

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: Zemědělské inženýrství (N 4101)

Studijní obor: Agroekologie (4106T019)

Katedra: Potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Vedoucí katedry: doc. Ing. Pavel Smetana, Ph.D.

TÉMA DIPLOMOVÉ PRÁCE

**Zhodnocení efektivity léčby mastitid s použitím faremní
kultivace**

Autor diplomové práce:

Bc. Martin Kratochvíl

Vedoucí diplomové práce:

doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice, 2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martin KRATOCHVÍL**
Osobní číslo: **Z17161**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Agroekologie - Péče o krajinu**
Název tématu: **Zhodnocení efektivity léčby mastitid s použitím faremní kultivace**
Zadávací katedra: **Katedra potravní, biotechnologií a kvality zemědělských produktů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Mastitidy jsou jednou z nejnákladnějších chorob skotu a jejich léčba představuje i nejčastější příčinu používání antibiotik na farmě. Faremní kultivace je v současné době jednou z možností zlepšení procesu rozhodování při léčbě mastitid.

Cílem diplomové práce je zhodnotit léčebné postupy s využitím faremní kultivace, posoudit preventivní opatření a provést ekonomické zhodnocení mastitid na vybrané farmě dojeného skotu.

Diplomová práce bude vypracována podle následující rámcové osnovy:

Úvod - charakteristika a význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce

Literární přehled - současný stav poznání dané problematiky získaný studiem soudobé vědecké a odborné literatury

Materiál a metodika - popis použitých analytických metod včetně metod statistických

Výsledky a diskuse - tabulkové a grafické zpracování získaných dat navazující na cíl práce, jejich statistické vyhodnocení a porovnání s dostupnými literárními údaji

Závěr - stručné shrnutí výsledků vlastní práce, návrhy a doporučení vyplývající z řešené problematiky

Summary - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)

Seznam literatury - jednotný, podle platných citačních zásad

Rozsah grafických prací: 5 - 10 stran (tabulky, grafy, fotografie)

Rozsah pracovní zprávy: 45 - 60 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- Hofírek, B., Dvořák, R., Němeček, L., Doležal, R., Pospíšil, Z., a kol. Nemoci skotu, Noviko a. s., Brno. 2009, 1149 s., ISBN 978-80-86542-19-5
- Hogeveen, H., Huijps, K., Lam, T.J.G.M. Economic aspects of mastitis: new developments. New Zealand Veterinary Journal. 2011, 59, 16-23.
- Lago, A., Godden, S.M., Bey, R., Ruegg, P.L., Leslie, K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results I: Effects on antibiotic use, milk withholding time and short-term clinical and bacteriological outcomes. Journal of Dairy Science. 2011, 94, 4441-4456.
- Pyörälä, S. New strategies to prevent mastitis. Reproduction in Domestic Animals. 2002, 37, 211-216.
- Seydlová, R. Predispoziční faktory vzniku klinických mastitid. Mlékařské listy. 2013, 140, 10-11.
- Elektronické informační zdroje Akademické knihovny JU v Č. Budějovicích (internetové databáze): ISI Web of Knowledge (Web of Science), Agroweb, Scopus atd.


Vedoucí diplomové práce:

MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.


Katedra potrav. biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Datum zadání diplomové práce: 27. března 2018

Termín odevzdání diplomové práce: 15. dubna 2019


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentůvká 1868, 370 05 České Budějovice


Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 27. března 2018

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to-v nezkrácené podobě - v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou – elektronickou cestou veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením dle zákona č. 111/1998 Sb. Zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů

Datum

.....

Podpis

.....

Bc. Martin Kratochvíl

ABSTRAKT

Mastitidy jsou jedním z nejnákladnějších onemocnění dojeného skotu a jejich léčba současně představuje nejčastější příčinu používání antibiotik na farmě. Faremní kultivace je v současné době jednou z možností zlepšení procesu rozhodování při léčbě mastitid. Cílem diplomové práce bylo zhodnotit léčebné postupy s využitím faremní kultivace a provést ekonomické zhodnocení mastitid na vybrané farmě dojeného skotu. Experimentální pozorování stáda dojeného černostrakatého holštýnského skotu za účelem posouzení léčby mastitid probíhalo ve dvou sledovaných obdobích: bez faremní kultivace (BFK); s faremní kultivací (SFK). Byl zjištěn významný rozdíl v počtu vyléčených případů a případů reinfekcí mezi sledovanými obdobími. Zatímco v období BFK bylo vyléčeno 60,6 % případů mastitid a u 30,4 % případů došlo k reinfekci, v období SFK bylo vyléčeno 87,1 % a k reinfekci došlo u 12,9 % případů mastitid. Celkové finanční náklady spojené s mastitidami byly v obou obdobích téměř stejné. Nejvyšší položku tvořily ztráty mléka. Příznivě lze hodnotit, že zapojením faremní kultivace nedošlo k výraznému zvýšení nákladů spojených s léčbou mastitid. Zavedení systému faremní kultivace do antimastitidního programu mělo velmi pozitivní vliv na efektivitu prováděné léčby na sledované farmě. Přínos byl především ve výrazném snížení počtu reinfekcí a ve zvýšení počtu úspěšně vyléčených dojnic, při zachování téměř stejných nákladů na léčbu.

Klíčová slova:

dojnice, mléčná žláza, mastitida, faremní kultivace, antibiotikum

ABSTRACT

Mastitis is one of the most expensive diseases of dairy cattle and their treatment is also the most common cause of antibiotic use on a farm. Farm cultivation is currently one of the ways to improve the decision-making process in the treatment of mastitis. The aim of the diploma thesis was to evaluate the treatment procedures using farm cultivation and to make an economic evaluation of mastitis on a selected farm of dairy cattle. The experimental observation of a herd of dairy black-spotted Holstein cattle to assess the treatment of mastitis took place in two monitoring periods: without farm cultivation (BFK); with farm cultivation (SFK). A significant difference in the number of cured cases and cases of reinfections was found between the observed periods. While 60.6 % of mastitis cases were cured during the BFK period and 30.4 % of cases were reinfected, in the SFK period 87.1% of dairy cows were healed and only 12.9 % of them were reinfected. The total financial costs associated with mastitis were almost the same in both periods. The highest item was milk losses. It can be positively assessed that the involvement of farm cultivation did not significantly increase the costs associated with the treatment of mastitis. The introduction of a farm cultivation system into an antimastitis program had a very positive effect on the effectiveness of the treatment performed on the monitored farm. The main benefit was a significant reduction in the number of reinfections and an increase in the number of successfully cured dairy cows, while maintaining almost the same treatment costs.

Key words:

dairy cow, mammary gland, mastitis, farm cultivation, antibiotic

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ATB antibiotika

BFK bez faremní kultivace

CPM celkový počet mikroorganismů

KU kontrola užítkovosti

PSB počet somatických buněk

SB somatické buňky

SFK s faremní kultivací

PODĚKOVÁNÍ

Nejdříve bych rád poděkoval vedoucí mé diplomové práce doc. MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D. za podnětné rady a odbornou pomoc, kterou mi poskytovala při zpracovávání mé diplomové práce a za čas, který mi věnovala. Současně bych chtěl poděkovat kolegům ze zemědělského podniku Pivkovice a.s., a to především hlavní zootechničce Zdeňce Chycziové za poskytnutý materiál a informace týkající se pozorovaného stáda. Rád bych také v neposlední řadě poděkoval své přítelkyni, rodině a všem přátelům, kteří mě při vytváření této práce podpořili, a bez jejichž pomoci by nebylo možné práci dokončit.

OBSAH

1	ÚVOD	10
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
2.1	Mastitidní onemocnění mléčné žlázy	11
2.1.1	Patogeneze a formy mastitid	12
2.1.2	Nejvýznamnější původci mastitid	14
2.2	Diagnostika mastitid	17
2.3	Léčba a prevence mastitid	22
2.4	Ekonomický význam mastitid v chovech	23
3	MATERIÁL A METODIKA	25
3.1	Cíl práce	25
3.2	Charakteristika podniku a sledovaného stáda	25
3.3	Monitoring mastitid a hodnocení jejich léčby	26
3.4	Ekonomické zhodnocení mastitid	29
3.5	Statistické zpracování dat	30
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	31
4.1	Zhodnocení zdravotního stavu stáda na základě PSB	31
4.2	Zhodnocení úspěšnosti léčby mastitid	32
4.3	Ekonomické zhodnocení mastitid ve sledovaném chovu	39
5	ZÁVĚR	41
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	42

1 ÚVOD

Mastitidy jsou jedním z nejnákladnějších onemocnění dojeného skotu a jejich léčba současně představuje nejčastější příčinu používání antibiotik na farmě. Faremní kultivace je v současné době jednou z možností zlepšení procesu rozhodování při léčbě mastitid.

V praxi jsou zpravidla používány stájové testy, jež umožňují rychlé obeznámení se zdravotním stavem mléčné žlázy, oproti testům laboratorním, kde je sice dosaženo přesnějších výsledků, avšak často na úkor značné časové náročnosti. Nejlevnějším a nejvyužívanějším typem stájového testu v diagnostice mastitid je NK test. Současné možnosti stájových testů se zajímavě rozšiřují, jelikož dochází k různým modifikacím laboratorních metod pro jejich praktické využití přímo v podmínkách chovů. Takovou metodou je právě faremní kultivace, která významně napomáhá k rozpoznání běžně se vyskytujících původců mastitid. Detailnější pohled na patogenní agens u mastitid byl a stále je celou řadou chovatelů opomíjen. Je však nezbytné si uvědomit, že právě přesná detekce původců mastitid hraje hlavní roli při výběru vhodné antibiotické léčby za pomoci stanovení citlivostí a rezistencí jednotlivých kmenů. To pak dále napomáhá snížení spotřeby antibiotik na farmě. Navíc cílené používání antibiotik je též velmi aktuální s ohledem ke stoupající rezistenci řady mikroorganismů.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

Mléčná žláza vzniká u samičího i samčího pohlaví v rané fázi embryonálního vývoje, avšak k jejímu plnému vývoji dochází jen u pohlaví samičího (SKLÁDANKA, 2014). Její umístění je v krajině stydké (REECE, 2010). Vemenná brázda rozděluje mléčnou žlázu v mediální rovině na dvě poloviny, každá z nich je příčnou brázdou rozdělena na dvě mléčné čtvrtě (MARVAN, 2011). K dokončení vývoje mléčné žlázy dochází až v období březosti (JELÍNEK A KOUDELA, 2003). Hmotnost vemene u dospělých vysoko produkčních dojnic se pohybuje v rozmezí 11 až 27 kg, celková hmotnost vemene i s mlékem může dosahovat až 68 kg (MOMANI A ŠÁDA, 2010).

Mléčný parenchym je nejpodstatnější a největší část mléčné žlázy. Základní stavební jednotkou mléčného parenchymu jsou mléčné alveoly a tubuly. Jsou to sekreční jednotky mléčné žlázy mikroskopických rozměrů, které se seskupují do lalůčků o rozměrech 0,5 až 1,5 mm (ČERVENÝ, 2007; MARVAN, 2011). Za normálních okolností je zabráněno vstupu patogenů dobře uzavřeným strukovým kanálkem, jehož okraj lemují keratin. Keratin je produkován vrstveným dlaždicovým epitelem, jedná se o materiál voskového charakteru, který má antimikrobiální účinky. Zvyšování tlaku uvnitř mléčné žlázy před dojením vede k dilataci strukového kanálku a následnému samovolnému odtékání mléka. Současně dochází během dojení k odstraňování keratinu. Tyto faktory pak vedou ke zvýšení rizika infikování mléčné žlázy skrze strukový kanálek (VIGUIER a kol., 2009). Pokud dojde k narušení strukových kanálků, dochází k proniknutí patogenních agens do mléčné žlázy. V případě, že strukový kanálek není plně funkční, může docházet k opakovaným infekcím dané mléčné žlázy, tj. reinfekcím, které posléze vedou k chronickým změnám a často končí i trvalým poškozením sekreční tkáně mléčné žlázy (ALNAKIP a kol., 2014) Je-li průběh infekce rychlý, a především pokud je imunitní odpověď organismu, a hlavně mléčné žlázy adekvátní, ke klinicky patrným změnám a poškození tkáně mléčné žlázy nemusí vůbec docházet. Na tomto místě je třeba podotknout, že odolnost mléčné žlázy je v tomto ohledu nejvýrazněji ovlivněna (oslabena) v období aktivní involuce a po porodu (ILLEK a kol., 2007).

2.1 MASTITIDNÍ ONEMOCNĚNÍ MLÉČNÉ ŽLÁZY

Mastitida je definována jako zánětlivý proces, jenž směřuje buď ke zhoršenému celkovému zdravotnímu stavu dojnice, nebo se nepříznivě projeví pouze na

zdravotním stavu mléčné žlázy (WATTIAUX a kol., 2005; BUCEK, 2011; JAGLIČ a kol., 2014). Mastitida patří celosvětově mezi jedno z nejčastějších onemocnění v dojených stádech skotu s obrovskými dopady na ekonomiku farem (HALASA a kol., 2009; VOLLING, 2011). Vzhledem k tomu, že na vzniku i rozvoji tohoto onemocnění se podílí široká škála faktorů, řadí se mastitida mezi tzv. multifaktoriální onemocnění (VIGUER a kol., 2009; STUHR a kol., 2013). Někteří původci mastitid, např. *Staphylococcus aureus*, mohou rovněž vyvolávat různě závažné onemocnění u lidí (JAGLIČ a kol., 2014; LANGE – CONSIGLIO a kol., 2014).

Počet dojnic s mastitidou ve stádě se odvíjí od infekčního tlaku, úrovně imunity, antimastitidního programu a nástrojů kontroly (OPLETAL A ŠIMERDA, 2017). Četnost výskytu mastitidy je nejvyšší v poporodním období, tedy v časně fázi laktace. V tomto období se dojnice nacházejí ve stavu negativní energetické bilance, což nepříznivě ovlivňuje úroveň imunity a vytváří tak prostor pro vznik infekce, především pokud je infekční tlak patogenů dostatečně vysoký (DE VLIEGHER a kol., 2012; JEŽKOVÁ, 2014). Infekční tlak je definován jako počet patogenů, které mohou negativně ovlivňovat zdraví mléčné žlázy a jejich virulence. Mastitida vzniká tehdy, pokud je imunita velmi nízká, anebo naopak, když je infekční tlak příliš vysoký (JEŽKOVÁ, 2014). Výsledkem mastitidy je nejen samotný zánět mléčné žlázy, nýbrž i snížení celkového nádoje, zhoršení jakosti mléka či poruchy reprodukce. V krajních případech se jedná o systémové onemocnění mající fatální následky pro celý makroorganismus dojnice (FERRERO a kol., 2014). Včasná a přesně určená diagnóza intramamárních infekcí je tudíž jedním z nejdůležitějších aspektů prevence, léčby a kontroly mastitidy (DOWN a kol., 2016).

2.1.1 PATOGENEZE A FORMY MASTITID

Celá řada neinfekčních faktorů a současně i pestrá paleta mikrobiálních patogenů uplatňujících se v patogenezi řadí mastitidu mezi velmi komplikovaná onemocnění (RYŠÁNEK, 2011). Původci mastitidy vnikají do mléčné žlázy nejčastěji galaktogenní cestou, tedy prostřednictvím strukového kanálku. Druhou cestou infikování mléčné žlázy je hematogenní infekce, kdy patogen proniká do mléčné žlázy krevním oběhem z některého infekčního ložiska v organismu (HOFÍREK a kol., 2009).

V patogenezi mastitid se uplatňují tři biosystémy, které jsou ve vzájemné interakci. Jsou tvořeny 1) dojnící (= makroorganismus), 2) původci mastitid (=

mikroorganismy) a 3) vnějším prostředím – tj. výživa, postup při dojení či kvalita podestýlky (SAMKOVÁ a kol, 2012). V obraně mléčné žlázy proti vstupujícím patogenním mikroorganismům hraje podstatnou roli strukový kanálek, leukocyty a další složky imunitního systému. Zevní část strukového kanálku je kolonizována širokým mikrobiálním spektrem, které svojí metabolickou aktivitou komplikuje a ovlivňuje adhezi patogenů (KREJČÍ A RYŠÁNEK, 2011). Mezi další obranné prvky strukových kanálků patří produkce mazové látky zvané laktosebum, která se vyznačuje baktericidní aktivitou. Je produkována mazovými žlázami a při dojení je vyplavována, tudíž mezi důležité faktory ochrany strukových kanálků patří rychlost jejího obnovení (ILLEK a kol., 2007).

Po napadení organismu dochází ke zvýšené propustnosti krevních cév. Dochází tak k obraně imunitního systému pomocí leukocytů, které se přemisťují do místa infekce (WATTIAUX a kol., 2005). V mléce se tyto buňky označují jako somatické buňky a hodnocení jejich počtu tzv. počtu somatických buněk v mléce (PSB) je velmi významné pro posouzení zdraví mléčné žlázy (DUFOR a kol., 2011). Pokud ani poté infekce neustává a kanálky setrvávají ucpané, nevydojené mléko a neprodukční stav sekrečních buněk způsobuje, že dochází ke zničení alveolárních struktur, které jsou přetvořeny ve zjizvené a vazivové tkáně (WATTIAUX a kol., 2005).

Z hlediska patogeneze je v současné době široce studována role mikrobiálních biofilmů (KAUR a kol., 2009). Ty totiž představují mechanismus přežívání patogenních mikroorganismů v mléčné žláze, a tím přispívají k opakovaným infekcím se všemi negativními dopady (STEWART A COSTERTON, 2001; GOMES a kol., 2016). Tvorba biofilmu je doprovázena významnými genetickými a následnými fyziologickými změnami mikroorganismů vedoucí mimo jiné ke ztrátě citlivosti na prakticky všechny třídy antibiotik (ATB) (MELCHIOR a kol., 2006).

Mastitida je rozlišována na klinickou a subklinickou.

Klinická mastitida je charakteristická viditelnými příznaky zánětu, tj. otok, zarudnutí, citlivost a bolestivost, které jsou doprovázeny zvýšeným PSB (ZAVADILOVÁ a kol., 2017). Dochází také ke zhoršení sensorických vlastností mléka (ZAVADILOVÁ a kol., 2017). HOFÍREK a kol. (2004) uvádí, že 1 ml mléka s klinickou mastitidou může obsahovat až 1 000 000 tis. patogenních zárodků.

Část případů klinických mastitid je provázena příznaky jako je ztráta schopnosti vylučovat mléko, vysoké teploty a ztráta chuti k příjmu krmiva, které

představují narušení celkového zdravotního stavu dojnice (KOVÁČ a kol., 2001; VĚŘÍŠ A KREJČÍ, 2017). Klinická mastitida může probíhat akutně nebo chronicky. V průběhu klinické mastitidy může dojít i k nevratnému poškození tkání v různých částech vemene, především však ty parenchymatózní. Výsledkem nahrazení parenchymatózních částí mléčné žlázy pojivem je snížení objemu potencionálního nádoje mléka (OPLETAL A ŠIMERDA, 2017).

Subklinická mastitida probíhá typicky bez klinických příznaků na mléčné žláze, avšak může docházet ke zvýšení PSB, snížení dojivosti a senzorickým změnám mléka, např. přítomnosti vloček (DUFOUR a kol., 2011; FERRERO a kol., 2014). Subklinická mastitida v 1 ml mléka vykazuje hodnoty od 10 tis. až 100 tis. patogenních zárodků 1 ml mléka (HOFÍREK a kol., 2004). Jedná se o onemocnění problematické pro celou řadu chovů, jelikož jeho včasná diagnostika je obtížná (PEREIRA a kol., 2011). To má za následek významný vliv na ztráty v produkci mléka (JAGLIČ a kol., 2014). Subklinická mastitida je často (až ze 70 %) zapříčiněna chybnou krmnou dávkou, stresem dojnic, onemocněním paznehtů, metabolickými poruchami či nevhodně seřízeným dojícím zařízením (VYLETĚLOVÁ, 2012).

2.1.2 NEJVÝZNAMNĚJŠÍ PŮVODCI MASTITID

Až do současnosti již byla popsána celá řada mikroorganismů vyvolávajících zánět mléčné žlázy (HOFÍREK a kol., 2009; JAGLIČ a kol., 2014). Ačkoliv mezi typické původce mastitidy patří bakterie (gram pozitivní i gram negativní), může být mastitida vyvolána rovněž kvasinkami a řasami jako je například *Prothoteca zopfii* (KOVÁČ a kol., 2001; SHARMA a kol., 2007; KALINSKA, 2017).

Je známo, že různé patogenní mikroorganismy vyvolávají různě závažné mastitidy. Např. *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus uberis* a *Escherichia coli* vyvolávají zpravidla mastitidu klinického charakteru (JAGLIČ a kol., 2014). *Enterobacter* spp. a *Klebsiella* spp. jsou původci závažných perakutně či akutně probíhajících mastitid, které mají hemoragický nebo až nekrotický charakter doprovázený systémovým narušením celkového zdraví dojnice (BZDIL, 2012). U subklinické mastitidy jsou nejčastěji označováni jako původci enterokoky, *Streptococcus agalactiae* a koaguláza negativní stafylokoky. Právě značné rozšíření koaguláza negativních stafylokoků má v posledních letech za následek zvýšený výskyt subklinických mastitid. Někteří původci, např. *Staphylococcus aureus*, mohou vyvolat

jak klinickou, tak subklinickou mastitidu (PEREIRA a kol., 2011; JAGLIČ a kol., 2014).

Z důvodu rozsáhlé etiopatogeneze bylo pro tento literární přehled vybráno pouze několik typických zástupců mastitidních patogenů.

Na základě způsobu nakažení a charakteru původců jsou mastitidy klasifikovány na kontagiózní a environmentální.

Kontagiózní mastitida je vyvolána zejména gram pozitivními bakteriemi, které jsou úzce vázány na hostitele. Zdrojem infekce je samotná dojnice, patogeny se často vyskytují na kůži vemene a v mléčné žláze. K přenosu dochází většinou během dojení (KALUŽA A KONVALINOVÁ, 2019). Významné riziko v šíření kontagiózní mastitidy představují obzvláště automatické dojící systémy, které mohou vést k rychlému rozšíření infekce ve stádě (JAGLIČ a kol., 2014). Průběh mastitidy je zpravidla subklinický, avšak dochází k poklesu kvality mléka a nádoje. Hlavními kontagiózními mikroorganismy jsou *Staphylococcus aureus* a někteří zástupci rodu *Streptococcus* (BOGNI a kol., 2011).

Environmentální mastitida je zpravidla způsobena gram negativními původci běžně se vyskytujícími v prostředí mimo mléčnou žlázu. Takovým příkladem je *Escherichia coli* a *Klebsiella* spp. (BOGNI a kol., 2011). Onemocnění má obvykle klinický průběh a v některých případech může končit úhynem dojnice (KALUŽA A KONVALINOVÁ, 2019). Mezi environmentální patogeny mléčné žlázy jsou řazeni i někteří zástupci rodu *Streptococcus* (BOGNI a kol., 2011).

Mezi nejvýznamnější původce mastitidy patří zástupci rodu *Streptococcus*. Jedná se o gram pozitivního původce, který má vysokou infekčnost (OPLETAL A ŠIMERDA, 2017). Nejprve se streptokoky usídlí ve strukovém kanálku, odkud přechází do mléčné žlázy (KUBEKOVÁ, 2007). To má za následek progresivní a hnisavý zánět a dochází k zániku sekrece postižené čtvrti (OPLETAL A ŠIMERDA, 2017). Nakonec dochází k pozvolnému odeznění jak příznaků, tak nemoci (HOFÍREK A HASS 2003). Streptokoky jsou schopny růst v biofilmech, což usnadňuje jeho přetrvávání v podmínkách stresového prostředí a vykazuje rezistenci vůči ATB preparátům (GOMES a kol., 2016). *Str. agalactiae* je jeden z hlavních kontagiózních patogenů způsobujících subklinickou mastitidu skotu (ROSINI A MARGARIT,

2015). V minulosti byl tento patogen jedním z nejčastěji detekovaných původců mastitid, avšak v současnosti je detekován spíše zřídka (KUBEKOVÁ, 2007; ROSSI a kol., 2018). Dalším významným zástupcem je *Str. dysgalactiae*, který patří mezi pyogenní streptokoky. Zvýšená virulence *Str. dysgalactiae* přispívá k šíření do různých tkání hostitele, např. se usídluje na krčních mandlích a sliznici hltanu (RATO a kol., 2011). Mastitida způsobená tímto kontagiózním původcem má mírný charakter (SMOLA A HAAS, 2003). Za nejčastějšího původce environmentálních streptokoků je označován *Str. uberis* (JAGLIČ a kol., 2014). Primárně se usídluje ve stěnách střev, kde se živí jako epifyt a saprofyt a jako potenciální patogen vyvolává hnisavá onemocnění sliznic a orgánů (SMOLA A HAAS, 2003). V nekvalitní a vlhké podestýlce se rychle množí a proniká prostřednictvím struků do mléčné žlázy (KHAN a kol., 2003). Hojně způsobuje subklinickou i klinickou (obvykle chronickou) formu mastitidy. Vysoká prevalence tohoto patogenu je u dojnic zaznamenána hlavně po otelení (KUBEKOVÁ, 2007).

Druhé místo z pohledu frekvence výskytu zauímají zástupci rodu *Staphylococcus* (OPLETAL A ŠIMERDA, 2017). Stafylokoky jsou ve vnějším prostředí velmi odolné, a i v nepříznivých podmínkách zůstávají životaschopné. Vyznačují se rovněž častou rezistencí vůči ATB (HOFÍREK a kol., 2009). U vybraných zástupců (např. u *S. aureus*) byla potvrzena schopnost tvořit v tkáních mléčné žlázy biofilmy (PEREIRA a kol., 2011). Bylo prokázáno, že stafylokoky způsobující mastitidu jsou schopné produkovat biofilm, což je důležitý faktor, který přispívá k reinfekci mléčných žláz (RAZA a kol., 2013). Jeden z nejčastěji detekovaných zástupců je *S. chromogenes*. Průběh infekce tímto patogenem má často subklinický nebo chronický průběh (VĚŘÍŠ A KREJČÍ, 2017). Typický průběh má zánět vyvolaný kontagiózním původcem *S. aureus*, kdy nastává změna barvy kůže mléčné žlázy, která je nejdříve zarudlá a postupně nabírá namodralého nebo až fialového zabarvení. Při těchto příznacích dochází k zástavě laktace a vniká sekret mléku nepodobný (FANTOVÁ a kol., 2012; ABDELMEGID a kol., 2017). Infekce způsobené tímto původcem je obvykle obtížné léčit a jsou náchylné k reinfekcím a následné kolonizaci nových míst, což zvyšuje schopnost *S. aureus* šířit se stádem (BOYEN a kol., 2009; LE MARECHAL a kol., 2011).

Koliformní bakterie jsou další významnou skupinou patogenních agens, napadající mléčnou žlázu. Jedná se o gram negativní bakterie, které jsou charakteristické environmentálním původem infekce. Patogen sice proniká strukem do mléčné žlázy, ale klinická mastitida je u nakažených jedinců pozorována jen vzácně. Výskyt tohoto typu patogenů byl potvrzen v hnoji, půdě, podestýlce, avšak kontaminovaná může být i voda a krmivo (KOVÁČ a kol., 2001; TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). Nejčastějšími zástupci koliformních bakterií jsou *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* či *Serratia marcescens* (SEYDLOVÁ, 2012; JAGLIČ a kol., 2014). *Escherichia coli* je (to už víme!) považovaná za jednoho z hlavních původců klinické mastitidy celosvětově (BLUM a kol., 2015, KEMPF a kol., 2015). *Serratia marcescens* je environmentálním patogenem, který se také vyznačuje klinickým průběhem mastitidy, stejně jako *Klebsiella pneumoniae*, která způsobuje preakutní a akutní formu mastitidy (BZDIL, 2012).

2.2 DIAGNOSTIKA MASTITID

Základem diagnostiky mastitid je získání základních informací o daném jedinci, a zejména informací týkajících se březosti, stadia laktace, pořadí laktace a dřívějších onemocnění (HOFÍREK a kol., 2004). Současně je posuzován celkový zdravotní stav dojnice a je provedeno vyšetření mléčné žlázy a jejího sekretu. K velmi podstatným informacím v diagnostickém procesu patří hodnocení PSB, a to buď individuálně pro jednotlivé dojnice, nebo na úrovni celého stáda z bazénových vzorků mléka. Důležité je rovněž doplnění dalších informací o daném stádě (HOFÍREK a kol., 2009).

Pokrok v technologiích vedl k dramatickému posunu od konvenční diagnostiky, jež byla málo specifická či citlivá, k vysoce sofistikované, rychlé a spolehlivé molekulární diagnostice s vysokou přesností (CREMONESI a kol., 2018).

Diagnostické metody lze rozdělit na ty, které jsou využívány přímo v chovu jako např. (klinické vyšetření, NK test, faremní kultivace) a dále ty, které se mohou provádět pouze v laboratorním prostředí (stanovení hodnot PSB, metody PCR a ELISA).

V průběhu **klinického vyšetření** mléčné žlázy je využíváno metod adspekce a palpce. Adspekci je zjišťována velikost a tvar mléčné žlázy, zdravotní stav kůže a struků a případné anomálie. Palpce slouží ke zjištění tuhosti parenchymu, elasticity

kůže, obsahu mléčné žlázy a dojitelnosti (HOFÍREK a kol., 2009). Nejdůležitějším krokem před vlastním dojením je smyslová kontrola mléčného sekretu, jenž se provádí u prvních 3-5 odstříků ze všech čtyř struků z každého struku s využitím nádoby s černým dnem. Je posuzován výskyt hrudek nebo vloček v sekretu, jeho konzistence, barva, přítomnost krve (PYORALA, 2003). Klinické vyšetření je doplněno stájovými testy a v ideálním případě i laboratorním vyšetřením vzorků mléka, které poskytuje významné informace k dokončení celého diagnostického procesu (HOFÍREK a kol., 2009).

Nejlevnějším a nejvyužívanějším typem stájového testu je tzv. kalifornský test, v našich podmínkách známější jako **NK test**. Princip testu je založen na průkazu jader bílých krvinek (tj. somatických buněk), jejichž přítomnost v mléce indikuje mastitidní proces ((PERSSON A OLOFSSON, 2011; LAKSHMI, 2016; ROSSI a kol., 2018). Diagnostická reakce vzniká při přidání roztoku, jenž obsahuje povrchově aktivní látky, alkylarylsulfonát, fenolovou červeň a destilovanou vodu (VASIL', 2001). Detergent a diagnostikovaný vzorek mléka je míchán a pomocí činidla dochází k narušení jaderné membrány buněk leukocytů a lýze buněk, čímž dojde k uvolňování DNA z jádra. Pozitivní chemická reakce se vyznačuje produkcí vloček a gelu (HOFÍREK a kol., 2004; WHYTE a kol., 2005; VIGUER a kol., 2009; LAKSHMI, 2016). Reakce je hodnocena na stupnici od 0, kde směs zůstává nezměněna až do 3, po pevné gelové formy (RAJIB a kol., 2013). Použitelnost testu je však z důvodu možného nesprávného provedení, zapříčiněného lidským faktorem, sporná (LAM a kol., 2009). Přesnost NK testu se pohybuje v rozmezí od 87,4 do 90,8 %, tudíž je méně citlivý a specifický než jiné testy (ROSSI a kol., 2018). Citlivost NK testu je ovlivněna formou mastitidy, kdy se v případě klinické formy uvádí citlivost v rozpětí od 36 do 91 %. U subklinické formy je citlivost v rozpětí od 5 do 68 % (ROSSI a kol., 2018). CHAKRABORTY a kol. (2019) uvádí citlivost NK testu 61 %, jeho specifita byla vyhodnocena na 65 %. Výsledek testu může být ovlivněn řadou faktorů např. citlivostí roztoku (VIGUIER a kol., 2009), a proto je v současnosti nahrazován citlivějšími diagnostickými metodami, jako jsou digitální testy nebo biosenzory (CHAKRABORTY a kol., 2019).

V posledních letech došlo ke zlepšení diagnostických možností přímo na farmě, i co se týká určení původců mastitid, a to se zavedením metody **faremní kultivace** (LAKSHMI, 2016). Vzhledem k patentované kombinaci multichromových a

selektivních agarů je možné druhové určení mastitidních patogenů, protože dochází ke specifickému nárůstu barevných kolonií, které dávají PM testu velmi vysoký potenciál pro využití v praxi (PRÝMAS, 2017). Pomocí této metody je možné stanovit jejich senzitivitu k ATB přípravkům (HOFÍREK a kol., 2004). Výběr vhodného ATB probíhá na krevním agaru. Kontrola účinnosti použitého ATB preparátu probíhá později. Je provedeno opakované vyšetření vzorku, kdy je správný postup léčby potvrzen negativní přítomností kolonie léčeného původce (PRÝMAS, 2017; VĚŘÍŠ A KREJČÍ, 2017). Český trh nabízí tři různé systémy faremní kultivace, které se liší svým zaměřením na patogenní skupiny či druhy a především cenou. Jedná se jmenovitě o systémy 1) 3 M PetriFILM; 2) PM test (PureMilk Test); 3) MicroMast Test. Vhodný výběr záleží na spektru původců mastitidy v konkrétním chovu. Ve stádu s uzavřeným obratem je toto spektrum v čase relativně velmi stabilní (ANONYM, 2020). Jedná se o příklad pokrokové etiologické diagnostiky chovu (SLOSÁRKOVÁ a kol., 2016). Oproti NK testu má faremní kultivace nižší citlivost (53 % vs. 61 %), ale vyšší specifitu (89 % vs. 65 %).

Z laboratorních technik se dají běžně využít cytologické, mikrobiologické či imunologické metody (ŠKARDA a ŠKARDOVÁ, 2000). Úplnými novinkami jsou mezi laboratorními technikami v diagnostice mastitid molekulární metody a těmi např. jsou PCR, nukleotidové sekvenování a testy laterálního toku (DUARTE a kol., 2015; EL-SAYED a kol., 2017; LIMA a kol., 2018; ROSSI a kol., 2018).

Somatické buňky jsou hlavním ukazatelem zdraví mléčné žlázy, protože jejich zvýšený výskyt je přímo úměrný zánětlivému procesu odehrávajícímu se v mléčné žláze (DUFOUR a kol., 2011; ROSSI a kol., 2018). Hodnota **PSB** v bazénových vzorcích slouží jako jakostní znak syrového mléka (RYŠÁNEK a kol., 2007). Měření PSB je založené na principu vysoko kapacitní průtokové cytometrie (LAM a kol., 2009). Oproti stájovým testům má tento způsob vyšetření z pohledu diagnostiky lepší kvantitativní výpovědní hodnotu (HOFÍREK a kol., 2009). Jedná se o pohodlnou i spolehlivou metodu, avšak v některých případech je moc nákladná, a tak i nedostupná (PATIL a kol., 2015). Ačkoliv diagnostická metoda PSB dodržuje univerzální standardy, dochází často k ovlivňování hodnot četnými faktory, jako je například pořadí a stadium laktace SHOOK a kol., 2017). Hodnota dědičnosti se pro tento znak uvádí jako $h=0,16$ (BUCEK A HŘEBEN, 2007).

Genomové sekvence mnoha hlavních patogenů způsobujících mastitidu jsou nyní k dispozici a lze je využít k vývoji testovacích metod založených na nukleových kyselinách, jako je **PCR** (STUDER a kol., 2008). Tato metoda je založena na přítomnosti DNA ve vzorku, ale jednou z nevýhod je, že detekuje nižší počet organismů ve srovnání s kultivačními metodami (YAMAGISHI a kol., 2007). Citlivost PCR je 91 % a je vyšší než citlivost NK testu a faremní kultivace. Specifita PCR je také velmi vysoká a to 99 %. PCR tedy vykazuje lepší diagnostickou výkonnost než konvenční diagnostické testy, a proto ji lze použít pro přesnou diagnostiku (MAHMMOD, 2013; CHAKRABORTY a kol., 2019). Ve srovnání s kultivačními metodami je detekce založená na metodě PCR méně časově náročná (AMIN a kol., 2011). Technologický pokrok v analýze genomické informace vedly ke zlepšení citlivosti testů používaných pro detekci mastitidy. Mnoho proteinů je zkoumáno pro různé diagnostické možnosti. Například laktoferin nalezený v mléku lze použít jako biomarker pro ELISA test (VAN ALTENA a kol., 2016).

ELISA může poskytnout spolehlivý a levný přístup za předpokladu, že jsou k dispozici vhodné protilátky proti specifickým biomarkerům souvisejícím se zánětem. Rovněž dochází k významnému vývoji v testování nukleových kyselin (VIGUER a kol., 2009). Nevýhody těchto metod zahrnují menší přesnost, vysoké náklady a požadavky na infrastrukturu a potřeba technicky kvalifikované osoby (DUARTE a kol., 2015). Pro imunoterapii bylo vyvinuto mnoho imunotestů detekujících patogeny v mléce, jsou používány také pro sledování kvality mléka. Například pro test na protilátku *Staphylococcus aureus* byla vyvinuta ELISA na bázi magnetických kuliček potažených monoklonální protilátkou *anti S. aureus*, díky kterým probíhala detekce stafylokoků (ARORA a kol., 2006).

Nedávný pokrok v oblasti **biočipů** měl za následek revoluci v diagnostice a jsou již hojně využívány pro detekci mastitidy. Vzorek mléka je smíchán s lyzačním roztokem pro roztržení somatických buněk a dochází k fluorescenčnímu barvení DNA. Vzorek je pak aplikován na mikročip, který využívá kapilárního toku pro umožnění rovnoměrné distribuce vzorku. Fluorescence se měří pomocí přenosného čtecího systému (LAM a kol., 2009). MOON a kol., (2007) vyvinuli jednorázové mikročipy s přenosným čtecím systémem pro měření PSB. Ve stejném roce bylo sestrojeno další podobné jednorázové zařízení, které detekovalo mastitidu na základě mléčných

leukocytů (RODRIGUEZ a kol., 2007). Dále dochází k měření markerů jako je elektrická vodivost, pH, biochemikálie, jako jsou například metabolické látky, proteiny a enzymy či laktózu (PYORALA 2003; DUARTE a kol., 2015; PATIL a kol., 2015; AFAF a kol., 2016; HUSSEIN a kol., 2018; KHATUN a kol., 2018; ONDIEK a kol., 2018). Detekce těchto markerů se vyvinula z konvenční spektrofotometrie do různých nových diagnostik jako jsou například imunotesty (ADDIS a kol., 2016; HUSSEIN a kol., 2018).

I když existuje mnoho pokročilých diagnostických testů, hlavním problémem je včasná a účinná diagnostika, protože zpoždění léčby o několik hodin může znamenat úplnou ztrátu struku nebo vemene (RAJIB a kol., 2013). Jelikož jsou molekulární techniky citlivější a rychlejší při detekci patogenu než kultivační techniky, jsou pro lékaře mnohem užitečnější metodou při naplánování včasného léčebného režimu (CANTEKIN a kol., 2015). Proto je důležitá existence **biomarkerů**, které umožňují detekci onemocnění v rané fázi. Měrná elektrická vodivost mléka je jedním z často používaných screeningových ukazatelů. Princip spočívá ve faktu, že mléko je elektrolyt obsahující Cl^- a Na^+ ionty. Počty těchto iontů při vzniku zánětlivého procesu narůstají (HOFÍREK a kol., 2004). Nová infekce je zpravidla doprovázena nárůstem elektrické vodivosti mléka. Nárůst těchto hodnot by měl pro chovatele sloužit jako indikátor k dalšímu vyšetření především mléčné žlázy, ale i celého jedince (LAKSHMI, 2016). Indikátor vodivosti mléka je dnes běžnou součástí dojících zařízení, hodnoty vodivosti jsou snímány automaticky v průběhu dojení. Zdravá mléčná žláza produkuje mléko s úrovní hodnot menší než 5,6 – 6. Snímání elektrické vodivosti vykazuje nižší úroveň citlivosti než NK test. K detekci vztahu mezi elektrickou vodivostí mléka, jeho koncentrací soli a laktózy se používá metoda specializovaná Mast-O-Test (MUSSER a kol., 1998). Dalším účinným kontrolním postupem je zkouška varem, jelikož kyselé mléko, mlezivo či mléko z infekční čtvrtě se ve vroucí vodě sráží (HOFÍREK a kol., 2009).

Dále je možné využít **infračervené termografie**. Jedná se o jednoduchý, účinný a neinvazivní typ diagnostické metody, který je založen na rozdílech tepla na povrchu kůže nebo vemene (SATHIYABARATHI a kol., 2016). Vysoce citlivá termální kamera dokáže detekovat i malé změny povrchové teploty vemene a pomocí mobilní aplikace se může stát pohodlným a přenosným diagnostickým nástrojem (SINHA a

kol., 2018). Byly vyvinuty kolorimetrické a fluorometrické testy měřící koncentraci enzymů zvýšených během mastitidy v mléce (VIGUER a kol., 2009).

2.3 LÉČBA A PREVENCE MASTITID

Úplné vyléčení zánětem stížená mléčná žláza je podmíněno především včasným zahájením léčby. Včasná **léčba** je u těžkých klinických forem také nezbytná k zabránění rozvoje toxického šoku, který by mohl mít za následek úhyn dojnice (HOFÍREK a kol., 2003). Každé použití ATB má za následek vyřazení mléka z dodávky určené lidské spotřebě (ZAVADILOVÁ a kol., 2017). Kromě toho nesprávné používání ATB přispívá ke zvyšující se rezistenci patogenů (PREETHIRANI a kol., 2015). Včasnou diagnostikou a léčbou klesá riziko přenosu infekce na další jedince a rovněž klesají náklady spojené s léčbou dojnice (LIŠKA, 2006).

V závislosti na původci a závažnosti mastitidy je volena buď lokální (intramamární) nebo celková (parenterální) léčba s pomocí ATB. Ve velmi závažných případech mohou být podávána parenterální ATB spolu s lokálními. Kromě ATB jsou lokálně využívána i další léčiva např. enzymy, hojivé masti, homeopatika, byliny (VICKERS, 2000; ERSKINE, 2001; HOFÍREK a kol., 2003; SAHAY a kol., 2006; BARKEMA a kol., 2009). V průběhu léčby je kladen velký důraz na podporu adekvátního metabolismu, zejména na bachorové funkce tak, aby byly minimalizovány škody např. v podobě výrazného poklesu dojivosti, zhoršené schopnosti reprodukce, zvýšeného výskytu metabolických poruch. (HOFÍREK a kol., 2003). Dojnice se bere jako neléčitelná, pokud ve třech po sobě jdoucích kontrolách užítkovosti (KU) vykazuje PSB nad 700 tisíc/ml mléka (BARKEMA a kol., 2009).

U závažných případů klinické mastitidy je doporučeno podání 20-40 litrů fyziologického roztoku, vitaminů, vápníku a glukosy. Dále je kladen důraz na pravidelné důkladné vydojování infikované čtvrti, které se může vhodně podpořit oxytocinem (OPLETAL A ŠIMERDA, 2017). Léčba lehké subklinické mastitidy se pomocí ATB během laktace nepraktikuje z důvodu vysokých nákladů na léčbu a nízké účinnosti (SAHAY a kol., 2006). V případech opakované mastitidy v průběhu jedné laktace se v praxi používají nesteroidní antiflogistika namísto ATB léčby (JEŽKOVÁ, 2013).

U mastitidního onemocnění je **prevence** mnohem účinnější než léčba, jelikož v případě onemocnění často dochází k nevratnému poškození alveol a parenchymu,

strukových kanálků, i struků samotných (KUMAR a kol., 2010). Je známo, že stájově chované dojnice jsou vystavovány celé řadě vnějších vlivů. Z tohoto důvodu je cílem chovatele omezit právě ty vlivy, které by měly negativní dopad na zdraví každého jedince a jeho následnou užitkovost (BOUŠKA, 2006). Každý chovatel dojeného skotu by se měl za pomoci preventivních opatření snažit snížit výskyt mastitidy pod hranici 3 % (SEYDLOVÁ, 2012).

Mastitidu lze nejlépe korigovat dvěma způsoby – pomocí komplexního screeningu zdravotního stavu stáda a zajištěním dostatečné úrovně kvality ustájení a hygienického postupu při získávání mléka. Sledování stáda by mělo probíhat kontinuálně s komplexním rutinním vyšetřením fyzického stavu vemene, mléka a jeho kvality (KOVÁČ a kol., 2001; RAJIB a kol., 2013). Pravidelný screening mléka snižuje počet infikovaných zvířat (DE VLIEGHER a kol., 2012).

Druhým způsobem je pravidelné používání dezinfekčních prostředků a dostupných vakcín v endemických oblastech (RAJIB a kol., 2013). Použití antiseptik snižuje riziko mikrobiálního vstupu patogenů, což je považováno za efektivní krok v řešení prevence mastitidy (OLDE RIEKERINK a kol., 2012). Opatření zaměřená na prevenci nových případů mastitidy musí zahrnovat optimální výživu, adekvátní stájové podmínky a welfare, vysokou hygienu dojení, včetně pravidelné kontroly dojících zařízení (SHKRETA a kol., 2004; CHANG a kol., 2008; KUMAR a kol., 2010; DE VLIEGHER a kol., 2012). Odborná literatura uvádí, že téměř 50 % nově vzniklých infekcí u dojnic je zapříčiněno chybnými postupy v dojení (JEŽKOVÁ, 2014). Úpravami prostředí lze kvalitně eliminovat výskyt mastitid. Další možností, která by neměla být opomíjena v prevenci je ovlivňování odolnosti skotu vůči mastitidám pomocí jejich genetické stránky, a to především šlechtěním (ZAVADILOVÁ a kol., 2014).

2.4 EKONOMICKÝ VÝZNAM MASTITID V CHOVECH

Mastitidní onemocnění je jedním z nejnákladnějších infekčních onemocnění v chovech dojeného skotu (LANGE – CONSIGLIO a kol., 2014; ZAVADILOVÁ a kol., 2014). Důvodem velkých ekonomických ztrát u mastitid je především rychlý vznik mastitid, odolnost původců vůči ATB a tendence pro vznik chronických forem a reinfekcí, které často vedou k vyřazení postiženého jedince z chovu (SEYDLOVÁ, 2012). (MELCHIOR a kol., 2006; GOMES a kol., 2016). Mastitidní mléko je vyřazeno

z lidské spotřeby, tímto tak dochází k finančním ztrátám v chovu na ušlém zisku z prodeje (KAMPHANIUS a kol., 2008).

Kromě snížení mléčné užitkovosti dochází ke snížení kvality mléka, nadměrnému vyřazování, či předčasnému zaprahování dojnic, což má za následek další nepřímé náklady na chov (KVAPILÍK, 2006). Na druhou stranu vyřazením infikovaných dojnic dochází k zamezení dalšího šíření infekce, a tedy i snížení počtu jedinců zatížených touto chorobou (PEREIRA a kol., 2011). Finanční ztráty, které není snadné vyčíslit, jsou přisuzovány jak ztrátě budoucího zisku, tak ztrátě genetického potenciálu (ST. ROSE a kol., 2003). V USA jsou roční ztráty způsobené mastitidou odhadovány na 2 miliardy dolarů. Ve Velké Británii způsobuje mastitida roční ztrátu přibližně 300 milionu britských liber na všechny chovatele. V Severním Irsku se náklady u 100 dojnic pohybují okolo 5000 britských liber a celkově je to odhadováno na 14 milionů britských liber. V Irské republice se pohybují náklady na klinickou mastitidu přibližně 693 euro na každou infikovanou dojnici. V Nizozemsku se průměrné náklady na infikovanou dojnici pohybují mezi 164 a 235 eury (VIGUIER, 2009). Finanční ztráty způsobené mastitidami se celosvětově pohybují okolo 300 euro na dojnici za rok (HOFÍREK A HAAS, 2003).

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit léčebné postupy u mastitid s využitím faremní kultivace, posoudit prováděná preventivní opatření proti mastitidám a provést ekonomické zhodnocení mastitid na vybrané farmě dojeného skotu.

3.2 CHARAKTERISTIKA PODNIKU A SLEDOVANÉHO STÁDA

Zemědělský podnik Pivkovice a.s. hospodaří na 1140 ha půdy v jižních Čechách v Bavorovské vrchovině v průměrné nadmořské výšce 430-640 m n.m. 860 ha tvoří orná půda a 280 ha tvoří trvalé travní porosty. Hlavními pěstovanými kulturami v rostlinné výrobě jsou kukuřice na siláž a zrno, pšenice, ječmen, řepka, žito na zeleno, luskoobilné směsky, jetelotrávy a travní porosty. Většina těchto kultur dále slouží pro pokrytí potřeb krmného roku stáda černostrakatého holštýnského skotu. Připravují se směsi pro jalovice, dojnice v produkci, suchostojné dojnice a dojnice v období přípravy na porod.

Celé stádo čítá celkem 850 kusů (420 dojnic) a je rozloženo ve čtyřech střediscích živočišné výroby, jejichž hlavním cílem je výroba mléka. Největším z nich je středisko Netonice. Dojení v tomto středisku probíhá dvakrát denně na rybinové dojírně (z roku 2015) pro 20 dojnic (2x10). Druhá rybinová dojírna (z roku 2000), na 10 dojnic, se nalézá ve středisku Bílsko, kde se dále nacházejí porodny s vysokobřezími dojnicemi a jalovicemi, 3 sekce dojnic a venkovní individuální boxy s telaty. Provoz tohoto areálu užívá hluboké slámové podestýlky, která je každý den dostýlaná a pravidelně odklizená. Mléčné farmy Netonice a Bílsko společně čítají cca 420 dojnic černostrakatého holštýnského skotu, přičemž přibližně 270-280 dojnic je v Netonicích a zbylých cca 130-140 dojnic v Bílsku. Farmy Netonice a Bílsko dodávají mléko do společnosti Madeta a.s.

Sledovanou skupinou bylo stádo na farmě Bílsko, V Bílsku se nacházejí dvě sekce po 50ti dojnicích a třetí skupina dojnic po otelení (rozdoj) s relativně proměnlivým počtem dojnic, průměrně cca 30-50 dojnic. Na každé ze sekcí se nacházejí dva termostaty ovládané ventilátory pro zlepšení kvality ovzduší ve stáji v horkých letních měsících.

3.3 MONITORING MASTITID A HODNOCENÍ JEJICH LÉČBY

Experimentální pozorování stáda dojeného černostrakatého holštýnského skotu za účelem posouzení nákladovosti a efektivity léčby mastitid probíhalo ve dvou sledovaných obdobích:

1.) období bez faremní kultivace (BFK) – listopad 2017 – leden 2018

2.) období s faremní kultivací (SFK) – listopad 2018 – leden 2019

V obou sledovaných obdobích byly zjišťovány tyto údaje:

- počet dojnic (celkový počet dojnic v měsíci/počet dní v měsíci),
- počet dojnic v KU (počet dojnic zapojených každý měsíc v KU),
- počet léčených dojnic (počet dojnic, u kterých byla zahájena ATB léčba, informace převzata z deníku léčení pozorované stáje),
- pořadí laktace dojnic s mastitidou dojnic (1. laktace, 2. laktace, 3. a vyšší laktace),
- fáze laktace dojnic s mastitidou (1. fáze laktace 0-100 dní, 2. fáze laktace 101-200 dní, 3. fáze laktace 301 a více dní),
- počet vyléčených dojnic (dojnice, u kterých se infekce nevrátila do 28 dní od skončení léčby),
- počet dojnic s reinfekcí (dojnice, u kterých se vyskytla reinfekce do 28 dní od skončení léčby),
- spotřeba léčiv (intramamární (ks), parenterální (ml)).

Vyhledávání dojnic s klinickou mastitidou probíhalo v obou sledovaných obdobích v rámci každého dojení, a to jednak kontrolou odstříků mléka pomocí nádoby s černým dnem (senzorické změny mléka), pomocí NK testu a dále vizuální kontrolou přítomnosti klinických příznaků mastitid, tj. otok, zarudnutí, citlivost a bolestivost zánětlivé čtvrti mléčné žlázy.

Mastitidní dojnice byly ze stáda přerazeny do speciální sekce pro nemocné a zraněné dojnice, a to až do skončení ochranných lhůt pro mléko podle použitých ATB. Mléko léčených dojnic bylo vyřazováno z denní dodávky. Nemocné dojnice byly dojeny až na konci dojení tak, aby bylo minimalizováno riziko přenosu patogenních mikroorganismů pomocí dojícího zařízení na zdravé dojnice.

Veškerá léčba ATB preparáty byla konzultována s veterinářem zodpovědným za knihu léčení pozorované stáje ve sledovaném středisku Bílsko.

Monitoring mastitid v období bez faremní kultivace.

Diagnostika subklinických mastitid v průběhu období BFK nebyla prováděna. S výsledky KU se za tímto a ani za žádným jiným účelem nepracovalo. Tudíž všechny léčené dojnice v tomto období byly považovány za klinické případy mastitid.

Po odhalení infikovaného jedince byly vybrány a následně aplikovány ATB preparáty širokospektrálního nebo cíleného charakteru jako základ empiricky vedené léčby. Širokospektrální ATB byla aplikována formou intramuskulárních, případně subkutánních injekcí 1x denně. Cílená ATB byla podávána formou intramamárních injekčních suspenzí, a to buď 1x nebo 2x denně ihned po skončení dojení. V případech velmi silných klinických mastitid byly použity obě formy, tj. jak celková, tak intramamární ATB, obvykle v kombinaci s velkoobjemovými nálevy pro podporu bachorové aktivity.

Monitoring mastitid v období s faremní kultivací.

V období SFK byl při vyhledávání mastitidních dojnic důraz kladen rovněž na senzorické hodnocení prvních odstříků mléka a využívání NK testu. V případě podezření na mastitidu byl asepticky odebrán vzorek mléka z infikované čtvrti do sterilní zkumavky k faremní kultivaci.

Diagnostika subklinických mastitid byla prováděna na základě výsledků individuálních PSB z KU zajišťovaných měsíčně Českomoravskou společností chovatelů (ČMSCH a.s.). Ke kontrole NK testem byly vybírány dojnice s hodnotami nad 800 tis./ml. Pokud byl u těchto dojnic NK test pozitivní, následně byl odebrán vzorek infikované mléčné čtvrti pro faremní kultivaci.

Vlastní odběr vzorku mléka byl proveden po min. třech odstřicích a řádném očištění hrotu struku pomocí jednorázové dezinfekční utěrky. Odběr vzorku probíhal pod úhlem 45°, tak aby nedošlo ke kontaminaci mléka v průběhu odběru například padajícími nečistotami z horní části struku, popřípadě ze spodní části vemene. Takto asepticky odebraný vzorek byl pomocí bakteriologické kličky nanesen vždy na tři sektory stájového PM testu (**Obrázek 1**) s chromogenními agary k diagnostice stafylokoků, streptokoků a gramnegativních bakterií.



Vysvětlivky: 1- tří sektorová Petriho miska s chromogenními agary, 2- jednorázová bakteriologická klička, 3- sterilní zkumavka, 4- antimikrobiální utěrka

Obrázek 1: PM test

Zdroj: vlastní

Kultivace probíhala v inkubátoru při 37 °C po dobu 22 až 26 hodin. Výsledky kultivace byly odečteny a zapsány do deníku kultivací vedeného faremním zootechnikem.

Léčba mastitid byla poté zvolena na základě výsledků faremní kultivace a aktuálního antibiogramu (**Obrázek 2**).

Aerobní kultivace:

Nález: **Streptococcus uberis**

Citlivost kvalitativní (interpretace)

Penicilin	citlivý	Erytromycin	citlivý	Clindamycin	citlivý
Tetracyklin	citlivý	Trimethoprim+sulfonamid	citlivý	Neomycin	rezistentní
Bacitracin	citlivý	Gentamicin	rezistentní	Ciprofloxacín	citlivý
Chloramfenikol	citlivý				

Penicilin - platí i pro Aminopeniciliny a Cefalosporiny I. a II. generace.
 Erythromycin - platí i pro Azithromycin, Clarithromycin a Roxithromycin.
 Tetracyklin - platí i pro Doxycyklin.

Obrázek 2: Výsledkový list aerobní kultivace patogenu *Streptococcus uberis* **Zdroj:** SynLab České Budějovice

Tento je sestavován pravidelně 1x ročně pro farmu Bílsko a její běžně se vyskytující stájové patogeny firmou SynLab (sídlo v Českých Budějovicích). Při volbě vhodné léčby bylo vždy přihlédnuto i k celkovému zdravotnímu stavu a kondici dojnice.

3.4 EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ MASTITID

Ekonomické zhodnocení mastitid bylo provedeno na základě těchto ukazatelů:

- náklady na léčbu mastitid

Tyto náklady zahrnovaly náklady na ATB léčbu, na případnou aplikaci nesteroidních antiflogistik a dalších léčivých přípravků. Náklady byly vypočteny pro obě období z ceníku veterinárních léčivých přípravků ČMSCH a.s. volně dostupného na: http://www.viamilkecz.cz/documents/obchodni_cinnost/cenik_veterinarnich_lecivych_pripavku_platny_od_9_7_2012.pdf

V období SFK byly k této položce připočítány i náklady na faremní kultivaci.

- náklady na krmnou dávku

Tyto náklady byly vyhodnoceny z vnitropodnikových měsíčních odpisů na KD dojníc (**Tabulka 1**). Informace poskytl ekonomické oddělení Pivkovic a.s.

- ztráty mléka

Tyto ztráty byly vyhodnoceny na základě množství odpadního mléka mastitidních dojnic a výkupních cen mlékárny pro jednotlivé měsíce obou sledovaných období (**Tabulka 1**). Informace poskytl ekonomické oddělení Pivkovic a.s.

Tabulka 1: Přehled výkupních cen mléka a nákladů na krmný den v příslušných měsících obou sledovaných období

Období	Měsíc	Výkupní cena mléka	Náklady na krmnou dávku
		Kč/l	Kč/kus/den
BFK	Listopad	9,51	93,1
	Prosinec	9,81	90,0
	Leden	9,35	114,8
SFK	Listopad	9,43	114,7
	Prosinec	9,84	101,1
	Leden	9,24	104,7

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace, SFK-s faremní kultivací, Kč-koruna česká

3.5 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Při statistickém vyhodnocování dat bylo k výpočtům využito programů Microsoft Office Excel 2013 a Statistica 12 (StatSoft ČR). U souboru byly zjišťovány následující ukazatele: pořadí laktace, fáze laktace, počet dojnic, počet léčených dojnic, počet vyléčených dojnic, počet dojnic s reinfekcí, náklady na léčbu, náklady odpadního mléka a náklady krmení v době léčby.

Z počtu léčených a vyléčených dojnic a z počtu reinfekcí byly vypočítány procenta léčených, vyléčených a reinfekcí dle následujícího vzorce:

$$\% \text{ - počet léčených/vyléčených/reinfekcí} = (\text{počet léčených/vyléčených/reinfekcí}) / \text{počet dojnic} \times 100$$

Jako nezávislé proměnné byly zvoleny faktor faremní kultivace a faktor měsíce.

Pro zjištění statistické významnosti vlivu faremní kultivace byl zvolen Studentův *t*-test, pro zjištění vlivu měsíce jednofaktorová analýza rozptylu.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 ZHODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU STÁDA NA ZÁKLADĚ PSB

Všechny dojnice zapojené do KU v období BFK a SFK byly rozděleny do skupin dle hodnot PSB (**Tabulka 2**). Toto rozdělení sloužilo jako přehled o celkovém zdravotním stavu mléčné žlázy dojnic a k identifikaci dojnic s $PSB \geq 800$ tis./ml. Za příznivé lze označit, že v obou obdobích většina dojnic (81,3 %) nepřesahovala hodnoty $PSB \leq 200$ tis./ml.

V období BFK bylo detekováno celkem 22 případů zvýšeného $PSB \geq 800$ tis./ml. Ačkoliv takto výrazně zvýšená hodnota PSB signalizuje subklinickou mastitidu (SEYDLOVÁ, 2012), nebyly v daném období údaje o PSB ke kontrole mastitid ve stádě využívány.

V období SFK bylo detekováno celkem 19 případů zvýšeného $PSB \geq 800$ tis./ml. Všechny tyto dojnice byly podrobeny NK testu a v případě pozitivního výsledku byl odebrán vzorek mléka za účelem faremní kultivace. Hodnoty PSB získané v naší studii se pohybovaly v rozmezí od 5 do 9 611 tis./ml. Ve studii VYLETĚLOVÁ A HANUŠ (2012) se hodnoty PSB pohybovaly v rozmezí od 9 do 24 204 tis./ml.

Tabulka 2: Porovnání dojnic podle hodnot PSB (tis./ml mléka) ve dvou sledovaných obdobích

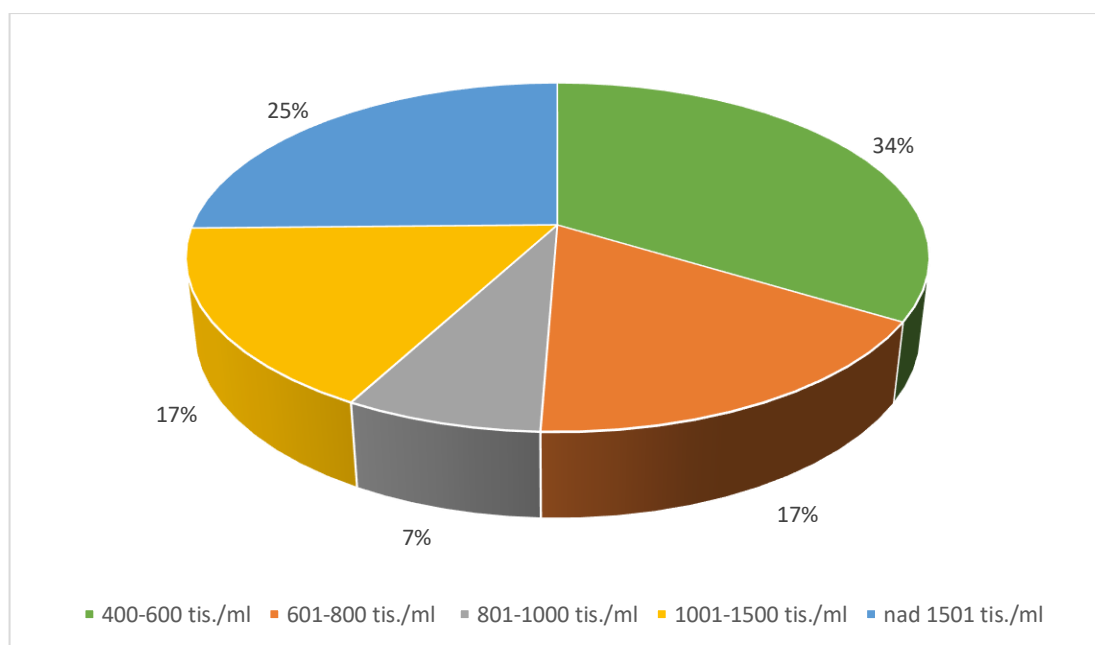
Období	Počet dojnic v KU	Hodnoty PSB							
		≤ 200		200-400		401-800		≥ 800	
	n	n	%	n	%	n	%	n	%
BFK	360	297	82,5	25	6,9	16	4,4	22	6,1
SFK	355	284	80,0	26	7,3	26	7,3	19	5,4
Celkem	715	581	81,3	51	7,1	42	5,9	41	5,7

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací; PSB-počet somatických buněk; KU-kontrola užítkovosti; n-počet

VYLETĚLOVÁ A HANUŠ (2012) uvádí za uspokojivý výsledek PSB do 400 tis./ml mléka. V naší studii byly dojnice s hodnotami PSB nad 400 tis./ml ($n = 83$) dále rozděleny do kategorií (**Graf 1**). Největší podíl dojnic (34 %) se nacházel

v kategorii PSB 400 – 600 tis./ml, což lze hodnotit jako uspokojivý výsledek. Na druhou stranu podstatný podíl dojnic (25 %) se nacházel v kategorii s hodnotami PSB nad 1 501 tis./ml. Hodnoty nad 1 501 tis./ml již představují značný problém. SEYDLOVÁ (2012) uvádí, že tyto dojnice vykazují příznaky buď lehké klinické mastitidy, nebo silné subklinické mastitidy. V každém případě tyto dojnice tvoří skupinu, se kterou je nutno dále pracovat za účelem zlepšení celkového zdravotního stavu mléčné žlázy.

Graf 1: Rozdělení dojnic s hodnotami PSB nad 400 tis./ml (n=83)



4.2 ZHODNOCENÍ ÚSPĚŠNOSTI LÉČBY MASTITID

Úspěšnost léčby mastitidy závisí na řadě faktorů, např. na zdravotním stavu jedince, faktorech léčby a virulenci patogenu (BARKEMA a kol., 2009). V průběhu období BFK bylo léčeno celkem 33 případů mastitid, největší četnost (16 případů) výskytu byla v měsíci lednu (**Tabulka 3**). Průměrná četnost výskytu byla 11 případů v měsíci. U všech těchto případů se jednalo o klinické formy mastitid, které byly odhaleny na základě klinických příznaků, sensorického posouzení prvních odstříků mléka a NK testu. Léčba byla úspěšná u 60,6 % případů. Naproti tomu u 39,4 % případů došlo k reinfekci. V období SFK bylo léčeno celkem 31 mastitidních dojnic. Nejvyšší četnost mastitid byla zaznamenána shodně ve dvou měsících, v listopadu a prosinci (13 případů). Většina případů odhalených mastitid (18; 58,1 %) byla klinická.

Zbývající část (13; 41,9 %) byla detekována na základě hodnot PSB nad 800 tis./ml z údajů KU. Léčba v období SFK byla úspěšná u 87,1 % případů. U 12,9 % případů došlo k reinfekci. OLIVEIRA A RUEGG (2014) ve své studii zjistili, že 23,1 % dojnic léčených z důvodu mastitidy prodělalo reinfekci z důvodu nedostatečné reakce na zvolenou ATB léčbu. Podle MELCHIOR a kol. (2006) velkou roli v rezistenci vůči ATB léčbě hraje zejména tvorba biofilmu, která je doprovázena významnými genetickými a následnými fyziologickými změnami mikroorganismů. Rovněž DUBRAVKA a kol. (2010) uvádí biofilmy jako možné vysvětlení častého selhání léčby pomocí ATB. Tato skutečnost může být znepokojujícím problémem, protože 40 % případů mastitid pochází z recidivy předchozích mastitidních infekcí po neúspěšné terapii (HILLERTON A KLIEM, 2002). Navíc ATULYA a kol. (2014) poukazují na fakt, že snížené pH podporuje tvorbu biofilmu, což způsobuje vážný problém, jelikož současná léčba mastitid je na bázi podávání kyselých ATB.

Tabulka 3: Četnost výskytu dojnic s mastitidou, dojnic úspěšně vyléčených a dojnic s reinfekcí ve dvou sledovaných obdobích

Období	Měsíc	Celkem dojnic	Mastitidní dojnice		Vyléčené dojnice		Dojnice s reinfekcí	
			n	%	n	%	n	%
BFK	Listopad	135	5	3,7	4	80,0	1	20,0
	Prosinec	142	12	8,5	8	66,7	3	30,0
	Leden	141	16	11,4	8	50,0	9	50,0
	Celkem	418	33	7,9	20	60,6	13	39,4
SFK	Listopad	132	13	9,8	11	84,6	1	7,7
	Prosinec	128	13	10,2	12	92,3	2	15,3
	Leden	137	5	3,7	4	80,0	1	20,0
	Celkem	397	31	7,8	27	87,1	4	12,9
Celkem		815	64	7,9	47	73,4	17	26,6

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací; n-počet

V naší studii byla vyhodnocována statistická významnost vlivu faremní kultivace na výskyt mastitidních dojnic, vyléčených dojnic a dojnic s reinfekcí. Statistická významnost vlivu faremní kultivace nebyla prokázána (**Tabulka 4**).

Největší rozdíly mezi sledovanými obdobími byly zaznamenány ve výskytu vyléčených dojnic a dojnic s reinfekcí. Za úspěšné lze označit, že v porovnání s období BFK byla v průběhu období SFK zaznamenána nižší četnost reinfekcí. Většina chovatelů léčí klinickou mastitidu pouze na základě symptomů a bez mikrobiologické analýzy, jako tomu bylo v období BFK. Léčba je tudíž často prováděna bez zohlednění etiologie (HOE A RUEGG, 2006). Tento postup však může v řadě případů vést k podávání antimikrobiálních látek i v případech, kdy to nemusí být prospěšné (OLDE RIEKERINK a kol., 2008). PRÝMAS (2017) uvádí, že faremní kultivace umožňuje stanovit orientační citlivost na ATB preparáty a přináší významnou úsporu nákladů u diferencovaného zaprahování dojnic, kdy jsou dojnice bez bakteriálního nálezu zaprahovány bez použití ATB.

Tabulka 4: Základní statistické ukazatele vlivu faremní kultivace na počet dojnic s mastitidou, vyléčených dojnic a dojnic s reinfekcí ve dvou sledovaných obdobích

Období		Mastitidní dojnice		Vyléčené dojnice		Dojnice s reinfekcí	
		n	%	n	%	n	%
BFK	\bar{x}	11,0	7,8	6,3	4,5	4,0	2,8
	s_x	5,6	3,9	2,1	1,4	3,0	2,1
SFK	\bar{x}	10,3	7,9	9,0	6,9	1,3	1,0
	s_x	4,6	3,7	4,4	3,5	0,6	0,5
	<i>P</i>	0,8809	0,9876	0,3931	0,3467	0,2051	0,2181

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací; n-počet; s_x -směrodatná odchylka; \bar{x} -aritmetický průměr

Statistickou analýzou rozptylu nebyl potvrzen vliv měsíce na počty mastitidních dojnic, vyléčených dojnic a dojnic s reinfekcí (**Tabulka 5**). OLIVEIRA A RUEGG (2014) uvádí, že prevalence mastitid je značně ovlivňována ročním obdobím. Jedním z důvodů, proč v naší studii nebyl vliv měsíce na výskyt mastitid prokázán, může být skutečnost, že byl hodnocen příliš krátký časový úsek roku.

Tabulka 5: Základní statistické ukazatele vlivu měsíce na mastitidní dojnice, vyléčené dojnice a dojnice s reinfekcí ve dvou sledovaných obdobích

Měsíc		Mastitidní dojnice		Vyléčené dojnice		Dojnice s reinfekcí	
		n	%	n	%	n	%
Listopad	\bar{x}	9	6,8	7,5	5,7	1,0	0,8
	s_x	5,7	4,3	5	3,8	0	0
Prosinec	\bar{x}	12,5	9,3	9,5	7,2	3,0	2,2
	s_x	0,7	1,2	3,5	3,1	1,4	0,9
Leden	\bar{x}	10,5	7,5	6,0	4,3	4,0	2,9
	s_x	7,8	5,4	2,8	2,0	4,2	3,0
Celkem	P	0,8296	0,8262	0,6953	0,6821	0,5629	0,6821

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací; n-počet; s_x -směrodatná odchylka; \bar{x} -aritmetický průměr

Výskyt mastitid v závislosti na pořadí a fázi laktace

V období BFK bylo detekováno 33 mastitidních dojnic. Nejvyšší četnost mastitid byla zaznamenána u dojnic na druhé a třetí a vyšší laktaci (shodně 36,4 %). Četnost mastitid u dojnic na první laktaci byla 27,3 % (**Tabulka 6**). V období SFK byla naopak nejvyšší četnost mastitid zaznamenána u dojnic na první laktaci, a to 35,5 %. WOLF a kol. (2010) uvádí, že na druhé a vyšší laktaci lze očekávat vyšší výskyt mastitid z důvodu již dříve chybně zaléčených či zaprahnutých dojnic. Naopak studie TENHAGEN a kol. (2006) uvádí, že nejvíce mastitidních dojnic se nacházelo na první laktaci.

Tabulka 6: Četnost mastitidních dojnic podle pořadí laktace ve dvou sledovaných obdobích

Období	Mastitidní dojnice	1. laktace		2. laktace		3. a vyšší laktace	
		n	%	n	%	n	%
BFK	33	9	27,3	12	36,4	12	36,4
SFK	31	11	35,5	10	32,3	10	32,3
Celkem	64	20	31,5	22	34,4	22	34,4

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací;

V období BFK i SFK byla sledována četnost dojnic s mastitidou podle fáze laktace (**Tabulka 7**). Za nejnáročnější z hlediska výskytu různých onemocnění včetně mastitid je označováno peripartální období (WOLF a kol., 2010). Studie DETILLEUX a kol. (1997) uvádí, že se riziko infekce zvyšuje na začátku laktace, když jsou dojnice stresovány, což má za následek zvýšení PSB. Četnosti výskytu mastitid v 1. fázi laktace (tj. prvních 100 dní) se v obou sledovaných obdobích velmi lišily. V období BFK se 63,6 % odhalených mastitidních dojnic nacházelo v této fázi laktace. V období SFK jich však v 1. fázi laktace bylo o téměř polovinu méně, a to 32,3 %. Nejmenší podíl dojnic s mastitidou byl prokázán v období BFK ve 2. fázi laktace (12,1 %) a v období SFK ve 3. fázi laktace (22,6 %). Celkově pak nejmenší podíl mastitidních dojnic byl ve 3. fázi laktace (23,4 %), což se shoduje s výsledky DETILLEUX a kol. (1997), který ve své studii uvedl, že nejnižší výskyt mastitidních dojnic je právě ke konci laktace.

Tabulka 7: Četnost mastitidních dojnic podle fáze laktace ve dvou sledovaných obdobích

Období	Mastitidní dojnice	1. fáze laktace		2. fáze laktace		3. fáze laktace	
		n	%	n	%	n	%
BFK	33	21	63,6	4	12,1	8	24,2
SFK	31	10	32,3	14	45,2	7	22,6
Celkem	64	31	48,4	18	28,1	15	23,4

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací; n-počet

Původci mastitid detekovaní s využitím faremní kultivace

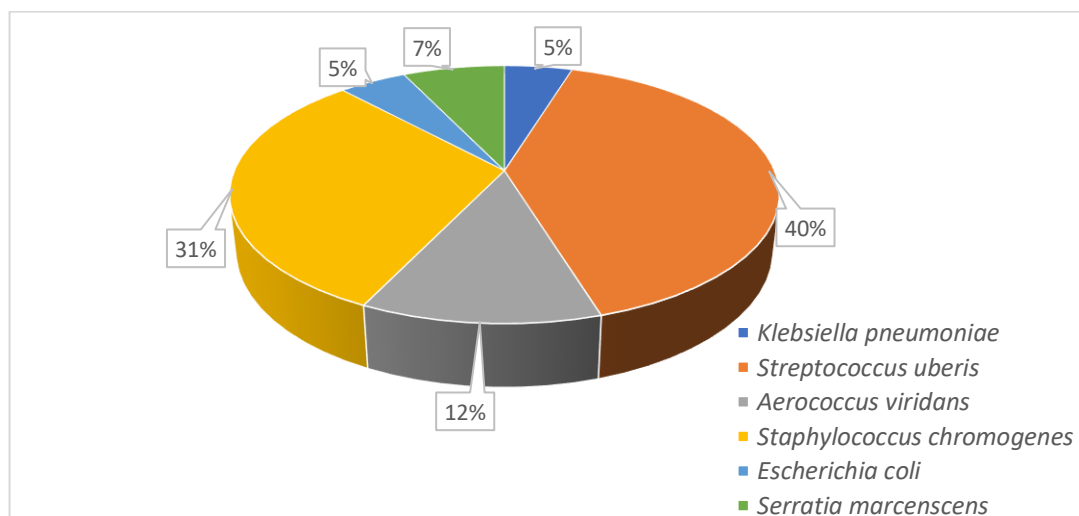
S využitím faremní kultivace bylo ve sledovaném období SFK vyhodnoceno celkem 33 vzorků mléka dojnic se suspektní mastitidou. Celkem bylo detekováno šest mikrobiálních zástupců (**Graf 2**). Nejčastěji detekovaným původcem mastitid byl *Streptococcus uberis*, který byl zjištěn v 17 vzorcích mléka (52 %).

Studie BRADLEY a kol. (2007) uvádí, že v Anglii a Walesu byl *Str. uberis* rovněž nejčastěji izolovaným původcem mastitid a to u 23,5 % případů vyskytlých mastitid. WILLIAMSON a kol. (1995) ve své studii na Novém Zélandu detekovali *Str. uberis* v 89 z celkem 1333 vzorků mléka (6,8 %). K podobným výsledkům dospěli i

SONG a kol. (2020) v Číně, kteří tohoto původce detekovali ve 46 vzorcích z celkem 1153 (4,0 %).

Druhým nejčastěji zjišťovaným původcem (31 %) mastitid v naší studii byl *Staphylococcus chromogenes*. HOSSEINZADEH A DASTMALCHI SAEI (2014) detekovali *S. chromogenes* u 15,7 % mastitidních dojnic. Podobných výsledků bylo dosaženo ve studii BOCHNIARZ a kol. (2016), kde byla zaznamenána prevalence *S. chromogenes* 11,3 %. V naší studii byl v osmi vzorcích detekován *Str. uberis* společně se *S. chromogenes*. V menší míře byl prokázán výskyt koliformních bakterií, jako je *Serratia marcescens* (7 %), *Escherichia coli* (5 %) a *Klebsiella pneumoniae* (5 %). Podobných výsledků v případě *Klebsiella* spp. dosáhli i OLIVEIRA A RUEGG (2014), kteří tuto bakterii detekovali v 6,9 % případů mastitid. Na druhou stranu prevalence mastitid vyvolaných *E. coli* byla v jejich studii vyšší (22,6 %). V Anglii a Walesu je *E. coli* jedním z nejčastějších patogenů izolovaným u klinických případů mastitid (BRADLEY a kol., 2007).

Graf 2: Původci mastitid detekovaní pomocí faremní kultivace



Pozn. Faremní kultivace byla použita u 33 mastitidních dojnic, avšak celkem bylo detekováno 43 původců. V deseti vzorcích byli detekováni dva původci.

V naší studii nebyli detekováni kontagiózní původci rodu *Staphylococcus*, avšak některé studie uvádějí tento rod potažmo druh *S. aureus* jako nejčastěji izolovaný patogen při mastitidách (OLIVEIRA a kol., 2007; LEITNER a kol., 2011). Ve studii VYLETĚLOVÁ-KLIMEŠOVÁ a kol. (2014) byl také nejčastěji detekován *S. aureus* s prevalencí 13,7 % a dále *Str. agalactiae* (6,6 %). Dalším často detekovaným

patogenem byl *Str. agalactiae* (6,6 %). VYLETĚLOVÁ-KLIMEŠOVÁ a kol. (2014) potvrzovali přítomnost patogenů s využitím PCR, což mohlo zajistit přesnější detekci. CHAKRABORTY a kol. (2019) totiž uvádí citlivost faremní kultivace pouze 53 % v porovnání s velmi vysokou citlivostí u PCR (91 %). Faremní kultivaci lze tedy považovat především za orientační metodu, avšak její užitečnost v praxi je nesporná (CHAKRABORTY a kol., 2019). Další příčinou, proč *S. aureus* v naší studii nebyl prokázán, může být skutečnost, že v posledních letech jsou v mnoha zemích častěji detekovány koaguláza negativní stafylokoky (TREMBLAY a kol., 2013). Studie KOIVULA a kol. (2007) uvádí, že nejčastěji detekovaným patogenem jak u klinických (18 %) tak subklinických (24 %) mastitid byli koaguláza negativní stafylokoky. TAPONEN a kol. (2006) popsali, že hlavním zástupcem koaguláza negativních stafylokoků nalezeným u dojnic na první laktaci byl *S. chromogenes*. Podobných výsledků bylo dosaženo i v naší studii, ve které byla zaznamenána vysoká prevalence koaguláza negativních stafylokoků.

Rozdíly ve spotřebě antibiotik ve dvou sledovaných obdobích

V obou sledovaných obdobích byla k léčbě používána ATB, která byla aplikována buď lokálně (intramamárně) nebo celkově (parenterálně) (**Tabulka 8**). Injekčně aplikovaných parenterálních ATB bylo v období BFK aplikováno více (o 905 ml) v porovnání s obdobím SFK. Hlavním důvodem tohoto rozdílu je zřejmě skutečnost, že v období BFK se léčily výhradně klinické mastitidy, což tedy vedlo k větší spotřebě parenterálních ATB. Naopak v období SFK bylo díky zavedení faremní kultivace využíváno více cílených intramamárních léčiv. V americké studii OLIVEIRA A RUEGG (2014) bylo 71,6 % sledovaného stáda léčeno intramamárními ATB. Dojnice s těžkým průběhem mastitidy byly léčeny pomocí intramamárních léčiv často v kombinaci s jinými ATB látkami (OLIVEIRA A RUEGG, 2014).

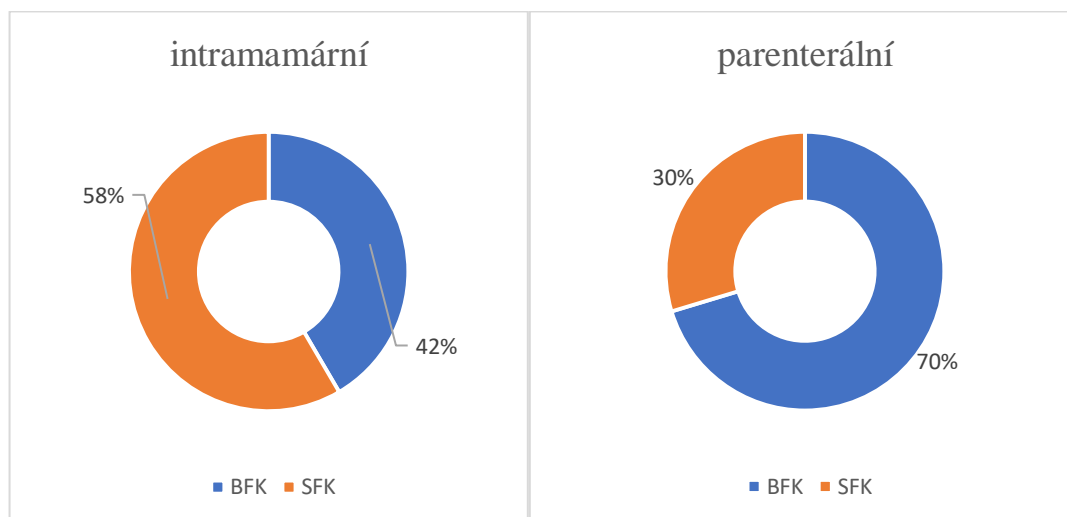
Tabulka 8: Přehled spotřeby intramamárních a parenterálních antibiotik ve dvou sledovaných obdobích

Období	Spotřeba antibiotik	
	Intramamární (ks)	Parenterální (ml)
BFK	111	1565
SFK	156	660

Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací; ks-kus; ml-mililitr

Při hodnocení celkové spotřeby ATB za obě sledovaná období bylo zjištěno, že většina parenterálně aplikovaných ATB (70 %) byla použita v období BFK (**Graf 3**). Vyšší spotřeba intramamárních ATB (52 %) byla v období SFK.

Graf 3: Celková spotřeba intramamárních ATB (n=267) a parenterálních antibiotik (n=2225) ve dvou sledovaných obdobích



Vysvětlivky: BFK-bez faremní kultivace; SFK-s faremní kultivací

4.3 EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ MASTITID VE SLEDOVANÉM CHOVU

Řada studií uvádí, že z globálního hlediska jsou mastitidy onemocněním výrazně negativně ovlivňujícím ekonomiku chovu skotu (BZDIL, 2011; MIEKLEY a kol. 2012; VĚŘÍŠ, 2013). CHAKRABORTY a kol. (2019) poukazuje na fakt, že způsobené ekonomické ztráty jsou nevratné, a to většinou kvůli pozdní a nesprávné diagnostice.

V naší studii byly do celkových nákladů započítány náklady na léčbu a krmení mastitidních dojnic spolu se ztrátou odpadního mléka (**Tabulka 9**). Lze konstatovat, že rozdíly v celkových nákladech mezi oběma sledovanými obdobími nebyly výrazné. Podle očekávání, v období BKF největší nákladovou položku tvořilo odpadní mléko vzhledem k tomu, že léčba neprobíhala cíleně a často byla zdlouhavá z důvodu hledání účinného ATB. Uvedené tak výrazně prodlužovalo dobu ochranné lhůty pro mléko, a tedy i množství odpadního mléka.

V období SFK tvořily náklady na léčbu vyšší částku než v období BFK, jelikož byla do této položky zahrnuta i cena faremní kultivace. Avšak léčba byla v tomto

období díky faremní kultivaci účinnější a rychlejší než u BFK, což se odrazilo v menších ztrátách mléka. Navíc ve sledovaném chovu byl k léčbě mastitid často používán Cobactan, který patří mezi cenově náročnější parenterální ATB. Studie PRÝMAS (2017) uvádí, že pro cílené potlačení nejodolnějších původců mastitidy jsou používány speciální cenově náročné preparáty, kde je nutné zvážit jejich užití právě z ekonomického hlediska.

Tabulka 9: Přehled nákladů na dojnice s mastitidou ve dvou sledovaných obdobích

Období	Mastitidní dojnice	Náklady na léčbu	Ztráty mléka	Náklady na krmení	Celkem
	n	Kč	Kč	Kč	Kč
BFK	33	28 715	58 830	22 248	109 793
SFK	31	30 345	55 716	23 508	109 569

BFK-období bez faremní kultivace; SFK-období s faremní kultivací; Kč-koruna česká; n-počet

Celkové náklady na jednu mastitidní dojnici v období BFK činily 3271 Kč, což při současném kurzu vychází přibližně na 125 euro na dojnici. Náklady v období SFK se pohybovaly okolo 135 euro. VIGUIER (2009) uvádí průměrné náklady na mastitidní dojnici v Nizozemsku v rozpětí 164 – 235 eur. V Irské republice se náklady na klinickou mastitidu pohybují okolo 693 euro (VIGUIER, 2009).

Tabulka 10: Náklady na jednu mastitidní dojnici ve dvou sledovaných obdobích

Období	Náklady na léčbu	Náklady na krmení	Ztráty mléka	Celkem
	Kč	Kč	Kč	Kč
BFK	870	674	1727	3271
SFK	978	758	1797	3533

BFK-období bez faremní kultivace; SFK-období s faremní kultivací; Kč-koruna česká; n-počet

5 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala efektivitou léčebných postupů u mastitid s využitím faremní kultivace ve vybraném chovu černostrakatého skotu. Při hodnocení efektivity léčby a nákladů spojených s mastitidou v období bez faremní kultivace (BFK) a v období s faremní kultivací (SFK) bylo zjištěno, že:

- v obou obdobích byl detekován téměř stejný počet mastitid – v období BFK 33 a v období SFK 31 případů mastitid;
- úspěšnost léčby mastitid byla v období SFK vyšší (87,1 %) oproti období BFK (60,6 %), výsledky však nebyly statisticky významné;
- opakované infekce (reinfekce) byly v období SFK méně časté (12,9 %) v porovnání s obdobím BFK (39,4 %). Výsledky nebyly statisticky významné;
- spotřeba parenterálních antibiotik byla výrazně vyšší v období BFK (více než 1500 ml léčiv) oproti období SFK (660 ml);
- spotřeba intramamárních, cílených antibiotik byla vyšší v období SFK (156 ks aplikátorů) oproti období BFK (111 aplikátorů);
- nejčastějším původcem mastitid detekovaným pomocí faremní kultivace byl *Streptococcus uberis* (40 %) a *Staphylococcus chromogenes* (31 %);
- celkové náklady spojené s mastitidami byly v obou sledovaných obdobích srovnatelné - v období BFK 109 793Kč a v období SFK 109 569Kč;
- průměrné náklady na jednu léčenou dojnici byly v období BFK 3 271Kč a v období SFK 3533Kč. Do nákladů na léčbu v období SFK byla zahrnuta cena za faremní kultivaci.

Závěrem lze říci, že zavedení systému faremní kultivace do antimastitidního programu mělo velmi pozitivní vliv na efektivitu prováděné léčby na sledované farmě. Uvedené výsledky lze přičíst tomu, že faremní kultivace umožnila cílenější léčbu na konkrétní původce mastitid. S těmito přínosy pak souvisí i další příznivé efekty, jako je nižší brakace dojnic z důvodu mastitidy, lepší celkový zdravotní stav stáda a rovněž kvalitnější mléko dodávané do mlékáren. Příznivě lze hodnotit, že zapojením faremní kultivace nedošlo k výraznému zvýšení celkových nákladů spojených s léčbou mastitid. Zavedení faremní kultivace lze označit jako významný posun v celé problematice mastitid v chovech dojeného skotu a je třeba zdůraznit, že pokud má chovatel zájem zlepšit zdravotní problematiku v oblasti mastitid, je pro něj tato možnost nejen ekonomicky velmi zajímavá, ale i skutečně prospěšná.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ABDELMEGID, S., MURUGAIYAN, J., ABOISMAIL, M., CASWELL, JL., KELTON, D., KIRBY, G.M., 2017:** Identification of host defense-related proteins using label-free quantitative proteomic analysis of milk whey from cows with *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *International Journal of Molecular Sciences* 1: 78.
- ADDIS, M.F., TEDDE, V., DORE, S., PISANU, S., PUGGIONI, G.M.G., ROGGIO, A.M., PAGNOZZI, D., LOLLAI, S., CANNAS, E.A., UZZAU, S. 2016:** Evaluation of milk cathelicidin for detection of dairy sheep mastitis. *Journal of Dairy Science* 99:6446–6456.
- AFAF, A.M.D., EL SHEITA, W.A.M.A., ABDELWAHAB, M.G., 2016:** Biochemical study of DNA markers for bacterial infection in bovine mastitis. *Benha Veterinary Medical Journal* 1:93–100.
- ALNAKIP, M.E., QUINTELA-BALUJA, M., BÖHME, K., FERNÁNDEZ-NO, CAAMAÑO-ANTELO, S., CALO-MATA, P., BARROS-VELÁZQUEZ, J., 2014:** The immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. *Journal of Veterinary Medicine* 659801.
- AMIN, A.S., AMOUDA, R.H.H., ABDEL-ALL, A.A.A., 2011:** PCR assays for detecting major pathogens of mastitis in milk samples. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 6: 199-206.
- ANONYM, 2020:** Klinické vyšetření mléčné žlázy a diagnostika mastitid [online]. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. [cit.13.4.2020] Dostupné z: https://www.vfu.cz/files/1680_28_vystup.pdf
- ARORA, S., AGARWAL, R.K., BIST, B., 2006:** Comparison of ELISA and PCR vis-a`-vis cultural methods for detecting *Aeromonas spp.* in foods of animal origin. *The International Journal of Food Microbiology* 106: 177–183.
- ATULYA, M., MATHEW, A.J., RAO, J.V., 2014:** Influence of milk components in establishing biofilm mediated bacterial mastitis infections in cattle: a fractional factorial approach. *Research in Veterinary Science* 96: 25–7.
- BARKEMA, H.W., BRADLEY, A.J., ZADOKS, R.N., 2009:** Invited review: The role of contagious disease in udder health. *Journal of Dairy Science* 92: 4717-4729.
- BLUM, S.E., HELLER, E.D., SELA, S., 2015:** Genomic and phenomic study of mammary pathogenic *Escherichia coli*. *PLoS One* 10: e0136387.

- BOCHNIARZ, M., DZIĘGIEL, B., NOWACZEK, A., WAWRON, W., DĄBROWSKI, R., SZCZUBIAŁ, M., WINIARCZYK, S., 2016:** Factors responsible for subclinical mastitis in cows caused by *Staphylococcus chromogenes* and its susceptibility to antibiotics based on *bap*, *fnbA*, *eno*, *mecA*, *tetK*, and *ermA* genes. *Journal of dairy science* 99: 9514-9520.
- BOGNI, C., ODIERNO, L., RASPANTI, C., 2011:** War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. In: Mendez-Vilas (ed). Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances. *World Scientific* 483–94.
- BOUŠKA, J., DOLEŽAL, O., JÍLEK, F., KUDRNA, V., KVAPILÍK, J., PŘIBYL, J., RAJMON, R., SEDMÍKOVÁ, M., SKŘIVANOVÁ, V., ŠLOSÁRKOVÁ, S., TYROLOVÁ, Y., VACEK, M., ŽIŽLAVSKÝ, J., 2006:** Chov dojeného skotu. Praha: Profi Press, 1. vydání, 186 s.
- BOYEN, F., EECKHAUT, V., VAN IMMERSEEL, F., 2009:** Quorum sensing in veterinary pathogens: Mechanisms, clinical importance and future perspectives. *Veterinary Microbiology* 135: 187–95.
- BRADLEY, A.J., LEACH, K.A., BREEN, J.E., 2007:** Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record* 160: 253–8.
- BUCEK, P., 2011:** Výsledky kontroly mléčné užitkovosti v kontrolním roce 2010/2011, CMSCH [online]. Dostupné z: http://www.cmsch.cz/store/rocenka_ku_2010_2011.pdf
- BUCEK, P., HŘEBEN, F., 2007:** Kontrola zdravotního stavu mléčné žlázy dojených krav [online]. Dostupné z: <http://www.cmsch.cz/store/2007-kontrola-zdravotniho-stavu-mlacne-zlasy-dojenych-krav.pdf>.
- BZDIL, J., 2012:** Prevalence vybraných patogenů mléčné žlázy skotu v letech 2000–2010. *Veterinářství* 62: 28–32.
- BZDIL, J., 2011:** Sezónnost výskytu vybraných patogenů mléčné žlázy skotu. *Veterinářství* 60: 38–42.
- CANTEKIN, Z., ERGÜN, Y., DOĞRUEK, G., SARIBAY, M.K., SOLMAZ, H., 2015:** Comparison of PCR and culture methods for diagnosis of subclinical mastitis in dairy cattle. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 21: 277–282.
- CHAKRABORTY, S., DHAMA, K., TIWARI, R., IQBAL YATOO, M., KHURANA, S. K., KHANDIA, R., SINGH, R., 2019:** Technological interventions and advances in the diagnosis of intramammary infections in animals with emphasis on bovine population—a review. *Veterinary Quarterly* 39: 76-94.

CHANG, B.S., J.S. MOON, H.M. KANG, Y.I. KIM, LEE, H.K., 2008: Protective effects of recombinant staphylococcal enterotoxin type C mutant vaccine against experimental bovine infection by a strain of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis in dairy cattle. *Vaccine* 26: 2081-2091.

CREMONESI, P., CECCARANI, C., CURONE, G., SEVERGNINI, M., POLLERA, C., BRONZO, V., RIVA, F., ADDIS, M.F., FILIPE, J., AMADORI, M., 2018: Milk microbiome diversity and bacterial group prevalence in a comparison between healthy Holstein Friesian and Rendena cows. *PLoS One* 13: e0205054.

ČERVENÝ, Č., 2007: Vemeno krávy ve světle funkční morfologie. In Diagnostika a terapie poranění mléčné žlázy. Hradec Králové: kongresové centrum, Aldis a.s. 7–20.

DE VliegHER, S., FOX, L., K., PIEPERS, S., MCDougALL, S., BARKEMA, H., W., 2012: Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease potential impact, prevention, and control, *Journal of Dairy Science* 95: 1025–1040.

DETILLEUX, J., LEROY, P., VOLCKAERT, D., 1997: Alternative use of somatic cell counts in genetic selection for mastitis resistance. *INTERBULL Bulletin* 15: 34–44.

DOWN, P.M., BRADLEY, A.J., BREEN, J.E., HUDSON, C.D., GREEN, M.J. 2016: Current management practices and interventions prioritized as part of a nationwide mastitis control plan. *Veterinary Record* 178: 449.

DUARTE, C.M., FREITAS, P.P., BEXIGA, R., 2015: Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *The Journal of Veterinary Diagnostic* 27: 665–672.

DUBRAVKA, M., LAZIC, S., VIDIC, B., 2010: Slime production and biofilm forming ability by *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates. *Acta Veterinaria-Beograd* 60: 217–26.

DUFOUR, S., FRÉCHETTE, A., BARKEMA, H.W., MUSSELL, A., SCHOLL, D.T., 2011: Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *Journal of dairy science* 94: 563-579.

EL-SAYED, A., AWAD, W., ABDOU, N.E., VÁZQUEZ, H.C., 2017: Molecular biological tools applied for identification of mastitis causing pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 5:89–97.

ERSKINE, R.J., 2001: Mastitis Control in Dairy Herds. Penn: WB Saunders Co, Philadelphia. *Herd Health Food Animal Production Medicine* 397-433.

FANTOVÁ, M., FLEISCHER, P., 2012: Chov koz. Praha, *Brázda* 232 s.

FERRERO, F.J., VALLEDOR, M., CAMPO, J.C., 2014: Screening method for early detection of mastitis in cows. *Measurement* 47: 855–860.

- GOMES, F., SAAVEDRA, M. J., HENRIQUES, M., 2016:** Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms. *Pathogens and Disease* 74: 3.
- HALASA, T., NIELEN, M., DEROOS, A.P.W., VAN HOORNE, R., DE JONG, G., LAM, T.J.G.M., VAN WERVEN, T., HOGVEEN, H., 2009:** Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *Journal of Dairy Science* 92: 599-606.
- HILLERTON, J.E, KLIEM, K.E., 2002:** Effective treatment of *Streptococcus uberis* clinical mastitis to minimize the use of antibiotics. *Journal of Dairy Science* 85: 1009–14.
- HOE, F.G., RUEGG, P.L., 2006:** Opinions and practices of Wisconsin dairy producers about biosecurity and animal well-being. *Journal of Dairy Science* 89: 2297–2308.
- HOFÍREK, B., PECHOVÁ, A., DOLEŽAL, R., PAVLATA, L., DVOŘÁK, R., FLEISCHNER, P., 2004:** Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno 184 s.
- HOFÍREK, B., DVOŘÁK, R., NĚMEČEK, L., DOLEŽEL, R., POSPÍŠIL, Z., 2009:** Nemoci skotu. Brno: Noviko as, Česká buiatrická společnost, 1. vydání, 1149 s.
- HOFÍREK, B., HAAS, D., 2003:** Kategorizace zdraví mléčné žlázy, klinické formy mastitid a jejich terapie. *Sborník referátů odborného semináře Mastitidy skotu* 3.
- HOSSEINZADEH, S., DASTMALCHI, SAEI, H., 2014:** Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the North West of Iran: emerging of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 2: 27-34.
- HUSSEIN, H.A., ABD, EL-RAZIK, K.A., GOMAA, A.M., ELBAYOUMY, M.K., ABDELRAHMAN, K.A., HOSEIN, H.I., 2018:** Milk amyloid A as a biomarker for diagnosis of subclinical mastitis in cattle. *Veterinary World* 11 :34–41.
- ILLEK, J., KUDRNA, V., MATĚJÍČEK, M., KLOUDA, Z., 2007:** Poruchy zdraví v průběhu mezidobí. *Zemědělec*, č. 32.
- JAGLIČ, Z., ČERVINKOVÁ, D., VLKOVÁ, H., BABÁK, V., LORENCOVÁ, A., SEYDLOVÁ, R., 2014:** Prevalence bakteriálních původců subklinických mastitid v České republice. *Veterinářství* 64: 142–145.
- JELÍNEK, P., KOUDELA, K., 2003:** Fyziologie hospodářských zvířat. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 409 s.
- JEŽKOVÁ, A., 2013:** Umíme vyzrát na mastitidu? Profi Press. *Náš chov* 8: 36–38.
- JEŽKOVÁ, A., 2014:** Produkce mléka a zdraví vemene dojníc. Profi Press. *Náš chov* 2: 56–58.

- KALINSKA, A., 2017:** Mastitis pathogens in dairy cattle - a review. *World Scientific News* 89: 22-31.
- KALUŽA, M., KONVALINOVÁ, J., 2019:** Nemoci hospodářských a potravinových zvířat. VFU Brno. (cit. 15.4.2020), dostupné z: <https://cit.vfu.cz/nz/IVA/NZ.html>
- KAMPHANIUS, C., SHERLOCK, R., JAGO, J., MEIN, G., HOGEVEEN, H., 2008:** Automatic Detection of Clinical Mastitis Is Improved by In-Line Monitoring of Somatic Cell Count. *Journal of Dairy Science* 91: 4560–4570.
- KAUR, H., KUMAR, P., RAY, P., 2009:** Biofilm formation in clinical isolates of group B streptococci from north India. *Microbial Pathogenesis* 46: 321–7.
- KEMPF, F., LOUX, V., GERMON, P., 2015:** Genome sequences of two bovine mastitis-causing *Escherichia coli* strains. *Genome Announcements* 3: e00259–15.
- KHATUN, M., THOMSON, P.C., KERRISK, K.L., LYONS, N.A., CLARK, C.E.F., MOLFINO, J., GARCÍA, S.C., 2018:** Development of a new clinical mastitis detection method for automatic milking systems. *Journal of Dairy Science* 101: 9385–9395.
- KOIVULA, M., MANTYSAARI, E.A., PITKALA, A., PYORALA, S., 2007:** Distribution of bacteria and seasonal and regional effects in a new database for mastitis pathogens in Finland. *Acta Agriculturae Scandinavica* 57: 89–96.
- KOVÁČ, G., BAJOVÁ, V., BÍREŠ, J., BUGARSKÝ, A., DANKO, J., IANOVSKÝ, J., DURAN, A., 2001:** Choroby hovädzieho dobytku. Prešov. *M & M* 874 s.
- KREJČÍ, J., RYŠÁNEK, D., 2011:** Ochrana mléčné žlázy proti infekci. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. *Mastitidy skotu* 16–19.
- KUBEKOVÁ, K., 2007:** Mastitida a problémy s ní spojené. *Náš chov* 11: 65- 67.
- KUMAR, A., RAHAL, A., DWIVEDI, S.K., GUPTA, M.K., 2010:** Bacterial prevalence and antibiotic resistance profile from bovine mastitis in Mathura, India. Egypt. *Journal of Dairy Science* 38: 31-34.
- KVAPILÍK, J., 2006:** Ekonomika chovu dojeného skotu. 16 s. In: Bouška J. a kol.: Chov dojeného skotu, 186 s. Profi Press Praha.
- LAKSHMI, R., 2016:** Bovine mastitis and its diagnosis. *International Journal of Applied Research* 2: 213-216.
- LAM, T.J.G.M., OLDE RIEKERINK, R.G.M., SAMPIMON, A.C., SMITH, H., 2009:** Mastitis diagnostics and performance monitoring: a practical approach. *Iranian Veterinary Journal* 62: S34–S39.

- LANGE – CONSIGLIO, A., SPELTA, C., GARLAPP, I. R., LUINI, M., CREMONESI, F., 2014:** Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: First clinical application. *Journal of Dairy Science* 97: 6223–6230.
- LE MARECHAL, C., SEYFFERT, N., JARDIN, J., 2011:** Molecular basis of virulence in *Staphylococcus aureus* mastitis. *PLoS One* 6: e27354.
- LEITNER, G., KRIFUCKS, O., KIRAN, M.D., 2011:** Vaccine development for the prevention of staphylococcal mastitis in dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 142:25–35.
- LIMA, S.F., BICALHO, M.L.d.S., BICALHO, R.C., 2018:** Evaluation of milk sample fractions for characterization of milk microbiota from healthy and clinical mastitis cows. *PLoS One* 13: e0193671.
- LIŠKA, K., 2006:** Základní body programu prevence a tlumení mastitid. Dostupné z: <http://www.genoservis.cz/cz/poradenstvi/clanky/mastitidy-uskotu/382-zakladni-bodyprogramu-prevence-a-tlumeni-mastitid>
- MAHMMOD, Y., 2013:** The future of PCR technologies in diagnosis of bovine mastitis pathogens. *Advances in Dairy Research* 2: e106.
- MARVAN, F., 2011:** Morfologie hospodářských zvířat. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. *Brázda* 5: 3.
- MELCHIOR, M.B., VAARKAMP, H., FINK-GREMMELS, J., 2006:** Biofilms: a role in recurrent mastitis infections? *Veterinary Journal* 171: 398–407.
- MIEKLEY, B., TRAULSEN, I., KRITER, J., 2012:** Detection of mastitis and lameness in dairy cows using wavelet analysis. *Livestock Science* 148: 227–236.
- MOMANI, M.S., ŠÁDA, I., 2010:** Základy chovu zvířat v TS I. Praha: Česká zemědělská univerzita, 1. vydání.
- MOON, J.S., KOO, H.C., JOO, Y.S., JEON, S.H., HUR, D.S., CHUNG, C. I., PARK, Y.H., 2007:** Application of a new portable microscopic somatic cell counter with disposable plastic chip for milk analysis. *Journal of dairy science* 90: 2253–2259
- MUSSER, J.M.B., ANDERSON K.L., CABALLERO, M., 1998:** Evaluation of a hand-held electrical conductivity meter for detection of subclinical mastitis in cattle. *American Journal of Veterinary Research* 59: 1087-1091.
- OLDE RIEKERINK, R.G.M., BARKEMA, H.W., KELTON, D.F., SCHOLL, D.T., 2008:** Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science* 91: 1366–1377.

- OLDE RIEKERINK, R.G.M., OHNSTAD, I., VAN SANTEN, B., BARKEMA, H.V. 2012:** Effect of an automated dipping and backflushing system on somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 95: 4931-4938.
- OLIVEIRA, M., NUNES, S.F., CARNEIRO, C., 2007:** Time course biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates. *Veterinary Microbiology* 124: 187-91.
- OLIVEIRA, L., RUEGG, P.L., 2014:** Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science* 97: 5426-5436.
- ONDIEK, J.O., OGOBE, P.B., KEMBOI, F., 2018:** Clinical mastitis gives off-flavor and reduces quality of milk in smallholder goat farms. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7: 2387-2396.
- OPLETAL, L., ŠIMERDA, B., 2017:** Přírodní látky a jejich biologická aktivita: 7. Látky ovlivňující mastitidu u hospodářských zvířat. Praha.
- PATIL, M.P., NAGVEKAR, A.S., INGOLE, S.D., BHARUCHA, S.V., PALVE, V.T., 2015:** Somatic cell count and alkaline phosphatase activity in milk for evaluation of mastitis in buffalo. *Veterinary World* 8: 363-366.
- PEREIRA, U.P., OLIVIERA, D.G.S., MESQUITA, L.R., COSTA, G.M., PEREIRA, L.J., 2011:** Efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccines for bovine mastitis: A systematic review. *Veterinary Microbiology* 148: 117-124.
- PERSSON, Y., OLOFSSON, I., 2011:** Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53: 15.
- PREETHIRANI, P.L., ISLOOR, S., SUNDARESHAN, S., NUTHANALAKSHMI, V., DEEPTHIKIRAN, K., SINHA, A.Y., RATHNAMMA, D., RABHU, K., SHARADA, R., MUKKUR, T.K., HEGDE, N.R., 2015:** Isolation, biochemical and molecular identification, and *in vitro* antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from bubaline subclinical mastitis in South India. *PLoS One*. 10: e0142717.
- PRÝMAS, L., 2017:** Faremní diagnostika mastitid. *Náš chov*. LabMediaServis, s. r. o., Jaroměř. Dostupné z: <https://www.naschov.cz/faremni-diagnostika-mastitid/>.
- PYORALA, S., 2003:** Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research* 34: 565-578.
- RAJIB, D., AMIT, K., SANDIP, C., VERMA, A. K., RUCHI, T., KULDEEP, D., SUSHIL, K., 2013:** Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: A review. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 16: 1653-1661.

- RATO, M.G., NERLICH, A., BERGMANN, R., 2011:** Virulence gene pool detected in bovine Group C *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *Dysgalactiae* isolates by use of a Group A *S. pyogenes* virulence microarray. *Journal of Clinical Microbiology* 49: 2470–9.
- RAZA, A., MUHAMMAD, G., SHARIF, S., 2013:** Biofilm producing *Staphylococcus aureus* and bovine mastitis: a review. *Molecular Microbiology Research* 3: 1–8.
- REECE, W.O., 2010:** Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Praha. *Grada Publishing* a. s., 2: 480.
- RODRIGUEZ, R.R., GALANAUGH, C.F., 2007:** Advanced animal diagnostics. Microfluidic chamber assembly for mastitis assay, PCT Patent no. WO/2007/112332.
- ROSINI, R., MARGARIT, I., 2015:** Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: influence of environmental conditions and implicated virulence factors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 5: 6.
- ROSSI, R.S., AMARANTE, A.F., CORREIA, L.B.N., GUERRA, S.T., NOBREGA, D.B., LATOSINSKI, G.S., ROSSI, B.F., RALL, V.L.M., PANTOJA, J., 2018:** Diagnostic accuracy of Somaticell, California mastitis test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. *Journal of Dairy Science* 101: 10220–10229.
- RYŠÁNEK, D., 2011:** Imunoprofylaxe bovinních mastitid – skutečnost a vize. *Veterinářství* 60: 14–18.
- RYŠÁNEK, D., BABÁK, V., ZOUHAROVÁ, M., 2007:** Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Veterinarni Medicina Praha*, 52: 223–230.
- SAHAY, S., SINHA, B.P., VERMA, S.P., SINHA, B.K., THAKUR, A., 2006:** Bacterial isolates and their antibiogram from clinical cases of mastitis. *Indian Journal of Comparative Microbiology Immunology and Infections Diseases* 27: 123-123.
- SAMKOVÁ, E. 2012:** Mléko: produkce a kvalita. Vědecká monografie, České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 240 s.
- SATHIYABARATHI, M., JEYAKUMAR, S., MANIMARAN, A., JAYAPRAKASH, G., PUSHPADASS, H.A., SIVARAM, M., RAMESHA, K.P., DAS, D.N., KATAKTALWARE, M.A., PRAKASH, M.A., KUMAR, R.D., 2016:** Infrared thermography: a potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. *Veterinary World* 9: 1075–1081.

- SHARMA, H., MAITI, S.K., SHARMA, K.K., 2007:** Prevalence, etiology and antibiogram of microorganisms associated with sub-clinical mastitis in buffaloes in durg, Chhattisgarh state (India). *International Journal of Dairy Science* 2: 145-151.
- SEYDLOVÁ, R., 2012:** Mezinárodní kongres o zdraví mléčné žlázy. Profi Press. *Náš chov* 52–53.
- SHKRETA, L., TALBOT, B.G., DIARRA, M.S., LACASSE, P., 2004:** Immune responses to a DNA/protein vaccination strategy against *Staphylococcus aureus* induced mastitis in dairy cows. *Vaccine* 23: 114-126.
- SHOOK, G.E., KIRK, R.B., WELCOME, F.L., SCHUKKEN, Y.H., RUEGG, P.L., 2017:** Relationship between intramammary infection prevalence and somatic cell score in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 100: 9691–9701.
- SINHA, R., BHAKAT, M., MOHANTY, T.K., RANJAN, A., KUMAR, R., LONE, S.A., RAHIM, A., PARAY, A.R., KHOSLA, K., DANISH, Z., 2018:** Infrared thermography as non-invasive technique for early detection of mastitis in dairy animals-a review. *Asian Journal Of Dairy and Food Research* 37: 1–6.
- SLOSÁRKOVÁ, S., PECHOVÁ, A., FLEISCHER, P., STANĚK, S., 2016:** Monitoring onemocnění dojeného skotu v České republice (Monitoring of dairy cattle diseases in the Czech Republic). *Veterinářství* 66: 859-865.
- SKLÁDANKA, J., 2014:** Chov strakatého skotu. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 1. vydání.
- SMOLA, J., HAAS, D., 2003:** Nové aspekty v etiologii mastitid. In: Sborník referátů odborného semináře – Mastitidy skotu, 7-9.
- STEWART, P.S., COSTERTON, J.W., 2001:** Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 358: 135–8.
- ST. ROSE, S.G., SWINKLES, J.M., KREMER, W.D.J., KRUITWAGEN, C.L.J.J., ZADOKS, R.N., 2003:** Effects of penethamate hydriodide treatment on bacteriological cure, somatic cell count and milk production of cows and quarters with chronic subclinical *S. ueris* and *S. disgalactiae* infection. *Journal of Dairy Research* 70: 387–394.
- STUDER, E., SCHAEREN, W., NASKOVA, J., PFAEFFLI, H., KAUFMANN, T., KIRCHHOFER, M., GRABER, H.U., 2008:** A longitudinal field study to evaluate the diagnostic properties of a quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay to detect *Staphylococcus aureus* in milk. *Journal of Dairy Science* 91: 1893–1902.

- STUHR, T., AULRICH, K., BARTH, K., KNAPPSTEIN, K., LARSEN, T., 2013:** Influence of udder infection status on milk enzyme actives and soamic cell count throughout early lactation in goats. *Small Ruminant Research* 111: 139–146.
- ŠKARDA, J., ŠKARDOVÁ, O., 2000:** Program péče o produkci a zdraví stáda dojnic = Dairy herd production and health program. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací. 1: 68
- TANČIN, V., TANČINOVÁ, D., 2008:** Strojové dojení kráv a kvalita mlieka. SCPV, Nitra, 64 s VELECHOVSKÁ, Jana. Mastitidy jalovic jsou současným problémem. Profi Press. *Náš chov* 74: 64-66.
- TAPONEN, S., SIMOJOKI, H., HAVERI, M., LARSEN, H.D., PYORALA, S., 2006:** Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology* 115: 199–207.
- TENHAGEN, B.A., KOSTER, G., WALLMANN, J., HEUWIESER, W., 2006:** Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science* 89: 2542–2551.
- TREMBLAY, Y.D.N., LAMARCHE, D., CHEVER, P., 2013:** Characterization of the ability of coagulase-negative staphylococci isolated from the milk of Canadian farms to form biofilms. *Journal of Dairy Science* 96: 234–46.
- VAN ALTENA, S.E., DE KLERK, B., HETTINGA, K.A., VAN NEERVEN, R.J., BOEREN, S., SAVELKOUL, H.F., TIJHAAR, E.J., 2016:** A proteomics-based identification of putative biomarkers for disease in bovine milk. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 174: 11–18.
- VASIL', M., 2001:** Mastitidy. s. 673–707., In KOVÁČ, G., BAJOVÁ, V., (eds), 2001: Choroby hovädzieho dobytká, *M & M*, s. 878.
- VĚŘÍŠ, M., 2013:** Využití testů k rychlé diagnostice mastitid v praxi. *Náš chov* 2: 51–53.
- VĚŘÍŠ, M., KREJČÍ, J., 2017:** Zavedení faremní diagnostiky mastitid krok za krokem = Introduction of the on-farm diagnosis of mastitis step by step. Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno. *Veterinářství* 67: 371-374.
- VICKERS, A., 2000:** Clinical trials of homeopathy and placebo: analysis of the scientific debate. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 6: 49–56.
- VIGUER, C., ARORA, S., GILMARTIN, N., WELBECK, K., O'KENNEDY, R., 2009:** Mastitis detction: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology* 27: 486–493.

VOLLING, O., 2011: Udder health management in dairy herds with very low bulk milk somatic cell counts in Lower Saxony. Uni Göttingen, Thesis.

VYLETĚLOVÁ, M., 2012: Mastitidy a somatické buňky. Profi Press. *Náš chov* 72: 58-59.

VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O., 2012: Mastitidy a somatické buňky. *Náš chov* 12: 58-59.

VYLETĚLOVÁ-KLIMEŠOVÁ, M., HANUŠ, O., DUFEK, A., NĚMEČKOVÁ, I.,

HORÁČEK, J., PONÍŽIL, A., 2014: *Staphylococcus aureus* and other pathogens in relation to breed of cattle and somatic cell count. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 20: 1495–1500.

WATTIAUX, M.A., NORDHEIM, E.V., CRUMP, P., 2005: Statistical evaluation of factors and interactions affecting dairy herd improvement milk urea nitrogen in commercial mid-west dairy herds. *Journal of Dairy Science* 88: 3020-3035.

WHYTE, D., WALMSLEY, M., LIEW, A., CLAYCOMB, R., MEIN, G., 2005: Chemical and rheological aspects of gel formation in the California Mastitis Test. *Journal of Dairy Research* 72: 115-121.

WOLF, J., WOLFOVÁ, M., ŠTÍPKOVÁ, M., 2010: A model for the genetic evaluation of number of clinical mastitis cases per lactation in Czech Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 93: 1193–1204

YAMAGISHI, N., JINKAWA, Y., OMOE, K., MAKINO, S., OBOSHI, K., 2007: Sensitive test for screening for *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis by broth cultivation and PCR. *Veterinary Record* 161: 381-383.

ZAVADILOVÁ, L., ŠTÍPKOVÁ, M., SVITÁKOVÁ, A., 2014: Mastitida u dojnic – genetické vztahy k dalším znakům. *Náš chov* 2: 54-55.

ZAVADILOVÁ, L., ŠTÍPKOVÁ, M., SVITÁKOVÁ, A., KRUPOVÁ, Z., KAŠNÁ, E., 2017: Genetic parameters for clinical mastitis, fertility and somatic cell score in Czech Holstein cattle. *Annals of Animal Science* 17: 1007-1018.

260.