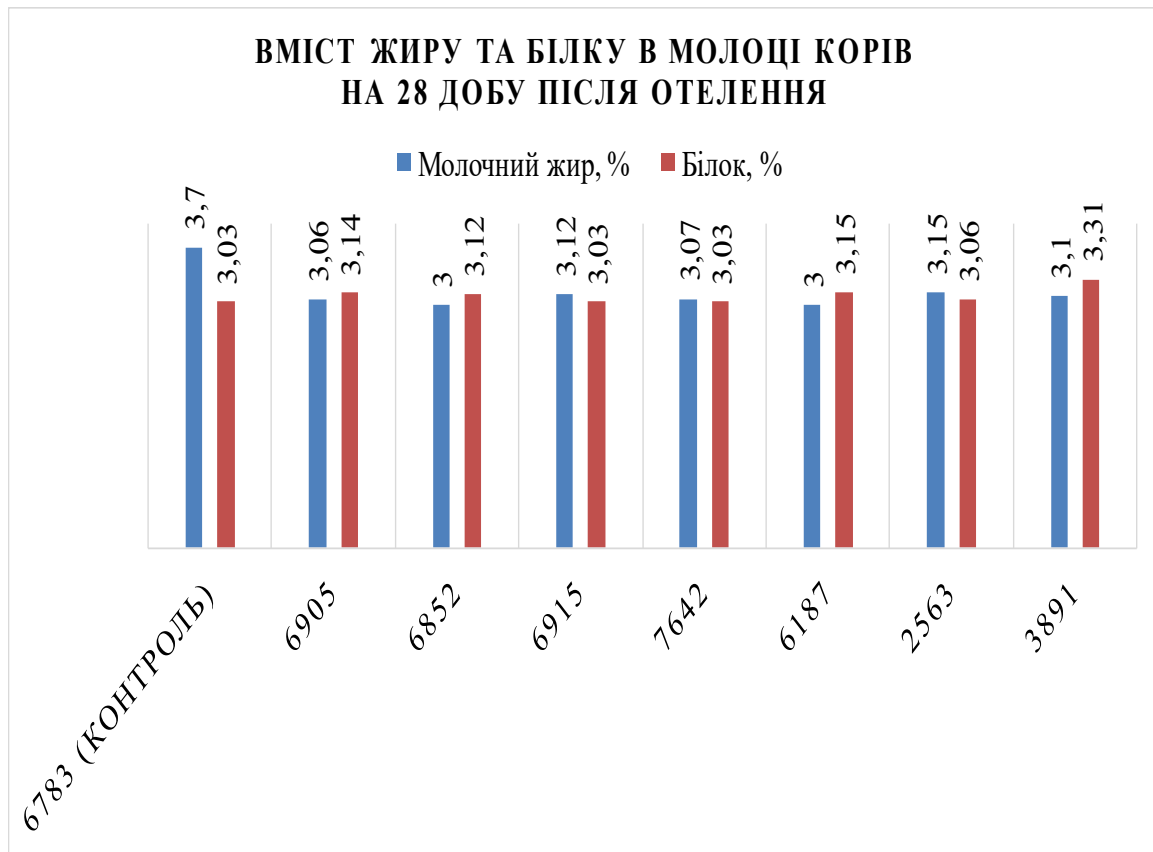


Рис. 3.9. Вміст молочного жиру та білку у молоці дослідних корів на 28 добу після отелення.

В перший тиждень після отелення у корови **6852** спостерігали збільшення жиру, порівняно з білком на 39,25 %.

На сьому добу дослідження рівень молочного жиру перевищував вміст білка у корови **6916** – на 30,34 %, у корови 7642 – на 41,17 %, у корови **6187** – на 33,62 %, у корови **2563** – на 36,40 %, у корови **3891** – на 41,63 %.

По завершенню дослідження на 28 добу співвідношення жир/білок наблизилось до референтного рівня у всіх дослідних тварин.

Висновок. Дослідженнями встановлено, що у крові корів у групі роздою після отелення через сім діб після отелення рівень кетонових тіл коливався від 1,0 до 2,1 ммоль/л, Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був в межах 0,5 до 1,2 ммоль/л. По завершенню експерименту вміст β -кетонів у молоці корів наближувався до 0. При дослідженні продуктивності встановлено її відновлення до показників здорових тварин на 28 добу після

отелення на рівні 28-29 кг/добу.

При цьому вміст мікроорганізмів та соматичних клітин мали пряму кореляцію з продуктивністю і на 28 добу молоко всіх дослідних корів було придатне до вживання та відповідало гатунку «екстра». На сьому добу досліджень співвідношення молочного жиру та білка в молоці хворих на кетоз корів мало дисбаланс. По завершенню експерименту на 28 добу співвідношення жир/білок наблизилося до референтного рівня 1:1 у всіх дослідних тварин.

РОЗДІЛ 4

УЗАГАЛЬНЕННЯ, АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Відомо, що представники роду *Bacillus* виробляють широкий арсенал антимікробних речовин, включаючи пептидні та ліпопептидні антибіотики, а також бактеріоцини. Багато бактеріоцинів *Bacillus* належать до лантибіотиків, категорії посттрансляційно модифікованих пептидів, широко поширених серед різних бактеріальних груп. Лантибіотики є одними з найкраще охарактеризованих антимікробних пептидів на рівнях пептидної структури, генетичних детермінант та механізмів біосинтезу. Представники роду *Bacillus* також виробляють багато інших немодифікованих бактеріоцинів, деякі з яких нагадують педіоциноподібні бактеріоцини молочнокислих бактерій (МКБ), тоді як інші демонструють абсолютно нові пептидні послідовності [3].

Проводили дослідження культуральних властивостей штаму *Bacillus pumilus*. Було встановлено, що штам *Bacillus pumilus* характеризується певними ознаками. Клітини паличкоподібні, прямі, $0,5\text{--}0,7 \times 2\text{--}3$ мкм, рухомі. Утворюють ендоспори еліптичної форми, розташовані центрально. Забарвлення за Грамом - грампозитивні.

Штам невимогливий до факторів росту, добре росте на звичайних живильних середовищах (СПА, МПА, МПБ). На агаризованих середовищах утворює дрібні, круглі, білі колонії, блискучі, з рівним краєм. Оптимальна температура зростання 37°C , рН 7,0–7,2. Культуру підтримують пересіванням на щільних середовищах, зберігають у розчині гліцерину при 70°C або в ліофільно-висушеному стані. Штам не відновлює нітрати, утворює ацетоїн; не гідролізує крохмаль, але гідролізує казеїн, гіпопурат, зростає при концентрації NaCl до 7 %, 0,001% лізоциму; енергійно утворює кислоту з глюкози, але без газу, що не росте в анаеробному агарі.

Штам *Bacillus pumilus* розщеплює глюкозу, мальтозу, манозу, сахарозу та

арабінозу, не розщеплює – сорбіт, лактозу, рамнозу та маніт.

Також проводили дослідження чистоти культури *Bacillus pumilus*. Дослідження проводили методом дисків, просичених різними антибіотиками з культурою штаму *Bacillus pumilus*.

За результатами проведених досліджень було встановлено, що *Bacillus pumilus* L A 56 чутлива до певних антибіотиків, тому діаметр затримки росту складав: канаміцин – 24 мм, бацтрацин – 12 мм, рифампіцин – 18 мм, гентаміцин – 20 мм, лінкоміцин – 16 мм, окситетрациклін – 15 мм, ампіцилін – 17 мм, стрептоміцин – 20 мм, хлорамфенікол – 26 мм, пеніцилін – 12 мм, ванкомцин – 20 мм, оксацилін – 6 мм, полімиксин – 12 мм, фраміцетин – 16 мм, метіцилін – 6 мм та бензилпеніцилін – 12 мм.

У сучасних умовах скорочення та обмеженого використання антибіотиків, деякі патогени та стресори викликають оксидативний стрес кишечника у птиці, що призводить до зниження споживання корму, повільного або застою росту та розвитку, і навіть смерті, що призводить до величезних економічних втрат для птахівничої галузі. Окислювальний стрес у тварин – це неспецифічне пошкодження, для якого немає цілеспрямованої медикаментозної терапії; однак здоров'я тварин можна покращити, додавши відповідні кормові добавки. *Bacillus pumilus*, як кормова добавка, сприяє росту та розвитку та зменшує пошкодження кишечника, спричинене оксидативним стресом. Білок теплового шоку 70 (HSP70) виявляє оксидативне пошкодження та відновлює розгорнуті та неправильно згорнуті білки; його захисний ефект був широко досліджений [84].

Визначали антагоністичної активності *Bacillus pumilus* L A 56 методом відтермінованого антагонізму. Отримані результати були статистично оброблені. Після інкубування посівів проведено замірювання зон затримки росту і визначено середні величини для клінічних штамів мікроорганізмів

Отримані результати абсолютних значень зон затримки росту індикаторних культур під дією *Bacillus pumilus* L A 56 дозволили проаналізувати активність відносно різних видів тестованих бактерій та грибів

і визначити рівень антагоністичної активності. Так, для всіх видів досліджених клінічних культур активність *Bacillus pumilus* L A 56 була різною.

Визначення антагоністичної активності *Bacillus pumilus* стосовно еталонних штамів бактерій та грибів методом прямого інкубування показало, що найбільш чутливими виявились еталонні штами *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ATCC 10231 до штаму *Bacillus pumilus* L A 56. Культур *Aspergillus niger* нечутлива до штаму та мала антагоністичну активність [131].

З селекцією на високі надої у плідників, які використовуються для розведення, ми бачимо звуження генетичної бази основних порід у всьому світі та результат інбридингу, а разом з інтенсифікацією молочного скотарства зросли ускладнення післяродового періоду [56, 42].

Моніторинг корів проводили за три тижні до отелення та три тижні після родів. Кульгавість у корів третьої лактації, особливо у перші тижні після родів, прогресує на 6,2 %. Залежно від кількості лактацій збільшуються випадки гіпокальціємії у корів другої лактації на 3,3 %, а третьої лактації вірогідно – на 5,1 %. Прояви метриту збільшуються у другій лактації на 3,4 %, у третій – на 7,7 %, порівняно до первісток. Мастит у корів другої лактації виникає частіше на 4,9 %, у третьої – на 5,8 %. Захворювання на кетоз у корів другої лактації проявлявся частіше на 13,7 %, у третьої – на 25,0 %, порівняно до корів-первісток. В результаті проведених досліджень визначені захворювання, які виникають у корів на фоні метаболічних зрушень у період сухостою та перших трьох тижнів після родів.

Результати моніторингу захворюваності корів показують, що найбільший відсоток складає кетоз (21 %), субклінічний мастит (16 %), гіпокальціємія (13 %) та субклінічна гіпокальціємія (14 %). Корова після родів переживає надмірний стрес через роди, потреби в лактації, можливий вплив теплового стресу, знижене споживання сухої речовини, інволюцію матки та початок репродуктивного циклу [88, 64].

Вищий показник передродового стану тіла визначається як фактор

схильності до екстенсивної мобілізації запасів жиру в організмі у формі неестерифікованих жирних кислот [93]. Мобілізація жиру та метаболізм білка призводять до виснаження найбільш необхідних жирних кислот і амінокислот для відтворення та здоров'я організму. Ці зміни є основною причиною вторинних метаболічних захворювань, таких як гіпокальціємія, ацидоз рубця та зміщення сичуга [122, 165].

Результати дослідження показують збільшення випадків гіпокальціємії у корів другої лактації на 3,3 %, а третьої лактації вірогідно – на 5,1 %. Також кульгавість у корів третьої лактації, особливо у перші тижні після родів, прогресує на 6,2 %. Прояви метриту збільшуються у другій лактації на 3,4 %, у третій – на 7,7 %, порівняно до первісток. Мастит у корів другої лактації виникає частіше на 4,9 %, у третьої – на 5,8 %.

Через ці проблеми молочні корови після родів зазвичай страждають від негативного енергетичного балансу. Негативний енергетичний баланс призводить до ендокринних і метаболічних змін, ініційованих низьким рівнем інсуліну, високим споживанням глюкози, зниженням фактору росту інсуліну і високою активністю гормону росту, що призводить до високої відповіді на неестерифіковані жирні кислоти. Вони окислюються в печінці для утворення енергії, що призводить до кетозу, і в кінцевому підсумку призводить до розвитку жирової дистрофії печінки через накопичення тригліцеридів [89, 168].

Захворювання на кетоз у корів другої лактації проявлявся частіше на 13,7 %, у третьої – на 25,0 %, порівняно до корів першої лактації. В результаті проведених досліджень визначені захворювання, які виникають у корів на фоні метаболічних зрушень у період сухостою та перших трьох тижнів після родів. Крім того, вони зрештою спричиняють зміни в біохімічному профілі фолікулів яєчників, ооцитів, ембріонів, що розвиваються, жовтого тіла і матки, що зрештою призводить до низького рівня запліднення, тоді як вони також викликають ендокринні зміни в гіпофізі – вісь гіпоталамус-яєчник, включаючи зміни вмісту естрогенів, гонадотропінів, лютеїнізуючого гормону і

прогестерону [58, 67].

Також ці вищезгадані зміни впливають на імунну систему молочних корів після родів. Ці явища сприяють схильності корів до інфекцій і запальних станів [41, 126].

Метаболічні зміни в післяродовому періоді впливають на розвиток і домінування фолікулів в яєчниках і подальшу овуляцію, тоді як захворювання репродуктивного тракту можуть безпосередньо впливати на запліднення, розвиток ембріону, імплантацію та розвиток плаценти.

Наступним етапом дослідження було визначити захворюваність дійних корів на субклінічний кетоз. Дослідження показало, що у всіх тварин в групі глибокого сухостою рівень кетонових тіл не перевищував 1,0 ммоль/л [170]. Науковці Дарос та колеги [31] вважають, що корови в глибокому сухостої, які кульгають, мають ризик до розвитку захворювань таких як кетоз, метрит, затримку плаценти, гіпокальціємію та зміщення сичуга. Тому велику увагу приділяють у господарстві всім тільним тваринам, особливо у перехідний сухостійний та післяродовий період.

Через тиждень після отелення у 54 корів рівень кетонових тіл був завищеним. Через сім діб після застосування пробіотику на основі *Bacillus pumilus* LA 56 показники знизились до норми, крім 15 голів. Дослідники [121] у своїх експериментах повідомляють, що кетоз у перший тиждень лактації корів через низькі надої молока. На другому тижні лактації не була зафіксована така тенденція. Однак, розроблена науковцями модель не є досконалою, має припущення та обмежується поточними дослідженнями.

Дослідженнями [6] встановлено, що введення до раціону корів, які зазнали окислювального стресу, амінокислот, вітамінів, мікроелементів та рослинних екстрактів продемонстрували багатообіцяючі результати завдяки посиленню імунних функцій і відновленню пошкоджених клітин.

Дослідження [35, 158] підтверджують, що рівень кетових тіл в межах від 1,2 до 2,9 ммоль/л є сигналом можливого загострення кетозу та ризику для здоров'я під час ранньої лактації. Критичною точкою для виникнення

субклінічного кетозу є рівень кетонових тіл в крові більше 1,2 ммоль/л, а критичний рівень більше 3,0 ммоль/л у крові зазвичай вказує на розвиток клінічної форми.

Дослідження показали, що рівень АЛТ підвищився на момент завершення дослідження. Це доводить, що рівень АЛТ пов'язаний із проявами кетозу у корів і може коливатися протягом лікування [112].

Дослідниками [55] встановлено, що низький рівень альбуміну зазвичай вказує на печінкову недостатність. Попередні дослідження науковців [75] показали, що АЛТ була нечутливою до кетозу у корів. Однак в інших дослідженнях [40] у молочних корів із кетозом спостерігали апоптоз печінки та високий рівень АЛТ.

При дослідженні біохімічних показників сироватки крові у корів з ознаками кетозу було встановлено, що у тварин вміст загального білка, глобулінів та альбумінів коливався у максимально допустимих межах і навіть виходив за них [57]. Крім того, спостерігали [116] підвищений вміст сечовини та азоту сечовини, який знижувався по завершенню лікування. Фермент аспартатамінотрансфераза (АСТ) є показником функціонування печінки та м'язових органів [86]. Підвищення АСТ на початку лікування вказує на значне навантаження на печінку, при чому АЛТ збільшувалось по завершенню дослідження [140]. Дослідженнями науковців [54] встановлено, що у корів з кетозом спостерігається підвищення рівня аспартатамінотрансферази та холестерину.

До групи хворих на кетоз тварин увійшли корови з кондицією тіла більше трьох балів, у яких також спостерігали такі ускладнення як затримку плаценти та метрит. Дослідженнями [49] доведено, що загальна частота кетозу у молочних корів складає 26 % з всіх обстежених тварин.

Як було встановлено, рівень Са та Р пов'язаний з кетозом і залежить від прояву хвороби [107]. Рівень Магнію в крові не мав істотних змін протягом всього експерименту. Вміст Калію, вітаміни А та Е збільшився по завершенню лікування. При цьому вміст вітаміну D знизився у всіх дослідних корів, не

залежно від тяжкості метаболічної адаптації організму. Вважаємо, що значна кількість вітамінів та мінералів брала участь у відновленні метаболізму в організмі тварин, і тому їх рівень в сироватці крові був не високий.

Ефективність застосування *Bacillus pumilus* L A 56 в концентрації 1×10^9 , КУО/г в дозі 30 г на тварину показало 100 %. При дослідженні метаболічних змін в організмі корів після отелення хворих на кетоз вміст загального білка, альбумінів глобулінів ферменту аспартатамінотрансферази та сечовини на початку дослідження був підвищений і виходив за межі максимально допустимих меж референтних значень. Через сім діб застосування пробіотику вміст кетонових тіл та біохімічні показники знижувався до норми. Доведено, по завершенню дослідження збільшувалась активність аланінамінотрансферази, збільшився рівень Калію, вітамінів А та Е. Таким чином встановлено, що фермент аланінамінотрансфераза є одним з метаболітів, підвищенні рівня якого вказує на накопичення ліпідів в печінці. Крім того, вміст Са, Р та вітаміну D знизився протягом лікування, що вказує на загрозу виникнення гіпокаціємії. В групі корів роздій після отелення захворюваність на кетоз склала 27 %. Терапевтична ефективність від застосування пробіотику 35 г на тварину у групі роздій після отелення становила 73 %.

Високопродуктивні корови мають схильність до негативного енергетичного балансу через високий рівень лактації та недостатнє споживання сухої речовини після отелення. Це призводить до мобілізації жиру та білка в організмі для задоволення потреб у поживних речовинах лактуючої корови. Високий рівень неестерифікованих жирних кислот підтримується шляхом мобілізації жиру та білка, що призводить до кетозу через неповне окиснення кетонових тіл. Метою досліджень було дослідження впливу пробіотику на продуктивність корів та якість молока при кетозі. Дослідження були проведені в період із жовтня по листопад 2022 року на коровах породи голштин у товаристві з обмеженою відповідальністю агрофірми «Лан» Північно-східного регіону України. Встановлено, що у групі роздою після

отелення через сім діб рівень кетонових тіл коливався від 1,0 до 2,1 ммоль/л, що вище, ніж у контролі на 71,42–185,71 %. Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був у межах 0,5 до 1,2 ммоль/л, на 16,65–100 %, що більше порівняно з контролем. На 28 добу дослідження вміст кетонових тіл у корів був у фізіологічних межах. У хворих на кетоз корів продуктивність була знижена на сьому добу досліджень на 22,42–336,4 %, на 14 добу – на 11,6–29,35 %. При дослідження продуктивності встановлено її відновлення до показників здорових тварин на 28 добу після отелення на рівні 28–29 кг/добу. При цьому вміст мікроорганізмів та соматичних клітин мали пряму кореляцію з продуктивністю і на 28 добу молоко всіх дослідних корів було придатне до вживання та відповідало гатунку «екстра».

У перший тиждень після отелення співвідношення молочного жиру та білка в молоці хворих на кетоз корів мало дисбаланс, що є ознакою кетозу. На сьому добу дослідження рівень молочного жиру перевищував вміст білка у корови 6905 на 32 %, у корови 6852 – на 39,25 %, у корови 6916 – на 30,34 %, у корови 7642 – на 41,17 %, у корови 6187 – на 33,62 %, у корови 2563 – на 36,40 %, у корови 3891 – на 41,63 %. По завершенню дослідження на 28 добу співвідношення жир/білок наблизилося до референтного рівня 1:1 у всіх дослідних тварин.

З розвитком сучасних методів молочного скотарства спостерігається стійке зростання світового виробництва молока [50]. Тим не менш, це збільшення створює значні ризики для здоров'я молочних корів після родів [47].

Після родів молочні корови відчувають стрес, знижене споживання корму та підвищені потреби в енергії для лактації, що призводить до фізіологічних змін, таких як негативний енергетичний баланс (НЕБ), ендокринний дисбаланс, змінена ферментація в рубці та пригнічення імунітету [20]. НЕБ може призвести до метаболічних порушень, таких як кетоз та жирова дистрофія печінки, які не тільки знижують надій молока, але й скорочують тривалість життя корів, негативно впливаючи на прибутковість ферми [45]. В

результаті проведеного експерименту було встановлено, що у корів з ознаками кетозу спостерігали зниження вмісту корисної мікрофлори *Lactobacillus sp.* був знижений на 53,45 %, у другій – на 33,27 %, у третій – на 59,27 %, що підтверджують результати, отримані [82].

Натомість збільшується кількість умовно-патогенної мікрофлори: *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Candida*, мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*). Дослідники [92] встановили, що бактерії рубця є динамічними з точки зору різноманітності, і що певні види пов'язані з високою та низькою ефективністю синтезу молока протягом двох циклів лактації. Для покращення складу мікробіому був застосований пробіотичний штам *Bacillus pumilus* L A 56 у різних концентраціях коровам. За результатами експерименту з'ясовано, що застосування пробіотику сприяло збільшенню корисної мікрофлори: в дозі 15 г *Lactobacillus sp.* на 5,81 % та *Bifidobacterium* на 8,21 %; 25 г – *Lactobacillus sp.* на 53,63 % та *Bifidobacterium* на 67,75 %; 35 г – *Lactobacillus sp.* був більше на 121,09 % та *Bifidobacterium* на 91,47 % порівняно зі здоровими коровами. Отримані результати підтвердили інші дослідники [73].

Добавки аланіну можуть полегшити кетогенез у моделях клітин печінки шляхом активації шляху глюконеогенезу. Це дослідження показує, що склад мікробіоти пов'язаний з гомеостазом енергетичного метаболізму господаря шляхом постачання глюкогенних попередників до печінки, і пропонує використання аланіну як методу лікування порушень енергетичного обміну у корів у перипартальному періоді. При цьому відбувається пригнічення умовно-патогенної мікрофлори за рахунок бактеріального антагонізму в кишечнику за використання пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56. Максимальний ефект був отриманий за використання пробіотику у концентрації 35 г на тварину. В результаті чого знизився рівень *Clostridium* – на 65,71 %, *Escherichia coli* – на 57,68 %, *Staphylococcus* – на 47,61 %, *Candida* – на 61,89 %, *Enterobacteriaceae* – на 28,93 %, порівняно з контролем.

ВИСНОВКИ

В роботі досліджений вплив пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56 на корів глибокого сухостіного періоду та роздій після отелення за субклінічного кетозу та запропонована схема його використання. Встановлені основні причини виникнення метаболічних розладів у корів та зниження продуктивності. Досліджені імуностимулюючі та метаболічні властивості *Bacillus pumilus* L A 56, визначені ефективні дози його застосування у господарствах. Доведений позитивний вплив на фекальний мікробіом та молочну продуктивність у корів після отелення.

1. В результаті визначення властивостей пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56 встановлено, що найбільш чутливими до пробіотику *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* ATCC 10231 до штаму *Bacillus pumilus* L A 56. Культура *Aspergillus niger* нечутлива та мала антагоністичну активність.

2. Результати моніторингу захворюваності корів за три тижні до отелення та три тижні після родів показують, що найбільший відсоток складає кетоз (13,7 - 25, %), субклінічний мастит (4,9-5,8 %), гіпокальціємія (3,3-5,1 %), метрит (3,4-7,7 %), кульгавість (3,3 %) залежно від лактації.

3. Встановлено, що у корів в групі глибокого сухостою вміст кетонових тіл коливався в межах норми від 0,2 до 1,0 ммоль/л. Після застосування пробіотику середній показник кетонових тіл по групі покращився на 17,80 %. Ефективність застосування пробіотику у групі сухостій складала 100 %. У групі роздою через сім діб після отелення у крові корів рівень кетонових тіл коливався від 0,3 до 3,5 ммоль/л, рівень захворюваності складав 27 %. Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був в межах 2,4 до 0 ммоль/л, що складає зменшення на 25,6 %, порівняно з початком дослідження.

4. Визначено, що концентрація бутирату була максимально низькою на сьому добу до родів (24,16 %) та через одну добу після (79,52 %), а також лактат значно збільшився через сьому (327,20 %), чотирнадцяту (245,60 %) та двадцяту

добу після родів (239,20 %) та в групі кетозу (246,40 %). Рівень глюкози значно знизився (78,01 %), а β -кетонів значно збільшився на двадцять (56,60 %) до родів та на першу (111,32 %), сьому (13,19 %), чотирнадцяту (107,54 %) та двадцять добу після отелення (88,79 %), а також у групі кетозу (303,77 %).

5. Експериментально встановлено, що загальний показник захворюваності на субклінічний кетоз в групі роздою після отелення складав 27 % із 100 %, терапевтична ефективність застосування пробіотику становить 73 %. Додаткового лікування потребували 15 корів із 54, повністю одужали 14 голів, у однієї тварини був рецидив захворювання. На початку дослідження у корів був підвищений вміст загального білка на 8,30–11,04 %, глобулінів – на 8,52–11,00 %, альбумінів – на 10,7–14,54 %. По завершенню експерименту вміст сечовини та азоту сечовини зменшився на 2,60–0,82 %. Рівень АСТ в сироватці крові корів на початку дослідження був вищий на 6,68–10,63 %. Через сім діб застосування пробіотику АЛТ збільшився на 10,04–29,96 %. Вміст Са, Р та вітаміну D знизився протягом лікування, однак відновився рівень Калію, вітамінів А та Е.

6. Встановлено, що у корів з ознаками кетозу відбувається зміна складу фекального мікробіому. Спостерігали зниження корисної мікрофлори *Lactobacillus sp.* у першій групі на 53,45 %, у другій – на 33,27 %, у третій – на 59,27 %, порівняно з результатами в контролі; *Bifidobacterium* у корів першої дослідної групи на 63,56 %, у другої – на 63,41 %, у третьої – на % 50,23 %. Водночас відбулось підвищення вмісту умовно-патогенної мікрофлори, порівняно з мікробіотою здорових корів.

7. Дослідженнями встановлено, що у крові корів у групі роздою після отелення через сім діб після отелення рівень кетонових тіл коливався від 1,0 до 2,1 ммоль/л, Через два тижні після застосування пробіотику рівень кетонів був в межах 0,5 до 1,2 ммоль/л. По завершенню експерименту вміст β -кетонів у молоці корів наближувався до 0. При дослідженні продуктивності встановлено її відновлення до показників здорових тварин на 28 добу після отелення на рівні 28–29 кг/добу.

8. Встановлено, що за використання пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* L A 56 дійним коровам вміст мікроорганізмів та соматичних клітин мав пряму кореляцію з продуктивністю і на 28 добу молоко всіх дослідних корів було придатне до вживання та відповідало гатунку «Екстра». На цьому добу досліджень співвідношення молочного жиру та білка в молоці хворих на кетоз корів мав дисбаланс. По завершенню експерименту на 28 добу співвідношення жир/білок наблизилося до референтного рівня 1:1 у всіх дослідних тварин.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для профілактики субклінічного кетозу коровам глибокого сухостіного періоду та роздій після отелення рекомендується застосовувати *Bacillus pumilus* L A 56 у концентрації 1×10^9 КУО/г в дозі 35 г на тварину.

2. На основі проведених досліджень розроблені науково-практичні рекомендації «Профілактика та лікування метаболічних розладів у корів глибокого сухостою та після отелення», затверджені Вченою радою СНАУ, протокол № 4, від 29.09.2025 року.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Влізлю, В.В. (2012) Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник. Львів, СПОЛОМ, 764 с.
2. Abdelmegeid, M. K., Elolimy, A. A., Zhou, Z., Lopreiato, V., McCann, J. C., & Loo, J. J. (2018). Rumen-protected methionine during the peripartal period in dairy cows and its effects on abundance of major species of ruminal bacteria. *Journal of animal science and biotechnology*, 9, 17. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0230-8>
3. Abriouel, H., Franz, C. M., Ben Omar, N., & Gálvez, A. (2011). Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS microbiology reviews*, 35(1), 201–232. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x>
4. Allaband, C., Lingaraju, A., Flores Ramos, S., Kumar, T., Javaheri, H., Tiu, M. D., Dantas Machado, A. C., Richter, R. A., Elijah, E., Haddad, G. G., Leone, V. A., Dorrestein, P. C., Knight, R., & Zarrinpar, A. (2024). Time of sample collection is critical for the replicability of microbiome analyses. *Nature metabolism*, 6(7), 1282–1293. <https://doi.org/10.1038/s42255-024-01064-1>
5. Araújo, J. R., Tazi, A., Burlen-Defranoux, O., Vichier-Guerre, S., Nigro, G., Licandro, H., Demignot, S., & Sansonetti, P. J. (2020). Fermentation Products of Commensal Bacteria Alter Enterocyte Lipid Metabolism. *Cell host & microbe*, 27(3), 358–375.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.028>
6. Ayemele, A. G., Tilahun, M., Lingling, S., Elsaadawy, S. A., Guo, Z., Zhao, G., Xu, J., & Bu, D. (2021). Oxidative Stress in Dairy Cows: Insights into the Mechanistic Mode of Actions and Mitigating Strategies. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(12), 1918. <https://doi.org/10.3390/antiox10121918>
7. Bach, A., López-García, A., González-Recio, O., Elcoso, G., Fàbregas, F., Chaucheyras-Durand, F., & Castex, M. (2019). Changes in the rumen and colon microbiota and effects of live yeast dietary supplementation during the transition from the dry period to lactation of dairy cows. *Journal of dairy science*, 102(7), 6180–6198.

<https://doi.org/10.3168/jds.2018-16105>

8. Bademkiran, S., & Kaya, H. H. (2006). Comparison of the betareceptor blockers (carazolol) and PGF2 α to prevent the retained placenta in cows due to dystocia Istambul. Univ Fac Vet Med, 32, 69-79.

9. Bai, H., Shabur, T. M. A., Kunii, H., Itoh, T., Kawahara, M., & Takahashi, M. (2019). Evaluation of the immune status of peripheral blood monocytes from dairy cows during the periparturition period. *The Journal of reproduction and development*, 65(4), 313–318. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-150>

10. Beiranvand, H., Mahnani, A., Kahyani, A., Dunshea, F. R., & Ahmadi, F. (2024). Does Exposure to Summer Season at Different Stages of Intrauterine Development and Maternal Parity Affect Health and First-Lactation Milk Production of Female Offspring of Holstein Cows?. *Animals : an open access journal from MDPI*, 14(20), 3040. <https://doi.org/10.3390/ani14203040>

11. Benedet, A., Manuelian, C. L., Zidi, A., Penasa, M., & De Marchi, M. (2019). Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 13(8), 1676–1689. <https://doi.org/10.1017/S175173111900034X>

12. Berntson, G. G., Cacioppo, J. T., & Bosch, J. A. (2017). From homeostasis to allodynamic regulation. <https://psycnet.apa.org/record/2016-44948-018>

13. Bhutto, A. L., Murray, R. D., & Woldehiwet, Z. (2012). California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in veterinary science*, 92(1), 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>

14. Bionaz M, Chen S, Khan MJ, Loor JJ. Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. *PPAR Res.* 2013;2013:684159. doi: 10.1155/2013/684159. Epub 2013 Apr 29. PMID: 23737762; PMCID: PMC3657398.

15. Bionaz M, Loor JJ. Ruminant metabolic systems biology: reconstruction and integration of transcriptome dynamics underlying functional responses of tissues to

nutrition and physiological state. *Gene Regul Syst Bio*. 2012;6:109-25. doi: 10.4137/GRSB.S9852. Epub 2012 Jun 25. PMID: 22807626; PMCID: PMC3394460.

16. Bionaz M, Thering BJ, Looor JJ. Fine metabolic regulation in ruminants via nutrient-gene interactions: saturated long-chain fatty acids increase expression of genes involved in lipid metabolism and immune response partly through PPAR- α activation. *Br J Nutr*. 2012 Jan;107(2):179-91. doi: 10.1017/S0007114511002777. Epub 2011 Jul 6. PMID: 21729373.

17. Bradford, B. J., Yuan, K., Farney, J. K., Mamedova, L. K., & Carpenter, A. J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of dairy science*, 98(10), 6631–6650. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9683>

18. Brand, F. S., & Jax, K. (2007). Focusing the meaning (s) of resilience: resilience as a descriptive concept and a boundary object. *Ecology and society*, 12(1). <https://www.jstor.org/stable/26267855>

19. Cainzos, J. M., Andreu-Vazquez, C., Guadagnini, M., Rijpert-Duvivier, A., & Duffield, T. (2022). A systematic review of the cost of ketosis in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 105(7), 6175–6195. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21539>

20. Caixeta, L. S., & Omontese, B. O. (2021). Monitoring and Improving the Metabolic Health of Dairy Cows during the Transition Period. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(2), 352. <https://doi.org/10.3390/ani11020352>

21. Cao, Y., Zhang, J., Yang, W., Xia, C., Zhang, H. Y., Wang, Y. H., & Xu, C. (2017). Predictive Value of Plasma Parameters in the Risk of Postpartum Ketosis in Dairy Cows. *Journal of veterinary research*, 61(1), 91–95. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0011>

22. Carpinelli, N. A., Halfen, J., Michelotti, T. C., Rosa, F., Trevisi, E., Chapman, J. D., Sharman, E. S., & Osorio, J. S. (2023). Yeast Culture Supplementation Effects on Systemic and Polymorphonuclear Leukocytes' mRNA Biomarkers of Inflammation and Liver Function in Peripartal Dairy Cows. *Animals : an open access journal from MDPI*, 13(2), 301. <https://doi.org/10.3390/ani13020301>

23. Chen H, Wang C, Huasai S, Chen A. Metabolomics Reveals the Effects of High Dietary Energy Density on the Metabolism of Transition Angus Cows. *Animals* (Basel). 2022 Apr 29;12(9):1147. doi: 10.3390/ani12091147. PMID: 35565573; PMCID: PMC9105006.
24. Cheng, Z., Meng, Z., Tan, D., Datsomor, O., Zhan, K., Lin, M., & Zhao, G. (2022). Effects of supplementation of sodium acetate on rumen fermentation and microbiota in postpartum dairy cows. *Frontiers in microbiology*, 13, 1053503. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1053503>
25. Cocco, R., Canozzi, M. E. A., & Fischer, V. (2021). Rumination time as an early predictor of metritis and subclinical ketosis in dairy cows at the beginning of lactation: Systematic review-meta-analysis. *Preventive veterinary medicine*, 189, 105309. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105309>
26. Contreras GA, Sordillo LM. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2011 May;34(3):281-9. doi: 10.1016/j.cimid.2011.01.004. Epub 2011 Feb 11. PMID: 21316109.
27. Crowe, M. A., Hostens, M., & Opsomer, G. (2018). Reproductive management in dairy cows-the future. *Irish veterinary journal*, 71(1), 1.
28. Cui, L., Zhang, M., Zheng, F., Yuan, C., Wang, Z., Qiu, S., Meng, X., Dong, J., Liu, K., Guo, L., Wang, H., & Li, J. (2024). Selenium elicited an enhanced anti-inflammatory effect in primary bovine endometrial stromal cells with high cortisol background. *BMC veterinary research*, 20(1), 383. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04240-3>
29. Dai, L., Liu, Z., Guo, L., Chai, Y., Yang, Y., Wang, Y., Ma, Y., Shi, C., & Zhang, W. (2023). Multi-Tissue Transcriptome Study of Innate Immune Gene Expression Profiling Reveals Negative Energy Balance Altered the Defense and Promoted System Inflammation of Dairy Cows. *Veterinary sciences*, 10(2), 107. <https://doi.org/10.3390/vetsci10020107>

30. Darnhofer, I. (2010). Strategies of family farms to strengthen their resilience. *Environmental policy and governance*, 20(4), 212-222.
31. Daros, R. R., Eriksson, H. K., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2020). The relationship between transition period diseases and lameness, feeding time, and body condition during the dry period. *Journal of dairy science*, 103(1), 649–665. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16975>
32. De Vries A. (2020). Symposium review: Why revisit dairy cattle productive lifespan?. *Journal of dairy science*, 103(4), 3838–3845. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17361>
33. Dehghan Shahreza, F., Seifi, H. A., & Mohri, M. (2022). The relationship between body condition score, thyroxin, and health condition and serum energy indices, insulin like growth factor-1, and lipids profile over the transition period in Holstein dairy cows. *Iranian journal of veterinary research*, 23(2), 111–119. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2022.40668.5890>
34. Delić, B., Belić, B., Cincović, M. R., Djokovic, R., & Lakić, I. (2020). Metabolic adaptation in first week after calving and early prediction of ketosis type I and II in dairy cows. *Large Animal Review*, 26(2), 51-55. <https://www.largeanimalreview.com/index.php/lar/article/view/123/67>
35. Denis-Robichaud, J., Buczinski, S., Fauteux, V., & Dubuc, J. (2022). Randomized controlled trial assessing the impact of a combined treatment of insulin glargine and propylene glycol on the resolution of hyperketonemia and milk production in postpartum dairy cows. *JDS communications*, 3(5), 348–352. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0228>
36. Deniz, A., & Aksoy, K. (2022). Use of organic phosphorous butafosfan and vitamin B12 combination in transition dairy cows. *Veterinarni medicina*, 67(7), 334–353. <https://doi.org/10.17221/56/2021-VETMED>
37. Derakhshani, H., Tun, H. M., Cardoso, F. C., Plaizier, J. C., Khafipour, E., & Loor, J. J. (2017). Linking Peripartal Dynamics of Ruminal Microbiota to Dietary

Changes and Production Parameters. *Frontiers in microbiology*, 7, 2143.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02143>

38. Di Paolo, E. A. (2005). Autopoiesis, adaptivity, teleology, agency. *Phenomenology and the cognitive sciences*, 4(4), 429-452.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11097-005-9002-y>

39. Dong, J., Qu, Y., Li, J., Cui, L., Wang, Y., Lin, J., & Wang, H. (2018). Cortisol inhibits NF- κ B and MAPK pathways in LPS activated bovine endometrial epithelial cells. *International immunopharmacology*, 56, 71–77.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.021>

40. Du, X., Chen, L., Huang, D., Peng, Z., Zhao, C., Zhang, Y., Zhu, Y., Wang, Z., Li, X., & Liu, G. (2017). Elevated Apoptosis in the Liver of Dairy Cows with Ketosis. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 43(2), 568–578.
<https://doi.org/10.1159/000480529>

41. Egyedy, A., Rosales, E. B., & Ametaj, B. N. (2022). Association of High Somatic Cell Counts Prior to Dry off to the Incidence of Periparturient Diseases in Holstein Dairy Cows. *Veterinary sciences*, 9(11), 624.
<https://doi.org/10.3390/vetsci9110624>

42. Elsaadawy, S. A., Wu, Z., & Bu, D. (2022). Feasibility of Supplying Ruminally Protected Lysine and Methionine to Periparturient Dairy Cows on the Efficiency of Subsequent Lactation. *Frontiers in veterinary science*, 9, 892709.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.892709>

43. Esposito, G., Irons, P. C., Webb, E. C., & Chapwanya, A. (2014). Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal reproduction science*, 144(3-4), 60–71.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.11.007>

44. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. (1986). Retrieved from <https://rm.coe.int/168007a67b>.

45. Fabjanowska, J., Kowalczyk-Vasilev, E., Klebaniuk, R., Milewski, S., & Gümüş, H. (2023). N-3 Polyunsaturated Fatty Acids as a Nutritional Support of the Reproductive and Immune System of Cattle-A Review. *Animals : an open access journal from MDPI*, 13(22), 3589. <https://doi.org/10.3390/ani13223589>
46. Fotina, T., Fotina, H., Ladyka, V., Ladyka, L., & Zazharska, N. (2018). Monitoring research of somatic cells count in goat milk in the eastern region of Ukraine. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 69(3), 1101-1108. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18882>
47. Galama, P. J., Ouweltjes, W., Endres, M. I., Sprecher, J. R., Leso, L., Kuipers, A., & Klopčič, M. (2020). Symposium review: Future of housing for dairy cattle. *Journal of dairy science*, 103(6), 5759–5772. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17214>
48. Gao, J., Liu, Y. C., Wang, Y., Li, H., Wang, X. M., Wu, Y., Zhang, D. R., Gao, S., & Qi, Z. L. (2020). Impact of yeast and lactic acid bacteria on mastitis and milk microbiota composition of dairy cows. *AMB Express*, 10(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-0953-8>
49. Garzón-Audor, A., & Oliver-Espinosa, O. (2019). Incidence and risk factors for ketosis in grazing dairy cattle in the Cundi-Boyacencian Andean plateau, Colombia. *Tropical animal health and production*, 51(6), 1481–1487. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01835-z>
50. Gaworski, M., & Boćkowski, M. (2022). Comparison of Cattle Housing Systems Based on the Criterion of Damage to Barn Equipment and Construction Errors. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12(19), 2530. <https://doi.org/10.3390/ani12192530>
51. Gebreyesus, G., Difford, G. F., Buitenhuis, B., Lassen, J., Noel, S. J., Højberg, O., Plichta, D. R., Zhu, Z., Poulsen, N. A., Sundekilde, U. K., Løvendahl, P., & Sahana, G. (2020). Predictive ability of host genetics and rumen microbiome for subclinical ketosis. *Journal of dairy science*, 103(5), 4557–4569. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17824>

52. Ghaffari, M. H., Alaedin, M. T., Sadri, H., Hofs, I., Koch, C., & Sauerwein, H. (2021). Longitudinal changes in fatty acid metabolism and in the mitochondrial protein import system in overconditioned and normal conditioned cows: A transcriptional study using microfluidic quantitative PCR. *Journal of dairy science*, 104(9), 10338–10354. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20237>

53. Ghaffari, M. H., Sadri, H., & Sauerwein, H. (2023). Invited review: Assessment of body condition score and body fat reserves in relation to insulin sensitivity and metabolic phenotyping in dairy cows. *Journal of dairy science*, 106(2), 807–821. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22549>

54. Giannuzzi, D., Tessari, R., Pegolo, S., Fiore, E., Ganesella, M., Trevisi, E., Ajmone Marsan, P., Premi, M., Piccioli-Cappelli, F., Tagliapietra, F., Gallo, L., Schiavon, S., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2021). Associations between ultrasound measurements and hematochemical parameters for the assessment of liver metabolic status in Holstein-Friesian cows. *Scientific reports*, 11(1), 16314. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95538-x>

55. Gross, J. J., & Bruckmaier, R. M. (2019). Review: Metabolic challenges in lactating dairy cows and their assessment via established and novel indicators in milk. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 13(S1), s75–s81. <https://doi.org/10.1017/S175173111800349X>

56. Gruber, S., & Mansfeld, R. (2019). Herd health monitoring in dairy farms - discover metabolic diseases. An overview. *Gesundheitsmonitoring in Milchviehherden – Stoffwechselstörungen rechtzeitig erkennen. Ein Überblick. Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 47(4), 246–255. <https://doi.org/10.1055/a-0949-1637>

57. Ha, S., Kang, S., Han, M., Lee, J., Chung, H., Oh, S. I., Kim, S., & Park, J. (2022). Predicting ketosis during the transition period in Holstein Friesian cows using hematological and serum biochemical parameters on the calving date. *Scientific reports*, 12(1), 853. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04893-w>

58. Häggman, J., Christensen, J. M., Mäntysaari, E. A., & Juga, J. (2019).

Genetic parameters for endocrine and traditional fertility traits, hyperketonemia and milk yield in dairy cattle. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 13(2), 248–255. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001386>

59. Hannan, F. M., Elajnaf, T., Vandenberg, L. N., Kennedy, S. H., & Thakker, R. V. (2023). Hormonal regulation of mammary gland development and lactation. *Nature reviews. Endocrinology*, 19(1), 46–61. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00742-y>

60. Hartung, T. (2010). Comparative analysis of the revised Directive 2010/63/EU for the protection of laboratory animals with its predecessor 86/609/EEC – a t4 report. *ALTEX*, 27(4), 285-303. doi: 10.14573/altex.2010.4.285

61. Hassan, T., Song, H., & Kirikkaleli, D. (2022). International trade and consumption-based carbon emissions: evaluating the role of composite risk for RCEP economies. *Environmental science and pollution research international*, 29(3), 3417–3437. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15617-4>

62. Herdt TH. Metabolic diseases of dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2013 Jul;29(2):xi-xii. doi: 10.1016/j.cvfa.2013.05.001. Epub 2013 May 28. PMID: 23809901.

63. Hisira, V., Zigo, F., Kadaši, M., Klein, R., Farkašová, Z., Vargová, M., & Mudroň, P. (2023). Comparative Analysis of Methods for Somatic Cell Counting in Cow's Milk and Relationship between Somatic Cell Count and Occurrence of Intramammary Bacteria. *Veterinary sciences*, 10(7), 468. <https://doi.org/10.3390/vetsci10070468>

64. Imhasly, S., Bieli, C., Naegeli, H., Nyström, L., Ruetten, M., & Gerspach, C. (2015). Blood plasma lipidome profile of dairy cows during the transition period. *BMC veterinary research*, 11, 252. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0565-8>

65. ISO/IEC 17025:2005. (2006). Retrieved from http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=50873.

66. Jaeger, J., Riedl, A., Djedovic, A., Vervaeke, J., & Walsh, D. (2024). Naturalizing relevance realization: why agency and cognition are fundamentally not

computational. *Frontiers in psychology*, 15, 1362658. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2024.1362658>

67. Kasimanickam, R., & Kasimanickam, V. (2021). Impact of heat stress on embryonic development during first 16 days of gestation in dairy cows. *Scientific reports*, 11(1), 14839. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94278-2>

68. Kaufman, E. I., Asselstine, V. H., LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., & DeVries, T. J. (2018). Association of rumination time and health status with milk yield and composition in early-lactation dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(1), 462–471. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12909>

69. Khan, M. Z., Liu, S., Ma, Y., Ma, M., Ullah, Q., Khan, I. M., Wang, J., Xiao, J., Chen, T., Khan, A., & Cao, Z. (2023). Overview of the effect of rumen-protected limiting amino acids (methionine and lysine) and choline on the immunity, antioxidative, and inflammatory status of periparturient ruminants. *Frontiers in immunology*, 13, 1042895. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1042895>

70. Kim, Y. H., Nagata, R., Ohtani, N., Ichijo, T., Ikuta, K., & Sato, S. (2016). Effects of Dietary Forage and Calf Starter Diet on Ruminal pH and Bacteria in Holstein Calves during Weaning Transition. *Frontiers in microbiology*, 7, 1575. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01575>

71. Kong, F., Wang, F., Zhang, Y., Wang, S., Wang, W., & Li, S. (2024). Repeated inoculation with rumen fluid accelerates the rumen bacterial transition with no benefit on production performance in postpartum Holstein dairy cows. *Journal of animal science and biotechnology*, 15(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00963-9>

72. Kong, F., Wang, S., Zhang, Y., Li, C., Dai, D., Guo, C., Wang, Y., Cao, Z., Yang, H., Bi, Y., Wang, W., & Li, S. (2025). Rumen microbiome associates with postpartum ketosis development in dairy cows: a prospective nested case-control study. *Microbiome*, 13(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s40168-025-02072-3>

73. Kong, F., Wang, S., Zhang, Y., Li, C., Dai, D., Wang, Y., Cao, Z., Yang, H., Shengli Li, & Wei Wang (2025). Alanine Derived from *Ruminococcus_E bovis* Alleviates Energy Metabolic Disorders during the Peripartum Period by Providing

Glucogenic Precursors. Research (Washington, D.C.), 8, 0682.
<https://doi.org/10.34133/research.0682>

74. Kovacs C. S. (2016). Maternal Mineral and Bone Metabolism During Pregnancy, Lactation, and Post-Weaning Recovery. *Physiological reviews*, 96(2), 449–547. <https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2015>

75. Kozat, S., & Yükses, N. (2017). Evaluation of total antioxidant, total calcium, selenium, insulin, free triiodothyronine and free thyroxine levels in cows with ketosis. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 7(3), 393-399. https://ijas.rasht.iau.ir/article_533211_d9c0f787c17ffce186442b9c7ec54766.pdf

76. Kumprechtová, D., Chabrillat, T., Guillaume, S., Kerros, S., Kadek, R., Indrová, E., & Illek, J. (2022). Effect of Plant Bioactive Compounds Supplemented in Transition Dairy Cows on the Metabolic and Inflammatory Status. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(18), 6092. <https://doi.org/10.3390/molecules27186092>

77. Law of Ukraine No. 249 “On The procedure for carrying out experiments and experiments on animals by scientific institutions”. (2012, March). Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text>.

78. LeBlanc S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *The Journal of reproduction and development*, 56 Suppl, S29–S35. <https://doi.org/10.1262/jrd.1056s29>

79. LeBlanc, S. (2013). Managing transition period health for reproductive performance in dairy cows. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20153299848>

80. Leroy JL, Vanholder T, Van Knegsel AT, Garcia-Ispuerto I, Bols PE. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility? *Reprod Domest Anim*. 2008 Jul;43 Suppl 2:96-103. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01148.x. PMID: 18638110.

81. Letelier, J. C., Cárdenas, M. L., & Cornish-Bowden, A. (2011). From L’Homme Machine to metabolic closure: steps towards understanding life. *Journal of theoretical biology*, 286(1), 100–113. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2011.06.033>

82. Li, Y. Q., Xi, Y. M., Wang, Z. D., Zeng, H. F., & Han, Z. (2020). Combined signature of rumen microbiome and metabolome in dairy cows with different feed intake levels. *Journal of animal science*, 98(3), skaa070. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa070>
83. Ling T, Hernandez-Jover M, Sordillo LM, Abuelo A. Maternal late-gestation metabolic stress is associated with changes in immune and metabolic responses of dairy calves. *J Dairy Sci.* 2018 Jul;101(7):6568-6580. doi: 10.3168/jds.2017-14038. Epub 2018 May 3. PMID: 29729919.
84. Liu, Y., Li, Z., Li, H., Wan, S., & Tang, S. (2023). *Bacillus pumilus* TS1 alleviates *Salmonella* Enteritidis-induced intestinal injury in broilers. *BMC veterinary research*, 19(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03598-0>
85. Luo, Z., Du, Z., Huang, Y., Zhou, T., Wu, D., Yao, X., Shen, L., Yu, S., Yong, K., Wang, B., & Cao, S. (2024). Alterations in the gut microbiota and its metabolites contribute to metabolic maladaptation in dairy cows during the development of hyperketonemia. *mSystems*, 9(4), e0002324. <https://doi.org/10.1128/msystems.00023-24>
86. Ma, Y., Khan, M. Z., Xiao, J., Alugongo, G. M., Chen, X., Li, S., Wang, Y., & Cao, Z. (2022). An Overview of Waste Milk Feeding Effect on Growth Performance, Metabolism, Antioxidant Status and Immunity of Dairy Calves. *Frontiers in veterinary science*, 9, 898295. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.898295>
87. Mahrt, A., Burfeind, O., & Heuwieser, W. (2014). Effects of time and sampling location on concentrations of β -hydroxybutyric acid in dairy cows. *Journal of dairy science*, 97(1), 291-298.
88. Martin, M. J., Weigel, K. A., & White, H. M. (2021). Assessment of the Relationship between Postpartum Health and Mid-Lactation Performance, Behavior, and Feed Efficiency in Holstein Dairy Cows. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(5), 1385. <https://doi.org/10.3390/ani11051385>
89. McArt, J. A. A., Nydam, D. V., & Oetzel, G. R. (2012). Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of dairy science*, 95(9), 5056–

5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5443>

90. McArt, J. A., Nydam, D. V., & Overton, M. W. (2015). Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: a deterministic estimate of component and total cost per case. *Journal of dairy science*, 98(3), 2043–2054. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8740>

91. McCarthy, M. M., Mann, S., Nydam, D. V., Overton, T. R., & McArt, J. A. (2015). Short communication: concentrations of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in dairy cows are not well correlated during the transition period. *Journal of dairy science*, 98(9), 6284–6290. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9446>

92. McDermott, K., Lee, M. R. F., McDowall, K. J., & Greathead, H. M. R. (2020). Cross Inoculation of Rumen Fluid to Improve Dry Matter Disappearance and Its Effect on Bacterial Composition Using an in vitro Batch Culture Model. *Frontiers in microbiology*, 11, 531404. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.531404>

93. McDougall, S., & Castle, R. (2021). Cow-level risk factors for clinical mastitis in the dry period in cows treated with an internal teat sealant alone at the end of lactation. *New Zealand veterinary journal*, 69(6), 327–336. <https://doi.org/10.1080/00480169.2021.19382690>

94. McEwen B. S. (1998). Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 840, 33–44. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09546.x>

95. McEwen, B. S., & Wingfield, J. C. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and behavior*, 43(1), 2–15. [https://doi.org/10.1016/s0018-506x\(02\)00024-7](https://doi.org/10.1016/s0018-506x(02)00024-7)

96. Miglior, F., Fleming, A., Malchiodi, F., Brito, L. F., Martin, P., & Baes, C. F. (2017). A 100-Year Review: Identification and genetic selection of economically important traits in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 100(12), 10251–10271. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12968>

97. Miles, A. M., McArt, J. A. A., Lima, S. F., Neves, R. C., & Ganda, E. (2022). The association of hyperketonemia with fecal and rumen microbiota at time of

diagnosis in a case-control cohort of early lactation cows. BMC veterinary research, 18(1), 411. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03500-4>

98. Miller, M. P. (2023). Investigating the relationship between stress and the epigenome (Doctoral dissertation).

99. Mohsin, M. A., Yu, H., He, R., Wang, P., Gan, L., Du, Y., Huang, Y., Abro, M. B., Sohaib, S., Pierzchala, M., Sobiech, P., Miętkiewska, K., Pareek, C. S., & He, B. X. (2022). Differentiation of Subclinical Ketosis and Liver Function Test Indices in Adipose Tissues Associated With Hyperketonemia in Postpartum Dairy Cattle. *Frontiers in veterinary science*, 8, 796494. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.796494>

100. Montévil M, Mossio M. Biological organisation as closure of constraints. *J Theor Biol.* 2015 May 7;372:179-91. doi: 10.1016/j.jtbi.2015.02.029. Epub 2015 Mar 6. PMID: 25752259.

101. Mordak, R., & Stewart, P. A. (2015). Periparturient stress and immune suppression as a potential cause of retained placenta in highly productive dairy cows: examples of prevention. *Acta veterinaria Scandinavica*, 57, 84. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0175-2>

102. Mordak, R., Nicpoń, J., & Illek, J. (2017). Metabolic and mineral conditions of retained placenta in highly productive dairy cows: pathogenesis, diagnostics and prevention—a review. *Acta Veterinaria Brno*, 86(3), 239-248. <https://doi.org/10.2754/avb201786030239>

103. Nazeer, M., Kumar, S., Jaiswal, M., Mishra, A., Upmanyu, G., Kumar, P., & Kumar, S. A. (2019). Prevalence and clinical manifestations of ketosis in cows in and around Bikaner. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 8, 1554-1560. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.179>

104. Nguyen, Tu HK., Thu, Le B. (2015). Evaluation of antimicrobial activities of *Bacillus megaterium* with a third-generation cephalosporin (ceftriaxone). 5 (09): 016-020. 10.7324/JAPS.2015.50903 https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/1616_pdf.pdf

105. O'Hara, E., Neves, A. L. A., Song, Y., & Guan, L. L. (2020). The Role of the

Gut Microbiome in Cattle Production and Health: Driver or Passenger?. Annual review of animal biosciences, 8, 199–220. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083952>

106. Oetzel GR. Undertaking nutritional diagnostic investigations. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2014 Nov;30(3):765-88. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.08.002. Epub 2014 Sep 20. PMID: 25245613.

107. Pacífico, C., Hartinger, T., Stauder, A., Schwartz-Zimmermann, H. E., Reisinger, N., Faas, J., & Zebeli, Q. (2021). Supplementing a Clay Mineral-Based Feed Additive Modulated Fecal Microbiota Composition, Liver Health, and Lipid Serum Metabolome in Dairy Cows Fed Starch-Rich Diets. *Frontiers in veterinary science*, 8, 714545. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.714545>

108. Pan, L. L., Li, B. B., Pan, X. H., & Sun, J. (2021). Gut microbiota in pancreatic diseases: possible new therapeutic strategies. *Acta pharmacologica Sinica*, 42(7), 1027–1039. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00532-0>

109. Pascottini, O. B., Leroy, J. L. M. R., & Opsomer, G. (2020). Metabolic Stress in the Transition Period of Dairy Cows: Focusing on the Prepartum Period. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(8), 1419. <https://doi.org/10.3390/ani10081419>

110. Pecka-Kiełb, E., Zachwieja, A., Humienna, K., Króliczewska, B., Zielak-Steciwo, A. E., Kaszuba, J., & Adamski, M. (2025). The impact of using Dried Distillers Grains with Solubles (DDGS) as a substitute for concentrate feeds during the dry period on the quality of bovine colostrum and the IgG levels in their calves' serum. *Polish journal of veterinary sciences*, 28(2), 259–269. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2025.154945>

111. Pikhtirova, A., Pecka-Kiełb, E., Króliczewska, B., Zachwieja, A., Króliczewski, J., & Kupczyński, R. (2024). The Effect of Saponite Clay on Ruminal Fermentation Parameters during In Vitro Studies. *Animals : an open access journal from MDPI*, 14(5), 738. <https://doi.org/10.3390/ani14050738>

112. Pinedo, P., Manríquez, D., Marotta, N., Mongiello, G., Risco, C., Leenaerts, L., Bothe, H., & Velez, J. (2021). Effect of oral calcium administration on metabolic status and uterine health of dairy cows with reduced postpartum rumination and eating time. *BMC veterinary research*, 17(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02881-2>
113. Piñeiro, J. M., Menichetti, B. T., Barragan, A. A., Relling, A. E., Weiss, W. P., Bas, S., & Schuenemann, G. M. (2019). Associations of pre- and postpartum lying time with metabolic, inflammation, and health status of lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 102(4), 3348–3361. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15386>
114. Pitta, D. W., Kumar, S., Vecchiarelli, B., Shirley, D. J., Bittinger, K., Baker, L. D., Ferguson, J. D., & Thomsen, N. (2014). Temporal dynamics in the ruminal microbiome of dairy cows during the transition period. *Journal of animal science*, 92(9), 4014–4022. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7621>
115. Prescott, S. C., & Breed, R. S. (1910). The Determination of the Number of Body Cells in Milk by a Direct Method. *American journal of public hygiene*, 20(3), 663–664. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2543863/>
116. Puppel, K., Gołębiewski, M., Solarczyk, P., Grodkowski, G., Slószarz, J., Kunowska-Slósarz, M., Balcerak, M., Przysucha, T., Kalińska, A., & Kuczyńska, B. (2019). The relationship between plasma β -hydroxybutyric acid and conjugated linoleic acid in milk as a biomarker for early diagnosis of ketosis in postpartum Polish Holstein-Friesian cows. *BMC veterinary research*, 15(1), 367. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2131-2>
117. Raboisson, D., & Barbier, M. (2017). Economic Synergy between Dry Cow Diet Improvement and Monensin Bolus Use to Prevent Subclinical Ketosis: An Experimental Demonstration Based on Available Literature. *Frontiers in veterinary science*, 4, 35. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00035>
118. Raboisson, D., Mounié, M., & Maigné, E. (2014). Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. *Journal of dairy science*, 97(12), 7547–7563.

<https://doi.org/10.3168/jds.2014-8237>

119. Rasmussen, P., Barkema, H. W., Osei, P. P., Taylor, J., Shaw, A. P., Conrady, B., Chaters, G., Muñoz, V., Hall, D. C., Apenteng, O. O., Rushton, J., & Torgerson, P. R. (2024). Global losses due to dairy cattle diseases: A comorbidity-adjusted economic analysis. *Journal of dairy science*, 107(9), 6945–6970. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24626>

120. Reichardt, N., Duncan, S. H., Young, P., Belenguer, A., McWilliam Leitch, C., Scott, K. P., Flint, H. J., & Louis, P. (2014). Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *The ISME journal*, 8(6), 1323–1335. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.14>

121. Rodriguez, Z., Shepley, E., Endres, M. I., Cramer, G., & Caixeta, L. S. (2022). Assessment of milk yield and composition, early reproductive performance, and herd removal in multiparous dairy cattle based on the week of diagnosis of hyperketonemia in early lactation. *Journal of dairy science*, 105(5), 4410–4420. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20836>

122. Rodriguez, Z., Wynands, E., Shepley, E., Baumgard, L. H., Cramer, G., & Caixeta, L. S. (2021). Exploring the role of milk yield in the first week of lactation on the association between hyperketonemia and reproductive performance in dairy cattle. *JDS communications*, 3(1), 7–12. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2021-0129>

123. Ruoff, J., Borchardt, S., & Heuwieser, W. (2017). Short communication: Associations between blood glucose concentration, onset of hyperketonemia, and milk production in early lactation dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(7), 5462–5467. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12237>

124. Saborido C, Moreno A. Biological pathology from an organizational perspective. *Theor Med Bioeth*. 2015 Feb;36(1):83-95. doi: 10.1007/s11017-015-9318-8. PMID: 25663052.

125. Sammad, A., Khan, M. Z., Abbas, Z., Hu, L., Ullah, Q., Wang, Y., Zhu, H., & Wang, Y. (2022). Major Nutritional Metabolic Alterations Influencing the Reproductive System of Postpartum Dairy Cows. *Metabolites*, 12(1), 60.

<https://doi.org/10.3390/metabo12010060>

126. Sammad, A., Umer, S., Shi, R., Zhu, H., Zhao, X., & Wang, Y. (2020). Dairy cow reproduction under the influence of heat stress. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 104(4), 978–986. <https://doi.org/10.1111/jpn.13257>

127. Schäff C, Börner S, Hacke S, Kautzsch U, Sauerwein H, Spachmann SK, Schweigel-Röntgen M, Hammon HM, Kuhla B. Increased muscle fatty acid oxidation in dairy cows with intensive body fat mobilization during early lactation. *J Dairy Sci*. 2013 Oct;96(10):6449-60. doi: 10.3168/jds.2013-6812. Epub 2013 Aug 1. PMID: 23910553.

128. Schulkin, J. (Ed.). (2004). Allostasis, homeostasis, and the costs of physiological adaptation. Cambridge University Press.

129. Selye H. Homeostasis and heterostasis. *Perspect Biol Med*. 1973 Spring;16(3):441-5. doi: 10.1353/pbm.1973.0056. PMID: 4705073.

130. Sepúlveda-Varas, P., Proudfoot, K. L., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. (2016). Changes in behaviour of dairy cows with clinical mastitis. *Applied Animal Behaviour Science*, 175, 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.09.022>

131. Shaffique, S., Shah, A. A., Odongkara, P., Elansary, H. O., Khan, A. L., Adhikari, A., Kang, S. M., & Lee, I. J. (2024). Deciphering the ABA and GA biosynthesis approach of *Bacillus pumilus*, mechanistic approach, explaining the role of metabolic region as an aid in improving the stress tolerance. *Scientific reports*, 14(1), 28923. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78227-3>

132. Shkromada, O., Hrek, V., Fotin, O., Hrek, R., & Rud, V. (2023). Increased lactation in females due to the use of probiotic-based feed additives. *Scientific Horizons*, 26(10), 9-18. <https://doi.org/10.48077/scihor10.2023.09>

133. Shkromada, O., Pikhtirova, A., Pecka-Kielb, E., Skliar, O. & Musiienko, Y. (2022). Use of Probiotic *Bacillus megaterium* NCH 55 for Treatment of Subclinical Mastitis in Cows – Preliminary Study. *Macedonian Veterinary Review*, 45(2), 2022. 209-214. <https://doi.org/10.2478/macvetrev-2022-0023>

134. Shkromada, O., Pikhtirova, A., Tytikh, Ya., Baydevliatov, Yu., & Fotin, A.

(2022). Treatment of Subclinical Mastitis of Cows with Probiotics. *Scientific Horizons*, 25(1), 30-40. [https://doi.org/10.48077/scihor.25\(1\).2022.30-40](https://doi.org/10.48077/scihor.25(1).2022.30-40)

135. Shkromada, O., Vlasenko, Ye., Panasenko, O., Baydevliatov, Yu., & Fotin, A. (2023). Prevention of subclinical ketosis in cows during drying off and after calving. *Scientific Horizons*, 26(5), 9-20. <https://doi.org/10.48077/scihor5.2023.09>

136. Song, Y., Wang, Z., Zhao, C., Bai, Y., Xia, C., & Xu, C. (2021). Effect of Negative Energy Balance on Plasma Metabolites, Minerals, Hormones, Cytokines and Ovarian Follicular Growth Rate in Holstein Dairy Cows. *Journal of veterinary research*, 65(3), 361–368. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2021-0035>

137. Sordillo LM, Raphael W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2013 Jul;29(2):267-78. doi: 10.1016/j.cvfa.2013.03.002. Epub 2013 Apr 19. PMID: 23809891.

138. Sterling, P. (2004). Principles of allostasis: optimal design, predictive regulation, pathophysiology, and rational. Allostasis, homeostasis, and the costs of physiological adaptation, 17.

139. Sundrum A. (2015). Metabolic Disorders in the Transition Period Indicate that the Dairy Cows' Ability to Adapt is Overstressed. *Animals : an open access journal from MDPI*, 5(4), 978–1020. <https://doi.org/10.3390/ani5040395>

140. Theinert, K. B., Snedec, T., Pietsch, F., Theile, S., Leonhardt, A. S., Spilke, J., Pichelmann, S., Bannert, E., Reichelt, K., Dobeleit, G., Fuhrmann, H., Baumgartner, W., Schären-Bannert, M., & Starke, A. (2022). Qualitative and Quantitative Changes in Total Lipid Concentration and Lipid Fractions in Liver Tissue of Periparturient German Holstein Dairy Cows of Two Age Groups. *Frontiers in veterinary science*, 9, 814808. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.814808>

141. Toledo-Alvarado, H., Cecchinato, A., & Bittante, G. (2017). Fertility traits of Holstein, Brown Swiss, Simmental, and Alpine Grey cows are differently affected by herd productivity and milk yield of individual cows. *Journal of dairy science*, 100(10), 8220–8231. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12442>

142. Trevisi, E., Amadori, M., Cogrossi, S., Razzuoli, E., & Bertoni, G. (2012). Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Research in veterinary science*, 93(2), 695–704. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.11.008>
143. Vailati-Riboni, M., Meier, S., Burke, C. R., Kay, J. K., Mitchell, M. D., Walker, C. G., Crookenden, M. A., Heiser, A., Rodriguez-Zas, S. L., Roche, J. R., & Loor, J. J. (2016). Prepartum body condition score and plane of nutrition affect the hepatic transcriptome during the transition period in grazing dairy cows. *BMC genomics*, 17(1), 854. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3191-3>
144. Van Saun R. J. (2016). Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 44(2), 118–127. <https://doi.org/10.15653/TPG-150947>
145. Van Saun, R. J., & Sniffen, C. J. (2014). Transition cow nutrition and feeding management for disease prevention. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 30(3), 689–719. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.07.009>
146. Vanholder, T., Papen, J., Bemers, R., Vertenten, G., & Berge, A. C. (2015). Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of dairy science*, 98(2), 880–888. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8362>
147. Vargová, M., Zigo, F., Výrostková, J., Farkašová, Z., & Rehan, I. F. (2023). Biofilm-Producing Ability of *Staphylococcus aureus* Obtained from Surfaces and Milk of Mastitic Cows. *Veterinary sciences*, 10(6), 386. <https://doi.org/10.3390/vetsci10060386>
148. Várhidi, Z., Máté, M., & Ózsvári, L. (2022). The use of probiotics in nutrition and herd health management in large Hungarian dairy cattle farms. *Frontiers in veterinary science*, 9, 957935. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.957935>
149. Verhoef, W., Zuidhof, S., Ross, J. A., Beaugrand, K., & Olson, M. (2023). Evaluation of a novel dipotassium phosphate bolus for treatment of metabolic disorders in dairy cattle. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1274183.

<https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1274183>

150. Walter, L. L., Gärtner, T., Gernand, E., Wehrend, A., & Donat, K. (2022). Effects of Parity and Stage of Lactation on Trend and Variability of Metabolic Markers in Dairy Cows. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12(8), 1008. <https://doi.org/10.3390/ani12081008>

151. Wang, J., Zhu, X., She, G., Kong, Y., Guo, Y., Wang, Z., Liu, G., & Zhao, B. (2018). Serum hepatokines in dairy cows: periparturient variation and changes in energy-related metabolic disorders. *BMC veterinary research*, 14(1), 236. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1560-7>

152. Wang, Q., Cui, Y., Indugu, N., Loor, J. J., Jiang, Q., Yu, Z., Baker, L., Pitta, D., Deng, Z., & Xu, C. (2023). Integrated meta-omics analyses reveal a role of ruminal microorganisms in ketone body accumulation and ketosis in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 106(7), 4906–4917. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22282>

153. Wang, X., Li, X., Zhao, C., Hu, P., Chen, H., Liu, Z., Liu, G., & Wang, Z. (2012). Correlation between composition of the bacterial community and concentration of volatile fatty acids in the rumen during the transition period and ketosis in dairy cows. *Applied and environmental microbiology*, 78(7), 2386–2392. <https://doi.org/10.1128/AEM.07545-11>

154. Wankhade, P. R., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Ramesha, K. P., Sejian, V., Rajendran, D., & Varghese, M. R. (2017). Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Veterinary world*, 10(11), 1367–1377. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1367-1377>

155. Warma, A., Descarreaux, M., Chorfi, Y., Dupras, R., Rémillard, R., & Ndiaye, K. (2020). Interleukins' expression profile changes in granulosa cells of preovulatory follicles during the postpartum period in dairy cows. *Cytokine: X*, 2(1), 100022. <https://doi.org/10.1016/j.cyttox.2020.100022>

156. Weigel, K. A., Pralle, R. S., Adams, H., Cho, K., Do, C., & White, H. M. (2017). Prediction of whole-genome risk for selection and management of hyperketonemia in Holstein dairy cattle. *Journal of animal breeding and genetics* =

Zeitschrift für Tierzucht und Zuchtungsbiologie, 134(3), 275–285.
<https://doi.org/10.1111/jbg.12259>

157. Wickramasinghe, H. K. J. P., Anast, J. M., Schmitz-Esser, S., Serão, N. V. L., & Appuhamy, J. A. D. R. N. (2020). Beginning to offer drinking water at birth increases the species richness and the abundance of Faecalibacterium and Bifidobacterium in the gut of preweaned dairy calves. *Journal of dairy science*, 103(5), 4262–4274.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17258>

158. Williamson, M., Couto Serrenho, R., McBride, B. W., LeBlanc, S. J., DeVries, T. J., & Duffield, T. F. (2022). Reducing milking frequency from twice to once daily as an adjunct treatment for ketosis in lactating dairy cows-A randomized controlled trial. *Journal of dairy science*, 105(2), 1402–1417.
<https://doi.org/10.3168/jds.2021-20551>

159. Yan, Z., Huang, H., Freebern, E., Santos, D. J. A., Dai, D., Si, J., Ma, C., Cao, J., Guo, G., Liu, G. E., Ma, L., Fang, L., & Zhang, Y. (2020). Integrating RNA-Seq with GWAS reveals novel insights into the molecular mechanism underpinning ketosis in cattle. *BMC genomics*, 21(1), 489. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06909-z>

160. Yang, Z., Luo, F., Liu, G., Luo, Z., Ma, S., Gao, H., He, H., & Tao, J. (2022). Plasma Metabolomic Analysis Reveals the Relationship between Immune Function and Metabolic Changes in Holstein Peripartum Dairy Cows. *Metabolites*, 12(10), 953.
<https://doi.org/10.3390/metabo12100953>

161. Yehia, S. G., Ramadan, E. S., Megahed, E. A., & Salem, N. Y. (2020). Effect of parity on metabolic and oxidative stress profiles in Holstein dairy cows. *Veterinary world*, 13(12), 2780–2786.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2780-2786>

162. Yin, P., Zhang, Z., Li, J., Shi, Y., Jin, N., Zou, W., Gao, Q., Wang, W., & Liu, F. (2019). Ferulic acid inhibits bovine endometrial epithelial cells against LPS-induced inflammation via suppressing NK- κ B and MAPK pathway. *Research in veterinary science*, 126, 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.018>

163. Zachwieja, A., Pecka-Kiełb, E., Humienna, K., Zielak-Steciwko, A., Króliczewska, B., Kaszuba, J., Adamski, M., Tumanowicz, J., & Wilk, M. (2025). Dried distillers' grains with solubles as a key feed ingredient in dairy cow diets: Implications for colostrum quality and calf immunity. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 310, 106317. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2025.106317>
164. Zachwieja, A., Pecka-Kiełb, E., Zielak-Steciwko, A., Króliczewska, B., Kaszuba, J., & Kupczyński, R. (2025). Effect of Rumen-Protected Cod Liver Oil Supplementation on Fatty Acid Profile of Meat from Limousin and Red Angus Cattle. *Animals : an open access journal from MDPI*, 15(13), 1856. <https://doi.org/10.3390/ani15131856>
165. Zandkarimi, F., Vanegas, J., Fern, X., Maier, C. S., & Bobe, G. (2018). Metabotypes with elevated protein and lipid catabolism and inflammation precede clinical mastitis in prepartal transition dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(6), 5531–5548. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13977>
166. Zazharska, N., Fotina, T., Yatsenko, I., Tarasenko, L., Biben, I., Zazharskyi, V., Brygadyrenko, V., Sklyarov, P. (2021) Comparative analysis of the criteria for goat milk assessment in Ukraine and France. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(2), 144-148. <https://www.ujecology.com/abstract/comparative-analysis-of-the-criteria-for-goat-milk-assessment-in-ukraine-and-france-70478.html>
167. Zdrojkowski, Ł., Jasiński, T., Ferreira-Dias, G., Pawliński, B., & Domino, M. (2023). The Role of NF-κB in Endometrial Diseases in Humans and Animals: A Review. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 2901. <https://doi.org/10.3390/ijms24032901>
168. Zhang, C., Wang, Z., Liu, X., Liu, X., Liu, T., Feng, Y., Yuan, Z., Jia, Z., & Zhang, Y. (2024). Akkermansia muciniphila administration ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia and muscle atrophy by promoting IGF2 secretion from mouse intestine. *iMeta*, 3(5), e237. <https://doi.org/10.1002/imt2.237>
169. Zhang, F., Nan, X., Wang, H., Zhao, Y., Guo, Y., & Xiong, B. (2020). Effects of Propylene Glycol on Negative Energy Balance of Postpartum Dairy Cows.

Animals : an open access journal from MDPI, 10(9), 1526.
<https://doi.org/10.3390/ani10091526>

170. Zhang, G., Dervishi, E., Dunn, S. M., Mandal, R., Liu, P., Han, B., Wishart, D. S., & Ametaj, B. N. (2017). Metabotyping reveals distinct metabolic alterations in ketotic cows and identifies early predictive serum biomarkers for the risk of disease. *Metabolomics*, 13(4), Article 43. <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1180-4>

171. Zhang, G., Mandal, R., Wishart, D. S., & Ametaj, B. N. (2021). A Multi-Platform Metabolomics Approach Identifies Urinary Metabolite Signatures That Differentiate Ketotic From Healthy Dairy Cows. *Frontiers in veterinary science*, 8, 595983. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.595983>

172. Zhang, J., Gaowa, N., Wang, Y., Li, H., Cao, Z., Yang, H., Zhang, X., & Li, S. (2023). Complementary hepatic metabolomics and proteomics reveal the adaptive mechanisms of dairy cows to the transition period. *Journal of dairy science*, 106(3), 2071–2088. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22224>

173. Zhao, C., Bai, Y., Fu, S., Wu, L., Xia, C., & Xu, C. (2020). Metabolic alterations in dairy cows with subclinical ketosis after treatment with carboxymethyl chitosan-loaded, reduced glutathione nanoparticles. *Journal of veterinary internal medicine*, 34(6), 2787–2799. <https://doi.org/10.1111/jvim.15894>.

174. Zhu, Q., Xu, X., Liu, X., Lin, J., Kan, Y., Zhong, Y., Liu, F., & Xu, J. (2015). Sodium houttuynfonate inhibits inflammation by blocking the MAPKs/NF-κB signaling pathways in bovine endometrial epithelial cells. *Research in veterinary science*, 100, 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.04.004>

175. Zhu, Z., Kristensen, L., Difford, G. F., Poulsen, M., Noel, S. J., Abu Al-Soud, W., Sørensen, S. J., Lassen, J., Løvendahl, P., & Højberg, O. (2018). Changes in rumen bacterial and archaeal communities over the transition period in primiparous Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(11), 9847–9862. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14366>

176. Zigo, F., Farkašová, Z., Výrostková, J., Regecová, I., Ondrašovičová, S.,

Vargová, M., Sasáková, N., Pecka-Kielb, E., Bursová, Š., & Kiss, D. S. (2022). Dairy Cows' Udder Pathogens and Occurrence of Virulence Factors in Staphylococci. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12(4), 470. <https://doi.org/10.3390/ani12040470>

ДОДАТКИ

Додаток А

Список праць, опублікованих за темою дисертації

Scopus:

1. Shkromada, O., Vlasenko, Ye., Panasenko, O., Baydevliatov, Yu., & Fotin, A. (2023). Prevention of subclinical ketosis in cows during drying off and after calving. *Scientific Horizons*, 26(5), 9-20. <https://doi.org/10.48077/scihor5.2023.09> *(Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).*

Наукові праці, опубліковані у наукових фахових виданнях України:

2. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2023). Захворювання, викликані метаболічними зрушеннями, у корів сухостійного та післяродового періоду. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*, (4(59)), 70-75. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.4.11> *(Здобувач спільно зі співавторами провів дослідження, проаналізував та узагальнив результати).*

3. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2024). Визначення продуктивності корів при кетозі за використання пробіотики. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*, 25(1), 241-250. <https://doi.org/10.36359/scivp.2024-25-1.30> *(Здобувач проводив збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).*

4. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2025). Дослідження фекального мікробіому корів при кетозі. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*, (2(69)), 125-129. <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2025.2.18>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Власенко, Є. К. Профілактика порушення метаболізму у дійних корів. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 14-18 листопада 2022 року: тези доповіді. С. 149.

6. Власенко, Є. К., Шкромада, О. І. Профілактика виникнення кетозу у високоудійних корів Матеріали Х наукової конференції «НАУКОВІ ПІДСУМКИ 2021» 20 грудня 2022 С. 73 м. Харків, Україна <https://entc.com.ua/uk/konferentsii/610-naukovi-pidsumky-roku> (Здобувач проводить збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).

7. Власенко Є., Грек В. Порушення метаболізму у дійних корів. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 13-17 листопада 2023 року: тези доповіді. С. 219. (Здобувач проводить збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).

8. Власенко, Є. К. Основні причини виникнення субклінічного маститу у корів. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 13-17 листопада 2024 року: тези доповіді. С. 266.

9. Власенко, Є. К. Метаболічні захворювання корів у перехідний період. Матеріали науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ, 14-18 квітня 2025 року: тези доповіді. С. 211.

10. Шкромада, О.І., Власенко Є.К. Вплив негативного енергетичного балансу у корів транзитного періоду на метаболізм рубця. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Інноваційні підходи у ветеринарній медицині: контроль заразних та незаразних хвороб тварин», присвячена 80-річчю від дня народження професора, доктора ветеринарних наук, Андрія Володимировича Березовського, 27 – 28 листопада 2025 року, м. Суми: тези доповіді. С. 73. (Здобувач проводить збір та аналіз первинних даних, інтерпретацію результатів).

Науково-практичні рекомендації

11. Шкромада О.І. Власенко Є.К. «Профілактика та лікування метаболічних розладів у корів глибокого сухостою та після отелення». Суми, 2025. 30 с. (затверджені Вченою радою СНАУ, протокол № 4, від 29.09.2025 року). (Здобувач підготував та оформив матеріали).

Додаток Б

Науково-практичні рекомендації

СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ

УНІВЕРСИТЕТ

Укладачі:

Шкромда О.І., д.вет.н., професор, завідувач кафедри акушерства та хірургії;

Власенко Є.К., аспірант кафедри акушерства та хірургії;

Профілактика та лікування метаболічних розладів у корів глибокого сухостою та після отелення. Науково-практичні рекомендації для фахівців ветеринарної медицини та виробників. – Суми, 2025. – 30 с.

Дані науково-практичні рекомендації містять інформацію про

Рецензенти:

Р.В. Петров, д. вет. н., професор, завідувач кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ,

А.П. Палій, д. вет. н., професор, директор ННЦ «ІЕКВМ».

Відповідальний за випуск **Шкромда О.І.**, д.вет.н., професор, завідувач кафедри акушерства та хірургії

Розглянуто та рекомендовано до видання:

Вченою радою СНАУ, протокол №4 від 29.09.2025 року.

© Сумський національний аграрний університет

Суми-2025

Додаток В
Депонування Штаму

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму в
Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології
НАН України

Кому видано: Волошин І.В., Яценя А.О.
ПП «Кронос Агро»
Поштова адреса 07834, Київська обл., Бородянський р-н, с. Озера,
вул. Шевченка, 18-Б

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Bacillus pumilus LA 56

первісно депонований в :

Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Bacillus pumilus IMB B-7879

Супроводжувальна документація від депозитара одержана:

паспорт, висновок про непатогенність, договір 42-2020

Дата первісного депонування: **15.04.2020**

Директор Інституту
мікробіології



Адреса: 03143, Київ, вул. Заболотного, 154

www.imv.kiev.ua;

Golovacht@ukr.net, 044-294-69-60

AR

Додаток В

Довідка

+38 (044) 273 - 20 - 87 07834, Україна,
273 - 20 - 88, 599 - 60 - 71 Київська область
admin@kronosagro.net Бородянський р-н
www.kronosagro.net с. Озера, вул. Шевченка, 18-Б
Код ЄДРПОУ 32430604
Р/р 2600449628 в «Райффайзен Банк АВАЛЬ»
м. Київ, МФО 380805

КРОНОС
ПРИВАТНЕ ПІДПРИЄМСТВО **агро**

Вих. №59

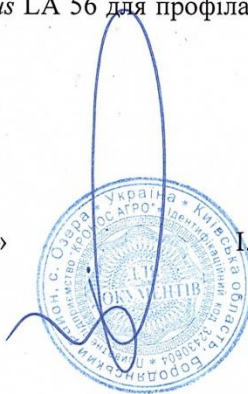
Від 08/12/2025

ДОВІДКА

Видана аспіранту Сумського НАУ Власенку Євгенію Костянтиновичу про те, що в результаті додаткових доклінічних та клінічних досліджень пробіотичних бактерій *Bacillus Pumilus* LA 56 виробництва ПП «Кронос Агро», проведених в умовах промислового тваринництва, отримані нові дані що до властивостей вказаного пробіотичного штаму. Надані ним пропозиції було розглянуто та схвалено на засіданні правління ПП «Кронос Агро» та прийняте рішення ввести доповнення до існуючої листівки вкладки, в частині застосування *Bacillus Pumilus* LA 56 для профілактики та лікування кетозу у великої рогатої худоби.

Директор ПП «Кронос Агро»

І.О. Мартинюк



Додаток В
Акти виробничої перевірки

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

ТОВ «Агрофірма Лан»

Кіриченко Є.С.



« 23 » вересня 2023 року

АКТ

**виробничої перевірки пробіотичного штаму *Bacillus Pumilus LA 56*,
в умовах ТОВ «Агрофірма Лан» с. Кіндратівка, Сумського району,
Сумської області»**

Ми, що нижче підписалися, лікар ветеринарної медицини Титух Я.В.; д. вет. наук., професор, завідувач кафедри акушерства та хірургії Шкромада О.І.; аспірант Власенко Є.К. склали даний акт про те, що в умовах дослідного господарства ТОВ «Агрофірма Лан» був випробуваний пробіотик *Bacillus Pumilus LA 56*,. Була визначена ефективність лікування кетозу у корів.

Всі експерименти були проведені згідно науково-дослідної роботи Сумського національного аграрного університету за темою «Вивчення патогенетичних механізмів розвитку запальної реакції, метаболічних та імунологічних процесів протидії біотичних та абіотичних факторів за акушерсько-гінекологічної та хірургічної патології в тварин» (державний реєстраційний номер 0121U107733).

Підписи:

Three handwritten signatures in blue ink, corresponding to the names listed to the right.

Я.В. Титух

О.І. Шкромада

Є.К. Власенко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Генеральний директор кторектор

ТОВ «Комишуватський МК»



АКТ

**виробничої перевірки пробіотичного штаму *Bacillus Pumilus LA 56*,
в умовах ТОВ «Комишуватський МК» с. Микола-Комишувата ,
Красноградського району, Харківської області»**

Ми, що нижче підписалися, лікар ветеринарної медицини Титух Я.В.; д. вет. наук., професор, завідувач кафедри акушерства та хірургії Шкромада О.І.; аспірант Власенко Є.К. склали даний акт про те, що в умовах дослідного господарства ТОВ «Комишуватський МК» був випробуваний пробіотик *Bacillus Pumilus LA 56*. Була визначена ефективність лікування кетозу у корів.

Всі експерименти були проведені згідно науково-дослідної роботи Сумського національного аграрного університету за темою «Вивчення патогенетичних механізмів розвитку запальної реакції, метаболічних та імунологічних процесів протидії біотичних та абіотичних факторів за акушерсько-гінекологічної та хірургічної патології в тварин» (державний реєстраційний номер 0121U107733).

Підписи:

Я.В. Титух

О.І. Шкромада

Є.К. Власенко