DOI: 10.22616/lbtuthesis/2024.004

Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte

Veterinārmedicīnas fakultāte

Klīniskais institūts

**Ivars Lūsis**

**promocijas darbs**

# SOMATISKO ŠŪNU SKAITA DINAMIKAS KOMPLEKSĀ IZVĒRTĒŠANA MASTĪTA DIAGNOSTIKĀ GOVJU ROBOTIZĒTĀ SLAUKŠANĀ UN TRANSFERENCEI DERĪGU EMBRIJU IEGUVĒ

# *COMPLEX ASSESSMENT OF THE SOMATIC CELL COUNT DYNAMICS IN MASTITIS DIAGNOSIS IN COWS` ROBOTIC MILKING AND IN THE PRODUCTION OF TRANSFERABLE EMBRYOS*

zinātnes doktora grāda

***zinātnes doktors (Ph.D.) Veterinārmedicīnas zinātnē***

iegūšanai

Promocijas darba vadītāja
Profesore *emeritus*, Dr. med. vet. **Vita Antāne** _____/V.Antāne/

Promocijas darba autors _____/I.Lūsis/

Jelgava
2024

**Promocijas darbs izstrādāts:**

Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes (LBTU) Veterinārmedicīnas fakultātes Klīniskajā institūtā;

Trijos Dobeles, Valmieras un Saldus novada slaucamo govju ganāmpulkos ar automātisko slaukšanas sistēmu (AMS) jeb govju slaukšanas robotiem;

Aizkraukles, Dobeles, Dienvidkurzemes, Jēkabpils, Madonas, Ogres, Talsu, Tukuma, Saldus, Siguldas, Valmieras, Ventspils novados 15 saimniecībās ar ģenētiskā resursa dzīvniekiem transferencei derīgu embriju iegūšanai;

Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā "'BIOR";

SIA "Centrālā laboratorija";

SIA "Piensaimnieku laboratorija".

**Promocijas darba zinātniskā vadītāja:**

LBTU profesore *emeritus,* vadošā pētniece *Dr. med. vet.* **Vita Antāne**

**Oficiālie recenzenti:**

*Dr. med. vet.* **Aija Ilgaža**, LBTU Preklīniskā institūta direktore, profesore, vadošā pētniece

*Dr. med.* **Modra Murovska,** Latvijas Zinātņu akadēmijas īstenā locekle, Rīgas Stradiņa universitātes Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta asociētā profesore, vadošā pētniece

*Dr. agr.* **Diāna Ruska**, LBTU Dzīvnieku zinātņu institūta direktore, asociētā profesore, vadošā pētniece

Promocijas darbs izstrādāts ar sekojošu projektu atbalstu:

- Latvijas Zinātnes padomes grants "Inovatīvu pasākumu izstrāde produktīvo dzīvnieku slimību profilaksei, ārstēšanai un produktivitātes kāpināšanai". LZP tēmas Nr. 09.1528 (09.1447), apakštēma "Pētījumi par govju tesmeņa veselību un piena kvalitāti pielietojot slaukšanas robotu tehnoloģiju" (2009 - 2012);
- Eiropas Reģionālās attīstības fonda projekts BioReproLV "Govju ģenētisko resursu saglabāšana Latvijā pielietojot embriju transferenci un ar to saistītās biotehnoloģijas". ERAF projekts Nr. 1.1.1.1/16/A/025 (2017 - 2020), (RF17);
- Eiropas Sociālā fonda projekts "LLU pāreja uz jauno doktorantūras finansēšanas modeli". ESF projekts Nr. 8.2.2.0/20/I/001 (2021-2023), (ES32).

# ANOTĀCIJA

Kopš 2007. gada Latvijā arvien vairāk slaucamo govju ganāmpulkos pielieto slaukšanas robotus. Līdz šim laikam nav plaši zināmi pētījumi par govs tesmeņa veselību raksturojošiem rādītājiem, kas saistīti ar subklīnisku intramammāru infekciju (IMI) govs tesmenī un kas iegūti ar slaukšanas robotā iebūvētu dažādu sensoru palīdzību. Kompleksā izvērtēšana un sensoru uztverto rādītāju interpretācija salīdzinājumā ar somatisko šūnu skaitu (SŠS) un mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā var precīzāk konstatēt dzīvniekus, kuriem nepieciešama klīniska izmeklēšana un ārstēšana. Subklīniska IMI un augsts SŠS ietekmē govs reproduktīvos rādītājus. Jautājums par SŠS izvērtēšanu govīm pirms izvēles par embriju donoriem ir maz pētīts, bet aktuāls govju šķirņu ģenētisko resursu saglabāšanas programmās Latvijā, kur šķirnes prasībām atbilstošo govju skaits ir ierobežots.

**Aizstāvamās tēzes.** (1) Piena kvalitātes noteikšanas sensori, kas uzstādīti slaukšanas robotos un ir paredzēti govs tesmeņa veselības izmaiņu konstatēšanai, bieži parāda savstarpēji pretrunīgus vērtējumus un tādēļ rezultātu interpretācijai ir nepieciešami uzlabojumi; (2) Mastīta ierosinātāju noteikšana tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma pienā vienlaicīgi ar SŠS mērīšanu precīzi nodrošina subklīniska mastīta diagnostiku un ir atskaites robeža piena elektrovadāmības sensoru pielietojuma efektivitātes vērtēšanā; (3) Atkārtoti SŠS mērījumi katrā govs slaukšanas reizē, precīzāk raksturo piena dziedzerī iekļuvuša mastīta ierosinātāja klātbūtnes pastāvīgumu; (4) Mastīta diagnostikas un piena kvalitātes vērtēšanas parametrs SŠS var tikt pielietots kā govs auglības potenciāla indikators un embriju donorgovju atlases kritērijs.

**Promocijas darbā izvirzītā hipotēze:** Somatisko šūnu skaits ir ne vien mastīta diagnostikas un piena kvalitātes vērtēšanas parametrs, bet arī slaucamo govju tesmeņa aizsardzības un govs reprodukcijas spēju netiešs indikators, kura dinamikas izvērtēšanas aktualitāte pieaug, automatizējot piena ražošanas tehnoloģiskos risinājumus.

**Promocijas darba mērķis:** izvērtēt slaukšanas robotu sensoru reģistrēto govs tesmeņa veselības rādītāju efektivitāti somatisko šūnu skaita (SŠS) individuālās dinamikas raksturošanai, lai atklātu subklīnisku mastītu, kā arī izpētīt SŠS rādītāju eventuālo nozīmi embriju donoru atlasē.

**Mērķa sasniegšanai izvirzīti sekojoši uzdevumi:**

1. izpētīt majorpatogēno un minorpatogēno mastīta ierosinātāju epizodiskas un nepārtrauktas klātbūtnes ietekmi piena dziedzerī uz SŠS paaugstināšanos govs pienā subklīniskas intramammārās infekcijas gadījumos;
2. novērtēt slaukšanas robota tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC, kas darbojas pēc fluoroptiskā principa, precizitāti, lai atpazītu ražošanas apstākļos govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, un analizēt OCC rezultātu mainību vairākās secīgās govs slaukšanas reizēs;
3. novērtēt govju robotizētās slaukšanas sistēmās pielietotā mastīta noteikšanas indeksa MDi vispārējo efektivitāti, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ un mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā, kā arī salīdzināt MDi robežvērtības neatbilstošas kvalitātes piena automātiskai novirzīšanai;
4. novērtēt slaukšanas robotā integrēta SŠS noteikšanas sensora MQC-C2, kas darbojas pēc viskozitātes principa, mērījumu precizitāti un vispārējo diagnostisko sakritību ar laboratorijas instrumentālo metodi, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ ražošanas apstākļos;
5. izvērtēt *corpus luteum* skaitu pēc multiplās ovulācijas, kopējo iegūto embriju skaitu un transferencei derīgo embriju skaitu atkarībā no SŠS donorgovs pienā, kā arī vērtēt SŠS rādītāja pielietojumu donoru atlasē.

Pētījums organizēts trīs blokos. **Pirmais bloks B1** (1.-3. darba uzdevums) - trīs gadu atkārtojumos (n=45; 2009.–2011. gads) divās saimniecībās, kurās pielieto govju robotizētu slaukšanu, komplektētas salīdzināmās govju grupas. Gadījumu grupa (n=21) veidota no govīm ar tesmeņa veselības trauksmes brīdinājumu, bet kontroles grupa (n=24) – no govīm bez tesmeņa veselības traucējumu brīdinājuma. Katru gadu, atkarībā no saimniecībā uzstādītā slaukšanas robota modeļa un komplektācijas, uzkrāti un analizēti tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC dati, mastīta noteikšanas indeksa MDi dati, veikta tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma sastāva vērtēšana (tauki, olbaltumvielas, laktoze, somatisko šūnu skaits) un sākuma slaukuma piena paraugu bakterioloģiska testēšana uz mastīta ierosinātāja klātbūtni, ierosinātāja veidu un daudzumu. Saimniecībā S1 (Vidzemes reģions) slaukšanas robots aprīkots ar tiešsaistes somatisko šūnu skaitītāju (OCC – *online cell counter*), kas ļauj katrai govij, katrā slaukšanas reizē izmērīt piena SŠS govs tesmeņa līmenī. Saimniecībā S2 (Zemgales reģions) lieto divas automātiskās slaukšanas stacijas, kurās nav uzstādīts OCC. **Otrais bloks B2** (4.darba uzdevums) Saimniecībā S3 (Kurzemes reģions) komplektēta slaukšanas robotā slaucamu govju grupa (n=111; 2018.gads) un izvērtēta somatisko šūnu skaita mērīšanas sensora MQC-C2, kas darbojas pēc viskozitātes principa, iegūto govs tesmeņa līmeņa SŠS datu diagnostiskā sakritība ar SŠS govju pienā tā paša mēneša piena pārraudzības analīžu rādītājos, kas iegūti piena paraugus testējot ar laboratorijas instrumentālo metodi. **Trešais bloks B3.** (5.darba uzdevums) – ģenētisko resursu saglabāšanai izvēlētajām embriju donorgovīm (n=30; 2017-2019.gads) veikta ietekmējošo faktoru, tostarp, somatisko šūnu skaita kompleksa izvērtēšana un noskaidrota ietekme uz multiplo ovulāciju, embriju skaitu, transferencei derīgo embriju skaitu un kvalitāti.

**Pētījumā konstatētais.** Vidējais SŠS govs tesmeņa ceturkšņa pienā ir atkarīgs no subklīniskas intramammārās infekcijas veida – majorpatogēns (MaP) vai minorpatogēns (MiP) mastīta ierosinātājs, un klātbūtnes pastāvīguma – epizodiska vai ilgstoša klātbūtne: MaP palielina piena SŠS gan epizodiskas, gan ilgstošas klātbūtnes gadījumā, bet MiP – tikai ilgstošas klātbūtnes gadījumā. Slaukšanas robota tiešsaistes šūnu skaitītājs OCC kā efektīva diagnostikas palīgierīce precīzi atpazīst govis, kurām ar laboratorijas instrumentālo metodi konstatē SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ piena, un ir noderīgs signāls par govju tesmeņa veselības stāvokli. Slaukšanas robota datorprogrammā individuālai govij reģistrētās Mastīta noteikšanas indeksa MDi vērtības tikai daļēji atspoguļo SŠS dinamiku, tāpēc MDi nevar aizstāt SŠS tiešo un netiešo mērījumu ierīces robotā. Izmantojot MDi vērtības kā kritēriju neatbilstošas kvalitātes piena automātiskai novirzīšanai no kopējās piena plūsmas, robežvērtība MDi ≥ 2 nodrošina SŠS kontroli, lai ganāmpulka koppienā SŠS nepārsniegtu 300 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. MDi izmantošana mastīta ierosinātāju izsekošanai govīm slaukšanas robotā uzrāda epizodisku majorpatogēno mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā, bet nepietiekošā mērā atklāj majorpatogēno ierosinātāju ilgstošu klātbūtni pienā. Slaukšanas robotā mērot SŠS pēc viskozitātes principa ar sensoru MQC-C2, vidējais SŠS rādītājs no vairākām secīgām slaukšanas reizēm uzrāda labāku sakritību ar laboratorijas instrumentālo metodi nekā vienā atsevišķā slaukšanas reizē izmērīts SŠS. Pētījuma rezultāti apstiprina, ka donorgovju piena augsts SŠS vienu mēnesi pirms multiplās ovulācijas inducēšanas neietekmē *corpus luteum* skaitu, bet samazina kopējo embriju un transferencei derīgo embriju ieguvi. Pētījums parāda to, ka SŠS nav tikai piena kvalitātes parametrs, bet arī govs veselības un reprodukcijas spēju netiešs indikators, kuram īpaši pieaug loma piena ražošanas tehnoloģiskajos risinājumos cilvēka klātbūtni aizstājot ar automatizētiem risinājumiem.

Promocijas darbs noformēts uz 85 lappusēm ar 19 tabulām un 16 attēliem.

Promocijas darbs izkārtots astoņās nodaļās: ievads, literatūras apskats, materiāls un metodes, pētījuma rezultāti, diskusija, 7 secinājumi, 3 ieteikumi praksei, izmantotās literatūras saraksts (137 literatūras avoti) un darbam pievienoti trīs pielikumi.

# ANNOTATION

Since 2007, more dairy farms have been utilizing milking robots in Latvia. However, there has been relatively limited research on the data from udder health sensors concerning subclinical intramammary infections (IMI) that affect cows in robotic milking systems. Properly assessing and interpreting udder health sensor data is crucial for monitoring IMI and improving udder health. Subclinical IMI and high somatic cell count (SCC) in milk can adversely impact the reproductive functions of cows. There is limited documentation on how udder health parameters, such as high SCC, affect multiple ovulation and embryo acquisition in local dairy cattle breeds at risk in Latvia, where the number of cows is limited.

**The theses to be defended are as follows:** (1) Milk quality detection sensors installed in milking robots, designed to detect changes in the health of a cow's udder, often show contradictory assessments and therefore require improvements in the interpretation of the results. (2) Detecting mastitis pathogens in the foremilk from the cow`s udder quarters, concurrently with measuring SCC, guarantees precise diagnosis of subclinical mastitis and serves as the benchmark for evaluating the effectiveness of using milk electroconductivity-based sensors. (3) Repeatedly measuring the SCC during each milking session provides a clearer understanding of the persistent presence of mastitis pathogens in the mammary gland. (4) Mastitis diagnostics and the milk quality evaluation parameter of SCC might serve as indicators of a cow's fertility potential and as criteria for selecting embryo donor cows.

**The hypothesis proposed in the thesis** is that somatic cell count (SCC) serves not only as a parameter for mastitis diagnostics and milk quality evaluation but also as an indicative measure of udder defense and reproductive capacity in dairy cows. The assessment of SCC dynamics is increasingly significant with the automation of technical solutions in milk production.

**The study aimed** to examine how well the recorded cow udder health indicators from milking robot sensors could characterize the dynamics of SCC for detecting subclinical mastitis, as well as to explore the possible role of SCC in selecting embryo donors.

**The following objectives have been set to achieve the goal:**

1. Examine how the episodic and continuous presence of both major and minor mastitis pathogens in the mammary gland impacts the rise in SCC in cases of subclinical intramammary infection.
2. Assess the accuracy of the fluoroptic online cell counter (OCC), integrated into the milking robot, to identify cows with SCC > 200 000 cells $mL^{-1}$ in real-world conditions on the dairy farm, and analyze the consistency of OCC results across multiple milking sessions.
3. Evaluate the overall effectiveness of the mastitis detection index (MDi), used in bovine robotic milking systems, to identify cows with SCC > 200 000 cells $mL^{-1}$ and mastitis pathogens in milk, and compare MDi threshold values for the automatic diversion of sub-quality milk.
4. Evaluate the precision of measurements obtained from the viscosity-based SCC sensor MQC-C2, which is integrated into the milking robot, and assess its diagnostic agreement with the laboratory instrumental method in identifying cows with SCC > 200 000 cells $mL^{-1}$ under practical conditions.
5. Evaluate the number of *corpus luteum* after multiple ovulation, the total number of embryos obtained, and the number of transferable embryos depending on the SCC in the donor`s milk, as well as evaluate the use of the SCC results in donor selection.

The study has been divided into three blocks. In the **first block** (B1 - objectives 1, 2, and 3), data collection spanned three years (2009-2011) with a total of 45 cows involved. Comparable groups of cows were assembled on two dairy farms equipped with robotic milking systems. One group, consisting of 21 cows, experienced udder health alarms registered by sensors in the milking robot (case group), while the second group, comprising 24 cows, did not trigger any udder health alarm (control group). Each year, data from the online cell counter OCC, data of the Mastitis Detection index MDi, evaluation of quarter foremilk composition (fat, protein, lactose, and SCC), and bacteriological testing of quarter foremilk samples for the mastitis pathogens were accumulated and analyzed. In the **second block (**B2 - objective 4), a complete group of dairy cows (n = 111; 2018) in a robotic milking system was studied. A diagnostic comparison was conducted on the SCC measurement results obtained by the viscosity-based on-farm SCC sensor installed in the milking robot, and these results were compared with those obtained using the laboratory instrumental method. In the **third block** (B3 - objective 5), an analysis was carried out on SCC as a part of a complex of factors affecting multiple ovulation, and the number and quality of embryos in donor cows (n = 30; 2017-2020) from three genetic resource breeds at risk in Latvia.

**The findings of the study** reveal several important insights**.** The mean somatic cell count (SCC) in a cow's udder quarter foremilk is dependent on the group of subclinical intramammary infection (major pathogens (MaP) or minor pathogens (MiP)) and the continuity of pathogen presence (episodic or continuous). MaP increases milk SCC both from episodic and continuous presence, whereas MIP increases only from continuous presence. The online cell counter (OCC) of the milking robot accurately identifies cows with milk somatic cell count SCC > 200 000 cells $mL^{-1}$ as detected by the laboratory instrumental method. This makes OCC a valuable source of information for assessing udder health in cows. The mastitis detection index (MDi) recorded in the milking robot`s computer program for an individual cow only partially reflects the dynamics of the SCC. Therefore, MDi cannot replace direct and indirect somatic cell counting devices in milking robots. However, using MDi values as a criterion for automatically diverting abnormal milk from the total milk stream helps control of SCC in bulk tank milk, ensuring it does not exceed 300 000 cells $mL^{-1}$. MDi usage in robotic milking systems for tracking mastitis pathogens in a cow`s mammary glands reveals the presence of episodic major mastitis pathogens in milk. However, detecting the continuous presence of major pathogens in milk requires further validation. Measurements of SCC in the milking robot using the viscosity-based sensor MQC-C2 benefit from combining data from several successive milking times. This averaging process leads to higher diagnostic agreement with the laboratory instrumental method compared to measuring SCC in a single milking session. The study confirms that a high SCC of donor cows one month before inducing multiple ovulation does not affect the number of *corpus luteum* but reduces the total number of embryos and the number of transferable embryos. Overall, the study suggests that SCC is not only a parameter of milk quality, but also an indirect indicator of cow health and reproductive abilities. This role is becoming increasingly important in automated technological solutions for milk production, where human presence is being replaced.

The Doctoral thesis work is summarized in 85 pages, including 19 Tables and 16 Figures.

It comprises eight chapters: introduction, literature review, material and methods, study results, discussion, seven conclusions, three recommendations, list of literature used (137 literature sources), and three annexes.

SATURA RĀDĪTĀJS

ANOTĀCIJA ..... 3
ANNOTATION ..... 5
Darbā iekļauto tabulu saraksts ..... 9
Darbā iekļauto attēlu saraksts ..... 10
Darbā lietotie saīsinājumi ..... 11
IEVADS ..... 13
Pētījuma zinātniskā novitāte ..... 14
Zinātniskās publikācijas un tēzes ..... 15
Pētījuma rezultātu aprobācija ..... 16
1. LITERATŪRAS APSKATS ..... 17
1.1. Somatisko šūnu skaits (SŠS) un tā dinamika ..... 17
1.1.1. Vispārēja nostāja par SŠS nozīmi govs tesmeņa veselības izvērtēšanā ..... 17
1.1.2. SŠS vērtēšanas nozīme govju robotizētā slaukšanā ..... 17
1.1.3. Analīzes metodes SŠS noteikšanai pienā ..... 18
1.1.4. Mastīta ierosinātāji un SŠS pienā subklīniska iekaisuma gadījumos ..... 18
1.2. SŠS vērtēšanas tehniskie risinājumi slaukšanas robotos ..... 21
1.2.1. Tiešsaistes šūnu skaitītājs OCC ..... 21
1.2.2. Viskozitātes sensors MQC-C2 ..... 22
1.3. Piena elektrovadītspējas mērījumi un MDi ..... 23
1.4. SŠS un mastīta ietekme uz reproduktīvo orgānu sistēmu un govs auglību ..... 24
Literatūras apskata kopsavilkums ..... 26
2. MATERIĀLI UN METODES ..... 29
2.1. Materiāla raksturojums ..... 29
Pētījuma pirmais bloks, B1 ..... 29
Pētījuma otrais bloks, B2 ..... 31
Pētījuma trešais bloks, B3 ..... 32
2.2. Pētījumā izmantoto metožu apraksts ..... 33
2.2.1. Tesmeņa ceturkšņu piena paraugu iegūšana (B1) ..... 33
2.2.2. Mastīta ierosinātāju noteikšana (B1) ..... 33
2.2.3. Tesmeņa ceturkšņu piena sastāva noteikšana (B1) ..... 35
2.2.4. Piena pārraudzības analīžu dati (B1, B2, B3) ..... 35
2.2.5. Slaukšanas robota sensoru reģistrēto datu iegūšana no ganāmpulka pārvaldības sistēmas (B1; B2) ..... 35
2.2.6. Govs vispārējā un speciālā izmeklēšana (B3) ..... 36
2.2.7. Asiņu bioķīmisko, hematoloģisko un hormonu rādītāju noteikšana (B3) ..... 36
2.2.8. Multiplās ovulācijas inducēšana, embriju ieguve un novērtēšana (B3) ..... 36
2.3. Govs SŠS individuālās dinamikas tipa noteikšana (B1) ..... 37
2.4. Datu statistiskā apstrāde ..... 39
2.5. Pētījuma gaitas apraksts ..... 41
3. PĒTĪJUMA REZULTĀTI ..... 43
3.1. Piena SŠS atkarībā no ierosinātāja klātbūtnes un MDi ..... 43
3.2. Tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC efektivitāte ..... 50
3.3. Mastīta noteikšanas indeksa MDi efektivitāte ..... 53
3.4. MDi robežvērtība nekvalitatīva piena novadīšanai ..... 56
3.5. SŠS sensora MQC-C2 efektivitāte ..... 57
3.6. Transferencei derīgu embriju ieguve atkarībā no donorgovju piena SŠS ..... 61
4. DISKUSIJA ..... 66
4.1. Piena SŠS atkarībā no mastīta ierosinātāja tesmeņa ceturkšņu pienā ..... 66

4.2. Tiešsaistes šūnu skaitītāja pielietojums ganāmpulkā ar slaukšanas robotu ..... 67
4.3. Mastīta noteikšanas indeksa pielietojums govju piena SŠS kontrolei un nekvalitatīva piena novirzīšanai ..... 68
4.4. Mastīta noteikšanas indekss intramammāras infekcijas kontrolei ..... 68
4.5. Piena sensora MQC-C2 pielietojums govju piena SŠS kontrolei ..... 69
4.6. Piena SŠS kā viens no embriju donoru atlases kritērijiem ..... 70
Diskusijas kopsavilkums ..... 72
SECINĀJUMI ..... 73
IETEIKUMI PRAKSEI ..... 74
IZMANTOTĀ LITERATŪRA ..... 75
PATEICĪBAS ..... 86
PIELIKUMI ..... 88
1. pielikums Dažādu ar *corpus luteum* skaitu (nCL), embriju skaitu (nE) un transferencei derīgo embriju skaitu (nTE) potenciāli saistīto veselības rādītāju sākotnējais izvērtējums[1] ..... 89
2. pielikums. Pētījumā iekļauto govju SŠS individuālās dinamikas grafiskais attēlojums ..... 92
3. pielikums. Tiešsaistes šūnu skaitītāja (OCC) darbības procesa plūsmas diagramma ..... 96

**Darbā iekļauto tabulu saraksts**

1.1. tabula. Pārskats par tiešām un netiešām SŠS noteikšanas metodēm ..... 19

2.1. tabula. Gadījumu un kontroles grupu sastāvs atkarībā no govs laktāciju skaita un dienu skaita kopš atnešanās ..... 30

2.2. tabula. Gadījumu un kontroles grupu govju ražības rādītāji, vidējais (SE)..... 31

2.3. tabula. Donorgovis raksturojoši rādītāji, vidējais (SE) ..... 32

2.4. tabula. Mastīta ierosinātāju grupas un to klātbūtnes apstiprinājuma interpretācija govs tesmeņa ceturkšņa līmenī ..... 34

2.5. tabula. Četri somatisko šūnu skaita individuālās dinamikas tipi un to vērtēšanas kritēriji ..... 38

2.6. tabula. Pētījuma izpildes gaita pa gadiem atbilstoši darba uzdevumiem, materiāla iegūšanai un rezultātu publicēšanai ..... 42

3.1. tabula. Majorpatogēno (MaP) un minorpatogēno (MiP) mastīta ierosinātāju sastopamība tesmeņa ceturkšņu pienā gadījumu un kontroles grupu govīm divās izmeklēšanas reizēs ..... 43

3.2. tabula. Majorpatogēno (MaP) un minorpatogēno (MiP) mastīta ierosinātāju izvietojums govju tesmeņa ceturkšņos ..... 44

3.3. tabula. Mastīta ierosinātāju izvietojums pa tesmeņa ceturkšņiem kā viena vai vairāku patogēnu klātbūtne..... 46

3.4. tabula. Mastīta ierosinātāja parādīšanās otrajā piena paraugu ņemšanas reizē salīdzinot ar pirmo reizi un IMI statusa izmaiņas..... 47

3.5. tabula. Mastīta ierosinātāja ilgstoša klātbūtne tesmeņa ceturkšņos atkarībā no govs IMI statusa ..... 48

3.6. tabula. Sākotnējā faktoru izvērtēšana un to ietekme uz jauna MiP parādīšanos pienā no tesmeņa ceturkšņiem (n=164) otrajā paraugu ņemšanas reizē salīdzinot ar pirmo reizi..... 49

3.7. tabula. Jaunu minorpatogēno mastīta ierosinātāju parādīšanās tesmeņa ceturkšņu pienā (n=164) atkarībā no SCS, laktācijas ilguma un to mijiedarbības..... 49

3.8. tabula. Piena elektrovadītspēja govīm pētījuma grupās ..... 55

3.9. tabula. Viskozitātes metodes pielietojums, lai atlasītu govis ar augstu somatisko šūnu skaitu ..... 59

3.10. tabula. Donorgovju (n=27) veselības rādītāju asociācija ar *corpus luteum* skaitu pēc multiplās ovulācijas (MO) inducēšanas ..... 62

3.11. tabula. Donorgovju (n=26) veselības rādītāju asociācija ar kopējo embriju skaitu (nE) pēc MO indukcijas pielietojuma..... 63

3.12. tabula. Donorgovju (n=23) veselības rādītāju asociācija ar transferencei derīgo embriju skaitu (nTE) ... 64

**Darbā iekļauto attēlu saraksts**

1.1. att. Tiešsaistes šūnu skaitītāja (OCC) uzbūves shematisks attēlojums ... 22

3.1. att. Vidējais aritmētiskais SCS govs tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma pienā atkarībā no ierosinātāju klātbūtnes ... 45

3.2. att. Jaunu minorpatogēnu mastīta ierosinātāju parādīšanās pienā aprēķinātā varbūtība otrajā parauga ņemšanas reizē, atkarībā no tesmeņa ceturkšņa SCS govīm standarta un pagarinātās laktācijas laikā ... 50

3.3. att. Somatisko šūnu skaita salīdzinājums, mērot ar tiešsaistes šūnu skaitītāju OCC un laboratorijas instrumentālo metodi ... 51

3.4. att. Govs SŠS individuālās dinamikas tips atkarībā no slaukšanas robota aprēķinātās MDi vērtības saimniecībā S1 ... 52

3.5. att. Piena pārraudzības mēneša somatisko šūnu skaits govīm atkarībā no SŠS individuālās dinamikas tipa ... 52

3.6. att. Mastīta ierosinātāji tesmeņa ceturkšņu pienā atkarībā no govs SŠS individuālās dinamikas tipa ... 53

3.7. att. Mastīta noteikšanas indeksa dinamika trīs nedēļu laikā gadījumu un kontroles grupas govīm ... 54

3.8. att. Laika intervāli starp slaukšanas reizēm pētījuma grupu govīm ... 55

3.9. att. Gadījumu grupas govs MDi un somatisko šūnu skaits (SŠS) ... 56

3.10. att. Kontroles grupas govs MDi un somatisko šūnu skaits (SŠS) ... 57

3.11. att. Govs SŠS rezultātu salīdzinājums, mērot ar viskozitātes metodi (MQC-C2 sensoru) un ar laboratorijas instrumentālo metodi vienā slaukšanas reizē ... 58

3.12. att. Blanda-Altmana diagramma: augšējā un apakšējā robeža viskozitātes metodes rezultāta sakritībai (90%) ar laboratorijas instrumentālās metodes rezultātu ... 60

3.13. att. Lina konkordances koeficients viskozitātes metodes rezultāta un laboratorijas instrumentālās metodes rezultātu savstarpējās atbilstības jeb korelācijas raksturošanai ... 61

3.14. att. Kopējā embriju skaita prognoze atkarībā no somatisko šūnu skaita donorgovs pienā ... 63

3.15. att. Transferencei derīgu embriju skaita prognoze atkarībā no somatisko šūnu skaita donorgovs pienā ... 65

## Darbā lietotie saīsinājumi

| **Saīsinājums / *abbreviations*** | **Skaidrojums latviski / *in Latvian*** | **Skaidrojums angliski / *in English*** |
|---|---|---|
| AMS | Automātiskā slaukšanas sistēma | *Automatic milking system* |
| ALT | Alanīna aminotransferāze | *Alanin-aminotransferase* |
| ALP | Sārmainā fosfatāze | *Alkaline phosphatase* |
| AST | Aspartāta aminotransferāze | *Aspartat-aminotransferase* |
| BCS | Ķermeņa kondīcijas vērtējums | *Body condition score* |
| BHB | Beta-hidroksibutirāts | *Beta-hydroxybutyrate* |
| CHOL | Holesterols | *Cholesterol* |
| CI 95% | 95% ticamības intervāls | *95% confidence interval* |
| CL | Dzeltenais ķermenis | *Yellow body (lat. corpus luteum)* |
| CMT | Kalifornijas mastīta tests | *California mastitis test* |
| CREA | Kreatinīns | *Creatinine* |
| Cry | Korinebaktērijas | *Corynebacterium spp.* |
| DNS | Dezoksiribonukleīnskābe | *Dezoxyribonucleic acid* |
| DS | Dānijas Sarkanā | *Danish Red* |
| DSCC | Diferencētais somatisko šūnu skaits | *Differential somatic cell count* |
| E2 | Estradiols-17β | *Estradiole-17β* |
| eCG | Ķēvju horiona gonadotropins | *Equine chorion gonadotropine* |
| EF | Embriju izskalošana | *Embryo flushing* |
| Eo | Eozinofīlie leikocīti | *Eosonophil leucocytes* |
| EPS | Eskulīna pozitīvi streptokoki. | *Esculin positive streptococci* |
| ET | Embriju transference | *Embryo transfer* |
| G | Gadījumu grupa | *Case group* |
| GGT | Gamma glutamil-transferāze | *Gamma-glutamiltransferase* |
| ICC | Klašu iekšējās korelācijas koeficienta | *Intra-class correlation coefficient* |
| IFN | Interferons | *Interferon* |
| IMI | Intramammāra infekcija | *Intramammary infection* |
| IQR | Kvartīļu attiecība | *Inter-quartile range* |
| K | Kontroles grupa | *Control group* |
| KNS | Koagulāzes negatīvi stafilokoki | *Coagulase-negative staphylococci* |
| KPS | Koagulāzes pozitīvi stafilokoki | *Coagulase positive staphylococci* |
| KVV | Koloniju veidojošas vienības | *Colony forming units* |
| LDH | Laktāta dehidrogenāze | *Lactate dehydrogenase* |
| LH | Luteinizējošais hormons | *Luteinizing hormone* |
| LPS | Lipopolisaharīdi | *Lipopolysacharides* |
| LB | Latvijas Brūnā | *Latvian Brown* |
| LZ | Latvijas Zilā | *Latvian Blue* |

| **Saīsinājums / *abbreviations*** | **Skaidrojums latviski / *in Latvian*** | **Skaidrojums angliski / *in English*** |
|---|---|---|
| MA | Mākslīgā apsēklošana | *Artificial insemination* |
| MaP | Majorpatogēns mastīta ierosinātājs | *Major udder pathogen* |
| MiP | Minorpatogēns mastīta ierosinātājs | *Minor udder pathogen* |
| MDi | Mastīta noteikšanas indekss | *Mastitis detection index* |
| MNBR | Daudzfaktoru negatīvā binomiālā regresija | *Multiple negative binomial regression* |
| Mo | Monocīti | *Monocytes* |
| MO | Multiplā ovulācija | *Multiple ovulation* |
| MQC-C2 | Piena kvalitātes kontroles – šūnu skaitīšanas sensors 2 | *Milk quality control – cell count sensor 2* |
| NBR | Negatīvā binomiālā regresija | *Negative binomial regression* |
| $Na^+$ | Nātrija jons | *Sodium ion* |
| nCL | *Corpus luteum* skaits | *The number of corpus luteum* |
| nE | Kopējais embriju skaits | *The total number of embryos* |
| nTE | Transferencei derīgu embriju skaits | *The number of transferable embryos* |
| OCC | Tiešsaistes šūnu skaitītājs | *Online cell counter* |
| OR | Krusteniskā attiecība | *Odds ratio* |
| pFSH | Cūku folikulstimulējošais hormons | *Porcine follicle-stimulating hormone* |
| pLH | Cūku luteinizējošais hormons | *Porcine luteinizing hormone* |
| P4 | Progesterons | *Progesterone* |
| PGF2α | Prostaglandīns $F_{2\alpha}$ | *Prostaglandin $F_{2\alpha}$* |
| SCS | Somatisko šūnu skaita vērtējums | *Somatic cell score* |
| SD | Standartnovirze | *Standard deviation* |
| SE | Standartkļūda | *Standard error* |
| SŠS | Somatisko šūnu skaits | *Somatic cell count* |
| TNFα | Audzēju nekrozes faktors α | *Tumor necrosis factor α* |
| TP | Seruma olbaltumvielas | *Serum total protein* |
| TRG | Triglicerīdi | *Triglycerides* |
| T šūna | T limfocīts | *T lymphocyte* |
| tūkst. | tūkstotis | *thousand* |
| VMS | Brīvpieejas slaukšanas sistēma | *Voluntary milking system* |

# IEVADS

Kopš 2007. gada, kad Latvijas Biozinātņu un Tehnoloģiju universitātes (agrākais nosaukums – Latvijas Lauksaimniecības universitāte) mācību un pētījumu saimniecībā Vecauce ieviestas Latvijā pirmās automātiskās slaukšanas sistēmas (AMS), robotizēta slaukšanas tehnoloģija ir ieviesta arī daudzās citās piena ražošanas saimniecībās. Slaukšanas robots jeb AMS ļauj ne tikai izpildīt tradicionālas cilvēka veiktas darbības, īstenojot principu "cilvēka aizstāšana ar tehniku", bet arī paver plašākas iespējas govju veselības diagnostikā, izslaukuma un piena kvalitātes kontrolē. Ir izstrādātas dažādas tiešsaistes sensoru sistēmas, lai pārbaudītu atsevišķu govju piena vai atsevišķu tesmeņu ceturkšņu piena atbilstību vēlamajiem kritērijiem (Kawasaki, Kawamura et al., 2008; Meilina, Kuroki et al., 2009). Piena sensori slaukšanas robotā ir paredzēti, lai katrā slaukšanas reizē nosacīti aizstātu piena vizuālo pārbaudi, kas ir svarīgs slaucēja darba uzdevums, lai savlaicīgi konstatētu piena krāsas un konsistences izmaiņas, kas parādās klīniskā mastīta vai tesmeņa traumas gadījumos. Sensoru mērījumu dati tiek apstrādāti un no tiem ganāmpulka pārvaldības sistēmā aprēķina mastīta noteikšanas indeksu MDi, kas uzrāda govis ar tesmeņa veselības vai piena sastāva izmaiņu problēmu. MDi var izmantot kā šķirošanas kritēriju neatbilstošas kvalitātes piena automātiskai novirzīšanai no koppiena plūsmas uzreiz slaukšanas laikā (Hovinen, Aisla et al., 2006; Hovinen & Pyörälä, 2011). Trauksmes ziņojums atzīmē, ka konkrētai govij būtu jāpievērš vairāk uzmanības, tā jāpārbauda ar klasiskām diagnostikas metodēm – klīniskā izmeklēšana, citoloģiskā un bakterioloģiskā izpētē, lai izlemtu, vai ir nepieciešams uzsākt govs ārstēšanu. Saskaņā ar pētījumos balstītiem ieteikumiem slaukšanas robotu ražotāji visā pasaulē ievieš parametru tiešo mērījumu sensorus vai no tiešo mērījumu vērtībām atvasinātus indeksus, piemēram, mastīta noteikšanas indekss MDi (DeLaval, Zviedrija), kas ļauj izšķirt iespējamās problēmgovis ar piena dziedzera infekciju, iekaisumu un piena sastāva izmaiņām jeb neatbilstošas kvalitātes piena sekrēciju. Šobrīd daudziem AMS modeļiem ir iespēja tikt aprīkotiem ar somatisko šūnu skaitīšanas sistēmu, kas piedāvā jaunas iespējas mastīta diagnostikā. Tādēļ ir vajadzīga informācija par jauno metožu mērīšanas precizitāti, kā arī praktiskās piemērošanas principiem un iespējamiem ieguvumiem piena kvalitātes un dzīvnieku veselības uzlabošanā. Noskaidrojot slaukšanas robotā iebūvētā tiešsaistes šūnu skaitītāja (OCC, DeLaval) un netiešā šūnu skaitītāja (MQC-C2, Lely) efektivitāti, būtu iespējams ātrāk atklāt problemātiskos dzīvniekus turpmākai ganāmpulka veselības pārvaldībai un veterinārajām darbībām. AMS iebūvēto SŠS noteikšanas ierīču lietošanas efektivitāti nosaka gan tas, cik precīzi to mērījumu rezultāti atbilst analīzēm, kas veiktas ar laboratorijas instrumentālo metodi, gan tas, vai mērījumu precizitāte ļauj objektīvi raksturot somatisko šūnu skaita dinamiku slaukšanas reizēs, gan arī cik slaukšanas reizēs veikti mērījumi droši liecina par govs tesmeņa veselības statusa izmaiņām. Izvērtējot SŠS dinamiku plašākā, kompleksā skatījumā, tam var atrast pielietojumu ne tik vien piena dziedzera darbības traucējumu un piena kvalitātes vērtēšanā, bet visa govs organisma funkciju raksturošanā, jo iekaisums tesmenī iespaido arī govs reproduktīvo sistēmu.

Uzsākot pētījumu, izvirzījām sekojošas **aizstāvamās tēzes**:

1. piena kvalitātes noteikšanas sensori, kas uzstādīti slaukšanas robotos un ir paredzēti govs tesmeņa veselības izmaiņu konstatēšanai, bieži parāda savstarpēji pretrunīgus vērtējumus un tādēļ rezultātu interpretācijai ir nepieciešami uzlabojumi;
2. mastīta ierosinātāju noteikšana tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma pienā vienlaicīgi ar SŠS mērīšanu precīzi nodrošina subklīniska mastīta diagnostiku un ir atskaites robeža piena elektrovadāmības sensoru pielietojuma efektivitātes vērtēšanā;
3. atkārtoti SŠS mērījumi katrā govs slaukšanas reizē, precīzāk raksturo piena dziedzerī iekļuvuša mastīta ierosinātāja klātbūtnes pastāvīgumu;

4. mastīta diagnostikas un piena kvalitātes vērtēšanas parametrs SŠS var tikt pielietots kā govs auglības potenciāla indikators un embriju donorgovju atlases kritērijs.

**Hipotēze.** Somatisko šūnu skaits ir ne vien mastīta diagnostikas un piena kvalitātes vērtēšanas parametrs, bet arī slaucamo govju tesmeņa imunitātes un reprodukcijas spēju indikators, kura dinamikas izvērtēšanas aktualitāte pieaug, automatizējot piena ražošanas tehnoloģiskos risinājumus.

**Promocijas darba mērķis** bija izvērtēt slaukšanas robotu sensoru reģistrēto govs tesmeņa veselības rādītāju efektivitāti somatisko šūnu skaita (SŠS) individuālās dinamikas raksturošanai, lai atklātu subklīnisku mastītu, kā arī izpētīt SŠS rādītāju eventuālo nozīmi embriju donoru atlasē.

**Mērķa sasniegšanai izvirzīti sekojoši uzdevumi:**

1. izpētīt majorpatogēno un minorpatogēno mastīta ierosinātāju epizodiskas un nepārtrauktas klātbūtnes ietekmi piena dziedzerī uz SŠS paaugstināšanos govs pienā subklīniskas intramammārās infekcijas gadījumos;
2. novērtēt slaukšanas robota tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC, kas darbojas pēc fluoroptiskā principa, precizitāti, lai atpazītu ražošanas apstākļos govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, un analizēt OCC rezultātu mainību vairākās secīgās govs slaukšanas reizēs;
3. novērtēt govju robotizētās slaukšanas sistēmās pielietotā mastīta noteikšanas indeksa MDi vispārējo efektivitāti, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ un mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā, kā arī salīdzināt MDi robežvērtības neatbilstošas kvalitātes piena automātiskai novirzīšanai;
4. novērtēt slaukšanas robotā integrēta SŠS noteikšanas sensora MQC-C2, kas darbojas pēc viskozitātes principa, mērījumu precizitāti un vispārējo diagnostisko sakritību ar laboratorijas instrumentālo metodi, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ ražošanas apstākļos;
5. izvērtēt *corpus luteum* skaitu pēc multiplās ovulācijas, kopējo iegūto embriju skaitu un transferencei derīgo embriju skaitu atkarībā no SŠS donorgovs pienā, kā arī vērtēt SŠS rādītāja pielietojumu donoru atlasē.

## Pētījuma zinātniskā novitāte

1. Izstrādāts un pārbaudīts somatisko šūnu skaita individuālās dinamikas iedalījums četros tipos, kas atspoguļo mastīta ierosinātāju iespējamo klātbūtni govs pienā.
2. Pētījuma rezultātā noskaidrota vairāku slaukšanas robotos pielietoto piena kvalitātes sensoru spēja atpazīt slaukšanas procesā govis ar paaugstinātu somatisko šūnu skaitu pienā virs 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Izmantojot reālus govju izslaukuma datus modelētas mastīta noteikšanas indeksa MDi ieteicamās robežvērtības kvalitātes prasībām neatbilstoša piena novadīšanai.
3. Apstiprināta mastīta noteikšanas indeksa MDi būtiska paaugstināšanās uz majorpatogēno ierosinātāju epizodisku klātbūtni pienā un norādīts uz tā nepietiekamu paaugstināšanos majorpatogēno ierosinātāju ilgstošas klātbūtnes gadījumos.
4. Ar multiplās regresijas metodi izvērtēti faktori, tai skaitā, somatisko šūnu skaits govs pienā, kas ietekmē transferencei derīgu embriju ieguvi no Latvijas Zilās, Latvijas Brūnās un Dānijas Sarkanās šķirnes donorgovīm un izstrādātas rekomendācijas efektīvākai embriju donoru atlasei un procesa organizēšanai.

**Zinātniskās publikācijas un tēzes**

Publikācijas **žurnālos**, kas indeksēti Scopus un/vai Web of Science datu bāzēs:

1. **Lusis, I.**, Antane, V., Waldmann, A. (2023). Indirect sensing of subclinical intramammary infections in dairy herds with a milking robot. *Sensors, Vol.23(22), article number 9036.* https://doi.org/10.3390/s23229036
2. **Lusis, I.**, Antane, V., Waldmann, A., Sematovica, I., Ponomarjova, O., Ringa-Osleja, G., Skuja, S., Mangale, M., Kanska, I., & Lidaks, M. (2021). Factors Influencing Embryo Quantity and Quality in Donor Cows from Latvian Blue, Latvian Brown, and Danish Red Breeds at Risk in Latvia. *Livestock Science*, *254*(October), 104739. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104739
3. Antane, V., **Lusis[1], I.**, Sematovica, I., Waldmann, A., Kanska, I., Mangale, M., Ringa-Osleja, G., & Lidaks, M. (2021). Factors influencing multiple ovulation in dairy cows from Latvian brown, Latvian blue, and Danish red breeds at risk in Latvia. *Livestock Science*, *243(June)*, 104379. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104379

Publikācijas un tēzes **konferenču rakstu krājumos**, kas indeksēti Scopus un/vai Web of Science datu bāzēs:

4. **Lusis, I.**, Laurs, A., & Antane, V. (2019). Viscosity method in robotic milking system for detection of somatic cell count in milk. *Engineering for Rural Development*, *4*, 324–329. https://doi.org/10.22616/ERDev2019.18.N095
5. **Lusis, I.**, Antane, V., & Laurs, A. (2017). Effectiveness of mastitis detection index for cow monitoring and abnormal milk detection in milking robots. *Engineering for Rural Development*, 16, 1383–1387. https://doi.org/10.22616/ERDev2017.16.N314
6. **Lusis, I.**, Antane, V., & Laurs, A. (2010). Effectiveness of somatic cell count determination in the milking robots. *Engineering for Rural Development - International Scientific Conference*, 112–116.
7. **Lusis, I.,** Antane, V., Sematovica, I., Waldmann, A., Ponomarjova, O., Ringa-Ošleja, G., Skuja, S., Mangale, M., Kanska, I., & Līdaks, M. (2023) Influencing factors on the multiple ovulation and embryo acquisition in local cow breeds. *Reproduction in Domestic Animals.- Vol.58(S2), pp. 223-224.* https://doi.org/10.1111/rda.14442

Publikācijas un tēzes citos **konferenču ziņojumu izdevumos**:

8. **Lūsis, I.**, Antāne, V., Šematoviča, I., Waldmann, A., Ponomarjova, O., Ringa-Ošleja, G., Skuja, S., Mangale, M., Kanska, I., & Līdaks, M. (2022). Atsevišķu faktoru ietekme uz multiplo ovulāciju un embriju ieguvi LZ, LB un DS šķirnes donorgovīm. In: *Konferences "Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes" raksti, Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte, Veterinārmedicīnas fakultāte - Jelgava, 2022. - 4.-5.lpp.*
9. **Lusis, I.**, Antane, V., & Laurs, A. (2014). Detection of possible mastitic cows by using milking system with on-line somatic cell counter. In: Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas Higiēna: Konferences "Veterinārmedicīnas Zinātnes un Prakses Aktualitātes - 2014" Raksti, Jelgava – LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, p.105.

[1] Korespondējošais autors

10. **Lusis, I.** (2012). Antimicrobial resistance of the mastitis pathogens in dairy cows. In: *Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna: konferences "Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes" raksti*, Jelgava - LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, (pp. 88–91).
11. **Lusis, I.**, Antane, V., & Laurs, A. (2010). Significance and application of the online cell counter in the milking robot. In: S. Agenas, G. Hallberg, E. Kylberg, K. Persson Waller, & B. Strom Holst (Eds.), *Lactation research in mammals and humans: The mammary gland in health and disease*, Uppsala (p. 38).
12. **Lusis, I.**, Antane, V., & Laurs, A. (2010). Subclinical intramammary infections of cows on the dairy farm with milking robot. In G. Opsomer (Ed.), *Book of proceedings: 14th International conference on production diseases in farm animals (ICPD)*, (pp. 87–88).
13. **Lusis, I.**, Kocina, I., Antane, V., & Jemeljanovs, L. (2007). Changes in immunological parameters and lactose in cows with increased somatic cell count in milk. In: R. Bage, N. Fedosova, P. K., & M. Stakheeva (Eds.), *Animal farming in transition - the role of animal reproduction: Mastitis symposium*, StPetersburg Veterinary Academy, (p. 18).

## Pētījuma rezultātu aprobācija

Ziņojumi starptautiskās zinātniskās konferencēs:

1. **Lūsis I.**, Antāne V., Šematoviča I., Waldmann A., Ponomarjova O., |Ringa-Ošleja G., Skuja S. Mangale M., Kanska I., Līdaks M. Influencing factors on the multiple ovulation and embryo accquisition in local cow breeds. First European Symposium on Animal Reproduction: Nante, Francija, 21.-23. septembris, 2023 / Nantes Convention Center. Stenda referāts.
2. **Lūsis I.**, Antāne V., Laurs A. Viscosity method in robotic milking system for detection of somatic cell count in milk. *18th International scientific conference* "*Engineering for Rural Development"*: Jelgava, 2019. gada 22.-24. maijs / Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Tehniskā fakultāte. Jelgava. Prezentēšana mutiski.
3. **Lūsis I.**, Antāne V., Laurs A. Effectiveness of mastitis detection index for cow monitoring and abnormal milk detection in milking robots. 16*th International scientific conference* "*Engineering for Rural Development"*: Jelgava, 2017. gada 24.-26. maijs / Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Tehniskā fakultāte. Latvijas Lauksaimniecības un meža zinātņu akadēmija. Jelgava. Prezentēšana mutiski.
4. **Lūsis I.**, Antāne V., Laurs A. Detection of possible mastitic cows by using milking system with on-line somatic cell counter. *Konference "Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes - 2014"*: Jelgava, 2014.gada 27.-28. novembris / Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Veterinārmedicīnas fakultāte. Jelgava. Stenda referāts.
5. **Lūsis I.**, Antāne V., Laurs A. Significance and application of the online cell counter in the milking robot. *Lactation research in mammals and humans: the mammary gland in health and disease with particular focus on the mammary gland close post partum including indicators of inflammation and pathogens of the mammary gland*: Upsala, Zviedrija, 2010. gada 7.-8. decembris / Uppsala University, Uppsala. Stenda referāts.
6. **Lūsis I.**, Antāne V., Laurs A. Effectiveness of somatic cell count determination in the milking robots. *9th International scientific conference* "*Engineering for Rural Development"*: Jelgava, 2010. gada 27.-28. maijs / Latvijas Lauksaimniecības universitāte. Tehniskā fakultāte. Jelgava. Prezentēšana mutiski.
7. **Lūsis I.**, Antāne V., Laurs A. Subclinical intramammary infections of cows on the dairy farm with milking robot. *14th International conference on production diseases in farm animals (ICPD*): Gente, Beļģija, 2010. gada 20.-24. jūnijs / Ghent University, Ghent, 2010. Stenda referāts.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. Somatisko šūnu skaits (SŠS) un tā dinamika

### 1.1.1. Vispārēja nostāja par SŠS nozīmi govs tesmeņa veselības izvērtēšanā

Somatisko šūnu skaits (SŠS) pienā, kas darbojas kā organisma aizsardzība pret infekcijas izraisītāju, ir visbiežāk izmantotais indikators subklīniska mastīta noteikšanai (Kehrli & Shuster, 1994). Somatiskās šūnas sastāv no nolobītajām piena dziedzeru epitēlija šūnām un leikocītiem (granulocītiem, limfocītiem un makrofāgiem), kas piena dziedzerī ieceļo no asinsrites sistēmas un ko parasti izsauc piena dziedzerī iekļuvušās baktērijas vai to toksīni. Govis ar SŠS augstāku par 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, pat bez kādām papildus klīniskajām pazīmēm, tiek uzskatīts par subklīniska mastīta skartajām (Lukas, Hawkins et al., 2005). Parasti, lai piena ražošanas ganāmpulkā uzraudzītu un kontrolētu subklīnisku mastītu, ko izraisa intramammāra infekcija (IMI), laboratoriskai pārbaudei uz mastīta ierosinātāja klātbūtni pienā tiek atlasītas govis ar augstu SŠS pienā. Kā subklīniska mastīta noteikšanas robeža, pēc kuras vadoties veterinārajā praksē govju populāciju var nosacīti dalīt divās daļās – (1) govis ar zemu subklīniska mastīta iespējamību un (2) govis ar iespējamu subklīnisku mastītu, ir atzīta SŠS robežvērtība 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ (Meilina, Kuroki et al., 2009; Rowe, Godden et al., 2020; Ruegg & Reinemann, 2002; Schukken, Wilson et al., 2003). Tomēr nav viennozīmīga skaidrojuma jautājumā par tik vienkāršotu SŠS datu interpretāciju, cik lielā mērā var paļauties uz pieņēmumu, ka paaugstināts SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ govs tesmeņa koppienā ir liecība par bakteriālas infekcijas klātbūtni kādā no tesmeņa ceturkšņiem (Ebrahimie, Ebrahimi et al., 2018a; Meilina, Kuroki et al., 2009; Schukken, Wilson et al., 2003). Gluži tāpat nav pamata uzskatīt, ka visām govīm, kurām tesmeņa koppiena SŠS < 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, piena dziedzeri ir brīvi no IMI. Vairāki autori savos pētījumos ir konstatējuši, ka atsevišķām govīm laikā, kad to tesmeņa koppiena SŠS ≤ 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, reizēm konstatē *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis,* koagulāzes negatīvo stafilokoku klātbūtni pienā (Nyman, Emanuelson et al., 2016; Nyman, Persson-Waller et al., 2016) vai stafilokoku un korinebaktēriju izdalīšanos ar pienu (Dahlberg, Williams et al., 2020). Atkarībā no tā, cik augstu SŠS izvēlas par nosacīto robežu IMI skartu govju konstatēšanai jeb to atšķiršanai no IMI brīvām govīm, svārstās diagnostisko vērtējumu operatīvā precizitāte jeb diagnostiskā jutība un specifiskums. Izvēloties robežvērtību tesmeņa koppiena SŠS interpretācijai, kas ir zemāka nekā 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, ir paredzams, ka palielināsies kļūdaini pozitīvo vērtējumu skaits un palielināsies iespējamība, ka govs piens bez IMI nelietderīgi tiks nozīmēts uz bakterioloģisku testēšanu (Kamphuis, Dela Rue et al., 2013; Sargeant, Leslie et al., 2001). Rezumējot par govs koppiena SŠS, var atzīmēt, ka šis rādītājs nevar būt pietiekami jutīgs IMI sastopamības izsekošanai slaucamo govju grupā. Sevišķi tad, ja paralēli neveic nekādas pārbaudes vai atkārtotus mērījumus govs SŠS individuālās dinamikas pārbaudei.

### 1.1.2. SŠS vērtēšanas nozīme govju robotizētā slaukšanā

Piens ar augstu SŠS liecina par govs tesmeņa veselības problēmām, kas var būt klīniskas vai subklīniskas. Izteiktas izmaiņas pienā - recekļu klātbūtne, krāsas izmaiņas, neraksturīga konsistence un temperatūras paaugstināšanās, ko slaukšanas sistēmā reģistrējuši attiecīgi sensori, ir pamats trauksmei par klīnisku mastītu, kas prasa nekavējošu rīcību - izslauktā piena novirzīšanu no koppiena un dzīvnieka pakļaušanu diagnostikai un ārstēšanai. Tomēr SŠS mērīšanai govs slaukšanas procesa ietvaros ir definētas vēl divas papildus funkcijas, pirmkārt, uzkrāt govs veselības datus, lai sekotu subklīnisku mastītu sastopamībai ganāmpulkā un nodrošinātu zemu SŠS ganāmpulka koppienā, otrkārt, lai laktācijas noslēgumā pieņemtu

argumentētu lēmumu par to kāds cietlaišanas veids - ar antibiotikām vai bez antibiotikām, govij ir atbilstošāks (Kamphuis, Dela Rue et al., 2013).

Piena pārraudzības dienā mērīts SŠS ir visizplatītākais tradicionālais risinājums subklīnisku mastītu uzraudzībai piensaimniecības nozarē visā pasaulē (Ebrahimie, Ebrahimi et al., 2018b). Parasti SŠS dati par visām govīm pārraudzības ietvaros ir pieejami tikai vienu reizi mēnesī attiecīgajā testēšanas dienā. Papildus šo datu interpretācijai, iesaka veikt piena bakterioloģisku izmeklēšanu uz mastīta ierosinātāju klātbūtni. Īpaši tādos gadījumos, kad govij ar zemu SŠS < 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ iepriekšējos mēnešos novēro kāpumu divos turpmākajos mēnešos uz SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Īpaši, ja piena somatisko šūnu diferenciālajā ainā konstatējams augsts agranulocītu un limfocītu īpatsvars, ko iespējams noteikt ar patenta aizsargātu Foss DSCC metodi, izmantojot šūnu diferenciālās krāsošanas metodi un šūnu plūsmas citometru (Damm, Holm et al., 2017; Gussmann, Kirkeby et al., 2020). Lai precīzāk un savlaicīgāk varētu noteikt subklīnisku mastītu, SŠS individuāla mērīšana govīm būtu veicama biežāk nekā tikai vienu reizi mēnesī (Ebrahimie, Ebrahimi et al., 2018b; Lusis, Antane et al., 2010). Daži autori uzsver, ka, ņemot vērā subklīniska mastīta un IMI uzturēšanos tesmenī, piena ražotāji nedrīkst paļauties tikai uz vienas testēšanas dienas SŠS datiem, jo šis rādītājs daudzām govīm svārstās gan pa slaukšanas reizēm, gan pa dienām (Quist, LeBlanc et al., 2008). Arī ārstēšanas gadījumā labāki rezultāti ir sasniedzami tām govīm, kurām pirms saslimšanas, respektīvi, ārstēšanās sākuma ir bijis zemāks somatisko šūnu skaits pienā, vai zemāks agranulocītu un limfocītu īpatsvars piena somatisko šūnu kopainā (Gussmann, Kirkeby et al., 2020). Daži slaukšanas roboti ir aprīkoti ar speciāliem sensoriem, lai novērtētu SŠS tesmeņa veselības kontroles un pārvaldības vajadzībām katrā govs slaukšanas reizē (Fadul-Pacheco, Lacroix et al., 2018).

### 1.1.3. Analīzes metodes SŠS noteikšanai pienā

Somatisko šūnu skaita mērīšanu pienā var veikt gan pēc tiešā, gan netiešā principa (1.1. tabula). Tiešās metodes, skaitot šūnas kā atsevišķas mikrodaļiņas, precizitātes dēļ lielākoties tiek izmantotas piena laboratorijās kā instrumentālās metodes. Tomēr jau daudzus gadus tiešās metodes ir adaptētas inovatīvās ierīcēs - portatīvos somatisko šūnu skaitītājos vai slaukšanas sistēmu speciālos moduļos, kas signalizē par govīm ar augstu SŠS pienā (Lusis, Antane et al., 2010). Netiešās metodes, lai noteiktu augstu SŠS, pamatojas uz viskoza gela veidošanos maisījumā, ko iegūst, sajaucot pienu ar specifiska reaģenta porciju. Gela viskozitāti ir iespējams vērtēt vizuāli, piemēram, Kalifornijas mastīta tests (CMT), ko plaši pielieto praksē, lai aptuveni spriestu par SŠS pienā govs tesmeņa ceturkšņu līmenī, tomēr precīzāks rezultāts ir sasniedzams, ja gela viskozitāti izmēra ar instrumentālu metodi jeb attiecīgu sensoru (1.1. tabula).

Tā kā piena dziedzera iekaisuma gadījumos SŠS pienā pieaug neitrofilo leikocītu skaita palielināšanās dēļ, arvien vairāk pētījumu tiek veikti par somatisko šūnu skaita diferenciālo noteikšanu (Damm, Holm et al., 2017; Schwarz, Diesterbeck et al., 2011; Toft, Halasa et al., 2019; Wall, Wellnitz et al., 2018).

### 1.1.4. Mastīta ierosinātāji un SŠS pienā subklīniska iekaisuma gadījumos

Precīzāka pieeja savlaicīgai IMI konstatēšanai ir SŠS kontrole nevis visa govs tesmeņa, bet atsevišķu tesmeņa ceturkšņu līmenī. Ierasts risinājums pārbaudei uz mastīta ierosinātāju ir ceturkšņu piena paraugu, kas iegūti slaukšanas sākumā, testēšana uz mastīta ierosinātāju klātbūtni, ko reizēm papildina ar SŠS noteikšanu katram ceturksnim. Zinātniskos pētījumos pat iesaka veikt atkārtotu paraugu noņemšanu un pieturēties pie, t.s., "zelta standarta", ar ko apstiprina konkrētu IMI kādā tesmeņa ceturksnī. Ik pēc nedēļas iegūstot trīs piena paraugus no

katra ceturkšņa un testējot tos uz mastīta ierosinātāja klātbūtni, par pierādītu IMI var atzīt tikai tādu patogēnu, kas paraugu izmeklēšanā konstatēts vismaz divās no trijām reizēm (Leitner, Blum et al., 2020). Tomēr, trīs paraugu izmeklēšana salīdzinot ar vienu vai diviem paraugiem, daudzās situācijās var būt dārga, apgrūtinoša vai pat neiespējama (Dohoo, Andersen et al., 2011).

1.1. tabula. **Pārskats par tiešām un netiešām SŠS noteikšanas metodēm**

| Vērtēšanas princips | Metodes vai iekārtas nosaukums (gads) | Metodes pielietojums | Automa-tizācijas pakāpe | Atsauce |
|---|---|---|---|---|
| Tiešā, šūnu mikroskopija | Preskota un Brīda metode (1910) | Laboratoriskā references metode SŠS noteikšanā | zema | (Blackburn, 1958) |
| Netiešā, vizuāls gēla novērtējums | Vaitsaida tests (1939) | Vēsturiska metode | zema | (Astermark, Funke et al., 1969) |
| Netiešā, vizuāls gēla novērtējums | Kalifornijas mastīta tests (1957) | Vēsturiska metode; govs pārbaude uz subklīnisku mastītu | zema | (Blackburn, 1958) |
| Netiešā, viskozitātes mērījums ar magnēta pārvietošanu | Brabantera tests (1962) | Vēsturiska metode; koppiena pārbaude uz SŠS | vidēja | (Astermark, Funke et al., 1969) |
| Netiešā, viskozitātes mērījums kapilārā | MQC-C2 sensors (2005) | Slaukšanas robota sistēmā | augsta | (Mollenhorst, Tol et al., 2010; Whyte, Walmsley et al., 2005) |
| Tiešā, elektroniska daļiņu skaitīšana | Kultera skaitītājs (1956), | Laboratorijas instrumentālā metode | augsta | (Phipps & Newbould, 1966) |
| Tiešā, elektroniska iekrāsotu šūnu kodolu skaitīšana | Fluoro-opto-elektroniskā metode, Fossomatic skaitītājs (1977) | Laboratorijas instrumentālā metode | augsta | (Mochrie & Monroe, 1978) |
| Tiešā, diferenciālā šūnu skaitīšana | Šūnu plūsmas citometrija (1988) | Laboratorijas instrumentālā metode | augsta | (Redelman, Butler et al., 1988; Schwarz, Diesterbeck et al., 2011) |

Andersen et al. apraksta ekspertu grupas (*Mastitis Research Workers` Conference*, 2008) izstrādātus principus, saskaņā ar kuriem govs tesmeņa katram ceturksnim var dot IMI statusa novērtējumu atkarībā no mastīta ierosinātāju klātbūtnes pienā. Ņemot vērā to, ka ierosinātāja klātbūtne subklīniskos gadījumos var būt īslaicīga, kā arī ierosinātāja daudzums, kas izteikts koloniju veidojošās vienībās vienā mililitrā piena (KVV $mL^{-1}$), mazs, eksperti ir vienojušies par nosacītu "zelta standartu" ar diviem savstarpēji papildinošiem kritērijiem IMI pozitīva statusa definēšanai: (1) interesējošais mastīta ierosinātājs testa dienā ir izolējams pietiekami lielā daudzumā, t.i., ≥1000 KVV $mL^{-1}$, vai (2) interesējošais mastīta ierosinātājs tiek konstatēts jebkuros divos no piena paraugiem, kas iegūti no attiecīgā ceturkšņa secīgi ar vienu nedēļu gariem intervāliem (Andersen, Dohoo et al., 2010). Otrais princips apstiprina to, ka reāla IMI ir ilgstošs process un arī situācijā, kad ierosinātājs pienā konstatēts mazā daudzumā

<1000 KVV $mL^{-1}$, identiska ierosinātāja klātbūtne no tesmeņa ceturkšņa izslauktajā pienā pēc vienas vai divām nedēļām apstiprina IMI pozitīvo statusu. Līdzīgā veidā ar atkārtotu piena paraugu iegūšanu un negatīvu bakterioloģisko atradi iesaka pārliecināties par to, vai tesmeņa ceturksnis tiešām ir brīvs no IMI. Citi autori iesaka IMI brīva statusa apstiprināšanā pievienot vēl vienu kritēriju, proti, tesmeņa ceturkšņa piena SŠS < 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Ja SŠS ceturkšņa pienā ir augstāks, tesmeņa ceturksni vērtē par inficētu (IMI pozitīvu), kaut arī neviens mastīta ierosinātājs no piena nav izdalīts vispār vai nav izdalīts atbilstošā daudzumā (Merle, Schröder et al., 2007).

Praksē IMI statusa uzraudzība un izsekošana pēc nosacītā "zelta standarta" kritērijiem netiek plaši pielietota, jo ir nepieciešama atkārtota tesmeņa ceturkšņu piena paraugu iegūšana un testēšana. Gan parastajā slaukšanas sistēmā, gan AMS govs tiek slaukta vairākas reizes dienā, un tāpēc tesmeņa ceturkšņu IMI statusa noteikšanai ir nepieciešami ātri nosakāmi kritēriji. Veicot govju slaukšanu AMS, prasība pēc papildu kritērijiem ir pat lielāka, jo slaukšanas robota dizains nav tā veidots, lai fermas atbildīgais darbinieks varētu droši un bez speciālas govs fiksēšanas iegūt aseptiskus ceturkšņu piena paraugus nosūtīšanai uz bakterioloģisku izmeklēšanu laboratorijā (Penry, 2018). Tā ir būtiska atšķirība starp iespējām iegūt atbilstošu piena paraugu mastīta ierosinātāju testēšanai AMS, salīdzinot ar parasto slaukšanas sistēmu. Tāpēc visu laiku, kopš slaukšanas robotu pielietojuma pirmsākumiem, viens no būtiskiem jautājumiem ir bijis saistīts ar dažādām sensoru tehnoloģijām, to izstrādi, ieviešanu un testēšanu slaukšanas robotos, ar nolūku mērīt IMI klātbūtnes netiešus marķierus un piena kvalitāti (Martins, Martins et al., 2019). Lai fermerim un atbildīgajam personālām ziņotu par sensoru konstatētajām atkāpēm no normas un iespējamo IMI, ir svarīga gan sensoru darbības precizitāte, gan tesmeņa veselības trauksmes ziņojums ganāmpulka pārvaldības sistēmā. Vislabāk, ja trauksmes ziņojums ir atšķirīgs atkarībā no konstatēto pārmaiņu apjoma un ilguma, piemēram, SŠS, iespējamā mastīta ierosinātāja veida un IMI ilguma.

Tesmeņa veselības atšķirīgu (diferencētu) trauksmes ziņojumu veidošanai ir svarīga IMI grupēšana, kuras pamatā būtu IMI radīto ekonomisko zaudējumu nozīmīgums. Daudzi autori pētījumos par govju tesmeņa veselību, raksturojot IMI veidus, izmanto mastīta ierosinātāju apvienošanu divās grupās – majorpatogēnie ierosinātāji (MaP) un minorpatogēnie mastīta ierosinātāji (MiP) (Bexiga, Koskinen et al., 2011; Condas, De Buck et al., 2017; Dingwell, Leslie et al., 2003; Gonçalves, Tomazi et al., 2016; Østerås, Edge et al., 1999; Piepers, Opsomer et al., 2010; Piepers, Schukken et al., 2013; Pyörälä & Taponen, 2009; Rainard & Poutrel, 1988; Reyher, Dohoo et al., 2012; Schukken, Gonzalez et al., 2009; White, Schukken et al., 2001) Arī jaunākos pētījumos par AMS pielietojumu govju novietnēs Somijā mastīta ierosinātāji grupēti pēc šī principa (Taponen, Liski et al., 2017). Daži autori ir aprakstījuši vēl citas IMI grupas un apakšgrupas, piemēram, "tipiskie majorpatogēnie ierosinātāji", "pārējie majorpatogēnie ierosinātāji" (Rainard & Poutrel, 1988). Analizējot mastīta ierosinātāju spektru klīniska iekaisuma gadījumos, mēdz lietot mastīta ierosinātāju grupēšanu grampozitīvos un gramnegatīvos ierosinātājos (Oliveira, Hulland et al., 2013).

Tādi MaP, kā *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis* un koliformas, parasti ir iemesls spēcīgai iekaisuma reakcijai tesmeņa audos, kas negatīvi ietekmē turpmāko tesmeņa veselību un piena ražošanu un nereti rada arī klīnisku mastītu (White, Schukken et al., 2001). Savukārt lielākā daļa no MiP, piemēram, koagulāzes negatīvi stafilokoki (KNS) un *Corynebacterium bovis* biežāk ir cēlonis vieglākam iekaisuma procesam. Tomēr arī KNS infekcijas piena dziedzerī, ja tās ir ilgstošas, izraisa SŠS paaugstināšanos, piena kvalitātes pasliktināšanos un samazinātu izslaukumu (Pyörälä & Taponen, 2009; Schukken, Gonzalez et al., 2009; White, Schukken et al., 2001).

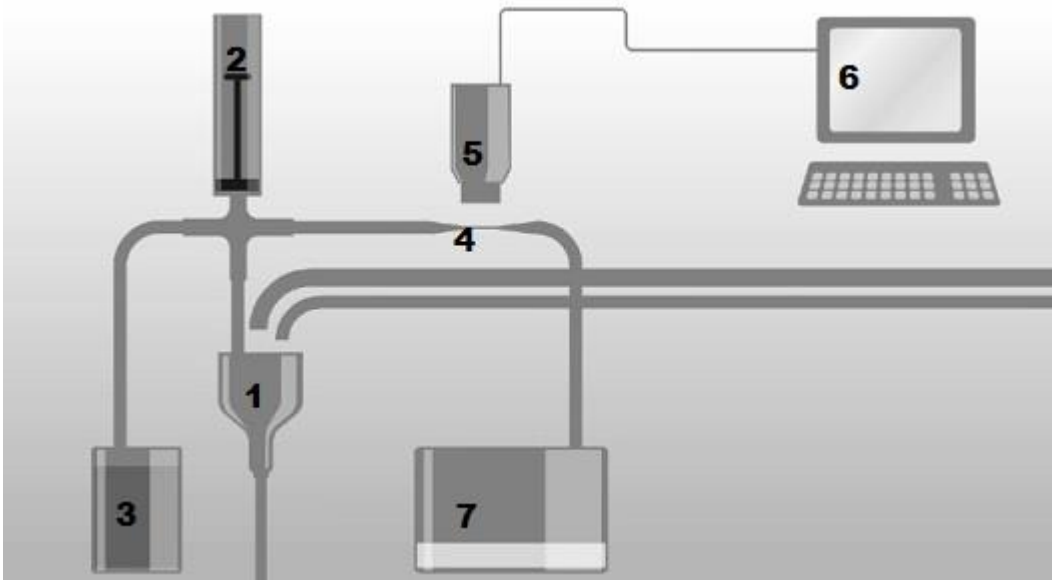
No veterinārā skatpunkta, jebkuru tesmeņa veselības sensoru un to signālu apstrādes rezultātā iegūtu tesmeņa trauksmes brīdinājumu loma ir nodrošināt objektīvu pamatojumu tālākai rīcībai, precizējot iespējamo IMI sākšanos govij ar precīzām diagnostikas metodēm. Gan

SŠS, gan piena elektrovadītspēja, gan arī MDi paaugstināšanās, turpmākai rīcībai, atkarībā no rādītāju izmaiņu lieluma, nosaka divas alternatīvas – nekavējoties uzsākt govs veselības pilnu klīnisko pārbaudi, tai skaitā, ceturkšņu piena paraugu iegūšanu bakterioloģiskai testēšanai laboratorijā, vai arī novērot govs stāvokli un sekot rādītāju izmaiņām līdz atkārtotai trauksmei nākamajā slaukšanas reizē. Sakarā ar to, ka SŠS var svārstīties un pēc tā paaugstināšanās atgriezties iepriekšējā līmenī laikā līdz nākamai slaukšanai, tūlītēja skartā ceturkšņa piena parauga bakterioloģiskā izmeklēšanas nepieciešamība nav pamatojama ar viena mērījuma rezultātiem (De Vliegher, Ohnstad et al., 2018). Govs veselība un turpmākais tās ražības potenciāls ir atkarīgs no dilemmas starp biežas bakterioloģiskās izmeklēšanas izmaksām (diagnostiska) un mastīta radītiem zaudējumiem, kas rodas no novēlotas un maz efektīvas mastīta ārstēšanas (terapija). Dažiem mastīta kā iekaisuma procesa parametriem ir raksturīgas dinamiskas fluktuācijas, un, ja nepastāv IMI, tie var atgriezties normālā līmenī bez cilvēku iejaukšanās (Lusis, Antane et al., 2010, 2017). Turpretī, ja mastīta ierosinātājs piena dziedzerī atrodams vēl pēc ārstēšanas atkārtoti, tad palielinās hroniskas subklīniskas infekcijas iespēja, kura var atsaukties arī uz govs auglības rādītājiem, kā arī tiek sekmēta pret antibiotikām rezistentu ierosinātāju veidošanās (Lavon, Ezra et al., 2011; Oliveira, Hulland et al., 2013; Wolfenson, Roth et al., 2019).

## 1.2. SŠS vērtēšanas tehniskie risinājumi slaukšanas robotos

### 1.2.1. Tiešsaistes šūnu skaitītājs OCC

Tiešsaistes šūnu skaitītājs (OCC), kas darbojas pēc fluoroptiskā principa, slaukšanas robotā (VMS, DeLaval) tiek uzstādīts kā papildus modulis, lai mērītu SŠS atsevišķas govs vienā slaukšanas reizē iegūtam pienam slaukšanas noslēgumā. OCC darbojas līdzīgi citām fluorescent-opto-elektroniskām šūnu tiešās skaitīšanas mērierīcēm (Brandt, Haeussermann et al., 2010; Gonzalo, Linage et al., 2006; Sorensen, Bjerring et al., 2016). SŠS izmaiņām individuālas govs pienā pastāv sakarība ar IMI sākšanos kādā no četriem govs piena dziedzeriem (Dohoo & Leslie, 1991). OCC ir integrēts slaukšanas stacijas korpusā, pievienots ar caurulēm piena izvadīšanas sistēmai un saslēgts ar slaukšanas robota datoru, kas veido vienu no moduļiem datorizētas ganāmpulka pārvaldības sistēmā. OCC sastāvā esošie elementi - piena piltuve, šļirce, kivete, CCD fotokamera - parādīti attēlā (**1.1**. att.). Vispirms piena piltuve uzkrāj slaukšanas laikā no govs iegūto pienu, pirms piens tiek pārsūknēts uz koppiena tvertni. Pēc tam šļircē sagatavo piena un krāsas šķīduma (propīdija jodīds kopā ar virsmas aktīvu palīgvielu) maisījumu, ko inkubē 20 sekundes, lai fluorecentā krāsviela piesaistītos pie šūnu kodolā esošā DNS. Tālāk iekrāsotais piens nonāk kivetes lodziņā, lai ar fotokameru iegūtu attēlu un nolasītu SŠS rezultātu, ko no slaukšanas robota datora pārsūta uz ganāmpulka apsaimniekošanas datorsistēmu.




1.1. att. **Tiešsaistes šūnu skaitītāja (OCC) uzbūves shematisks attēlojums**
1 – izslauktā piena piltuve; 2 – dozatora šļirce; 3 – krāsas šķīdums; 4 – kivete; 5 – skaitītāja digitālā kamera CCD; 6 – slaukšanas robota dators; 7 – šķidro atkritumu tvertne (Avots: DeLaval)

Lai sistēma varētu darbotos nepārtraukti, pirms nākamā piena parauga notiek OCC cauruļvadu, šļirces un kivetes skalošana, kā arī nulles līmeņa pārbaude jeb OCC pašpārbaude. Slaukšanas robota rokasgrāmatā OCC kalibrēšana nav aprakstīta. Pieprasījumu par OCC sistēmas aktivizēšanu konkrētās govs slaukšanas reizē var mainīt ganāmpulka apsaimniekošanas sistēmas operators. Arī jaunākie slaukšanas roboti tiek aprīkoti ar OCC, kura darbības princips nav mainījies (Martins, Martins et al., 2019). Somatisko šūnu skaitīšanas procesa secīgie posmi OCC ir attēloti blokshēmā darba pielikumā (3. pielikums).

### 1.2.2. Viskozitātes tipa sensors MQC-C2

Automātiskās slaukšanas sistēma Astronaut A4 ir aprīkota ar SŠS mērīšanas ierīci, kas darbojas pēc netiešā šūnu skaitīšanas principa. Gēla viskozitātes precīza novērtēšana ir automatizēta, un to izdara MQC-C2 sensors (angl. *Milk Quality Control Cell Counter 2*), kura darbības pamatā ir modificēta Kalifornijas mastīta testa reakcija un kurš integrēts Lely A4 slaukšanas robotos. MQC-C2 sensors mēra SŠS govs līmenī, un tā darbību raksturo pieci secīgi posmi (Lely, 2013): (1) noteiktu piena daudzumu (3.2 mL) sajauc ar reaģenta (Astro-cell, Lely) porciju (4.5 mL) (2) reaģents reaģē ar somatiskajām šūnām pienā un maina maisījuma viskozitāti (3) cauri maisījumam tiek pārvietots magnēts (4) viskozitāti nosaka pēc laika, kas nepieciešams, lai magnēts pārvietotos cauri maisījumam (5) attiecīgo somatisko šūnu skaitu, pēc regresijas vienādojuma aprēķina slaukšanas robota datorprogramma. Iekārtas dokumentācijā (Lely, 2007, 2013) tiek atzīmēts, ka šobrīd sensori ir ar tik augstu precizitāti, lai netiešās mērīšanas rezultātu, kas iegūts ar viskozitātes metodi, parādītu kvantitatīvi kā govs SŠS. Tomēr ir saprotams, ka viskozitātes SŠS skaitliskā vērtība nav iegūta tiešas skaitīšanas ceļā un par tā precizitāti vēl turpinās pētījumi. Mollenhorst et al. ir publicējis pētījuma rezultātus par somatisko šūnu skaita novērtēšanu ar viskozitātes metodi, izmantojot citu sensoru (MQC-C sensors, kas uzstādīts slaukšanas robotā Lely Astronaut A3), un secina, ka SŠS novērtējums tesmeņa ceturkšņu līmenī ir precīzāks par govs līmeņa novērtējumu (Mollenhorst, Hidayat et al., 2011). Pirms laika Fadul-Pacheco et al. ir veikuši apjomīgus pētījumus par piena sastāvdaļu (tauku %, olbaltumvielu %, laktozes%) un SŠS mērījumu precizitāti salīdzinājumā ar laboratorijas metožu rezultātiem desmit piena fermās ar automātiskām slaukšanas sistēmām

Lely Astronaut A4 un sensoriem MQC-C2 (Fadul-Pacheco, Lacroix et al., 2018). Savos secinājumos pētnieki norāda, ka ir nepieciešamas validācijas procedūras un vairākas robežvērtības atkarībā no dažādiem iespējamiem datu lietojumiem, piemēram, ganāmpulka veselības pārvaldība, govju ģenētiskā novērtēšana. Tesmeņa veselības vajadzībām, izmantojot govs līmeņa datus, govju populācijas sadalīšanai grupās ar zemu un augstu subklīniska mastīta iespējamību iesaka izmantot slieksni SŠS = 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ (Gonçalves, Kamphuis et al., 2018). Tāpēc arī šajā pētījumā ir pievērsta uzmanība SŠS rezultātu sakritības analīzei starp viskozitātes metodi un laboratorijas instrumentālo metodi, vadoties pēc šīs robežvērtības.

### 1.3. Piena elektrovadītspējas mērījumi un MDi

Mastīta atklāšana un neatbilstošas kvalitātes piena novirzīšana, lai nepieļautu tā nonākšanu realizējamā koppienā, ir vispārzināma nepieciešamība piena ražotājsaimniecībā, arī mūsdienīgās saimniecībās ar slaukšanas robotiem. Izmantojot slaukšanas robotus, cilvēki nekontrolē katra dzīvnieka veselību katrā slaukšanas reizē, tāpēc iekārtā iebūvētu sensoru tiešsaistes mērījumiem un dažādiem rādītājiem ir nozīmīga loma. Arī Latvijā pārstāvēti starptautiski uzņēmumi (DeLaval, GEA, Lely) savos piedāvātajos slaukšanas robotos piedāvā dažādas izslaukuma mērīšanas un piena kvalitātes kontroles sensoru tehnoloģijas. Katra atkāpe no iestatītajām, parasti arī maināmām un konkrētam ganāmpulkam adaptējamām kritēriju robežvērtībām ganāmpulka apsaimniekošanas sistēmā reģistrē notikumu, ko vēlāk apstiprina vai izdzēš. Cieša pozitīvā korelācija starp ceturkšņu sākuma slaukuma piena elektrovadītspēju un SŠS ir labi zināma jau sen (Pyörälä, 2003). Slaukšanas robotos piena elektrovadītspēju mēra tesmeņa ceturkšņu līmenī. Tāpat ceturkšņu līmenī mēra arī izslaukumu un asiņu klātbūtni pienā. Tomēr šo parametru vērtēšanā ir jāņem vērā, ka samazināta izslaukuma iemesli var būt ne tikai tesmeņa veselības traucējumi un mastīts, bet arī nepilnīga govs izslaukšana, slaukšanas aparāta piekaramās daļas nokrišana no govs tesmeņa slaukšanas procesa laikā.

Mazāk zināms govs tesmeņa veselības parametrs ir mastīta noteikšanas indekss MDi (DeLaval, Zviedrija), kas aprēķināts, ņemot vērā trīs parametrus, proti, piena elektrovadītspēju visos tesmeņa ceturkšņos, slaukšanas intervālu un asins klātbūtni ceturkšņu pienā. Kritērijs pamatots ar to, ka govīm sasniedzot MDi vienādu ar 1.4 vai augstākas vērtības pastāv augsta iespējamība, ka kādā no tesmeņa ceturkšņiem attīstās iekaisuma process, uz ko norāda konkrētā ceturkšņa piena augstāka elektrovadītspēja, (par >25% salīdzinājumā ar pārējo ceturkšņu vidējo vērtību), samazināts piena plūsmas ātrums, garāks intervāls starp slaukšanas reizēm vai neliela asiņu klātbūtne pienā, kā norādīts lietotāja rokasgrāmatā ("CowMonitoring in VMS", DeLaval International AB, Zviedrija) un citu autoru publikācijās (Khatun, Thomson et al., 2018; Perrotin, 2015). Arī jaunākajos slaukšanas robotos MDi noteikšanas sensoru darbības princips nav mainījies. Pētījuma veikšanas laikā literatūrā nebija aprakstīti pētījumi par MDi un vienīgais informācijas avots par šo svarīgo parametru bija AMS lietotāja rokasgrāmata. Literatūrā nebija atrodamas ziņas par to, kādā veidā un apmēros MDi robežvērtības vērtības neatbilstošas kvalitātes piena novadīšanai ietekmē piena SŠS. Bija minēts, ka MDi varētu būt robežās no 0.8 līdz 4.0, un, ja tas ir zem 1.4, varbūtība, ka govij laikā līdz nākamai slaukšanas reizei, varētu sākties tesmeņa veselības problēmas, uzskatāma par zemu. MDi vērtība virs 2.0 norāda, ka govij steidzami nepieciešama tūlītēja uzmanība, iespējams, veterinārā apskate un turpmākā rīcība (Perrotin, 2015). MDi robežvērtība slaukšanas robota datorā katrai govij var uzstādīt atsevišķi, tomēr pietrūka rekomendāciju par to kādiem apstākļiem pievērst uzmanību, izvēloties MDi robežvērtības. Sākotnējais teorētiskais koncepts (lietotāja instrukcija "govju uzraudzība VMS", DeLaval, 2009) bija tāds, ka MDi ir labs parametrs veselas govs monitoringam, kas strauji paaugstinās, attīstoties klīniskam mastītam. Tas nozīmēja, ka pirms klīniskā mastīta varētu iegūt brīdinājumu par tā veidošanos. Tomēr cik bieži ir situācijas, kad pieaugošam MDi mastīts neseko, nebija izpētīts un aprakstīts. Arī tas, vai MDi paaugstināšanās

notiek reizē ar mastīta ierosinātāju iekļūšanu un darbību piena dziedzerī, nebija zināms. Tāpēc bija nepieciešams izpētīt MDi nozīmi arī subklīniska mastīta diagnostikā un neatbilstošas kvalitātes piena atklāšanā.

Piena automātiska novirzīšana atkarībā no elektrovadītspējas un MDi ir viens no slaukšanas robotā iespējamiem tehniskajiem risinājumiem ganāmpulka koppiena kvalitātes uzlabošanai. Ievērojot to, ka govju robotizēta slaukšana notiek bez cilvēka tiešas iesaistes katrā slaukšanas reizē, ir jānodrošina tehniski risinājumi neatbilstošas kvalitātes piena konstatēšanai, pirms to pa cauruļvadiem aizvada uz ganāmpulka kopējā piena tvertni. Neatbilstošas kvalitātes piena šķirošanai AMS var mainīt novadīšanas sliekšņus, bet zinātniskajā literatūrā nav atrodamas detalizētas rekomendācijas par šādām elektrovadītspējas un MDi vērtībām.

### 1.4. SŠS un mastīta ietekme uz reproduktīvo orgānu sistēmu un govs auglību

Intramammāra infekcija un ar to saistītie toksīni govīm pasliktina vairākus reproduktīvus procesus, piemēram, ovocītu nobriešanu (Asaf, Leitner et al., 2014), ovulāciju, apaugļošanos un embriju attīstību (Soto, Natzke et al., 2003), *corpus luteum* pieaugšanu un izmaina hormonu koncentrācijas (Lavon, Ezra et al., 2011). Volfensons D. (2019) atzīmē, ka, lai gan subklīnisks mastīts ilgtermiņā ietekmē auglību, tā negatīvā ietekme uz dzīvnieka reprodukciju ir nepietiekoši izpētīta un maz dokumentēta (Wolfenson, Roth et al., 2019). Apkopojot literatūru par subklīniska mastīta ietekmi uz govju reprodukciju, par svarīgiem tiek atzīti pieci tematiskie virzieni: (1) epidemioloģiskie pētījumi par mastīta ietekmi uz auglību; (2) spontāna un eksperimentāli izraisīta mastīta, galvenokārt subklīniska, ietekme uz folikulu funkcijām - folikulu izdalītiem steroīdiem hormoniem un folikulu augšanas dinamiku, ovulācijas laiku; (3) mastīta ietekme uz ovocītu kvalitāti, embriju agrīno attīstību un to kvalitāti; (4) IMI ietekme uz luteālo funkciju; (5) subklīniska mastīta skartu govju auglības uzlabošanas risinājumi.

Slaucamo govju mastīts vai IMI ir plaši izplatīti, jo 20–40% govju ir inficētas ar baktērijām, kas, galvenokārt, izpaužas subklīniskā formā (Wolfenson, Roth et al., 2019). Ņemot vērā subklīniska mastīta plašu izplatību, kļūst skaidrs, kāpēc daudzi zinātniskie pētījumi par govju auglību, kā potenciāli nozīmīgu faktoru, izvērtē arī SŠS un apstiprina tā nozīmi, jo augsts SŠS samazina govs auglību. Ir daudzi ziņojumi par augsta SŠS saistību ar samazinātu slaucamo govju auglību (Moore, Overton et al., 2005; Pinedo, Melendez et al., 2009; Santos, Bottino et al., 2018; Santos, Cerri et al., 2004; Schrick, Hockett et al., 2001). Plašs pētījums, kurā salīdzināta informācija par 362 govīm (447 noslēgtas laktācijas), parādīja, ka govis ar SŠS pienā līdz 50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ apaugļojas pēc pirmās apsēklošanas reizes 47.6% gadījumu salīdzinājumā ar govīm, kam SŠS no 200 līdz 500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ un kas apaugļojās tikai 23.1% gadījumu (Nguyen, Nakao et al., 2011). Būtiska apaugļošanās spēju samazināšanās, iespējams subklīniska mastīta dēļ, novērota govīm, kurām ilgu laiku bija SŠS >150 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ (Lavon, Ezra et al., 2011). Holšteinas šķirnes govīm ar subklīnisku mastītu grūsnības zaudējumi novēroti 1.4 reizes biežāk salīdzinājumā ar tām, kam mastītu nekonstatēja (Dahl, De Vries et al., 2018). Mastīts grūsnības laikā vai pirms mākslīgās apsēklošanas (MA) palielina embriju mirstības un aborta risku (Dahl, Maunsell et al., 2017).

Citā pētījumā tā autori parādīja saistību starp samazinātu estradiola koncentrāciju un nepietiekamu pirmsovulācijas luteinizējošā hormona (LH) pieaugumu, no vienas puses, un aizkavētu ovulāciju, no otras puses. Aizkavēta ovulācija meklēšanās laikā ir par iemeslu tam, ka izvēlētais MA laiks nav bijis optimāls attiecībā pret ovulāciju, kas suboptimālas ovocītu nobriešanas gadījumā rada apaugļošanās traucējumus, samazinātu progesterona koncentrāciju pirms un pēc ovulācijas un rezultātā pasliktina govs auglību (Bloch, Folman et al., 2006). Pētījumos konstatē piena dziedzeru infekcijas (mastīta) ietekmi uz olnīcu funkciju *estrus* cikla laikā, samazinot folikulu augšanu un 17β-estradiola līmeni un aizkavētu LH izdalīšanos (Lavon,

Leitner et al., 2008). Pētījumu dati liecina arī par to, ka aptuveni 30% govju ar dabiskā ceļā iegūtu subklīnisko mastītu, novēro aizkavētu ovulāciju un apaugļošanās traucējumus (Lavon, Leitner et al., 2010). Iespējamais iemesls apaugļošanās traucējumiem varētu būt saistīts ne tikai ar zemu pirmsovulācijas LH pacēlumu un aizkavētu ovulāciju, bet arī ar ovocītu nobriešanas traucējumiem (Westergaard, Laursen et al., 2000). Turklāt ir pierādīts, ka zems LH pieaugums ir saistīts ar pavājinātu *corpus* luteum (CL) luteinizāciju un zemu cirkulējošā progesterona līmeni pēc ovulācijas un MA (Bloch, Folman et al., 2006). Tiek arī norādīts, ka akūts mastīts, kas rodas pirms meklēšanās, var nomākt 17β-estradiola izdalīšanos no granulozajām šūnām folikulā, izraisīt klusu meklēšanos un kavēt folikula ovulāciju neatkarīgi no LH dinamikas izmaiņām (Sakumoto, Shibaya et al., 2003; Shimizu, Miyauchi et al., 2012).

Klīnisko un subklīniska mastīta ietekmes mehānismi uz slaucamo govju auglību arvien tiek papildināti ar jaunām atziņām. Zinātniskajā literatūrā aprakstītie iespējamie faktori ir saistīti ar samazināta 17β-estradiola veidošanos folikulā un sekojošiem ovulācijas mehānisma traucējumiem (Hockett, Almeida et al., 2005; Hockett, Hopkins et al., 2000), palielinātu PGF2α sintēzi, un sistēmiski uzņemto lipopolisaharīdu (LPS) un slāpekļa oksīda izdalīšanos, kas ovocītu un embriju attīstību ietekmē negatīvi. Mastīta gadījumā LPS, ko sintezē baktērijas un PGF2α, kas ir kā atbildes reakcija uz iekaisuma citokīniem, izjauc ovocītu nobriešanas procesu (Soto, Natzke et al., 2003). LPS ietekmi uz ovocītu nobriešanu var izskaidrot ar LPS molekulu tiešo darbību uz ovocītu, uz kumulus šūnām, kas saistītas ar ovocītu, jo LPS molekulas ir konstatētas kumulus šūnās, uz T šūnām un makrofāgiem, kas ir iekļāvušies ovocītu un kumulus šūnu kompleksā (Piccinni, Scaletti et al., 2001). Kumulus slānis ir svarīgs olšūnu nobriešanas procesā, bet slāpekļa oksīda izdalīšanās tajā , ko izdala fagocīti kavē olšūnas attīstību, bet zemāka slāpekļa oksīda koncentrācijas būtu labvēlīgākas olšūnas attīstībai (Soto, Natzke et al., 2003).

Tesmeņa iekaisums kā imūnatbildes reakcija uz ierosinātāju klātbūtni govs tesmenī var atsaukties uz procesiem, kas ir vitāli nepieciešami reprodukcijas funkcijām, visā organismā - izmainīt *estrus* cikla garumu, radīt anovulāciju un izjaukt apaugļošanos (Moore, Overton et al., 2005). Interesanti, ka intramammāra vai intravenoza akūtas LPS devas ievadīšana *estrus* sākumā nemainīja pulsējošā LH vai estradiola koncentrāciju, bet aizkavēja LH pacēlumu un ovulāciju (Lavon, Leitner et al., 2008). Pēc *in vitro* pētījuma rezultātiem ir secināts, ka dzemdes vide mastīta gadījumā vecākām govīm, ir jutīgāka pret sistēmisku iekaisumu atbildes reakciju, augstāka iekaisuma līmeņa dēļ, IFN-signāliem un šūnu dalīšanās disfunkciju, salīdzinājumā ar jaunākām govīm (Tanikawa, Ohtsu et al., 2017).

Ir novērots arī kombinēts efekts uz grūsnības iestāšanos starp klīnisku vai subklīnisku mastītu no vienas puses un govs laktāciju skaitu no otras puses (Dahl, De Vries et al., 2020). Atnešanās sezona neietekmēja SŠS ($P > 0.05$), tomēr tai bija nozīmīga mijiedarbība starp laktāciju skaitu un augstu SŠS ($p = 0.04$, $p = 0.014$, $p = 0.003$, attiecīgi pirmajā, otrajā un trešajā mēnesī pēc dzemdībām). Pirmajos trīs mēnešos pēc atnešanās 5. laktācijas govīm augstu SŠS novēroja biežāk nekā pirmās un otrās laktācijas govīm ($p < 0.01$).

Subklīnisks mastīts, ko galvenokārt izraisa grampozitīvas (G+) baktērijas (streptokoki *Staphylococcus aureus* un koagulāzes negatīvi stafilokoki), ir ilgtermiņa hroniska slimība, kurai raksturīgs mērens SŠS pieaugums bez acīmredzamām klīniskām pazīmēm, kādas ir raksturīgas akūta iekaisuma gadījumā. IMI var saglabāties vairākus mēnešus vai visu laktācijas laiku (Wolfenson, Roth et al., 2019). Lai gan mastīts negatīvi ietekmē govju reproduktīvo orgānu darbību, epidemioloģiskie pētījumi ir pretrunīgi, jo īpaši attiecībā uz slimības laiku (pirms vai pēc MA), atšķirībām starp klīnisku un subklīnisku mastītu, kā arī to, vai IMI ir saistīts ar grampozitīvu vai gramnegatīvu baktēriju patogēno iedarbību.

Lai pārbaudītu mastīta ietekmi uz olšūnu - embriju attīstību, ir izmantotas dažādas pieejas. Sākotnēji *in vitro* olšūnu nogatavināšanas un kultivēšanas barotnē pievienoja iekaisuma mediatorus, piemēram, PGF2α, un novēroja, ka tas samazina blastocistu veidošanās īpatsvaru,

savukārt slāpekļa oksīda pievienošana pēc apaugļošanās kavē olšūnu attīstību līdz blastocistas stadijai (Soto, Natzke et al., 2003). Apaugļoto olšūnu kultivēšanas laikā TNFα pievienošana samazina blastocistu veidošanos un pastiprina blastomēru apoptozi (Hansen, Soto et al., 2004; Soto, Natzke et al., 2000).

Cita pieeja, kas tuvāk atbilst mastīta ietekmei uz ovocītu attīstību, balstās govs folikulārā šķidruma izmantošanā par olšūnu nogatavināšanas barotni. Folikulārais šķidrums no govīm, kam mastīts ierosināts ar grampozitīvu vai gramnegatīvu mastīta ierosinātāju toksīnu, samazināja blastomēru dalīšanās ātrumu un izveidoto blastocistu īpatsvaru, salīdzinājumā ar govīm bez mastīta (Asaf, Leitner et al., 2014).

Vairāki pētījumi, kuros izmantotas dažādas metodoloģijas, lai izpētītu mastīta ilgtermiņa traucējošos efektus folikulu attīstībā ir atklājuši, ka mazie un mazāk diferencētie folikuli ir jutīgāki pret dažādiem iekaisuma mediatoriem. Jāatzīmē, ka visi minētie pētījumi liecina par IMI un citu patogēnu ilgtermiņa traucējošo ietekmi uz folikulu un olšūnu funkcionālo darbību (Furman, Leitner et al., 2014; Lavon, Leitner, Moallem et al., 2011).

Nedēļā, kad tiek veikta embriju transference (ET), majorpatogēno mastīta ierosinātāju (MaP) izdalīšanās ar pienu ir saistīta ar ievērojamu grūsnības un ET iestāšanās varbūtības samazinājumu. Govīm ar SŠS > 400 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ bija zemāki grūsnības un ET rādītāji ($p < 0,01$) nekā dzīvniekiem ar SŠS < 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ gan 31.grūsnības dienā (30.4% pret 40.8%), gan 66. grūsnības dienā (24.7% pret 32.2%). Paaugstināts SŠS ievērojami samazina grūsnības un ET iestāšanās varbūtību, turklāt vides asociētie ierosinātāji un majorpatogēnie ierosinātāji izraisa būtiskāko samazinājumu (Barbosa, Oliveira et al., 2018). Tas liecina, ka aktīva infekcija un iekaisums piena dziedzerī, kad tiek veikta ET, ir risks grūsnības saglabāšanai.

## Literatūras apskata kopsavilkums

Piena SŠS ir nozīmīgs govju veselības un izslauktā piena kvalitātes rādītājs, kas tiek izmantots neatkarīgi no slaukšanas sistēmas (Gonzalo, Linage et al., 2006; Kamphuis, Dela Rue et al., 2013; Pyörälä, 2003; Schukken, Wilson et al., 2003). Automatizējot piena ražošanas tehnoloģiskos risinājumus, piemēram, pārejot uz robotizētu slaukšanu, SŠS vērtēšana, līdzīgi arī citu veselības un aktivitātes parametru reģistrēšana, iegūst lielāku nozīmi. Piens ar augstu SŠS liecina par govs tesmeņa veselības problēmām, kas var būt klīniskas vai subklīniskas. Klīniska mastīta gadījumā uzreiz ir jāpārtrauc govs piena nonākšana ganāmpulka koppienā un tuvāko dažu stundu laikā jānosaka diagnoze, kā arī jāsāk govs ārstēšana. SŠS ir izšķiroša nozīme subklīniska mastīta noteikšanā. Tomēr SŠS mērīšanai govs slaukšanas procesa ietvaros ir definētas vēl divas papildus funkcijas, pirmkārt, uzkrāt govs veselības datus, lai sekotu subklīnisku mastītu sastopamībai ganāmpulkā un nodrošinātu zemu SŠS ganāmpulka koppienā, otrkārt, lai laktācija noslēgumā pieņemtu argumentētu lēmumu par govij atbilstošāko cietlaišanas veidu (Kamphuis, Dela Rue et al., 2013). Govs piena SŠS vērtēšanā, runājot par subklīniska mastīta noteikšanu, joprojām pastāv atšķirīgi zinātnieku uzskati par to, kāda robežvērtība vislabāk spēj nošķirt veselās govis no govīm ar subklīnisku mastītu. Pētījumos ir konstatēts, ka atsevišķām govīm laikā, kad to tesmeņa koppiena SŠS ≤100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, reizēm konstatē *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis,* koagulāzes negatīvo stafilokoku klātbūtni pienā (Nyman, Emanuelson et al., 2016; Nyman, Persson-Waller et al., 2016) vai stafilokoku un korinebaktēriju izdalīšanos ar pienu (Dahlberg, Williams et al., 2020). Citos pētījumos uzsvērts, ka SŠS vērtību interpretācija govs tesmeņa līmenī piemērojot robežvērtības, kas ir zemākas nekā 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, palielināsies kļūdaini pozitīvo vērtējumu skaits un palielināsies iespējamība, ka govs bez IMI nelietderīgi tiks nozīmēta uz bakterioloģisku testēšanu (Kamphuis, Dela Rue et al., 2013; Sargeant, Leslie et al., 2001). Lai sasniegtu augstāku precizitāti subklīniska mastīta diagnostikā, paralēli SŠS ir jāvērtē arī citi rādītāji, un

jāveic atkārtoti SŠS mērījumi, tas nozīmē, ka ir nepieciešami dziļāki pētījumi par SŠS dinamiskas komplekso izvērtēšanu.

No vienas puses, pielietojot govju robotizēto slaukšanu, nedrīkst paļauties tikai uz vienas testēšanas dienas SŠS datiem, jo šis rādītājs daudzām govīm svārstās gan pa slaukšanas reizēm, gan pa dienām (Quist, LeBlanc et al., 2008). No otras puses, biežāk nekā vienu reizi mēnesī veikti SŠS mērījumi rada jautājumu par to, kā interpretēt dinamikas svārstības. Biežāki SŠS mērījumi palīdz noteikt mastīta prognozi, jo ir zināms, ka klīniska mastīta ārstēšanas rezultāti ir labāki tām govīm, kurām pirms saslimšanas ir bijis zemāks somatisko šūnu skaits pienā (Gussmann, Kirkeby et al., 2020). Daži slaukšanas roboti ir aprīkoti ar speciāliem sensoriem, lai novērtētu SŠS tesmeņa veselības kontroles un pārvaldības vajadzībām katrā govs slaukšanas reizē turpretī citos pielieto citu rādītāju (elektrovadītspēja, asiņu klātbūtnes, temperatūras) sensorus tesmeņa iekaisuma noteikšanai (Fadul-Pacheco, Lacroix et al., 2018).

Tesmeņa iekaisuma patoģenēzē izšķirošs faktors ir bakteriāla ierosinātāja klātbūtne. Arī mastīta diagnostikā ierosinātāja noteikšana, respektīvi, aseptiski iegūta piena parauga laboratoriskā izmeklēšana uz mastīta ierosinātāj klātbūtni pienā, ir pamats profilaksei, terapijai un prognozei. Diemžēl slaukšanas robota dizains nav tā veidots, lai varētu droši un bez speciālas govs fiksēšanas iegūt aseptiskus ceturkšņu piena paraugus nosūtīšanai uz bakterioloģisku izmeklēšanu laboratorijā (Penry, 2018). Govs slaukšana notiek vairākas reizes dienā, un robotizētā slaukšanā tas notiek dažādos laikos visas diennakts garumā. Tāpēc tesmeņa ceturkšņu IMI statusa noteikšanai ir nepieciešami ātri pārbaudāmi kritēriji. No veterinārā skatpunkta, jebkuru tesmeņa veselības sensoru un to signālu apstrādes rezultātā iegūtu tesmeņa trauksmes ziņojumu loma ir nodrošināt objektīvu pamatojumu tālākai rīcībai. Gan augsts SŠS, gan piena elektrovadītspējas paaugstināšanās, atkarībā no rādītāju izmaiņu apjoma, turpmākai rīcībai nosaka divas alternatīvas – nekavējoties uzsākt govs pilnu klīnisko pārbaudi, tai skaitā, ceturkšņu piena paraugu iegūšanu bakterioloģiskai testēšanai laboratorijā, vai arī novērot govs stāvokli un sekot rādītāju izmaiņām līdz atkārtotai trauksmei nākamajā slaukšanas reizē. Ja trauksmes atkārtojums nākamajā slaukšanas reizē neseko, tad uzskata, ka pastiprināta uzmanība dzīvniekam vairs nav nepieciešama. Sakarā ar to, ka SŠS var svārstīties un pēc tā paaugstināšanās atgriezties iepriekšējā līmenī laikā līdz nākamai slaukšanas reizei, tūlītēja skartā ceturkšņa piena parauga bakterioloģiskā izmeklēšanas nepieciešamība nav pamatojama ar viena mērījuma rezultātiem (De Vliegher, Ohnstad et al., 2018).

Pēc tiešās fluoroptiskās skaitīšanas principa slaukšanas robotā var būt integrēts zviedru firmas DeLaval piedāvātais tiešsaistes šūnu skaitītājs OCC, kas dažās minūtēs pēc govs izslaukšanas ļauj uzzināt SŠS izslauktajā pienā. Netiešā SŠS noteikšana pēc viskozitātes metodes ir integrēta nīderlandiešu firmas Lely slaukšanas robotā, lai slaukšanas laikā izmērītu katras govs SŠS. Zināms, ka SŠS mērījumi tesmeņa ceturkšņu līmenī nodrošina precīzāku mastīta noteikšanu (Mollenhorst, Hidayat et al., 2011). Slaukšanas robotos piena elektrovadītspēju mēra tesmeņa ceturkšņu līmenī. Lai arī literatūrā ir norādītas vidējās elektrovadītspējas vērtības veselām (5.3 mS/cm) un subklīniski inficētām govīm (5.7 mS/cm) (Norberg, Hogeveen et al., 2004), šis parametrs mastīta noteikšanā uzskatāms par jutīgu, tomēr ne visai precīzs rādītāju (Lukas, Reneau et al., 2009). Piena elektrovadītspēja slaukšanas laikā jāvērtē kopā ar citiem rādītājiem un ierosinātāja klātbūtni pienā. No tesmeņa ceturkšņu piena elektrovadītspējas rādītājiem, ņemot vērā asiņu klātbūtni pienā un slaukšanas intervālus, slaukšanas robota datorprogramma ģenerē atvasinātu rādītāju MDi. MDi sekmīgi lieto kā klīniska mastīta signālu, bet MDi pieaugums subklīniska mastīta gadījumā ir maz pētīts, kaut arī paaugstinātām MDi vērtībām ir saistība ar bioloģiskām izmaiņām tesmenī un visā govs organismā (Forsbäck, Lindmark-Månsson et al., 2010). Slaukšanas robota vadības programmā ir iespējams iestatīt konkrētas MDi robežvērtības kvalitātes prasībām neatbilstoša piena automātiskai noteikšanai un novirzīšanai no kopējās piena plūsmas, bet literatūrā nav atrodamas ziņas par pētījumiem, kā mainās koppiena SŠS un kāds sagaidāms brāķētā piena apjoms, ja

izvēlas atšķirīgas MDi sliekšņa vērtības. Arī par šo pielietojumu MDi šajā virzienā ir nepieciešami pētījumi.

Studējot literatūru par SŠS govju pienā, var pamanīt, ka SŠS paaugstināšanās cēloņi var būt saistīti ne tikai ar patoloģisku procesu norisi tesmenī, bet arī dzimumsistēmā, imūnsistēmā u.c. Arī ietekme pretējā virzienā, no tesmeņa uz dzimumsistēmu, saista zinātnieku interesi, piemēram, IMI un ar to saistītie toksīni pasliktina ovocītu nobriešanu (Asaf, Leitner et al., 2014), ovulāciju, apaugļošanos un embriju attīstību (Soto, Natzke et al., 2003), *corpus luteum* pieaugšanu un izmaina hormonu koncentrācijas (Lavon, Ezra et al., 2011). Folikulārais šķidrums no govīm, kam mastīts eksperimentāli izraisīts ar grampozitīvu vai gramnegatīvu mastīta ierosinātāju toksīnu, *in vitro* samazina blastomēru dalīšanās ātrumu un izveidoto blastocistu īpatsvaru, salīdzinājumā ar govīm bez mastīta (Asaf, Leitner et al., 2014). Lai gan nav šaubu, ka subklīnisks mastīts ilgtermiņā ietekmē auglību, tā negatīvā ietekme uz dzīvnieka reprodukciju ir nepietiekoši izpētīta un maz dokumentēta (Wolfenson, Roth et al., 2019). Pētījumi liecina par IMI ilgtermiņa traucējošo ietekmi uz folikulu un olšūnu funkcionālo darbību (Furman, Leitner et al., 2014; Lavon, Leitner, Moallem et al., 2011). Tāpēc bija noderīgi pētījuma tēmā par SŠS komplekso izvērtēšanu iekļaut arī darba uzdevumu par SŠS saistībā ar govs atražošanas funkcijām, lai noskaidrotu embriju donorgovju veselības rādītāju, to skaitā arī SŠS, ietekmi uz embriju kvantitāti un kvalitāti. Jauns apstiprinājums tam, ka SŠS mērījumi un datu analīze bija nepieciešama ne tikai kontekstā ar tesmeņa iekaisumu profilaksi un piena kvalitātes uzlabošanu, bet arī govs veselības stāvokļa, vispārējās imunitātes un reproduktīvo spēju dziļākai izpratnei būtu arguments, lai tālāk pilnveidotu SŠS sensorus slaukšanas sistēmās, tai skaitā slaukšanas robotos.

Zinot visu iepriekš aprakstīto, tika formulēts **darba mērķis** izvērtēt slaukšanas robotu sensoru reģistrēto govs tesmeņa veselības rādītāju efektivitāti somatisko šūnu skaita (SŠS) individuālās dinamikas raksturošanai, lai atklātu subklīnisku mastītu, kā arī izpētīt SŠS rādītāju eventuālo nozīmi embriju donoru atlasē. Mērķa sasniegšanai sadalīta piecos **darba uzdevumos**, kuru izstrādes gaitā izpētīja majorpatogēno un minorpatogēno mastīta ierosinātāju ietekmi piena dziedzerī uz SŠS, novērtēja slaukšanas robotā pielietoto sensoru ( tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC, mastīta noteikšanas indeksa MDi un SŠS viskozitātes tipa sensora MQC-C2) pielietojumu, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, raksturoja SŠS rezultātu mainību secīgās govs slaukšanas reizēs un noskaidroja SŠS plašāku saikni ar citiem procesiem govs organismā, konkrēti, donoru reproduktīvo kapacitāti transferencei derīgu embriju iegūšanā.

# 2. MATERIĀLI UN METODES

## 2.1. Materiāla raksturojums

Pētījumā aprakstītās darbības ar slaucamām govīm ir īstenotas promocijas darba uzdevumu izpildei vairākos posmos. Atbilstoši pētījuma norisei un dzīvnieku atlases atšķirībām materiāls ir pakārtots trīs pētījuma blokiem, kas apzīmēti ar B1, B2 un B3.

### Pētījuma pirmais bloks, B1

Pētījums veikts divās piena lopkopības saimniecībās. **Pirmā saimniecība S1 Vidzemes reģionā** un šajā saimniecībā izmanto DeLaval firmas govju automatizēto slaukšanas sistēmu (VMS, DeLaval). Robotizētās slaukšanas grupā tiek turētas līdz 60 govīm. Saimniecībā bez slaukšanas robota ir arī slaukšanas zāle, kurā notiek pārējo govju slaukšana. Slaukšanas robota govju grupa ir atvērta, jo grupas sastāvs periodiski tiek atjaunots ar augsta izslaukuma govīm, turpretī laktācijas beigu posmā, samazinoties izslaukumam, govis no robota grupas pārvieto uz citu slaukšanas grupu. Somatisko šūnu skaitu mērīšanai slaukšanas robota stacija ir aprīkota ar fluoroptisko tiešsaistes šūnu skaitītāju OCC (Online Cell Counter). Saimniecībā S1 govis atrodas nepiesietās turēšanas novietnē ar dzelzsbetona režģu grīdu, kūtsmēslu šķidrās frakcijas uzkrāšanu zem tās. Guļvietas ir veidotas kā dziļie boksi, kuros par pakaišu materiālu ieklātas smiltis un smalcināti salmi. Saimniecībā S1 govis saņem pilnīgi samaisītu barības devu. **Otrā saimniecība S2 Zemgales reģionā**, šajā saimniecībā automatizētā slaukšanas sistēma (VMS, DeLaval) tiek lietota jau ceturto gadu (no 2007. g.). Govju skaits robotizētās slaukšanas grupā 110...120 govis, ko apkalpo divi slaukšanas roboti. Saimniecībā S2 govis atrodas nepiesietās turēšanas novietnē ar seklajiem guļvietu boksiem, kuros ieklāts gumijas matracis, bet kūts ejās ieklāts gumijas paklājs. Kūts ejās mēslus tīra ar skrēpera tipa transportieri. Saimniecībās S1 un S2 govju tesmeņa sagatavošana slaukšanai notiek automātiskā režīmā, reizē veicot katra pupa atsevišķu tīrīšanu un pirmo piena strūklu noslaukšanu. Pēc slaukšanas stobriņu automātiskas noņemšanas slaukšanas beigās un pirms govs iet ārā no slaukšanas stacijas, smidzināšanas iekārta pārklāj pupu galus un tesmeņa ventrālo virsmu ar jodu-saturošu dezinfekcijas šķīdumu, kas ir paredzēts govju pupu pēcslaukšanas dezinfekcijai (Prima Plus, DeLaval, Zviedrija).

Somatisko šūnu skaita rezultāts, ko iegūst ar OCC, tika salīdzināts ar fluorescent-opto-elektronisko laboratorijas instrumentālo metodi. Šim nolūkam **vienā** slaukšanas reizē S1 ganāmpulka govīm, izmantojot slaukšanas robotā esošo piena paraugu iegūšanas iekārtu, no visā govs slaukšanas reizē izslauktā piena 40 mL iepildīja paraugu pudelītē ar cieši noslēdzamu vāku. Paraugu konservēja, tajā izšķīdinot konservanta BSM II (*Broad Spectrum Microtabs*) tableti. Paraugus nosūtīja uz izmeklēšanu akreditētā piena laboratorijā, kur somatisko šūnu skaitu mērīja ar automātisko piena analizatoru (Fossomatic FC , FOSS, Hilleroed, Dānija).

Lai izvērtētu mastīta noteikšanas indeksa (MDi) vērtību dinamiku govīm (n=20) trīs nedēļu laikā (S1 ganāmpulks, 2010. g.) reizi dienā noteiktā stundā tika fiksēti ganāmpulka pārvaldības sistēmas displejā redzamie aktuālie MDi rādījumi, jo ganāmpulka pārvaldības sistēmā nesaglabāja iepriekš aprēķinātās MDi vērtības. Pārējā informācija par izslaukumu, slaukšanas reižu skaitu dienā, piena elektrovadītspēju, iespējamo asiņu klātbūtni pienā iegūta vēlāk no ganāmpulka pārvaldības sistēmas attiecīgā laika perioda rezerves datu kopijas.

Lai izvērtētu MDi rādītāja pielietojuma efektivitāti augsta SŠS govju atklāšanai, kā arī vērtētu mastīta ierosinātāju klātbūtnes ietekmi uz piena SŠS, tika atlasītas MDi paaugstināšanās **gadījumu (G)** un **kontroles (K)** govju grupas (2.1. tabula). Govju atlasi veica oktobra mēnesī (S1, 2009. g. oktobris) un papildināja divas reizes (S1, 2010. g. oktobris un S2, 2011. g. oktobris). Katru gadu tika vispirms atlasītas govis, kurām iepriekšējā slaukšanas reizē ganāmpulka pārvaldības sistēmā ("Cow monitoring in VMS", DeLaval International, Zviedrija)

reģistrēts vērtējums MDi ≥ 1.4. Govis ar MDi ≥ 1.4 sastādīja tesmeņa veselības trauksmes **gadījumu grupu (n=21).** No visām pārējām slaukšanas robota grupas govīm, tas ir govīm ar MDi < 1.4, ar vienkāršas nejaušas atlases metodi izvēlējās pāra dzīvniekus, ņemot vērā gadījumu grupas govs laktāciju skaitu (1.laktācija, 2.laktācija un 3.+ laktācija) un laktācijas fāzi (sākuma (0...100 dienas), vidus (101...200 dienas), beigu (201...305 dienas) un pagarināta laktācija (>305 dienas)). Gadījuma-kontroles pētījuma grupu sastāvs parādīts tabulā (2.1. tabula). Gadījumu grupā nebija pārstāvētas govis no laktācijas sākuma fāzes tāpēc nebija iespējams izveidot attiecīgu pāri. Kontroles grupā laktācijas sākuma fāzi reprezentēja 3 govis, kurām MDi < 1.4.

2.1. tabula. **Gadījumu un kontroles grupu sastāvs atkarībā no govs laktāciju skaita un dienu skaita kopš atnešanās**

| Laktācija | Laktācijas fāze / dienas | | | | | | | | Kopā |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | sākuma / 10…100 | | vidus / 101…200 | | beigu / 201…305 | | pagarināta / >305 | | |
| | G[1] | K[2] | G[1] | K[2] | G[1] | K[2] | G[1] | K[2] | |
| 1.laktācija | 0 | 2 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 4 | 17 |
| 2.laktācija | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 10 |
| ≥ 3. laktācija | 0 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 3 | 2 | 18 |
| Govju skaits, kopā | 0 | 3 | 3 | 3 | 10 | 10 | 8 | 8 | 45 |
| Govju pāru skaits | 0 | | 3 | | 10 | | 8 | | 21 |

[1] gadījumu grupa, govis ar MDi ≥ 1.4;
[2] kontroles grupa, govis ar MDi < 1.4.

Gadījumu un kontroles grupas govju ražības rādītāju salīdzinājums ir parādīts tabulā (2.2. tabula). Kontroles grupas govīm ir mazāks dienu skaits, jo grupā ir iekļautas trīs govis līdz 100. laktācijas dienai. Kontroles grupas govīm ir augstāks izslaukums un zemāks SŠS salīdzinājumā ar gadījumu grupas govīm.

Govju SŠS individuālās dinamikas vērtējums ar OCC iegūts, apkopojot S1 ganāmpulka gadījuma un kontroles grupas govīm (n=31) katrā slaukšanas reizē viena mēneša laikā reģistrētos SŠS mērījumus (N=1733). SŠS individuālās dinamikas vērtēšanas periodā katrai govij (n=31) divas reizes veica arī ceturkšņu piena paraugu bakterioloģisku izmeklēšanu uz mastīta ierosinātāju klātbūtni kā aprakstīts tālāk 2.2.1. un 2.2.2. apakšnodaļās.

Pētījuma 1.bloka izstrāde veikta Latvijas zinātnes padomes grantu ietvaros 09.1447 un 09.1528 "Pētījumi par slaucamo govju tesmeņa veselību un piena kvalitāti, pielietojot slaukšanas robotu tehnoloģiju" ietvaros. Veicot darbības ar dzīvniekiem, tika ievērotas tajā laikā spēkā esošās normatīvo aktu prasības un ētikas normas. Uzsākot darbu saimniecībā bija saņemta fermas īpašnieka (vai fermas vadītāja) mutiska atļauja atlasīt pētījuma govju grupu, saņemt pilnu informāciju par govju datiem no ganāmpulka pārvaldības datorsistēmas, tai skaitā izveidot rezerves datu kopijas, izmantot piena pārraudzības datus, iegūt no govīm slaukšanas laikā ceturkšņu piena paraugus, kā arī publicēt pētījuma rezultātus. Fermas īpašnieks bija informēts par to, ka piena paraugu iegūšana slaukšanas laikā neradīs risku dzīvnieka labturībai un veselībai. Fermas īpašnieks nodrošināja darbinieku, kas pārzina automātiskās slaukšanas

sistēmas (AMS) govju plūsmas organizēšanu tā, lai pārējām grupas govīm netiktu aizkavēta to slaukšana.

2.2. tabula. **Gadījumu un kontroles grupu govju ražības rādītāji, vidējais (SE)**

| Rādītājs | Gadījumu grupa, n=21 | Kontroles grupa, n=24 | Visas govis, n=45 |
|---|---|---|---|
| Laktāciju skaits | 2.38 (0.28) | 2.17 (0.25) | 2.27 (0.19) |
| Laiks no atnešanās līdz pētījuma uzsākšanai, dienas | 301 (23.) | 252 (24) | 274 (17) |
| Izslaukums, kg/dienā | 19.0 (2.1) | 24.0 (2.1) | 22.2 (1.6) |
| Piena tauki, % | 3.08 (0.38) | 3.26 (0.31) | 3.17 (0.24) |
| Piena olbaltumvielas, % | 3.68 (0.10) | 3.66 (0.10) | 3.67 (0.07) |
| Piena laktoze, % | 4.75 (0.07) | 4.77 (0.05) | 4.76 (0.04) |
| Somatisko šūnu skaita vērtējums, $log_2$ vienības | 5.06 (0.43) | 3.26 (0.37) | 4.07 (0.32) |

Pētījuma laikā, no 2009.oktobra līdz 2011. gada oktobrim Dzīvnieku aizsardzības likums (ar labojumiem un papildinājumiem spēkā no 01.01.2000) un Ministru Kabineta noteikumi "Eksperimentos un zinātniskos nolūkos izmantojamo dzīvnieku turēšanas, izmantošanas, tirdzniecības un nogalināšanas kārtība" Nr.450 (izdoti 23.10.2001.: prot. Nr.52-11.), kā arī vēlāk pieņemtie Ministru kabineta noteikumi "Noteikumi par izmēģinājumu dzīvnieku audzētāju, piegādātāju un lietotāju reģistrāciju, kārtība, kādā veicamas darbības ar izmēģinājumu dzīvniekiem, un izmēģinājumu dzīvniekiem nodrošināmās labturības prasības" Nr.1131 (izdoti 21.12.2010.: prot. Nr.74-45.) neparedzēja speciālas atļaujas izņemšanu pētījuma veikšanai, kas nav eksperimentāls pētījums, jo dzīvniekiem nebija plānotas procedūras, tai skaitā, procedūras ārpus saimniecības ražošanas prakses (Latvijas Republikas Ministru Kabinets, 2001, 2010; Latvijas Republikas Saeima, 2000). LBTU iekšējā Dzīvnieku labturības un aizsardzības ētikas padome tika izveidota vēlāk (2015. gada 30. martā; rektores rīkojums nr. 4.3.-13/29).

### Pētījuma otrais bloks, B2

Lai novērtētu slaukšanas robota SŠS sensora, kas darbojas pēc viskozitātes principa, mērījumu precizitāti praktiskos apstākļos, pētījums veikts saimniecībā S3 ar 120 slaucamajām govīm, kurā govju slaukšanai izmanto divas automatizētās slaukšanas darba stacijas (Astronaut A4, Lely), kas aprīkotas ar MQC-C2 sensoriem SŠS noteikšanai govs tesmeņa koppienā, respektīvi visā govij izslauktā piena daudzumā, ko ieguva vienā slaukšanas reizē. No slaukšanas robota vadības sistēmas tika iegūti slaucamo govju (n=120) SŠS dati, kas mērīti ar viskozitātes metodi visā no govs izslauktā pienā, ko ieguva vienā slaukšanas reizē. Šie dati katrai govij iegūti par astoņām slaukšanas reizēm pēc kārtas. Trešajā slaukšanas reizē (testa reizē), izmantojot slaukšanas robotā esošo piena paraugu iegūšanas iekārtu, no visā govs slaukšanas reizē izslauktā piena 40 mL iepildīja paraugu pudelītē ar cieši noslēdzamu vāku. Paraugu konservēja, tajā izšķīdinot konservanta BSM II tableti. Paraugus nosūtīja uz izmeklēšanu akreditētā piena laboratorijā, kur somatisko šūnu skaitu mērīja ar laboratorijas instrumentālo metodi (iekārta Fossomatic FC , FOSS, Hilleroed, Dānija). Pārējām 9 govīm pēc atnešanās bija pagājušas ne vairāk kā 7 dienas, un to SŠS salīdzinājumā neiekļāva.

Pētījuma 2.blokā nekādas procedūras dzīvniekiem netika veiktas un to ikdienas dzīves rutīna netika mainīta. Atbilstoši tajā laikā spēkā esošiem Ministru Kabineta noteikumiem "Noteikumi par zinātniskiem mērķiem izmantojamo dzīvnieku aizsardzību" Nr. 52 (22.01.2013. (prot. Nr.5-25.) šādos gadījumos pētījuma uzsākšanai nav nepieciešama Pārtikas un veterinārā dienesta atļauja un atzinums no Dzīvnieku labturības un aizsardzības ētikas padomes, jo šie noteikumi neattiecas uz praktiskām darbībām, kas neizraisa sāpes, ciešanas, diskomfortu vai ilgstošu kaitējumu, kurš līdzvērtīgs vismaz adatas ievadīšanai atbilstoši labai veterinārmedicīniskai praksei (Ministru Kabineta noteikumi Nr.52, 5.6. punkts) (Latvijas Republikas Ministru Kabinets, 2013).

## Pētījuma trešais bloks, B3

Pētījums veikts 16 slaucamo govju saimniecībās Latvijā. Salīdzināti un izvērtēti multiplo ovulāciju un embriju ieguvi ietekmējošie faktori, tai skaitā piena somatisko šūnu skaits, 7 Latvijas Zilās (LZ), 13 Latvijas Brūnās (LB) un 10 Dānija Sarkanās (DS) šķirnes donorgovīm, kopskaitā n=30 (2 teles (telēm SŠS nevērtēja), 7 pirmpienes un 21 vairāku laktāciju govs) (2.3. tabula). Pētījuma laikā donori, no 1 līdz 8 govīm katrā saimniecībā, atradās savā saimniecībā.

Donorgovīm laktāciju skaits vidēji (SE) bija 3.6 (2.4) laktācijas. Divi donori bija teles 1.7 (0.14) gadus vecas, bet 28 donori – govis (7 pirmpienes 2.6 (0.1) gadus vecas un 21 vairākreiz atnesušās govis 7.2 (0.7) gadus vecas). Tabulā (2.3. tabula) parādīts, ka 17 donori (60.7%) bija vecāki par 5 gadiem. Uzsākot MO inducēšanu, donoru vidējā ķermeņa kondīcija donoriem bija 2.7 (0.6) BCS punkti un laktācijas dienu skaits 240 (30). Ražības un piena kvalitātes raksturojums iepriekšējā mēnesī pirms MO inducēšanas bija: izslaukums 18.1(1.4) kg/dienā, piena tauku % 4.6 (0.2), piena olbaltumvielu % 3.8 (0.1) un somatisko šūnu skaits 165 (17) tūkst. šūnas $mL^{-1}$.

2.3. tabula. **Donorgovis raksturojoši rādītāji, vidējais (SE)**

| Rādītājs | Pirmpienes | Vairāku laktāciju govis | Visas govis |
|---|---|---|---|
| Govju skaits | 7 | 21 | 28 |
| Laktāciju skaits | 1.0 (0) | 4.4 (0.5) | 3.6 (2.4) |
| Vecums, gadi | 2.6 (0.1) | 7.2 (0.7) | 6.1 (0.6) |
| Ķermeņa kondīcija, BCS vien. | 2.5 (0.1) | 2.8 (0.7) | 2.7 (0.6) |
| Laiks no atnešanās līdz MO, dienas | 156 (39) | 268 (37) | 240 (30) |
| Izslaukums, kg $diena^{-1}$ | 14.9 (2.0) | 18.9 (1.7) | 18.1 (1.4) |
| Piena tauki, % | 5.0 (0.6) | 4.6 (0.2) | 4.6 (0.2) |
| Piena olbaltumvielas, % | 3.6 (0.3) | 3.9 (0.1) | 3.8 (0.1) |
| SŠS, tūkst. šūnas $mL^{-1}$ | 44 (18) | 225 (17) | 165 (17) |
| Donori, kas vecāki par 5 gadiem, % | 0 | 81.0 | 60.7 |

Pētījuma 3 bloks ir daļa no ERAF projekta "Govju ģenētisko resursu saglabāšana Latvijā pielietojot embriju transferenci un ar to saistītās biotehnoloģijas" (Nr.1.1.1.1/16/A/025, 2017-2020. g.) visi protokoli un procedūras, kas projekta ietvaros tiks veiktas ar govīm, bija izvērtētas un atzītas Latvijas Lauksaimniecības universitātes Dzīvnieku labturības un aizsardzības ētikas padomē (atzinums nr. 17/2 no 2017.gada 22. jūnijā).

## 2.2. Pētījumā izmantoto metožu apraksts

### 2.2.1. Tesmeņa ceturkšņu piena paraugu iegūšana (B1)

Pētījuma blokā B1 govs tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma piena paraugi SŠS un piena sastāva noteikšanai, kā arī bakterioloģiskai izmeklēšanai iegūti divas reizes ar 10...14 dienu intervālu. Visā pētījumā iegūti un izmeklēti 352 ceturkšņu sākuma slaukuma paraugi no 45 govīm SŠS un piena sastāva noteikšanai un 352 aseptiski iegūti ceturkšņu sākuma slaukuma paraugi no 45 mastīta ierosinātāja bakterioloģiskai noteikšanai. Tas darīts govs slaukšanas laikā pēc govs pupu tīrīšanas un pirmo piena strūklu atslaukšanas AMS darba stacijā. Uz paraugu iegūšanas laiku slaukšanas robotā tika ieslēgts īslaicīgas pauzes režīms. Vispirms no katra ceturkšņa marķētā plastmasas stobriņā, kurā ievietota konservanta *BSM II* tablete, ieslauca pienu SŠS un piena sastāva (tauku %, olbaltumvielu %, laktozes % un urīnvielas mg $dL^{-1}$) noteikšanai. Tad manuāli dezinficēja pupu galus ar 70% etilspirta šķīdumā piesūcinātu kokvilnas marles salveti un četros sterilos stikla stobriņos aseptiskā veidā ieslauca pienu bakterioloģiskai testēšanai. Stobriņu atvēra tieši pirms piena parauga ieslaukšanas, un, to tuvinot pupa galam, piena strūklu virzīja horizontāli. Pēc piena ieslaukšanas stobriņu uzreiz noslēdza ar gumijas korķi. Stobriņus uzreiz atdzesēja auksta ūdens peldē (+5°C). Visus parauga stobriņus reizē izņēma no ūdens, nosusināja un ievietoja aukstumsomā uz ledus elementiem. Paraugus SŠS un piena sastāva analīzēm 72 h laikā nogādāja uz izmeklēšanu (SIA "Piensaimnieku laboratorija", Ulbroka). Paraugus bakterioloģiskai izmeklēšanai 12 h laikā transportēja un uzsāka to izmeklēšanu VMF Klīniskā institūta Ganāmpulka veselības un reprodukcijas problēmu laboratorijā Jelgavā. SŠS rezultātu vērtēšanai tesmeņa ceturkšņu pienā šajā darbā izmanto robežvērtību 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, kas atbilst SCS = 3.0 $log_2$ vienībām.

### 2.2.2. Mastīta ierosinātāju noteikšana (B1)

Govs tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma piena paraugus primāri uzsēja uz Kolumbijas asins agara (Biolife, Italy) ar 5% govju asiņu piedevu un kultivēja 37 °C temperatūrā. Izmeklēšanas secība un izolātu klasifikācija veikta saskaņā ar ASV Nacionālās mastīta padomes (NMC) "Laboratorijas un lauka rokasgrāmatā par govju mastītu" aprakstīto metodiku (National Mastitis Council, 1987, 2017). Piena paraugu uzsēja uz barotnes ar vienreizlietojamu plastmasas bakterioloģisko cilpu (0.01 mL). Inokulētās plates inkubēja un bakterioloģisko audzi novērtēja pēc 24 un 48 stundām. No izaugušajām baktēriju kolonijām gatavoja uztriepes, tās krāsoja ar Grama krāsām (Benex Limited, Īrija), novērtēja, pārbaudīja ar katalāzes testu, oksidāzes testu un pārsēja uz diferenciālajām barotnēm. Mastīta ierosinātājus identificēšanai līdz grupu, ģinšu un sugu līmenim lietoja mannitola-sāls agaru, (Oxoid Limited, Lielbritānija), žults-eskulīna agaru (Benex Limited, Īrija) un Mak-Konki agara N2 (Biolife, Itālija). *Staphylococcus aureus* (koagulāzes pozitīvi stafilokoki) apstiprināja ar truša plazmas testu, lietojot stobriņus ar 0.5 mL truša plazmas (Benex Limited, Īrija). *Streptococcus agalactiae* apstiprināja ar CAMP testu, bet *Streptococcus uberis* pēc fakta, ka streptokoku pārsējums uz žults-eskulīna agara neveido saskatāmas kolonijas, bet novēro eskulīna hidrolīzi ap barotnes inokulēšanas līniju. Gramnegatīvas baktērijas pārsēja uz Mak-Konkija agara N2 (MacConkey agar N2) un sarkanās kolonijas, ko aptver precipitācijas josla identificēja kā *Escherichia coli*. Visi pārējie ierosinātāji tika klasificēti ģints līmenī (koagulāzes negatīvi stafilokoki (KNS) jeb *Staphylococcus spp*., *Streptococcus spp*., *Enterococcus spp*., un *Corynebacterium spp*.).

Saskaņā ar aprakstītajām vadlīnijām (National Mastitis Council, 1987) par koloniju skaita nozīmīguma novērtēšanu primāra uzsējuma tīras un jauktas audzes gadījumā tika izšķirti sekojoši mastīta ierosinātāju audzes nozīmīguma līmeņi jeb kategorijas: audzes nav (0), nenozīmīga audze (1), neapstiprināta audze (2), varbūtēji nozīmīga audze (3) un augsti

nozīmīga audze (4). Gadījumos, kad no ceturkšņa piena parauga veidojās jaukta audze, kurā var izšķirt 3 un vairāk koloniju veidus, piena paraugs būtu uzskatāms par kontaminētu un rezultātu interpretācijai nederīgu. Viena vienīga kolonija tika uzskatīta par nozīmīgu atradi tikai tad, ja uzsējumā nebija citu koloniju (National Mastitis Council, 2017). Interpretējot no piena paraugiem bakterioloģiski izdalīta mastīta ierosinātāja koloniju skaitu saskaņā ar NMC vadlīnijām, visas audzes nozīmīguma kategorijas no 1. līdz 4. tika apvienotas un interpretētas kā reāla IMI.

Katra ierosinātāja koloniju veidojošo vienību skaits vienā mililitrā piena (KVV $mL^{-1}$) semikvantitatīvi izteikts četrās audzes intensitātes kategorijās: 100 < 500 KVV $mL^{-1}$, 500 < 1000 KVV $mL^{-1}$, 1000 < 5000 KVV $mL^{-1}$, un ≥ 5000 KVV $mL^{-1}$. Ierosinātāja audzes intensitātes skala adaptēta no nesen publicēta pētījuma par korinebaktērijām (Lücken, Wente et al., 2021).

Majorpatogēniem mastīta ierosinātājiem (MaP) pieskaitīti: *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis,* eskulīna pozitīvi streptokoki, *Escherichia coli, Klebsiella spp.*, pārējās koliformas, *Enterococcus spp., Trueperella pyogenes, Pasteurella spp.* un *Pseudomonas spp.*. Koagulāzes negatīvi stafilokoki un korinebaktērijas pieskaita minorpatogēniem mastīta ierosinātājiem (MiP) (Dingwell, Leslie et al., 2003; Piepers, Opsomer et al., 2010). Gadījumā, ja tesmeņa ceturkšņa pienā vienlaicīgi vai kādā no divām piena paraugu izmeklēšanas reizēm konstatējams gan MaP, gan MiP, summārā vērtējumā šis ceturksnis tiek vērtēts kā MaP skarts tesmeņa ceturksnis. Par **ilgstošu MaP** vai **ilgstošu MiP** klātbūtni apzīmēta viena un tā paša ierosinātāja izolēšana no ceturkšņa piena sākumslaukuma, gan pirmajā, gan otrajā piena paraugu iegūšanas un izmeklēšanas reizē. Par **ierosinātāja parādīšanos** šajā pētījumā apzīmēta situācija, kad tesmeņa ceturkšņa sākumslaukuma piena paraugā pirmajā izmeklēšanas reizē ierosinātāju nekonstatē, bet atrod tikai otrajā paraugu ņemšanas reizē. Par **epizodisku MaP** klātbūtni nosaukti tie gadījumi, kas MaP konstatēts tikai vienā, t.i. tikai pirmajā vai tikai otrajā paraugu iegūšanas reizē, bet attiecīgi otrā reizē konstatēts MiP vai negatīva atrade. Par **epizodisku MiP** klātbūtni nosaukti tie gadījumi, kuros MiP konstatēts tikai vienā, t.i. tikai pirmajā vai tikai otrajā paraugu iegūšanas reizē, bet attiecīgi pretējā reizē konstatēts cits MiP vai negatīva atrade (2.4. tabula).

2.4. tabula. **Mastīta ierosinātāju grupas un to klātbūtnes apstiprinājuma interpretācija govs tesmeņa ceturkšņa līmenī**

| Ierosinātāja klātbūtnes pastāvīgums | Ierosinātāja grupa | | Slēdziens par ierosinātāja grupu |
|---|---|---|---|
| | Pirmā parauga ņemšanas reizē | Otrā parauga ņemšanas reizē | |
| Ilgstoša klātbūtne | MaP | MaP | Ilgstošs MaP |
| | MiP | MiP | Ilgstošs MiP |
| Epizodiska klātbūtne | MaP | Audzi neveido | Epizodisks MaP |
| | Audzi neveido | MaP | |
| | MaP | MiP | |
| | MiP | Audzi neveido | Epizodisks MiP |
| | Audzi neveido | MiP | |
| | MiP | MiP[1] | |
| Brīvs no ierosinātāja | Audzi neveido | Audzi neveido | Audzi neveido |

[1] fenotipiski atšķirīgs MiP.

Govis, kurām visu tesmeņa ceturkšņu pienā konstatē negatīvu atradi, klasificē kā "statuss bez patogēna". Govis, kurām viena vai vairāku tesmeņa ceturkšņu pienā konstatē vienu un to pašu ierosinātāju, klasificē kā "statuss ar vienu patogēnu". Govis, kurām tesmeņa ceturkšņu pienā dažādos ceturkšņos konstatē dažādus IMI, klasificē kā "statuss ar multiplu patogēnu".

Gadījumā, ja vienam un tam pašam dzīvniekam konstatē vienlaicīgi gan MaP, gan MiP, govs tiek klasificēta kā MaP skarts dzīvnieks.

### 2.2.3. Tesmeņa ceturkšņu piena sastāva noteikšana (B1)

Tesmeņa ceturkšņu piena sākuma slaukuma paraugi SŠS un piena sastāva noteikšanai ar laboratorijas instrumentālo metodi tika ieslaukti tieši no govs 40 mL plastmasas stobriņos un uzreiz pēc iegūšanas konservēti ar 0.02% 2-brom-2-nitropropān-1,3-dio (Bronopol$^{TM}$) jeb BSM II tableti. Uz akreditētu laboratoriju (SIA "Piensaimnieku laboratorija, Ulbroka, Latvija) šie paraugi nogādāti un izmeklēti 72 h laikā.

SŠS mērīts ar laboratorijas instrumentālo fluorescentoptoelektronisko šūnu plūsmas citometrijas metodi termiski neapstrādātam pienam, izmantojot automātisko piena analizatoru Fossomatic FC (FOSS, Hilleroed, Dānija) (LVS EN ISO 13366-2:2007 aktuālā versija).

Tauku %, olbaltumvielu % un laktozes % saturs mērīts ar laboratorijas instrumentālo vidējo-infrasarkano staru spektrofotometrijas metodi, izmantojot lieljaudas pilnīgi automātisko analizatoru MilkoScan FT 6000 (FTIR, FOSS, Hilleroed, Dānija) un atbilstoši ISO standarta prasībām (ISO 9622/IDF141:2013 aktuālā versija). Urīnvielas koncentrācija (mg $dL^{-1}$) noteikta saskaņā ar laboratorijā validētu metodi MET-003.

### 2.2.4. Piena pārraudzības analīžu dati (B1, B2, B3)

Par katru pētījumā iekļauto govi piena pārraudzības dati iegūti no Latvijas lauksaimniecības datu centrā no govju cilts kartiņām. Pētījuma blokā B1 datu kopa papildināta ar pētījuma veikšanas aktuālajos mēnešos piena pārraudzībā reģistrēto govs izslaukumu, somatisko šūnu skaitu, tauku %, olbaltumvielu % un laktozes % saturu. Pētījuma blokā B2 datu kopa papildināta ar somatisko šūnu skaita rādītājiem pētījuma veikšanas aktuālajā mēnesī. Pētījuma blokā B3 datu kopa papildināta ar piena pārraudzībā reģistrēto govs izslaukumu, somatisko šūnu skaitu, tauku %, olbaltumvielu % un laktozes % saturu par pašreizējo mēnesi, kad uzsākta donorgovs sagatavošana multiplās ovulācijas ierosināšanai, kā arī vienu mēnesi iepriekš reģistrēto govs izslaukumu, somatisko šūnu skaitu, tauku %, olbaltumvielu % un laktozes % saturu.

### 2.2.5. Slaukšanas robota sensoru reģistrēto datu iegūšana no ganāmpulka pārvaldības sistēmas (B1; B2)

Pētījuma bloka B1 izstrāde veikta piena ražošanas saimniecībās ar viena ražotāja automātiskās slaukšanas sistēmu (VMS, DeLaval, Zviedrija). Piena elektrovadītspējas mērījumi un izslaukuma dati reģistrēti govs slaukšanas laikā piena plūsmai no tesmeņa ceturkšņiem. Papildus reģistrēti slaukšanas intervālu garumi un OCC rezultāti (S1) katrai govij, kā arī notikušo slaukšanas reižu skaits dienā. Visi dati par trīs nedēļu garu periodu, izņemot MDi datus, no slaukšanas robota datora apkopoti ganāmpulka pārvaldības sistēmā un iegūti no sistēmas pilnā datu dublējuma kopijas par trīs nedēļas garu periodu. MDi datu dinamikas izpēte veikta 2010. gada oktobrī. Dati apkopoti vienreiz dienā, saglabājot ganāmpulka pārvaldības sistēmas ekrānuzņēmumus, jo MDi tika aktualizēts katrā slaukšanas reizē un iepriekšējās vērtības sistēmā neuzkrājas.

Pētījuma bloka B2 izstrādes laikā uz vietas saimniecībā S3 no slaukšanas robotu (Astronaut A4, Lely, Nīderlande) datoriem tika saglabāts ziņojums par somatisko šūnu skaitu, kas mērīts ar viskozitātes metodi, kā arī govs identifikācijas numurs un slaukšanas laiks.

### 2.2.6. Govs vispārējā un speciālā izmeklēšana (B3)

Tika noskaidrota katras donorgovs anamnēze par laiku kopš pēdējās atnešanās. Pirms uzsāka multiplās ovulācijas inducēšanu, veica vispārējo klīnisko izmeklēšanu un ginekoloģisko izmeklēšanu. Multiplās ovulācijas inducēšanai tika izmantotas tikai praktiski veselas govis, bez ginekoloģiskām slimībām, ko noteica, veicot rektālu izmeklēšanu, dzemdes un olnīcu ultrasonogrāfiju. Pirms multiplās ovulācijas inducēšanas govij bija novēroti divi normāla garuma meklēšanās cikli. Govs ķermeņa kondīcijas vērtēšana veikta pēc 5 punktu skalas ar soli 0.25 (Ferguson, Galligan et al., 1994). MO inducēšanu uzsāka, ja donorgovs ķermeņa kondīcija bija robežās no 1.50 līdz 4.50 punktiem. Govju asinīs ar ekspresmetodi (Free Style Optium Neo, Abbot Laboratories Ltd, Lielbritānija) mērīja β-hidroksibutirāta (BHB) koncentrāciju. Pētījumā neiekļāva govis ar BHB > 1.2 mmol $L^{-1}$.

### 2.2.7. Asiņu bioķīmisko, hematoloģisko un hormonu rādītāju noteikšana (B3)

Asiņu paraugus seruma bioķīmisko rādītāju, hematoloģisko rādītāju un progesterona (P4) koncentrācijas noteikšanai no visām donorgovīm ieguva MO indukcijas uzsākšanas dienā. Atkārtoti asiņu paraugi P4 noteikšanai turpmāk noņemti pirms PGF2α injicēšanas, 1.mākslīgās apsēklošanas (MA), 2.MA dienā un embriju izskalošanas (EF) dienā. Asiņu paraugus noņēma 7 mL vakuteineros (HumaTube Serum C/A (z), Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Vācija), punktējot *vena caudalis lateralis superficialis*. Pēc noņemšanas paraugus ievietoja portatīvā aukstuma kamerā (Model CNG01-B, Tortona Alexandria, Itālija) uz ledus elementiem temperatūrā, kas nav augstāka par +4 °C uz 4-8 h. Paraugus centrifugēja 12 min (1500 apgriezieni $min^{-1}$), lai atdalītu serumu, ko uzreiz nogādāja laboratorijā bioķīmisko rādītāju noteikšanai, kā arī daļu dekantēja atsevišķā stobriņā, lai to uzglabāja -20 °C temperatūrā līdz P4 koncentrācijas mērīšanai. Asiņu serumā tika mērīti šādi metabolīti un elektrolīti: kopējais proteīns (TP), albumīns, urīnviela, kreatinīns (CREA), aspartāta aminotransferāze (AST), alanīna aminotransferāze (ALT), sārmainā fosfatāze (ALP), laktāta dehidrogenāze (LDH), gamma glutamiltransferāze (GGT), holesterols (CHOL), triglicerīdi (TRG), kalcijs (Ca), magnijs (Mg), fosfors (P), kālijs (K), nātrijs (Na), un hlorīdi (Cl). Seruma bioķīmijas analīzes veica akreditētā laboratorijā SIA "Centrālā laboratorija".

Seruma P4 analīzes veica Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā "'BIOR" ar VIDAS® Progesterona enzimātisko fluorescences imūntestu (Biomerieux SA, RCS Lyon, Francija). Analīžu iekšējās un ārējās rezultātu izkliedes koeficients <5%. P4 mērījumu diapazons no 0.80 nmol $L^{-1}$ līdz 254.40 nmol $L^{-1}$, ar noteikšanas slieksni 0.80 nmol $L^{-1}$. Paraugi ar P4 koncentrāciju >254.4 nmol $L^{-1}$ tika atšķaidīti ½ un analizēti vēlreiz.

Bioķīmisko un hematoloģisko rādītāju references vērtības iegūtas no vispāratzītiem literatūras avotiem (Kaneko, Harvey et al., 2008; Latimer, 2011).

### 2.2.8. Multiplās ovulācijas inducēšana, embriju ieguve un novērtēšana (B3)

Visas B3 pētījumu bloka govis tika pakļautas multiplās ovulācijas (MO) izraisīšanai vienu reizi, ne ātrāk kā 80 dienas pēc govs atnešanās. Visas govis presinhronizēja ar divām prostaglandīna F2 alpha (PGF2α) analoga – kloprostenola injekcijām (Oestrophan; Bioveta, Čehija) deva 500 µg intramusculāri (im) ar 14 dienu starplaiku. Dzimumcikla 9 līdz 12 dienā govīm uzsāka MO inducēšanu pēc diviem atšķirīgiem standartizētiem superovulācijas protokoliem (Hasler et al., 1983). Saskaņā ar pirmo protokolu (6 govis) lietoja grūsno ķēvju asiņu sēruma gonadotropīnu jeb zirgu horiongonadotropīnu (eCG) (Folligon; Intervet

International B.V. Nīderlande) devā 2000 IU im. Saskaņā ar otro (24 govis) lietoja kombinētu līdzekli, kas satur cūku folikulus stimulējošo hormonu (pFSH) un cūku luteinizējošo hormonu (pLH) (Stimufol; Reprobiol SPRL, Beļģija). Kopējā Stimufol 10 mL deva uz dzīvnieku saturēja 500 µg pFSH and 100 µg pLH, kas tika aplicēta astoņu secīgu ar 12 h intervālu im injekciju veidā 4 dienu laikā krītošās devās (1.4, 1.4, 1.2, 1.2,1.0, 1.0, 1.0, 1.0 mL).

*Corpus luteum* luteolīzi ierosināja ar PGF2α 500 µg im 48 h pēc eCG (pirmais protokols) vai vienā laikā ar pFSH 6. injekciju (otrais protokols). Govs divreizēju mākslīgo apsēklošanu (MA) izdarīja 48 h un 60 h pēc PGF2α injekcijas, bet, ja govs turpināja izrādīt meklēšanās pazīmes, 12 h vēlāk veica atkārtotu MA.

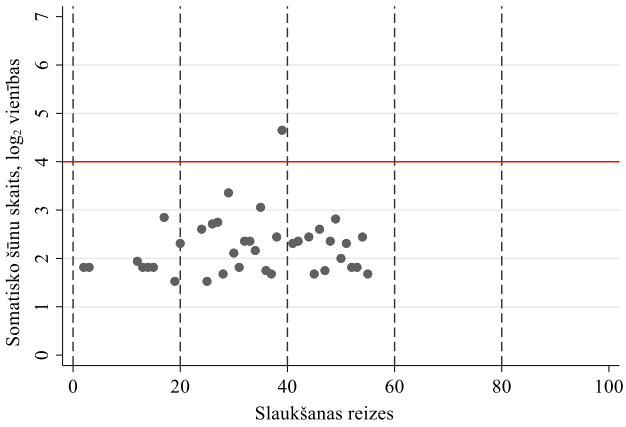
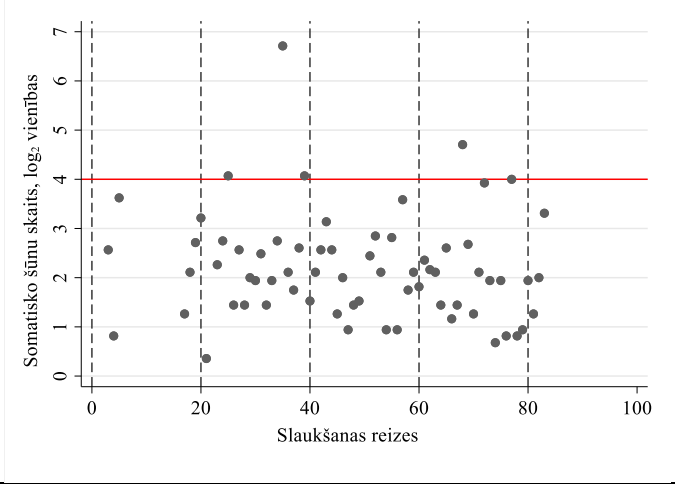
Embriju izskalošanas dienā, kas ir 7. diena pēc pirmās MA, noteica donora olnīcās esošo *corpus luteum* skaitu, lietojot ultrasonogrāfisko skeneri ar lineāro 5 MHz intrarektālo zondi. Lai novērstu dzīšanos, epidurāli lietoja 100 mg prokaīna hidrohlorīdu (5 mL Procamidor 20 mg $mL^{-1}$, Richter Pharma AG, Austrija). Embriju izskalošanai pielietoja divvirzienu silikona ET katetru ar Y savienotāju un embriju filtru. Katru dzemdes ragu izskaloja ar BoviFlusch Recovery Medium (Minitüb GmbH, Vācija), patērējot nepārtrauktā plūsmā 500 mL un filtrējot caur EmGuard System for Embryo Collection Bovine/Equine (Minitüb GmbH, Vācija). Filtru sistēmu ar iegūto materiālu pārvietoja uz atsevišķu tīru telpu. Pēc filtra atvienošanas veica tā skalošanu un šķīduma pārnešanu uz vairākām Petri platēm. Petri plates caurskatīja desmit reižu palielinājumā ar stereomikroskopu (Nikon, Japan), lai atrastu embrijus. Atrastos embrijus ar speciālas pipetes palīdzību pārnesa mazākās Petri platēs 5 mL speciālā embriju kultivēšanas šķīdumā BoviHold medium (Minitube GmbH, Vācija), tos turēja istabas temperatūrā līdz to kvalitātes novērtēšanai mikroskopā 100 reižu palielinājumā. Embrijus pēc to morfoloģiskām pazīmēm iedalīja: neapaugļotas olšūnas (1. attīstības pakāpe), embriji līdz morulas stadijai (2. attīstības pakāpe) morulas (3. attīstības pakāpe), kompaktās morulas (4. attīstības pakāpe), agrīnās blastocistas (5. attīstības pakāpe) blastocistas (6. attīstības pakāpe), paplašinātās blastocistās, t.i., embriji pirms iznākšanas no *zona pellucida* (7. attīstības pakāpe), un izšķīlušies embriji, kas iznākuši ārpus *zona pellucida* (8. attīstības pakāpe). Embriju kvalitāti noteica klasēs (1.klase = teicams, 2.klase = labs, 3.klase = viduvējs, 4.klase = slikts un 5.klase = deģenerēts) atbilstoši tam, kā to ir aprakstījuši Bó un Mapletoft (2013). Kopējais embriju skaits (nE) tika aprēķināts summējot visas attīstības pakāpes un visu kvalitātes klašu embrijus, tai skaitā deģenerētos embrijus. Transferencei derīgo embriju skaitu aprēķināja summējot visus pirmās, otrās un trešās klases embrijus, kas ir piemēroti tiešai embriju pārnešanai uz recipientu vai sasaldēšanai (Bó & Mapletoft, 2013a).

Ceturtajā dienā pēc embriju izskalošanas donoriem injicēja PGF2*α* im, lai izsauktu *corpus luteum* luteolīzi un atjaunotu meklēšanās cikliskumu (Viana, Vargas et al., 2016).

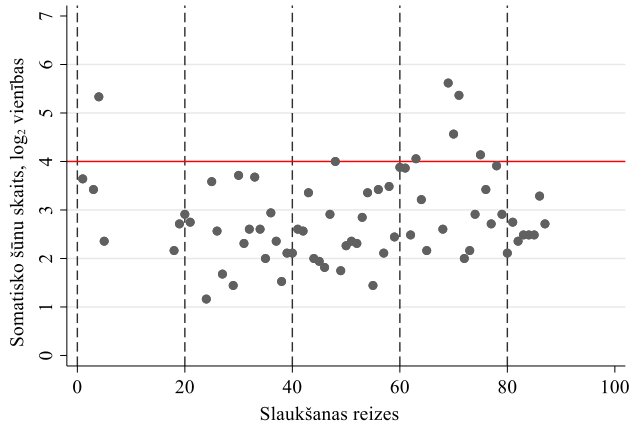
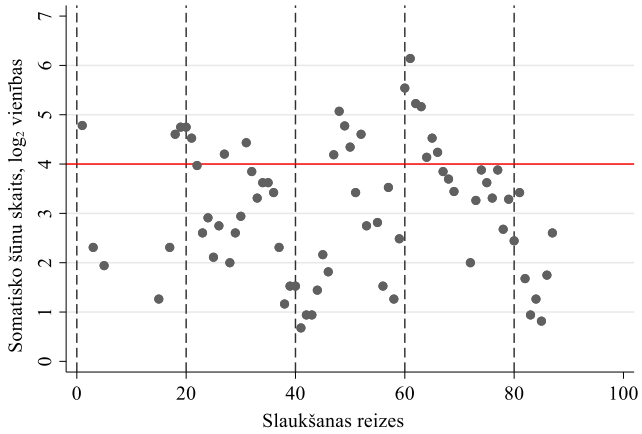
### 2.3. Govs SŠS individuālās dinamikas tipa noteikšana (B1)

Apkopojot OCC mērījumu rezultātus, kas automātiskajā slaukšanas sistēmā ir iegūstami katrā slaukšanas reizē, un attēlojot grafiski, katras govs somatisko šūnu skaita svārstības parāda individuālās dinamikas tendences, kuras šajā pētījumā ir aprakstītas kā četri SŠS individuālās dinamikas tipi (2.5. tabula). Rezultāti attēloti pēc SŠS izteikšanas vērtējuma punktu skalā SCS. Atkarībā no SCS punktu izkliedes un novietojuma attiecībā pret robežvērtību SCS = 4, kas atbilst SŠS = 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, govis iedalīja četros SŠS individuālās dinamikas tipos (grupās). Katrs attēls parāda vienu raksturīgu piemēru no katra dinamikas tipa. Slaukšanas robota datorprogrammā ir iespēja mainīt SŠS mērījumu biežumu gan uzreiz visai govju grupai, gan katrai govij individuāli. Ir nodrošināta iespēja uz laiku pārtraukt mērījumu izpildi, lai tādā veidā samazinātu iekārtas darbībai nepieciešamā reaģenta šķīduma patēriņu, un automātiski atsākt somatisko šūnu skaita mērījumu katrā slaukšanas reizē, tiklīdz ir konstatēta tesmeņa veselības trauksme, piemēram, straujš izslaukuma samazinājums vai augsta MDi vērtība.

2.5. tabula. **Četri somatisko šūnu skaita individuālās dinamikas tipi un to vērtēšanas kritēriji**

| SŠS svārstības pa govs slaukšanas reizēm | Dinamikas tipa nosaukums un raksturojums |
|---|---|
|  | **Dinamika zem robežvērtības** (1.tips). Piemērs: govs nr.7292 ar pastāvīgi zemu SŠS pienā. |
|  | **Dinamika zem robežvērtības ar īslaicīgu paaugstināšanos** (2.tips). Piemērs: govs nr.7248 ar sporādiskiem SŠS paaugstinājumiem atsevišķās slaukšanas reizēs, kaut arī vairumā no slaukšanas reizēm SCS < 3, kas atbilst SŠS < 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. |

(2.5. tabulas turpinājums)

| SŠS svārstības pa govs slaukšanas reizēm | Dinamikas tipa nosaukums un raksturojums |
|---|---|
|  | **Dinamika pie robežvērtības** (3.tips). Piemērs: govs nr.7467 ar SŠS epizodisku kāpumu, jo laikā no 60 līdz 80 slaukšanas reizei novērots īslaicīgs SCS kāpums, kam seko atgriešanās iepriekšējā vērtību diapazonā. |
|  | **Dinamika plašā diapazonā zem un virs robežvērtības** (4.tips). Piemērs: govs nr.7071 ar SŠS svārstībām plašā diapazonā zem un virs robežvērtības un vairāk nekā 30% gadījumu pārsniedz robežvērtību SCS > 4, kas atbilst SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. |

Tabulā parādītajiem SŠS individuālās dinamikas piemēriem (2.5. tabula) laika ass ar vertikālām līnijām ir sadalīta pa posmiem, kuru garums aptver 20 slaukšanas reizes. Lai arī ne visās slaukšanas reizēs ir veikta SŠS mērīšana ar OCC, tomēr šāds laika posms ir minimālais ilgums OCC rezultātu svārstību salīdzināšanai, lai novērtētu SŠS individuālās dinamikas tipu konkrētai govij, kā arī lai pēc laika vērtētu tā izmaiņas.

## 2.4. Datu statistiskā apstrāde

Lai novērtētu atsevišķu govju somatisko šūnu skaita (SŠS) dinamiku, ar OCC noteica SŠS katrā slaukšanas reizē viena mēneša laikā (no 2009. gada 24. septembra līdz 24. oktobrim). Dati tika apkopoti ganāmpulka pārvaldības sistēmā un iegūti no slaukšanas robota datu dublējuma datnēm. Pētījumā tika iekļautas 35 govis, kurām pastāvīgi bija mērīts SŠS un regulāri veikta slaukšana, t. i., vismaz 60 slaukšanas reizes mēnesī. Lai SŠS rezultāti atbilstu normālajam datu sadalījumam, SŠS tika konvertēts uz somatisko šūnu skaita vērtējuma (SCS), standartizētām $log_2$ vienībām pēc formulas (1) vai gadījumos, ja kādai govij konstatē ļoti zemu SŠS ≤ 12 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, tad SCS=0. Pēc konvertēšanas SŠS robežvērtība 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ atbilst SCS = 4.0 $log_2$ vienībām (Shook, 1993).

$$SCS = \log_2(SŠS \times 10^{-5}) + 3 \quad (1)$$

SCS – somatisko šūnu skaita vērtējums, $\log_2$ vienības;
SŠS – somatisko šūnu skaits, šūnas $mL^{-1}$.

Lai raksturotu viskozitātes metodes izmantošanas efektivitāti tādu govju atpazīšanai, kurām pienā ar laboratorijas instrumentālo metodi konstatēts SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, tika izvērtēts pēc abām metodēm iegūto rezultātu kopējās sakritības līmenis, aprēķinot Koena kappa koeficienta vērtību. Koena Kappa koeficienta interpretācija veikta pēc Landisa un Koha skalas (Landis & Koch, 1977):

vāja sakritība $k \leq 0.20$;
nosacīta sakritība $0.21 \leq k \leq 0.40$;
viduvēja sakritība $0.41 \leq k \leq 0.60$;
būtiska sakritība $0.61 < k \leq 0.80$;
ļoti laba sakritība $k > 0.80$.

Tāpat iegūtajiem rezultātiem tika aprēķināts arī kļūdaini pozitīvo un kļūdaini negatīvo vērtējumu biežums.

Lai raksturotu viskozitātes metodes SŠS rezultātu kvantitatīvo atbilstību, salīdzinot ar laboratorijas instrumentālās metodes rezultātiem, tika aprēķināts Lina konkordances korelācijas koeficients visām piecām slaukšanas reizēm un salīdzinātas šī koeficienta vērtības katrai reizei atsevišķi, kā arī vidējām vērtībām no divām, trijām un piecām reizēm ap pārraudzības kontroles testa atskaites reizi. Lina koeficienta aprēķināšana veikta, izmantojot STATA programmas paplašinājumu, ko izstrādājuši Šteihens T.J. un Koks N.J. (Steichen & Cox, 2002). Lina konkordances korelācijas koeficienta interpretācija veikta pēc MakBraida skalas (Lin, McBride et al., 2005):

vāja sakritība $r < 0.90$;
viduvēja sakritība $0.90 \leq r \leq 0.95$;
augsta sakritība $0.95 < r \leq 0.99$;
pilnīga sakritība $r > 0.99$.

Ar viskozitātes metodi noteiktā SŠS sakritība ar laboratorijas instrumentālo metodi pārraudzības kontroles dienā novērtēta grafiski, attēlojot rezultātus Bland-Altmana diagrammā (Watson & Petrie, 2010).

MDi dinamika tika apkopota un salīdzināta ar dispersijas analīzes ANOVA metodi atkārtotiem mērījumiem. Visā pētījumu gaitā atšķirības starp grupām tika uzskatītas par nozīmīgām, ja $p < 0.05$.

Mastīta ierosinātāja klātbūtnes parādīšanās, t.i., nebija konstatēts pirmajā paraugu ņemšanas reizē, bet ir konstatēts otrajā paraugu ņemšanas reizē, konkrētas govs tesmeņa ceturkšņa pienā vērtēta kā iespējamība (angl. *odds*), kas interpretējama saistībā ar neatkarīgiem mainīgajiem lielumiem – govs laktāciju skaits (1.laktācija, 2.laktācija, ≥3. laktācija), laktācijas ilgums (305 dienu standarta laktācija, pagarināta laktācija ar >305 dienām), piena tauku%, olbaltumvielu %, laktozes %, urīnvielas saturs pienā mg $dL^{-1}$, SCS pirmajā un otrajā piena paraugu iegūšanas reizē. Daudzu faktoru loģistiskās regresijas analīze veikta datorprogrammā Stata (*StataCorp LP, 4905 Lakeway Drive, College Station TX77845, USA, version Stata BE 17.0 for Windows*). Atbilstoši tam, kā aprakstīts metodiskajā literatūrā (Dohoo, Martin et al., 2010a), visi neatkarīgie mainīgie lielumi vispirms pārbaudīti ar viena faktora loģistiskās regresijas metodi, atlasot potenciālos faktorus iekļaušanai daudzfaktoru modelī, ja par atlases kritēriju tiek ņemts paaugstināts pētījuma nozīmīguma līmenis alfa 0.25. Lai katram daudzfaktoru modelī iekļautajam neatkarīgajam mainīgajam lielumam izvērtētu nozīmīgumu, tika salīdzināta situācija pirms un pēc šī rādītāja iekļaušanas modelī, izmantojot iespējamību attiecības testu (likelihood-ratio test) un būtiskuma līmeni alfa 0.05. daudzfaktoru multiplās

regresijas modelī neiekļautie mainīgie lielumi pa vienam tika atgriezti atpakaļ, lai pārliecinātos, ka tie nav kļuvuši nozīmīgi citu ietekmējošo faktoru klātbūtnē. Nulles hipotēzes tika noraidītas, ja aprēķinātā p-vērtība bija zemāka par būtiskuma līmeni 0.05.

Pīrsona Hī-kvadrāta tests izmantots, lai salīdzinātu ierosinātāju grupu sastopamības sadalījumu gadījumu un kontroles grupās. Lai savā starpā izvērtētu atšķirības starp mazākām apakšgrupām ($n \leq 5$), izmantots Fišera eksaktais tests.

Visā darbā pētījuma datu apstrādei un izvērtēšanai pielietotas datorptogrammas MS Excel un STATA BE 17.0 – aprakstošās statistikas rādītāji, datu grafiskā prezentācija, regresijas analīze, statistisko hipotēžu pārbaude.

Multiplās ovulācijas (MO) sekmes, jeb atbildes reakciju uz MO inducēšanu vērtēja pēc *corpus luteum* skaita (nCL), summējot kreisajā un labajā olnīcā novērotos CL embriju izskalošanas dienā. Atbildes reakciju uz MO inducēšanu uzskatīja par sekmīgu, ja $nCL \geq 3$.

Lai statistiski izvērtētu sakarību starp nCL (nCL modelis) un sēruma bioķīmiskiem rādītājiem, piena SŠS, govs izslaukumu, laktāciju skaitu un apkārtējās vides gaisa temperatūru pirms MO inducēšanas, izmantoja daudzfaktoru negatīvās binomiālās regresijas modeli (MNBR). Govs šķirni automātiski iekļāva modelī kā blakusfaktoru, neraugoties uz tā statistiskā nozīmīguma līmeni. MNBR modeļa veidošana un testēšana veikta, izmantojot metodiskajā literatūrā dotos norādījumus un piemērus (Dohoo, Martin et al., 2010b).

Līdzīgā veidā MNBR metode izmantota interpretējot nE un nTE, attiecīgi modelis nE un modelis nTE, potenciāli ietekmējošos faktorus: progesterona (P4), 17ß-estradiola (E2) līmeni, asiņu bioķīmiskos rādītājus, hematoloģiskos rādītājus, ķermeņa kondīciju (BCS), laktāciju skaitu, apkārtējo gaisa temperatūru, piena SŠS, izslaukumu, piena tauku, un olbaltumvielu saturu.

Govs laktāciju skaitu MNBR modeļos iekļāva kā dihotomu mainīgo lielumu, izšķirot jaunākos donorus (teles un pirmpienes), ko salīdzināja ar vecākiem donoriem (vairāku laktāciju govis).

Atbilstoši tam, kā aprakstīts metodiskajā literatūrā (Chorfi, Lanevschi et al., 2007; Dohoo, Martin et al., 2010a, 2010b), visi neatkarīgie mainīgie lielumi vispirms pārbaudīti ar viena faktora NBR regresijas metodi, atlasot potenciālos faktorus iekļaušanai daudzfaktoru modelī, ja par atlases kritēriju tiek ņemts paaugstināts pētījuma nozīmīguma līmenis alfa 0.20.

## 2.5. Pētījuma gaitas apraksts

Visā pētījuma gaitā (2.6. tabula) somatisko šūnu skaits govs pienā ir analizēts kā indikators produktīvai govs tesmeņa darbībai kvalitatīva piena ieguvei un arī labvēlīgai ietekmei uz govs reproduktīvās sistēmas spējām, konkrēti, multiplo ovulāciju un transferencei derīgu embriju ieguvi. Noslēdzošais pētījuma bloks B3 ir paredzēts, lai pārbaudītu hipotēzi par to, ka govīm ar optimālu somatisko šūnu skaitu pienā un veselu tesmeni ir sagaidāmi labāki reprodukcijas rezultāti. Ņemot vērā to, ka šīs tēmas izstrādes gaitā bija unikāla iespēja pētīt apdraudētu šķirņu ģenētisko resursu govis, kuras izmitinātas daudzās saimniecībās visā valsts teritorijā, ir noprotams, kāpēc tās nav pētījuma laikā slauktas slaukšanas robotā. Pētījuma dizains, izstrādes gaita, un rezultātu publicēšanas laiks ir parādīts tabulā (2.6. tabula).

2.6. tabula. **Pētījuma izpildes gaita pa gadiem atbilstoši darba uzdevumiem, materiāla iegūšanai un rezultātu publicēšanai**

| Darba uzdevums | Dzīvnieku bloks | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 - 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 | 2021-2022 | 2023 | Pētījuma dizains un rezultātu vērtēšana |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Izpētīt MaP un MiP ietekmi piena dziedzerī uz SŠS paaugstināšanos govs pienā subklīniskas intramammārās infekcijas gadījumos; | B1, n=45 | ■ | ■ | ■ | | | | | | | ▼ | Gadījuma – kontroles pētījums. Loģistiskā regresija. |
| 2. Novērtēt OCC precizitāti, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, un analizēt OCC rezultātu mainību vairākās secīgās govs slaukšanas reizēs; | | ■ | ▼ | | ▼ | | | | | | | Diagnostiskās metodes atbilstības kvalitatīvs izvērtējums. SŠS dinamikas salīdzinājums atkarībā no mastīta ierosinātāja klātbūtnes un MDi. |
| 3. Novērtēt MDi vispārējo efektivitāti, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ un mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā, kā arī salīdzināt MDi robežvērtības nepietiekamas kvalitātes piena automātiskai novirzīšanai; | | | ■ | | | ▼ | | | | | | |
| 4. Novērtēt slaukšanas robotā integrēta SŠS noteikšanas sensora MQC-C2, kas darbojas pēc viskozitātes principa, mērījumu precizitāti un vispārējo diagnostisko sakritību ar laboratorijas instrumentālo metodi, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ praktiskos piena ražošanas saimniecības apstākļos; | B2, n=111 | | | | | | ■ | ▼ | | | | Diagnostiskās precizitātes izvērtējums ar Koena kappa koeficienta, Lina konkordances korelācijas un Bland-Altmana metodēm. |
| 5. Izvērtēt *corpus luteum* skaitu pēc multiplās ovulācijas, kopējo iegūto embriju skaitu un transferencei derīgo embriju skaitu atkarībā no SŠS donorgovs pienā, kā arī vērtēt SŠS rādītāja pielietojumu donoru atlasē. | B3, n=30 | | | | | ■ | ■ | ■ | ▼ | ▼ | | Šķērsgriezuma pētījums. Negatīvā binomiālā regresija. |

■ - materiāla iegūšana;
▼ - rezultātu publicēšana.

Pētījuma izstrādes laiks un trīs unikāli pētījuma materiāla bloki, kas ir tematiski vienoti jautājumā par SŠS vērtēšanas dažādo tehnisko risinājumu iespējām, ir nepieciešami, lai parādītu SŠS rezultātu kompleksās vērtēšanas zinātnisko nozīmi un praktiskā pielietojuma aspektus govju tesmeņa veselības uzlabošanā un govju šķirņu saglabāšanā, kas ir svarīgi gan veterinārmedicīnas, gan lopkopības nozaru attīstībai un ciešākai sadarbībai.

# 3. PĒTĪJUMA REZULTĀTI

## 3.1. Piena SŠS atkarībā no ierosinātāja klātbūtnes un MDi

Pētījuma bloka B1 datu kopu veido rezultāti, kas iegūti, veicot atkārtotu tesmeņa ceturkšņa līmeņa bakterioloģisko izmeklēšanu (majorpatogēno un minorpatogēno mastīta ierosinātāju klātbūtni), sastāva testēšanu (piena tauku %, olbaltumvielu %, laktozes %, urīnvielas saturs) un somatisko šūnu skaits (SŠS), kas mērīts ar laboratorijas instrumentālo metodi akreditētā laboratorijā, 45 govīm no diviem ganāmpulkiem dažādās Latvijas vietās.

Govs tesmeņa ceturkšņus klasificēja pēc IMI statusa, ko noteica bakterioloģiskā izmeklēšanas rezultātu interpretācija. Mastīta ierosinātāja klātbūtnei izšķirti trīs tipi: ilgstoša klātbūtne pienā (ierosinātāju var izolēt atkārtotas pārbaudes laikā), epizodiska klātbūtne (atkārtotas pārbaudes laikā nav izolēts) un ierosinātāja klātbūtni nekonstatē. No majorpatogēniem ierosinātājiem (MaP) šajā pētījumā izolēti koagulāzes pozitīvi stafilokoki, *Streptococcus uberis*, eskulīna pozitīvi streptokoki un *Enterococcus spp.*, bet no minorpatogēniem mastīta ierosinātājiem – koagulāzes negatīvi stafilokoki un *Corynebacterium spp.* Tomēr atsevišķos gadījumos konstatēja jauktu infekciju vai viena ierosinātāja nomaiņu uz citu ierosinātāju 10…14 dienu laikā.

Kopskaitā uz MiP un MaP klātbūtni izvērtēti 176 tesmeņa ceturkšņi no 45 govīm (41 govij funkcionēja visi četri piena dziedzeri, bet četrām govīm funkcionēja trīs piena dziedzeri) (3.1. tabula).

3.1. tabula. **Majorpatogēno (MaP) un minorpatogēno (MiP) mastīta ierosinātāju sastopamība tesmeņa ceturkšņu pienā gadījumu un kontroles grupu govīm divās izmeklēšanas reizēs**

| Ierosinātāja klātbūtnes pastāvīgums | Ierosinātāja grupa | | Tesmeņa ceturkšņi (n) ($G^1/K^2$) |
|---|---|---|---|
| | pirmajā paraugā[3] | otrajā paraugā | |
| Ilgstoša klātbūtne | MaP | MaP | 10 (4/6) |
| | MiP | MiP | 74 (37/37) |
| Epizodiska klātbūtne | MaP | Neg | 2 (1/1) |
| | Neg | MaP | 2 (2/0) |
| | MaP | MiP | 8 (8/0) |
| | MiP | Neg | 9 (4/5) |
| | Neg | MiP | 25 (8/17) |
| | MiP | MiP[4] | 6 (2/4) |
| Negatīva atrade | Neg | Neg | 40 (15/25) |
| Kopā | … | … | 176 (81/95) |
| Grupu salīdzinājums ($G^1/K^2$) p-vērtība | … | … | P=0.028 |

[1] gadījumu grupas govis ar MDi ≥ 1.4;
[2] kontroles grupas govis ar MDi < 1.4;
[3] pirmais paraugs iegūts no tesmeņa ceturkšņiem pētījuma sākumā, bet otrs paraugs 10 līdz 14 dienas vēlāk;
[4] otrajā paraugā konstatēts cits MiP.

No visiem tesmeņu ceturkšņiem abās izmeklēšanas reizēs desmit ceturkšņi (5.7%) uzrādīja ilgstošu MaP klātbūtni un 74 (42.0%) ceturkšņi - ilgstošu MiP klātbūtni. Tādējādi ilgstoša mastīta ierosinātāja klātbūtne bija apstiprināta 47.7% no piena dziedzeriem (84/176). Turpretī epizodisku MaP konstatēja 12 tesmeņa ceturkšņos (6.8%) un epizodisku MiP klātbūtni - 40 ceturkšņos (22.7%). Pārējie 40 piena dziedzeri (22.7%) bija bez pozitīvas bakterioloģiskās atrades abās paraugu iegūšanas reizēs. Tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0.05$) mastīta ierosinātāju grupu sastāvā, salīdzinot gadījumu grupas (G) govis ar augstu un kontroles

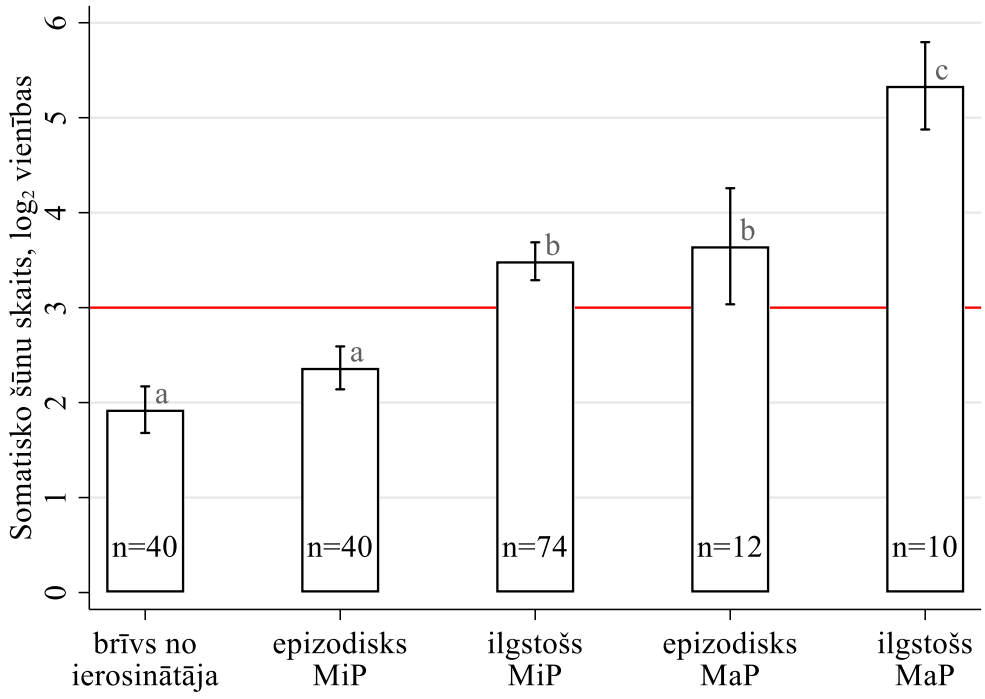
grupas (K) govis ar zemu sākotnējo MDi vērtību. Lielākā atšķirība konstatējama starp to, cik bieži konstatēta epizodiska MaP klātbūtne pienā, kā arī negatīva bakterioloģiskā atrade. Turpretī ilgstošam MiP abās grupās bija vienāds skaits – 37 ilgstoša MiP ceturkšņi gadījumu grupas govīm un tikpat daudz ilgstoša MiP ceturkšņi arī kontroles grupas govīm (3.2. tabula).

3.2. tabula. **Majorpatogēno (MaP) un minorpatogēno (MiP) mastīta ierosinātāju izvietojums govju tesmeņa ceturkšņos**

| Mastīta ierosinātājs | Skarto tesmeņa ceturkšņu skaits (%) | Skaita sadalījums grupās G[1] / K[2] |
|---|---|---|
| Ilgstošs MaP | 10 (5.7%) | 4 / 6 |
| Ilgstošs MiP | 74 (42.0%) | 37 / 37 |
| Epizodisks MaP | 12 (6.8%) | 11 / 1 |
| Epizodisks MiP | 40 (22.7%) | 14 / 26 |
| Brīvs no ierosinātāja | 40 (22.7%) | 15 / 25 |
| Kopā | 176 (100%) | 81 / 95 |
| Atšķirības nozīmīgums starp gadījumu un kontroles grupu | … | P=0.008 |

[1] gadījumu grupa, govis ar MDi ≥ 1.4;
[2] kontroles grupa, govis ar MDi < 1.4.

MaP un MiP klātbūtnei tesmeņa ceturkšņu pienā divās paraugu noņemšanas reizēs ir izteikta sakarība ar SŠS. Attēlā parādīts (3.1. att.), ka vidējais SŠS vērtējums punktos ir atkarīgs no mastīta ierosinātāja grupas un klātbūtnes pastāvīguma. Viszemākais SCS, nepārsniedzot 3 $\log_2$ vienības jeb 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, konstatēts pienā no ceturkšņiem, kas ir brīvi no mastīta ierosinātājiem abās piena paraugu ņemšanas reizēs un līdzīgi zems SCS arī tesmeņa ceturkšņu pienā ar epizodisku MiP klātbūtni. Nozīmīgi augstāku ($p < 0.05$) vidējo SCS, kas tomēr nepārsniedz 4 $\log_2$ vienības jeb 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$, konstatēja ilgstoša MiP klātbūtnes gadījumos, kā arī tiem tesmeņa ceturkšņiem, kuru pienā novērota epizodiska MaP klātbūtne pirmajā vai otrajā paraugu iegūšanas reizē. Epizodiska MaP klātbūtnei vidējā SŠS vērtība ir ar augstu mainību, tāpēc nevar izslēgt, ka tā var būt arī augstāka par 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$. Visaugstākā SCS vidējā vērtība, kas pārsniedz 5 $\log_2$ vienības jeb 400 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ novērota pienam no tiem tesmeņa ceturkšņiem, kuros konstatē ilgstošu MaP klātbūtni.




3.1. att. **Vidējais aritmētiskais SCS govs tesmeņa ceturkšņu sākuma slaukuma pienā atkarībā no ierosinātāju klātbūtnes**

ierosinātāja klātbūtne pienā (audzi neveido / epizodiska / ilgstoša);
ierosinātāja grupa (majorpatogēni ierosinātāji - Map / minorpatogēnie ierosinātāji MaP);
stabiņi ar atšķirīgiem burtiem (a, b, c) parāda statistiski nozīmīgu atšķirību starp grupām ($p < 0.05$).

Apkopojot ceturkšņu piena bakterioloģiskās izmeklēšanas rezultātus govs tesmeņa līmenī, viens mastīta ierosinātājs skar 24.4% (11/45) no visām govīm pirmajā paraugu iegūšanas reizē, bet 35.6% (16/45) otrajā paraugu iegūšanas reizē (3.3. tabula). Vairāku patogēnu statuss ir sastopams visbiežāk: 64.5% (29/45) no visām govīm pirmajā paraugu iegūšanas reizē un 62.2% (28/45) otrajā paraugu iegūšanas reizē. No pirmās uz otro piena paraugu iegūšanas reizi ir mainījusies arī to govju proporcija, kurām visos četros ceturkšņos bakterioloģiskajā testēšanā konstatēta negatīva atrade, attiecīgi 11.1% (5/45) pirmajā un 2.2% (1/45) otrajā reizē. Kopumā novērotās procentuālās atšķirības starp pirmajā un otrajā reizē iegūtiem viena patogēna, vairāku patogēnu un negatīvas atrades govju statusiem neuzrāda nozīmīgas pārmaiņas 10…14 dienu laikā. Tomēr var atzīmēt īpatnības, kas novērotas attiecībā uz skarto tesmeņa ceturkšņu skaitu konkrētiem mastīta ierosinātāju veidiem. Koagulāzes pozitīvi stafilokoki un *Enterococcus spp.* parasti govij skar vienu, retāk divus, tesmeņa ceturkšņus. Koagulāzes negatīvi stafilokoki un eskulīna pozitīvi streptokoki konstatējami vienā vai divos ceturkšņos, bet ir arī tādas govis, kurām trīs ceturkšņi izdala ar pienu šos ierosinātājus. *Corynebacterium bovis* izvietojumam pa govs tesmeņa ceturkšņiem novērota lielākā dažādība, jo tas konstatējams gan kā viena ceturkšņa patogēns, gan divu, trīs un pat visu četru tesmeņa ceturkšņu pienā.

3.3. tabula. **Mastīta ierosinātāju izvietojums pa tesmeņa ceturkšņiem kā viena vai vairāku patogēnu klātbūtne**

| Vērtēšanas līmenis | Mastīta ierosinātāju izvietojums tesmeņa ceturkšņos un govs statuss pēc patogēnu skaita | Koagulāzes pozitīvi stafilokoki | Koagulāzes negatīvi stafilokoki | Eskulīna pozitīvi streptokoki | *Enterococcus spp.* | *Corynebacterium spp.* | Govis ($G^1$/ $K^2$) (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | Ierosinātājs konstatēts kādā no tesmeņa ceturkšņiem | Visiem tesmeņa ceturkšņiem negatīva atrade | Kopā |
| Pirmajā paraugu iegūšanas reizē | | | | | | | | | |
| Govs tesmenis | Viens patogēns | - | 3 | 1 | - | 7 | 11 (5/6) (24.4%) | 5 (1/4) (11.1%) | 45 (21/24) (100%) |
| | 1 ceturksnī | - | 1 | - | - | 3 | | | |
| | 2 ceturkšņos | - | 2 | - | - | 2 | | | |
| | 3 ceturkšņos | - | - | 1 | - | - | | | |
| | 4 ceturkšņos | - | - | - | - | 2 | | | |
| | Vairāki patogēni | [5][3] | [28][3] | [8][3] | [2][3] | [24][3] | 29 (15/14) (64.5%) | | |
| | 1 ceturksnī | 5 | 24 | 4 | 1 | 10 | | | |
| | 2 ceturkšņos | - | 2 | 2 | 1 | 7 | | | |
| | 3 ceturkšņos | - | 2 | 2 | - | 5 | | | |
| | 4 ceturkšņos | - | - | - | - | 2 | | | |
| Otrajā paraugu iegūšanas reizē | | | | | | | | | |
| Govs tesmenis | Viens patogēns | - | 3 | - | - | 13 | 16 (6/10) (35.6%) | 1 (1/0) (2.2%) | 45 (21/24) (100%) |
| | 1 ceturksnī | - | 1 | - | - | 3 | | | |
| | 2 ceturkšņos | - | 2 | - | - | 4 | | | |
| | 3 ceturkšņos | - | - | - | - | 2 | | | |
| | 4 ceturkšņos | - | - | - | - | 4 | | | |
| | Vairāki patogēns | [4][3] | [24][3] | [6][3] | [1][3] | [27][3] | 28 (14/14) (62.2%) | | |
| | 1 ceturksnī | 3 | 13 | 3 | 1 | 11 | | | |
| | 2 ceturkšņos | 1 | 7 | 1 | - | 9 | | | |
| | 3 ceturkšņos | - | 4 | 2 | - | 4 | | | |
| | 4 ceturkšņos | - | - | - | - | 3 | | | |

[1] gadījumu grupas govis ar MDi ≥ 1.4;
[2] kontroles grupas govis ar MDi < 1.4;
[3] šie skaitļi horizontālā virzienā nesummējas, jo vairāku patogēnu gadījumā, viens dzīvnieks ir atzīmēts tabulas vairākās kolonnās.

Mastīta ierosinātāja parādīšanās (ierosinātājs nebija konstatēts govs pienā pirmajā paraugu iegūšanas reizē, bet klātbūtne parādās otrajā piena paraugu iegūšanas reizē) tesmeņa ceturkšņos ir parādīta tabulā (3.4. tabula). Koagulāzes pozitīvi stafilokoki otrajā reizē parādījušies divām govīm vienā ceturksnī, bet tas nemaina govju statusu, jo arī līdz tam tās bija govis ar vairāku ierosinātāju statusu, respektīvi, vairākiem izolētiem mastīta ierosinātājiem pirmajā paraugu iegūšanas reizē. Otrajā piena paraugu iegūšanas reizē, kā redzams tabulā (3.4. tabula), 7 govīm konstatēja koagulāzes negatīvu stafilokoku parādīšanos, salīdzinājumā ar pirmo reizi. Piecām govīm tas nemainīja vairāku patogēnu statusu, turpretī divām govīm notika izmaiņas starp viena, vairāku un negatīvas atrades statusiem. *Corynebacterium bovis* parādījās 12 govīm otrajā reizē, salīdzinot ar pirmo piena paraugu iegūšanas reizi, turklāt 8 govīm mainījās statuss, bet četrām saglabājās vairāku patogēnu statuss.

3.4. tabula. **Mastīta ierosinātāja parādīšanās otrajā piena paraugu ņemšanas reizē salīdzinot ar pirmo reizi un IMI statusa izmaiņas**

| Mastīta ierosinātājs pienā | Govju skaits[1] | | | | Kopā (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| | nemainīgs IMI statuss | | IMI statusa izmaiņas | | |
| | viens patogēns | vairāki patogēni | viens patogēns | vairāki patogēni | |
| Koagulāzes pozitīvi stafilokoki | - | 2<br>2/0/0/0 | - | - | 2 |
| Koagulāzes negatīvi stafilokoki | - | 5<br>4/1/0/0 | 2<br>1/1/0/0 | - | 7 |
| *Corynebacterium spp.* | - | 4<br>2/2/0/0 | 5<br>0/5/0/0 | 3<br>2/0/1/0 | 12 |
| Ierosinātāju asociācija (Koagulāzes negatīvi stafilokoki un *Corynebacterium spp.*) | - | - | - | 1[2]<br>0/1/0/0 | 1 |
| Kopā govis ar ierosinātāja parādīšanos | - | 11 | 7 | 4 | 22 (48.9) |
| Govis bez mastīta ierosinātāja parādīšanās | 5 | 12 | 4 | 2 | 23 (51.1) |
| Govju kopskaits | 5 | 23 | 11 | 6 | 45 (100.0) |

[1] otrajā rindā parādīts govju skaits, kurām izmaiņas skar vienu/divus/trīs/četrus piena dziedzerus;
[2] katrs ierosinātājs atsevišķā tesmeņa ceturksnī.

Vēl 3.4. tabula ir redzams, ka šie *Corynebacterium spp.* parādīšanās gadījumi skar 4 govīm pa vienam piena dziedzerim (divas govis ar infekcijas statusa maiņu un divas bez statusa izmaņām), 7 govīm parādīšanās uzreiz noteikta divos tesmeņa ceturkšņos (5 ar statusa maiņu un 2 bez statusa maiņas). *Corynebacterium spp.* parādīšanās vienlaicīgi trijos tesmeņa ceturkšņos novērota vienai govij. Jāatzīmē, ka vairāku ierosinātāju parādīšanās, jeb ierosinātāju asociāciju konstatēšana otrajā piena paraugu iegūšanas reizē salīdzinot ar pirmo reizi, novērojām visai reti. Vienlaicīga korinebaktēriju un koagulāzes negatīvu stafilokoku parādīšanās, turklāt tesmeņa dažādos ceturkšņos, konstatēta tikai vienai govij. Rezumējot (3.4. tabula), apmēram pusei govju 48.9% (22/45) otrajā paraugu iegūšanas reizē bija konstatēta kāda ceturkšņa pienā jauna ierosinātāja epizodiska klātbūtne, kura nebija konstatējama pirmajā paraugu iegūšanas reizē. Tajā pašā laikā 51.1% (23/45) govju neuzrādīja jauna patogēna parādīšanos neviena tesmeņa ceturkšņa pienā. Tāpat ir zīmīgi, ka salīdzinot pārmaiņas attiecībā uz mastīta ierosinātāju klātbūtni tesmeņa ceturkšņu pienā relatīvi īsā laika posmā (līdz 14 dienām) parasti, t.i. 95.5% (21/22) gadījumu vērojama tikai viena mastītu ierosinātāja parādīšanās. Gadījums, kurā parādījās divi jauni ierosinātāji 4.5% (1/22) acīmredzot nav tipisks, apskatot IMI izplatīšanos.

Ilgstošas IMI sastopamības raksturojums vienā un tajā pašā tesmeņa ceturksnī pirmās un otrās piena paraugu iegūšanas laikā ir apkopots nākamajā tabulā (3.5. tabula). Ilgstoša kaut viena ierosinātāja klātbūtne kādā tesmeņa ceturksnī bija konstatēta 86.7% (39/45) no bakterioloģiski testētajām govīm, proti, četrām govīm koagulāzes negatīvi stafilokoki, 18 govīm *Corynebacterium spp.* un vienai govij *Enterococcus spp.*. Vēl konstatēja arī citas dažādu ierosinātāju asociācijas 16 govīm. Kopējais govju skaits, kurām nav mastītu ierosinātāju ilgstoša klātbūtne, tai skaitā nav konstatēts *Corynebacterium spp.*, bija tikai 13.3% (6/45) no šajā pētījumā iesaistītajām govīm.

3.5. tabula. **Mastīta ierosinātāja ilgstoša klātbūtne tesmeņa ceturkšņos atkarībā no govs IMI statusa**

| Mastīta ierosinātājs pienā | Govju skaits[1] | | | | Kopā (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| | nemainīgs IMI statuss | | IMI statusa izmaiņas | | |
| | viens patogēns | vairāki patogēni | viens patogēns | vairāki patogēni | |
| Viens ierosinātājs | | | | | |
| Koagulāzes pozitīvi stafilokoki (KPS) | - | - | - | - | 0 |
| Eskulīna pozitīvi streptokoki (EPS) | - | - | - | 1<br>0/0/1/0 | 1 |
| Koagulāzes negatīvi stafilokoki (KNS) | 1<br>0/1/0/0 | 1<br>1/0/0/0 | - | 2<br>2/0/0/0 | 4 |
| *Corynebacterium spp.* (Cry) | 4<br>2/1/1/0 | 7<br>4/2/0/1 | 6<br>1/2/2/1 | 1<br>0/0/0/1 | 18 |
| Vairāki ierosinātāji[2] | | | | | |
| KPS + KNS | - | 1<br>0/1/0/0 | - | - | 1 |
| KPS + Cry | - | 1<br>0/1/0/0 | - | - | 1 |
| KPS + KNS + Cry | - | 1<br>0/0/0/1 | - | - | 1 |
| EPS + KNS | - | 2<br>1[2]/1/0/0 | - | - | 2 |
| EPS + Cry | - | 3<br>0/1/2/0 | - | - | 3 |
| *Enterococcus spp.* + Cry | - | 1<br>1/0/0/0 | - | - | 1 |
| KNS + Cry | - | 7<br>1/3/2/1 | - | - | 7 |
| Govis ar ilglaicīgu ierosinātāju vai to asociāciju klātbūtni pienā | 5 | 24 | 6 | 4 | 39 (86.7) |
| Govis bez ilglaicīgas ierosinātāja klātbūtnes | 1 | - | 5 | - | 6 (13.3) |
| Kopā, govis | 6 | 24 | 11 | 4 | 45 (100.0) |

[1] otrajā rindā parādīts govju skaits, kurām izmaiņas skar vienu/divus/trīs/četrus piena dziedzerus;
[2] katrs ierosinātājs atsevišķā tesmeņa ceturksnī.

Ņemot vērā to, cik bieži konstatēta mastīta patogēnu parādīšanās otrajā paraugu iegūšanas reizē salīdzinot ar pirmo reizi, rodas jautājums, kādi apstākļi un faktori to ietekmē. Vispirms ar vienfaktora loģistiskās regresijas analīzi pārbaudīja faktorus, kuriem iezīmējas varbūtēja saikne ar MiP parādīšanos tesmeņa ceturkšņu pienā. Tabulā (3.6. tabula) parādīti vienfaktora loģistiskās regresijas modeļa rezultāti, kas parādīja varbūtēju, pirmkārt, govs līmeņa faktoru veicinošo nozīmi - pagarināta govs laktācija, salīdzinot ar standarta 305 dienu laktāciju (OR ± SE = 1.91 ± 1.04; $p < 0.25$) un zems govs tesmeņa līmeņa SŠS kārtējā mēneša piena pārraudzībā (OR ± SE = 0.80 ± 0.14; $p < 0.25$), otrkārt, tesmeņa ceturkšņu līmeņa faktoru veicinošo nozīmi uz jaunu MiP parādīšanos – piena SŠS paraugu pirmajā iegūšanas reizē (OR ± SE = 0.71 ± 0.11; $p < 0.05$) un laktozes % saturs (OR ± SE = 2.30 ± 1.28; $p < 0.25$). Visi sākotnējie faktori, kas ir nozīmīgi pie paaugstinātas p-vērtības 0.25 tika tālāk izmantoti daudzfaktoru loģistiskās regresijas analīzē.

3.6. tabula. **Sākotnējā faktoru izvērtēšana un to ietekme uz jauna MiP parādīšanos pienā no tesmeņa ceturkšņiem (n=164) otrajā paraugu ņemšanas reizē salīdzinot ar pirmo reizi**

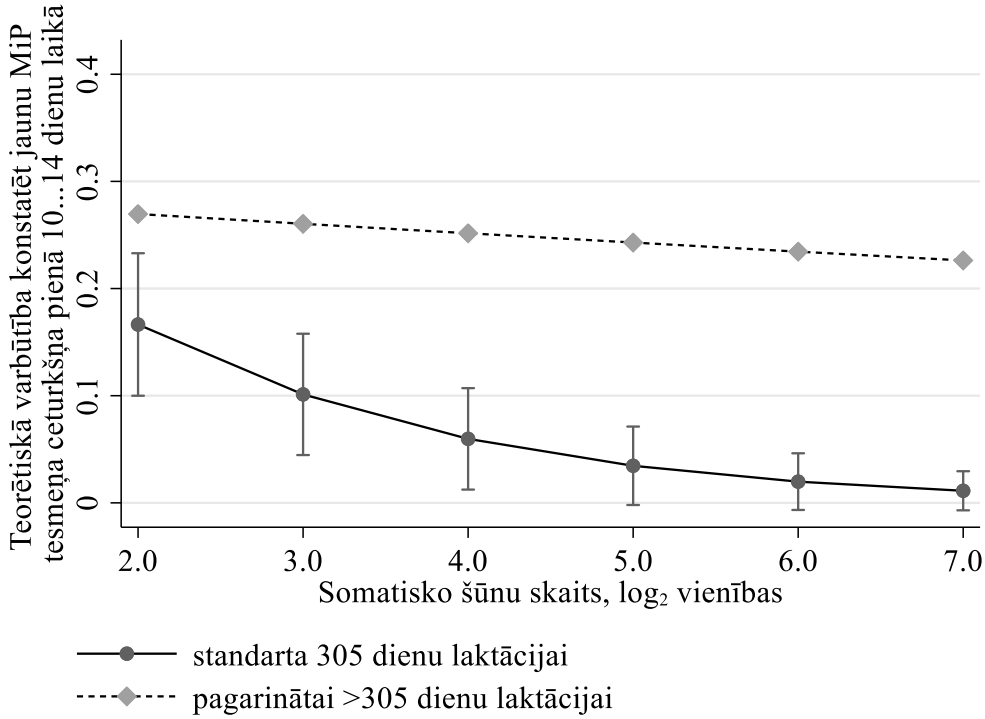
| Neatkarīgie mainīgie lielumi[1] | Vidējais | SE | Min | Max | OR[2] ± SE | Hī-kvadrāts | p-vērtība |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Govs tesmeņa SCS ($log_2$ vien.) | 3.20 | 0.13 | 0.36 | 6.63 | 0.80±0.14 | 1.53 | 0.216 |
| Standarta laktācija: ≤ 305 dienas | 212.24 | 14.08 | 47 | 293 | Atskaites grupa | - | - |
| Pagarināta laktācija: > 305 dienas | 390.33 | 19.68 | 313 | 537 | 1.91±1.04 | 1.42 | 0.233 |
| SCS pirmā parauga reizē ($log_2$ vien.) | 2.93 | 0.16 | 0.00 | 8.14 | 0.71±0.11 | 4.63 | 0.032 |
| Piena laktozes saturs % pirmā parauga reizē | 4.53 | 0.04 | 2.47 | 5.26 | 2.30±1.28 | 2.25 | 0.133 |

[1] neatkarīgie mainīgie lielumi tabulā sakārtoti pieaugošu p-vērtību secībā līdz $p < 0.25$;
[2] OR jeb krusteniskā attiecība vienfaktora jauktu efektu loģistiskā regresijā.

Tabulā (3.7. tabula) parādīti jaukta efekta loģistiskās regresijas modeļa rezultāti jauna MiP iespējamībai otrajā piena paraugu ņemšanas reizē. MiP iespējamība pieaug, ja pirmajā paraugu ņemšanas reizē ceturkšņa pienā novērots zemāks SŠS, turpretī ceturkšņiem ar augstāku SŠS jauna MiP parādīšanās otrajā paraugu ņemšanas reizē ir zemāka. Veidojot modeli, ir ņemts vērā fakts, ka viena tesmeņa ceturkšņi savā ziņā nav neatkarīgas vienības, bet viena tesmeņa kopīgas sastāvdaļas. To apstiprina arī datu kopas iekšējā struktūra – varbūtība konkrētā tesmeņa ceturksnī parādīties jaunai MiP infekcijai pozitīvi korelē ar infekcijas rašanās varbūtību tās pašas govs citos piena dziedzeros (klašu iekšējās korelācijas koeficients ICC = 0.27 ± 0.16; 95% CI 0.07 … 0.65). Atbilstoši loģistiskās regresijas modelim, standarta laktācijas govīm, ja pirmo piena paraugu iegūšanas reizē tesmeņa ceturkšņa pienā SCS ir vienu vienību zemāks, tad tiek prognozēta 1.8 reizes augstāka iespējamība, ka otrajā piena paraugu ņemšanas reizē būs konstatēta jauna MiP parādīšanās (1/OR = 1/0.56=1.8; $p < 0.05$). Tai pat laikā govīm ar pagarinātu laktācijas ilgumu > 305 dienas, jauna MiP parādīšanās iespēja nav atkarīga no SŠS tesmeņa ceturkšņa pienā, uz ko norāda attēla augšējā līnija bez būtiska varbūtības samazinājuma govs tesmeņa ceturkšņiem ar augstāku SŠS ($p > 0.05$) (3.2. att.).

3.7. tabula. **Jaunu minorpatogēno mastīta ierosinātāju parādīšanās tesmeņa ceturkšņu pienā (n=164) atkarībā no SCS, laktācijas ilguma un to mijiedarbības**

| Neatkarīgie mainīgie lielumi | Vid. ± SE | OR ± SE | P – vērt. | OR ticamības intervāls, 95% | Ietekme |
|---|---|---|---|---|---|
| SCS pirmā parauga reizē ($log_2$ vien.) | 2.93±0.16 | 0.56±0.10 | 0.001 | 0.40 … 0.80 | Negatīva |
| Standarta laktācija: ≤ 305 dienas | 212.24±14.08 | Atskaites grupa | - | - | - |
| Pagarināta laktācija: > 305 dienas | 390.33±19.68 | 0.65±0.45 | 0.529 | 0.16 … 2.53 | Nenozīmīga |
| Mijiedarbība: (SCS pirmā parauga reizē) X (Pagarināta laktācija > 305 dienas) | … | 1.69 ±0.38 | 0.020 | 1.09 … 2.63 | Pozitīva |
| Regresijas vienādojuma konstante | … | 0.63±0.25 | 0.234 | 0.29 … 1.35 | … |



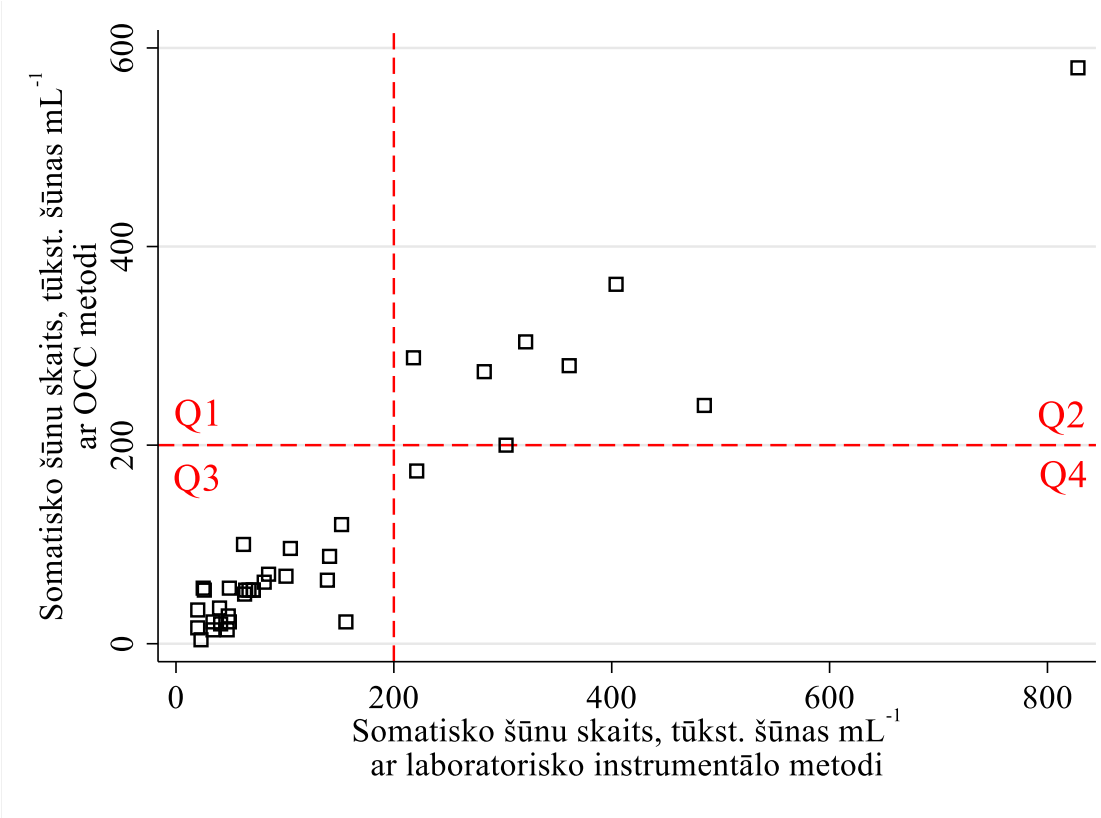

3.2. att. **Jaunu minorpatogēnu mastīta ierosinātāju parādīšanās pienā aprēķinātā varbūtība otrajā parauga ņemšanas reizē, atkarībā no tesmeņa ceturkšņa SCS govīm standarta un pagarinātās laktācijas laikā**

Attēlā parādīta marginālā prognozētā vidējā vērtība un 95% ticamības intervāls standarta 305 dienu laktācijai, bet pārtrauktā līnija bez ticamības intervāla attēlā norādīta sakarā ar faktoru mijiedarbību

Faktorus, kas asociēti ar MaP parādīšanos tesmeņa ceturkšņu pienā otrajā paraugu izmeklēšanas reizē, salīdzinot ar pirmo reizi, šajā pētījumā nevarēja statistiski izvērtēt, jo tika konstatēti tikai divi šādi gadījumi (3.4. tabula).

### 3.2. Tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC efektivitāte

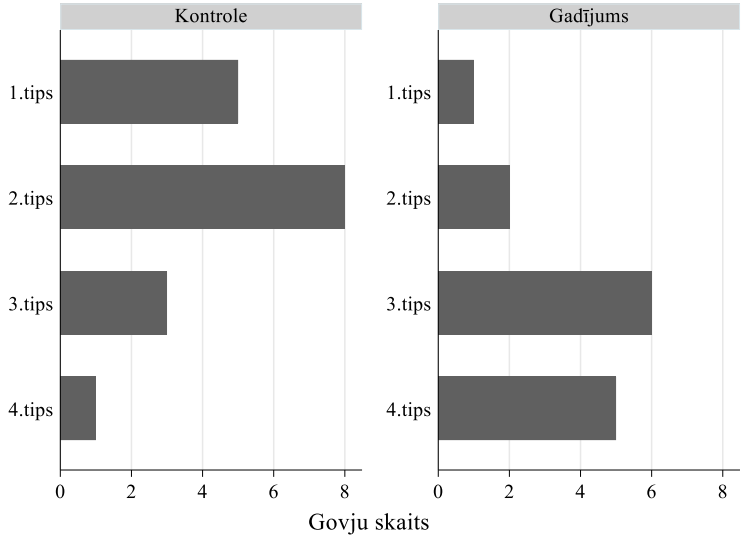
Somatisko šūnu skaits (SŠS), nosakot vienā un tai pašā laikā ar tiešsaistes šūnu skaitītāju (OCC) un ar laboratorijas instrumentālo metodi, ir salīdzināts 30 govīm vienā slaukšanas reizē (3.3. att.). Ar divām perpendikulārām līnijām ir atzīmēta SŠS robežvērtība 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, izšķirot attēla plaknē četrus kvadrantus (Q1-Q4). Punktu atrašanās Q1 un Q4 ir rādītājs OCC mērījumu kvalitatīvai nesakritībai ar laboratorijas instrumentālo metodi, bet mūsu pētījuma datos šie kvadranti ir tukši. Turpretī punktu atrašanās Q2 un Q3 atspoguļo rezultātu kvalitatīvu sakritību starp abām SŠS noteikšanas metodēm. Rezultāti liecina, ka Q2 kvadrantā atrodas SŠS mērījumi no 5 govīm, kurām abu metožu rezultāts pārsniedz 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$, bet Q3 kvadrantā ir mērījumi no 18 govīm, kurām SŠS pienā ir zemāks nekā minētā sliekšņa vērtība. Redzams arī tas, ka punkti attēlā nav izvietojušies uz taisnes, kas liecina, ka OCC metode Q2 kvadrantā dod zemāku, bet Q3 kvadrantā vairākām govīm augstāku SŠS rezultātu nekā laboratorijas instrumentālā metode. Tāpēc ar OCC mērījumu metodi nevar uzzināt kvantitatīvi precīzu govs piena SŠS. Iegūtie rezultāti parāda, ka slaukšanas robotā iebūvētais OCC kā diagnostikas ierīce precīzi atrod govis ar augstu SŠS. Laba rezultātu atbilstība pamato OCC izmantošanu, lai semi-kvantitatīvi novērtētu SŠS atsevišķas govs pienā.




3.3. att. **Somatisko šūnu skaita salīdzinājums, mērot ar tiešsaistes šūnu skaitītāju OCC un laboratorijas instrumentālo metodi**

Mērījumu atkārtošana katrā slaukšanas reizē veido kopējo priekšstatu par katras govs SŠS līmeņa svārstībām. Tāpēc pētījuma turpinājumā iegūti rezultāti par SŠS individuālo dinamiku viena mēneša laikā 31 govij (2. pielikums). Šajā laikā katrai govij bija no 63 līdz 106 individuālām slaukšanas reizēm, vidēji 2.8 ± 0.3 reizes dienā. Katrā slaukšanas reizē ar OCC govij pienā noteica SŠS. Pētījumā 14 govīm SŠS individuālo dinamiku nevērtēja, jo S2 saimniecībā slaukšanas roboti bija komplektēti bez OCC sensora.

Visi četri SŠS individuālās dinamikas tipi tika konstatēti gan MDi gadījumu grupā, gan kontroles govju grupā, tomēr katrā grupā bija atšķirīga šo tipu proporcija. Attēlā (3.4. att.) parādīta sakarība starp govs SŠS individuālās dinamikas tipu, izvērtējot slaukšanas robotā noteiktos OCC sensora datus, un slaukšanas robotā aprēķināto mastīta noteikšanas indeksu MDi, respektīvi, pastāv nozīmīga atšķirība starp SŠS individuālās dinamikas tipu sadalījumu govīm ar MDi < 1.4 un govīm ar MDi ≥ 1.4. 1.tips jeb "SŠS individuālā dinamika zem robežvērtības" pētījumā bija novērota 19% govju (6/31), no kurām 5 bija kontroles grupas govis un tikai viena gadījumu grupas govs. 2. tips jeb "SŠS individuālā dinamika zem robežvērtības ar īslaicīgu paaugstināšanos" pētījumā bija konstatēta 32% govju (10/31), no kurām 8 bija kontroles grupas govis un tikai divas govis no gadījumu grupas. 3.tips jeb "SŠS individuālā dinamika pie robežvērtības" pētījumā tika novērota 30% govju (9/31), no kurām tikai 3 bija kontroles grupā, bet pārējās 6 gadījumu grupā. 4.tips jeb "SŠS individuālā dinamika plašā diapazonā zem un virs robežvērtības" pētījumā bija novērota 19% govju (6/31), no kurām tikai viena bija kontroles grupas govs, bet visas pārējās 5 pārstāvēja MDi gadījumu grupu (3.4. att.).

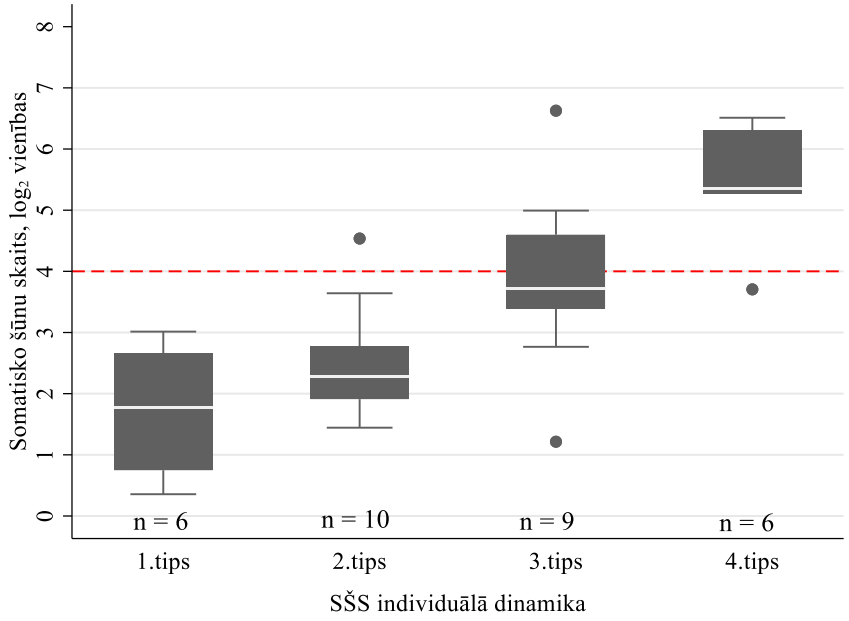



3.4. att. **Govs SŠS individuālās dinamikas tips atkarībā no slaukšanas robota aprēķinātās MDi vērtības saimniecībā S1**

Kontrole – kontroles grupas govis (n=17), kurām MDi < 1.4;
Gadījums – gadījumu grupas govis (n=14), kurām MDi ≥ 1.4.

Tātad 1. un 2. SŠS individuālās dinamikas tips bija biežāk sastopams kontroles grupas govīm, bet 3. un 4. tips – gadījumu grupas govīm.

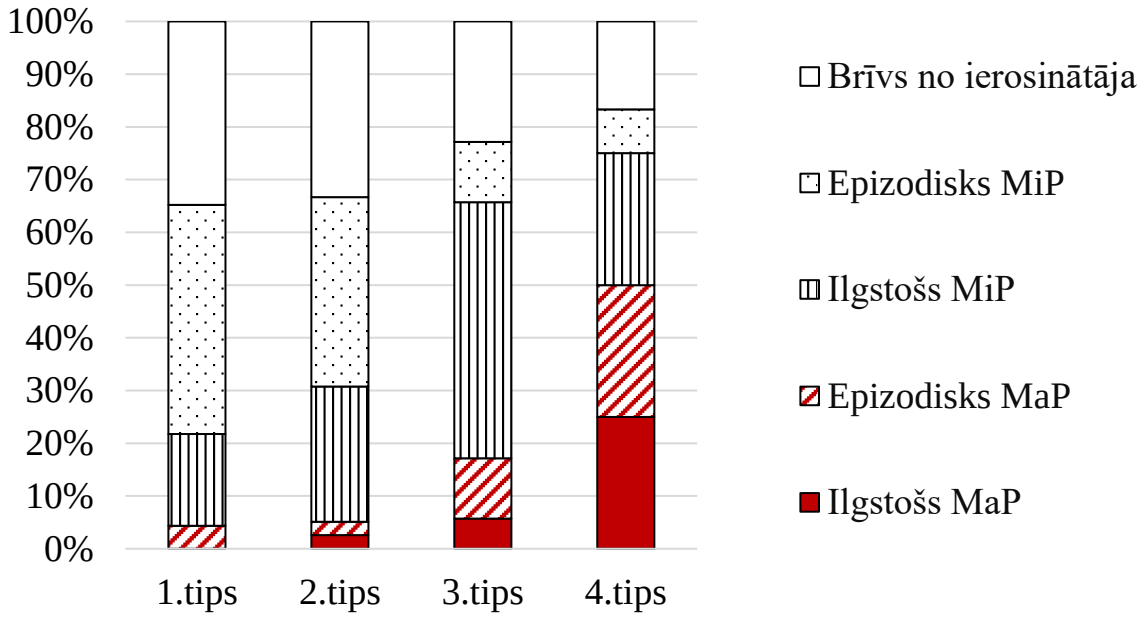
Attēlā (3.5. att.) parādīta sakarība starp govs SŠS individuālās dinamikas tipu, izvērtējot slaukšanas robotā noteiktos OCC sensora datus, un piena pārraudzības somatisko šūnu skaita vērtējumu tajā pašā mēnesī.




3.5. att. **Piena pārraudzības mēneša somatisko šūnu skaits govīm atkarībā no SŠS individuālās dinamikas tipa**

Salīdzinot ar govs tesmeņa ceturkšņu piena bakterioloģiskās izmeklēšanas rezultātiem, tika konstatēta individuālās dinamikas tipa atbilstība govs tesmeņa ceturkšņos konstatētajam

mastīta ierosinātāja tipam un tā klātbūtnes piena dziedzerī pastāvīgumam (3.6. att.). Jāatzīmē, ka SŠS individuālās dinamikas 1.tipa un 2.tipa govīm tesmeņa ceturkšņu skaits, kuru pienā konstatē MaP, nepārsniedz 5% no visiem šo govju ceturkšņiem. Turklāt ilgstoša MaP klātbūtne tika konstatēta vienā tesmeņa ceturksnī govij ar SŠS individuālās dinamikas 2.tipu, bet 1.tipa govīm to nenovēroja vispār. Salīdzinot ilgstoša MiP klātbūtni tesmeņa ceturkšņu pienā, arī tā biežāk sastopama SŠS individuālās dinamikas 2.tipa govīm, salīdzinājumā ar pirmo tipu. Turpretī epizodisks MiP biežāk konstatēts SŠS individuālās dinamikas 1.tipa govju tesmeņa ceturkšņu pienā. Gan SŠS individuālās dinamikas 1.tipa, gan 2.tipa govīm vairāk nekā 30% no tesmeņa ceturkšņiem piena bakterioloģiskā uzsējumā nekādu mastīta ierosinātāju audzi neveidoja. Govīm ar trešo un ceturto SŠS individuālās dinamikas tipu būtiski biežāk, salīdzinot ar 1. un 2.tipu, tesmeņa ceturkšņu pienā konstatēti MaP, kas, vērtējot kopā ilgstošas un epizodiskas klātbūtnes pienā gadījumus, ir novērota 50% no visiem piena dziedzeriem. No visiem SŠS individuālās dinamikas tipiem vislielākā ilgstoša MiP sastopamība (>40%) raksturīga 3. dinamikas tipa govīm. Epizodiska MiP klātbūtne tesmeņa ceturkšņu pienā 3. un 4.tipa govīm ir salīdzinoši reti novērota, tikai līdz 10%.




3.6. att. **Mastīta ierosinātāji tesmeņa ceturkšņu pienā atkarībā no govs SŠS individuālās dinamikas tipa**

Kopumā, salīdzinot novērotās atšķirības starp četriem SŠS individuālās dinamikas tipiem, kas nosakāmi slaukšanas robotā slauktām govīm, ja tas ir komplektācijā ar OCC sensoru, mastīta ierosinātāju klātbūtnes loma virzienā no pirmā līdz ceturtajam SŠS individuālās dinamikas tipam pieaug gan kvantitatīvi (skarto ceturkšņu īpatsvars), gan kvalitatīvi (epizodiska vai ilgstoša MaP klātbūtne).

### 3.3. Mastīta noteikšanas indeksa MDi efektivitāte

MDi rezultāti tika iegūti un salīdzināti 20 govīm kopskaitā no 522 slaukšanas reizēm 21 dienas laikā, kamēr kopējais slaukšanas reižu skaits bija 942 reizes, kā to apstiprina no slaukšanas robota sistēmas pilnā datu dublējuma kopijas par atbilstošo laika periodu. Katra gadījumu grupas govs tika slaukta vidēji 2.1 (0.71) reizes dienā, salīdzinot ar 2.4 (0.68) slaukšanas reizēm kontroles grupā. Klīniskais mastīts nevienai govij netika novērots. Govis no

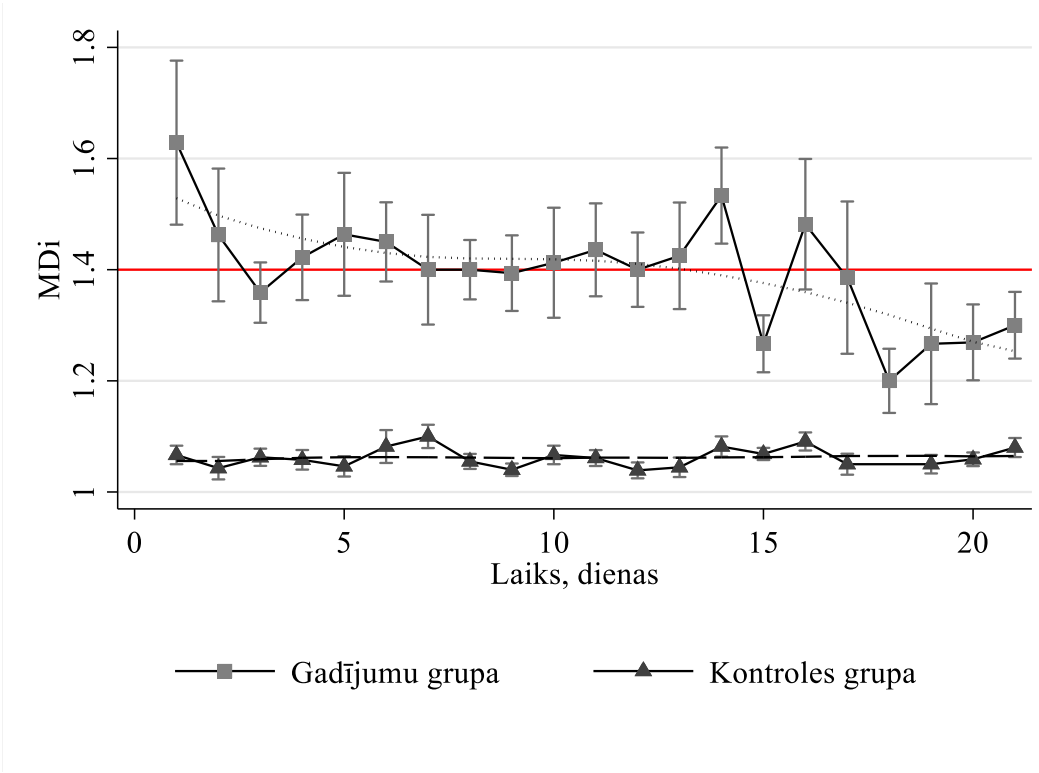
slaukšanas robotu grupas tika izraudzītas atkarībā no MDi vērtības. MDi rezultāti gadījumu grupā un kontroles grupā ir parādīti 3.7. att.

Vidējās MDi vērtības gadījumu grupā pastāvīgi ir augstākas nekā kontroles grupā. Trīs nedēļu periodā MDi līmenis gadījumu grupā pakāpeniski samazinājās (lineārās regresijas koeficients -0.01, $p < 0.05$). Kopējais samazinājums visu trīs nedēļu laikā bija 0.2 vienības. Tomēr gadījumu grupas govis trīs nedēļu laikā nesasniedz tik zemu MDi līmeni, kāds bija kontroles grupā. Gadījumu grupas govju vidējais MDi divas nedēļas saglabājās virs 1.4, ļaujot izteikt pieņēmumu par bioloģiskām izmaiņām tesmenī vai govju organismā kopumā. Pēc šīm divām nedēļām tas sasniedza normālo līmeni, pazeminoties zem 1.4. Tas, iespējams, liecina par atveseļošanās sākumu.

3.7. att. parāda, ka MDi mainība gadījumu grupā ir daudz lielāka nekā kontroles grupā. Ap trešās nedēļas sākumu MDi līmeņa izmaiņas abās grupās kļūst līdzīgas, lai gan svārstības ar izteikti lielāku amplitūdu gadījumu grupā salīdzinot ar kontroles grupu.

Atsevišķu dzīvnieku MDi vērtību analīze parādīja, ka gadījumu grupas govīm konstatētas pētījuma periodā vairākas augstas MDi vērtības virs 1.4. Savukārt kontrolgrupas govīm visā pētījuma periodā dominēja MDi vērtības 1.0 un 1.1 vienības.

Pētījuma laikā asinis pienā netika novērotas. Tā kā MDi vērtības aprēķinā ir apvienoti trīs tesmeņa ceturkšņu līmeņa parametri – asiņu klātbūtne pienā, slaukšanas intervāls un piena elektrovadītspēja tad, MDi palielināšanās un svārstību iemesls varētu būt tikai elektrovadītspējas paaugstināšanās vai garš intervāls starp divām slaukšanas reizēm.



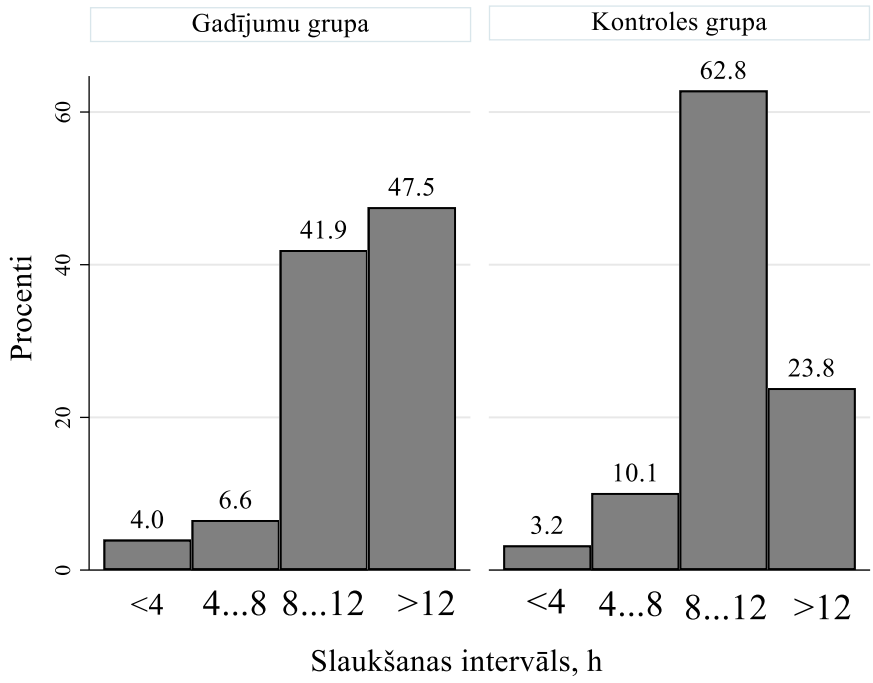

3.7. att. **Mastīta noteikšanas indeksa dinamika trīs nedēļu laikā gadījumu un kontroles grupas govīm**

Attiecībā uz elektrovadītspēju (EV), tās vidējās vērtības gadījumu un kontroles grupām ir salīdzinātas tabulā (3.8. tabula). Govs tesmeņa līmenī vidējā vērtība gadījumu grupā bija nozīmīgi augstāka nekā kontroles grupā (attiecīgi 4634±22.5 µS $cm^{-1}$ un 4562±16.3 µS $cm^{-1}$, $p < 0.05$). Tomēr abi rezultāti bija zem literatūrā norādītās vidējās EV vērtības, kādu novēro veselām (5300 µS $cm^{-1}$) un subklīniski inficētām govīm (5700 µS $cm^{-1}$).

3.8. tabula. **Piena elektrovadītspēja govīm pētījuma grupās**

| Grupa | Sākuma MDi | Govju skaits | Slaukšanas reižu skaits | Piena elektrovadītspēja (SE), µS $cm^{-1}$ | Statistiski nozīmīga atšķirība, p-vērtība |
|---|---|---|---|---|---|
| Gadījumu | ≥1.4 | 10 | 437 | 4634 (22.5) | <0.05 |
| Kontroles | <1.4 | 10 | 505 | 4562 (16.3) | |
| Kopā | - | 20 | 942 | 4595 (13.6) | - |

Attēlā (3.8. att.) parādīts, ka salīdzinoši garākie slaukšanas intervāli (12 stundas un vairāk) biežāk bija gadījumu grupā (47.5%) nekā kontroles grupā (23.8%). Lielākā daļa slaukšanas intervālu (62.8%) kontroles grupā bija vidēji gari no 8 līdz 12 stundām un līdzinājās vidējam slaukšanas biežumam mūsu pētījumā 2.3 (0.71) reizes dienā. Slaukšanas reizes, pirms kurām ir īsi intervāli no 4 līdz 8 stundām bija sastopamas ne vairāk kā 10% abās grupās. Gadījumu grupai bija ievērojami garāki slaukšanas intervāli un mazāks slaukšanas reižu skaits dienā, jo laktācijas dienu skaits kopš govs atnešanās gadījumu grupā bija lielāks (335 (42.5), salīdzinot ar kontroles grupu 197 (37.6).

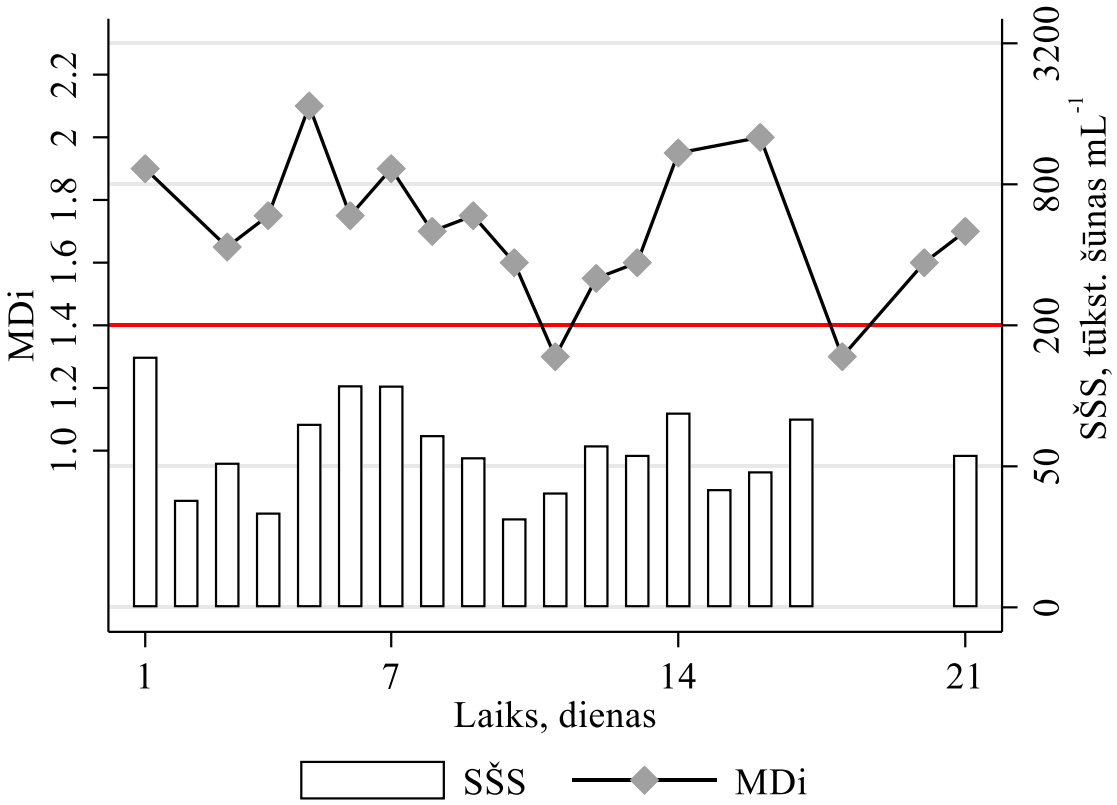



3.8. att. **Laika intervāli starp slaukšanas reizēm pētījuma grupu govīm**

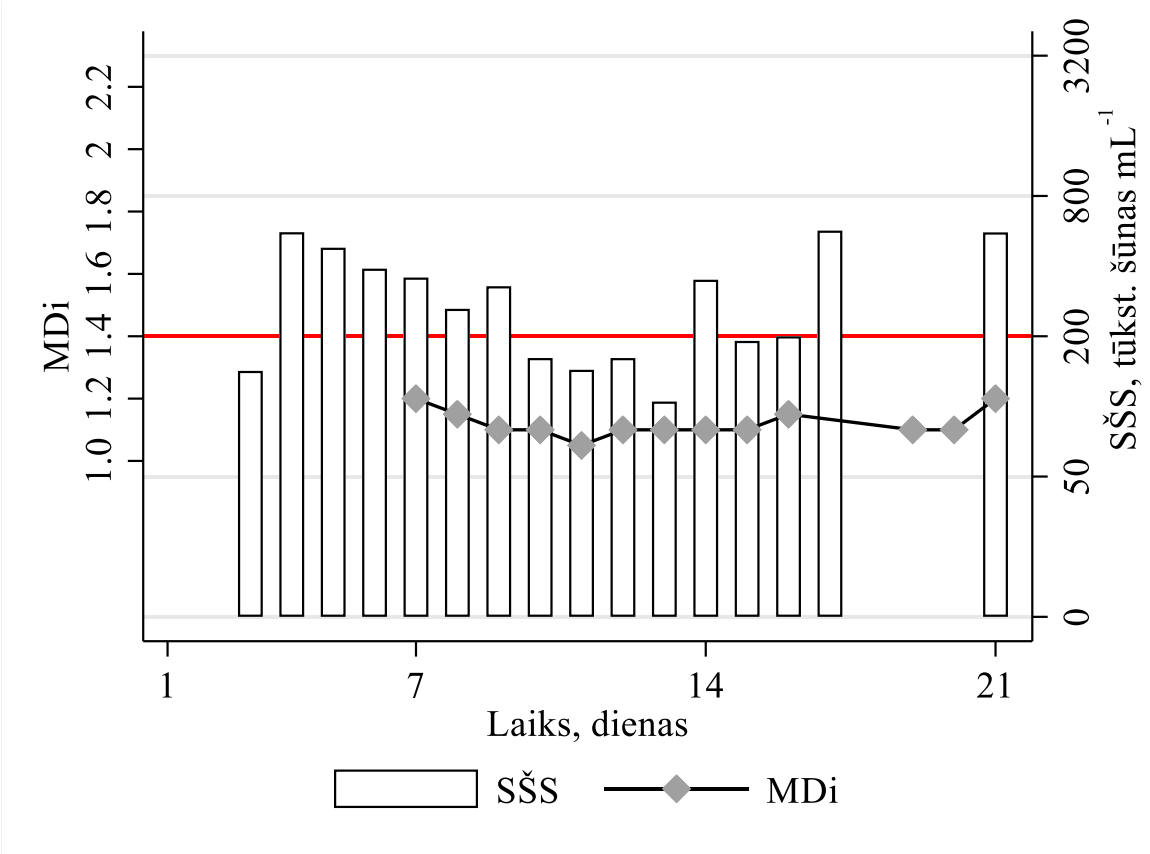
Lai gan ceturkšņu līmenī elektrovadītspēja piecām gadījumu grupas govīm pārsniedza 5700 µS $cm^{-1}$ 14 slaukšanas reizēs no 437 (3.2%), tai pašā laikā kontrolgrupas govīm neviens saslimšanas gadījums netika reģistrēts. Visām govīm ar augstu piena elektrovadītspēju ceturkšņa līmeni bija paaugstināts MDi virs 1.4.

### 3.4. MDi robežvērtība nekvalitatīva piena novadīšanai

Šajā pētījumā tika arī noskaidrots, kā MDi pielietojums atsevišķu govju piena novirzīšanai būtu saistīts ar ganāmpulka saražotā koppiena SŠS. Kopumā gadījumu grupai ar augstu MDi bija ievērojami augstāks SCS (3.4 (0.48)) salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.4 (0.46)). Arī atsevišķi dati par govīm liecināja, ka pētījuma laikā 60% gadījumu (12/20) augstāks MDi bija saistīts ar SŠS virs 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$. Tomēr kopumā MDi un SCS korelācija bija tikai viduvēja ($r = 0.37$, $p < 0.05$). To varētu izskaidrot ar to, ka atsevišķām govīm starp šiem diviem rādītājiem bija vērojama izteikta neatbilstība, piemēram, augsta MDi grupas govs Nr. 7484, kuras SCS un MDi svārstības parādītas 3.9. att.. Šai govij bija augstas MDi vērtības no 1.5 līdz 2.1 visā eksperimenta laikā, bet SŠS pastāvīgi bija zem 100 tūkst šūnas $mL^{-1}$, ko regulāri mērīja ar OCC. Garie slaukšanas intervāli (no 13 līdz 15 stundām), kas bieži novēroti šai govij, iespējams, bija viens no izskaidrojumiem augstām MDi vērtībām. Pretstatā tam, kontroles grupas govij Nr. 7375, kuras SCS un MDi svārstības parādītas 3.10. att., pastāvīgi bija zems MDi un augsts SŠS tajā pašā laikā.




3.9. att. **Gadījumu grupas govs MDi un somatisko šūnu skaits (SŠS)**
Piemērs: govs nr. 7484, SŠS mērīts ar OCC visā govij izslauktā piena daudzumā, ko ieguva katras dienas vienā slaukšanas reizē un arī MDi noteikts vienu reizi dienā.




3.10. att. **Kontroles grupas govs MDi un somatisko šūnu skaits (SŠS)**
Piemērs: govs nr. 7375: SŠS mērīts ar OCC visā govij izslauktā piena daudzumā, ko ieguva katras dienas vienā slaukšanas reizē un arī MDi noteikts vienu reizi dienā.

Lai raksturotu kopējo MDi efektivitāti un tādu govju noteikšanu, kuru SŠS pārsniedz 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$ piena, aprēķināja Koena kappa koeficientu no 430 slaukšanas reizēm un konstatēja, ka sakritība ir zema (kappa = 0.28 ± 0.048). Tas parāda, ka MDi un SŠS izmaiņas nav paralēlas.

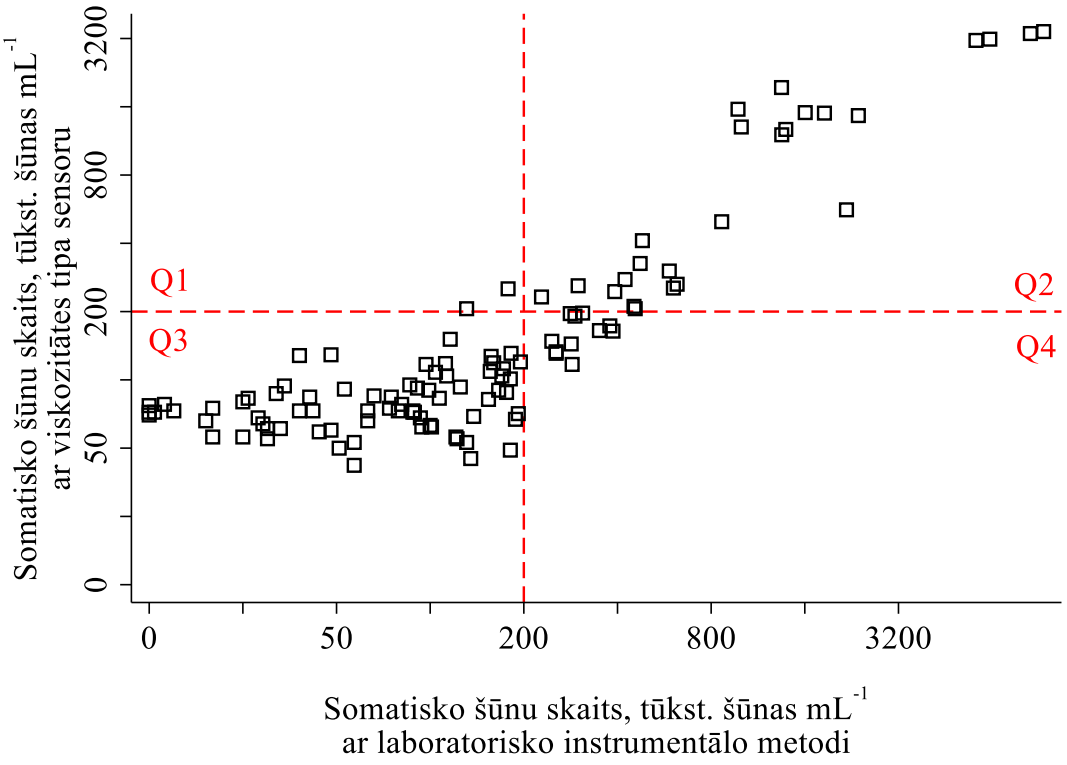
MDi robežvērtības neatbilstošas kvalitātes piena automātiskai noteikšanai modelēja, izmantojot MDi un svērto SŠS, ņemot vērā saražotā piena daudzumu. Tika noskaidrots, ka kopējais novirzītā piena daudzums pie MDi sliekšņa vērtības 2.0 būtu 102 kg jeb 2.3% no kopējā saražotā piena (4387 kg). Piena novirzīšana tiktu veikta 9 slaukšanas reizēs, un teorētiski aprēķinātā novirzītā piena SŠS būtu 422 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, un koppiena tvertnē nonākušā piena svērtais vidējais SŠS būtu aptuveni 155 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. No praktiskā viedokļa, neatbilstošas kvalitātes piena novirzīšana palīdz saglabāt kontroli par koppiena tvertnē uzkrātā piena SŠS līmeni zem 300 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Jebkura zemāka robežvērtība, piemēram, 1.8, palielinātu novirzītā piena daudzumu līdz 265 kg (6% no visa saražotā piena) ar SŠS 360 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Tomēr pēc šāda rīcības scenārija somatisko šūnu skaits ganāmpulka koppienā samazinātos līdz 148 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, kam nebūtu būtiska atšķirība salīdzinājumā ar 155 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, kāds tika prognozēts pie MDi sliekšņa 2.0.

### 3.5. SŠS sensora MQC-C2 efektivitāte

Somatisko šūnu skaita rezultāti, kas mērīti ar viskozitātes metodi, 111 govīm salīdzināti ar akreditētā laboratorijā laboratorijas instrumentālās metodes noteiktu SŠS govs tesmeņa koppiena paraugā, kas iegūts tajā pašā slaukšanas reizē. Salīdzināmo SŠS rezultātu kopā

iekļauti arī SŠS dati par katras govs iepriekšējām divām slaukšanas reizēm un turpmākajām piecām slaukšanas reizēm, kuras seko piena pārraudzības parauga noņemšanai. Slaukšanas biežumu raksturo tas, ka slaukšanas reižu skaits ganāmpulkā govīm 4 dienu periodā svārstījās no 5 līdz 21 reizēm un vidējais slaukšanas reižu skaits 24 stundu periodā bija 2.86 ± 0.07 reizes uz govi.

Attēlā (3.11. att.) parādīts ar viskozitātes metodi noteikta SŠS salīdzinājums ar rezultātu, kas ir iegūts pienu testējot ar laboratorijas instrumentālo metodi, 111 slaucamām govīm. Atbilstoši sliekšņa vērtībai SŠS=200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ diagrammā ar divām perpendikulārām līnijām ir atdalīti četri kvadranti (Q1 – Q4). Punkti, kas atrodas Q1 un Q4 kvadrantos, atspoguļo SŠS pretrunu starp tesmeņa veselības novērtējumiem pēc abām metodēm attiecībā pret izvēlēto SŠS robežvērtību, un mūsu pētījuma datu kopā tie ir vairāki gadījumi: Q1 kvadrantā ir 2 govis (1.8%) un Q4 kvadrantā 11 govis (10%), kurām SŠS < 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, bet ar laboratorijas instrumentālo metodi tām SŠS>200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Q2 un Q3 kvadrantos redzami SŠS dati govīm, par kuriem iegūts saskanīgs abu SŠS noteikšanas metožu rezultāts. Tomēr jāatzīmē, ka Q3 kvadrantā redzamais punktu novietojums liecina, ka visām govīm ar viskozitātes SŠS, pārbaudot ar laboratorijas instrumentālo metodi, SŠS nepārsniedz robežvērtību 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, respektīvi, pie šāda SŠS var pieņemt, ka subklīniska mastīta iespēja govij ir zema. Turklāt govīm ar augstu SŠS > 500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ Q2 kvadrantā abas metodes pilnībā saskan. Visi šie gadījumi, kuros tika konstatēta pretruna abu metožu starpā, ir robežās no 100 līdz 500tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Tātad, interpretējot SŠS, katra govs ar konstatētu SŠS vērtību šajā diapazonā būtu jāvērtē vēlreiz, sagaidot nākamajā slaukšanas reizē mērīto SŠS.




3.11. att. **Govs SŠS rezultātu salīdzinājums, mērot ar viskozitātes metodi (MQC-C2 sensoru) un ar laboratorijas instrumentālo metodi vienā slaukšanas reizē**
(dati: n=111govis, saimniecība S3)

Turpmākā viskozitātes metodes un laboratorijas instrumentālās metodes rezultātu sakritības analīze tika veikta, paplašinot laika intervālu un iekļaujot to pašu govju pārējās slaukšanas reizēs pirms un pēc testa slaukšanas reizes mērītu viskozitātes SŠS, kā arī aprēķinot vidējo viskozitātes SŠS no vairākām secīgām slaukšanas reizēm. Ņemot vērā to, ka ŠŠS ir pakļauts zināmām fluktuācijām no vienas slaukšanas reizes līdz nākamajai slaukšanas reizei, atsevišķām govīm vērtējums nākamajā slaukšanas reizē var mainīties, bet vidējie rādītāji kopumā varētu dot stabilāku vispārējo tesmeņa veselības statusa novērtējumu. Jāatzīmē, ka to govju skaits, kuru SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, balstoties uz viskozitātes metodes mērījumiem, bija mazāks nekā laboratorijas instrumentālās metodes vērtējumā, jo kļūdaini negatīvo gadījumu skaits pārsniedza kļūdaini pozitīvo gadījumu skaitu visās slaukšanas reizēs. Tabulā (3.9. tabula) ir apkopotas Koena kappa koeficienta vērtības, kas izsaka kvalitatīvu vērtēšanas metožu rezultātu savstarpējo atbilstību. Ir redzams, ka testa slaukšanas reizē pastāv būtiska sakritība, bet tā nav ļoti augsta, jo koeficienta vērtība ir 0.71 ± 0.09. Slaukšana reizēs pirms un pēc pārraudzības kontroles jeb testa slaukšanas sakritības koeficients tikpat kā neizmainās. Tomēr apskatot vidējās viskozitātes SŠS vērtības no vairākām secīgām slaukšanas reizēm, Koena kappa vērtības pārsniedza 0.80, kas liecina par ļoti labu sakritību (Watson & Petrie, 2010). Lai gan augstākā kappa vērtība 0.88 ± 0.09 tika novērota vidējai vērtībai, kas aprēķināta no diviem viskozitātes SŠS mērījumiem, t.i., pārraudzības kontroles testa slaukšanai (0) un sekojošai slaukšanas reizei (+1), vienādu vidējo vērtību novēro arī 3 un 5 secīgās slaukšanas reizēs 0.81 ± 0.09.

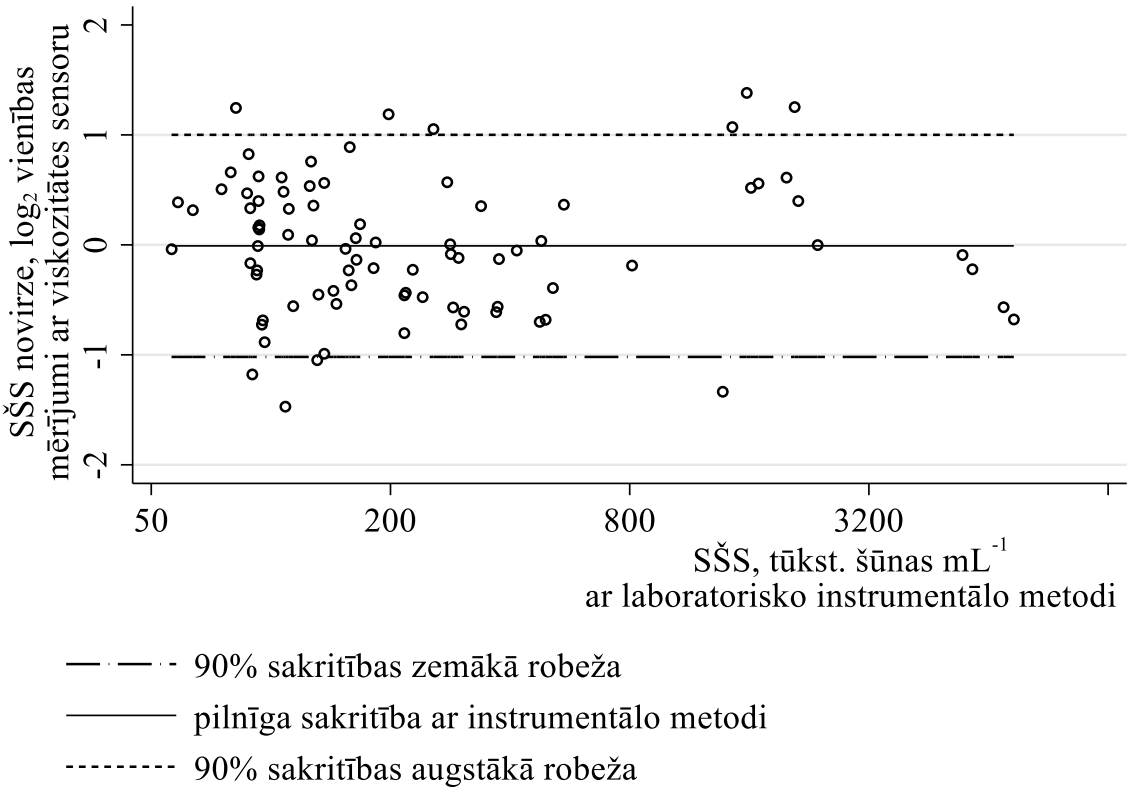
3.9. tabula. **Viskozitātes metodes pielietojums, lai atlasītu govis ar augstu somatisko šūnu skaitu**

| Govju skaits, n | Prevalence[1] pēc laboratorijas instrumentālās metodes | Prevalence[1] pēc viskozitātes metodes | Slaukšanas reižu apzīmējums[2] | Diagn. kļūda (+) | Diagn. kļūda (-) | Vispārējā sakritība, % | Koena kappa | Standart-kļūda |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 111 | 32 % | 24 % | -2 | 3 | 12 | 87 % | 0.67 | 0.09 |
| 110 | 32 % | 25 % | -1 | 3 | 11 | 87 % | 0.69 | 0.09 |
| 111 | 32 % | 24 % | 0 (tests) | 2 | 11 | 88 % | 0.71 | 0.09 |
| 111 | 32 % | 23 % | +1 | 1 | 12 | 88 % | 0.71 | 0.09 |
| 110 | 32 % | 21 % | +2 | 0 | 13 | 88 % | 0.70 | 0.09 |
| 110 | 33 % | 24 % | +3 | 3 | 13 | 85 % | 0.64 | 0.09 |
| 107 | 31 % | 22 % | +4 | 2 | 12 | 87 % | 0.67 | 0.09 |
| 93 | 31 % | 24 % | +5 | 2 | 9 | 88 % | 0.70 | 0.10 |
| 111 | 32 % | 33 % | -1 / 0 | 5 | 4 | 92 % | 0.82 | 0.09 |
| 111 | 32 % | 32 % | 0 / +1 | 3 | 3 | 95 % | 0.88 | 0.09 |
| 111 | 32 % | 32 % | -1 / 0 / +1 | 4 | 5 | 92 % | 0.81 | 0.09 |
| 111 | 32 % | 32 % | -2/-1 / 0 / +1/+2 | 5 | 4 | 92 % | 0.81 | 0.09 |

[1] Govis ar SŠS > 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$;
[2] Slaukšanas reizes norādītas relatīvi pret atskaites reizi (0. reize) jeb testa paraugu izmeklēšanu ar laboratorijas instrumentālo metodi.

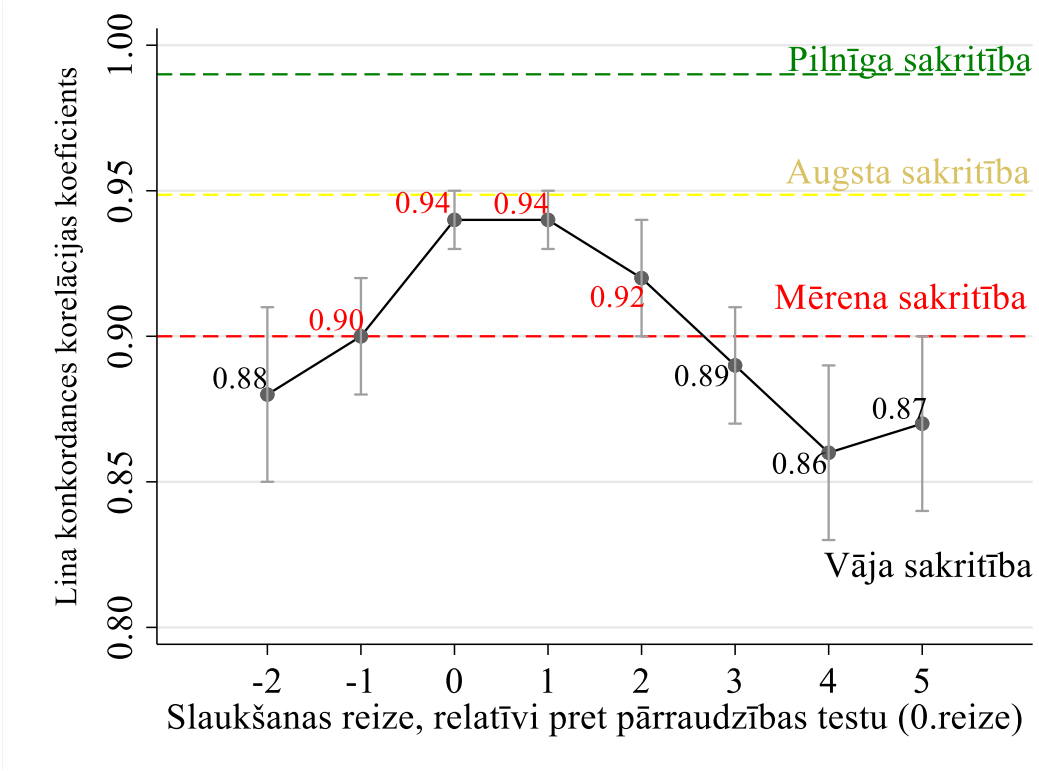
Pētījumā iegūto rezultātu apjoms ļauj noskaidrot arī SŠS rezultātu sakritību kvantitatīvā nozīmē. Tika novērots (3.11. att.), ka govīm ar ļoti zemu SŠS, viskozitātes SŠS vienmēr izrādījās augstāks par SŠS, kas mērīts ar laboratorijas instrumentālo metodi. Šī iemesla dēļ, aprēķinot viskozitātes SŠS augšējās un apakšējās 90% sakritības robežu ar SŠS, kas noteikts ar laboratorijas instrumentālo metodi, salīdzinājumā iekļāva tikai govis ar

SŠS>50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ (n = 85). Attēlā (3.12. att.) ir redzams, ka punkti ir vienmērīgi izkaisīti virs un zem horizontālās nulles līnijas, kas atbilst pilnīgai abu metožu sakritībai. Turklāt punktu izkliedei nav vērojams, t.s. "piltuves efekta" un rezultātu kvantitatīvas sakritības pakāpe nav atkarīga no SŠS vērtību diapazona. Blanda-Altmana diagramma parāda arī to, ka 90% govju viskozitātes SŠS vērības var atšķirties no laboratorijas instrumentālās metodes rezultātiem līdz pat divām reizēm jeb līdz vienai SCS $log_2$ vienībai. Tomēr jāpiemin, ka 10% govju uzrādīja vēl lielāku viskozitātes SŠS nesakritību ar laboratorijas instrumentālo metodi (punkti diagrammā virs augšējās un punkti zem apakšējās 90% sakritības robežas). Atšķirībā Lina konkordances korelācijas koeficienta, kvalitatīvā sakritības novērtējums, ko raksturo Koena kappa koeficients, attiecībā uz viskozitātes SŠS vidējo vērtību 2 slaukšanas reizēs (0/+1), bija augstāks nekā atsevišķais vērtējums pārraudzības kontroles slaukšanas reizē (3.9. tabula). Tas liecina, ka vidējā SŠS vērtība no divām slaukšanas reizēm ir precīzāks novērtējums, proti, vistuvākais tam, ko iegūst ar vienreizēju laboratorijas instrumentālās metodes SŠS mērījumu.




3.12. att. **Blanda-Altmana diagramma: augšējā un apakšējā robeža viskozitātes metodes rezultāta sakritībai (90%) ar laboratorijas instrumentālās metodes rezultātu**
Salīdzinājumā iekļauti paraugi, kuriem SŠS > 50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$

Arī Lina konkordances korelācijas koeficienta vērtība 0.94 pārraudzības kontroles slaukšanas laikā (3.13. att.) apstiprina tikai mērenu abu metožu kvantitatīvo sakritību. Slaukšanas reizēs pirms un pēc pārraudzības kontroles reizes korelācijas koeficienta vērtības vēl vairāk samazinās, kas apstiprina govju SŠS individuālās svārstības un dinamiku.




3.13. att. **Lina konkordances koeficients viskozitātes metodes rezultāta un laboratorijas instrumentālās metodes rezultātu savstarpējās atbilstības jeb korelācijas raksturošanai**
Piezīme: Ar viskozitātes metodi mērījumi veikti katrā slaukšanas reizē, bet ar laboratorijas instrumentālo metodi tikai pārraudzības kontroles (testa) slaukšanas reizē, kas uz X ass norādīta ar nulli.

Mērot SŠS ar viskozitātes metodi katrā slaukšanas reizē, tiek novērota SŠS dinamika, ko neparāda vienreizējs mērījums ar laboratorijas instrumentālo metodi.

### 3.6. Transferencei derīgu embriju ieguve atkarībā no donorgovju piena SŠS

MO inducēšanas un embriju ieguves laikā sekmīgu atbildes reakciju novēroja 24 no 30 donoriem (80%). Vidējais *corpus luteum* skaits (nCL) bija 7.7 (amplitūda no 1 līdz 19). Pavisam ieguva 151 embriju (E), no kuriem 104 bija transferencei derīgi embriji (nTE). No diviem donoriem embrijus neieguva. Konstatēja, ka nCL cieši korelē ar E ($r=0.65$; $p < 0.01$) un nTE ($r=0.57$; $p < 0.01$).

MNBR modelis attiecībā uz nCL parāda (3.10. tabula), ka nozīmīga loma labai reaģēšanai uz MO inducēšanu bija novērota govīm ar augstāku progesterona (P4) ($p < 0.001$), asiņu holesterola (CHOL) ($P=0.049$) un fosfora (P) ($P=0.027$) līmeni pirms MO inducēšanas. Pārējie seruma metabolīti: glikoze, triglicerīdi, alanīna aminotransferāze, aspartātaminotransferāze, gamma-glutamiltransferāze, sārmainā fosfatāze, laktāta dehidrogenāze, kreatinīns, kopējais proteīns, albumīni, urīnviela, kā arī seruma elektrolīti: nātrija, kālijs, kalcija, magnijs, hlorīdi, tāpat kā donora vecums, laktācijas dienu skaits, ķermeņa kondīcija, izslaukums, SŠS un apkārtējās vides temperatūra nedeva statistiski nozīmīgu nCL individuālo atšķirību izskaidrošanai donoru starpā.

3.10. tabula. **Donorgovju (n=27) veselības rādītāju asociācija ar *corpus luteum* skaitu pēc multiplās ovulācijas (MO) inducēšanas**

| Neatkarīgais mainīgais lielums | Vidējais ± SE | ß[1] ± SE | p-vērt. | Bāze | Mainīgā lieluma vērtības | Prognoze, nCL | Ietekme, \|ΔnCL\| |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Progesterons pirms MO indukcijas (nmol $L^{-1}$) | 21.4 ± 2.18 | 0.04 ± 0.01 | <0.001 | IQR[2] | 13.1 | 4.9 ± 0.74 | Pozitīva 4.9 |
| | | | | | 30.3 | 9.8 ± 1.24 | |
| Holesterols (mmol $L^{-1}$) | 4.9 ± 0.26 | 0.17 ± 0.09 | 0.049 | IQR | 4.0 | 6.5 ± 0.82 | Pozitīva 2.7 |
| | | | | | 6.0 | 9.2 ± 1.38 | |
| Fosfors (mmol $L^{-1}$) | 1.9 ± 0.06 | 0.95 ± 0.43 | 0.027 | IQR | 1.7 | 6.2 ± 0.81 | Pozitīva 2.4 |
| | | | | | 2.1 | 8.6 ± 1.07 | |
| Regresijas vienādojuma konstante | … | -1.66 ± 1.21 | 0.168 | … | … | … | … |

[1] daudzfaktoru negatīvās binomiālās regresijas koeficients;
[2] starpkvartīļu attiecība.

Lai izvērtētu nE un nTE ietekmējošos faktorus, vispirms ar vienfaktora negatīvās binomiālās regresijas analīzi pārbaudīja faktorus, kuriem iezīmējas varbūtēja saikne ar nE un nTE. Attiecībā uz tiešo sakarību ar nE un nTE tika pārbaudīti asins bioķīmiskie un hematoloģiskie rādītāji, piena pārraudzības rādītāji un apkārtējās vides temperatūra pirms MO inducēšanas un rezultāti ir atspoguļoti tabulā pielikumā (1. pielikums). Par pamatu MNBR modeļu izstrādē ņemti parametri, kuru $p < 0.20$. Pirmajā MO indukcijas dienā mainīgie lielumi, kas ciešāk saistīti ar nE ir sekojoši: piena tauku saturs, absolūtais monocītu skaits asinīs, seruma sārmainā fosfatāze (SAP), alanīnaminotransferāze (ALT) un gamma glutamiltransferāze (GGT). Savukārt ar nTE ciešākā asociācija konstatējama tādiem mainīgajiem lielumiem kā seruma nātrija, monocītu un eozinofīlo leikocītu skaitam. Pirms PGF2α injicēšanas augstāks 17ß-estradiola līmenis (≥10 pg $mL^{-1}$) bija saistīts ar zemāku nE (koeficients ± SE = - 0.89 ± 0.46; $p < 0.10$), un arī zemāku nTE (koeficients ± SE = - 0.74 ± 0.52; $p < 0.20$). Embriju izskalošanas dienā, augstāks P4 bija saistīts ar augstāku nE (koeficients ± SE = 0.005 ± 0.003; $p < 0.20$). Visi šie mainīgie lielumi tika tālāk izmantoti daudzfaktoru NBR modeļa izstrādē, izņemot SAP, ALT un GGT. Paaugstināts SAP, ALT un GGT līmenis norāda uz oksidatīvo stresu vai hroniskiem aknu bojājumiem (Kaneko, Harvey et al., 2008; Moreira, Souza et al., 2012; Van Saun, 2016), un šie rādītāji pēc būtības nevar kalpot par izskaidrojumu labvēlīgai ietekmei uz transferencei derīgu embriju iegūšanu.

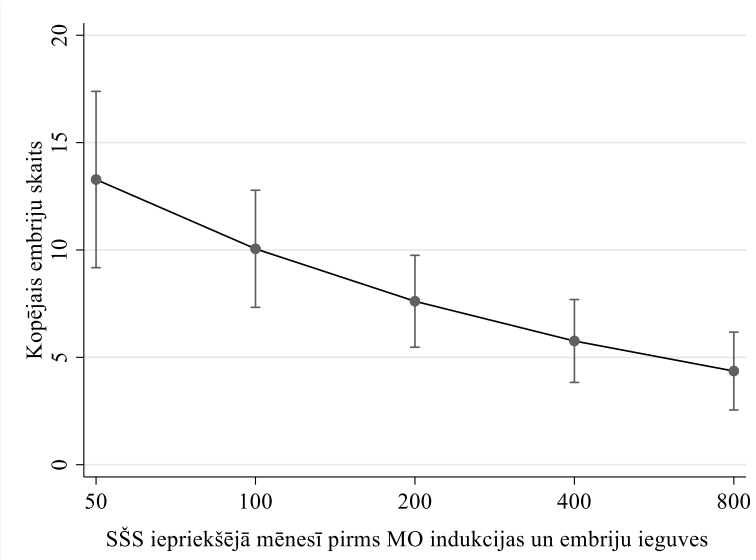
Izveidotais daudzfaktoru negatīvās binomiālās regresijas modelis kopējam embriju skaitam jeb Modelis nE (3.11. tabula) parādīja nozīmīgu saistību ($p < 0.01$) tādiem faktoriem kā P4 eozinofīlie leikocīti (Eo) un monocīti (Mo) indukcijas pirmajā dienā, vidējā diennakts gaisa temperatūra un SCS iepriekšējā mēnesī pirms embriju iegūšanas un govs laktāciju skaits. Saskaņā ar nE modeli var prognozēt, ka paaugstinoties diennakts vidējai gaisa temperatūrai no 2.2 līdz 8.4 °C ir sagaidāms straujš embriju skaita samazinājums pat par 15.2 embrijiem, pie nosacījuma, ja pārējie mainīgie lielumi nemainās (P4, Eo, SCS, šķirne un laktāciju skaits). Donora augstāks laktāciju skaits negatīvi ietekmē nE par vidēji 13.3 embrijiem, ja salīdzina vecākas govis ar pirmpienēm, bet pārējie mainīgie lielumi nemainās (diennakts vidējā gaisa temperatūra iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas, P4, Eo, SCS un šķirne). Arī augsts SCS = 4.6 salīdzinot ar SCS=2.2 paredz, ka samazinās nE par 4.7 embrijiem, ja pārējos manīgos lielumus saglabā konstantus. Ja P4 līmenis vai absolūtais eozinofīlo lekocītu skaits palielinās par starpkvartīļu attiecību (IQR), modelis prognozē nE palielināšanos attiecīgi par 2.9 un 4.4 embrijiem. SŠS ietekme uz kopējo iegūto embriju skaitu ir redzama attēlā (3.14. att.), kurā

redzams, ka nE analogiem donoriem ar atšķirīgu SŠS iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas, embriju ieguves samazinās, pieaugot SŠS. Turklāt ietekme uz nE izpaužas ne tikai donorgovīm ar augstu SŠS, bet arī diapazonā SŠS<200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$.

3.11. tabula. **Donorgovju (n=26) veselības rādītāju asociācija ar kopējo embriju skaitu (nE) pēc MO indukcijas pielietojuma**

| Neatkarīgie mainīgie lielumi | Vidējais ± SE | ß[3] ± SE | P – vērt. | Bāze | Mainīgā lieluma vērtības | Prognozēts nE | Ietekme, \|ΔnE\| |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diennakts vidējā gaisa temperatūra[1] (ºC) | 7.1 ± 1.32 | -0.17 ± 0.03 | <0.001 | IQR[4] | 2.2 | 26.0 ± 11.73 | negatīva 15.2 |
| | | | | | 8.4 | 8.8 ± 2.33 | |
| SCS[1] ($log_2$ vien.)[5] | 3.8 ± 0.46 | -0.28 ± 0.06 | <0.001 | IQR | 2.2 | 9.6± 1.27 | negatīva 4.7 |
| | | | | | 4.6 | 4.9± 0.51 | |
| Progesterons[2] (mmol $L^{-1}$) | 22.1 ± 2.17 | 0.03 ± 0.01 | 0.004 | IQR | 14.8 | 4.5 ± 0.60 | pozitīva 2.9 |
| | | | | | 30.3 | 7.4 ± 0.81 | |
| Eozinofīlie leikocīti[2] (tūkst. $mm^{-3}$) | 0.7 ± 0.18 | 1.09 ± 0.15 | <0.001 | IQR | 0.2 | 4.0 ± 0.42 | pozitīva 4.4 |
| | | | | | 0.9 | 8.4 ± 0.93 | |
| Laktāciju skaits | 4.5 ± 0.49 | -1.27 ± 0.35 | <0.001 | diho-toms | pirmpienes | 18.5± 5.94 | negatīva 13.3 |
| | | | | | ≥2.laktācija | 5.2± 0.49 | |
| Regresijas vienādojuma konstante | … | 2.98 ± 0.44 | <0.001 | … | … | … | … |

[1] Iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas un embriju ieguves;
[2] MO indukcijas pirmajā dienā;
[3] Negatīvās binomiālās regresijas koeficients;
[4] Starpkvartīļu attiecība;
[5] SŠS lineārs vērtējums $log_2$ vienībās: SCS = 2 atbilst 50 000 šūnas $mL^{-1}$, SCS = 3 atbilst 100 000 šūnas $mL^{-1}$, SCS = 4 atbilst 200 000 šūnas $mL^{-1}$.




3.14. att. **Kopējā embriju skaita prognoze atkarībā no somatisko šūnu skaita donorgovs pienā**

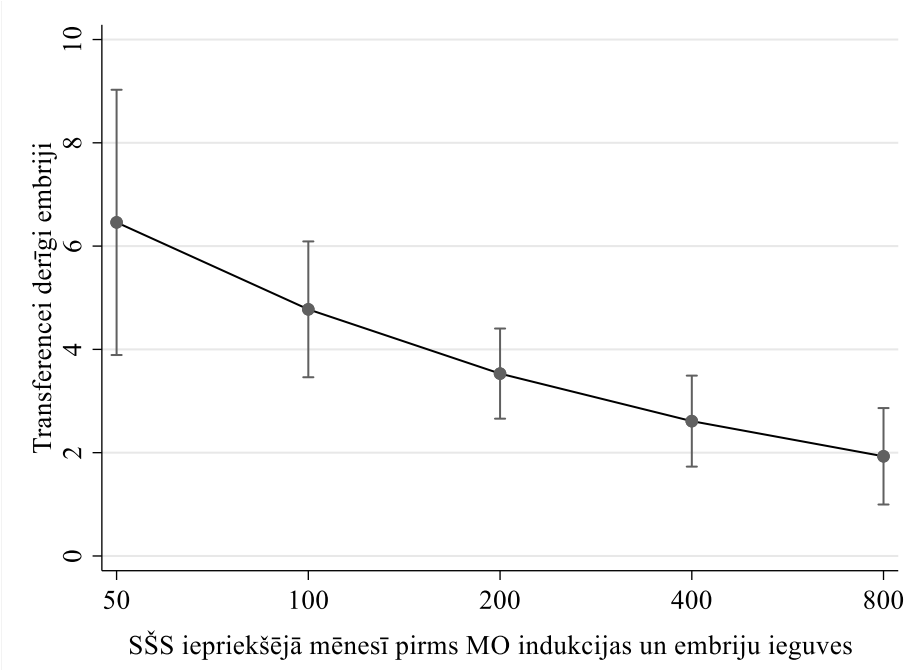
Attēlā parādīta marginālā prognozētā vidējā vērtība un 95% ticamības intervāls

Izveidotais daudzfaktoru negatīvās binomiālās regresijas modelis transference derīgu embriju skaitam jeb Modelis nTE (3.12. tabula) parādīja nozīmīgu saistību ($p < 0.05$) tādiem faktoriem kā seruma $Na^+$, absolūtais eozinofīlo leikocītu skaits (Eo) MO indukcijas pirmajā dienā, vidējā diennakts gaisa temperatūra un SCS iepriekšējā mēnesī pirms embriju iegūšanas. Saskaņā ar nE modeli var prognozēt, ka paaugstinoties diennakts vidējai gaisa temperatūrai no 2.2 līdz 8.4 °C ir sagaidāms nTE samazinājums par 6.4 transferencei derīgiem embrijiem, ja pārējie mainīgie lielumi nemainās ($Na^+$, Eo, SCS, un šķirne). Arī seruma $Na^+$ paaugstināšanās no 138 mmol $L^{-1}$ uz 141 mmol $L^{-1}$ samazina nTE par 3.7 embrijiem, ja pārējie mainīgie lielumi nemainās (vidējā diennakts gaisa tmperatūra, Eo, SCS, un šķirne). Eo palielināšanās asinīs no 0.2 tūkst. $mm^{-3}$ uz 0.9 tūkst. $mm^{-3}$ ir saistīta ar nTE palielināšanos par 2.4 embrijiem. Modelis nTE paredz arī transferencei derīgo embriju ieguves samazināšanos par 3.3 embrijiem, ja donorgovs SCS pieaug par IQR no 2.2 uz 4.6, bet pārējie mainīgie lielumi nemainās (apkārtējās vides gaisa temperatūra, $Na^+$, Eo, un šķirne). SŠS ietekme uz transferencei derīgo embriju skaitu ir parādīta attēlā (3.15. att.).

3.12. tabula. **Donorgovju (n=23) veselības rādītāju asociācija ar transferencei derīgo embriju skaitu (nTE)**

| Neatkarīgie mainīgie lielumi | Vidējais ± SE | ß[3] ± SE | P – vērt. | Bāze | Mainīgā lieluma vērtības | Prognozētais nTE | Ietekme, \|ΔnTE\| |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diennakts vidējā gaisa temperatūra[1] (ºC) | 7.1 ± 1.32 | -0.14 ± 0.06 | 0.016 | IQR[4] | 2.2 | 11.1 ± 7.46 | negatīva 6.4 |
| | | | | | 8.4 | 4.7 ± 1.62 | |
| SCS[1] ($log_2$ vienības)[5] | 3.8 ± 0.46 | -0.30 ± 0.09 | 0.001 | IQR | 2.2 | 6.2 ± 1.38 | negatīva 3.3 |
| | | | | | 4.6 | 2.9 ± 0.58 | |
| Nātrijs[2] (mmol $L^{-1}$) | 140.0 ± 0.41 | -0.31 ± 0.08 | <0.001 | IQR | 138 | 6.1 ± 0.98 | negatīva 3.7 |
| | | | | | 141 | 2.4 ± 0.45 | |
| Eozinofīlie leikocīti[2] (tūkst. $mm^{-3}$) | 0.7 ± 0.18 | 1.03 ± 0.24 | <0.001 | IQR | 0.2 | 2.4 ± 0.35 | pozitīva 2.4 |
| | | | | | 0.9 | 4.8 ± 0.85 | |
| Regresijas vienādojuma konstante | … | 46.0 ± 13.8 | <0.001 | … | … | … | … |

[1] Iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas un embriju ieguves;
[2] MO indukcijas pirmajā dienā;
[3] Negatīvās binomiālās regresijas koeficients;
[4] Starpkvartīļu attiecība;
[5] SŠS vērtējums $log_2$ vienībās: SCS = 2 atbilst 50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, SCS = 3 atbilst 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, SCS = 4 atbilst 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$.




3.15. att. **Transferencei derīgu embriju skaita prognoze atkarībā no somatisko šūnu skaita donorgovs pienā**

Attēlā parādīta marginālā prognozētā vidējā vērtība un 95% ticamības intervāls

Kopumā varam teikt, ka nTE analogiem donoriem ar atšķirīgu SŠS iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas, embriju ieguves samazinās, pieaugot SŠS. Turklāt ietekme uz nTE izpaužas ne tikai donorgovīm ar augstu SŠS, bet ar diapazonā SŠS<200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Prognoze liecina, ka 6.5 transferencei derīgus embrijus iegūst, ja SŠS = 50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, bet 3.5 embrijus iegūst, ja SŠS = 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, tātad vidēji samazinājums ir par 3 transferencei derīgiem embrijiem.

# 4. DISKUSIJA

## 4.1. Piena SŠS atkarībā no mastīta ierosinātāja tesmeņa ceturkšņu pienā

Veiktais pētījums demonstrē subklīnisku IMI ietekmi uz piena somatisko šūnu skaitu govīm, kuras tiek slauktas, izmantojot automātisko slaukšanas sistēmu (AMS) jeb slaukšanas robotu. Somatisko šūnu skaita paaugstināšanās ir interpretējama atkarībā no mastīta ierosinātāju grupas majorpatogēnie mastīta ierosinātāji (MaP) un minorpatogēnie mastīta ierosinātāji (MiP), kā arī ierosinātāju epizodiskas vai ilgstošas klātbūtnes pienā, respektīvi, piena dziedzerī. Šajā gadījumā tika izmantota divreizēja tesmeņa ceturkšņu piena paraugu iegūšana un bakterioloģiska izmeklēšana uz ierosinātāju klātbūtnes pastāvīgumu 10…14 dienu laikā. Šāda pieeja, izmantojot atkārtotu testēšanu, ir nepieciešama, lai dziļāk izprastu mastīta ierosinātāju mainību un biežāk ir ieteikta nekā reāli pielietota pat liela apjoma pētījumos (Condas, De Buck et al., 2017). Mūsu pētījumā divreizēja tesmeņa ceturkšņu pārbaude uz mastīta ierosinātāju klātbūtni tika veikta, lai izzinātu, kā notiek ierosinātāju darbība un lai precīzāk izvērtētu govju statusu ganāmpulkos, kur pielieto slaukšanas robotu. Ir saprotams, ka trīs paraugu izmeklēšana atklātu vēl pilnīgāku priekšstatu par tesmeņa veselību govju grupā, lai gan tas biežāk nodrošina tikai nelielu ieguvumu diagnostiskā specifiskuma ziņā un diagnostisko jutību atstāj bez izmaiņām. Daži autori iesaka nepieciešamo paraugu skaitu rūpīgi izvērtēt un pieskaņot konkrētā pētījuma mērķim (Dohoo, Andersen et al., 2011).

Skatoties no praktiskā viedokļa, intramammārās infekcijas (IMI) kontrole parastajā slaukšanā tiek veikta bakterioloģiski testējot speciāli (aseptiski) iegūtus piena paraugus. Paraugus parasti noņem, kad ir pamanīti klīniska mastīta simptomi, saņemts signāls no mastīta brīdināšanas sensora vai piena pārraudzības rezultātos saņemta ziņa par augstu somatisko šūnu skaitu pienā. Kopš ir uzsākta slaukšanas robotu pielietošana, arvien ir notikusi diskusija ap jautājumu, vai mastīta brīdināšanas sensori un piena kvalitātes sensori slaukšanas robotā spēj pilnībā aizstāt kvalificētu slaucēju, jo slaukšanas robotā cilvēka uzmanība ir aizstāta ar sensoru precizitāti (Penry, 2018). Kā apraksta Kamphuis et al. (2013), mastīta noteikšanas sistēmai ir jābūt vienai no precīzākajiem fermas instrumentiem, ar kuriem nodrošina saražotā piena augstu kvalitāti, praktiskā izpildē tas nozīmē nodrošināt zemu piena SŠS, savlaicīgi nosakot govis ar klīnisku mastītu vai augstu SŠS pienā. Tomēr ne visos robotos ir sensors, kas tiešā veidā var novērtēt SŠS pienā. Vēl retāk tiek piedāvāta iespēja izmērīt SŠS tesmeņa ceturkšņu līmenī. Visbiežāk slaukšanas robotos ir nodrošināta iespēja tesmeņa ceturkšņu līmenī mērīt piena elektrovadītspēju, pēc kuras paaugstināšanās spriež par klīniska mastīta iespējamību (France, Dufour et al., 2022). Hipotētiski tie paši sensori, kas domāti klīniska mastīta noteikšanai var tikt izmantoti arī subklīnisku IMI kontrolei. Veiktā pētījuma mērķis bija noskaidrot subklīnisku IMI sastopamību ganāmpulkā ar slaukšanas robotu un atbildēt uz jautājumu, kā bakteriālu patogēnu izsekošanai var pielietot slaukšanas robotā pieejamo mastīta noteikšanas indeksu (MDi). Šī uzdevuma izpildei tikai noskaidrots, kā SŠS pienā ietekmē Map un MiP mastīta ierosinātāju klātbūtne un pastāvīgums un kā mainās MDi, reaģējot uz MaP un MiP ilgstošu un epizodisku klātbūtni govs tesmeņa ceturkšņos.

Labi zināmas bakterioloģijas metodes ir aprobētas precīzai IMI novērtēšanai (Andersen, Dohoo et al., 2010; Condas, De Buck et al., 2017). Mūsu pētījumā ar ceturkšņu piena bakterioloģisko testēšanu noskaidroja, ka 5.7% no ceturkšņiem ir inficēti ar MaP, bet 42.0% ar MiP mastīta ierosinātājiem. Šāda augsta prevalence ilgstošām IMI, ko izraisa MiP ir salīdzināma ar citu autoru pētījumos konstatēto prevalence (Condas, De Buck et al., 2017), kur atzīmēta ne-aureus tipa stafilokoku prevalence 50.6% un 20.6% līmenī, attiecīgi tesmeņa ceturkšņiem ar piena SŠS virs un zem robežvērtības 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Arī tādi MiP, kā korinebaktērijas sastopamība pienā nereti mēdz sasniegt augstu līmeni (Lücken, Wente et al., 2021). Jāņem vērā, ka MiP samazina govs izslaukumu laktācijā, piemēram, koagulāzes

negatīvu stafilokoku gadījumā par 5.7%, bet korinebaktēriju gadījumā pat par 7.4%, tāpēc tesmeņa ceturkšņu piena bakterioloģiska izmeklēšana ir jāveic biežāk, lai arī tiek atklāti tikai it kā nekaitīgi minorpatogēnie ierosinātāji (Heikkilä, Liski et al., 2018). Par govs koppiena paraugu izmantošanu bakteriālu mastīta ierosinātāju kontrolei ir publicēts samērā kritisks vērtējums, atzīstot, ka diagnostiskā jutība šādiem paraugiem nav augstāka par 80%, un var būt 61.2% un 59.8%, ja testēšanu veic govij, kurai tikai vienā no piena dziedzeriem ir attiecīgi *Streptococcus uberis* vai koagulāzes negatīvi stafilokoki (Reyher & Dohoo, 2011). Tai pašā laikā var būt situācijas, kad govs koppiena parauga bakterioloģiska kontrole uz mastīta ierosinātāja klātbūtni var būt pietiekama, piemēram, izmeklējot govs pienu pirms cietlaišanas, lai izlemtu kāds cietlaišanas terapijas protokols konkrētajam dzīvniekam būtu vispiemērotākais.

Mūsu pētījumā konstatēts, ka *Corynebacterium bovis* parādīšanās otrajā piena paraugu iegūšanas reizē, salīdzinot ar pirmo reizi, parasti notika vienā vai divos tesmeņa ceturkšņos, bet ir iespējama arī trijos ceturkšņos vienlaicīgi (3.4. tabula). Tas rada pārdomas par iespējamiem risinājumiem, lai samazinātu korinebaktēriju prevalenci ganāmpulkā, kur govju slaukšanai pielieto slaukšanas robotu. Atbilstoši dažu autoru ieteikumam, korinebaktēriju izplatība varētu būt vēl plašāka, jo ir pamats uzskatīt piena dziedzeri par inficētu ar korinebaktērijām pat tad ja SŠS < 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, bet pienā konstatē korinebaktēriju klātbūtni (Lücken, Wente et al., 2021).

Kādā pētījumā (Bexiga, Koskinen et al., 2011) ir iegūti interesanti rezultāti par piena paraugiem, kuros konstatēta negatīva bakterioloģiskā atrade, proti, 47% no piena paraugiem ar SŠS>500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Veicot atkārtotu parauga izmeklēšanu ar priekšapstrādi (parauga sasaldēšana un atkausēšana) vai lietojot augstākas jutības metodes, piemēram, polimerāzes ķēdes reakciju, beigās tomēr tiek identificēts kāds bakteriāls mastīta ierosinātājs. Līdzīgi arī gadījumos, kad novērots augsts somatisko šūnu skaits pienā, bet bakterioloģiskā testēšanā atrod vienīgi MiP, tādas kā *Corynebacterium spp.* un koagulāzes negatīvus stafilokokus. Arī šeit molekulārā diagnostika spēj pierādīt MaP klātbūtni attiecīgi 35% un 25% no izmeklētajiem paraugiem. Šādas slēptas MaP infekcijas visbiežāk ir *Escherichia coli, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactia,* un *Trueperella pyogenes.* Šī atziņa attiecas arī uz mūsu veikto pētījumu, kurā 15 no 74 tesmeņa ceturkšņiem ar MiP klātbūtni SŠS>500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, un kuri, iespējams, pielietojot jutīgākas izmeklēšanas metodes varētu uzrādīt arī MaP klātbūtni piena paraugā. Literatūrā par AMS atrodami arī autoru novērojumi, ka saimniecībās ar slaukšanas robotu govis retāk inficējas ar *Streptococcus uberis* nekā saimniecībās ar parasto slaukšanu, bet galvenokārt to skaidro ar faktu, ka roboti pārsvarā ir uzstādīti no jauna uzceltās govju novietnēs, kurās vēl nav akumulēta endēmiska mikrobiota (Taponen, Liski et al., 2017).

### 4.2. Tiešsaistes šūnu skaitītāja pielietojums ganāmpulkā ar slaukšanas robotu

Šajā pētījuma posmā ir padziļināti analizēta slaukšanas robota tiešsaistes šūnu skaitītāja OCC (DeLaval) precizitāte ražošanas apstākļos un šī sensora spēja atpazīt govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ kā arī, salīdzinot SŠS līmeni un tā mainību secīgās slaukšanas reizēs, noskaidrots, ka ir iespējams govīm izšķirt četrus SŠS individuālās dinamikas tipus: Dinamika zem robežvērtības (1.tips). Dinamika zem robežvērtības ar īslaicīgu SŠS paaugstināšanos (2.tips). Dinamika pie robežvērtības (3.tips). Dinamika plašā diapazonā zem un virs robežvērtības (4.tips).

Četru SŠS individuālās dinamikas tipu relatīvā proporcija ietekmē visa ganāmpulka koppiena SŠS un līdz ar to arī piena kvalitāti. Īpaši 4. tipa govju skaita attiecība pret 1. un 2. dinamikas tipa govju skaitu ir jāsaglabā pēc iespējas zemāka, lai pastāvīgi būtu zems, kvalitātes prasībām atbilstošs koppiena SŠS. Palielinoties 4. tipa govju skaitam, ir svarīgi pēc iespējas drīz identificēt govis ar šādu SŠS individuālās dinamikas tipu, izšķirt starp tām t.s. problēmgovis (Cheng, Zhu et al., 2010; Dufour, Fréchette et al., 2011), kurām nepieciešams

pievērst uzmanību, veikt mastīta diagnostiku, t.sk. laboratorisku izmeklēšanu uz mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā.

Šajā pētījumā ir noskaidrots, ka 20 slaukšanas reižu laikā ar OCC iegūtie mērījumi labi iezīmē to, kāds ir aktuālais govs pienā novērojamais SŠS individuālās dinamikas raksturs. Īsāki posmi un daudzas slaukšanas reizes bez OCC mērījuma rezultātiem, apgrūtina SŠS individuālās dinamikas vērtēšanu, jo arī govīm ar 4. tipu vairākās secīgās slaukšanas reizēs var būt SCS < 4, jeb SŠS < 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$.

### 4.3. Mastīta noteikšanas indeksa pielietojums govju piena SŠS kontrolei un nekvalitatīva piena novirzīšanai

Mastīta noteikšanas indekss MDi (DeLaval, Zviedrija) primāri ir veidots, lai efektīvi atpazītu robotizētas slaukšanas procesā tos gadījumus, kad govij parādās klīnisks mastīts (Bausewein, Mansfeld et al., 2022). Tomēr kā liecina mūsu pētījuma rezultāti, MDi vērtību paaugstināšanās un pakāpeniska atgriešanās sākotnējā līmenī notiek arī subklīnisku tesmeņa veselības traucējumu gadījumā. Pētījumi par to, kā precīzi modelēt nākamajā govs slaukšanas reizē sagaidāmo govs koppiena SŠS, balstoties uz iepriekšējo 7 dienu informāciju, atzīst ka MDi ir viens no rādītājiem, kas palīdz iegūt precīzāku prognozi par individuālu govi un ganāmpulka koppiena SŠS (Anglart, Hallén-Sandgren et al., 2020). Kā norāda Lukas et al. šis parametrs mastīta noteikšanā uzskatāms par jutīgu, tomēr ne visai precīzu rādītāju, un tas vienmēr jāvērtē kopā ar citiem rādītājiem un ierosinātāja klātbūtni pienā (Lukas, Reneau et al., 2009).

MDi robežvērtības patoloģiska piena automātiskai noteikšanai šajā pētījumā modelēja, izmantojot MDi, SŠS un saražotā piena daudzumu. Tika noskaidrots, ka kopējais novirzītā piena daudzums pie MDi sliekšņa vērtības 2.0 būtu 102 kg jeb 2,3% no kopējā saražotā piena (4387 kg). Piena novirzīšana tiktu veikta 9 slaukšanas reizēs, un teorētiski aprēķinātā novirzītā piena SŠS būtu aptuveni 422 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, un koppiena tvertnē SŠS būtu aptuveni 155 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. No praktiskā viedokļa patoloģiska piena novirzīšana palīdz saglabāt kontroli pār ganāmpulkā saražotā koppiena SŠS līmeni zem 300 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Jebkura zemāka robežvērtība, piemēram, 1.8 palielinātu novirzītā piena daudzumu līdz 265 kg (6% no visa saražotā piena) ar SŠS 360 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Šādā gadījumā somatisko šūnu skaits ganāmpulka koppienā pienā samazinātos līdz 148 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, kam nebūtu praktiskas nozīmes salīdzinājumā ar 155 tūkst. šūnas $mL^{-1}$. Arī attiecībā uz pašas govs veselību MDi = 2.0 vērtība paliek spēkā kā robeža, kuru pārsniedzot, nekavējošai rīcībai – dzīvnieka izmeklēšanai un ārstēšanas nozīmēšanai (DeLaval, 2008, 2023; Perrotin, 2015).

### 4.4. Mastīta noteikšanas indekss intramammāras infekcijas kontrolei

Šajā pētījumā tika konstatēts, ka govīm ar augstāku MDi vērtību (gadījumu grupa) ir augstāks MaP epizodisko un zemāks bakterioloģiski negatīvas atrades īpatsvars nekā govīm ar zemu MDi vērtību (kontroles grupa). Attiecībā uz ilgstošu MiP un MaP, MDi vērtībās atšķirība neparādās.

MaP un MiP parādīšanās vai jauna infekcija galvenokārt tika novērota vienā vai divos govs piena dziedzeros otrajā piena paraugu ņemšanas laikā, salīdzinot ar pirmo paraugu, turklāt īsā laika posmā 10...14 dienās novērotās izmaiņa praktiski vienmēr (95.5%) bija saistītas tikai ar vienu ierosinātāju. Tajā pašā laikā tikai 2.2% govju (1/45) jauna infekcija notikusi trīs ceturtdaļās, bet vienlaicīga jauna ierosinātāja parādīšanās visās četrās tesmeņa ceturtdaļās netika konstatēta nevienai govij. Protams, tam, kā notiek jaunu ierosinātāju iekļūšana piena dziedzerī, liela nozīme ir dažādiem ganāmpulka un govju līmeņa aizsardzības mehānismiem,

piemēram, pupa kanāla raksturlielumiem, šūnu imunitātei, šķirnei, genotipam, vecumam, laktācijas stadijai, SŠS, izslaukumam, vielmaiņas enerģijas bilancei, barībai, vīrusu infekcijām, pašu mastīta ierosinātāju īpašībām, higiēnai, un pupa ādas mikrobiotai, kā arī vai iepriekš ir jau bijusi IMI (De Vliegher, Ohnstad et al., 2018). Arī ierosinātāju pārnesi starp govīm ietekmē daudzi faktori. Ne visi no tiem tika analizēti pašreizējā zinātniskā pētījumā, jo galvenā uzmanība tika pievērsta mastīta ierosinātāju izsekošanai slaukšanas robotā, izmantojot piena kvalitātes noteikšanas sensorus.

Liela mēroga pētījumos ir iespēja izpētīt katru MaP un MiP sugu atsevišķi, ļaujot novērtēt daudzas starpsugu atšķirību nianses. Tomēr ietekme uz piena SŠS ir būtiska, salīdzinot tesmeņa ceturkšņus ar negatīvu bakterioloģisko atradi un tādus ceturkšņus, kas inficēti ar MaP (Condas, De Buck et al., 2017; Nyman, Fasth et al., 2018). Izvērtējot bakterioloģiskās atrades tesmeņa sekrēta izmeklēšanai klīniska mastīta gadījumos, konstatē, ka 30% ierosinātājs tiek meklēts, bet nav konstatēts (Oliveira, Hulland et al., 2013). Tāpēc šajā pētījumā, noskaidrojot MDi pielietojumu bakteriālu patogēnu izsekošanai, tika salīdzināti mastīta ierosinātāju grupējumi MaP un MiP kā subklīnisku iekaisumu cēlonis. Tai pašā laikā lielāka uzmanība tika pievērsta ierosinātāju mainībai, vērtējot epizodisku un nepārtrauktu ierosinātāja klātbūtni tesmeņa ceturkšņu piena paraugos. Tā kā ceturkšņi ar ilgstošu MaP klātbūtni veicināja vislielākā mērā SŠS pieaugumu, tad šādām govīm būtu indicēta agrīna mastīta ārstēšana bez kavēšanās. Šai sakarībā paaugstināts MDi varētu būt svarīgs pirmais signāls piena dziedzerī notiekošam infekcijas procesam, bet diemžēl pētījumā, savstarpēji salīdzinot uz MDi signāla pamata veidotās gadījumu un kontroles govju grupas, MaP infekcijas bija vienādi sadalītas starp grupām - 4 gadījumu grupā un 6 kontroles grupā (3.2. tabula). Arī 74 tesmeņa ceturkšņi ar ilgstošu MiP, galvenokārt *Corynebacerium spp.*, sadalījumā starp gadījumu un kontroles grupām bija līdzīgā skaitā (3.2. tabula). Ir zināms, ka līdz ar nepārtrauktu patogēna klātbūtni piena dziedzerī, palielinās bioplēves veidošanās risks, kas pasliktina izveseļošanās prognozi, gadījumā, ja dotais ierosinātājs pēc zināma laika izraisa klīnisku mastītu. Baktēriju bioplēvju veidošanās uz epitēlija virsmas piena dziedzerī samazina ārstēšanas efektivitāti un, govi neārstējot, attīstās hronisks mastīts, kas var kļūt par iemeslu govs izbrāķēšanai (Hordofa, 2022). Daži autori paaugstinātas MDi vērtības saista ar bioloģiskām izmaiņām tesmenī vai pat visā govs organismā (Forsbäck, Lindmark-Månsson et al., 2010).

### 4.5. Piena sensora MQC-C2 pielietojums govju piena SŠS kontrolei

Jāatzīmē, ka to govju skaits, kuru SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, balstoties uz viskozitātes metodes mērījumiem, bija mazāks nekā pēc laboratorijas instrumentālās metodes vērtējuma, jo kļūdaini negatīvo gadījumu skaits pārsniedza kļūdaini pozitīvo gadījumu skaitu visās slaukšanas reizēs. Tomēr nevarēja pilnībā izslēgt arī to, ka fluktuāciju dēļ nākamajā slaukšanas reizē izmainās arī SŠS un tas vairs nav tikai testu rezultātu sakritības jautājums, bet SŠS rezultātu mainība. Lai gan fakts, ka vidējais ar viskozitātes metodi mērītais SŠS no vairākām secīgām slaukšanas reizēm uzrāda labāku sakritību ar laboratorijas instrumentālo metodi nekā vienā atsevišķā slaukšanas reizē izmērīts SŠS, liecina par pretējo, proti, vidējais rādītājs dzēš katrā mērīšanas reizē pieļauto neprecizitāti (mērījuma gadījuma rakstura kļūdu), un tādā veidā vērtējums nostabilizējas. Ņemot vērā to, ka mērot ar viskozitātes metodi SŠS vairākās secīgās slaukšanas reizēs un aprēķinot katrai govij vidējo vērtību ir iespējams sasniegt vislabāko sakritību ar SŠS, kas mērīts ar laboratorijas instrumentālo metodi. Tādējādi secinām, ka augsta somatisko šūnu skaita govju atrašanai viskozitātes metode jāizmanto pastāvīgi, lai vienmēr būtu iespēja aprēķināt vidējo rādītāju. Jāpiemin, ka regulāri mērījumi ar viskozitātes metodi veido salīdzinoši zemas izmaksas. Konkrēti pētījuma veikšanas laikā, veicot mērījumu katrā govs slaukšanas reizē, šķidro reaģentu patēriņš sensora MQC-C2 darbībai uz vienu slaukšanas robota grupu ar 60 govīm, mēneša periodā bija aptuveni 1 L un tā cena Latvijā 12 EUR.

Sakarā ar to, ka govīm ar ļoti zemu šūnu skaitu, viskozitātes SŠS vienmēr izrādījās augstākas par SŠS, kas mērīts ar laboratorijas instrumentālo metodi, veidojās priekšstats, ka viskozitātes sensoram, sakarā ar netiešo mērīšanas principu, tehniski nav iespējams pareizi izmērīt ļoti zemas SŠS vērtības. Tomēr no praktiskā viedokļa, lai novērtētu tesmeņa veselību, tas nav kritiski svarīgi, jo šīs govis kopējā saražotā piena apjomā nerada problēmas somatisko šūnu skaita ziņā. Ar viskozitātes metodi iegūtais rezultāts var atšķirties no laboratorijas instrumentālās metodes SŠS rezultātiem līdz pat 2 reizēm. Piemēram, ja govij viskozitātes SŠS ir izmērīts 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, faktiskā SŠS vērtība varētu būt augstāka vai zemāka, bet piena ražotājam ir pietiekama ticamība, ka ganāmpulka koppiena SŠS $\leq$ 400 tūkst šūnas $mL^{-1}$ tiks nodrošināts.

### 4.6. Piena SŠS kā viens no embriju donoru atlases kritērijiem

Projekta "Govju ģenētisko resursu saglabāšana Latvijā pielietojot embriju transferenci un ar to saistītās biotehnoloģijas (2017 – 2020) izstrādes ietvaros, kas saistīta ar govs embriju iegūšanu 7 dienā pēc MA, un iespējamiem kritiskiem posmiem to agrīnajā attīstībā, viens no mērķiem bija izvērtēt embriju donorgovju SŠS rādītāja ietekmi uz *corpus luteum* skaitu pēc superovulācijas, kopējo iegūto embriju skaitu un transferencei derīgu embriju skaitu. Šajā sakarā mēs izvirzījām hipotēzi, ka izvēloties embriju donorgovis ar mazāku piena somatisko šūnu skaitu, būs iespējams iegūt vairāk transferencei derīgus embrijus. Pētījuma rezultātā hipotēze tika apstiprināta.

Paaugstināts somatisko šūnu skaits pienā negatīvi ietekmēja gan kopējo embriju skaitu (T), gan transferencei derīgo embriju skaitu (TE), un vairāku autoru pētījumos tiek diskutēta saikne starp subklīnisko mastītu, imūnsistēmu, apaugļošanās rādītājiem, un agrīno embriju mirstību (Hansen, Soto et al., 2004; Konig, Hubner et al., 2006; Lavon, Ezra et al., 2011; Pinedo, Melendez et al., 2009).

Subklīniska mastīta un paaugstināta SŠS negatīvā ietekme uz vienkāršas apaugļošanās procesiem un to hormonālo regulāciju konstatēta arī citu autoru pētījumos. Mastīts pirms, vai pēc MA ir saistīts ar samazinātu grūsnības iestāšanās iespēju pēc MA, savukārt mastīts pēc grūsnības diagnostikas bija saistīts ar palielinātu embriju zaudējumu (Santos, Cerri et al., 2004). Apaugļošanās rādītāju pasliktināšanos, atnešanās perioda pagarināšanos subklīniska mastīta gadījumā govīm ar SŠS > 500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ var skaidrot ar izmaiņām olnīcu fizioloģijā un steroidoģenēzē (Lavon, Ezra et al., 2011; Lavon, Leitner, Klipper et al., 2011; Sakumoto, Shibaya et al., 2003). Pētījumā Japānā 362 govis no sešiem piena saimniecību ganāmpulkiem tika uzraudzītas attiecībā uz SŠS un olnīcu cikliskās darbības atsākšanos pēc dzemdībām. Govīm ar augstu SŠS no 200 līdz 500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ biežāk novēroja pagarinātu luteālās fāzes garumu nekā govīm ar SŠS no 50 līdz 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ ($p < 0.01$). Govīm ar augstu SŠS > 500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ biežāk aizkavējās pirmā ovulācija pēc dzemdībām salīdzinājumā ar govīm, kurām pienā SŠS $\leq$ 500 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ ($p < 0,05$) (Nguyen, Nakao et al., 2011). Izraēlā veikts pētījums parādīja, ka apmēram 30% subklīniska mastīta skarto govju (pamatojoties uz SŠS robežvērtību 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ un bakterioloģisku IMI diagnostiku) novēroja pagarinātu intervālu starp *estrus* un ovulāciju (attiecīgi 56 h pret 28 h), iespējams, zemākas estradiola koncentrācija dēļ, kas aizkavēja preovulatoro luteinizējošā hormona (LH) līmeņa kāpumu un ovulāciju. Kopumā tas liecina, ka zems asinīs cirkulējošais estradiols 30% subklīniskas IMI skartajām govīm rodas viena vai vairāku, pagaidām neidentificētu iekaisuma mediatoru dēļ, kas spēj izjaukt folikulāro steroidoģenēzi. Pakārtoti tai, tiek kavēts estradiola stimulējošais efekts uz GnRH, kas savukārt kavē LH līmeņa strauju paaugstināšanos folikulā, un rezultātā tiek aizkavēta vai iztrūkst ovulācija (Lavon, Leitner et al., 2010; Lavon, Leitner, Klipper et al., 2011). Ir pierādīts, ka ovocītu spēja attīstīties līdz blastocistas stadijai ir samazināta govīm ar spontānu vai eksperimentā izraisītu mastītu (Asaf, Leitner et al., 2014;

Barbosa, Oliveira et al., 2018; Roth, Dvir et al., 2013). Biežākais zemas auglības cēlonis govīm ar mastītu, visticamāk, ir PGF2α un, iespējams, TNFα pieaugums, kā rezultātā notiek agrīna *corpus luteum* (CL) regresija drīz pēc MA un grūsnības pārtraukšanās (Sakumoto & Okuda, 2004). Govīm, kurām novēro mastītu, pēc MA var būt traucēta dzeltenā ķermeņa veidošanās, kas savukārt ietekmē progesterona sekrēciju un embrija attīstību (Mann & Lamming, 2001). Tomēr pierādījumi par luteālās funkcijas traucējumiem mastīta gadījumā govīm ir pretrunīgi. Iespējams, pretrunīgu rezultātu iegūšanas cēlonis vairāk ir skaidrojams ar pētījumu atšķirīgu metodoloģisko pieeju, gramnegatīvu vai grampozitīvu mastīta ierosinātāju toksīnu aplicēšanu, toksīna ievadīšanu intramammāri, intravenozi vai intrauterīni, kā arī ietekmes novērtējumu klīniskā vai subklīniskā mastīta gadījumā (Lavon, Ezra et al., 2011; Lavon, Leitner et al., 2008, 2010).

Mastīts ir saistīts ar citokīnu sekrēcijas pieaugumu, kas var nomākt LH sekrēciju un zemāku progesterona (P4) līmeni asinsritē (Hansen, Soto et al., 2004). Daži atklājumi liecina, ka olšūnu attīstības un nobriešanas spēju pasliktina folikulā no asins plazmas nonākošie LPS jeb materiāls, ko satur gramnegatīvas baktērijas un kas izraisa klīnisku, retāk subklīnisku, mastītu tādējādi samazinot folikulu augšanu un aizkavējot ovulāciju (Gindri, de Ávila Castro et al., 2019; Roth, Dvir et al., 2020). Tomēr ir nepieciešami turpmākie pētījumi, lai noskaidrotu, vai negatīvā ietekme uz ovocītu attīstību izriet no LPS pašas par sevi vai sakarā ar sekundāro iekaisuma mediatoru līmeņa paaugstināšanos (Roth, Dvir et al., 2020).

Pētījumi parādīja arī to, ka govīm ar SŠS no 50 līdz 100 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ bija sliktāka apaugļošanās nekā govīm ar SŠS < 50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ ($P = 0.012$) (Nguyen, Nakao et al., 2011). Jāatzīmē, ka subklīniska mastīta gadījumā folikulu augšana un attīstība var tikt ietekmēta ilgtermiņā (Lavon, Ezra et al., 2011; Rahman, Mazzilli et al., 2012; Roth, Dvir et al., 2013).

Subklīniska mastīta ietekme uz folikulāro augšanu nav viennozīmīga. Tā ir atkarīga no IMI gaitas un smaguma pakāpes. Hroniska mastīta skartām govīm samazinās sekundāro preantrālo folikulu skaits, kā arī folikulu skaits, kuru diametrs pārsniedz 8 mm (Rahman, Mazzilli et al., 2012).

Lai pārbaudītu mastīta iespējamo ilgtermiņa ietekmi uz ovocītu kompetenci, tika veikts pētījums ar olnīcām no izbrāķētām Holšteinas govīm, ar zemu, vidēju un augstu SŠS pēdējo 3 mēnešu laikā pirms nokaušanas. Lai gan blastomēru dalīšanās ātrums starp SŠS grupām neatšķīrās, blastocistu veidošanās biežums govīm ar vidēju un augstu SŠS bija izteikti zemāks nekā govīm ar zemu SŠS (kontroles grupa). Interesanti, ka blastocistu veidošanās rādītāji neatšķirās starp grampozitīvu un gramnegatīvu mastīta ierosinātāju veidiem (Roth, Dvir et al., 2013). Šis pētījums sniedza vērtīgus pierādījumus hipotēzei par olnīcu folikulu kopuma attīstības traucējumiem, ja olšūnu sākotnējā attīstības stadijā govs slimo ar mastītu.

Mūsu pētījumā donorgovīm novēroja labu atbildes reakciju uz multiplās ovulācijas (MO) indukciju, jo 80% (24/30) novēroja 3 un vairāk *corpus luteum* (nCL) izveidošanos, kas ir galvenais MO kvalitātes rādītājs un svarīgs priekšnosacījums daudzu embriju iegūšanai no vērtīgiem ģenētisko resursu dzīvniekiem (Bó & Mapletoft, 2013b). Pašreizējais pētījums ļāva noskaidrot vairākus embriju skaitu un embriju kvalitāti ietekmējošos faktorus un viens no tiem izrādījās donora piena somatisko šūnu skaits iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas. Lai arī darbs tika izstrādāts izmantojot trīs šķirņu, Latvijas Zilā, Latvijas Brūnā un Dānijas Sarkanā, donorgovis, kuras turētas dažādās Latvijas saimniecībās un kuru slaukšanā netika izmantota AMS, iegūties rezultāti par SŠS ietekmi uz transferencei derīgu embriju ieguvi ir vispārināmi uz citām govju šķirnēm un turēšanas sistēmām. Vēl vairāk, slaukšanas robotos iebūvētie sensori piena kvalitātes un tiešā vai netiešā veidā arī SŠS biežai kontrolei katrā slaukšanas reizē, iespējams ļautu vēl precīzāk izvēlēties piemērotākos donorus transferencei derīgu embriju ieguvei, nekā viens atsevišķs piena SŠS mērījuma kritērijs iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas.

## Diskusijas kopsavilkums

Izvērtējot kopumā visus pētījumā iegūtos rezultātus un salīdzinot tos ar literatūras avotos citu autoru aprakstītajiem rezultātiem, var secināt, ka pētījuma izstrādes laiks un trīs unikāli pētījuma materiāla bloki, kas ir tematiski vienoti jautājumā par SŠS vērtēšanas dažādo tehnisko risinājumu iespējām, apstiprina promocijas darba hipotēzi, jo parāda SŠS rezultātu kompleksās vērtēšanas zinātnisko nozīmi un praktiskā pielietojuma aspektus govju tesmeņa veselības uzlabošanā un govju šķirņu saglabāšanā, kas ir svarīgi gan veterinārmedicīnas, gan lopkopības nozaru attīstībai un mijiedarbībai. Pētījums parāda arī to, ka SŠS nav tikai piena kvalitātes parametrs, bet arī govs veselības un reprodukcijas spēju netiešs indikators, kuram īpaši pieaug loma piena ražošanas tehnoloģiskajos risinājumos cilvēka klātbūtni samazinot un arvien vairāk procesus, piemēram, slaukšanu, meklēšanās uzvedības novērošanu, aktivitātes vērtēšanu, aizstājot ar automatizētiem risinājumiem.

# SECINĀJUMI

1. Subklīniska tesmeņa infekcija - ilgstoša MaP un MiP, kā arī epizodiska MaP klātbūtne tesmeņa ceturksnī - paaugstina SŠS pienā, turpretī epizodiska MiP klātbūtne būtisku paaugstinājumu nerada.
2. Slaukšanas robota tiešsaistes šūnu skaitītājs OCC, kas darbojas pēc fluoroptiskā principa, kā diagnostikas palīgierīce precīzi atpazīst govis, kurām ar laboratorijas instrumentālo metodi konstatē SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$ piena.
3. Govju robotizētās slaukšanas sistēmā pielietotā mastīta noteikšanas indeksa MDi vērtības tikai 60% govju atspoguļo SŠS individuālo dinamiku, kā arī MDi efektivitāte piena SŠS > 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$ noteikšanai ir zema.
4. Ar MDi kā kritēriju neatbilstošas kvalitātes piena automātiskai novirzīšanai no kopējās piena plūsmas, robežvērtības MDi = 2.0 pielietošana nodrošina to, ka ganāmpulka koppienā SŠS nepārsniedz 300 tūkst. šūnas $mL^{-1}$.
5. Ar viskozitātes sensoru MQC-C2 noteiktam vidējam SŠS rādītājam no divām secīgām slaukšanas reizēm diagnostiskā precizitāte, lai atpazītu govis ar SŠS > 200 tūkst. šūnas $mL^{-1}$, ir būtiski augstāka nekā vienam atsevišķam mērījumam.
6. Embriju donorgovīm ar SŠS > 200 tūkst šūnas $mL^{-1}$ vienu mēnesi pirms multiplās ovulācijas inducēšanas ir prognozējams transferencei derīgo embriju skaita samazinājums par vismaz 3 embrijiem, salīdzinot ar analogu donoru, kam SŠS ir 50 tūkst. šūnas $mL^{-1}$.
7. Somatisko šūnu skaits ir ne vien mastīta diagnostikas un piena kvalitātes vērtēšanas parametrs, bet arī slaucamo govju tesmeņa aizsardzības un govs reprodukcijas spēju netiešs indikators, kura dinamikas izvērtēšanas aktualitāte pieaug, automatizējot piena ražošanas tehnoloģiskos risinājumus.

# IETEIKUMI PRAKSEI

1. Pielietojot saimniecībā tiešsaistes šūnu skaitītāju OCC, kas darbojas pēc fluoroptiskā principa, ir ieteicams vērtēt somatisko šūnu skaitu 20 secīgās slaukšanas reizēs, lai iegūtu priekšstatu par SŠS individuālās dinamikas tipu, kas var liecināt par subklīniskiem traucējumiem govs tesmenī un majorpatogēno mastīta ierosinātāju klātbūtni pienā.
2. Mērot govs piena SŠS ar sensoru MQC-C2, kas darbojas pēc viskozitātes principa, ieteicams mērījumus veikt katrā govs slaukšanas reizē, jo vidējā vērtība no divām secīgām slaukšanas reizēm precīzāk raksturo govs tesmeņa veselības stāvokli, nekā vienā slaukšanas reizē iegūts rezultāts.
3. Veicot donorgovju izvēli multiplai ovulācijai un embriju ieguvei, ir jāņem vērā potenciālo donoru SŠS un apkārtējās vides gaisa temperatūra vienu mēnesi pirms multiplās ovulācijas indukcijas un embriju iegūšanas.

# IZMANTOTĀ LITERATŪRA


1. Andersen, S., Dohoo, I. R., Olde Riekerink, R., & Stryhn, H. (2010). Diagnosing intramammary infections: Evaluating expert opinions on the definition of intramammary infection using conjoint analysis. *Journal of Dairy Science*, *93*(7), 2966–2975. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2726

2. Anglart, D., Hallén-Sandgren, C., Emanuelson, U., & Rönnegård, L. (2020). Comparison of methods for predicting cow composite somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, *103*(9), 8433–8442. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18320

3. Asaf, S., Leitner, G., Furman, O., Lavon, Y., Kalo, D., Wolfenson, D., & Roth, Z. (2014). Effects of Escherichia coli-and Staphylococcus aureus-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reproduction*, *147*(1), 33–43. https://doi.org/10.1530/REP-13-0383

4. Astermark, S., Funke, H., & Engan-Skei, I. (1969). The relationship between the California mastitis test, Whiteside test, Brabant mastitis reaction, catalase test, and direct cell counting of milk. *Acta Vet. Scand.*, *10*(June), 146–167.

5. Barbosa, L. F. S. P., Oliveira, W. V. C., Pereira, M. H. C., Moreira, M. B., Vasconcelos, C. G. C., Silper, B. F., Cerri, R. L. A., & Vasconcelos, J. L. M. (2018). Somatic cell count and type of intramammary infection impacts fertility from in vitro produced embryo transfer. *Theriogenology*, *108*, 291–296. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.025

6. Bausewein, M., Mansfeld, R., Doherr, M. G., Harms, J., & Sorge, U. S. (2022). Sensitivity and Specificity for the Detection of Clinical Mastitis by Automatic Milking Systems in Bavarian Dairy Herds. *Animals*, *12*(16), 1–18. https://doi.org/10.3390/ANI12162131

7. Bexiga, R., Koskinen, M. T., Holopainen, J., Carneiro, C., Pereira, H., Ellis, K. A., & Vilela, C. L. (2011). Diagnosis of intramammary infection in samples yielding negative results or minor pathogens in conventional bacterial culturing. *Journal of Dairy Research*, *78*, 49–55. https://doi.org/10.1017/S0022029910000725

8. Blackburn, P. S. (1958). Reviews of the progress of Dairy Science. Section E. Diseases of dairy cattle. Mastitis. *Journal of Dairy Research*, *25*(3), 486498. https://doi.org/10.1017/S0022029900013364

9. Bloch, A., Folman, Y., Kaim, M., Roth, Z., Braw-Tal, R., & Wolfenson, D. (2006). Endocrine alterations associated with extended time interval between estrus and ovulation in high-yield dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *89*(12), 4694–4702. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72520-6

10. Bó, G. A., & Mapletoft, R. J. (2013a). Bovine embryo transfer. *Proc.Soc.for Theriogenology Omaha Nebraska*, *10*(July), 344–348. https://doi.org/10.1136/inpract.22.2.80

11. Bó, G. A., & Mapletoft, R. J. (2013b). Evaluation and classification of bovine embryos. *Anim. Reprod.*, *10*(3), 344–348.

12. Brandt, M., Haeussermann, A., & Hartung, E. (2010). Invited review: Technical solutions for analysis of milk constituents and abnormal milk. *Journal of Dairy Science*, *93*(2), 427–436. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2565

13. Cheng, D. R., Zhu, S. Y., Yin, Z. H., Ding, W. W., Mu, Z. X., Su, Z. R., & Sun, H. C. (2010). Prevalence of bacterial infection responsible for bovine mastitis. *J Microbiol*,

*4*(11), 1110–1116.

14. Chorfi, Y., Lanevschi, A., Dupras, R., Girard, V., & Tremblay, A. (2007). Serum biochemical parameters and embryo production during superovulatory treatment in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, *83*(3), 318–321. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.01.010

15. Condas, L. A. Z., De Buck, J., Nobrega, D. B., Carson, D. A., Roy, J. P., Keefe, G. P., DeVries, T. J., Middleton, J. R., Dufour, S., & Barkema, H. W. (2017). Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, *100*(7), 5613–5627. https://doi.org/10.3168/jds.2016-12479

16. Dahl, M. O., De Vries, A., Galvão, K. N., Maunsell, F. P., Risco, C. A., & Hernandez, J. A. (2020). Combined effect of mastitis and parity on pregnancy loss in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, *143*, 57–63. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.12.002

17. Dahl, M. O., De Vries, A., Maunsell, F. P., Galvao, K. N., Risco, C. A., & Hernandez, J. A. (2018). Epidemiologic and economic analyses of pregnancy loss attributable to mastitis in primiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(11), 10142–10150. https://doi.org/10.3168/jds.2018-14619

18. Dahl, M. O., Maunsell, F. P., De Vries, A., Galvao, K. N., Risco, C. A., & Hernandez, J. A. (2017). Evidence that mastitis can cause pregnancy loss in dairy cows: A systematic review of observational studies. *Journal of Dairy Science*, *100*(10), 8322–8329. https://doi.org/10.3168/jds.2017-12711

19. Dahlberg, J., Williams, J. E., Mcguire, M. A., Peterson, H. K., Östensson, K., Agenäs, S., Dicksved, J., & Persson-Waller, K. (2020). Microbiota of bovine milk , teat skin , and teat canal : Similarity and variation due to sampling technique and milk fraction. *Journal of Dairy Science*, *103*(8), 7322–7330. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17783

20. Damm, M., Holm, C., Blaabjerg, M., Bro, M. N., & Schwarz, D. (2017). Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. *Journal of Dairy Science*, *100*(6), 4926–4940. https://doi.org/10.3168/jds.2016-12409

21. De Vliegher, S., Ohnstad, I., & Piepers, S. (2018). Management and prevention of mastitis: A multifactorial approach with a focus on milking, bedding and data-management. *Journal of Integrative Agriculture*, *17*(6), 1214–1233. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61893-8

22. DeLaval. (2008). Troubleshooting. In *Instruction Book DeLaval voluntary milking system VMS model 2008* (pp. 153–196). DeLaval.

23. DeLaval. (2023). *DeLaval DelPro system 5.1 (VMS)*. DeLaval.

24. Dingwell, R. T., Leslie, K. E., Schukken, Y. H., Sargeant, J. M., & Timms, L. L. (2003). Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *Canadian Veterinary Journal*, *44*, 413–416. https://doi.org/2003-044

25. Dohoo, I. R., Andersen, S., Dingwell, R. T., Hand, K., Kelton, D., Leslie, K., Schukken, Y. H., & Godden, S. (2011). Diagnosing intramammary infections: Comparison of multiple versus single quarter milk samples for the identification of intramammary infections in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *94*(11), 5515–5522. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4486

26. Dohoo, I. R., & Leslie, K. E. (1991). Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*, *10*(3), 225–237. https://doi.org/10.1016/0167-5877(91)90006-N

27. Dohoo, I. R., Martin, W., & Stryhn, H. (2010a). Confounding: Detection and Control. In *Veterinary Epidemiologic Research* (2nd ed., pp. 271–322). VERinc.

28. Dohoo, I. R., Martin, W., & Stryhn, H. (2010b). Modelling Count and Rate Data. In S. M. MsPike (Ed.), *Veterinary Epidemiologic Research* (2nd ed., pp. 445–466). VERinc.

29. Dufour, S., Fréchette, A., Barkema, H. W., Mussell, A., & Scholl, D. T. (2011). Invited review: effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, *94*(2), 563–579. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3715

30. Ebrahimie, E., Ebrahimi, F., Ebrahimi, M., Tomlinson, S., & Petrovski, K. R. (2018a). 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*, *85*(02), 193–200. https://doi.org/10.1017/S0022029918000249

31. Ebrahimie, E., Ebrahimi, F., Ebrahimi, M., Tomlinson, S., & Petrovski, K. R. (2018b). Hierarchical pattern recognition in milking parameters predicts mastitis prevalence. *Computers and Electronics in Agriculture*, *147*, 6–11. https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.02.003

32. Fadul-Pacheco, L., Lacroix, R., Séguin, M., Grisé, M., Vasseur, E., & Lefebvre, D. (2018). *Comparison of milk composition and somatic cell count estimates from automatic milking systems sensors and milk recording laboratory*. *February*.

33. Ferguson, J. D., Galligan, D. T., & Thomsen, N. (1994). Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, *77*(9), 2695–2703. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X

34. Forsbäck, L., Lindmark-Månsson, H., Andrén, A., Akerstedt, M., Andrée, L., & Svennersten-Sjaunja, K. (2010). Day-to-day variation in milk yield and milk composition at the udder-quarter level. *Journal of Dairy Science*, *93*(8), 3569–3577. https://doi.org/10.3168/jds.2009-3015

35. France, A. E., Dufour, S., Kelton, D. F., Barkema, H. W., Kurban, D., & DeVries, T. J. (2022). Effect of dry-off management on milking behavior, milk yield, and somatic cell count of dairy cows milked in automated milking systems. *Journal of Dairy Science*, *105*(4), 3544–3558. https://doi.org/10.3168/jds.2021-21383

36. Furman, O., Leitner, G., Roth, Z., Lavon, Y., Jacoby, S., & Wolfenson, D. (2014). Experimental model of toxin-induced subclinical mastitis and its effect on disruption of follicular function in cows. *Theriogenology*, *82*(8), 1165–1172. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.002

37. Gindri, P., de Ávila Castro, N., Mion, B., Garziera Gasperin, B., Catarelli Pegoraro, L. M., Alveiro Alvarado Rincón, J., Diniz Vieira, A., Pradieé, J., Machado Pfeifer, L. F., Nunes Corrêa, M., & Schneider, A. (2019). Intrafollicular lipopolysaccharide injection delays ovulation in cows. *Animal Reproduction Science*, *211*(November), 106226. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106226

38. Gonçalves, J. L., Kamphuis, C., Martins, C. M. M. R., Barreiro, J. R., Tomazi, T., Gameiro, A. H., Hogeveen, H., & dos Santos, M. V. (2018). Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, *210*(June 2017), 25–32.

https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.016

39. Gonçalves, J. L., Tomazi, T., Barreiro, J. R., Beuron, D. C., Arcari, M. A., Lee, S. H. I., Martins, C. M. M. R., Araújo Junior, J. P., & Santos, M. V. (2016). Effects of bovine subclinical mastitis caused by Corynebacterium spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *The Veterinary Journal*, *209*, 87–92. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.009

40. Gonzalo, C., Linage, B., Carriedo, J. A., De La Fuente, F., & San Primitivo, F. (2006). Evaluation of the overall accuracy of the DeLaval cell counter for somatic cell counts in ovine milk. *Journal of Dairy Science*, *89*(12), 4613–4619. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72511-5

41. Gussmann, M., Kirkeby, C., Schwarz, D., Farre, M., & Halasa, T. (2020). A simulation study to investigate the added value in using di ff erential somatic cell count as an additional indicator for udder health management in dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, *182*(July), 105090. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105090

42. Hansen, P. J., Soto, P., & Natzke, R. P. (2004). Mastitis and fertility in cattle - Possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *American Journal of Reproductive Immunology*, *51*(4), 294–301. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2004.00160.x

43. Heikkilä, A. M., Liski, E., Pyörälä, S., & Taponen, S. (2018). Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*, *101*(10), 9493–9504. https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2018-14824

44. Hockett, M. E., Almeida, R. A., Rohrbach, N. R., Oliver, S. P., Dowlen, H. H., & Schrick, F. N. (2005). Effects of induced clinical mastitis during preovulation on endocrine and follicular function. *Journal of Dairy Science*, *88*(7), 2422–2431. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72920-9

45. Hockett, M. E., Hopkins, F. M., Lewis, M. J., Saxton, A. M., Dowlen, H. H., Oliver, S. P., & Schrick, F. N. (2000). Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. *Animal Reproduction Science*, *58*(3–4), 241–251. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(99)00089-5

46. Hordofa, D. L. (2022). Review on Biofilm Forming Microbials in Cases of Bovine Mastitis and its Impact on Treatment. *Journal of Veterinary Science and Technology*, *13*(4), 1–8. https://doi.org/10.37421/2157-7579.2022.13.116

47. Hovinen, M., Aisla, A. M., & Pyörälä, S. (2006). Accuracy and reliability of mastitis detection with electrical conductivity and milk colour measurement in automatic milking. *Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Sciences*, *56*(3–4), 121–127. https://doi.org/10.1080/09064700701216888

48. Hovinen, M., & Pyörälä, S. (2011). Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. *Journal of Dairy Science*, *94*(2), 547–562. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3556

49. Kamphuis, C., Dela Rue, B., Mein, G., & Jago, J. (2013). Development of protocols to evaluate in-line mastitis-detection systems. *Journal of Dairy Science*, *96*(6), 4047–4058. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6190

50. Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed.). Academic Press, California.

51. Kawasaki, M., Kawamura, S., Tsukahara, M., Morita, S., Komiya, M., & Natsuga, M.

(2008). Near-infrared spectroscopic sensing system for on-line milk quality assessment in a milking robot. *Computers and Electronics in Agriculture*, *63*(1), 22–27. https://doi.org/10.1016/j.compag.2008.01.006

52. Kehrli, M. E., & Shuster, D. E. (1994). Factors Affecting Milk Somatic Cells and Their Role in Health of the Bovine Mammary Gland. *Journal of Dairy Science*, *77*(2), 619–627. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76992-7

53. Khatun, M., Thomson, P. C., Kerrisk, K. L., Lyons, N. A., Clark, C. E. F., Molfino, J., & García, S. C. (2018). Development of a new clinical mastitis detection method for automatic milking systems. *Journal of Dairy Science*, *101*(10), 9385–9395. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14310

54. Konig, S., Hubner, G., Sharifi, A. R., Bohlsen, E., Detterer, J., Simianer, H., & Holtz, W. . (2006). Relation between the somatic cell count and the success of first insemination in East Frisian dairy herds on the basis of logistic models analysis. *Zuchtungskunde*, *70*(2), 90–101.

55. Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*, *33*(1), 159–174. https://doi.org/10.2307/2529310

56. Latimer, K. S. (Ed.). (2011). *Duncan & Phrasse`s Veterinary Laboratoruy Medicine: Clinical Pathology* (5th ed.). Wiley-Blackwell.

57. Latvijas Republikas Ministru Kabinets. (2001). *Eksperimentos un zinātniskos nolūkos izmantojamo dzīvnieku turēšanas , izmantošanas , tirdzniecības un nogalināšanas kārtība* (pp. 1–14). LR Ministru Kabinets.

58. Latvijas Republikas Ministru Kabinets. (2010). *Noteikumi par izmēģinājumu dzīvnieku audzētāju , piegādātāju un lietotāju reģistrāciju , kārtība , kādā veicamas darbības ar izmēģinājumu dzīvniekiem , un izmēģinājumu dzīvniekiem nodrošināmās labturības prasības* (pp. 1–50). LR Ministru Kabinets.

59. Latvijas Republikas Ministru Kabinets. (2013). *Noteikumi par zinātniskiem mērķiem izmantojamo dzīvnieku aizsardzību* (pp. 1–55). LR Ministru kKabinets.

60. Latvijas Republikas Saeima. (2000). *Dzīvnieku aizsardzības likums* (pp. 1–12). LR Saeima.

61. Lavon, Y., Ezra, E., Leitner, G., & Wolfenson, D. (2011). Association of conception rate with pattern and level of somatic cell count elevation relative to time of insemination in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *94*(9), 4538–4545. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4293

62. Lavon, Y., Leitner, G., Goshen, T., Braw-Tal, R., Jacoby, S., & Wolfenson, D. (2008). Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology*, *70*(6), 956–967. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.058

63. Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U., Meidan, R., & Wolfenson, D. (2011). Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domestic Animal Endocrinology*, *40*(2), 98–109. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.09.004

64. Lavon, Y., Leitner, G., Moallem, U., Klipper, E., Voet, H., Jacoby, S., Glick, G., Meidan, R., & Wolfenson, D. (2011). Immediate and carryover effects of Gram-negative and Gram-positive toxin-induced mastitis on follicular function in dairy cows. *Theriogenology*, *76*(5), 942–953. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.05.001

65. Lavon, Y., Leitner, G., Voet, H., & Wolfenson, D. (2010). Naturally occurring mastitis effects on timing of ovulation, steroid and gonadotrophic hormone concentrations, and follicular and luteal growth in cows. *Journal of Dairy Science*, *93*(3), 911–921. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2112

66. Leitner, G., Blum, S. E., Krifuks, O., Edery, N., & Merin, U. (2020). Correlation between milk bacteriology, cytology and mammary tissue histology in cows: Cure from the pathogen or recovery from the inflammation. *Pathogens*, *9*(364), 1–11. https://doi.org/10.3390/pathogens9050364

67. Lely. (2007). Milk Quality Control - Somatic Cell Count Indicator. In *Operator manual*. Lely.

68. Lely. (2013). *Lely Dairy Equipment*. http://www.lely.com/uploads/original/documents/Brochures/Dairy/Dairy_equipment_brochure_2014/Lely_Dairy_equipment_2014_-_EN.pdf

69. Lin, L. I., McBride, G. B., Bland, J. M., & Altman, D. G. (2005). A proposal for strength-of-agreement criteria for Lin's Concordance Correlation Coefficient. In *NIWA Client Report: HAM205-062* (Vol. 45, Issue 1, pp. 1–14). NIWA.

70. Lücken, A., Wente, N., Zhang, Y., Woudstra, S., & Krömker, V. (2021). Corynebacteria in Bovine Quarter Milk Samples—Species and Somatic Cell Counts. *Pathogens*, *10*(7), 1–9. https://doi.org/10.3390/pathogens10070831

71. Lukas, J. M., Hawkins, D. M., Kinsel, M. L., & Reneau, J. K. (2005). Bulk tank somatic cell counts analyzed by statistical process control tools to identify and monitor subclinical mastitis incidence. *Journal of Dairy Science*, *88*(11), 3944–3952. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73080-0

72. Lukas, J. M., Reneau, J. K., Wallace, R., Hawkins, D., & munoz-Zanzi, C. (2009). A novel method of analyzing daily milk production and electrical conductivity to predict disease onset. *Journal of Dairy Science*, *92*(12), 5964–5976. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2066

73. Lusis, I., Antane, V., & Laurs, A. (2010). Effectiveness of somatic cell count determination in the milking robots. *Engineering for Rural Development - International Scientific Conference*, 112–116.

74. Lusis, I., Antane, V., & Laurs, A. (2017). Effectiveness of mastitis detection index for cow monitoring and abnormal milk detection in milking robots. *Engineering for Rural Development*, *16*, 1383–1387. https://doi.org/10.22616/ERDev2017.16.N314

75. Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*, *121*(1), 175–180. https://doi.org/10.1530/rep.0.1210175

76. Martins, S. A. M., Martins, V. C., Cardoso, F. A., Germano, J., Rodrigues, M., Duarte, C., Bexiga, R., & Cardoso, S. (2019). Biosensors for On-Farm Diagnosis of Mastitis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *7*, 1–19. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00186

77. Meilina, H., Kuroki, S., Jinendra, B. M., Ikuta, K., & Tsenkova, R. (2009). Double threshold method for mastitis diagnosis based on NIR spectra of raw milk and chemometrics. *Biosystems Engineering*, *104*(2), 243–249. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2009.04.006

78. Merle, R., Schröder, A., & Hamann, J. (2007). Cell function in the bovine mammary

gland: A preliminary study on interdependence of healthy and infected udder quarters. *Journal of Dairy Research*, *74*, 174. https://doi.org/10.1017/S002202990600238X

79. Mochrie, R. D., & Monroe, R. J. (1978). Fossomatic method of somatic cell counting in milk: collaborative study. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, *61*(4), 779–784. https://doi.org/10.1093/jaoac/61.4.779

80. Mollenhorst, H., Hidayat, M. M., Broek, J. Van Den, Neijenhuis, F., & Hogeveen, H. (2011). The relationship between milking interval and somatic cell count in automatic milking systems. *Journal of Dairy Science*, *94*(9), 4531–4537. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4244

81. Mollenhorst, H., Tol, P. P. J., & Hogeveen, H. (2010). Somatic cell count assessment at the quarter or cow milking level. *Journal of Dairy Science*, *93*(7), 3358–3364. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2842

82. Moore, D. A., Overton, M. W., Chebel, R. C., Truscott, M. L., & BonDurant, R. H. (2005). Evaluation of factors that affect embryonic loss in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *226*(7), 1112–1118. https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.1112

83. Moreira, C. N., Souza, S. N., Barini, A. C., Araújo, E. G., & Fioravanti, M. C. S. (2012). Serum γ-glutamyltransferase activity as an indicator of chronic liver injury in cattle with no clinical signs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, *64*(6), 1403–1410. https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000600001

84. National Mastitis Council. (1987). *Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis* (A. Bringe, R. J. Eberhart, D. E. Jasper, L. Newman, E. Row, W. D. Schultze, & K. L. Smith (Eds.)). National Mastitis Council.

85. National Mastitis Council. (2017). *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis.* (J. S. Hogan, R. N. Gonzalez, R. J. Harmon, S. C. Nickerson, S. P. Oliver, J. W. Pankey, & K. L. Smith (Eds.); 3rd ed.). National Mastitis Council.

86. Nguyen, T., Nakao, T., Gautam, G., Su, L., Ranasinghe, R., & Yusuf, M. (2011). Relationship between milk somatic cell count and postpartum ovarian cyclicity and fertility in dairy cows. *Acta Veterinaria Hungarica*, *59*(3), 349–362. https://doi.org/10.1556/AVet.2011.017

87. Norberg, E., Hogeveen, H., Korsgaard, I. R., Friggens, N. C., Sloth, K. H. M. N., & Løvendahl, P. (2004). Electrical conductivity of milk: Ability to predict mastitis status. *Journal of Dairy Science*, *87*(4), 1099–1107. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73256-7

88. Nyman, A. K., Emanuelson, U., & Persson-Waller, K. (2016). Diagnostic test performance of somatic cell count, lactate dehydrogenase, and N-acetyl-β-d-glucosaminidase for detecting dairy cows with intramammary infection. *Journal of Dairy Science*, *99*(2), 1440–1448. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9808

89. Nyman, A. K., Fasth, C., & Persson-Waller, K. (2018). Intramammary infections with different non-aureus staphylococci in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(2), 1403–1418. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13467

90. Nyman, A. K., Persson-Waller, K., Emanuelson, U., & Frössling, J. (2016). Sensitivity and specificity of PCR analysis and bacteriological culture of milk samples for identification of intramammary infections in dairy cows using latent class analysis. *Preventive Veterinary Medicine*, *135*, 123–131.

https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.11.009

91. Oliveira, L., Hulland, C., & Ruegg, P. L. (2013). Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, *96*(12), 7538–7549. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6078

92. Østerås, O., Edge, V. L., & Martin, S. W. (1999). Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. *Journal of Dairy Science*, *82*(6), 1221–1231. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75345-2

93. Penry, J. F. (2018). Mastitis Control in Automatic Milking Systems. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *34*(3), 439–456. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.06.004

94. Perrotin, T. (2015). Milking robots can help farmers in their fight against mastitis. *International Dairy Topics*, *14*(6), 15.

95. Phipps, L. W., & Newbould, F. H. S. (1966). Determination of leucocyte concentrations in cow's milk with a Coulter counter. *Journal of Dairy Research*, *33*(1), 51–64. https://doi.org/10.1017/S0022029900011717

96. Piccinni, M. P., Scaletti, C., Mavilia, C., Lazzeri, E., Romagnani, P., Natali, I., Pellegrini, S., Livi, C., Romagnani, S., & Maggi, E. (2001). Production of IL-4 and leukemia inhibitory factor by T cells of the cumulus oophorus: A favorable microenvironment for pre-implantation embryo development. *European Journal of Immunology*, *31*(8), 2431–2437. https://doi.org/10.1002/1521-4141(200108)31:8<2431::AID-IMMU2431>3.0.CO;2-U

97. Piepers, S., Opsomer, G., Barkema, H. W., de Kruif, A., & De Vliegher, S. (2010). Heifers infected with coagulase-negative staphylococci in early lactation have fewer cases of clinical mastitis and higher milk production in their first lactation than noninfected heifers. *Journal of Dairy Science*, *93*(5), 2014–2024. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2897

98. Piepers, S., Schukken, Y. H., Passchyn, P., & De Vliegher, S. (2013). The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. *Journal of Dairy Science*, *96*(8), 5095–5105. https://doi.org/10.3168/jds.2013-6644

99. Pinedo, P. J., Melendez, P., Villagomez-Cortes, J. A., & Risco, C. A. (2009). Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *92*(4), 1575–1580. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1783

100. Pyörälä, S. (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*, *34*(5), 565–578. https://doi.org/10.1051/vetres

101. Pyörälä, S., & Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci-Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, *134*(1–2), 3–8. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.015

102. Quist, M. A., LeBlanc, S. J., Hand, K. J., Lazenby, D., Kelton, D. F., & Miglior, F. (2008). Milking-to-Milking Variability for Milk Yield, Fat and Protein Percentage, and Somatic Cell Count. *Journal of Dairy Science*, *91*(9), 3412–3423. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0184

103. Rahman, M. M., Mazzilli, M., Pennarossa, G., Brevini, T. A. L., Zecconi, A., & Gandolfi, F. (2012). Chronic mastitis is associated with altered ovarian follicle development in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *95*(4), 1885–1893. https://doi.org/10.3168/jds.2011-

4815

104. Rainard, P., & Poutrel, B. (1988). Effect of naturally occurring intramammary infections by minor pathogens on new infections by major pathogens in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, *49*(3), 327–329.

105. Redelman, D., Butler, S., Robison, J., & Garner, D. (1988). Identification of inflammatory cells in bovine milk by flow cytometry. *Cytometry*, *9*(5), 463–468. https://doi.org/10.1002/cyto.990090510

106. Reyher, K. K., & Dohoo, I. R. (2011). Diagnosing intramammary infections: Evaluation of composite milk samples to detect intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, *94*(7), 3387–3396. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3907

107. Reyher, K. K., Dohoo, I. R., Scholl, D. T., & Keefe, G. P. (2012). Evaluation of minor pathogen intramammary infection, susceptibility parameters, and somatic cell counts on the development of new intramammary infections with major mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, *95*(7), 3766–3780. https://doi.org/10.3168/jds.2011-5148

108. Roth, Z., Dvir, A., Furman, O., Lavon, Y., Kalo, D., Leitner, G., & Wolfenson, D. (2020). Oocyte maturation in plasma or follicular fluid obtained from lipopolysaccharide-treated cows disrupts its developmental competence. *Theriogenology*, *141*, 120–127. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.021

109. Roth, Z., Dvir, A., Kalo, D., Lavon, Y., Krifucks, O., Wolfenson, D., & Leitner, G. (2013). Naturally occurring mastitis disrupts developmental competence of bovine oocytes. *Journal of Dairy Science*, *96*(10), 6499–6505. https://doi.org/10.3168/jds.2013-6903

110. Rowe, S. M., Godden, S. M., Nydam, D. V., Gorden, P. J., Lago, A., Vasquez, A. K., Royster, E., Timmerman, J., & Thomas, M. J. (2020). Randomized controlled trial investigating the effect of 2 selective dry-cow therapy protocols on udder health and performance in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, *103*(7), 6493–6503. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17961

111. Ruegg, P. L., & Reinemann, D. J. (2002). Milk quality and mastitis tests. *The Bovine Practitioner*, 41–54. https://doi.org/10.21423/bovine-vol36no1p41-54

112. Sakumoto, R., & Okuda, K. (2004). Possible actions of tumor necrosis factor-α in ovarian function. *Journal of Reproduction and Development*, *50*(1), 39–46. https://doi.org/10.1262/jrd.50.39

113. Sakumoto, R., Shibaya, M., & Okuda, K. (2003). Tumor necrosis factor-α (TNFα) inhibits progesterone and estradiol-17β production from cultured granulosa cells: Presence of TNFα receptors in bovine granulosa and theca cells. *Journal of Reproduction and Development*, *49*(6), 441–449. https://doi.org/10.1262/jrd.49.441

114. Santos, G., Bottino, M. P., Santos, A. P. C., Simões, L. M. S., Souza, J. C., Ferreira, M. B. D., da Silveira, J. C., Ávila, A. C. F. C. M., Bride, A., & Sales, J. N. S. (2018). Subclinical mastitis interferes with ovulation, oocyte and granulosa cell quality in dairy cows. *Theriogenology*, *119*, 214–219. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.04.028

115. Santos, J. E., Cerri, R. L., Ballou, M. A., Higginbotham, G. E., & Kirk, J. H. (2004). Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Animal Reproduction Science*, *80*(1–2), 31–45. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00133-7

116. Sargeant, J. M., Leslie, K. E., Shirley, J. E., Pulkrabek, B. J., & Lim, G. H. (2001). Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal of Dairy Science*, *84*(9), 2018–2024. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0

117. Schrick, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., & Oliver, S. P. (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *Journal of Dairy Science*, *84*(6), 1407–1412. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70172-5

118. Schukken, Y. H., Gonzalez, R. N., Tikofsky, L. L., Schulte, H. F., Santisteban, C. G., Welcome, F. L., Bennett, G. J., Zurakowski, M. J., & Zadoks, R. N. (2009). CNS mastitis: Nothing to worry about? *Veterinary Microbiology*, *134*(1–2), 9–14. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.014

119. Schukken, Y. H., Wilson, D. J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., & Gonzalez, R. N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, *34*, 579–596. https://doi.org/10.1051/vetres:2003028

120. Schwarz, D., Diesterbeck, U. S., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., Wolter, W., & Czerny, C. P. (2011). Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of Dairy Science*, *94*(10), 5033–5044. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4348

121. Shimizu, T., Miyauchi, K., Shirasuna, K., Bollwein, H., Magata, F., Murayama, C., & Miyamoto, A. (2012). Effects of lipopolysaccharide (LPS) and peptidoglycan (PGN) on estradiol production in bovine granulosa cells from small and large follicles. *Toxicology in Vitro*, *26*(7), 1134–1142. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.06.014

122. Shook, G. E. (1993). Conversion of Somatic Cell Count to Somatic Cell Score. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, *9*(3), 579–581.

123. Sorensen, L. P., Bjerring, M., & Løvendahl, P. (2016). Monitoring individual cow udder health in automated milking systems using online somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, *99*(1), 608–620. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8823

124. Soto, P., Natzke, R. P., & Hansen, P. J. (2000). Actions of Tumor Necrosis Factor-α on Oocyte Maturation and Embryonic Development in Cattle. *American Journal of Reproductive Immunology*, *50*, 380–388.

125. Soto, P., Natzke, R. P., & Hansen, P. J. (2003). Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: Actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F2α, and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *American Journal of Reproductive Immunology*, *50*(3), 263–272. https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2003.00085.x

126. Steichen, T. J., & Cox, N. J. (2002). A Note on the Concordance Correlation Coefficient. *The Stata Journal: Promoting Communications on Statistics and Stata*, *2*(2), 183–189. https://doi.org/10.1177/1536867x0200200206

127. Tanikawa, N., Ohtsu, A., Kawahara-Miki, R., Kimura, K., Matsuyama, S., Iwata, H., Kuwayama, T., & Shirasuna, K. (2017). Age-associated mRNA expression changes in bovine endometrial cells in vitro. *Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E*, *15*(1), 63. https://doi.org/10.1186/s12958-017-0284-z

128. Taponen, S., Liski, E., Heikkilä, A. M., & Pyörälä, S. (2017). Factors associated with

intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, Staphylococcus aureus , Streptococcus uberis , Streptococcus dysgalactiae , Corynebacterium bovis , or Escherichia coli. *Journal of Dairy Science*, *100*(1). https://doi.org/10.3168/jds.2016-11465

129. Toft, N., Halasa, T., Nielsen, S. S., Hechinger, S., Zervens, L. M., Schwarz, D., & Kirkeby, C. (2019). Composite or aseptic quarter milk samples: Sensitivity and specificity of PCR and bacterial culture of Staphylococcus aureus based on Bayesian latent class evaluation. *Preventive Veterinary Medicine*, *171*(April), 104689. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.05.002

130. Van Saun, R. J. (2016). Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tierarztliche Praxis Ausgabe G: Grosstiere - Nutztiere*, *44*(2), 118–126. https://doi.org/10.15653/TPG-150947

131. Viana, J. H. M., Vargas, M. S. B., Siqueira, L. G. B., Camargo, L. S. A., Figueiredo, A. C. S., Fernandes, C. A. C., & Palhao, M. P. (2016). Efficacy of induction of luteolysis in superovulated cows is dependent on time of prostaglandin F2alpha analog treatment: effects on plasma progesterone and luteinizing hormone profiles. *Theriogenology*, *86*(4), 934–939. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.03.016

132. Wall, S. K., Wellnitz, O., Bruckmaier, R. M., & Schwarz, D. (2018). Differential somatic cell count in milk before, during, and after lipopolysaccharide- and lipoteichoic-acid-induced mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14152

133. Watson, P. F., & Petrie, A. (2010). Method agreement analysis: A review of correct methodology. *Theriogenology*, *73*(9), 1167–1179. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01.003

134. Westergaard, L. G., Laursen, S. B., & Yding Andersen, C. (2000). Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation in normogonadotrophic women undergoing assisted reproduction. *Human Reproduction*, *15*(5), 1003–1008. https://doi.org/10.1093/humrep/15.5.1003

135. White, L. J., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Medley, G. F., & Chappell, M. J. (2001). A multispecies model for the transmission and control of mastitis in dairy cows. *Epidemiology and Infection*, *127*(3), 567–576. https://doi.org/10.1017/s0950268801006100

136. Whyte, D., Walmsley, M., Liew, A., Claycomb, R., & Mein, G. (2005). Chemical and rheological aspects of gel formation in the California Mastitis Test. *Journal of Dairy Research*, *72*(1), 115–121. https://doi.org/10.1017/S0022029904000561

137. Wolfenson, D., Roth, Z., Lavon, Y., & Leitner, G. (2019). Effects of mastitis on ovarian function and fertility in dairy cows. *Bioscientifica Proceedings*, 431–443. https://doi.org/10.1530/biosciprocs.8.030

# PATEICĪBAS

Šajā vietā vēlos pateikties visiem, kas ar attieksmi, lēmumiem un rīcību dažādos veidos ir sekmējuši šī promocijas darba tapšanu. Ar dziļu cieņu pateicos manai darba zinātniskajai vadītājai profesorei emeritus Dr.med.vet. Vitai Antānei par lietišķo un ciešā ticībā nostiprināto motivāciju par to, ka ir svarīga darba izstrāde, uzrakstīšana un iesniegšana vērtēšanai Veterinārmedicīnas zinātnes nozares promocijas padomē. Liels paldies profesorei Dr. med. vet. Aijai Ilgažai un asociētai profesorei Dr. agr. Diānai Ruskai par darba vērīgu lasīšanu, analīzi un vērtīgiem padomiem par nepieciešamajām korekcijām, lai ne tikai pildītu izvirzītās prasības, bet arī padarītu promocijas darba tekstu precīzāku un saprotamāku. Sirsnīgs paldies asociētai profesorei Modrai Murovskai par ieteikumiem un recenzijas sniegšanu. Pateicos Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātei un Doktorantūras skolai par stingru un mērķtiecīgu finansiālo atbalstu zinātniskā grāda pretendentam projektā divpadsmit mēnešu laikā. Veterinārmedicīnas fakultātes dekāniem, institūtu direktoriem un profesūrai saku paldies par visu pētniecības darbam nozīmīgo komandējumu nodrošinājumu gan uz piena ražošanas saimniecībām Latvijā, gan uz starptautiskām zinātniskām konferencēm ārzemēs. Paldies par pieeju zinātniskai literatūrai, prasīto grāmatu iegādi un licencētu pieeju statistikas datu apstrādes programmas Stata izmantošanai pētījumu datu strukturētai analīzei.

Paldies, visiem darba kolēģiem Pārtikas un vides higiēnas institūtā par pozitīvo saskarsmi ikdienas darba jautājumos, kā arī noderīgām diskusijām profesionālās valodas, terminoloģijas un koncepciju jautājumos. Paldies profesorei Dr. med. vet Andai Valdovskai, profesoram Dr. med. vet. Aivaram Bērziņam, asociētai profesorei Dr. med. vet. Dacei Keidānei par pozitīviem uzmudinājumiem aktīvāk cīnīties par nosprausto mērķu sasniegšanu un nozīmīgu rezultātu publicēšanu.

Paldies, Klīniskā institūta kolēģiem par sadarbību projektos, kas ir pētījuma praktiskā nodrošinājuma pamats mana promocijas darba izstrādē, kā arī par iespēju darbu prezentēt institūta paplašinātajā sēdē. Paldies par būtiskiem jautājumiem profesoram Dr. med. vet. Ilmāram Dūrītim, profesorei Līgai Kovaļčukai un asociētai profesorei Laimai Liepai, kas rosina pārdomāt darba novitāti, pilnveidot prezentācijas struktūru un nodrošināt kopsavilkuma iespiešanu tipogrāfijā. Paldies, docentei Dr. med. vet. Ilgai Šematovičai par inovācijām, drosmīgi realizētiem projektiem un daudzām atziņām par govju asistēto reprodukciju un transferencei derīgu embriju ieguvi no Latvijas govju genofonda donoriem.

Paldies, profesoram Andresam Valdmanim (A.Waldmann) no Tartu par veltīto laiku un nenovērtējamām viedām konsultācijām par zinātnisko rakstu rediģēšanu un sirsnīgu dalīšanos ar savām zināšanām un pieredzi. Sirsnīga pateicība arī visiem, kuri nekad neliedza padomu angļu valodas teikumu uzrakstīšanā, kopsavilkumu, stenda referātu un zinātnisko rakstu caurskatīšanā un rediģēšanā – ļoti cienījamai Melitai Parčinskai, Dr. med. vet. Ilzei Matīsei van Houtan, Dr. med. vet. Santai Skujai, Gunai Ringai-Ošlejai un projektu inženierim Michael Dant no ASV. Paldies, angļu valodas redaktorei Denise Wirth par ieteikumiem promocijas darba kopsavilkuma tulkošanā.

Pateicos personīgi par sadarbību, sapratni un palīdzību informācijas iegūšanā visām iesaistītajām piena lopkopības saimniecībām, to īpašniekiem un praktizējošiem veterinārārstiem Valmieras, Dobeles, Saldus un pārējos novados.

Mīļš pateicības sveiciens arī manai ģimenei, kura daudzu gadu gaitā sniedz beznosacījuma praktisko un morālo stiprinājumu manām studiju, pētniecības un profesionālās karjeras iespējām Zemgales pilsētā Jelgavā.

Vēl *lux aeterna* pateicībā vēlos pieminēt manu zinātnisko vadītāju doktorantūras studiju gados profesoru Dr. med. vet., Dr. habil. agr. Aleksandru Jemeļjanovu par lietišķām sarunām, zinātniskām konsultācijām un pamudinājumiem katru jautājumu zinātniski pētīt ne tikai dziļumā, bet arī aplūkot plašā kontekstā, kas ne visiem ir pa spēkam, sākot iet savu ceļu zinātnē

un veterinārmedicīnā. Daudzi ceļi uz Latvijas saimniecībām pie govju slaukšanas robotiem mani ir veduši kopā ar pētnieku Dr.ing. Armīnu Lauru, kuram pateicos par prasmi vienmēr celt optimismu, un kura asais prāts zinātniska rakstura diskusijās bija savienots ar ideju praktisku īstenošanu, ko viņam deva daudzos gadu desmitos rūdīta zinātnieka-konstruktora pieredze. Paldies par pašiem senākajiem impulsiem, kas mani mudināja interesēties par kvalitatīva piena ražošanas jautājumiem, vēlos sacīt profesoram no Hanoveras veterinārās augstskolas Dr.habil.vet. Hansam Ulriham Vīzneram un viņa kundzei Helgai Vīznerei, no kuriem vēl joprojām četras reizes gadā pasta sūtījumā saņemu pašu aktuālāko informāciju zinātniski praktiskā žurnālu "Milchpraxis" izskatā.

**Dievs, svētī Latviju!**

PIELIKUMI

1. pielikums **Dažādu ar *corpus luteum* skaitu (nCL), embriju skaitu (nE) un transferencei derīgo embriju skaitu (nTE) potenciāli saistīto veselības rādītāju sākotnējais izvērtējums[1]**

| Neatkarīgais mainīgais lielums | **Vid,** | **SD** | n | **Min** | **Max** | **ß* ± SE** | **Hī-kvadrāts** | **p-vērt.** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Tieša sakarība ar nCL | | | | | | | |
| Progesterons[f] (nmol $L^{-1}$) | 109.02 | 81.40 | 30 | 1.59 | 255 | 0.01±0.00 | 17.65 | <0.001** |
| Progesterons[b] (nmol $L^{-1}$) | 21.38 | 11.14 | 28 | 1.27 | 40.32 | 0.04±0.01 | 10.28 | 0.001** |
| SCS[a] (log units) | 3.72 | 2.20 | 26 | 0.82 | 9.23 | -0.12±0.06 | 3.51 | 0.061** |
| Fosfors[b] (mmol $L^{-1}$) | 1.91 | 0.30 | 28 | 1.4 | 2.81 | 0.83±0.46 | 3.17 | 0.075** |
| Progesterons[c] (nmol $L^{-1}$) | 28.14 | 18.56 | 28 | 0.79 | 79.94 | 0.01±0.01 | 2.92 | 0.088** |
| Progesterons[d] (mmol $L^{-1}$) | 3.05 | 3.22 | 27 | 0.79 | 16.25 | -0.10±0.06 | 2.80 | 0.094** |
| Progesterons[e] (nmol $L^{-1}$) | 3.28 | 3.88 | 26 | 0.79 | 18.60 | -0.07±0.052 | 2.02 | 0.155** |
| GGT[b] (U $L^{-1}$) *** | 30.64 | 7.84 | 28 | 17.00 | 46.00 | 0.02±0.01 | 1.79 | 0.181** |
| Izslaukums (kg $diena^{-1}$) | 18.11 | 7.18 | 26 | 7.0 | 34.6 | -0.02±0.02 | 1.52 | 0.217 |
| Limfocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 4.15 | 1.93 | 28 | 1.54 | 10.72 | 0.08±0.07 | 1.25 | 0.264 |
| Piena tauki[a] (%) | 4.64 | 0.93 | 26 | 3.32 | 7.44 | -0.13±0.13 | 0.99 | 0.321 |
| Nātrijs[b] (mmol $L^{-1}$) | 1.40.18 | 1.98 | 28 | 136.00 | 144.00 | -0.06±0.06 | 0.93 | 0.333 |
| Seruma albumīns[b] (g $L^{-1}$) | 30.61 | 2.88 | 28 | 23.00 | 36.00 | -0.04±0.05 | 0.93 | 0.336 |
| Kreatinīns[b] (mcmol $L^{-1}$) | 68.89 | 9.68 | 28 | 58.2 | 91.10 | 0.01±0.01 | 0.88 | 0.349 |
| Monocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 0.65 | 0.51 | 28 | 0 | 2.54 | 0.23±0.25 | 0.87 | 0.352 |
| Estradiols-17β ≥10[d] (pg $mL^{-1}$) | ... | ... | 21/6 | <10.0 | 58.27 | 0.31±0.33 | 0.84 | 0.360 |
| SAP[b] (U $L^{-1}$) *** | 50.61 | 19.94 | 28 | 20.00 | 102.00 | -0.01±0.01 | 0.71 | 0.399 |
| Eozinofīlie[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 0.72 | 0.08 | 28 | 0 | 4.19 | 0.13±0.16 | 0.68 | 0.409 |
| Glikoze[b] (mmol $L^{-1}$) | 2.94 | 0.49 | 30 | 2.10 | 4.10 | -0.23±0.27 | 0.66 | 0.415 |
| Leikocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 8.96 | 4.46 | 28 | 4.84 | 28.20 | 0.02±0.03 | 0.58 | 0.446 |
| Vecums, gadi | 5.78 | 3.33 | 30 | 1.6 | 15.0 | -0.29±0.04 | 0.49 | 0.482 |
| Trombocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 343.70 | 154.87 | 27 | 62 | 701 | 0.00±0.00 | 0.49 | 0.483 |
| Seruma proteīns[b] (g $L^{-1}$) | 77.25 | 9.21 | 28 | 63.00 | 113.00 | 0.01±0.02 | 0.36 | 0.546 |
| Holesterols[b] (mmol $L^{-1}$) | 4.93 | 1.35 | 28 | 2.11 | 7.73 | 0.06±0.11 | 0.33 | 0.565 |

(tabulas turpinājums)

| Neatkarīgais mainīgais lielums | Vid, | SD | n | Min | Max | ß* ± SE | Hī-kvadrāts | p-vērt. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Tieša sakarība ar nE | | | | | | | |
| Estradiols-17β ≥10 [c] (pg $mL^{-1}$) | … | … | 25 | <10.00 | 65.64 | -0.89±0.46 | 3.38 | 0.066** |
| Piena tauki[a] (%) | 4.53 | 0.77 | 24 | 3.32 | 5.87 | -0.55±0.31 | 2.84 | 0.092** |
| ALT[b] (U $L^{-1}$) *** | 34.76 | 9.50 | 25 | 18.00 | 61.00 | 0.04±0.03 | 2.75 | 0.097** |
| Progesterons[f] (nmol $L^{-1}$) | 116.91 | 81.25 | 26 | 5.76 | 255.00 | 0.00±0.00 | 2.49 | 0.115** |
| GGT[b] (U $L^{-1}$) *** | 31.12 | 7.95 | 25 | 17.00 | 46.00 | 0.05±0.03 | 2.04 | 0.153** |
| Monocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 0.55 | 0.34 | 25 | 0 | 1.41 | 0.83±0.58 | 2.03 | 0.154** |
| SAP[b] (U $L^{-1}$) *** | 47.48 | 16.80 | 25 | 20 | 86 | 0.02±0.02 | 1.81 | 0.179** |
| Progesterons[b] (mmol $L^{-1}$) | 22.03 | 11.37 | 25 | 1.27 | 40.32 | 0.03±0.03 | 1.52 | 0.218 |
| Leikocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 8.04 | 2.33 | 25 | 4.84 | 13.86 | 0.10±0.08 | 1.43 | 0.231 |
| Eozinofīlie[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 0.69 | 0.84 | 25 | 0.00 | 4.19 | 0.29±0.26 | 1.43 | 0.232 |
| Limfocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 3.81 | 1.44 | 25 | 1.54 | 7.21 | 0.17±0.15 | 1.35 | 0.245 |
| Trombocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 335.96 | 140.41 | 24 | 62 | 653 | 0.00±0.00 | 1.29 | 0.255 |
| Holesterols[b] (mmol $L^{-1}$) | 4.89 | 1.28 | 25 | 2.11 | 6.69 | 0.26±0.23 | 1.28 | 0.258 |
| Piena olbaltumvielas[a] (%) | 3.81 | 0.54 | 24 | 2.79 | 5.10 | -0.59±0.52 | 1.21 | 0.272 |
| Seruma proteīns[b] (g $L^{-1}$) | 77.44 | 9.64 | 25 | 63.00 | 113.00 | 0.03±0.03 | 1.09 | 0.297 |
| SCS[a] (log units) | 3.64 | 2.25 | 24 | 0.82 | 9.23 | -0.12±0.11 | 1.08 | 0.300 |
| Estradiols-17β ≥10 [f] (pg $mL^{-1}$) | … | … | 26/6 | <10.0 | 33.83 | -0.54±0.59 | 0.78 | 0.377 |
| Estradiols-17β ≥10 [e] (pg $mL^{-1}$) | … | … | 23/12 | <10.0 | 31.10 | -0.44±0.51 | 0.72 | 0.396 |
| Urīnviela[b] (mmol $L^{-1}$) | 2.94 | 1.57 | 25 | 0.50 | 6.20 | -0.11±0.14 | 0.62 | 0.430 |
| Hlorīdi[b] (mmol $L^{-1}$) | 98.76 | 2.42 | 25 | 95 | 103 | 0.08±0.10 | 0.58 | 0.446 |
| Nātrijs[b] (mmol $L^{-1}$) | 139.96 | 1.90 | 25 | 136.00 | 144.00 | -0.11±0.13 | 0.55 | 0.456 |
| Vidējā diennakts gaisa temperatūra[a] (ºC) | 7.29 | 7.06 | 26 | -6.9 | 19.8 | -0.02±0.03 | 0.52 | 0.473 |
| Triglicerīdi[b] (mmol $L^{-1}$) | 0.21 | 0.08 | 25 | 0.08 | 0.42 | 2.51±3.54 | 0.51 | 0.474 |

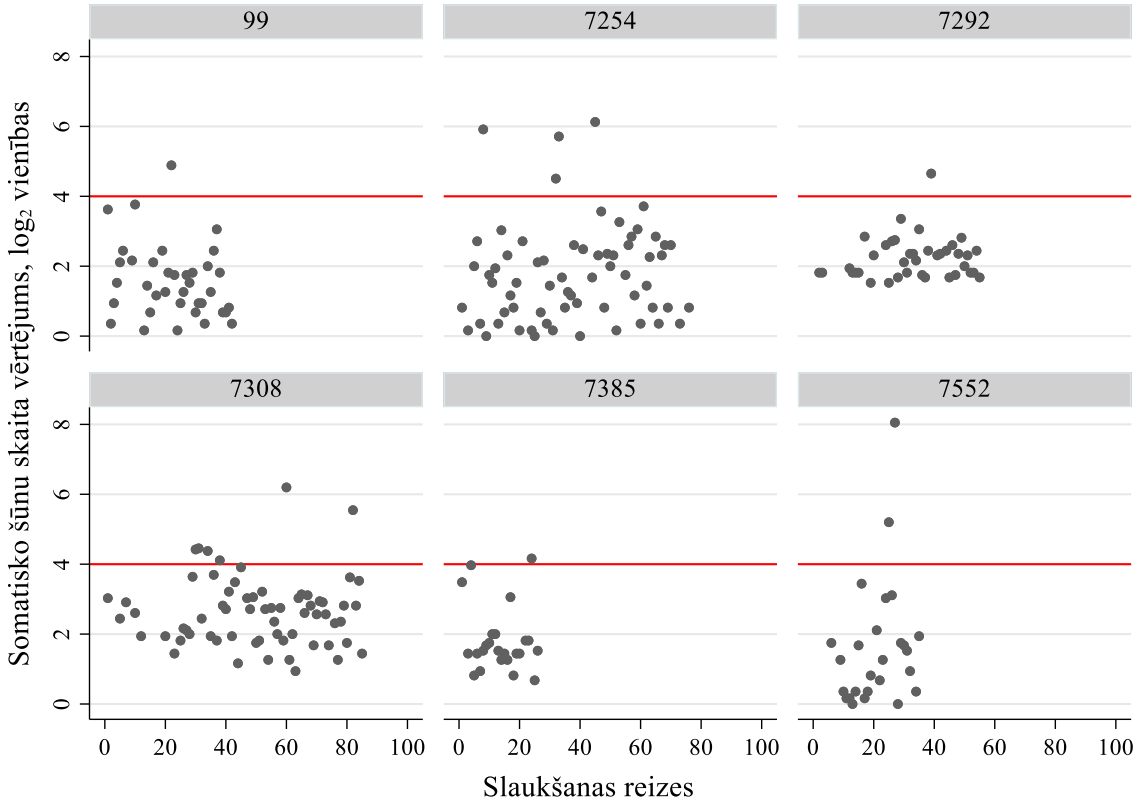
(tabulas turpinājums)

| Neatkarīgais mainīgais lielums | Vid, | SD | n | Min | Max | ß* ± SE | Hī-kvadrāts | p-vērt. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Tieša sakarība ar nTE | | | | | | | |
| Nātrijs[b] (mmol $L^{-1}$) | 139.96 | 1.90 | 25 | 136.00 | 144.00 | -0.29±0.14 | 4.11 | 0.042** |
| Monocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 0.55 | 0.34 | 25 | 0.00 | 1.41 | 1.47±0.75 | 3.86 | 0.049** |
| Estradiols-17β ≥10 [c] (pg $mL^{-1}$) | … | … | 25 | <10.0 | 65.64 | -0.74±0.52 | 1.94 | 0.164** |
| Eozinofīlie[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 0.69 | 0.84 | 25 | 0.00 | 4.19 | 0.40±0.30 | 2.34 | 0.126** |
| GGT[b] (U $L^{-1}$) *** | 31.12 | 7.95 | 25 | 17.00 | 46.00 | 0.05±0.04 | 1.57 | 0.210 |
| SCS[a] (log units) | 3.64 | 2.25 | 24 | 0.82 | 9.23 | -0.17±0.13 | 1.56 | 0.211 |
| ALT[b] (U $L^{-1}$) *** | 34.76 | 9.49 | 25 | 18.00 | 61.00 | 0.03±0.03 | 1.36 | 0.243 |
| Holesterols[b] (mmol $L^{-1}$) | 4.89 | 1.28 | 25 | 2.11 | 6.69 | 0.26±0.23 | 1.30 | 0.255 |
| Estradiols-17β ≥10 [f] (pg $mL^{-1}$) | … | … | 26 | <10.0 | 33.83 | -0.77±0.66 | 1.22 | 0.268 |
| Leikocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 8.04 | 2.33 | 25 | 4.84 | 13.86 | 0.10±0.09 | 1.19 | 0.276 |
| Glikoze[b] (mmol $L^{-1}$) | 2.94 | 0.49 | 26 | 2.1 | 4.1 | -0.58±0.56 | 1.05 | 0.305 |
| SAP[b] (U $L^{-1}$) *** | 47.48 | 16.80 | 25 | 20.00 | 86.00 | 0.02±0.02 | 0.85 | 0.358 |
| Progesterones[f] (nmol $L^{-1}$) | 116.91 | 81.25 | 26 | 5.76 | 255 | 0.00±0.00 | 0.84 | 0.358 |
| Urīnviela[b] (mmol $L^{-1}$) | 2.94 | 1.57 | 25 | 0.50 | 6.20 | -0.13±0.15 | 0.80 | 0.372 |
| Piena olbaltumvielas[a] (%) | 3.81 | 0.54 | 24 | 2.79 | 5.10 | -0.48±0.59 | 0.62 | 0.431 |
| Limfocīti[b] ($10^3$ $mm^{-3}$) | 3.81 | 1.44 | 25 | 1.54 | 7.21 | 0.12±0.17 | 0.57 | 0.452 |
| LDH[b] (U $L^{-1}$) | 1065.12 | 180.23 | 25 | 692 | 1541 | 0.00±0.00 | 0.56 | 0.456 |
| Piena tauki[a] (%) | 4.53 | 0.77 | 24 | 3.32 | 5.87 | -0.27±0.37 | 0.52 | 0.471 |
| Estradiols-17β ≥10 [d] (pg $mL^{-1}$) | … | … | 24 | <10.0 | 58.27 | 0.44±0.63 | 0.46 | 0.498 |

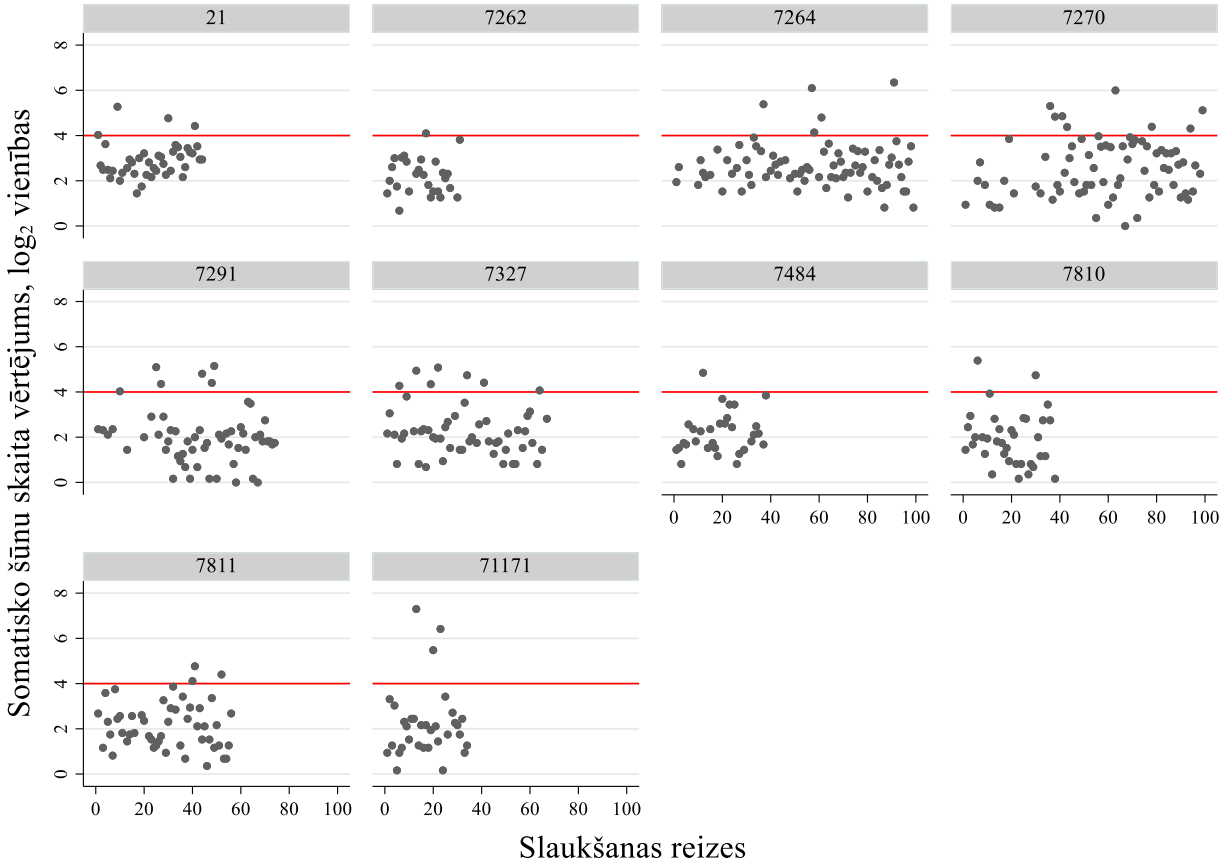
[1] Tabulā visi rādītāji, kuru P≤0.50, sakārtoti pieaugošas p-vērtības secībā, bet rādītāji, kuru p > 0.50, tabulā nav iekļauti;
[a] Iepriekšējā mēnesī pirms MO indukcijas un embriju ieguves;
[b] MO indukcijas pirmajā dienā;
[c] Pirms PGF2α injekcijas;
[d] 1.MA dienā;
[e] 2.MA dienā;
[f] Embriju izskalošanas dienā.
* Vienfaktora negatīvās binomiālās regresijas koeficients;
** Nozīmīgi mainīgie lielumi pie paaugstināta būtiskuma līmeņa α = 0.20;
*** Seruma sārmainā fosfatāze (SAP), alanīna aminotransferāze (ALT) un gamma glutamil-transferase (GGT) ir mainīgie lielumi, kuri *a priori* nevar pozitīvi ietekmēt nCL, nE un nTE labākus rezultātus.

2. pielikums. **Pētījumā iekļauto govju SŠS individuālās dinamikas grafiskais attēlojums**

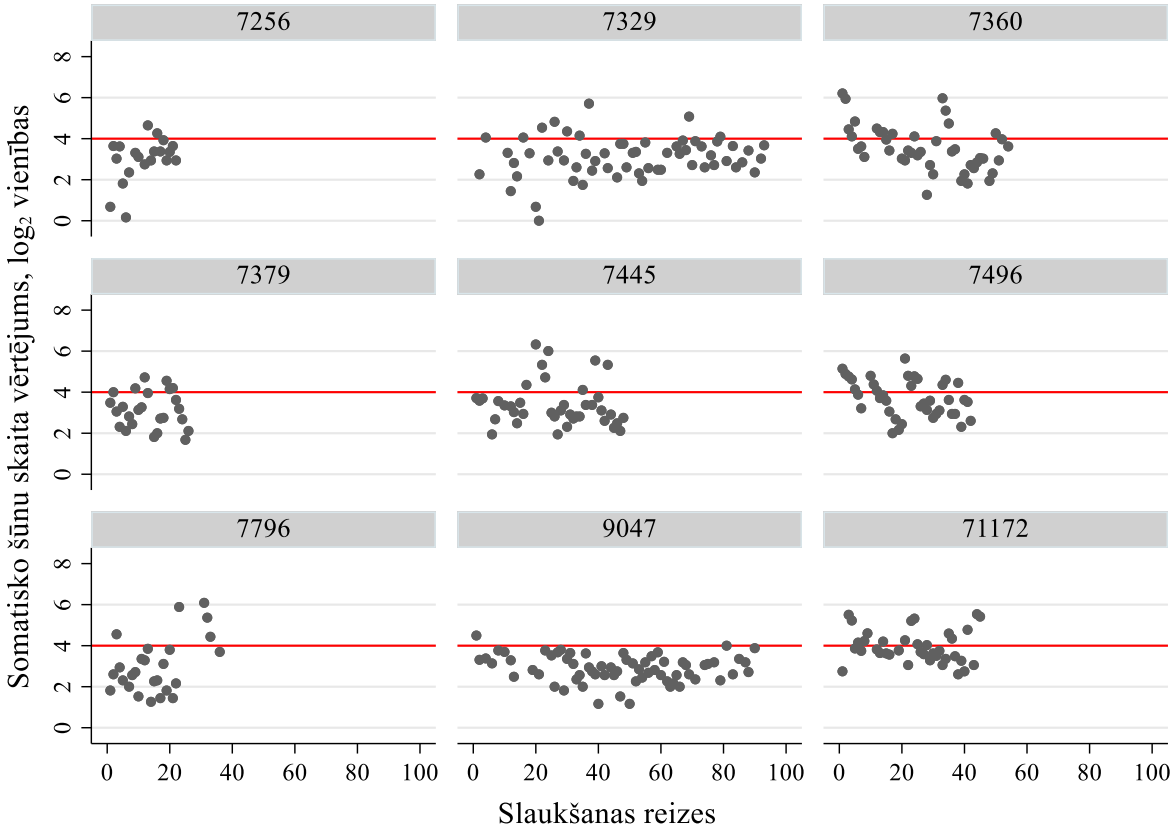
1.dinamikas tips



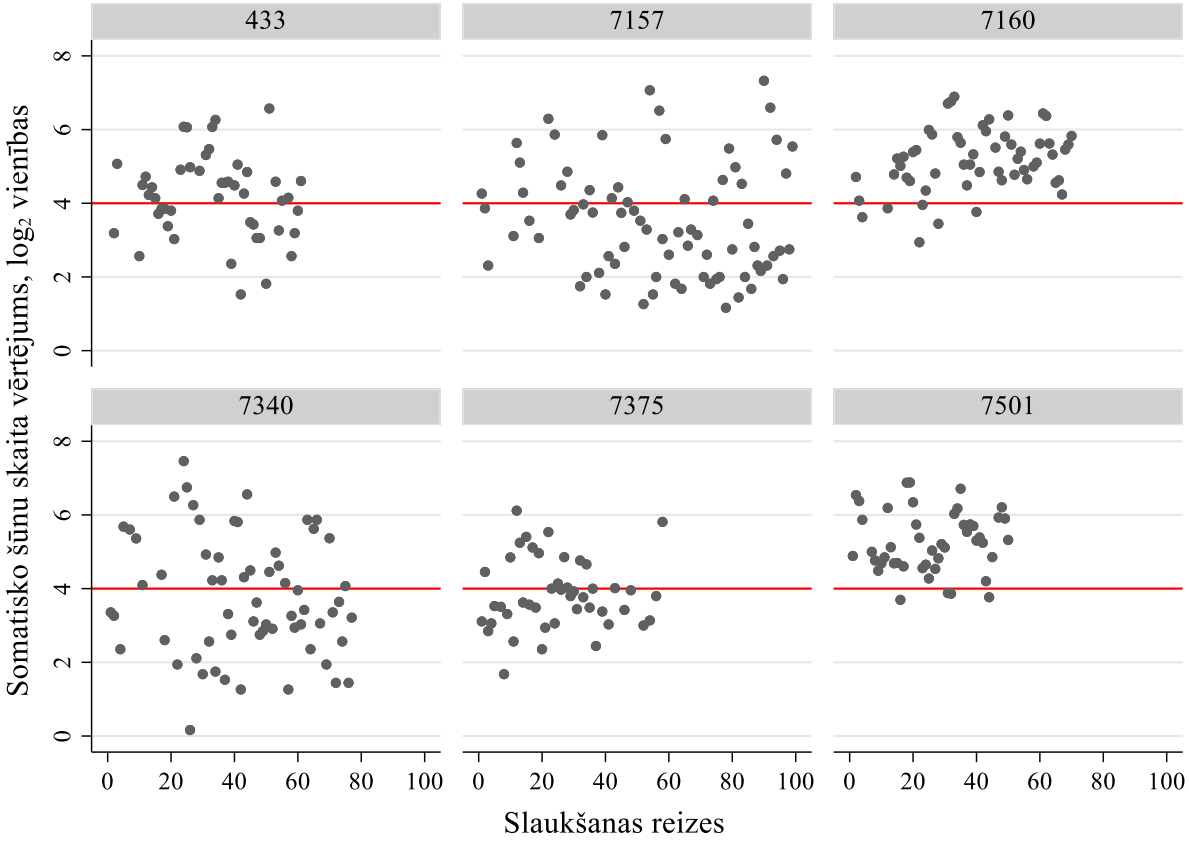
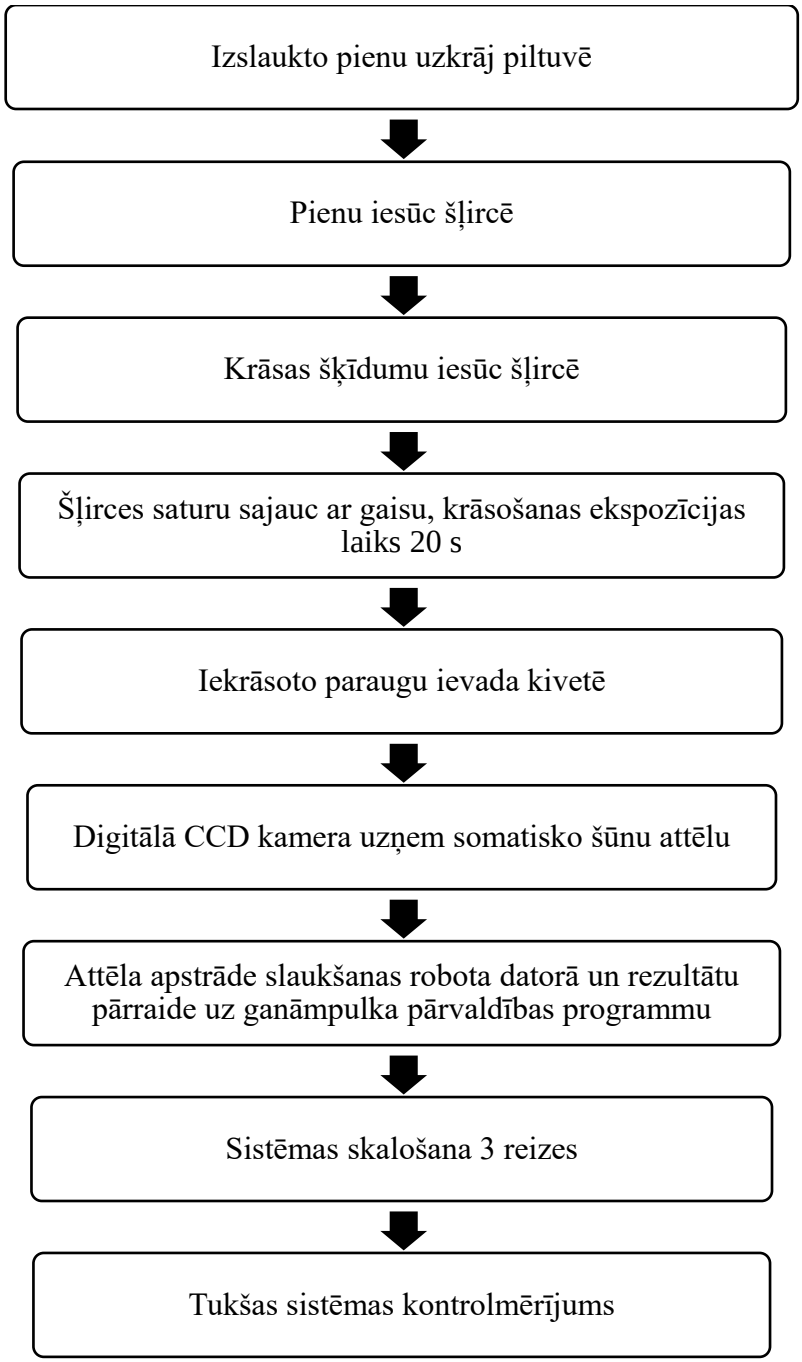
(2.pielikuma turpinājums)
2.dinamikas tips



(2.pielikuma turpinājums)
3.dinamikas tips



(2. pielikuma noslēgums)
4.dinamikas tips



3. pielikums. **Tiešsaistes šūnu skaitītāja (OCC) darbības procesa plūsmas diagramma**