

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra veterinárních disciplín**



**Záněty mléčné žlázy a faktory ovlivňující jejich výskyt**

**Diplomová práce**

**Bc. Jana Nádvorníková**

**Zájmové chovy zvířat**

**MVDr. Romana Krejčířová, Ph.D.**

© 2020 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Záněty mléčné žlázy a faktory ovlivňující jejich výskyt" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce paní MVDr. Romaně Krejčířové, Ph.D. za ochotu přijmout, konzultovat a dovést do konce tuto diplomovou práci. Velké díky patří také panu MVDr. Petrovi Petrášovi za pomoc se sběrem dat a za informace, které mi k psaní práce pomohly. Děkuji svému blízkému okolí, rodičům, manželovi a přátelům za toleranci, trpělivost a poskytnutí klidného prostředí pro studium.

# Záněty mléčné žlázy a faktory ovlivňující jejich výskyt

## Souhrn

Mléčná žláza se u všech savců zakládá již v embryonálním období a mění se v průběhu života. Jejím produktem je mléko, primárně tvořené pro potřebu mláďat a dětí. Produkce mléka nabyla významu u některých druhů hospodářských zvířat zejména v souvislosti s uplatněním ve výživě člověka.

Průběh laktace je ovlivňován hormonálně. Jedná se o fyziologický proces, do kterého je zapojený celý organismus.

Mastitida je onemocnění postihující mléčnou žlázu všech savců včetně člověka. Její výskyt je ovlivněn mnoha faktory a má významný vliv na zdraví a reprodukci. Jde o zánětlivou reakci nejčastěji odpovídající na infekci mléčné žlázy bakteriemi, parazity nebo plísněmi. Záněty mléčné žlázy však mohou vznikat i bez přítomnosti infekčních činitelů, například při traumatickém poškození tkáně.

Z chovatelského hlediska je mastitida nejvíce rozšířená a ekonomicky nejvýznamnější v chovech dojnic. Dochází při ní k výrazným ztrátám v produkci mléka, rostou celkové náklady na veterinární péči, narůstá výskyt zdravotních problémů spojených s reprodukcí, snižuje se schopnost zabřezávání po inseminaci a zásadně se zvyšuje brakace zvířat.

Společným záměrem chovatelů skotu je snížit počty nemocných krav na minimum, proto je velmi důležité zabývat se genetickými i negenetickými faktory mastitidu ovlivňujících.

Cílem práce bylo na základě popisu problematiky zánětů mléčné žlázy některých živočišných druhů včetně člověka zaměřit se na situace v chovu dojnic ve vztahu k ročnímu období a fázi a pořadí laktace. Součástí posouzení těchto ukazatelů bylo i vyhodnocení výskytu konkrétních původců infekčních zánětů ve sledovaném chovu. Výsledky se ve většině případů shodovaly s informacemi uváděnými v odborných vědeckých článcích. Patogeny, které vyvolávaly záněty mléčné žlázy ve sledovaném chovu, byly totožné s patogeny vyskytujícími se na jiných farmách po celém světě, s rozdílem v poměru jejich zastoupení. Vliv patogenu na dobu léčby nemocných krav nebyl prokázán jako statisticky významný.

Jako velmi zajímavé se po vyhodnocení získaných dat ukázaly rovněž další ukazatele související s četností výskytu mastitid, jako jsou změny ve složení krmné dávky, prováděné paznehtářské práce nebo technologické úpravy dojírny. Tyto výsledky však z ohledu na rozsah datového souboru nebylo možné statisticky hodnotit.

**Klíčová slova:** mastitida, zánět, mléčná žláza, léčba, patogen

# Inflammations of the mammary gland and factors affecting their occurrence

## Summary

The mammary gland in all mammals is established in the embryonic period and it is changing during life. Its product is milk, primarily created for the needs of young and children.

The milk of farm animals has become important due to the food industry and high demands are placed on it.

The course of lactation is affected hormonally. It is a physiological process in which the whole organism is involved

Mastitis is a disease that affects the mammary glands of all mammals, including humans. Its occurrence is influenced by many factors and has a significant effect on health and reproduction. It is an inflammatory reaction corresponding to an infection of the mammary gland by bacteria, parasite or fungi. However, inflammation of the mammary gland can occur even in the absence of infection. For example by traumatic tissue damage.

From the breeding point of view, mastitis is economically most important in dairy farming. There are significant losses in milk production, rising costs for veterinary care, the incidence of reproductive problems is increasing and a significant increase in the culling of animals.

The purpose of cattle breeders is to reduce the number of sick cows to a minimum, so it is very important to know the genetic and non-genetic factors affecting mastitis.

The aim of the work was based on the description of the issue of inflammation of the mammary gland of some animal species, including humans, to focus on the situation in dairy farming in relation to the season and phase and order of lactation. Part of the assessment of these indicators was the evaluation of the occurrence of specific agents of infectious inflammation in the monitored breeding. The results were in most cases consistent with the scientific information. The pathogens that caused inflammation of the mammary gland in the study were identical to those found on other farms around the world. The effect of the pathogen on the duration of treatment of sick cows was not proven to be statistically significant.

In addition to the factors monitored on the basis of data evaluation were new possible factors identified in the results. Feed rations, hoof work or technological modifications of the milking parlor were probably related to the number of mastitis that occurred. However, these results could not be statistically evaluated due to the size of the data set.

**Keywords:** mastitis, inflammation, mammary gland, treatment, pathogen

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>1 -</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>2 -</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>3 -</b>
<b>3.1 Embryonální vývoj a anatomie mléčné žlázy</b> .....	<b>3 -</b>
3.1.1 Stavba mléčné žlázy u vybraných druhů zvířat a člověka.....	5 -
3.1.1.1 Skot.....	5 -
3.1.1.2 Ovce.....	6 -
3.1.1.3 Koza.....	6 -
3.1.1.4 Prasnice.....	6 -
3.1.1.5 Klisna.....	6 -
3.1.1.6 Fena.....	7 -
3.1.1.7 Žena.....	7 -
<b>3.2 Mléko, jeho sekrece a ejekce</b> .....	<b>8 -</b>
3.2.1 Vztah vybraných hormonů k laktaci.....	10 -
3.2.1.1 Prolaktin.....	10 -
3.2.1.2 Glukokortikoidy.....	11 -
3.2.1.3 Oxytocin.....	11 -
3.2.1.4 Somatotropní hormon (Růstový hormon).....	11 -
<b>3.3 Charakteristika zánětu</b> .....	<b>13 -</b>
<b>3.4 Zánět mléčné žlázy</b> .....	<b>15 -</b>
3.4.1 Predispozice mléčné žlázy pro vznik mastitidy.....	15 -
3.4.1.1 Struk.....	15 -
3.4.1.2 Umístění mléčné žlázy.....	16 -
3.4.1.3 Histologická stavba.....	16 -
3.4.1.4 Kojení a dojení.....	16 -
3.4.2 Původci vzniku mastitid.....	17 -
3.4.2.1 Streptokoková mastitida.....	17 -
3.4.2.2 Stafylokoková mastitida.....	19 -
3.4.2.3 Koliformní bakterie a mastitida.....	19 -
3.4.3 Klinická a subklinická mastitida.....	19 -
3.4.4 Zánět mléčné žlázy u vybraných druhů zvířat a člověka.....	20 -
3.4.4.1 Skot.....	21 -
3.4.4.2 Klisna.....	21 -

3.4.4.3	Malí přežvýkavci.....	- 22 -
3.4.4.4	Fena.....	- 22 -
3.4.4.5	Žena.....	- 23 -
<b>4</b>	<b>Materiál a metody .....</b>	<b>- 24 -</b>
<b>4.1</b>	<b>Představení podniku.....</b>	<b>- 24 -</b>
<b>4.2</b>	<b>Data pro výzkum .....</b>	<b>- 27 -</b>
4.2.1	Systém AfiFarm .....	- 27 -
4.2.2	NK test (California Mastitis Test) .....	- 27 -
4.2.3	Faremní kultivace.....	- 28 -
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>- 30 -</b>
<b>5.1</b>	<b>Výskyt mastitidy.....</b>	<b>- 30 -</b>
5.1.1	2017 – 2019 .....	- 30 -
5.1.2	Roční období .....	- 30 -
5.1.3	Fáze laktace.....	- 31 -
5.1.4	Pořadí laktace.....	- 32 -
5.1.5	Výsledky kultivace .....	- 33 -
<b>5.2</b>	<b>Vliv patogenu na délku léčby mastitidy.....</b>	<b>- 34 -</b>
<b>5.3</b>	<b>Vliv ročního období na výskyt patogenů .....</b>	<b>- 36 -</b>
<b>5.4</b>	<b>Vztah mezi neinfekční mastitidou a pořadím laktace.....</b>	<b>- 37 -</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>- 38 -</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>- 42 -</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>- 43 -</b>
<b>8.1</b>	<b>Webové zdroje .....</b>	<b>- 48 -</b>





# 1 Úvod

Mastitida je zánět mléčné žlázy. Jedná se komplexní polyfaktoriální, velmi závažné onemocnění, které vede k fyzikálním, chemickým a bakteriologickým změnám v mléce. Některé příznaky, jako jsou sraženiny a vločky v mléce, snížená produkce mléka, otok mléčné žlázy, bolest a zvýšená tělesná teplota, jsou zjistitelné vizuálně a taktilně. Mastitida nepříznivě ovlivňuje zdraví všech savců včetně člověka (Blowey 2016).

Mléko obsahuje určitý počet somatických buněk, jejichž množství je indikátorem zdraví mléčné žlázy. Pokud je mléčná žláza infikována, či mechanicky poškozena, spouští se zánětlivá reakce a imunitní systém reaguje vyplavováním bílých krvinek v místě zánětu (Schroeder 2012; Blowey 2016). Vývoj mastitidy může ovlivnit mnoho faktorů. Zánět mléčné žlázy je obvykle důsledkem invaze a kolonizace mléčné sekreční tkáně jedním nebo více patogeny. Mikroorganismy, které jsou nejčastějšími původci uplatňujícími se při vzniku mastitid, lze rozdělit do dvou rozsáhlých kategorií. První skupinou jsou nakažlivé patogeny, které se šíří vzájemným kontaktem mezi jedinci a druhou skupinou jsou volně se v prostředí vyskytující patogeny, které se nazývají enviromentální. Projev zánětu mléčné žlázy může být, stejně jako u jiných onemocnění, klinický nebo subklinický. Klinický zánět se projevuje velmi rychlým zvýšením počtu somatických buněk v mléce, poklesem produkce mléka, horečkou, apatií, nechutenstvím, změnami na mléčné žláze zahrnující zarudnutí, zvýšení lokální teploty, případně otok, změny obsahu mléka. Velmi často dochází k narušení celkového zdravotního stavu (England & Heimendahl 2010). Klinická forma mastitidy mívá rychlejší a svým projevem výraznější průběh. Při absenci léčby může způsobit trvalé zdravotní postižení jedince i smrt. Subklinická forma mastitidy může přetrvávat až několik měsíců. Často je pokračováním klinické mastitidy. Jedním z ukazatelů této formy je přetrvávající vysoký počet somatických buněk bez zjevných klinických příznaků. Mléko je vizuálně nezměněné, mléčná žláza nevykazuje žádné abnormality, celková tělesná teplota jedince se udržuje v rozmezí normálních hodnot a nedochází k výraznému poklesu produkce mléka (Callaway & Edrington 2012; Aqib et al. 2019).

Vzhledem k výrazným ekonomickým ztrátám v chovu dojníc v souvislosti s masivním výskytem zejména infekčních mastitid se diplomová práce zabývala některými vybranými ukazateli ovlivňujícími výskyt zánětů mléčné žlázy. Farma v Ústeckém kraji, v obci Úpohlavy, je zaměřena na chov holštýnského skotu a na produkci mléka. Ve tříletém období bylo zaznamenáno ve stádě složeném z 290 dojníc celkem 190 případů zánětu mléčné žlázy. Byl zpracován přehled o výskytu mastitid se zaměřením na roční období, původce, fázi laktace i pořadí laktace a vyhodnocen vztah mezi patogenem způsobujícím onemocnění a dobou léčby zánětu mléčné žlázy.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

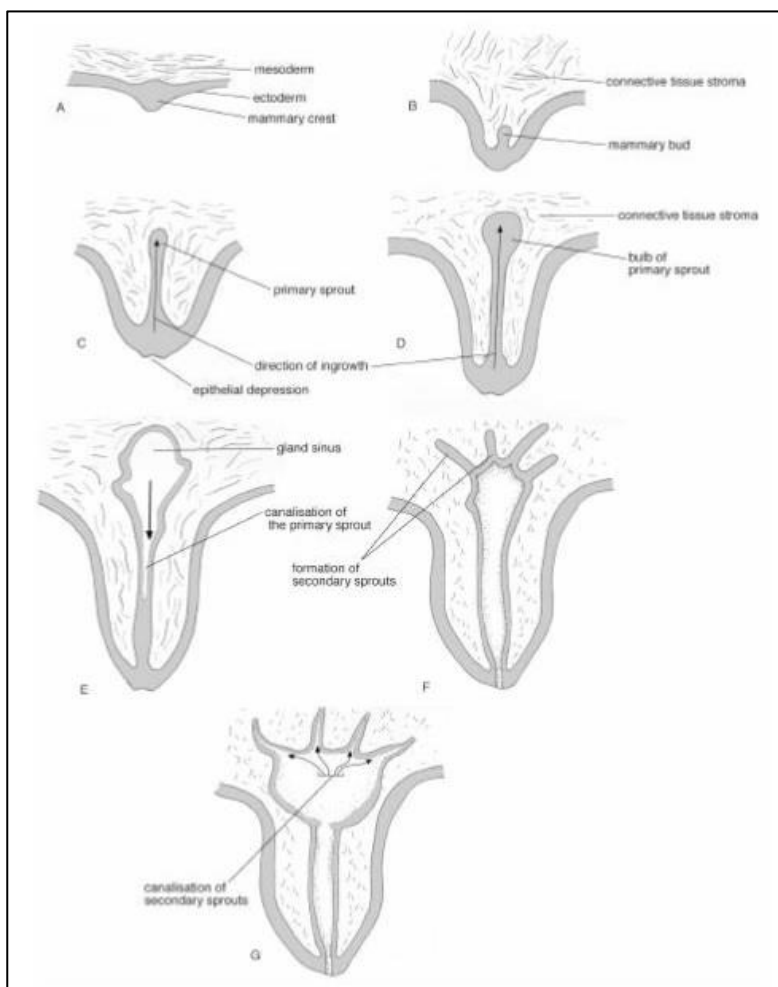
Cílem práce bylo zpracovat problematiku zánětů mléčné žlázy u vybraných druhů zvířat a člověka se zaměřením na situaci v chovu dojnic na farmě v obci Úpohlavy. V chovu dojnic byl sledován a vyhodnocen výskyt mastitid ve vztahu k ročnímu období, fázi laktace a pořadí laktace. Součástí sledovaných ukazatelů bylo i vyhodnocení výskytu původců mastitid v uvedeném chovu.

V rámci diplomové práce byla testována hypotéza, že roční období, fáze laktace a její pořadí významně ovlivňuje míru výskytu mastitid u sledované skupiny dojnic.

### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Embryonální vývoj a anatomie mléčné žlázy

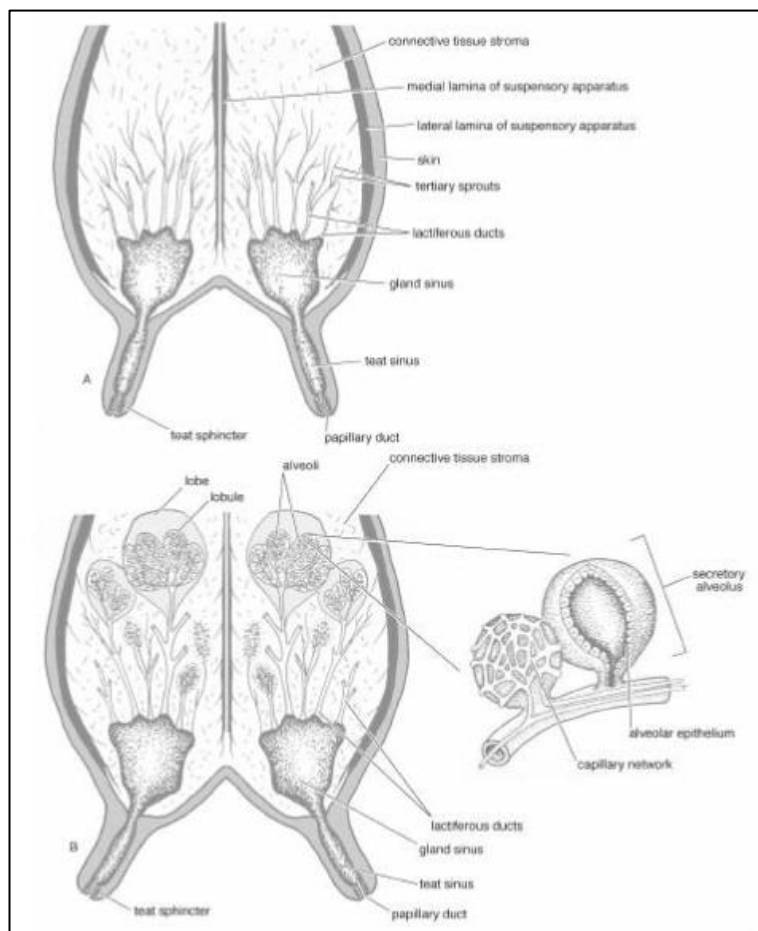
Mléčná žláza je založena již v raném embryonálním vývoji u obou pohlaví. Primárně představuje dva bělavé pruhy zesílené embryonální pokožky, zvané mléčné čáry, které vedou od podpažní jamky až k tříslům. Postupným množením epidermálních buněk se mléčné čáry mění v mléčné lišty, nacházející se ale pouze na místech, kde se bude následně mléčná žláza vyvíjet. S vyvíjejícím se zárodkem se mléčné lišty příčně dělí na mléčné hrbolky, jejichž počet odpovídá počtu struků daného druhu (Hofírek et al. 2009). Ze spodiny mléčných hrbolků se vyvinou tzv. primární čepy, představující v budoucnu mlékojem a strukový kanálek, jakožto hlavní vývod mléčné žlázy. Z primárních čepů se větví čepy sekundární, z nichž se na přelomu prenatálního a postnatálního období oddělí čepy terciální. Ze sekundárních čepů v průběhu vývoje vznikají mlékovody ústící do mlékojemu, z terciálních čepů vznikají tenčí mlékovody. Nově narozené mládě má bez ohledu na pohlaví patrné malé struky, které jsou již luminizovány a vedou do nálevkovitě se rozšiřující mléčné cisterny. Vnitřní stranu mléčné žlázy tvoří tukový polštář s výše zmíněnými čepy. Vývoj mléčné žlázy se po narození výrazně



Obrázek č. 1:  
Prenatální vývoj mléčné žlázy skotu  
A: průřez mléčnou lištou;  
B: průřez mléčným hrbolem;  
C, D: tvorba primárních čepů;  
E: luminizace primárního čepu;  
F: Tvorba sekundárních čepů;  
G: luminizace sekundárních čepů  
(McGeady 2006)

zpomaluje a dochází pouze k jejímu úměrnému růstu (McGeady et al. 2006; Hofírek et al. 2009). Prenatální vývoj mléčné žlázy skotu zobrazuje obrázek č. 1. Aktivní fáze nastává pouze u samičího pohlaví v období puberty, kdy se díky hormonálnímu působení každý ovariální cyklus bohatě větví a luminizují terciální čepy za vzniku terciálních tubulů, narůstá vazivo a dochází k výraznému zvětšení mléčné žlázy. S postupným nástupem sexuální zralosti a uvolňováním ovariálních hormonů se vývoj žláz zrychluje (Marvan et al. 1992). Estrogeny podporují rozvoj systému kanálek, zatímco progesteron podporuje vývoj sekreční tkáně. Růstový hormon a glukokortikoidy taktéž podporují vývoj kanálek. Takto vyvinutá mléčná žláza setrvává do první gravidity, kdy dochází vlivem placentárních hormonů k nejvýraznějším změnám. Pod vlivem ovariálních a placentárních hormonů dochází během gravidity k intenzivní tvorbě alveolární tkáně mléčné žlázy. Terciální tubuly se přeměňují na mléčné alveoly a tubuly, tvořící vlastní sekreční část mléčné žlázy zvanou parenchym. Zvětšováním parenchymu dochází k úbytku vazivové a tukové tkáně a mléčná se zvětšuje. Těsně před porodem začnou již funkční mléčné alveoly produkovat sekret, postupně plní bohatě prokrvované žlázy (McGeady et al. 2006; Hofírek et al. 2009). Postnatální vývoj mléčné žlázy skotu zobrazuje obrázek č. 2.

Mléčnou žlázu tvoří žlázový parenchym v podobě tubuloalveolárních apokrinních žlázek, vmezeřené vazivo a mlékovody. Žlázy se shlukují, tvoří lalůčky a společně vyústí do lalůčkového váčku. Jednotlivé lalůčky jsou spojeny pomocí vmezeřeného vaziva a tvoří větší laloky, které také spojuje vazivo (Bouška et al. 2006). Intersticiální vazivo tvoří kostru mléčné



Obrázek č. 2:  
Postnatální vývoj mléčné žlázy skotu  
A: proliferace systému mléčných kanálek;  
B: Tvorba alveolárního sekrečního systému (McGeady 2006)

žlázy i její závěsné listy. V období laktace jsou laloky především na povrchu mléčné žlázy zbytnělé a tvoří se v nich nové lalůčky prorůstající do mezilalokového vmezeřeného vaziva. Lalůčkové váčky nasedají na mlékovody tvořené sítí propojených měchýřků, které procházejí celým lalokem a různě se větví (McGeady et al. 2006). Hlavních mlékovodů je v mléčné žláze několik. Mlékovody odvádí sekret z lalůček a laloků do mlékojemu neboli mléčné cisterny, což je společná rozšířená část všech mlékovodů. Anatomicky se tato část mléčné žlázy rozděluje na část strukovou a žlázovou. Žlázová část je uložena nad základnou struku a je vyklenuta do četných výdutí, do kterých ústí hlavní mlékovody. Struková část je tvořena vývodnou strukovou trubicí a umožňuje uvolňování mléka z mléčné žlázy (Bouška et al. 2006). Před vlastním uvolněním mléka se struková trubice rozšíří a je vyplněna mlékem. V období, kdy se mléko neuvolňuje, je trubice uzavřená a slouží tak jako bariéra pro cizí částice a mikroorganismy. Fürstenbergova rozeta, což je bohatě krvené cirkulární ztlustění sliznice s obrannými buňkami, odděluje vnitřní část struku a zamezuje vniknutí infekce. Má také zásadní vliv na odtok mléka z mléčné žlázy (Bouška et al. 2006; Hofírek et al. 2009).

U mléčného skotu se někdy vyskytuje polythelie, což je stav, ve kterém se rozvíjejí drobné pomocné struky v důsledku dalšího vývoje mléčných pupenů. Tyto pomocné bradavky, označované jako pastruky, jsou obvykle umístěny kaudálněji a dorzálněji oproti normálním bradavkám. Ačkoli jsou tyto struky často základní a nedokonalé, občas jsou spojeny s malým množstvím žlázové tkáně, která může vylučovat mléko. U domácích zvířat se příležitostně vyskytuje vrozená absence jedné nebo více mléčných žláz, neboli amastie. Neúplnou luminizací primárního čepu může dojít k neprůchodnosti struku (McGeady et al. 2006).

### **3.1.1 Stavba mléčné žlázy u vybraných druhů zvířat a člověka**

Vzhledem k rozmanitosti savčích druhů existuje mnoho variací v počtu mléčných žláz, jejich umístění a složení sekretu, který produkují. Na rozdíl od běžných mléčných druhů (krávy, kozy nebo ovce), produkují například vodní savci, zejména savci v chladném prostředí, mléko s velmi vysokým obsahem lipidů a relativně malým obsahem laktózy. Vysoký obsah lipidů je nezbytný pro kojence, aby rychle vytvořili vrstvu izolačního tuku, který je chrání před chladem a poskytuje zdroj metabolicky získané vody. Rozdílnost ve stavbě mléčné žlázy a složení mléka je evoluční výhodou, která umožňuje pokrýt rozdílné nároky odlišných druhů (Akers 2002).

#### **3.1.1.1 Skot**

Vemeno skotu se vlivem šlechtění vyvinulo v mohutný orgán na spodině břicha, který svým kraniálním koncem zasahuje až k pupku a kaudálně vyplňuje celé mezinoží. U mléčných plemen často přesahuje hmotnost 25 kg. Vemeno je rozděleno mezivemennou brázdou na pravou a levou polovinu a dvěma příčnými brázdami na přední a zadní čtvrtě (Marvan et al.

1992). Čtvrtě vemene skotu nejsou zcela rovnoměrné. Břišní bývají často menší než zadní a tvoří zhruba 40 % hmotnosti vemene. Vzhledem k požadavkům na vysokou produkci mléka by vemeno mělo být polovejčitého tvaru se širokou základnou a dobře vyvinutým závěsným aparátem. Závěsný aparát tvoří dva mediální a dva laterální listy. Mediální listy jsou složeny z elastického kolagenního vaziva, tvořícího silné blány. Laterální listy již nejsou tak silné a zasahují do vmezeřeného vaziva mléčné žlázy. Každá čtvrt vemene skotu je tvořena jedním žláznatým tělesem, to je jednou mléčnou žlázou obklopenou tukovým polštářem a je ukončena jedním strukem o délce 6 až 10 cm (König & Bragulla 1999).

#### 3.1.1.2 Ovce

Vemeno ovce je malé, polokulovité a nachází se mezi pánevními končetinami. Je přilehlé k břišní stěně a rozděleno na pravou a levou polovinu. Z každé vychází 2 až 4 cm dlouhý struk. Podobně jako u skotu zasahuje do struku struková část pouze jednoho mlékojemu a na hrotu struku vyúsťuje jeden strukový kanálek, což odpovídá jedné mléčné žláze v každé polovině vemene. Závěsný aparát a uspořádání mlékojemu jsou obdobné jako u krav (Najbrt 1982; McGeady 2006).

#### 3.1.1.3 Koza

Koza má vemeno umístěné podobně jako ovce mezi pánevními končetinami, rozdělené na dvě poloviny. Liší se velikostí struků, které jsou podstatně delší, odpovídající délce struku u krávy. V každém struku se nachází jeden mlékojem a jeden strukový kanál. Žlázová část mlékojemu vyplňuje podstatně velkou část vemene a ústí do něj 6 až 9 krátkých a silných mlékovodů (Najbrt 1982).

#### 3.1.1.4 Prasnice

Vemínka prasnice jsou umístěna ve dvou řadách začínajících na hrudní stěně a končící ve stydké krajině mezi pánevními končetinami. Prasnice má 6 až 8 párů vemínek, přičemž největší jsou v hrudní oblasti a kaudálně se zmenšují. V každém vemínku se na rozdíl od výše uvedených zvířat vyskytují dvě až tři mléčné žlázy, které ve strukových částech ústí do mlékojemů a dále pak na hrotu struku vyúsťují samostatně dva až tři strukové kanálky. Každá mléčná žláza prasnice má tedy své vlastní vývodné cesty (Najbrt 1982).

#### 3.1.1.5 Klisna

Vemeno klisny je malé, polokulovité, uložené mezi pánevními končetinami. Je rozděleno na dvě poloviny podobně jako u ovcí a koz, přičemž každá polovina je zakončena vlastním strukem. Do struku ústí dva strukové kanály ze dvou mléčných cisteren. Každá

polovina má dvě funkčně oddělené mléčné žlázy, které však na první pohled vypadají jako by byly spojeny v jedno žláznaté těleso (Samper et al. 2007).

#### 3.1.1.6 Fena

Fena má mléčné žlázy rozloženy ve dvou řadách vedoucích od hrudníku mezi zadní končetiny. Na každé straně má 4 až 6 samostatných vemínek, z nichž každé je zakončeno jedním plochým krátkým strukem. Do struku ústí 10 až 15 strukových částí mlékojemů, čemuž odpovídá i počet mléčných žláz v jednom vemínku (England & Hiemendahl 2010).

#### 3.1.1.7 Žena

V prsu ženy je uloženo patnáct až dvacet tubuloalveolárních žláz. Je to největší párová kožní žláza v těle a nachází se v oblasti hrudníku mezi 3. a 6. žebrem. Minimální délka bradavky potřebná pro úspěšné kojení je přibližně sedm milimetrů (Rivard & Peterson 2019).

## 3.2 Mléko, jeho sekrece a ejekce

Složení mléka je druhově specifické a poměr jednotlivých složek je rozdílný i v průběhu laktace. Dle převládající bílkoviny lze mléko rozdělit do dvou skupin, na kaseinové (> 75 % kasein) a albuminové (> 75 % albumin) (Bouška et al. 2006).

Tvorba mléka začíná těsně před porodem nebo krátce po porodu, kdy dochází ke zvýšení enzymatické aktivity v sekrečních buňkách mléčné žlázy. Mléčné alveoly secenerují současně všechny složky mléka, nazývaného v prvních dnech po porodu mlezivo. Mlezivo má odlišné složení i vlastnosti než mléko. Některé složky mléka syntetizuje mléčná žláza, jiné vznikají například v játrech a jsou do mléka filtrovány z krve. Vysoké krevní zásobením mléčné žlázy je základním předpokladem pro tvorbu mléka (Agropress 2017).

Základní složky v mléce lze rozdělit na bílkoviny, cukry, tuky, minerální látky, vitaminy a případně ostatní složky. Většina bílkovin se syntetizuje přímo v mléčné žláze z aminokyselin z krevní plazmy. Dále se z krve filtrují fibrinogen, nebílkovinné dusíkaté látky, globuliny a albuminy. Prekurzory pro tvorbu mléčných proteinů vstupují do hrubého endoplazmatického retikula mléčné žlázy, kde se z nich syntetizují bílkoviny. Laktóza, jakožto disacharid složený z glukózy a galaktózy, je syntetizována v buňkách mléčné žlázy. Glukózu však mléčná žláza není schopná syntetizovat, proto ji získává z krevního řečiště. Většina glukózy vzniká v játrech při glukoneogenezi, u přežvýkavců je určitý podíl získáván přímo z potravy. Pro tvorbu laktózy je zapotřebí dvou molekul glukózy, kdy jedna je přetvořena na galaktózu. Společně vstupují do Golgiho komplexu, kde vzniká laktóza. Naprostá většina mléčného tuku je tvořena triacylglyceroly, které jsou tvořeny v sekrečních buňkách mléčné žlázy z glycerolu a mastných kyselin (Bouška et al. 2006; Aqib et al. 2019).

Mléko obsahuje živiny potřebné pro růst a vývoj mláďate i dítěte a je zdrojem lipidů, bílkovin, aminokyselin, vitamínů a minerálů. Obsahuje také látky, jako jsou hormony, růstové faktory, imunoglobuliny, peptidy, cytokiny, polyaminy, bioaktivní peptidy a mnoho enzymů (Aqib et al. 2019). Složení mléka má dynamické vlastnosti a liší se v závislosti na laktaci, stravě, věku, energetické rovnováze, zdraví mléčné žlázy a v případě zvířat plemenné příslušnosti. Kolostrum je od mléka v pozdní laktaci velice odlišné. Především v zastoupení bílkovin, kterých je na konci laktace v mléce dvakrát méně, než při produkci mleziva. Mléčný protein je dobrým zdrojem esenciálních aminokyselin. Lipidy v mléce jsou suspendovány nebo emulgovány ve formě tukových kuliček pokrytých membránami. Skládají se z různých typů mastných kyselin. Mléko obsahuje také antioxidanty, které zabraňují oxidaci mléka a také poskytují ochranu buňkám, které se podílejí na produkci mléka. Nejdůležitější antioxidanty v mléce jsou minerální selen a vitamíny E a A (Agropress 2017; Aqib et al. 2019). Množství základních složek mléka u vybraných druhů zvířat ukazují tabulky 1 a 2.

Zastoupení jednotlivých složek u skotu závisí na plemenné příslušnosti. Obecně se udává kolem 4 % tuku, 3,5 % bílkovin, 5 % laktózy a 0,7 % minerálů (Aqib et al. 2019).



Mléko klisny se spouští do několika dnů po porodu a je produkováno do pěti až osmi měsíců stáří hříběte. Hrubé složení mléka představuje 1,25 % tuku, 2,15 % bílkovin, 6,4 % laktózy a 0,4 % minerálních látek (Aqib et al. 2019).

Ovčí mléko je bohaté na podíl sušiny, zejména množství tuku. Uvádí se až 10,4 % tuku, 6,8 % proteinu, 3,7 % laktózy a 0,9 % minerálních látek (Reece 2011; Aqib et al. 2019). Podrobnější složení mléka u vybraných druhů zvířat znázorňují tabulky č. 1 a 2.

Významnou skupinou buněk obsažených v mléce jsou somatické buňky. Patří mezi ně z 25 % epitelové buňky a ze 75 % leukocyty, mezi něž jsou řazeny neutrofilny, makrofágy, lymfocyty a případně erytrocyty. Když dojde k narušení nebo infekci mléčné žlázy, počet somatických buněk se zvyšuje a jejich hodnota slouží jako jeden z ukazatelů zdraví mléčné žlázy. Optimální počet somatických buněk zdravé mléčné žlázy závisí na věku a pořadí laktace. Průměrné hodnoty uvádějí méně než 100 000 buněk na 1 ml mléka. V případě zánětu se počet somatických buněk může zvyšovat i na více než 1 000 000 buněk na 1 ml mléka (Sharma et al. 2011).

Tabulka č. 1:  
Albuminová mléka; složení u vybraných druhů.  
Zdroj: <https://slideplayer.cz/slide/3141506/>

Druh	Voda (%)	Sušina (%)	Tuk (%)	Kasein (%)	Laktosa (%)	Popel (%)
Člověk	87,4	12,6	4,2	0,5	7,0	0,2
Kůň	89,4	10,6	1,7	1,3	6,2	0,5
Osel	89,4	10,6	1,5	1,2	6,7	0,4
Prase	85,8	14,2	4,5	3,7	3,5	1,0
Pes	78,4	21,3	10,0	4,5	3,2	1,1
Kočka	83,1	16,9	4,5	3,8	4,8	0,6
Velryba	56,2	43,8	30,0	7,0	1,3	1,5

Tabulka č. 2:  
Kaseinová mléka; složení u vybraných druhů.  
Zdroj: <https://slideplayer.cz/slide/3141506/>

Druh	Voda (%)	Sušina (%)	Tuk (%)	Kasein (%)	Laktosa (%)	Popel (%)
Skot	87,3	12,7	3,9	2,6	4,8	0,7
Koza	87,0	13,0	4,1	2,7	4,7	0,8
Ovce	80,9	19,1	7,9	4,9	4,5	0,9
Buvol	82,8	17,2	7,5	3,6	4,8	0,7
Jak	82,2	17,8	6,5	5,8	4,6	0,9
Velbloud	87,9	12,1	3,3	2,9	4,8	0,7
Sob	67,5	32,5	18,0	8,5	2,6	1,5

Laktogeneze je proces, ve kterém je mléčná žláza schopna produkovat mléko. Její první fáze nastává v období gravidity. Stoupají hladiny progesteronu a prolaktinu a dochází ke tvorbě mléčných bílkovin a enzymů potřebných pro produkci mléka. Tukové buňky v mléčné žláze se zvětšují a na konci gravidity jsou největší buněčnou složkou mléčné žlázy. Mléčná žláza je ve fázi klidu, kterou způsobují vysoké hladiny cirkulujícího progesteronu. Je připravená na sekreci mléka v období kolem porodu, kdy hladiny progesteronu klesnou. S poklesem progesteronu dochází ke tvorbě všech složek mléka ve vysokých koncentracích. Mléko v prvních dnech po porodu obsahuje nejvyšší zastoupení všech složek mléka, jejichž koncentrace rychle klesá i díky zvyšování objemu vytvořeného mléka. Zpočátku kolísají koncentrace sodíku a chloridů a stoupá obsah laktózy, který je ustálen do několika dnů po porodu. V prvních 48 hodinách po porodu se zvyšuje obsah imunoglobulinu A, oligosacharidů a laktoferinu, které mají podstatný ochranný účinek proti infekcím. Zahájení procesu tvorby mléka zajišťuje nejen pokles progesteronu ale také zvýšené koncentrace prolaktinu, inzulínu a glukokortikoidů. Potřebné koncentrace hormonů jsou druhově specifické. Pro přežvýkavce je velmi důležitý hormon prolaktin, pro přežvýkavce je velmi důležitý růstový hormon. Stejně tak inzulín je pro monogastričké savce mnohem důležitější než pro přežvýkavce, u kterých pro transport glukózy není inzulín nutný (Neville & Morton 2001).

Zahájení sekrece mléka je složitý proces, na kterém se podílí komplex hormonů souvisejících s celkovým metabolismem. Patří mezi ně hypofyzární hormon prolaktin, somatotropní hormon, adenokortikotropní hormon, oxytocin a hormony štítné žlázy a kůry nadledvin. Uvolňování mléka z mléčné žlázy lze popsat jako reflexní děj, způsobený podmíněnými i nepodmíněnými reflexy, mezi které patří podráždění receptorů v kůži struku a i zrakové a čichové vjemy. Vlivem těchto nervových impulzů se ze zadního laloku hypofýzy vyplavuje krví do vemene výše zmíněný hormon oxytocin, který spouští kontrakci myoepiteliálních buněk. Stahy způsobují vypuzování obsahu mléčných alveol a postup mléka mlékovodů až do mléčné cisterny, odkud mléko opouští mléčnou žlázu přes strukový kanál (Hofírek et al. 2009).

### **3.2.1 Vztah vybraných hormonů k laktaci**

#### **3.2.1.1 Prolaktin**

Bylo prokázáno, že u různých druhů savců (krávy, kozy, ovce, lidé a krysy) podněcují sekreci prolaktinu stimuly spojené s dojením nebo sáním. Sekrece prolaktinu nebo jiných hormonů v reakci na dojení nebo sání však nezávisí přímo na odstranění sekretu z mléčné žlázy, protože je známo, že stimulace struků sama o sobě může indukovat sekreci prolaktinu také u nelaktujících savců. Epitel mléčné žlázy na hormon prolaktin reaguje přímo. Při přidání prolaktinu do izolovaných mléčných epitelálních buněk nebo do tkáně mléčné žlázy se zvyšuje syntéza a sekrece mléčných proteinů specifických pro mléčnou žlázu. Receptory pro

tento hormon byly identifikovány v epiteliálních buňkách mléčné žlázy u mnoha druhů a jsou klasifikovány jako členové rodiny cytokinových receptorů (Akers 2002).

### 3.2.1.2 Glukokortikoidy

Koncentrace glukokortikoidů je v krvi nízká a s výjimkou sekrecí vyvolaných stresem je během celého průběhu gravidity poměrně stabilní. Zvýšení, ke kterému dochází v době porodu, je s největší pravděpodobností indukováno také stresem. V savčích buňkách jsou přítomny specifické receptory pro glukokortikoidy. Počet na buňku se zvyšuje v průběhu gravidity a je přibližně trojnásobný během posledního trimestru. Dojení nebo sání stimuluje sekreci adrenokortikotropního hormonu, který pak podporuje sekreci glukokortikoidů. U kojících potkanů klesá sekrece glukokortikoidů v době kojení s postupující laktací. Například u krav však reakce na dojení přetrvává během laktace do značné míry nezměněná. Koncentrace kortizolu při kojení a dojení jsou přibližně dvojnásobné ve srovnání s nelaktujícími kravami. Většina studií paradoxně ukazuje, že exogenní podávání adrenokortikotropinu nebo glukokortikoidů produkci mléka inhibuje. To může být zapříčiněno množstvím léčebné dávky, protože vysoké koncentrace hormonů mohou narušit ejekční reflex. Glukokortikoidy se vážou na specifické receptory glukokortikoidů v mléčné žláze a regulují sekreci  $\alpha$ -laktalbuminu a  $\beta$ -kaseinu. Některé z těchto účinků jsou synergické s jinými regulačními hormony, jako je prolaktin (Akers 2002).

### 3.2.1.3 Oxytocin

Působení oxytocinu vede ke kontrakci svalových buněk ve vývodech mléčné žlázy. I když absolutní potřeba sekrece oxytocinu v době dojení nebo kojení se u jednotlivých druhů liší, hormon podávaný těsně před dojením či sáním mláďete zvyšuje produkci mléka během kojení a dojení. Při nedostatečném nebo problematickém spouštění mléka je možné oxytocin doplnit hormonálními preparáty. Tento hormon pravděpodobně nemá významný vliv na funkci alveolárních žláz, ale usnadňuje ejekci mléka z mléčné žlázy (Akers 2002).

### 3.2.1.4 Somatotropní hormon (Růstový hormon)

Růstový hormon je velký peptidový hormon, který je produkován a uvolňován z hypofýzy. Somatotropin byl zejména u skotu, ovcí, koz a prasat intenzivně studován kvůli jeho účinkům na metabolismus ve vztahu k produkci mléka, růstu a složení jatečně upravených těl. Působení somatotropinu způsobuje větší využití dostupných živin pro syntézu mléka. Toto rozdělení živin je pravděpodobně dosaženo přímými i nepřímými účinky

somatotropinu v játrech, tukové tkáni, mléčné žláze a dalších orgánech, kde musí dojít k metabolickým procesům, aby bylo mléčné žláze poskytnuto více živin. Přímý účinek somatotropinu na buňky mléčné žlázy je nepravděpodobný. Ve většině in vitro studií tkáň mléčné žlázy nemá somatotropin žádné stimulační účinky na syntézu mléka, s výjimkou synergického působení s prolaktinem na zvýšení syntézy kaseinu. V epitelových tkáních savců nebyly prokázány receptory pro somatotropní hormon (Martinet et al. 1999; Reece 2011).

### 3.3 Charakteristika zánětu

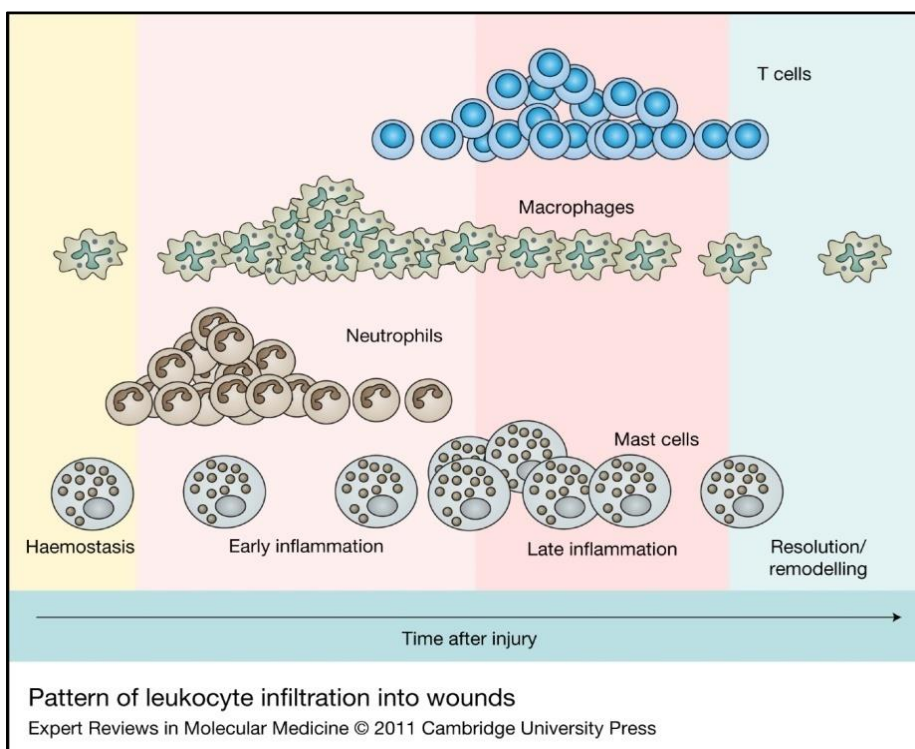
Zánět je charakterizován jako obranná reakce, která zbavuje tělo příčiny poškození buněk a výsledných nekrotických buněk, vznikajících v procesu zánětu. Přestože je průběh zánětu důležitým ochranným mechanismem, může být pro organismus zároveň škodlivý a je důležité, aby byl regulován. Mechanismus probíhající při akutním zánětu umožňuje, aby se bílé krvinky přesouvaly z krve do tkáně, kde došlo k narušení. Tomuto ději napomáhá vazodilatace a zvýšená permeabilita krevních cév. Akutní zánět může po zásahu imunitního systému zcela vymizet, nebo může mít jeden z několika dalších následků. Jedním z nich je dlouhodobý neboli chronický zánět (InformedHealth 2006). Zánětlivá odezva po poškození tkáně má důležitou úlohu jak při normálním, tak při patologickém hojení. Bezprostředně po poranění je aktivován vrozený imunitní systém a vyvolává lokální zánětlivou reakci, která zahrnuje pronikání protizánětlivých buněk do místa poranění z krevního oběhu. Tato rychlá odezva začíná degranulací krevních destiček a rezidentních žírných buněk. Lokální imunitní buňky, včetně makrofágů, jsou aktivovány prozánětlivými mediátory uvolněnými v odezvě na zranění. Tyto mediátory, jako je hormon bradykinin a histamin, způsobují vazodilataci a propustnost cév pro imunitní buňky. Vyšší průtok krve postiženým místem má za následek zčervenání a zarudnutí. Vysoké množství bílých krvinek prostupujících cévami s sebou přináší i přesun tekutiny do místa zánětu, způsobující otok zánětlivé tkáně. Výše zmíněné hormony zároveň vysílají signály nervovým buňkám, díky nimž dochází k pocitu bolesti. I to je obranná reakce těla, protože si živočich bolestivá místa více chrání a méně namáhá. V reakci na tyto procesy se podstatně zvyšují hladiny chemoatraktantů, které mají za následek navýšení počtu leukocytů v místě poranění či infekce (Kemp et al. 2008). Neutrofilů, jakožto nejhojnější se vyskytující bílé krvinky v krevním oběhu, rychle infiltrují ránu a jsou dominantními leukocyty v nejranějších stádiích zánětu. Současně s přílivem neutrofilů vstupují do rány cirkulující monocyty a diferencují se na makrofágy zralých tkání. Zvýší se také počet žírných buněk v ráně, přičemž většina pochází z okolních tkání. V pozdní zánětlivé fázi hojení ran se v lůžku rány objeví T-lymfocyty a podílejí se na remodelaci poškozeného místa. Vzhledem k tomu, že se průběh zánětu mění a počet leukocytů klesá, rána prochází dlouhým obdobím remodelace. Přesto, že klinické příznaky zánětu v této fázi nejsou nijak výrazné, mnoho studií naznačuje, že právě události této zánětlivé fáze mají významný vliv na konečný výsledek rány. Zajímavá je především úloha makrofágů, leukocytů s různorodou funkcí. Jednou z důležitých funkcí makrofágů je schopnost usnadnit odstranění neutrofilů. Neutrofilů jsou hojné v raných fázích zánětu a jsou nezbytné pro účinnou dekontaminaci. Přesto velké množství důkazů naznačuje, že neutrofilů negativně ovlivňují zánětlivý proces. Děje se tak pravděpodobně proto, že tento buněčný typ je schopen zničit i normální zdravou tkáň. Velká zátěž neutrofilů je odstraněna apoptózou a odstranění apoptotických buněk je zajištěna fagocytózou. Makrofágy reagují na neutrofilů a jejich produkty a mohou indukovat jejich apoptózu. Zároveň rozpoznávají a aktivně přijímají apoptotické neutrofilů, čímž pomáhají řešit zánět. Makrofág je tedy schopen přejít od prozánětlivé funkce k reparativní činnosti

(Kemp et al. 2008; Koh & DiPietro 2011). Postup leukocytů v procesu zánětu zobrazuje obrázek č. 3.

Do systémových projevů zánětu je řazena horečka, leukocytóza a je zaznamenávána tvorba tzv. proteinů akutní fáze, které napomáhají minimalizovat porušení tkání, regenerují poškozená místa či potlačují zánětlivé agens. Klinickými projevy zánětu jsou pak nejčastěji zarudnutí, zteplání a otok poškozeného místa v důsledku větší prokrvenosti ložiska zánětu, bolest zapříčiněná zvýšením tlaku v místě zánětu a hromaděním odpadních látek. Závěrem dochází k poruchám funkce infikované, nebo poraněné tkáně (Hořejší & Bartůňková 2005). Do procesu zánětu jsou zapojeny T-lymfocyty, B-lymfocyty, neutrofilů, bazofilů, eozinofilů, trombocytů, monocytů, plasmocytů a endotelové buňky (Šterzl 2005).

Poškození tkáně způsobené traumatem, mikrobiální invazí nebo škodlivými sloučeninami vyvolává akutní zánět. Začíná rychle, má prudký průběh a symptomy mohou trvat několik dní. Akutní zánět může zapříčinit celkový kolaps organismu. Projevuje se horečkou a vyčerpáním, způsobeným vysokou aktivitou imunitního systému a zrychleným metabolismem, který spotřebovává velké množství energie (InformedHelath 2006). Nejkritičtější forma infekce je sepsis, neboli masová invaze krve bakteriemi nebo plísněmi. Dochází k ní při vysokém množení bakterií, které se dostávají do krve, protože je imunitní systém není schopen lokálně zastavit (InformedHelath 2006; Pahwa & Jialal 2019).

Chronický zánět je charakterizován jako pomalý, dlouhodobý stav trvající několik měsíců až let. Rozsah a účinky chronického zánětu se liší podle příčiny zranění a schopnosti těla opravit a překonat poškození postižené tkáně. Může navazovat na zánět akutní, kdy je patogen schopný přežít v hostiteli v určité míře. Vzniká při vystavení organismu škodlivým látkám, které tělo není schopné enzymaticky rozložit nebo fagocytovat a zároveň ho může způsobit autoimunitní reakce organismu, při které imunitní systém napadá vlastní zdravé buňky těla (Pahwa & Jialal 2019).



Obrázek č. 3:  
Reakce leukocytů  
na poškození  
organismu.  
(Koh & DiPietro  
2011)

### 3.4 Zánět mléčné žlázy

Mastitida je definována jako zánět mléčné žlázy včetně dalších anatomických struktur jako jsou bradavky nebo mléčné alveoly. Proces zánětu zahajuje nejčastěji infekční agens, které více či méně naruší funkci mléčné žlázy a změni složení mléka (Contreras & Rodríguez 2011; Blowey 2016).

#### 3.4.1 Predispozice mléčné žlázy pro vznik mastitidy

##### 3.4.1.1 Struk

Část mléčné žlázy, odkud se mléko dostává do vnějšího prostředí, se nazývá struk. Strukový kanálek, který tvoří vertikální rýhy, umožňující elasticitu, je obklopen svěračem z hladké svaloviny. Rýhy na vnitřní straně kanálku se rozbíhají a tvoří Fürstenbergovu rozetu, která tlakem plnící se mléčné žlázy uzavírá strukový kanál a činí jej pro mléko neprůchodným (Reece 2011). Strukové kanálky i Fürstenbergovi rozety mohou být snadno mechanicky nebo vývojově narušené, čímž může dojít k porušení funkce uzavírání kanálu a snadnému vniknutí patogenů, způsobujících zánět mléčné žlázy (König & Bragulla 1999). Při příliš vysokém dlouhotrvajícím podtlaku může dojít k traumatizaci struku, jeho výhřezu a snadnému průniku bakterií do mléčné žlázy (Veauthier 2011).



Obrázek č. 4:  
Výhřez strukového kanálku  
u skotu  
(Veauthier 2011)

#### 3.4.1.2 Umístění mléčné žlázy

Umístění mléčné žlázy je druhově specifické. Prasnice, fena a kočka mají mléčné žlázy uložené ve dvou řadách po celé délce mléčných lišt. Dochází tak snadno ke kontaminaci z prostředí při poloze vleže, kdy se celá vemínka, popřípadě struky, dotýkají znečištěného podkladu. Stejně tak zvířata, která mají vemeno umístěné v kaudální části, vystavují mléčnou žlázu nebezpečí kontaminace především při ulehání a odpočinku. Nejvýhodnější umístění mléčné žlázy z hlediska rizika kontaminace mají primáti a člověk, jejichž mléčné žlázy jsou umístěny v hrudní oblasti (Akers 2002; Reece 2011).

#### 3.4.1.3 Histologická stavba

Epitelová složka mléčné žlázy je podporována mezenchymální tkání, která se vyvinula z embryonálního mezodermu. Skládá se z vláknité pojivové tkáně, tukové tkáně, krevních cév, nervů a lymfatického systému. Ve tkáni se také vyskytují příležitostné histiocyty, žírné buňky a lymfoidní buňky. Vláknitá pojivová tkáň může být rozdělena na dvě složky. Intralobulární složka, která obklopuje intralobulární kanály, sestává z jemnějších kolagenních vláken obklopených rozsáhlejší extracelulární tekutinou, zatímco interlobulární komponenta, která odděluje lobuly, má větší kolagenová vlákna a méně extracelulární tekutiny. Množství přítomné tkáně mléčné žlázy a tukové tkáně je během života velmi proměnlivé. Vzhledem k neustále se měnící histologické stavbě prsu a vemene je celá tkáň uzpůsobena k těmto změnám a nemá žádné pevné ochranné bariéry. Proto je velice snadné tkáň mechanicky narušit, což může vést až k zánětům mléčné žlázy (Sorenmo et al. 2011).

#### 3.4.1.4 Kojení a dojení

Mikroorganismy vnikají do mléčné žlázy nejčastěji přes strukový kanál. Ten může být mechanicky poškozen právě kojením nebo dojením a to jak mechanickým, tak ručním. Stejně tak patogeny nacházející se v blízkosti mléčné žlázy snadno proniknou kanálem v průběhu sání mléka mládětem nebo se přenesou z nemocného jedince na zdravého, přilnutím na dojící zařízení a špatnou hygienou dojení (Schroeder 2012).



### 3.4.2 Původci vzniku mastitid

Výskyt mastitidy je ovlivněn především třemi biogenními prvky, kterými jsou jedinec, zevní prostředí a patogen mléčné žlázy (Hofírek 2003; Sar 2019).

Celosvětově jsou nejčastějšími původci zánětu mléčné žlázy u krav, bahnic, králíků i člověka stafylokoky, konkrétně *Staphylococcus aureus* Alexander Ogston, 1880. Následují streptokoky a *Escherichia coli* Escherich, 1885, které mohou u některých druhů nebo v určitém prostředí dominovat. Méně časté agens jsou gram pozitivní *Actinomyces spp.* Bollinger, 1877, *Corynebacterium spp.* Loeffler, 1884, *Bacillus spp.* Koch, 1876, *Mycobacterium spp.* Smith, 1896, *Enterococcus spp.* Escherich, 1903, *Clostridium spp.* Feser, 1875 a gram negativní *Klebsiella spp.* Klebs, 1882, *Enterobacter spp.* Rahn, 1935, *Citrobacter spp.* Werkman and Gillen, 1932, *Serratia spp.* Bizio, 1819, *Proteus spp.* Hauser, 1885 a *Pasteurella spp.* Perroncito, 1878 (Riekering et al. 2008). V zastoupení patogenů hraje roli také geografická poloha, ve které jsou záněty mléčné žlázy pozorovány. Rozdíly existují nejen mezi farmami, ale také mezi zeměmi a kontinenty. Například v Evropě se infekce způsobené bakteriemi *Klebsiella spp.* vyskytují minoritně oproti infekcím *E. coli* a v Severní Americe je podíl obou těchto bakterií na vzniku mastitidy vyrovnaný (Contreras & Rodríguez 2011). Patogeny lze rozdělit na nakažlivé a získané z prostředí. Mezi nakažlivé patří *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* Lancefield, 1930 a *Mycoplasma spp.* Nocard and Roux, 1898. Jejich hlavním rezervoárem je mléčná žláza, proto se nejčastěji šíří v rámci jednoho jedince mezi polovinami nebo čtvrtinami vemene, nebo vzájemně mezi jedinci. Naopak původci mastitid jako jiné streptokoky, enterokoky, koliformní bakterie včetně *E. coli* a *Klebsiella* napadají organismus z prostředí. Může jím být dieta nebo podestýlka v případě hospodářských zvířat, odkud se bakterie dostávají na kůži vemene a dále strukovým kanálem infikují mléčnou žlázu (Riekering et al. 2008; Contreras & Rodríguez 2011).

Výzkum vedený Eckersallem et al. (2001) prokazuje častou kombinaci patogenů u klinických forem mastitid. Při bakteriologickém vyšetření vzorků mléka byl sledován současný nárůst kolonií *E. coli* a *Staphylococcus aureus*, či *E. coli* spolu se *Streptococcus uberis*. Mastitida tedy nemusí být spojená pouze s jedním patogenem, ale může docházet k nakažení jak z prostředí, tak i v kombinaci s infekcí přímým kontaktem.

#### 3.4.2.1 Streptokoková mastitida

Všechny streptokoky, ať už saprofyté nebo potenciální patogeny, vstupují do mléčné žlázy náhodou. Patogeny pronikají do žlázy otvorem struku a sídlí v mléce, popřípadě na povrchu mléčných kanálů, tudíž při vniknutí do hostitele neporušují tkáň. Zpočátku se velmi rychle množí a způsobují poškození ductu mléčné žlázy a masivní množení neutrofilů v poškozené tkáni. Postižené laloky ztrácí svou sekreční funkci. *Streptococcus agalactiae* se rychle šíří mezi jedinci, kteří přijdou do těsného kontaktu nebo jejich mléčná žláza přijde do

kontaktu se stejným zařízením. Mezi další streptokoky, kteří mohou způsobit mastitidu, patří *Streptococcus uberis* a *Streptococcus dysgalactiae*. *Streptococcus uberis* výrazně přispívá k nepříjemnému počtu bakterií v mléce a je odolnější vůči penicilinu. Léčba streptokokových mastitid spočívá v podávání antibiotik, jako jsou chlortetracyklin, oxytetracyklin, cefalosporin nebo kloxacilin sodný (Fraser et al. 1991; Sar 2019).

#### 3.4.2.1.1 *Streptococcus agalactiae*

*Streptococcus agalactiae* je důležitým zástupcem způsobujícím chronickou nakažlivou bovinní mastitidu. Zároveň způsobuje jiná onemocnění, nesouvisející s mléčnou žlázou u psů, koček i například křečků. U dětí infekce touto bakterií zapříčiňuje meningitidu či novorozeneckou septikémii. *S. agalactiae* je parazitem epitelu a tkání mléčné žlázy u přežvýkavců, u člověka je komenzálem v gastrointestinálním traktu. Mastitida způsobená *Streptococcus agalactiae* je specifické infekční onemocnění, které lze vyléčit (Fraser et al. 1991; Gyles et al. 2004).

#### 3.4.2.1.2 *Streptococcus dysgalactiea*

*Streptococcus dysgalactiea* se vyskytuje jako epidermální a mukózní komenzál většiny savců a ptáků a zároveň jako patogen domácích zvířat. Některé jeho kmeny jsou příčinou klinické i subklinické mastitidy u skotu (Gyles et al. 2004).

#### 3.4.2.1.3 *Streptococcus uberis*

*Streptococcus uberis* je střevní, slizniční a epiteliální komenzál skotu, který je zodpovědný za zhruba 20 až 30 % případů klinické mastitidy u stád dojnic v Severní Americe a Evropě. Zdá se, že mnoho bakterií příležitostně napadá mléčnou žlázu starších krav v podmínkách silného znečištění prostředí výkaly. Po vstupu přes strukový kanál se bakterie váže, proliferuje a indukuje příliv neutrofilů do sekrečních částí, což je patrné po 24 hodinách. Následuje septický edém a nekróza alveol. Streptokoky jsou buď volné, nebo uvnitř makrofágů v alveolech, vzácně i v neutrofilech. Jsou také přítomny v lymfatických cévách a lymfatických uzlinách. Závažnost mastitidy se velmi liší a je určována virulencí kmene, počtem infikujících organismů, ročním obdobím, imunitním stavem krávy, paritou a stadiem laktace (Gyles et al. 2004).

#### 3.4.2.2 Stafylokoková mastitida

Stafylokok je v současné době jeden z nejvýznamnějších původců mastitidy. Způsobuje jak akutní tak i chronickou formu mastitidy. Na rozdíl od streptokoků nekolonizují stafylokoky kůži, ale infikují pouze mléčnou žlázu. Pokud se vyskytne stafylokoková mastitida, je vysoká pravděpodobnost, že akutní onemocnění přejde do chronické fáze bez úplného vyléčení. *Staphylococcus aureus* způsobuje často až gangrenózní mastitidu. Akutní mastitida může být systematicky léčena vhodným antibiotikem, například erytromycinem, streptomycinem, oxytetracyklinem nebo chlortetracyklinem. Mnoho kmenů *Staphylococcus aureus* jsou rezistentní na penicilin. Léčba subklinické infekce nebývá úspěšná. Pravděpodobnost úspěšné léčby závisí na imunitním stavu zvířete, jeho věku a patogenním kmenu. S rostoucím věkem zvířete a zvyšujícím se počtem somatických buněk v mléce úspěšnost léčby klesá. Přes to, že aplikace různých antibiotických prostředků in vitro často patogen zastaví, aplikace léčiv in vivo v souvislosti s mnoha dalšími faktory není schopná patogen dostatečně oslabit a jedince zcela vyléčit (Fraser et al. 1991; Barkema et al. 2006).

#### 3.4.2.3 Koliformní bakterie a mastitida

Nejčastěji se vyskytující koliformní bakterie jsou *E. coli*, *Enterobacter* a *Klebsiella spp.*. Bakterie se při napadení organismu rychle množí a spouští zánětlivou reakci organismu. Tato reakce ničí patogeny, čímž uvolní jejich endotoxiny. Výsledná toxémie způsobuje místní i systémové příznaky akutní mastitidy. V některých případech až gangrenózní mastitidy. Teplota organismu stoupá až ke 42°C, sekrece mléka ustává, dochází k nechutenství, depresi, dehydrataci a rychlému úbytku hmotnosti. Častá je také přítomnost průjmu. Jedinečnou vlastností tohoto onemocnění je to, že se při úspěšné léčbě vrátí tkáň do původního stavu a mléčná žláza dále funguje bez omezení. Léčba je doporučována antibiotiky oxytetracyklin, ampicilin nebo kombinací penicilinu a streptomycinu (Fraser et al. 1991).

Koliformní bakterie jsou normální obyvatelé půdy, trávicího traktu a hnoje. Hromadí se a množí se v kontaminovaném prostředí. Akutní koliformní mastitida se vyskytuje primárně v prvním trimestru. Přenos mezi jedinci je minimální. V 60 – 80 % případů infekce koliformními bakteriemi dochází k intramamární infekci, zatímco pouze 15 – 23 % vede k akutním systémovým příznakům (Chase et al. 2017; Sar 2019).

#### 3.4.3 Klinická a subklinická mastitida

Klinická mastitida má akutní krátkodobý průběh, při kterém dochází k výraznému zvýšení somatických buněk v mléce, horečkám, nadměrné produkci zánětlivých proteinů, vizuálním změnám na mléčné žláze a narušení celého organismu. Tento typ zánětu mléčné

žlázy způsobují především gram negativní bakterie, jako je *E. coli*. Gangrenózní mastitida je akutní a nejfatálnější formou mastitidy, při které vznikají abscesy a dochází k nekrotizaci tkáně. Postižené žlázy jsou tmavé, oteklé a studené. Nekrotická tkáň mléčné žlázy se v konečné fázi zcela rozpadne (England & Heimendahl 2010; Wolfenson et al. 2016). Gangrenózní mastitida u feny je zobrazena na obrázku č. 5.



Obrázek č. 5:  
Gangrenózní mastitida u feny (England & Heimendahl 2010)

Subklinická mastitida je dlouhodobé onemocnění mléčné žlázy s vysokým obsahem somatických buněk v mléce, často na první pohled bezpříznakové, trvající i několik měsíců. Lze najít lokální nebo systémové známky zánětu, jako jsou vločky v mléce nebo změna barvy mléka. Ve spojitosti s reprodukcí je toto onemocnění nežádoucí, protože dochází k narušení folikulogeneze a tím výrazně snižuje procento zabřeznutí zvířete či otěhotnění. Subklinickou mastitidu způsobují především gram pozitivní bakterie *Staphylococcus aureus*, koaguláza – negativní stafylokoky, streptokoky a další. Zánět je charakterizován sníženou produkcí mléka, nesprávným poměrem sodíku a draslíku, vysokým obsahem bakterií v mléce a zároveň žádnými viditelnými změnami na mléčné žláze. Vzácně dochází k zánětu mléčné žlázy mimo období laktace, takový zánět je nazýván periduktální a je často spojován s abscesy. Postihuje sekreční i nesekreční části (Contreras & Rodríguez 2011).

#### 3.4.4 Zánět mléčné žlázy u vybraných druhů zvířat a člověka

Mastitida je specifická úzkou spojitostí s reprodukcí a s obdobím laktace. Vyjma dojného skotu či jiných zvířat s mléčnou užitkovostí, kde je laktace v období mezi porody v podstatě nepřetržitá, dochází k mastitidám obvykle v období před porodem a po porodu,

dokud je mléčná žláza aktivní. Mastitida se může projevit i v případě falešné březosti (England & Hiemendahl 2010).

#### 3.4.4.1 Skot

V celosvětovém měřítku jsou záněty mléčné žlázy dojného skotu nejčastějším a ekonomicky nejzávažnějším problémem. Velmi důležitou roli zde hrají hygiena dojení, technologie ustájení, kvalita objemných krmiv a organizace stáda. Mastitida neohrožuje chovy skotu jen pro sníženou produkci mléka. Negativně působí také na reprodukci, která je pro toto odvětví stejně důležitá jako kvalita mléka. Existuje velké množství antimastitidních programů, zajišťujících prevenci proti vzniku tohoto onemocnění a různé formy řešení při rozšíření infekce ve stádě. Pokud má chov podmínky pro radikální řešení infekcí, doporučuje se vyřadit jedince s počtem somatických buněk nad 700 000/ml, u kterých je léčba mastitidy nerentabilní a často neefektivní. Vzhledem k významnému postavení tohoto onemocnění v chovu skotu je mastitida u krav nejlépe popsána a zdokumentována. Význam patogenů se postupně mění dle aktuálních poznatků. Od roku 2006 celosvětově klesá počet somatických buněk v mléce snížením počtu subklinických infekcí. Z důvodu zvyšujících se rezistencí bakterií na antibiotika se snížení počtu klinických případů nemění. Mění se ale často spektrum bakterií, mastitidu způsobujících. V Evropě začíná v posledních letech nabývat na významu *Streptococcus uberis*. Mastitida je jednou z hlavních příčin užívání antibiotik u dojnic (Tenhagen et al. 2006; Zelinková 2008).

#### 3.4.4.2 Klisna

Výskyt mastitidy se u kobyly vyskytuje ojediněle. Vemeno není zvětšené, často je překryté předporodním edémem a kvůli jeho pigmentaci není vidět ani zarudnutí. Proto se příznaky svědčící o probíhající zánětu mléčné žlázy obvykle připisují jiným původcům. Vzhledem k nízkému výskytu se v mnoha případech neprovádí ani CMT test, neboli odběr vzorku mléka prokazující zvýšený počet somatických buněk, který by mastitidu odhalil. Zánět je pevně vázaný na laktaci a nejčastěji se vyskytuje těsně před porodem nebo po porodu, kdy je mléčná žláza nejvíce aktivní. V období 3 dnů před porodem a bezprostředně po porodu byly kultivací nejčastěji prokázány gram pozitivní bakterie, zejména  $\beta$ -hemolytické streptokoky. Ve vzorcích jsou často nalezeny také stafylokoky, *E. coli* a *Klebsiella spp.* (Kottman et al. 1999).

Léčba spočívá v lokálním podávání antibiotik. Důležité je do léčby zahrnout oba mléčné kanály nacházející se v jedné polovině vemene (Kottman et al. 1999).

#### 3.4.4.3 Malí přežvýkavci

U ovcí a koz není mastitida tak častá jako u skotu. Vyskytuje se v poporodním období, zejména na začátku laktace zhruba do poloviny doby kojení mláďat. Predispozice pro vznik zánětů mléčné žlázy jsou především špatné složení krmné dávky, chyby v ustájení, poranění vemene nebo předčasné ukončení laktace brzkým odstavením mláďat. Prevalence subklinické mastitidy u malých přežvýkavců je v průměru 5–30 %. Roční výskyt klinické mastitidy je ale obecně nižší než 5 %. *Staphylococcus spp.* je nejčastější patogen zodpovědný za intramamární infekci malých přežvýkavců. Mastitida způsobená *Staphylococcus aureus* by měla být léčena kvůli závažnosti klinických příznaků a také kvůli riziku kontaminace mléčných výrobků. Diagnostika zánětů mléčné žlázy probíhá pomocí kultivace bakteriálních kolonií ze vzorku mléka (Elečko et al. 1977; Contreras et al. 2007).

#### 3.4.4.4 Fena

Mastitida u fen není příliš často v odborné literatuře popisována. Zánět mléčné žlázy se u feny objevuje nejčastěji mezi 6. a 10. dnem po porodu, může ale propuknout i při falešné březosti nebo z důvodu předčasného odstavení štěňat. Mezi hlavní patogeny způsobující toto onemocnění u fen patří podobně jako u ostatních zvířat různé druhy *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* a *Escherichia coli*. Mléčná žláza je zvětšená, bolestivá a horká, kůže často ztvrdlá a nafialovělá s pozměněným sekretem. V pokračující fázi se mohou tvořit abscesy. Sekret je z počátku nahnědlý, hnisavý s obsahem vloček, později se barví do žluta a je výrazně hustý. Příležitostně jsou pozorovány systémové příznaky, jako je nechutenství, horečka, apatie. Systémové příznaky se často vyskytují u akutní fáze mastitidy. Mléko z postižené mléčné žlázy obsahuje zvýšené množství chloridů a stává se tak alkalickým (Ververidis et al. 2007; Vasii et al. 2017).

Léčbu mastitidy detailně popisují England a Heimendahl (2010). Je spojena s podáváním širokospektrých antibiotik v závislosti na pH mléka. Pokud pH dosahuje hodnot < 7,4, nasazuje se nejčastěji 21 denní antibiotická léčba ve formě perorálního užití látek jako je sulfadiazin, erytromycin nebo lincomycin. Pokud pH mléka převyšuje hodnotu 7,4, nasazuje se antibiotikum ampicilin ve formě injekcí nebo cefalexin užívaný v tabletách. Chloramfenikol, doxycyklin a tetracyklin jsou antibiotika podávaná bez ohledu na pH mléka. Jejich aplikace se však nedoporučuje z důvodu vedlejších účinků projevujících se na štěňatech. V případě akutní formy mastitidy není léčba antibiotiky příliš důležitá, protože již byla narušena bariéra oddělující plasmu a mléko. V tomto případě je nutné manuální odčerpávání mléka, aby nedošlo k jeho akumulaci v mléčné žláze. Pokud nejde o gangrenózní mastitidu, je možné nechat štěňata dál sát mléko od matky. Gangrenózní mastitida znamená z důvodu infikovaného mléka pro štěňata okamžitý odstav.

#### 3.4.4.5 Žena

V mnoha případech vzniká mastitida u žen z počátku neinfekčně. Dochází k ní hromaděním zbytků mléka v prsu. Tato mastitida se neléčí, doporučuje se časté kojení primárně z postiženého prsu, masáž prsu při kojení a dostatečný pitný režim matky. Neinfekční mastitida se často vlivem poranění vyvine v mastitidu infekční (Baby-Friendly Hospital Initiative 2009).

Patogeny podněcující zánět mléčné žlázy u člověka jsou částečně shodné s patogeny, vyskytujícími se u zvířat. Jsou to *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Streptococcus agalactiae* a *Staphylococcus aureus*. Podrobné sledování těchto patogenů u zvířat může pomoci ke zdokonalení léčby v humánní medicíně (Zadoks 2011).

Akutní infekce nejsou život ohrožující, ale mohou přivodit vysoké horečky a lokální změny na prsu. Mírná až střední infekce je léčena perorálním podáváním antibiotik cloxacilin a dicloxacilin. Závažné infekce jsou léčeny oxacilinem nebo nafcilinem. Navzdory terapii se u 4 – 10 % postižených žen vyskytují na mléčné žláze abscesy, které jsou řešeny chirurgickou drenáží (Schlossberg 2008).

## 4 Materiál a metody

Analýza dat nashromážděných za roky 2017, 2018 a 2019 ze záznamů veterinárního lékaře, záznamů autorky práce a faremního systému AfiFarm hodnotila výskyt zánětů mléčné žlázy u skotu na farmě v Úpohlavech na různých úrovních. U dojnic byl sledován výskyt mastitid v závislosti na pořadí laktace, fázi laktace, patogenu způsobujícím onemocnění a ročním období. Dále byla zaznamenávána a statisticky vyhodnocena délka léčby nemocných krav a její případná souvislost s patogenem ji podněcujícím. Diagnostika mastitidy byla prováděna NK testem, patogen byl určen pomocí faremní kultivace a doba léčby zahrnovala období mezi první a poslední dávkou léčiv, nikoliv dobu přítomnosti antibiotik v mléce.

### 4.1 Představení podniku

Akciová společnost ZS Slatina pod Hazmburkem je producentem živočišné a rostlinné výroby hospodařící v Ústeckém kraji na Litoměřicku. Podnik hospodaří na 1720 ha půdy, kde pěstuje ozimý a jarní ječmen, ozimé žito, pšenici a řepku, kukuřici na kukuřičnou siláž, vojtěšku, hrách s podsevem vojtěšky, travu a na 35 ha také chmel.

Živočišná výroba má dvě hlavní střediska. Celkem je na farmě chováno 640 kusů holštýnského skotu. Produkční stáj v Úpohlavech, která čítá do 290 holštýnských krav a 90 telat do dvou měsíců věku, a výkrmnu jalovic ve vedlejší obci Želechovice s 24 telaty a 201 jalovicemi, jejichž reprodukce je zajišťována synchronizací říje pomocí hormonálních prostředků. Po sonografickém vyšetření a potvrzení březosti jsou jalovice převáženy do sekce, kde jsou pohromadě všechna březí zvířata. Do Úpohlav se přemísťují zhruba měsíc před otelením jako vysokobřezí jalovice, které nadále až do přesunu na porodnu sdílí stáj a venkovní výběh se zaprahými kravami. Do roku 2019 byli v Želechovicích vykrmováni i býci holštýnského skotu. Od roku 2019 jsou býčci prodáváni ve věku dvou měsíců a počty vykrmovaných býků byly zredukovány na posledních 50 kusů.



Pod živočišnou výrobou spadá také chov masného skotu plemene Aberdeen Angus. Stádo o 30 kusech je složeno z krav a jalovic a vyjma zimních měsíců se pase střídavě ve dvou výbězích v obci Slatina pod hradem Hazmburk. V zimě je stádo ustájeno v odchovně jalovic v obci Želechovice a krmeno senem.

Obrázek č. 6:  
Stádo masného skotu ve výběhu pod hradem Hazmburk  
(autorka práce)



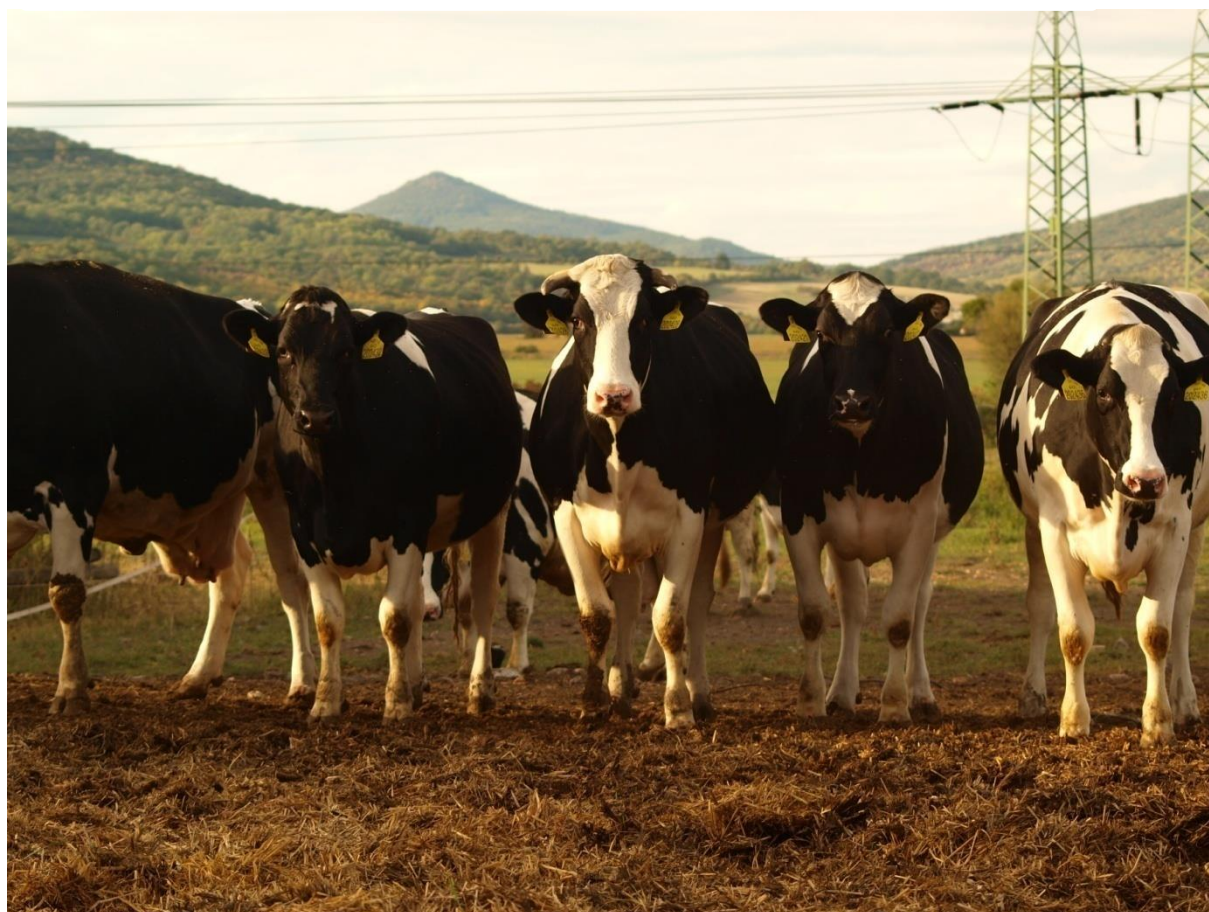
Chov dojnic stojí na uzavřeném obratu stáda. Produkční krávy jsou rozděleny do 4 skupin v závislosti na fázi a pořadí laktace. Oddělená stáj pro vysokobřezí jalovice a zaprahnuté krávy má k dispozici výběh s možností pastvy. Ostatní zvířata jsou volně ustájena v prostorech se stlanými lehacími boxy a podestýlkou vyhrnovanou dvakrát denně. Krmná dávka se na krmný stůl zakládá taktéž dvakrát denně a vyjma zaprahnutých krav, vysokobřezích jalovic a porodny se obsahově nemění. Krmná dávka je složena z kukuřičné siláže, vojtěškové senáže, slámy, obilného a řepkového šrotu, minerálních doplňků, chráněného tuku, melasy, soli a od podzimu roku 2019 i cukrovarských řízků. Dojení probíhá dvakrát denně v rybinové dojárně pro 20 krav. Krávy jsou zaprahovány aplikací antibiotického

preparátu Drycloxa-kel, který zajišťuje ochranu mléčné žlázy před patogeny v období stání na sucho. Díky synchronizaci říje u pohlavně dospělých jalovic se počet kusů ve stádě úspěšně zvyšuje a zlepšují se i výsledky, vzhledem k možnosti vyřazování starých a neprodukcčních dojníc. Ke konci roku 2019 stádo čítalo 124 krav na první laktaci, 64 krav na druhé laktaci a 94 dojníc na třetí a vyšší laktaci. Konkrétně se jednalo o 43 zvířat na třetí laktaci, 17 krav na čtvrté laktaci, 18 krav na páté laktaci, 12 krav na šesté laktaci, po jednom kuse na sedmé a deváté laktaci a 2 krávy v osmé laktaci.

Za rok 2019 bylo do mlékárny dovezeno 2 245 463 litrů mléka. Průměrný nádoj na ustájenou krávu činil na konci roku 25 litrů a na dojenou 28 litrů.

Obrázek č. 7:

Zaprahnuté krávy a vysokobřezí jalovice na pastvě ve středisku Úpohlavy  
(autorka práce)



## 4.2 Data pro výzkum

Sběr dat probíhal sloučením informací ze zápisů faremního veterinárního lékaře, karet zvířat, poznámek autorky diplomové práce a informací ze stájového systému AfiFarm. Zaznamenáno bylo evidenční číslo krávy, datum jejího narození, pořadí laktace, datum otelení, datum zjištění mastitidy, zodpovědný patogen, byl-li prokázán, postižená čtvrt, délka léčby a počet dní od otelení. Pro možnost lepšího vyhodnocení výsledků byly určeny fáze laktace, viz tabulka č. 3. Data byla zaznamenávána od ledna roku 2017 do prosince roku 2019. Roční období byla rozdělena dle slunovratu a rovnodennosti, podle kterých jaro začíná 20. března, léto 21. června, podzim 22. září a zima 21. prosince.

Tabulka č. 3:  
Rozdělení laktace pro vyhodnocení výsledků

<u>FÁZE LAKTACE</u>	<u>DNY LAKTACE</u>
1. FÁZE LAKTACE	0 – 100 DNÍ
2. FÁZE LAKTACE	101 – 200 DNÍ
3. FÁZE LAKTACE	201 DNÍ – ZAPRAHNUTÍ

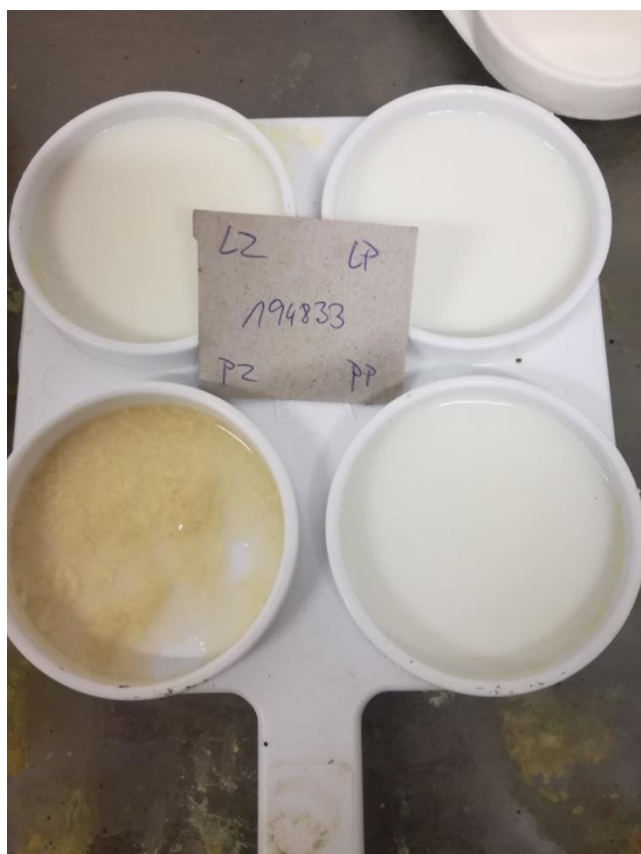
### 4.2.1 Systém AfiFarm

Afimilk je firma, která je předním světovým producentem počítačových systémů pro moderní mléčnou farmu a pro správu stád. Od roku 1977 je Afimilk průkopníkem v oboru se zavedením prvního elektronického měřiče mléka. Od té doby společnost na základě své silné výzkumné a vývojové skupiny nadále poskytuje špičková řešení pro dojírnou. Produktová řada společnosti Afimilk je automatizovaný modulární systém pro intenzivní správu mléčných farem. Plně integrovaný software AfiFarm shromažďuje informace o každém zvířeti a ukládá, analyzuje a zobrazuje data ve zprávách. To poskytuje zemědělcům informace v reálném čase o zdraví a plodnosti jejich stáda, kvalitě mléka, produktivity a dalších kritických faktorech (Afimilk Ltd. 2019).

### 4.2.2 NK test (California Mastitis Test)

NK test je rychlý stájový test mléka, který umožňuje detekovat zvýšený počet somatických buněk v mléce pomocí reakce s detergentním činidlem. Může být proveden

během dojení a výsledky jsou okamžitě k dispozici. Ukazuje kvalitu mléka z jednotlivých čtvrtí, aby bylo možné odebrat vzorky pro bakteriologické vyšetření a rozhodnout o možnostech léčby. NK test prokazuje pouze vysoký počet somatických buněk (> 400 000/ml). Speciální nádoba na NK test obsahuje čtyři oddělené misky, pro mléko z jednotlivých čtvrtí. Nadojené mléko se následně smíchá s detergentním činidlem, které zničí cytoplasmatickou membránu somatických buněk a reaguje s jejich DNA za vzniku gelu. Čím hustší je gel, tím více somatických buněk mléko obsahuje (Scott et al. 2011, Cockroft 2015).

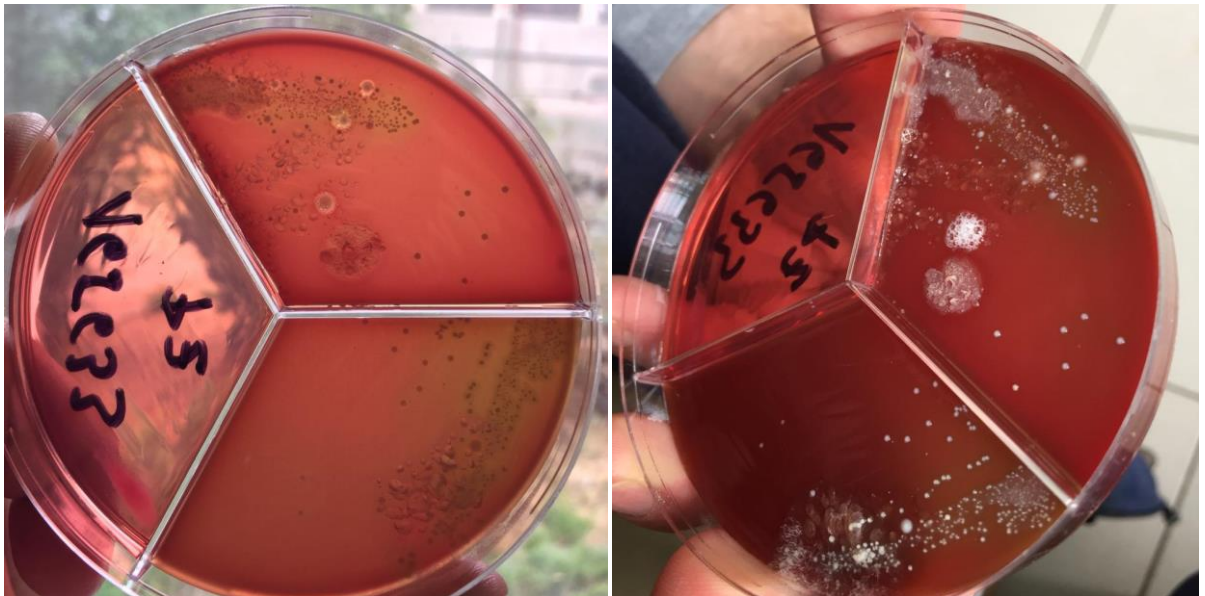


Obrázek č. 8:  
Vzorek mléka ve speciální nádobě na NK test  
(autorka práce)

#### 4.2.3 Faremní kultivace

Pěstování bakterií v čisté kultuře je stále jednou z nejpoužívanějších metod mikrobiologického vyšetření. Mnoho bakterií, zejména těch, které jsou příčinou onemocnění, je heterotrofních, což znamená, že se využívají organické sloučeniny, které jim poskytují energii. Některé bakterie také potřebují dodání nutričních složek, jako jsou vitamíny. Musí být vytvořeno vhodné fyzikální prostředí, kde jsou kontrolovány a udržovány důležité faktory

jako je teplota, pH a koncentrace atmosférických plynů. Nutriční potřeby bakterií mohou být uspokojeny prostřednictvím specializovaných mikrobiologických médií, která obvykle obsahují extrakty proteinů (jako zdroj uhlíku a dusíku), anorganické soli, jako je fosforečnan draselný nebo síran sodný a v některých případech sacharidy, jako je glukóza nebo laktóza. Pro faremní kultivaci je jako médium používán agar, polysacharid získaný z červených řas *Rhodophyceae sp.* (Yoon et al. 2006). Agar poskytuje solidní růstový povrch pro bakterie, na kterém se reprodukuje, dokud se nevytvoří výrazné hrudky buněk, které jsou nazývány kolonie. Tyto kolonie svým tvarem, popřípadě reakcí s jinou látkou, umožní jejich taxonomické zařazení (Sar 2019).



Obrázek č. 9:  
Výsledné kolonie bakterií získané faremní kultivací  
(autor práce)

## 5 Výsledky

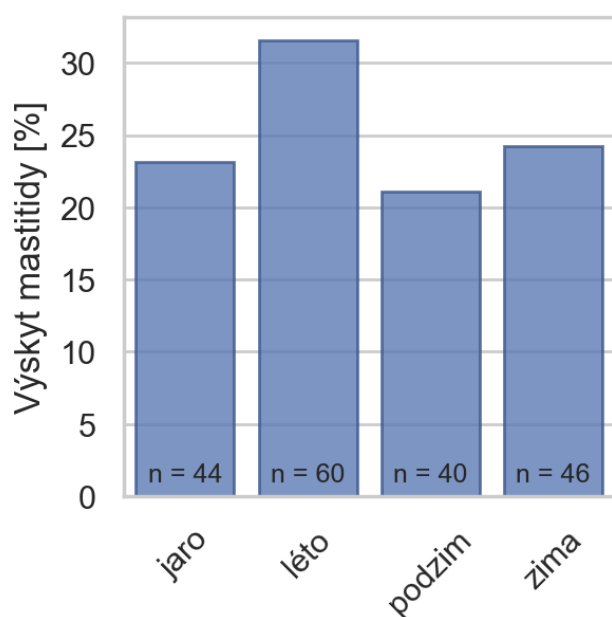
### 5.1 Výskyt mastitidy

#### 5.1.1 2017 – 2019

Data byla sbírána v rozmezí let 2017–2019. Počet diagnostikovaných mastitid se mezi jednotlivými roky téměř nelišil (**2017 = 33 %**, **2018 = 27 %**, **2019 = 30 %**). Celkem bylo vyhodnocováno 190 výskytů zánětu mléčné žlázy.

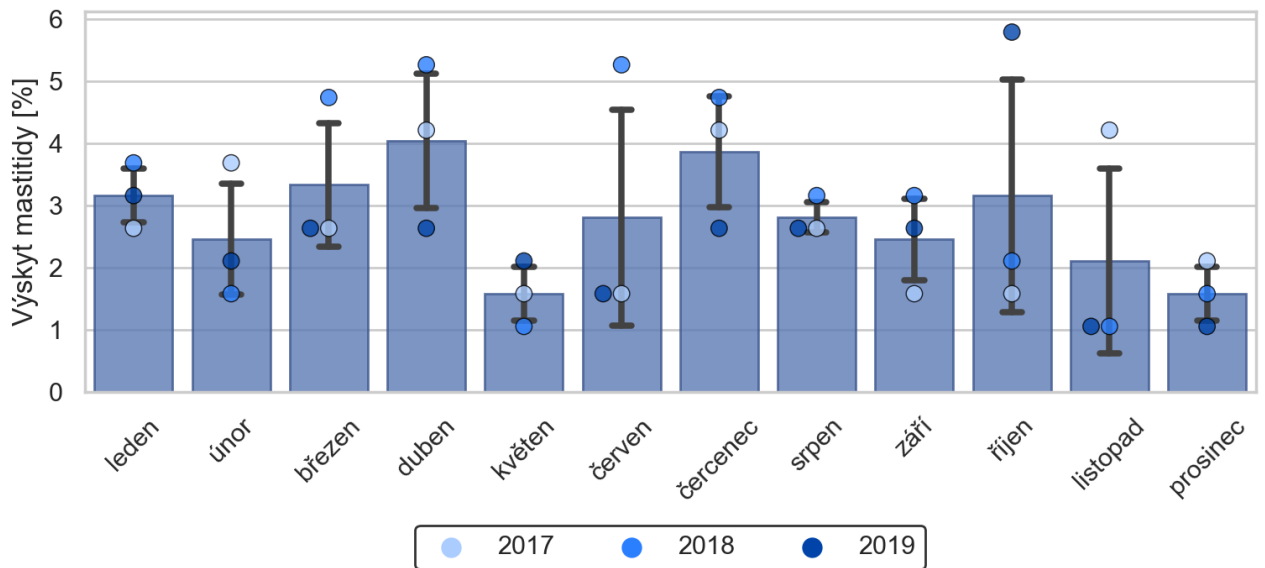
#### 5.1.2 Roční období

Výskyt mastitidy v obdobích **jara**, **podzimu a zimy** se významně nelišil. Během těchto období se vyskytovalo kolem **23 %** případů. Naopak v **letním** období byl **nárůst o 9 %**, tedy 32 % všech výskytů mastitidy v rámci celého roku. Následující graf č. 1 zobrazuje statistiku v procentech výskytu onemocnění mléčné žlázy v jednotlivých obdobích.



Graf 1: Výskyt mastitidy v závislosti na ročním období

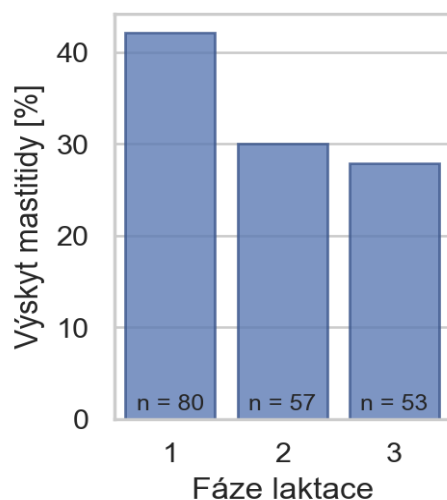
Z důvodu jisté odlišnosti pro letní období byl zpracován graf č. 2 pro jednotlivé měsíce s ohledem na jednotlivé roky. Podrobnější statistické měření by vzhledem k omezenému počtu dat nebylo objektivní a přínosné.



Graf 2: Výskyt mastitidy v jednotlivých měsících s ohledem na roky 2017 - 2019

### 5.1.3 Fáze laktace

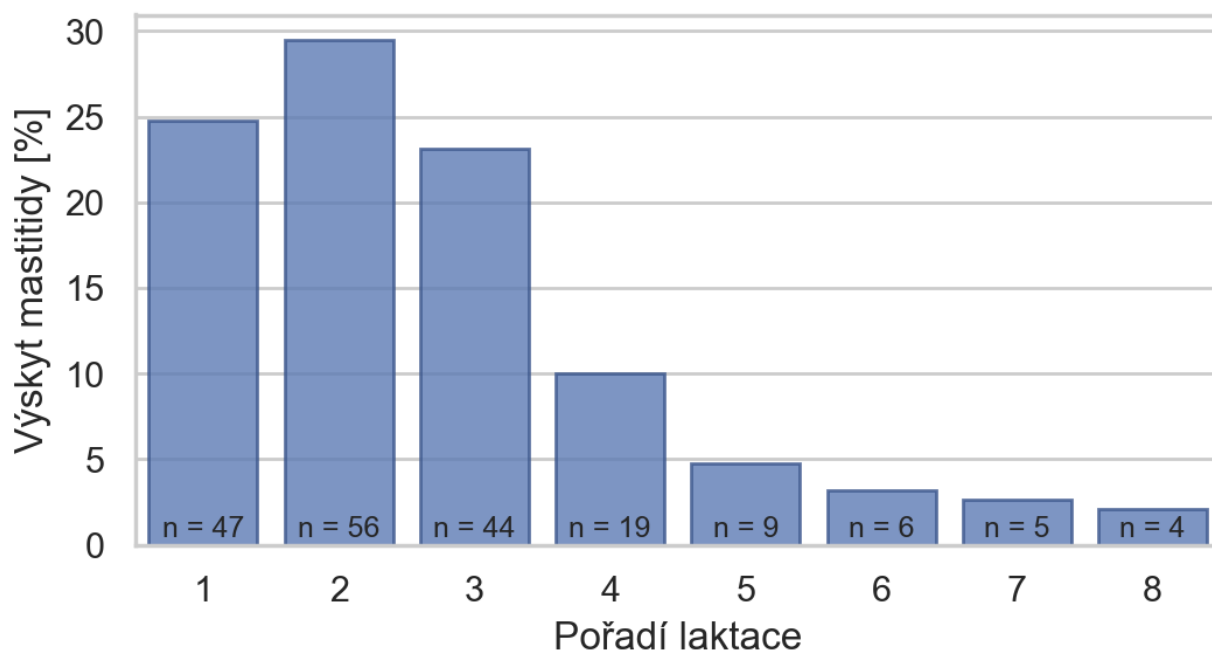
Výskyt mastitidy v různých fázích laktace byl opět porovnán na základě rozdílů v procentech výskytu onemocnění. V **první fázi** laktace, trvající do 100 dnů od otelení, bylo identifikováno o **12 % více** klinických mastitid než ve **druhé a třetí fázi**, které se od sebe **neliší**. Grafické znázornění je zobrazeno na grafu č. 3.



Graf 3: Výskyt mastitidy v jednotlivých fázích laktace

#### 5.1.4 Pořadí laktace

Výsledky vlivu pořadí laktace na diagnostikované mastitidy ukázala následující data. Nejrizikovější skupiny krav pro onemocnění zánětem mléčné žlázy byly dle výsledků jedinci na první, druhé a třetí laktaci. Rozdíly mezi nimi nejsou významné. Od čtvrté laktace docházelo k dramatickému poklesu o více než 15 % a tento pokles pokračoval s následujícími laktacemi, viz graf č. 4.

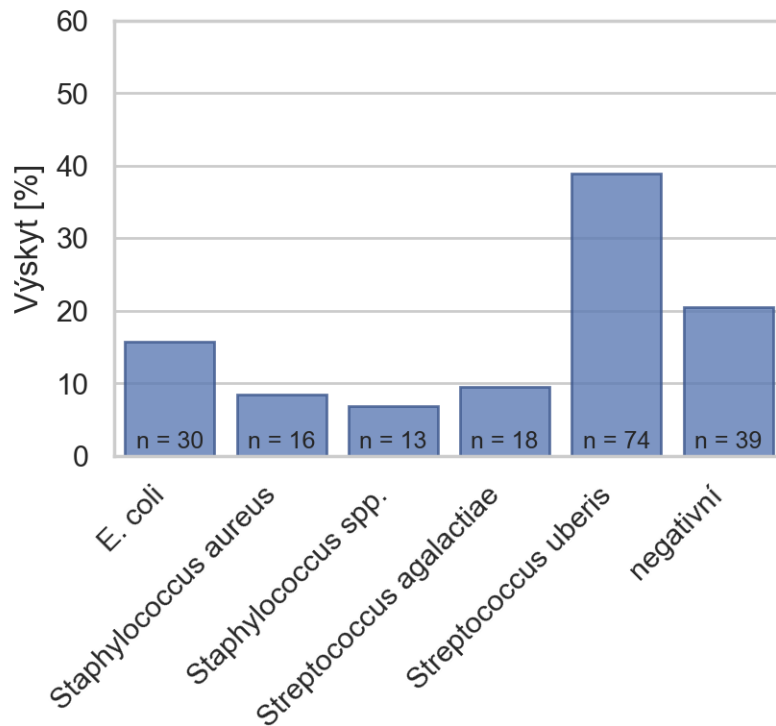


Graf 4: Výskyt mastitidy v jednotlivých pořadích laktace



### 5.1.5 Výsledky kultivace

Hlavními patogeny vyskytujícími se ve sledovaném chovu byli *Streptococcus uberis*, *E. coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus spp.*. Vedle infekčních mastitid s prokázaným patogenem pomocí faremní kultivace, se v chovu objevovaly mastitidy neinfekční. Jejich zastoupení představovalo 20,5 %. Jednalo se o druhou nejpočetnější skupinu krav s diagnostikovanou mastitidou. Přehled výsledků kultivace zobrazuje graf č. 5.



Graf 5: Přehled výsledků kultivace u krav s diagnostikovanou mastitidou

## 5.2 Vliv patogenu na délku léčby mastitidy

Pro vyhodnocení výsledků daného ukazatele byl použit test normality. **Normalita** byla analyzována pomocí **Shapiro-Wilk testu** a byla **zamítnuta**. Pro porovnání rozdílů byl použit neparametrický test **Kruskal-Wallis**. Pro použití testu bylo zapotřebí, aby data splňovala **shodnou varianci**, tedy aby hodnota **p** překročila 0,05 (viz tabulka č. 2, kde **p = 0,26**).

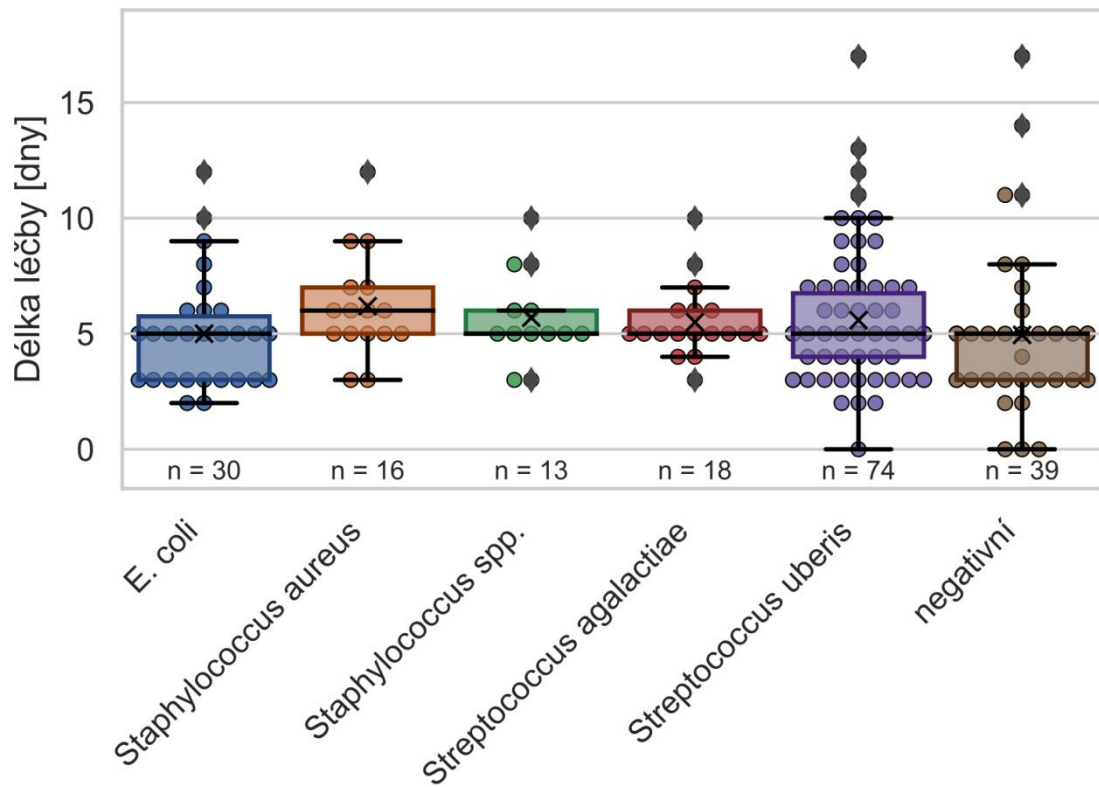
U testu **Kruskal-Wallis** vyšla hodnota **p = 0,11**, je tedy vyšší než 0,05 a tudíž **není zamítnuta nulová hypotéza**, která říká, že mezi mediány jednotlivých skupin není rozdíl. Délka léčby u jednotlivých patogenů se od sebe **statisticky významně neliší**.

Tabulka č. 4:

Tabulka testu vlivu patogenu na dobu léčby (analýza Kruskal-Wallis)

patogen	počet jedinců	průměr	medián	modus	minimum	maximum	Směrodatná odchylka
E. coli	30	5	5	5	2	12	2.35
Staphylococcus aureus	16	6.2	6	5	3	12	2.29
Staphylococcus spp.	13	5.7	5	5	3	10	1.97
<b>Streptococcus agalactiae</b>	18	5.5	5	5	3	10	1.58
<b>Streptococcus uberis</b>	74	5.6	5	5	0	17	2.73
<b>negativní</b>	39	4.9	5	5	0	17	3.47
Normalita (Shapiro-Wilk test) – zamítnuto							
Analýza variance -> p = 0.26							
Kruskal-Wallis One-Way ANOVA -> p = 0.11							

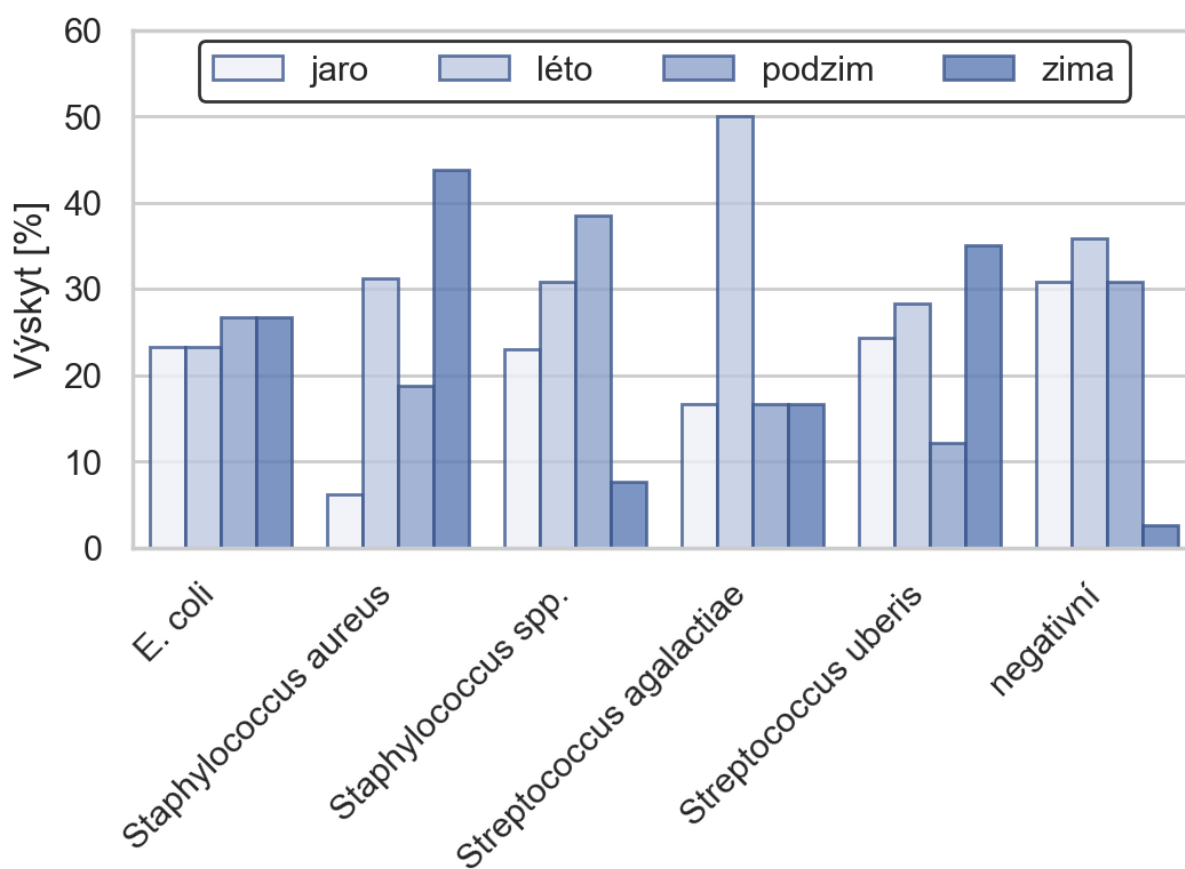
Doba, ve které probíhala léčba mastitid, se pohybovala v rozmezí 0 – 17 dnů. Rozdíly průměrných hodnot se významně nelišily. Nejdéle léčené případy byly u patogenu *Streptococcus uberis* a u neinfekční mastitidy. Délka trvání podávání antibiotických preparátů pro rozdílné patogeny je znázorněna na grafu č. 6.



Graf 6: Délka léčby mastitid pro jednotlivé patogeny

### 5.3 Vliv ročního období na výskyt patogenů

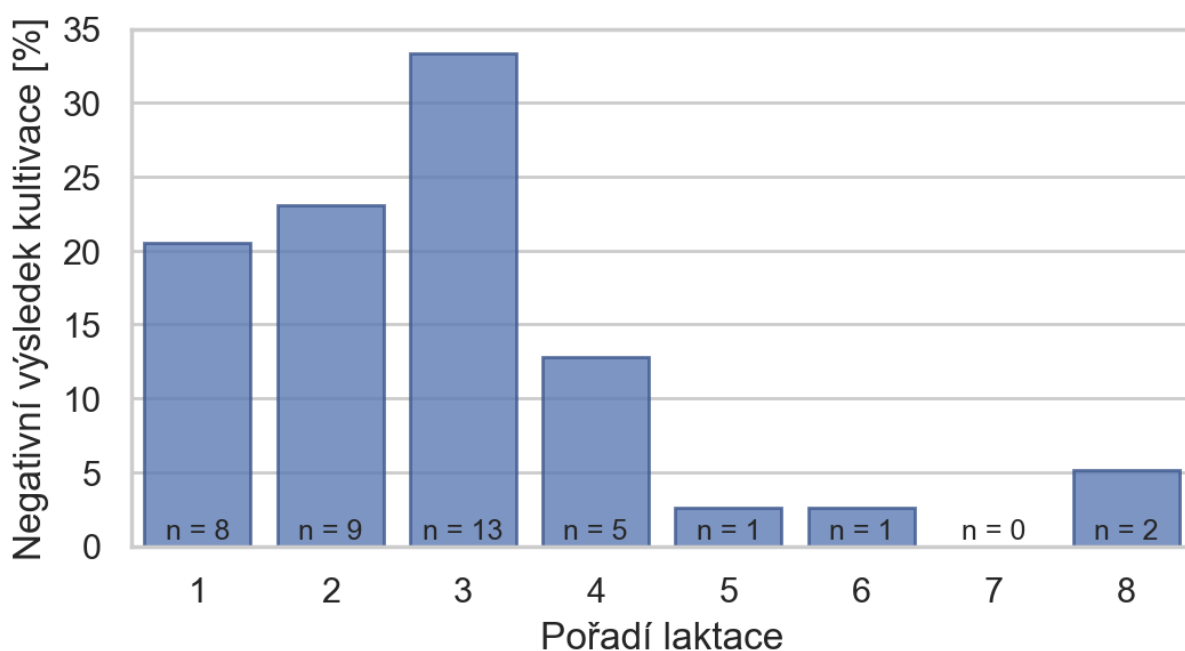
Variabilita míry infekce jednotlivých patogenů a výskyt neinfekčních mastitid v různých ročních obdobích zobrazuje graf č. 7. Patogenita *E. coli* byla v průběhu roku velmi stálá. Oproti jiným obdobím se v chovu v zimě vyskytoval nejvíce *Streptococcus uberis* a *Staphylococcus aureus*, zatímco neinfekční mastitidy byly v tomto období minimální. Infekce *Streptococcus agalactiae* gradovala v podzimních měsících.



Graf 7: Výsledky faremní kultivace v různých ročních obdobích

## 5.4 Vztah mezi neinfekční mastitidou a pořadím laktace

Graf č. 8 znázorňuje negativní výsledky kultivací v různých pořadích laktace ve sledovaném chovu. Nejvíce zvířat postižených neinfekční mastitidou se nacházelo ve 3. laktaci. Jednalo se zhruba o 33 % případů z celkového počtu neinfekčních mastitid. V poměru počtu všech nakažených zvířat ve třetí laktaci, kterých bylo za pozorované období 44, se jednalo o 29,5% účast neinfekčních mastitid pro tuto skupinu krav.



Graf 8: Negativní výsledky faremní kultivace v různých pořadích laktace

## 6 Diskuze

Výskyt mastitid v chovech dojného skotu je přes veškeré antimastitidní programy běžnou záležitostí na celém světě. Stále se zvyšující nároky lidské populace na užitkovost dojnic jdou ruku v ruce se zvyšujícími nároky krav na výživu, ustájení a životní pohodu. Záněty mléčné žlázy jsou nejčastějším důvodem podávání antibiotických preparátů u dojného skotu, čímž se zvyšuje rezistence patogenů na léčivé přípravky, prodlužuje se doba léčby a zvyšuje se ekonomický propad v chovech. Na zdraví mléčné žlázy se podílí mnoho faktorů přímo i nepřímo spolu s oslabením celkové imunity zvířat. Tyto faktory se ve stejné míře odrážejí i na době léčby postižených krav.

Roční období je faktorem ovlivňujícím mastitidu především z hlediska variability teploty a vlhkosti. Souvisí s optimálními podmínkami pro množení a snadné šíření bakterií. Ve sledovaném chovu se průměrně neměnil výskyt mastitidy během jara, podzimu a zimy, zatímco se zvyšoval v období léta, a to průměrně o 9 % ve sledovaném tříletém období, kdy letní teploty vykazovaly nadprůměrné hodnoty, ale vlhkost vzduchu se snižovala. Stejně výsledky ve své studii potvrdili i Alhussien & Dang (2018), kteří nízké hodnoty somatických buněk, znamenající nízký počet nemocných krav, zaznamenali v termoneutrálních měsících, střední hodnoty prokázali v zimním období a nevyšší hodnoty somatických buněk naměřili v letních měsících. Obdobná studie vedená Bombade et al. (2018) prokázala totožné výsledky u práce zaměřené na buvoly. Nóbrega & Langoni (2011) zaznamenali vyšší nárůst počtu klinických mastitid u krav v období dešťů než v období sucha. Baloch et al. (2018) popsali obdobné výsledky v chovech buvolů. Vlhké a horké měsíce považovali za nejrizikovější Rahman et al. (2009), kteří navíc zdůraznili rozdíl suchého a mokrého prostředí ve stáji, spojeného s hygienou ustájení. Tento fakt lze aplikovat i pro hodnocení chov v této práci. Přesto, že byla léta ve sledovaném období relativně suchá, krávy se vlivem vysokých teplot ochlazovaly leháním mimo stlané boxy na znečištěnou a vlhkou podestýlku, kde měly patogeny ideální podmínky pro infikování mléčné žlázy. Co se týče počtu diagnostikovaných mastitid za jednotlivé měsíce, vykazoval soubor nejvyšší průměrnou hodnotu v měsíci dubnu s výraznou variabilitou za jednotlivé roky. Klima regionu v jednotlivých letech měsíce dubna bylo podle ČHMÚ (2019) oproti průměru z let 1981 – 2010 mírně variabilní. V roce 2017 byla relativní vlhkost vzduchu zhruba o 4 % vyšší a teplota o 2°C nižší než průměrné hodnoty měsíce. Rok 2018 vykazoval o 12°C vyšší teplotu a 5 % nižší relativní vlhkost vzduchu oproti průměru. Pro duben v roce 2019 bylo naměřeno v průměru o 2°C více a o 5 % méně relativní vlhkosti vzduchu. Výrazné oteplení v dubnu roku 2018 lze považovat za jeden z faktorů, které ovlivnily nárůst případů nemocných zvířat. Celková vysoká hodnota míry infekcí v dubnu mohla být výsledkem výrazných výkyvů teplot, charakteristických pro tento měsíc. Měsíc červen vykazoval z hlediska průměrných hodnot za jednotlivé roky výrazný rozdíl pro rok 2018. V červnu roku 2018 byl sledován vysoký nárůst počtu onemocnění a zvyšoval tak průměrnou hodnotu celkového počtu nemocných zvířat v kategorii. Z pohledu klimatických změn se červen roku 2018 významně nelišil od průměrných hodnot pro tento měsíc. Co však mohlo ovlivnit zvýšenou tendenci vzniku mastitid, byla výměna strukových návleček. Náhlá

změna pevnosti a pružnosti strukových návleček, spolu s nedokonalou prací techniků při výměně, mohla způsobit podráždění struků a zvýšit tak šanci na proniknutí patogenů skrze strukový kanál do mléčné žlázy. Podobně byl v případě října 2019 zvýšený počet klinických mastitid přisuzován úpravě krmné dávky, tedy změny poměru jednotlivých komponentů a zároveň úpravě paznehtů, která byla tento měsíc prováděna. Vzhledem k omezenosti dat, vztahujících se pouze na jedno stádo, mohly výsledky ukazovat i na jednorázové změny působící na všechny jedince, jakými byly například změna složení krmné dávky, výměna strukových návleček na dojících zařízeních nebo úpravy paznehtů související se stresem, který negativně ovlivnil celý organismus.

Zvýšený výskyt mastitid u krav v první fázi laktace, tedy do 100 dní po otelení, úzce souvisí s fází rozdoje. Postupně se zvyšující objem mléka vylučovaného mléčnou žlázou znamená vysoké energetické nároky. Spolu s poporodním obdobím, kdy je patrná negativní energetická bilance a kráva ztrácí až třetinu své hmotnosti, je organismus oslabený a tudíž náchylnější k jeho narušení (McGeady 2006). Moosavi et al. (2014) ve své publikaci uvedli, že počet krav nakažených mastitidou se v různých fázích laktace významně nemění. Předpokladem pro takovýto výsledek je perfektní hygiena ustájení a dojení, správně sestavená krmná dávka a další faktory, ovlivňující kvalitní život dojníc. Období rozdoje je pro dojnice velice významným obdobím, jehož průběh ovlivní celou následující laktaci.

Procentuální vyjádření počtu krav s mastitidou v jednotlivých laktacích ukázalo největší riziko onemocnění v období prvních třech laktací. Naproti tomu výzkum Riekeringa et al. (2007) prokázal zvyšující se míru výskytu mastitidy se zvyšujícím se počtem laktace. Jeho tvrzení potvrdili i Baloch et al. (2018) prostřednictvím výsledků získaných ve studii s buvolky, kdy nejvyšší prevalenci nakažených zvířat zaznamenali u jedinců se čtyřmi a více telaty. Dle Sintha et al. (2019) bylo nejvyšší procento výskytu mastitid u krav ve čtvrté laktaci a Jonas et al. (2016) vyhodnotili kladný vztah se zvyšujícím se počtem somatických buněk a zvyšujícím se pořadím laktace. Upozornil také na vliv genetických faktorů na počet somatických buněk a doporučil jejich zohledňování při selekci. Rozdílnost výsledků do značné míry ovlivnilo složení sledovaného souboru. Chov sledovaný v této studii byl ze 44 % tvořen prvotelkami, z 24 % kravami na druhé laktaci a z 15 % kravami na třetí laktaci. Procentuální zastoupení krav na čtvrté a vyšší laktaci odpovídalo 18 % celého stáda. Pokud se tato zvířata zohlední jako samostatná skupina, byla prevalence onemocnění této skupiny 84 %.

Výsledky všech kultivací za tříleté období jasně prokázaly největší problém s patogenem *Streptococcus uberis*. Procentuální vyjádření jeho výskytu ze všech případů bylo rovno necelým 39 %. Následovaly neinfekční mastitidy, jejichž počet byl taktéž vysoký (20,5 %). Druhým nejvíce zastoupeným patogenem byla *E. coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* a nejmenší zastoupení měli koaguláza negativní stafylokoky. Tenhagen et al. (2009) ve své studii prokázali u klinické mastitidy prvotetek a starších krav převahu streptokoků (32,1 a 39,2 %), poté koaguláza negativní stafylokoky (27,4 a 16,4 %), koliformní bakterie (10,3 a 13,1 %) a *Staphylococcus aureus* (10,0 a 11,7 %). Negativní výsledky byly získány z 21,3 % a 19,5 %. Lundberg et al. (2016) prováděli obdobnou studii v chovech skotu ve Švédsku. Mastitidu nejčastěji způsoboval *Staphylococcus aureus*, dále

*Streptococcus dysgalactiae* a *Streptococcus uberis*. Podrobnější výsledky ukázaly, že typy jednotlivých patogenů se během ročních období na různých farmách měnily a je důležité dbát na individualitu jednotlivých stád.

Délka léčby krav se zánětem mléčné žlázy pomocí aplikace antibiotických preparátů se ve sledovaném chovu pohybovala v rozmezí tří až sedmnácti dnů v závislosti na závažnosti zánětu a celkového zdravotního stavu dojníc. Statistické výpočty nepotvrdily závislost mezi patogenem a délkou léčby nemocných krav. Podrobnější a rozsáhlejší studie by mohly případnou závislost objevit, pokud existuje. Doba trvání aplikace léčiv byla tedy ovlivněná ostatními faktory, zahrnujícími nemocného jedince a prostředí. Výzkumný ústav živočišné výroby v.v.i. se sídlem v Uhřetěvsi ve své studii vedené Doležalem & Gregoriadesovou (2002) prokázal výrazné rozdíly v délce onemocnění mastitidou u skotu ve spojitosti s počtem dojení. U třikrát denně dojených krav byla doba trvání onemocnění v průměru o 2,5 dne kratší než u krav dojených dvakrát denně. Tento časový rozdíl je pravděpodobně způsoben tím, že díky častějšímu dojení docházelo k vyplachovacímu efektu, kdy se intenzivněji vyplavovaly z mléčné žlázy patogenní zárodky.

Vliv ročního období na míru patogenity jednotlivých patogenů bylo možné znázornit procentuálně. V zimě kulminovali mastitidy způsobené *Streptococcus uberis* a *Staphylococcus aureus*. V letních měsících výskyt všech patogenů přesahoval 20% hranici a u *Streptococcus agalactiae* dosahoval 50% výskytu z celého roku. *E. coli*, šířící se prostředím, měla v průběhu roku stálé hodnoty. K mírnému vzestupu docházelo v chladnějších obdobích podzimu a zimy. Reikering et al. (2007) zaznamenali na farmách výraznější množství případů mastitid způsobených *E. coli* v letních měsících. *Streptococcus uberis* infikoval krávy nejčastěji v srpnu. Zvyšující se tendenci incidence *E. coli* a *Streptococcus uberis* v letních měsících popsali také Zang et al. (2016), kteří prokázali také zvýšený počet nakažení streptokoky se zvyšujícím se pořadím laktace. Různé výsledky lze vysvětlit již výše zmíněnou individualitou jednotlivých chovů, kterou uvedl Lundberg et al. (2016). Zajímavé je, že se v zimním období negativní výsledky kultivace objevovaly minimálně. Práce zaměřené na sledování neinfekčních mastitid by mohly blíže specifikovat důvody, proč k neinfekčním mastitidám v chovech poměrně často dochází.

Negativní výsledek kultivace je důvodem k označení diagnostikované mastitidy jako neinfekční. Zánět mléčné žlázy může být zapříčiněn například poškozením struku, strukového kanálu nebo pohmožděním mléčné žlázy. Neinfekční mastitidy často postupně přecházejí v mastitidy infekční. Předpoklad výskytu negativních kultivací se odrážel od hypotézy, že starší krávy na vyšších laktacích budou mít vyšší předpoklad ke vzniku neinfekčních mastitid. Výsledky této studie ukázaly nejvyšší procento výskytu neinfekčních mastitid u krav na třetí laktaci. Vzhledem k nedostatečnému množství dat nelze výsledky hodnotit jiným statistickým parametrem, nežli procentuálním výskytem. Negativní výsledek kultivace mělo ze 47 krav postižených mastitidou v první laktaci 17 %, na druhé laktaci z 56 nemocných 16 %, na třetí laktaci 29,5 % krav ze 44 nemocných. Následovalo 11 % na páté laktaci, 16 % na šesté laktaci a 50 % na osmé laktaci. Riekeringa et al. (2007) potvrdili zvyšující se procento výskytu



mastitid se zvyšujícím se pořadím laktace. V případě většího rozsahu souboru nebo stejných početních skupin krav v různých pořadích laktace, by se data dala s autory lépe porovnat.

Celkový počet studií zaměřených na negativní výsledky faremních kultivací není zdaleka tak obsáhlý, jako spektrum studií na mastitidy infekční spolu s výzkumy na patogeny je způsobující. Dostatečné množství dat a rozsáhlejší studie na větším množství farem by mohla přinést přínosné informace, týkající se neinfekčních mastitid a preventivních opatření, která by pomohla chovatelům v redukci jejich výskytu.

## 7 Závěr

Mastitidy dojníc jsou jedním z nejzávažnějších onemocnění, jehož následkem jsou významné ekonomické ztráty. V diplomové práci byla vyhodnocena data získaná z malé farmy, patřící do podniku ZS Slatina pod Hazmburkem a.s., chovající holštýnský skot v obci Úpohlavy, v souvislosti s výskytem zánětů mléčné žlázy. Hlavním cílem bylo zpracovat oblast týkající se negenetických faktorů, které by mohly ovlivňovat jejich výskyt a vyhodnotit vztah mezi patogenem způsobujícím mastitidu a délkou léčby tohoto onemocnění. Výsledky neprokázaly přímou souvislost mezi patogenem a délkou léčby nemocných krav. V mnoha ohledech se výsledky nelišily od obdobných výzkumů prováděných v různých zemích a u různých plemen skotu. Testována hypotéza, která tvrdí že roční období, fáze laktace a její pořadí významně ovlivňuje míru výskytu mastitid byla u sledované skupiny dojníc vyvrácena. Případy této studie, které se statisticky vymykaly výsledkům jiných autorů, byly s nejvyšší pravděpodobností odlišné díky velikosti sledovaného souboru a rozdílným počtům krav v jednotlivých skupinách. Práce sledující problematiku mastitid, které byly zpracovány v posledních letech mnoha autory, zaměřené na negenetické faktory ovlivňující výskyt těchto zánětů se opíraly o velké množství dat nashromážděných z několika farem. Jejich výsledky se shodovaly a výraznější odchylky nebylo možné ve většině sledovaných ukazatelů pozorovat. V této práci byl sledován pouze jeden chov a získané výsledky otevřely prostor pro další diskuzi. Sledováním a hodnocením výraznějších variabilit ve výsledcích za jednotlivé roky, případně měsíce, byly odhaleny další faktory, které záněty mléčné žlázy pravděpodobně ovlivnily. Byl zaznamenán vliv na počet nemocných zvířat spojený s procesy souvisejícími s chovem dojného skotu, jako jsou změny v krmné dávce, ošetřování paznehtů či údržba dojících zařízení. Odborné práce, které by se zaměřovaly na jednotlivé farmy v delším časovém úseku, aby bylo možné pracovat s dostatečným množstvím dat, by mohly vliv těchto faktorů prokázat a ve vysoké míře tak pomoci chovatelům upravit či synchronizovat tyto nevyhnutelné procesy tak, aby co nejméně ovlivňovaly produkci mléka a zdraví dojníc. To by mohlo vést k další redukci výskytu mastitid a zároveň zkvalitnění zdraví a produktivity celého stáda. Vysoký počet mastitid, způsobených pravděpodobně právě těmito faktory negativně ovlivňuje celá stáda a může souviset se sníženou produkcí mléka.

Dalším zajímavým výstupem při vyhodnocování údajů byl nízký počet neinfekčních mastitid v zimním období. Přestože záněty mléčné žlázy bez prokázaného patogenu tvořily druhou nejpočetnější skupinu nemocných krav, byly v zimních měsících tyto případy zaznamenány minimálně. Podrobnější výzkum, týkající se pouze neinfekčních mastitid by mohl osvětlit tento jev a pochopit souvislosti vlivu prostředí na neinfekční záněty. Bližší informace by mohly pomoci redukovat tento typ zánětu i v ostatních obdobích a opět tím snížit celkové počty mastitid v chovech dojného skotu.

## 8 Literatura

- Akers RM. 2002. Lactation and the mammary gland. Blackwell Publishing, Ames.
- Alhussien MN, Dang AK. 2018. Diurnal rhythm in the counts and types of milk somatic cells, neutrophil phagocytosis and plasma cortisol levels in Karan Fries cows during different seasons and parity. *Biological Rhythm Research* 49(2): 187-199.
- Aqib A, Ijaz M, Anjum A, Kulyar M, Shoaib M, Farooqi S. 2019. Reconnoitering Milk Constituents of Different Species, Probing and Soliciting Factors to Its Soundness, Milk Production, Processing and Marketing, Khalid Javed, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.82852.
- Baloch H, Rind R, Rind MR, Kumar V, Baloch N, Oad RK. 2018. Effect of Diverse Factors on the Frequency of Clinical and Subclinical Mastitis in Kundhi Buffaloes of Sindh, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology* 50(5).
- Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. 2006. Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of dairy science* 89(6):1877-1895.
- Blowey RW. 2016. *The Veterinary Book for Dairy Farmers : 4th Edition*. 5m Publishing, Portland.
- Bombade K, Kamboj A, Alhussien MN, Mohanty AK, Dang AK. 2018. Diurnal variation of milk somatic and differential leukocyte counts of Murrah buffaloes as influenced by different milk fractions, seasons and parities. *Biological Rhythm Research* 49(1): 151-163.
- Bouška J, Doležal O, Jílek F, Kudrna V, Příbyl J, Rajmon R, Sedmíková M, Skřivanová V, Šlosárková S, Tyrolová Y, Vacek M, Žižlavský J. 2006. *Chov dojeného skotu*. Profi Press, s.r.o., Praha.
- Bragulla H, König HE. 2002. *Anatomie domácích savců*. Hajko&Hajková, Bratisava.
- Callaway TR, Edrington TS. 2012. *On-Farm Strategies to Control Foodborne Pathogens*. Nova Science Publishers, New York.
- Chase C, Lutz K, McKenzie E, Tibary A. 2017. *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Ruminant*. John Wiley & Sons, Newark.

- Cockcroft P. 2015. Bovine Medicine. John Wiley & Sons, Incorporated, Hoboken.
- Contreras A, Sierra D, Sánchez A, Corrales JC, Marco JC, Paape MJ, Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research* 68(1-2): 145-153.
- Contreras GA, Rodríguez JM. 2011. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 16(4):339-356.
- Doležal O, Gregoriadesová J. 2002. Vliv tříkrátdenního dojení krav na složení mléka. Pages 65-66 in *Sborník referátů z mezinárodní konference Katedry chovu skotu a mlékařství České zemědělské univerzity v Praze. Den mléka 2002. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.*
- Eckersall PD, Young FJ, McComb C, Hogarth CJ, Safi S, Fitzpatrick JL, Weber A, Nolan AM, McDonald T. 2001. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Record* 148(2):35-41.
- Elečko J, Hájovský T, Holý L, Hrivnák J, Kudělka E, Kudláč E, Nemeš D, Schwarc F, Ševčík A, Vlček Z, Vrtěl M. 1977. *Veterinární porodnictví a gynekologie. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.*
- England GCV, Heimendahl A. 2010. *Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester.*
- Fraser CM, Bergeron JA, Mays A, Aiello SE. 1991. *The Merck veterinary manual. Merck & CO., Inc. Rahway NJ., USA.*
- Gyles CL, Prescott JF, Songer G, Thoen CO. 2004. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. John Wiley & Sons, Incorporated, Hoboken.*
- Hofírek B, et al. 2009. *Nemoci skotu. Česká buiatrická společnost, Brno.*
- Hofírek B. 2003. Classification of mammary gland health status. Pages 19-21 in *Sborník referátů z mezinárodní konference Katedry chovu skotu a mlékařství České zemědělské univerzity v Praze. Den mléka 2003. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.*
- Holly A. 2018. *Microbiology: A Laboratory Experience. State University of New York Oer Services, New York.*
- Hořejší V, Bartůňková J. 2005. *Základy imunologie. Triton, Praha.*

- Jonas EM, Atasever S, Graff M, Erdem H. 2016. Non-genetic factors affecting milk yield, composition and somatic cell count in Hungarian Holstein cows. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 22(3): 361-366.
- Kemp WL, Burns DK, Brown TG. 2008. *Pathology: the big picture*. McGraw-Hill Medical, New York.
- Koh TJ, DiPietro LA. 2011. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert reviews in molecular medicine*, 13.
- Kottman J, Mudroň P, Žert Z, Hanzlová A, Matejovič M, Stachová D. 1999. *Choroby koní*. Knižné vydavateľstvo Hajko & Hajková, Bratislava.
- Lundberg Å, Nyman AK, Aspán A, Börjesson S, Unnerstad HE, Waller KP. 2016. Udder infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Streptococcus uberis* at calving in dairy herds with suboptimal udder health. *Journal of dairy science* 99(3): 2102-2117.
- Martinet J, Houdebine LM, Head HH. 1999. *Biology of lactation*. INRA, Paris.
- Marvan F, Hampl A, Hložánková E, Kresan J, Massanyi L, Vernerová E. 1992. *Morfologie hospodářských zvířat*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT. 2006. *Veterinary Embryology*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Moosavi M, Mirzaei A, Ghavami M, Tamadon A. 2014. Relationship between season, lactation number and incidence of clinical mastitis in different stages of lactation in a Holstein dairy farm. In *Veterinary research forum: an international quarterly journal* 5(2): 13.
- Najbrt R, Bednář K, Červený Č, Kaman J, Mikyska E, Štarha O. 1982. *Veterinární anatomie 2*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Neville MC, Morton J. 2001. Physiology and endocrine changes underlying human lactogenesis II. *The Journal of nutrition* 131(11): 3005S-3008S.
- Nóbrega DB, Langoni H. 2011. Breed and season influence on milk quality parameters and in mastitis occurrence. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(12): 1045-1052.

- Rahman MA, Bhuiyan MMU, Kamal MM, Shamsuddin M. 2009. Prevalence and risk factors of mastitis in dairy cows. *Bangladesh Veterinarian* 26(2): 54-60.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada Publishing, a.s. Praha.
- Riekerink RO, Barkema HW, Stryhn H. 2007. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. *Journal of dairy science* 90(4): 1704-1715.
- Riekerink RO, Barkema HW, Kelton DF, Scholl DT. 2008. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *Journal of dairy science* 91(4): 1366-1377.
- Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO. 2007. *Current therapy in equine reproduction*. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Sar TK. 2019. *Mastitis: Symptoms, Triggers and Treatment*. Nova Science Publishers, New York.
- Schlossberg D. 2008. *Clinical Infectious Disease*. Cambridge University Press, New York.
- Scott PR, Penny CD, Macrae AI. 2011. *Cattle medicine*. Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Sharma N, Singh NK, Bhadwal MS. 2011. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24(3): 429-438.
- Schroeder JW. 2012. Bovine mastitis and milking management. *Drug therapy* 8(4).
- Sinha R, Sinha B, Kumari R, MR V, Verma A, Gupta ID. 2019. Effect of season, stage of lactation, parity and level of milk production on incidence of clinical mastitis in Karan Fries and Sahiwal cows. *Biological Rhythm Research* 1-10.
- Sorenmo KU, Rasotto R, Zappulli V, Goldschmidt MH. 2011. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Veterinary pathology* 48(1): 85-97.
- Šterzl I et al.. 2005. *Základy imunologie pro zubní a všeobecné lékaře*. Karolinum. Praha.
- Tenhagen BA, Köster 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(7): 2542-2551.

- Tenhagen BA, Hansen I, Reinecke A, Heuwieser W. 2009. Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition. *Journal of dairy research* 76(2): 179-187.
- Vasiu I, Dąbrowski R, Martinez-Subiela S, Ceron JJ, Wdowiak A, Pop RA, Brudas FG, Pastor J, Tvarijonaviciute A. 2017. Milk C-reactive protein in canine mastitis. *Veterinary immunology and immunopathology* 186: 41-44.
- Veauthier G. 2011. Die Einstreu lebt. elite best practice : *Euter-gesundheit*, 6: 46 - 48.
- Ververidis HN, Mavrogianni VS, Fragkou IA, Orfanou DC, Gougoulis DA, Tzivara A, Athanasiou L, Boscós CM, Fthenakis GC. 2007. Experimental staphylococcal mastitis in bitches: Clinical, bacteriological, cytological, haematological and pathological features. *Veterinary Microbiology, Elsevier* (124 1-2, pp.95.) DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.03.029
- Weiss D, Weinfurtner M, Bruckmaier RM. 2004. Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87(10): 3280-3289.
- Wolferson D, Lavon Y, Leitner G. 2015. The Disruptive Effects of Mastitis on Reproduction and Fertility in Dairy Cows. *Italian Journal of Animal Science* (14:4125) DOI: 10.4081/ijas.2015.4125
- Yoon HS, Müller KM, Sheath RG, Ott FD, Bhattacharya D. 2006. Defining the mayor lineages of Red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 42: 482 - 492.
- Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J, Schukken YH. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 16(4): 357-372.
- Zelinková G. 2008. Mastitidy a problematika počtu somatických buněk – jejich řešení na úrovni stáda. *Virbaconsult, GS Partners, s.r.o., Praha Veterinářství* 2008; 58:234-243.
- Zhang Z, Li XP, Yang F, Luo JY, Wang XR, Liu LH, Li HS. 2016. Influences of season, parity, lactation, udder area, milk yield, and clinical symptoms on intramammary infection in dairy cows. *Journal of dairy science* 99(8): 6484-6493.

## 8.1 Webové zdroje

Afimilk Ltd. 2019. About Afimilk. Afifarm Ltd., Izrael. Available from <https://www.afimilk.com/about> (accessed August 2019).

Agropress. 2017. Tvorba (syntéza) mléčných složek. Available from <http://www.agropress.cz/synteza-mlecných-složek/> (accessed November 2018).

Baby-Friendly Hospital Initiative: Revised, Updated and Expanded for Integrated Care. 2009. Geneva: World Health Organization. Session 12, BREAST AND NIPPLE CONDITIONS. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK153481/> (accessed July 2019)

Český hydrometeorologický ústav. 2019. Historická data – meteorologie a klimatologie. Available from <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/mesicni-data> (accessed February 2020).

InformedHealth.org. Cologne, Germany: Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG); 2006-. What is an inflammation? 2010 Nov 23 [Updated 2018 Feb 22]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279298/> (accessed February 2019).

Pahwa R, Jialal I. Chronic Inflammation. 2019. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/> (accessed January 2019).

Rivard AB, Peterson DC. Anatomy, Thorax, Breast. 2019. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519575/> (accessed January 2019).