

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chovu hospodářských zvířat**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Prevence mastitid a faktory ovlivňující počet somatických  
buněk v mléce krav**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Kateřina Píchová**

**Obor studia: Živočišná produkce**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.**



### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Prevence mastitid a faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce krav" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí paní Ing. Renatě Toušové, CSc. za vedení bakalářské práce a poskytnuté rady a pomoc během jejího zpracování a ráda bych poděkovala panu doc. Ing. Ludřkovi Stádníkovi, Ph.D. za ochotu a pomoc. Dále bych chtěla poděkovat své sestře Veronice Píchové za její oporu a rady během psaní. Především bych ráda poděkovala své rodině za umožnění studia a jejich každodenní povzbuzování. A nakonec děkuji svému příteli a přátelům za jejich podporu.

# Prevence mastitid a faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce krav

## Souhrn

Mastitida je multifaktoriální onemocnění, zasahující mléčnou žlázu především u vysokoproduktivních dojnic. Jedná se o celosvětově rozšířenou nemoc, která způsobuje zánět mléčné žlázy a může zapříčinit značné ztráty v produkci mléka, nebo i úhyn zvířete. Na vzniku a vývoji mastitidy se podílí tři biosystémy. Stáří dojnice, její zdravotní stav, stádium a pořadí laktace a genetická predispozice v podobě utváření mléčné žlázy a struků. Druhým biosystémem jsou mikroorganismy, především bakterie, ale také viry, plísně, kvasinky a řasy. Patogeny po proniknutí do mléčné žlázy, mohou způsobovat až destrukci mléčných alveolů a tím značně snížit produkci mléka. Pokud dojde k proniknutí patogenů a jejich toxinů do krve, mohou zapříčinit zhoršení zdravotního stavu zvířete. Třetím biosystémem, který může velmi ovlivnit vznik a vývoj zánětu je vnější prostředí.

Mastitida zhoršuje kvalitu a technologické vlastnosti mléka, ale také má značný vliv na změnu koncentrace jednotlivých mléčných složek. Kvůli tomu dochází ke značným ztrátám vyprodukovaného mléka a zároveň k vyřazení dojnic. Mléko, které je produktem nemocných a léčených dojnic musí být zlikvidováno a nesmí být dále zužitkováno, což může způsobit značné ekonomické ztráty. Krávy s mastitidou mají též zhoršené reprodukční ukazatele. Především často u těchto zvířat dochází k tichým říjím a zhoršenému zabřezávání. V průběhu březosti může být mastitida jednou z příčin úmrtí embrya. Protože léčba mastitid je nákladná a ne vždy účinná, je prevence stále nejefektivnějším způsobem pro eliminaci mastitid.

Jedním z hlavních indikátorů mastitid jsou somatické buňky. V malém množství jsou přirozenou součástí mléka. Mezi somatické buňky patří především leukocyty a odloučené epiteliální buňky sekreční tkáně mléčné žlázy. Z důvodu zvýšení koncentrace leukocytů, jako reakce na infekční patogeny, dochází během mastitidy k navýšení somatických buněk. I když se počet somatických buněk používá jako jeden z ukazatelů mastitid, na jejich koncentraci má vliv více faktorů. Mezi něž lze řadit fáze laktace, věk, roční období a především stres.

I když se v České republice zatím neprovádí celoplošná evidence nemocných zvířat. Lze užítkovost, a především obsah somatických buněk, zhodnotit dle pravidelných kontrol prováděných Českomoravskou společností chovatelů (ČMSCH, a. s.). Za rok 2019 byl naměřený celkový počet somatických buněk v hodnotách 221 000 na ml mléka. V porovnání s předchozími roky, se počet somatických buněk postupně snižuje, což je dobrým ukazatelem kvality a hygieny mléka.

**Klíčová slova:** mléčný skot, mastitida, zánět, mléčná žláza, somatické buňky, prevence

# Prevention of mastitis and factors affecting somatic cell counts in milk of cow

## Summary

Mastitis is a multifactorial disease affecting mammary gland especially in highly productive dairy cows. It is a worldwide spread disease that causes an inflammation of a mammary gland and may cause significant loss of production of milk or even a death of the animal. The onset and progression of the mastitis is influenced by three biosystems. The first biosystem is the cow itself – its age, health condition, lactation stage and genetic predispositions influencing the development of mammary glands and teats. The second biosystem are microorganisms, especially bacteria, but also viruses, molds, yeasts and algae. When the pathogenes penetrate into the mammary gland, they may cause a destruction of the mammary gland alveoli, which leads to a significant loss of milk production. If the pathogenes and their toxins enter the bloodstream, they may cause a worsening of the animal's health condition. The third biosystem that may influence the onset and progression of the inflammation is the environment.

Mastitis worsens the quality and technological properties of milk, but also greatly influences its composition. That causes a significant loss of production of milk and also a decommitment of dairy cows. Milk produced by ill and treated dairy cows must be discarded and cannot be further utilized, which may cause significant economical loss. The mastitis also negatively affects fertility. In dairy cows with mastitis occurs silent oestrus and low fertility rates. During pregnancy, mastitis may cause an abortion. While the treatment of mastitis is expensive and not effective in all cases, the prevention is still the most effective tool for elimination of mastitis.

One of the main indicators of mastitis are somatic cells, such as leukocytes and epithelial cells of mammary glands. They are naturally present in milk in small amounts. In cows with leukocytosis caused by an infection, the amount of somatic cells in milk is increased. Even though the somatic cell count is used as an indicator of mastitis, it is influenced by many factors, such as lactation stage, age, seasons, and most importantly the stress.

Even though there is no comprehensive register of ill animals in Czechia, the somatic cell count may be evaluated with results of periodical controls done by Českomoravská společnost chovatelů (ČMSCH a.s.). In year 2019, the total somatic cell count was 221 000 per ml of milk. Compared with the previous years, the somatic cell count gradually decreases, which is a good sign of quality and hygiene of milk.

**Keywords:** dairy cows, mastitis, inflammation, mammary gland, somatic cells, prevention

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Mléko.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Složení mléka.....</b>	<b>10</b>
3.2.1 Mléčný tuk.....	10
3.2.2 Mléčné bílkoviny.....	11
3.2.3 Laktóza.....	12
<b>3.3 Kvalita mléka.....</b>	<b>13</b>
3.3.1 Celkový počet mikroorganismů.....	14
3.3.2 Somatické buňky.....	14
3.3.3 Reziduální inhibiční látky.....	15
<b>3.4 Mastitida.....</b>	<b>16</b>
3.4.1 Patogeneze.....	17
3.4.2 Mastitida klinická.....	18
3.4.3 Mastitida subklinická.....	19
<b>3.5 Patogeny mastitidy.....</b>	<b>20</b>
3.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
3.5.2 <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	21
3.5.3 <i>Escherichia coli</i> .....	21
<b>3.6 Diagnostika mastitid.....</b>	<b>22</b>
<b>3.7 Prevence mastitid.....</b>	<b>23</b>
3.7.1 Faktory ovlivňující vznik mastitid.....	23
3.7.2 Technologie získávání mléka.....	25
3.7.3 Zaprahování a terapie krav v období stání na sucho.....	27
3.7.4 Vakcinace.....	28
3.7.5 Technologie ustájení.....	28
<b>3.8 Vliv mastitidy na mléčnou produkci.....</b>	<b>29</b>
<b>3.9 Vliv somatických buněk na kvalitu mléka.....</b>	<b>31</b>
<b>3.10 Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce.....</b>	<b>32</b>
<b>3.11 Vliv mastitidy na reprodukci.....</b>	<b>33</b>
<b>3.12 Současný výskyt mastitid v České republice.....</b>	<b>33</b>
<b>4 Závěr.....</b>	<b>35</b>
<b>5 Literatura.....</b>	<b>36</b>

# 1 Úvod

Mastitida je multifaktoriální onemocnění zasahující mléčnou žlázu. Jedná se o nejčastější a nejrozšířenější chorobu vyskytující se na celém světě. Především se vyskytuje u vysokoproduktivních zvířat a má velký vliv nejen na jejich užitkovost, ale také reprodukci a celkový zdravotní stav. Mastitida způsobuje značné finanční ztráty (Kvapilík 2017), v podobě veterinární péče, ale také snížením plodnosti a sníženou produkcí mléka. Na jejím vzniku se podílí více faktorů a díky tomu je obtížně odstranitelná z chovu. Dle příznaků lze mastitidu rozdělit na klinickou a subklinickou. Klinická mastitida se projevuje nejen rychlým nástupem, ale také viditelnými změnami na mléčné žláze a mléku. Naopak subklinická mastitida nemá žádné viditelné příznaky, avšak dochází ke změně mléka a zhoršení jeho kvality. Díky tomu je subklinická mastitida považována za závažnější, neboť je hůře diagnostikována a často je léčba zahájena pozdě (Reshi et al. 2015; Kibebew 2017). Subklinickou mastitidu lze zjistit podle počtu somatických buněk v mléce. Somatické buňky se skládají z leukocytů a epiteliálních buněk. I když se somatické buňky fyziologicky vyskytují v mléce, jejich zvýšený počet je považován za jeden z hlavních indikátorů kvality mléka, ale také mastitidy (Alhussien & Dang 2018).

Z důvodu působení více faktorů, nelze mastitidu zcela odstranit z chovu. Proto je nejdůležitější zavedení správných preventivních postupů (strategií) pro její eliminaci. Mezi preventivní postupy lze řadit správnou technologii získávání mléka, adekvátní terapii krav v období stání na sucho, ale také zajištění vhodných podmínek chovu (Deگو 2020b).



## **2 Cíl práce**

Cílem bakalářské práce bylo zpracování aktuálních poznatků o výskytu mastitid v chovech dojnic, jejich příčinách a prevenci.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Mléko

Mléko je polydisperzní velmi složitý systém tvořený vodou a pevnými složkami. Obsahuje živiny, které jsou důležité pro růst a vývoj mláděte a je zdrojem lipidů, bílkovin, aminokyselin, vitamínů a minerálních látek. Dále obsahuje imunoglobuliny, hormony, růstové faktory, cytokiny, nukleotidy, peptidy, polyaminy, enzymy a další bioaktivní peptidy (Haug et al. 2007).

### 3.2 Složení mléka

Složení mléka se liší podle stádia laktace, věku dojnice, plemene, výživy, energetické rovnováhy a zdravotního stavu mléčné žlázy. Kravské mléko se skládá v průměru z 87 % vody, 4 – 5 % laktózy, 3 – 4 % tuku, 3 % bílkovin, 0,8 % minerálních látek a 0,1 % vitamínů (Vašková & Bučková 2016).

Mlezivo, neboli kolostrum, je prvním produktem mléčné žlázy na začátku laktace. Mlezivo se od mléka značně liší především v koncentraci mléčných bílkovin, kterých může být až dvojnásobné množství, ve srovnání s mlékem v pozdější fázi laktace. Změny ve složení mléka během celého období laktace odpovídá měnící se potřebě rostoucího mláděte a poskytuje různé množství složek, důležitých pro přísun živin. Mléko obsahuje mnoho různých typů mastných kyselin a díky těmto složkám je považováno za potravinu bohatou na živiny (Ontsouka et al. 2003; Haug et al. 2007).

#### 3.2.1 Mléčný tuk

Lipidy jsou přítomny v mléce v podobě mikroskopických globulí ve formě emulze (olej-voda). Průměr globulí se pohybuje od < 1 do asi 10  $\mu\text{m}$ , přičemž většina má okolo 1  $\mu\text{m}$  (Jensen 2002). Hlavním účelem mléčného tuku je poskytnout zdroj energie mláděti. Obsah tuku v mléce i složení mastných kyselin v lipidech se mohou lišit v důsledku různých faktorů, jako je například plemeno dojnice, výživa a fáze laktace. Obsah tuku se pohybuje od 3,0 do 6,0 %, ale obvykle se vyskytuje v rozmezí 3,5 až 4,7 %. V mléčném průmyslu jsou lipidy velmi důležité, neboť dodávají mléčným výrobkům (jako je například smetana, máslo, sušené plnotučné mléko a sýr) výrazné nutriční, texturní a organoleptické vlastnosti (MacGibbon & Taylor 2006).

Mléčné lipidy jsou převážně složeny z triacylglycerolů, dále se zde v malém množství vyskytují diacylglyceroly, monoacylglyceroly, volné mastné kyseliny, fosfolipidy a steroly (viz Tabulka 1). Triacylglyceroly tvoří přibližně 98 % celkového tuku a proto mají hlavní a přímý vliv na vlastnosti mléčného tuku (například hustotu a vlastnosti tání). Fosfolipidy tvoří okolo 0,8 % mléčných lipidů. V mléce jsou ale velmi důležité, neboť přibližně 65 % z nich se nachází v membráně tukových kapének (MacGibbon & Taylor 2006). Tukové kapénky jsou pokryty membránou slouženou převážně z fosfolipidů, triacylglycerolů, lipoproteinů, glykolipidů, cholesterolu a enzymů. Membrána má ochrannou funkci, a chrání jádro před lipolýzou a

oxidací. Polární lipidy tvoří třívrstvou membránu, která obklopuje jádro tukové kapénky. Kromě lipidů se v polární vrstvě nachází i bílkovinná složka (Lee & Sherbon 2002; Wiking et al. 2003; Hansen et al. 2019). Jak již bylo zmíněno, lipidy v membráně tukových kapének jsou tvořeny převážně z fosfolipidů a triacylglycerolů, na rozdíl od tekutého jádra tukové kapénky, které je téměř výhradně tvořeno triacylglyceroly (MacGibbon & Taylor 2006).

V mléčném tuku se nachází velké množství mastných kyselin s různými strukturami. Pomocí kombinace chromatografických a spektroskopických technik vědci identifikovali okolo 400 mastných kyselin v mléčném tuku. Většina těchto mastných kyselin se nachází v malém množství (< 0,01 %). A přibližně 15 mastných kyselin je pak přítomno v koncentraci 1,0 % a vyšší (Jensen 2002; MacGibbon & Taylor 2006). Mastné kyseliny jsou velmi důležité, neboť jejich kombinace tvoří molekuly triacylglycerolu. Dalšími mléčnými lipidy jsou pak diacylglycerol (přibližně 2 % lipidové frakce), cholesterol (méně než 0,5 %), fosfolipidy (přibližně 1 %) a volné mastné kyseliny, které tvoří méně než 0,5 % celkových mléčných lipidů. Mastné kyseliny se nacházejí v mléčném tuku z velké části vázané. Stopové množství volných mastných kyselin přispívá k typické chuti mléčného tuku a samotného mléka. Avšak zvýšené hladiny volných mastných kyselin mohou zapříčinit nepříjemnou chuť mléka (Haug et al. 2007).

Tabulka 1. Hlavní třídy lipidů v mléce

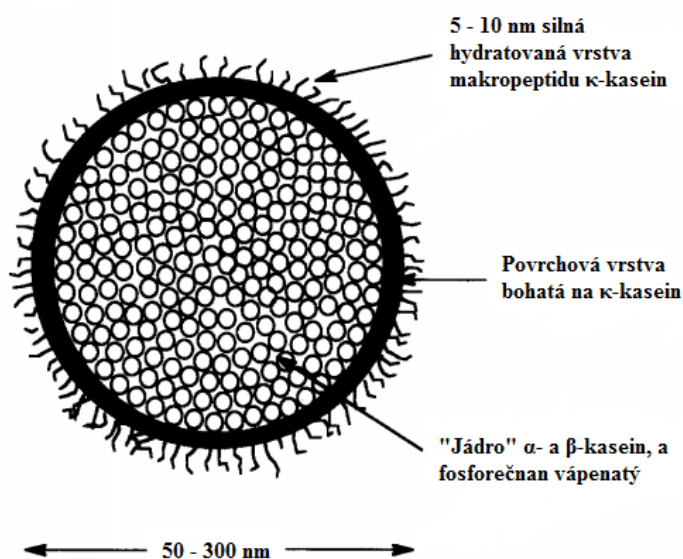
<b>Třída lipidů</b>	<b>Množství (% w/w)</b>
Tryacylglyceroly	98,3
Diacylglyceroly	0,3
Monoacylglyceroly	0,03
Volné mastné kyseliny	0,1
Fosfolipidy	0,8
Steroly	0,3
Karotenoidy	stopové
Vitamíny rozpustné v tucích	stopové
Aromatické sloučeniny	stopové

(Walstra & Jenness 1984)

### 3.2.2 Mléčné bílkoviny

Mléčná bílkovina má vysokou biologickou hodnotu, proto je mléko dobrým zdrojem esenciálních aminokyselin. Mléko obsahuje bílkoviny, které přispívají k snadnějšímu vstřebávání živin, některé mají antimikrobiální účinky, jiné působí jako růstové faktory, hormony, enzymy, protilátky, nebo jako imunitní stimulanty (Haug et al. 2007). Celkové množství bílkovin v mléce je v rozmezí 3,2 – 4,0 %. Mléčné bílkoviny se rozdělují do dvou základních skupin, na kaseiny a syrovátkové bílkoviny (Hofírek et al. 2009; Miciński et al. 2013).

Obsah kaseinu v mléce se pohybuje okolo 80 % mléčných bílkovin. Kaseiny jsou charakterizovány také jako fosfoproteiny, které se při pH 4,6 srážejí, naopak syrovátkové bílkoviny zůstávají nezměněné. Kaseiny vytvářejí struktury v mléce, nazývané také jako kaseinové micely (viz Obrázek 1). Jedná se o částice, které obsahují kaseiny s vápníkem, fosfátem a malým množstvím citrátu. Kaseinové frakce se liší koncentrací obsahu fosforu, složením aminokyselin, molekulovou hmotností a izoelektrickým bodem. Jednou z biologických funkcí kaseinů je přenos vápníku a fosfátu a tvorba sraženiny v žaludku pro účinnější trávení. V kravském mléce se nachází pět frakcí, jedná se o  $\alpha_1$ -kasein, který tvoří 30 % z celkového množství kaseinu, dále se zde nachází  $\alpha_2$ -kasein (9 %),  $\beta$ -kasein (28 %),  $\kappa$ -kasein (10 %) a  $\gamma$ -kasein (2 %) (Dalglish 1993; Haug et al. 2007; Miciński et al. 2013).



Obrázek 1. Schématické znázornění kaseinové micely, ukazující důležité rysy struktury. Vnitřní struktura není známa podrobně a je pouze schématická. Díky velikosti mohou micely obsahovat mezi 1 000 až 100 000 samostatných molekul kaseinu. Upraveno a převzato z Dalglish (1993).

Syrovátkové bílkoviny tvoří v průměru okolo 0,6 % složení mléka a představují důležitou skupinu s vysokými nutričními a funkčními vlastnostmi. Syrovátkové bílkoviny jsou více rozpustné ve vodě oproti kaseinům, mezi hlavní frakce patří  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, sérový albumin, imunoglobuliny a proteoso-peptony (Haug et al. 2007; Miciński et al. 2013).

### 3.2.3 Laktóza

Laktóza je hlavním sacharidem vyskytující se v mléce a představuje přibližně 40 % celkové sušiny a 50 % odtučněné sušiny. Jako disacharid, je laktóza tvořena ze dvou monosacharidů (hexóz) a to z glukózy a galaktózy. Galaktóza je sacharid, vyskytující se pouze v mléčné žláze. Biosyntéza galaktózy probíhá v alveolách mléčné žlázy za účasti krevní glukózy a pravděpodobně kyseliny citronové. Kondenzací dvou hexóz poté vzniká disacharid laktóza (Alessio et al. 2016).

Obsah laktózy v mléce se pohybuje okolo 4 – 5 %. Na syntézu laktózy a její koncentraci v mléce má vliv především zdravotní stav mléčné žlázy, energetická bilance a metabolismus dojnice. Laktóza přispívá k energetické hodnotě mléka (Hofírek et al. 2009; Costa et al. 2019).

### 3.3 Kvalita mléka

Mléko v mléčné žláze, pocházející od zdravých jedinců, je obvykle sterilní. Proto je počet a typ mikroorganismů, který se v mléce po nadojení vyskytuje, spojen s přímým kontaktem s kontaminovanými zdroji v prostředí farmy, jako je například vzduch, půda, špatná hygiena zaměstnanců, sekrety z mléčných žláz a výkaly vylučované z infikovaných zvířat. Kvalitní mléko by mělo obsahovat nízký počet somatických buněk a nízký počet mikroorganismů. Mléko by mělo být bez přítomnosti lidských patogenů a reziduí antibiotik. Počet somatických buněk v mléce, se používá jako indikátor kvality mléka. Zvýšený obsah somatických buněk v mléce je často spojován s vyšším výskytem reziduí antibiotik v mléce (Ruegg & Tabone 2000; Angulo et al. 2009; Oliver et al. 2009).

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, je syrové mléko definováno jako mléko produkované sekrecí mléčné žlázy hospodářských zvířat, které nebylo podrobeno ohřevu nad 40 °C a nebylo ani ošetřeno žádným způsobem s rovnocenným účinkem. Dle tohoto nařízení, musí syrové mléko splňovat stanovená kritéria (viz Tabulka 2). Syrové mléko musí být získáváno od zvířat, která nevykazují žádný příznak nakažlivé choroby přenosné na člověka. Zvířata musí být v dobrém zdravotním stavu a nevykazovat známky choroby. Zejména nesmí trpět žádnou infekcí pohlavního ústrojí doprovázenou výtokem, enteritidou s průjmem, nebo viditelným zánětem mléčné žlázy. Mléčná žláza nesmí vykazovat zranění, které by mohlo mít vliv na kvalitu mléka. Mléko nesmí být získáváno od zvířat, kterým byly podány nepovolené látky či přípravky. V případě podání povolených přípravků a léků musí být dodržena ochranná lhůta, která je pro tyto přípravky stanovena. Dle vyhlášky č. 289/2007 Sb., o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, je stanoven limit pro přítomnost patogenních mikroorganismů ohrožující zdraví lidí. Přítomnost *Staphylococcus aureus* v syrovém mléce musí být do 500 KTJ (kolonie tvořící jednotky) na 1 ml mléka.

Tabulka 2. Syrové kravské mléko

Obsah mikroorganismů při 30°C (na ml)	≤ 100 000 <sup>(1)</sup>
Obsah somatických buněk (na ml)	≤ 400 000 <sup>(2)</sup>
<sup>(1)</sup> Klouzavý geometrický průměr za dobu dvou měsíců při alespoň dvou vzorcích za měsíc	
<sup>(2)</sup> Klouzavý geometrický průměr za dobu tří měsíců při alespoň jednom vzorku za měsíc, pokud příslušný orgán neurčí jinou metodiku s cílem zohlednit sezónní variace v úrovni výroby	

(Evropský parlament a Rada (ES) 2004)

### 3.3.1 Celkový počet mikroorganismů

Celkový počet mikroorganismů v mléce může sloužit jako ukazatel zdravotního stavu stáda, účinnosti sanitace farmy a použití správné teploty během manipulace a skladování mléka. Mikrobiologická kontaminace syrového mléka může být zdrojem patogenních mikroorganismů, způsobující různé choroby nebezpečné pro člověka. Výskyt chorob způsobených konzumací mléka jsou častější u lidí, kteří konzumují syrové mléko než u lidí, konzumující pasterizované mléko (Hayes et al. 2001; Pyz-Łukasik et al. 2015). Ve většině případech je vysoké množství mikroorganismů v mléce spojováno se špatnými hygienickými podmínkami, především nedostatečnou hygienou mléčné žlázy před dojením, špatnou sanitací struků, neadekvátní hygienou a sanitací dojícího zařízení a nedostatečným chlazením mléka. Například při špatné hygieně dojícího zařízení zůstávají zbytky mléka na povrchu, kde poskytují živiny pro následný růst a množení bakterií, ty následovně pak kontaminují mléko při dalším dojení (Hayes et al. 2001; Jayarao et al. 2004).

Mléko je svými vlastnostmi ideální živnou půdou pro mikroorganismy. Růst mikroorganismů je ovlivněn různými podmínkami, ve kterých je syrové mléko získáváno a skladováno, jak již bylo výše zmíněno. Z vnějších faktorů, které mají velký vliv na růst a rozmnožování mikroorganismů, je především teplota a čas. Generační doba mikroorganismů a teplota prostředí spolu velmi úzce souvisí, proto se doporučuje syrové mléko uchovávat tak, aby se generační doba co nejvíce prodloužila. Neboť při krátké generační době dochází rychleji ke kažení mléka a v důsledku toho i k výrazným změnám v chemických, sensorických a technologických vlastnostech mléka (Samaržija et al. 2012).

### 3.3.2 Somatické buňky

Somatické buňky se skládají z několika typů buněk. Zejména neutrofilů, makrofágů, lymfocytů, eozinofilů a různých typů epiteliálních buněk samotné mléčné žlázy, jako jsou například buňky sekrečního a dlaždicového epitelu (Wever & Emanuelson 1989; Kehrlí et al. 1994). Dle Wever & Emanuelson (1989) somatické buňky jsou ve zdravé mléčné žláze zastoupeny z  $15 \pm 10$  % lymfocyty,  $37 \pm 17$  % granulocyty a  $48 \pm 15$  % monocyty. Naopak v infekční (mastitidní) mléčné žláze, jsou somatické buňky tvořeny  $18 \pm 11$  % lymfocyty,  $47 \pm 16$  % granulocyty a  $35 \pm 17$  % monocyty.

Somatické buňky se v mléce vyskytují neustále, avšak v rozdílném množství. Ve zdravé mléčné žláze jsou přítomny v nízkých hladinách. Kromě bílých krvinek jsou zde zastoupeny také epiteliální buňky, které pocházejí ze sekreční tkáně mléčné žlázy. Epiteliální buňky se do mléka dostávají prostřednictvím deskvamace neboli odlupování epitelu alveol a mléčných kanálků. Přítomnost těchto buněk je proto zcela normální a nezbytná pro regeneraci tkáně. Veškeré bílé krvinky se do mléka dostávají prostřednictvím krve a v mléčné žláze jsou součástí obranného systému. Proto jakýkoliv výskyt zánětu vede k navýšení jejich počtu. Zvýšený počet somatických buněk udává špatnou hygienu mléka. Výskyt více než 200 000 somatických buněk na 1 ml mléka u krávy, poukazuje na pravděpodobný výskyt zánětu minimálně jedné čtvrté mléčné žlázy (Alhussien & Dang 2018).

Neutrofilní polymorfonukleární leukocyty jsou základem obranné funkce těla proti různým chorobám. U dojnice se během infekce mobilizuje až několik miliard neutrofilů. Neutrofilní polymorfonukleární leukocyty a makrofágy mají schopnost fagocytózy. Fagocytóza je schopnost rozpoznání, pohlcení a trávení cizích částic, jako jsou například bakterie či nekrotické tkáně. V mléčné žláze během laktace jsou nejpočetněji zastoupeni právě neutrofilní leukocyty. Naopak v mléčné žláze během období stání na sucho, jsou zde více zastoupeni makrofágy (Jain et al. 1971; Paape et al. 1979). Ve zdravé mléčné žláze jsou makrofágy převládajícím typem bílých krvinek. Slouží pro detekci případných infekčních patogenů. Pokud dojde k jejich interakci s napadajícími patogeny, začnou makrofágové uvolňovat chemoatraktanty, které přijímají polymorfonukleární neutrofilní leukocyty. Neutrofilní leukocyty poté pronikají ve velkém počtu do mléčné žlázy a nejdříve se začínají hromadit v oblasti alveol. Přes alveoly, mlékovody a mlékojem prostupují, za cílem pohlcení a zabití infekčních patogenů (Akers & Nickerson 2011). Dle Paape et al. (1979) během klinické mastitidy se v postižené čtvrti mléčné žlázy může vyskytnout více než 50 milionů neutrofilů na 1 ml mléka. Jejich hlavním úkolem je obrana proti invazivním patogenům, především na začátku akutního zánětlivého procesu.

### 3.3.3 Reziduální inhibiční látky

Kontrola přítomnosti reziduí inhibičních látek v syrovém mléce, je jeden z důležitých znaků jakosti. Přítomnost inhibičních látek v syrovém mléce je kontrolováno z důvodu zajištění bezpečnosti mléka a mléčných výrobků pro spotřebitele. Do skupiny inhibičních látek se řadí především veterinární léčivé přípravky, jako jsou například látky s antimikrobiálním účinkem (neboli antibiotika) a chemoterapeutika. Detekce inhibičních látek v mléce má nejen velký význam pro ochranu zdraví spotřebitele, ale také pro zpracovatele mléka. Především antimikrobiální látky působí negativně při výrobě mléčných výrobků, kde se využívají čisté mlékařské kultury (Navrátilová et al. 2016).

Přítomnost reziduálních antimikrobiálních léčiv mohou především u citlivých spotřebitelů vyvolat alergické reakce a mohou mít negativní účinky na složení střevní mikroflóry. Větší užívání antimikrobiálních látek může vést k rozvoji rezistentních patogenů na konkrétní léčiva (Alanis 2005). Antibiotika nebo jejich rezidua jsou nejčastějšími inhibičními látkami vyskytující se v mléce. Často se antibiotika používají při prevenci nebo léčbě různých onemocnění způsobené bakteriálními patogeny a hlavně při léčbě zánětů mléčné žlázy. Mastitidy se nejvíce vyskytují u vysokoprodukčních zvířat (Petrović et al. 2008; Nikolić et al. 2011).

Antibiotika se do mléka dostávají především při intramamární aplikaci (během léčby mastitidy), ale také po parenterální, orální, intrauterinní, intramuskulární a intravenózní aplikaci. Tkáň mléčné žlázy dokáže z části resorbovat aplikované dávky antibiotik a v určitém množství je poté vylučovat do mléka. Doba vylučování antibiotik se může lišit od jednotlivých zvířat. Závisí především na typu použitého léčiva, aplikovaném množství a způsobu aplikace. Dále záleží na věku, zdravotním stavu, fázi laktace a dalších vlastnostech zvířete (Samaržija et al. 2002; Nikolić et al. 2011). Strategie pro snížení antibiotických přípravků v mléce a mléčných výrobcích se musí zaměřit na snížení výskytu onemocnění u zvířat, nebo omezit používání

antibiotických léčiv u nemocných zvířat. Ke snížení antibiotik u dojnic je nezbytná prevence nemocí především mléčné žlázy (Krömker & Leimbach 2017).

### 3.4 Mastitida

Zánět mléčné žlázy vzniká proniknutím infekčního patogenu do strukového kanálku. Patogen se množí v cévách a mlékojemu žlázy a postupně vstupuje do tkání (alveol), kde probíhá sekrece mléka. Patogeny se většinou do strukového kanálku dostávají například během strojního dojení. Mohou být hnány do strukového kanálku a dál do mlékojemu, v podobě kapiček, způsobené dojícím strojem na konci dojení, kdy objem mléka v mléčné žláze značně klesá. Během procesu dojení, je povrch struku (zejména spodní část) vystavena infekčním patogenům, které mohly například zůstat na strukových násadcích dojícího stroje po předešlém dojení. Po vyjmutí strukových násadců z mléčné žlázy zůstávají infekční patogeny na povrchu struku. Zde se hromadí a díky přítomnosti zbytku mléka a gravitaci se shromažďují u otvoru struku. Dalším způsobem proniknutí patogenů do mléčné žlázy může být během intramamární aplikace přípravků při léčbě zvířete (Akers & Nickerson 2011).

Mastitida je zánět tkáně mléčné žlázy. Jedná se o multifaktoriální onemocnění s kombinací environmentálních a patogenních faktorů a patří k významným a ekonomicky velice závažným produkčním onemocněním. Celkově se může zánět mléčné žlázy charakterizovat jako fyzikální, chemické a bakteriologické změny v mléce a též i patologické změny v tkáni mléčné žlázy. A to v důsledku eliminace infekčních patogenů, s cílem uzdravit žlázu a umožnit návrat k normální fyziologické funkci. Samotný zánět může vzniknout mnoha způsoby. Může jej způsobit například nějaký typ poranění, infekční patogeny a jejich toxiny, trauma mléčné žlázy, či působením dráždivých látek. Obvykle je ale spojená s intramamární bakteriální infekcí. Pokud vniknou do mléčné žlázy patogeny, postižená tkáň začne reagovat obranou reakcí ve formě zánětu. Leukocyty se začnou ve velkém množství přesouvat z krve do alveol mléčné žlázy, aby fagocytovaly a zničily proniklé patogeny. Působením původců mastitid dochází k odumírání mlékotvorných buněk, které jsou společně s leukocyty, mlékem vylučovány z mléčné žlázy ven a jsou příčinou poklesu dojivosti. (Mcdougall et al. 2009; Sudhan & Sharma 2010; Šustová et al. 2016; Kibebew 2017). Záněty mléčné žlázy snižují produkci mléka a jeho kvalitu, dále způsobují předčasné vyřazování dojnic z chovu. Již zánět jedné čtvrti mléčné žlázy způsobí během laktace snížení produkce mléka přibližně o 10 – 12 %. Jak již bylo zmíněno výše, mastitida je multifaktorové onemocnění, na jehož vzniku a rozvoji se podílejí tři biosystémy. Makroorganismus, neboli samotná dojnice, kam můžeme zařadit fázi laktace, pořadí laktace, trauma mléčné žlázy, struku či strukového kanálku. Velký vliv má i kvalita strukového svěrače (kdy zánět může zapříčinit příliš uvolněný svěrač), dále léze na kůži struku, nebo imunologický stav mléčné žlázy. Dalším biosystémem jsou mikrobiální původci, infekčního nebo environmentálního charakteru. A posledním biosystémem je vnější prostředí, kam lze zařadit technologii a hygienu získávání mléka a to nejen samotnou hygienu dojícího zařízení (především strukových násadců), ale také hygienu zaměstnanců. Dalším vnějším vlivem je roční období, ustájení dojnic, výživa a technologie krmení, fáze zaprahování, zátěž při porodu a péče o paznehty (Hofirek et al. 2009; Kibebew 2017).



Mastitidu lze rozdělit dle závažnosti na klinickou a subklinickou. Klinická mastitida se projevuje patrnými změnami mléka (vločky nebo sraženiny v mléce), viditelnými změnami samotné žlázy (zarudnutí, otok, tvrdost) nebo celkovým zhoršením stavu zvířete. Subklinická mastitida se neprojevuje klinickými příznaky, ale jsou pro ni charakteristické změny některých parametrů mléka a lze ji diagnostikovat pouze za pomoci testů, např. podle počtu somatických buněk v mléce. Stupeň závažnosti závisí především na přítomnosti patogenu, na zdraví organismu a fázi laktace hostitele. Díky nepřítomnosti klinických příznaků se stává subklinická mastitida nejrizikovější, protože vede k drastickému snížení kvality a výtěžnosti mléka (McDougall et al. 2009; Modak et al. 2012; Šustová et al. 2016; Keane 2019). Klinická mastitida je většinou léčena použitím antimikrobiálních látek. Kvůli absenci klinických projevů u subklinické mastitidy, dochází k pozdní diagnostice a tudíž i léčbě. Proto zvíře se subklinickou mastitidou zůstává, do doby zjištění, infikováno a po celou dobu vylučuje bakterie mlékem (Dego 2020b).

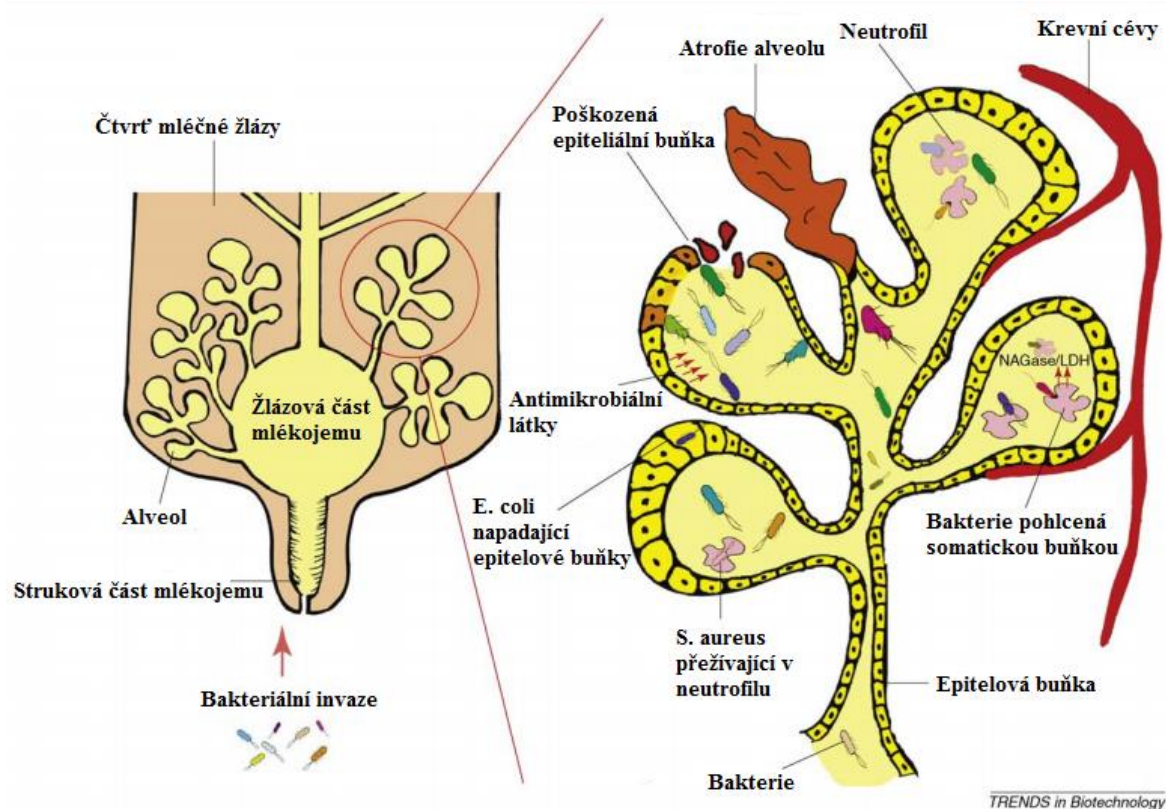
### 3.4.1 Patogeneze

Primární příčinou mastitidy, jak již bylo zmíněno, jsou různé bakteriální původci. Kromě bakterií, mohou mastitidu způsobit některé viry, plísně, řasy či kvasinky. Zdravý, neporušený strukový kanálek je pevně uzavřen pomocí svalů, vytvářející svěrač, který udržuje strukový kanálek uzavřený. Anatomické uspořádání tedy zabraňuje vstupu patogenům do mléčné žlázy. Strukový kanálek je obložen keratinem, který je odvozený z vrstevnatého epitelu. Keratin je voskovitý materiál, který je složen z mastných kyselin (s bakteriostatickým účinkem) a vláknitých bílkovin. Díky jeho složení, zabraňuje případné migraci bakterií. Poškození keratinu zapříčiňuje zvýšenou náchylnost strukového kanálku na infekční patogeny. Vláknité bílkoviny keratinu se vážou na infekční patogeny a zvyšují jejich náchylnost k osmotickému tlaku, díky tomu dochází k jejich lýze a smrti. Během dojení dochází k vyplavování keratinu a ještě značnému rozšíření strukového kanálku. To umožňuje bakteriím vniknout do strukového kanálku, čímž dojde k poškození keratinu nebo sliznic struku. Strukový kanálek může po nadojení zůstat (částečně) otevřený po dobu dvou hodin a během této doby je náchylnější na průnik patogenů. V období blížícího se porodu, dochází ke změnám v mléčné žláze. Začíná se tvořit a hromadit sekret, což přispívá ke zvýšení tlaku v mléčné žláze. Dilatací strukového kanálku a tudíž i únikem mléčného sekretu, se stává mléčná žláza zranitelnější. (Capuco et al. 1992; Khan & Khan 2006; Viguier et al. 2009).

Ve chvíli, kdy bakterie proniknou přes strukový kanálek (viz Obrázek 2), čelí humorálním obranným mechanismům mléčné žlázy. Pokud se podaří bakteriím proniknout i přes obranné mechanismy, začnou se v mléčné žláze množit a uvolňovat své toxiny. Toxiny indukují leukocyty a epiteliální buňky žlázy k uvolňování různých chemoatraktantů (jako jsou například cytokiny, interleukiny, eikosanoidy, kyslíkové radikály a proteiny akutní fáze). Na tyto chemoatraktanty reagují polymorfonukleární neutrofilové, které začnou migrovat z kostní dřene směrem k místu infekce. Neutrofilové pohlcují a ničí bakteriální patogeny (viz Obrázek 2). K zániku většiny neutrofilů poté dochází apoptózou a zbytek pohltí makrofágové. Do mléka se kromě odloučených epiteliálních buněk tkáň mléčné žlázy vylučují též leukocyty a tím

dochází ke značnému zvýšení somatických buněk v mléce (Khan & Khan 2006; Viguiet et al. 2009).

Při déletrvající infekci dochází k otoku epitelu v mléčné žláze. Napadené alveoly jsou značně poškozeny. Pokud dojde k poškození bariéry krev-mléko, která brání pronikání patogenů a jejich toxinů do krve, může se v mléce vyskytnout krev. Dochází k viditelným změnám na mléčné žláze, například otok a zarudnutí. Zánět se projeví i na mléce, zvýšením pH, vodivosti, obsahu vody a přítomnosti viditelných sraženin, popřípadě vloček (Hofírek et al 2009; Viguiet et al. 2009).



Obrázek 2. Schématické znázornění vývoje mastitidy v infikované mléčné žláze. Environmentální a nakažlivé mikroorganismy napadají mléčnou žlázu přes strukovou část mlékojemu. Poté se množí v mléčné žláze, kde jsou napadeni neutrofilů, zatímco poškozují epitelální buňky lemující alveoly, s následným uvolňováním enzymů, jako je NAGáza a LDH. Epitelální buňky také vylučují antimikrobiální sloučeniny. Jakmile imunitní efektorové buňky začnou bojovat proti napadajícím patogenům, je pozorováno značné poškození tkáně. Upraveno a převzato z Viguiet et al. (2009).

### 3.4.2 Mastitida klinická

Klinická mastitida je označení pro jeden z možných projevů mastitid. U zvířat se projevuje viditelnou změnou zdravotního stavu zvířete a především zánětlivými změnami v tkáni mléčné žlázy, které se projevují například zarudnutím, otokem nebo tvrdostí žlázy. Jako z dalších příznaků lze zmínit bolestivost a zvýšenou teplotu postižené čtvrti mléčné žlázy. Změny jsou patrné i přímo, na kvalitě a vzhledu mléka. U mírných zánětů se vyskytují vločky

v mléce, naopak u těžkých zánětů se z poškozených čtvrtí získává sekret krvavý, hnisavý, vodnatý a se změněnou barvou. Zdravotní stav zvířete je celkově narušen. Dojnice má vysokou horečku, nežere, nepřežvykuje, je zde snižená motilita bachoru a snižená produkce. Bez adekvátní péče může dojít až k ulehnutí a úhynu zvířete (Šustová et al. 2016; Dego 2020a). Klinickou mastitidu můžeme rozdělit na perakutní, akutní, subakutní a chronickou mastitidu. Perakutní mastitida se projevuje rychlým nástupem silného zánětu během krátké doby. Dochází ke snížení obsahu mléka a celkové změně jeho složení. Objevují se systémové příznaky, jako je horečka, deprese, třes, nechutenství, bolest a následné hubnutí. Akutní mastitida má rychlý nástup zánětlivé reakce. Vznikají systémové klinické příznaky, jako je například horečka, nechutenství, zánětlivé změny na mléčné žláze a změny na kvalitě i konzistenci mléka. Subakutní mastitida se projevuje s mírnými příznaky zánětu mléčné žlázy s viditelnými změnami v mléce (malé sraženiny). Chronická mastitida je forma zánětu, která se dlouhodobě opakuje a může přetrvávat i několik měsíců. Tato forma často vede k nevratnému poškození mléčné žlázy a proto jsou krávy často utraceny (Kibebew 2017; Dego 2020a).

Klinické mastitidy mají tendenci se vracet. Dojnice, u nichž došlo k rozvoji klinické mastitidy, bez ohledu, jaký patogen zánět způsobil, jsou náchylnější k rozvoji nového zánětu mléčné žlázy. Opakování klinické mastitidy může být způsobeno i přetrvávajícím (zcela nevyhlášeným) zánětem, protože zánět mléčné žlázy se může vyskytovat i po zániku klinických příznaků (Jamali et al. 2018).

### **3.4.3 Mastitida subklinická**

Subklinická mastitida je hlavní formou mastitidy v chovech zaměřených na mléčnou produkci. V těchto chovech překračuje okolo 20 – 50 % nakažených dojnic. I když nejdou zcela vyčíslit náklady na subklinickou mastitidu, většina odborníků se domnívá, že stojí průměrného chovatele mnohem více než klinická mastitida. Z toho přibližně 70 % nákladů, jsou spojeny se sníženou produkcí mléka. Kromě toho, zde dochází k trvalému poškození tkáně mléčné žlázy. Neboť antibiotika, která jsou využívána při léčbě infekce, nechrání žlázu přímo před poškozením (Zhao & Lacasse 2008). Subklinickou mastitidu u stáda dojnic, lze hodnotit především sledováním počtu somatických buněk v mléce od jednotlivých dojnic v měsíčních intervalech, nebo objemového mléka v nádrži (Smith et al. 1985). Subklinická mastitida je spojena s vylučováním zvýšeného počtu somatických buněk v mléce a zároveň i s vylučováním samotných původců bakterií. Již při počtu nad 200 tisíc somatických buněk v 1 ml mléka může probíhat zánět. U zdravé mléčné žlázy je počet somatických buněk nižší než 100 tisíc na 1 ml mléka. Během subklinické mastitidy se může počet zvýšit i na 1 milion somatických buněk na 1 ml mléka. Dále dochází k poklesu nádoje, v mléce může být zaznamenán pokles obsahu laktózy pod 4,5 % a též i pokles obsahu kaseinu, což má vliv především na kvalitu mléka. Mléko je celkově mírně pozměněné a někdy se může objevit otok mléčné žlázy (Šustová et al. 2016; Dego 2020a). Subklinická mastitida je jedním z hlavních problémů šíření a perzistence mastitid ve stádech dojnic. Mléčná žláza a samotný sekret se jeví na pohled jako normální, avšak mléčná žláza je infikovaná. Krávy se subklinickou mastitidou fungují jako rezervoár bakterií a díky tomu dochází k nepozorovatelnému šíření mastitidy ve stádě (Halasa et al. 2007; Kibebew 2017).

### 3.5 Patogeny mastitidy

Intramamární infekce neboli zánět mléčné žlázy, je jednou z nejnákladnějších nemocí v mléčném průmyslu. Jedná se převážně o bakteriální infekci, kterou způsobuje řada patogenů. Pokud dojde k zánětu mléčné žlázy u dojnice ve fázi laktace, je cílem zajistit vhodný způsob léčby. Protože se mléko od léčených dojnic musí vyřazovat, nelze použít pro léčbu antibiotika s dlouhodobým účinkem (zbytečné ekonomické ztráty). Proto je důležité získat informace o patogenu způsobující mastitidu a zvolit vhodný způsob léčby. Mezi hlavní patogeny mastitidy se řadí *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* a *Staphylococcus aureus*. Závažnost intramamární infekce závisí na hostiteli a vrozené rezistenci hostitele, energetické rovnováze, imunitním stavu a fáze laktace. Patogeny mohou ovlivnit imunitní odpověď hostitele a progresi onemocnění (Keane 2019; Cheng & Han 2020).

Patogenní bakterie, které způsobují klinickou mastitidu u dojnic, jsou klasifikovány podle primárního rezervoáru. Klasifikují se na infekční, jinak nazývané kontagiózní, kde je rezervoárem mléčná žláza, nebo environmentální, kde je jejich rezervoárem naopak životní prostředí. Kontagiózní bakterie se přenáší z infikovaných čtvrtí do původně zdravých čtvrtí, například během procesu dojení. Mezi ně patří grampozitivní bakterie, jako je *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*. Environmentální bakterie, nebo-li bakterie, jejichž primárním rezervoárem je prostředí, se nacházejí v půdě, výkalech a podestýlce. Z těchto zdrojů se dostávají do strukového kanálku a dál do mléčné žlázy. Zařazujeme sem převážně gramnegativní bakterie, kam řadíme *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Aerobacter aerogenes* a *Enterobacter sp.* (Risco et al. 1999). Bylo také zjištěno, že některé patogeny, vyvolávající intramamární infekci, mohou být schopné kontagiózního i environmentálního přenosu. Z čehož vyplývá, že způsob přenosu může být spojen s kmenem než s druhem patogenů (Zadoks et al. 2000; Budd et al. 2015; Davies et al. 2016).

Ve chvíli, kdy patogeny poruší strukový kanálek a mlékojem mléčné žlázy, dojde k přilnutí patogenů k tkáním ohraničující vnitřek mléčné žlázy. To umožňuje patogenům zůstat uvnitř žlázy, i během laktace, kdy dochází k pravidelnému vyprazdňování mléčné žlázy během dojení. *Streptococcus agalactiae* a *Staphylococcus aureus* mají dobrou schopnost přilnout k tkáním ohraničující prostory pro shromažďování mléka (neboli mlékojemy). Naopak *Escherichia coli* tuhle schopnost (přilnout ke tkáním) nemá, a proto se začne ve velkém rozmnožovat. Bakterie nejdříve narušují tkáň mlékojemu a mlékovodů. Poté postupují dál, až do alveolární oblasti ventrální části žlázy (Akers & Nickerson 2011).

#### 3.5.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* patří do skupiny grampozitivních bakterií (Lower et al. 2010). Je součástí normální mikroflóry, která žije na lidském těle a v něm. Tyto bakterie běžně rostou jako biofilm na povrchu, jako je kůže nebo sliznice. Je ale i jednou z nejčastějších příčin endemických i epidemických infekcí, které mohou vést k morbiditě a mortalitě (Von Eiff et al. 2001; Lower et al. 2010).

*Staphylococcus aureus* je častým patogenem u člověka, ale zároveň je nebezpečný pro ostatní živočichy. Je schopen napadat, kolonizovat a způsobovat onemocnění u většiny savců a

ptáků (Smyth et al. 2009). *Staphylococcus aureus* může kolonizovat a infikovat širokou škálu domestikovaných a divokých zvířat, včetně ovcí (Vimercati et al. 2006), králíků (Hermans et al. 2003), kuřat (Rodgers et al. 1999) a krůt (Linares & Wigle 2001). Jedná se o jeden z hlavních patogenů, způsobující klinické nebo subklinické intramamární infekce, především u skotu, ovcí a koz (Barkema et al. 2006; Kapur et al. 1995; Vautor et al. 2009). Při epidemiologických zkouškách u lidských a bovinních stafylokokových infekcí byla použita celá řada biochemických a molekulárních metod. Tyto metody jsou užitečné pro klasifikaci bakteriálních izolátů, ale většina z nich neposkytuje dostatečné množství informací (Kapur et al. 1995). Identifikace je založena na morfologii kolonií, produkci pigmentu, anaerobním růstu, produkci kyselin z různých sacharidů a produkci koagulázy, hemolysinů a termonukleázy. Pro identifikaci jsou používány další fyziologické a biochemické vlastnosti (Niskanen et al. 1991). *Staphylococcus aureus* je nebezpečný patogen, způsobující závažná onemocnění. Toxiny, které bakterie produkují, poškozují biologické membrány hostitele a mohou zapříčinit smrt samotné buňky. Hlavním cílem toxinů, je především uniknutí imunitní obraně hostitele (Otto 2014). Dále produkuje enterotoxiny, které jsou jednou z nejčastějších příčin znehodnocení potravin a mohou způsobit otravu jídlem (Niskanen et al. 1991). Infekce, které *Staphylococcus aureus* vyvolává, mohou být i méně závažné, avšak často vedou k chronické infekci, jejíž léčba je obtížná (Wellnitz & Bruckmaier 2012). Může být nepravidelně vylučován do mléka a vytvářet uzavřené infekce, jinak nazývané abscesy (Sears et al. 1990; Sol et al. 1997).

### 3.5.2 *Streptococcus agalactiae*

*Streptococcus agalactiae* patří do skupiny grampozitivních bakterií, způsobující nakažlivou mastitidu. Vyskytuje se v zažívacím traktu i v prostředí dojníc. K přenosu často dochází prostřednictvím dojícího zařízení, kdy se patogen může přenášet mezi dojnicemi. Též k přenosu může dojít například přes pitnou vodu kontaminovanou výkaly. *Streptococcus agalactiae* způsobuje zejména subklinickou mastitidu s vysokým počtem somatických buněk. To má vliv především na sníženou produkci a kvalitu mléka. Díky schopnosti vytvářet biofilm, může v mléčné žláze přetrvávat značně dlouhou dobu a bez adekvátní léčby je jeho odstranění obtížné. I když je vysoce nakažlivý, je též citlivý na antibiotika, což umožňuje patogeny eliminovat ze stád. Od zavedení přísnějších hygienických opatření během dojení, se výskyt mastitid způsobených tímto patogenem velmi snížil (Kibebew et al. 2017; Dego 2020a; Cheng & Han 2020).

### 3.5.3 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* je často spojována s rychlým nástupem akutní mastitidy s vážnými příznaky. V některých případech dojde k vyléčení infekce bez nutnosti veterinární péče, avšak může též dojít k systémové infekci a následné smrti (Zadoks & Fitzpatrick 2009). Je nezbytné podotknout, že *Escherichia coli*, je celosvětově jedním z hlavních etiologických činitelů, způsobující mastitidu u skotu. Přestože se mastitida, způsobená *Escherichia coli*, projevuje často v akutní formě, zdravotní stav mléčné žlázy a kvalita mléka, mohou být po dlouhou dobu

zhoršeny, i po klinickém uzdravení organismu. Můžeme pozorovat zvýšený počet somatických buněk, sníženou hladinu tuků a laktózy a změněné koagulační vlastnosti mléka. To lze pozorovat i za dva měsíce po vyléčení mastitid, způsobené tímto patogenem, a to i bez zjištění přítomné infekce (Blum et al. 2014). Jak již bylo zmíněno, *Escherichia coli* způsobuje klinickou mastitidu s jasnými známkami zánětu v postižené mléčné žláze od mírné až po těžkou formu (Burvenich et al. 2003). Byl proveden experiment na rychlost projevení zánětu, po intramuskulární injekční aplikaci *Escherichia coli*. Zánět se projevil a byl evidentní již po několika hodinách po injekční aplikaci. Pro vypuknutí zánětu stačilo přibližně 50 jednotek tvořících kolonie (KTJ). Za pouhých devět hodin, došlo ke zvýšení počtu somatických buněk v mléčné žláze. Klinické příznaky samotného zánětu, se projeví za necelých osmáct hodin (Oliver et al. 2012). V některých případech způsobuje *Escherichia coli* perzistující neboli přetrvávající infekci mléčné žlázy, což může vést k rekurentní (navracející se) nebo chronické mastitidě (Döpfer et al. 1999; Bradley & Green 2001; Blum et al. 2014). Perzistující infekce jsou spojeny s kmeny *Escherichia coli*, které jsou přizpůsobeny k napadení a přežití v buňkách epitelu mléčné žlázy (Dogan et al. 2006; Almeida et al. 2011).

### 3.6 Diagnostika mastitid

U klinického projevu onemocnění je diagnostika poměrně snadná. Onemocnění se odráží viditelně jak na stavu zvířete, tak na kvalitě mléka. U klinické mastitidy se vyskytuje otok mléčné žlázy a její zvýšená citlivost na dotek. Z pohledu na celý organismus, se u zvířete mohou objevit deprese, nechutenství, dále zvýšená teplota, popřípadě horečka (viz kapitola výše). Problém v odhalení nemoci spíše nastává u druhého typu mastitidy, subklinického. Zvíře je na první pohled v pořádku, změny však probíhají v počtu somatických buněk, které se zvyšují. Vzhledem k většímu výskytu především subklinické mastitidy je diagnóza závislá na nepřímých testech, které závisí například na počtu leukocytů v mléce, či samotný počet somatických buněk. Nejčastěji se provádí screeningové metody, které poskytují informace o zdravotním stavu a usnadňují diagnostiku subklinické mastitidy. Nejvíce používaný je NK-mastitis test, který za použití indikátoru (fenolová červeň) reaguje na změnu pH mléka, ztrátu pufovacích schopností a vyšší koncentraci somatických buněk. Zvýšený počet somatických buněk se poté projeví v podobě změny konzistence mléka. Dle závažnosti se tvoří vločky, gel až hlenovitá hmota. Další způsob diagnostiky je mikrobiologické vyšetření mléka. S cílem zachytit a určit původce infekce. Pro mikrobiologické vyšetření je velmi důležitý aseptický odběr vzorku. Kromě zjištění původců, lze stanovit biochemické změny v mléce vzniklé v průběhu zánětu (Wellenberg et al. 2002; Hofírek et al. 2009; Sepúlveda-Varas et al. 2016).

Mastitida má infekční povahu, která vede nejen k zánětu jedné či více čtvrtí mléčné žlázy, ale může zasáhnout ostatní zvířata ve stádě. Pokud nedojde k včasné léčbě, může dojít až k zhoršení životních podmínek zvířat a skončit utracením postižených dojnic nebo jejich úhynem. Včasná diagnostika může nejen zlepšit pohodu zvířat, ale díky včasné léčbě snížit náklady spojené se samotným onemocněním. Jak již bylo výše zmíněno, patogeny způsobující vznik mastitidy jsou převážně bakteriálního původu, ale dále zde mohou působit i nebakteriální patogeny, jako jsou především plísně, kvasinky, řasy ale i viry (Wellenberg et al. 2002; Sepúlveda-Varas et al. 2016).

Pro diagnostiku je vhodné pozorovat i samotné chování zvířete. Nemocné zvíře se projevuje změnou chování, které může chovatele upozornit na problém. U nemocného zvířete lze sledovat snížení aktivity a příjmu krmiva a změny sociálního chování. Změna chování během vývoje mastitidy, může napomoci včasné diagnostice, a tudíž i podpořit včasné zahájení léčby samotné nemoci. Mastitida může vést ke snížení přežvykování a zkrácení doby krmení. Změny v přirozeném chování mohou poukazovat na bolest. U nemocných zvířat dochází ke změně aktivity. Krávy s mastitidou stráví více času stáním, neboť ležení způsobuje větší tlak na bolestivou mléčnou žlázu. Změny se dále projevují na chůzi, vokalizaci a samotném držení těla, které též mohou poukazovat na bolest (Fogsgaard et al. 2012; Sepúlveda-Varas et al. 2016).

### **3.7 Prevence mastitid**

Mastitida je jednou z hlavních příčin ekonomických ztrát, s negativními účinky na kvalitu mléka a snížené hygieny produktů. Udržitelná produkce mléka by neměla být zaměřena pouze na účinnou léčbu, ale také na provádění efektivních preventivních opatření. Účinné strategie kontroly mastitidy, musí být založeny na včasné a přesné detekci infekce. Neboť včasná detekce a diagnostika infekcí jako preventivní opatření mohou nejen zlepšit zdraví zvířat, ale také zlepšit životní podmínky a užitkovost zvířat (Chagunda et al. 2006; Friedman & Honig 2020). Za účelem kontroly výskytu mastitid byl vypracován kontrolní program proti mastitidě. V programu je obsaženo několik bodů pro prevenci šíření, přenosu a infekce patogenů způsobující mastitidu. Zahrnuje namáčení struků v antiseptickém roztoku před a po dojení, správnou hygienu a údržbu dojícího zařízení, včasné odhalení a léčba infikovaných zvířat. Velmi důležitá je i správná technika zaprahování a terapie zvířat v období stání na sucho. S aplikací dlouhodobě působících antibiotických látek dochází k léčbě mastitid, ale též i k prevenci proti vzniku nového onemocnění. Součástí programu je i vyřazení chronicky nemocných zvířat. Dále se zde zahrnuje správná zoohygienu prostředí (s cílem udržovat prostředí zvířat v čistotě a suchu), včasná diagnostika mastitidy během laktace a pravidelné sledování zdravotního stavu mléčné žlázy. Tato opatření vedou pouze ke snížení šíření, přenosu a vzniku infekce (Dego 2020b).

#### **3.7.1 Faktory ovlivňující vznik mastitid**

Pro prevenci je důležitá znalost faktorů způsobujících vznik mastitid. Poté lze určit konkrétní kroky pro kontrolu a prevenci mastitid v chovu. Kontrolní nebo preventivní opatření by měla být zaměřena buďto na snížení rizika vzniku infekce, nebo vyléčení probíhající infekce, či obojí (McDougall et al. 2009). Mastitida je multifaktorové onemocnění a na jejím vzniku se podílí tři biosystémy. Makroorganismus (dojnice neboli hostitel), patogeny mléčné žlázy (bakterie, viry, plísňe, kvasinky) a prostředí (viz výše).

Predispozičním faktorem dojnice je věk, stádium laktace, počet somatických buněk v předchozí laktaci, dále plemeno, anatomie mléčné žlázy, imunita jedince a jeho užitkovost (vyšší predispozici budou mít dojnice s vyššími hodnotami dojitelnosti). Morfologickými faktory mléčné žlázy, jsou především tvarové vlastnosti struků (především strukového kanálku)

a celková stavba mléčné žlázy, včetně výskytu pastruků. Dále se zde zahrnuje poloha struku a jeho vzdálenost od země (Hofírek et al. 2009; Oliveira et al. 2015; Dego 2020a). Roli zde hraje i odlišná náchylnost jednotlivých čtvrtí mléčné žlázy vůči patogenům způsobující mastitidu. Vyskytuje se více případů, kdy mastitidou byly postiženy jednotlivé čtvrti mléčné žlázy, zřídka se mastitida projevila u všech čtyřech čtvrtí. Starší dojnice spadají do rizikové skupiny oproti mladším. U starších zvířat je pravděpodobnější výskyt více problémů (například kulhavost). Také se u nich mohou vyskytnout anatomické změny struku, které vedou k narušení přirozených obranných mechanismů (De Vliegher et al. 2018). Vnímavost mléčné žlázy je do určité míry ovlivněna také dědičností. Mezi fenotypové znaky, které mohou ovlivnit vnímavost dojnice patří například hloubka mléčné žlázy, délka struků a strukového kanálku, morfologie ústí strukového kanálku, dojitelnost, tvorba keratinové zátky ve strukovém kanálku a kvalita strukového svěrače (Hofírek et al. 2009). U kříženců Holštýnského skotu se výskyt klinické mastitidy snížil, oproti plemenným jedincům. Tato zvířata nejsou tolik náchylná k různým chorobám (především mastitidě) a také se u nich zvýšila dlouhověkost (Dezetter et al. 2017).

Patogeny mastitidy lze rozdělit podle primárního rezervoáru na infekční a environmentální (viz výše). Mezi infekční lze zařadit *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* a *Mycoplasma sp.*, tyto patogeny se šíří především během procesu dojení. K environmentálním se řadí například *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, a vyskytují se v celém prostředí dojnic (Oliver & Murinda 2012). Mezi faktory ovlivňující vznik mastitid patří typ patogenů, například bakterie, viry, plísně, kvasinky a řasy. Podle zjištění konkrétního typu lze poté stanovit specifickou léčbu, ale i prevenci pro zamezení výskytu patogenu v chovu. Důležitý je i počet patogenů přítomných v mléčné žláze a jejich virulence. Pro patogeny je důležitý i typ prostředí ve kterém se vyskytují. Dojnice chované ve špatných zoohygienických podmínkách, například špatná zoohygienu ustájení, špatná hygiena dojení (špinavý dojící stroj, špatný postup dojení), jsou více vystaveny patogenům, než dojnice chované v čistých zoohygienických podmínkách. Také záleží na schopnosti patogenu přežít v mléčné žláze a jeho rezistenci vůči antimikrobiálním látkám. Vliv má i zoonóza patogenu, kdy může dojít k přenosu infekce z dojnice na člověka, ale i naopak (Dego 2020a).

Vnější prostředí působí na vznik mastitidy různými činiteli. Řadí se sem technika dojení, traumatizace mléčné žlázy (například během získávání mléka), zoohygienu a hygiena získávání mléka, mikroklimatické podmínky i roční období, výživa a způsob krmení, technika chovu a ustájení. Například příliš nízké teploty mohou přispět ke vzniku mastitid. U dojnic během těchto podmínek dochází k vyšší kolonizaci kůže struků patogeny *Staphylococcus sp.* Dále důsledkem velmi nízkých teplot může docházet k poškození struků (popraskání kůže) a umožnění proniknutí infekčních patogenů do mléčné žlázy (Vasileiou et al. 2019; Dego 2020a). Správná výživa a technologie krmení jsou důležité aspekty pro zajištění adekvátního metabolismu a dosažení vysoké užitkovosti. Obranyschopnost organismu může být narušena například během metabolických poruch, které často vznikají z nevyvážené výživy (Hofírek et al. 2009). Stresové faktory též hrají důležitou roli. Pokud tyto faktory působí po delší dobu, mohou ovlivnit samotné zvíře. Organismus má sníženou obranyschopnost vůči infekčnímu prostředí a proto může dojít k snadnějšímu průniku patogenů a vzniku mastitidy (Seydlová 2013).

Mastitida se může projevit i u jalovic. Mezi rizikové faktory, přispívající ke vzniku infekce, patří například hygiena mléčné žlázy, ustájení jalovic spolu s dospělými dojnicemi.



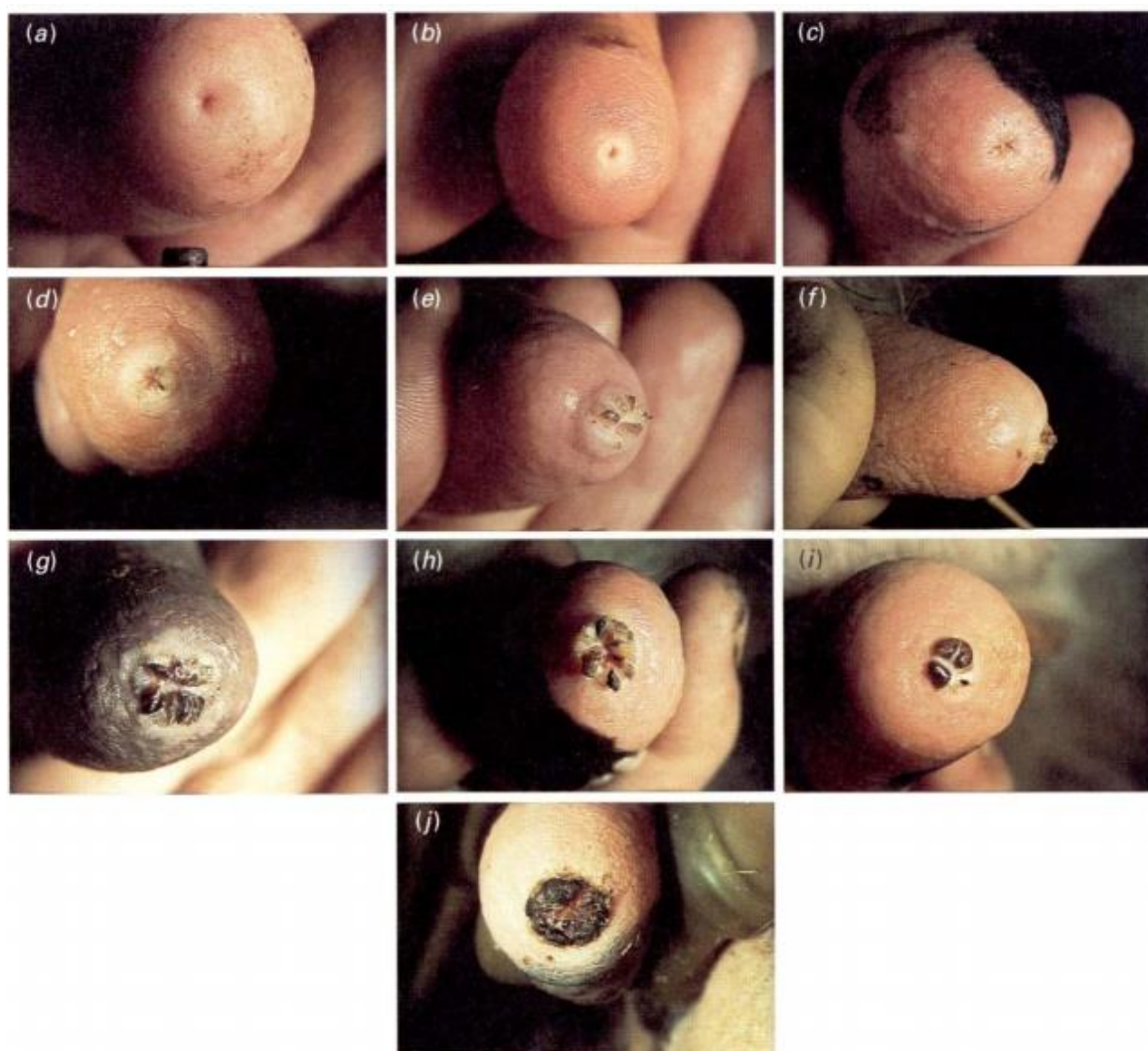
K predispozičním faktorům jalovic pak patří stáří v době otelení a genetický potenciál pro vysokou užitkovost. A z vnějšího prostředí se sem řadí především výživa a technologie ustájení (Mcdougall et al. 2009).

### 3.7.2 Technologie získávání mléka

Pro získávání mléka je kladen důraz především na hygienické podmínky, které jsou nezbytné pro získání kvalitního mléka, ale také pro zamezení přenosu patogenů a vzniku zánětu mléčné žlázy. Při každém dojení se posuzuje čistota dojnic, především mléčné žlázy. Neboť je zde pozitivní korelace mezi špinavou mléčnou žlázou a infekcí (Schreiner & Ruegg 2003; Zucali et al. 2011). K přípravě mléčné žlázy před samotným dojením se řadí sanitace a stimulace struků. Pro sanitaci struků se mohou použít různé pěnové roztoky, kterými se sníží počet bakterií na mléčné žláze. Dezinfekce struků před vlastním dojením je především účinná proti environmentálním bakteriím (jako je například *Escherichia coli*). Avšak účinnost dezinfekce je závislá na hygieně mléčné žlázy. Proto správný postup před dojením zahrnuje čištění struků, odstřík z každého struku, aplikace dezinfekčního přípravku a poté vysušení struků (Zucali et al. 2011; Gleeson et al. 2018). Odstříky ze všech struků se provádí nejen ke stimulaci, ale také pro kontrolu zdravotního stavu mléčné žlázy, přesněji pro identifikaci případného výskytu klinické mastitidy (Wagner & Ruegg 2002). Po hygieně a kontrole mléčné žlázy se nasadí strukové násadce dojícího zařízení. Aplikace by měla být rychlá, aby se zamezilo zbytečnému proniknutí vzduchu do zařízení, neboť nadměrné vniknutí vzduchu může zapříčinit výkyvy vakua. Během dojení by se měli veškeré povrchy dojícího zařízení udržovat v čistotě. Ihned po sejmutí dojícího zařízení se na struky aplikuje dezinfekční prostředek, aby se zajistilo usmrcení veškerých mikroorganismů (Jones & Ohnstad 2002; Hofírek et al. 2009). Zvířata, u kterých probíhá antibiotická terapie, nebo zvířata s klinickou mastitidou, by měla být dojena jako poslední. Tato zvířata musí být adekvátně označena (barvou, páskou), aby se zamezilo kontaminaci mléka. Sekret těchto zvířat je nebezpečný i pro ostatní dojnice, neboť obsahuje infekční patogeny. K přenosu může dojít přes kontaminované mléko, které zůstalo na strukovém násadci během dojení. Například *Staphylococcus aureus* je schopen infikovat dalších 6 – 8 dojnic dojených kontaminovaným dojícím zařízením. Proto je nutné, u těchto zvířat po podojení, dojící zařízení důkladně vyčistit a vydezinfikovat (Edmondson 2001; Jones & Ohnstad 2002). Hygiena dojícího zařízení by měla být pravidelná. Čištění odpovídá frekvenci dojení stáda (nejméně dvakrát, někdy třikrát denně). Důraz na čistotu je především z důvodu většího bakteriálního zatížení. Při špatné hygieně dojícího zařízení dochází ke zvýšení pravděpodobnosti přenosu infekčních patogenů a kontaminaci syrového mléka (Reinemann et al. 2003; Hofírek et al. 2009).

Během nesprávného dojení může dojít k různým traumatizujícím faktorům, které působí na mléčnou žlázu, především na struk a strukový kanálek a mohou zapříčinit rozvoj zánětu. Například během závady dojícího zařízení může dojít k cirkulačním poruchám, cyanóze struku nebo k deformaci struku. Strukový kanálek patří mezi primární obranné mechanismy proti vzniku mastitid. Pokud dojde k jeho poškození, zvyšuje se tím riziko vzniku zánětu mléčné žlázy a to v důsledku snížené obranyschopnosti struku. Poraněním struku dochází ke snížení účinnosti dezinfekce po dojení. Poškození či různé trhliny vzniklé na struku, jsou ideálním

rezervoárem pro růst patogenů způsobující mastitidu (například *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus dysgalactiae*). Dlouhodobě působící traumatizující faktory mohou vést ke vzniku hyperkeratózy ústí strukového kanálku (viz Obrázek 3), nebo poškození struku (Edmondson 2001; Hofírek et al. 2009). Hyperkeratóza je nadměrný růst keratinu. Jedná se o reakci na sílu, která působí na struk během dojení. Na vývoj hyperkeratózy má vliv více faktorů, například počasí, podmínky prostředí, technologie získávání mléka (opotřebované vložky strukového násadce a příliš nízká nebo vysoká rychlost pulzace), dále tvar struků a genetické založení dojnice (Hofírek et al. 2009; Ohnstad 2012). Hyperkeratózu lze hodnotit pomocí stupnice od 0 do 5 (viz Obrázek 3), kdy 0 představuje normální struk a 5 struk s těžkou hyperkeratózou. Výskyt většího množství zvířat, trpících hyperkeratózou, poukazuje na problém s dojícím zařízením. Hyperkeratóza je jedním z faktorů zvyšující riziko rozvoje infekce (Edmondson 2001).



Obrázek 3. Bodovací stupeň pro hyperkeratózu struku skotu: (a) perfektní strukové ústí (skóre 0), (b) perfektní strukové ústí (skóre 0) ukazující typický bílý prstenec, (c) strukové ústí s mírnou hyperkeratózou (skóre 1); přes strukové ústí leží trochu volného keratinu, (d) strukové ústí se střední hyperkeratózou (skóre 2), též s trochou volného keratinu, (e) strukové ústí se středně těžkou až těžkou hyperkeratózou (skóre 3) zachycující mléka, typické brzy po dojení, (f) pohled z profilu na strukové ústí se středně těžkou až těžkou hyperkeratózou (skóre 3),

ukazující vytlačování keratinu přibližně 3 mm, (g) strukové ústí s těžkou hyperkeratózou (skóre 4); obrys otvoru lze stále rozeznat, (h) strukové ústí s velmi těžkou hyperkeratózou (skóre 5), (i) strukové ústí s typickými papilomy na obvodu (skóre 3), (j) strukové ústí ovlivněné černou skvrnou (skóre nelze určit). Upraveno a převzato z Shearn & Hillerton (1996).

### 3.7.3 Zaprahování a terapie krav v období stání na sucho

Období stání na sucho je důležitou a nepostradatelnou fází laktačního cyklu všech dojnic. Jakákoliv infekce v období stání na sucho ovlivní další laktaci, proto je velmi důležité věnovat těmto zvířatům dostatečnou pozornost a zajistit kvalitní péči. Mléčná žláza, během raného období stání na sucho a před otelením, je velmi náchylná ke vzniku nové intramamární infekce. Zvýšená náchylnost ke vzniku nové infekce je spojena s fyziologickou změnou mléčné žlázy, a to jak po skončení laktace tak i před zahájením nové (Oliver & Murinda 2012; Cheng & Han 2020). Stání na sucho je období mezi dvěma laktacemi a je zásadní pro zdravotní stav mléčné žlázy. Umožňuje vyléčení probíhající infekce a během tohoto období dochází k obnově starých a poškozených epiteliálních buněk v mléčné žláze (Krömker & Leimbach 2017). Strukový kanálek je v tomto období uzavřen keratinovou zátkou. Mléčná žláza poskytuje vhodnější prostředí pro leukocyty, jejich koncentrace je zde vysoká, oproti období laktace (Pyörälä 2008).

Na začátku období stání na sucho (v průběhu involuce mléčné žlázy) a na začátku laktace (před otelením) je nejvyšší riziko vzniku mastitidy. Po zaprahnutí se z mléčné žlázy již mléko nezískává a při přeplnění mléčné žlázy sekretem může dojít k úniku mléka ze struků působením intramamárního tlaku. Leukocyty do mléčné žlázy vstupují až od prvního týdne a ochranu žlázy nezajišťují hned. Také keratinová zátko (obsahující inhibiční látky proti patogenům) se začíná tvořit během prvních dvou týdnů po zaprahnutí. Po jejím vytvoření dojde k utěsnění strukového kanálku. Mléčná žláza se stává odolnější, vůči infekcím, právě ve chvíli vytvoření keratinové zátky (ve strukovém kanálku), která plní především funkci ochranné bariéry (Dingwell et al. 2004; Pyörälä 2008).

Během zaprahování dojnic se aplikují intramamárně antibiotika (s dlouhotrvajícím účinkem a přímo určená pro zaprahování). Tato antibiotika eliminují přítomnou infekci v mléčné žláze a současně zabraňují vzplanutí infekce po otelení. Zároveň slouží jako prevence, proti vzniku nové infekce, během období stání na sucho. Z důvodu rozvoje antimikrobiální rezistence u patogenů došlo k zavedení selektivní strategie používání antibiotik. Při zaprahování se mohou použít pouze k léčbě infikovaných dojnic. S antibiotiky (popřípadě místo nich) se používají látky s těsnicí funkcí (takzvaně tmely, stimulující keratinovou zátku), poskytující podporu pro fyzickou bariéru strukového kanálku a zabraňují případnému úniku mléka (Pyörälä 2008; Oliver & Murinda 2012; Krömker & Leimbach 2017; Derakhshani et al. 2018; Cheng & Han 2020). Během zaprahování a především při aplikaci látek do mléčné žlázy (antibiotika i tmely) je velmi důležitá hygiena, aby se minimalizovalo případné zavlečení patogenů (McDougall et al. 2009). Před zaprahováním dojnice, přibližně dva týdny před posledním dojením, se provádí vyšetření (klinické, cytologické a mikrobiologické) a analýza průběhu laktace a užitkovosti. Pokud se zjistí před posledním dojením přítomnost klinické

mastitidy, musí se provést léčba (za použití antibiotik), aby při zaprahnutí byla léčba ukončena (Hofírek et al. 2009).

Významným rizikovým faktorem vzniku mastitidy je zvýšená užitkovost dojnic. Tato zvířata jsou více náchylná k rozvoji infekce, především pokud v období zaprahování mají stále vysokou produkci mléka. To souvisí s nedostatečným uzavřením strukového kanálku. Dále náchylnost k rozvoji infekce ovlivňuje stav struků. Různě poškozené struky mají vyšší pravděpodobnost pro vznik mastitidy v období telení (Pyörälä 2008). Zánět mléčné žlázy v období stání je často způsoben patogeny z vnějšího prostředí. Pravděpodobnost vzniku infekce závisí na expozici patogenů, účinnosti obranných mechanismů mléčné žlázy a použití antibiotik během zaprahování (Leelahapongsathon et al. 2016).

### 3.7.4 Vakcinace

Imunoprofylaxe mastitidy se provádí pro zvýšení specifické imunity vůči patogenům způsobující mastitidu. Jedná se o novou metodu s cílem kontroly a prevence zánětu mléčné žlázy. Vakcíny jsou založeny pro zvýšení hladiny specifických protilátek v krvi dojnic. Vakcinace většinou nesnižuje frekvenci mastitidy, ale může zmírnit její projevy a zkrátit dobu infekce (Zigo et al. 2021). Často antibiotická léčba nedokáže tělo zvířete zcela zbavit patogenů a neúčinná léčba může vést k zvýšení rezistence infekčních patogenů. Proto zavedení vakcíny by mohlo být účinnou prevencí mastitidy (Boerhout et al. 2015). Byly již vyvinuty vakcíny proti konkrétním patogenům způsobující mastitidu (například *Staphylococcus aureus*), avšak všechny měly omezenou účinnost (např. omezený rozsah ochrany). Je důležité vyrobit vakcínu, která by byla schopna chránit hostitele proti širokému spektru kmenů. Vzhledem k tomu, že mastitidu způsobuje velká škála patogenů, není možné mastitidu zcela odstranit z chovu (Gomes & Henriques 2015).

Příkladem jedné z vakcín je *E.coli* J5. Jedná se o vakcínu proti koliformní mastitidě a obsahuje antigeny odvozené z mutantního kmene *Escherichia coli* J5. Tato vakcína dokázala snížit počet a závažnost koliformní mastitidy až o 80 % (Wilson & González 2003; Gomes & Henriques 2015). Další komerčně dostupnou vakcínou je Startvac obsahující *E.coli* J5 a kmeny *Staphylococcus aureus* (Ismail 2017). Stále je ale zapotřebí dalšího výzkumu a vývoje, než bude možno používat vakcinaci jako prevenci proti mastitidě (McDougal et al. 2009).

### 3.7.5 Technologie ustájení

V technologii ustájení je velmi důležitá hygiena prostředí. Zvířata by měla být ustájena v čistém prostředí, neboť výskyt mastitidy způsobené environmentálními patogeny souvisí právě s hygienou ustájení. Proto je cílem zajistit minimální znečištění těla dojnice a především mléčné žlázy. Nutná je pravidelná výměna podestýlky a stálý odkliz hnoje (Zigo et al. 2021). Pokud by se tyto úkony neprováděly pravidelně, došlo by ke zvýšení úrovně infekce způsobené právě environmentálními patogeny (Smith & Hogan 1999). V chovu by se mělo co nejvíce zamezovat stresu. Mezi stresové vlivy patří překračování optimální velikosti skupiny dojnic, nedostatek krmných míst, častá manipulace se zvířaty, ale také různé mechanické překážky, které zvíře jakkoliv omezují (Hofírek et al. 2009). Ustájení by mělo být navrženo tak, aby

dojnice měla maximální pohodlí a aby se minimalizovaly stresové faktory a fyzická zranění (Smith & Hogan 1999).

### 3.8 Vliv mastitidy na mléčnou produkci

Mastitida je jednou z nejnákladnějších nemocí v mléčném průmyslu. Celosvětové šíření této nemoci ohrožuje bezpečnost potravin a způsobuje velké ekonomické ztráty. Intramamární aplikace antibiotik, je hlavním způsobem léčby mastitidy. Někteří chovatelé používají nadměrně antibiotik, což způsobuje zvýšenou rezistenci patogenů. Množství antibiotik, potřebných k eliminaci patogenů mastitidy, inhibuje také růst mléčných bakterií, které jsou nezbytné v technologii výroby sýrů nebo jogurtů. Rezidua v mléce představují potenciální hrozbu. Z tohoto důvodu roste potřeba alternativních přístupů k léčbě mastitidy (Cao et al. 2007). Mastitida ovlivňuje kvalitu mléka (celkovou kvalitu a technické vlastnosti mléka) a má vliv i na hygienu mléka. U klinické i subklinické mastitidy dochází k podstatnému snížení produkce mléka a i po úplném zotavení se produkce mléka nezlepší. Dojnice, které se uzdraví z klinické formy mastitidy, budou po zbytek laktace produkovat méně mléka. Pokud vznikne mastitida na začátku laktace (před jejím vrcholem), je dopad zánětu závažnější (Halasa et al. 2007, Le Maréchal et al. 2011).

Ke snížení produkce mléka dochází především působením patogenů v mléčné žláze. Dochází k poškození epiteliálních buněk a následně ke snížení syntetické a sekreční kapacity mléčné žlázy. Odumřelé buňky společně s leukocyty jsou poté vylučovány z mléčné žlázy, to se projeví ve zvýšeném počtu somatických buněk. Snížená produkce mléka je velmi znatelná v zasažených čtvrti zánětem. Avšak systémový účinek mastitidy z postižených čtvrtí, působí i na nedotčené čtvrtě. To způsobují především zánětlivé mediátory (například cytokiny, metabolity kyseliny arachidonové, změny v koncentracích hormonů a snížená dostupnost prekurzoru mléka). Během zánětu dochází k zvýšení propustnosti bariéry krev-mléko, což způsobuje nejen snížení objemu, ale také snížení koncentrací mléčných složek (Petrovski 2006). Změny, ke kterým v průběhu mastitidy dochází, vedou nejen k zhoršení kvality mléka, ale též k nemožnosti mléko dále zpracovávat. Mléko vizuálně vykazuje velké změny. Dochází ke změně barvy (sekret může mít žlutou, červenou, hnědou nebo až zelenou barvu), změně chuti (prázdňá chuť), mléko vykazuje hnilobný zápach a řidší až vodnatou konzistenci. V mléce se mohou vyskytovat sraženiny v podobě vloček (Šustová et al. 2016). Dále má mastitida velký vliv na změny ve složení mléka (viz Tabulka 3; Tabulka 4). Dochází ke snížení aktivity syntézy hlavních složek mléka (především tuku, laktózy a kaseinu) a v mléce jsou přítomny krevní elementy v důsledku zánětlivé reakce mléčné žlázy (Hortet & Seegers 1998).

Tabulka 3. Porovnání hodnot (%) normálního mléka s hodnotami mléka získaného od mastitidní dojnice s vysokým počtem somatických buněk (PSB)

Složka	Normální mléko	Mléko s vysokým PSB
Tuk	3,5	3,2
Laktóza	4,9	4,4
Celkový protein	3,61	3,56
Celkový kasein	2,8	2,3
Syrovátkové bílkoviny	0,8	1,3 ↑
Sérový albumin	0,02	0,07 ↑
Laktoferin	0,02	0,1 ↑
Imunoglobuliny	0,1	0,6 ↑
Sodík	0,057	0,105 ↑
Chlorid	0,091	0,147 ↑

(Jones 2006)

Kasein je hlavním mléčným proteinem s vysokou nutriční kvalitou. V důsledku mastitidy jeho obsah klesá (viz Tabulka 3) a zároveň se snižuje obsah vápníku v mléce. Naopak obsah méně kvalitních syrovátkových proteinů se zvyšuje (viz Tabulka 3). To má vliv především na kvalitu mléčných výrobků. K rozpadu mléčných bílkovin dochází v důsledku zvýšeného obsahu proteolytických látek v mléčné žláze během mastitidy. Mléko s vyšším počtem somatických buněk má zvýšenou koncentraci sérového albuminu a imunoglobulinů. Tato změna způsobuje snížení tepelné stability mléka a pasterizace není tolik účinná. Mastitida má vliv na vodivost mléka. Zvýšením vodivosti dochází k vzestupu koncentrace sodíku a chloridů (Khan & Khan 2006). V průběhu mastitidy dochází ke změnám v koncentracích minerálních látek. Při poškození alveol patogeny, dochází k úniku draslíku z mléka (jeho koncentrace klesá), ale naopak se zvyšuje koncentrace sodíku a chloridů (viz Tabulka 3; Tabulka 4). Sodík se nachází v krvi ve velkém množství a při narušení bariéry krev-mléko dochází ke zvýšení jeho koncentrace v mléce. Stejně tak se zvyšuje obsah chloridů v mléce, které se do mléčné žlázy dostávají přílivem krevních složek během infekce (Petrovski 2006).

Obsah laktózy je dobrým indikátorem poškozené mléčné žlázy (především u subklinické formy mastitidy), neboť její syntéza probíhá pouze v epiteliálních buňkách alveol. Během zánětu klesá obsah laktózy z důvodu poškození alveol. Dochází k úniku laktózy do krevního oběhu a to se projeví především ve zvýšené koncentraci laktózy v krvi a moči dojnic zasažených mastitidou. Obsah laktózy v mléčné žláze se může snížit během narušení mechanismů regulující koncentraci iontů v mléce, nebo fermentací patogeny způsobující mastitidu (Petrovski 2006; Hofírek et al. 2009). Snížený obsah laktózy má značný vliv na výrobu mléčných produktů (kysané mléčné výrobky a sýry). Při sníženém obsahu se zároveň snižuje základní substrát potřebný pro mlékárenské kultury (Šustová et al. 2016).

### 3.9 Vliv somatických buněk na kvalitu mléka

Somatické buňky se nacházejí v malých koncentracích ve zdravé mléčné žláze. Jedná se především o buňky ze sekrečního epitelu mléčné žlázy a některé leukocyty. Somatické buňky představují v mléčné žláze druhou obrannou linii vůči infekcím (prvními jsou morfologické a chemické bariéry strukového kanálku). Přítomnost epiteliálních buněk v mléce je fyziologický jev. Jsou nezbytné pro regeneraci sekrečních epitelů alveol. Leukocyty se do mléka dostávají prostřednictvím krve. Jako součást somatických buněk slouží v podobě obranného systému (boj proti infekcím a součástí opravy poškozené tkáně). Infekce mléčné žlázy způsobuje zvýšení leukocytů v mléce (Alhussien & Dang 2018). Proto je zvýšený počet somatických buněk v mléce jedním z hlavních indikátorů pro diagnostiku zánětu mléčné žlázy. Jejich zvýšení souvisí i s patogenem, který zánět způsobuje a mohou dosahovat až milionových hodnot. Zvýšený počet somatických buněk je spojený se sníženou výtěžností mléka (Le Maréchal et al. 2011). To má vliv také na jeho kvalitu a složení (viz Tabulka 4). Ovlivňuje bílkoviny, složení mastných kyselin, koncentraci laktózy, ionty a minerální látky, dále zvyšuje enzymatickou aktivitu a pH syrového mléka (Ogola et al. 2007).

Tabulka 4. Rozdíly v kvalitě mléka skotu ve vztahu k počtu somatických buněk (PSB)

Složky mléka	Zdravé zvíře	Subklinická mastitida	Klinická mastitida
PSB ( $10^5$ buněk/ml)	< 2	3 – 5	> 5
Tuk (%)	4,32	4,31	4,08
Protein (%)	3,30	3,34	3,70
Kasein	2,70	2,55	2,25
Syrovátková bílkovina	0,84	1,13	1,35
Sérový albumin	0,17	0,24	0,37
Laktóza (%)	4,84	4,71	4,41
Tukuprostá sušina (%)	9,73	9,61	9,35
pH	6,61	6,63	6,80
Chloridy	0,09	0,13	0,16
Sodík	0,05	0,09	0,11
Draslík	0,18	0,16	0,13

(Alhussien et al. 2016)

Dle Šustové et al. (2016) by mělo mléko od zdravých dojnic obsahovat somatických buněk do 100 tisíc v 1 ml. V České republice se stanovuje počet somatických buněk průměrem za tři měsíce (v každém měsíci by se měli provést minimálně dva odběry), a jejich hodnota nesmí přesáhnout 400 tisíc somatických buněk v 1 ml mléka.

### 3.10 Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce

Počet somatických buněk se používá jako jeden z indikátorů zánětu mléčné žlázy a je součástí diagnostiky mastitidy. Poukazují také na kvalitu syrového mléka a hygienické podmínky produkce mléka. I když přítomnost patogenů v mléčné žláze jsou hlavním faktorem, zvýšený počet somatických buněk může být způsoben různými fyziologickými procesy v organismu. Řadí se sem například říje, fáze laktace, věk, roční období a především stres (Souza et al. 2005; Šustová et al. 2016; Alhussien & Dang 2018). Také technika dojení a získávání mléka může ovlivnit počet somatických buněk v mléce. Dostatečná hygiena dojení, bez zbytečných komplikací (bezproblémové fungování dojícího stroje) a preventivní namáčení struků antimikrobiálními roztoky po dojení, snižuje množství somatických buněk v mléce v příštím dojení (Alhussien & Dang 2018). Na počet somatických buněk má vliv i plemeno. Plemena, která mají vysokou užitkovost, mají též i vyšší přítomnost somatických buněk. Vliv má i tvar mléčné žlázy a utváření struků. Vyšší počet somatických buněk bylo zjištěno u struků kratších s větším průměrem strukového kanálku (Ahlawat et al. 2008; Alhussien & Dang 2018). Zvýšení počtu somatických buněk v mléce dochází při metabolických poruchách, jako je například acidóza, ketóza a alkalóza (Hofírek et al. 2009).

Na obsah somatických buněk v mléce má vliv samotná produktivita. I když dědičnost mezi tímto vztahem je nízká, mezi počtem somatických buněk a výtěžkem mléka přesto existuje vztah. Dojnice s vysokou produkcí mléka jsou vystaveny nadměrnému stresu. Ten je způsoben zatížením organismu při nadměrné produkci. To má vliv na snížení imunity dojnice, takže dochází k navýšení obsahu somatických buněk v mléce (Mukherjee & Dang 2011).

Stádia laktace lze rozdělit na časnou, střední a pozdní laktaci. Během časně laktace je výtěžek mléka nejvyšší a poté postupně klesá. Somatických buněk v mléce je nejvíce v období krátce po otelení, poté dochází k rychlému poklesu a zbytek laktačního stádia pomalu počet somatických buněk roste. Jak již bylo zmíněno, somatické buňky mají vliv na množství mléka. Při zvýšeném počtu se množství mléka snižuje (viz výše). Proto vysoká ztráta mléka se nachází právě v období časně laktace a na jejím konci (Alhussien & Dang 2018).

Na počet somatických buněk má vliv též i parita. Primiparní krávy produkují méně mléka s nižším počtem somatických buněk ve srovnání s krávami po více porodech. U kříženců Holštýnského skotu byly naměřeny nejvyšší hodnoty somatických buněk ve 4. laktaci (Saravanan et al. 2015). Reakce mléčné žlázy na patogeny s věkem stoupá a zvyšuje se její náchylnost ke vzniku nových infekcí. Proto u starších dojnic je vyšší riziko vzniku infekce (která může trvat déle) a i větší pravděpodobnost rozsáhlejšího poškození tkáně mléčné žlázy (Alhussien & Dang 2018). Imunita u primiparních krav je vyšší ve srovnání se staršími dojnicemi. Z důvodu odlišných požadavků organismu na živiny. Primiparní krávy potřebují více živin pro svůj růst, naopak u starších jedinců je většina živin spotřebovaná na vysokou produkci mléka (Dang et al. 2014).

Faktory vnějšího prostředí mají velký vliv na obsah somatických buněk v mléce. Extrémní teploty působí na zvířata stresově a tím ovlivňují i příjem krmiva. Dále v kombinaci vysoké vlhkosti a špatné kvality krmiva dochází ke zvýšenému růstu infekčních patogenů a u zvířat se zároveň snižuje imunita (Alhussien & Dang 2018). V letním období může dojít ke zvýšení somatických buněk v mléce, z důvodu vysokých teplot, které působí na dojnici stresově. Zároveň během letního období je i vyšší nárůst patogenů (Erdem et al. 2007).



### 3.11 Vliv mastitidy na reprodukci

Patogeny způsobující klinickou mastitidu mají negativní účinek i na reprodukční výkonost zvířat. Zvířata s klinickou mastitidou mají nízkou oplozenost a často nedojde k zabřeznutí po první inseminaci. Dále krávy s mastitidou mají delší intervaly servis periody (od otelení po zabřeznutí) a vyšší riziko ztrát během březosti (Dalanezi et al. 2020). Zvířata náchylná k rozvoji mastitidy jsou celkově oslabená a to může mít vliv na jejich reprodukci. Mastitida může způsobovat tichou říji, zhoršenou oplozenost a embryonální úmrtí (Hansen et al. 2004). Příčiny způsobující časnou embryonální úmrtnost, po oplodnění či před implantací, jsou multifaktoriální. Avšak infekční onemocnění (mimo reprodukční trakt) může mít velký vliv na přežití raného embrya (Kumar et al. 2017). Také subklinická forma mastitidy má dopad na kvalitu reprodukce. Dlouhodobé účinky subklinické mastitidy snižují plodnost. Hlavní příčinou snížení plodnosti je zpožděná ovulace, kterou způsobuje nízká hladina folikulárních steroidů. Zvířata se subklinickou mastitidou vykazují opožděnou ovulaci. Ta je způsobena nízkou sekrecí estradiolu a sníženou, popřípadě opožděnou, sekrecí luteinizačního hormonu. Nízká hladina estradiolu v blízkosti období estru vede k narušení normální sekrece preovulačního nárůstu luteinizačního hormonu a způsobuje tedy zpožděnou ovulaci (Wolfenson et al. 2015). Zvýšení tělesné teploty při klinické mastitidě má nepříznivé účinky na reprodukční funkci. Zvýšená teplota může změnit vývojovou kompetenci oocytů a embryí. Také může nepřímo ovlivnit reprodukční výkonnost snížením příjmu krmiva (Kumar et al. 2017).

### 3.12 Současný výskyt mastitid v České republice

Mastitidy patří mezi nejčastější a také nejnákladnější onemocnění skotu s mléčnou užitkovostí. Mají vliv na produkci mléka a jeho kvalitu (složení, jakost), dále způsobují ztráty v podobě utracených zvířat (například s chronickou mastitidou) a zhoršují ukazatele reprodukce (prodloužení servis periody, mezidobí a neplodnost). Záněty mléčné žlázy zvyšují náklady na zvíře. Průměrné ztráty na klinickou mastitidu jsou odhadnuty na 9 090 Kč. Na ztrátě se podílí nižší doживost krav, ztráta spojená s vyloučením mléka z dávky, obměna stáda, náklady na léčení a léčiva, změny ve složení mléka a ostatní položky (Kvapilík 2017). Výskyt klinické mastitidy závisí na oblasti, plemeni, pořadí a fázi laktace. Pohybuje se v rozpětí 1,7 – 54,6 % postižených laktací. V české populaci dojnic je pravděpodobný výskyt klinické mastitidy v rozmezí 19 – 22 % postižených laktací (Zavadilová et al. 2019).

Evidence zdravotního stavu zvířat je jedním z důležitých faktorů pro zlepšení managementu stáda. Avšak celosvětově je dosud málo zemí, které mají vypracované přímé sledování zdraví (přesněji výskyt onemocnění). V České republice není plošný sběr údajů o zdravotním stavu dojnic doposud zaveden. Touto problematikou se zabývá Národní agentura pro zemědělský výzkum (NAZV), s cílem vytvoření jednotného systému evidence zdravotních poruch a užívání léčivých přípravků ve stádech skotu v České republice. Evidence se zde provádí v různých formách, například poznámky v průvodních listech skotu, stájová evidence nebo elektronická databáze v dojírenských softwarových systémech (Šlosárková et al. 2016).

V České republice se provádí kontrola kvality mléka pod záštitou Českomoravské společnosti chovatelů (ČMSCH, a. s.). Systém kontroly zahrnuje hygienický dozor nad chovem dojníc a způsobem získávání mléka. Dále se provádí odběr a analýzu vzorků mléka se zaměřením na kontrolu hygieny a jakosti. Díky těmto výsledkům, lze zhodnotit jakost syrového mléka jako stabilní a odpovídající stanoveným požadavkům. Celorepublikový průměr počtu somatických buněk v syrovém mléce se v průběhu pěti let snížil na 221 tisíc na ml (viz Tabulka 5), jedná se o dobrý ukazatel kvality a hygieny mléka. V průběhu roku 2019 (viz Tabulka 6) se počet somatických buněk drasticky neměnil, ale naopak se udržoval v optimálních hodnotách a splňoval stanovené normy (Bucek et al. 2020).

Tabulka 5. Průměrné ukazatele jakosti syrového kravského mléka

<b>Ukazatel</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
PSB <sup>(1)</sup> (tis./ml)	240,0	223,0	230,9	226,0	221,0
<sup>(1)</sup> Počet somatických buněk					

(Bucek et al. 2020)

Tabulka 6. Počet somatických buněk (PSB) v nakupovaném mléce 2019

<b>2019</b> <b>Měsíce</b>	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
<b>PSB</b> <b>(tis./ml)</b>	270	201	197	208	212	232	246	251	248	225	209	209

(Bucek et al. 2020)

## 4 Závěr

Mastitida je zánětlivé onemocnění postihující tkáň mléčné žlázy. Může vzniknout působením infekčních patogenů, traumatem mléčné žlázy nebo působením různých chemických látek (například toxinů). Nejčastěji se na jejím vzniku podílí mikroorganismy, především bakterie, ale také samotný hostitel a vnější prostředí.

Mastitida má vliv na:

- zdravotní stav dojnice
- mléčnou produkci (celkový nádoj a kvalitu mléka)
- reprodukci (zhoršení plodnosti – reprodukčních ukazatelů, březost)

Diagnostika mastitidy je založena na:

- pravidelné kontrole mléčné žlázy
- kontrole počtu somatických buněk v mléce
- v případě nálezu kultivace mikroorganismů před léčením
- u klinické (akutní) formy dochází k vnějším změnám mléčné žlázy a k zhoršení zdravotního stavu (horečka)
- subklinická forma je bez vnějších příznaků, ale dochází ke zvýšení obsahu somatických buněk v mléce

Prevence mastitidy:

- pravidelná denní kontrola mléčné žlázy
- kontrola technologie dojení
- dodržování hygieny při dojení
- dodržování hygieny chovu a ošetřovatelského personálu
- správný postup techniky chovu jednotlivých kategorií krav
- odpovídající výživa a krmení jednotlivých kategorií krav
- dodržování léčebného postupu mastitidního onemocnění
- vyřazení chronicky nemocných zvířat z chovu
- případně využití vakcinace (např. Startvac)

Mastitida bude i nadále nejvíce řešenou problematikou v chovu skotu s mléčnou užitkovostí. Správná prevence může pomoci ke snížení nákladů (které vznikají při výskytu mastitid u dojnic), ale také minimalizovat ztráty plemenných zvířat.

## 5 Literatura

Ahlawat K, Dang AK, Singh C. 2008. Relationships of teat and udder shape with milk SCC in primiparous and multiparous Sahiwal cows. *Indian Journal of Dairy Science* **61.2**:152-156

Akers RM, Nickerson SC. 2011. Mastitis and its Impact on Structure and Function in the Ruminant Mammary Gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* **16.4**:275-289

Alanis AJ. 2005. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?. *Archives of medical research* **36.6**:697-705

Alessio DRM, Neto AT, Velho JP, Pereira IB, Miquelluti DJ, Knob DA, da Silva CG. 2016. Multivariate analysis of lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. *Semina: Ciências Agrárias* **37.4**:2641-2652

Alhussien MN, Dang AK. 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Veterinary world* **11.5**:562

Alhussien M, Manjari P, Mohammed S, Sheikh AA, Reddi S, Dixit S, Dang AK. 2016. Incidence of mastitis and activity of milk neutrophils in Tharparkar cows reared under semi-arid conditions. *Tropical animal health and production* **48.6**:1291-1295

Almeida RA, Dogan B, Kleassing S, Schukken YH, Oliver SP. 2011. Intracellular fate of strains of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with acute or chronic mastitis. *Veterinary research communications* **35.2**:89-101

Angulo FJ, LeJeune JT, Rajala-Schultz PJ. 2009. Unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clinical Infectious Diseases* **48.1**:93-100

Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. 2006. Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science* **89.6**:1877-1895

Blum SE, Heller ED, Leither G. 2014. Long term effects of *Escherichia coli* mastitis. *The Veterinary Journal* **201.1**:72-77

Bradley AJ, Green MJ. 2001. Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *Journal of Clinical Microbiology* **39.5**:1845-1849

Boerhout E, Vrieling M, Benedictus L, Daemen I, Ravesloot L, Rutten V, Nuijten P, van Strijp J, Koets A, Eisenberg S. 2015. Immunization routes in cattle impact the levels and neutralizing capacity of antibodies induced against *S. aureus* immune evasion proteins. *Veterinary research* **46.1**:1-9

Bucek P, Kučera J, Syrůček J. 2020. Ročenka-Chov skotu v České republice, Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2019. Českomoravská společnost chovatelů, a. s. Praha

Budd KE, McCoy F, Monecke S, Cornican P, Mitchell J, Keane OM. 2015. Extensive genomic diversity among bovine-adapted *Staphylococcus aureus*: evidence for a genomic rearrangement within CC97. *PLoS One*, **10.8**:e0134592

Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L. 2003. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary research* **34.5**:521-564

Capuco AV, Bright SA, Pankey JW, Wood DL, Miller RH, Bitman J. 1992. Increased susceptibility to Intramammary infection following removal of teat canal keratin. *Journal of Dairy Science* **75.8**:2126-2130

Cao LT, Wu JQ, Xie F, Hu SH, Mo Y. 2007, Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **90.8**:3980-3985

Chagunda MGG, Friggens NC, Rasmusse MD, Larsen T. 2006. A model for detection of individual cow mastitis based on an indicator measured in milk. *Journal of Dairy Science* **89.8**:2980-2998

Cheng WN, Han SG. 2020. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **33.11**:1699

Costa A, Lopez-Villalobos N, Sneddon NW, Shalloo L, Franzoi M, De Marchi M, Penasa M. 2019. Invited review: Milk lactose – Current status and future challenges in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **102.7**:5883-5898

Dalanezi FM, Joaquim SF, Guimarães FF, Guerra ST, Lopes BC, Schmidt EMS, Cerri RLA, Langoni H. 2020. Influence of pathogens causing clinical mastitis on reproductive variables of dairy cows. *Journal of Dairy Science* **103.4**:3648-3655

Dalgleish DG. 1993. Bovine milk protein properties and the manufacturing quality of milk. *Livestock production science* **35.1-2**:75-93

Dang AK, Mukherjee JOYDIP, Chaudhury M, Shiv P, Mohanty AK, Kapila SUMAN, Kapila R. 2014. In vitro phagocytic activity of blood and milk neutrophils against *Saccharomyces cerevisiae* in primiparous and multiparous Karan Fries crossbred cows throughout the dry period and lactation cycle. *Indian Journal of Animal Sciences* **84.3**:262-266

Davies PL, Leigh JA, Bradley AJ, Archer SC, Emes RD, Green MJ. 2016. Molecular epidemiology of *Streptococcus uberis* clinical mastitis in dairy herds: strain heterogeneity and transmission. *Journal of Clinical Mikrobiology* **54.1**:68-74

Dego OK. 2020a. Bovine Mastitis: Part I. Animal Reproduction in Veterinary Medicine. IntechOpen.

Dego OK. 2020b. Control and Prevention of Mastitis: Part Two. Animal Reproduction in Veterinary Medicine. IntechOpen

Derakhshani H, Plaizier JC, De Buck J, Barkema HW, Khafipour E. 2018. Composition of the teat canal and intramammary microbiota of dairy cows subjected to antimicrobial dry cow therapy and internal teat sealant. *Journal of Dairy Science* **101.11**:10191-10205

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 intergrative agriculture* **17.6**:1214-1233

Dezetter C, Bareille N, Billon D, Côrtes C, Lechartier C, Seegers H. 2017. Changes in animal performance and profitability of Holstein dairy operations after introduction of crossbreeding with Montbéliarde, Normande, and Scandinavian Red. *Journal of Dairy Science* **100.10**:8239-8264

Dingwell R, Leslie KE, Schukken YH, Sargeant JM, Timms LL, Duffield TF, Keefe GP, Kelton DF, Lissemore KD, Conklin J. 2004. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. *Preventive veterinary medicine* **63.1-2**:75-89

Dogan B, Klaessig S, Rishniw M, Almeida RA, Oliver SP, Simpson K, Schukken YH. 2006. Adherent and invasive *Escherichia coli* are associated with persistent bovine mastitis. *Veterinary microbiology* **116.4**:270-282

Döpfer D, Barkema HW, Lam TJGM, Schukken YH, Gaastra W. 1999. Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **82.1**:80-85

Edmondson P. 2001. Influence of milking machines on mastitis. *In Practice* **23.3**:150-159

Erdem H, Atasever S, Kul E. 2007. Some environmental factors affecting somatic cell count of Holstein cows. *Journal of Applied Animal Research* **32.2**:173-176

Evropský parlament a Rada (ES). Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES), č. 853/2004 ze dne 29. 4. 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Ústřední věstník Evropské unie. Kapitola 03 Svazek 045 S. 14 – 74. dostupné z <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32004R0853>>

Fogsgaard KK, Røntved CM, Sørensen P, Herskin MS. 2012. Sickness behavior in dairy cows during *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science* **95.2**:630-638

- Friedman S, Honig H. 2020. Veterinary Care, Milking Routine and Animal Welfare-Present and Future in the Israeli Dairy Sector. *Israel Journal of Veterinary Medicine* **75**:4
- Gleeson D, Flynn J, O'Brien B. 2018. Effect of pre-milking teat disinfection on new mastitis infection rates of dairy cows. *Iris veterinary journal* **71.1**:1-8
- Gomes F, Henriques M. 2016. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. *Current mikrobiology* **72.4**:377-382
- Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary quarterly* **29.1**:18-31
- Hansen PJ, Soto P, Natzke RP. 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
- Hansen SF, Hogan SA, Tobin J, Rasmussen JT, Larsen LB, Wiking L. 2020. Microfiltration of raw milk for production of high-purity milk fat globule membrane material. *Journal of Food Engineering* **276**:109887
- Haug A, Høstmark AT, Harstad OM. 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in health and disease* **6.1**:1-16
- Hayes MC, Ralyea RD, Murphy SC, Carey NR, Scarlett JM, Boor KJ. 2001. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. *Journal of Dairy Science* **84.1**:292-298
- Hermans K, Devriese LA, Haesebrouck F. 2003. Rabbit staphylococcosis: difficult solutions for serious problems. *Veterinary mikrobiology* **91.1**:57-64
- Hofírek B, Dvořák R, Němeček L, Doležal R, Pospíšil Z, et al. 2009. *Nemoci skotu*. Noviko a.s., Brno.
- Hortet P, Seegers H. 1998. Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Preventive veterinary medicine* **37.1-4**:1-20
- Ismail ZB. 2017. Mastitis vaccines in dairy cows: Recent developments and recommendations of application. *Veterinary world* **10.9**:1057
- Jain NC, Schalm OW, Lasmanis J. 1971. Experimentally induced coliform (*Aerobacter aerogenes*) mastitis in normal cows and in cows made neutropenic by an equine anti-bovine leukocyte serum. *American journal of veterinary research* **32.12**:1929-1935

- Jamali H, Barkema HW, Jacques M, Lavallée-Bourget EM, Malouin F, Saini V, Stryhn H, Dufour S. 2018. Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **100.6**:4729-4746
- Jayarao BM, Pillai SR, Sawant AA, Wolfgang DR, Hegde NV. 2004. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *Journal of Dairy Science* **87.10**:3561-3573
- Jensen RG. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science* **85.2**:295-350
- Jones GM, Bailey TL. 2006. Understanding the basics of mastitis. Virginia Cooperative Extension, Publication No. 404-233. Virginia State University 1-7
- Jones T, Ohnstad I. 2002. Milking procedures recommended for the control of bovine mastitis. *In Practice* **24.9**:502-511
- Kapur V, Sischo WM, Greer RS, Whittam TS, Musser JM. 1995. Molecular population genetic analysis of *Staphylococcus aureus* recovered from cows. *Journal of Clinical Microbiology* **33.2**:376-380
- Keane OM. 2019. Symposium review: Intramammary infections – Major pathogens and strain-associated complexity. *Journal of Dairy Science* **102.5**:4713-4726
- Kehrli JR, Marcus E, Shuster DE. 1994. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science* **77.2**:619-627
- Khan MZ, Khan A. 2006. Basic facts of mastitis in dairy animals: a review. *Pakistan veterinary journal* **26.4**:204
- Kibebew K. 2017. Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* **7.2**:1-14
- Krömker V, Leimbach S. 2017. Mastitis treatment-reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* **52**:21-29
- Kumar N, Manimaran A, Kumaresan A, Jeyakumar S, Sreela L, Mooventhan P, Sivaram M. 2017. Mastitis effects on reproductive performance in dairy cattle: a review. *Tropical animal health and production* **49.4**:663-673
- Kvapilík J. 2017. Mastitidy a produkční a ekonomické ztráty výroby mléka. *Náš chov-Praktická příručka* **77.6**:37-40



- Leelahapongsathon K, Piroon T, Chaisri W, Suriyasathaporn W. 2016. Factors in dry period associated with intramammary infection and subsequent clinical mastitis in early postpartum cows. *Asian-Australasian journal of animal sciences* **29.4**:580
- Lee SJ, Sherbon JW. 2002. Chemical changes in bovine milk fat globule membrane caused by heat treatment and homogenization of whole milk. *The Journal of dairy research* **69.4**:555
- Le Maréchal C, Thiéry R, Vautor E, Le Loir Y. 2011. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products-a review. *Dairy Science & Technology* **91.3**:247-282
- Linares JA, Wigle WL. 2001. Staphylococcus aureus pneumonia in turkey poult with gross lesions resembling aspergillosis. *Avian diseases*, 1068-1072
- Lower SK, Yongsunthon R, Casillas-Ituarte NN, Taylor ES, DiBartola AC, Lower BH, Beveridge TJ, Buck AW, Fowler VG. 2010. A tactile response in Staphylococcus aureus. *Biophysical Journal* **99.9**:2803-2811
- MacGibbon AKH, Taylor MW. 2006. Composition and structure of bovine milk lipids. In *Advanced dairy chemistry volume 2 lipids*. Springer, Boston, MA. p. 1-42
- McDougall S, Parker KI, Heuer C, Compton CWR. 2009. A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. *Veterinary microbiology* **134.1-2**:177-185
- Miciński J, Kowalski IM, Zwierzchowski G, Szarek J, Pierożyński B, Zabłocka E. 2013. Characteristics of cow's milk proteins including allergenic properties and methods for its reduction. *Polish Annals of Medicine* **20.1**:69-76
- Ministerstvo zemědělství. 2007. Vyhláška č. 289/2007 Sb., o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství. Praha
- Modak R, et al. 2012. Histone H3K14 and H4K8 hyperacetylation is associated with Escherichia coli-induced mastitis in mice. *Epigenetics* **7.5**:492-501
- Mukherjee J, Dang AK. 2011. Imunne activity of milk leukocytes during early lactation period in high and low yielding crossbred cows. *Milchwissenschaft-Milk Science International* **66.4**:384-388
- Navrátilová P, Vyhnálková J, Jeřábková J. 2016. Rychlé specifické testy pro kontrolu přítomnosti reziduí inhibičních látek v mléce. *Mlékařské listy* 155 **27.2**:14-17
- Nikolić N, Mirecki S, Blagojević M. 2011. Presence of inhibitory substances in raw milk in the area of Montenegro. *Mljekarstvo* **61.2**:182

- Niskanen A, Korkeala H, Manninen M, Vuento M, Kuusela P. 1991. Evaluation of three slide agglutination tests for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *Acta vet scand* **32**:543-549
- Ogola H, Shitandi A, Nanua J. 2007. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of Veterinary Science* **8.3**:237
- Ohnstad I. 2012. Liner mapping and teat health. In: Proceedings of the British Mastitis Conference. Intitute of Animal Health United Kingdom, Worcester p. 7-14
- Oliveira CSF, Hogeveen H, Botelho AM, Maia PV, Coelho SG, Haddad JPA. 2015. Cow-specific risk factors for clinical mastitis in Brazilian dairy cattle. *Preventive veterinary medicine* **121.3-4**:297-305
- Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, Murinda SE. 2009. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne pathogens and disease* **6.7**:793-806
- Oliver SP, Headrick SI, Lewis MJ, Gillespie BE, Johnson DL, Almeida RA. 2012. Experimental intramammary infection with a strain of *Escherichia coli* isolated from a cow with persistent *E. coli* mastitis. *Open Journal of Veterinary Medicine* **2**:186-190
- Oliver SP, Murinda SE. 2012. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* **28.2**:165-185
- Ontsouka CE, Bruckmaier RM, Blum JW. 2003. Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk. *Journal of Dairy Science* **86.6**:2005-2011
- Otto M. 2014. *Staphylococcus aureus* toxins. *Current opinion in mikrobiology* **17**:32-37
- Paape MJ, Wergin WP, Guidry AJ, Pearson RE. 1979. Leukocytes-second line of defense against invading mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science* **62.1**:135-153
- Petrović JM, Katić VR, Bugarski DD. 2008. Comparative examination of the analysis of  $\beta$ -lactam antibiotic residues in milk by enzyme, receptor-enzyme, and inhibition procedures. *Food Analytical Methods* **1.2**:119-125
- Petrovski K. 2006. Milk composition changes during mastitis. *Dairy Vets Newsletter* **23**:7-12
- Pyörälä S. 2008. Mastitis in Post-Partum Dairy Cows. *Reproduction in domestic animals* **43**:252-259
- Pyz-Łukasik R, Paszkiewicz W, Tatara MR, Brodzki P, Bełkot Z. 2015. Microbiological quality of milk sold directly from producers to consumers. *Journal of Dairy Science* **98.7**:4294-4301

- Reinemann DJ, Wolters GMVH, Billon P, Lind O, Rasmussen MD. 2003. Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines. *Bulletin-International Dairy Federation* 3-18
- Reshi AA, Husain I, Bhat SA, Rehman MU, Razak R, Bilal S, Mir MR. 2015. Bovine mastitis as an evolving disease and its impact on the dairy industry. *International Journal of Current Research and Review* **7.5**:48
- Risco CA, Donovan GA, Hernandez J. 1999. Clinical mastitis associated with abortion in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **82.8**:1684-1689
- Rodgers JD, McCullagh JJ, McNamee PT, Smyth JA, Ball HJ. 1999. Comparison of *Staphylococcus aureus* recovered from personel in a poultry hatchery and in broiler parent farms with those isolated from skeletal disease in broilers. *Veterinary mikrobiology* **69.3**:189-198
- Ruegg PL, Tabone TJ. 2000. The relationship between antibiobiotic residue violations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds. *Journal of dairy science* **83.12**:2805-2809
- Samaržija D, Antunac N. 2002. Važnost dokazivanja prisutnosti antibiotičkih ostataka u mlijeka. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka* **52.1**:61-70
- Samaržija D, Zamberlin Š, Pogačić T. 2012. Psychrotrophic bacteria and their negative effects on milk and dairy products quality. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka* **62.2**:77-95
- Saravanan R, Das DN, De S, Panneerselvam S. 2015. Effect of season and parity on somatic cell count across zebu and crossbred cattle population. *Indian Journal of Animal Science* **49.3**:383-387
- Sears PM, Smith BS, English PB, Herer PS, Gonzalez RN. 1990. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *Journal of Dairy Science* **73.10**:2785-2789
- Sepúlveda-Varas P, Proudfoot KL, Weary DM, von Keyserlingk MA. 2016. Changes in behaviour of dairy cows with clinical mastitis. *Applied Animal Behaviour Science* **175**:8-13
- Seydlová R. 2013. Predispoziční faktory vzniku klinických mastitid. *Mlékařské listy* **140**:5-6
- Shearn MF, Hillerton JE. 1996. Hyperkeratosis of the teat duct orifice in the dairy cow. *Journal of Dairy Research* **63.4**:525-532
- Schreiner DA, Ruegg PL. 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science* **86.11**:3460-3465

Smith KL, Hogan JS. 1999. Managing dry cows to control mastitis. In Proceedings of the British Mastitis Conference Vol. 89

Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS. 1985. Symposium: Environmental effects on cow health and performance. Journal of Dairy Science **68**:1531-1553

Smyth DS, Feil EJ, Meaney WJ, Hartigan PJ, Tollersrud T, Fitzgerald JR, Enright MC, Smyth CJ. 2009. Molecular genetic typing reveals further insights into the diversity of animal-associated *Staphylococcus aureus*. Journal of Medical Microbiology **58.10**:1343-1353

Sol J, Sampimon OC, Snoep JJ, Schukken YH. 1997. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. Journal of Dairy Science **80.11**:2803-2808

Souza GN, Brito JR, Brito MAVP, Moreira EC, Da Silva MVGB. 2005. Factors affecting somatic cell counts (SCC) in Brazilian dairy cows. In Proceedings of the 12th International Congress on Animal Hygiene, Warsaw, Poland p.237-240

Sudhan NA, Sharma N. 2010. Mastitis-an important production disease of dairy animals. Gurgoan: Sarva Manav Vikash Samiti, Dairy Year Book 72-88

Šlosárková S, Fleischer P, Pechová A, Staněk S, Skřivánek M, Zavadilová L, Bauer J. 2016. Zdravotní klíč strukturovaný k vedení databáze nemoci dojeného skotu. Výzkumný ústav veterinárního lékařství. Brno

Šustová K, Kuchtík J, Kalhotka L. 2016. Vliv zvýšeného počtu somatických buněk na kvalitu mléka. Mlékařské listy 154 **27.1**:13-16

Vasileiou NG, Mavrogianni VS, Petinaki E, Fthenakis GC. 2019. Predisposing factors for bacterial mastitis in ewes. Reproduction in Domestic Animals **54.10**:1424-1431

Vašková H, Bučková M. 2016. Measuring the lactose content in milk. MATEC Web of Conferences. Vol. 76. EDP Sciences

Vautor E, Magnone V, Rios G, Le Brigand K, Bergonier D, Lina G, Meugnier H, Barbry P, Thierry R, Pepin M. 2009. Genetic differences among *Staphylococcus aureus* isolates from dairy ruminant species: a single-dye DNA microarray approach. Veterinary microbiology **133.1-2**:105-114

Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. 2001. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. New England Journal of Medicine **344.1**:11-16

- Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R. 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology* **27.8**:486-493
- Vimercati C, Cremonesi P, Castiglioni B, Pisoni G, Boettcher PJ, Stella A, Vicenzoni G, Moroni P. 2006. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows, goats and sheep with intramammary infections on the basis of gene polymorphisms and toxins genes. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, **53.9**:423-428
- Wagner AM, Ruegg PL. 2002. The effect of manual forestripping on milking performance of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* **85.4**:804-809
- Walstra P, Jenness R. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley & Sons, New York.
- Wellenberg GJ, van der Poel WH, Van Oirschot JT. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary mikrobiology* **88.1**:27-45
- Wellnitz O, Bruckmaier RM. 2012. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *The veterinary journal* **192.2**:147-152
- Wever P, Emanuelson U. 1989. Effects of systematic influences and intramammary infection on differential and total somatic cell counts in quarter milk samples from dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica* **30.4**:465-474
- Wiking L, Björck L, Nielsen JH. 2003. Influence of feed composition on stability of fat globules during pumping of raw milk. *International Dairy Journal* **13.10**:797-803
- Wilson DJ, González RN. 2003. Vaccination strategies for reducing clinical severity of coliform mastitis. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* **19.1**:187-97
- Wolfenson D, Leitner G, Lavon Y. 2015. The disruptive effects of mastitis on reproduction and fertility in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* **14.4**:4125
- Zadoks RN, Fitzpatrick JL. 2009. Changing trends in mastitis. *Irish veterinary journal* **62.4**:1-12
- Zadoks R, van Leeuwen W, Barkema H, Sampimon O, Verbrugh H, Schukken YH, van Belkum A. 2000. Application of pulsed-field gel electrophoresis and binary typing as tools in veterinary clinical mikrobiology and molecular epidemiologic analysis of bovine and human *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Clinical Mikrobiology* **38.5**:1931-1939
- Zavadilová L, Kašná E, Krupová Z, Krupa E. 2019. Průvodce šlechtěním dojeného skotu proti nemoci: rady pro chovatele. Agrární komora České republiky. Praha

Zhao X, Lacasse P. 2008. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *Journal of Animal Science* **86.13**:57-65

Zigo F, Vasil M, Ondrášovičová S, Výrostková J, Bujok J, Pecka-Kielb E. 2021. Maintaining Optimal Mammary Gland Health and Prevention of Mastitis. *Frontiers in Veterinary Science* **8**:69

Zucali M, Bava L, Tamburini A, Brasca M, Vanoni L, Sandrucci A. 2011. Effects of season, milking routine and cow cleanliness on bacterial and somatic cell counts of bulk tank milk. *The Journal of dairy research* **78.4**:436