

**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA**

Veterinarijos fakultetas

Rusnė Rameikaitė

**Akustinių – mechaninių virpesių pritaikymo tyrimai
melžiamų karvių mastitų prevencijai ir gydymui
Studies on the Application of Acoustic – Mechanical
Oscillations for the Prevention and Treatment of Mastitis
in Dairy Cows**

Veterinarinės medicinos vientisųjų studijų

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovas: Prof. dr. Antanas Sederevičius

Kaunas, 2023

**DARBAS ATLIKTAS ANATOMIJOS IR FIZIOLOGIJOS KATEDROJE
PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ**

Patvirtinu, kad magistro baigiamasis darbas „Akustinių – mechaninių virpesių pritaikymo tyrimai melžiamų karvių mastitų prevencijai ir gydymui“:

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

Rusnė Rameikaitė

(data)

(autorius vardas, pavardė)

(parašas)

PATVIRTINIMAS APIE DARBO LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ

Patvirtinu, kad darbo lietuvių kalba taisyklinga.

(data)

(redaktoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADA DĖL DARBO GYNIMO

Patvirtinu, kad darbas atitinka reikalavimus ir yra parengtas gynimui

Antanas Sederevičius

(data)

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

(parašas)

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

(aprobacijos data)

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

(parašas)

Magistro baigiamojo darbo recenzentas

(pareigos, mokslinis laipsnis, vardas, pavardė)

(parašas)

Magistro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data)

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

(parašas)

TURINYS

SANTRAUKA	4
SUMMARY	5
SANTRUMPOS	6
ĮVADAS.....	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	8
1.1. Klinikinis mastitas	8
1.2. Subklinikinis mastitas	8
1.3. Mastitų patogenezė	9
1.4. Mastitų diagnostika.....	10
1.5. Mastitų gydymas.....	12
1.6. Mastitų prevencija.....	13
1.7. Akustinių – mechaninių virpesių terapija	14
1.8. Pieno sudėties ir kokybės rodikliai	15
1.8.1. Pieno kiekis	15
1.8.2. Somatinių ląstelių skaičius	16
1.8.3. Laktozė	16
1.8.4. Riebalai.....	17
1.8.5. Baltymai	17
1.8.6. Šlapalas.....	17
1.8.7. Pieno pH.....	18
1.8.8. Bendras bakterinis užterštumas.....	18
2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA	19
2.1. Statistinė analizė	21
3. TYRIMO REZULTATAI	23
4. REZULTATŲ APTARIMAS	33
IŠVADOS	36
REKOMENDACIJOS	37
LITERATŪROS SĄRAŠAS	38

AKUSTINIŲ – MECHANINIŲ VIRPESIŲ PRITAIKYMO TYRIMAI MELŽIAMŲ KARVIŲ MASTITŲ PREVENCIJAI IR GYDYMUI

Rusnė Rameikaitė

Magistro baigiamasis darbas

SANTRAUKA

Šio tyrimo tikslas buvo įvertinti kliniškai sveikų ir sergančių subklinikiniu (SKM) bei klinikiniu (KM) mastitais karvių išskiriamo pieno sudėties ir kokybės rodiklius, veikiant tešmenį mechaniniais – akustiniais virpesiais (AMV).

Tyrimui buvo atrinktos 34 karvės, kurios buvo suskirstytos į 4 grupes. 1-ajai (kontrolinei) grupei priklausė 6 kliniškai sveikos karvės. 2-oje (eksperimentinėje) grupėje atrinktos 15 kliniškai sveikos karvės, kurioms buvo taikyta akustinių – mechaninių virpesių terapija. 3-oje (eksperimentinėje) grupėje buvo 4 karvės, kurių mastitas buvo subklinikinis. 4-tą (eksperimentinę) grupę sudarė 9 karvės, sergančios klinikiniu mastitu. 2 grupei priklausančioms karvėms išmatuota išorinė tešmens temperatūra naudojant infraraudonųjų spindulių termografinę kamerą „FLIR T450sc“. 2, 3 ir 4 grupėms priklausančioms karvėms buvo taikytas LSMU ir KTU mokslininkų sukurtas žemo dažnio virpesių prietaisas „Karvės tešmens stimuliacijos sistema“ (LT 2021 542 A). Pieno mėginiai tyrimui paimti iš visų 34-ių karvių eksperimento pradžioje bei praėjus 5 ir 7 dienoms nuo tyrimo pradžios.

Nustatyta, kad akustiniai – mechaniniai virpesiai neturėjo įtakos pieno sudėties ir kokybės rodikliams kliniškai sveikoms karvėms, tačiau turėjo įtakos subklinikiniu ir klinikiniu mastitu sergančioms karvėms. SKM ir KM sergančių karvių primilžis padidėjo 13,44 proc. ir 14,74 proc., o somatinių ląstelių skaičius (SLS) sumažėjo 59,7 proc. ir 80,04 proc. Nustatyta, jog SKM sergančių karvių pieno sudėties rodikliai, tokie kaip, laktozė padidėjo 20,04 proc., šlapalas – 47,5 proc., pH – 5,56 proc., o riebalų kiekis sumažėjo 35,77 proc., baltymų – 22,7 proc. ir bendras bakterinis užterštumas (BBU) – 85,35 proc. Karvių, sergančių KM, sumažėjo riebalų kiekis 26,44 proc., šlapalo – 10,31 proc. ir BBU – 71,82 proc.

Raktažodžiai: akustiniai – mechaniniai virpesiai, mastitas, melžiamos karvės.

STUDIES ON THE APPLICATION OF ACOUSTIC – MECHANICAL OSCILLATIONS FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF MASTITIS IN DAIRY COWS

Rusnė Rameikaitė

Master's Thesis

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the composition and quality of milk secreted by clinically healthy cows and cows with subclinical (SCM) and clinical mastitis (CM) by acoustic – mechanical oscillations (AMO) of the udder.

The study involved the selection of 34 cows, which were divided into 4 groups. 6 clinically healthy cows belonged to the 1st (control) group. Group 2 (experimental) consisted of 15 clinically healthy cows treated with acoustic – mechanical oscillations therapy. Group 3 (experimental) included 4 cows with subclinical mastitis. The 4th (experimental) group consisted of 9 cows with clinical mastitis. In group 2, the external temperature of the udder was measured using a FLIR T450sc infrared thermography camera. The cattle belonging to groups 2, 3 and 4 were subjected to the low – frequency oscillating device "Cow udder stimulation system" (LT 2021 542 A), developed by LSMU and KTU scientists. Milk samples were taken from all 34 cows at the beginning of the experiment and 5 and 7 days after the start of the study.

It was found that acoustic – mechanical vibrations did not affect milk composition and quality parameters in clinically healthy cows, but did affect cows with subclinical and clinical mastitis. In cows with SCM and CM, milk yield increased by 13.4 % and 14.74 %, while somatic cell count (SCC) decreased by 59.7 % and 80.04 %. It was found that milk composition parameters such as lactose increased by 20.04 %, urea by 47.5 %, pH by 5.56 % and fat content decreased by 35.77 %, protein by 22.7 % and bulk milk tank somatic cell count (BMTSCC) by 85.35% in cows with SCM. In cows with CM, fat content decreased by 26.44 %, urea by 10.31 % and BMTSCC by 71.82 %.

Keywords: acoustic – mechanical oscillations, mastitis, dairy cows.

SANTRUMPOS

SKM – subklinikinis mastitas;

KM – klinikinis mastitas;

KMT – Kalifornijos mastito testas;

SLS – Somatinių ląstelių skaičius;

IRT – infraraudonųjų spindulių termografija;

AMV – akustiniai – mechaniniai virpesiai;

NVNU – nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo;

BBU – bendras bakterinis užterštumas;

Gram. + – gram teigiama;

Gram - – gram neigiama;

S. aureus – *Staphylococcus aureus*;

CNS staph. – koaguliazai neigiami stafilokokai;

S. agalacticae – *Streptococcus agalactiae*;

S. dysagalactiae – *Streptococcus dysagalactiae*;

S. uberis – *Streptococcus uberis*;

E. coli – *Escherichia coli*;

K. pneumoniae – *Klebsiella pneumoniae*.

ĮVADAS

Galvijų mastitas yra pieno liaukos uždegimas, kuris sukelia sunkius arba negrįžtamus pieno liaukos pakitimus. Mastitas laikomas labiausiai paplitusia liga galvijų ūkiuose visame pasaulyje. Dėl sumažėjusio primilžio ir prastos pieno kokybės, pieno pramonė patiria didžiulius ekonominius nuostolius (1). Be to, per mastitu paveiktą pieną gali būti perduodami antimikrobinėms medžiagoms atsparūs patogenai (2). Antimikrobinis rezistentiškumas yra viena iš dešimties didžiausių pasaulinių grėsmių sveikatai. Bakterijų atsparumas antibiotikams yra neatidėliotina pasaulinė visuomenės sveikatos ir socialinė – ekonominė problema (3). Todėl yra kuriamos ir tiriamos naujos mastitų profilaktikos ir gydymo strategijos (4).

Naujausia melžiamų karvių mastitų gydymo galimybė remiasi neinvazyviu, mažo intensyvumo akustinių – mechaninių virpesių technologijos poveikiu. Šis gydymas veikia ląstelių mechanotransdukciją, stimuliuoja naujų arteriolių augimą, gerina kraujotaką ir audinių aprūpinimą deguonimi, o tai skatina audinių regeneraciją ir sukelia priešūždegiminį poveikį, nenaudojant papildomų antimikrobinų medžiagų (5). Daugiau nei šimtui karvių iš kelių pieno ūkių, kurios sirgo subklinikiniais ir klinikiniais mastitais, buvo įvertintas akustinių – mechaninių virpesių poveikis. Rezultatai parodė 70-80 proc. karvių pasveikimą, t. y. somatinių ląstelių skaičiaus sumažėjimą iki < 250 tūkst. ląstelių/ml ir grįžimą prie normalios pieno produkcijos per visus tris mėnesius, kai buvo stebėti pieno kokybės tyrimo rodikliai. Todėl AMV terapija gali tapti veiksminga ir tvaria alternatyva antibiotikų naudojimui, melžiamų karvių mastitų gydymui bei jų prevencijai (6).

Darbo tikslas: ištirti kliniškai sveikų ir sergančių subklinikiniais ir klinikiniais mastitais karvių pieno sudėtį ir kokybę, paviršinės tešmens temperatūros pokyčius prieš eksperimentą ir veikiant tešmenį akustiniais – mechaniniais virpesiais.

Darbo uždaviniai:

1. Ištirti kliniškai sveikų melžiamų karvių tešmens išskiriamo pieno sudėtį ir kokybę, paviršinės tešmens temperatūros pokyčius, paveikus tešmenį akustiniais – mechaniniais virpesiais.

2. Ištirti sergančioms subklinikiniais ir klinikiniais mastitais melžiamoms karvėms akustinių – mechaninių virpesių poveikį somatinių ląstelių skaičiui, pieno kokybei ir klinikinei gyvulio būklei.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Klinikinis mastitas

Mastitas yra karvių pieno liaukos uždegimas, kuris sukelia didelį ekonominį poveikį visame pasaulyje dėl sumažėjusio pieno primilžio, pablogėjusios pieno kokybės, gydymo išlaidų, priverstinio karvių skerdimo, gaišimo ir padidėjusio atsparumo antimikrobinėmis medžiagomis (7). Priklausomai nuo uždegimo sunkumo ir eigos, mastitas gali būti skirstomas į subklinikinį ir klinikinį. Klinikinis mastitas yra akivaizdus ir lengvai atpažįstamas pagal stebimus pakitimus, pavyzdžiui, paraudusį ir patinusį tešmenį, padidėjusią vidinę kūno temperatūrą, apetito stoką, vandeningą pieną su dribsniais ir krešuliais (8).

Klinikinį mastitą sukelia įvairūs patogenai, tokie kaip, bakterijos, virusai, grybai ir vienląsčiai organizmai (9). Dažniausiai mastitą sukelia bakterijos, kurios gali būti skirstomos į 2 pagrindines grupes: užkrečiamąsias ir oportunistines arba aplinkos bakterijas. Dažniausiai pasitaikiusios užkrečiamosios bakterijos yra *Staphylococcus aureus* ir *Streptococcus agalactiae*, rečiau – *Mycoplasma bovis*. Prie oportunistinių spenių odos bakterijų priskiriami koaguliazė neigiami stafilokokai, kurie laikomi nežymiais patogenais. Tarp aplinkos patogenų dažnai aptinkami *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., streptokokai ir *Trueperella pyogenes* kartu su rečiau aptinkamomis rūšimis, tokiomis kaip *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas* spp. ir įvairios *Enterobacteriaceae* bakterijos (10). Virusinės kilmės mastitus sukelia galvijų 1 tipo herpes virusas, 4 tipo herpes virusas, snukio ir nagų ligos virusas ir galvijų paragripo 3 virusas (11). Nebakterinės kilmės mastitą gali sukelti mielės, priklausančios *Candida* spp. arba *Prototheca* spp. mikrodumbliai (dažniausiai *P. zopfii*) (12).

Klinikinis mastitas pagal susirgimo laipsnį klasifikuojamas į: stipriai ūminį, ūminį ir poūmį klinikinį mastitą (13).

1.2. Subklinikinis mastitas

Subklinikiniam mastitui, dar kitaip vadinamam slaptuoju mastitu, būdingas didelis somatinių ląstelių skaičius (SLS) piene be jokių matomų pieno ir tešmens pakitimų bei akivaizdžių sisteminių požymių. Jis pasireiškia 15-40 kartų dažniau nei klinikinis mastitas (14). Be patiriamų didžiulių nuostolių pieno gamyboje, subklinikine forma sergančios pieninės karvės išlieka nuolatinio infekcijos šaltiniu bandoje (15). Ankstyvas subklinikinio mastito nustatymas yra labai svarbus taikant mastito kontrolės ir valdymo strategijas.

Dėl subklinikinio mastito pieno gamyba gali sumažėti 10-20 proc. (16). Padidėjęs somatinių ląstelių skaičius piene yra susijęs su mažesne pieno gamyba, sumažėjusiu laktozės ir kazeino kiekiu bei aukštesniu pH (17). Kadangi piene vizualiai pakitimų nematome, subklinikinio mastito nustatymui reikalingi specialūs diagnostikos metodai, iš kurių dažniausiai taikomas yra somatinių ląstelių skaičiaus nustatymas piene (18).

Didžioji dalis mastitų (90 proc.) yra bakterinės kilmės (19). Pagrindiniai subklinikinio mastito sukėlėjai yra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ir koliforminės bakterijos, tokios kaip *Escherichia coli* (20).

1.3. Mastitų patogenezė

Mastito vystymąsi galima išskirti į tris etapus: invazija, infekcija ir uždegimas. Invazijos etapo metu patogenai per spenio kanalą patenka į pieną. Infekcijos stadijoje patogenai sparčiai dauginasi ir įsiskverbia į aplinkinius audinius (13). Uždegimo stadijos metu pasireiškia įvairaus laipsnio klinikiniai tešmens pakitimai ir sisteminis organizmo poveikis – nuo lengvo iki ūmaus, taip pat pieno pakitimai, tokie kaip, padidėjęs pieno laidumas, pH, vandens kiekis, dribsnių ar krešulių atsiradimas (13,21).

Pirmasis pieno liaukos barjeras prieš mikroorganizmų invaziją yra spenio kanalo (*lot. ductus pappilaris*) stenozė. Spenio kanalo viduje yra keratino, kuris suriša bakterijas ir neleidžia joms prasiskverbti į pieno cisterną. Pažeidus šį natūralų barjerą, patogenai lengvai patenka į tešmens spenio kanalą ir sukelia infekciją. Be šio anatominio barjero, mastitų patogenezėje svarbų gynybos mechanizmą atlieka įgimtas ir įgytas imunitetas (22). Pagrindinės ląstelės, kurios dalyvauja imuniniame atsake yra neutrofilai, makrofagai, limfocitai ir epitelio ląstelės (23). Uždegimo metu infekuotame audinyje padidėja kraujagyslių pralaidumas, leukocitai migruoja iš kraujagyslių į intersticinį skystį ir kaupiasi pažeidimo vietoje. Mikroorganizmai išskiria toksinus, kurie suaktyvina leukocitus ir epitelio ląsteles išskirti citokinus. Citokinai stimuliuoja imuninių ląstelių chemotaksį į pažeidimo vietą, tokių kaip polimorfonuklearinių leukocitų, kurie veikia fagocitiškai. Po transmigracijos neutrofilai tampa makrofagais ir pradeda vykdyti savo pagrindinę funkciją, t. y. fagocitozę ir patogenų naikinimą, kuris susijęs su daugelio uždegimo mediatorių išsiskyrimu. Fagocitozės metu makrofagai taip pat išskiria medžiagas, kurios gali pažeisti pieno liaukos gleivinės paviršių. Pažeistas audinys pasikeičia skaiduliniu audiniu, todėl sumažėja sekretinių ląstelių (22). Žuvusios ir atsiskyrusios pieno liaukos epitelio ląstelės, be negyvų leukocitų, išsiskiria į pieną, dėl to padidėja somatinių ląstelių skaičius piene (21). Krešuliai, kurie susidarė veikiant leukocitams ir kraujo krešėjimo faktoriams, gali užkimšti spenio kanalą ir tokiu būdu neleisti pienui pilnai pasišalinti. Dėl epitelio ląstelių pažeidimo ir latakų užsikimšimo kai kuriais atvejais gali

susidaryti randinis audinys ir pažeista liaukos dalis visam laikui praranda savo funkciją. Kitais atvejais uždegimas gali nurimti ir per tam tikrą laiką atsistato audiniai bei liaukos struktūra (13).

1.4. Mastitų diagnostika

Pieninių karvių mastitus galima diagnozuoti remiantis klinikiniais tyrimais arba specialiaisiais tyrimo metodais. Ankstyvas mastitų diagnozavimas gali užkirsti kelią tolesniam tešmens būklės blogėjimui, pagerinti gydymo veiksmingumą ir pagreitinti sergančių galvijų pasveikimą (24).

Pirminė diagnostikos priemonė nustatant mastitą yra klinikinė apžiūra. Esant klinikiniam mastitui, vizualiai tešmuo būna paraudęs, sukietėjęs, palpuojant karštas ir skausmingas, o pienas gali būti vandeningas, su krešuliais (13). Kiti pasireiškiantys sisteminiai pokyčiai yra apetito sumažėjimas, karščiavimas, neramumas ir spardymasis melžimo metu, sumažėjęs gulėjimo laikas (25). 2019 m. atliktame tyrime matuojant karvių, sergančių mastitu, kūno temperatūrą biosensoriniu davikliu didžiajame prieskrandyje, vidutinė kūno temperatūra padidėjo 2,64 °C (24). Tešmens paviršiaus temperatūrą galima išmatuoti naudojant termovizorių. Infraraudonųjų spindulių termografija (IRT) yra paprastas, veiksmingas, vietoje taikomas neinvazinis metodas, kuriuo nustatoma paviršiaus šiluma, skleidžiama infraraudonųjų spindulių pavidalu, ir sukuriama vaizdai, nesukeliantys apšvitos (26). 2022 metais atliktame tyrime, siekiant diagnozuoti karves, sergančias mastitu, buvo lyginami nustatyti rezultatai su somatinių ląstelių skaičiumi. Rezultatai parodė, jog mastito tikslumas, specifiškumas ir jautrumas diagnozavimui buvo atitinkamas 87,62, 84,62 ir 96,30 proc. (27).

Somatinių ląstelių skaičiaus nustatymas yra laikomas auksiniu standartu, norint diagnozuoti subklinikinį mastitą. Kalifornijos mastito testas (KMT) yra įprastas netiesioginis SLS matavimo metodas. Testas atliekamas į pieno mėginį su dideliu ląstelių skaičiumi įpilant detergento, kuris skatina ląstelių lizę, nukleino rūgšties išsiskyrimą ir į gelį panašios masės susidarymą. Kai ląstelių skaičius viršija tam tikrą ribą, mėginio klampumo aiškinimas yra subjektyvus ir gali būti klaidingai teigiamas arba neigiamas (1 lentelė) (28). Nustatyta, kad šviežiapienių karvių jautrumas yra 66,7 proc., o specifiškumas – 54,8 proc. (29). Viskonsino mastito testas (WMT) - tai laboratorinis testas, paprastai atliekamas su pieno mėginiais, paimtais iš talpyklų. Rezultatai gali būti naudojami vidutiniam somatinių ląstelių skaičiui prognozuoti. Taikant šį netiesioginį metodą naudojamas tas pats reagentas kaip ir Kalifornijos mastito testui, tačiau reakcija ne apskaičiuojama, o matuojamas gelio aukštis mėgintuvėlyje, todėl rezultatas yra tikslesnis nei KMT. Rezultatai paprastai pateikiami milimetrais (28).

1 lentelė. Kalifornijos mastito testo rezultatų koreliacija su somatinių ląstelių skaičiumi

Įvertinimas	Stebėta reakcija	Apytikslis SLS, ml	Interpretavimas
Neigiama	Vienalytis mišinys, be sutirštėjimo	0-200 000; 25 proc. neutrofilai	Sveikas ketvirtis
+/-	Nedidelis (neryškai į debesį panašus) sutirštėjimas, kuris per maždaug 10 s išnyksta	150 000-500 000; 30-40 proc. neutrofilai	Galima infekcija – jei visi keturi ketvirčiai rodo sutirštėjimą, infekcijos nėra. Jei viename ar dviejuose ketvirčiuose yra sutirštėjimas, infekcija galima
1	Iškart po sumaišymo susidaro aiškios gleivės. Šios gleivės laikui bėgant gali išsisklaidyti	400 000-1 500 000; 40-60 proc. neutrofilai	Subklinikinis mastitas
2	Iškart po sumaišymo susidaro aiškios gleivės su nedideliu gelio susidarymu	800 000-5 000 000; 60-70 proc. neutrofilai	Subklinikinis mastitas
3	Iškart po sumaišymo susidaro aiškios gleivės, susidaro aiškus gelis, o mišinio paviršius pakyla kaip keptas kiaušinis	> 5 000 000; 80 proc. neutrofilai	Subklinikinis mastitas

Šaltinis: O.M. Radostits, C.C. Gay, D.C. Blood, K.W. Hinchcliff 2000

Mastitų diagnostikoje yra svarbu nustatyti jų sukėlėjus, norint imtis tinkamų ligos kontrolės priemonių, sumažinti lėtinių infekcijų riziką ir tikslingai parinkti antimikrobinį gydymą (30). Tam būtina atlikti pieno mėginio bakteriologinį tyrimą. Polimerazės grandininė reakcija (PGR) ir bakterijų kultivavimas yra dažniausiai naudojamos priemonės patogenams nustatyti ir labiausiai taikomos praktikos metu. Siekiant gauti labiau patikimus rezultatus, jie dažnai derinami kartu (28). Yra sukurtos dviejų plokštelių sistemos, turinčios dviejų agarų tipus: vienas skirtas selektyviam gram + organizmų augimui, kitas – gram -. Trijų plokštelių sistemos, turinčios tris agarų tipus, ne tik atskiria gram + organizmus nuo gram -, bet ir padeda atskirti stafilokokus nuo streptokokų (31).

1.5. Mastitų gydymas

Sėkmingas mastito gydymas priklauso nuo kelių veiksnių: patogeno nustatymo, tinkamo antimikrobinio gydymo parinkimo, apsiveršiavimų skaičiaus, laktacijos stadijos, anamnezės, ligos formos bei amžiaus. Didėjant bakterijų atsparumui antibiotikams, antibiotikų parinkimas turi būti pagrįstas atsižvelgus į antibiogramos rezultatus (2). Skirtingų patogenų jautrumas antibiotikams pavaizduoti 2 lentelėje (32). Mastito gydymo strategiją galima suskirstyti į 3 pagrindinius etapus: infekcijos pašalinimą, naujos infekcijos atsiradimo prevenciją ir tešmens būklės stebėseną. Pirmajame etape yra parenkamas terapinis gydymas laktacijos metu. Pagal antibiogramos rezultatus parenkama antimikrobinė intramaminė terapija, o jei pažeisti abu ketvirčiai – sisteminė antimikrobinė terapija. Taip pat skiriami nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo (NVNU), pavyzdžiui, ketaprofenas (2-4 mg/kg i. m. 1 k./d.) arba meloksikamas (0,5 mg/kg i. m. 1 k./d. arba 2 k./d.). Gydymas antioksidantais, pavyzdžiui, askorbo rūgštimi (20 mg/kg i. m. 1 k./d.) arba seleno ir vitamino E preparatais, gali būti naudojamas dėl uždegimo sukeltų šarminių pokyčių organizme. Palaikomąją terapiją sudaro trinatrio citratas pH mažinimui, vitaminas A ir D3 (33). Užtrūkinimo metu rekomenduojama skirti ilgalaikio veikimo intramaminius antibiotikus, tokius kaip, benzilpeniciliną, kloksaciliną, cefapiriną arba novobiociną, siekiant sumažinti mastito pasireiškimą atvedimo metu (34).

2 lentelė. Karvių, sergančių mastitu, skirtingų patogenų jautrumas skirtingų grupių antibiotikams

Antibiotikas	Jautrumas patogenams, proc.						
	<i>S. aureus</i>	<i>CNS staph.</i>	<i>S. agalacticae</i>	<i>S. dysagalactiae</i>	<i>S. uberis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Penicilinas	86,84	87,14	100	92	100	4	0
Ampicilinas	8,33	-	20	100	71,4	-	44
Amoksicilinas	78,95	87,14	100	71,4	100	18	-
Tetraciklinas	70,4	80	60	40	57,1	40	-
Gentamicinas	97,8	42	40	42	-	94,4	98,7
Ciprofloksacinas	64	70	75	73	-	66	50
Neomicinas	28	29	0	50	-	41	0
Amoksicilinas + klavulano rūgštis	94,74	98,57	100	100	100	94	62,6
Kloksacilinas	92,11	97,14	100	9,5	80	2	0

Streptomocinas	71,05	85,71	66,67	0	33,33	84	0
Enrofloksacinas	97,37	97,14	100	75	100	100	33
Eritromicinas	51,8	60	80	60	20	20	0
Ceftiofuras	94,74	97,14	100	100	100	100	-
Sulfametoksazolis	99,3	88	98,6	96,2	96,9	88,9	95,9

Nors antibiotikai išlieka pagrindine gydymo strategija, tačiau jų veiksmingumas yra ribotas, todėl yra ieškoma alternatyvių mastitų gydymo ir prevencijos metodų. Yra atliktų tyrimų, susijusių su nanodalelių, maistinių medžiagų, žolelių ekstraktų, probiotikų, lazerio spinduliuotės, lizocimų, saponinų, propolio, lizosubtilino, antibakterinių peptidų ir laktoferino ar ozono intramaminės infuzijos į pieno liauką panaudojimu. Daugelis šių metodų pasirodė esą veiksmingi, pavyzdžiui, nanotechnologijos ir kamieninių ląstelių naudojimas, tačiau keli iš jų nepasiteisino, tokie kaip, homeopatija bei fagoterapija (4).

1.6. Mastitų prevencija

Aplinkos sąlygos ir bandų valdymo praktika turi lemiamos įtakos gyvūnų sveikatai ir gerovei. Palaikant švarą ir komfortą bandoje, galima sumažinti mastitų paplitimą ir ligos sunkumą. Didelis gyvulių tankis, užterštos grindys, drėgnas kraikas, prasta ventiliacija, karštas ir drėgnas klimatas gali skatinti mastito sukėlėjų augimą ir didesnę karvių sąlytį, todėl susirgimų skaičius išlieka didelis (1). Efektyvias kontrolės priemones apima tešmens higienos palaikymas, spenių dezinfekcija po melžimo, aplinkos dezinfekcija, melžimo aparatų ir/arba melžėjų rankų sanitarinė priežiūra, užtrūkinimo laikotarpiu intramaminių antimikrobinių medžiagų naudojimas, streso mažinimas, papildų ir kokybiško pašaro vartojimas (34).

Mitybos elementų trūkumas gali sukelti medžiagų apykaitos ligas, todėl pašarų papildymas tam tikrais priedais, pavyzdžiui, vitaminais ir probiotikais, gali sustiprinti karvių imunitetą, pagerinti tešmens ir bendrą gyvūno būklę. Šie pagrindiniai mitybos elementai yra vitaminas E, vitaminas A, askorbo rūgtis, geležis, selenas, varis ir cinkas (35).

Prekyboje yra išleista įvairių vakcinų nuo mastito, tačiau nei viena iš jų neužtikrina pakankamos apsaugos ir nėra ekonomiškai efektyvios (2). 2020 metais atliktame tyrime lygino dvi pieninių karvių grupes, kurioms buvo skirtos dvi skirtingos komercinės vakcinos, su kontroline grupe. Gautuose rezultatuose klinikinio mastito pasireiškimas, somatinių ląstelių skaičius trijose grupėse neparodė reikšmingų pokyčių (36).

1.7. Akustinių – mechaninių virpesių terapija

Akustinio slėgio impulsas – tai akustinė banga, dar kitaip vadinama radialine smūgine banga, kuri yra pritaikyta energijai pernešti į kūno audinius. Akustiniam slėgio impulsui būdingas didelis slėgio pokytis, didelė amplitudė ir periodiškumo nebuvimas. Akustinio slėgio impulsai sukelia įvairias audinių reakcijas, tokias kaip, angiogenezę, skatina priešūždegiminį poveikį, raumenų ir skeleto audinių gijimo procesą (6).

Akustinių – mechaninių impulsų terapija veikia ląsteles per mechanotransdukciją, kuri veikia konstruktyviai ir skatina audinių regeneraciją. Mechaninis stimulus virsta biocheminėmis reakcijomis įvairių tipų ląstelėse, tokiomis kaip, ląstelių migracija, proliferacija, svarbių ląstelių diferenciacija ir apoptozė (37). Vietinė homeostazė ir teigiamas ląstelių gyvybingumo reguliavimas skatina audinių regeneraciją ir priešūždegiminių citokinų sekreciją, skatina neovaskuliarizacijos remodeliacijos bei su angiogeneze susijusių augimo faktorių, tokių kaip, kraujagyslinio endotelio augimo faktoriaus ir endotelio azoto oksido, sintezę. Dėl to atsiranda naujos kraujagyslės, pagerėja audinių aprūpinimas krauju, padidėja ląstelių proliferacija, pagreitėja audinių regeneracija, sureguliuojamas transformuojančio augimo faktoriaus α -1 (TGF α -1) aktyvinimas ir azoto monoksido gamyba bei slopinama aktyvuotų B ląstelių branduolinio faktoriaus kappa-šviesos grandinės stiprintojo (NF-kB) ir priešūždegiminių citokinų gamyba. Radialinės smūginės bangos turi imunomoduliuojantį poveikį daugiausia dėl to, kad makrofagus perkelia iš M1 (kontroliuojančius uždegimą) į M2 (reguliuojančius gijimą). Be to, akustinio slėgio impulsas padidina T limfocitų proliferaciją, kryptingą migraciją per ląstelių ATP išsiskyrimo ir grįžtamojo ryšio mechanizmus bei ląstelių proliferaciją, interleukino – 2 (IL-2) išsiskyrimą (38).

Lenktyniniams žirgams mažos galios akustinių – mechaninių virpesių terapija pagerina šlubavimo sutrikimus, tokius kaip, įdėtines desmopatijas, tendinopatijas, osteoartrito miopatijas, artrozę ir podotrochlozės sindromą (39). Šunims akustinių virpesių terapija yra naudojama klubo, alkūnės, kelio, riešo ar čiurnos degeneracinėms sąnarių ligoms gydyti, esant osteoartrito ar spondiliozės atvejais (40).

2018 metais Izraelyje buvo sukurtas naujas neinvazinis akustinių – mechaninių virpesių technologijos prietaisas, skirtas melžiamoms karvėms. Įrenginys skleidžia žemos galios akustinius impulsus, galinčius giliai įsiskverbti į audinius, todėl slėgio banga pasiskirsto dideliame karvės tešmens gydomajame plote (3487 cm³), kad būtų pasiektas terapinis poveikis (6,38). Šis įrenginys yra rankinis prietaisas, varomas oro slėgiu iš suslėgto oro baliono, todėl juo lengva pasiekti tešmenį. Atliktame tyrime atrinkta 116 karvių, sergančių subklinikinio mastitu. Iš jų, 78 karvės buvo paskirtos gydomajai grupei, o 38 karvės – kontrolinei grupei. Buvo nustatytas reikšmingas

skirtumas ($p < 0,001$) tarp 70,5 proc. gydomosios grupės karvių ir 18,4 proc. kontrolinės grupės karvių, kurios sugrįžo į normalią pieno produkciją. Lyginant gydomąją ir kontrolinę grupes, gydomų karvių dienos primilžis prieš gydymą buvo 41,7 l/d., o po gydymo padidėjo iki 43,3 l/d. ($p < 0,05$), o kontrolinėje grupėje karvių dienos primilžis nuo 42,2 l/d. sumažėjo iki 39,2 l/d. Gydomosios grupės karvių log SLS ($< 5,6$ tūkst. ląstelių/ml), buvo reikšmingai mažesnis, nei kontrolinės grupės ($p < 0,001$). Taip pat buvo atrinktos 29 karvės, sergančios klinikiniu mastitu. Iš jų 16 buvo paskirtas antibiotikų/NVNU gydymo protokolas, o 13 karvių paskirtas akustinių – mechaninių virpesių (AMV) terapija. Iš viso 18,7 proc. antibiotikais/NVNU gydytų karvių pasveiko ir SLS skaičius sumažėjo iki $< 5,6$ tūkst. ląstelių/ml, o 56,3 proc. karvių buvo brokuotos (9/16). Palyginimui, grupėje, kurioje taikė AMV terapiją, 76,9 proc. karvių pasveiko ir grįžo į bandą ($p < 0,001$), o paskersta buvo tik 1 karvė (7,7 proc.). Autoriai teigia, jog taikant akustinių – mechaninių virpesių terapiją galima:

- 1) Ženkliai sumažinti antibiotikų vartojimą;
- 2) Ženkliai sumažinti pieno išbrokavimą dėl skiriamo gydymo;
- 3) Gali būti naudojamas subklinikiniui mastitui gydyti laktacijos metu;
- 4) Pagerinti pieno kiekį ir jo kokybę;
- 5) Sumažinti karvių, sergančių subklinikiniu mastitu, išbrokavimą dėl mažos pieno produkcijos ir prastos pieno kokybės (6).

2021 metais atliktu tyrimu siekta toliau vertinti akustinių mechaninių virpesių terapinio gydymo poveikį subklinikiniu ir klinikiniu mastitu sergančioms karvėms. Iš 118 karvių, sergančių subklinikiniu mastitu, AMV poveikis buvo lyginamas su kontroline grupe, kuriai netaikė jokio gydymo ($n = 59$). Po AMV gydymo pasveiko 65,5 proc. karvių, išbrokuotų karvių nebuvo ir papildomas primilžis per dieną buvo 2,74 l, o iš karvių, kurioms nebuvo taikytas joks gydymas, pasveiko 35,6 proc. bei buvo išbrokuota 5,1 proc. Klinikiniu mastitu buvo atrinktos taip pat 118 karvių. 59 karvėms buvo taikytas AMV gydymo protokolas ir lyginama su 59 karvėmis, kurioms buvo taikytas gydymas antibiotikais. Po gydymo AMV pasveiko 67,8 proc. karvių, buvo išbrokuota 6,8 proc. ir papildomas primilžis per dieną siekė 3,9 l, o antibiotikais gydytoje grupėje pasveiko 35,6 proc. bei buvo išbrokuota 32,2 proc. karvių (38).

1.8. Pieno sudėties ir kokybės rodikliai

1.8.1. Pieno kiekis

Pagrindiniai veiksniai, turintys įtakos pieno gamybai, yra laktacijos etapas, pašarų kokybė ir energijos balansas, melžimo dažnumas, veislė, amžius, temperatūros ir drėgmės indeksas, medžiagų

apykaitos ligos bei mastitas (41). Didžiausias bendras pieno primilžis pasiekiamas per pirmus du laktacijos mėnesius, o su vėlesnėmis laktacijos dienomis laipsniškai mažėja (42). Pieno kiekis nėra specifinis rodiklis mastitų nustatymui, nes jo kaita priklauso nuo daugybės faktorių.

Mastito atveju, didžiausi pieno nuostoliai pasitaiko pirmosiomis gydymo dienomis, o pieno primilžis atsistato tik po 30 gydymo dienos (43). Iš vienos laktuojančios karvės per metus, sergant subklinicine mastito forma, netenkama vidutiniškai 107 kg pieno, o sergant klinicine mastito forma – 336 kg (44). Atliktame tyrime sveikų pieninių karvių ketvirčių primilžiai buvo didesni (3,6 kg/išmelžto ketvirčio), negu užkrečiamųjų bakterijų sukeltų subklinikinių mastitų (2,8 kg/išmelžto ketvirčio) ir aplinkos bakterijų sukeltų subklinikinių mastitų (3,1 kg/išmelžto ketvirčio) primilžiai (45).

1.8.2. Somatinių ląstelių skaičius

Pieno somatines ląsteles sudaro 75 proc. leukocitų (t. y. neutrofilai, makrofagai ir limfocitai) ir 25 proc. epitelio ląstelių. SLS skaičius gali kisti priklausomai nuo infekcijos stiprumo, patogenų virulentiškumo, amžiaus, laktacijos stadijos, produktyvumo ir aplinkos veiksnių (46). SLS (be kitų pieno kokybės parametrų) matuojamas atliekant įprastinius bandos tyrimus. Pieno pramonė visame pasaulyje priėmė šio parametro ištyrimą kaip pagrindinę mastito kontrolės priemonę (18).

Pieno liaukos ketvirtis laikomas sveiku, kai SLS paprastai būna mažesnis nei 100 000 ląstelių/ml piene, tačiau siekiant sumažinti diagnostinę paklaidą, SLS mažesnis nei 200 000 ląstelių/ml piene plačiai naudojamas kaip ribinis lygis, leidžiantis atskirti sveikus tešmenis nuo subkliniškai pažeistų (47). Žmonių vartojimui skirtuose pieno produktuose leistinos SLS ribos Europos sąjungoje, Australijoje, Naujojoje Zelandijoje ir Šveicarijoje yra iki 400 000 ląstelių/ml. Tačiau JAV ribos siekia iki 750 000 ląstelių/ml, o Brazilijoje net iki 1 000 000 ląstelių/ml (48).

1.8.3. Laktozė

Laktozės biosintezė vyksta tešmens liaukinio epitelio ląstelėse iš kraujo plazmos gliukozės ir propionatų (49). Vidutiniškai jos piene yra 4,5-5,2 proc. (50). Laktozė yra pagrindinė galvijų pieno sausoji medžiaga, o jos sintezei ir koncentracijai piene daugiausia įtakos turi karvės tešmens sveikata, energijos balansas bei medžiagų apykaita (49). Registruoti mažesni pieno laktozės kiekiai gali būti naudojami ankstyvam medžiagų apykaitos sutrikimų ir subklinikinio mastito nustatymui (nustatytas $SLS \geq 1,0 \times 10^5$ ląstelių/ml) (20). Yra trys pagrindinės priežastys, dėl ko mastito atveju laktozės kiekis piene sumažėja:

- 1) Iš dalies sutrinka laktozės sintezė, nes infekcijos metu yra pažeistos sekrecinės ląstelės;

- 2) Dalis laktozės prarandama su šlapimu, dėl pakitusių ląstelių membranų pralaidumo;
- 3) Mastito sukėlėjai naudoja pieno laktozę kaip substratą, tokiu būdu mažindami jos kiekį ir didindami pieno rūgšties kiekį piene (51).

Ištyrus pieno mėginius, laktozės kiekis procentais stipriausiai koreliavo su SLS (-0,66) ir elektriniu pieno laidumu (-0,65) ir tai parodo, jog SLS ir elektrinio pieno laidumo padidėjimas lemia laktozės kiekio sumažėjimą (52).

1.8.4. Riebalai

Pieno riebalai daugiausiai yra sudaryti iš mono-, di- ir trigliceridų (98-99 proc.), mažiau iš fosfolipidų (0,1-0,2 proc.), glikolipidų ir cholesterolio (0,2-0,4 proc.), vitaminų A, D, E, K ir jų kiekis kinta labiausiai, lyginant su kitomis pieno sudėtinėmis dalimis. Jų kiekis svyruoja nuo 3,2 proc. iki 6,0 proc. (50).

Mišraus modelio tiesinė regresinė analizė parodė neigiamą koreliaciją ($p < 0,001$) tarp pieno liaukų uždegimo ir bendros pieno produkcijos bei pieno sudėties (laktozės, riebalų, baltymų). Mastito atveju riebalų koncentracijos sumažėjimas gali būti tikėtinas dėl sumažėjusios sintetinės ir sekrecinės pieno liaukos funkcijos (53).

1.8.5. Baltymai

Įprastame galvijų piene yra apie 3,5 proc. baltymų. Laktacijos metu, ypač pirmosiomis dienomis, koncentracija smarkiai kinta, o labiausiai – išrūgų baltymų frakcija. Natūrali pieno baltymų funkcija – aprūpinti veršelius nepakeičiamomis amino rūgštimis, kurios reikalingos raumenų ir kitų audinių vystymuisi, biologiškai aktyviais baltymais, tokiais kaip, imunoglobulinais, vitaminais, metalus surišančiais baltymais bei įvairiais baltyminiais hormonais (54).

Pieno baltymų pokytis gali priklausyti ir nuo mastitą sukeliančių patogenų. Pieno baltymų kiekis nežymiai sumažėja *S. aureus* sukeltos infekcijos metu (-0,04 proc. \pm 0,02), o padidėja *Corynebacterium spp.* sukeltos infekcijos metu (0,05 proc. \pm 0,02). Koaguliazėi neigiamų stafilokokų ir *Streptococcus sp.* sukeltų infekcijų metu pieno baltymų kiekis neparodė reikšmingo pokyčio (55).

1.8.6. Šlapalas

Šlapalas (urėja) yra galutinis baltymų skilimo produktas, kurio koncentracija piene siekia 15-25 mg/100 ml. Pagal šlapalo koncentraciją piene galima nustatyti, ar karvės šeriamos tinkamo baltymingumo pašaru bei ar serga medžiagų apykaitos ar reprodukcinės sistemos ligomis. Jeigu

norma yra viršijama 25 mg/100 ml, tikėtina, jog karvės apsėklinimo tikimybė sumažės. Sumažėjus šlapalo koncentracijai piene, karves reikėtų šerti daugiau baltymais turinčiu pašaru (50,56).

Karvės, kurių šlapalo koncentracija piene yra sumažėjusi (< 15 mg/100 ml), turi didesnę tikimybę sirgti subklinikiniu mastitu (50,57).

1.8.7. Pieno pH

Natūralaus, šviežio pieno pH yra nuo 6,55 iki 6,75 (50). Sergant subklinikiniu ar klinikiniu mastitais pažeidžiamas kraujo ir pieno liaukos barjeras, epitelio jungtys tampa nesandariomis, todėl kraujas ir ekstraląstelinio skysčio komponentai patenka į alveolės vidų ir sumažėja pieno sekrecijos greitis. Kraujas ir neląstelinio skysčio komponentai uždegimo apimtuose ketvirčiuose susimaišo su išskiriamu pienu, tokiu būdu padidindami pieno pH. Atliktame tyrime siekė įvertinti pieno pH matavimo naudą, nustatant karves, sergančias SKM ar KM, tačiau rezultatai parodė, jog tai nėra informatyvus rodiklis mastitų diagnozavimui (58).

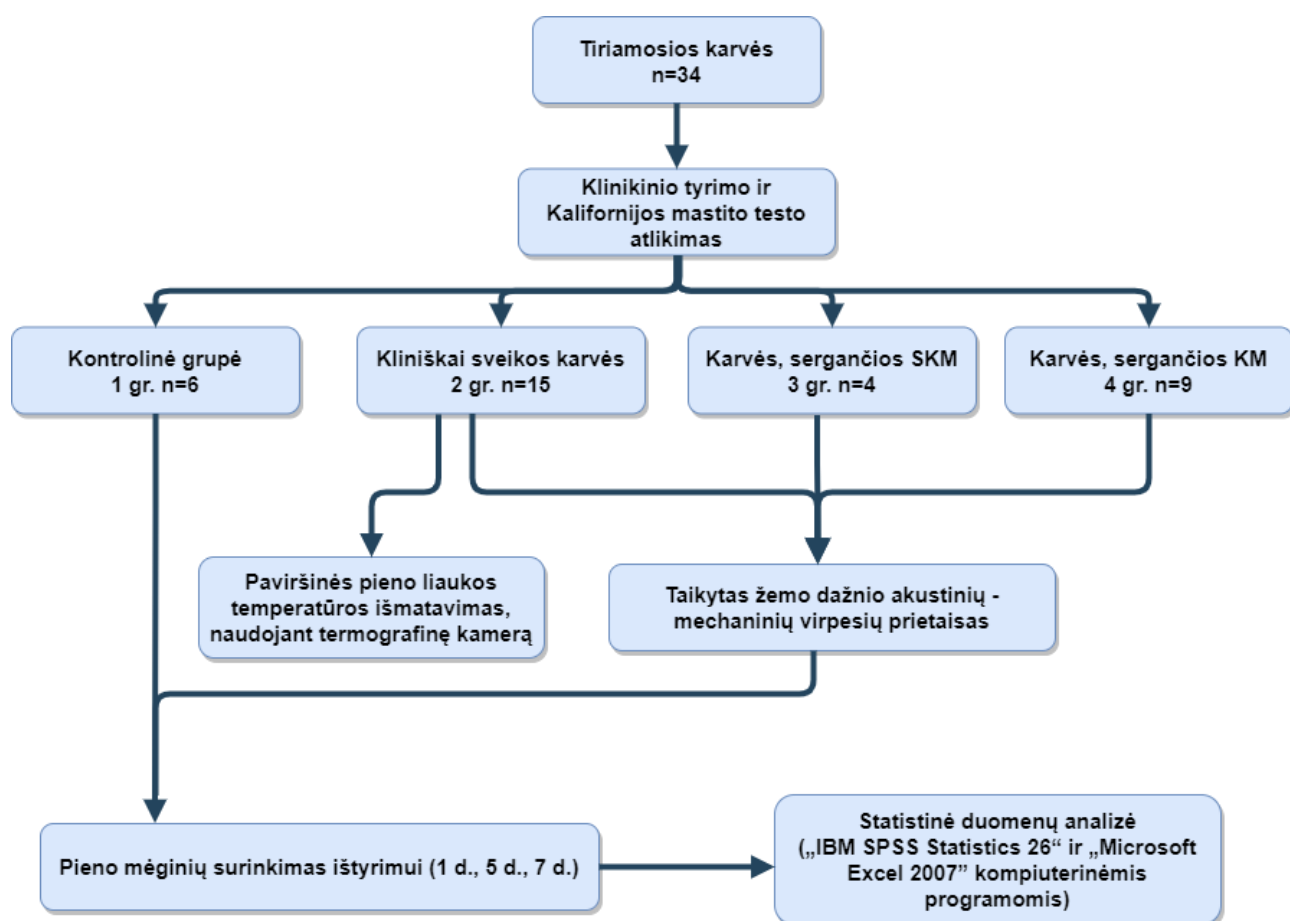
1.8.8. Bendras bakterinis užterštumas

Neužterštame, atvėsintame 1 ml piene randama tik apie 10 tūkst. bakterijų, o jeigu pienas yra užterštas – siekia apie 3 mln. Norint išvengti pieno užterštumo, yra būtina kontroliuoti pieno bakterinio užterštumo šaltinius, užtikrinti aplinkos higieną bei pieno laikymo sąlygas. Pagrindiniai užterštumo šaltiniai yra: karvės tešmuo, melžimo įranga ir pieno inventoriai. Apie 90-95 proc. visų mikroorganizmų į pieną pakliūna nuo nešvarių tešmens spenių ir neplautų pieno indų. Mastitu sergančių karvių piene bakterinis užterštumas yra labai aukštas (mln. bakterijų/ml pieno), todėl svarbu užtikrinti kokybišką mastitų kontrolę (50,59).

2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA

Tyrimas buvo atliktas nuo 2022 metų liepos 1 d. iki 2023 metų vasario 1 d. ekologiniame galvijų „X“ ūkyje Šakių rajone. Ūkis turi 1330 Holšteinų – fryzų veislės karvių bandą, kurios laikomos palaido, šalto laikymo tvarte. Vidutinis karvės primilžis siekia $22,9 \pm 2,1$ kg. Ūkyje karvės yra melžiamos melžimo aikštelėje, kurią sudaro dvi eilės po 60 vietų. Tyrimo atlikimo metu bandos valdymo programa „Herd Navigator“ neveikė, todėl buvo tiriami išsiustų pieno mėginių į laboratoriją UAB „Pieno tyrimai“ duomenys. Tiriami duomenys – pieno kiekis, somatinių ląstelių skaičius, riebalų, baltymų, laktozės, šlapalo kiekis, pH ir bendras bakterinis užterštumas.

Tyrimo metu ūkyje atrinktos 34 melžiamos Holšteinų veislės karvės nuo 2 iki 6 metų amžiaus. Gyvuliai atrinkti remiantis klinikiu tyrimu bei Kalifornijos mastito testu. Eksperimentas buvo vykdomas pagal 1 paveiksle pateiktą tyrimo atlikimo schemą.



1 pav. Tyrimo atlikimo schema

Mokslinis tyrimas atliktas laikantis 2012-10-03 Lietuvos Respublikos Gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymu Nr. XI – 2271 (Valstybės žinios, 2012-10-20, Nr. 122 – 6126) bei

poįstatyminių aktų LR Valstybinės veterinarinės tarnybos įsakymu „Dėl gyvūnų, skirtų eksperimentiniams ir kitiems mokslo tikslams, laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimų patvirtinimo“ (2008-12-18, Nr. B1 – 639).

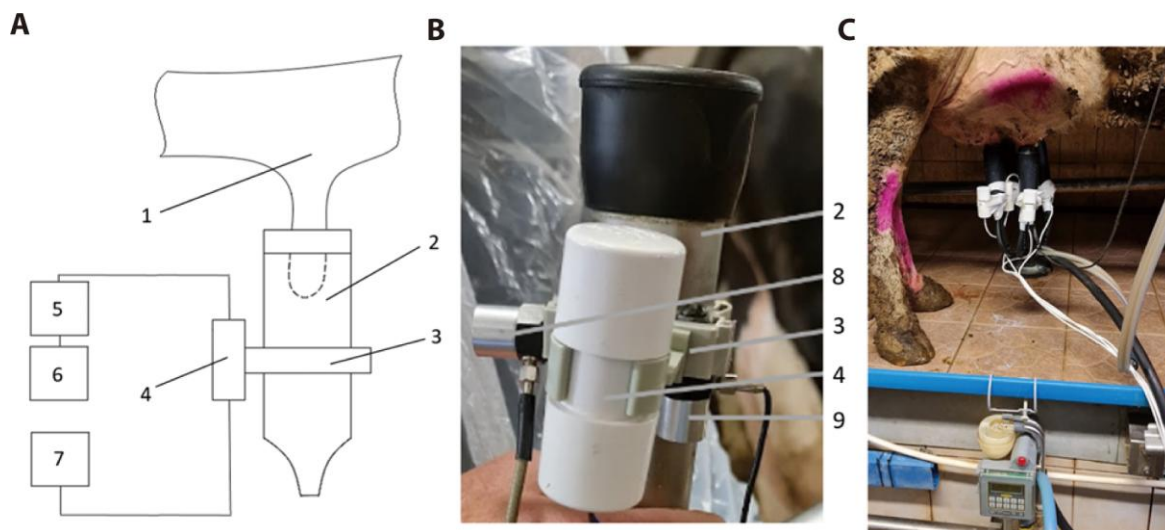
Tiriamosioms karvėms klinikinio tyrimo metu buvo įvertinamas širdies darbas, kvėpavimo dažnis, rektinė temperatūra, išorinė tešmens temperatūra, tešmens bendra būklė, pieno spalva, įvertinamas didžiojo prieskrandžio darbas (fiziologinė norma 2-5 susitraukimai per minutę), auskultacijos – perkusijos metodu atliekamas šliužo dislokacijos tyrimas, atliekamas Kalifornijos mastito testas. Remiantis gyvulio anamneze, klinikiu tyrimu ir papildomais tyrimais (pieno kokybės ir sudėties, somatinių ląstelių skaičiaus piene nustatymu), pagal literatūroje pateiktą visuotinai patvirtintą mastito klasifikaciją (60), karvės suskirstytos į 4 grupes. Pirmoji gyvūnų grupė (1 grupė, kontrolinė) – kliniškai sveikos karvės. Sveiką, 6 kontrolinių karvių grupės būklę patvirtino klinikinį mastito požymių nebuvimas, neigiamas SLS < 200 000 ląstelių/ml pieno, elektrinio pieno laidumo svyravimas fiziologinės normos ribose. 2 grupėje (eksperimentinė) atrinktos 15 kliniškai sveikos karvės, kurios buvo paveiktos žemo dažnio akustiniais – mechaniniais virpesiais. 3 grupėje (eksperimentinė) yra 4 karvės, kurių mastitas buvo subklinikinis. Šiose grupėse karvės neturėjo klinikinį bendrų mastito simptomų, o subklinikinį mastitą diagnozuotas remiantis pieno analize (SLS buvimas piene > 200 000/ml). Kriterijus atitinkantiems 9 gyvūnams, įtrauktiems į 4 grupę (eksperimentinė), būdingi sisteminiai klinikiniai simptomai, tokie kaip apetito stoka, padidėjusi vidinė kūno temperatūra ir kt. simptomai, būdingi klinikinei mastito formai – yra makroskopiniai pieno pokyčiai lokalizuoti tešmenyje (patinimas, skausmas, paraudimas ir teigiamas Kalifornijos mastito testas). Svarbus karvių tinkamumo šiai gyvūnų grupei kriterijus bus SLS > 400 000/ml.

2 grupei (n = 15) priklausančioms karvėms išmatuota išorinė tešmens temperatūra naudojant infraraudonųjų spindulių termografinę kamerą „FLIR T450sc“.

Tyrimui atrinktiems gyvūnams būdingos tos pačios šėrimo ir priežiūros sąlygos. Karvės turi laisvą prieigą prie girdymo sistemų ir šeriamos atitinkančiu pieno produkciją ir karvės fiziologinius poreikius daugiakomponenčiu pašaro mišiniu (TMR – angl. total mixed ration). Jo sudėtyje sausųjų medžiagų kiekis sudaro 56 proc., apykaitos energijos 9,87 MJ/kg, grynosios energijos laktacijai 5,76 MJ/kg, žali baltymai 13,1 proc., žali riebalai 2,75 proc., ląsteliena 26,8 proc., pelenų 8,6 proc.

Eksperimentui atrinktoms karvėms, kliniškai sveikoms (2 gr.), sergančioms subklinikiu (3 gr.) ir klinikiu mastitais (4 gr.) nebuvo taikytas joks antimikrobinis gydymas, tačiau buvo taikytas LSMU ir KTU mokslininkų sukurtas žemo dažnio virpesių prietaisas „Karvės tešmens stimuliacijos sistema“ (LT 2021 542 A) (2 pav.) (61). Ši sistema apima keturis melžiklius, ant kurių korpuso, laikikliais, yra standžiai pritvirtintos keturios atskiros vibrostimuliacinės pavaros, kurios yra prijungtos prie vieno valdiklio, valdomo per vakuomo padavimo keitiklį. Ant melžiklių (DeLaval

Harmony modelio) buvo uždėti žemo dažnio (25 Hz diapazono) kryptinių harmoninių virpesių įtaiso virpesiai ir išbandyti ant karvės melžimo proceso metu.



2 pav. Žemo dažnio virpesių prietaisas "Karvės tešmens stimuliacijos sistema". (A) konstrukcinė schema; (B) melžiklis su specialiai sukurtu vibratoriumi ir dviem akselerometrais; (C) išbandymas melžimo metu; (1) karvės tešmuo; (2) melžiklis su vibratoriais ir akselerometrais; (3) laikiklis; (4) nesubalansuotas vibracinis variklis; (5) oscilografas PicoScope 3424 ("Pico Technology"); (6) kompiuteris; (7) maitinimo šaltinis HY1803D ("V&A Instruments"); (8) X ašies akselerometro kompiuteris; (9) Y ašies akselerometras. (61)

Karvės buvo melžiamos du kartus per dieną 5 val. ryte ir 17 val. vakare melžimo aikštelėje. Pieno mėginiai tyrimui paimti iš visų 34-ių karvių. Pieno mėginiai paimti iš visų ketvirčių į bendrą mėginį iš kiekvienos karvės eksperimento pradžioje, praėjus 5 ir 7 dienoms nuo eksperimento pradžios (vidutinis karvių pasveikimo KM laikas). Pieno mėginiai paimti iš visų ketvirčių iš kiekvienos karvės laktacijos laikotarpio viduryje į 50 ml sterilius plastikinius pieno mėgintuvėlius pagal LST EN ISO 707:1999+P: 2003 standartą. Mėginiai buvo laikomi šaldytuvuose iki pristatymo į laboratoriją ir ištirti per 6 h nuo mėginių surinkimo. Surinkti pieno mėginiai buvo išanalizuoti UAB „Pieno tyrimai“ laboratorijoje dėl pieno sudėties ir kokybės. Riebalų, baltymų, laktozės, urėjos kiekio ir pH tyrimas atliktas infraraudonosios spinduliuotės vidurinės srities matuokliu *LactoScopeFTIR*. Somatinių ląstelių skaičiaus tyrimas atliktas naudojant matuoklį *Somascope*, dirbantį srauto citometrijos principu, o bendras bakterijų skaičius nustatytas tėkmės citometrijos metodu, naudojant matuoklį *Bentley Bactocount IBC*.

2.1. Statistinė analizė

Tyrimo duomenų statistinė analizė buvo atlikta naudojantis „IBM SPSS Statistics 29“ ir „Microsoft Excel 2007“ kompiuterinėmis programomis. Diagramos braižytos naudojant „Microsoft Excel 2007“ programą. Temperatūros ir pieno rodiklių duomenys buvo apdoroti aprašomosios

statistikos metodu, buvo naudojama vienfaktorinė dispersinė analizė (ANOVA). Stjudento t testas buvo naudojamas siekiant nustatyti reikšmingus skirtumus tarp lyginamų grupių. Tyrimo rezultatai pateikiami kaip vidurkiai, jiems suskaičiuotas statistinis patikimumas. Vertinant tyrimo rezultatus, mažesnė nei 0,05 tikimybė buvo laikoma statistiškai reikšminga, o jei $p > 0,05$ – statistiškai nereikšminga.

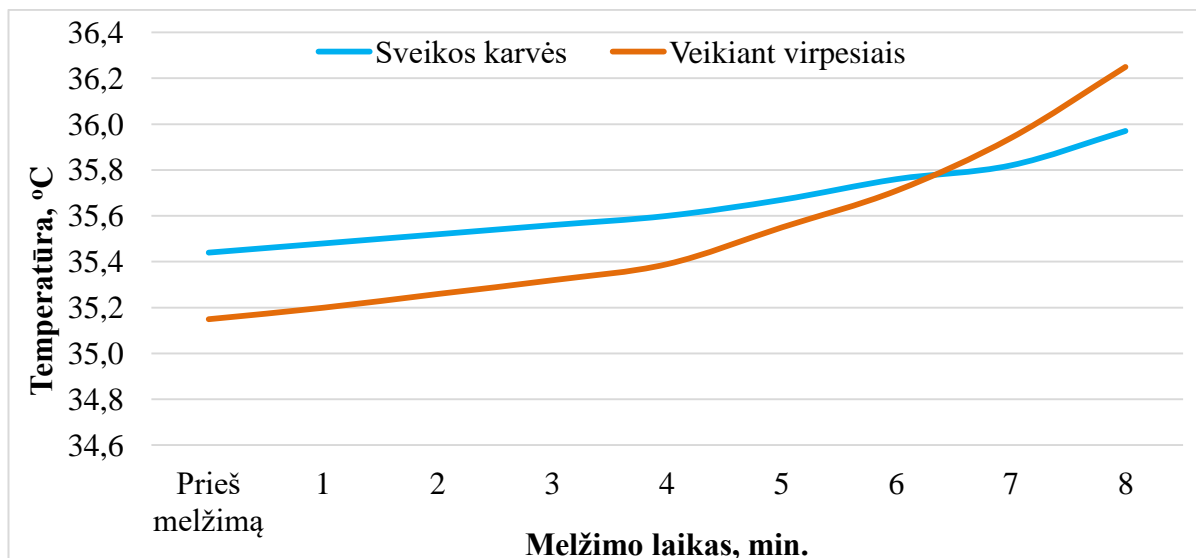
3. TYRIMO REZULTATAI

Darbo pradžioje tyrėme akustinių – mechaninių virpesių įtaką kliniškai sveikų karvių pieno sudėčiai ir kokybei. Tyrimo rezultatai pateikti 3 lentelėje.

3 lentelė. Pieno sudėtinių dalių palyginimas kliniškai sveikų karvių neveikiant akustiniais – mechaniniais virpesiais ir jais veikiant

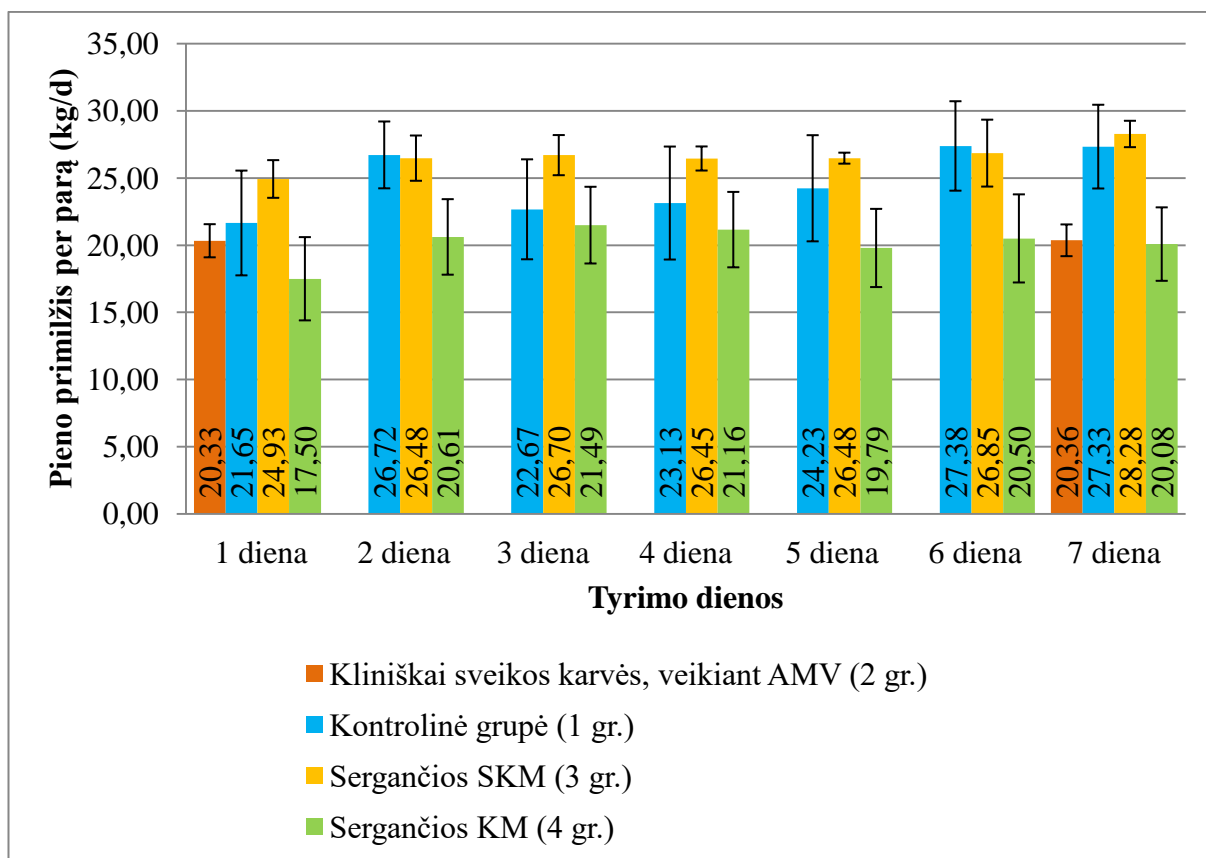
Grupė	Pieno primilžis per parą (kg/d)	Riebalai (proc.)	Baltymai (proc.)	Laktozė (proc.)	Šlapalas (mg/100 ml)	SLS (tūkst./ml)
Sveikos karvės (n=15)	20,33 ± 4,61	4,53 ± 0,96	3,39 ± 0,57	4,49 ± 0,25	14,47 ± 5,02	50,53 ± 32,33
Veikiant virpesiais (n=15)	20,36 ± 4,42	4,54 ± 0,85	3,37 ± 0,47	4,44 ± 0,31	15,33 ± 4,81	54,20 ± 37,69
p reikšmė	p = 0,984	p = 0,989	p = 0,925	p = 0,594	p = 0,633	p = 0,777

Rezultatai parodė, jog pieno sudėties ir kokybės pokyčiai, paveikus tešmenį AMV, nebuvo statistiškai reikšmingi ($p > 0,05$). Melžiamų karvių pieno primilžis per parą (kg/d.) paveikus AMV padidėjo 0,03 kg arba 0,15 proc. ($p = 0,984$), riebalų kiekis (proc.) – 0,01 proc. arba 0,22 proc. daugiau ($p = 0,989$), šlapalo koncentracija – 0,86 mg/100 ml arba 5,94 proc. ($p = 0,633$), SLS – 3,67 tūkst./ml arba 7,26 proc. ($p = 0,777$) daugiau, lyginant tas pačias karves, prieš jas paveikiant AMV. Po AMV poveikio, pieninių karvių baltymų kiekis sumažėjo 0,59 proc. ($p = 0,925$), o laktozė – 1,11 proc. ($p = 0,594$).



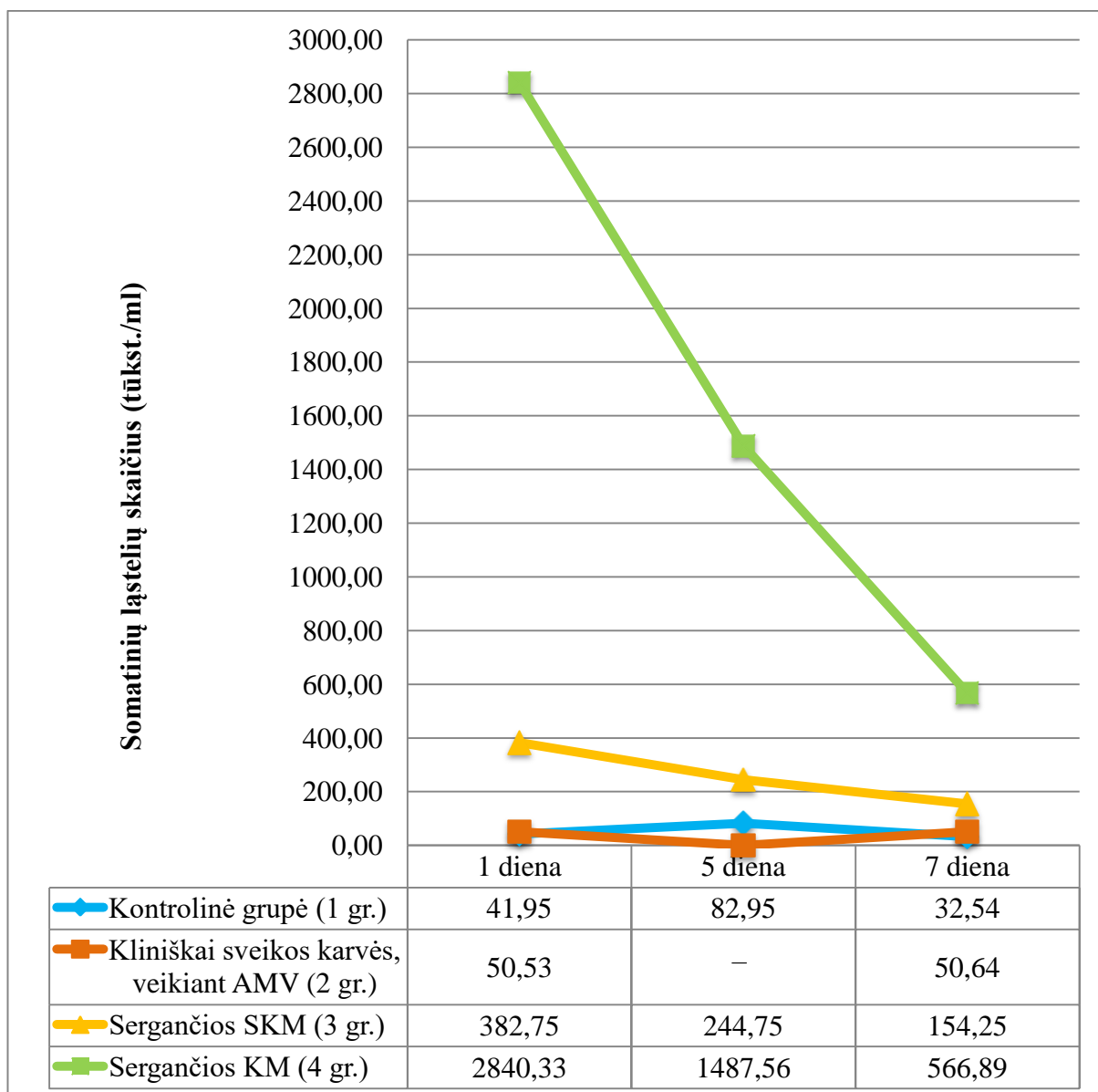
3 pav. Kliniškai sveikų karvių paviršinės tešmens temperatūros pokyčiai melžimo metu

Kliniškai sveikų karvių paviršinės tešmens temperatūros pokyčiai melžimo metu, paveikus AMV ir nepaveikus, pateikti 3 paveikslėlyje linijine diagrama. Gauti rezultatai parodė, jog kliniškai sveikas karves paveikus AMV, jų paviršinė tešmens temperatūra nuo melžimo pradžios iki melžimo pabaigos pakilo nuo 35,15°C iki 36,25°C (1,1°C arba 3,13 proc.). Tuo tarpu neveikiant AMV karvių paviršinė temperatūra pakilo 0,53°C arba 1,5 proc. (nuo 35,44°C iki 35,97°C). Lyginant kliniškai sveikas karves su kliniškai sveikomis karvėmis paveikus AMV, tešmens paviršinė temperatūra melžimo metu padidėjo 0,57°C ($p < 0,01$).



4 pav. Tiriamųjų karvių pieno primilžio per parą vidurkių pokytis

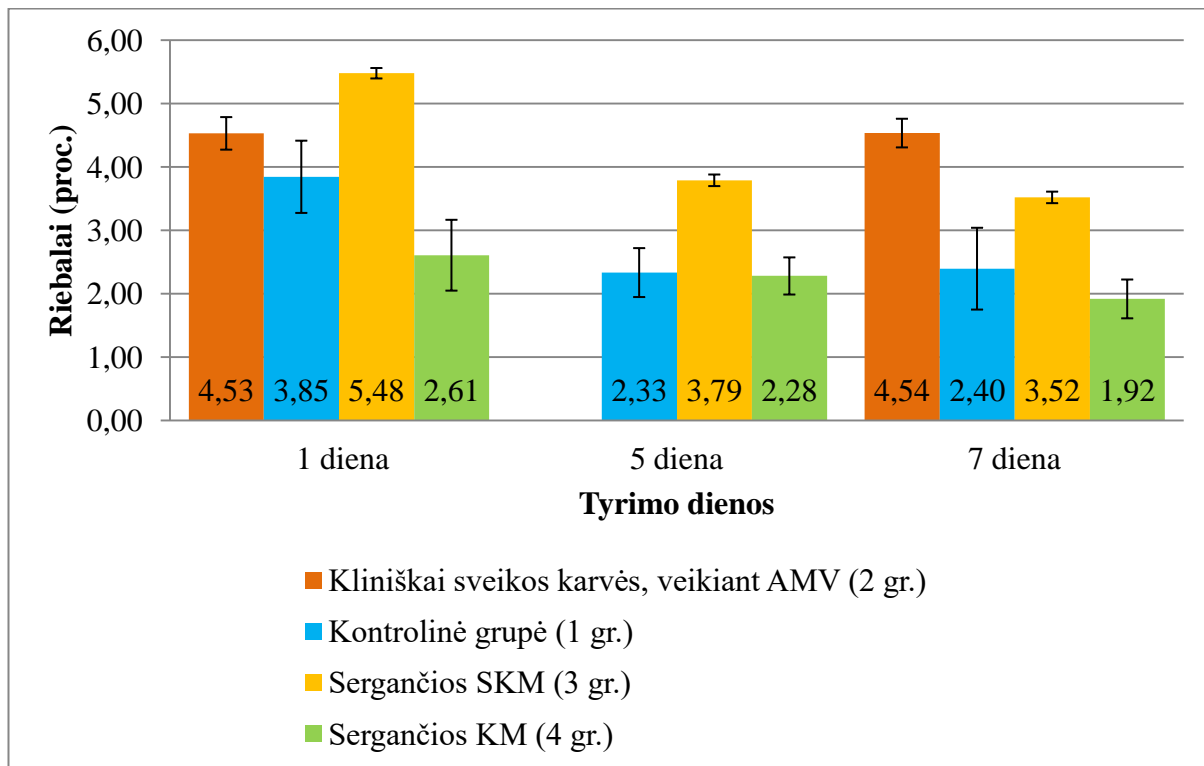
Tyrimo metu nustatyta, jog karvėms, sergančiomis klinikiu mastitu, kiekvieną dieną jas veikiant akustiniais – mechaniniais virpesiais, pieno primilžis per parą nuo pirmos tyrimo dienos iki 7 tyrimo dienos padidėjo 2,58 kg arba 14,74 proc. ($p < 0,05$) (4 pav.). Karvėms, sergant subklinikiu mastitu ir veikiant AMV, pieno kiekis per parą savaitės bėgyje pakilo 3,35 kg arba 13,44 proc. ($p < 0,01$). Lyginant 1 grupę kartu su 3 grupe, vidutinis pieno primilžis per parą paskutinę tyrimo dieną buvo didesnis 0,95 kg arba 3,48 proc., tačiau šis pokytis nėra statistiškai reikšmingas ($p = 0,801$). Tuo tarpu 2 grupę lyginant su 3 grupe, pieno primilžis per parą buvo 7,92 kg arba 38,9 proc. didesnis ($p < 0,01$). Lyginant 4 grupę su 1 arba 2 grupe, pieno primilžio vidurkių pokyčiai neparodė statistiškai reikšmingo rezultato ($p > 0,05$).



5 pav. Tiriamųjų karvių somatinių ląstelių skaičiaus (tūkst./ml) vidurkių pokytis

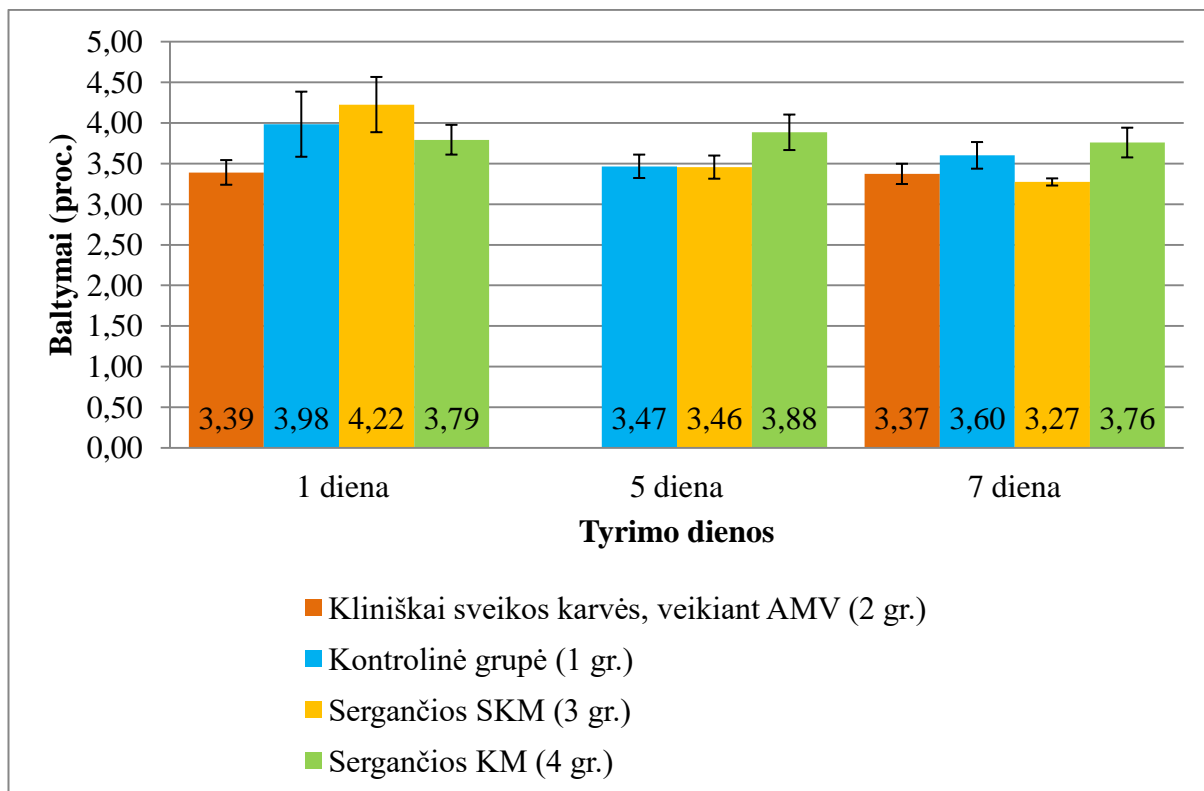
Melžiamų karvių, kurios sirgo subklinikiniu mastitu ir jų tešmuo buvo paveiktas žemo dažnio virpesių prietaisu (3 gr.), SLS per savaitę nukrito 228,5 tūkst./ml arba 59,7 proc., tačiau statistiško reikšmingumo neparodė ($p = 0,124$) (5 pav.). Tuo tarpu KM sergančių karvių (4 gr.) SLS sumažėjo 2 273,44 tūkst./ml arba 80,04 proc. ($p < 0,05$). SKM sergančių karvių (3 gr.) SLS pirmą ir paskutinę bandymo dieną buvo 86,8 proc. ir 67,17 proc. didesnis, negu kliniškai sveikų karvių, paveiktų AMV (2 gr.) ($p < 0,01$). KM sergančių karvių (4 gr.) SLS skaičius pirmą bandymo dieną buvo 98,22 proc. ($p < 0,001$), o paskutinę bandymo dieną – 91,07 proc. ($p < 0,01$) didesnis, negu antros grupės karvių. Palyginus 3 grupę su 1 grupe, SLS 1 bandymo dieną buvo didesnis 89,04 proc. ($p < 0,01$), 5 – tą bandymo dieną – 66,11 proc. ($p < 0,05$) ir 7 – tą bandymo dieną – 78,88 proc. ($p <$

0,05). Tačiau palyginus 4 grupę su 1 grupe, SLS 1 bandymo dieną buvo didesnis 98,52 proc. ($p < 0,05$), o 5 – tą bei 7 – tą bandymo dieną – 94,42 proc. ir 94,26 proc. (statistiškai nereikšminga).



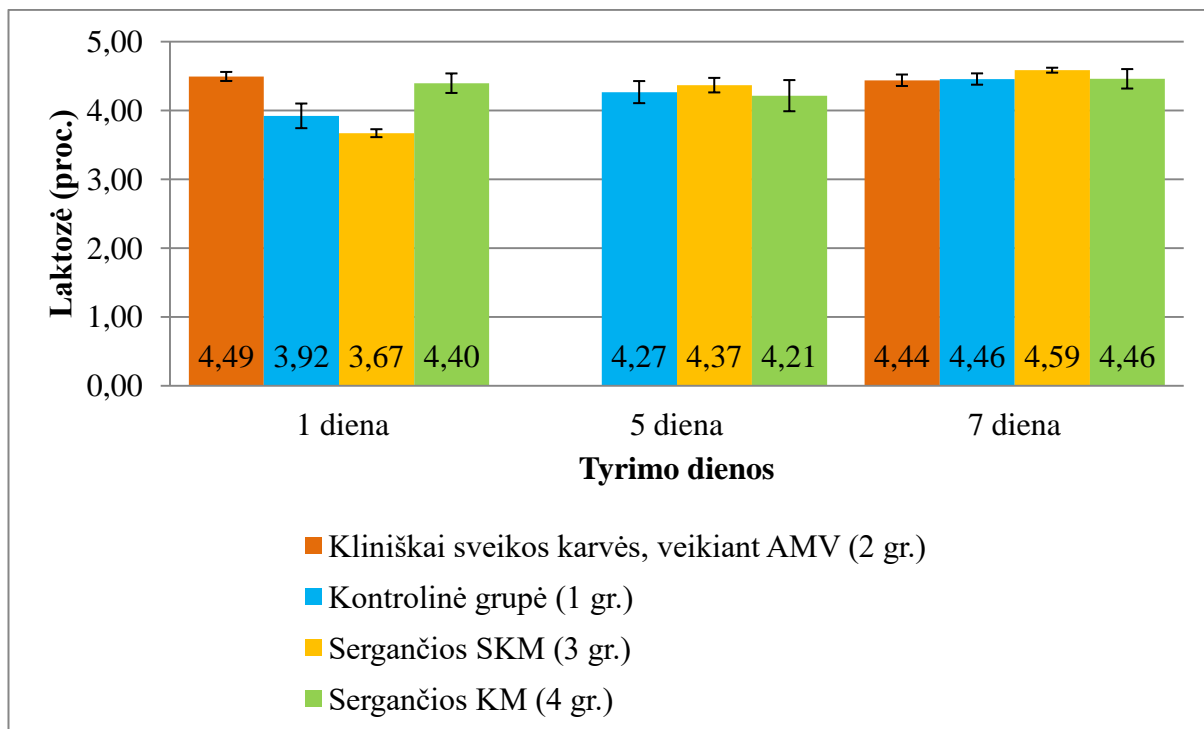
6 pav. Tiriamųjų karvių riebalų (proc.) vidurkių pokytis

Atliktame tyrime nustatyta, jog subklinikiniu mastitu sergančių pieninių karvių riebalų kiekis (proc.) nuo pirmos bandymo dienos iki paskutinės sumažėjo 35,77 proc. ($p < 0,001$) (6 pav.). Nuo bandymo pradžios riebalų kiekis klinikiniu mastitu sergančioms karvėms sumažėjo 26,44 proc., tačiau šis pokytis nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,33$). Tuo tarpu KM sergančių karvių (4 gr.) riebalų kiekis pirmą bandymo dieną buvo 42,38 proc. ($p < 0,01$), o paskutinę bandymo dieną – 58,37 proc. ($p < 0,01$) mažesnis, negu antros grupės kliniškai sveikų karvių, paveiktų AMV. SKM sergančių karvių (3 gr.) riebalų kiekis paskutinę bandymo dieną buvo 22,47 proc. mažesnis, negu 2 grupės karvių ($p < 0,05$). Tačiau 3 grupės karvių riebalų kiekis pirmą bandymo dieną buvo 29,74 proc., o penktą dieną – 31,82 proc. didesnis, lyginant su 1 grupės karvėmis ($p < 0,05$).



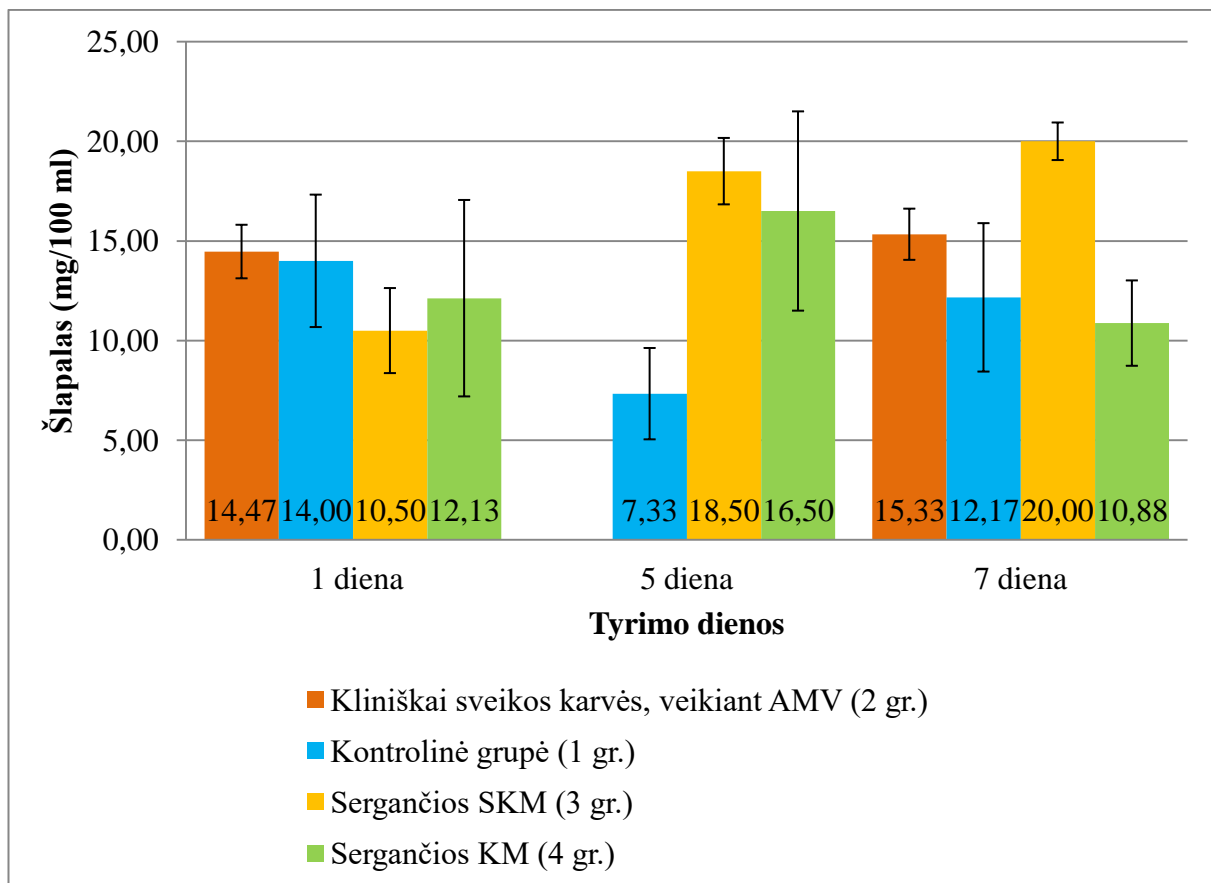
7 pav. Tiriamųjų karvių baltymų (proc.) vidurkių pokytis

Tyrimo metu nustatyta, jog subklinikiniu mastitu sergančių melžiamų karvių (3 gr.) baltymų kiekis (proc.) nuo pirmos bandymo dienos iki paskutinės sumažėjo 22,7 proc. ($p < 0,05$) (7 pav.). 3 grupės karvių baltymų kiekis pirmąją bandymo dieną buvo 19,86 proc. didesnis, lyginant su 2 grupės karvėmis ($p < 0,05$). Klinikiniu mastitu sergančių karvių baltymų kiekis nuo bandymo pradžios iki pabaigos beveik nepakito.



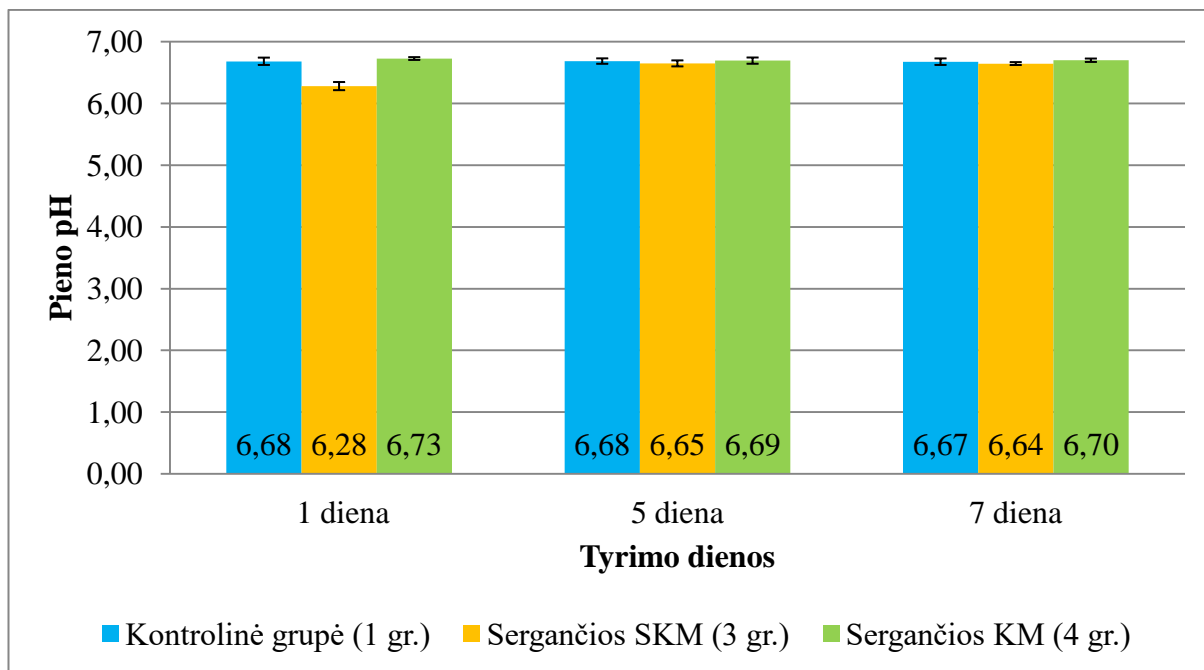
8 pav. Tiriamųjų karvių laktozės (proc.) vidurkių pokytis

Atliktame tyrime nustatyta, jog subklinikiniu mastitu sergančių pieninių karvių laktozės kiekis (proc.) nuo pirmos bandymo dienos iki paskutinės padidėjo 20,04 proc. ($p < 0,01$) (8 pav.). 3 grupės karvių laktozės kiekis piene pirmąją bandymo dieną buvo 18,26 proc. mažesnis, lyginant su 2 grupės karvėmis ($p < 0,01$). Tuo tarpu 4 grupės laktozės koncentracija piene pirmąją bandymo dieną buvo 10,91 proc. didesnė, lyginant su 1 grupe ($p < 0,05$). Kitų statistiškai reikšmingų pokyčių nenustatyta.



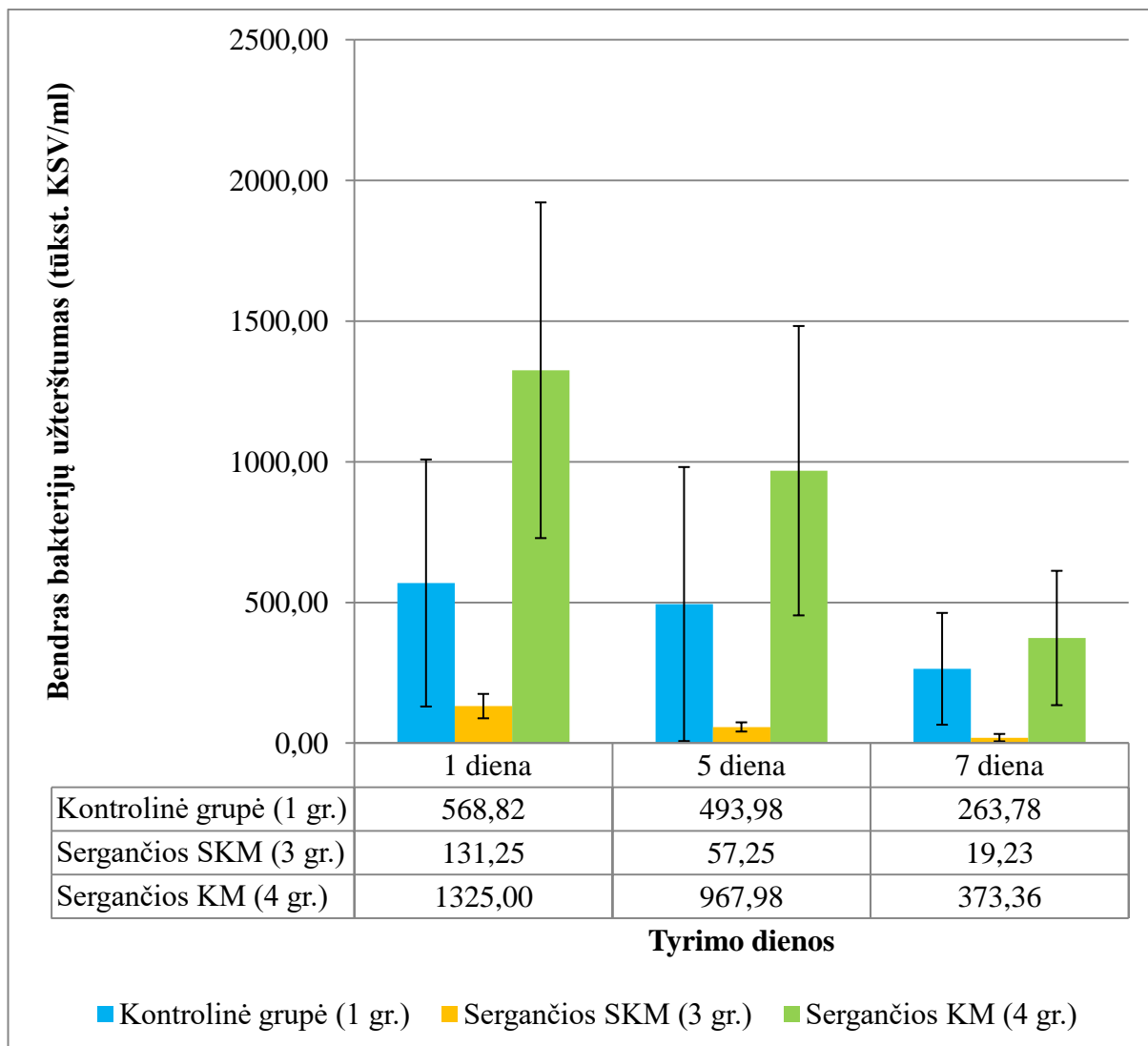
9 pav. Tiriamųjų karvių šlapalo (mg/proc.) vidurkių pokytis

Melžiamų karvių, kurios sirgo subklinikiniu mastitu ir jų tešmuo buvo paveiktas žemo dažnio virpesių prietaisu (3 gr.), šlapalo kiekis (mg/100 ml) per savaitę laiko padidėjo 47,5 proc. ($p < 0,05$) (9 pav.). Klinikiniu mastitu sergančių karvių šlapalo koncentracija nuo bandymo pradžios iki pabaigos sumažėjo 10,31 proc., tačiau šis pokytis nėra statistiškai reikšmingas. 3 grupės karvių šlapalo koncentracija penktąją bandymo dieną buvo 60,38 proc. didesnis, lyginant su 1 grupės karvėmis ($p < 0,01$).



10 pav. Tiriamųjų karvių pieno pH vidurkių pokytis

Tyrimo metu nustatyta, jog pieninių karvių, kurios sirgo subklinikiniu mastitu ir jų tešmuo buvo paveiktas žemo dažnio virpesių prietaisu (3 gr.), pH per savaitę padidėjo 5,56 proc. ($p < 0,01$) (10 pav.). Lyginant 3 grupę su kontroline (1 gr.), pH pirmąją bandymo dieną buvo 5,99 proc. mažesnė ($p < 0,01$). Klinikiniu mastitu sergančių karvių (4 gr.) pH nuo bandymo pradžios iki pabaigos beveik nepakito.



11 pav. Tiriamųjų karvių bendro bakterinio užterštumo (tūkst. KSV/ml) vidurkių pokytis

Melžiamų karvių, kurios sirgo klinikiniu mastitu ir jų tešmuo buvo paveiktas žemo dažnio virpesiais (4 gr.), bendras bakterinis užterštumas (tūkst. KSV/ml) per savaitę laiko sumažėjo 71,82 proc. ($p < 0,05$) (11 pav.). Karvių, sergančių SKM (3 gr.), bendras bakterinis užterštumas sumažėjo 85,35 proc., tačiau šis pokytis nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,057$).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Mastitas yra daugiausiai nuostolių sukianti liga pieno pramonėje, o antibiotikai laikomi pirmuoju pasirinkimu šiai ligai gydyti. Didėjantis atsparumas antimikrobinėms medžiagoms ir piktnaudžiavimas antibiotikais yra opi visuomenės problema, kelianti didelį susirūpinimą (4,62). Mokslininkai tiria naujausius terapinius metodus, kurie galėtų pakeisti antibiotikų naudojimą mastitų kontrolei bei gydymui (4). Akustinių – mechaninių impulsų technologija buvo specialiai sukurta melžiamoms karvėms gydyti (6).

Ištirus kliniškai sveikų melžiamų karvių tešmens išskiriamo pieno sudėtį ir kokybę, paveikus tešmenį akustiniais – mechaniniais virpesiais, gauti rezultatai neparodė reikšmingos įtakos primilžio sudėties ir kokybės rodiklių vidutinėms vertėms. Vadinasi, ši terapija nesukelia neigiamo poveikio kliniškai sveikiems gyvūnams. Atlikus tešmens paviršinės temperatūros matavimus, tyrimo rezultatai parodė, kad taikant žemo dažnio (25 Hz) vibraciją iki 8 minučių, tai yra tiek, kiek paprastai trunka melžimo procesas, karvės tešmens paviršiaus temperatūra padidėjo 0,57 °C. Šis rezultatas patvirtina, kad žemo dažnio vibracijos turi stimuliuojantį poveikį, kuris suaktyvina kraujotaką tešmenyje (63). 2020 metais atliktame tyrime nustatyta, kad smūginių bangų terapija padidina kraujo tekėjimo greitį kapiliaruose sveikų žmonių riešakaukyje. Po vienos smūginių bangų terapijos sesijos kraujo tekėjimo greitis kapiliaruose padidėjo 19 proc. po 1 minutės, 28 proc. po 2 minučių, 35 proc. po 3 minučių ir 39 proc. po 5 minučių, palyginus su pradiniu lygiu (64). Wang ir kitų mokslininkų duomenimis (65), smūginė bangos terapija sukėlė neovaskuliarizacijos ir su angiogeneze susijusių faktorių, įskaitant endotelio azoto oksido, kraujagyslių endotelio augimo faktorių ir proliferuojančių ląstelių branduolio antigeno, skaičiaus padidėjimą triušių kaulų jungtyse.

Karvių, sergančių subklinikiniu mastitu ir paveikus tešmenį akustiniais – mechaniniais virpesiais, vidutinis pieno primilžis per parą per 7 dienas pakilo 3,35 kg, o karvių, sergančių klinikiniu mastitu – 2,58 kg. Šie rezultatai sutampa su G. Leitner ir kt. (6), kurių atliktame tyrime karvių, sergančių SKM vidutinis pieno primilžis per parą padidėjo 1,6 l. 2021 metais siekdami toliau įvertinti AMV gydymo poveikį, G. Leitner ir kt. (38), nustatė, jog vidutinis pieno primilžis per parą 3 mėnesių laikotarpyje subklinikiniu mastitu sergančių karvių pakilo 2,74 l, o klinikiniu mastitu – 3,9 l. Akustinių – mechaninių virpesių terapija atveria galimybę gydyti karves, sergančias subklinikiniu mastitu laktacijos metu, padidinant galimybę gauti didesnę pieno primilžį bei jo kokybę (6).

Somatinių ląstelių skaičius yra jautrus biožymuo mastitų nustatymui (66). Praktikoje įprasta naudoti SCC < 200 000 ląstelių/ml pieno, kaip ribinį lygį sveikiems tešmenims atskirti nuo

subkliniškai pažeistų (47). Tyrime dalyvavusių klinikinio mastitu sergančių karvių SLS, po akustinių – mechaninių virpesių taikytos terapijos, savaitės bėgyje ženkliai sumažėjo. Subklinikinio mastitu sergančių karvių SLS taip pat nukrito. Nors ir pokytis neparodė statistiško reikšmingumo, vidutinis SLS nukrito iki normos ribų (< 200 tūkst./ml). G. Leitner ir kt. (6) 2018 metais atliktame tyrime nustatė, jog 70,5 proc. ir 76,9 proc. melžiamos karvės, sergančios subklinikinio ir klinikinio mastitais, po taikytos akustinių – mechaninių virpesių terapijos, pasveiko ir sėkmingai sugrįžo į normalią pieno gamybą. 2021 metais atliktame tyrime G. Leitner ir kt. (38) nustatė, jog karvės, sergančios subklinikinio ir klinikinio mastitais, po taikyto terapinio gydymo, pasveiko 65,5 proc. ir atitinkamai 67,8 proc. Atsižvelgus į sumažėjusį SLS ir padidėjusį pieno kiekį, mažesnis karvių skaičius yra išbrokuojamas ir karvės išlieka pelningos bandoje (38). Remiantis abiejų atliktų tyrimų rezultatais ir išanalizuota literatūra apie smūginės bangos įtaką vietinei homeostazei ir teigiamai ląstelių gyvybingumo reguliacijai, galima daryti prielaidą, jog smūginės bangos terapija sukelia priešūždegiminį ir imunomoduliuojantį poveikį tešmenyje (6,38). V. Lyubimov ir kiti mokslininkai (67) teigia, jog palyginus kontrolinę grupę su aukšto dažnio rezonanso terapija paveiktomis, mastitu sergančiomis karvėmis, jų simptomai pagerėja, sumažėja SLS piene, o tai parodo, kad gydymas sukelia tiesioginį antimikrobinį poveikį.

Somatinių ląstelių skaičius pieno talpyklose, dar kitaip vadinamu bendru bakteriniu užterštumu yra seniai žinomas pieno kokybės rodiklis, turintis įtakos sūrių gamybai, pieno skoniui ir produkto galiojimo laikui. Leistinos BBU ribos įvairiose šalyse skiriasi (5). Lietuvoje, vadovaujantis pieno supirkimo taisyklių nuostatomis, bendras bakterinis užterštumas neturi viršyti 100 tūkst. KSV/ml (68). Remiantis tyrimo duomenimis, pritaikius akustinių – mechaninių virpesių terapiją, BBU klinikinio mastitu sergančių karvių sumažėjo 71,82 proc., tačiau jų kiekis vis dar viršija Lietuvoje leistinas registruotas BBU skaičiaus ribas. Tuo tarpu, subklinikinio mastitu segančių karvių BBU sumažėjo iki 19,23 tūkst. KSV/ml, todėl jų pienas tapo tinkamas supirkimui. U. Merin ir kitų mokslininkų duomenimis (5), praėjus 75 dienoms po taikytos akustinių – mechaninių virpesių terapijos sergančioms mastitu karvėms, 57,3 proc. karvių pasveiko (BBU sumažėjo daugiau nei 75 proc.), palyginus su kontroline grupe, iš kurių pasveiko tik 14,6 proc. karvių.

Literatūroje apie akustinių – mechaninių virpesių sukeltą poveikį pieno kokybės sudėčiai, tokiems kaip laktozės, riebalų, baltymų, pH ir šlapalo kiekiui, rasti nepavyko, išskyrus LSMU VA Anatomijos ir fiziologijos katedros darbuotojų atliktame tyrime (61), kuriame AMV kliniškai sveikų karvių pieno sudėčiai įtakos neturėjo. Remiantis mūsų gautais tyrimo rezultatais, po akustinių – mechaninių virpesių terapijos, subklinikinio mastitu sergančių karvių riebalų ir baltymų kiekis sumažėjo, o laktozės kiekis, šlapalo koncentracija ir pieno pH pakilo iki normos ribų.

Atsižvelgus į gautus tyrimo rezultatus, galima teigti, jog akustiniai – mechaniniai virpesiai sukelia teigiamą poveikį subklinikinio masto sergančioms karvėms, tačiau reikėtų atlikti tolimesnius tyrimus su didesne imtimi gyvūnų, siekiant tiksliai įvertinti ir palyginti tyrimo rezultatus.

IŠVADOS

- 1.1. Analizuojant akustinių – mechaninių virpesių poveikį kliniškai sveikų melžiamų karvių išskiriamo pieno sudėties ir kokybės rodikliams, reikšmingi pokyčiai nenustatyti. Pieno primilžis per parą paskutinę bandymo dieną buvo 0,15 proc., riebalų kiekis – 0,22 proc., šlapalo – 5,94 proc. ir SLS – 7,26 proc. didesnis, o baltymų buvo 0,59 proc., laktozės – 1,11 proc. mažesnis, lyginant su pieno sudėties rodikliais prieš bandymo atlikimą.
- 1.2. Lyginant kliniškai sveikų melžiamų karvių eksperimentinę grupę, kurių tešmeniui buvo taikomas 25 Hz dažnio AMV poveikis, su kliniškai sveikomis karvėmis, kurioms nebuvo taikytas AMV poveikis, eksperimentinėje karvių grupėje pastebėtas tešmens paviršinės temperatūros padidėjimas melžimo metu $0,57^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,01$).
- 2.1. Analizuojant akustinių – mechaninių virpesių poveikį pieninių karvių, sergančių subklinikinio mastitu, išskiriamo pieno sudėties ir kokybės rodikliams nustatyta: nuo pirmos tyrimo dienos pieno primilžis per parą buvo 13,44 proc. ($p < 0,01$), laktozės – 20,04 proc. ($p < 0,01$), šlapalo – 47,5 proc. ($p < 0,05$), pH – 5,56 proc. didesnis ($p < 0,01$), o SLS – 59,7 proc. ($p = 0,124$), riebalų kiekis – 35,77 proc. ($p < 0,001$), baltymų – 22,7 proc. ($p < 0,05$) ir BBU – 85,35 proc. mažesnis ($p = 0,057$), lyginant su pieno sudėties rodikliais prieš atliktą bandymą.
- 2.2. Karvių, sergančių klinikinio mastitu, 7-tą bandymo dieną vidutinis pieno kiekis per parą buvo 14,74 proc. didesnis ($p < 0,05$), o SLS – 80,04 proc. ($p < 0,05$) ir BBU – 71,82 proc. mažesnis ($p < 0,05$), lyginant su pieno sudėties rodikliais prieš atliktą bandymą. Kitiems pieno sudėties rodikliams akustiniai – mechaniniai virpesiai įtakos neturėjo.

REKOMENDACIJOS

Nuolat augančios darbo jėgos ir gamybos sąnaudos, o taip pat siekiant užtikrinti gyvūnų sveikatingumą ir gerovę, pienininkystės sektoriuje būtina kurti naujas patobulintas melžimo sistemas. LSMU ir KTU mokslininkų sukurta nauja sistema prie automatizuotų melžimo aparatų melžiklių (prietaisas LT 2021 542 A), kuri neturi poveikio į pieno sudėtį, tačiau teigiamai veikia SLS piene. Rekomenduočiau tokią sistemą įdiegti LSMU VŠĮ „Praktinio mokymo ir bandymų centro“ Giraitės melžiamų karvių fermos melžimo robotuose „DeLaval VMS™ V300“, praplečiant tolimesnius tyrimus apie akustinių – mechaninių virpesių poveikį melžiamų karvių mastitų prevencijai ir gydymui (pvz. naudojant AMV kartu su antibiotikais), bei mažinant bandoje subklinikiniais ir klinikiniais mastitais sergančių karvių skaičių ir gerinant gaminamo pieno kokybę.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Cheng WN, Han SG. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments – a review. *Asian-australasian journal of animal sciences* 2020;33(11):1699-1713.
2. Sharun K, Dhama K, Tiwari R, Gugjoo MB, Iqbal Yattoo M, Patel SK, et al. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *The Veterinary quarterly* 2021;41(1):107-136.
3. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022:71.
4. El-Sayed A, Kamel M. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era. *Tropical Animal Health and Production* 2021;53(2):236.
5. Merin U, Leitner G, Jacoby S, Gilad D. Management of high cows-share-contribution of SCC to the bulk milk tank by acoustic pulse technology (APT). *PloS one* 2021;;e0255747;16(8):1-11.
6. Leitner G, Zilberman D, Papirov E, Shefy S. Assessment of acoustic pulse therapy (APT), a non-antibiotic treatment for dairy cows with clinical and subclinical mastitis. *PLoS ONE* 2018; e0199195;13(7):1-13.
7. Singha S, Koop G, Persson Y, Hossain D, Scanlon L, Derks M, et al. Incidence, Etiology, and Risk Factors of Clinical Mastitis in Dairy Cows under Semi-Tropical Circumstances in Chattogram, Bangladesh. *Animals* 2021;11(8):1-17.
8. Abebe R, Markos A, Abera M, Mekbib B. Incidence rate, risk factors and bacterial causes of clinical mastitis on dairy farms in Hawassa city, southern Ethiopia. 2022:1-23.
9. Dalanezi FM, Joaquim SF, Guimarães FF, Guerra ST, Lopes BC, Schmidt EMS, et al. Influence of pathogens causing clinical mastitis on reproductive variables of dairy cows. *Journal of dairy science* 2020;103(4):3648-3655.
10. Nonnemann B, Lyhs U, Svennesen L, Kristensen KA, Klaas IC, Pedersen K. Bovine mastitis bacteria resolved by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of dairy science* 2019;102(3):2515-2524.
11. Çomakli S, Özdemir S. Comparative Evaluation of the Immune Responses in Cattle Mammary Tissues Naturally Infected with Bovine Parainfluenza Virus Type 3 and Bovine Alpha herpesvirus-1. *Pathogens* 2019;8(1):1-12.
12. Ashraf A, Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal health research reviews* 2020;21(1):36-49.

13. Kibebew K. Bovine Mastitis: A Review of Causes and Epidemiological Point of View. 2017;7(2):1-14.
14. Bhakat C, Kumari T, Bhakat C, Choudhary RK. Low Cost Management Practices to Detect and Control Sub-Clinical Mastitis in Dairy Cattle. *Int. J. Pure App. Biosci* 2018;6(2):1291-1299.
15. Swami SV, Swami SV, Patil RA, Gadekar SD. Studies on prevalence of subclinical mastitis in dairy animals. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2017;5(4):1297-1300.
16. Ndahetuye JB, Twambazimana J, Nyman A, Karege C, Tukei M, Ongol MP, et al. A cross sectional study of prevalence and risk factors associated with subclinical mastitis and intramammary infections, in dairy herds linked to milk collection centers in Rwanda. *Preventive veterinary medicine* 2020;179:105007.
17. Bobbo T, Ruegg PL, Stocco G, Fiore E, Giancesella M, Morgante M, et al. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. *Journal of dairy science* 2017;100(6):4868-4883.
18. Ebrahimie E, Ebrahimi F, Ebrahimi M, Tomlinson S, Petrovski KR. A large-scale study of indicators of sub-clinical mastitis in dairy cattle by attribute weighting analysis of milk composition features: highlighting the predictive power of lactose and electrical conductivity. *Journal of dairy research* 2018 May;85(2):193-200.
19. Gonçalves JL, Kamphuis C, Martins, C. M. M. R., Barreiro JR, Tomazi T, Gameiro AH, et al. Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock science* 2018;210:25-32.
20. Antanaitis R, Juozaitienė V, Jonike V, Baumgartner W, Paulauskas A. Milk Lactose as a Biomarker of Subclinical Mastitis in Dairy Cows. *Animals* 2021;11(6):1736.
21. Pal M, Regasa A, Gizaw F, Pal M. Etiology, Pathogenesis, Risk Factors, Diagnosis and Management of Bovine Mastitis: A Comprehensive Review. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences | Year-2019* 2019;06:40-55.
22. Turk R. The role of oxidative stress and inflammatory response in the pathogenesis of mastitis in dairy cows. *Mljekarstvo* 2017;67(2):91-101.
23. Kleczkowski M, Kluciński W, Czerski M, Kudyba E. Association between acute phase response, oxidative status and mastitis in cows. *Veterinarska stanica* 2017;48(3):177-186.
24. Kim H, Min Y, Choi B. Real-time temperature monitoring for the early detection of mastitis in dairy cattle: Methods and case researches. *Computers and electronics in agriculture* 2019;162:119-125.
25. Fogsgaard KK, Bennedsgaard TW, Herskin MS. Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. *Journal of dairy science* 2015;98(3):1730-1738.

26. Sathiyabarathi M, Jeyakumar S, Manimaran A, Jayaprakash G, Pushpadass HA, Sivaram M, et al. Infrared thermography: A potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. *Veterinary World* 2016;9(10):1075-1081.
27. Wang Y, Kang X, He Z, Feng Y, Liu G. Accurate detection of dairy cow mastitis with deep learning technology: a new and comprehensive detection method based on infrared thermal images. *Animal (Cambridge, England)* 2022;16(10):100646:1-10.
28. Duarte CM, Freitas PP, Bexiga R. Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2015;27:665-672.
29. Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH. Sensitivity and Specificity of Somatic Cell Count and California Mastitis Test for Identifying Intramammary Infection in Early Lactation. *Journal of Dairy Science* 2001;84(9):2018-2024.
30. Ashraf A, Imran M. Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm. *Trop Anim Health Prod* 2018;50(6):1193-1202.
31. Adkins PRF, Middleton JR. Methods for Diagnosing Mastitis. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 2018;34(3):479-491.
32. Hossain MK, Paul S, Hossain MM, Islam MR, Alam M. Bovine Mastitis and Its Therapeutic Strategy Doing Antibiotic Sensitivity Test . 2018;4(1):1030.
33. Saini G, Yadav V, Sharma M, Bisla A. Mastitis: A challenge in doubling Mastitis: A challenge in doubling the farmer's income by 2022. *International Journal of Engineering Technologies and Management Research* 2020;5(3):88-107.
34. M S, HA T. A Treatise on Bovine Mastitis: Disease and Disease Economics, Etiological Basis, Risk Factors, Impact on Human Health, Therapeutic Management, Prevention and Control Strategy. *Advances in Dairy Research* 2015;4(1).
35. Dey D, Sharma B, Mondal S. Review: Nutritional Approach to Prevent Mastitis of Dairy Cattle. *Environment and ecology* 2019;37(1B):344-348.
36. Tashakkori N, Khoramian B, Farhoodi Moghadam M, Heidarpour M, Mashayekhi K, Farzaneh N. Evaluating the effectiveness of two bovine mastitis vaccines and their influences on oxidant and antioxidant capacities of milk. *Trop Anim Health Prod* 2020;52(3):1493-1501.
37. Rohringer S, Holnthoner W, Hackl M, Weihs AM, Rünzler D, Skalicky S, et al. Molecular and Cellular Effects of In Vitro Shockwave Treatment on Lymphatic Endothelial Cells. *PLoS ONE* 2014; e114806;9(12):1-23.
38. Leitner G, Papirov E, Gilad D, Haran D, Arkin O, Zuckerman A, et al. New Treatment Option for Clinical and Subclinical Mastitis in Dairy Cows Using Acoustic Pulse Technology (APT). *Dairy* 2021;2(2):256-269.

39. Crowe O. Treatment of 45 Cases of Chronic Hindlimb Proximal Suspensory Desmitis by Radial Extracorporeal shockwave Therapy. Proceedings of the annual convention of the American Association of Equine Practitioners 2002;48:pp. 322-2002 v.48 no.; 325.
40. Souza ANA, Ferreira MP, Hagen SCF, Patricio GCF, Matera JM. Radial shock wave therapy in dogs with hip osteoarthritis. Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology 2016;29(2):108-114.
41. Enger BD. Invited Review: Reevaluating how mastitis reduces milk yield: Discussion of competitive substrate utilization. Applied Animal Science 2019;35(4):408-415.
42. Kul E, Şahin A, Atasever S, Uğurlutepe E, Soydaner M. The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. Veterinarski arhiv 2019 May 15;;89(2):143-154.
43. Adriaens I, Van Den Brulle I, Geerinckx K, D'Anvers L, De Vliegher S, Aernouts B. Milk losses linked to mastitis treatments at dairy farms with automatic milking systems. Preventive veterinary medicine 2021;194:105420.
44. Van Soest, Felix J. S., Santman-Berends, Inge M. G. A., Lam, Theo J. G. M., Hogeveen H. Failure and preventive costs of mastitis on Dutch dairy farms. Journal of dairy science 2016;99(10):8365-8374.
45. Gonçalves JL, Kamphuis C, Martins, C. M. M. R., Barreiro JR, Tomazi T, Gameiro AH, et al. Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. Livestock science 2018;210:25-32.
46. Deshapriya RMC, Rahularaj R, Ransinghe, R. M. S. B. K. Mastitis, somatic cell count and milk quality: an overview. The Sri Lanka veterinary journal : the official journal of the Sri Lanka Veterinary Association 2019;66(1):1-12.
47. Sumon, S M Mostafizur Rahaman, Parvin MS, Ehsan MA, Islam MT. Relationship between somatic cell counts and subclinical mastitis in lactating dairy cows. Vet World 2020;13(8):1709-1713.
48. Donkin EF, Webb EC, Etter EMC, Karzis J, Petzer I. Somatic cell count thresholds in composite and quarter milk samples as indicator of bovine intramammary infection status. Onderstepoort journal of veterinary research 2017;84(1):1-10.
49. Osorio JS, Lohakare J, Bionaz M. Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and posttranscriptional regulation. Physiological genomics 2016;48(4):231-256.
50. Šernienė L, Sekmokienė D. Pieno higiena: mokomoji knyga . Kaunas: Lietuvos sveikatos mokslų universitetas; 2013:1-113.

51. Costa A, Lopez-Villalobos N, Sneddon NW, Shalloo L, Franzoi M, De Marchi M, et al. Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. *Journal of dairy science* 2019;102(7):5883-5898.
52. Vilas Boas DF, Vercesi Filho AE, Pereira MA, Roma Junior LC, El Faro L. Association between electrical conductivity and milk production traits in Dairy Gyr cows. *Journal of Applied Animal Research* 2017;45(1):227.
53. Wahyu Harjanti D, Sambodho P. Effects of mastitis on milk production and composition in dairy cows. *IOP conference series. Earth and environmental science* 2020;518(1):1-5.
54. Fox PF, Uniacke-Lowe T, McSweeney PLH, O'Mahony JA. *Milk Proteins. Dairy Chemistry and Biochemistry* Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 145-239.
55. Malek dos Reis, Carolina Barbosa, Barreiro JR, Mestieri L, Porcionato, Marco Aurélio de Felício, dos Santos MV. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Veterinary Research* 2013;9(1):67.
56. Čobanović K. Impact of non nutritional factors on milk urea concentration and its relationship with production and fertility traits in Vojvodina dairy herds. *Mljekarstvo* 2017;67(4):267-276.
57. Bludau MJ, Maeschli A, Leiber F, Steiner A, Klocke P. Mastitis in dairy heifers: Prevalence and risk factors. *The veterinary journal (1997)* 2014;202(3):566-572.
58. Kandeel SA, Megahed AA, Ebeid MH, Constable PD. Ability of milk pH to predict subclinical mastitis and intramammary infection in quarters from lactating dairy cattle. *Journal of dairy science* 2019;102(2):1417-1427.
59. Gleeson D, Edwards P, O'brien B. Effect of omitting teat preparation on bacterial levels in bulk tank milk. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 2013;55(2):169.
60. Bochniarz M, Adaszek Ł, Dzięgiel B, Nowaczek A, Wawron W, Dąbrowski R, et al. Factors responsible for subclinical mastitis in cows caused by *Staphylococcus chromogenes* and its susceptibility to antibiotics based on *bap*, *fnbA*, *eno*, *mecA*, *tetK*, and *ermA* genes. *Journal of dairy science* 2016;99(12):9514-9520.
61. Sederevičius A, Oberauskas V, Želvytė R, Žymantienė J, Musayeva K, Žemaitis J, et al. Effect of low frequency oscillations during milking on udder temperature and welfare of dairy cows. *Journal of animal science and technology* 2023;65(1):244-257.
62. Krömker V, Leimbach S. Mastitis treatment—Reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in domestic animals* 2017;52(S3):21-29.
63. Metzner M, Sauter-Louis C, Seemueller A, Petzl W, Klee W. Infrared thermography of the udder surface of dairy cattle: Characteristics, methods, and correlation with rectal temperature. *The veterinary journal* 2014;199(1):57-62.

64. Schleusser S, Song J, Stang FH, Mailaender P, Kraemer R, Kisch T. Blood Flow in the Scaphoid Is Improved by Focused Extracorporeal Shock Wave Therapy. *Clin Orthop Relat Res* 2020;478(1):127-135.
65. Wang C, Wang F, Yang KD, Weng L, Hsu C, Huang C, et al. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon–bone junction. A study in rabbits. *J Orthop Res* 2003;21(6):984.
66. Rainard P, Foucras G, Boichard D, Rupp R. Invited review: Low milk somatic cell count and susceptibility to mastitis. *Journal of dairy science* 2018;101(8):6703-6714.
67. Lyubimov VE, Romanov DV, Tsoi YA, Ziganshin BG, Sitdikov FF. Results of application of frequency resonance therapy for treatment of cow mastitis. *BIO Web Conf* 2020;17.
68. Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro 2001 m. gegužės 9 d. Nr. 146 įsakymas dėl pieno supirkimo taisyklių patvirtinimo.