

ВИКОРИСТАННЯ *VACILLUS PUMILUS* ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ КЕТОЗУ У КОРІВ

Т. І. Фотіна¹, д-р вет. наук, професор,
О. І. Шкромада¹, д-р вет. наук, професор,
Г. А. Фотіна¹, д-р вет. наук, професор,
О. Л. Нечипоренко¹, д-р вет. наук, доцент,
Р. В. Петров¹, д-р вет. наук, професор,
А. Р. Шульга¹, аспірантка,
Ф. С. Марченков², канд. біол. наук

¹Сумський національний аграрний університет
вул. Г. Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна
oshkromada@gmail.com

²ПП "Кронос Агро"
вул. Костюка, 39, м. Київ, 03170, Україна

У роботі розглядається ефективність застосування *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) для лікування та профілактики кетозу у дійних корів. Також досліджені причини виникнення кетозу у господарстві.

Дослідження проводили у ТОВ «Агрофірма Лан», с. Кіндратівка, Сумського району, Сумської області. Для проведення досліду використовували здорових та хворих на кетоз корів. Загальна кількість дослідних тварин складала 15 голів. Тварини, хворі на кетоз, отримували комбікорм із додаванням *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) в дозі 15-35 г на тварину. Здорові корови контрольної групи мали звичайний раціон для своєї виробничої групи. Дослідження проводили протягом 30 діб.

Метою роботи було дослідити механізм виникнення ацетонемії у тварин в господарстві та визначити ефективність застосування *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) при кетозі молочних корів.

Під час проведення дослідження було встановлено, що у корів у різні пори року продуктивність в значній мірі була пов'язана із способом утримання. Так, у теплу пору року у корів із середньодобовим надоєм більше 35 кг молодші корови першої лактації мали кращі клінічні показники, порівняно із іншими тваринами.

За результатами проведених досліджень встановлено, що рівень сечовини та азоту сечовини у корів дослідної групи до початку лікування на 77,8 % була більше, в порівнянні із здоровими тваринами у контролі. Аспаратамінотрансфераза (АСТ) на початку дослідження у хворих на кетоз корів була більше на 78,8 %, порівняно із здоровими тваринами. Збільшення рівня цього метаболіту у крові свідчить про ураження печінки і підвищується та знижується одночасно із сечовиною та β -кетонами у крові хворих тварин. Крім того, рівень білка в сироватці крові, включаючи глобуліни та альбуміни, у корів дослідної та контрольної групи знаходився в межах референтного значення для корів протягом всього дослідного періоду.

Згодовування коровам із захворюваннями на кетоз *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) в дозі 35 г на тварину сприяє зниженню β -кетонів в сироватці крові та поверненню до фізіологічної норми. Використання пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* не викликає токсичного впливу на органи та системи організму. Сприяє нормалізації метаболічних процесів в організмі.

Також важливим є факт нормалізації рівня ферментів (АСТ), що вказує на відновлення печінки. Крім того, збільшується рівень калію та вітамінів А, Е і D в крові, що вказує на нормалізацію метаболічних процесів у сечовій, серцево-судинній та нервовій системі.

Ключові слова: КОРОВИ, КЕТОЗ, *BACILLUS PUMILUS*, ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКУ, ЛАКТАЦІЯ, НАДОЇ, В-КЕТОНИ, ЗАПЛІДНЕНІСТЬ.

USE OF *BACILLUS PUMILUS* FOR PREVENTION OF KETOSIS IN COWS

T. I. Fotina¹, O. I. Shkromada¹, H. A. Fotina¹, O. L. Nechyporenko¹,
R. V. Petrov¹, A. R. Shulha¹, F.S. Marchenkov²

¹Sumy National Agrarian University
160, Herasym Kondratiev str., Sumy, 40021, Ukraine
oshkromada@gmail.com

²Kronos Agro LLC
39, Kostyuka str., Kiev, 03170, Ukraine

The paper considers the effectiveness of *Bacillus pumilus* (10^9 CFU / g) for dairy cows for the treatment and prevention of ketosis. The causes of ketosis in the farm were also studied. The research was conducted in LTD "Agrofirma Lan", v. Kindrativka, Sumy district, Sumy region. Healthy and ill on ketosis cows were used for the experiment. The total number of experimental animals was 15 heads. Animals with ketosis received compound feed with the addition of *Bacillus pumilus* (10^9 CFU / g) at a dose of 15-35 g per animal. Healthy cows in the control group had a normal diet for their production group. The studies were performed for 30 days.

The aim of the study was to investigate the mechanism of acetonemia in farm animals and to determine the effectiveness of *Bacillus pumilus* (10^9 CFU / g) in ketosis of dairy cows. During the study it was found that cows at different times of the year productivity was largely related to the way they were kept.

Thus, in the warm season, cows with an average daily milk yield of more than 35 kg and younger cows of the first lactation had better clinical indicators compared to other animals. According to the results of the studies, it was found that the level of urea and urea nitrogen in the cows of the experimental group before treatment was 77.8 % higher than in healthy animals in the control. Aspartate aminotransferase (AST) at the beginning of the study in cows with ketosis was 78.8 % higher than in healthy animals. An increase in the level of this metabolite in the blood indicates liver damage and increases and decreases simultaneously with urea and β -ketones in the blood of sick animals. In addition, serum protein levels, including globulins and albumins, in experimental and control cows were within the reference value for cows throughout the experimental period.

Feeding cows that ill on ketosis *Bacillus pumilus* (10^9 CFU / g) at a dose of 35 g per animal helps to reduce serum β -ketones and return to physiological norm. The use of probiotic strain *Bacillus pumilus* does not cause toxic effects on organs and systems of the body. Contributes to the normalization of metabolic processes in the body.

Keywords: COWS, KETOSIS, *BACILLUS PUMILUS*, PROBIOTIC EFFICIENCY, LACTATION, MILKING, B-KETONS, FERTILIZATION.

Кетоз – найчастіше порушення обміну речовин у високопродуктивних дійних корів протягом перших 6-8 тижнів лактації. Його основні симптоми включають надмірну кількість так званих кетонових тіл в рідинах тіла корови. Кетонові тіла складаються з β -гідроксимаєляної кислоти, ацетооцтової кислоти і ацетону. β -гідроксимаєляна кислота є основним компонентом, на його частку від загального обсягу кетонових тіл в крові припадає майже 70 %. Клінічні симптоми кетозу у корів включають втрату апетиту, запах ацетону з

ротової порожнини і сечі. Ці симптоми супроводжуються падінням продуктивності, появою супутніх захворювань (мастит, метрит і зміщення сичуга), а також погіршення репродуктивної функції. Одним з характерних симптомів кетозу є підвищення рівня жиру в молоці (> 5%) при зниженні рівня білка (<2,9 %). При субклінічному кетозі співвідношення жиру та білка в молоці збільшується до 1,4: 1. В даний час завдання полягає в тому, щоб розглядати можливості зменшення рівня β -кетонів як мінімум до 1,2 ммоль / л в плазмі крові. Профілактика кетозу заснована на підтримці перинатальних корів в хорошому стані, тобто з приблизно 3,5 балами за п'ятибальною шкалою фізичного стану, ретельному балансуванні доз корму протягом перших 2 місяців лактації з правильним співвідношенням енергії і білка. Кетоз зустрічається в середньому у 7-14 % корів в стаді. В основному, дані про поширеність субклінічного кетозу значно різняться в залежності від їх джерела. Більш того, проблема найчастіше спостерігається у тварин, які погано харчуються з високим потенціалом молочної продуктивності (Guliński, 2021).

Кетоз серйозно впливає на продуктивність тварин і, як наслідок, на економічне благополуччя молочних заводів. Досліди проведені на фермі у Голландії показали, що фактичні середні витрати на усунення наслідків клінічного і субклінічного кетозу на рівні стада складала 3613 євро для господарств, які не дотримуються сортності молока і 7371 євро на рік для господарств, які слідкують за якістю продукції (Steeneveld et al., 2020).

Головним стандартом для тестування на кетоз у дійних корів вважається вимір рівня β -гідроксибутирату в крові (Đoković et al., 2019). β -гідроксибутират є одним з основних кетонів, присутніх в крові, і більш стабільний, ніж ацетон або ацетоацетат (McArt et al., 2012; Suthar et al., 2013).

Субклінічний кетоз діагностують тваринам при концентрації β -кетонів $\geq 1,2-1,4$ ммоль/л в крові, і остання вважається пороговою умовою для клінічного кетозу. Також ряд дослідників відзначають, що рівень кетонів від 1,2 до 2,9 ммоль / л вказують на можливість прогресування випадків кетозу і ризиків для здоров'я в період ранньої лактації (Sun et al., 2017). Таким чином, хоча критичною точкою для виникнення субклінічного кетозу вважається рівень β -кетонів > 1,2 ммоль / л в крові, критичний рівень має бути до 3,0 ммоль/л у крові, що реєструється як клінічний кетоз (Wang et al., 2016).

Також дослідниками були отримані результати що до впливу факторів навколишнього середовища на рівень кетонових тіл у корів голштинської породи. Вони визначили, що зміна раціону найбільше впливає на рівень кетонів у крові. Також були виявлені відмінності між зразками, зібраними під час ранкового та вечірнього доїння, при цьому рівні кетонових тіл та ацетоацетату підвищувалися ввечері. Концентрація кетонів в організмі збільшувалася під час першої стадії лактації, а потім знижувалася, тільки щоб трохи підвищитися в кінці періоду доїння. Крім того, концентрація кетонів мала залежність від пори року, на відміну від ацетону. Автори також зробили висновок, що деякі фактори навколишнього середовища можуть використовуватися для контролю метаболізму кетонових тіл, що утримує випадки кетоза на низькому рівні (Brunner et al., 2018; Lee et al., 2018).

Дані дослідників про поширеність кетозу значно різняться, в залежності від їх джерела. Проблема в основному спостерігається у порушенні харчування тварин з високою молочною продуктивністю.

Метою роботи було дослідити механізм виникнення ацетонемії у тварин в господарстві та визначити ефективність застосування *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) при кетозі молочних корів.

Матеріали і методи. Дослідження виконувались у ТОВ «Агрофірма Лан», с. Кіндратівка Сумського району Сумської області. Для проведення дослідів використовували здорових та хворих на кетоз корів. Загальна кількість дослідних тварин складала 15 голів. Тварини, хворі на кетоз, (Д) груп отримували комбікорм із додаванням *Bacillus pumilus*

(10⁹ КУО/г) в дозі 15-35 г на тварину. Здорові корови контрольної групи (К) мали звичайний раціон для своєї виробничої групи. Дослідження проводили протягом 30 діб.

Всі експерименти на тваринах проводились з урахуванням директиви 2010/63 / ЄС та уточненнями, які були внесені Регламентом (ЄС) 2019/1010 та затверджені висновком комісії з питань етики та біоетики факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету, протокол № 5 від 15.07.2021 року.

Для проведення біохімічних досліджень сироватки крові, з метою визначення метаболічних змін в організмі тварин, використовували існуючі методики. Визначали загальні протеїни (СОП-БП-02-2017), загальні глобуліни (розрахунковим методом), альбуміни (СОП-БП-25-2018), сечовину (СОП-БП-03-2017), аспартатамінотрансферазу (АСТ) (СОП-БП-08-2017), вітамінно-мінеральний склад – за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора із застосуванням відповідних діагностичних систем (Vlizlo et al., 2012). Рівень β-кетонів в крові визначали за допомогою кетометра KetoSens (FDA) за допомогою тест-пластинок через дослідження крові (Levchenko et al., 2017).

Статистичний аналіз проведених експериментів розраховували за допомогою програми Microsoft Excel for Windows 2010. Отримані дані статистично обчислювали за методом Фішера-Стюдента. При цьому були враховані статистичні похибки та вірогідність показників з рівнем більше 95 % (p < 0,05).

Результати й обговорення. Під час проведення дослідження було встановлено, що у корів у різні пори року продуктивність в значній мірі була пов'язана із способом утримання. Так у теплу пору року у корів із середньодобовим надоем більше 35 кг та більш молодші корови першої лактації мали кращі клінічні показники, порівняно із іншими тваринами (табл.1).

Таблиця 1

Результати продуктивності дослідних корів за 2021 рік (кг)

№ корови	Діагноз	Останній отел	Останнє осіменіння	по якому разу	№ лактації	Січень 2021	Лютий 2021	Березень 2021	Квітень 2021	Травень 2021	Червень 2021	Липень 2021
9706	норма	05.01.21	17.07.21	1	4	29	37	21	31	28	30	33
2570	кетоз	07.06.21	20.07.21	1	4	27	32	35	35	35	35	35
3670	кетоз	09.04.21	23.07.21	2	2	28	34	32	35	39	37	35
3631	кетоз	16.01.21	23.07.21	2	2	35	35	36	37	36	29	22
5883	кетоз	17.04.21	30.07.21	2	1	26	27	29	28	29	30	26
3811	кетоз	11.03.21	23.07.21	2	1	27	25	20	31	25	27	25

Молочні корови, особливо високопродуктивні, дуже чутливі до метаболічних захворювань і стресів навколишнього середовища в післяпологовий період і схильні до негативного енергетичного балансу. Негативний енергетичний баланс у корів на початку лактації характеризується нездатністю печінкового гліюконеогенезу забезпечувати достатню кількість глюкози для нормальної лактації (Li et al., 2018). Як видно з експерименту метаболічні порушення, викликані незбалансованою годівлею, не були своєчасно усунені, у корів в кінцевому підсумку розвивається субклінічний або клінічний кетоз (Suthar et al., 2013). Виходячи з отриманих даних кетоз знижує на молочну продуктивність майже в двічі і здатність запліднення (Raboisson et al., 2014).

Кетоз під час ранньої лактації впливає на більш пізню репродуктивну функцію і діє через порушення осі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники. Кетоз асоціюється зі збільшенням часу до першого осіменіння на 2-3 дні і зниженням кількості вагітностей на 4-10 % за одне штучне запліднення при першому заплідненні. Так ймовірність успіху першого осіменіння у корів за субклінічного кетозу була в 62 % менше, ніж у здорових тварин (Rutherford et al., 2016).

Отримані результати підтверджують спробу штучного осіменіння корів з другої спроби за субклінічного кетозу. Однак, як показують результати надоїв, більш продуктивні корови голштинської породи виявились найбільш вразливими до кетозу (табл. 2). Так показники у травні-червні місяці у корів 2570, 3670, 3631 середньодобовий надій складав 35-39 кг, при цьому рівень β -кетонів був від 1,4 до 2,1 ммоль/л.

Для розрахунку ефективної дози *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) на корову при виявленні кетозу проводили дослідження протягом місяця зі зміною дозування. Діагноз на кетоз у корів ставляють, коли рівень β -кетонів в сироватці крові буде більше за 1,2 ммоль/л. Однак більшість виробників молока починають лікування тварин при показниках 1 ммоль/л. Дуже часто молочні корови з високим умістом β -кетонів не проявляють зовнішніх клінічних симптомів. Такий вид захворювання називають субклінічним кетозом. Тому для своєчасного лікування необхідний постійний контроль за допомогою кетометра. Після отримання результатів збирається статистика по ситуації в стаді всього господарства (табл. 2).

Таблиця 2

Рівень β -кетонів у крові корів протягом дослідного періоду

№ корів	20.06.21 доза 15 г	27.06.21 доза 25г	04.07.21 доза 35г	11.07.21 доза 35 г	21.07.21 кінець дослідження
2570	2,1	2,3	2,3	1,7	1,1
3631	1,8	1,5	1,4	1,4	0,8
3670	1,4	1,4	1,3	1,0	0,5
5883	1,6	1,6	1,7	1,3	0,7
3811	1,9	2,0	2,0	1,2	0,5

Як бачимо, з отриманих результатів за період 20.06-27.06.2021 року при згодовуванні коровам пробіотичного штаму мікроорганізму з розрахунку 15-25 г на тварину зменшення рівня β -кетонів у крові корів не відбувалось. Починаючи з 04.07. по 21.07.2021 року використання *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) в дозі 35 г на голову сприяє зменшенню рівня кетонових тіл в крові хворих тварин в два рази.

На початку досліджень рівень β -кетонів у сироватці крові вищий за норму приблизно в два рази. За дослідний період лікування спостерігаємо зменшення рівня β -кетонів у сироватці крові до норми. Клінічно на кетоз може вказувати підвищена концентрація в крові кетонових тіл, таких як β -гідроксибутират, ацетоацетат і ацетон. Багато досліджень підтверджують, що β -гідроксибутират є переважаючим і стабільним β -кетоновим тілом в крові при кетозі жуйних, що широко використовується для клінічної діагностики та класифікації кетозу у дійних корів (Marczuk et al., 2018).

Крім того, у тварин дослідних груп зменшується рівень сечовини, порівняно до початку досліджень, що підтверджуються даними дослідження кетометром (табл. 3).

За результатами проведених досліджень встановлено, що рівень сечовини та азоту сечовини у корів дослідної групи до початку лікування на 77,8 % була більше, в порівнянні із здоровими тваринами у контролі. Крім того, рівень білка в сироватці крові, включаючи глобуліни та альбуміни, у корів дослідної та контрольної групи знаходився в межах референтного значення для корів протягом всього дослідного періоду. Аспаратамінотрансфераза (АСТ) на початку дослідження у хворих на кетоз корів була більше на 78,8 %, порівняно із здоровими тваринами. Збільшення рівня цього метаболіту у крові свідчить про ураження печінки і підвищується та знижується одночасно із сечовиною та кетонами у крові хворих тварин (Tsuchiya et al., 2020). β -кетонами у крові хворих тварин (Tsuchiya et al., 2020).

Таблиця 3

Результати біохімічних досліджень сироватки крові корів, (n=5)

Групи	Назва параметрів, що визначаються, одиниці вимірювання								
	Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	*Глобуліни, г/л	*Альбуміни, %	*Глобуліни, %	*(А/Г), од	Сечовина, ммоль/л	*Азот сечовини, мг/дл	АСТ, од/л
Позначення НД на методи випробувань	СОП-БП-02-2017	СОП-БП-25-2018	Розрахунок				СОП-БП-03-2017	Розрахунок	СОП-БП-09-2017
Контрольна група	65,12 ±0,12	27,72 ±0,08	37,40 ±0,10	42,57 ±0,22	57,43 ±0,09	0,74 ±0,03	4,73 ±0,08	13,26 ±0,07	65,59 ±0,18
Дослідна група (початок дослідження)	79,50 ±0,22	33,61 ±0,18	45,89 ±0,12	42,28 ±0,21	57,72 ±0,13	0,73 ±0,05	8,41 ±0,03*	23,57 ±0,08*	117,32 ±0,34*
Дослідна група (закінчення дослідження)	74,22 ±0,13	31,29 ±0,18	42,93 ±0,23	42,16 ±0,24	57,84 ±0,22	0,73 ±0,02	5,35 ±0,04	14,99 ±0,09	98,23 ±0,12
Референтні значення для корів	59-85 ² 70-90 ³	27-43 ²	25-45 ² 33-55 ³	38-50 ¹	50-62 ¹	0,6-1,1	3,30-6,70 ¹ 2,50-6,70 ³	8-20 ⁴	48-108 ²

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно до контрольної групи.

Після згодовування коровам пробіотичного штаму мікроорганізмів *Bacillus pumilus* показники рівня сечовини та азоту сечовини у дослідних тварин (хворих на кетоз) повернулись до фізіологічної норми.

Також під час експериментів була розглянута можливість зміни вітамінно-мінерального складу сироватки крові у піддослідних тварин (табл.4).

Таблиця 4

Результати вітамінно-мінеральний склад сироватки крові ВРХ

Групи	Назва параметрів, що визначаються, одиниці вимірювання				
	Магній, ммоль/л	Калій, ммоль/л	Вітамін Е, мкг/мл	Вітамін А, мкг %	Вітамін D (25ОН), нг/мл
Позначення НД на методи випробувань	СОП-БП-06-2017	СОП-БП-11-2017	СОП-БП-12-2018	СОП-БП-14-2018	СОП-БП-18-2020
Контрольна група	0,79±0,03	5,65±0,03	5,5±0,01	52,6±0,08	38,97±0,12
Дослідна група (початок дослідження)	1,01±0,03	4,15±0,05	3,2±0,08	44,4±0,23	22,0±0,15
Дослідна група (закінчення дослідження)	0,95±0,03	5,55±0,02*	5,8±0,06*	56,6±0,16*	41,65±0,20*
Референтні значення для корів	0,70-1,23 ^{1,2}	4,0-5,3 ²	2,0-9,0 ¹	25,0-80,0 ¹ 40,0-150,0 ¹	20-50 ¹

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

За результатами проведеного експерименту відмічаємо збільшення рівня Калію у крові дослідних тварин на 33,7 %, що вказує на покращення в роботі нирок. Інші показники вітамінного та мінерального складу крові дослідних корів були в межах фізіологічної норми. Однак треба зазначити, що рівень вітамінів А, Д та Е значно збільшився у тварин дослідних

груп після завершення експерименту. Так, рівень вітаміну А збільшився за згодовування пробіотику на 27,5 %; вітаміну Е – на 81,3 %; вітаміну D – на 89,3 %. Збільшення кількості вітамінів та мінералів у крові вказує на нормалізацію в організмі обмінних процесів у тварин хворих на кетоз.

Таким чином, згодовування коровам *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) в дозі 35 г на тварину можна рекомендувати для хворих на кетоз тварин. Також для попередження виникнення ацетонемії у тільних корів у післяпологовий період рекомендуємо також задавати *Bacillus pumilus* в період сухостою.

ВИСНОВКИ

1. Згодовування коровам із захворюваннями на кетоз *Bacillus pumilus* (10^9 КУО/г) в дозі 35 г на тварину сприяє зниженню β -кетонів в сироватці крові та поверненню до фізіологічної норми. Використання пробіотичного штаму *Bacillus pumilus* не викликає токсичного впливу на органи та системи організму. Сприяє нормалізації метаболічних процесів в організмі.

2. Також важливим є факт нормалізації рівня ферментів (АСТ), що вказує на відновлення печінки. Крім того, збільшується рівень калію та вітамінів А, Е і D в крові, що вказує на нормалізацію метаболічних процесів у сечовій, серцево-судинній та нервовій системі

Перспективи досліджень. Визначити економічну від застосування *Bacillus pumilus* на великій кількості поголів'я дійних корів на виробництві для профілактики кетозу.

References

Brunner, N., Groeger, S., Canelas Raposo, J., Bruckmaier, R. M., & Gross, J. J. (2018). Prevalence of subclinical ketosis and production diseases in dairy cows in Central and South America, Africa, Asia, Australia, New Zealand, and Eastern Europe. *Translational animal science*, 3(1), 84–92. <https://doi.org/10.1093/tas/txy102>.

Doković, R., Ilić, Z., Kurćubić, V., Petrović, M., Cincović, M., Petrović, M. P., & Caro-Petrović, V. (2019). Diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 35(2), 111-125.

Guliński, P. (2021). Ketone bodies - causes and effects of their increased presence in cows' body fluids: A review. *Veterinary world*. 14(6), 1492–1503. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1492-1503>

Lee, J. E., Lin, T., Kang, J. W., Shin, H. Y., Lee, J. B., & Jin, D. I. (2018). 2-DE and MALDI-TOF MS-based identification of bovine whey proteins in milk collected soon after parturition. *Korean Journal of Agricultural Science*, 45(4), 635-643.

Levchenko, V.I., Vlizlo, V.V., Kondrakhin, I.P., Holovakha, V.I., Morozenko, D.V., Sakhnyuk, V.V., Slivins'ka, L.H., Chumachenko, V.V., Tsvilikhovs'kyu, M.I., Bezukh, V.M., Bohatko, L.M., Vovkotrub, N.V., Mel'nyk A.Yu., Moskalenko, V.P., Piddubnyak, O.V., Suslova, N.I., Tyshkivskyu, M.Ya., Ulyz'ko, S.I., Shchurevych, H.O. (2017). *Klinichna diahnostryka vnutrishnikh khvorob tvaryn*. Bila Tserkva, 544. [in Ukrainian].

Li, C., Dai, S., Lu, J., Zhao, B., Wang, J., Li, P., Wu, Z., Mu, Y., Feng, C., & Dong, Q. (2018). Methylglyoxal: A newly detected and potentially harmful metabolite in the blood of ketotic dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(9), 8513–8523. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14448>.

Marczuk, J., Brodzki, P., Brodzki, A., & Kurek, Ł. (2018). The concentration of free amino acids in blood serum of dairy cows with primary ketosis. *Polish journal of veterinary sciences*, 21(1), 149–156. <https://doi.org/10.24425/119033>.

McArt, J., 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>

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>

Rutherford, A.J., Oikonomou, G., & Smith, R.F. (2016). The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 99(6), 4808–4815. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10154>

Steenefeld, W., Amuta, P., van Soest, F., Jorritsma, R., & Hogeveen, H. (2020). Estimating the combined costs of clinical and subclinical ketosis in dairy cows. *PloS one*, 15(4), e0230448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230448>

Sun, H.Z., Shi, K., Wu, X.H., Xue, M.Y., Wei, Z.H., Liu, J.X., & Liu, H.Y. (2017). Lactation-related metabolic mechanism investigated based on mammary gland metabolomics and 4 biofluids' metabolomics relationships in dairy cows. *BMC genomics*, 18(1), 1-14.

Suthar, V.S., Canelas-Raposo, J., Deniz, A., & Heuwieser, W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of dairy science*, 96(5), 2925–2938. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6035>

Tsuchiya, Y., Kawahara, N., Kim, Y. H., Ichijo, T., & Sato, S. (2020). Changes in oxidative stress parameters in healthy and diseased Holstein cows during the transition period in Yamagata Prefecture, Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 82(7), 955–961. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0024>.

Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratuch, I.B. et al. (2012). Laboratorni metodu doslidshennj y biologii, tvarunnuctvi i veterunarniu meducuni. Lviv. SPOLOM. 2. 764. [in Ukrainian].

Wang, Y., Gao, Y., Xia, C., Zhang, H., Qian, W., & Cao, Y. (2016). Pathway analysis of plasma different metabolites for dairy cow ketosis. *Italian Journal of Animal Science*, 15(3), 545-551.