

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4103, Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra zootechnických věd

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Využití kultivačních metod v diagnostice zánětů mléčné žlázy  
ve vybraném chovu dojnic

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Autor diplomové práce: Ulmová Kateřina

České Budějovice, 2019

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Kateřina ULMOVÁ  
Osobní číslo: Z17030  
Studijní program: N4103 Zootechnika  
Studijní obor: Zootechnika  
Název tématu: Využití kultivačních metod v diagnostice zánětů mléčné žlázy ve vybraném chovu dojnic  
Zadávací katedra: Katedra zootechnických věd

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

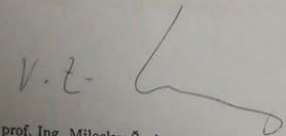
Mastitidy jsou nejčastější formou onemocnění mléčné žlázy, jsou řazeny mezi nejvýznamnější produkční choroby. Na jejich vzniku se podílí zejména různé druhy infekčních i environmentálních patogenů. Častým užíváním antibiotik při léčbě vzniká riziko rezistence patogenů na antibiotika. Ekonomické důsledky onemocnění vyžadují spolehlivou diagnostiku, úspěšnou léčbu a nápravná opatření zamezující výskytu onemocnění v chovu dojnic. Cílem diplomové práce je vyhodnotit kultivační diagnostiku původců infekčních mastitíd a jejich následnou léčbu vhodnými jednodruhovými antibiotiky. Ve vybraném podniku u dojnic s pozitivním NK testem nebo s vyšší měrnou vodivostí mléka odeberete vzorky mléka pro mikrobiální kultivaci na jednorázových plotnách živných půd. Na základě kultivace určíte původce, stupeň infekce a ve spolupráci s dozorovým veterinárním lékařem volbu vhodných antibiotik a postup léčby. V chovu budete sledovat četnost mastitíd, jejich původců, účinnost zvolené léčby, případně opakované záněty. Výsledky zpracujete graficky. V diskuzi porovnáte výsledky s literárními zdroji, vyjádříte vlastní závěry. Uvedete doporučení pro praxi.

Rozsah grafických prací: 10 tabulek, 5 grafů  
Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:


Bassel, L.L., Caswell, J.L.: Bovine neutrophils in health and disease. Cell and Tissue Research. 2018: 617 - 637.  
Doležal, O. a kol.: Chov dojeného skotu. Praha. Profi Press, 2015. ISBN 978-80-86726-70-0.  
Hofírek, B. a kol.: Produkční a preventivní medicína v chovech skotu. VFU Brno, 2009. 184 s.  
Sepúlveda-Varas, P., Proudfoot, K.L., Weary, D.M., Keyserlingk, M. von: Changes in behaviour of dairy cows with clinical mastitis. Applied Anim. Behaviour Sci. 2016:8-13.  
Tančín, V. a kol.: Fyziologie toku mléka z vemena dojníc. SPU Nitra, 2017. ISBN 978-80-552-1651-5.  
Věříš, M.: Jak mastitidy rozeznat a léčit. Náš chov. 2017. ISSN 0027-8068.  
Toman, M. a kol.: Veterinární imunologie. Grada, 2009. ISBN 80-7169-727-3.  
Elektronické informační zdroje Akademické knihovny JU v Č. Budějovicích (internetové databáze): ISI Web of Knowledge (Web of Science), Agroweb, Agris, Scopus, Česká zemědělská a bibliografická databáze, příslušné odborné a vědecké časopisy.

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.  
Katedra zootechnických věd

Datum zadání diplomové práce: 28. března 2018  
Termín odevzdání diplomové práce: 15. dubna 2019

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

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Študentská 1668, 370 05 České Budějovice

  
prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 28. března 2018

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

Datum

Podpis studenta

## Poděkování

Děkuji vedoucímu mé diplomové práce prof. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky. Dále bych chtěla poděkovat MVDr. Jiřímu Davídkovi, který mi poskytoval cenné informace ohledně problematiky daného tématu.

## Abstrakt

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit pomocí kultivační diagnostiky původce infekčních mastitid a určit vhodný postup léčby antibiotickými preparáty. Dílčím cílem bylo sledovat výskyt druhů původců, úspěšnost léčby a vliv stupně infekce na její účinnost. Sledování probíhalo ve vybraném zemědělském podniku v období od dubna do prosince roku 2018, celkem bylo sledováno 136 dojnic. V daném období byly odebírány vzorky mléka od dojnic, které vykazovaly v kontrole užitečnosti více jak 800 000 somatických buněk v 1 ml mléka. Na základě pozitivního NK testu byl odebrán vzorek z postižené čtvrtě mléčné žlázy a kultivován na jednorázových živných plotnách stájového kultivačního testu. Podle druhu původce infekce byla vybrána vhodná antibiotická léčba. Po týdnu až čtrnácti dnech po aplikaci antibiotik byl znovu odebrán a kultivován vzorek mléka z léčené čtvrtě, čímž se prokazovalo, zda léčba proběhla úspěšně či ne.

Ze 136 dojnic vykazovalo infekci mléčné žlázy způsobené mikroorganismy 77 %. V rámci pořadí laktace byly nejvíce postiženy dojnice na 1. laktaci a to z 36,8 % a až 47,1 % dojnic onemocnělo mastitidou v 1. fázi laktace. V podniku se vyskytovali původci: *Staphylococcus spp.* (KNS), *Streptococcus uberis*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Candida rugosa* a *Enterococcus faecalis*. Nejvíce se vyskytoval, z 36% *Staphylococcus spp* (KNS). Z 22 % byly mastitidy způsobeny koliformními bakteriemi. Ze 17 % byl původcem mastitid *Streptococcus uberis*. Z 10,5 % byl infekčním činitelem *Enterococcus faecalis*. *Candida rugosa* se objevila u 7,4 % případů a nespecifické mastitidy pak v 9,5 %. Celkem ze 105 dojnic bylo plně vyléčeno 68 %.

Nakonec byla na základě stupně infekce statisticky vyhodnocena úspěšnost léčby. Při hodnotě  $p=0,018$  se statisticky prokázalo, že stupeň infekce výrazně ovlivňuje výsledek léčby mléčné žlázy postižené mastitidou.

**Klíčová slova:** mastitida, dojnice, mléčná žláza, léčba, kultivace,

## Abstract

The goal of my thesis was to evaluate origin of mastitis diseases and specify the best way to cure this disease with antibiotics. Secondary goal was to examine origin of things that cause these diseases, efficiency of the cure and how it is influenced by the stage of the illness. This research was made in a cowshed, from April to December 2018 with 136 specimens. During this period I took samples of milk, that had more than 800 000 somatic cells in 1 ml of milk. Based on positive NK test, samples of mammary gland were taken and cultivated on one used only Petri dish. Depending on the origin of the infection, the proper antibiotics were chosen for the cure. After 7 to 14 days after antibiotics treatment, milk sample was taken from the cured part of mammary gland and it was tested to see, if the treatment was successful.

77% of the specimens were sick because of microorganisms and most of the specimens were afflicted the most during 1st lactation (36.8% to 47.1%). Following microorganisms caused mastitis - *Staphylococcus spp.* (KNS), *Streptococcus uberis*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Candida rugosa* and *Enterococcus faecalis*. 36% of mastitis was caused by *Staphylococcus spp.* (KNS), followed by coliform bacteria (22%). 17% of mastitis was caused by *Streptococcus uberis*. 10.5% of specimens were infected by *Enterococcus faecalis*. *Candida rugosa* was found in 7.4% of the samples and in 9.5% of samples the disease had no specific microorganism responsible. From 105 infected cows, 68% of them fully recovered.

At the end, based on the stage of the mastitis, effectiveness of the treatment was statistically evaluated. The evaluation showed, that stage of infection massively influences the result of the treatment.

**Key words:** mastitis, dairy cow, treatment, mammary gland, cultivation

### **Seznam použitých zkratk**

PSB	počet somatických buněk
SB	somatické buňky
KNS	koaguláza negativní stafylokok
ATB	antibiotika
CPM	celkový počet mikroorganismů
RIL	rezidua inhibičních látek
KU	kontrola užítkovosti



## Obsah

1 Úvod.....	9
2 Literární přehled .....	10
2.1 Morfologie a fyziologie mléčné žlázy .....	10
2.2 Laktace .....	11
2.2.1 Mlezivo .....	11
2.2.2 Mléko .....	12
2.3 Kvalita mléka .....	12
2.3.1 Celkový počet mikroorganismů (CPM).....	12
2.3.2 Počet somatických buněk (PSB) .....	13
2.3.2.1 Somatické buňky a zdraví mléčné žlázy .....	13
2.3.3 Rezidua inhibičních látek.....	15
2.4 Onemocnění mléčné žlázy .....	15
2.4.2 Patogeneze a imunitní odpověď mléčné žlázy .....	19
2.5 Nejvýznamnější původci mastitid .....	20
2.5.1 Streptokokové mastitidy .....	20
2.5.1.1 Streptococcus agalactiae .....	20
2.5.1.2 Streptococcus disgalactiae .....	21
2.5.1.3 Streptococcus uberis .....	22
2.5.2 Stafylokokové mastitidy .....	22
2.5.2.1 Staphylococcus aureus .....	23
2.5.3 Koliformní mastitidy .....	24
2.5.3.1 Escherichia coli .....	24
2.5.3.2 Klebsiella pneumoniae .....	24
2.5.4. Pseudomonové mastitidy .....	25
2.5.5 Mastitidy vyvolané kvasinkami .....	25
2.5.6 Mastitidy vyvolané řasami .....	25
2.5.7 Prevence výskytu mastitid .....	26
2.5.1 Technologie ustájení.....	26
2.5.2 Technologie dojení .....	28
2.5.2.1 Technické parametry dojícího zařízení .....	28
2.5.2.2 Hygiena dojení.....	29
2.5.3 Technologie výživy .....	29
2.5.4 Rozdoj a zaprahování .....	30
2.6 Diagnostika mastitid.....	32

2.7 Léčba mastitid.....	35
2.7.1 Léčba antibiotickými preparáty.....	36
2.7.2 Pomocná léčba.....	38
2.7.2.1 Antibiotická rezistence mikrobiálních původců.....	39
2.7.3 Vakcinace proti mastitidám .....	39
2.8 Šlechtění dojnic na odolnost proti mastitidám.....	40
2.9 Ekonomické ztráty výroby mléka z důvodu mastitid.....	41
3 Cíl práce .....	44
4 Materiál a metodika .....	44
4.1 Charakteristika farmy .....	44
4.2 Metodika.....	45
4.2.1 Odběr vzorků.....	46
4.2.2 Léčba a použitá antibiotika .....	46
4.2.3 Zpracování výsledků.....	47
5 Výsledky a diskuze .....	48
5.1 Přehled počtu somatických buněk v mléce za sledované období .....	48
5.1.1 Průměrný obsah SB v bazénových vzorcích za rok 2018.....	49
5.2 Výskyt počtu dojnic se zvýšenými hodnotami PSB v závislosti na pořadí laktace .....	50
5.3 Výskyt počtu dojnic se zvýšeným PSB v závislosti na fázi laktace .....	51
5.4 Výskyt druhů původců způsobujících zánět mléčné žlázy ve vybraném podniku.....	53
5.5 Účinek antibiotické léčby u zánětů mléčné žlázy způsobené bakteriálními původci.....	55
5.6 Vliv stupně infekce na úspěšnost léčby.....	57
6 Závěr .....	59
7 Seznam použité literatury.....	62

## 1 Úvod

Onemocnění mléčné žlázy patří k produkčním chorobám, které se objevují v chovech dojeného skotu po celém světě a mají kromě velkých ekonomických ztrát dopad i na welfare zvířat a bezpečnost mléka jako potraviny. Příčinou vzniku onemocnění mléčné žlázy bývá chyba v managementu chovu dojnic. Mezi ně patří: přeplněnost stáje, nevhodně zařízený vnitřek stáje, zhoršené mikroklima, výskyt dojnic se subklinickými nebo latentními formami mastitid, zhoršená hygiena dojení, nepoužívání pre a post dippingu, nevyvážená a nekvalitní krmná dávka apod. Na vzniku tohoto onemocnění se podílí vnější i vnitřní faktory a celá řada infekčních agens.

Největší frekvence výskytu onemocnění mléčné žlázy bývá v peripartálním období a v období zaprahování, kdy musí být řádně zajištěna prevence vzniku nové infekce. V období před porodem a po porodu dochází k významným hormonálním změnám, které mohou zapříčinit vznik metabolických poruch s negativním dopadem na zdraví mléčné žlázy.

Ke zjištění původců infekce mléčné žlázy je velmi vhodné využít faremní kultivace i pravidelného mikrobiologického vyšetření mléka v laboratořích. Použitím faremní kultivace a včasného podchycení infekce je možné použít antibiotika cíleně na daného původce, čímž se zvyšuje pravděpodobnost úspěšnosti léčby a rychlejší reparaci parenchymu mléčné žlázy.

Udržení zdraví dojnic vede k eliminaci vzniku mastitid i dalších onemocnění, čímž snižuje aplikaci antibiotik a možnost případného vzniku rezistence mikrobiálních původců na antibiotik

## 2 Literární přehled

### 2.1 Morfologie a fyziologie mléčné žlázy

Mléčná žláza je svým fylogenetickým původem žlázou kožní, která se zakládá v raném embryonálním období u samičího i samčího pohlaví. Plně se však vyvíjí jen u pohlaví samičího (SKLÁDANKA, 2014). U skotu se nachází v krajině stydké. (REECE, 2010). V rovině mediální je mléčná žláza rozdělena na dvě poloviny vemennou brázdou. Tyto poloviny jsou dále rozděleny příčnými brázdami na čtvrtky. Každá čtvrt' mléčné žlázy je zakončena strukem.(MARVAN a kol., 2011).

Nejdůležitější součástí žláznatého tělesa je žláznový parenchym. Ten se nachází v každé čtvrtce vemene a je složen z velkého množství drobných lalůček neboli lobulů, které jsou spojeny intersticiálním vazivem (MARVAN a kol., 2011). Základní jednotkou lalůčku je sekreční alveolus (BOUŠKA, 2006). Sekreční alveoly, ve kterých se tvoří specifický sekret, mléko, jsou pomocí sekrečních tubulů spojeny do nitrolalůčkového vývodu, který ústí ve vývodu mezilalůčkovém (MARVAN a kol., 2011). Z vnější strany jsou alveoly a tubuly obklopeny sítí plochých buněk hvězdicovitého tvaru. Tyto buňky svými kontrakcemi smršťují mléčné alveoly a tubuly (ČERVENÝ, 2007). Tímto napomáhají vytlačení sekretu do vývodných cest (MARVAN a kol., 2011). Mezilalůčkové vývody přechází postupným sléváním do mlékojemu (REECE, 1998). V této dutině o objemu 0,5 – 2l se mléko shromažďuje (MARVAN a kol., 2011). Schopnost shromažďovat mléko významně rozhoduje o vhodných intervalech mezi dojeními, aby nedošlo ke snížení intenzity sekrece mléka. (JELÍNEK a kol., 2003).

Každá čtvrt je zakončena strukem uzavřeným pomocí svěrače skládajícího se z hladkosvalových, podélně a spirálovitě uspořádaných snopců (MARVAN a kol., 2011). Tím je zabráněno výtoku mléka. Tlak při dojení nebo sání způsobuje vnější roztažení struku, čímž se zvednou překrývající se záhyby sliznice, které tvoří tzv Fürstenbergovu rozetu, která napomáhá udržet mléko ve vemeni, a mléko tak může vytéct strukovým kanálkem z mlékojemu. (REECE, 1998).

K plnému dokončení vývoje mléčné žlázy dochází v období gravidity. (JELÍNEK a kol., 2003).

Přeměna látek na prekurzory mléka se v největší míře probíhá v játrech, ze živin, které jsou dopravovány krví z trávicího ústrojí do mléčné žlázy. Na tvorbu 1 l litru mléka musí vemenem protéci až 500 l krve (JELÍNEK a kol., 2003). Mechanické dráždění mléčné žlázy sáním mláděte nebo dojením, dochází ke spuštění ejekčního reflexu, který vede k uvolnění hormonu oxytocinu z neurohypofýzy prostřednictvím hypothalamu. Tento se pomocí krve, dopravuje k myoepiteliálním buňkám, které obklopují alveoly a vývody v mléčné žláze a způsobují jejich smrštění a zvýšení nitrovenenného tlaku (REECE, 1998). Hormon oxytocin začne účinkovat přibližně po 1 minutě od stimulace vemene (BOUŠKA, 2006). Tento proces, po prvotním kontaktu, končí přibližně po 10 – 15 minutách. (REECE, 1998). Sekrece mléka může být negativně ovlivněna stresovými faktory, např. bolest, hluk strach atd. (JELÍNEK a kol., 2003).

## 2.2 Laktace

Produkce mléka přirozeně nastává po narození mláděte. Laktace trvá podobu kojení mláděte a končí zaprahnutím, kdy je ukončena sekreční schopnost vemene. Laktace byla dříve krátká, protože mléko bylo výhradně určeno jen pro mládě. Postupnou zootechnickou a šlechtitelskou prací se doba laktace a množství mléka zvýšila nad míru, které by mohlo mládě přirozeně přijmout. Tím lze mléko využít jako potravinu pro člověka (SKLÁDANKA, 2014). Laktační období trvá zpravidla 300 – 310 dnů (HOFÍREK a kol, 2009).

### 2.2.1 Mlezivo

Kolostrum je produkováno mléčnou žlázou už od 5. týdne před otelením (MAŇÁSEK, 2016). Sekrece mleziva nastává bezprostředně po porodu, nebo krátce před porodem (HOFÍREK a kol., 2009). Má hořkoslanou chuť, nažloutlou barvu. Na rozdíl od mléka má vyšší obsah bílkovin a minerálních látek. Rozdíly v tomto složení se postupně zmenšují během 4 – 6 dne po porodu (SYRŮČEK a kol., 2015)

## 2.2.2 Mléko

Mléko je jediným zdrojem potravy novorozeného mláděte a velmi hodnotnou potravinou pro člověka. Mezi základní složky mléka patří tuk, bílkoviny, laktóza, minerální látky a voda (JELÍNEK a kol., 2003).

## 2.3 Kvalita mléka

Pod tímto pojmem rozumíme nejen obsah základních složek ale i jiné charakteristiky. Mezi ně patří především hygienické a mikrobiologické parametry, fyzikální a technologické vlastnosti, smyslové vlastnosti a výživová hodnota. Tyto charakteristiky jakosti mléka rozhodují o jeho výsledné kvalitě a neméně i kvalitě mléčných výrobků (SAMKOVÁ, 2012). Z pohledu evropské legislativy patří mezi nejdůležitější znaky celkový počet mikroorganismů (CPM), počet somatických buněk (SB) a rezidua inhibičních látek (RIL),(SKLÁDANKA, 2014). K dalším ukazatelům jakosti mléka patří bod mrznutí, obsah bílkovin, tuku, tukuprosté sušiny a kyselost (SAMKOVÁ, 2012)

### 2.3.1 Celkový počet mikroorganismů (CPM)

Pro posouzení hygieny nadojeného mléka je používáno stanovení CPM (SAMKOVÁ, 2012). Celkový počet mikroorganismů v mléce nesmí překročit 100 000 v 1ml (SKLÁDANKA, 2014). Množství mikroorganismů, které se v mléce vyskytují, vypovídá o úrovni hygieny z prvovýroby. Dodržováním zásad hygienických návyků v celé technologii dojení lze v určité míře množení mikroorganismů zabránit. Mikrobiální kontaminace nemusí být přímo patogenní pro člověka, ale může způsobovat technologické problémy při výrobě mléčných výrobků (SAMKOVÁ, 2012). Mléko, které je přítomné v parenchymu mléčné žlázy zdravých dojnic, je prakticky sterilní. Výskyt mikroorganismů v mléce může být zapříčiněno infekcí primární nebo sekundární. Primární infekci způsobují mikroorganismy vyskytující se v mléčné žláze. Sekundární infekci je mléko vystaveno po nadojení. Způsobují jej mikroorganismy z vnějšího prostředí. Sekundární infekce se vyskytuje mnohem častěji než infekce primární (SIMEONOVÁ a kol., 2003).

Prostředí, ve kterém jsou dojnice chovány, výrazně ovlivňuje počet mikroorganismů na strucích a v mléce (MCKINNON a kol., 1990). Pro stanovení

celkového počtu mikroorganismů se využívá bazénových vzorků mléka (RYŠÁNEK, 2007). Dle uskutečněné studie u mléka snížené jakosti, zjistil, že u 64% vzorků dominovaly mikroorganismy spojené s hygienou. U 28% vzorků byla zjištěna mikroflóra, která je rovněž spojena se špatnou úrovní hygieny a navíc spojená s růstem mikroorganismů při nízkých teplotách (psychrotrofní bakterie). U 8% vzorku pak převažovaly mikroorganismy spojené s mastitidou (HOLM a kol., 2004).

### 2.3.2 Počet somatických buněk (PSB)

Klíčovou hodnotou hygienické kvality mléka je počet somatických buněk, které odráží nejen zdravotní stav mléčné žlázy ale celkový zdravotní stav dojnice. S nárůstem PSB vzrůstá pravděpodobnost výskytu nefyziologických složek mléka, mastitidních patogenů a toxinů. Z tohoto důvodu je PSB základním kritériem pro mezinárodní i národní kvality mléka, výskytu mastitid a zdravotního stavu mléčné žlázy dojnic (SAMKOVÁ, 2012). V mléce je počet somatických buněk přirozený a to ve dvou základních typech. Do první skupiny patří buňky epiteliální, ty zahrnují odloučené buňky tkání a výstelky mléčné žlázy. Tyto přirozeně se odlučující buňky představují první ochranou linii při projevu infekce. Druhá skupina zahrnuje různé typy bílých krvinek (leukocytů). Tato se do mléka dostávají z krve. Leukocyty se podílejí na likvidaci patogenů, napadených a postižených buněk a na produkci specifických protilátek regulující imunitní reakce organismu. Zastoupení jednotlivých somatických buněk se liší mezidruhově, hlavně však v souvislosti se zdravým jedince (Pavlata, 2017).

#### 2.3.2.1 Somatické buňky a zdraví mléčné žlázy

Počet somatických buněk v mléce by neměl překročit 400 000 v 1ml mléka. (SKLÁDANKA, 2014). Chovatelským cílem farem s tržní produkcí mléka je snižovat PSB ve vzorcích mléka a to do 100 000 v 1 ml mléka, prostého patogenních organismů, způsobujících mastitidy (BRADLEY a GREEN, 2005). Limit počtu somatických buněk (400 000 v 1 ml mléka) není známkou toho, že je mléčná žláza zdravá. Somatické buňky u zdravých krav by neměly překročit 200 tis./ml, u prvotek pak do 100 tis./ml. (JEŽKOVÁ, 2017), nejlépe však od 20 tis./ml do 50 tis./ml (Velechovská, 2014). Obecně se za zdravou mléčnou žlázu považuje ta, kdy je v jedné čtvrtce max. 100 tis./ml SB (VYLETĚLOVÁ, 2012) SHELDREAKE a kol., stanovili

PSB v neinfikované žláze od 83 tis./ml (od 35. otelení) do 160 tis./ml (285. den). Pokud jsou tyto hodnoty vyšší, mohou signalizovat infekci mléčné žlázy. Jako hranici pro selekci v případě léčení krav na mastitidu, určili ANDREWS a kol (1983) A DOHOO a kol. (1981), hranici PSB do 228 000 SB ml<sup>-1</sup>.

Relativně vyšší hodnoty PSB u krav do 40 dne po otelení, mohou být důvodem doznívajícího stresového vlivu po otelení, adaptaci na nové prostředí a režimu dojení. Pokud je dojnice zdravá, dochází pak k postupnému poklesu. Ke konci laktace (od 201. dne) se pak PSB navyšuje. Reálným důvodem však není ukončující se laktace ale počet onemocnění mléčné žlázy, které dojnice prodělala, Dalším důvodem je pak vliv prostředí a managementu stáda (MAŇÁSEK, 2016).

Existuje mnoho faktorů ovlivňující individuální hodnotu PSB. Při vyšší hodnotě PSB zaviněné bakteriální infekcí může jít o rozsáhlý nález a navazující subklinické či klinické mastitidy, ale i o momentální kontaminaci. Pokud jsou situace vyvolávající zvýšení PSB krátkodobé, převážně rychle vymizí. Při dlouhodobé infekci mléčné žlázy je ovlivněna imunita jedince, který je tak náchylnější k dalším onemocněním. Neméně důležité je i odebrání vzorků, jejich skladování, systém a technika měření (SAMKOVÁ, 2012)

Tabulka 1: Zařazování dojnic do stupňů lineárního skóre podle PSB v mléce

Lineární skóre	Rozmezí počtu SB (tis./ml)	Střední hodnota	Ztráty mléka	
			Za den	Za laktaci
0	0-17	12,5		
1	18-34	25	-	-
2	35-70	50	-	-
3	71-140	100	0,75	200
4	141-282	200	1,5	400
5	283-565	400	2,25	600
6	566-1130	800	3	800
7	1131-2262	1600	3,75	1000
8	2263-4525	3200	4,5	1200
9	4526-9999	6400	>5	>1400



### 2.3.3 Rezidua inhibičních látek

Mezi inhibiční látky, které lze v mléce zjistit patří kontaminanty a přirozeně se vyskytující inhibiční látky. Tyto tělu přirozené látky se nad obvyklé hladiny zvyšují při zánětu mléčné žlázy, při pasteraci však dojde k jejich zničení. Mnohem větším rizikem pro chovatele je výskyt kontaminujících látek v mléce, které se do mléka dostávají z vnějšího prostředí. Jsou to látky cizorodé a mezi nejvýznamnější skupinu patří veterinární léčiva. Dále pak sanitační prostředky, konzervační látky, mykotoxiny aj. (SAMKOVÁ, 2010)

Veterinární antimikrobiální léčiva jsou u dojnic využívány převážně v léčbě mastitid. Jejich využití ale najdeme i u léčení dalších onemocnění jako jsou metritidy, onemocnění paznehtů či respirační potíže. Pokud dojde ke kontaminaci mléka rezidui inhibičních látek, je nejpravděpodobnějším zdrojem intramamární léčivo (NAVRÁTILOVÁ, 2008). Antibiotika aplikovaná do jedné čtvrtě jsou resorbována do krve a krví následně do neléčených čtvrtí (HOLEC, 1994). Příčinou pozitivního nálezu reziduí inhibičních látek (RIL) v mléce může být nedodržení ochranné lhůty ATB, záměna ATB, nedostatečné označení léčených krav, nebo krátké stání na sucho, při použití zaprahovacích intramamárních injekcí obsahující antibiotika (SEYDLOVÁ, 1998).

### 2.4 Onemocnění mléčné žlázy

Mastitida je zánětlivé onemocnění mléčné žlázy, které je charakterizováno fyzikálními, chemickými a mikrobiologickými změnami mléka. Při této změně nastává i vzestup somatických buněk a patologická změna v tkáni mléčné žlázy (KOVÁČ, 2001).

Se stoupající produkcí mléka narůstá význam udržení zdraví dojnic. Na onemocnění mléčné žlázy se dle statistiky nejvíce podílejí mastitidy, proto je vhodné věnovat jim zvýšenou pozornost. Při zajištění zdraví mléčné žlázy by mělo být přistupováno komplexně a to s ohledem na další poruchy zdravotního stavu dojnice, jež se vzájemně ovlivňují (HOFÍREK a kol., 2004). Mastitidy patří celosvětově mezi nejzávažnější a po stránce ekonomické k nejnáročnějším vyskytujícím se onemocněním v moderních chovech dojnic (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). Toto

onemocnění významně ovlivňuje kvalitu a produkci mléka a způsobuje předčasné vyřazování dojnic z chovu (HOFÍREK a kol., 2009).

Onemocnění mléčné žlázy je ovlivněné makroorganismem, myšleno daným jedincem, mikrobiálními původci a zevním prostředím. Patří tedy mezi polyfaktorové a polyetiologické onemocnění (HOFÍREK a kol., 2009).

### **Rozdělení forem zánětů mléčné žlázy**

Zdravá mléčná žláza nevykazuje žádné klinické změny na vemeni a změny v mléce. V mléku nejsou zjištěny žádné patogeny a počet somatických buněk je nižší jak 100 000 v 1ml (HOFÍREK a kol., 2009).

Dle výsledků z klinického, cytologického a bakteriologického vyšetření dělíme mastitidy u dojnic na:

#### 1) Klinické mastitidy:

- Akutní: projevuje se změnami na mléčné žláze, její bolestivostí a otokem. Změny mléka jsou patrné už při makroskopickém vyšetření a část je provázána celkovým zhoršením zdravotního stavu dojnice (KOVÁČ, 2001). Akutní mastitidy lze dále rozdělit na:
  - Katarální (mírná forma): u této formy lze zjistit změny v mléce v podobě vloček. Celkový stav dojnice je nenarušený.
  - Střední forma: krom změny na mléce, lze shledat zhoršení stavu dojnice.
  - Parenchymatózní: v mléce jsou velmi patrné příznaky zánětu. Sekrece mléka může být zastavena a celkový zdravotní stav dojnice je provázen výrazným narušením zdraví dojnice, vysoká teplota, nechutenství apod. (VĚŘÍŠ, 2017)
- Subakutní: v mléce jsou viditelné vločky, fyzikálně – chemické vlastnosti mléka jsou změněné, přítomnost organismů střídavá, ale nejsou patrné vnější změny na mléčné žláze
- Chronické: je to výsledný proces, který vychází z akutní formy mastitidy. Parenchym mléčné žlázy je nahrazován pojivovou tkání a lze vydojit jen malé množství sekretu. Dochází k nim po špatně

lěčených nebo nelěčených mastitidách. Postižená čtvrt často atrofuje (OPLETAL, 2017).

- 2) Subklinické: v mléce je patrný výskyt patogenních mikroorganismů, zvýšený počet SB a změny ve fyzikálních a chemických vlastnostech mléka. Změny na mléčné žláze nejsou patrné (KOVÁČ, 2001).
- 3) Latentní: žádná změna ve smyslových vlastnostech mléka, počet somatických buněk je v normě a na mléčné žláze nejsou patrné žádné změny. Kultivací se prokážou patogenní mikroorganismy (HASOŇOVÁ, 2012).
- 4) Nespecifické: stav, kdy zjišťujeme na mléčné žláze projevy infekce subklinické nebo klinické formy mastitidy (KOVÁČ, 2001) ale toto dráždění je způsobeno jiným vlivem. Častý je nárůst počtu somatických buněk. Příčinou bývá chyba ve výživě (až ze 70%), stres dojníc, metabolické poruchy, onemocnění paznehtů, nesprávné dojící zařízení. Při oslabení dojnice se nespecifická mastitida může změnit na mastitidu klinickou (VYLETĚLOVÁ, 2012).

Latentní a subklinické mastitidy patří mezi vysoce infekční formy zvyšující riziko šíření infekce ve stádě.

Dále lze mastitidy dělit dle epizootologického hlediska na:

- 1) Infekční (kontagiózní): infekce se přenáší z dojnice na dojnici
  - *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* (SMOLA, 2006)

Infekční mastitidy vznikají v důsledku špatné hygienické úrovně v průběhu dojení. Přenos patogenů je zapříčiněn kontaminovaným dojícím zařízením, prostředky na očistu struků nebo rukama dojičů. Výsledkem jsou často chronické a dlouhotrvající subklinické mastitidy, které i po vyléčení antibiotiky zanechávají vysoký počet buněčných elementů v mléce (BOUŠKA, 2006).

- 2) Neinfekční: viz. nespecifické. Vyskytují se vzácně (KOVÁČ, 2001).
- 3) Environmentální: infekci vyvolávají mikroorganismy vyskytující se v prostředí chovu dojníc (HOFÍREK a kol., 2009). Přibližně z 90% jsou záněty vyvolané právě environmentálními původci (KALIŇSKA a kol., 2017). Jsou jimi:
  - *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Yersinia*

Zdrojem těchto patogenů jsou lehací prostory pro dojnice, výkaly a bezprostřední okolí, ve kterém se dojnice nacházejí (BOUŠKA, 2006). Důležitým opatřením proti těmto patogenům je udržování čistého prostoru ustájení, častá výměna podestýlky, omezení vlhkosti ve stáji či snížení možnosti poranění struků nebo vemene (ZDANOWICZ a kol., 2004).

Dále lze mastitidy hodnotit dle lokalizace:

- 1) zánět struku (*thelitis*)
- 2) zánět mlékojemu a mlékovodů (*Galactophoritis*)
- 3) zánět sekrečního parenchymu mléčné žlázy (*Mastitis parenchymatosa*) (HOFÍREK a kol., 2009).

Tabulka 2: Rozdělení mastitid podle klinického, cytologického a bakteriologického vyšetření

	Klinické příznaky namléčné žláze	Smyslové zěmny mléka	Počet SB > 100tis./ml	Kultivační průkaz patogenů v mléce
Zdravá mléčná žláza	–	–	–	–
Klinická mastitida				
Katarální	+ mírné	+ mléko s vločkami	+	+ většinou G+
Parenchymatózní	+ výrazné	+ sekret mléku nepodobný (zástava laktace)	+	+ Většinou G-
Neklinické formy mastitid				
Subklinická mastitida	–	–	+	+ většinou G-
Latentní infekce	–	–	–	Většinou G+
Nespecifická mastitida	–	–	+	–

## 2.4.2 Patogeneze a imunitní odpověď mléčné žlázy

Patogenita je, schopnost mikroorganismů vyvolat u hostitele konkrétní onemocnění. Pro kvantitativní vyjádření patogenity mikroorganismu se používá termín virulence. Některé kmeny, které jsou vysoce virulentní, dokáží hostitele usmrtit, čímž ztrácí možnost dalšího šíření. Méně virulentní kmeny mikroorganismů v populaci hostitele přežívá a může se tak šířit dál (OPLETAL, 2017). Původci mastitid pronikají do mléčné žlázy převážně pomocí strukového kanálku, tzv galaktogenní cestou. Vzácněji pak dochází k infekci hematogenně, např. z poranění na vemeni, a lymfogenně. U environmentálních původců mastitid může dojít k infekci kdykoliv při pohybu dojnice ve stáji, např. lože, chodba atd. U původců kontagiózních dochází k infekce v době dojení (HOFÍREK a kol., 2004).

Prvotní ochranou proti patogenům je uzávěr strukového kanálku. Dilatace strukového kanálku trvá po dobu 1 až 2 hodin po dojení. Uzavírání kruhového svěrače začíná po 30 minutách po podojení. Pokud je strukový kanál poškozený, může zůstat částečně otevřený a patogeny z prostředí či na špičce struku mohou proniknout do strukového kanálku (WATTIAUX a kol., bez data). Protože je ale strukový kanálek prvním místem průniku patogenů, je jeho zevní část kolonizována mikrobiálním spektrem, které na špičce struku svojí metabolickou aktivitou znesnadňuje přilnavost patogenním agens (KREJČÍ a kol., 2011). Další obranou, která se vyskytuje ve struku, je laktosebum. Jedná se o kožní maz, který vytváří v kanálku mazovou žlázu. Tato je ale po dojení vyplavována. Důležitá je proto rychlost jejího obnovení (ILLEK, 2011).

Odtok mléka prováděný v pravidelných intervalech dojením má významný obranný účinek při galaktogenním způsobu infekce. Při řádném vydojování se patogenní agens vyplaví a ty, které adherovaly ke sliznici jsou snadno fagocytovány. Jeden z významných způsobů je i bariéra krev – mléko, která brání pronikání patogenů a jejich toxinů. (HOFÍREK a kol., 2009). Poslední neméně významnou obranou mléčné žlázy jsou buňky vlastního imunitního systému.

Pokud nejsou patogenní agens zlikvidovány pomocí těchto obranných mechanismů, pokračují v množení a napadání menších kanálků a alveol. Buňky, které jsou poškozeny toxiny, vedou ke zvýšení propustnosti krevních cév. V této fázi probíhá obrana pomocí imunitního systému, kdy se leukocyty přesunují k místu infekce. V případě kdy infekce přetrvává a kanálky zůstávají ucpané, zachycené mléko

způsobuje, že se sekreční buňky vrací do neproduktivního stavu a látky uvolňované leukocyty vedou k plné destrukci alveolárních struktur, které jsou nahrazeny vazivovými a zjizvovatělymi tkáněmi. Zničení této tkáně je vlastně poslední možnou obranou, která dokáže dostat infekci pod kontrolu (WATTIAUX a kol., bez data).

V přirozených podmínkách dochází k infekci mléčné žlázy jen výjimečně. Případné patogenní agens se zastaví v obranném mechanismu strukového kanálku. Pokud dojde k infekci je zlikvidována výkonným mechanismem. Pokud je tento mechanismus narušen (nefyziologická zátěž) dochází k častějšímu proniknutí infekce do mléčné žlázy. V takovýchto případech jsou indikovány opakované infekce, které způsobují chronické změny či trvalé poškození sekrečního parenchymu (OPLETAL, 2017). Základem aktivní ochrany mléčné žlázy proti infekci je její zánět. V této souvislosti je nutno připomenout, že zánět je jedním nejvýznamnějších, fylogeneticky nejstarších obranných mechanismů. Pokud probíhá rychle a účinně, většinou nevyvolává klinicky patrné změny. Teprve v případech, kdy se nepodaří noxu rychle odstranit, rozsah změn vyvolaných zánětem se stává klinicky zřetelným a může se sám stát příčinou tkáňového poškození. Odolnost mléčné žlázy je nejvíce omezena ve dvou funkčních obdobích: v období aktivní involuce mléčné žlázy a v postpartálním období (ILLEK, 2011)

## 2.5 Nejvýznamnější původci mastitid

Zánět mléčné žlázy způsobuje mnoho mikrobiálních původců. Každý z nich je vyznačován různými projevy infekce (HOFÍREK a kol., 2009)

### 2.5.1 Streptokokové mastitidy

Streptokokové infekce řadíme mezi hlavní původce mastitid a patří k nejčastěji se vyskytujícím infekčním mastitidám v našich i celosvětových poměrech (OPLETAL, 2017).

#### 2.5.1.1 *Streptococcus agalactiae*

Patří mezi kontagiózní původce zánětů mléčné žlázy a způsobuje převážně subklinické mastitidy (KOVÁČ, 2001). Je nejčastěji prokazovaným původcem

infekčních mastitid (Margarita a kol., 2017) Ve vnějším prostředí přežívá tento patogen i několik týdnů (HOFÍREK a kol., 2009) a to i na těle dojnice či v sekretu postižených žláz (RYŠÁNEK, 2010) ale nerozmnožuje se. Zdrojem infekce je tedy infikovaná mléčná žláza dojnice a mléko postižených krav, povrch vemene, člověk a jiná zvířata (HOFÍREK a kol., 2009).

*S. agalactiae* infikuje mléčnou cisternu a kanály mléčné žlázy, které způsobují podráždění a otok vemene (CARRILLO-CASAS a kol., 2012) ale nenarušují celkový zdravotní stav dojnice (HOFÍREK a kol., 2009). Nástup klinických příznaků bývá zpravidla během půl dne až dvou dnů. Léčba při středním stupni zahrnuje vydojování, použití masti a cílené intramamární aplikaci ATB. Při těžkém stupni je použita i systémová antimikrobiální terapie (HOFÍREK a kol., 2004) *S. Agalactiae* nezasahuje horní části mléčné žlázy a léčení bývá zpravidla jednoduché (VĚŘÍŠ, 2017) Pokud je zaznamenáno promoření stáda více jak 20% je vhodné přeléčit všechny infikované dojnice (KOVÁČ, 2001). *Streptococcus agalactiae* může být eradikován ze stáda vhodnou léčbou v kombinaci s dobrými postupy dojení. Po zařazení nového zvířete (např. z jiné stáje) se však může ve stádě znovu snadno šířit (WATTIAUX a kol., bez data). V prvním odstříku mléka mohou být znatelné vločky. Při použití NK testu je zjištěna pozitivní reakce ale nelze specificky stanovit, zda jde o mastitidu (KOVÁČ, 2001). Přesnou diagnózu lze zjistit stájovou kultivací pomocí PM testu (VĚŘÍŠ, 2017) nebo laboratorním mikrobiologickým vyšetřením (KOVÁČ, 2001).

#### 2.5.1.2 *Streptococcus disgalactiae*

Onemocnění vyvolané tímto patogenem je méně časté, než výše zmíněné. Jeho prevalence nepřesahuje 5%. Zdrojem infekce je převážně mléko dojnic, proto k přenosu dochází hlavně na dojárnách. Po zavlečení do stáda se šíří hlavně v důsledku hrubých hygienických chyb (KOVÁČ, 2001). Ve vnějším prostředí přežívá na kůži mléčné žlázy, na sliznici pochvy, v kontaminované děloze či plodových obalech při zmetání (HOFÍREK a kol., 2009). *S. disgalactiae* může být přítomen i na mandlích zvířete a při olizování se šíří mezi ostatní dojnice. (SCOTT, a kol., 2011). Bakterie kolonizuje mléčnou žlázu pozvolna, a to v řádu dnů až týdnů. V této době může dojít k samo vyléčení nebo k přechodu do subklinické mastitidy (VĚŘÍŠ, 2017). Klinická forma se zpravidla vyskytuje, pokud je mléčná žláza současně napadena mykoplazmaty (HOFÍREK a kol., 2009). V případě infekce *S. dysgalactiae* se

v prvních odstřicích mohou vyskytovat vločky a reakce na NK test je pozitivní. Při klinické formě je zaznamenána změna sekretu a opuchlost postižené čtvrti (KOVÁČ, 2001). Nenapadá horní partie mléčné žlázy a nepřechází do parenchymu, proto lze použít intramamární preparáty s ATB. Pro vyšší úspěšnost léčby je vhodné provést stanovení na citlivost (VĚŘÍŠ, 2017).

#### 2.5.1.3 *Streptococcus uberis*

V současné době jde o nejčastějšího původce mastitid v ČR (VĚŘÍŠ, 2017). Je považován za nejčastějšího původce environmentálních patogenů. Primárně se vyskytuje v obsahu bachoru, střev a konečníku (SMOLA a kol., 2003). Dlouhodobě přežívá ve stájovém prostředí (OPLETAL, 2017), a úspěšně se zde i pomnožuje (VĚŘÍŠ, 2017). Proto *S. uberis* často napadá mléčnou žlázu dojnic po otelení (KUBEKOVÁ, 2007) nebo u krav stojících na sucho (HOFÍREK a kol., 2009). Do mléčné žlázy se dostává nejčastěji přes nefunkční svěrač, a to právě v nejranější fázi laktace. Často se také objevuje jako sekundární infekce po napadení gramnegativními bakteriemi, převážně *E. coli*. Rozvoj infekce je pomalý, až několik týdnů (VĚŘÍŠ, 2017). Většinou probíhá v subklinické formě (HOFÍREK a kol., 2009) ale může dojít k rozvoji klinické formy, nebo častěji přejde do chronického stádia, kdy postupně poškozují parenchym mléčné žlázy. Na mléku jsou změny nepatrné (na dně černého hrnku nepatrné krupičky) ani nedochází ke zvýšení konduktivity mléka, proto je jeho záchyt málo patrný, pokud není zaveden zvláštní depistážní systém. Další typickou vlastností *S. uberis* je schopnost postupně napadat jednotlivé čtvrtě mléčné žlázy. V alveolech a tubulech vytváří shluky bakterií, které se obalují bílkoviny a vytvářejí tak vločky. Přes tuto bariéru antibiotika pronikají jen pozvolna a v omezené míře. Vyskytuje se ve dvou formách a každá se liší agresivitou i citlivostí na antibiotika (VĚŘÍŠ, 2017).

#### 2.5.2 Stafylokokové mastitidy

Z hlediska četnosti výskytu v mléčné žláze jsou infekce způsobené Stafylokoky na druhém místě (OPLETAL, 2017). Vyznačují se dobrou odolností ve vnějším prostředí. V zaschlém hnisavém sekretu zůstávají životaschopné i několik měsíců a často se stávají rezistentními vůči antimikrobiálním látkám (HOFÍREK a kol., 2009).



V našich podmínkách se nejčastěji vyskytují *S. aureus*, patřící mezi koaguláza pozitivní stafylokoky (KPS) a *S. xylosus*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. epidermis* a *S. chromogenes* patřící mezi koaguláza negativní stafylokoky (KNS). Na stájovém kultivačním testu rostou v odstínech žluté, šedé, zelené barvy. Do mléčné cisterny pronikají špatně uzavřeným strukovým svěračem. Pokud se pomnoží, a převládne jeden druh, dojde k odpovědi imunitního systému a dojde ke zvýšení PSB. Nejčastěji převládá *S. chromogenes*. Záněty mají spíše chronický nebo subklinický charakter. Pokud se vyskytne jako sekundární infekce, tak převládá klinický charakter. Napadají spodní partie mléčné žlázy, jsou tudíž snadno léčitelné inramamárními léčivy (VĚŘÍŠ, 2017)

#### 2.5.2.1 *Staphylococcus aureus*

Z rodu *Staphylococcus* v rámci mastitid patří mezi hlavní *S. Aureus*. V zevním prostředí je velmi rozšířený (HOFÍREK a kol., 2009) ale k přenosu dochází mezi zvířaty např. při dojení (JEŽKOVÁ, 2015). Vyskytuje se na kůži i sliznicích zvířat, bez toho aniž by vyvolal infekci (HOFÍREK a kol., 2009). Dalším typickým zdrojem infekce je zranění na strucích nebo v jejich blízkosti (ZDANOWICZ a kol., 2004). *S. aureus* způsobuje převážně subklinické nebo subakutní formy onemocnění. Při akutním projevu se zhoršuje celkový zdravotní stav dojnice. Projevuje se též opuchnutím vemene, jeho zarudnutím a bolestivostí. Sekret vykazuje abnormální změny (KOVÁČ, 2001). Chronické až akutní formy onemocnění mají, často negativní odezvu na léčbu. V nejzávažnějších případech infekce dochází k odumření tkání napadené čtvrtě mléčné žlázy (HOFÍREK a kol., 2003). Invazivitu tohoto patogenu podporují enzymy a toxiny, jím produkované, které napomáhají k proniknutí hlouběji do tkání. Tyto bakterie mají schopnost vytvářet biofilm, což je uskupení mikroorganismů vytvářejících sliz, který chrání buňky před působením antibiotických léčiv. Vytvářejí tzv kapsy, které se mohou později rozlomit a rozšířit do dalších částí mléčné žlázy (WATTIAUX, bez data). To má za následek dlouhotrvající infekce, které mohou přetrvat po celou dobu laktace a objevit se i v laktaci následující (ZDANIWICZ a kol., 2004). Je odolný vůči běžným dezinfekčním prostředkům na bázi chlóru a dokáže si vytvářet rezistenci vůči antibiotickým preparátům (OPLETAL, 2017). K šíření tohoto původce dochází i mezi farmami pomocí nepřímého přenosu materiálem popř. lidmi (JEŽKOVÁ, 2015).

### 2.5.3 Koliformní mastitidy

Infekce způsobené koliformními bakteriemi nemají kontagiózní charakter jako u výše zmíněných. Původce do mléčné žlázy proniká z vnějšího prostředí ale výskyt mastitidy je ojedinělý (KOVÁČ, 2001). Vysoká četnost infekcí, způsobená těmito bakteriemi, se objevuje v nevhodných zoohygienických podmínkách (HOFÍREK a kol., 2009). Nejčastějšími původci jsou *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae* či *Serratia marcescens* a *Enterobacter aerogenes* (SEYDLOVÁ, 2006). K infekci dochází při styku vemene s kontaminovanou částicí. Koliformní bakterie produkují toxiny, které jsou rychle vstřebávány do krve, a způsobují akutní klinickou mastitidu, projevující se zvýšenou teplotou, otokem a citlivostí vemene (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). Klinické příznaky se velmi často objevují v peripartálním období nebo v období prvních 100 dnů laktace. Vnímavé jsou hlavně dojnice stojící na sucho (HOFÍREK a kol., 2009)

#### 2.5.3.1 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* patří mezi hlavní zástupce koliformních bakterií způsobujících záněty mléčné žlázy (SMOLA kol., 2003). Nejčastěji způsobuje mastitidy do tří týdnů po otelení, protože se strukový svěrač déle uzavírá. Projevit se může i v průběhu laktace, z důvodu tepelného stresu při uléhání dojníc do mokřých hnojných chodeb nebo ze zaplísňeného krmiva, kdy T-2 toxin blokuje správnou funkci svěrače struku. V zimě může docházet k zastuzení struků (VĚŘÍŠ, 20117). *E. coli* se v mléčné žláze rychle rozmnožuje a proces infekce se tak rychle rozvíjí. Endotoxiny poškozují alveoly a krevní cévy čímž dochází k nekróze postižené čtvrti. Způsobuje převážně akutní formy, někdy perakutní formy onemocnění, které často končí náhlým úmrtím zvířete (HOFÍREK a kol., 2009). Při akutní formě mastitidy je z postižené čtvrti vydojována žlutá tekutina s hrudkami, v tomto stádiu bakteriálního původce již nezachytíme. Reparace tohoto stavu trvá týdny (VĚŘÍŠ, 2017).

#### 2.5.3.2 *Klebsiella pneumoniae*

Nalézají se převážně v půdě, vodě ale i na kůži vemene dojníc (HOFÍREK, 2009). Průběh infekce je podobný jako u bakterie *E. coli*. Produkce toxinů má však závažnější dopad. *Klebsiella* je nejčastější příčinou náhle smrti u krav po zaprahování (VĚŘÍŠ, 20117). Do mléčné žlázy bakterie pronikají poškozeným, neuzavřeným

strukovým kanálkem, hematogenně či z trávicího ústrojí. Klinicky toto onemocnění propuká převážně pod vlivem nepříznivých faktorů, které ovlivňují odolnost dojnice (HOFÍREK a kol., 2009).

#### 2.5.4. Pseudomonové mastitidy

*Pseudomonas aeruginosa* se vyskytuje v odpadních vodách, v půdě, v trusu zvířat i stolici lidí (ZDANIWICZ a kol., 2004) a na kůži i sliznici (HOFÍREK a kol., 2009). V našich podmínkách se vyskytují sporadicky (KOVÁČ, 2001). Pseudomonové infekce způsobují akutní, chronické a subakutní formy zánětu (HOFÍREK a kol., 2009). Postižené čtvrti vemene bývají opuchlé a teplé na dotek (KOVÁČ, 2001) a zvíře celkově projevuje příznaky ochromení s toxemií. Vydojený sekret bývá namodralý s příměsí krve (HOFÍREK, 2009). Antibiotika jsou při léčbě neúčinná a doporučuje se nucené zasušení postižené čtvrti (VĚŘÍŠ, 2017).

#### 2.5.5 Mastitidy vyvolané kvasinkami

Kvasinky pronikají do mléčné žlázy z vnějšího kontaminovaného prostředí, např. hnůj, podestýlka (SEYDLOVÁ, 2006) ale i ze závadné siláže (HOFÍREK a kol., 2009) nebo při dojení (SEYDLOVÁ, 2006). Charakteristický je mírný průběh onemocnění se spontánním uzdravením. Laktace ale výrazně klesá (KUBEKOVÁ, 2007). Výskyt klinických forem je minimální. Ke zvýšení dochází při nedodržení základních hygienických podmínek při dojení nebo při nadměrném používání antibiotik, které podporují růst kvasinek (VĚŘÍŠ, 2017) přičemž se nedbá na pravidla asepsy, oslabení dojnic karencí výživou nebo poruch látkové výměny (HOFÍREK a kol., 2009). Léčba proti kvasinkovým infekcím neexistuje (KOVÁČ, 2001).

#### 2.5.6 Mastitidy vyvolané řasami

Výskyt mastitid vyvolaných řasami je velmi sporadický. Nejčastějším původcem je *Prothoteca zopfii*. Rozšířené jsou zejména ve vodě a fekáliích v silně znečištěném prostředí (KOVÁČ, 2001). Vyvolá akutní nebo subakutní formy mastitidy. Mléčná žláza je náchylná zpravidla 2-3 týdny po odeznění jiného, zpravidla bakteriálního onemocnění. Řasy svými toxiny poškozují epitel mléčné žlázy a způsobují ucpání, čímž se podporuje další množení řas. Na rozdíl od bakterií není imunitní systém dostatečně provokován a jeho složky nemohou řasy eliminovat. Často

tak dochází k atrofii postižené čtvrtě. Onemocnění postupně postihuje všechny čtvrtě mléčné žlázy (HOFÍREK a kol., 2009). Léčba není známa a řeší se nuceným zasušením postižené čtvrtě nebo amputací struku (VĚŘÍŠ, 2017). Špatné environmentální podmínky, nevhodná hygiena dojení a prodloužená léčby antibiotiky mohou být důvodem zvýšeného výskytu těchto mastitid (KALIŇSKA, 2017).

## 2.5 Prevence výskytu mastitid

Na zvířata chovaných ve stájích působí komplikovaný systém vnějšího prostředí. Úkolem a zásadou chovatele je eliminovat velkou část těch faktorů, které mohu v určitých kombinacích ovlivňovat zdraví nebo potenciální užitkovost. Zamezení šíření původců mastitid v rámci chovaného stáda je hlavním cílem preventivního opatření, který s uplatňuje v chovech dojnic. Preventivní opatření mají zamezit nebo limitovat možné zdroje infekce a cesty přenosu patogenních agens (BOUŠKA, 2006). To znamená zabezpečit pro dojnice vysoký zoohygienický standart a chovné prostředí dle požadovaných norem (KOVÁČ, 2001). V patogenezi skotu má zásadní význam technologie ustájení a získávání mléka (HOFÍREK a kol., 2003). Cílem by pro každého chovatele mělo být snížení výskytu mastitid na úroveň nižší než 3% dojných krav za měsíc (SEYDLOVÁ, 2006).

### 2.5.1 Technologie ustájení

Technologie ustájení má největší vliv na výskyt environmentálních infekcí mléčné žlázy (HOFÍREK a kol., 2009). Parametry ustájení by měly vytvářet takové podmínky, aby zvířata mohla plně realizovat své produkční schopnosti. Převážně musí být respektovány prostorové požadavky, které dovolují zvířatům chovat se dle jejich přirozených potřeb (GÁLIK, 2015). V patogenezi mastitid se technologie ustájení uplatňuje jako potenciální činitel snižování přirozené odolnosti zvířat a to zejména stresovými vlivy, traumatizací mléčné žlázy a vlivem nevhodného klimatu ve stáji (HOFÍREK a kol., 2003).

Z hlediska vzniku šíření infekce ve stádě dojnic má největší význam stavební řešení loží, úprava a délka podlah, které by měli být hladké a rovné. Nesmí propouštět spodní vlhkost a být dlouhé tak aby nebyly znečišťovány výkaly (KOVÁČ, 2001). Většina loží ale nevyhovuje doporučením a bývají často úzké nebo krátké. Dojnice si

tak z nedostatku prostoru a pohodlí lehají mimo box, např. do hnojné chodby, přičemž dochází k znečištění vemene výkaly a zvýšení pravděpodobnosti průniku infekce do mléčné žlázy (DELVAL a kol., 2004). Kvalita podestýlky má značný vliv na vystavení struku patogenům způsobujících mastitidy. Nejvíce záleží na vlhkosti organické podestýlky, jako je sláma a piliny. Pokud, jsou tyto materiály vlhké, podporují růst bakterií (JEŽKOVÁ, 2017).

Při podestýlání slámou, pilinami nebo pískem, je nezbytné pravidelné přistýlání s přídavkem mletého vápence. Další možností jsou matrace, které vytváří snadno čistitelnou plochu nabízející určitou měkkost a flexibilitu. (NÁŠ CHOV, 9/2016). Matrace je nutné čistit a desinfikovat. Pro tento účel je využíván mletý vápenec, který snižuje vlhkost a výskyt bakterií (VEAUTHIER, 2011). Bez pravidelného udržování s přídavkem mletého vápence ale nikdy nesplňují významný požadavek na suchost lože (DOLEŽAL, 2016). Dnes je často jako podestýlka používán separát z kejdy. Ten za určitých podmínek může vysoce splňovat požadované parametry. Pak je ideální pro tzv. hluboké boxové lože, který je dojnicemi preferován před ostatními materiály (DOLEŽAL, 2017). Ustájení na hluboké podestýlce je pro dojnice nevhodné (HOFÍREK a kol., 2004). Čím větší je znečištění steliva, tím je stelivo vlhčí a teplota ustájovacích prostor vyšší a dochází k většímu pomnožení patogenních agens (BRZDIL, 2001).

Z hlediska ovlivnění zdravotního stavu dojníc a produkci mléka mají podstatný význam mikroklimatické podmínky stáje. Nevhodné vlivy jednotlivých faktorů mohou negativně zasáhnout do průběhu metabolických procesů (KOVÁČ, 2001). Vlivy mikroklimatu ve stáji sehrává významnou roli, neboť bylo prokázáno, že teplota vyšší jak 25°C, vysoká relativní vlhkost (nad 85%) a průvan jsou disponujícími faktory vzniku mastitid (HOFÍREK a kol., 2004). Tepelný stres výskytu mastitid ovlivňuje příjem krmiva a vody. Může docházet k poklesu užitkovosti a změně chování zvířat. Zvýšená teplota ve stáji způsobuje obecně zhoršení zdravotní stav dojníc a zvýšení možnosti propuknutí mastitidy (JEŽKOVÁ, 2017). V průběhu tepelného stresu je často pozorován výskyt mastitid a s tím související i vyšší počet SB, a to až o 37% (DOLEŽAL, 2017). Při teplotě 15°C by nemělo proudění vzduchu překročit 0,5 m.s<sup>-1</sup>. Při rychlejším proudění vzduchu nastává podchlazení vemen dojníc. Na druhé straně se rovnoměrným větráním předchází hromadění škodlivých plynů ve stáji (KOVÁČ, 2001).

## 2.5.2 Technologie dojení

Vliv dojírny na výskyt mastitid je jednoznačně prokázáný, a to nikoliv pouze jejími technickými a technologickými parametry, ale také údržbou, pracovními rutinami i mikroklimatem (JEŽKOVÁ, 2017). Dodržování zásad hygieny na dojírně je třeba považovat za realizaci preventivní medicíny, kdy dochází k minimalizaci počtu mikroorganismů v prostředí (SEYDLOVÁ, 2006). Kvalita prostředí na dojírně má rozhodující vliv jak na práci dojiče, tak i na chování dojnic (GÁLIK, 2017).

### 2.5.2.1 Technické parametry dojícího zařízení

Technické parametry jsou základem pro výběr a udržování dojícího zařízení. Odchytky v parametrech podmiňují vznik zdravotních problémů (JEŽKOVÁ, 2017). Nesprávné seřízení dojícího stroje má v dlouhodobém měřítku negativní vliv na zdraví mléčné žlázy (JELÍNEK a kol., 2003). Při uvádění dojících strojů je tedy zapotřebí zajistit stanovení minimální hladiny podtlaku (HOFÍREK a kol., 2009). Jeho průměrná hodnota by neměla klesnout pod 34kPa. Při vysokém podtlaku může dojít k traumatizaci struku. Na druhé straně při podtlaku nižším dochází ke spadávání dojící soustavy. Nejen podtlak ale i parametry pulzace mohou ovlivnit průběh dojení a stav mléčné žlázy. Správný pulzační poměr má pozitivní dopad na tok mléka a čas dojení. (GÁLIK, 2015).

Důležitá je i kontrola a pravidelná výměna strukových násadců. (GÁLIK, 2015). Výměna by měla být prováděna asi po 1200 až 1600 hodinách provozu (DOLEŽAL, 2017). Bylo však prokázáno, že nové návlečky zatěžují struk více než staré. Tento jev je pravděpodobně způsoben nižší elasticitou nové pryže. Z toho je zřejmé, že výměna strukových násadců může dočasně ovlivnit proces dojení (GÁLIK, 2015).

Z celého technologického systému dojení je zapotřebí vyloučit nebo co nejvíce omezit podněty navozující stresovou situaci jako je hluk, extrémní teploty, bolest, strach atd., neboť vedou ke snížení produkce mléka a při dlouhodobém působení zkrácení laktace a k možnému vzniku zánětů mléčné žlázy (JELÍNEK a kol., 2003).

### 2.5.2.2 Hygiena dojení

Úroveň hygieny v průběhu přípravy mléčné žlázy, vlastního dojení i po dojení je předpokladem snížení rizika vzniku mastitid a udržení dobrého stavu dojnic. V praxi se používají různé způsoby toalety vemene a struků před vlastním dojením: suchá, vlhká a mokrá (ZELINKOVÁ, 2016). Po očištění vemene a prvních odstřicích mléka je vhodné ponořit struk do dezinfekčního prostředku a následně otřít suchou utěrkou (HOFÍREK, 2009). Dezinfekce před dojením snižuje výskyt nových infekcí až o 50% (LIŠKA, 2006). Hygienicky žádoucí je odstříkávat mléko do speciální černé pánvičky. Tento způsob je však na dojírnách využíván minimálně. Převažuje odstříkání na podlahu stání s následným smyvem (JEŽKOVÁ, 2017).

Mezi další zásadní rutinu patří dezinfekce struků po dojení (JEŽKOVÁ, 2019). Likviduje až 85% bakterií na kůži struku (LIŠKA 2006). Jejím účelem je dezinfikovat kůži a okolí struků od patogenů z dojení a z vnějšího prostředí, kdy zanechávají trvalý film na struku až do příštího dojení. Zvláště účinná je proti *S. aureus* a *Strep. agalactiae* (JEŽKOVÁ, 2018). V případě bezbariérových preparátů také neprodyšně uzavřít strukový svěrač, čímž je zabráněno potencionálnímu vniknutí environmentálních patogenů (ZELINKOVÁ, 2007).

Důležité je omezení stresu v celém procesu dojení. Mastitidy často vznikají při procesu dojení nebo bezprostředně po něm. Dodržování pravidel správného dojení je tedy podstatou každodenního zacházení s dojnicemi (BOUŠKA, 2006).

### 2.5.3 Technologie výživy

Výživa dojnic je významným činitelem, který velkou měrou rozhoduje o zdraví dojnic a jejich užitkovosti. Jen při kvalitní a plnohodnotné výživě je možné plně využít genetický potenciál dojnic. Jen plnohodnotná a pravidelná dávka krmiv dokáže vytvořit podmínky pro správný chod metabolismu dojnice a rozvoj přirozených obranných mechanismů mléčné žlázy vůči působení patogenů (KOVÁČ, 2001). Při nekvalitní a nevyvážené výživě dochází ke dráždění mléčné tkáně bez jasného vlivu infekčních faktorů. Projevem je zvýšení počtu somatických buněk v bazénových vzorcích a vznikem nespecifických mastitid. Příčinou vzniku nespecifických mastitid

jsou právě nejčastěji chyby ve výživě. Jedná se o hlavně kvalitu a chybnou sestavu krmné dávky, které často vedou k metabolickým poruchám (PECHOVÁ, 2017).

Důležité je krmnou dávku diferenciovat pro jednotlivá období (KOVÁČ, 2001). Prakticky všechny nutrienty v krmné dávce mohou způsobit vznik metabolických poruch, pokud jsou v nadbytečném nebo naopak v nedostatečném množství. Mezi nejvýznamější metabolické poruchy, které zapříčiňují častější výskyt mastitid, patří ketóza, acidóza, lipomobilizační syndrom, steatóza jater a porodní paréza (PECHOVÁ, 2017). Kanadská studie zjistila, že u 28,6% krav s ketózou před otelením se následně projeví klinické mastitidy ve srovnání s 8,7% krav, které ketózu neměly (JEŽKOVÁ, 2014). Snížená hodnota pH bachorového obsahu má za následek redukcí množství přijatého krmiva, podporuje vznik ketózy a zvyšuje napadení bakteriemi *E. coli*, jež jsou vůči kyselinám odolné (QUIAN a kol., 2015). Odpovídající příjem energie a proteinu představuje základní předpoklad vysoké produkce mléka a zdraví mléčné žlázy (PECHOVÁ, 2017). Také zásobením vitaminy a minerálními prvky má pro zdraví vemene a kvalitu velký význam (QUIAN a kol., 2015). Mezi stopové prvky a vitaminy, které mohou ovlivnit zdraví vemene, patří selen, měď, zinek, vitamin E, A a beta-karoten. (JEŽKOVÁ, 2014).

Problémy s kvalitou krmiva často nastávají v letních měsících, z důvodu možného napadení krmiva mykotoxiny. V tomto období je také zaznamenán vyšší počet somatických buněk v bazénových vzorcích. U podniků, kde byla zkrmována zaplísňená krmiva, se počet PSB výrazně zvýšil (QUIAN a kol., 2015).

Kvalitní a vyvážená krmná dávka může napomoci k odolnosti krav proti zánětům mléčné žlázy ale i dalším onemocněním. Pokud jsou však krávy vystaveny infekčnímu tlaku, její vliv není žádný. Pro prevenci a snižování výskytu mastitid musí být přijata komplexní opatření (ZELINKOVÁ, 2016).

#### 2.5.4 Rozdoj a zaprahování

V období otelení a rozdoje se dojnice setkává s mnohými stresovými faktory, které negativně ovlivňují její zdravotní stav. Mezi tyto faktory patří průběh porodu, změna podmínek ustájení, změna krmné dávky, tvorba nových skupin dojnic atd. Obzvláště prvotelky jsou na tyto změny a kontakt s dojící technikou citlivé. Před



otelením dochází k výraznému zvýšení tvorby mléka a k oslabení účinku antibiotik použitých při zaprahování.

Období rozdojování patří mezi nejrizikovější, co se týká k náchylnosti onemocněn mléčné žlázy. Je to důsledkem poklesu glykoproteinu laktoferinu, který je znám svými antibakteriálními vlastnostmi (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). U prvotek se objevují hlavně klinické mastitidy. U 5% prvotek ihned po otelení, u 30% během prvního týdne a u 50% sedmý až třicátý den laktace. Subklinické mastitidy jsou méně časté. Zdravotní situace v chovu je považována za problémovou, pokud má 15% jalovic v období porodu (10-35. den) klinickou mastitidu a počet SB v mléce přesahuje 150 000. Až 77% výskytu mastitid po otelení je ovlivněno propuknutím infekce už před otelením (SEYDLOVÁ, 2013).

Na rozdíl od starších dojníc, které jsou schopné vyrovnat snížení mléčné užitkovosti při zánětu jedné čtvrtě zvýšením produkce mléka v ostatních čtvrtích, nejsou rostoucí zvířata schopna toto snížení kompenzovat (JEŽKOVÁ, 2014). Možným způsobem jak zvýšit produkci mléka a snížit negativní projevy po otelení je včlenit do procesu dojení před otelením. Převážně u prvotek má dojení před otelením příznivý růst na vývin sekrečního epitelu a snížení edému vemene, důsledkem poklesu tlaku neustále se akumulujícího mléka v alveolách mléčné žlázy. U starších krav trpících metabolickými poruchami může být dojení před otelením také prospěšné. Celkově nelze doporučit dojení před otelením pro všechna zvířata, ale převážně tam kde se u prvotek často vyskytují problémy se zvýšeným výskytem mastitid. Dojení před otelením ale zvyšuje zátěž na metabolismus zvířete, proto je potřebné zvýšit úroveň výživy. (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008).

Období zaprahování je nutno chápat jak začátek další laktace (SEYDLOVÁ, 2011). Toto období by mělo dojnici nabídnout dostatek odpočinku na regeneraci mléčné žlázy, přípravu na porod a následnou laktaci. Délka tohoto období je průměrně 60 až 70 dní (NEFF a STABEL, 2007).

Období zasušení je nejrizikovější pro vznik nové infekce mléčné žlázy. Toto riziko souvisí, obzvláště na začátku další laktace, se zastavením pravidelného dojení a tím odstranění patogenů z dolní části strukového kanálku (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). Nejvyšší efektivitu produktivity mléka je dosahováno jen u zdravých dojníc, při špatně řízeném programu zaprahování mohou být ztráty v množství 500—750 litrů

v příští laktaci (SEYDLOVÁ, 2011). Správný postup zaprahování je důležitý nejen v souvislosti s obnovou schopnosti vemena tvořit mléko ale i v souvislosti se zdravotním stavem vemena. Zaprahlé dojnice je vhodné ustájovat ve vyhrazených a nepřeplněných kotcích. Ideálně pokud mohou trávit dojnice čas v období stání na sucho na pastvě.

Ve stádě může 40-50% krav vykazovat subklinickou mastitidu, kdy na mléce není viditelná změna, ale lze z od těchto krav izolovat patogenní organismy (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). Také při samotném stání na sucho vzniká až 60% nových infekcí vemene (SEYDLOVÁ, 2011). Proto je aplikace antibiotik při zasušení opodstatněná (TANČIN A TANČINOVÁ, 2008). Cílem zaprahování a začátek nové laktace by měl být negativní výsledek nálezu patogenních organismů v mléce a hodnota PSB by neměla po otelení přesahovat více jak 100 000 SB (SEYDLOVÁ, 2011). Při správné léčbě krav zaprahnutých je možné vyléčit až 71,5% chronicky nemocných dojnic se subklinickou mastitidou. Odhalení a správná detekce výskytu mastitid rizikových faktorů v chovech není jednoduché a hlavní příčina není někdy odhalitelná. Nicméně systematický rozbor situace, správný přístup personálu při uplatňování preventivních opatření v chovu ve spolupráci se stájovým veterinárním lékařem, může přinést pozitivní výsledek v podobě vysoké tržnosti kvalitního mléka při minimalizaci nákladů na léčbu (ZELINKOVÁ, 2007).

Možnou alternativou pro zaprahování zdravých krav (počet somatických buněk (PSB) na konci laktace nepřesahuje 200 000 na ml mléka) bez použití antibiotik je uzavření a vyplnění strukového kanálku neantibiotickými preparáty na zaprahování (Obr. 5), které řeší problém neuzavírání strukového kanálku (TICHÁČEK a kol., 2007). Jedná se o tzv. vnitřní tmely (SCOTT, 2011). Po otelení je přípravek jednoduše vydojen. (KRATOCHVÍL, 2006).

## 2.6 Diagnostika mastitid

Nevyhnutelnou součástí prevence a tlumení mastitid v chovech je pravidelná a komplexní kontrola zdravotního stavu vemene dojnic (KOVÁČ, 2001). Význam vyšetření spočívá ve zjištění funkčního a zdravotního stavu vemene, změn na kůži vemene a celkový zdravotní stav zvířete (HOFÍREK a kol., 2004). Při klinické

diagnostice se zjišťují hlavní informace o daném zvířeti (plemeno, počet laktací, březost, dřívější onemocnění mléčné žlázy apod.), informace o celém stádě, vyšetření celkového zdravotního stavu zvířete a vyšetření vemena a sekretu mléčné žlázy

Při klinickém vyšetření vemene je využívána adspekce, kdy je zjišťován tvar, velikost vemene, jeho kůže, struky a popř. anomálie, a palpace. Palpací se zjišťuje elasticita kůže, konzistence parenchymu, náplň mléčné žlázy a dojitelnost (HOFÍREK a kol., 2009).

Smyslové posouzení sekretu v prvních střících mléka je nejdůležitější kontrolou před dojením. Ze všech funkčních čtvrtí se oddojí 3-4 stříky mléka do nádoby s černým dnem. Hodnotí se brava, konzistence, příměsi, přítomnost vloček či hrudek (SLANINA a kol., 1985). Doplněním tohoto smyslového vyšetření je zkouška varem, kdy se mlezivo, kyselé mléko, mléko ze zaníceného vemene a mléko zahuštěné varem sráží (HOFÍREK a kol., 2009). Klinickým vyšetřením není možné stanovit všechny formy mastitid, proto je vhodné pokračovat ve vyšetřování dalšími metodami, jako jsou stájové testy a laboratorní vyšetření, zejména mikrobiologické (HOFÍREK a kol., 2004).

V praxi se v chovech nejčastěji využívají rychlé stájové testy, které poskytují rychlou orientaci ve zdravotním stavu mléčné žlázy (HOFÍREK a kol., 2009). Nejpoužívanější a nejlevnější stájovou metodou je Kalifornský test na mastitidy, neboli NK – mastitis test. Test je založen na zvýšené přítomnosti jaderných buněčných elementů zánětlivých buněk, které v mléku převládají při infekci mléčné žlázy. NK test odráží hladinu somatických buněk a je spolehlivým ukazatelem závažnosti infekce (LAKSHMI, 2016). Jako vzorek se využívá mléko oddojené po prvních odstřících a na paletě se smíchá s činidlem. To obsahuje detergent a barevný indikátor změny kyselosti (HOFÍREK a kol., 2004). Když se vzorek mléka a detergentu smíchá v poměru 1:1, začne činidlo rozpouštět nebo narušovat vnější jadernou membránu buněk leukocytů a z jader se začne uvolňovat DNA (LAKSHMI, 2016). Reakce proběhne zpravidla do 30 vteřin. Pozitivní reakce se projevuje tvorbou vloček a změnou konzistence ve formě gelu (KOVÁČ, 2001). Jak počet leukocytů vzrůstá, zvyšuje se lineárně i tvorba množství gelu (LAKSHMI, 2016). Výsledná reakce se posuzuje podle konzistence a zbarvení vzorku (KOVÁČ, 2001).

Tabulka 3: Intenzita reakce NK-mastitis testu ve vztahu k počtu somatických buněk

Stupeň reakce	Počet Sb v 1 ml	Konzistence směsi	Barva reakce
-0	<200 000	Beze změn	Bledě růžová
+/- 0,5	150 000 – 500 000	Jemný film	Salbě červená
+1	400 000 – 1 000 000	Gelifikace	Červená
++2	800 000 – 5 000 000	Sbaluje se	Purpurově červená
+++3	>4 000 000	Směs neteče	Purpurově fialová
+++4	Smyslově velmi znečištěné mléko	–	–

Pokud je NK-mastitis test pozitivní lze jako další diagnostickou metodu použít PM stájový test. PM test je diagnostický test, který umožňuje určit až dvacet druhů bakteriálních a kvasinkových původců mastitid. Set obsahuje dezinfekční tampon, jednorázovou zkumavku, sterilní kličku a Petriho misku s chromogenními agary. Inkubace se provádí při 37,5°C a po 22-26 hodinách lze vyhodnotit výsledek. Kombinace selektivních a chromogenních agarů umožňuje růst barevných kolonií a jejich snadnější rozeznání. Umožňuje zjednodušit identifikaci původců mastitid a následné rozhodování v použití antibiotik, a to převážně u zaprahovaných krav (VĚŘÍŠ, 2017).

Další často využívanou screeningovou metodou je stanovení měrné elektrické vodivosti mléka. Principem měření je fakt, že mléko je elektrolyt, neboť obsahuje disociované ionty, hlavně Cl<sup>-</sup> Na<sup>+</sup>, jejichž počet vzrůstá při zánětlivém procesu (HOFÍREK a kol., 2004). Změna v elektrické vodivosti je jedním z prvních projevů spojených s novou infekcí. Zvýšená elektrická vodivost u konkrétní dojnice je indikací pro další vyšetření jedince (LAKSHMI, 2016). Hodnoty pro mléko ze zdravé mléčné žlázy jsou v rozmezí <5,6 – 6,0. Dnešní moderní dojírny jsou vybaveny indikátory

vodivosti mléka, které automaticky snímají úroveň vodivosti. Elektrická vodivost vykazuje, na rozdíl od NK testu, nižší citlivost (HOFÍREK a kol., 2009).

V diagnostice mastitid se dají využít i laboratorní techniky. Ty se skládají z mikrobiologického, cytologického, imunologického a dalších vyšetření (ŠKARDOVÁ, 2000). Laboratorní vyšetření navazuje na vyšetření klinické a nálezem dovršuje diagnostickou činnost (HOFÍREK a kol., 2009).

Bakteriologická laboratorní kultivace je nejčastěji využívána jako diagnostický nástroj při řešení problémů s mastitidami (LAKSHMI, 2016). Vzorky pro toto vyšetření se odbírají bezprostředně před dojením z čistého a vydezinfikovaného hrotu struku. Cílem této diagnostiky je zachytit a identifikovat bakteriálního původce a stanovit jeho citlivost vůči antibiotickým preparátům (HOFÍREK a kol., 2004).

Cytologické vyšetření spočívá ve zjištění obsahu somatických buněk v mléce. Z diagnostického hlediska má kvantitativně vyšší vypovídající hodnotu ve srovnání se stájovými testy (HOFÍREK a kol., 2009). Pro stanovení počtu somatických buněk je používáno individuálních vzorků nebo vzorků bazénových (KOVÁČ, 2001).

Vzorky pro laboratorní diagnostiku nebo PM test musejí být odebrán před dojením, z očištěného vemene a vydezinfikovaného hrotu struku tak, aby nedošlo ke kontaminaci a znehodnocení daného vzorku. Vzorky je nutné před použitím uchovávat v chladu (HOFÍREK, 2009).

## 2.7 Léčba mastitid

Mastitida je jedním ze závažných onemocnění, které ovlivňuje zvíře i chovatele. Čím dříve je zjištěna infekce mléčné žlázy, tím nižší jsou náklady na léčbu a klesá i riziko šíření infekce (LIŠKA, 2006). Základem léčby je omezení přítomnosti patogenů a jejich toxinů, což má vést k obnově zdravé mléčné žlázy i samotné dojnice při minimalizaci nepříznivých důsledků proběhlého onemocnění (TICHÁČEK a kol., 2007). Léčba má za cíle minimalizovat ztrátu dojivosti, potlačení příznaků zánětu, úpravu bachorové fermentace a správnou funkčnost metabolismu, zabránění rozvoji toxického šoku a případného úhynu dojnice (HOFÍREK a kol., 2003). Pravděpodobnost vyléčení závisí na jedinci, virulenci patogenu a faktorech léčby. Šance na plné uzdravení klesá s věkem zvířete, s vyšším počtem somatických buněk, navyšující se dobou trvání infekce a s rostoucím počtem nakažených čtvrtí (BARKEMA a kol.,

2006). Pokud má dojnice ve třech po sobě následujících kontrolách užitkovosti více než 700 tis. SB v ml mléka, je většinou neléčitelná.

Nejdůležitějším faktorem úspěšnosti léčby je druh léku a délka léčby (BARKEMA a kol., 2006). Léčbu po detekci mastitidy je nutné zahájit okamžitě po zjištění infekce a řádném vydojení postižené čtvrtě (LIŠKA, 2006). Před výběrem léčby je ale podstatné zvážit určité faktory jako jsou povaha a závažnost infekce, údaje o dojnici (stádium laktace, kolik již prodělala onemocnění, zda se jedná o prvotelku apod.) a stupni výskytu onemocnění ve stádě (POKLUDVÁ a kol., 2007).

Při nákaze je možné zjistit i změny v chování dojnice, a to už po 4 hodinách po propuknutí, poté se začínají objevovat i další příznaky, jako je otok a zvýšená teplota vemene. Nicméně zjistit změnu v chování nebo okamžité zhoršení kvality mléka je v současných velkých stájích problémem i přesto, že jsou k detekci používány vyspělé technologie (JEŽKOVÁ, 2016).

Léčba může být volena lokální nebo celková. Lokální léčba obsahuje použití intramammárních léčiv, enzymovou léčbu, vtírání mastí či fytoterapii. Celková léčba zahrnuje používání parenterálních antibiotik. Ta mohou být kombinována s lokálními antibiotiky v těžších případech (HOFÍREK a kol., 2003).

V případě těžké klinické mastitidy spojení s narušením celkového zdravotního stavu se doporučuje podpurná terapie formou fyziologického roztoku, glukosy, vápníku, vitaminů a přípravků na podporu srdeční činnosti v množství 20-40 l (OPLETAL, 2017).

### 2.7.1 Léčba antibiotickými preparáty

Antibiotikum je látka, která usmrcuje určité mikroorganismy nebo brání jejich růstu (VOTAVA, 2005). ATB lze rozlišit na látky s baktericidním účinkem, které usmrcují organismy a na látky s bakteriostatickým účinkem, které inhibují růst mikroorganismů. Některé bakteriostatické preparáty mohou působit ve vyšší koncentraci rovněž baktericidně (LÜLMANN a kol., 2004). Výsledný účinek ATB ale ovlivňuje kromě koncentrace účinné látky také původce onemocnění (POKLUDOVÁ a kol., 2007). Antibiotické preparáty lze rozdělit dle spektra účinnosti vůči různým druhům mikroorganismů na ATB úzkospektrální (jednodruhové), které zasahují G- nebo G+ bakterie či dokonce určité bakteriální rody, a na ATB širokospektrální, které

mají širší účinkové spektrum, včetně symbiotické mikroflóry na povrchu sliznic (LÜLMANN a kol., 2004).

Velmi důležitým aspektem před zahájením léčby pomocí antibiotik, je znalost výsledků mikrobiologického vyšetření mléka a stanovení jeho citlivosti k antibiotikům u krav postižených mastitidou (TICHÁČEK a kol., 2007). Bez tohoto základního vyšetření není možné cíleně nasměrovat antimikrobiální terapii (HOFÍREK a kol., 2009). Používání antibiotik se musí řídit pravidly stanovenými antibiotickou politikou České republiky. Antibiotická politika je souhrnem opatření pro účinné a bezpečné používání antibiotik v humánní i veterinární medicíně. Cílem je zajistit vysokou odbornou úroveň antimikrobiální léčby, omezit vznik a šíření rezistentních mikroorganismů a zachovat tak co nejdelší účinnost antibiotik (POKLUDOVÁ a kol., 2007).

Lokální léčba je volena v případech, kdy nedochází k narušení celkového zdraví dojnice a příznaky onemocnění jsou omezeny jen na mléčnou žlázu. V první řadě se při lokální léčbě zánětu mléčné žlázy uplatňují intramammární antibiotika (TICHÁČEK a kol., 2007). K aplikaci intramammárních přípravků se přistupuje u klinických mastitid, u subklinických na konci laktace nebo jako prevence nových infekcí při zaprahování (POKLUDOVÁ a kol., 2007). Přípravky využívané pro dojnice v laktaci jsou koncipovány tak, aby měly rychlý nástup a krátkou ochrannou lhůtu pro mléko (HOFÍREK a kol., 2009). Úspěšnost léčby pomocí intramammárních antibiotik je omezena na vyšší produkci mléka, protože dochází k vyplavování antibiotika z tkání mléčné žlázy a obtížněji se tak dosahuje potřebné koncentrace antibiotika po dostatečně dlouhou dobu (TICHÁČEK a kol., 2007).

Aplikace antibiotik v době zasušování je v dnešní době ustálenou praxí. Využití těchto preparátů může eliminovat až 80% existujících infekcí a může být i významným preventivním opatřením nově získaných infekcí po dobu stání na sucho

Pomocí antibiotik aplikovaných při zasušení je vytvářena ochranná clona po dobu prvních 2-3 týdnů, kdy je mléčná žláza k infekci nejvýmavější (OPLETAL, 2017). Zasušení pomocí antibiotik se nemusí provádět, pokud během laktace, nebyla zaznamenán žádný zdravotní problém mléčné žlázy a počet SB dosahoval po celou dobu laktace hodnot do 200 tis. V 1 ml mléka. V tomto případě se zasušuje neantibiotickými preparáty. Při PSB vyšší než 200 tis v 1 ml je vhodné provést

zasušení pomocí antibiotik. Pokud má dojnice v období zaprahnutí mastitidu, je nutné ji přeléčit antibiotiky a až poté dojnici zaprahnout (SEYDLOVÁ, 2011).

Celková neboli systémová léčba je využívána u těžkých případů mastitidy, nejčastěji při léčbě klinických forem, při nichž dochází k narušení celkového zdravotního stavu dojnice. Celková léčba zahrnuje používání parenterálních antibiotik s lokálními ATB (HOFÍREK a kol. 2009). Tato kombinace se doporučuje využívat při léčbě infekce způsobených bakteriemi *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus uberis* (SCOTT a kol., 2011). Při volbě antibiotik je důležité, aby měla antibiotika, jak celková tak lokální, synergický účinek na patogenní mikroorganismus. Kombinací ATB s baktericidním a bakteriostatickým účinek dochází ke kontraindikaci (HOFÍREK a kol., 2009).

O každé léčbě, při které, jsou používány antibiotické preparáty je nutné vést evidenci podle veterinárního zákona s příslušnou dokumentací a popisem o vyléčení (OPLETAL, 2017).

#### 2.7.2 Pomocná léčba

Při léčbě mastitid pomocí antibiotik lze použít další terapie, které napomáhají k rychlejšímu a efektivnějšímu uzdravení mléčné žlázy. Mezi takovéto terapie patří například enzymatická léčba, kdy je pomocí enzymů aplikovaných do postižené čtvrtě zabráněno šíření původce a zmírnění zánětu. Enzymová terapie dle výsledků studie vede ke snížení terapeutické dávky ATB a potlačuje vzestup indikátorů zánětu. Nižší dávka antibiotik značí kratší ochrannou lhůtu na mléko a tím i finanční úspory (BAKEŠ A ILLEK, 2006). Další pomocnou terapií je osmotická léčba, jejímž podstatou je proplach cisterny fyziologickým roztokem. Cílem této metody je naředění a tím oslabení zánětu. Po této aplikaci jsou antibiotické preparáty účinnější, protože se v postižené čtvrti snadněji rozloží a jejich funkce se tak zvyšuje. Mezi pomocnou léčbu, se řadí i fyzikální terapie, která spočívá ve vtírání mastí, nejčastěji kafrových nebo zinkových, a pravidelné vydojování. Při pravidelném vydojování dochází nejen k odstranění patogenů, ale i mléka, které je pro mikroorganismy ideální živnou půdou (VEAUTHIER, 2011). K podpoře plného vydojení je možné aplikovat hormon oxytocin do svalů nebo do žíly (HOFÍREK a kol., 2003).



### 2.7.2.1 Antibiotická rezistence mikrobiálních původců

Nadměrné a neuvážené používání antibiotik přináší ve veterinární i humánní medicíně určitá rizika. Hlavním rizikem je rozvoj rezistence mikroorganismů k antibiotikům (NOVOTNÁ a kol., 2006). Na farmách hospodářských zvířat se stále častěji tento problém objevuje. Proto dochází k legislativním změnám jako například v regulaci spotřeby a zpřísnění kontroly používání antibiotik (HOFÍREK a kol., 2009).

Některé mikrobiální druhy jsou přirozeně rezistentní vůči některým antimikrobiálním látkám. Tato rezistence se využívá k přípravě selektivních půd. V současné době je větším problémem získaná antibakteriální rezistence, kdy se kmeny mikrobiálních druhů primárně citlivé na určité antibiotikum mohou stát vůči němu rezistentní (VOTAVA, 2001). Získaná rezistence vzniká tehdy, pokud nejsou v místě chovu dodržována základní pravidla využívání antibiotik při léčbě mastitid i jiných onemocněních. Rezistence nastává i v případech nekontrolovaného profylaktického používání v době zaprahování dojnic (HOFÍREK, 2004). Rezistence k antibiotikům se zvyšuje rychleji než výzkum a výroba nových antimikrobiálních látek. Vzniklé rezistentní kmeny v přítomnosti antibiotik přežívají a díky selekčnímu tlaku preparátu přerostou vnímavou populaci. Tyto mikroorganismy mohou mít změněné místo působení antimikrobiální látky, mohou bránit jejího průniku, popřípadě antibiotikum vylučovat či inaktivovat (VOTAVA, 2001).

Z tohoto důvodu je proto velmi žádoucí znát citlivost bakterií před zahájením léčby. Využívání stále stejných antibiotických preparátů vede k selekčnímu tlaku a dalšímu nárůstu rezistence (NOVOTNÁ a kol., 2006).

### 2.7.3 Vakcinace proti mastitidám

Imunoprofylaxe mastitid zahrnuje prostředky a postupy cíleného zvyšování specifické imunity vůči infekčnímu agens (TICHÁČEK a kol., 2007). Vakcinace je relativně novým specifickým nástrojem tlumení, kontroly a prevence zánětů mléčné žlázy. Například v USA jsou využívány čtyři preparáty, které sice nesnižují četnost infekcí, ale zmírňují jejich projevy (MACEK, 2015). Dostupné vakcíny dokážou zkrátit délku trvání infekce a omezit cirkulaci některých kontagiózních mikroorganismů způsobujících zánět mléčné žlázy, a to převážně *Staphylococcus*

aureus, v rámci celého stáda. V ČR je jako jediná registrovaná vakcína proti mastitidám STARTVAC, vyráběna ve Španělsku (RYŠÁNEK, 2010).

Tato vakcína je doporučována u stád dojnic s opakovanými výskyty mastitid a ke snížení klinických příznaků, způsobených koliformními bakteriemi, *S. aureus* a koaguláza negativními stafylokoky. V experimentu prováděném Toušovou a kol., (2011) byl počet SB v mléce u ošetřených dojnic tímto přípravkem o 248 000. Zároveň bylo zjištěno, že dojnice ošetřeny STARTVACEM vykazovaly snížení výskytu mastitid na 43,48% na rozdíl od dojnic neošetřených, kdy byl výskyt na úrovni 65%. I další pokusy s vakcinací proti mastitidám naznačují, že tímto způsobem lze omezit výskyt zánětů mléčné žlázy.

Vakcinaci lze použít jen u jalovic a zdravých dojnic. U krav se subklinickou mastitidou je vakcinace zbytečná. Vzhledem k ceně, je využívání vakcín v českých chovech zatím, na rozdíl od zahraničí, omezené (BUBENÍČEK, 2010).

Z důvodu ceny vakcíny, cca 100 Kč, a výkupních cen mléka je využívání vakcín v českých chovech omezené, na rozdíl od zahraničí.

## 2.8 Šlechtění dojnic na odolnost proti mastitidám

Vzhledem k negativním dopadům mastitid na ekonomiku chovu dojnic a welfare zvířat by bylo vhodné, aby dojnice více odolávaly infekcím a zároveň, aby tuto zvýšenou odolnost vykazovaly dědičně. Tohoto lze dosáhnout šlechtěním (ZAVADILOVÁ, 2017) Jako nejvíce účinná se jeví přímá selekce proti výskytu mastitidy.

Dědivost onemocnění mastitidou je relativně nízká mezi 0,02 až 0,2 (WOLFOVÁ, 2010). Tím že je heritabilita nízká, je možné výskyt onemocnění ovlivnit vnějším prostředím, a to až z 90 % (ZAVADILOVÁ, 2017).

Genetická korelace k mléčné užitkovosti 0,15-0,29 je kladná, ale nepříliš vysoká a vypovídá o tom, že krávy s genetickým založením pro vyšší produkci mléka budou nést geny pro vyšší náchylnost k mastitidě pouze v omezené míře (WOLFOVÁ, 2010).

Možným znakem genetické predispozice k mastitidám jsou znaky, které se vztahují k obranným mechanismům organismu. Tyto údaje, tak mohou sloužit

k selekci skotu na zvýšení odolnosti, vůči onemocněním mléčné žlázy. Podle výzkumů zvířata s nižším počtem somatických buněk a nižší frekvencí klinických mastitid vykazují lepší funkci obranných mechanismů (RUPP, 2010).

Rezistence mastitid koreluje i s několika anatomickými typy vemene i struků u dojnic. Např. hloubka a vyšší a těsněji upevněná vemena vykazují nižší PSB a tedy i nižší riziko vzniku onemocnění. Fyziologické znaky vemene a struků jsou středně až vysoce dědičné, proto je vhodné selektovat dojnice se špatně anatomicky tvarovanými vemeny (RUPP, 2010).

Selekce mléčného skotu pro zvýšení odolnosti proti mastitidám je jednou z možností výrazného omezení výskytu mastitid ve stádech. Genetická korelace klinické mastitidy a subklinické mastitidy a PSB je pozitivní a vysoká. Pro klinické mastitidy 0,67-0,82 a pro subklinické 0,94-0,99 (BERRY, 2011). Tyto korelace říkají, že geneticky daný vyšší výskyt PSB je spojen s geneticky častějším výskytem mastitid u krav (WOLFOVÁ, 2010). Je tedy prokázáno, že počet somatických buněk vykazuje genetickou variabilitu a velmi úzké spojení s onemocněním mastitidou, což znamená, že PSB může sloužit jako nepřímé selekční kritérium a lze ho použít v chovných programech pro selekci (BERRY, 2011).

Příliš nízký počet PSB ale naopak vykazuje nežádoucí účinek, protože je ukazatelem nízké obranyschopnosti. Proto je např. v Kanadě využíván selekční index, kdy klinická mastitida a PSB jsou rovnocenné znaky. Základním předpokladem šlechtění na zlepšení zdravotního stavu je dostupnost podkladových údajů, na vlastnostech a znacích populace (ZAVADILOVÁ, 2017)

## 2.9 Ekonomické ztráty výroby mléka z důvodu mastitid

Udržení jakostních ukazatelů, vysoké kvality mléka a tím zvyšování kvality mléčných potravin je celosvětovým trendem. Jednou z nejčastějších příčin způsobujících zhoršení jakosti a tím i kvality mléka jsou mastitidy (DOLEŽAL, 2000). Mastitidy patří mezi nejčastější a nejdražší onemocnění dojených krav (KVAPILÍK, 2017).

Odhad ekonomických ztrát způsobených mastitidami je relativně obtížný, a to vzhledem k různé intenzitě onemocnění (subklinické, klinické, nespecifické), různým metodám prevence a léčby apod. Ekonomické ztráty jsou způsobeny především

snížením produkce mléka, zpravidla o 10-20%, jeho znehodnocením, vyšším vyřazováním krav a vyššími náklady na obrat stáda, náklady na léčiva a veterinární ošetření (ČMSCH, 2005).

V první třetině laktace, vzhledem k vysoké produkci mléka, jsou ekonomické ztráty největší. V důsledku onemocnění mléčné žlázy, dochází během laktace ke kolísavému poklesu mléčné užitkovosti, tzv. laktačnímu propad, jehož výš právě záleží na stádiu laktace (LÜHRMANN, 2011).

Odhad průměrné ztráty na jedno klinické onemocnění mléčné žlázy se odhaduje na 9090 Kč. Na této ztrátě se podílí z 38,1 % nižší dojivost, 14,4 % netržní mléko, 18,9 % obměna stáda, 13% léčení a léky, 11 % změny složení mléka a ze 4,6 % ostatní složky. U subklinických mastitid se ztráty pohybují na úrovni 3800 Kč.

Tabulka 4: Odhad výrobních ztrát na výskyt (jedné) klinické mastitidy

Druh ztráty - ukazatel	Jednotka	Výrobní ztráta	
		průměr	rozpětí
Dojivost	Mléka na krávu (kg)	-350	-220 až -500
Mléko (vyloučení z prodeje)		-200	-50 až -300
Mléko celkem		-550	480 až -650
SP (mezidobí)	dny	+15	0 až +25
Indsemináční index	%	+0,3	0 až +0,5
Zabřezávání		-5	-2 až -15
Vyřazování (obměna) na 100 krav	krav	+5	0 až +10
Tučnost mléka	%	-0,30	-0,03 až -0,50
Obsah bílkovin v mléce		-0,03	+0,04 až - 0,27
Spotřeba práce na krávu s mastitidou	Hod.	+2,0	+1 až +4,0

Tabulka 5: Odhad výrobních ztrát podle počtu somatických buněk

Druh ztráty		PSB (tis./ml)	Jedn.	Výrobní ztráta	
				průměr	rozpětí
Bazénové mléko		200 až 300	%	-2	-1 až -4
		301 až 400		-4	-3 až -6
		401 až 600		-6	-5 až -8
		601 až 1000		-9	-6 až -18
Individuální výdojky Dojivost na krávu		100 až 300	Kg	-150	0 až -300
		301 až 500		-350	-200 až -450
		501 až 700		-450	-300 až -600
		701 až 900		-600	-400 až -750
		Nad 900		-800	-500 až -1000
Bazénové mléko	T	Na 100 tis. PSB	%	-0,25	-0,05 až 0,540
	B			-0,15	0 až -,030
	CPM		tis./ml	+7,5	+2,5 až +18,0

Tabulka 6: Hlavní příčiny ekonomických ztrát vyvolaných klinickou mastitidou

Pramen	Nižší dojivost	Netržní mléko	Mléko celkem	Obměna stáda	Léčení, léky	Složení mléka	Ostatní položky	Ztráta celkem
Průměr	3460	1305	4765	1720	1185	1000	420	9090
%	38,1	14,4	52,5	18,9	13	11	4,6	100
Min.	1480	220	2760	340	X	X	X	3870
Max.	8750	2450	10 125	4565	2940	X	2375	13 400

### 3 Cíl práce

Prevence vzniku mastitid u dojených krav patří mezi hlavní cíle chovatelů skotu. Zamezením výskytu tohoto onemocnění souvisí se snižováním nákladů, které je nutné vynaložit na léčbu. Prevence eliminuje ztráty mléka, snížení dojivosti, nucenou brakaci a udržení ekonomiky produkce mléka.

Hlavním cílem práce bylo určit původce infekčních mastitid na základě kultivačních metod a zaznamenat jejich léčbu pomocí antibiotik. Získaná data byla statisticky vyhodnocena.

### 4 Materiál a metodika

#### 4.1 Charakteristika farmy

ZD Novosedly vznikly v roce 1990. Zemědělské družstvo čítá dvě střediska, z nichž jedno je ve Volenicích a druhé v Novosedlech.

Družstvo hospodaří v několika katastrech. Celková výměra obhospodařovaných pozemků je 2200 ha v nadmořské výšce 400 – 600 m. Výroba je zaměřena na produkci mléka, brambor, obilí a selat. Rostlinná výroba se zaměřuje na pěstování brambor, řepky a obilí. Vypěstované obiloviny jdou převážně na vlastní krmný fond. V roce 2009 byla na farmě v Novosedlech dokončena a zprovozněna bioplynová stanice, kde jsou zužitkovány vedlejší produkty živočišné výroby.

Živočišná výroba spočívá převážně v produkci mléka. Na obou farmách jsou chovány dojnice holštýnského plemene s průměrnou užitkovostí 8000 litrů mléka. Na farmě v Novosedlech je přibližně 400 kusů dojnic, ve Volenicích pak 250 kusů. Na farmě ve Volenicích je též chováno i plemeno prasat PIC.

Stáj v Novosedlech má 8 sekcí (řad), ve kterých jsou dojnice postupně přesouvány podle stupně březosti. 7 a 8 řada slouží pro zaprahování. Po zaprahnutí jsou vybrané dojnice převezeny do stáje ve Štěchovicích, kde tráví měsíc suchostojného období. Zde jsou suchostojné dojnice volně ustájeny na hluboké podestýlce s venkovním pevným výběhem. Měsíc před otelením jsou převezeny zpět do vedlejší stáje v Novosedlech. V této stáji se podestýlka skládá ze separátu

z bioplynové stanice. V porodní a předporodní sekci pak ze slámy. 1x – 2x za týden, je podestýlka měněna. Po otelení zůstávají dojnice týden v porodní sekci a poté jsou převedeny do hlavní stáje. V této stáji jsou dojnice ustájeny volně na roštové podlaze. Lože je vystláno separátem z bioplynové stanice.

Dvě rybinové dojírny (5 x 2), staré přibližně 15 let, zkompletované od firmy Fullwood jsou plně automatizované. Nachází se uprostřed hlavní stáje, odkud jsou dojnice dvakrát denně naháněny na dojení.

Mléční býčci jsou ve věku 14 dní prodáváni do zahraničí na další výkrm. Do stáří 6 měsíců jsou jalovice chovány v Novosedlech a poté převezeny do stáje ve Volenicích, kde dochází po dosažení 14 měsíců věku k inseminaci.

Obě mléčné farmy dodávají mléko do mlékárny Goldsteig v německém Chamu.

Celková roční produkce mléka v obou farmách činila 5 232 194 litrů mléka.

## 4.2 Metodika

Základní stádo tvořilo cca 430 kusů holštýnských dojnic, z toho bylo přibližně 300 dojených a zbytek suchostojných nebo v období zasušení. Dle kontroly užitečnosti za rok 2018 byl počet krav, ze stáje Novosedly, s uzavěrkou za normovanou laktaci 296. Průměrný laktační den se dlouhodobě pohybuje okolo 293 dní. Průměrný počet somatických buněk za rok 2018 se pohyboval okolo 288 SB.

Léčené dojnice nejsou separovány od ostatních dojnic. Zůstávají v sekcích mezi ostatními dojnicemi.

V období od dubna do prosince 2018 byly sledovány dojnice, které při kontrole užitečnosti vykazovaly vyšší počet somatických buněk. Vyšší PSB z velké pravděpodobnosti naznačuje určitý rozvoj infekce. Proto byly odebírány vzorky od dojnic, které vykazovaly PSB vyšší jak 800. Pomocí NK testu bylo zjišťováno, jaká část byla postižena.

Za toto období byly odebráno 202 vzorků od 136 dojnic. Onemocnění v období mezi odběry vzorků pro KU nebyly zaznamenávány.

#### 4.2.1 Odběr vzorků

Vzorek mléka ze čtvrti, která vykazovala pozitivní výsledek NK testu, byl nakultivován byl sterilně nakultivován (odebrán pomocí PM stájového testu), pomocí bakteriologické kličky, jednorázový dezinfekční tampon, třísektorovou Petriho misku s chromogenními agary, které dokáží rozlišit jednotlivé mikroby na základě specifické barvy kolonií (PM stájový test)

Po důkladném otření struku, a strukového uzávěru, dezinfekčním ubrouskem byl odebrán vzorek mléka do zkumavky. Odběr do zkumavky se provádí po třetí až čtvrtém prvopočátečním odstříku mléka v přibližném úhlu 45°. Pomocí bakteriologické kličky byl vzorek nanesen na živnou půdu Petriho misky do třech sektorů. Kultivace probíhala v líhni na vejce, kde lze nastavit a udržet teplotu, ta byla nastavena na 37,5°C. Po 22 – 26 hodinách kultivace byly výsledné vzorky odečteny a zapsány. Dle výsledků kultivace bylo následně rozhodnuto o léčbě.

#### 4.2.2 Léčba a použitá antibiotika

O léčbě bylo rozhodnuto po zjištění stupně infekce, druhu kultivovaného původce a celkového zdravotního stavu dojnice. Následné rozhodnutí bylo pravidelně konzultováno se stájovým veterinárním lékařem.

Při léčbě byla použita širokospektrální nebo úzkospektrální antibiotika zaměřená na užší spektrum původců či na určitý druh patogenu. Při celkovém zhoršeném stavu byla v některých případech použita antibiotika celková a podání velkoobjemových nálevů pro podporu bachorové mikroflóry.

Použité antibiotické preparáty:

- SYNULOX LC– intramamární suspenze, ochranná lhůta: maso 7 dní, mléko 84 H, 3 aplikace po 12H (při Strep. uberis 8 x po 12H)
  - o stafylokoky (včetně kmenů produkujících beta-laktamázu), streptokoky (včetně *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* a *S. uberis*), *Corynebacteria* (včetně *C. pyogenes*), *Escherichia coli* (včetně kmenů produkujících beta-laktamázu).
- COBACTAN - injekční suspenze, ochranná lhůta: maso 5 dní, mléko 24 H, 3 aplikace po 24 H



- Léčba bakteriálních infekčních onemocnění skotu a prasat vyvolaných grampozitivními nebo gramnegativními bakteriemi citlivými na cefchinom - akutní mastitidy spojené s narušením celkového zdravotního stavu vyvolané *E.coli*.
- PIRSUE – intramamární suspenze, ochraná lhůta: maso 24 dní, mléko 5 dní, 8 aplikací po 24 H
  - Léčba subklinických mastitid u laktujících krav způsobených Gram-pozitivními koky citlivými na pirlimycin, včetně stafylokoků, jako je *Staphylococcus aureus*, jak penicilináza-pozitivních, tak penicilináza-negativních a koaguláza-negativních stafylokoků; dále streptokoky včetně *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* a *Streptococcus uberis*.

Při zaznamenání nespecifické mastitidy, kdy nebyl při kultivaci zjištěn žádný patogen, ale přesto vzrostl počet somatických buněk, byla pro léčbu zvolena kafrová mast a masáž vemene pro úplné vydojení postižené čtvrtě. Při zhoršeném celkovém zdravotním stavu byla zjišťována příčina veterinárním lékařem.

Po 7 až 14 dnech od posledního podání antibiotického preparátu bylo provedeno opakované použití PM stájového testu pro kontrolu léčby.

#### 4.2.3 Zpracování výsledků

Výsledky kultivací a záznamy o léčbě za dané období byly zaznamenány do programu Excel. Zpracované výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Excel a Statistica 12.

## 5 Výsledky a diskuze

### 5.1 Přehled počtu somatických buněk v mléce za sledované období

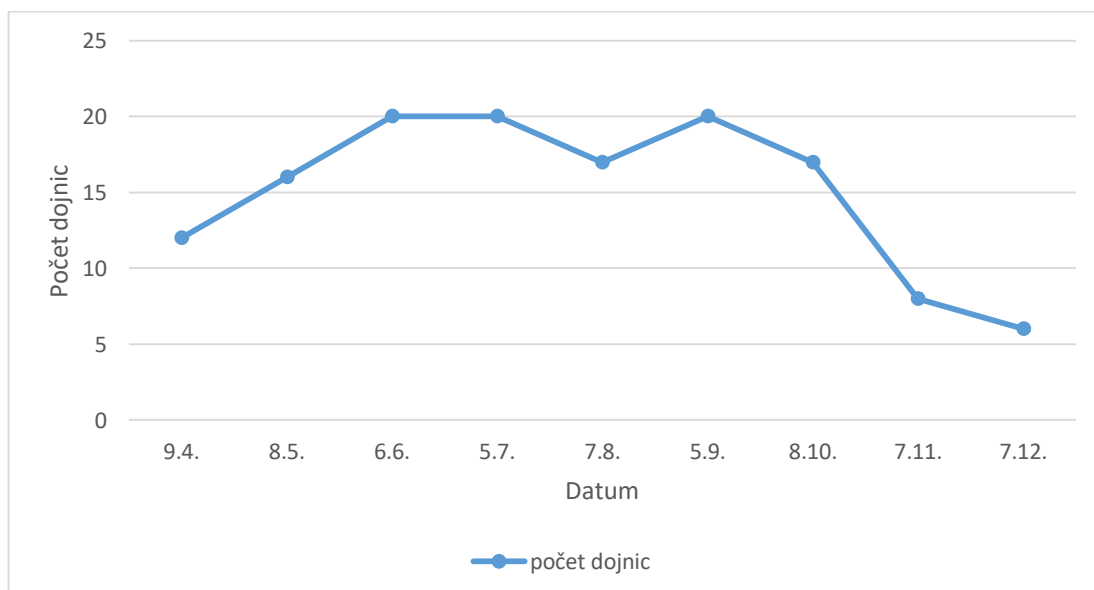
Tabulka č. 7 a graf č. 1 prezentuje počet dojnic se zvýšeným PSB (nad 800 000 v 1 ml mléka) a vývoj výskytu zvýšených hodnot PSB za dané období.

Za dané období bylo odebráno 202 vzorků od 136 dojnic, které vykazovaly zvýšený počet SB v kontrole užitkovosti. Nejvíce se dojnice s vyšším PSB vyskytovaly v letním období (42 %). Nejméně pak v období zimním a to z 20 %.

Tabulka 7: Počet dojnic se zvýšeným obsahem PSB v daném období

Období	Datum KU	Počet dojnic	Celkem počet	Počet dojnic v %
Jaro	9.4.	12	48	8,8
	8.5.	16		11,8
	6.6.	20		14,7
Léto	5.7.	20	57	14,7
	7.8.	17		12,5
	5.9.	20		14,7
Podzim	8.10.	17	28	12,5
	7.11.	8		5,9
	7.12.	6		4,4
<b>Celkový součet</b>		<b>136</b>	<b>136</b>	<b>100</b>

Graf 1: Počet dojnic se zvýšeným obsahem PSB v mléce za dané období

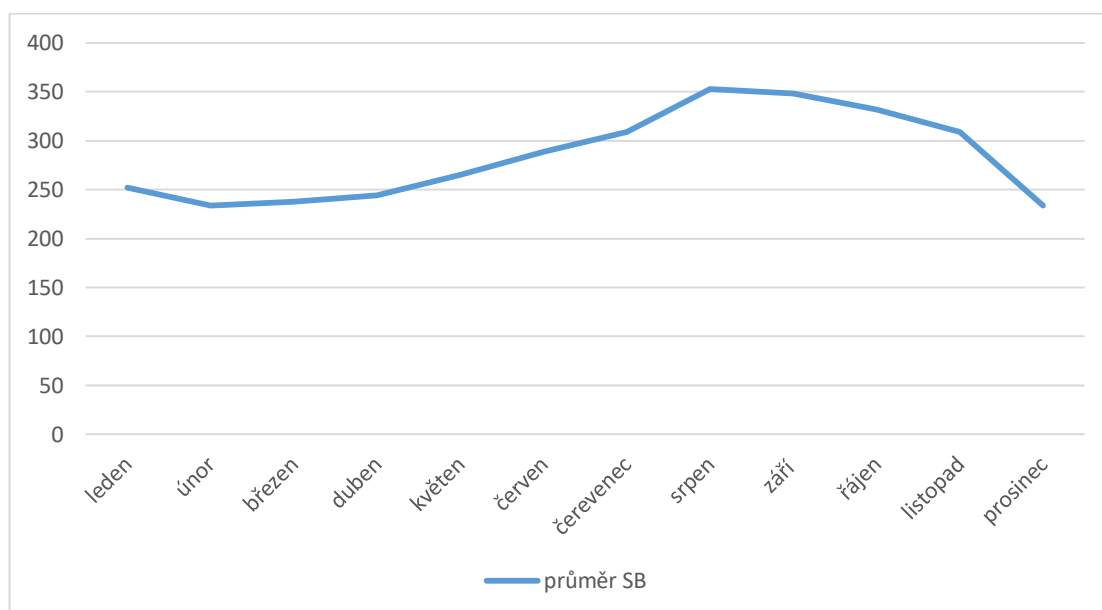


Podle Hofírka (HOFÍREK a kol., 2004) je právě vyšší teplota v letních měsících jedním z faktorů ovlivňující četnost mastitid ve stádě.

Zvýšená teplota způsobuje tepelný stres u dojnic a snižuje příjem krmiva a vody (JEŽKOVÁ, 2010). V průběhu tepelného stresu se podle ŠKARDOVÉ (2000) zvyšuje výskyt mastitid až o 37%.

#### 5.1.1 Průměrný obsah SB v bazénových vzorcích za rok 2018

Graf 2: Průměrný obsah SB v bazénových vzorcích za rok 2018



Průměrný počet SB z bazénových vzorků za rok 2018 byl 288. Nejvyšší PSB, nad 300, bylo změřeno na konci letního období. Tento výkyv mohl být důsledkem. Pokud je dlouhodobě zvýšený počet somatických buněk v bazénových vzorců tak je dle KVPILÍKA (2015) nutné zajistit opatření proti těmto hodnotám SB. Při hodnotách PSB nad 300 by měl následovat ozdravný program.

Vysoký počet SB může být způsoben vyšším výskytem subklinických mastitid (JELÍNKOVÁ, 2012). Podle JEŽKOVÉ (2017) by měly být, při vyšším výskytu PSB v bazénových vzorcích, kontrolovány dojnice s PSB > 250 000.

Dále taky uvádí, že na zvýšeném PSB se mohou podílet zaměstnanci, kteří dojí i mléko ze čtvrtí, které vykazují změnu sekretu a počtu SB (DAVÍDEK, 2018).

136 (31,6%) dojnic, z celkového počtu 430 kusů, vykazovalo mastitidního původce a infekci různého stupně. Tyto vzorky byly zjištěny na základě vyššího

počtu PSB podle KU. Ukazatelem zdraví mléčné žlázy je výskyt počtu zvířat se zvýšeným PSB do 10%.

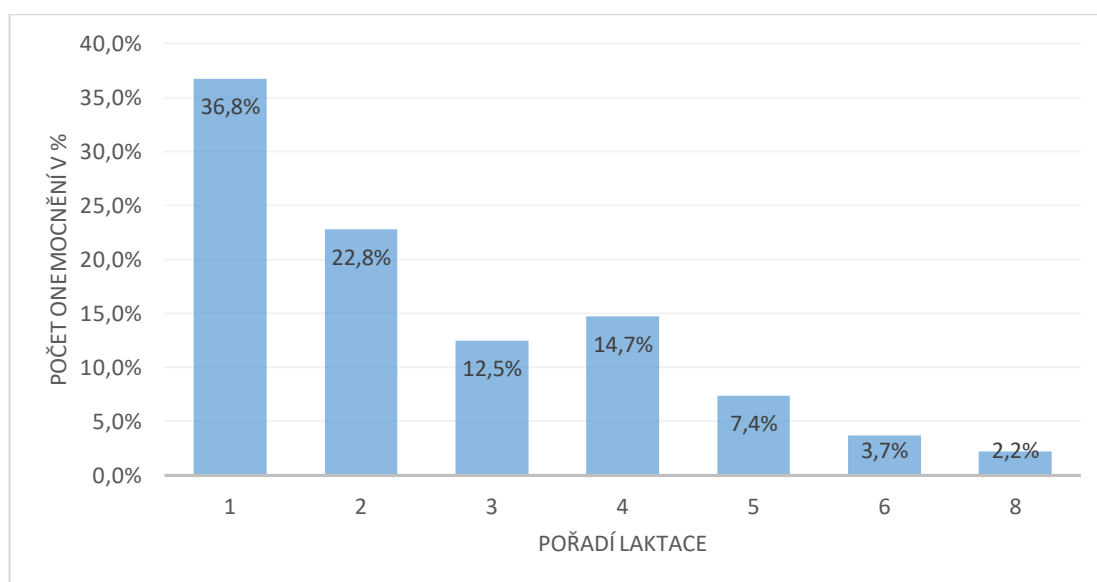
Pokud je tento výskyt vyšší, měla by vzniknout opatření, která sníží počet výskytu zvýšeného PSB (JEŽKOVÁ, 2014).

Pro uskutečnění snížení počtu dojnic s mastitidou a vysokým PSB je podle DOLEŽALA (2017) důležité zkontrolovat management stáje a zajistit eliminaci případných vlivů na onemocnění. Také uvádí, že na kvalitu mléka a zdraví dojnic působí mnoho faktorů, proto je vhodné tyto faktory pravidelně kontrolovat a zařídit dodržování předepsaných zásad eliminující výskyt mastitid.

## 5.2 Výskyt počtu dojnic se zvýšenými hodnotami PSB v závislosti na pořadí laktace

Z celkového počtu dojnic mělo v KU vyšší počet SB 36,8% na první laktaci. Na druhé laktaci mělo zvýšené PSB 22,8 % dojnic. Na 2. laktaci už lze očekávat možný výskyt subklinických nebo latentních mastitid u dojnic, u kterých proběhlo onemocnění mléčné žlázy v 1. laktaci. To samé lze očekávat i u vyšších laktacích.

Graf 3: Počet dojnic se zvýšeným PSB v jednotlivých laktacích



Dle TANČINOVÉ a TANČINA (2008) jsou prvotelky velmi náchylné ke stresu z důvodu nového prostředí, nových skupin, dojení apod., díky čemuž dochází k možnému oslabení zvířete a možnosti propuknutí infekce. MARCINKOVÁ a kol.,

(2012) uvádí, že u 5% prvotetek se objevuje mastitidy ihned po otelení, u 30% během prvního týdne a až u 50% od sedmého až třicátého dne laktace.

Vysoký počet nemocných prvotetek může ovlivňovat i kontakt se staršími dojnici před otelením. Toto potvrzuje i Zelinková () která uvádí, že je možné nakažení prvotetek i ostatních dojnic v období stání na sucho a to hlavně před otelením, pokud mají některé dojnice infikovanou mléčnou žlázu. Při spouštění mléka se dostávají patogeny do podestýlky a mohou tak infikovat ostatní dojnice. SEYDLOVÁ (2012) uvádí, že jalovice by z tohoto důvodu měly být separovány od krav na 2 a vyšší laktaci.

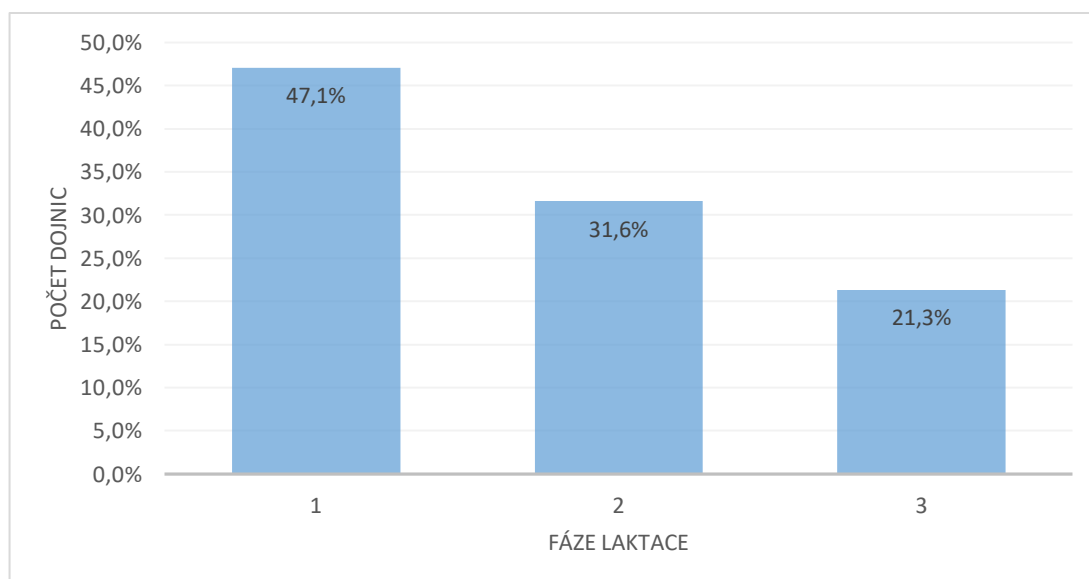
Ovlivnit vznik infekce u jalovic může podle SEYDLOVÉ (2013) profylaktické léčení ATB 8-12 týdnů před otelením omezit vznik mastitid o 93% a to převážně u staphylokokových infekcí.

Zakázáno by mělo být i zkrmování mléka obsahujícího antibiotika v období mléčné výživy z důvodu možného vzniku rezistence (SEYDLOVÁ, 2012).

### 5.3 Výskyt počtu dojnic se zvýšeným PSB v závislosti na fázi laktace

Nejvíce dojnic (47,1 %) se zvýšeným počtem somatických buněk bylo v 1. fázi laktace. První fáze laktace, hlavně rozdojování po otelení, je pro dojnici jedno z nejnáročnějších období, kdy dochází k velkým hormonálním a metabolickým změnám.

Graf 4: Počet dojnic se zvýšeným PSB v rámci fáze laktace



Právě období rozdojování podle TANČINOVÉ a TANČINA (2008) je nejrizikovější, co se týká k náchylnosti onemocnění mléčné žlázy, z důvodu poklesu laktoferinu, čímž se snižují přirozené antibakteriální vlastnosti mléka.

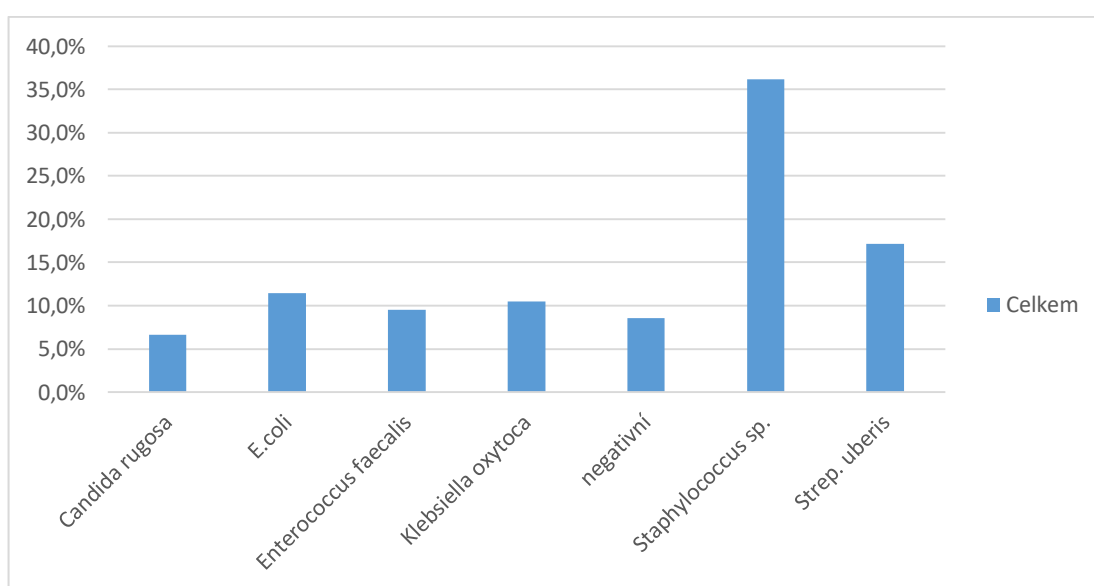
Dalším faktorem na výskyt mastitid (v první fázi laktace) je při druhých a vyšších laktacích období zaprahování. Podle ZELINKOVÉ (2016) má použití antibiotik při zaprahování signifikantní vliv na zdraví mléčné žlázy. Cílem zaprahování a obdob stání na sucho je eliminace existující infekce a prevence infekce nové. Až 50% nových infekcí, během prvních tří měsíců laktace, může být způsobeno infekcemi právě z tohoto období VELECHOVSKÁ (2015).

Příčinou vzniku mastitidních infekcí mohou být i metabolické poruchy, které oslabují imunitní odpověď dojnic. Podle KOUKOLOVÉ a kol., (2016) dochází v tranzitním období (3 týdny před a 3 týdny po otelení) k významným metabolickým změnám. Patří sem hlavně poporodní paréza, ketóza a bachorová acidóza. Tyto metabolické poruchy podle autorky významně ovlivňují odolnost zdravé dojnice, respektive mléčné žlázy hlavně v prvních 100 dnech laktace. I ILLEK (2017) uvádí, že peripartální období je pro dojnici kritické z důvodu hormonální, metabolických a morfologických změn a pro starší dojnice je udržení stálosti vnitřního prostředí náročnější.

#### 5.4 Výskyt druhů původců způsobujících zánět mléčné žlázy ve vybraném podniku

V grafu č. 4 je uveden přehled druhů původců, kteří se ve stáji vyskytují a způsobují u dojnic zánět mléčné žlázy. Zajímavý je vysoký výskyt druhu *Staphylococcus spp*, který způsobuje spíše lehčí formy mastitidy, pokud je jeho výskyt ve čtvrti mléčné žlázy včas podchycen. Dalším zajímavým faktem je výskyt kvasinek a nespecifických mastitid (v grafu uvedené jako negativní), které nezpůsobuje žádný mikrobiální původce.

Graf 5: Výskyt druhů původců způsobujících zánět mléčné žlázy ve vybraném podniku



31 dojnic z celkového počtu 136 mělo zvýšený PSB i v některém z navazujících měsíců z důvodu reparační tkáně mléčné žlázy. Kultivace v následném měsíci KU byla negativní u 23 dojnic. Reparace tkáně mléčné žlázy po vyléčení původce může trvat několik týdnů i měsíců. VĚŘÍŠ (2017) uvádí, že k plnému vyléčení postižené čtvrtě může dojít až po zasušení, záleží na stupni infekce a poškození tkáně.

U zbylých 8 dojnic došlo k destrukci postižené čtvrtě mléčné žlázy. K tomuto dle HOFÍRKA a kol. (2009) dochází po opakovaném silném infekčním tlaku, po klinickém zánětu, který přešel do chronického stádia a sekreční parenchym byl nahrazen vazivem. K tomuto dochází po špatně zvolené intenzitě léčby, použitím špatného antibiotického preparátu, neléčením, vzniklou rezistencí na daný patogen apod.

Ze 136 dojnic vykazovalo alespoň jednoho původce 105 krav. 105 (24,4%) dojnic, z celkového počtu 430 kusů, vykazovalo mastitidního původce a infekci různého stupně.

Nejvíce vyskytovaný druh patogenu u těchto dojnic byl *Staphylococcus* spp. (36,2 %). Podle VĚŘÍŠE (2017) je převažující počet stafylokokových infekcí způsobený hlavně diskomfortem lože. DELVAL a kol. (2004) uvádí, že většina loží, hlavně u starších stájích, nevyhovuje doporučením pro daný komfort. Dalším faktorem, který ovlivňuje výskyt těchto mastitid je hygiena dojení. Podle HOFÍRKA a kol.(2009) je důležitá hlavně hygiena vemene, použití pre a post dippingu a mezidesinfekce strukových násadců.

Koliformní bakterie (*Klebsiella oxytoca* a *E.coli*) se v četnosti vyskytovaly na druhém místě, a to z 21,9 %. Vyšší výskyt koliformních bakterií může mít spojitost s nekvalitními loži. Podle KOVÁČE (2001) má vysoký význam stavební řešení loží a to hlavně jejich délka z hlediska kálení do lože. JEŽKOVÁ (2010) pak uvádí další faktor, který ovlivňuje výskyt koliformních mastitid a tím je vysoká teplota, která způsobuje to, že některé dojnice z přehřátí uléhají na roštovou podlahu. Dalším důvodem výskytu koliformních bakterií mohou být časté průjmy. Části tekutých výkalů znečišťují vemena dojnic a patogen v nich obsažené mohou infikovat mléčnou žlázu (DAVÍDEK, 2018). Podle HOFÍRKA a kol. (2009) se vysoká četnost těchto infekcí objevuje v nevhodných zoohygienických

Třetím často se vyskytujícím patogenem byl *Streptococcus uberis* (18 %). Ten je podle Věříše (2017) nejčastěji se vyskytujícím původcem způsobujících mastitidy. V tomto podniku podle stájových kultivací vybraných dojnic nebyla četnost tak vysoká. Je možné, že dojnice, u kterých přešla infekce do chronické fáze, jsou dojeny do konví a nelze tedy zjistit počet SB a na základě toho provést stájovou kultivaci. Tyto dojnice jsou ale přenašečkami tohoto původce. Pro zjištění a vybrání dojnic s chronickou formou mastitidy způsobenou druhem *Streptococcus uberis* je nutné zahájení cílené depistáže. KUBEKOVÁ (2007) uvádí, že infekce způsobené tímto původcem jsou velmi těžko léčitelné. Podle VĚŘÍŠE (2017) vytváří *S. uberis* v alveolech a tubulech mléčné žlázy hluky bakterií, které se obalují bílkovinami a antibiotika tak působí jen v omezené míře. Dojnice, které po léčbě stále vykazovaly,



po kontrolní kultivaci, tohoto původce, by měly být brakovány, čímž by se limitoval přenos na další dojnice (DAVÍDEK, 2018)

### 5.5 Účinek antibiotické léčby u zánětů mléčné žlázy způsobené bakteriálními původci

V tabulce č. 8 jsou uvedeny výsledky antibiotické léčby v případě infekce způsobené bakteriálními původci. Z výsledků kultivace byl prokázán i výskyt kvasinek a nespecifických mastitid, u kterých je léčba antibiotiky neúčinná a zbytečná. Z 89 dojnic postižených mastitidou, způsobenou bakteriálním původcem bylo 67,6 % vyléčeno.

Tabulka 8: Počet dojnic vyléčených pomocí antibiotických preparátů

Původce	Počet nemocných	Počet vyléčených	Procento vyléčených
<i>E.coli</i>	12	10	83,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	10	5	50
<i>Klebsiella oxytoca</i>	11	8	72,7
<i>Staphylococcus sp.</i> (KNS)	38	28	73,7
<i>Strep. uberis</i>	18	9	50
<b>Celkový součet</b>	<b>89</b>	<b>60</b>	<b>67,4</b>

Nejvíce se vyskytoval druh *Staphylococcus spp.* (42,7 %). Vyléčeno bylo 83,3 % dojnic. Ty po aplikaci antibiotik nevykazovali v kontrolní kultivaci žádný výskyt stafylokoků KNS. Tyto původci byli léčeni pomocí intrmamárního ATB Synulox. Stafylokoky KNS napadají spodní části mléčné žlázy a jsou tak dle VĚŘÍŠE (2017) dobře dostupné pro intrmamární aplikaci ATB, takže léčba bývá rychlá a úspěšná.

Koliformními bakteriemi (*Klebsiella oxytoca* a *E.coli*) bylo infikováno celkem 25,8 18% dojnic. Léčba proběhla úspěšně u 78,3 %. LÜLMANN a kol. (2004) uvádí, že antibiotika s bakteriostatickým účinkem, aplikovaná na G- mají vysokou pravděpodobnost léčby, záleží však na stupni infekce.

U bakterií *Enterococcus* a *Streptococcus uberis* byl stejný počet dojnic vyléčených i nevléčených. Při léčbě *Strep. uberis* byly použity ATB Pirsue a Synulox. Podle statistického vyhodnocení ( $p=0,342$ ) není mezi těmito dvěma antibiotickými preparáty statisticky významný rozdíl v % úspěšnosti léčby. Podle DAVÍDKA (2018) je použití ATB u původce *Strep. uberis* účinná spíše při nižším stupni infekce a u krav které nevykazovaly časté zvýšení PSB v KU. Podle VĚŘÍŠE (2017) *S. uberis* vytváří v alveolech a tubulech mléčné žlázy shluky bakterií, které se obalují bílkovinami a antibiotika tak působí jen v omezené míře.

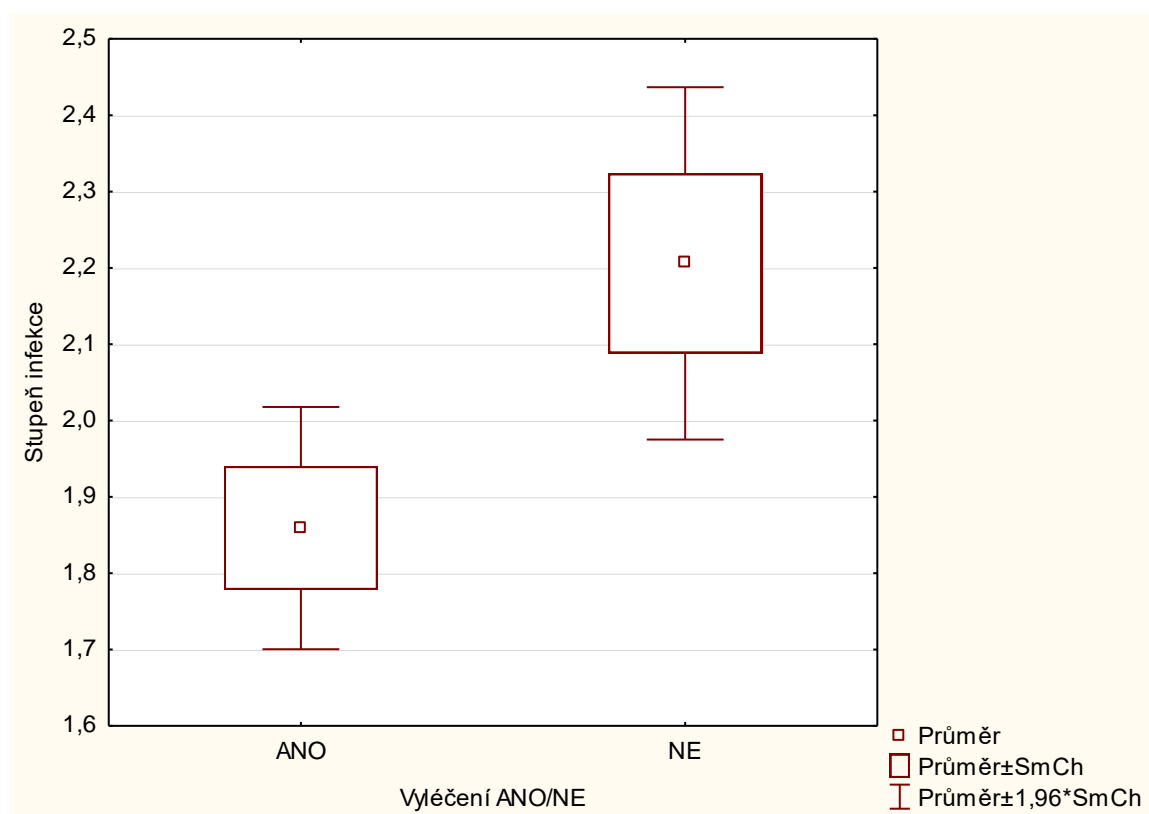
Kvasinkami (*Candida rugosa*) onemocnělo 7 dojnic (6,7 %). Léčba u infekce způsoben kvasinkami neprovádí. Zajišťuje se řádné vydojení. Po 3 až 4 týdnech dochází k obnově rovnováhy mezi bakteriemi a kvasinkami. Léčba záleží na celkovém zdravotním stavu dojnice (Věříš, 2017). Zde proběhlo samovyléčení u 85,7%.

Nespecifickou mastitidu vykazovalo 9 dojnic (8,6 %). K plnému vyléčení došlo z 55,6 %. Důvodů vzniku nespecifických mastitid je několik, patří sem: chyby ve výživě, špatná zoohygiena, narušení komfortu dojení, nesprávný postup při dojení či špatně seřízené dojící zařízení, čímž dochází k dráždění tkáně a zvýšení PSB. Tyto mastitidy často přecházejí do klinické formy. Použití ATB není efektivní z důvodu absence patogenu (SEYDLOVÁ, 2012).

## 5.6 Vliv stupně infekce na úspěšnost léčby

Graf č. 5 ukazuje, že čím nižší je stupeň infekce, tím je procento úspěšnosti léčby vyšší. V případě vyššího stupně infekce je léčba obtížnější nebo častěji dochází k plné destrukci parenchymu mléčné žlázy.

Graf 6: Krabicový graf - Vliv stupně infekce na úspěšnost léčby



Podle KOLLÁTOROVÉ (2011) ovlivňuje výsledný účinek ATB koncentrace látky, původce a stupeň infekce. Z výsledků lze usoudit, že stupeň infekce má význačný vliv na možnost vyléčení. Tato hypotéza byla statisticky vyhodnocena pomocí T-testu. Výsledná hodnota  $p=0,018$  dokazuje, že je mezi stupněm infekce a vyléčením statisticky prokazatelný rozdíl.

Z tohoto důvodu by měla být provedena kultivace na původce i při mírné změně mléčného sekretu popř. i mírnému zvýšení PSB, hlavně u dojníc, které tyto zvýšené hodnoty nikdy nevykazovaly. Tímto by se mohlo předejít rozvinutí infekce a léčba mastitidy by byla rychlejší a snadnější s minimálním rizikem rozvoje subklinické mastitidy či poškození parenchymu mléčné žlázy (DAVÍDEK, 2018).

Průměrný počet SB z bazénových vzorků za rok 2018 byl 288. Nejvyšší PSB, nad 300, bylo změřeno na konci letního období. Tento výkyv mohl být důsledkem. Pokud je dlouhodobě zvýšený počet somatických buněk v bazénových vzorců tak je dle KVAPILÍKA (2015) nutné zajistit opatření proti těmto hodnotám SB. Při hodnotách PSB nad 300 by měl následovat ozdravný program.

Vysoký počet SB může být způsoben vyšším výskytem subklinických mastitid (JELÍNKOVÁ, 2012). Podle JEŽKOVÉ (2017) by měly být, při vyšším výskytu PSB v bazénových vzorcích, kontrolovány dojnice s PSB > 250 000.

Dále taky uvádí, že na zvýšeném PSB se mohou podílet zaměstnanci, kteří dojí i mléko ze čtvrtí, které vykazují změnu sekretu a počtu SB (DAVÍDEK, 2018).

136 (31,6%) dojnic, z celkového počtu 430 kusů, vykazovalo mastitidního původce a infekci různého stupně. Tyto vzorky byly zjištěny na základě vyššího počtu PSB podle KU. Ukazatelem zdraví mléčné žlázy je výskyt počtu zvířat se zvýšeným PSB do 10%.

Pokud je tento výskyt vyšší, měla by vzniknout opatření, která sníží počet výskytu zvýšeného PSB (JEŽKOVÁ, 2014).

Pro uskutečnění snížení počtu dojnic s mastitidou a vysokým PSB je podle DOLEŽALA (2017) důležité zkontrolovat management stáje a zajistit eliminaci případných vlivů na onemocnění. Také uvádí, že na kvalitu mléka a zdraví dojnic působí mnoho faktorů, proto je vhodné tyto faktory pravidelně kontrolovat a zařídit dodržování předepsaných zásad eliminující výskyt mastitid.

## 6 Závěr

V diplomové práci byl monitorován zvýšený počet SB na základě kontroly užitkovosti. Při nálezů zvýšených hodnot SB byly prováděny kultivace, pomocí stájového PM testu. Na základě výsledků kultivace bylo rozhodnuto o léčbě a případném podání specifických antibiotických preparátů. Dále byly sledovány stupně infekce, % vyléčených a nevléčených zvířat, % výskytu v jednotlivých fázích laktace a neposledně i procento výskytu u prvních a dalších laktací.

Ze 136 dojnic vykazovalo infekci způsobující mastitidu 105 krav, což je 31,6 % ze zkoumaného stáda, které v té době čítalo cca 430 kusů zvířat. Zbylých 31 dojnic bylo vyléčeno ale v průběhu KU vykazovaly zvýšený PSB, z důvodu reparace tkáně po léčbě.

V rámci laktace bylo nejvíce postižených dojnic, z 36,8%, v 1 laktaci. Prvotelky jsou velmi náchylné na propuknutí infekce mléčné žlázy z důvodu mnohých stresových faktorů, které je vhodné snížit nebo úplně eliminovat. Pokud propukne infekce mléčné žlázy u dojnic v první laktaci, dochází ke snížení celoživotní užitkovosti. Z důvodu infekce se zastaví vývin mléčného parenchymu a tím se sníží množství produkovaného mléka. Z důvodu vývinu mléčné žlázy v první laktaci prvotelka nedokáže zvýšit produkci mléka v ostatních čtvrtích na rozdíl od starších dojnic.

Až 47,1 % dojnic onemocnělo mastitidou v 1. fázi laktace. Tato fáze je k výskytu mastitid nekritičtější obdobím, proto by měla těmto dojnicím náležet zvýšená pozornost.

Největší % výskytu zaznamenal *Staphylococcus sp.* (KNS) a to z 36 %. Léčba tohoto druhu původce nebývá náročná, pokud je však jeho výskyt ve stádě vyšší, měly by se zjistit nedostatky, které způsobují převahu tohoto infekčního druhu. Na druhém místě se objevili co v počtu případů, z 22%, koliformní bakterie (*E.coli* a *Klebsiella oxytoca*). Při zvýšeném počtu onemocnění koliformními bakteriemi, je doporučováno se zaměřit na hygienu prostředí stáje a vemen. Vyléčeno pomocí aplikace Cobactanu bylo, z 23 případů, 78%. Podle vysoké četnosti vyléčení onemocnění způsobeného G-bakteriemi je vhodné používat tento preparát, záleží však na stupni infekce. Při nízkém stupni infekce dochází k samovyléčení a není nutné tento přípravek použít.

Nejhůře léčitelným původcem je podle autorů *Strep. uberis*. V této stáji se vyskytoval ze 17 %. Tento patogen je častým původcem subklinických mastitid. Dokáže infikovat čtvrtě jednu po druhé. Pokud tedy nedojde k vyléčení, je velká pravděpodobnost postupné degradace ostatních čtvrtí. Z tohoto důvodu by měly být nevyлéčené dojnice ze stáda vybrakovány.

. Ze 105 dojnic postižených zánětem mléčné žlázy bylo plně vyléčeno po první aplikaci antibiotik 67,6 %. U zbylých dojnic po léčbě bylo kontrolní kultivací zjištěno, že antibiotika původce neeliminovala. V tomto případě je možnost provést léčbu znovu ale procento vyléčení se snižuje. Nevyлéčené krávy je vhodné vybrakovat nebo u nich postiženou čtvrť nuceně zasušit a snížit tak možnost přenosu na další dojnice.

Na % úspěšnosti léčby závisí i stupeň infekce, který ji dle výsledků i autorů významně ovlivňuje. Podchycení infekce v raném stádiu tak zvyšuje procentuální úspěšnost léčby a podle autorů i kratší reparaci tkáně mléčné žlázy. Pokud vykazují postižená čtvrť vyšší stupeň infekce, lze prodloužit podání antibiotik. Prodloužené podání antibiotik by mělo být konzultováno s veterinárním lékařem, hlavně z důvodu funkčnosti léčby.

Doporučení pro snížení výskytu mastitid:

- Zjištění počtu krav se subklinickou mastitidou a jejich následné vybrakování
- Léčené dojnice dát do zvláštní skupiny, aby nemohly infikovat ostatní dojnice
- Zaměřit se na dojnice před zaprahováním a zjistit, zda nejsou infikovány mikroorganismy. V případě onemocnění aplikovat léčbu před zaprahnutím a zaprahovat antibiotickými preparáty. Pokud se u dojnice objeví mastitida po otelení, je vhodné ji vyřadit.
- Držet prvotelky odděleně od krav na 2. a vyšší laktaci v době telení
- Zajištění strukové mezidezinfekce k zamezení přenosu infekce z dojnice na dojnici
- Zajistit a kontrolovat hygienu dojení a kontrolovat zda nejsou dojeny postižené struky, které mohou zvyšovat PSB v bazénových vzorcích a které tak mohou způsobovat další infekce

- Zajistit přísun krmiva po dojení aby dojnice nešly ihned do lože, než se uzavře strukový kanálek
- Zjistit četnost metabolických poruch v 1. fázi laktace, převážně po otelení
- Při zvýšeném obsahu PSB nebo změně sekretu mléka, ihned kultivovat původce infekce a zajistit případnou léčbu a zajistit tak, aby s byla léčba zahájena v co nejnižším stupni infekce

Pokud se v této stáji podniknou systematická preventivní opatření, tak lze do budoucna snížit počet somatických buněk, zvýšit dojivost a kvalitu mléka, snížit % onemocnění mléčné žlázy, brakaci krav a s tím spojené vysoké ekonomické náklady.

## 7 Seznam použité literatury

- 1) BAKEŠ, J., ILLEK, J., Plasma Ceruloplasmin and Fibrinogen during Enzyme Therapy of Mastitis in Dairy Cos. *Acta Veterinaria Brno*, 2006, 75, 241 - 246.
- 2) BARKEMA, H.W., A.J. BRADLEY a R.N. ZADOKS. Invited review: The role of contagious disease in udder health. *Journal of Dairy Science*. 2009, 92(10), 4717-4729. DOI: 10.3168/jds.2009-2347. ISSN 00220302.  
Dostupné také z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203020970801X>
- 3) BERRY, D. P., Bermingham, M. L., Good, M., & More, S. J. (2011). Genetics of animal health and disease in cattle. *Ir Vet J*, 64(1), 5. 3
- 4) BOUŠKA, Josef. Chov dojeného skotu. Praha: Profi Press, 2006. ISBN 80-86726-16-9.
- 5) BRADLEY A.J., GREEN M.J., (2015). Use and interpretation of static cell count data in dairy cows. *In Practise*, 27: 310-315
- 6) BRZDIL, J. Sezónnost výskytu vybraných patogenů mléčné žlázy skotu. *Veterinářství*, 2011, 60, 1, 38 - 42.
- 7) ČERMÁKOVÁ, Jana. Vyčteno ze vzorku mléka. Chov skotu. Tiskárna Didot, spol, 2017, 14(3), 16-18. ISSN 1801-5409
- 8) ČERVENÝ, Č. (2007): Vemeno krávy ve světle funkční morfologie. In Diagnostika a terapie poranění mléčné žlázy. Hradec Králové:kongresové centrum Aldis a.s., 7 – 20. (ISBN neuvedeno).
- 9) DELVAL, E; CAPDEVILLE, J; VEISSIER, I. Cubicle housing systems for cattle : Comfort of dairy cows depends on cubicle adjustment. *Journal of Animal Science* 2004, 82, 3321-3337.
- 10) DOHOO, I. R., Meek, A. H., Martin, S. W., Barnum, D. A. (1981): Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. *Can J. Comp Med.*, 45 (1):8-14
- 11) DOLEŽAL, Oldřich. Vliv chovného prostředí na kvalitu mléka, resp. četnost výskytu mastitid. *Náš chov*. Profi Press, 2016, LXXVI(9), 46-48. ISSN 0027-8068.
- 12) DOLEŽAL, Oldřich. Mastitidy - prostředí a management: Praktická příručka. *Náš chov*. Profi Press, 2017, LXXVII(6), 31-34. ISSN 0027-8068.
- 13) DOLEŽAL, O., KOPUNECZ, P. Management dojení, jeho optimalizace a hodnocení kvality dodávek mléka. Praha : Institut vzdělávání v zemědělství, 2010. 20 s. ISBN 978-80-8726206-1.



- 14) HOFÍREK B., HAAS D. (2003) Kategorizace zdraví mléčné žlázy, klinické formy mastitis a jejich terapie, In: Sborník referátů odborného semináře - Mastitida skotu, 10-23, Hradec Králové, Česká republika.
- 15) HOFÍREK, Bohumír. Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. Brno, 2004. Skripta. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Vedoucí práce Bohumír Hofírek.
- 16) HOFÍREK, Bohumír a kol. Nemoci skotu. Brno: Noviko, 2009. ISBN 978-80-86542-19-5.
- 17) HOLEC J.: Výskyt inhibičních látek v mléce a jeho hygienická a technologická rizika. In: Inhibiční látky v mléce. VÚCHS Rapotín, 1994, 11-15.
- 18) HOLM C., Jepsen J., Larsen M. Jespersen L. (2004). Predominant mikrofóra of downgraded chemical modification of milk protein. *J. Dairy Res.*, **49**: 449-457
- 19) CHMELÍKOVÁ, Eva. Laktace. Náš chov. Profi Press, 2015, LXXV.(10), 57-58. ISSN 0027-8086.
- 20) GÁLIK, Roman. Technika pre chov zvierat. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2018. ISBN 9788055219066.
- 21) ILLEK, Josef. Sborník referátů odborného semináře: Mastitidy skotu. Brno, 2011.
- 22) JELÍNEK, Pavel a Karel KOUDELA. Fyziologie hospodářských zvířat. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-715-7644-1.
- 23) JEŽKOVÁ, Alena. Management ve stádě dojnic, ustájení a dojení pro minimalizaci výskytu mastitid. Náš chov. Profi Press, 2017, LXXVII(2), 68-71. ISSN 0027-8068.
- 24) JEŽKOVÁ, Alena. Zásady správného postupu při dojení: Praktická příručka. Náš chov. Profi Press, 2017, LXXVII(6), 35-36. ISSN 0027-8068.
- 25) JEŽKOVÁ, Alena. Boj proti zánětům nikdy nekončí. Náš chov. Profi Press, 2017, LXXVII(3), 28-29. ISSN 0027-8068.
- 26) JEŽKOVÁ, Alena. Stafylokoky a zdraví mléčné žlázy. Náš chov. Profi Press, 2015, LXXV(4), 28-31.
- 27) JEŽKOVÁ, Alena. Klíčové principy produkce kvalitního mléka. Náš chov. Profi Press, 2019, LXXVIII(9), 37-39. ISSN 0027-8068.
- 28) JEŽKOVÁ, Alena. Výživa a zdravotní stav mléčné žlázy. Náš chov. Profi Press, 2014, LXXIV(2), 71-72. ISSN 0027-8068.
- 29) KADLEC, I.: Jakost mléka, vazby a příčinná souvislost mezi výsledky jednotlivých ukazatelů jakosti a jejich vliv na mlékárenskou výrobu. Praha: Mlékařské listy, 2003, s. 16 – 20.

- 30) KALIŇSKA, Aleksandra a kol. Matitis pathogens in dairy cattle - a rewiw. World Scientific News. 2017, (89), 22-31. ISSN 2392-2192.
- 31) KOVÁČ, Gabriel. Choroby hovädzieho dobytku. Prešov: M&M, 2001. ISBN 80-88950-14-7.
- 32) KUBEKOVÁ K. (2007) Mastitida a problémy s ní spojené. *Náš chov* 11: 65-67.
- 33) KRATOCHVÍL, J. Kombinace antibiotické a neantibiotické léčby v zaprahlosti-cesta ke snížení výskytu mastitid. In *Mastitidy skotu*. Brno:Hotel Voroměř, 2006. 25-26 (ISBN neuvedeno)
- 34) LAKSHMI, R. Bovine mastitis and its diagnosis. *International Journal of Applied Research*. 2016, (2), 213-216. ISSN 2394-5869.
- 35) LIŠKA, K.: Základní body programu prevence a tlumení mastitid. Použito 14. 3. 2018: <http://www.genoservis.cz/cz/poradenstvi/clanky/mastitidy-u-skotu/382-zakladni-bodyprogramu-prevence-a-tlumeni-mastitid>, 2006.
- 36) LÚHRMAN, B. Co stojí jedna mastitida. *Sano* 2011,9, 18 – 21 LÜLMANN H., MOHR K., WEHLING M.: *Farmakologie a toxikologie*. 2.vyd. Praha: GRADA PUBLISHING, a.s., 2004, 728 s, 489-520.
- 37) MACEK, Richard, A.J. BRADLEY a R.N. ZADOKS. Kontrola mastitid pomocí vakcinace. *Journal of Dairy Science*. 2015, LXXV(10), 68-72. DOI: 10.3168/jds.2009-2347. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203020970801X>
- 38) MAŇÁSEK, Ing. Josef. Hygienická kvalita mléka prvotelek. *Náš chov*. Profi Press, 2016, LXXVI(2), 56-61. ISSN 0027-8068.
- 39) MARVAN, František a Arnošt HAMPL. *Morfologie hospodářských zvířat*. Vyd. 5. Praha: Vydala Česká zemědělská univerzita v Praze v nakl. Brázda, 2011. ISBN 978-80-213-2188-5.
- 40) MARGARITA, Erika a Rosa ELENA. Bovine Mastitis Pathogens: Prevalence and Effects on Somatic Cell Count. *Milk Production - An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health*. InTech, 2012, 2012-09-26, , 359-374. DOI: 10.5772/51032. ISBN 978-953-51-0765-1. Dostupné také z: <http://www.intechopen.com/books/milk-production-an-up-to-date-overview-of-animal-nutrition-management-and-health/bovine-mastitis-pathogens-prevalence-and-effects-on-somatic-cell-count>
- 41) NEFF, K., STABEL, D. Trickenstellen und Trockenzeit. *UFA-Revue*, 2007, 5, 1 - 4.
- 42) MCKINNON C.H., ROWLANDS J., BRAMLEY A.. (1990). The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on bacterial numbers in bulk milk of eight herds. *J. Dairy Res.*, **57**: 292-298

- 43) NAVRÁTILOVÁ P.: Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk - a review. Czech J. Food Sci., 2008, (26), 393-401.
- 44) RYŠÁNEK, D.: Somatické buňky v mléce [online]. 2007 [cit. 2019-25-03]. Dostupné na WWW: [http://www.vri.cz/userfiles/image/pracovnici/Rysanek/kapit\\_predn/Somaticke\\_bunky\\_v\\_mlece.pdf](http://www.vri.cz/userfiles/image/pracovnici/Rysanek/kapit_predn/Somaticke_bunky_v_mlece.pdf)
- 45) OPLETAL Lubomír a Bohumír ŠIMERDA. Přírodní látky a jejich biologická aktivita: 7. Látky ovlivňující mastitidu u hospodářských zvířat. Praha, 2017.
- 46) PAVLATA, Leoš. Jak zvítězit nad mastitidami: Praktická příručka. Náš chov. Profi Press, 2017, LXXVII(6), 18-19. ISSN 0027-8068.
- 47) PECHOVÁ, Alena. Vliv výživy na mastitidy: Praktická příručka. Náš chov. Profi Press, 2017, LXXVII(6), 27-29. ISSN 0027-8068.
- 48) POKLUDOVÁ, L., NOVOTNÁ, P., HERA, A. Současné možnosti antimikrobní terapie mastitid v ČR. Veterinářství, 2007, 57, 28 - 35.
- 49) QIAN, FENG; FANG, XIXIU; JIANG, CHUNMAO; CHEN, MING: A feed for prevention of mastitis in dairy cows. Faming Zhuanli Shenqing (2015b), CN 105166451 A 20151223.
- 50) REECE, William O. Fyziologie domácích zvířat. Praha: Grada Publishing, spol., 1998. ISBN 80-7169-547-5.
- 51) RUPP, R., & BOICHARD, D. (2003). Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. Veterinary research, 34(5), 671-688
- 52) SAMKOVÁ, Eva. Mléko: produkce a kvalita: Milk: production and quality : vědecká monografie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2012. ISBN 978-80-7394-383-7.
- 53) SAMKOVÁ E.: Inhibiční látky v mléce. In Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků. Brno: MZLU, 2010.
- 54) SCOTT R. P., PENNY D. C., MACRAE A.: Cattle medicine. London, Manson Publishing The Veterinary press, 2011, 352 s.
- 55) SHELDRAKE, R. F., Hoare, R. J. T., McGregor, G. D. (1983): Lactacion stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. Austr. J. Dairy Sci., 66 (3): 542-547
- 56) SIMEONOVÁ, J., INGR, I., GAJDŮŠEK, S.: Zpracování a zbožiznalství živočišných produktů. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-708-1
- 57) SEYDLOVÁ, Růžena. Nespecifické mastitidy. Náš chov. Profi Press, 2012, LXXII.(12), 52-54. ISSN 0027-8068.
- 58) SEYDLOVÁ R.: Inhibiční látky v mléce. Mlékařské listy, 1998, (45), 9-10.

- 59) SEYDLOVÁ, Růžena. Zdraví mléčné žlázy prvotetek. *Náš chov*. Profi Press, 2013, LXXIII(12), 52-53. ISSN 0027-8068.
- 60) SEYDLOVÁ, Růžena. Lze řešit zdravotní stav mléčné žlázy v období zaprhaování?. *Náš chov*. Profi Press, 2011, LXXI(2), 71-73. ISSN 0027-8068.
- 61) SEYDLOVÁ, R. Řešení problematiky environmentálních mastitid v zemědělských provozech. In *Mastitidy skotu*. Brno:Hotel Voroměř, 2006, 31 - 35. (ISBN neuvedeno)
- 62) SKLÁDANKA, Jiří. *Chov strakatého skotu*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-258-8.
- 63) SLANINA, L. a kol. (1985): *Klinická diagnostika vnitřních chorob hospodářských zvířat.*, Příroda, Bratislava, 494 s.
- 64) SMOLA, J. Nové pohledy na bakteriální původce mastitid. In *Mastitidy skotu*. Brno:Hotel Voroměř, 2006, 22 – 24. (ISBN neuvedeno)
- 65) Smola J., Haas D. (2003) Nové aspekty v etiologii mastitid. In: *Sborník referátů odborného semináře – Mastitidy skotu*, 7-9, Hradec Králové, Česká Republika
- 66) SYRŮČEK, Jan a Jiří BURDYCH. Vybrané ukazatele ovlivňující efektivitu chovu dojnic. *Náš chov*. Profi Press, 2015, LXXV(10), 34-38. ISSN 0027-8068.
- 67) ŠKARDOVÁ, O., ŠKARDA, J. (2000): *Program péče o produkci a zdraví stáda dojnic: Dairy Herd Production and Health Program*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací. ISBN 80-7271-058-3.
- 68) TANČIN V., TANČINOVÁ D. (2008) Strojové dojení kráv a kvalita mléka. SCPV, Nitra, 64 s VELECHOVSKÁ, Jana. Mastitidy jalovic jsou současným problémem. *Náš chov*. Profi Press, 2014, LXXIV(9), 64-66. ISSN 0027-8068.
- 69) TICHÁČEK A.PONÍŽIL, A., PECHOVÁ, A., PAVLATA, L., OLEJNÍK, P., KOPUNECZ, P., HABUŠ, O., BJELKA, M. Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka. Šumperk Agritec, 2007, 89 s., ISBN 978-80-903868-0-8
- 70) TICHÁČEK A., BJELKA M., Hanuš O., KOPUNECZ P., OLEJNÍK P., PAVLATA L., PECHOVÁ A., PONÍŽIL A.: *Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka - (Metodika pro praxi)*. 1. vyd. Šumperk: AGRITEC, 2007, 86 s.
- 71) VĚŘÍŠ, Miroslav. Jak zvítězit nad mastitidami. *Náš chov*. Profi Press, 2017, LXXVII(6), 12-16.
- 72) VEAUTHIER, G. Fütterungsfehler erhöhen das mastitis-risiko. *Elite best practice : Eutergesundheit*, 2011b, 6, 50-51.

- 73) VOTAVA M.: Lékařská mikrobiologie obecná. 2. vyd. Brno: Neptun, 2005, 351 s.
- 74) VYLETĚLOVÁ, Marcela. Mastitidy a somatické buňky. *Náš chov*. Profi Press, 2012, LXXII.(12), 58-59. ISSN 0027-8068.
- 75) WATTIAUX, Michel A. Mastitis: The disease and transmission. *Dairy Essentials - Lactations and Milking*. University of Wisconsin - Madison, s. 89-92.
- 76) ZELINKOVÁ, G.: Mastitidy v novém světle. *Náš chov* 2/2007. strana 64-66.
- 77) ZELINKOVÁ, G.: Moderní management zdraví mléčné žlázy. *Náš chov*. Profi Press, 2016, LXXVI(2), 47-50. ISSN 0027-8068.
- 78) ZDANOWICZ M., SHELFORD J.A., TUCKER C.B., WEARY D.M., VON KEYSERLINGK M.A. (2004) Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust. *J. Dairy Sci.* 87: 1694-1701.

#### **Internetové zdroje**

- 1) BUBENÍČEK, J. Imunita mastitidy a možnost imunoprofylaxe. [online]. 2011 [cit. 2018-02-27]. Dostupné z: <http://www.bubenicek.cz/clanky/?id=120>.
- 2) HASONOVÁ, L. Vytvoření partnerské sítě vzdělávání a výzkumu v oblasti mastitid. In: [Www.mendelu.cz](http://www.mendelu.cz) [online]. 2012 [cit. 2018-02-18]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty/popis.php?id=18](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/popis.php?id=18).
- 3) KOLLÁTOROVÁ H.: ATC Antiinfektiva [online]. 2011 [cit. 2018-16-02]. Dostupné: [http://www.szsmb.cz/admin/upload/sekce\\_materialy/ATC\\_Antiinfektiva.pdf](http://www.szsmb.cz/admin/upload/sekce_materialy/ATC_Antiinfektiva.pdf)
- 4) RYŠÁNEK, D., (2010): Výzkumný ústav veterinárního lékařství [online]. Brno: VUVEL, [cit. 2018-02-11]. Dostupné z: [http://old.vri.cz/cz/dusan\\_rysaneck](http://old.vri.cz/cz/dusan_rysaneck)

