

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra speciální zootechniky



**Analýza patogenů vnějšího prostředí způsobující mastitidy
ve vybraném chovu**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Lenka Brzáková

Obor studia: Živočišná produkce

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

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Analýza patogenů vnějšího prostředí způsobující mastitidy ve vybraném chovu" 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 13.4.2018 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Lud'ku Stádníkovi, Ph.D., za odborné vedení a za trpělivost při zpracování diplomové práce.

Dále bych poděkovala Ing. Jaromíru Ducháčkovi, Ph.D., za pomoc při zpracování statistických dat.

Poděkování patří i panu Ing. Jaroslavu a Pavlu Bičákovi za poskytnutí podkladů ke zpracování této diplomové práce.

V neposlední řadě patří velké poděkování mojí rodině, hlavně tatínkovi Jaroslavu Brzákovi za podporu během celého studia na vysoké škole.

Analýza patogenů vnějšího prostředí způsobující mastitidy ve vybraném chovu

Souhrn

Cílem této diplomové práce byla analýza patogenů z vnějšího prostředí, které způsobovaly mastitidy ve vybraném chovu a snížení frekvence výskytu mastitid v období od 1.7.2017 – 28.2.2018 po zavedení kultivací vzorků mléka. Zjištěné hodnoty se porovnávaly s obdobími před zavedením kultivací vzorků mléka od 1.1. – 30.6.2017. Sledovací období probíhalo na farmě Montamilk, s.r.o. v okrese Nymburk.

Literární přehled byl zaměřen především na mléčnou žlázu, složení mléka, mastitidu a její vznik, detekci, léčbě, faktory ji ovlivňující a patogeny, které mastitidu způsobují.

Praktická část práce byla zaměřena na statistické vyhodnocení zpracovaných dat. Z celkového počtu 350 dojnic byla průměrná délka léčby mastitid v období před zavedením kultivací vzorků mléka (1.1. – 30.6.2017) 17 dní, a naopak průměrná délka léčby v období po zavedení kultivací vzorků mléka (1.7.2017 – 28.2.2018) byla 11 dní.

Frekvence výskytu patogenů z vnějšího prostředí se hodnotila v období po zavedení kultivací mléka. Nejvyšší frekvenci výskytu patogenů z vnějšího prostředí měl *S. Uberis*, a naopak nejnižší frekvenci výskytu měla *K. Pneumoniae*. Frekvence výskytu mastitid za období před zavedením kultivací vzorků mléka byla průměrně u 21 dojnic za měsíc (6 %) a za období po zavedení kultivací vzorků mléka byla průměrně u 16 dojnic za měsíc (4,5 %).

Úspěšnost léčby ($r = 0,661$) a dny laktace při léčbě ($r = 0,315$) byly ve vztahu (silná a středně silná korelace) s délkou léčby na hladině významnosti ($P < 0,001$). Cena léčby ($r = 0,205$, slabá korelace) na hladině významnosti ($P < 0,05$) byla ve vztahu k délce léčby. PSB před léčbou ($r = 0,203$, slabá korelace) byl ve vztahu s PSB po léčbě na hladině významnosti ($P < 0,05$). U efektu patogenů z vnějšího prostředí byl statisticky průkazný rozdíl pozorován u ceny léčby mezi patogeny *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Streptococcus Uberis* a PM testu bez nálezu patogena ($P < 0,01$).

Ze zjištěných výsledků bylo vyhodnoceno, že z důvodu zavedení kultivací vzorků mléka se snížil výskyt mastitid a náklady na léčbu dojnic.

Klíčová slova: dojnice, mléko, mastitida, patogen, dojení, hygiena, vnější prostředí

Analysis of environmental pathogens causing mastitis in dairy cows in the selected breed

Summary

Objective of this diploma thesis was analysis of pathogens from outer environment, which caused mastitis in chosen stud and decreasing frequency of incidence of mastitises in period from 1.7.2017 to 28.2.2018 after cultivation of milk samples implementation. The results were compared with results before milk sample cultivation in period from 1.1. to 30.6.2017. The study was done in Montamilk farm s.r.o. in Nymburk district.

Literary resume was focused mainly on mammary gland, milk composition, mastitis and its genesis, detection, treatment, factors that affect it and pathogens that cause it.

Practical part of the thesis is focused on statistic evaluation of processed data. From total number of 350 dairy cows was average time of mastitis treatment about 17 days before milk sample cultivation implementation. In comparison with 11 days after implementation of milk sample cultivation.

Pathogen occurrence from outer environment frequency was evaluated in period after milk sample cultivation implementation. *S. Uberis* had the highest frequency of occurrence unlike *K. Pneumoniae* had the frequency the lowest. Mastitis occurrence frequency before cultivation implementation was with 21 milking cows in average per month (6 %) and after cultivation implementation gone down to 16 (4,5 %).

Success of the treatment ($r = 0,661$) and lactation days during the treatment ($r = 0,315$) were in relationship (strong and midstrong correlation) with length of the treatment at level of significance ($P < 0,001$). Price of the treatment ($r = 0,205$ - weak correlation) at level of significance ($P < 0,05$) was in relationship with length of the treatment. PSB before treatment ($r = 0,203$ - weak correlation) was in relationship with PSB after the treatment with level of significance ($P < 0,05$). At pathogens effect from outer environment was statistically significant difference observed with treatment price with pathogens *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Streptococcus Uberis* and PM test without finding pathogens ($P < 0,01$).

From obtained results was evaluated that because of implementation of milk cultivation samples, mastitis incidence decreased and also costs for treatment of dairy cows.

Keywords: dairy cow, milk, mastitis, pathogen, milking, hygiene, environment

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Literární přehled	3
3.1	Mléčná produkce	3
3.1.1	Stavba mléčné žlázy	3
3.2	Mléko	3
3.3	Složení mléka	4
3.3.1	Tuk	4
3.3.2	Bílkoviny	4
3.3.3	Laktóza	5
3.3.4	Minerální látky	5
3.3.5	Vitamíny	5
3.4	Kvalita mléka	6
3.5	Somatické buňky	6
3.5.1	Měření počtu somatických buněk	7
3.6	Mastitida	7
3.7	Vznik mastitidy	8
3.8	Cíle diagnostiky mastitidy	8
3.9	Formy mastitidy	8
3.9.1	Normální sekrece	8
3.9.2	Latentní mastitida	8
3.9.3	Subklinická mastitida	9
3.9.4	Klinická mastitida	9
3.9.5	Katarální mastitida	10
3.9.6	Parenchymatózní mastitida	11
3.9.7	Gangrenózní mastitida	12
3.9.8	Abscesová mastitida	12
3.9.9	Granulomatózní mastitida	12
3.9.10	Intersticiální mastitida	12
3.10	Rozdělení zánětů mléčné žlázy podle původců	13
3.10.1	Streptokokové mastitidy	13

3.10.2	Staphylokokové mastitidy.....	16
3.10.3	Koliformní mastitidy.....	17
3.10.4	Klebsiella spp.....	18
3.10.5	Pyogenní mastitidy.....	18
3.10.6	Pseudomonádové mastitidy	18
3.10.7	Enterococcus spp. mastitis.....	19
3.10.8	Enterobakteriální mastitidy.....	19
3.10.9	Proteus spp. mastitis	20
3.10.10	Serratia spp. mastitis	20
3.10.11	Mycobacterium bovis mastitis	20
3.10.12	Nocardia spp. mastitis.....	21
3.10.13	Mykoplazmové mastitidy.....	21
3.10.14	Bacillus cereus mastitis.....	22
3.10.15	Mastitidy vyvolané kvasinkami	22
3.10.16	Mastitidy vyvolané plísněmi.....	22
3.10.17	Mastitidy vyvolané řasami.....	22
3.11	Diagnostika zánětů mléčné žlázy	23
3.11.1	Klinické vyšetření	23
3.11.2	Laboratorní vyšetření	24
3.11.3	Stájové testy	24
3.12	Léčba zánětů mléčné žlázy	26
3.12.1	Léčba subklinických mastitid	28
3.12.2	Léčba klinických mastitid.....	28
3.13	Zásady prevence a tlumení mastitid.....	29
3.14	Druhy výrobních zrát vyvolaných mastitidami	29
3.15	Faktory ovlivňující výskyt mastitid.....	30
3.15.1	Sanitace dojíčích zařízení	30
3.15.2	Správné seřízení dojírny a dojíčího stroje.....	30
3.15.3	Správná rutina dojení	31
3.15.4	Technologie ustájení	32
3.15.5	Systemy ustájení krav	33
4	Materiál a metody	37
4.1	Charakteristika podniku	37

4.1.1	Technologie ustájení	37
4.1.2	Technologie krmení	37
4.1.3	Technologie dojení.....	38
4.1.4	Výskyt mastitid	38
4.2	Sledovací období a statistické vyhodnocení dat	39
5	Výsledky	43
5.1	Základní statistiky	43
5.2	Detekce mastitid	43
5.2.1	Detekce subklinických mastitid	43
5.2.2	Detekce klinických mastitid.....	44
5.3	Kultivace vzorků mléka a výskyt mastitid.....	44
5.4	Léčba mastitid	52
5.4.1	Léčba mastitid v době laktace.....	52
5.4.2	Léčba mastitid při zaprahování.....	53
5.4.3	Náklady na léčbu mastitid.....	54
5.4.4	Bakteriologické vyšetření mléka.....	58
5.5	Somatické buňky	59
5.6	Vyhodnocení ukazatelů metodou ANOVA.....	61
6	Diskuze	66
6.1	Detekce mastitid	66
6.2	Výskyt mastitid	66
6.3	Výskyt mastitid podle patogenů z vnějšího prostředí.....	67
6.4	Výskyt mastitid podle postižené čtvrti	68
6.5	Léčba mastitid	69
6.6	Somatické buňky	70
6.7	Vyhodnocené statistické parametry	71
6.8	Faktory ovlivňující výskyt mastitid na farmě	71
7	Závěr	74
8	Zdroje.....	75
9	Přílohy.....	82

1 Úvod

Mastitida (zánět mléčné žlázy) je zánětlivá reakce mléčné žlázy na chemické, bakteriální nebo mechanické podněty. Je charakterizována zvýšeným počtem somatických buněk. Mastitidu může způsobovat hned několik činitelů – fyzikální, chemické nebo biologické povahy.

Záněty mléčné žlázy (mastitidy) mohou být vyvolány infekčními i neinfekčními činiteli. Mezi neinfekční vlivy řadíme např. poranění vemene, nekvalitní zaplísňené krmění, stres, způsob dojení nebo metabolické onemocnění. Infekční mastitidy jsou přenosné z dojnice na dojnici. U většiny onemocnění dochází k nakažení přes strukový kanálek, velmi zřídka se dojnice nakazí hematogenní cestou, rozšířením zánětu z jiné části těla.

Mastitidy jsou stále aktuální téma a jejich zvládnutí vyžaduje úzkou spolupráci mezi ošetřovateli, zootechniky a veterináři. Detekce rizikových faktorů v chovech a zjištění důvodů zvýšeného výskytu mastitid není jednoduché. Řešení bývá omezeno konkrétními podmínkami chovu. Novinku pro detekci patogenů z vnějšího prostředí jsou faremní kultivace vzorků mléka, které jsou za 24 h schopné přesně určit patogena, který mastitidu způsobil. Podle takto určených patogenů se může dojnicím sestavit cílená léčba a sníží se i náklady na danou léčbu.

2 Cíl práce

Cílem diplomové práce byla analýza patogenů z vnějšího prostředí, které způsobovaly mastitidy ve vybraném chovu v návaznosti na bakteriologické vyšetření a kultivace vzorků mléka u vybraných dojnic. Doplnujícím cílem bude vypracování praktických doporučení směřujících ke zvýšení úspěšnosti léčby a snížení frekvence výskytu mastitidy v daném chovu.

Hypotéza: Lze předpokládat, že provozní realizací kultivace mastitidního mléka s detekcí patogenu je možné nastavit cílenou terapii zvyšující úspěšnost léčby a snižující výskyt mastitidy v chovu.

3 Literární přehled

3.1 Mléčná produkce

3.1.1 Stavba mléčné žlázy

Mléčná žláza krávy je komplexní orgán, který se vyvinul, aby živil novorozené tele (Nickerson, 1994). Štolc a kol. (1999) publikovali, že mléčná žláza je přetvořená a zbytnělá kožní řasa. Je uložena ve stydké krajině a je u krávy rozdělena na pravou a levou polovinu. Každá polovina je rozdělena na přední a zadní čtvrtě. Každá polovina má oddělené a nezávislé krevní a nervové zásobení, lymfatickou drenáž a závěsné ústrojí vemene. Obě čtvrtě v každé polovině vemene mají oddělenou žláznatou tkáň a vývodný systém. Všechno mléko z jednoho struku je produkováno žláznatou tkání z této čtvrti. Epitelová nebo žláznatá tkáň je nazývána parenchymem mléčné žlázy. Naopak vmezežené (intersticiální) vazivo, vytvářející vazivovou „kostru“, se nazývá stroma. Základní funkční jednotka tvořící dutinku a secernující mléko v mléčné žláze je sekreční alveolus. Jeho stěnu tvoří sekreční buňky. Několik alveolů vyúsťuje do nitrolalúčkového vývodu, který odvádí mléko do mlékojemu uvnitř žlázy, a nakonec do mlékojemu uvnitř struku. Mléko ze struku odchází strukovým kanálkem, který je těsně uzavřen svalovým svěračem. Několik alveolů spojených dohromady a obklopených vrstvou pojivové tkáně je označováno jako lobulus neboli lalůček. Sekreční jednotky mléčné žlázy (alveoly) vytvářejí lalůčky, které vazivové přepážky spojují ve větší laloky (Reece, 2011).

Utváření vemene a struků souvisí s kvantitou i s kvalitou mléčné produkce (Štolc a kol., 1999).

3.2 Mléko

Mléko je produkováno z mléčné žlázy (Dunklee, 2009). Kravské mléko podléhá v průběhu laktace značným změnám ve složení. Prvním produktem mléčné žlázy po otelení je mlezivo (které je mlékem nezralým), sekret vylučovaný mléčnou žlázou ve stadiu plné laktace se nazývá zralé mléko (Štolc a kol., 1999). Komárek a kol. (1971) uvádí, že mléko je vodnatá bílá nebo lehce nažloutlá neprůhledná tekutina příznačné vůně a příjemné, mírně nasládlé chuti.

Hofírek a kol. (2009) se domnívají, že z chemického složení mléko obsahuje 12,5 % sušiny, kterou tvoří tuk, bílkoviny, laktóza, minerální látky, enzymy (lipázy, fosfatázy,

amylázu, laktázu, katalázu, reduktázu, aj.) a vitamíny (A, D, E, K, C, PP, H, vit. skupiny B, kyselinu pantotenovou a listovou).

3.3 Složení mléka

Tab. 1 Procentické složení mléka a mleziva (první den po otelení) (Štolc a kol., 1999).

Složky	Mléko	Mlezivo
Voda	87,5	75,4
Tuk	3,8	5,4
Bílkoviny	3,3	15,1
Laktóza	4,7	3,3
Minerální látky	0,7	1,2

3.3.1 Tuk

Syrové kravské mléko obsahuje v průměru 4 % tuku (Kouřimská a kol., 2007).

Tuk v mléce se nachází v emulgovaném stavu (Slavík a kol., 2004), je tvořen směsí triacylglycerolů mastných kyselin, fosfolipidy a cholesterolem (Hofírek a kol., 2004).

Mléčné tukové kuličky se skládají z jádra kapiček nepolárních lipidů obklopených monovrstvou polárních lipidů a poté lipidovou dvojvrstvou (Jhanwar, 2009). Hlavním prekursorem pro syntézu mléčného tuku v mléčné žláze je kyselina octová, dále jsou využívány kyselina máselná, betahydroxymáselná a některé další mastné kyseliny obsažené v krmivech (Pechová a kol., 2000).

Mléčný tuk je poměrně dobrý indikátor zásobení zvířat především strukturální vlákninou. Poměr mezi tukem a bílkovinou postihuje oba vlivy, a to jak energetickou bilanci, tak i zásobení strukturální vlákninou (Pařilová, 2007). Tučnost mléka se mírně snižuje s věkem krav. V průběhu laktace je nejnižší tučnost mléka ve 2. až 3. měsíci laktace a od 5. měsíce laktace se tučnost mléka mírně zvyšuje. Snížení teploty prostředí působí pozitivně na obsah tuku v mléce. Při teplotě do 5 °C bylo zjištěno zvýšení tučnosti o 0,25 % (Frelich, 2001).

3.3.2 Bílkoviny

Obsah bílkoviny v mléce je v současné době důležitý z hlediska ekonomického zhodnocení produkce (Hofírek a kol., 2004). Kouřimská a kol. (2007) uvádí, že syrové kravské mléko obsahuje v průměru 3,2 % bílkovin (2,6 % kaseinu a 0,6 % syrovátkových bílkovin).

Kaseiny (alfa, beta, gama a kappa) tvoří hlavní část mléčných proteinů (Reece, 2011). Kasein patří k nejvýznamnějším mléčným bílkovinám (Frelich, 2001).

Imunoglobuliny jsou přítomny ve velmi malém množství s výjimkou kolostra (mleziva). Všechny proteiny jsou syntetizovány v mléčné žláze z aminokyselin s výjimkou gama kaseinu, sérového albuminu a imunoglobulinů (Reece, 2011).

Obsah bílkovin v mléce je indikátorem množství energie v krmné dávce, protože závisí na množství v bachoru vytvořené mikrobiální bílkoviny, jejíž tvorba je limitována přísunem energie (Pařilová, 2007).

V průběhu života krav se obsah bílkovin mění jen velmi málo a je stabilnější než obsah tuku. Během dojení nejsou zjišťovány průkazné rozdíly v obsahu bílkovin v mléce, je však zřejmý velký individuální rozdíl mezi jednotlivými kravami (Frelich, 2001).

3.3.3 Laktóza

Legarová (2012) uvádí, že laktóza neboli mléčný cukr je disacharid skládající se z glukózy a galaktózy. V kravském mléce je obsah laktózy v průměru 4,6 % (Kouřimská a kol., 2007).

Obsah laktózy v mléce je velice stabilní a při změnách krmné dávky nebo výskytu metabolických poruch se mění velmi málo (Hofírek a kol., 2004). Procento laktózy neprůkazně klesá v průběhu dojení (Frelich, 2001). Snížení koncentrace laktózy v mléce je velmi výrazné při zánětech mléčné žlázy, kdy dochází k rychlému poklesu laktózy, a naopak zvýšení obsahu solí v mléce. Tyto změny jsou využívány i v diagnostice mastitid (Hofírek a kol., 2004).

3.3.4 Minerální látky

Hlavní minerální látkou v mléce je vápník (0,12 %), dále fosfor (0,10 %), sodík (0,05 %), draslík (0,15 %) a chlór (0,11 %). Ostatní minerálie se nacházejí ve stopovém množství a zahrnují hořčík, síru, měď, kobalt, železo, jód a zinek (Reece, 2011).

V mléce jsou minerální látky rozpuštěny v mléčném séru nebo jsou koloidně vázány nebo jsou součástími některých organických látek v mléce (Hofírek a kol., 2004)

3.3.5 Vitamíny

V mléce, jako prvotním a prakticky jediným zdroji potravy sajícího mláděte po narození, jsou přítomny veškeré vitamíny, i když koncentrace některých je pouze minimální. Významný vliv na obsah vitamínů hraje roční doba v souvislosti s výživou dojníc. Vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K a F) jsou obsaženy v mléčném tuku (po odstředění jsou ve smetaně). Jejich obsah v mléce je značně variabilní a je ovlivněn řadou intravitálních činitelů (výživa, způsob chovu apod.). Vitamíny rozpustné ve vodě (B1, B2, kyselina askorbová, kyselina listová, vit. B6 a další) se nacházejí v odstředěném mléce. V převážném množství jsou vitamíny skupiny B syntetizovány bacherovou mikroflórou (Kouřimská a kol., 2007).

3.4 Kvalita mléka

Bezpečnost a sledovatelnost potravin, jakož i dobré životní podmínky zvířat začínají hrát klíčovou úlohu při rozhodování spotřebitelů (Andrieu and Warren, 2009).

Kvalita mléka dodávaného do mlékáren je pravidelně sledována proměřováním vzorků a akreditovaných centrálních laboratořích, kde se zjišťují následující ukazatele jakosti syrového kravského mléka: celkový počet mikroorganismů (CPM), koliformní bakterie, termorezistentní bakterie, psychrotrofní mikroorganismy, anaerobní sporuláty, počet somatických buněk (PSB), rezidua inhibičních látek, bod mrznutí, obsah bílkovin, tuku, tukoprosté sušiny (TPS), močoviny, kaseinu a volných mastných kyselin (Kouřimská a kol., 2007).

Rozlišování buněk v mléce je důležitým rysem pro zvýšení zdravotního stavu vemene (Winter, 2009).

3.5 Somatické buňky

Počet somatických buněk (PSB) je nejrozšířenějším kritériem pro měření kvality vemene a kvality mléka ve všech hlavních zemích produkujících mléko na celém světě (Ryšánek a kol., 2007). V závislosti na věku a výkonu je obsah somatických buněk mezi 50 a 150 tis./ml. Počet somatických buněk se liší v průběhu dojení a může být nepřímo odhadnut pomocí Kalifornského mastitis testu (CMT) (Winter et al., 2009).

Buněčnými elementy jsou bílé krvinky, které procházejí do mléčné žlázy a do mléka z krve. Jejich zvýšený počet je signálem, že mléčná žláza byla zasažena, a to buď infektem,

nebo neinfekčními vlivy. O zasažení mléčné žlázy mluvíme v případě, že individuální počet buněčných elementů stoupne nad 300 000/ml (Bouška a kol., 2006).

3.5.1 Měření počtu somatických buněk

Mlékárenský průmysl může používat jednu z dvou forem automatického měření: přístrojem Fossomatic a Coulter counter (Blowey and Edmondson, 1995).

3.6 Mastitida

Mastitida neboli „zánět mléčné žlázy“ (Blowey and Edmondson, 1995) je problém dobrých životních podmínek zvířat (Klopčič et al., 2009). Mastitidy nelze chápat pouze jako onemocnění, neboť představují významný obranný proces, vedoucí k obnovování normálního zdravotního stavu (Hejlíček a kol., 1987).

Většina farmářů spojuje mastitidu s horkou čtvrtí, spolu se změnou vzhledu mléka. Tyto změny jsou způsobeny účinkem zánětlivé reakce krav na infekci (Blowey and Edmondson, 1995). Winter et al. (2009) uvádí, že mastitida je zánětlivá reakce jedné nebo více čtvrtí vemene, způsobené mikrobiálními patogeny. Je způsobena interakcí patogenů a nepříznivými faktory, které ovlivňují obranyschopnost těla. Bakterie převážně napadají strukový kanálek (galaktogenní infekce), poté se mohou množit ve vemeni nebo produkovat toxiny. Mléčná žláza reaguje na tuto patogenní invazi zánětem.

Mastitidy jsou polyfaktorová a polyetiologická onemocnění, na jejichž vzniku a rozvoji se podílejí tři biosystémy:

- makroorganismus (dojnice) vybavený vlohami dědičné a získané odolnosti nebo vnímavosti k onemocnění
- mikrobiální původci, infekčního (závislí na krávě) nebo environmentálního charakteru
- zevní prostředí uplatňující se prostřednictvím široké škály faktorů (Hofírek a kol., 2009).

Mastitidy způsobují velké ekonomické ztráty. Kromě vyloučení mléka z dodávky a rizika horšího zatřídění mléka dochází také k významnému poklesu doživnosti a v konečném důsledku i k brakaci krav. Hladina buněčných elementů v mléce dojnic se zdravým vemenem je kolem 50 000. Při počtu somatických buněk v bazénovém vzorku kolem 100 tis./ml se

odhadují ztráty na 3 %, při 200 až 300 tisících 6 – 7 % a při 500 až 600 tisících 9–10 % (Bouška a kol., 2006).

Náklady na programy týkající se zdraví vemene se odhadují na minimálně jednu třetinu celkových peněz investovaných na prevenci chorob u stád dojnic (Villa-Arcila, 2017). Hofírek a kol. (2004) se domnívají, že finanční ztráty způsobené mastitidami činí cca 300 EURO na krávu a rok.

3.7 Vznik mastitidy

Schroeder (2012) uvádí, že mastitida je téměř vždy způsobena bakteriemi. Zánětlivé reakce vznikají na základě průniku bakterií do strukového kanálku. Patogenita a virulence patogenu, funkční stav mléčné žlázy komplexně určují rychlost, charakter a projev klinických příznaků, stejně jako trvání onemocnění a nástup mastitidy. Interakce mezi patogeny mastitidy, epitelem, endotelem a imunitním systémem mléčné žlázy je složitá. V závislosti na patogenu a jeho produkci toxinů se aktivují různé cytokiny, které působí protizánětlivě, což vede k různým imunitním reakcím vemene (Winter et al., 2009).

3.8 Cíle diagnostiky mastitidy

Aby se minimalizovaly finanční ztráty způsobené sníženou produkcí mléka a výrobními ztrátami při zpracování mléka, je včasné zjištění poruch zdraví vemene velmi důležité. Poruchy zdraví vemene by měly být vždy shromažďovány a diagnostikovány na jednotlivých zvířatech, ale objasnění příčin a úspěšná léčba vyžadují pozorování na úrovni stáda (Winter et al., 2009).

3.9 Formy mastitidy

3.9.1 Normální sekrece

Nezjišťují se žádné klinické změny na mléčné žláze (Hofírek a kol., 2009). Zdravé čtvrti vemene jsou ty, které nevykazují patrné patologické změny a jejichž mléko nemá patogenní mikroorganismy a normální obsah buněk (Winter et al., 2009). Počet buněčných elementů je <100 000 (200 000) /ml (Hofírek a kol., 2009).

3.9.2 Latentní mastitida

Je možné detekovat patogeny bez pozorování nárůstu počtu buněk (Winter et al., 2009). Nezjišťují se žádné klinické změny na mléčné žláze (Hofírek a kol., 2009). Hejlíček a kol., (1987) publikovali, že je mléčná žláza bez klinicky zjištěných změn, sekret je smyslově nezměněný, fyzikálně chemické vlastnosti také, mléko však obsahuje patogenní mikroby. Počet buněčných elementů je <300 000/ml (Winter et al., 2009).

3.9.3 Subklinická mastitida

Subklinická mastitida je příčinou zánětu vemene bez jakýchkoli snadno rozpoznatelných příznaků (Winter et al., 2009). Počet somatických buněk v mléce se zvyšuje, patogeny jsou přítomny v sekretu a chemické složení mléka je změněno (Yu, 2017). Dojivost postižené čtvrti je snížena, sekret je bez makroskopických změn a mění se fyzikálně chemické vlastnosti (pH, obsah chloridů a elektrická vodivost zvýšené) (Hejlíček a kol., 1987).

Subklinicky nemocné krávy lze identifikovat pouze pomocí vhodných vyšetřovacích metod (NK test, bakteriologické vyšetření). Subklinické mastitidy jsou velmi často později rozpoznány a patogeny se během nebo mezi dojením mohou rozšířit v populaci (Winter et al., 2009).

3.9.4 Klinická mastitida

Klinická mastitida je obecně snadno diagnostikována viditelnými klinickými projevy (Yu, 2017), jako je zvýšená teplota, bolest, otok: atrofie vemene. Kromě toho je mléko makroskopicky změněno. Patogeny a zvýšení počtu buněk jsou detekovatelné (Winter et al., 2009). Klinické mastitidy jsou jednou z hlavních chorob ve stádech dojnic a vyvolávají značné ekonomické ztráty, složených převážně z vyraženého mléka, zvýšených nákladů na zdravotní péči a sníženou kvalitu mléka (Hogeveen, 2005).

Nedávné studie zjistily, že krávy s klinickou mastitidou měly sníženou pravděpodobnost zabřeznutí ve srovnání se zdravými krávami (Villa-Arcila, 2017). Na základě klinického vyšetření, příslušných patogenů a průběhu onemocnění lze rozlišit různé typy mastitidy:

- katarální mastitidy
- parenchymatózní mastitidy
- gangrenózní mastitidy

- abscesové mastitidy
- granulomatózní mastitidy
- intersticiální mastitidy (Winter et al., 2009).

3.9.5 Katarální mastitida

Hejlíček a kol. (1987) se domnívají, že katarální mastitida je charakterizována serózním nebo serózně hnisavým zánětem sekrečního epitelu alveolů a vývodných cest. Pojivová tkáň bývá postižena jen výjimečně. Postihuje více čtvrtí, přičemž na každé z nich může jinak probíhat. Jako původci katarálního zánětu vemene převažují streptokoky skupiny B a C, stafylokoky, méně jsou zjišťovány koliformní a pyogenní bakterie.

Jagoš a kol. (1985) uvádí, že při katarální mastitidě bývá postižen převážně vývodný (dutinový) systém.

- Subklinická forma

V tomto stadiu nejsou odpovídající zánětlivé změny na vemeni a sekretu prokazatelné, s výjimkou pozitivního NK testu. Tato forma má význam pro včasné mikrobiologické vyšetření stáda, jako původci se vyskytují *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* a *Mycoplasma bovis*.

- Akutní forma

Vzniká nejčastěji při nepříznivých zoohygienických podmínkách a stresech ze subklinické nebo chronické katarální mastitidy (Hejlíček, 1987).

Vemeno – postižená čtvrť je zvětšená, bolestivá a vykazuje vysokou teplotu. Současný edém zůstává omezen na nemocnou čtvrť (Winter et al., 2009). Postižen je secernující epitel, alveoly jsou zduřelé, zánět přechází na vývodné cesty a cisterny (Hejlíček a kol., 1987).

Sekret – množství sekretu se snižuje a sekret obsahuje vločkové nečistoty (Winter et al., 2009). Tato forma je typická pro akutní streptokokové a stafylokokové mastitidy, někdy i pro iniciální stadium kolimastitidy (Hejlíček a kol., 1987).

- Chronická forma

Vzniká plynule z formy subklinické nebo neúspěšně léčené akutní katarální mastitidy. Je nejčastěji se vyskytující formou, souvisí s nesprávným a nehygienickým dojením, postiženo bývá více čtvrtí (Hejlíček a kol., 1987).

Vemeno – postižená čtvrt' je zmenšená a zatvrdlá (Winter et al., 2009). Alterace se zjišťují na pojivové tkáni jako lokální či difúzní proliferace, palpovatelné jako uzlovité či provazcovité zatvrdliny velikosti fazole, ořechu až jablka (Hejlíček a kol., 1987).

Sekret – vylučování mléko je sníženo v množství a mléko má vodnatý charakter (Winter et al., 2009). Někdy mléko obsahuje jemné či hrubší vločky.

Vyskytující se původci jsou: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, v některých chovech *Staphylococcus aureus* nebo *Klebsiella pneumoniae* (Hejlíček a kol., 1987).

3.9.6 Parenchymatózní mastitida

Parenchymatózní mastitida (těžká akutní mastitida) je zánětem celého parenchymu vemene (Winter et al., 2009). Jako původci převažují koliformní bakterie (*E. Coli*, *Klebsiely*, *Enterobacter*), též se vyskytují *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, a výjimečně *Klostridia* (*Cl. Perfringens*, *Cl. Septicum*) (Hejlíček a kol., 1987). Při parenchymatózní mastitidě dochází k zánětu kanálů a poté k zánětu parenchymu (Dudenhausen, 2014).

- Akutní forma

Vemeno – postižená čtvrt' je zvětšená, tvrdá, bolestivá a horká. Pokožka je napnutá z důvodu nastávajícího otoku. Celkový stav zvířete je vážně narušen: vykazuje vysokou horečku, ztrátu chuti k jídlu, zimnici a případně průjem.

Sekret – charakter sekrece mléka se rychle ztrácí a jedná se o sekret podobný mléku (Winter et al., 2009).

- Chronická forma

Vemeno – postižená čtvrt' zůstává zvětšená a povrch postižené části vemene bývá hrbolovitý (Hejlíček a kol., 1987).

Sekret – dojivost výrazně klesá (Winter et al., 2009). Z postižené čtvrti se získá jen nepatrné množství hnisavého sekretu často žlutozelenavé barvy a typického hnilobného zápachu. Tento průběh je provázen výrazným hubnutím (Hejlíček a kol., 1987). Sekret je natolik změněn, že pozbyl mléčného charakteru – je mléku nepodobný (Jagoš a kol., 1985).

3.9.7 Gangrenózní mastitida

Gangrenózní mastitida je relativně neobvyklá, ale často fatální. Ovlivněné krávy vždy ztrácejí čtvrtinu mléčné žlázy, která je postižena a někdy i jedinec umírá. Protože většina případů je způsobena grampozitivními organismy, používají se prokainové peniciliny obsahující intramamární infuze (Phiri et al., 2010). Často se jedná o patogeny *Streptococcus Aureus*, *Clostridium Perfringens*, *Bacillus cereus* (Winter et al., 2009).

3.9.8 Abscesová mastitida

Na počátku nástupu abscesové mastitidy se obvykle vyskytuje akutní zánětlivá fáze, často se projevující jako akutní parenchymatózní mastitida. V dalším průběhu z rozvinutá tkáň vznikají abscesy. Tyto mastitidy se často vyskytují na pastvě u telat. U dojnic v průběhu laktace se mohou vyskytovat jako rány na vemeni (Winter et al., 2009).

3.9.9 Granulomatózní mastitida

Z hlediska nálezu jsou doménou patologické morfologie. V našich podmínkách se z této skupiny (tuberkulóza, brucelóza, botryomykóza, aktinomykóza) u skotu vyskytuje jen vzácně aktinomykóza vemene (Hejlíček a kol., 1987).

Na počátku onemocnění granulomatózní mastitidy se obvykle objevuje akutní zánětlivá fáze, která je vyloučena pouze nespecifickými symptomy. Může být pozorována horečka. Postižená čtvrt' je drsná a tvrdá (Winter et al., 2009).

3.9.10 Intersticiální mastitida

Intersticiální mastitida je zánět pojivové tkáně bez účasti tkáně produkující mléko (Winter et al., 2009). Z klinických příznaků zánětu lze zjistit mírné zvětšení postižené čtvrti a zduření nadvemenních mízních uzlin. Dojivost může být snížena, sekret bývá normální, smyslové a fyzikálně chemické vlastnosti mléka nebývají narušeny (Hejlíček a kol., 1987).

3.10 Rozdělení zánětů mléčné žlázy podle původců

3.10.1 Streptokokové mastitidy

Streptokokové mastitidy jsou nejčastější formou zánětu mléčné žlázy u dojnic. Mohou být vyvolány různými druhy streptokoků, přičemž podíl jednotlivých skupin streptokoků na vzniku mastitid v jednotlivých stájích může být různý (Jagoš a kol., 1985).

Použitelná antibiotika: Beta – laktámová antibiotika – Benzylpenicilin, Oxacilin, Ampicilin, Kloxacilin, Amoxicilin + kyselina klavulanová, Cefalosporiny (Hofírek a kol., 2004).

Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae je příčinou meningoencefalitidy, mastitidy, pneumonie a bakteriální sepse u široké škály hostitelů (Zhu et al., 2017). Je adaptován na mléčnou žlázu a má afinitu k mléku. Ve vnějším prostředí se nerozmnožuje, ale je tam schopen přežít po více týdnů. Zdrojem infekce je infikovaná mléčná žláza dojnice, její povrch, jiná zvířata, člověk a jiné infikované vodní biotopy (Hofírek a kol., 2009).

S. Agalactiae je velmi nakažlivý patogen a je snadno přenášen z krávy na krávu během procesu dojení. Její reakce na antibiotickou terapii je dobrá, a proto by mělo být možné odstranit infekci ze stáda za předpokladu, že se věnuje také pečlivá pozornost následujícím pěti kontrolním bodům:

- přísná hygiena během dojení
- dezinfekce struků po dojení
- správné zaprahování krav
- utrácení chronických opakovaných případů
- správná funkce dojícího stroje (Blowey and Edmondson, 1995).

K infekci mléčné žlázy dochází převážně strukovým kanálkem. Na nepoškozeném epitelu strukového kanálku, mlékojemu a velkých mlékovodů může být původce obrannými mechanismy hostitele zneškodněn, ale při jeho poškození nejrůznějšími iritačními faktory se adaptuje a začne se množit (Hofírek a kol., 2009). Mléko z infikovaných čtvrtí může obsahovat masivní množství bakterií, v některých případech až 100 000 000 na ml (Blowey and Edmondson, 1995). Sekret je mléčný, vodnatě mléčný, méně bělavé žluté vločky, fibrin, hnisavý serózní s vločkami, syrovátkovitý sérovitý – nezapáchá. Mléčná žláza vykazuje snížení

dojivosti o 20 %, mírné zduření postižených čtvrtí, přechod v induranci a atrofii (Hejlíček a kol., 1987).

Vzhledem k obrovskému riziku šíření a infekce *Streptococcus agalactiae* u zdravých zvířat je třeba zavést následující opatření:

- oddělené ustájení zdravých a infikovaných dojnic
- krmení mléka jalovičkách
- přesný monitorovací program

Léčba:

- okamžité ošetření všech čtyřech čtvrtí laktujících dojnic penicilinem
- kontrola všech dojnic po otelení a následná léčba infikovaných dojnic
- porážka opakovaně infikovaných a již ošetřených dojnic (Winter et al., 2009).

Streptococcus dysgalactiae

Streptococcus dysgalactiae je třetí hlavní příčinou nakažlivé mastitidy (Blowey and Edmondson, 1995). Jako zdroj infekce přichází v úvahu mléko z nemocné čtvrti. Ve stádě se objevují zpravidla jen ojedinělé případy. Původci přežívají na kůži mléčné žlázy, v drobných ragádách, ale také na tonzilách, na sliznici pochvy, v kontaminované děloze a také v plodových obalech při zmetání. Tyto zdroje jsou důležité pro vznik ojedinělých mastitid ve stádě. Projev mastitidy je ve většině případů subklinický (Hofírek a kol., 2009).

Sekret je vodnatě mléčný a vločky jsou šedožluté barvy. Změny na mléčné žláze: zesílení stěn cisteren struku, čtvrti, strukového kanálku, atrofie parenchymu, fibróza – hypertrofie – deformace a ztráta laktace (Hejlíček a kol., 1987).

Tento patogen může způsobit těžkou akutní mastitidu a vyžaduje delší dobu terapie k dosažení uspokojivých výsledků hojení (Winter et al., 2009).

Léčba případů klinické mastitidy

- intramamární léčba cefalosporinů po dobu 5 – 8 dní
- vysoká dávka penicilinu intramamární kombinovaná s 5denním parenterálním podáváním
- léčba souběžných klinických příznaků

Léčba subklinických případů mastitidy v období stání na sucho

- intramamární léčba cefalosporinem po dobu 5 – 8 dní
- vysoká dávka penicilinu intramamární kombinovaná s 5denním parenterálním podáváním

- Tylosin 2 týdny před otelením: 30 ml, 30 ml a 40 ml v intervalech 24 hodin (Winter et al., 2009).

Streptococcus uberis

Streptococcus uberis je hlavní příčinou environmentální mastitidy u krav (Deogo et al., 2011). *S. uberis* je druhý nejčastější ekologický organismus způsobující mastitidu. Zvláště se sdružuje ve slámě, kde může dojít k velmi vysoké míře infekce. Bylo hlášeno až 1 000 000 organismů na gram podestýlky ze slámy (Blowey and Edmondson, 1995).

Tento patogen, stejně jako u *S. Dysgalactiae* může způsobit těžkou akutní mastitidu a vyžaduje delší dobu terapie k dosažení uspokojivých výsledků hojení (Winter et al., 2009). Původce je prokázán na kůži, ale také v dutině ústní, bachoru a konečníku. Velmi často je příčinou infekce mléčné žlázy u dojnic v období stání na sucho. V mléčné žláze může perzistovat i několik měsíců. Primárním zdrojem infekce je střešní obsah skotu (Hejlíček a kol., 1987).

Navzdory významným ekonomickým ztrátám způsobeným *S. uberis* nejsou faktory virulence a mechanismy spojené s patogenezí *S. uberis* dobře známy, což brání vývoji kontrolních opatření účinných pro tento konkrétní patogen (Deogo et al., 2011).

Postup léčby je obdobný, jako u *S. Dysgalactiae*:

Léčba případů klinické mastitidy

- intramamární léčba cefalosporinů po dobu 5-8 dní
- vysoká dávka penicilinu intramamární kombinovaná s 5denním parenterálním podáváním
- léčba souběžných klinických příznaků

Léčba subklinických případů mastitidy v období stání na sucho

- intramamární léčba cefalosporinem po dobu 5-8 dní
- vysoká dávka penicilinu intramamární kombinovaná s 5denním parenterálním podáváním
- Tylosin 2 týdny před otelením: 30 ml, 30 ml a 40 ml v intervalech 24 hodin (Winter et al., 2009).

3.10.2 Stafylokokové mastitidy

U stafylokokových mastitid se jedná o galaktoforitidu nebo o katarální až hnisavou, akutně nebo chronicky probíhající mastitidu vyvolanou převážně druhem *Staphylococcus aureus*. Na vzniku stafylokokových zánětů mléčné žlázy se podílí také koaguláza – negativní stafylokoky. V současnosti jsou stafylokoky nejčastějšími patogeny mléčné žlázy. Vyznačují se poměrně dobrou odolností vůči nepříznivým vlivům vnějšího prostředí. Zdrojem stafylokokových infekcí mléčné žlázy jsou také dojící stroje, kde se může původce nacházet v pórech gumových mléčných násadců. Bohatým zdrojem infekce jsou také drobná poranění kůže rukou u dojičů (Hofírek a kol., 2009). Stafylokoky pronikají do mléčné žlázy zpravidla strukovým kanálkem z okolí, utěrek, infikovaných strukových násadců aj. (Jagoš a kol., 1985).

Použitelná antibiotika: Oxacilin, Kloxacilin, Nafcilin, Amoxicilin + kyselina klavulanová, Cefalosporiny 1 – 4 generace, Linkomycin + Neomycin (Hofírek a kol., 2004).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus je univerzální virulentní oportunní patogen pro lidi a zvířata a je zodpovědný za různé infekce, jako jsou infekce rány a syndromy zprostředkované toxiny (otrava potravinami, syndrom zakalené kůže a syndrom toxického šoku), stejně jako systémové a život ohrožující onemocnění, jako je endokarditida, osteomyelitida, pneumonie, abscesy mozku, meningitida a bakteriémie (Papadopoulos et al., 2018). U zvířat i u člověka je nejčastějším původcem hnisavých alterací. V našich podmínkách je druhým nejfrekventovanějším původcem infekčních mastitid u dojnic a jeho zastoupení v rámci všem izolovaných bakteriálních původců mastitid činí 15–20 % (Hofírek a kol., 2009).

Jagoš a kol. (1985) uvádí, že se *Staphylococcus aureus* vyskytuje na různých místech těla zdravých zvířat, zejména na kůži vemene a struků, kde může přežívat a množit se.

Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus epidermidis patří mezi méně časté původce mastitid. Kolonizuje kůži vemene a struků. Do mléčné žlázy proniká strukovým kanálkem, ale mastitidu nemusí vždy vyvolat a infekce je často spontánně eliminována. Pokud zánět vznikne, jeho průběh je mírnějšího rázu (Hofírek a kol., 2009).

Staphylococcus epidermidis je nejrozšířenější z mnoha kožních rezidentních mikroflór (Cogen et al., 2010).

3.10.3 Koliformní mastitidy

Koliinfekce mléčné žlázy se vyskytují většinou jako sporadická onemocnění, ale můžeme se setkat s případy jejich hromadného výskytu u několika zvířat ve stáji současně. Kolimastitidy se vyskytují i ve stádech s příznivou hodnotou počtu somatických buněk. Vznik onemocnění je umožněn zvýšeným mikrobiálním tlakem původce v zoohygienicky nevyhovujícím zevním prostředí, zejména při volném ustájení dojnic. Jde o typický a jeden z nejčastěji se vyskytujících zánětů mléčné žlázy, které jsou vyvolávány environmentálními původci (Hofírek, 2009). Tyto mastitidy jsou vyvolávány skupinou G – koliformních bakterií. K infekci dochází zpravidla strukovým kanálkem. Za příznivých podmínek se v mléčné žláze rychle pomnoží a vylučují endotoxin, který vyvolává lokální i celkové příznaky onemocnění (Jagoš a kol., 1985).

Použitelná antibiotika: Kolistin, Neomycin + Linkomycin, Amoxycilin + kyselina klavulanová, Cefalosporiny 4 generace, Tetracyklin, Oxytetracyklin, Chlortetracyklin, Gentamicin, Enrofloxacin, Sulfoamidy + Trimethoprim (Hofírek a kol., 2004).

Escherichia coli

Escherichia coli nebo koliformní bakterie mohou za určitých podmínek způsobit problémy v chovu, které jsou charakterizovány zvýšeným výskytem akutní klinické mastitidy a přítomnosti chronické mastitidy (Winter et al., 2009).

V případě akutního zánětu se klinické projevy na mléčné žláze objeví během několika hodin. Mléčná žláza se v těchto případech zvětší, je tužší až tvrdé konzistence, velice bolestivá, teplá, kůže je napjatá a až cyanotické barvy. Postižená bývá zpravidla jedna čtvrt', většinou zadní. Mléko ztrácí rychle svůj charakter. Sekret je nejprve vodnatý, později serózní a s příměsí krve a je ho velmi málo. Později se objeví v sekretu fibrinové nebo hnisavé vločky a sekret se stává šedožlutý. Sekrece mléka ze zdravých čtvrtí je velmi snížena. Narušení celkového zdravotního stavu je charakterizováno vysokou teplotou až horečkou $>41,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, pulzem $>100/\text{min}$, a také dýchání je zrychlené a povrchní. Objevuje se chvění svalstva, anorexie, zástava přežvykování, atonie předžaludku, někdy průjem a dehydratace (Hofírek a kol., 2009).

Postup léčby:

- akutní parenchymatózní mastitida s intoxikací: léčba septického šoku
- akutní parenchymatózní mastitida: sulfonamidy/trimetoprim, cefalosporiny
- chronická mastitida: intramamární léčba cefalosporiny (Winter et al., 2009).

3.10.4 Klebsiella spp.

Rod *Klebsiella* se skládá z nepohyblivých gramnegativních bakterií, které se nacházejí v různých prostředích a části přírodní mikroflóry půdních odpadů a přírodních vodních těles. *Klebsiella sp.* patří do rodiny Enterobacteriaceae a rozděluje se na řadu druhů včetně *Klebsiella pneumoniae* (Das et al., 2018).

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae, fakultativní anaerobní gramnegativní bacil, který je důležitým oportunistickým patogenem spojeným s jak komunitními, tak nozokomiálními infekcemi, jako je pneumonie (Huang et al., 2015).

3.10.5 Pyogenní mastitidy

Pyogenní zánět mléčné žlázy je závažné onemocnění, které se zpravidla klinicky manifestuje jako mastitis acuta gravis, při němž dochází k hnisavě nekrotickému zánětu parenchymu mléčné žlázy a tvorbě abscesů. Mastitida se objevuje zejména v letních měsících, a proto je také nazývána jako „letní mastitida“ (Hofírek a kol., 2009). Šíří se především hmyzem (Hofírek a kol., 2004). Je známa pod dalšími názvy jako hnisavá mastitida, apostematózní mastitida, korynebakteriální mastitida nebo abscedující mastitida. Postihovány jsou zejména jalovice, zaprahlé krávy, ale i kojící dojnice v létě na pastvě (Hofírek a kol., 2009).

Zdrojem infekce jsou veškerá hnisavá poranění, kontaminované dojící zařízení a ruce dojičů. Použitelná antibiotika: beta laktamová antibiotika (Hofírek a kol., 2004).

Corynebacterium pyogenes

Typ zánětu je katarální akutní, parenchymatózní chronický a akutní. Sekret je serózní, zkalený s vločkami, hnisavý a má hnilobný zápach. Mléčná žláza vykazuje následující změny: silně zduřelá a zatvrdlá čtvrt', abscesy, uzly, píštěle, zelenožlutý nebo nahnědlý zapáchající hnis s příměsí krve, výrazné hubnutí a exacerbace (Hejlíček a kol., 1987).

3.10.6 Pseudomonádové mastitidy

Onemocnění se manifestuje jako akutní, chronická i subklinická mastitida. Vyskytuje se poměrně vzácně, v akutní formě může být průběh i infaustní. Většinou se vyskytuje v chronické podobě nezávisle na roční době nebo fázi laktace (Hofírek a kol., 2009).

Pseudomonádové mastitidy se vyskytují sporadicky, výjimečně též jako ekonomicky závažný stájový problém. Jejich význam spočívá v tom, že způsobují snížení produkce a zhoršení kvality mléka (Jagoš a kol., 1985).

Typickými příznaky těchto mastitid jsou: horečka, zvětšená teplá a bolestivá čtvrt', snížený mléčný – vodnatý – sérovitý sekret nažloutlé barvy s obsahem vloček (Hejlíček a kol., 1987).

Pseudomonas aeruginosa

Změny na mléčné žláze: horečka, zvětšená, teplá a bolestivá čtvrt'. Sekret je snížený, mléčný – vodnatý – sérovitý, namodralá – nažloutlá barva, vločky až chuchvalce a typický zápach (Hejlíček a kol., 1987).

Za normálních okolností se *Pseudomonas aeruginosa* v mléčné žláze nenachází, ale může být vykultivován z mléka nemocné dojnice. Dá se izolovat z vody, fečes a z okolí dojnice. Vyskytuje se také na kůži a sliznicích. K infekci mléčné žlázy dochází galaktogenní cestou. Stává se tak při aplikaci antibiotik intramamárně v době zaprahování (Hofírek a kol., 2009).

3.10.7 Enterococcus spp. mastitis

Tato skupina mikroorganismů, charakterizovaná skupinovým antigenem D, vyvolává u skotu záněty mléčné žlázy. Z mléka jsou izolovány s rozdílnou četností a také podíl jimi vyvolaných mastitid na celkovém výskytu zánětů mléčné žlázy kolísá stáj od stáje, v závislosti od velikosti stáda a vlivu predispozičních faktorů. Jedná se o následující druhy: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus bovis* a *Enterococcus equinus*, kteří se nacházejí v trávicím traktu zvířat a odtud kontaminují venkovní prostředí. Do mléčné žlázy pronikají strukovým kanálkem a vyvolávají převážně subklinické mastitidy (Hofírek a kol., 2009).

3.10.8 Enterobakteriální mastitidy

Enterobacter cloacae a *Enterobacter agglomerans*

Enterobacter cloacae a *Enterobacter agglomerans* jsou oportunní patogeny, které se často účastní nozokomiálních infekcí. Tyto enterobakteriální druhy jsou vnitřně rezistentní na aminopeniciliny, amoxicilin/kyselinu klavulanovou a cefalosporiny raných generací. Jsou také rezistentní vůči širokospektrálním cefalosporinům (Fernández et al., 2015).

3.10.9 Proteus spp. mastitis

Proteus spp. jsou oportunní multirezistentní enterobakterie spojené s různými klinickými onemocněními u domácích zvířat. Proteusové infekce u domácích zvířat jsou však často špatně diagnostikovány nebo považovány za kontaminující látky v mikrobiologických kulturách spíše než primárními chorobami. Popisy infekcí *Proteus* u domácích zvířat jsou zpravidla omezeny na případové zprávy, retrospektivní studie nebo sledování jiných mikroorganismů. Jako zástupce se uvádí *Proteus Vulgaris* (Zappa et al., 2017).

3.10.10 Serratia spp. mastitis

Serratia marcescens

Gram-negativní bakterie *Serratia marcescens* je známý ekologický mikroorganismus a přijatý klinický patogen způsobující nozokomiální infekce. V posledních letech přitahuje větší pozornost kvůli vzniku kmenů s více drogovou rezistencí (Kamaletdinova et al., 2016).

3.10.11 Mycobacterium bovis mastitis

Mycobacterium bovis

Tuberkulóza mléčné žlázy způsobená bakterií *Mycobacterium bovis* byla identifikována u široké škály hostitelů, včetně domácích zvířat a volně žijících živočichů, které se mohou stát nádržemi infekce a přispívají k udržování infekce. Tato nemoc má celosvětovou distribuci a v mnoha zemích je stále hlavní infekční chorobou u domácích zvířat a volně žijících živočichů (Risalde et al., 2017).

Největší část infekcí mléčné žlázy se uskuteční hematogenní cestou z primárního ložiska, kterým bývají zpravidla plíce, a po generalizaci v mléčné žláze vzniklé drobné uzlíky tuberkulózního procesu jsou příčinou, že poměrně brzy se mohou původci objevit v mléce (Hofírek a kol., 2009).

Mycobacterium tuberculosis

Po vstupu do plíce se *M. tuberculosis* požívá alveolárními makrofágy a vyvolává lokalizovanou zánětlivou odezvu, která tím, že produkuje řadu cytokinů a chemokinů, vede k včasnému náboru mono – a polymorfních jaderných buněk ze sousedních cév do infekčních ohnisky. To vede k vytvoření skupiny imunitních buněk nazývaných granulom, což je charakteristika infekce TBC (Brandenburg and Reiling, 2016).

3.10.12 *Nocardia* spp. mastitis

Onemocnění vyvolaná různými druhy mikroorganismů rodu *Nocardia* jsou charakterizovaná granulomatózně hnisavými procesy probíhajícími v akutní nebo chronické formě u skotu v různých orgánech a postihující plíce, srdce, játra, pohrudnici, mléčnou žlázu, hrtan atd. K rodu *Nocardia* náleží více druhů: *Nocardia asteroides*, *Nocardia farcinica* a *Nocardia otitidis caviarium*. Tyto bakterie se nacházejí v zevním prostředí. K infekci dochází cestou galaktogenní, hematogenní a perkutánní (přes poranění) (Hofírek a kol., 2009).

3.10.13 Mykoplazmové mastitidy

Výskyt mykoplazmových mastitid byl zaznamenán v posledních letech, byly již diagnostikovány i v našich velkochovech. Vyznačují se rychlým rozšířením na velký počet krav a vyvoláváním ekonomických ztrát snížením produkce mléka a vyřazováním krav z chovu (Jagoš a kol., 1985).

Příznaky mykoplazmových mastitid: zvětšená, zarudlá, teplá a bolestivá čtvrt', snížená dojivost, zvýšená teplota, nechut', sekret je vodnatě mléčný s fibrinovými vločkami bez zápachu (Hejlíček a kol., 1987).

Mycoplasma bovis

Mycoplasma bovis existuje na celém světě jako důležitý patogen u skotu, který způsobuje pneumonii, artritidu, mastitidu, kerato-konjunktivitidu, poruchy genitálií, meningitidu a jiné klinické stavy (Khan, 2017). Infikované zvíře je hlavním zdrojem infekce pro ostatní zvířata. Přenos je možný dojícím strojem, dojičem, kontaminovanými předměty, podestýlkou a při aplikaci mikrobiálních látek do mléčné žlázy při zaprahování (Hofírek a kol., 2009).

M. Bovis je adaptována na skot a osídluje převážně mléčnou žlázu (Hejlíček a kol., 1987).

Další původci mykoplazmových mastitid

Mycoplasma bovigenitalium, *Mycoplasma alcaescens*, *Mycoplasma canadense* a *Mycoplasma californicum*.

3.10.14 Bacillus cereus mastitis

Bacillus cereus je gram – pozitivní tyčinka a spóry tvořící bacil, který lze nalézt v různých podmínkách prostředí (Li et al., 2018). Patogen produkuje exotoxin. K infekci mléčné žlázy dochází galaktogenně nebo velmi zřídka poraněnou kůží mléčné žlázy. Velmi často může být infekce také zavlečena do mléčné žlázy zaváděním nesterilních dilatátorů mléčného kanálku, který byl kontaminován sporami bacila (Hofírek a kol., 2009).

Bacillus cereus je příčinným činitelem nemoci přenášené potravou (Li et al., 2018).

3.10.15 Mastitidy vyvolané kvasinkami

Kvasinkové organismy jsou všudypřítomné v zevním prostředí a jsou také přítomny na kůži mléčné žlázy a struků zejména ve velkém množství ve stájích, kde se krmí závadná siláž. V této souvislosti jsou také izolovány z mléka (Hofírek a kol., 2009).

Původcem těchto mastitid jsou houby a kvasinky rodů *Cryptococcus*, *Candida*, *Torulopsis* a *Hansenulla*. Vyskytují se ve stájovém prostředí jako syprofyti. Za příznivých podmínek se dostávají do vemene, pomnoží se ve vývodném systému a vyvolávají mastitidu různého stupně (Jagoš a kol., 1985).

3.10.16 Mastitidy vyvolané plísněmi

Aspergillus fumigatus

Aspergillus fumigatus je rozšířená houba, která kolonizuje mrtvé organické substráty, ale může také způsobit smrtelné lidské onemocnění (Santoro et al., 2017).

Tento patogen je ve vnějším prostředí velmi rozšířený. Infikované čtvrti mléčné žlázy při akutním průběhu jsou méně nebo více zduřelé, na pohmat tuhé a bolestivé. Sekret je šedobílý a obsahuje vločky, hnis a někdy i krev. Jsou však také případy se subklinickým průběhem (Hofírek a kol., 2009).

3.10.17 Mastitidy vyvolané řasami

Prototheca zopfii

Bovinní protothekální mastitida se vyznačuje zhoršující se kvalitou a množstvím mléka, což přináší mlékárenskému průmyslu obrovské hospodářské ztráty (Shahid et al., 2017).

Tato řasa může vyvolat zánět mléčné žlázy probíhající akutně nebo subakutně. Do mléčné žlázy se původce dostává ze silně kontaminovaného vnějšího prostředí, za spoluúčasti dalších vyvolávajících faktorů, galaktogenně do mléčných vývodných cest. Onemocnění zachvátí nejprve jednu čtvrt mléčné žlázy, ale postupně onemocní i ostatní. Sekrece mléka silně poklesne. Mléčná žláza je tuhé konzistence, bolestivá. Mléčný sekret není zpočátku změněný, teprve až se objeví alterace v parenchymu, dojde ke změnám sekretu, který se stává hlenovitý a obsahuje tvarohovité sraženiny (Hofírek a kol., 2009).

3.11 Diagnostika zánětů mléčné žlázy

Vemeno je velmi zranitelné, zejména při vysokém výkonu. Mastitida je jednou z ekonomicky důležitých chorob přežvýkavců. Aby se minimalizovaly finanční ztráty způsobené sníženou produkcí mléka a výrobními ztrátami při zpracování mléka, je včasné zjištění poruch zdraví vemene velmi důležité. Poruchy zdraví vemene by měly být vždy shromažďovány a diagnostikovány na úrovni jednotlivých zvířat, ale vyjasnění příčin a úspěšné léčby vyžaduje pozorování na úrovni stáda (Winter et al., 2009).

Kováč a kol. (2001) uvádí, že se mastitidy u dojnic diagnostikují pomocí klinických a laboratorních vyšetření.

3.11.1 Klinické vyšetření

Mléčná žláza se vyšetřuje adspekci, palpací a vyšetřením mléčného sekretu (Hofírek a kol., 2009).

Je zaměřeno na zjištění funkčního a zdravotního stavu mléčné žlázy, ale také na zjištění celkového zdravotního stavu zvířete. Před vlastním klinickým vyšetřením vemene se zhodnotí anamnestické údaje, týkající se vyšetřované dojnice i podmínek celého chovu zvířat. Nejprve se musejí zjistit následující údaje (datum posledního otelení, dojitelnost vemene, překonaná onemocnění mléčné žlázy a jejich výskyt u vyšetřovaného zvířete i ve stáji, způsob dojení v objektu, systém údržby a kontroly funkce dojících strojů, dezinfekci dojícího zařízení, hygienu dojičů, způsob krmení zvířat a změny v denním režimu dojnic) a až poté je možné provést vlastní klinické vyšetření (Hejlíček a kol., 1987).

- Adspekce – kontrola mléčné žlázy zezadu a z obou stran, poté kontrola tvaru, velikosti, symetrie jednotlivých čtvrtí, ochlupení, barvy, vyrážky, poranění a délka struků.

- Palpace – palpace mléčné žlázy probíhá vždy z pravé strany současně oběma rukama z venkovní i vnitřní strany. Vyšetřuje se teplota, kůže, bolestivost, elasticita, konzistence a struktura parenchymu, náplň a konzistence cisterny a stav strukového kanálku.
- Vyšetření mléčného sekretu – smyslově, biochemicky, cytologicky, mikrobiologicky a sérologicky (Hofírek a kol., 2009).

3.11.2 Laboratorní vyšetření

Mikrobiologické vyšetření

Vzorky mléka pro laboratorní vyšetření se zásadně odebírají bezprostředně před dojením, během regulérního dojení, po toaletě vemene a oddojení prvních stříků dojičem. Vážným problémem laboratorní diagnostiky mastitid je kontaminace vzorků mléka mikroorganismy lokalizovanými v kanálku a na hrotu struku. Cílem mikrobiologického vyšetření je zachytit a identifikovat bakteriálního původce infekce vemene a stanovit jeho citlivost na antibiotika (Hofírek a kol., 2004).

Cytologické vyšetření

Cytologické vyšetření zjišťuje celkové množství buněk a jejich diferenciaci (Hejlíček a kol., 1987). Odebírají se vzorky mléka od jednotlivých krav nebo bazénové vzorky se zaměřením na kvantitativní stanovení počtu somatických buněk. K odběru se používají dokonale čisté sterilizované vzorkovnice nebo zkumavky. Vzorek mléka se ihned po odběru musí stabilizovat požadovaným stabilizačním činidlem a do laboratorního zpracování udržovat v chladovém režimu (Hofírek a kol., 2004).

3.11.3 Stájové testy

California Mastitis Test

Californský mastitidní test je rychlý, levný a jednoduchý test pro zjištění subklinických mastitid ve stádě (Mahmmod et al., 2013).

DNA uvolněná ze somatických buněk vytváří s detergenty viskózní reakční směs. Mléko se na diagnostické paletě smíchá stejným dílem s reagens. To obsahuje detergent a barevný indikátor změny aktuální kyselosti. Test se hodnotí v pěti stupních podle stupně

viskozity reakční směsi. Úspěšnost testu vedla řadu autorů a výrobců k modifikacím tohoto testu – Mastitis test – NK (Hofírek a kol., 2004).

Tab. 2 Hodnocení Kalifornského mastitidního testu (Winter et al., 2009).

Ohodnocení	Vzhled testu	Obsah buněk / ml mléka
-	kapalina	<150 000 buněk
(+)	lehké vločky	100 000 - 250 000 buněk
+	husté vločky	200 000 - 700 000 buněk
++	tvorba gelu	500 000 - 1 500 000 buněk
+++	tvorba gelu a štěp	> 1 000 000 buněk

Mastitis test – NK

Zkouška odhaluje v mléku dojnice s mastitidou současně zmnožení buněčných elementů a změny ve složení a obsahu anorganických solí, což se projevuje ztrátou pufovací schopnosti mléka a změnou hodnoty pH posunutím na alkalickou stranu (Hejlíček a kol., 1987).

Byla navržena kvantifikace diagnostických nálezů výpočtem čtvrtového iritačního indexu, což je součet zjištěných bodových hodnot testu, dělený počtem vyšetřených čtvrtí. Bodová hodnota indexu tedy činí 0 až 4 (Hofírek a kol., 2004).

PM test

PM test je diagnostický set pro použití na mléčné farmě unikátní tím, že umožňuje určení více než dvaceti druhů bakteriálních a kvasinkových původců mastitid skotu.

Set obsahuje: dezinfekční tampon, jednorázovou zkumavku, sterilní kličku a třísektorovou Petriho misku s multichromovými agary. Vzorek mléka od vyšetřované dojnice se odebírá obvyklým způsobem na dojrně a je bezprostředně nanesen na povrch agarů na misce. Po 22 hodinách inkubace při 37,5 °C je možné odečíst výsledek, neboť každá živá bakteriální buňka přítomná v původním vzorku mléka se rozmnoží v mnohamilionovou kolonii, která dosáhne velikosti špendlíkové hlavičky a je viditelná pouhým okem.

Reálný cíl tohoto testu je znát druh mikroorganismu, který napadl mléčnou žlázu a za předpokladu znalosti jeho potenciálu a citlivosti na antibiotika zahájit terapii. Po záchytu na PM testu a druhovém určení původce mastitidy z narostlé kolonie následuje výběr vhodného antibiotika.

Příklady druhů mikroorganismů specificky rostoucích na PM testu:

- Sektor G -:
 - Escherichia coli (červená barva kolonií)
 - Klebsiella oxytoca (fialová)
 - Enterobacter faecalis (tmavě zelená)
 - Serratia marcescens (světle zelená)
 - Pseudomonas aeruginosa (žlutá)
 - Proteus vulgaris (šedá)
 - Candida rugosa (bílá)
- Sektor STREP:
 - Streptococcus agalactiae (světle modrá)
 - Streptococcus dysgalactiae (zelená)
 - Streptococcus uberis (tmavě modrá)
 - Streptococcus parauberis (fialová)
 - Enterococcus faecalis (červená)
 - Aerococcus viridans (světle fialová)
 - Lactococcus (světle šedá)
- Sektor STAPH:
 - Staphylococcus aureus (červená)
 - Staphylococcus chromogenes (bílá)
 - Staphylococcus epidermis (růžová)
 - Staphylococcus haemolyticus (tmavě zelená)
 - Staphylococcus sciuri (zelená)
 - Staphylococcus xylosus (světle zelená)
 - Staphylococcus saprophyticus (zelenošedá)
 - Micrococcus luteus (žlutá)
 - Bacillus (fialová) (Věříš, 2017).

3.12 Léčba zánětů mléčné žlázy

Cíle:

- dosáhnout likvidace patogenů v nemocné mléčné žláze
- zamezit tvorbě toxinů
- zabránit toxickému šoku a uhynutí dojnice
- obnovit pohodu dojnice

- potlačit lokální příznaky zánětu
- minimalizovat ireverzibilní poškození mléčné žlázy
- minimalizovat ztráty dojivosti (Hofírek a kol., 2004).

Tab. 3 Přehled registrovaných antimikrobiálních léčebných prostředků používaných k léčbě mléčné žlázy v ČR (Hofírek a kol., 2009).

Amoxicilin	Gentamicin	Penicilin
Ampicilin	Kanamycin	Prokainbenzylpenicilin
Benzylpenicilin	Klavulanová kyselina	Pirlimycin
Bacitracin	Kloxacin	Rifaximin
Cefacetril	Kloxacin a bezatin	Spectinomycin
Cefalexin	Kolistin	Spiramycin
Cefoperazon	Linkomycin	Streptomycin
Cefapirin	Marbofloxacin	Sulfadoxin
Cefquinom	Nafcilin	Sulfametoxazol
Dihydrostreptomycin	Neomycin	Tetracyklin
Doxycyklin	Novobiocin	Trimethoprim
Erytromycin	Oxytetracyklin	Tylosin
	Penethacilin	

Použití antibiotik pro léčbu mastitidy je pouze součástí programu léčby mastitidy. Antibiotika přispívají k eliminaci nebo redukci bakterií. Další doprovodná opatření by měla pomoci léčit a zabránit nové infekci. Závisí na typu mastitidy, jednotlivém zvířeti a jiných predispozičních faktorech (Winter et al., 2009).

Tab. 4 Kombinace nejčastěji používaných mikrobiálních látek při terapii mastitid v praxi (Hofírek a kol., 2009).

Amoxicilin + kyselina klavulanová	Linkomycin + neomycin
Amoxicilin + kolistin	Nafcilin + penicilin + dihydrostreptomycin
Ampicilin + kolistin	Penicilin + novobiocin
Kanamycin + cefalexin	Penicilin + neomycin
Kloxacin + kolistin	Penethacilin + benethamin + penicilin
Kloxacin + amoxicilin	Rifaximin + cefalosporiny
Kloxacin + ampicilin	Sulfadoxin + trimethoprim
Kloxacin + neomycin	

Mnoho kmenů izolovaných v ČR vykazuje rezistenci vůči některým antibiotikům, nejčastěji pokud se tato antibiotika použijí pro léčbu krav v zaprahlosti. Důležitá je správná aplikační forma a prostupnost antibiotik do místa zánětu (Bouška kol., 2006).

Pro terapii mastitid v průběhu laktace je nezbytné dodržovat zásadu vyřazení mléka z dodávky do mlékárny (pro lidskou výživu) po dobu podávání antibiotik a zpravidla nejméně 72 h po poslední intracisternální aplikaci (Hejlíček a kol., 1987).

3.12.1 Léčba subklinických mastitid

Provádění léčby subklinických mastitid ve stádě individuálně je neefektivní a nevede k žádnému výsledku. Záležitost se musí řešit jako stádový problém. U dojnic s nálezem subklinické mastitidy se provede intramamární aplikace antimikrobiální látky ve dvou možných variantách:

- ošetří se všechny dojnice najednou bez ohledu na fázi reprodukčního cyklu (laktace)
- postupně se ošetří všechny dojnice v okamžiku zaprahování (po posledním dojení)

Terapie se doplní preventivními opatřeními spočívajícími v přísné hygieně získávání mléka, dezinfekci před i po dojení a dezinfekci strukových násadců mezi dojením jednotlivých zvířat a dalšími opatřeními majícími za úkol snížit mikrobiální tlak na dojnice v konkrétních podmínkách – čistá podestýlka a zvířata, dezinfekce stájí apod. (Hofírek a kol., 2009).

Dobrá prostupnost antibiotik je nezbytná zejména pro řešení subklinických mastitid, způsobených zlatým stafylokokem. Tento zárodek má schopnost přežít v hloubce parenchymu mléčné žlázy, kde je velice obtížně dosažitelný. Proto pouze antibiotika s dobrým průnikem do hloubky tkáně mohou tohoto původce zasáhnout (Bouška a kol., 2006).

3.12.2 Léčba klinických mastitid

U dojnic se provede odběr vzorku mléka pro mikrobiologické vyšetření a poté se zahájí vydojování s aplikací oxytocinu. Následuje výběr vhodného antibiotika a jeho paralelní aplikace doplněná terapií intramamární. Léčba probíhá do vymizení klinických příznaků, poté proběhne kontrola mléka pomocí NK – mastitis testu (Hofírek a kol., 2009).

Okamžitá léčba klinických mastitid je zásadní, protože při neléčení zánětu dochází k těžkému poškození parenchymu mléčné žlázy, postižená čtvrt' je zduřená, dochází k omezení sekrece mléka a může dojít k nežádoucímu zaprahnutí (Bouška a kol., 2006).

V případě chronické klinické mastitidy s lokálními příznaky se doporučuje okamžité zahájení léčby (Winter et al., 2009).

3.13 Zásady prevence a tlumení mastitid

- vyšetření všech dojnic ve stádě
- definovat zdravotní stav stáda, stanovit etiologickou diagnózu, dominantního patogena mastitid a jeho citlivost a antimikrobiálními látkám
- dezinfekce struků
- mezidezinfekce
- terapie všech klinických případů mastitid
- brakování dojnic s klinickou mastitidou, u kterých již nezabírá léčba
- správně seřízený dojící stroj
- sanitace strukových násadců, dojícího stroje a potrubí
- pravidelná kontrola strukových návleček, resp. stupně opotřebovanosti
- příprava potřeb k dojení
- příprava dojičů k dojení
- toaleta mléčné žlázy před dojením
- vlastní způsob dojení
- správná výživa
- stavební, zoohygienická opatření, péče o paznehty a zajištění pohody zvířat (Hofírek a kol., 2009).

3.14 Druhy výrobních ztrát vyvolaných mastitidami

- nižší objem prodaného mléka v důsledku nižší dojivosti v průběhu a po vyléčení mastitidy
- nižší objem prodaného mléka v důsledku jeho vyloučení z dodávky po léčbě antibiotiky
- vyšší vyřazování krav z chovu (vyšší obměna stáda) z důvodu mastitid
- vyšší náklady na léčení (na práci veterináře) a spotřebu léků
- vyšší spotřeba práce ošetřovatelů spojená s péčí o mastitidní krávy
- zhoršení ukazatelů plodnosti dojnic
- změny chemického složení mléka a ukazatelů jeho jakosti (Kvapilík, 2014).

3.15 Faktory ovlivňující výskyt mastitid

3.15.1 Sanitace dojících zařízení

Hlavním zdrojem bakteriální kontaminace syrového mléka je nedokonale vyčištěný a dezinfikovaný dojící stroj. Zbytky mléka jsou ideálním živným substrátem pro pomnožování bakterií.

Rozlišuje se:

- denní sanitace: manuální očištění povrchu dojících zařízení a automatická sanitace výplachem a cirkulací
- týdenní sanitace: manuální očištění povrchu dojících zařízení, manuální dočištění těžko čistitelných míst vnitřního povrchu a automatická sanitace výplachem a cirkulací
- měsíční sanitace: provádí se jen u potrubních dojících strojů určených pro dojení ve stáji

Používané přípravky

- jednoduché – obsahují čisticí nebo dezinfekční složku
- kombinované – obsahují obě složky
- zásadité – odstraňují organické látky (tuky a bílkoviny)
- kyselé – odstraňují anorganické látky (mléčný nebo vodní kámen)

Sanitační přípravky použitelné k sanitaci dojících zařízení musí být na seznamu přípravků schválených Státní veterinární správou ČR (Hofírek a kol., 2004).

3.15.2 Správné seřízení dojírny a dojícího stroje

Denně se provádí vyjmutí a čištění filtrů a důkladné očištění dojícího stroje z vnějšku.

Měsíční kontroly provádí určený servis dojírny, který dělá následující ošetřování:

- podtlakové čerpadlo: znečištění, napnutí klínových řemenů, stav oleje
- regulační ventil: vyčistit a zkontrolovat úroveň vakua
- vedení podtlaku: znečištění, odvodnění, vakuové spoje, sklony
- konečná jednotka: znečištění, zpětný ventil, pojistky
- mléčné potrubí: stav strukových návleček, všech pryžových částí
- pulsátory: vyčištění a obnovení popisů

- přístroje na čištění: celkový stav, dávkování prostředku, teplota splachovacího procesu (Doležal a kol., 2002).

3.15.3 Správná rutina dojení

- Je extrémně obtížné dezinfikovat drsný povrch rukou, z tohoto důvodu je vhodné používat gumové rukavice při dojení (Blowey and Edmondson, 1995).
- Před čištěním struků je potřeba zkontrolovat mléko ve všech čtyřech čtvrtích oddojením několika proudů mléka. Pokud mléko vykazuje příznaky mastitidy, musí být mimo dodávku mléka a kráva musí být ihned léčena (Dunklee, 2009). Oddojování se musí provádět zásadně do speciálních nádobek, nikoliv na stání, kde se patogeny mohou množit (Bouška a kol., 2006).
- Mytí struků schváleným hygienickým roztokem smíchaným v teplé vodě. Takto jsou odstraněny všechny částičky nečistot, které jsou přítomny na struku (Dunklee, 2009). Omyté vemeno musí být důkladně osušeno, protože suché vemeno zlepšuje tření mezi strukovým násadcem a strukem, čímž se zabraňuje sklouzávání strukového násadce při dojení (Bouška a kol., 2006).
Mytím vemene, dostává mozek krávy impulz k uvolnění hormonu oxytocinu do krevního řečiště (Dunklee, 2009).
- Nikdy nepoužívat utěrku pro více krav – ve stádě, kde se vyskytují problémy s mastitidami, se osvědčuje intenzivní čištění a dezinfekce struku jednorázovými papírovými utěrkami. Tyto utěrky jsou určeny pouze pro tento účel a jsou provlhčeny dezinfekčními prostředky s ochranným faktorem pro kůži (Doležal a kol., 2002).
- Snímání dojícího stroje musí nastat až po přerušení podtlaku, aby nedocházelo ke zpětnému rázu mléka ke strukům. Je nutné omezit nasávání vzduchu do dojícího zařízení, protože může obsahovat původce zánětu (Bouška a kol., 2006).
- Dezinfekce struků – struky se ponoří do účinného dezinfekčního roztoku bezprostředně po odstranění dojícího stroje, aby došlo k zabití všech přetrvávajících bakterií (Dunklee, 2009).
Samotná dezinfekce struků je nejdůležitější opatření k tlumení mastitid, protože strukový kanálek zůstává otevřený několik minut (až 15 minut) po dojení a tím dochází ke snadné infekci mléčné žlázy. Kvalitní dezinfekce vytvoří na struku ochranný film, který zabrání průniku infekce do vemene (Bouška a kol., 2006).

Hlavní funkce dezinfekce:

- dekontaminace pokožky struku
- zabití existujících mikroorganismů na povrchu struku
- zabití mikroorganismů ve strukovém kanálku
- péče o pokožku a udržování integrity pokožky
- snížení rizika kontaminace
- zajištění uzavření strukového kanálku (Winter et al., 2009).

3.15.4 Technologie ustájení

Hofírek a kol. (2004) uvádí, že se při vzniku mastitid uplatňuje infekční činitel. Základním principem systému tlumení mastitid je omezování zdrojů infekce a cest přenosu hlavní patogenů mléčných žláz. Zdroje infekce jsou dva:

- mléčná žláza – původci kontagiózních mastitid
- vnější prostředí – environmentální původci

Technologie ustájení se uplatňuje jako potencionální činitel snižování přirozené odolnosti zvířat, a to:

- stresovými vlivy
- traumatizací mléčných žláz
- vlivem nevhodného mikroklimatu

Stelivo

Typ steliva hraje klíčovou roli v pohodlí ležící plochy a může hrát důležitou roli v uživatelské krávy tím, že ovlivňuje čistotu prostředí a vystavení bakteriím. Při výběru podestýlky bylo zjištěno, že krávy ležely častěji na betonové ploše pokryté velkým množstvím slámy než na lehce pokrytých měkkých rohožích a strávili více času ležením v hluboké vrstvě pilin, než na matracích pokrytých 2-3 cm pilin. Kromě toho, že krávy upřednostňují hluboké boxy s pilinami nebo slámou, jsou zde nižší výskyty závažných lézí v oblasti pažní kosti (Wolfe et al., 2018).

Jako stelivo se nedoporučuje písek a kamenná drť. Důvodem je nízká absorpční kapacita a negativní vliv na welfare dojníc. Nedoporučují se ani řezané stelivové materiály: slámová řezanka, hoblíny a piliny. Z organických materiálů se doporučuje jen neřezaná suchá a čistá sláma, u které je velmi důležité její uskladňování.

Pro prevenci mastitid, způsobovaných environmentálními patogeny je nevhodnější volné boxové bezstelivové ustájení – platí pouze pro boxové ustájení s měkkou matrací (Hofírek a kol., 2004).

Tab. 5 Různé druhy steliv ve vztahu k výskytu koliformních bakterií v podestýlce

Skupina	Podestýlka	Počet koli. bak v podes.	Případy koli. mastitidy
1	písek	37 000	0
2	sláma	47 000	0
3	udržované piliny	44 000	0
4	neudržované piliny	66 - 69 000	7

(Blowey et al. 1995).

Provozní rozdělení stájí

Podle provozu rozdělujeme stáje pro krávy na:

- Stelivové – kombiboxové, boxové ustájení, ploché přistýlané lože, spádové lože s vysokou podestýlkou, stáje s hlubokou podestýlkou,
- Bezstelivové – s možností přistýlání (kombiboxové, boxové ustájení) (Doležal a Staněk, 2015).

3.15.5 Systémy ustájení krav

Vazné stáje

Vazné ustájení se řadí mezi dožívající technologie. V posledních deseti letech nebyla v České republice vybudována ani jedna vazná stáj. Tyto technologie jsou nahrazovány volnými systémy ustájení, případně se přistupuje k rekonstrukcím těchto stájí (Doležal a Staněk, 2015).

Vazné stání se ve stájích pro dojnice vyvíjelo z dlouhého podestýlaného stání (230 – 270 cm), přes střední stání se žlabovou zábranou a vysokou požlabnicí (190 – 210 cm) až ke krátkému stání s nízkou (do 25 cm) požlabnicí, s podestýlkou nebo pryžovou matrací (145 – 170 cm).

Tento systém nepřináší potřebný a výrazný efekt ve snížení pracnosti a zvýšení chovného komfortu. Vysokoužitkové krávy navíc vyžadují pohyb jako svou nezbytnou životní potřebu, což vazné ustájení s minimálním předozadním pohybem neumožňuje. Nevýhody spočívají ve vyšší pracnosti při ošetřování a dojení, nižší čistotě vemene i zvířete, horším

zdravotním stavu, zvláště končetin, horších reprodukčních ukazatelích, ale i celkového hodnocení aspektů welfare (Frelich a kol., 2001).

Kombiboxy

Tato forma ustájení, která je přechodem z vazného na volné, patří sice k použitelným volným systémům ustájení, avšak pouze při splnění specifických požadavků (Doležal a Staněk, 2015).

Frelich a kol. (2001) uvádí, že kombibox je stání a lože s krmným žlabem, eventuálně napáječkou. Je to v podstatě jakési vazné ustájení bez vázání. Využívá se krátkého stání 150-170 cm dlouhého, 110-120 cm širokého, s nízkou požlabnicí, krátkými stranovými zábranami a žlabovými zábranami a žlabovými zábranami, které umožňují polohy hlavy na požlabnici. Uplatňují se jak stelivové, tak bezstelivové systémy.

Stavební a technické náklady při vyšších kapacitách nad 80 až 100 krav jsou velmi příznivé, ale klesají s narůstajícím počtem zvířat. Potřeba práce v kombiboxových stájích je na úrovni 40 až 50 pracovních hodin na krávu a rok. Je to ukazatel o něco příznivější než ve vazných stájích, a to proto, že je zde přímá návaznost na dojírnu (Doležal a Staněk, 2015).

Volné boxové stáje

Z hlediska potřeb a pohody zvířat je volné boxové ustájení nevýhodnější, protože zvířata nerušeně odpočívají ve vyvýšených boxech vymezených bočními zábranami, které jsou v horní části doplněny příčkou, horizontálně posunovatelnou vymezovací zábranou (šípovou), která omezuje zvíře ve vstupu do čela boxu, a tím zamezí znečištění zadní části lože (Vegricht a kol., 2008).

Dobře řešený box zajišťuje:

- snadnou orientaci zvířat při vstupu a důvěru ve vyhrazené místo k odpočinku,
- pohodlí při ulehání, vstávání a prostor pro volný pohyb těla (hlavy),
- dostatek místa pro boky a břišní krajinu při současném vyloučení příčného zaléhávání v boxech,
- pevnost a trvanlivost podlahy a bočního hrazení,
- kálení a močení krav do hnojené chodby, nikoliv do prostor vlastního lože (Doležal a Staněk, 2015).

Boxy nevyhovují jestliže:

- zvířata leží v boxech pouze částečně
- na hrazení jsou lesklá místa
- zvířata mají otlaky (Chládek a kol., 2009).

Tab. 6 Rovnice pro stanovení rozměrů boxového lože

Rozměr	Podle Wandela (2006)	Podle Bartusek aj. (2002)
šířka boxu (cm)	$KV \times 0,85$	$KV \times 0,86$
délka boxu (cm)	$(\text{ŠDT} \times 1,11) + 20$	$(\text{ŠDT} \times 0,92) + 21$
šířka boxu u stěny stáje (cm)	$(\text{ŠDT} \times 1,11) + 20 + 75 (+ 10)$	$(\text{ŠDT} \times 0,92) + 21 + (KV \times 0,56)$

(Vegricht a kol., 2008).

Dojnice leží v boxu 10 až 13 hodin denně, vstává a ulehá až 10 x denně. Důležitá je proto příprava zvířat na způsob ustájení již v odchovu telat a jalovic v boxových ložích (Frelich a kol., 2001). Vysoký komfort a bezpečný pohyb v lehárně zajišťuje buď hluboko zastýlané boxové lože nebo vysoké boxové lože s měkkou matrací. Velkorysé řešení šířky boxových loží 120-125 cm při délce 240-250 cm je jedním z rozhodujících parametrů komfortu pro dojnice těžší než 650 kg. Tyto rozměry umožňují bezpečné ulehnutí, odpočinek i vstávání (Vegricht a kol., 2008).

Boxová lože jsou kompromisem mezi hygienou a prostorem. Krávy kálejí vždy tam, kde právě stojí. Pro dodržení hygieny, která brání zánětům kůže a vemene, je zásadní, aby krávy nekálely v boxových ložích, a také čištění lože několikrát denně (Hulsen, 2011).

Dobře řešená volná boxová stáj, ať stelivová, nebo bezstelivová, představuje ten nejlepší kompromis pro zvířata i chovatele. Stupeň chovatelského komfortu je zde na vysoké úrovni. Technologie je vhodná pro stáda s vysokou roční užitkovostí i nad 10 000 kg mléka za laktaci. Dosahuje se zde dobrých ukazatelů plodnosti, minimálního poškození struků, vemen, končetin, bezproblémové čistoty, která je bezkonkurenčně na vyšší úrovni oproti vaznému a kombiboxovému ustájení (Doležal a Staněk, 2015).

- Volné ustájení s plochými kotci se stlanou lehárnou a sníženým krmíštěm
Tato technologie se uplatňovala ve druhé polovině 70. let. Princip spočíval ve zpevněném a sníženém krmíšti, které bylo možné uzavírat, a dále v kotcích s bezspádovou podlahou (Frelich a kol., 2001), která byla denně nastýlána 2 až 3 kg slámy na kus a den. Mrva se odstraňovala denně. Postupem času docházelo k degradaci

pracovního režimu tak, že se nastýlalo a vyklízelo ob den nebo každý 3 a 4 den (Doležal a Staněk, 2015). Tímto způsobem docházelo k většímu znečištění zvířat, větší spotřebě práce, větší četnosti poranění zvířat a nižší užitkovosti v důsledku častého a dlouhého vyrušování zvířat (Frelich a kol., 2001).

- Volné ustájení s lehárnou na hluboké podestýlce a se zvýšeným krmištěm
Pro vysokoužitková stáda je tato technologie ve specifických výrobních podmínkách relativně vhodná zvláště pro kategorii krav stojících na sucho či v období před otelením a po něm, pokud se dodrží i rozměrové parametry (Doležal a Staněk., 2015). Plocha lehárny minimálně 5 m² na DJ a šířka krmiště alespoň 280 cm. Pro využívání v praxi je možné využít rozdělení lehárny a krmiště. Nastýlat se musí v množství minimálně 7 kg slámy na 1 DJ a den (Frelich a kol., 2001). Vyklízecí cyklus je ideálně delší než 3 měsíce (Doležal a Staněk, 2015). V této podestýlce probíhají exotermní reakce, které navozují optimální teplotní podmínky pro pomnožování environmentálních bakterií. Tento typ ustájení je vhodný pro dojnice pouze tehdy, když je daná dostatečná dávka slámy, a to 8 kg na kus a den a při zajištění dokonalého odvodu tepla intenzivním větráním (Hofírek a kol., 2004).

- Volné ustájení s vysokou podestýlkou, sníženým krmištěm a lehárnou s podlahou o sklonu 7-8 %
Tyto technologie jsou nejvýhodnější především při ustájení jalovic a vykrmovaného skotu. Nedoporučují se pro ustájení vysokoprodukčních dojnic (Frelich a kol., 2001). Nevýhody této technologie spočívají v obtížném pohybu na podlaze se sklonem okolo 8 %, ve větším znečištění, ale i vyšší četnosti úrazů krav. Spotřeba podestýlky je zhruba 4-5 kg na DJ a den (Doležal a Staněk, 2015).

4 Materiál a metody

4.1 Charakteristika podniku

Farma Montamilk, s.r.o. má dvě sídla a zabývá se zemědělskou prvovýrobou v oblasti živočišné výroby, rostlinné výroby a obhospodařuje 1300 ha. Hlavní sídlo se nachází v Kamenném Zboží v okrese Nymburk ve středočeském kraji, kde se chovají dojnice. Druhé sídlo je v Benátské Vrutici a chovají se zde VBJ a býci určeni pro výkrm. Farmu založil v roce 1994 pan Pavel Bičák a dnes se o její chod stará převážně jeho syn Ing. Jaroslav Bičák. Nachází se v kukuřičné výrobní oblasti s průměrnou nadmořskou výškou 186 m, průměrnou roční teplotou 9 – 10 °C a průměrnými ročními srážkami 500 – 600 mm. Převládají zde černozemní a lužní typy, nivní půdy na píscích a drnové půdy.

Na farmě se chovají tři dojená plemena. Holštýnský skot, který je zde nejvíce zastoupen, dále Český strakatý skot a Švýcarský hnědý tzv. Brown Swiss. Celkem se na farmě chová 1000 ks skotu, z toho 350 dojnic.

4.1.1 Technologie ustájení

Ustájení dojnic v Montamilku je volné, boxové stelivové, kde stelivo je sláma. Jsou zde 4 haly pro dojnice, každá hala je rozdělena na dvě sekce. Celkem je zde tedy 8 sekcí rozdělených podle stupně laktace. Každá sekce je rozdělena na krmiště a lehárnu. Každý den se vyhrnují obě chodby a zastýlá se slámou krmná chodba. Boxové lože se pouze přistýlají slámou každé pondělí, středu a pátek. Porodna, zaprahnuté dojnice a jalovice jsou ustájeny na hluboké podestýlce ze slámy, která se přistýlá dle znečištění.

4.1.2 Technologie krmení

Krmení skotu na farmě je prováděno vertikálním krmným míchacím vozem značky Černín. Dojnice jsou krmeny 3x denně. Krmná dávka pro dojnice je složena z následujících komponentů: směs pro dojnice, melasa, lupina, pivovarské kvasnice, sláma, kukuřičná siláž, vojtěšková senáž, hrachová senáž, cukrovarské řízky, šrot, CCM a pivovarské mláto.

4.1.3 Technologie dojení

Dojnice jsou dojeny 2x denně od 17 h do 22 h a od 5 h do 10 h v paralelní dojírně „side by side“ 2x14 od firmy Fullwood. Na této dojírně se neukládají záznamy z dojení, protože zde nebyla zřízena identifikace. Zootechnici se tedy musí řídit pouze nádoji z KU a upozorněním od dojičů. U dojnic se dodržuje následující toaleta mléčné žlázy:

- napěnění struků pěnou (pěna není dezinfekční, slouží pouze k odmočení špíny ze struků, protože dojnice lehají v chodbách)
- omytí struků mokrým hadrem namočeným v dezinfekčním prostředku Kenopure (jeden hadr se používá na více krav)
- oddojení každého struku alespoň 3x (neoddojuje se do hrnku, ale na zem)
- otření struků dezinfekčním ubrouskem (ubrousky jsou namočeny v roztoku z kyseliny peroctové)
- nasazení dojícího stroje

Vydojená mléčná žláza se ošetří dezinfekcí po dojení. Na konci dojení jsou umyta všechna dojící zařízení, stání, a nakonec je puštěna samotná sanitace potrubí a dojících zařízení. Při sanitaci se do vody přidávají dva typy kyselin (Profarm A, K), které se každé dojení střídají. Denní dodávka mléka do mlékárny je cca 9500 l mléka. Mléko je dodáváno do pražské mlékárny Pragolactos. Od roku 2016 farma prodává mléko „ze dvora“, kde litr mléka stojí 15 Kč.

4.1.4 Výskyt mastitid

Mastitidy tvoří problém jak z ekonomického, tak ze zdravotního hlediska. Jejich výskyt je individuální. Léčba dojnic se před zavedením kultivací prováděla pouze intramamárním preparátem Ampiclox LC. Dojnice byla přeléčena 3 dojení po sobě a po uplynutí ochranné lhůty se u ní provedl NK test. Pokud mléko jevílo stále příznaky zánětu, nebo vysokého PSB, přeléčila se znovu. Každá dojnice postižená mastitidou se léčí maximálně 3x. Pokud se nevyлéčí, je z chovu vyřazena.

4.2 Sledovací období a statistické vyhodnocení dat

Diplomová práce se zabývá výskytem mastitid před a po zavedení kultivací vzorků mléka. Porovnává tedy dvě období. První období před zavedením kultivací od 1.1. – 30.6.2017 a druhé období po zavedení kultivací vzorků mléka od 1.7.2017 – 28.2.2018. Do sledování bylo zapojeno celé stádo dojnic, tzn. 350 ks.

Průměrná užitkovost dojnic za období 1.1.2017 – 30.6.2018 „před zavedením kultivací“ byla 10 206,7 l, průměrný laktační den 163,32, průměrná dojivost na zapojenou 27,44 l, průměrný obsah tuku 3,54 %, průměrný obsah bílkovin 3,43 % a průměrný PSB 251 tis./ml. Průměrná délka léčby dojnic byla 17 dní.

Průměrná užitkovost dojnic za období 1.7.2017 – 28.2.2018 „po zavedení kultivací“ byla 9919 l, průměrný laktační den 174,91, průměrná dojivost na zapojenou 28,50 l, průměrný obsah tuku 3,65 %, průměrný obsah bílkovin 3,49 % a průměrný PSB 298 tis./ml.

Na farmě byl sledován výskyt, léčba a detekce mastitid způsobených patogeny z vnějšího prostředí v závislosti na pořadí laktace. Poté byla zhodnocena preventivní opatření vedoucí ke snížení výskytu mastitid, jako jsou: technologie ustájení dojnic, technologie dojení, hygiena mléčné žlázy, technologie krmení, technika zaprahování a léčba dojnic v průběhu laktace.

V období 1.7.2017 – 28.2.2018 „po zavedení“ kultivací vzorků mléka se hodnotil výskyt patogenů z vnějšího prostředí, které způsobovaly mastitidy a jejich reakci na cílenou léčbu. Dále se hodnotil PSB před léčbou a po léčbě mastitidy.

Hodnoty o PSB byly použity z Milk Profit Dat, který spadá pod web Českomoravské společnosti chovatelů.

Výskyt mastitid a používané léky poskytla pro tuto diplomovou práci zootechnička ze stájového programu Farm Soft.

Tab. 7 Obsah tuku, bílkoviny a CPM v mléce za období od 1.1. – 30.6.2017

Měsíc	Tuk %	Bílkoviny %	CPM tis./ml
Leden	3,64	3,5	25
Únor	3,57	3,45	20
Březen	3,49	3,37	14
Duben	3,44	3,28	11
Květen	3,38	3,3	13
Červen	3,35	3,27	14

V tab. 7 jsou znázorněny jednotlivé hodnoty tuku, bílkovin a celkový počet mikroorganismů (CPM) za prvních šest měsíců před zavedením kultivací vzorků mléka. Od ledna do června hodnoty tuku a bílkovin klesaly, protože dojivost dojnic se zvyšovala viz. tab. 8. V měsíci lednu byla hodnota tuku a bílkovin nejvyšší, avšak hodnota tuku nestačila na hraniční hodnotu stanovenou od mlékárny, která činila 3,70 %. Hodnota bílkovin stanovená mlékárnou činila 3,40 % a farma se do této hodnoty vešla pouze v lednu a únoru. Pokud farma na tyto hodnoty nedosáhne, mlékárna udělí srážky.

Hodnota stanovená mlékárnou pro CPM činila 30 tis./ml. Farma se do této hodnoty bez problémů vešla za všech šest měsíců.

Tab. 8 Obsah SB v mléce a množství nadojeného mléka za období od 1.1. – 30.6.2017

Měsíc	SB (tis./ml)	Množství mléka (l)
Leden	189	9228,2
Únor	180	9366,1
Březen	180	9791,5
Duben	187	9782,1
Květen	212	9680
Červen	230	9889

Tab. 8 znázorňuje vývoj PSB a množství nadojeného mléka za prvních šest měsíců v roce 2017.

Nejnižší PSB byl v únoru a březnu, kdy průměrná hodnota SB činila 180 tis./ml. Naopak nejvyšší hodnota SB byla v měsíci červnu a činila 230 tis./ml.

Nejnižší denní dodávka mléka do mlékárny byla v lednu 9228,2 l a nejvyšší byla v červnu 9889 l. S porovnáním PSB a dojivosti dojnic je patrné, že čím vyšší byla dojivost, tím vyšší byl PSB v mléce. Naopak čím nižší byla dojivost, tím nižší byl PSB v mléce.

Bakteriologické vyšetření mléka

Dne 19.4.2017 bylo na farmě Montamilk provedeno bakteriologické vyšetření mléka, které prováděla paní Ivana Vošvrdová od firmy Eurofarm u 40 vybraných dojnic. Do vyšetření se zapojilo 12 dojnic do prvního měsíce po otelení, 12 dojnic před zaprahnutím a 16 dojnic s vysokým počtem somatických buněk v mléce viz. přílohy tab. 30.

Mléko se odebírá do sterilních plastových zkumavek, jako vzorek směsný, půlový, nebo čtvrtový. Vyšetření prováděl MVDr. Jaroslav Bzdil, Ph.D. ze SVÚ v Olomouci.

K bakteriologickému vyšetření byla stanovena citlivost na antibiotika viz. přílohy tab. 31. Citlivost izolovaných zárodků se stanovuje též v laboratoři na kultivačních půdách a nazývá se citlivostí „in vitro“.

K vyhodnocení dat byl použit statistický program SAS 9.3 (SAS/STAT® 9.3, 2011). Pro stanovení základních parametrů souborů byla využita procedura UNIVARIATE. Frekvence byly vypočteny za pomoci procedury FREQ. Pro analýzu vzájemných vztahů byly využity Pearsonovi korelační koeficienty, které byly vypočítány za pomoci procedury CORR. Při výběru vhodného modelu hodnocení daných ukazatelů byla využita procedura REG, metoda STEPWISE. Pro vyhodnocení byl z důvodu nízké četnosti vysokých pořadí laktace upraven efekt pořadí laktace pouze na 3 úrovně (1. laktace, 2. laktace, 3. a další laktace). Pro hodnocení rozdílů mezi efekty byla použita procedura GLM, s následným detailním vyhodnocením pomocí Tukey-Kramerova testu.

ANOVA – celkové hodnocení

Modelová rovnice:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + b^*(den) + e_{ijk}$$

kde:

y_{ijk} - hodnoty závislé proměnné (délka léčení, počet SB před léčením, počet SB po léčení, cena léčení),

μ – obecná hodnota závislé proměnné,

a_i – fixní efekt pořadí laktace ($i= 1.$, $n=19$; $i= 2.$, $n=37$; $i= 3.$ a další, $n=70$),

b_j – fixní efekt patogenu ($j= E. Coli$, $n=21$; $j= Klebsiella P.$, $n=6$; $j= S. Uberis$, $n=57$; $j= bez$ patogenu, $n=42$),

$b^*(den)$ – regrese na dny laktace,

e_{ijk} – náhodná reziduální chyba.

Detailní vyhodnocení pomocí Tukey-Kramerova testu

ANOVA – hodnocení PSB před léčbou do 300 tis./ml.

Modelová rovnice:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + b^*(\text{den}) + e_{ijk}$$

kde:

y_{ijk} - hodnoty závisle proměnné (délka léčení, počet SB před léčním, počet SB po léčním, cena léčním),

μ – obecná hodnota závisle proměnné,

a_i – fixní efekt pořadí laktace ($i= 1.$, $n=12$; $i= 2.$, $n=18$; $i= 3.$ a další, $n=24$),

b_j – fixní efekt patogenu ($j= E. Coli$, $n=9$; $j= Klebsiella P.$, $n=2$; $j= S. Uberis$, $n=19$; $j= bez$ patogenu, $n=24$),

$b^*(\text{den})$ – regrese na dny laktace,

e_{ijk} – náhodná reziduální chyba.

Detailní vyhodnocení pomocí Tukey-Kramerova testu.

ANOVA – hodnocení PSB před léčbou nad 300 tis./ml

Modelová rovnice:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + b^*(\text{den}) + e_{ijk}$$

kde:

y_{ijk} - hodnoty závisle proměnné (délka léčním, počet SB před léčním, počet SB po léčním, cena léčním),

μ – obecná hodnota závisle proměnné,

a_i – fixní efekt pořadí laktace ($i= 1.$, $n=7$; $i= 2.$, $n=19$; $i= 3.$ a další, $n=46$),

b_j – fixní efekt patogenu ($j= E. Coli$, $n=12$; $j= Klebsiella P.$, $n=4$; $j= S. Uberis$, $n=38$; $j= bez$ patogenu, $n=18$),

$b^*(\text{den})$ – regrese na dny laktace,

e_{ijk} – náhodná reziduální chyba.

Detailní vyhodnocení pomocí Tukey-Kramerova testu.

5 Výsledky

5.1 Základní statistiky

Tab. 9 Základní statistické hodnoty vybraných ukazatelů

proměnná	n	\bar{x}	s	min.	max.	s.e.	V (%)
pořadí laktace	125	3,19	1,70	1	8	0,15	53,19
délka léčby	126	13,41	16,45	0	60	1,47	122,63
PSB před léčbou	124	1541,99	2296,62	10	9999	206,24	148,94
PSB po léčbě	114	706,32	1335,50	11	9999	125,08	189,08
Cena léčby	126	284,08	116,77	200,1	592,5	10,40	41,11

n..... počet měření; \bar{x} aritmetický průměr; s..... směrodatná odchylka; **min.** minimální hodnota; **max.**maximální hodnota; **s.e.** střední chyba aritmetického průměru.

Tab. 9 znázorňuje základní statistické hodnoty u vybraných parametrů (pořadí laktace, délka léčby, PSB před léčbou, PSB po léčbě a cena léčby mastitid). Statistické vyhodnocení se provádělo u 125 dojnic postižených mastitidou za sledovací období od zavedení kultivací vzorků mléka od 1.7.2017 – 28.2.2018.

Nejčastější výskyt mastitid byl v průměru u krav na 3 laktaci, při průměrné délce léčby 13,41 dní. Průměrný PSB před léčbou činil 1542 tis./ml a po léčbě 706 tis./ml. Průměrná cena léčby činila 284 Kč. Nejvyššího variačního koeficientu dosáhl parametr PSB po léčbě a činil 189,08 %.

5.2 Detekce mastitid

5.2.1 Detekce subklinických mastitid

Tyto mastitidy detekují zootechnici na základě rychlých výsledků z KU, které jsou k dispozici nejpozději 24 hodin po provedení poslední KU na stránkách českomoravské společnosti chovatelů – Milk Profit Data.

Vybírány jsou především krávy tzv. „milionářky“, u kterých se ihned provede NK test, který ukáže, ve které čtvrti se mastitida objevila. Z této čtvrti se odebere vzorek mléka, který se dá

ihned na 24 hodin kultivovat do líhně. Po této době je znám patogen, který subklinickou mastitidu způsobil a je zahájena léčba.

5.2.2 Detekce klinických mastitid

U těchto mastitid probíhá detekce při přípravě vemene k podojení. Klinické mastitidy tedy detekují dojiči. Z tohoto důvodu je velmi důležité oddojování mléčné žlázy, a to alespoň třemi odstříky. Oddojením do hrnku jsou na černém podkladu dobře viditelné klinické změny v mléce. Po nález mastitidy je ihned odebrán vzorek mléka do sterilní zkumavky, kultivován a následuje okamžitá léčba.

5.3 Kultivace vzorků mléka a výskyt mastitid

Kultivace vzorků mléka slouží jako orientační zjištění původců mastitid a zvolení správného postupu léčby. Mléko se odebírá z postižené čtvrti do sterilní plastové zkumavky, poté se rozetře sterilní pipetou do Petriho misky, která má tři sektory: G– původci, Streptokoky a Stafylokoky. Takto připravený vzorek se dá na 24 hodin kultivovat do líhně při teplotě 37,5 °C a při 55 % relativní vlhkosti. Po 24 hodinách se může stanovit výsledek.

Kultivace mléka se na farmě provádějí od 1.7.2017. Sledovací období tedy probíhalo od 1.7.2017 do 28.2.2018.

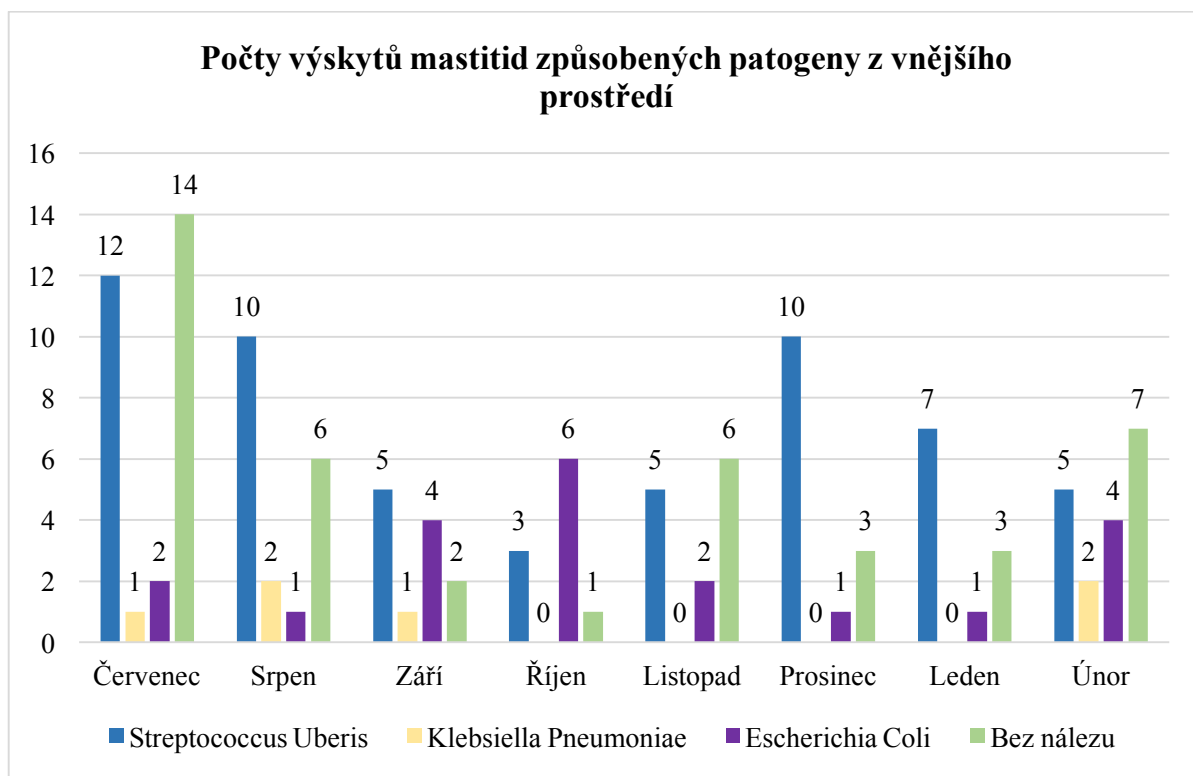
12.6.2017 navštívil farmu MVDr. Věříš, který odebral vzorky mléka u 12 dojnic a poté provedl zaškolení zootechniků, jak správně provádět kultivace. Po 24 hodinách stanovil MVDr. Věříš výsledky. Nejčastěji vyskytující se patogen byl *Streptococcus Uberis* a *Escherichia Coli*, proti kterým MVDr. Věříš sestavil přesný léčebný plán, vedoucí ke snížení četnosti výskytu a infekčního tlaku v prostředí.

Tab. 10 Počty patogenů vyskytující se v Montamilku zjištěné pomocí kultivací vzorků mléka za sledované období od 1.7.2017 – 28.2.2018

Měsíc	S. Uberis	K. Pneumoniae	E. Coli	Bez nálezu
Červenec	12	1	2	14
Srpen	10	2	1	6
Září	5	1	4	2
Říjen	3	0	6	1
Listopad	5	0	2	6
Prosinec	10	0	1	3
Leden	7	0	1	3
Únor	5	2	4	7

V tab. 10 jsou znázorněny počty patogenů z vnějšího prostředí, které způsobily mastitidy na farmě Montamilk. Tyto patogeny byly zjištěny pomocí kultivací vzorků mléka, které probíhaly v období od 1.7.2017 – 28.2.2018. Podrobněji byl výskyt těchto patogenů popsán níže v grafu 1.

Graf 1 Počty výskytů mastitid způsobených patogeny z vnějšího prostředí



V grafu 1 jsou detailněji znázorněny počty výskytů mastitid, které způsobil určitý patogen z vnějšího prostředí.

Modrý sloupec znázorňuje *Streptococcus Uberis*, který má ze všech patogenů jednoznačně největší rozšíření na farmě a tvoří největší problém. Jeho největší výskyt byl v červenci, kde se objevil u 12 dojnic, a naopak jeho nejnižší výskyt byl v říjnu, kde se objevil pouze u 3 dojnic. Pod žlutým sloupcem je znázorněna *Klebsiella Pneumoniae*, která se vyskytla pouze v měsících červenec, srpen, září a únor. Její výskyt byl vždy úplně minimální.

Fialový sloupec zastupuje *Escherichia Coli*, která se nejčastěji vyskytla u 6 dojnic v říjnu, a naopak její nejnižší výskyt byl v měsících srpen, prosinec a leden, kdy byla postižena jen jedna dojnice za měsíc.

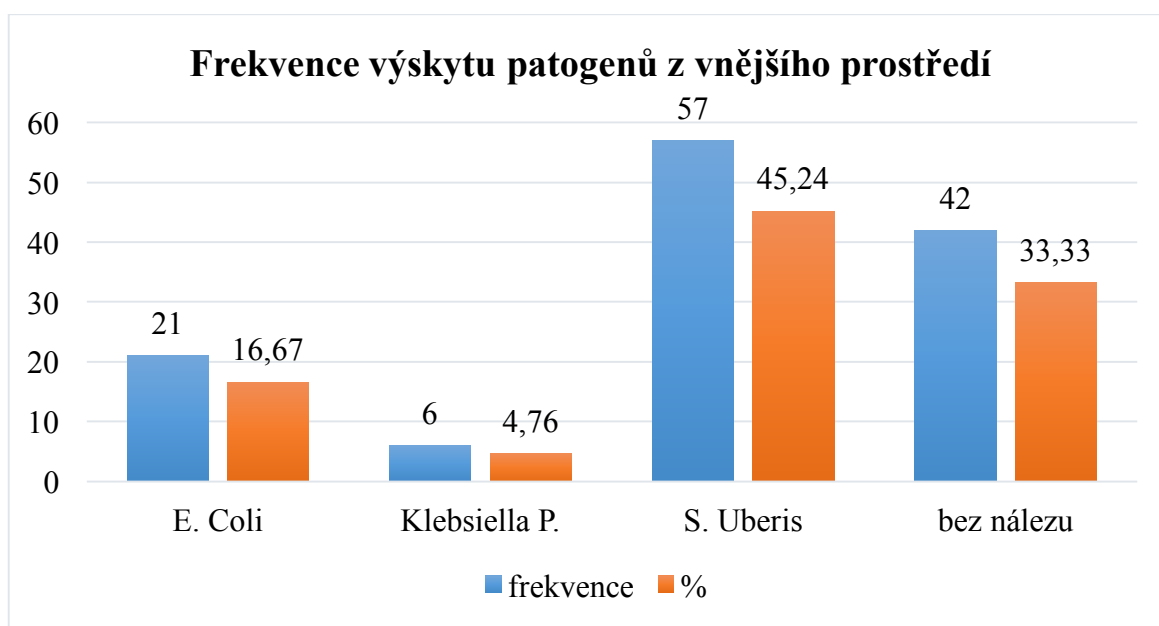
Zelený sloupec zahrnuje počty dojnic, u kterých vyšel PM test bez nálezu. Jednalo se většinou o vodnatý mléčný sekret, který neukázal žádného patogena. Nejvíce takových dojnic bylo v červenci (14 ks) a naopak nejnižší byl v říjnu (1 ks).

Tab. 11 Frekvence výskytu patogenů z vnějšího prostředí

patogeny	frekvence	%	kumulativní frekvence	kumulativní %
E. Coli	21	16,67	21	16,67
Klebsiella P.	6	4,76	27	21,43
S. Uberis	57	45,24	84	66,67
Bez nálezu	42	33,33	126	100

Tab. 11 znázorňuje frekvenci a % zastoupení patogenů z vnějšího prostředí, které se vyskytovaly v Montamilku jako původci mastitid zjištěných na základě kultivací vzorků mléka. Detailnější popis výsledků je popsán v následujícím grafu 2.

Graf 2 Frekvence a % zastoupení výskytu patogenů z vnějšího prostředí



Graf 2 znázorňuje frekvenci a % zastoupení patogenů z vnějšího prostředí, které se vyskytovaly v Montamilku jako původci mastitid zjištěných na základě kultivací vzorků mléka. Nejvyšší výskyt na farmě zaujímá jednoznačně *S. Uberis*, který způsobil mastitidu u 57 dojnic (45,24 %) za sledované období. 42 dojnic (33,33 %) vyšlo v kultivaci jako negativní a PM test neukázal žádný nález. U 21 dojnic (16,67 %) způsobil mastitidu *E. Coli* a nejmenší výskyt mastitid způsobil *Klebsiella P.*, která postihla 6 dojnic (4,76 %).

Tab. 12 Základní statistiky podle patogenů

patogen	proměnná	n	\bar{x}	s	min.	max.	s.e.	V (%)
E. Coli	délka léčby	21	12,29	12,94	0	60	2,82	105,28
	PSB před léčbou	21	1959,48	2570,05	14	9999	560,83	131,16
	PSB po léčbě	19	478,42	694,87	18	2342	159,41	145,24
	cena léčby	21	461,79	67,40	353,2	592,5	14,71	14,60
Klebsiella P.	délka léčby	6	14,83	22,34	0	60	9,12	150,59
	PSB před léčbou	6	876,83	675,11	18	1471	275,61	76,99
	PSB po léčbě	6	321,67	389,40	30	1031	158,97	121,06
	cena léčby	6	422,12	33,76	353,2	435,9	13,78	8,00
S. Uberis	délka léčby	57	12,82	16,10	0	60	2,13	125,56
	PSB před léčbou	56	1941,39	2548,71	10	9999	340,59	131,28
	PSB po léčbě	52	956,52	1761,72	11	9999	244,31	184,18
	cena léčby	57	231,91	74,56	200,1	565,5	9,88	32,15
bez patogenu	délka léčby	42	14,57	18,04	0	60	2,78	123,80
	PSB před léčbou	41	879,98	1759,86	14	9999	274,84	199,99
	PSB po léčbě	37	534,11	875,27	14	3763	143,89	163,88
	cena léčby	42	246,31	86,12	200,1	592,5	13,29	34,96

n..... počet měření; \bar{x} aritmetický průměr; **s**..... směrodatná odchylka; **min.** minimální hodnota; **max.** maximální hodnota; **s.e.** střední chyba aritmetického průměru; **V (%)** koeficient variance.

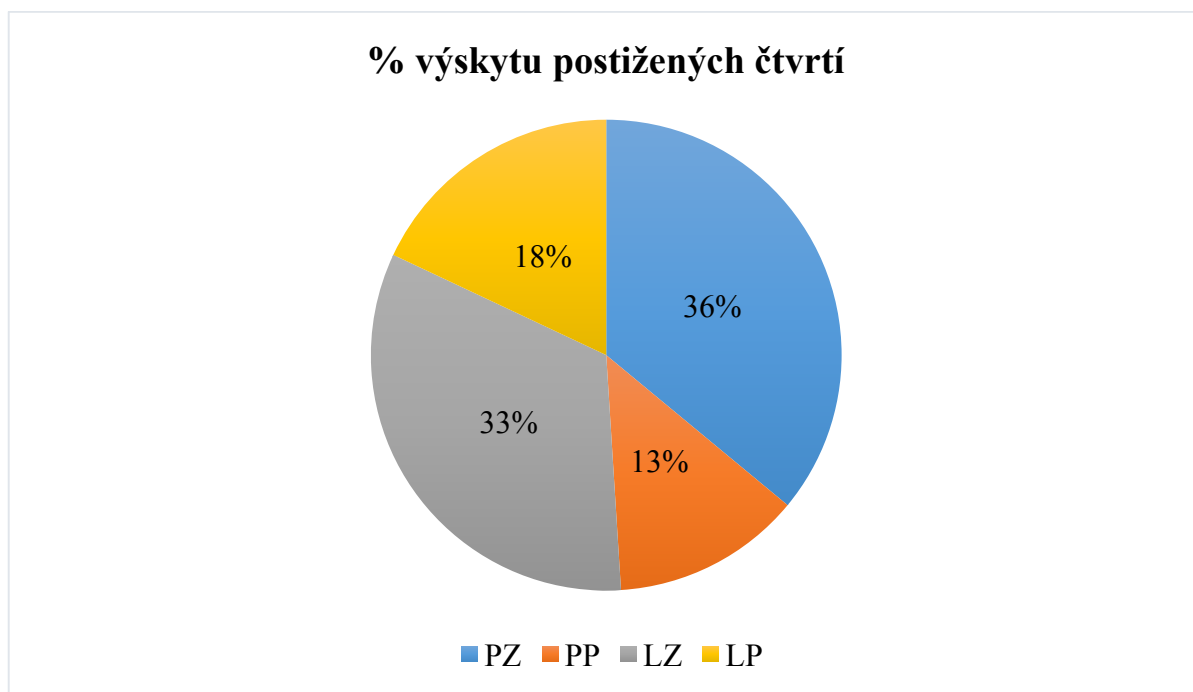
Tab. 12 znázorňuje základní statistiky podle patogenů z vnějšího prostředí. Nejdelší léčba byla u patogena *Klebsiella Pneumoniae* a činila 15 dní, naopak nejkratší délka léčby byla u patogena *E. Coli*. U všech patogenů došlo po skončení léčby ke snížení PSB tzn., že daná léčba byla úspěšná. Nejdražší léčba byla u patogena *E. Coli* a činila 462 Kč, naopak nejlevnější léčba byla u patogena *S. Uberis* a činila 232 Kč.

Tab. 13 Frekvence a % vyjádření postižených čtvrtí za období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací vzorků mléka

Čtvrť	Frekvence	% výskytu
PZ	45	36
PP	18	13
LZ	36	33
LP	24	18

V tab. 13 jsou znázorněny frekvence výskytu a % zastoupení výskytu mastitid, které jsou detailněji popsány v následujícím grafu 3.

Graf 3 % výskytu postižených čtvrtí za období od 1.1. – 30.6.2017



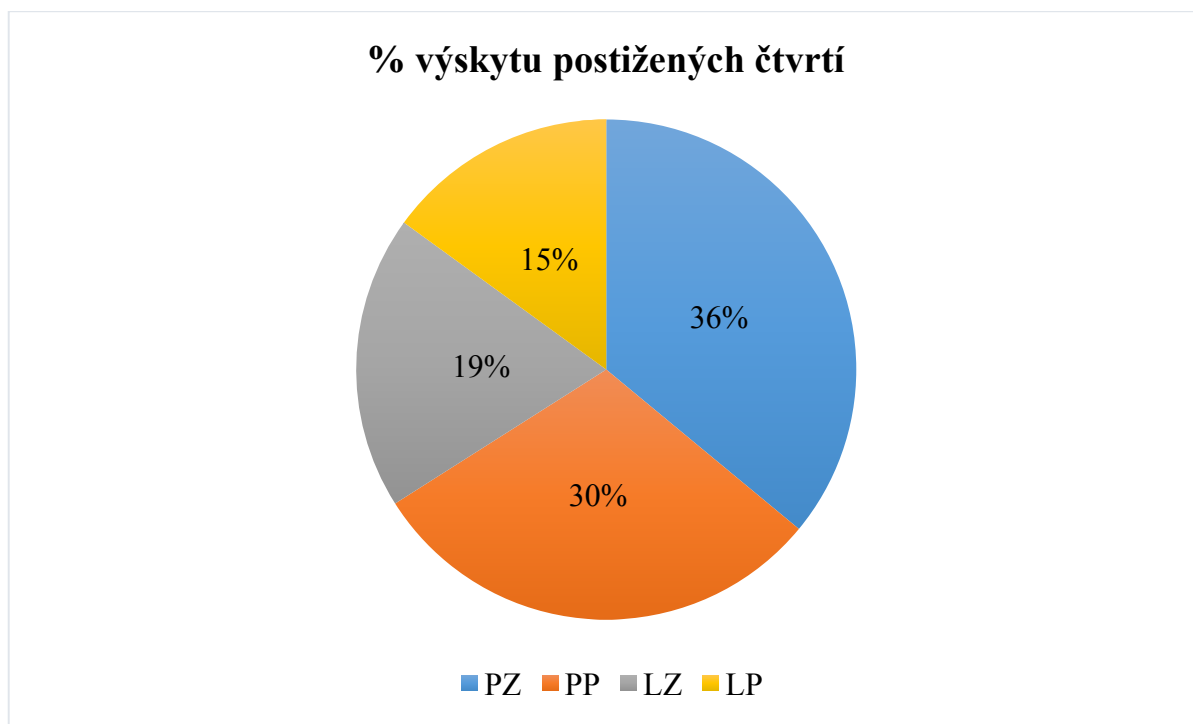
V grafu 3 jsou uvedeny hodnoty % zastoupení jednotlivých čtvrtí, ve kterých se vyskytla mastitida v období od 1.1. – 30.6.2017. Nejčastěji se mastitida objevila v PZ (pravé zadní) čtvrti (36 %) a naopak nejméně se mastitida objevila v PP (pravé přední) čtvrti (13 %). LP (levá přední) byla postižena z 18 % a LZ (levá zadní) čtvrt' byla postižena z 33 %.

Tab. 14 Frekvence a % vyjádření postižených čtvrtí za období od 1.7.2017 – 28.2.2017 po zavedení kultivací vzorků mléka

postižená čtvrt'	frekvence	%	kumulativní frekvence	kumulativní %
LP	19	15,08	19	15,08
LZ	24	19,05	43	34,13
PP	38	30,16	81	64,29
PZ	45	35,71	126	100

V tab. 14 jsou znázorněny frekvence výskytu a % zastoupení výskytu mastitid, které jsou detailněji popsány v následujícím grafu 4.

Graf 4 % výskytu postižených čtvrtí za období od 1.7.2017 – 28.2.2018



V grafu 4 jsou uvedeny hodnoty % zastoupení jednotlivých čtvrtí, ve kterých se vyskytla mastitida v období od 1.7.2017 – 28.2.2018. Nejčastěji se mastitida objevila v PZ (pravé zadní) čtvrti (36 %) a naopak nejméně se mastitida objevila v LP (levé přední) čtvrti (15 %). PP (pravá přední) byla postižena z 30 % a LZ (levá zadní) čtvrt' byla postižena z 19 %.

Při porovnání grafů 3 a 4 byl výskyt mastitid v PZ (pravých zadních) čtvrtích stejný a činil 36 %. Výskyt mastitid v PP (pravé přední) čtvrti byl nižší v období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací (13 %), a naopak vyšší výskyt pro tuto čtvrt' byl v období od 1.7.2017 – 28.2.2018 po zavedení kultivací (30 %). V LZ (levých zadních) čtvrtích byl výskyt mastitid vyšší v období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací (33 %) a naopak nižší výskyt byl v období od 1.7.2017 – 28.2.2018 po zavedení kultivací (19 %). Nejmenší rozdíl ve výskytu mastitid představovala LP (levá přední) čtvrt', u které činil výskyt mastitid v období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací 18 % a v období od 1.7.2017 – 28.2.2018 činil výskyt mastitid 15 %.

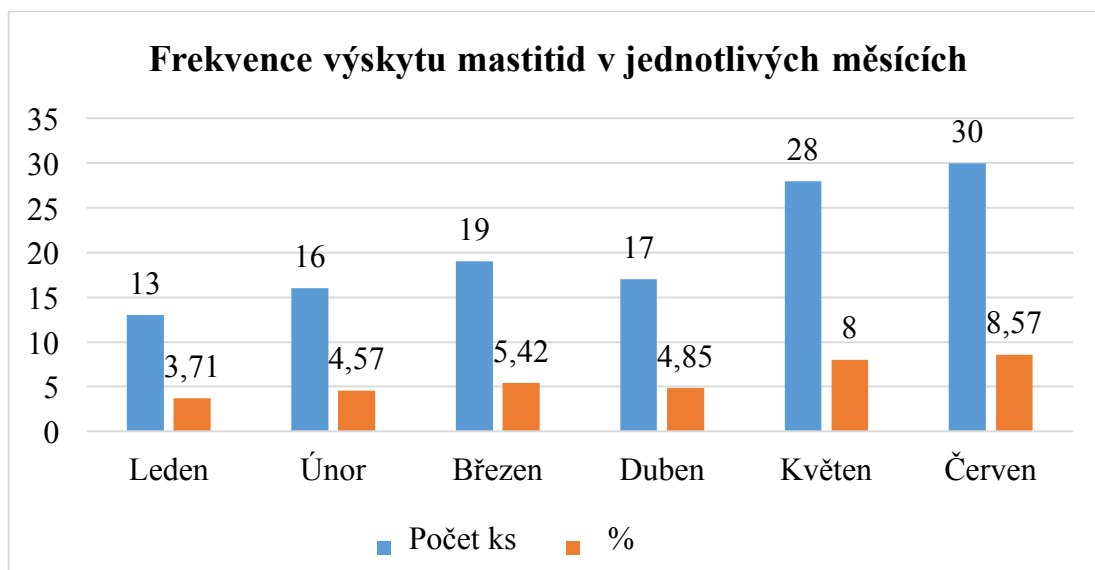
Tab. 15 Základní statistiky podle postižené čtvrti

postižená čtvrt'	proměnná	n	\bar{x}	s	min.	max.	s.e.	V (%)
LP	délka léčby	19	13,21	12,56	0	60	2,88	95,10
	PSB před léčbou	19	691,32	1173,85	15	5091	269,30	169,80
	PSB po léčbě	19	466,32	999,38	14	3763	229,27	214,31
	cena léčby	19	245,39	91,67	200,1	435,9	21,03	37,36
LZ	délka léčby	24	9,67	12,19	0	60	2,49	126,13
	PSB před léčbou	24	1730,29	1916,21	15	7763	391,15	110,75
	PSB po léčbě	22	463,95	685,25	11	2558	146,10	147,70
	cena léčby	24	291,53	105,20	200,1	435,9	21,47	36,08
PP	délka léčby	38	14,68	17,06	0	60	2,77	116,21
	PSB před léčbou	38	1057,26	1397,41	25	6423	226,69	132,17
	PSB po léčbě	36	998,47	1939,91	14	9999	323,32	194,29
	cena léčby	38	296,22	130,49	200,1	592,5	21,17	44,05
PZ	délka léčby	45	14,42	19,27	0	60	2,87	133,61
	PSB před léčbou	43	2241,14	3172,44	10	9999	483,79	141,55
	PSB po léčbě	37	689,43	1007,20	21	5121	165,58	146,09
	cena léčby	45	286,19	119,96	200,1	592,5	17,88	41,91

n..... počet měření; \bar{x} aritmetický průměr; s..... směrodatná odchylka; **min.** minimální hodnota; **max.**maximální hodnota; **s.e.** střední chyba aritmetického průměru; **V (%)** koeficient variance.

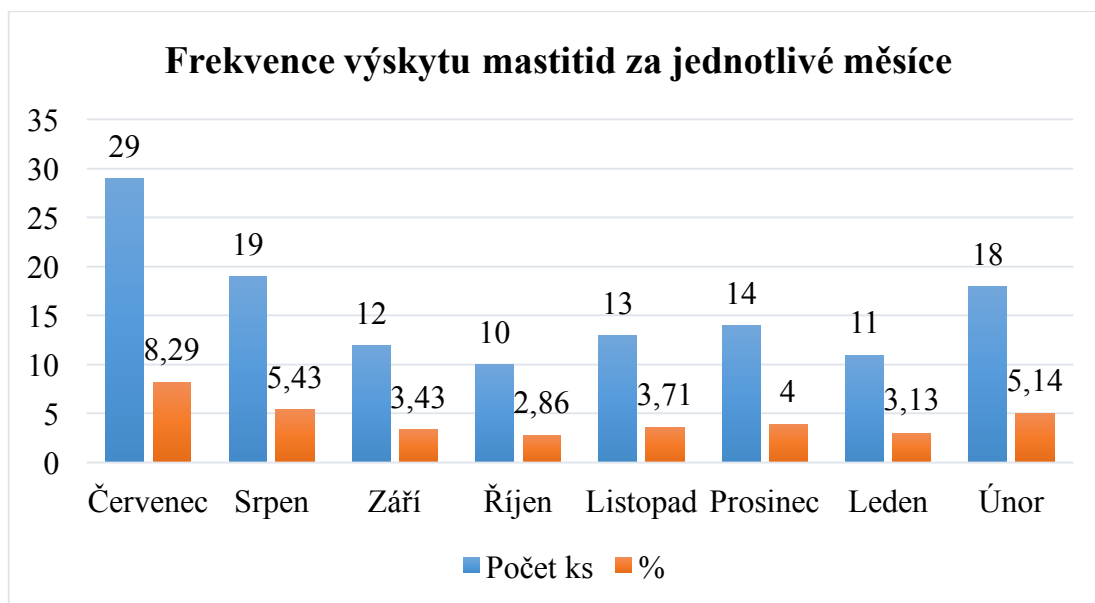
Tab. 15 udává základní statistiky podle postižené čtvrti. Nejdélší léčba mastitidy byla v PP (pravé přední) čtvrti a činila 15 dní. Naopak nejkratší léčba byla v LZ (levé zadní) čtvrti a činila 10 dní. PSB u všech čtvrtí byl vždy nižší po dané léčbě, což znamená, že léčba byla úspěšná. Nejdražší léčba byla u PP (pravé přední) čtvrti a činila 296 Kč. Naopak nejlevnější léčba byla u LP (levé přední) čtvrti a činila 245 Kč.

Graf 5 Frekvence výskytu mastitid a jejich % vyjádření za období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací



V grafu 5 jsou znázorněny počty dojnic (modrý sloupec) u kterých se za jednotlivé měsíce vyskytla mastitida. Oranžový sloupec znázorňuje % výskyt těchto mastitid. Nejnižší výskyt mastitid byl v lednu a činil 13 za měsíc či 3,71 %. Naopak nejvyšší počet výskytu mastitid byl v letním měsíci červnu a činil 30 dojnic či 8,57 %. % výskyt se počítal ze stáda 350 dojnic. Průměrný počet dojnic postižených mastitidou za toto období byl 21 dojnic tzn. 6 % výskytu mastitid za toto období.

Graf 6 Frekvence výskytu mastitid a jejich % vyjádření za období po zavedení kultivací od 1.7.2017 – 28.2.2018

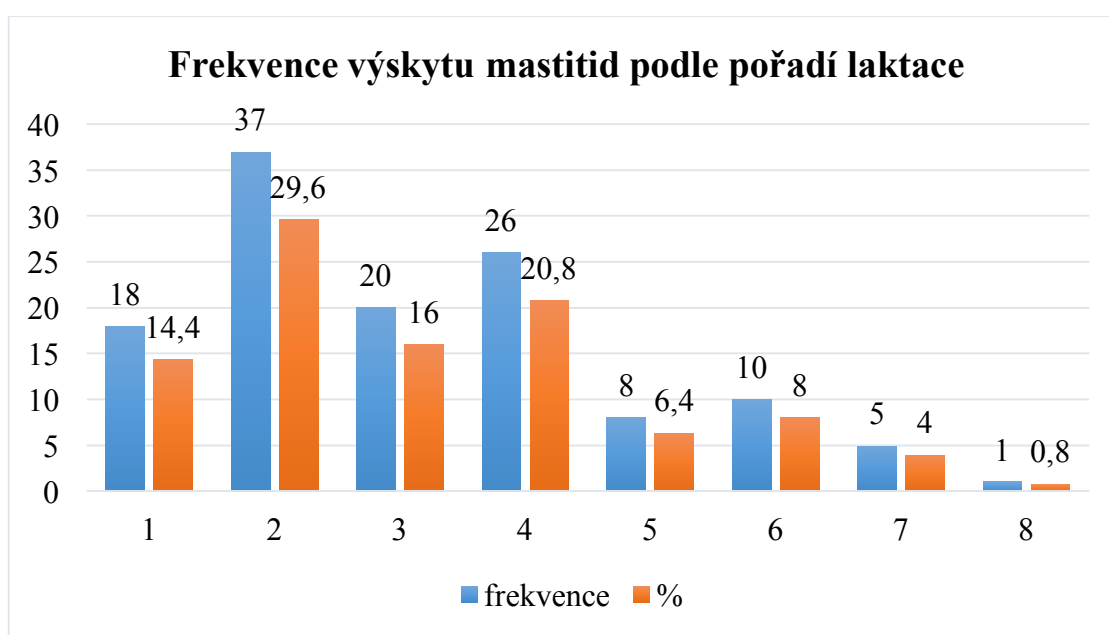


V grafu 6 jsou počty dojnic, u kterých se vyskytla mastitida v období od 1.7.2017 – 28.2.2018. Nejvyšší výskyt mastitid byl v červenci a činil 29 dojnic a 8,29 % z celého stáda 350 dojnic. Důvodem tak vysokého výskytu mastitid bylo letní období. Obecně platí, že v zimním období je výskyt mastitid nižší než v letním období.

Nejnižší výskyt mastitid byl v říjnu a činil 10 dojnic a 2,86 % z celého stáda 350 dojnic.

Průměrný počet dojnic postižených mastitidou za toto období byl 16 dojnic tzn. 4,5 % výskytu mastitid za toto období.

Graf 7 Frekvence výskytu mastitid podle pořadí laktace



V grafu 7 je znázorněn výskyt mastitid podle pořadí laktace. Modrý sloupec znázorňuje počty dojnic postižených mastitidou v jednotlivých fázích laktace. Nejčastější výskyt mastitid byl u dojnic na druhé laktaci, naopak nejnižší výskyt byl u dojnic na 8 laktaci.

5.4 Léčba mastitid

5.4.1 Léčba mastitid v době laktace

Po detekci mastitidy se nejprve odebere mléko do sterilní zkumavky ke kultivaci a ihned je zahájena léčba. Jsou aplikovány intramamární preparáty Ampiclox LC, které se aplikují po tři dojení. Za 24 hodin je znám patogen, který mastitidu způsobil a léčba se upraví dle léčebného plánu, který pro Montamilk sestavil MVDr. Věříš viz. Tab. 16.

Novinkou v léčení od 1.2.2018 je lék Permacyl, který se podává intramuskulárně

Používané preparáty k léčbě během laktace:

- Ampiclox LC – intramamární
- Tetra-Delta – intramamární
- Norostrep inj.
- Permacyl inj. (používaný od 1.2.2018)

Tab. 16 Léčebný plán sestavený MVDr. Věříšem

Bez nálezu	Proběhl E. Coli zánět – postiženou čtvrt' namazat, nebo aplikovat Masti Veyxym	
G- E. Coli (vínově červená barva)	Nejprve provést NK test	
	Bez kliniky	Namazat postiženou čtvrt', nebo Masti Veyxym
	Lokální (opuchlá) čtvrt'	Vydojit (Oxytocin) -> aplikace Tetra Delta intramamárně
	Celková klinika (sepse, horečka)	Drenč 50 l + inj. ATB (Cobactan)
Staphylococcus	Směs (zelená, bílá, žlutá barva)	Poškozený strukový kanálek
	S. Chromogenes (bílá barva)	Monokultura – intramamárně ATB (Ampiclox LC)
Streptococcus	S. Dysgalactiae (modrozelená barva)	Monokultura – intramamárně ATB (Ampiclox LC)
	S. Uberis (tmavě modrá barva)	1-3 kolonie – evidovat, zkontrolovat při další KU
		Monokultura - 7 dní ATB inj. + 3x Ampiclox LC intramamárně

5.4.2 Léčba mastitid při zaprahování

Léčba při zaprahnutí zahrnuje dlouhodobou terapii. Z tohoto důvodu se na farmě aplikují preparáty, které účinkují alespoň 48 dní.

Dojnice se zaprahují podle PSB při poslední KU. Krávy, u kterých byl PSB nižší než 500 tisíc/ml, se zaprahují preparátem Bovaclox DC XTRA. Krávy, u kterých byl PSB vyšší než 500 tisíc/ml, se zaprahují preparátem Orbenin EXTRA. Krávy, u kterých byl PSB vyšší než 1 milión/ml, se zaprahují preparátem Orbenin EXTRA a dostávají ATB injekčně (Norostrep 20 ml). Pokud dojnice prodělala během laktace mastitidu, jejímž původcem byl S. Uberis, musí být zaprahnutá preparátem Orbenin EXTRA + inj. Norostrep.

Více je uvedeno v následující tabulce:

Tab. 17 Preparáty využívané pro léčbu mléčné žlázy v zaprahlosti

PSB	Používané léky
PSB nižší než 500 tis./ml	Bovaclox DC XTRA
PSB vyšší než 500 tis./ml	Orbenin EXTRA
PSB vyšší než 1 mil./ml	Orbenin EXTRA + inj. Norostrep

5.4.3 Náklady na léčbu mastitid**Tab. 18 Ceny léků používaných k léčbě mastitid na farmě Montamilk**

Název léku	Cena léku
Ampiclox LC	1601 Kč (24 ks)
Tetra-Delta	1453 Kč (20 ks)
Bovaclox DC Extra	1028 Kč (24 ks)
Orbenin Extra	1806 Kč (24 ks)
Norostrep	626 Kč (250 ml)
PerMacyl	3600 Kč (36 ml)

V tab. 18 jsou uvedeny ceny jednotlivých léků, které se používají na farmě Montamilk k léčbě mastitid v průběhu laktace, nebo v době zaprahlosti dojníc. Ceny jsou uvedeny za celé balení.

Tab. 19 Ceny léků přepočítaných na léčbu jedné dojnice

Název léku	Cena za použité množství
Ampiclox LC	200,10 Kč
Tetra-Delta	435,90 Kč
Bovaclox DC Extra	171,30 Kč
Orbenin Extra	301 Kč
Norostrep	52,20 Kč
PerMacyl	360 Kč

V tab. 19 jsou uvedeny ceny léků používaných na farmě pro jednu dojnici.

Tab. 20 Základní statistiky podle měsíce léčby

měsíc léčby	proměnná	n	\bar{x}	s	min.	max.	s.e.	V (%)
1	délka léčby	11	11,45	18,56	0	60	5,60	162,03
	PSB před léčbou	11	1594,55	3006,91	34	9999	906,62	188,57
	PSB po léčbě	6	2301,00	1766,43	97	4703	721,14	76,77
	cena léčby	11	235,45	80,80	200,1	435,9	24,36	34,32
2	délka léčby	18	8,50	5,40	0	18	1,27	63,58
	PSB před léčbou	18	1759,72	1822,87	16	4994	429,65	103,59
	PSB po léčbě	18	666,94	739,85	14	2342	174,38	110,93
	cena léčby	18	278,70	114,38	200,1	435,9	26,96	41,04
7	délka léčby	29	13,14	17,07	0	60	3,17	129,90
	PSB před léčbou	28	1584,79	2140,11	10	9999	404,44	135,04
	PSB po léčbě	28	965,64	1996,15	14	9999	377,24	206,72
	cena léčby	29	281,73	106,75	200,1	565,5	19,82	37,89
8	délka léčby	19	15,37	17,15	0	60	3,93	111,59
	PSB před léčbou	19	1480,42	2318,54	14	9999	531,91	156,61
	PSB po léčbě	18	245,83	409,89	21	1691	96,61	166,74
	cena léčby	19	241,04	83,75	200,1	435,9	19,21	34,74
9	délka léčby	12	18,33	20,73	0	60	5,98	113,07
	PSB před léčbou	12	378,08	408,53	15	1192	117,93	108,05
	PSB po léčbě	12	323,00	388,91	14	1256	112,27	120,40
	cena léčby	12	350,26	151,40	200,1	592,5	43,71	43,23
10	délka léčby	10	14,20	16,63	0	60	5,26	117,08
	PSB před léčbou	10	2063,30	3024,10	15	9999	956,30	146,57
	PSB po léčbě	9	183,67	353,64	11	1113	117,88	192,55
	cena léčby	10	364,63	158,99	200,1	592,5	50,28	43,60
11	délka léčby	13	22,00	23,07	0	60	6,40	104,87
	PSB před léčbou	13	1689,85	2524,46	15	8056	700,16	149,39
	PSB po léčbě	10	821,20	1542,17	38	5121	487,68	187,79
	cena léčby	13	307,85	93,17	200,1	435,9	25,84	30,27
12	délka léčby	14	6,43	5,08	0	14	1,36	79,02
	PSB před léčbou	13	1719,38	2888,78	23	7763	801,20	168,01
	PSB po léčbě	13	731,23	1182,47	20	3763	327,96	161,71
	cena léčby	14	256,16	120,93	200,1	592,5	32,32	47,21

n..... počet měření; \bar{x} aritmetický průměr; s..... směrodatná odchylka; **min.** minimální hodnota; **max.**maximální hodnota; s.e. střední chyba aritmetického průměru; V (%) koeficient variance.

Tab. 20 znázorňuje rozdíl jednotlivých základních statistik léčby podle měsíců. Nejkratší délka léčby byla v prosinci a činila 6 dní. Naopak nejdelší léčba byla v listopadu a činila 22 dní. Ve všech měsících (kromě ledna) došlo po léčbě mastitid ke snížení PSB, tzn., že prováděná léčba byla úspěšná. Nejdražší léčba byla uskutečněna v měsíci říjnu a činila 364,63 Kč. Naopak nejlevnější léčba byla v měsíci lednu a činila 235,45 Kč.

Tab. 21 Základní statistiky podle pořadí laktace

pořadí laktace	proměnná	n	\bar{x}	s	min.	max.	s.e.	V (%)
1	délka léčby	18	13,06	18,48	0	60	4,36	141,54
	PSB před léčbou	18	1296,06	2095,22	16	6423	493,85	161,66
	PSB po léčbě	17	444,29	743,61	17	2741	180,35	167,37
	cena léčby	18	285,41	101,55	200,1	435,9	23,94	35,58
2	délka léčby	37	15,70	19,16	0	60	3,15	122,04
	PSB před léčbou	36	1407,42	2419,16	10	9999	403,19	171,89
	PSB po léčbě	32	446,94	816,26	14	3798	144,30	182,63
	cena léčby	37	282,33	118,09	200,1	592,5	19,41	41,83
3	délka léčby	20	12,55	17,17	0	60	3,84	136,81
	PSB před léčbou	20	1855,95	2709,47	15	9999	605,86	145,99
	PSB po léčbě	18	1311,50	1697,64	25	5121	400,14	129,44
	cena léčby	20	270,40	101,30	200,1	435,9	22,65	37,46
4	délka léčby	26	11,38	10,93	0	60	2,14	96,03
	PSB před léčbou	26	1412,65	1686,48	14	5091	330,75	119,38
	PSB po léčbě	25	540,96	925,49	14	4161	185,10	171,08
	cena léčby	26	313,78	138,79	200,1	592,5	27,22	44,23
5	délka léčby	8	12,38	8,52	5	26	3,01	68,83
	PSB před léčbou	8	988,00	1254,53	65	3799	443,54	126,98
	PSB po léčbě	8	387,38	544,84	20	1277	192,63	140,65
	cena léčby	8	308,10	156,69	200,1	592,5	55,40	50,86
6	délka léčby	10	13,30	17,44	0	60	5,52	131,15
	PSB před léčbou	10	2783,40	3522,60	18	9999	1113,94	126,56
	PSB po léčbě	10	1435,60	3035,93	11	9999	960,04	211,47
	cena léčby	10	238,99	84,27	200,1	435,9	26,65	35,26
7	délka léčby	5	17,60	24,09	0	60	10,77	136,87
	PSB před léčbou	5	1522,20	1707,61	191	4480	763,67	112,18
	PSB po léčbě	3	1185,33	71,51	1113	1256	41,29	6,03
	cena léčby	5	230,72	68,47	200,1	353,2	30,62	29,68
8	délka léčby	1	7	.	7	7	.	.
	PSB před léčbou	1	14	.	14	14	.	.
	PSB po léčbě	1	524	.	524	524	.	.
	cena léčby	1	435,9	.	435,9	435,9	.	.

n..... počet měření; \bar{x} aritmetický průměr; s..... směrodatná odchylka; **min.** minimální hodnota; **max.**maximální hodnota; s.e. střední chyba aritmetického průměru; V (%) koeficient variance.

V tab. 21 jsou uvedeny základní statistiky léčby podle pořadí laktace. Délka léčby byla nejkratší u krav na 8 laktaci a činila 7 dní. Naopak nejdelší délka léčby byla u krav na 7 laktaci a činila 18 dní. Ve všech laktacích (kromě 8 laktace) došlo po léčbě mastitid ke snížení PSB, tzn., že prováděná léčba byla úspěšná. Nejdražší léčba byla u krav na 8 laktaci a činila 436 Kč, naopak nejlevnější léčba byla u krav na 7 laktaci a činila 231 Kč.

Tab. 22 Základní statistiky podle úspěšnosti léčby

úspěšnost léčby	proměnná	n	\bar{x}	s	min.	max.	s.e.	V (%)
0	délka léčby	24	60	0	0	0	0	,
	PSB před léčbou	22	2409,05	3290,70	15	9999,00	701,58	136,60
	PSB po léčbě	14	1193,93	1657,10	14	5121,00	442,88	138,79
	cena léčby	24	278,55	113,39	200,1	592,50	23,14	40,71
100	délka léčby	90	10,78	5,64	5	31,00	0,59	52,33
	PSB před léčbou	90	1469,62	2087,72	10	9999,00	220,07	142,06
	PSB po léčbě	90	666,22	1340,28	11	9999,00	141,28	201,18
	cena léčby	90	276,30	122,93	200,1	592,50	12,96	44,49

n..... počet měření; \bar{x} aritmetický průměr; s..... směrodatná odchylka; **min.** minimální hodnota; **max.**maximální hodnota; **s.e.** střední chyba aritmetického průměru; **V (%)** koeficient variance

Tab. 22 uvádí základní statistiky podle úspěšnosti léčby ve sledovaném období po zavedení kultivací vzorků mléka.

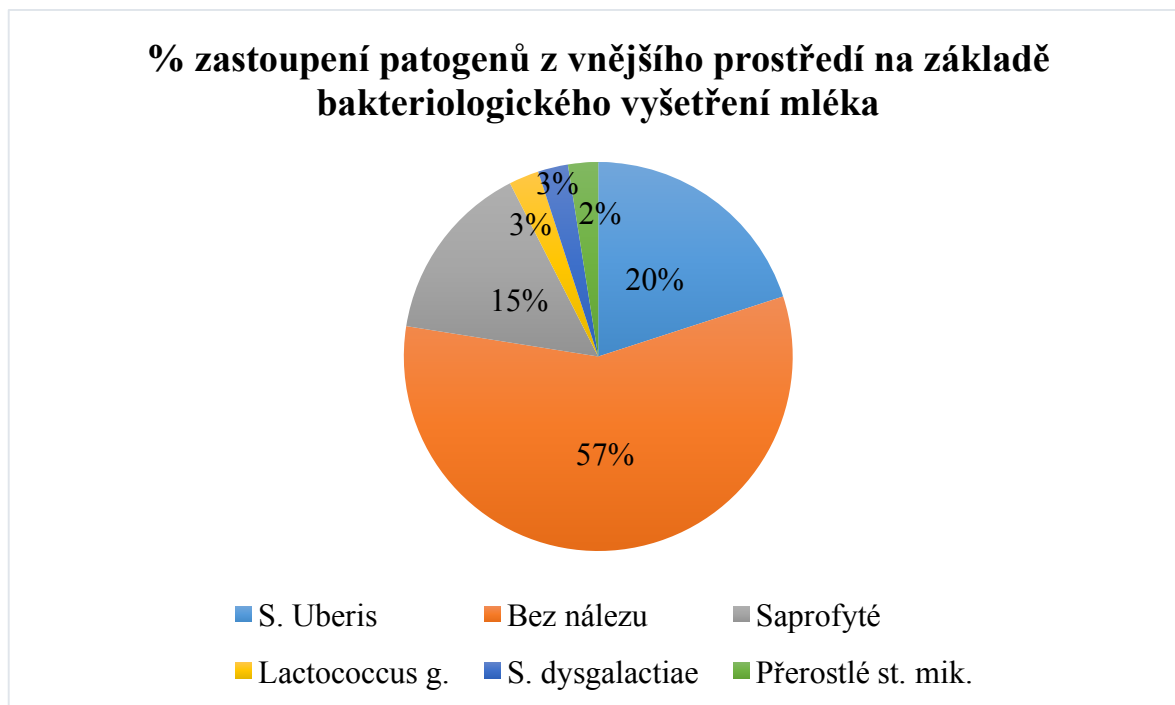
Úspěšnost léčby 0 zahrnovala dojnice (12 ks), které se léčily pomocí dlouhodobých preparátů v době zaprahnutí. Délka léčby byla v průměru 60 dní. PSB před léčbou byl 2409 tis./ml a PSB po léčbě a po otelení byl 1194 tis./ml. Cena této léčby byla 279 Kč.

Úspěšnost léčby 100 zahrnovala dojnice (90 ks), které se léčily v průběhu laktace, pomocí krátkodobých intramamárních preparátů. Průměrná délka léčby byla 11 dní. PSB před léčbou byl 1470 tis./ml a PSB po léčbě byl 666 tis./ml. Cena léčby byla 276 Kč.

Při porovnání obou metod bylo zřejmé, že nejrychleji, nejlépe a nejlevněji se vyléčily dojnice při aplikaci intramamárních preparátů a s cílenou detekcí patogenů, které způsobily mastitidy z vnějšího prostředí. Z celkového počtu 125 dojnic, které byly zapojeny do statistického vyhodnocení, bylo 23 dojnic vyřazeno (ne jenom z důvodu mastitidy), 12 dojnic bylo vyléčeno pomocí dlouhodobých preparátů v době zaprahnutí a 90 dojnic bylo vyléčeno na základě cílené léčby podle MVDr. Věříše.

5.4.4 Bakteriologické vyšetření mléka

Graf 8 % zastoupení patogenů z vnějšího prostředí zjištěných na základě bakteriologického vyšetření mléka

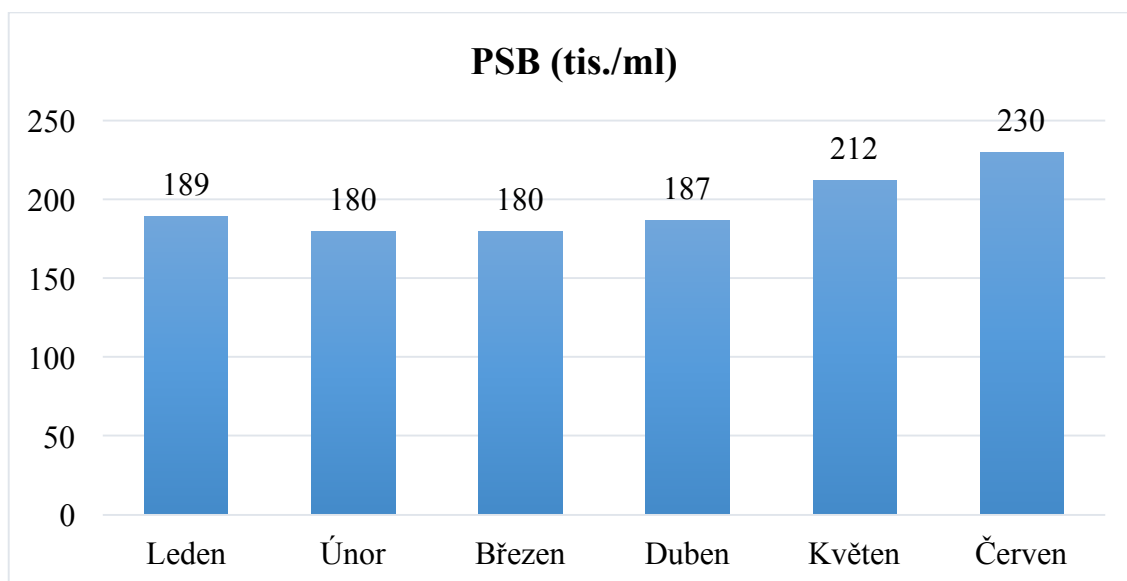


V grafu 8 je uvedeno zastoupení patogenů z vnějšího prostředí, které stanovilo bakteriologické vyšetření mléka. Největší zastoupení měli dojnice, jejichž mléko bylo bez nálezu a činilo 57 % nebo 23 dojnic z celkového počtu 40 dojnic. Patogen, který zde byl nejvíce zastoupen byl *Streptococcus Uberis* a jeho výskyt činil 20 % nebo 8 dojnic. Druhé největší zastoupení představovali Saprophyté, jejichž výskyt činil 15 % nebo 6 dojnic.

Nejnižší výskyt tvořili: *Lactococcus garviea*, *Streptococcus dysgalactiae* a činil 2 %.

5.5 Somatické buňky

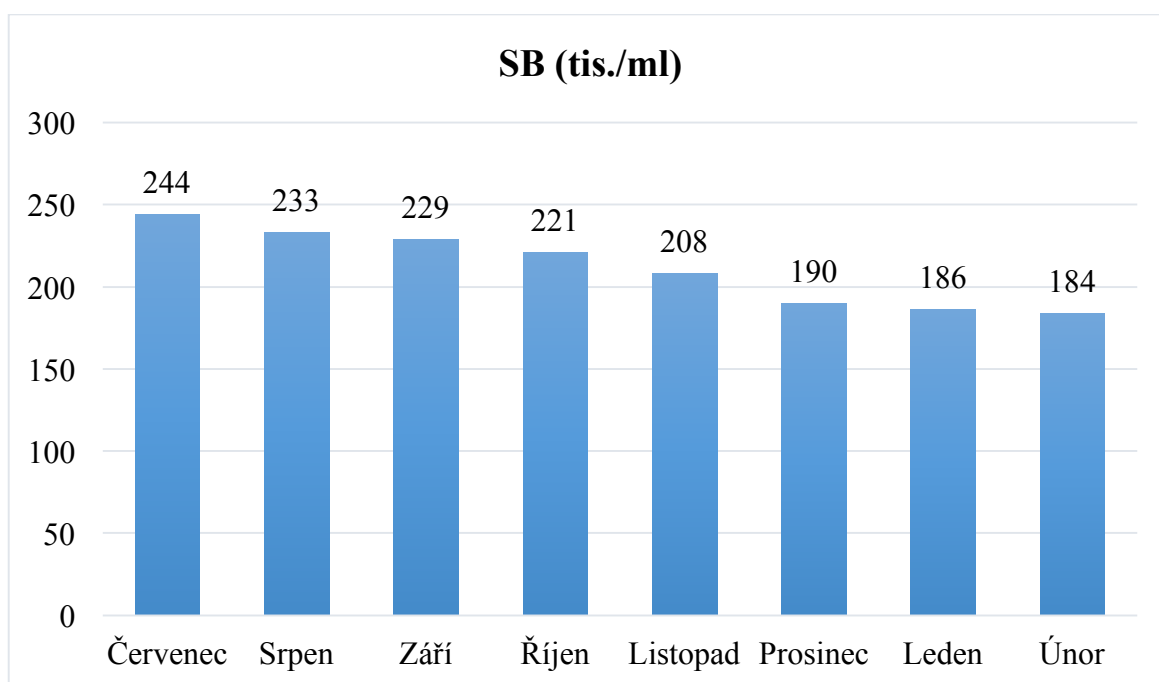
Graf 9 PSB za období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací



Graf 9 uvádí PSB za každý měsíc v období od 1.1. – 30.6.2017.

Nejnižší PSB byl v měsících únor a březen a činil 180 tis./ml. Naopak nejvyšší PSB byl v měsíci červnu a činil 230 tis./ml. V tomto grafu je znázorněno, že PSB v zimním období je nižší a od počátku letního období květen a červen jdou SB nahoru.

Graf 10 PSB za období od 1.7.2017 – 28.2.2018



V grafu 10 jsou uvedeny hodnoty PSB za období od 1.7.2017 – 28.2.2018.

Nejvyšší PSB byl v červenci, kdy hodnota SB činila 244 tis./ml. Nejnižší PSB byl v únoru a činil 184 tis./ml.

Od července se PSB postupně každý měsíc snižoval. Je obecně známo, že v zimním období bývá PSB nižší než v letním období. Farma Montamilk od zavedení kultivací vzorků mléka postupně každý měsíc vykazovala nižší PSB.

Tab. 23 Korelace

		délka léčby	úspěšnost léčby	PSB před léčbou	PSB po léčbě	měsíc léčby	dny laktace při léčbě	cena léčby
pořadí laktace	r	-0,028	0,145	0,064	0,138	0,106	0,061	-0,020
	P	0,761	0,124	0,481	0,145	0,238	0,500	0,821
	n	125	113	124	114	125	125	125
délka léčby	r		0,661	-0,157	-0,106	0,098	0,315	0,205
	P		<0,001	0,082	0,262	0,276	<0,001	0,022
	n		114	124	114	126	125	126
úspěšnost léčby	r			-0,157	-0,130	0,073	0,103	-0,008
	P			0,098	0,188	0,442	0,277	0,936
	n			112	104	114	113	114
PSB před léčbou	r				0,203	-0,017	-0,084	0,017
	P				0,03	0,848	0,351	0,849
	n				114	124	124	124
PSB po léčbě	r					-0,156	-0,037	-0,048
	P					0,097	0,692	0,616
	n					114	114	114
měsíc léčby	r						0,061	0,120
	P						0,500	0,181
	n						125	126
dny laktace při léčbě	r							0,131
	P							0,147
	n							125

V tab. 23 jsou uvedeny vzájemné vztahy a jejich významnost u sledovaných parametrů. Mezi pořadím laktace a délkou léčby nebyla zjištěna statisticky průkazná závislost. Mezi pořadím laktace a úspěšností léčby nebyla zjištěna statisticky průkazná korelace. Statisticky průkazná korelace nebyla zjištěna mezi pořadím laktace a PSB před léčbou. Mezi pořadím laktace a PSB po léčbě nebyl zjištěn statisticky významný vztah. Statisticky průkazná závislost nebyla zjištěna mezi pořadím laktace a měsícem léčby mastitid.

Úspěšnost léčby ($r = 0,661$) a dny laktace při léčbě ($r = 0,315$) byly ve vztahu (silná a středně silná korelace) s délkou léčby na hladině významnosti ($P < 0,001$).

Mezi délkou léčby a PSB před léčbou nebyla zjištěna statisticky průkazná závislost. Statisticky průkazná korelace nebyla zjištěna mezi délkou léčby a PSB po léčbě. Mezi délkou léčby a měsícem léčby nebyl zjištěn statisticky významný vztah.

Cena léčby ($r = 0,205$, slabá korelace) na hladině významnosti ($P < 0,05$) byla ve vztahu k délce léčby.

Mezi úspěšností léčby a PSB před léčbou nebyla zjištěna statisticky průkazná závislost. Statisticky průkazná korelace nebyla zjištěna mezi úspěšností léčby a PSB po léčbě. Mezi úspěšností léčba a měsícem léčby nebyl zjištěn statisticky významný vztah. Statisticky průkazná korelace nebyla zjištěna mezi úspěšností léčby a dny laktace při léčbě. Mezi úspěšností léčby a cenou léčby nebyla zjištěna statisticky průkazná závislost.

PSB před léčbou ($r = 0,203$, slabá korelace) byl ve vztahu s PSB po léčbě na hladině významnosti ($P < 0,05$). Mezi PSB před léčbou a měsícem léčby nebyla zjištěna statisticky průkazná korelace. Statisticky průkazný vztah nebyl zjištěn mezi PSB před léčbou a dny laktace při léčbě. Mezi PSB před léčbou a cenou léčby nebyla průkazná statistická závislost.

Mezi PSB po léčbě a měsícem léčby nebyla zjištěna statisticky průkazná korelace. Statisticky průkazná závislost nebyla zjištěna mezi PSB po léčbě a dny laktace při léčbě. Mezi PSB po léčbě a cenou léčby nebyl zjištěn statisticky průkazný vztah.

Statisticky průkazná korelace nebyla zjištěna mezi měsícem léčby a dny laktace při léčbě. Mezi měsícem léčby a cenou léčby nebyla zjištěna statisticky průkazná závislost.

Mezi dny laktace při léčbě a cenou léčby mastitid nebyl zjištěn statisticky průkazný vztah.

5.6 Vyhodnocení ukazatelů metodou ANOVA

Tab. 24 Základní statistiky modelové rovnice pro léčbu mastitid

hodnocený ukazatel	MODEL		pořadí laktace		patogeny z vn. p.		dny laktace	
	r^2	P	F-test	P	F-test	P	F-test	P
délka léčby	0,121	0,017	0,84	0,436	0,45	0,715	14,86	< 0,001
PSB před léčbou	0,058	0,307	0,26	0,772	1,92	0,131	0,39	0,531
PSB po léčbě	0,058	0,366	1,54	0,219	1,05	0,375	0	0,954
cena léčby	0,585	< 0,001	0,18	0,839	53,85	< 0,001	0,74	0,392

r^2 – determinační koeficient, P – statistická průkaznost.

Pořadí laktace – pořadí laktace, při které byla dojnice postižena mastitidou, **patogeny z vnějšího prostředí** – patogeny, kteří způsobili mastitidy, **dny laktace** – počet dní laktace ve kterých byla dojnice postižena mastitidou.

Tab. 24 znázorňuje základní statistiky délky léčby, PSB před léčbou, PSB po léčbě a ceny léčby pro pořadí laktace, patogeny z vnějšího prostředí a dny laktace.

Zvolená modelová rovnice byla průkazná pouze pro délku léčby ($P < 0,05$) a cenu léčby ($P < 0,01$). Efekt patogenů z vnějšího prostředí byl statisticky průkazný pro cenu léčby ($P < 0,01$). Efekt dnů laktace byl statisticky průkazný pro délku léčby mastitid ($P < 0,01$).

Tab. 25 Vliv efektů na délku léčby, PSB před léčbou, PSB po léčbě a na cenu léčby

efekt	úroveň	délka léčby	PSB před léčbou	PSB po léčbě	cena léčby
		LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM
pořadí laktace	1.	13,25 ± 4,119	1105,25 ± 594,54	282,28 ± 354,760	351,22 ± 20,099
	2.	16,66 ± 2,960	1319,79 ± 430,22	325,38 ± 261,450	338,81 ± 14,441
	3. a další	12,50 ± 2,337	1515,52 ± 337,26	754,02 ± 200,930	339,96 ± 11,403
patogeny z vnějšího prostředí	E. Coli	10,83 ± 3,587	1913,14 ± 517,510	362,35 ± 318,190	461,93 ± 17,501 ^A
	Klebsiella P.	17,52 ± 6,645	680,84 ± 959,350	167,53 ± 560,310	428,52 ± 32,423 ^B
	S. Uberis	15,01 ± 2,313	1817,69 ± 334,240	838,82 ± 205,690	235,93 ± 11,285 ^{A,B}
	bez patogenu	13,19 ± 2,592	842,39 ± 378,800	446,87 ± 231,740	246,93 ± 12,648 ^{A,B}

Stejná písmena ve sloupcích znamenají statistickou průkaznost A-A, B-B ... $P < 0,01$.

Tab. 25 znázorňuje efekty: pořadí laktace a patogeny z vnějšího prostředí pro délku léčby, PSB před léčbou, PSB po léčbě a cenu léčby.

Statisticky průkazný rozdíl byl pozorován u ceny léčby mezi patogeny *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Streptococcus Uberis* a PM testu bez nálezu patogenu ($P < 0,01$).

Tab. 26 Základní statistiky modelové rovnice pro léčbu mastitid – PSB před léčbou do 300 tis./ml

hodnocený ukazatel	MODEL		pořadí laktace		patogeny z vn. p.		dny laktace	
	r ²	P	F-test	P	F-test	P	F-test	P
délka léčby	0,214	0,061	0,17	0,845	1,11	0,356	9,69	0,003
PSB před léčbou	0,166	0,181	1,91	0,159	0,9	0,446	4,62	0,037
PSB po léčbě	0,017	0,994	0,1	0,901	0,13	0,94	0,01	0,943
cena léčby	0,57	< 0,001	0,67	0,518	18,99	< 0,001	1,34	0,253

Pořadí laktace – pořadí laktace, při které byla dojnice postižena mastitidou, **patogeny** z vnějšího prostředí – patogeny, kteří způsobily mastitidy, **dny laktace** – počet dní laktace ve kterých byla dojnice postižena mastitidou.

Tab. 26 znázorňuje základní statistiky PSB před léčbou do 300 tis./ml pro pořadí laktace, patogeny z vnějšího prostředí a dny laktace.

Zvolená modelová rovnice byla průkazná pouze pro cenu léčby ($P < 0,01$). Efekt patogenů z vnějšího prostředí byl statisticky průkazný pro cenu léčby ($P < 0,01$). Efekt dnů laktace byl statisticky průkazný pro délku léčby ($P < 0,05$) a PSB před léčbou mastitid ($P < 0,05$).

Tab. 27 Vliv efektů na délku léčby, PSB před léčbou, PSB po léčbě a na cenu léčby pro PSB před léčbou do 300 tis./ml

efekt	úroveň	délka léčby	PSB před léčbou	PSB po léčbě	cena léčby
		LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM
pořadí laktace	1.	18,86 ± 6,193	37,55 ± 30,641	372,96 ± 322,360	328,44 ± 27,373
	2.	17,61 ± 4,791	97,82 ± 24,012	450,69 ± 252,730	312,23 ± 21,178
	3. a další	20,71 ± 4,519	92,02 ± 22,430	523,73 ± 239,310	339,83 ± 19,977
patogeny z vnějšího prostředí	E. Coli	11,87 ± 6,040	85,56 ± 29,883	420,14 ± 325,520	441,45 ± 26,699 ^A
	Klebsiell a P.	36,11 ± 12,530	5,99 ± 62,089	600,42 ± 634,90	398,16 ± 55,384 ^a
	S. Uberis	14,85 ± 4,102	107,66 ± 20,360	467,00 ± 217,960	216,31 ± 18,131 ^{A,a}
	bez patogenu	13,40 ± 3,560	103,98 ± 18,010	308,96 ± 200,600	251,41 ± 15,735 ^A

Stejná písmena ve sloupcích znamenají statistickou průkaznost A-A ... $P < 0,01$; a-a, $P < 0,05$.

V tab. 27 byl znázorněn statisticky průkazný rozdíl u patogenů z vnějšího prostředí mezi *Escherichia Coli*, *Streptococcus Uberis* a PM testem bez nálezu ($P < 0,01$). Dále byl statisticky průkazný rozdíl zaznamenán u patogenů z vnějšího prostředí mezi *Klebsiella Pneumoniae* a *Streptococcus Uberis* ($P < 0,05$).

Tab. 28 Základní statistiky modelové rovnice pro léčbu mastitid – PSB před léčbou nad 300 tis./ml

hodnocený ukazatel	MODEL		pořadí laktace		patogeny z vn. p.		dny laktace	
	r^2	P	F-test	P	F-test	P	F-test	P
délka léčby	0,149	0,101	2,53	0,088	0,46	0,712	5,27	0,025
PSB před léčbou	0,068	0,596	0,22	0,802	0,98	0,409	0,46	0,498
PSB po léčbě	0,079	0,538	1,1	0,339	1	0,401	0,01	0,917
cena léčby	0,621	< 0,001	1,11	0,335	33,54	< 0,001	0,05	0,832

Pořadí laktace – pořadí laktace, při které byla dojnice postižena mastitidou, **patogeny z vnějšího prostředí** – patogeny, kteří způsobili mastitidy, **dny laktace** – počet dní laktace ve kterých byla dojnice postižena mastitidou.

Tab. 28 znázorňuje základní statistiky PSB před léčbou nad 300 tis./ml pro pořadí laktace, patogeny z vnějšího prostředí a dny laktace.

Zvolená modelová rovnice byla průkazná pouze pro cenu léčby ($P < 0,01$). Efekt patogenů z vnějšího prostředí byl statisticky průkazný pro cenu léčby ($P < 0,01$). Efekt dnů laktace byl statisticky průkazný pro délku léčby ($P < 0,05$).

Tab. 29 Vliv efektů na délku léčby, PSB před léčbou, PSB po léčbě a na cenu léčby pro PSB před léčbou nad 300 tis./ml

efekt	úroveň	délka léčby	PSB před léčbou	PSB po léčbě	cena léčby
		LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM
pořadí laktace	1.	7,05 ± 6,254	2993,25 ± 1145,770	388,58 ± 704,540	371,17 ± 34,584
	2.	17,13 ± 3,648	2510,93 ± 678,460	187,43 ± 44,110	367,76 ± 20,174
	3. a další	8,68 ± 2,566	2265,65 ± 469,280	856,99 ± 291,020	338,99 ± 14,189
patogeny z vnějšího prostředí	E. Coli	10,64 ± 4,294	3595,92 ± 786,400	280,80 ± 511,890	484,40 ± 23,742 ^A
	Klebsiell a P.	7,25 ± 7,499	1448,96 ± 374,140	58,72 ± 844,550	450,09 ± 41,468 ^B
	S. Uberis	14,27 ± 2,870	3008,85 ± 527,130	1032,26 ± 334,950	251,20 ± 15,870 ^{A,B}
	bez patogenu	11,65 ± 3,921	2306,05 ± 736,320	656,33 ± 455,880	251,54 ± 21,684 ^{A,B}

Stejná písmena ve sloupcích znamenají statistickou průkaznost A-A ... P < 0,01; a-a, P < 0,05.

Tab. 29 znázorňuje efekty: pořadí laktace a patogeny z vnějšího prostředí pro délku léčba, PSB před léčbou, PSB po léčbě a cenu léčby.

Statisticky průkazný rozdíl byl u patogenů z vnějšího prostředí mezi *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Streptococcus Uberis* a PM testem bez nálezu (P < 0,01).

6 Diskuze

6.1 Detekce mastitid

Většina automatické detekce, která byla vyvinuta pro použití na farmách, se používá pro detekci klinických mastitid. Jedním z nejstarších takovýchto testů je California mastitis test, jehož modifikace se využívá u nás pod názvem NK test (Šustová a kol., 2015).

Na farmě Montamilk probíhá detekce klinických mastitid na základě NK testu, který slouží jako orientační odhad PSB v mléce. Detekce subklinických mastitid zde probíhá na základě rychlých výsledků z KU.

Hejlíček a kol. (2004) uvádí, že zkouška mléka pomocí NK testu odhaluje v mléku dojnice s mastitidou současně zmnožení buněčných elementů.

Mastitida u krav je komplexní choroba a chovatel nemusí být schopen ji odhalit během subklinické fáze. Chce-li farmář tuto situaci zvládnout, měl by věnovat velkou pozornost hygieně dojení, aby zabránil křížové kontaminaci. To souvisí i s dobrým a čistým ustájením a správnou výživou pro celkové zdraví zvířat (Ježková, 2017).

6.2 Výskyt mastitid

Mastitidy jsou jedním z nejdůležitějších, resp. nejvíce ovlivňujících činitelů rentability produkce mléka. Je to z důvodu především vysoké náročnosti léčení a nutnosti perfektní a dlouhodobé ošetrovatelské péče. Výskyt mastitid je ovlivněn multifaktoriálními vlivy (Doležal, 2012).

Na farmě byl sledován výskyt mastitid před sledovacím obdobím (1.1. – 30.6.2017) a v průběhu sledovacího období v době zavedení kultivací vzorků mléka (1.7.2017 – 28.2.2018). Hodnocení mastitid probíhalo u stáda 350 dojnic. V období od 1.1. – 30.6.2017 se výskyt mastitid od ledna zvyšoval a v červnu dosáhl až na 30 dojnic (8,57 %) postižených mastitidou za měsíc. Průměrný výskyt mastitidy za toto období byl 6 %.

Ve sledovacím období od 1.7.2017 – 28.2.2018 se výskyt mastitid u dojnic každý měsíc snižoval a dosáhl průměrné hodnoty 4,5 %.

Stádník a kol. (2006) uvádí, že výskyt mastitid ve stádech dojnic se pohybuje v rozmezí 12 – 40 %. Při porovnání těchto výsledků je patrné, že farma Montamilk byla za obě období

nadprůměrná a dosahovala velmi nízkého výskytu mastitid ve stádě. Po zavedení kultivací vzorků mléka se výskyt mastitidy snížil ze 6 % na 4,5 %.

6.3 Výskyt mastitid podle patogenů z vnějšího prostředí

Výskyt patogenů z vnějšího prostředí se hodnotil ve sledovacím období od 1.7.2017 – 28.2.2018. Hodnocení probíhalo na základě zavedení kultivací vzorků mléka (PM testů) na farmě Montamilk. Věříš (2017) uvádí, že PM test je diagnostický set a umožňuje určení více než dvaceti druhů bakteriálních a kvasinkových původců mastitid skotu.

Na farmě byli na základě PM testů diagnostikovány tři patogeny, které způsobovaly mastitidy z vnějšího prostředí (*Streptococcus Uberis*, *Escherichia Coli* a *Klebsiella Pneumoniae*). Nejčastější frekvence výskytu těchto patogenů byla pro *Streptococcus Uberis* 57 dojnic (45,24 %). *S. Uberis* způsoboval na farmě největší počet mastitid.

Streptokokové mastitidy jsou nejčastější formou zánětu mléčné žlázy (Jagoš a kol., 1985). Další patogen, který byl vyhodnocen na základě PM testu byla *Escherichia Coli*, která postihla 21 dojnic (16,67 %) a neméně zastoupeným patogenem byla *Klebsiella Pneumoniae*, která postihla 6 dojnic (4,76 %). U 42 dojnic vyšel PM test bez nálezu.

E. Coli

Statisticky byla průměrná délka léčby 12 dní. Průměrný PSB před léčbou mastitid byl 1959 tis./ml a PSB po léčbě mastitid byl 478 tis./ml. Průměrná cena léčby *Coli* mastitid na farmě byla 462 Kč. Léčba antimikrobiálními látkami je nezastupitelným léčebným postupem a podle stupně závažnosti se aplikuje antibakteriální látka intramamárně. K léčbě se doporučuje např. neomycin (Hofírek a kol., 2009). Winter et al. (2009) uvádí, že *Escherichia coli* nebo koliformní bakterie mohou za určitých podmínek způsobit problémy v chovu, které jsou charakterizovány zvýšeným výskytem akutní klinické mastitidy a přítomnosti chronické mastitidy.

Na farmě se mastitidy způsobené *E. Coli* léčil lékem Tetra-Delta, který se aplikoval intramamárně a obsahoval účinnou látku Neomycin.

Winter et al. (2009) doporučuje následující postup léčby:

- akutní parenchymatózní mastitida s intoxikací: léčba septického šoku
- akutní parenchymatózní mastitida: sulfonamidy/trimetoprim, cefalosporiny
- chronická mastitida: intramamární léčba cefalosporiny

K. Pneumoniae

Průměrná délka léčby mastitid způsobených *K. Pneumoniae* byla 15 dní. Průměrný PSB před léčbou mastitidy byl 877 tis./ml a PSB po léčbě byl 322 tis./ml. Cena léčby za dojnici byla 422 Kč. Huang et al. (2015) uvádí, že *Klebsiella pneumoniae*, fakultativní anaerobní gramnegativní bacil, který je důležitým oportunistickým patogenem spojeným s jak komunitními, tak nozokomiálními infekcemi.

S. Uberis

Průměrná délka léčby mastitid, kterou způsobil *S. Uberis* byla 13 dní. Průměrný PSB před léčbou mastitidy byl 1941 tis./ml a PSB po léčbě byl 957 tis./ml. Cena léčby za dojnici byla 232 Kč.

S. uberis je druhý nejčastější ekologický organismus způsobující mastitidu. Zvláště se sdružuje ve slámě, kde může dojít k velmi vysoké míře infekce. Bylo hlášeno až 1 000 000 organismů na gram podestýlky ze slámy (Blowey and Edmondson, 1995). Dojnice jsou na farmě ustájeny pouze na slámě, ve které je výskyt *S. Uberis* vysoký.

Bez nálezu

Průměrná délka léčby mastitid, u které byl PM test bez nálezu patogenů byla 15 dní. Průměrný PSB před léčbou mastitidy byl 880 tis./ml a PSB po léčbě byl 534 tis./ml. Cena léčby za dojnici byla 246 Kč.

Nejdelší průměrná léčba byla u patogena *K. Pneumoniae* a u dojnic, jejichž PM test byl bez nálezu. Nejnižší PSB v mléce po aplikované léčbě měla *K. Pneumoniae*. Nejnákladnější léčba byla u *E. Coli* 462 Kč, a naopak nejlevnější léčba byla u patogena *S. Uberis* 232 Kč.

6.4 Výskyt mastitid podle postižené čtvrti

Období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací vzorků mléka. Nejčastěji se mastitida vyskytla u 45 dojnic (36 %) v PZ (pravé zadní) čtvrti. LZ (levou zadní) čtvrt' postihla mastitida 36 dojnic (33 %). 24 dojnic (18 %) bylo postiženo na LP (levou přední) čtvrt' a 18 dojnic (13 %) postihla mastitida v PP (pravé přední) čtvrti.

Období od 1.7.2017 – 28.2.2018 po zavedení kultivací vzorků mléka (sledovací období). Nejčastěji se mastitida vyskytla u 45 dojnic (36 %) v PZ (pravé zadní) čtvrti. PP (pravou přední)

čtvrť postihla mastitida 38 dojnic (30 %). 24 dojnic (19 %) bylo postiženo na LZ (levou zadní) čtvrt' a 19 dojnic (15 %) postihla mastitida v LP (levé přední) čtvrti.

LP (levá přední) čtvrt' se podle statistického vyhodnocení léčila průměrně 13 dní. Průměrný PSB před léčbou byl 691 tis./ml a PSB po léčbě byl 466 tis./ml. Cena léčby mastitid činila 245 Kč. LZ (levá zadní) čtvrt' se podle statistického vyhodnocení léčila průměrně 10 dní. Průměrný PSB před léčbou byl 1730 tis./ml a PSB po léčbě byl 464 tis./ml. Cena léčby mastitid činila 292 Kč. PP (pravá přední) čtvrt' se podle statistického vyhodnocení léčila průměrně 15 dní. Průměrný PSB před léčbou byl 1057 tis./ml a PSB po léčbě byl 998 tis./ml. Cena léčby mastitid činila 296 Kč. PZ (pravá zadní) čtvrt' se podle statistického vyhodnocení léčila průměrně 14 dní. Průměrný PSB před léčbou byl 2241 tis./ml a PSB po léčbě byl 689 tis./ml. Cena léčby mastitid činila 286 Kč.

Ze všech hodnot je patrné, že LZ (levá zadní) čtvrt' vykazovala nejkratší dobu léčby, nejmenší PSB po léčbě a druhou nejlevnější cenu léčby mastitid.

6.5 Léčba mastitid

Léčba mastitid v Montamilku probíhala převážně intramamárními preparáty. Hofírek a kol. (2009) uvádí, že složení antimikrobiálních preparátů pro intramamární aplikaci je koncipováno, v závislosti na cílech jejich působení, jako přípravky s rychlým uvolňováním antimikrobiální látky pro dojnice v laktaci nebo s pomalým uvolňováním pro zaprahnuté dojnice.

Na farmě Montamilk byla nejdelší průměrná délka léčby v listopadu a činila 22 dní, naopak nejkratší průměrná délka léčby byla v prosinci a činila 6 dní.

Průměrný nejvyšší PSB před léčbou mastitid byl v měsíci říjnu a činil 2063 tis./ml, naopak nejnižší PSB před léčbou byl v měsíci září a činil 378 tis./ml. Průměrný nejvyšší PSB po léčbě mastitid byl v měsíci lednu a činil 2301 tis./ml, naopak nejnižší PSB po léčbě byl v měsíci říjnu a činil 184 tis./ml.

Nejvyšší průměrná cena léčby byla v měsíci říjnu a činila 365 Kč, naopak nejnižší průměrná cena léčby mastitidy byla v měsíci lednu a činila 235 Kč.

Při porovnání základních statistik podle úspěšnosti léčby vyšly následující hodnoty:

Úspěšnost léčby 0 zahrnovala dojnice (12 ks), které se léčily pomocí dlouhodobých preparátů v době zaprahnutí. Délka léčby byla v průměru 60 dní. PSB před léčbou byl 2409 tis./ml a PSB po léčbě a po otelení byl 1194 tis./ml. Cena této léčby byla 279 Kč.

Úspěšnost léčby 100 zahrnovala dojnice (90 ks), které se léčily v průběhu laktace, pomocí krátkodobých intramamárních preparátů. Průměrná délka léčby byla 11 dní. PSB před léčbou byl 1470 tis./ml a PSB po léčbě byl 666 tis./ml. Cena léčby byla 276 Kč.

Při porovnání obou metod bylo zřejmé, že nejrychleji, nejlépe a nejlevněji se vyléčily dojnice při aplikaci intramamárních preparátů a s cílenou detekcí patogenů, kteří způsobili mastitidy z vnějšího prostředí.

Bouška a kol. (2006) uvádí, že okamžitá léčba klinických mastitid je zásadní, protože při neléčení zánětu dochází k těžkému poškození parenchymu mléčné žlázy, postižená čtvrt' je zduřená, dochází k omezení sekrece mléka a může dojít k nežádoucímu zaprahnutí.

6.6 Somatické buňky

Počty somatických buněk jsou vzhledem k poměrně přesným analytickým metodám obvykle hlavním ukazatelem zdravotního stavu mléčné žlázy krav (Kvapilík, 2014). Bouška a kol. (2006) uvádí, že hladina buněčných elementů ve zdravé mléčné žláze je 50 tis./ml.

V období od 1.1. – 30.6.2017 před zavedením kultivací vzorků mléka byl průměrný PSB za celé stádo 200 tis./ml.

V období od 1.7.2017 – 28.2.2018 po zavedení kultivací vzorků mléka byl průměrný PSB za celé stádo 212 tis./ml. Ve sledovacím období byl PSB vyšší než v období před zavedením kultivací vzorků mléka. Důvodem je, že PSB v letních měsících byl daleko vyšší než v zimních měsících. Počet somatických buněk se liší v průběhu dojení a může být nepřímo odhadnut pomocí Kalifornského mastitis testu (CMT) (Winter et al., 2009).

Na zvýšení PSB se podílí funkce dojícího zařízení a určitý vliv má i roční období. Nejvyšší hodnoty PSB bývají zjišťovány v letních měsících (Hofírek a kol., 2009). Farma Montamilk byla zařazena mezi žádosti dotace na Q třídu kvality mléka. Jednou z podmínek splnění této kvality byla podmínka max. PSB 250 tis./ml. Obě hodnoty splňovaly danou podmínku s velkou rezervou.

6.7 Vyhodnocené statistické parametry

Vliv efektů pořadí laktace a patogenů z vnějšího prostředí ve vztahu k délce léčby mastitid, PSB před léčbou, PSB po léčbě a ceně léčby mastitid.

U efektu pořadí laktace nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

U efektu patogenů z vnějšího prostředí byl statisticky průkazný rozdíl pozorován u ceny léčby mezi patogeny *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Streptococcus Uberis* a PM testu bez nálezu patogenu ($P < 0,01$).

Vliv efektů pořadí laktace a patogenů z vnějšího prostředí ve vztahu k délce léčby mastitid, PSB před léčbou, PSB po léčbě a ceně léčby mastitid pro PSB před léčbou do 300 tis./ml.

U efektu pořadí laktace nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

U efektu patogenů z vnějšího prostředí byl statisticky průkazný rozdíl zaznamenán mezi patogeny *Escherichia Coli*, *Streptococcus Uberis* a PM testem bez nálezu ($P < 0,01$). Dále byl statisticky průkazný rozdíl zaznamenán mezi patogeny *Klebsiella Pneumoniae* a *Streptococcus Uberis* ($P < 0,05$).

Vliv efektů pořadí laktace a patogenů z vnějšího prostředí ve vztahu k délce léčby mastitid, PSB před léčbou, PSB po léčbě a ceně léčby mastitid pro PSB před léčbou nad 300 tis./ml.

U efektu pořadí laktace nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

Byl prokázán statisticky průkazný rozdíl u efektu patogenů z vnějšího prostředí mezi *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Streptococcus Uberis* a PM testem bez nálezu ($P < 0,01$).

6.8 Faktory ovlivňující výskyt mastitid na farmě

Technologie ustájení

Na farmě Montamilk je volné boxové ustájení dojnic. Stáje jsou zde ve velmi špatném stavu a neumožňují správnou technologii utájení. Dojnice lehají do krmných chodeb a chodí na dojírnu s velmi znečištěnou mléčnou žlázou. Z tohoto důvodu byl na farmě vysoký výskyt patogenů z vnějšího prostředí, které způsobovaly mastitidy.

Ryšánek a kol. (2007) uvádí, že špatná kvalita podestýlky má vliv na vznik zánětu mléčné žlázy. Čím větší je primární znečištění a zvlhčení steliva, tím je počet bakterií ve stelivu větší. Wolfe et al. (2018) uvádí, že typ steliva hraje klíčovou roli v pohodlí ležící plochy a může hrát důležitou roli v užítkovosti krávy tím, že ovlivňuje čistotu prostředí a vystavení bakteriím.

Vznik mastitid způsobovaných environmentálními původci je ovlivněn některými dalšími činiteli technologie ustájení. U těchto mastitid sehrává roli bakteriální kontaminace povrchu těla a zejména struků. Zdrojem environmentálních patogenů jsou zejména výkaly, moč, stelivo, krmivo, prach, špína, bláto a voda (Hofírek a kol., 2009). Hofírek a kol. (2004) uvádí, že se při vzniku mastitid uplatňuje infekční činitel. Základním principem systému tlumení mastitid je omezování zdrojů infekce a cest přenosu hlavní patogenů mléčných žláz.

Technologie dojení

Čekárna

Dojnice se nahánějí do čekárny po sekcích. Každá sekce je po 45 ks dojníc. V čekárně a na dojrně tráví dojnice cca 45 minut. Hofírek a kol. (2009) udává, že dojnice tráví v čekárně mimo krmný žlab a své vlastní lože často velmi dlouhou dobu. Tato doba by neměla přesáhnout 60 – 90 minut.

Dojírna

Na farmě je od roku 2013 zřízena paralelní dojírna od firmy Fullwood „side by side“ 2x14 se skupinovým odchodem. Vegrícht (1996) uvádí, že technické řešení této dojírny je založeno na řízeném nástupu dojníc do dojícího stání, kdy první dojnice musí postoupit na poslední, nejvzdálenější stání, a přitom svou hrudí uvolní zábranu vedlejšího stání. Další dojnice potom nastupují vždy vedle předchozí dojnice.

Postup dojení

V Montamilku je následující postup při dojení:

Nanesení pěny na struky, otření struků mokrou hadrovou utěrkou (dojiči využívají jednu utěrku na 7 dojníc!), odstříkání struků (alespoň 3x) a otření struků dezinfekční papírovou utěrkou namočenou v roztoku z kyseliny peroctové. Hofírek (2009) uvádí, že polosuchá toaleta mléčné žlázy je významným prostředkem prevence mastitid způsobovaných environmentálními bakteriemi. Po toaletě mléčné žlázy následuje vlastní dojení, kdy dojič

nasadí dojící zařízení a kontroluje, zda nedošlo k jejímu spadnutí. Dojící zařízení automaticky vypíná počítač, který vyhodnotí, když je mléčná žláza vydojená.

Dezinfekce po dojení

Dezinfekce struků po dojení, tzv. postdipping, je nejdůležitějším opatřením k tlumení mastitid (Bouška a kol., 2006). Na farmě se používá dezinfekce po dojení Calgodip Osmo Duo. Jedná se o dvousložkový bariérový prostředek na bázi oxidu chloričitého, který se uvolňuje po smíchání obou složek Calgodip Osmo Duo Base a Calgodip Osmo Duo Active. Dezinfekce se míchá vždy před každým dojením a připravuje ji zootechnik. Základním cílem přípravků na dezinfekci struků je zabránit mastitidě (Zourek, 1999).

Mezidezinfekce dojícího zařízení

Bouška a kol. (2006) udává, že mezidezinfekce dojícího zařízení (strukových násadců) při dojení léčených krav a krav v ochranné lhůtě je považována za snižování výskytu a přenosu mastitid.

Na farmě je mezidezinfekce funkční po celou dobu dojení. Dojící zařízení je po každé podojené dojnici propláchnuto roztokem z kyseliny peroctové.

Sanitace dojících zařízení

Hofírek a kol. (2004) uvádí, že hlavním zdrojem bakteriální kontaminace syrového mléka je nedokonale vyčištěný a dezinfikovaný dojící stroj. Zbytky mléka jsou ideálním živným substrátem pro pomnožování bakterií.

Význam sanitace spočívá v omezování bakteriální kontaminace syrového mléka. Hlavní zdrojem bakteriální kontaminace syrového mléka je nedokonale vyčištěný a dezinfikovaný dojící stroj (Hofírek a kol., 2009). Na farmě se využívají k sanitaci dva přípravky na alkalické a kyselé bázi. Profarm KD je kyselý tekutý mycí a čistící prostředek na bázi kyseliny dusičné a fosforečné. Profarm A je alkalický kapalný dezinfekční mycí a odmašťovací přípravek na bázi aktivního chlóru (chlornan sodný). Tyto přípravky se každou sanitací střídají. Hofírek (2009) uvádí, že jako nejúčinnější je denní střídání kyselého a alkalického přípravku, např. ráno alkalický, večer kyselý. Je však třeba dbát na to, aby nedošlo k jejich smíchání.

Sanitační přípravky použitelné k sanitaci dojících zařízení musí být na seznamu přípravků schválených Státní veterinární správou ČR (Hofírek a kol., 2004).

7 Závěr

V této diplomové práci byl sledován výskyt mastitid před zavedením kultivací vzorků mléka a po jejich zavedení. Stanovená hypotéza: Lze předpokládat, že provozní realizací kultivace mastitidního mléka s detekcí patogenu je možné nastavit cílenou terapii zvyšující úspěšnost léčby a snižující výskyt mastitidy v chovu. Daná hypotéza byla potvrzena a výskyt mastitid ve stádě se snížil.

Bylo prokázáno že:

Průměrná délka léčby mastitid byla před zavedením kultivací vzorků mléka (1.1. – 30.6.2017) 17 dní a po zavedení kultivací se snížila na 11 dní.

- Úspěšnost léčby a dny laktace při léčbě mastitid byly ve vztahu s délkou léčby na hladině významnosti ($P < 0,001$). Cena léčby byla ve vztahu k délce léčby na hladině významnosti ($P < 0,05$). PSB před léčbou byl ve vztahu s PSB po léčbě na hladině významnosti ($P < 0,05$).
- Statisticky průkazný rozdíl byl pozorován u ceny léčby mezi patogeny *E. Coli*, *K. Pneumoniae*, *S. Uberis* a u PM testu bez nálezu patogenu ($P < 0,01$).
- Byl prokázán statisticky průkazný rozdíl patogenů z vnějšího prostředí mezi *E. Coli*, *S. Uberis* a PM testem bez nálezu patogenu pro PSB před léčbou do 300 tis./ml ($P < 0,01$). Dále byl statisticky průkazný rozdíl u patogenů z vnějšího prostředí mezi *K. Pneumoniae* a *S. Uberis* ($P < 0,05$).
- Statisticky průkazný rozdíl byl zaznamenán u patogenů z vnějšího prostředí mezi *E. Coli*, *K. Pneumoniae*, *S. Uberis* a u PM testu bez nálezu patogenu pro PSB před léčbou do 300 tis./ml ($P < 0,01$).

Podnik sám o sobě vykazoval nízký výskyt mastitid i před zavedením kultivací vzorků mléka, a i po jejich zavedení. Zavedením kultivací se výskyt mastitidy ještě více snížil z původních 6 % na 4,5 %. PSB byl před sledovacím obdobím 196 tis./ml a po něm 212 tis./ml. Důvodem zvýšeného PSB po zavedení kultivací vzorků mléka je, že sledované období probíhalo převážně v letních měsících, kdy je PSB vyšší než v zimních měsících.

Farma je z hlediska výskytu mastitid po zavedení kultivací vzorků mléka na velmi dobré úrovni i přes to, že kvalita ustájení není na dobré úrovni.

Doporučení pro zlepšení úrovně chovu a snižování výskytu mastitid: rekonstrukce stájí a používání jedné mokré hadrové utěrky na krávu při toaletě mléčné žlázy před dojením.

8 Zdroje

Andrieu, S., Warren, H. 2009. Ruminant formula for the future: nutrition or pathology? Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. p. 96. ISBN: 9789086861057.

Blowey, P., Edmondson, P. 1995. Mastitis control in dairy herds. Farming Press Books. Australia. p. 196. ISBN: 0852363141.

Bouška, J., Doležal, O., Jílek, F., Kudrna, V., Kvapilík, J., Příbyl, J., Rajmon, R., Sedmíková, M., Skřivanová, V., Šlosárková, S., Tyrolová, Y., Vacek, M., Žižlavský, J. 2006. Chov dojeného skotu. Profi Press. Praha. 186 s. ISBN: 8086726169.

Brandenburg, J., Reiling, N. 2016. The wnt blows: On the functional role of wnt signaling in *Mycobacterium tuberculosis* infection and beyond. *Frontiers in immunology*. 635 (7). 5-6.

Cogen, L. A., Yamasaki, K., Muto, J., Sanches, M. K., Alexander, C. L., Tanios, J., Lai, Y., Kim, E. J., Nizet, V., Gallo, L. R. 2010. Staphylococcus epidermidis Antimicrobial δ -Toxin (Phenol-Soluble Modulin- γ) Cooperates with Host Antimicrobial Peptides to Kill Group A Streptococcus. *Plos one*. 5 (1). 8557.

Das, A., Acharya, S., Behera, K. B., Paria, P., Bhowmick, S., Parida, K. P., Das, K. B. 2018. Isolation, identification and characterization of *Klebsiella pneumoniae* from infected farmed Indian Major Carp *Labeo rohita* (Hamilton 1822) in West Bengal, India. *Aquaculture*. 482. 111-116.

Dego, K. O., Almeida, A. R., Oliver, P. S. 2011. Presence of *ISS1*-like insertion sequence in wild type *Streptococcus uberis* strains isolated from cases of bovine mastitis. *Veterinary microbiology*. 151 (3-4). 315-320.

Doležal, O. 2012. Hygiena chovného prostředí, kvalita mléka a výskyt mastitid. *Náš chov*. 6. 49-52.

Doležal, O., a kol. 2002. Komfortní ustájení vysokoprodukčních dojnic. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. 129 s. ISBN: 8086454231.

Doležal, O., Staněk, S. 2015. Chov dojeného skotu. Profi Press. Praha. 244 s. ISBN: 9788086726700.

Dudenhausen, W. J. 2014. Practical obstetrics. Walter de Gruyter GmbH. Berlin/Boston. p. 497. ISBN: 9783110275933.

Dunklee, K., Peck, E., Swift, K. M., Worden, L. 2009. Objectives of working with dairy cattle. Holstein foundation. 9 (9). 2-23.

Fernández, J., Montero, I., Martínez, Ó., Fleites, A., Poirel, L., Nordmann, P., Rodicio, R. M. 2015. Dissemination of multiresistant *Enterobacter cloacae* isolates producing OXA-48 and CTX-M-15 in a Spanish hospital. International Journal of Antimicrobial Agents. 46 (4). 469-474.

Frelich, J., Bouška, J., Doležal, O., Maršálek, M., Říha, J., Voříšková, J., Zedníková, J. 2001. Chov skotu. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. České Budějovice. 211 s. ISBN: 8070405120.

Hofírek, B., Dvořák, R., Němeček, L., Doležel, R., Pospíšil, Z., a kol. 2009. Nemoci skotu. Česká buiatrická společnost. Brno. 1149 s. ISBN: 9788086542195.

Hofírek, B., Pechová, A., Doležel, R., Pavlata, L., Dvořák, R., Fleischer, P., a kol. 2004. Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 184 s. ISBN: 8073055015.

Hogeveen, H. 2005. Mastitis in dairy production. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. p. 744. ISBN: 9789076998701.

Huang, Y., Li, J., Gu, D., Fang, Y., Chan, W. E., Chen, S., Zhang, R. 2015. Rapid Detection of K1 Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* by MALDI-TOF MS. Frontiers in microbiology. 6. 1435.

Hulsen J. 2011. Cow signals. Jak rozumět řeči krav. Profi Press. Praha. 97 s. ISBN: 9788086726441.

Chládek, G., Doležal, P., Havlíček, Z., Falta, D., Mareš, P., Zeman, L., Szwedziak, K., Tukiendorf, M., a kol. 2009. Aktuální poznatky v chovu dojeného skotu. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 65 s. ISBN: 9788073752996.

Jagoš, P., Bouda, J., Hejlíček, K., Hojovec, J., Kozumplík, J., Kudláč, E., Roztočil, V., Veselý, Z. 1985. Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu. Státní zemědělské nakladatelství Praha. Praha. 469 s.

Ježková, A. 2017. Detekce, léčba a prevence mastitid. *Náš chov*. 11. 27-29.

Jhanwar, A. 2009. Isolation and characterization of different aggregates of lipid from bovine milk. A Thesis. Utah State University, Logan, Utah. 91 s.

Kadlec, I. a kol. 1994. Nejčastější příčiny snížené jakosti mléka, záněty mléčné žlázy, čištění a dezinfekce v prvovýrobě mléka. ÚVO Pardubice. 210 s.

Kamaletdinova, K. L., Nizamutdinova, K. E., Shirshikova, V. T., Skipina, M. I., Bogmolnaya, M. L. 2016. Inactivation of chromosomal genes in *Serratia marcescens*. *Bionanoscience*. 6 (4). 376-378.

Khan, A. F., Rasheed, A. M., Faisal, M., Menghwar, H., Zubair, M., Sadique, U., Chen, H., Guo, A. 2017. Proteomics analysis and its role in elucidation of functionally significant proteins in *Mycoplasma bovis*. *Microbial Pathogenesis*. 111. 50-59.

Kouřimská, L., Kosinová, R., Babička, L. 2007. Když se mluví o kravském mléce. *Náš chov*. 5. 108-113.

Kvapilík, J. 2014. Mastitidy u dojených krav a výrobní ztráty. *Veterinářství*. 64 (7). 550-560.

Phiri, A. M., Muleya, W., Mwape, K. E. 2010. Management of chronic gangrenous mastitis in a 3-year-old cow using partial (quarter) mastectomy. *Tropical animal health and production*. 42 (6). 1057-1061.

Klopčič, M., Reents, R., Philipsson, J., Kuipers, A. 2009. Breeding for robustness in cattle. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. p. 281. ISBN 9789086860845.

Komárek, V., Sova, Z., Bukvaj, J., Hampl, A., Král, A., Křesán, J. 1971. Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat. SZN. Praha. 574 s.

Legarová, V. 2012. Laktóza a její deriváty. *Mlékařské listy*. Praha: Výzkumný ústav mlékárenský. 49 (131). 15-18.

Li, F., Li, F., Yang, G., Aguilar, P. Z., Lai, W., Xu, H. 2018. Asymmetric polymerase chain assay combined with propidium monoazide treatment and unmodified gold nanoparticles for colorimetric detection of viable emetic *Bacillus cereus* in milk. *Sensors and actuators B – chemical*. 255. 1455-1461.

Mahmmod, S. Y., Toft, N., Catholm, J., Gronbaek, C., Klaas, C. I. 2013. Bayesian estimation of test characteristics of real-time PCR, bacteriological culture and California mastitis test for diagnosis of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* in dairy cattle at routine milk recordings. *Preventive veterinary medicine*. 112 (3-4). 309-317.

Nickerson, SC. 1994. Bovine mammary gland – structure and function – relationship to milk – production and immunity to mastitis. *Agri-Practice*. 15 (6). 8-\$.

Papadopoulos, P., Papadopoulos, T., Angelidis, S. A., Boukouvala, E., Zdragas, A., Papa, A., Hadjichristodoulou, Ch., Sergelidis, D. 2018. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. *Food microbiology*. 69. 43-50.

Pařilová, M. 2007. Proč je plodnost tak důležitá? *Náš chov*. 5. 24-26.

- Pechová, A., Illek, J., Pavlata, L. 2000. Faktory ovlivňující koncentraci tuku v kravském mléce. Veterinářství. 50. 238-241.
- Reece, O. W. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat - 2., rozšířené vydání. Grada Publishing, a.s. ISBN: 8024732823. 473 s.
- Risalde, Á. M., Thomas, J., Sevilla, I., Serrano, M., Ortíz, A. J., Garrido, J., Domínguez, M., Domínguez, L., Gortázar, Ch., Ruíz-Fons, F. J. 2017. Development and evaluation of an interferon gamma assay for the diagnosis of tuberculosis in red deer experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. BMC Veterinary research. 13. 341.
- Ryšánek, D., Babák, V., Zouharová, M. 2007. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. Veterinary Research Institute. Brno. 52 (6). 223-230.
- Santoro, K., Matić, S., Gisi, U., Spadaro, D., Pugliese, M., Gullino, L., M. 2017. Abundance, genetic diversity and sensitivity to demethylation inhibitor fungicides of *Aspergillus fumigatus* isolates from organic substrates with special emphasis on compost. Pest management science. 73 (12). 2481-2494.
- Shahid, M., Wang, J., Gu, X., Chen, W., Ali, T., Gao, J., Han, D, Yang, R., Fanning, S., Han, B. 2017. *Prototheca zopfii* induced ultrastructural features associated with apoptosis in bovine mammary epithelial cells. Frontiers in cellular and infection microbiology. 7. 299.
- Schroeder, J. W. 2012. Mastitis Control Programs Bovine Mastitis and Milking Management. North Dakota State University. North Dakota. p. 15.
- Slavík, P., Illek, J., Matějček, M., Klouda, Z. 2004. Obsah tuku v mléce jako ukazatel zdravotního stavu dojnic a úrovně výživy. Veterinářství. 54. 520-524.
- Stádník, L., Rákos, M., Louda, F. 2006. Dojení a zdraví mléčné žlázy. Farmář. 2. P18-20.
- Štolc, L. 1999. Chov hospodářských zvířat: (chov skotu, ovcí a koní). 2. přeprac. vyd. Praha: ČZU. ISBN: 8021304782.

Šustová, K., Poláčková, M., Kuchtík, J. 2015. Možnosti detekce mastitid měřením enzymatické aktivity. *Mlékařské listy*. 26 (149).

Vegricht, J. 1996. Dojírny se skupinovým odchodem. *Náš chov*. 7. 7-9.

Vegricht, J., Machálek, A., Fabiánová, M., Miláček, P., Ambrož, P. 2008. Inovace technických a technologických systémů pro chov dojnic. Metodická příručka Mze ČR. Výzkumný ústav zemědělské techniky v.v.i. Praha 6 – Ruzyně. 84 s. ISBN: 9788086884370.

Věříš, M. 2017. PM test – diagnostika mastitid. *Náš chov*. 5. 51.

Villa-Arcila, N. A., Sanchez, J., Ratto, M. H., Rodriguez-Lecompte, J. C., Duque-Madrid, P. C., Sanchez-Arias, S., Ceballos-Marquez, A. 2017. The association between subclinical mastitis around calving and reproductive performance in grazing dairy cows. *Animal reproduction science*. 185. 109-117.

Winter, P., Burvenich, Ch., Hogeveen, H., Neijenhuis, F., Rasmussen, D. M., Schweigert, J. F., Spiegeller, B., Zehle, H. 2009. *Praktischer Leitfaden Mastitis*. Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG. Germany. p. 254.

Wolfe, T., Vasseur, E., DeVries, T. J., Bergeron, R. 2018. Effect of alternative deep bedding options on dairy cow preference, lying behavior, cleanliness, and teat end contamination. *Journal of Dairy Science*. 101 (1). 530-536.

Yu, J., Ren, Y., Xi, XX., Huang, WQ., Zhang, HP. 2017. A Novel Lactobacilli-Based Teat Disinfectant for Improving Bacterial Communities in the Milks of Cow Teats with Subclinical Mastitis. *Frontiers in microbiology*. 8. 1782.

Zappa, V., Bolanos, D. A. C., Paula, L. C., Callefe, R. L. J., Alves, C. A., Morais, C. B. A., Guerra, T. S., Cabrini, Ch. M., Melville, A. P., Ribeiro, G. M. 2017. Antimicrobial multiple resistance index, minimum inhibitory concentrations, and extended – spectrum beta – lactamase producers of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* strains isolated from domestic animals with various clinical manifestations of infection. *Semina – ciencias agrarias*. 38 (2). 775-790.

Zhu, L., Yang, Q., Huang, L., Wang, K., Wang, X., Chen, D., Geng, Y., Huang, X., Ouyang, P., Weimin, L. 2017. Effectivity of oral recombinant DNA vaccine against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia. *Developmental and comparative immunology*. 77. 77-87.

Zourek, C. 1999. Přípravky na dezinfekci struků. *Náš chov*. 1. 39-40.

9 Přílohy

Tab. 30 Protokol z bakteriologického vyšetření mléka

1	mléko, kráva č. 211218	bez nálezu	negat.
2	mléko, kráva č. 333218	bez nálezu	negat.
3	mléko, kráva č. 373964	Streptococcus uberis	++++
4	mléko, kráva č. 272428	Streptococcus uberis	++++
5	mléko, kráva č. 317242	bez nálezu	negat.
6	mléko, kráva č. 333151	bez nálezu	negat.
7	mléko, kráva č. 354115	bez nálezu	negat.
8	mléko, kráva č. 229144	bez nálezu	negat.
9	mléko, kráva č. 254981	bez nálezu	negat.
10	mléko, kráva č. 333144	bez nálezu	negat.
11	mléko, kráva č. 272496	Saprofyté	+
12	mléko, kráva č. 354200	bez nálezu	negat.
13	mléko, kráva č. 354237	bez nálezu	negat.
14	mléko, kráva č. 333139	Streptococcus uberis	++
15	mléko, kráva č. 272456	Lactococcus garviea	+++
16	mléko, kráva č. 293777	bez nálezu	negat.
17	mléko, kráva č. 293635	Saprofyté	+
18	mléko, kráva č. 333219	bez nálezu	negat.
19	mléko, kráva č. 293624	bez nálezu	negat.
20	mléko, kráva č. 354139	bez nálezu	negat.
21	mléko, kráva č. 354257	Saprofyté	++
22	mléko, kráva č. 374036	Saprofyté	++
23	mléko, kráva č. 374141	Saprofyté	+++
24	mléko, kráva č. 399027	Saprofyté	+
25	mléko, kráva č. 374147	Streptococcus uberis	+++
26	mléko, kráva č. 354202	bez nálezu	negat.
27	mléko, kráva č. 354199	Streptococcus uberis	+++
28	mléko, kráva č. 354283	bez nálezu	negat.
29	mléko, kráva č. 354139	bez nálezu	negat.
30	mléko, kráva č. 354280	bez nálezu	negat.
31	mléko, kráva č. 333177	Přerostlé stájovou mikroflórou	++++
32	mléko, kráva č. 293681	Streptococcus uberis	+++
33	mléko, kráva č. 374091	bez nálezu	negat.
34	mléko, kráva č. 333068	bez nálezu	negat.
35	mléko, kráva č. 333071	Streptococcus uberis	++
36	mléko, kráva č. 293776	bez nálezu	negat.
37	mléko, kráva č. 211213	bez nálezu	negat.

38	mléko, kráva č. 333204	Streptococcus dysgalactiae	++
39	mléko, kráva č. 272552	bez nálezu	negat.
40	mléko, kráva č. 211247	Streptococcus uberis	+++

Tab. 31 Citlivost na antibiotika

	1	2	3
Amoxicillin/clavulan	C	C	C
Ampicilin	C	C	C
Cefoperazon	C	C	C
Cephalexin	C	C	C
Cephalothin	C	C	C
Clindamycin	C	R	C
Cotrimoxazol	C	R	C
Enrofloxacin	C		C
Erytromycin	C		C
Gentamycin	I		C
Neomycin	R	C	R
Novobiocin	R	R	I
Oxacilin	C	R	C
Penicilin	C		C
Rifaximin 40	C		C
Streptomycin	R	I	R
Tetracyklin	R	C	I

Obr. č. 1 Haly pro dojnice



Obr. č. 2 Hala pro dojnice – sekce jsou oddělené krmnou chodbou



Obr. č. 3 Volné ustájení dojníc – špatná konstrukce lehacích boxů



Obr. č. 4 Volné ustájení dojníc – dojnice lehají do krmné chodby z důvodu špatné konstrukce boxů



Obr. č. 5 Volné ustájení dojnic – špatná konstrukce lehacích boxů (dojnice lehnou do chodeb)



Obr. č. 6 Nástup dojnic do čekárny



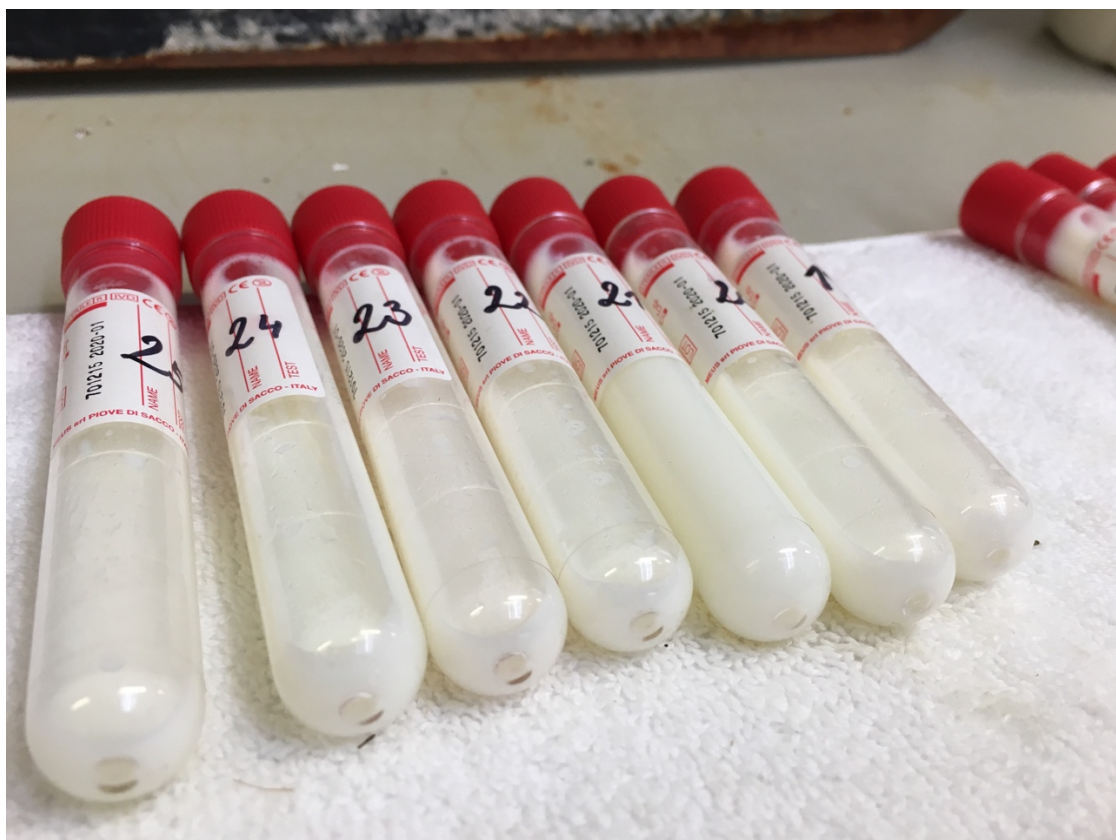
Obr. č. 7 Paralelní dojírna „side by side“ 2x14, Fullwood



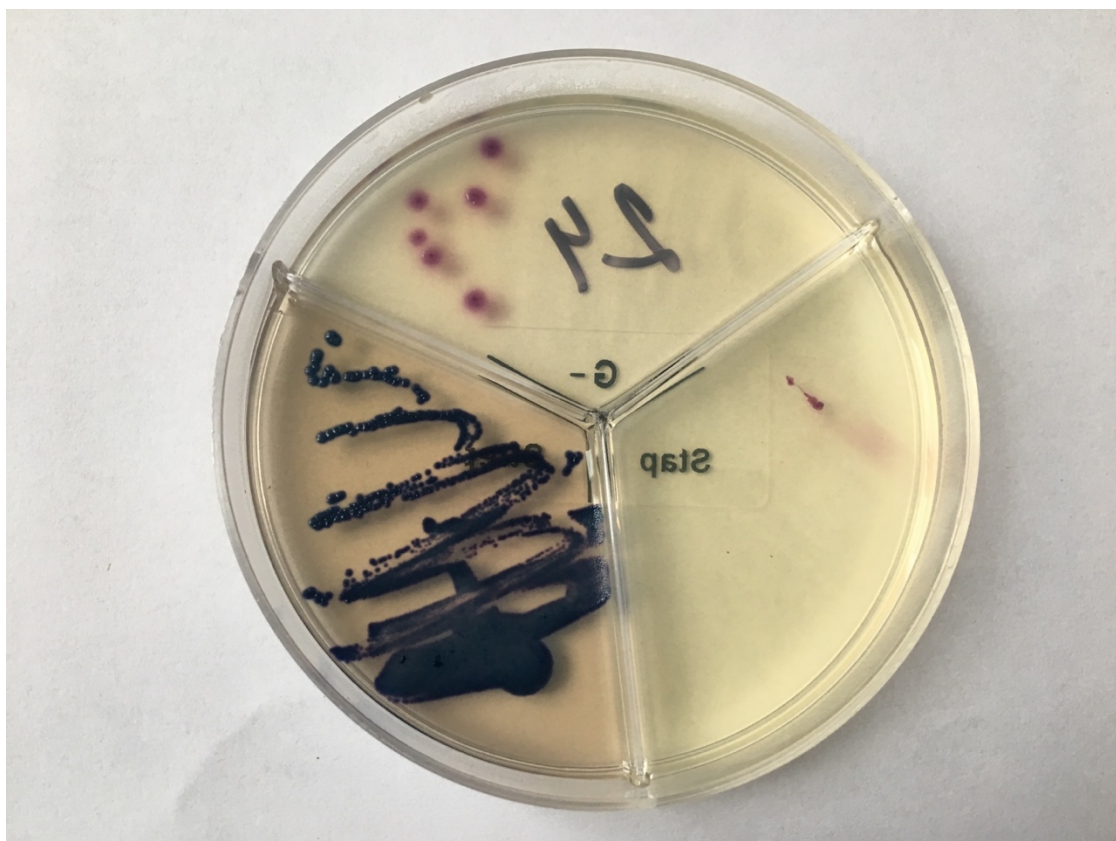
Obr. č. 8 Detail dojícího stroje při dojení



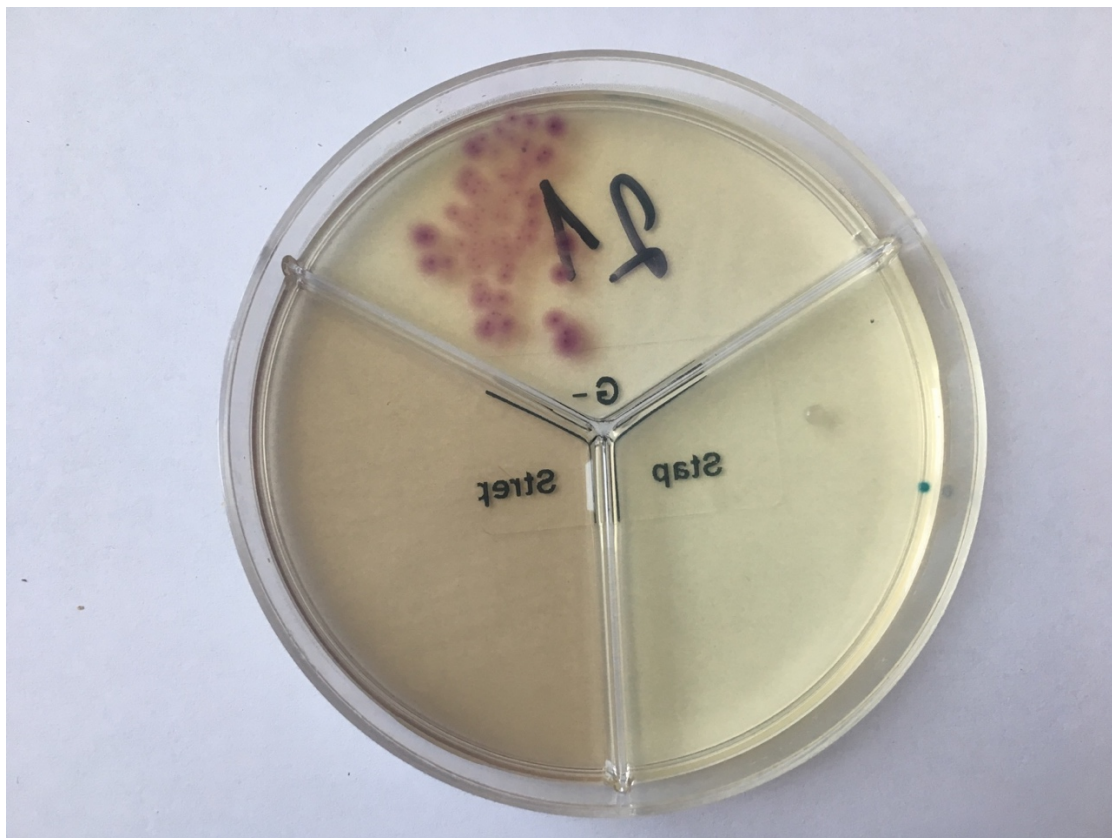
Obr. č. 9 Odebrané mléko určené ke kultivaci



Obr. č. 10 Výsledek kultivace – *S. Uberis*



Obr. č. 11 Výsledek kultivace – *E. Coli*



Obr. č. 12 Výsledek kultivace – *K. Pneumoniae*

