

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra veterinárních disciplin



Vliv vybraných vnějších ukazatelů na kvalitu kolostra u teplokrevných klisen
Diplomová práce

Autor práce: Kristýna Pejšilová

Vedoucí práce: MVDr. Härtlová Helena CSc.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Vliv vybraných vnějších ukazatelů na kvalitu kolostra u teplokrevných klisen vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne 12.4.2013

.....
Podpis autora práce

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji MVDr. Heleně Härtlové, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při zpracování diplomové práce a pracovníkům Národního hřebčína Slatiňany Ing. Neumannové a Ing. Dvořákovi za pomoc při odběru vzorků mleziv.

Vliv vybraných vnějších ukazatelů na kvalitu kolostra u teplokrevných klisen

The influence of selected external indicators on the quality of kolostrum in warm-blooded mares

SOUHRN

FPT je poměrně časté a odpovědné za velkou část případů úmrtí novorozených hříbat. V chovech hříbat se ztráty způsobené úhynem pohybují kolem 5 – 10 %. Cílem práce bylo prokázat, které vnější faktory kvalitu mleziva nejvíce ovlivňují a mají tak statisticky významný vliv na kvalitu mleziva a tím i další vývoj hříběte. Kvalita mleziva byla hodnocena ve třech odběrech po porodu a stanovena kolostroměrem, stanovením zinksulfátové reakce a kvantitativně stanovením celkové bílkoviny refraktometricky.

Hříbata se rodí agamaglobulinemická, to znamená, že epiteliochoriální typ placenty u klisny neumožňuje transplacentární přestup mateřských protilátek a tak imunitní systém novorozených hříbat není dostatečně rozvinut. Schopnost novorozených hříbat odolat běžným infekcím závisí na pasivním příjmu mateřských protilátek z mleziva. Mlezivo obsahuje větší množství bílkovin, bílých krvinek, vápenatých, hořečnatých a fosforečných solí a vitamínu A. Imunoglobuliny (IgG, IgM a IgA) pronikají do mleziva z krevního oběhu klisen. Chovatel pozná podle stavu a chování hříběte, zda má dostatečný přísun mleziva. Je-li kontrola provedena včas (9 – 12 hodin po porodu), můžeme předejít FPT. Pokud mlezivo neodpovídá požadavkům hříbat, je možno využít včas jiné alternativy.

Mnoho různých faktorů může ovlivnit kvalitu mleziva klisen, největší vliv má výživa březích klisen v poslední třetině březosti a dále také věk klisny, pořadí laktace, plemeno, očkování klisen, doba březosti a celý management chovu klisen.

U 10 klisen Starokladrubského vraníka chovaných v Národním hřebčíně Slatiňany bylo odebráno mlezivo v různých časových intervalech po porodu. První odběr do 1 hodiny po porodu, druhý odběr v 12 – 18 hodin po porodu a třetí odběr v 36 – 42 hodin po porodu. Klisny měly stejnou krmnou dávku, denní režim, termín očkování a protiparazitické ošetření. Sledované faktory, které mohly kvalitu mleziva ovlivnit byly – věk a hmotnost klisen, pohlaví hříběte a délka březosti. Dále byly statisticky porovnány jednotlivé odběry. Zjištěné výsledky potvrdily publikované hodnoty obsahu celkových bílkovin v mlezivu a výrazné snížení hodnot imunoglobulinů po 12 hodinách po porodu. Výsledky jednotlivých testů byly v souladu s literaturou, ale nepotvrdili statisticky významný rozdíl v kvalitě mleziva podle jednotlivých

sledovaných faktorů ovlivňujících kvalitu mleziva (pohlaví hříběte, hmotnost klisny). Tyto údaje ukazují, že výživa klisen během poslední třetiny březosti nejvíce ovlivňuje celkovou kvalitu mleziva klisen.

Klíčová slova :

MLEZIVO KLISEN, IMUNOGLOBULIN, NOVOROZENÉ HŘÍBĚ, IMUNITA, VÝŽIVA KLISEN

SUMMARY

FPT is a relatively common and responsible for a large proportion of deaths in newborn foals. The foal losses due to mortality are around 5 to 10%. The aim of this work was to demonstrate which external factors affect the quality of colostrum the most and thus have significant impact on the quality of colostrum and the further developments of the foal. The quality of colostrum was evaluated in three withdrawals after delivery by the colostrummeter, by readings of zinksulfate reaction and quantitatively by determination of total protein by refractometer.

Foals are born agammaglobulinemic, which means that the epitheliochorial type of placenta in the mare does not allow the transplacental transfer of maternal antibodies and the immune system of newborn foals is not sufficiently developed and the immune responses in foals are slower and weaker in comparison with the adult horses. Therefore, the ability of the newborn foal to withstand normal infections depends on the passive income of maternal antibodies from colostrum. Colostrum contains more protein, white blood cells, calcium, magnesium and phosphate salts and vitamin A and contains important antibodies. Immunoglobulins (IgG, IgM and IgA) penetrate into the colostrum from the mare's bloodstream. Breeder can recognize, by the condition and the behavior of the foal, whether it received an adequate supply of colostrum. If a check is performed on time (9-12 hours after birth), FPT can be prevented. If the colostrum does not meet the foals requirements, it is necessary to use some other alternatives.

Many different factors can affect the quality of the colostrum, the greatest influence has the nutrition of pregnant mares in the last third of gestation and the mare's age, number of lactations, breed, vaccination of mares, gestation period and the entire management of the care of mares.

In 10 Old Kladruby black horse mares bred at the National Stud Farm Slatiňany colostrum was collected at various time intervals after birth. The first collection within 1 hour after birth, a second sampling at 12 to 18 hours after birth and the third sampled at 36 to 42 hours after birth. Mares had the same diet, daily

routine, the term vaccination and antiparasitic treatment. Observed factors that could affect the quality of colostrum were - the age and weight of mares, sex of the foal and the length of gestation. Individual samples were also statistically compared. The results confirmed the published values of the total protein content in colostrum and a significant reduction in immunoglobulin values 12 hours after birth. Results of tests are consistent with the literature, but did not confirm a statistically significant difference in the quality of colostrum by observed factors affecting the quality of colostrum (sex of the foal, weight of the mares). These data show that nutrition of the mares during the last third of gestation affects the most the overall quality of colostrum.

Keywords:

COLOSTRUM OF MARES, IMMUNOGLOBULINS, NEWBORN FOAL, IMMUNITY, NUTRITION OF MARES

OBSAH

ÚVOD.....	1
HYPOTÉZA a CÍL PRÁCE	1
1. Vliv péče o chovné klisny na kvalitu mleziva	2
1.1 Laktace.....	2
1.2 Péče o klisnu	3
1.3 Ustájení klisen.....	4
1.4 Výživa klisen	5
1.4.1 První třetina březosti.....	7
1.4.2 Druhá třetina březosti.....	8
1.4.3 Třetí třetina březosti.....	8
2. Veterinární prevence a nemoci klisen.....	11
2.1 Porod.....	11
2.2 Veterinární prevence.....	11
2.3 Nemoci a poranění klisen během a po porodu.....	12
2.3.1 Zadržení lůžka.....	13
2.3.2 Endometritis.....	13
2.3.3 Pyometra	15
2.3.4 Výhřez dělohy a konečníku	15
2.3.5 Zánět mléčné žlázy	16
3. Mlezivo	17
3.1 Význam mleziva	18
3.2 Složení mleziva.....	21
3.3 Absorpce kolostrálních imunoglobulinů.....	25
3.4 Kvalita mleziva	28
3.4.1 Hodnocení kvality mleziva	29
3.5 Náhražky mléka	31
4. Materiál a metodika	33
4.1 Odběry vzorků	33
4.2 Metody stanovení.....	34
5. Výsledky	38
6. Diskuse.....	49
7. ZÁVĚR	52
8. Použitá literatura	53
9. SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY	57

ÚVOD

Podle situační a výhledové zprávy Ministerstva zemědělství bylo v roce 2010 13635 chovných teplokrevných klisen zapsaných v plemenných knihách vedených v České republice. Z toho jich byla zhruba třetina zapuštěna. Vzhledem ke stále vzrůstající oblíbenosti koní jako společníka pro volný čas se jejich stavy neustále zvyšují a tento trend se očekává i v letech následujících. Tyto počty nám jednoznačně ukazují, jak je chov koní v České republice rozšířený a každý chovatel by si přál mít svůj chov ekonomicky zajištěný. Každý chovatel by se měl zamyslet, co tedy musí udělat proto, aby mělo hříbě kvalitní vstup do života a jestli udělal všechno pro splnění očekávaných výsledků v chovu.

V chovu koní je důležité zaměřit se na mléčné období hříběte, které je nejdůležitějším obdobím pro jeho další vývoj. Nestačí se jen zaměřit na období po narození hříběte, ale nutné je se zamyslet nad managementem chovu klisen nejen během březosti, ale již při jejím plánování. Kvalita chovu chovných klisen je prvním důležitým krokem pro zajištění produkce zdravých a kvalitních hříbat.

Práce byla zaměřena na problematiku péče o chovné klisny během jednotlivých období březosti s poukázáním jeho vlivu na kvalitu mleziva a cílem bylo poukázat na faktory, které v péči o březí klisnu kvalitu mleziva nejvíce ovlivňují.

Kvalita mleziva byla hodnocena podle obsahu základních složek a také kolostrálních imunoglobulinů jako zásadního faktoru v posouzení imunologické kvality mleziva klisen.

HYPOTÉZA a CÍL PRÁCE

Výživa novorozeného hříběte ovlivňuje jeho imunologickou vybavenost a mnoho vnějších faktorů může významně ovlivnit kvalitu mleziva klisen. Mezi tyto vnější faktory kromě výživy březí klisny v poslední třetině březosti, patří věk březí klisny, hmotnost klisny v poslední třetině březosti, délka březosti a pohlaví narozeného hříběte

Cílem práce bylo prokázat, které vnější faktory kvalitu mleziva nejvíce ovlivňují a mají tak statisticky významný vliv na kvalitu mleziva a tím i další vývoj hříběte.

1. Vliv péče o chovné klisny na kvalitu mleziva

Biologicky plnohodnotné mlezivo produkují pouze zdravé matky, u nichž byla během březosti zabezpečena plnohodnotná výživa s dostatkem bílkovin, vitamínů a minerálních látek (Rob, 1973).

U výživy klisen je nejvíce diskutován vliv příjmu energie a je jasné, že nekvalitní výživa má vliv na produkci mléka a v něm obsaženou energii. Během prvních třech měsíců laktace produkuje klisna mléko v množství cca 1- 4 % její tělesné hmotnosti. Nejčastější chyby, které se dělají v krmení chovných klisen, jsou překrmování během časně březosti a nedostatečné krmení během laktace (Pagan, 2009). Obézni březí klisny jsou náchylnější na schvácení kopyt následkem zadržení lůžka. Dobrou prevencí laminitidy je právě udržení optimální výživné kondice klisny (West, 2002).

Kromě výživy je ovlivněna produkce mléka stádiem laktace, věkem, pořadím porodu (vrcholí po třetím porodu) a plemenem. Produkce mléka se rovná 3,1 % tělesné hmotnosti klisny 11 dní po porodu, 2,9 % 25 dní po porodu a 3,4 % 39 dní po porodu (Ofstedal a kol., 1983).

1.1 Laktace

Laktace je významná součást reprodukčního procesu, neboť výživa mláďat je předpokladem pro jejich přežití (Reece W., 2011). Vemeno klisny – uber equi je uloženo ve stydké krajině, zcela skryto mezi pánevními končetinami, nezasahuje tak daleko kraniálně jako u skotu (Najbrt a kol., 1982). Kůže vemene je jemná, porostlá jemnými chloupky s malými mazovými a velkými povrchovými srstními žlázami (Najbrt a kol., 1982). Každá polovina vemene má vlastní struk (Reece W., 2011). Struk koně je kuželovitého tvaru, ze stran zřetelně oploštělý, je 3-5 cm dlouhý (Najbrt a kol., 1982). Každý struk má dva kanálky, dvě strukové části mlékojemů. Ty pokračují do žlazových částí mlékojemů, které mají svůj vlastní systém vývodů a alveolů (Reece W., 2011). Kůže struku je jemně ochlípěna téměř až ke hrotu struku, u chlupů jsou mazové a povrchové srstní žlázy. V každé polovině vemene jsou dvě mléčné žlázy (Najbrt a kol., 1982). Každá mléčná žláza má své samostatné vývodné cesty. Mléčné žlázy obaluje tukové těleso vemene. Tloušťka tukového tělesa se mění, není však závislá na celkovém výživném stavu zvířete. U juvenilních zvířat převažuje objem tukového tělesa nad objemem mléčných žláz, u zvířat v plné laktaci tukové těleso pouze vyplňuje prostory kolem mohutně rozvitých mléčných žláz. U starých zvířat s nízkou doживostí tukové těleso postupně mizí (Najbrt a kol., 1982). Rychlý vývoj samičí mléčné žlázy začíná v pubertě a její funkční vývoj je dokončen během březosti (Reece W., 2011).

Sekrece mleziva začíná v náznacích těsně před porodem, plně se však rozvine až po porodu, kdy sekrece mleziva přechází v sekreci mléka (Najbrt a kol., 1982). Hormonální řízení v druhém stádiu ektogeneze (začátek bohaté mléčné sekrece při porodu) zahrnuje zvýšenou sekreci prolaktinu, adrenokortikotropního hormonu (ACTH) a estrogeneru a pokles sekrece progesteronu (Reece W., 2011).

1.2 Péče o klisnu

Mezi hlavní preventivní kroky v péči o březí klisnu patří dobré zoohygienické podmínky v porodním boxu, minimální prašnost prostředí, eliminace stresu a včasné protiparazitické ošetření klisen.

Zvláštní pozornost je věnována i mléčné žláze jelikož je hlavní funkcí mléčné žlázy zajištění výživy mláďat, a to i na úkor matky, jsou její obranné mechanismy nedostatečné. Proto je ochrana vemene vůči infekci důležitou součástí péče o březí klisnu před porodem i po něm (Navrátil, 2000).

Ošetřování březích klisen do osmého měsíce březosti vedle správné a hodnotné výživy a dostatku pohybu není náročnější než obvykle a klisnu lze do této doby používat ke všem pracím (Navrátil, 2000). S přihlédnutím na její kondici a zdravotní stav. Potom se klisnám odlehčuje a 7 – 8 týdnů před porodem se vyřazují z práce při dostatku pohybu (ve výběhu), týden před očekávaným porodem se sejmou podkovy a klisna se převede do porodního boxu (Navrátil, 2000).

Chovná klisna je při práci vystavena někdy nepříznivým vlivům (úraz, těžká práce, práce za nepříznivého počasí), ohrožujícím průběh březosti.

Jakákoli výrazná změna optimálního prostředí, zvláště pokud je náhlá, je pro organismus zátěží - stresem (Dušek, 1999). Vystavení klisen nevhodným vnějším podmínkám vede ke stresu a ten negativně ovlivňuje imunitní systém klisny a tím i kvalitu mleziva a v něm obsažených protilátek. Stresy jakými mohou být pro zvířata transporty nebo nadměrná zátěž, by měly být u březích klisen minimalizovány (Molíková a Celer, 2008).

Stresory jsou různé (Dušek, 1999) :

- vlivy prostředí, např. vlivy tepelné, transportů, mikro- či makroklimatu, hluku, neinfekčních onemocnění
- vlivy výživy, např. porušení optimálního poměru živin
- vlivy infekčních onemocnění
- vlivy psychické - ty jsou u koní časté, při náhlých a koním neznámých situacích

V chovech jsou hlavními viníky stresových situací u klisen nevhodné zootechnické podmínky a nevhodné zacházení s klisnami. Lze tedy za stresové vlivy považovat všechno, co u klisen zvýší sekreci

adrenokortikotropního hormonu (ACTH), který stimuluje tvorbu a sekreci adrenalinu. Za tlumivý účinek stresu na imunitní funkce organismu je zodpovědný glukokortikosteroid a jeho zvýšená sekrece. Ta zapříčiňuje snížení tvorby protilátek. Obecně lze konstatovat, že intenzivní a dlouhotrvající stres tlumí funkce imunitního systému a snižuje odolnost k infekci. (Toman a kol., 2000).

Stres je důležitým faktorem vzniku nutriční myodegenerace. Takto by například mohl být vysvětlen fakt, že ve stádě koní se stejnou výživou a úrovní zásobení selenem se onemocnění vyskytne jen v omezeném počtu případů (většinou pouze jeden kůň). Může se jednat jak o stres environmentální (psychický), tak o stres ze zvýšené fyzické zátěže (Ludvíková, 2008).

1.3 Ustájení klisen

Při ustájení je důležité, aby měly klisny dostatek místa, čistý a dostatečně nastlaný box a stáj byla dostatečně větraná a světlá. Protože se infekce přenáší i různými předměty (pracovní oděv, vědra na vodu apod.), je vhodné vyčlenit pro ošetřování březích klisen zvláštní personál, nebo klisny ošetřovat každý den jako první (Celer a kol., 2000). Minimální užitková plocha podlahy při skupinovém ustájení klisen se sajícími hříbaty je 12 – 16 m²/ kus (Dušek, 1999). Podle Celera a kol. (2000) je nejdůležitějším preventivním opatřením proti herpesvirovému zmetání klisen pečlivá izolace březích klisen od ostatních koní. Týká se to zejména odstavených hříbat a ročků, kteří nejčastěji trpí respirační formou onemocnění a snadno se tak mohou stát zdrojem infekce pro zbytek stáda. Celer a kol. (2000) doporučuje březí klisny rozčlenit do menších skupin, které navzájem nepřicházejí do kontaktu. Pokud se stane, že některá z klisen zmetá, může abortovaný plod infikovat pouze zbývající klisny ve stádě a ne celé stádo. V ideálním případě by měly být březí klisny ustájeny každá zvlášť (Molíková a Celer, 2008).

Fyziologické osvětlení pro koně je 40 lx, v porodně 160 lx a v porodním boxu má být 250 lx (Navrátil, 2000).

Požadavky na mikroklima stáji (Navrátil, 2000) :

- optimální teplota vzduchu je v létě + 20 °C a v zimě nemá klesnout pod + 6 °C
- vhodná relativní vlhkost se pohybuje mezi 60 – 80 %
- rychlost proudění vzduchu v zimě max. 0,25 m/ s a v létě 0,5 m/ s.
- maximální koncentrace oxidu uhličitého je 0,25 %, amoniaku 0,0025 % a sirovodíku 0,001 %.

Voda určená k napájení koní má být za všech okolností čerstvá a průzračná (čirá), svým způsobem chutná, bez vedlejších pachů a sebemenšího obsahu atmosférického vzduchu (projevujícího se její

perlivostí), o teplotě 10 až 15 °C, při dlouhodobějším stání bez výskytu usazenin (minerálních, ev. fyzických sedimentů), průměrné tvrdosti, tj. s vyloučením příliš měkké, ev. příliš tvrdé vody (Duruttya, 2005).

Aby se mohly vytvořit protilátky specifické pro stáj, musí klisny, zvláště prvoročky, být nejméně 4 - 6 týdnů před porodem převedeny do prostředí, ve kterém se také hříbě narodí a má vyrůstat. Jen tak může klisna vyprodukovat vůči zárodkům specifickým pro stáj vhodné protilátky (Meyer, 2003).

Podlaha, zdi a stěny porodního boxu musí být desinfikovatelné (postačí horká voda nebo pára), obdélníkového půdorysu délka 4 – 5 m, šířka 4 - 5 m, plocha 20 m² (Navrátil, 2000). Dveře boxů pro matky s hříbaty min. šířku 1,4 m (Navrátil, 2000).

Převod klisny s hříbětem z porodny nebo z porodního boxu buď na volnou stáj matek s hříbaty, nebo do boxu mimo porodní oddělení, je vhodný kolem 10. – 14. dne (po prvním zapuštění klisny) (Navrátil, 2000).

1.4 Výživa klisen

Kůň je býložravec, u kterého probíhá nejprve enzymatické trávení v žaludku a v tenkém střevě a mikrobiální trávení obdobné trávení v předžaludku přežvýkavce teprve potom v tlustém střevě (slepé střevo, tračník). Vzhledem k této skutečnosti jsou ztráty energie a aminokyselin spojené s činností mikroorganismů trávicího traktu menší (Zeman, 2006). V průběhu březosti se velmi mění požadavky klisen na výživu v závislosti na stáří plodu. Koňský plod neroste během celých jedenácti měsíců březosti stejnou rychlostí (Pagan, 2009). Více než 60 % růstu hříběte probíhá v posledním trimestru březosti. Většina teplokrevných klisen přibere během březosti 65 - 90 kg (West, 2002). Je nezbytné krmit pouze kvalitními krmivy. V poslední fázi březosti se musí obzvlášť dbát na kvalitu krmiv (Meyer, 2003). Zplesnivělé seno a sláma, zvýšený obsah infekčních zárodků v jadrných krmných směsích (dlouhé skladování), znečištění zeminou u okopanin atd. mohou způsobovat koliky, a tím zapříčinit potraty. Nevhodné jsou rovněž příliš horké nebo studené nápoje (Meyer, 2003). Plnohodnotná krmná dávka musí u březích klisen obsahovat dostatek všech potřebných živin ve správném poměru. To, jak krmíte březí klisnu, především v posledním trimestru, může ovlivnit rozvoj placenty i hladinu imunoglobulinů (protilátek, IgG) v mlezivu, jak zjistil výzkumný tým ze Severní Dakoty a Texasu (Hammer, 2009). Při nedostatečném přísunu energie a živin klesá mléčná produkce jen zvolna. Klisna čerpá látky potřebné k tvorbě mléka ze svých tělesných rezerv a hubne (Meyer, 2003). Je-li krmná dávka matky co do množství i jakosti trvale nedostatečná, její organismus se ochuzuje a nemůže dostatečně zásobovat vyvíjející se plod potřebnými látkami, látková výměna plodu je narušena a

organismus mláděte je po porodu vnímavější k nákaze (Meyer, 2003). Potřeba energie a obsah v krmivech se vyjadřují v megajoulech stravitelné energie (SE_K). Vyšší nároky na dusíkaté živiny mají jen koně těžce pracující, zvířata rostoucí, vysokobřezí a kojící klisny a plemenní hřebci v období připouštění (Zeman, 2006).

Nedostatečný příjem bílkovin může mít za následek nižší porodní hmotnost hříběte, a to i u klisen v dobré výživné kondici. Naopak příliš mnoho bílkovin může vyvolat problémy: klisny, které mají v anamnéze stres nebo příjem vysokého množství bílkovin či diety bohaté na leguminózy mohou mít edémy placenty nebo předčasné odloučení placenty, především pak tehdy, když byla jejich krmná dávka bohatá na leguminózy obsahující estrogen (Meyer, 2003). Zvyšování krmné dávky březí klisny za účelem zlepšení její výživné kondice (především velkým množstvím bílkovin) se spojuje s edémem placenty (což svědčí o zánětu placenty, který sníží množství bílkovin jdoucích hříběti) (West, 2002). K rychlému růstu potřebuje hříbě dostatek výživných látek. Proto upravíme krmnou dávku klisny tak, aby mohla dát hříběti dostatek mléka. Nezapomínejme, že klisny dávají hříbatům denně 10 – 15 litrů mléka a že tedy musí být krmná dávka k výkonu mléčné žlázy přiměřená. Kojící matka musí dostat krmiva nejlepší jakosti, bohatá na bílkoviny, minerální látky a vitaminy.

Martin a kol (1992) porovnávali složení mléka u 10 klisen na pastvině ve třech obdobích po porodu (11 – 18 dní, 30 - 44 dní a 60 – 74 dní po porodu). Pět klisen bylo kromě pastvy přikrmováno doplňkem bílkovin (24 % hrubých proteinů) v průběhu sezóny. Podle jejich výsledků doplnění bílkovin nijak neovlivnilo produkci mléka, obsahy živin v mléce, váhu klisen nebo růst hříbat (Martin a kol., 1992). Studie Marluzzi a Doreau (2006), potvrzuje, že doplnění minerálních látek do krmné dávky laktujících klisen má významný vliv na hladiny makro- a mikroelementů v mléce.

Samozřejmostí ve výživě klisen je dostatek kvalitní pitné vody. V chladném prostředí vypije kuň v klidu 25 až 70 ml/kg/den nebo 19 až 33 l vody na 500 kg hmotnosti (Pagan, 2009). Zvýšením teploty prostředí dochází i ke zvýšení spotřeby vody. Pocení vyvolané fyzickou zátěží nebo laktací může zvýšit příjem vody o 50 až 120 % (Pagan, 2009).

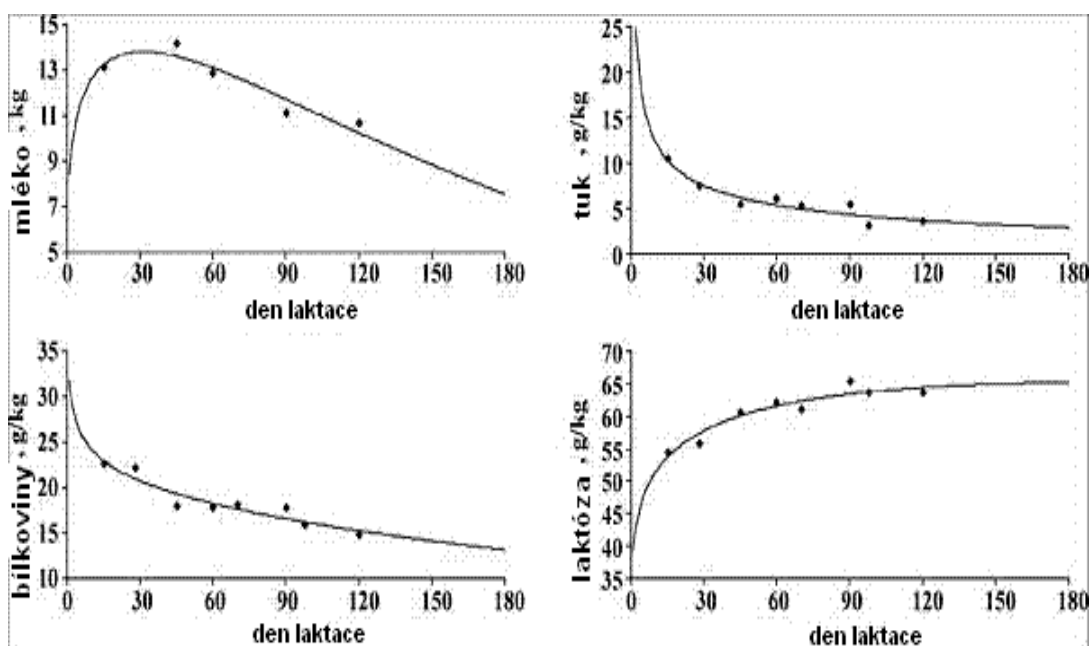
Hammer a její kolegové (2009) předpokládali, že nadměrné nebo nedostatečné krmení březích klisen negativně ovlivní kvalitu mleziva, a že přidávání selenu by mohlo kompenzovat některé tyto negativní účinky. Aby své předpoklady prozkoumali, náhodně rozdělili 28 QH klisen do 4 skupin: pastva, pastva plus selen, pastva plus jádro, pastva plus jádro plus selen. Přidávání selenu začalo 110 dní před hřebením. Klisny krmené jádrem s nebo bez selenu měly nižší množství IgG v mlezivu a hříbata těchto klisen měla nižší hladiny IgG v krevním séru ve srovnání se skupinami koní nekrmených jádrem. Obě skupiny hříbat klisen pouze na pastvě byly zdravé a koncentrace IgG byly dostatečně nad hladinou, která je považovaná za selhání pasivního transferu (Hammer, 2009).

Tab. 1 Očekávaná denní spotřeba krmiva (Pagan, 2009)

Kategorie	% tělesné hmotnosti		% krmné dávky	
	Píce	koncentráty	píce	koncentráty
březí klisna	1,0 - 2,0	0,3 – 1,0	50 - 85	15 - 50
laktující klisna (raná fáze)	1,0 - 2,5	0,5 – 2,0	33 - 85	15 - 66
laktující klisna (pozdní)	1,0 - 2,0	0,5 – 1,5	40 - 80	20 - 60

Lesté-Lasserre (2008) sestavili na základě vyšetření vzorků mléka klisen grafy znázorňující změny v obsahu bílkovin, tuků a laktózy během prvních 180 dní laktace a celkové denní množství vyprodukovaného mléka (obr. 1). Z živin množství laktózy během laktace stoupá, naopak tuků a bílkovin ubývá. Laktóza dosahuje největšího množství do 60. dne a pak se stabilizuje. Tučky a bílkoviny kolem 60. dne dosahují maxima a pak začínají klesat.

Obr. 1 Laktační křivky produkce mléka (kg) a mléčných komponent (g / kg). Tečky představují průměrné denní výnosy sledovaných klisen. (Lesté-Lasserre, 2008)



1.4.1 První třetina březosti

Během prvních pěti měsíců je plod malý. Ještě v sedmém měsíci březosti má plod pouze kolem 20 % hmotnosti při narození (Pagan, 2009). Protože toto odpovídá méně než 2 % hmotnosti klisny, nutriční požadavky plodu jsou nepatrné, v porovnání s vlastními požadavky matky na záchovu (Pagan, 2009). Dotovat krmnou dávku nadměrným množstvím koncentrovaného jaderného krmiva není v tomto období

vhodné. Krmnou dávkou je nutné přizpůsobit tělesné kondici klisny, obzvláště u klisen po sportovní kariéře je vhodné doplnit stopové prvky a vitaminy do tělních zásob klisny.

V tomto období březosti je nejvhodnější kvalitní seno a pastva. Protože během rané březosti je zárodečný růst ještě malý, postačí většinou výlučně pastva (Meyer, 2003). Pastva by měla obsahovat trávy, jeteloviny a další rostliny, které tvoří přirozený a obvyklý pestrý porost luk a pastvin (Duruttya, 2005).

1.4.2 Druhá třetina březosti

Ve druhé třetině březosti dochází k většímu hmotnostnímu přírůstku hříběte a je tedy potřeba zvýšit přísun základních živin a minerálních látek. Při skromné pastvě musí být případně přikrmovány (doplňkové krmivo pro chovné klisny). Během odchovu ve stáji jsou možné krmné dávky bohaté na seno v kombinaci s minerálními nebo doplňkovými krmivy (Meyer, 2003). V tomto stádiu odpovídá celková hmotnost sušiny krmné dávky asi 2 - 2,5 % hmotnosti klisny (cca 11 – 14 kg pro 550 kg vážící klisnu). Z minerálních látek je nutné věnovat pozornost vápníku, fosforu, sodíku, hořčíku, mědi, zinku, manganu a selenu (Meyer, 2003).

1.4.3 Třetí třetina březosti

Po sedmi měsících březosti se začíná plod rychle vyvíjet a jeho nutriční požadavky jsou významně větší než jsou požadavky klisny na záchovu, proto by její krmná dávka měla být upravena (Pagan, 2009). Klesla kapacita zažívacího traktu a tím nejsou vysokobřezí klisny schopné zkonsumovat dostatečné množství objemného krmiva. Údaje ukazují, že krmení klisny v poslední třetině březosti ovlivňuje účinnost placenty a množství IgG v mlezivu (Hammer, 2009). Charakteristická pro toto období je zvýšená využitelnost živin z krmné dávky a vyšší schopnost ukládat živiny do plodu a do tkání, které klisna později využívá v první fázi laktace na tvorbu mléka (Meyer, 2003). Přidávání tuku klisně do krmné dávky od devátého měsíce březosti zvýší procenta tuku v jejím mléce, nikoli však porodní hmotnost hříběte (West, 2002). Musíme dbát na kvalitu bílkovin, které jsou zdrojem aminokyselin a tvoří tkáň vyvíjejícího se hříběte. Nároky na bílkoviny a minerální látky se zvyšují v mnohem větším rozsahu. K tomu dochází proto, že tkáň plodu, které se syntetizují během této doby, obsahují poměrně velké množství bílkovin, vápníku a fosforu (Pagan, 2009). Protože potřeba bílkovin, Ca a P roste rychleji než potřeba energie, musí být tyto látky zastoupeny v dávce ve vyšších podílech. Nedostatek Ca (o 50 % potřeby) snížil porodní hmotnost hříbat o více než 15 % (Meyer, 2003). Příjem vápníku by měl činit cca 0,5 % sušiny krmné dávky (55 – 70 g vápníku denně) a 0,35 % fosforu (38 – 50 g denně).

Příklad vhodné krmné dávky pro chovné klisny o živé hmotnosti 600 kg dle Meyer (2003) je uveden v Tab. 2.

Tab. 2 Dávky pro chovné klisny (600 kg ž.hm/kg na den) (Meyer, 2003)

	Nízkobřezí			vysokobřezí			kojící		
luční seno	8	3,5	6	5,5	3	3	6	5,5	4
Mrkev				5	5		5		
travní siláž (suš. 350g/kg)		8,5				15			10
kukuřičná siláž, suš. 270 g/kg					15				
Oves	1			2,4		1		4	
doplňkové krmivo pro chovné klisny		1,5	1,5	2,4	2	2	8	4	6,5
vitaminované minerální krmivo	0,1								

Obsahy v celkové dávce :

Strav. Energie	MJ	76	79	76	709	103	118	153	148	150
Strav.hrubý protein	g	518	690	644	845	694	1051	1362	1265	1393
Ca	g	49	52	64	59	59	64	2	132	99
P	g	27	30	28	38	31	44	65	55	63
Cu	mg	108	98	105	141	121	131	330	206	280
Se	mg	1,8	1,5	1,6	2,4	1,9	2,2	5,6	3,8	4,8
Vit. A	IU x 1000	81	nad 150		nad 150			nad 150		
Vit. E	mg	1070	1050	1370	1930	1280	1358	4540	2870	3740

Ke konci březosti je třeba dbát na zásobení Na (protože nedostatek zpomaluje nejen střevní činnost klisny, ale také odchod střevní smolky u nově narozeného hříběte) (Meyer, 2003). Zásobení mikroprvky má v tomto období také zásadní význam, protože plod si hromadí v játrech zásoby železa, zinku, mědi a manganu pro využití v období po porodu. Tato nutriční strategie hříběte ukládat si mikroprvky během březosti se vyvinula proto, že kobyli mléko obsahuje poměrně nízké hladiny mikroelementů (Pagan, 2009). Minerální potřeba stopových prvků u klisen březích, v posledních 4 měsících březosti a laktujících je uvedena v Tab 3.

Tab. 3 Minerální potřeba stopových prvků u klisen březích, vysokobřezích a laktujících, živá váha klisny 600kg (Sedláček, 2009)

	kalcium (g)	fosfor (g)	magnesium (g)	měď (mg)	zinek (mg)
Březí	30	18	12	120	600
Vysokobřezí	45	30	13	240	600
Laktující	61	46	15	120	600

Na územích s trvalým nedostatkem Cu, Se a J v půdě se musí tyto stopové prvky doplnit, protože nedostatek Cu, Se a J negativně ovlivňuje vývoj plodu, jeho vitalitu, zčásti také kvalitu mléka (Meyer, 2003). Selen také pomáhá snižovat výskyt zadržetí lůžka po porodu. Zdá se, že extrémní nedostatek Se podporuje potraty (Meyer, 2003). Podle Ludvíkové (2008) se v chovech s nedostatečným stavem zásobení selenem vyskytuje nutriční myodegenerace. Matky všech postižených hříbat měly selenu nedostatek. Příčinou nedostatku selenu je dlouhodobý příjem krmiva, které bylo vypěstováno oblastech deficitních na Se. U hříbat pak neadekvátní zásobení matek selenem v době gravidity a laktace způsobuje deficit Se. Nejvíce deficitní oblasti se v České republice nacházejí v západních, severních, severovýchodních Čechách a na severní Moravě (Ludvíková, 2008). Tyto údaje ukazují, že krmení v poslední třetině březosti ovlivňuje placentální efektivitu a obsah kolostrálních IgG (Hammer a kol., 2009).

Sedláček (2009) uvádí, že v pokusu kdy jedna skupina klisen byla poslední 4 měsíce před porodem příkrmována mineráliemi s větším obsahem mědi a druhá skupina klisen mineráliemi bez zvláštního přídavku mědi, u dvouměsíčních hříbat nebyl rozdíl v obsahu mědi v krvi výrazný. Při vyšetření osmiměsíčních hříbat byl rozdíl v obsahu Cu významný a riziko vzniku osteochondrosy téměř potlačeno. Kritický význam ve výživě vysokobřezích klisen má vitamin A. Studie Kentuckého výzkumného centra ukázaly, že pokud byly klisny krmeny pouze senem, bez možnosti pastvy a bez suplementace vitamínu A, byl následně výrazně redukován růst jejich hříbat. Přidávání vitamínu E ke konci březosti může zvýšit množství IgA a IgG (protilátky) v mlezivu (West, 2002).

Pastva s rozmanitě botanicky složeným zeleným krmivem, nepřiliš bohatým na bílkoviny, pobyt na světle a vzduchu, jakož i dostatečné možnosti pohybu představují nejpříznivější předpoklady pro nerušený, normální vývoj plodu (Meyer, 2003).

2. Veterinární prevence a nemoci klisen

Každým rokem hyne mnoho narozených hříbat ihned nebo brzy po narození a dochází také ke ztrátám plemenných klisen při porodu. Tyto škody nejsou jen ztrátou pro jednotlivce, ale zasahují velmi pronikavě do celého chovu koní (Najbrt a kol., 1982). A přece je možné tyto ztráty, které se rok co rok opakují, omezit, ošetřuje-li chovatel správně březí klisnu a narozené hříbě.

2.1 Porod

Porod probíhá poměrně snadno vzhledem k anatomické stavbě pánve klisny umožňující lehký průchod plodu porodními cestami (Dušek, 1999). Pomoc při porodu se proto zaměřuje zejména na hygienu porodu, případně na lehkou pomoc v poslední fázi vypuzení plodu a na ošetření klisny a hříběte po porodu (Dušek, 1999).

U matky věnujeme pozornost zejména odchodu plodových obalů, který trvá v normálním případě asi hodinu. Vypuzením plodových obalů začíná poslední stádium porodu a počátek involuce dělohy. Lůžko je vypuzováno od hrotu rohů děložních a za pupeční cévy obráceno naruby, tak že takto vypuzené lůžko je bílé svým alantoidovým povrchem (Kudláč, 2000). Naopak při zadržování lůžka je vybaveno lůžko sametově červené svými 2mm velikými mikroklky. Průměrná celková váha plodových obalů plnokrevných klisen je 5,7 kg. Obecně se soudí, že odchod plodových obalů má proběhnout od 0,5 do 1,5 hodin po porodu klisny (Kudláč, 2000). Pokud se tato doba prodlužuje na více než 3 hodiny, je vhodné aplikovat oxytocin, při delším prodlužování je pak třeba obaly vyjmout (veterinární lékař) (Dušek, 1999). Oxytocin je Kudláčem (2000) doporučován vzhledem k tomu, že děloha po porodu je velmi citlivá na poranění a teprve po neúspěšných pokusech provádět manuální vybavení zadržovaného lůžka. Po zčištění je vhodné překontrolovat celistvost obalů (Dušek, 1999). Na lůžku můžeme nejen zjistit, zda jeho některá část chybí, ale i stav a kvalitu úživné plochy dělohy, staré jizvy a poranění (Kudláč, 2000). Pokud část obalů zůstala v děloze je nutné dělohu ihned řádně ošetřit (Dušek, 1999). Involuce dělohy je za normálních podmínek ukončena do 10 dnů po porodu (Kudláč, 2000).

2.2 Veterinární prevence

Vakcinace klisny 3 – 4 týdny před porodem pomocí dostupných a vhodných očkovacích látek zajišťuje maximální pasivní ochranu hříběte. Očkování proti tetanu nemusí být vždy spolehlivé k ochraně hříběte, a proto ve všech případech, kdy očkovací stav klisny je nejistý, nebo kde bylo očkováno více než 6

měsíců před porodem, mělo by hříbě při narození dostat přiměřenou dávku proti tetanu. Jedná se o rutinní postup bez ohledu na vakcinační stav klisen (Knottenbelt, 2004). Březí klisny se mají očkovat tři až pět týdnů před ohřebením, a to nejen pro nebezpečí zadržení lůžka jako zdroj tetanu, ale obecně i pro zajištění prostupu protilátek do mleziva a s ním do novorozeného hříběte (Lesté-Lasserre, 2008).

Za základní preventivní opatření proti herpesvirovému zmetání klisen bývá u nás považována vakcinace, i když tato metoda prevence není zcela spolehlivá (Celer a kol., 2000). V zásadě existují dva základní typy vakcín - atenuované a inaktivované. Vakcíny atenuované obsahují živý, ale oslabený virus. Použití těchto vakcín představuje riziko intrauterinní infekce plodu. z těchto důvodů se v současné době použití těchto vakcín u březích klisen v celosvětovém měřítku omezuje (Celer a kol., 2000). Vakcíny inaktivované jsou naopak zcela bezpečné, ale bohužel velmi málo účinné. V poslední době se intenzivně vyvíjejí tzv. DNA vakcíny, které jsou zcela bezpečné (Celer a kol., 2000). Revakcinace březích klisen na začátku pátého, sedmého a devátého měsíce gravidity může výrazně snížit prevalenci herpesvirového zmetání v chovu (Celer a kol., 2000). Postinfekční i postvakcinační imunita mají pouze krátké trvání (3 - 5 měsíců) a zvířata mohou být poté znovu očkována. Výhodné je udržovat pravidelnou vakcinací protilátkovou imunitu celého stáda (Molíková a Celer, 2008). Tam, kde se vyskytují problémy s bakteriálními infekcemi při odchovu hříbat, je vhodné klisny v tomto období ještě imunizovat i proti ochromě hříbat (Sedlinská, 1998).

Na ochranu hříbat, koní i pastvin proti parazitózám se doporučují pravidelné rozbory trusu a podle jejich výsledků pak podávání odčervovacího přípravku. V praxi se doporučuje podat alespoň na jaře před zahájením pastvy a podruhé na podzim po ukončení pastvy (Navrátil, 2000).

Samozřejmostí je pravidelné ošetřování pastvin. U březích klisen je obzvláště důležité věnovat pozornost i složení pastvy. Bylo zjištěno, že pozření kostřavy luční kontaminované *Claviceps* spp. způsobuje prodloužení březosti, potraty, předčasné protržení chorioallantoisu a snížení vylučování prolaktinu. Březí klisny mohou spásat kostřavu, ale je potřeba ji z pastvin odstranit během posledních 90 dní březosti (Espy, 2009).

2.3 Nemoci a poranění klisen během a po porodu

Všechny poranění hráže se u klisen vyskytují spontánně po prudkých a silných porodních pochodech. Další příčinou je špatná poloha, postavení a držení ze strany hříběte (Wintzer a kol., 1999). Nejčastěji nacházíme tržné rány a zhmožděniný pochvy u prvniček a u klisen s nadměrně vyvinutým plodem. Pro

další použití klisny k chovu jsou nejzávažnější tržné rány na horní komisuře pochvy, kde vadným nebo neúplným zhojením dochází k nasávání vzduchu do dělohy, a tím ke katarům děložního krčku a dělohy, způsobujícím neplodnost. V případě poranění pochvy se po ukončení porodu doporučuje okamžité ošetření (Wintzer a kol., 1999).

Spontánní ruptury dělohy mohou také vzniknout na konci gravidity (pády, údery zvířat), ale častěji k nim dochází v průběhu porodu (nepravidelné polohy, velký plod, předávkování uterotonik nebo jejich podání v nevhodné době, déle trvající torze děložní nebo neproduktivní poporodní stahy (Kudláč, 2000).

Zhmožděnin se hojí pravidelně bez dalších zásahů během 8 až 14 dnů.

Pro život klisny jsou nebezpečné tržné rány krčku děložního nebo dělohy, při nichž nezdíka dochází k vnitřnímu krvácení do dutiny břišní nebo do dělohy (Wintzer a kol., 1999). Jestliže vzniknou úplné ruptury, pak pronikají do rektouterinní nebo vesikouterinní výdutě (nebezpečí výhřezu střev) (Kudláč, 2000). Při rozsáhlých poraněních krčku je potřebné očekávat vyvinutí pneumometry (Wintzer a kol., 1999).

2.3.1 Zadržení lůžka

Zadržení lůžka je označení pro stav, kdy nedojde k uvolnění placenty, plodové obaly po narození posledního mláděte nejsou z dělohy vypuzeny (Kudláč, 2000). Časové období po porodu (od přestřihnutí pupečního provazce) až po involuci mateřských genitálií na předgravidní stav se nazývá puerperium. U klisny se plodové obaly uvolňují během 30ti minut až 3 hodin po porodu. Jak se tento čas překročí, hovoříme o zadržení lůžka (Wintzer a kol., 1999). Po těžkých, vlečících se porodech a po potratech je potřeba předpokládat zpomalený odchod lůžka (Wintzer a kol., 1999). K zadržení lůžka dochází v průměru po 3- 8 % porodů (Kudláč, 2000).

LÉČBA

- Aplikace oxytocinu
- Odborné vytažení lůžka tahem
- Výplach vlažným sterilním roztokem NaCl
- Aplikace antibiotik

2.3.2 Endometritis

Endometritis (zánět dělohy) vyvolaný specifickými choroboplodnými zárodky. Jak je bakteriologické vyšetření pozitivní, nejčastěji se dokáže přítomnost beta-hemolytických streptokoků (*Streptococcus zoepidemicus* a *equisimilis*). Dále následují *Escherichie coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, kvasinky, plísně, koagulázopozitivní stafylokoky a nebo *Klebsiella pneumoniae* (Wintzer a kol., 1999). K infekci

endometria může u klisen dojít při kopulaci, během nebo po porodu, ale může k ní dojít i následkem nehygienických vyšetřovacích a léčebných metod (Wintzer a kol., 1999). Při pravidelné involuci dělohy jsou tyto zárodky z dělohy vyloučeny, a tak zneškodněny. Je tedy důležité vědět, že k infekci dojde jen tehdy, když nefunguje tzv. samočistící mechanismus a nebo patogenita původců a infekční tlak jsou příliš silné (Wintzer a kol., 1999)

PŘÍZNAKY

- výrazné hlavně v době akutního průběhu (po porodu, po zmetání, po připuštění).
- Vaginální výtok (šedé nebo žluté barvy)
- Červená sliznice pochvy a nadměrně vlhká
- Stěna dělohyje velmi drsná, zrnitá nebo tenká a ochabnutá

DIAGNÓZA (Wintzer a kol., 1999)

- stanovuje se klinickým vyšetřením
- bakteriální vyšetření sekretu z dělohy

LÉČBA

- výplach sterilním fyziologickým roztokem
- aplikace antibiotik (penicilin, neomycin apod.)

PROGNÓZA

- u akutní endometritidy je příznivá
- u chronické endometritidy pochybná až nepříznivá
- prognóza závisí i na věku klisny (Tab. 4)

Tab. 4 Procentuální vyjádření březosti během sezóny u klisen s endometritidou v poměru k jejich věku (Wintzer a kol., 1999)

Věk	postižené	březí	%
do 8 let	42	34	81
9 - 12 let	51	38	75
13 - 16 let	45	27	60
17 - 20 let	37	17	46
21 let a více	17	7	41

PREVENCE

- Správná výživa, obsahující všechny výživné složky (bílkoviny, uhlohydráty, minerální látky, vitaminy) i rozmanitá krmiva (kromě ovsa a sena i zelená píče, řepa, mrkev)

- Čistota při porodu se vztahuje nejen na porodní oddělení nebo box připravený i porodu, nýbrž i na pomocný zásah při porodu.
- Včasné odborné ošetření problémů u klisny po porodu nebo po zmetání. Při zmetání každý zmetaný plod podrobit vyšetření.

2.3.3 Pyometra

Pyometra představuje zvláštní formu chronické endometritidy. Nemoc se vyskytuje po odumření plodu, po neúspěšné indukci potratu, po dlouhotrvajícím porodu a po patologicky probíhajícím puerperiu (Wintzer a kol., 1999).

PŘÍZNAKY

- Hnisavý nebo hnědý výtok z pochvy
- Snížení kondice
- Horečka
- Červená sliznice pochvy

LÉČBA

- Aplikace prostaglandin F_{2alfa}
- Výplach fyziologickým roztokem NaCl
- Aplikace estrogenů (první, třetí a pátý den ošetření)
- Aplikace penicilinu, při potvrzení infekce Streptococcus zooepidemicus

PROGNÓZA

- Závisí na stupni onemocnění
- Při zavřených formách pyrometry s narušením celkového zdravotního stavu jsou vyhlídky na úspěch nejisté

2.3.4 Výhřez dělohy a konečníku

K výhřezu dělohy, poměrně řídkému onemocnění, dochází po těžkých a dlouho trvajících porodech nebo i spontánně po normálním a lehkém porodu.

LÉČBA

- Dělohu se zbaví plodových blan a očistí se fyziologickým roztokem
- Děloha se vtlačí zpět (reponujeme) nejsnáze u klisny, která stojí.

Další komplikací v průběhu porodu je výhřez konečníku. Příčinou této komplikace je silná porodní činnost, břišní lis, nadměrné uvolnění závěsného aparátu, přeplnění orgánů a dlouhotrvající pomoc při porodu (Wintzer a kol., 1999).

2.3.5 Zánět mléčné žlázy

U klisen s mastitidou během laktace (52,1 % postižených zvířat), stejně jako u klisen, u kterých se zánět vyvinul bezprostředně po porodu (9,1 % pacientek), by se mohla vyšetřovací technika CMT dobře uplatnit. V izolovaných zárodcích dominovali grampozitivní bakterie, nejčastěji Beta-hemolytické streptokoky, stafylokoki a E.coli (Wintzer a kol., 1999).

PŘÍZNAKY

- Malátnost
- Odmítání krmiva
- Zvýšení teplota

LÉČBA

- Lokální podání antibiotik

PREVENCE

- Hygiena mléčné žlázy
- Pravidelná kontrola mléčné žlázy

3. Mlezivo

Mlezivo (neboli colostrum) je první krmivo novorozených hříbat s velkou výživnou hodnotou, lehkou stravitelností a mírně projímavým účinkem (Kudláč, Doležel a kol., 2000). Složením se kolostrum významně liší od normálního (zralého) mléka (Reece W., 2011). Produkce mleziva trvá pouze prvních několik dní po porodu (zpravidla 5 dní). Je to nažloutlý, hustý, lepkavý, často jako hlenovitý, vláknitě se táhnoucí sekret mléčné žlázy, který má hořkoslanou chuť a specificky nevýrazný zápach. Bezprostředně a první dny po porodu může být načervenalý v důsledku přimísení krve z prasklých kapilár (Kudláč, Doležel a kol., 2000). U klisen se prekolostrum vytváří již před porodem (může být již 2 – 4 týdny před očekávaným termínem porodu) a signalizuje nám přicházející porod. S blížícím se porodem se sekret mění na kolostrum. Vlivem oxytocinu dochází k vytlačování sekretu do mlékovodů a do cisterny struku a jeho hromadění v mléčné žláze či nevhodné chovné podmínky mohou zapříčinit předčasné odkapávání či odtékání. Při takovémto předčasném výtoku mleziva z mléčné žlázy dochází ke ztrátám imunoglobulinů potřebných pro novorozené mládě (Kudláč, Doležel a kol., 2000). Klisny, které předčasně spouští mléko po dobu delší než 24 hodin před porodem mívají nižší koncentraci kolostrálních IgG než klisny, které předčasně nelaktují. Proto je důležité nevystavovat klisnu stresu (Koterba a Drumond, 1990).

Rodí se tedy agamaglobulinemické. A to, i když jsou T-lymfocyty přítomny od 100. dne březosti. B-Lymfocyty produkují a vylučují imunoglobulin od 180. dne březosti, ale počet cirkulujících B-lymfocytů je asi třetinový než u dospělého koně, plně výše dosáhne hříbě asi ve 3 týdnech (Koterba, 1990). Proto je hříbě plně odkázáno na příjem protilátek v kolostru a tak zejména pupek při jeho nedostatečném nebo pozdějším ošetření představuje nejčastější bránu pro vstup infekce. K tomu, aby se hříbě úspěšně ubránilo infekci, musí v prvních hodinách po narození přijmout takové množství kolostra, aby hladina sérových protilátek dosáhla alespoň 8,0 g/l (Sedlinská, 2009). Krevní testy hříbat na sérový IgG ve 20 až 24 hodinách věku hříběte se stala běžnou praxí v kvalitních chovech, což ale neumožňuje zavést dostatečná nápravná opatření (Knottenbelt, 2004). Od 18. až 20. hodiny věku je střevní absorpce kolostrálních protilátek prakticky nulová a tak nápravná opatření po této době musí zahrnovat intravenózní podání plazmy (Knottenbelt, 2004).

Čistě ošetřené vemeno a oddojení prvních stříků mleziva, které obsahují statisíce mikrobiálních zárodků, je základní podmínkou prvního napájení. (Rob a kol., 1973). Týdenní hříbata by měla pít asi 1,5 minuty, pět až sedm krát za hodinu (Paradis, 2006).

Klisny produkují přibližně 3 % jejich tělesné hmotnosti mléka/den po dobu prvních 3 měsíců laktace (12 – 13 l na 450kg klisnu) (Paradis, 2006). Vyhledání mléčné žlázy se hříbě musí nejdříve naučit a, i když je včasnost napití důležitá, nenutíme hříbě předčasně vstávat. Hříbě je přitahováno k vemeni matky vrozenými instinkty, které jsou závislé na vizuálních a čichových (vůně) smyslech (Hayes, 1987). Může být nejdříve přitahováno k hrudi, břichu a nakonec k oblasti vemene, kam je nepochybně přitahováno vůní vycházející z mléčné žlázy klisny. Jen u slabších jedinců je vhodné hříběti pomoci nalézt vemeno klisny, aby došlo k prvnímu napojení mlezivem. Hříbě by mělo poprvé stát na vlastních nohách během hodiny po narození. Je tam značná variabilita v závislosti na velikosti a síle jednotlivce. Některá hříbata se mohou dostat na nohy do patnácti minut a jiným to může trvat 90 až 120 minut. Nicméně na konci tohoto intervalu už vstupujeme do období, které může znamenat, že hříbě je abnormální a je vyžadována odborná pomoc (Hayes, 1987). Ve studii Zurek a Danek (2011) byly zjištěny pokusy o postavení v průměru 21 minut po porodu a s každou hodinou stoupl podíl času, který hříbata trávila ve vzpřímené poloze. Čas prvního napití byl spojen s prvním stáním (Zurek a Danek, 2011). Sací reflex se u hříběte vytváří přibližně do 20 minut od porodu a k prvnímu napití obvykle dojde do 2 hodin po porodu. Z pozorování klisen a hříbat ve stájích a na pastvě vyplynulo, že normální hříbata úspěšně sají z každého struku stejným počtem. Pozorování také ukázala, že v průběhu prvního týdne života hříběte, klisny pomáhají při hledání struku přesunem do vyvýšené pozice (Paradis, 2006).

3.1 Význam mleziva

Mateřské mléko, jak bylo prokázáno, je nejlepším zdrojem výživy. Chovatel si musí uvědomit, že maximální množství mleziva musí hříbě dostat během prvních 24 hodin po porodu, protože koncentrace Ig v kolostru klisny se po prvním sání rapidně snižuje z důvodu naředění tvořícím se mlékem (Bečvářová, 2009). Hříbata stejně jako ostatní mláďata hospodářských zvířat s epiteliochoriální placentou (také zvanou nepravou, kráva, ovce, prasnice), kde protilátky přes placentu neprocházejí, se rodí bez protilátek a nemají schopnost si tyto protilátky sami vytvořit. Tato placenta má 6 bariér, přes které nelze transportovat větší molekuly, jako například imunoglobuliny, z krve klisny do krve hříběte. V porovnání s dospělými koňmi, je imunitní reakce hříbat pomalejší a slabší, proto může novorozené hříbě rychle propadnout infekci, které představují pro dospělé koně menší problémy (Sedlinská, 1995). Selhání imunitního přenosu prostřednictvím kolostrální absorpce Ig je časté a odpovídá za velkou část novorozenecké nemoci a úmrtnosti novorozených hříbat (Wlodarczyk-Szydłowska a kol., 2005). Aby bylo hříbě schopné bránit se infekčním zárodkům, které je obklopují v životním prostředí, potřebuje je získat již hotové právě z mleziva. Na pasivním příjmu mateřských protilátek závisí schopnost hříbat

odolat běžným infekcím (Sedlinská, 1995). V prvních hodinách po narození je v žaludcích novorozenců hříbat jen málo kyselin a enzymů a tak přecházejí imunoglobuliny neporušené do střev a dochází k jejich vstřebávání. Střevní sliznici prostupují nejrychleji tzv. gama-globuliny a právě po 24 hodinách dochází k jejich rychlému poklesu. Dochází i ke snížení obsahu bílkovin a stoupá obsah tuku a laktózy. Rostoucí obsah laktózy zajišťuje termoregulační schopnosti hříběte a zvyšující se intenzitu jeho pohybové aktivity (Sobotková a kol., 2009). Klesá i prostupnost gamaglobulinů střevní sliznicí a po 36 hodinách je již bezvýznamná. Po této době se sliznice střeva hříběte uzavírá a dochází již ke klasickému trávení proteinů. Během prvních 4 – 8 týdnů života hříběte je imunitní obrana a ochrana před infekcí svěřena pasivně převedenými kolostrálními imunoglobuliny z mléka (Włodarczyk-Szydłowska a kol., 2005).

Další význam kolostra (laktogenní imunita) je rovněž díky zdroji antiinfekčních faktorů (lyzozym, komplement apod.). Proto nedostatečné napití mléka nejenže nechrání před infekcí, ale hříbě není ani vybaveno schopností reagovat na zánět (Toman a kol., 2009).

Frekvence sání u hříbat je zpočátku vysoká a s prodlužující se délkou od porodu se snižuje (Kudláč, Doležel a kol., 2000). Hříbě z počátku pije až 70x za den po dobu 1 – 2 minuty (asi 150 – 250 ml mléka). Udává se, že by hříbě mělo vypít tři litry mléka v průběhu 12 hodin po narození, aby získalo co nejvíce protilátek a vybudovalo si imunitu a odolnost proti běžným infekcím pro první měsíc života. (Sobotková a kol., 2009). Od 2 týdnů věku hříbata snižují frekvenci sání na čtyřikrát za hodinu (Buechner-Maxwell, 2005).

Zda má hříbě dostatečný přísun mléka chovatel pozná podle jeho stavu a chování (naplnění dutiny břišní, svalový tonus, lesklost srsti, aktivita a samostatné sání, klid) a jeho přírůstků. Příjem mléka se mezi hříbata významně liší a rozdíl jsou podle stáří po porodu, je vyjádřen jako denní množství mléka na tělesnou hmotnost hříběte (v %) a nebo na g přírůstku tělesné hmotnosti (Ofteidal O.T. a kol., 1983). Publikované přírůstky pro hříbata, která při narození vážila 60 kg jsou 0,18 kg/den během prvních 2 týdnů po narození, v další studii hříbata plnokrevníků ve věku 2 - 30 dnů měla přírůstky 1,5 kg/den (Bečvářová, 2009). Studie ukázaly, že hříbata spotřebovávají mezi 20 – 27 % jejich tělesné hmotnosti ve formě mléka. Na základě těchto informací může 50ti-kg hříbě spotřebovat 12,5 l mléka za den (Buechner-Maxwell, 2005). Kontrola sání by měla proběhnout hlavně v prvních sáních hříběte a pokud hříbě nepije dostatečně nebo není aktivní k vyhledávání mléčné žlázy klisny je třeba pomoci mu nastrčením struku do tlamy a vytlačení mléka. Na každý gram přírůstku hmotnosti hříběte se potřeba 0,37 g bílkovin a 8,3 kcal v 11 dnech věku, 0,26 g bílkovin a 6,7 kcal v 25 dnech věku a 0,30 g bílkovin a 7,8 kcal v 39 dnech věku (Ofteidal a kol., 1983). Dle Martin a kol (1992), na 1 kg hmotnosti spotřebují hříbata 12,8 kg mléka (11 – 18 dní věku), 15,7 kg mléka (30 – 44 dní věku) a 16,4 kg mléka v 60 – 74 dnech věku.

Je-li kontrola provedena včas (9 - 12 hodin porodu), můžeme předejít FPT. Pro kontrolu novorozených hříbat v rámci prevence FTP se používají různé testy pro detekci hladiny imunoglobulinů, patří sem např. fotometrické a vizuální odečítání zinksulfátové reakce, radiální imunodifúze, glutaraldehydový test, refraktometrické stanovení koncentrace bílkovin v séru a ELISA. Laboratorní metody stanovení imunoglobulinů jsou poměrně pracné a časově náročné. Komerční testy zatím nejsou běžné a v případě, že existují, jsou drahé a tedy nevhodné pro preventivní vyšetření všech narozených hříbat ve velkých chovných zařízeních (Sedlinská, 2005).

- Refraktometrie krevního séra hříbat (senzitivita: 94,11. specifita: 83,30 a prediktivní hodnota: 88) - rychlé využití (výsledek lze získat ihned po oddělení krevního séra). Refraktometr zjistí celkovou koncentraci bílkovin v krevním séru, stanovenou indexem lomu. Lze předpokládat, že každá změna indexu lomu odráží změny v příjmu a/ nebo absorpci kolostrálních imunoglobulinů. Celkové bílkoviny v séru v koncentraci 44 g/ l, odpovídá koncentraci imunoglobulinů cca 10 g/ l a mohou být přijaty jako kritická mez pro FPT. Je možné refraktometr využít pouze pro detekci FPT u novorozených hříbat, protože celkový obsah bílkovin v krevním séru se postupně mění (Sedlinská, 2005).
- radiální imunodifúze (RID) - metoda pro kvantifikaci imunoglobulinů a C3 (třetí složky komplementu) (Toman, 2009). Test s použitím skleněné desky a vzorku séra, výsledky se odečítají při pokojové teplotě a zvlhčeném vzduchu po 24 hod. difúze a skutečné hodnoty jsou odvozeny z kalibrační křivky (Sedlinská, 2005).
- fotometrické a vizuální odečítání zinksulfátové reakce - 25 mg síranu zinečnatého naředíme s 100 ml vody. 25 ml testovaného séra smícháme s 1,7 ml síranu zinečnatého, pH 5,8. Směs protřepeme a necháme stát při pokojové teplotě 2 hod.. Hustota zákalu je přímo úměrná koncentraci imunoglobulinů a může být stanovena vizuálně nebo spektrometricky. Koncentrace imunoglobulinů vyšší než 4 g/ l, odpovídá hustotě zákalu nedovolující čtení textu přes zkumavku. Vizuální výsledek může být pro kontrolu porovnán s výsledkem zkoušky se sérem matky (Sedlinská, 1998). Použitelné pro orientační vyhledání FPT hříbat v terénních podmínkách (Sedlinská, 1995).
- glutaraldehydový test - princip metody spočívá v rozdílu srážení různých frakcí bílkovin v krevním séru ve zředěném roztoku aldehydu. Vzorky krevního séra smíchané na 10:1 s 10 % roztokem glutaraldehydu. Kontrola po 10, 60 a více než 60 minutách. Spolehlivé výsledky jsou získány pouze u hříbat s hladinou imunoglobulinů větší než 18 g/ l nebo nižší než 4 g/ l. Neomylnost testu při detekci FPT pouze 50 % (Sedlinská, 1995).

- ELISA - jeden z nejcitlivějších testů pro detekci protilátek na bázi imunoenzymatické reakce. Využívá schopnosti umělých hmot (např. polystyrenu) vázat proteiny a možnosti vázat enzymy na Fc fragmenty imunoglobulinových molekul.

Pro jedenáctidenní hříbě je dostatečné takové množství mléka, kdy denní průměr hrubé energie je 159 kcal/kg/den a denní průměrná výše dusíkatých látek 7,2 g/kg/den. To představuje pro hříbě celkovou hrubou energii 9830 kcal a 453,6 g/kg dusíkatých látek jako přísun do konce prvního měsíce života, které daleko překročily požadavky dospělého koně na základě tělesné hmotnosti (Buechner-Maxwell, 2005). Ve studii Martin a kol., (1992) se příjem mléka u hříbat zvýšil na 16,9 kg/den v 11 – 18 dnech po porodu až na 18,1 kg/den v 60 – 74 dnech věku hříběte.

Dostatečný příjem mléka se u hříbat odráží i ve frekvenci močení. Normální hříbata vyprodukují 148 ml/kg/den moči, což je přibližně 10 krát více než dospělý kůň v přepočtu na tělesnou hmotnost. Výsledkem je, že hříbata močí skoro každou hodinu. Méně časté močení může být známkou toho, že příjem mléka není dostatečný (Paradis, 2006).

Chovatelé musí zajistit, aby hříbě dostalo 1 g IgG/ kg tělesné hmotnosti co nejdříve po narození a ne po 12 hodinách. To předpokládá, že dělá vše pro zlepšení kvality mleziva matek, kontroluje mlezivo ihned po narození a dostatečně zajistí příjem v případě špatné kvality mleziva (Drogoul a Clement, 2006).

V ideálním případě by měly být všechna hříbata vyšetřena veterinárním lékařem a posouzena z hlediska pasivního přenosu imunoglobulinů ve věku 18 až 48 hodin věku (Paradis, 2006). Hříbata by měla mít v séru koncentraci IgG nad 80 g/l, aby byla zajištěna optimální pasivní imunita.

3.2 Složení mleziva

Mlezivo obsahuje větší množství bílkovin, bílých krvinek, vápenatých, hořečnatých a fosforečných solí a vitamínu A. Mléko klisen má nízký obsah energie a vysoký obsah vody ve srovnání s kravským i kozím mlékem, ale obsahuje vyšší obsah tuku, bílkovin, sušiny i laktózy (Paradis, 2006). Kolostrum je bohaté na syrovátkové proteiny, zvláště na imunoglobuliny. Dalšími významnými rozdíly mezi kolostrum a normálním mlékem jsou vyšší koncentrace vitamínu A, E, karotenu a riboflavínu v kolostru (Reece W., 2011). Při narození je laktóza, primární disacharid, v tenkém střevě a je primárním zdrojem energie. Každý mililitr mléka rané laktace (1 – 4 týdny po porodu) obsahuje 0,48 kcal stravitelné energie (SE) (Buechner-Maxwell, 2005). Na základě spotřebovaného objemu hříbata získávají 120 kcal/kg/den SE z mléka. (Buechner-Maxwell, 2005). Objem se snižuje na 19,3 % (98 kcal/kg/den brutto energie a dusíkatých látek 3,7 g/kg/den) v době, kdy hříbě dosáhne 39 dnů věku (Paradis, 2006). Podle výsledků

Martin a kol. (1992) fáze laktace má významný vliv na celkový obsah sušiny, laktozy a obsahu mléčné bílkoviny, ale obsah tuku a hrubé energie se nezmění.

Mlezivo obsahuje asi 2,7 % bílkovin, což odpovídá 27 mg dusíkatých látek/ml (Buechner-Maxwell, 2005). Ve složení mleziva dochází ke změnám a ve 2. – 3. týdnu po porodu již klisna produkuje normální mléko. Rozdíl ve složení mleziva a mléka v různých laktačních obdobích je uveden v Tab. 5 (Meyer, 2003). Specifická hmotnost má průměrně 1,0347 a viskozita je o něco nižší než u kravského mléka, je zásaditější než mléko masožravců.

Tab.5 Složení kobyliho mléka v závislosti na průběhu laktace (Meyer, 2003)

a) živiny

Stadium laktace	Sušina	hr. vláknina	Tuk	laktóza	energie
Týdny	G	g	G	g	MJ
Mlezivo	200	100	10	50	3,78
1. - 4.	107	27	18	62	2,44
5, - 8.	105	22	17	64	2,32
9. - 21.	100	18	14	65	2,12

b) stopové prvky

Stadium laktace	Vápník	fosfor	Hořčík	sodík	draslík	chlor	lyzin	methionin
Týdny	G	G	G	g	g	g	g	G
Mlezivo	0,9	0,8	0,5	6	1,4	1	14,4	2,1
1. - 4.	1,2	0,73	0,09	0,23	0,7	0,35	3,5-1,9	0,5-0,4
5, - 8.	1	0,6	0,06	0,19	0,5	0,3	1,7	
9. - 21.	0,8	0,5	0,045	0,15	0,4	0,3		

c) stopové prvky a vitaminy

Stadium laktace	Měď	zinek	Železo	selen	vit.A	vit.E	vit.C	vit.B 1	vit.B 2
Týdny	Mg	Mg	mg	mg	m.j.	mg	mg	Mg	mg
Mlezivo	1	6	1,3	0,04	3000	1,3	24		
1. - 4.	0,35	2,5	0,9	0,01	1-200	1,1	17	0,28	0,38
5. - 8.	0,26	2	0,7	0,005					
9. - 21.	0,2	1,8	0,5						

Novorozená hříbata přirůstají 1,3 až 1,5 kg/den během prvních 30 dnů života. Hříbata plnokrevníků dosáhnou do šesti měsíců věku 83 % jejich celkové tělesné výšky a přibližně 46% jejich tělesné hmotnosti (Paradis, 2006).

Mlezivo obsahuje protilátky, které pronikají do mleziva z krevního oběhu klisny v poměrně vysoké koncentraci. Mléčná žláza sama o sobě nemůže syntetizovat všechny imunitní bílkoviny, proto je přenos ovlivňován hormonálními vlivy. Přenos protilátek je uskutečňován pod vlivem estrogenů, jejichž hladina se v krvi klisny před porodem (i 2 až 3 týdny) výrazně zvyšuje. Transportovány jsou imunoglobuliny (IgG, IgM a IgA). Hladiny Ig mleziva jsou vyšší jak v séru tak v kolostru (Tab.6) (Toman a kol., 2000). Průměrná koncentrace IgG je asi 70 g/l (v rozmezí 30 až 120 g/l). V době porodu může u některých klisen kolostrální IgG přesáhnout 90 g/l . Za 2 – 3 hodiny po porodu klesá pod 5 g/l (Paradis, 2006).

Tab.6 Rozsah průměrných koncentrací imunoglobulinů v séru dospělých koní a v raném kolostru (g/l), sestaven dle údajů z 54 publikací citovaných Bartou (1993), (Toman a kol., 2000)

	IgG	IgM	IgA
Sérum	13,34 - 24,60	1,20 – 1,80	1,53 – 3,05
Kolostrum	89,12	9,57	1,23

Molekuly imunoglobulinů mají 2 základní funkce: rozpoznávací, spočívající ve specifické vazbě s cizorodým antigenem a funkci efektorovou, jejímž smyslem je jeho eliminace z organismu. U koní byly popsány IgA, IgG, IgM a IgE. IgG se dále rozlišují na IgGa, IgGb, IgGc a pro koně specifické IgG(T), díky charakteristickému rysu lymfocytů. Specifické protilátky (IgG, IgM) mohou být produkovány plodem již od 200. dne březosti v reakci na vakcinační antigeny (Koterba a Drumond, 1990).

IgG je u koní hlavním imunoglobulinem kolostra a tvoří až 80% sérového imunoglobulinu. Tvoří se hlavně po opakované imunizaci. Jelikož je v mlezivu klisen nejvíce zastoupen, je jeho koncentrace nejvyšší i v krvi novorozených hříbat po příjmu mleziva (Tab. 7 a 8). Vzhledem k tomu, že novorozená hříbata jsou imunologicky neaktivní, je IgG v séru zjištělné až ve 2 týdnech věku (Koterba a Drumond, 1990). Existuje však úzký vztah mezi koncentrací IgG v séru a celkovou koncentrací globulinu v séru klinicky zdravých hříbat bez hematologických abnormalit (Paradis, 2006).

Tab. 7 Průměrná koncentrace imunoglobulinů v kolostru (g / l) – Bárta a kol., 2008 (sestaveno z 11 publikací citovaných v laboratorní příručce (Bárta, 1993))

IgG	89,12
IgM	9,57
IgA	2,23

Tab. 8 Dynamika koncentrací imunoglobulinů u hříbat v prvních týdnech života (g / l) Toman a kol., 2000 (sestaveno dle údajů z 20 publikací citovaných Bartou 1993)

Věk (počet dnů)	IgG	IgM	IgA
Novorozené	0,08	0,22	Nezjistitelný
2	13,61	0,43	0,64
16	9,15	0,29	0,27
180	6,7	0,42	0,95

IgG(T) jsou primárně určeny k přímé neutralizaci toxinů a méně využívané v jiných imunologických reakcích (Toman a kol., 2000).

IgM tvoří asi 10% sérových imunoglobulinů a tvoří se hlavně po prvním kontaktu organismu s antigenem. Je dodáván kolostrem jen ve velmi malém množství a je metabolizován 3krát rychleji než IgG.

Imunoglobulin E (IgE) zprostředkovává imunitní reakce na parazity, ale může také způsobovat alergie. Studie Marti a kol. (2009) zjišťuje, že hladiny IgE v séru klisen, v mlezivu a v séru hříbat jsou ve vzájemném vztahu, ale význam převedení na hříbě není znám. Výsledky studie naznačují, že existuje minimální vztah mezi alergickou reakcí se zvýšenou hladinou IgE u kojící klisny a projevem alergie a hladinou IgE u hříběte a s největší pravděpodobností jsou dány genetickými faktory (Marti a kol., 2009). Hlavní funkcí IgA je ochrana sliznic, na nichž váže mikroorganismy, zabraňuje tím jejich adhezi a usnadňuje jejich eliminaci. IgE se zmnožuje u alergických chorob a vyvinul se jako mechanismus obrany proti parazitickým červům (Toman a kol., 2009).

Průměrná koncentrace kolostrálních IgG se liší podle plemene. Nejvyšší průměrná úroveň byla zaznamenána u mleziv arabských klisen a nejnižší úrovně byly zaznamenány u teplokrevných klisen (61 g/l oproti 40 g/l) (Koterba a Drumond, 1990).

Kromě protilátek obsahuje mlezivo velké množství lehce stravitelných bílkovin, které umožňují intenzivní růst. Dále obsahuje životně nezbytné množství vápníku, fosforu a hořečnatých solí. Díky nim mlezivo působí příznivě i na odchod střevní smolky, která by měla odejít během 24 hodin po porodu. I když je mnoho příčin proč dochází u hříbat ke snížení tvorby výkalů nebo prokazatelné změně ve struktuře výkalů, ale za prokazatelně nejvýznamnější se považuje nedostatečné napojení mlezivem (Paradis, 2006).

Nezanedbatelný je rovněž vysoký obsah vitaminů zabezpečující jeho dostatečnou zásobu pro první období života hříběte. Po narození mají hříbata v játrech jen minimální zásobu vitaminů a jejich přísun je nezbytný pro další zdraví a odolnost. Bezprostředně po porodu obsahuje mlezivo až 1000krát více vitaminu A (ve formě karotenů), 30krát více vitaminů B a 10krát více vitaminu C než mléko a rovněž i více vitaminu D a E (Rob a kol., 1973)

3.3 Absorpce kolostrálních imunoglobulinů

Jak už bylo řečeno hříbata se rodí agammaglobulinemická a při ochraně proti infekčním agens během několika týdnů života se musí spoléhat na absorpci kolostrálních IgG (LeBlanc, 2001). V prvních 24 hodinách zajišťuje imunitní ochranu narozených hříbat tzv. kolostrální imunita, zajišťující vysoké hladiny sérových imunoglobulinů chránící novorozence zejména proti sepsi a systémovým infekcím vyvolaným především bakteriemi z čeledi Enterobacteriaceae (Toman, 2009). Proteolytická aktivita v zažívacím traktu novorozeneckých hříbat je nízká a navíc je snižována inhibitory trypsinu obsaženými v kolostru. Kolostrální proteiny nejsou tedy natráveny, ale dostávají se do tenkého střeva téměř intaktní (Sedlinská, 1998). Specializované epitelové buňky v tenkém střevě jsou odpovědné za neaktivní příjem kolostrálních imunoglobulinů pinocytózou (Koterba a Drumond, 1990). Permeabilita tenkého střeva se poté rapidně snižuje tak, že za 24 hodin po narození tenké střevo již nemá schopnost absorpce imunoglobulinů (Bečvářová, 2009). Tyto protilátky přecházejí přes tenké střevo do krevního oběhu a vytvářejí tzv. pasivní imunitu (odolnost) mláďáte (Koterba a Drumond, 1990). Hříbě je pak tedy plně imunizováno. Část ze vstřebaných protilátek proniká i na sliznici respiračního traktu, který chrání před infekcí. Období snadného pronikání protilátek z krve na sliznici respiračního traktu je omezeno na dobu několika týdnů. Naopak jen v nepatrné míře mohou tyto protilátky pronikat zpět do střeva (Toman a kol.,

2000). První detekované protilátky se v periferní krvi objevují již za 1 a 2 hodiny po prvním napití kolostra. Za 12 až 24 hodin dosahuje hladina imunoglobulinů v krvi hříbat maxima (Toman a kol., 2000). Pasivně získané protilátky však začnou ihned po absorpci podléhat normálnímu katabolickému procesu. Pokles hladiny imunoglobulinů v prvních pár týdnech života plně odpovídá jejich poločasu rozpadu (IgG 20 - 23 dní) (Sedlinská, 1998). V dalších hodinách, kdy je proteolytická aktivita trávicího traktu již zvýšená. Je uchráněn jen IgA, obsahující specifický glykoprotein z buněk mléčné žlázy a tak ten prochází nestráven a brání střevním infekcím (Kudláč, Doležel a kol., 2000). Tato ochrana organismu se nazývá laktogenní imunita a přetrvává jen pokud jsou protilátky přítomny v aktivním stavu. Vzhledem ke krátkému poločasu rozpadu protilátek ve střevě musí být tato specifická imunita stále obnovována a její účinnost končí zároveň s odstavem (Toman a kol., 2000).

Podle Włodarczyk-Szydłowsky a kol. (2005), ikdyž je k dispozici kvalitní mlezivo a hříbě se i dostatečně napije, může narušená absorpce, opožděné napití a uzavření střevní stěny způsobit nedostatečné vstřebávání Ig. Vhodné chovatelské postupy mohou zvýšit šanci pro získání dostatečné odolnosti přenosu : chovatelé si musí být jisti, že hříbě přijme IgG co nejdříve po narození a ne až po 12ti hodinách (Włodarczyk-Szydłowska a kol., 2005).

Po 34 hodinách klesá množství protilátek v mlezivu na 30 % a po 3 dnech obsahuje již necelá 2 %. Pokud je hříbě dostatečně zásobeno protilátkami, měla by mu vytvořená pasivní imunita vydržet až do 35. dne po narození. Sérové hladiny imunoglobuliny jsou nejnižší mezi 1 až 2 měsíci věku (obr.2), (Koterba a Drumond, 1990).

Erhardt a kol. (2001) sledovali koncentrace sérových IgG u hříbat a klisen po dobu 6 týdnů po porodu. Průměrná koncentrace IgG v séru klisen byla přibližně 19,0 mg/ ml a výrazně poklesla během 24 hodin po porodu (13,8 mg/ ml). Hodnota IgG klesla na minimum 11,2 mg/ ml do 21 dnů a zvýšila se do 42 dnů po porodu (21,6 mg/ ml). Během prvních 4 hodin po porodu byla naměřena průměrná koncentrace IgG v mlezivu 54,5 mg/ ml. K výraznému poklesu na 10,1 mg IgG/ ml došlo za 9 - 12 hodin po porodu. Průměrná koncentrace IgG v séru hříbat se zvýšila za 5 - 8 hodin po porodu z 0,3 mg/ ml na 9,6 mg/ ml. Po 13 - 16 hodinách bylo dosaženo nejvyšší hodnoty IgG 15,7 mg/ ml. 35 den průměrná koncentrace IgG poklesla na 7,9 mg/ ml. Na konci sledování (42 den po porodu) se průměrná koncentrace IgG opět zvýšila na 11,2 mg/ ml. Nakonec bylo stanoven výskyt selhání pasivního přenosu FPT a částečného selhání pasivního přenosu PFPT z celkem 70 hříbat na 10% hříbat FPT (IgG pod 4 mg/ ml) a PFPT (IgG 4 - 8 mg/ ml) u 18,6 % .

Teprve kolem 35. dne života si organismus začíná sám vytvářet protilátky, a teprve zde vzniká aktivní imunita. (Rob a kol., 1973). Hříbata bez příjmu mleziva produkují imunoglobuliny dříve a rychleji, než hříbata, které mlezivo přijímají (Koterba a Drumond, 1990).

Rychlost absorpce imunoglobulinů z mleziva je nejvyšší v prvních 4 hodinách života hříběte. Zvyšující se objem plazmy snižuje koncentraci kolostrálně získaných protilátek. V šesti měsících věku pravděpodobně již hříbě nemá žádné protilátky získané od matky z mleziva (Koterba a Drumond, 1990).

Trvání pasivní ochrany závisí na několika faktorech (Koterba a Drumond, 1990) :

- na tom jestli je imunita přenosná z mleziva
- hmotnosti IgG hříběte ovlivní kvalita kolostra a jeho přijaté množství
- účinnost absorpce (maximální v prvních 6 hodinách a téměř nulová po 24 hodinách)

Knottenbelt, (2004) žádoucí koncentrace IgG (12 g/ l) ve věku 24 hodin života hříběte a účinný rozvoj imunity po 2 týdnech života. Ideální by měl být přesah pasivní a aktivní imunity tak, že v žádném okamžiku by neměla existovat fáze, kdy hříbě není dostatečně chráněno aktivní nebo pasivní imunitou nebo jejich kombinací. Pokud převod kolostrálních imunoglobulinů není z jakýchkoli příčin dostatečný, nemá hříbě dostatečnou ochranu mezi 2. a 8. týdnem věku. Ochranné hladiny IgG jsou přítomny pouze v případě koncentrace více než 6 g/ l. Tato hodnota je tedy minimální úroveň, kterou by mělo hříbě mít v jakékoliv fázi života. (Knottenbelt, 2004).

Pokud je absorpce kolostrálních protilátek dobrá (tj. IgG nad 6 g/ l), je hříbě nadále chráněno na celý život. Pokud je kolostrální absorpce střední, hříbě je pravděpodobně špatně chráněno v 5 až 7 týdnech věku

Když je kolostrální přenos špatný, není hříbě chráněno až do jeho vlastní tvorby protilátek IgG. Může trpět vážnými problémy, které ho mohou ohrožovat na životě, ale po 6 – 8 týdnech věku je u hříběte riziko onemocnění normální (Knottenbelt, 2004).

Pokles absorpce kolostrálních bílkovin souvisí s přechodnou proteinurií tím, že ve věku 6 – 12 hodin je pozitivní a poklesne o 24 – 36 hodin věku. Novorozenecká proteinurie pravděpodobně odráží absorpci a vylučování bílkovin (Paradis, 2006).

Protilátky vyrobené vlastním hříběcím imunitním systémem jsou zjištělné ve věku 10 až 14 dní věku, ale úroveň dospělých koní dosáhne až ve věku 12 až 14 týdnů. Vývoj imunitního systému je ukončen až v době pohlavního dospívání. S přechodem na aktivní imunitu vyžívají i mechanismy lokální imunity jako fagocytární schopnost makro i mikrofágů. Období přechodu pasivní imunity k aktivní je z hlediska odolnosti mláďete k infekci kritické (Kudláč, Doležel a kol., 2000). Období, kdy koncentrace kolostrálních protilátek poklesne natolik, že již nemohou poskytovat účinnou ochranu, avšak nejsou ještě schopna aktivní ochrany, jsou vystavena zvýšenému nebezpečí infekce, říkáme tzv. „imunitní okno“ (Toman, 2009).

Nedostatečný pasivní přenos lze zkontrolovat již ve věku 8 – až 10 hodin po porodu (Sedlinská, 2005). Není-li přísun protilátek dostatečný, nebo je-li opožděný (např. večerní porod a napití mleziva až ráno), potom hříbě snadno onemocní a uhynie, zvláště v zamořené stáji a v nepříznivých podmínkách prostředí. Kolostrum s každým sáním mláďete nebo vydojením mléčné žlázy rychle ztrácí svůj charakter a stává se více mléčným sekretem (Kudláč, Doležel a kol., 2000).

Josef Krejčí (2006) sledoval postnatální vývoj hladiny imunoglobulinů izotypů IgG, IgM a IgA ve skupině 52 hříbat anglického plnokrevníka a jejich matek od narození až do stáří pěti měsíců. Pomocí ELISA metody zjistil, že neúspěšný pasivní přenos kolostrální imunity byl jen u 4 hříbat (7,7 %). Koncentrace imunoglobulinů izotypů IgG a IgA v období prvních týdnů po porodu nejprve klesaly a pak po celou sledovanou dobu postupně narůstaly. V případě izotypu IgG koncentrace imunoglobulinů dosáhly hodnot dospělých zvířat již před koncem sledovaného období. Imunoglobuliny IgA však těchto hodnot v průběhu celého sledování nedosáhly. Koncentrace izotypu IgM relativně rychle narůstaly již od narození. Hříbata s nejnižšími počátečními hladinami kolostrálních imunoglobulinů vykazovala na konci sledovaného období nejvyšší nárůst hladin všech imunoglobulinových izotypů.

3.4 Kvalita mleziva

Mnoho různých faktorů může ovlivnit kvalitu kolostra, například období porodu, plemeno, věk a hmotnost klisny, pořadí laktace, výživa, program očkování, roční období a teploty (Włodarczyk-Szydłowska a kol., 2005).

Výsledky ukázaly, že klisny, které rodily poprvé, měly nejkonzentrovější mleziva, ale koncentrace Ig klesla na polovinu během tří hodin po porodu. Klisny rodící poprvé měli výrazně méně mleziva než klisny zkušenější. Za první tři hodiny byl průměrný objem mleziva 527 ml u prvorodičky a 1020 ml u klisen již rodících. Takže i celkový obsah imunoglobulinů byl u prvorodiček výrazně nižší. Bylo také zjištěno, že neexistuje žádný rozdíl v produkci mléka mezi oběma struky vemene. Ukázalo se, že nejvyšší koncentrace imunoglobulinů dosahovala mleziva klisen rodících potřetí.

K obdobným závěrům došla i Paradis (2006). Zjistila, že kolostrální IgG koncentrace je nejvyšší u klisen tří až desetiletých a střední hodnoty byly vyšší u plnokrevných a arabských klisen oproti klisnám teplokrevným.

Vincze a kol. (2010) v Národním hřebčíně Bábolnaměřili koncentrace imunoglobulinu (IgG) v mlezivu u 61 klisen Shagya a arabského plnokrevníka v sezoně 2007 – 2008. Obsah mleziva u všech vzorků

ukázal dobré hladiny IgG jak v mlezivu tak v séru hříbat 8 – 12 hodin po narození. V hodnocení druhých vzorků 24 hodin po narození byly u všech hříbat optimální hladiny IgG. (Vincze a kol., 2010).

3.4.1 Hodnocení kvality mleziva

Kvalita kolostra přímo souvisí s jeho hustotou a množstvím imunoglobulinů, které obsahuje lze změřit kolostroměrem nebo refraktoměrem (LeBlanc, 2001).

Metody hodnocení kvality mleziva (Knottenbelt, 2004) :

- Fyzický vzhled sekretu
 - hustý, lepkavý žlutý sekret bude pravděpodobně kvalitní
 - řídký, bílý nebo průsvitný sekret je téměř jistě nedostatečný
- Hustota mleziva
 - kvalitní mlezivo musí mít specifickou hmotnost vyšší než 1,065 a bude obsahovat minimálně 70g/l IgG
- Koncentrace cukru
 - čím více % cukru obsahuje mléko, tím větší je obsah IgG (tab 8) (Knottenbelt, 2004)

Použití subjektivních kritérií na posouzení kvality mleziva může být zavádějící. Nejlepší ukazatel dobré kvality mleziva je pravděpodobně jeho konzistence (lepkavější je lepší), spíše než jeho žlutá barva nebo hustota (Koterba a Drumond, 1990). Hustota mleziva je přímo úměrná obsahu IgG (Koterba a Drumond, 1990) (Obr. 2).

Zkušený chovatel má možnost si kvalitu kolostra zjistit změřením specifické hmotnosti, která má vliv na obsah imunoglobulinů v mlezivu. Pokud má mlezivo matky obsah IgG příliš nízký můžeme podáním kvalitního mleziva od dárce (nad 1 litr), umělého mléka nebo elektrolytu, do 9 - 12 hodin po porodu, zabránit FTP po požití mleziva nízké kvality (Chavatte-Palmer a kol., 2001). Kvalita mleziva hodnocená refraktometrem ukazuje vztah mezi obsahem cukru a koncentrací IgG (Knottenbelt, 2004) (Tab. 9).

Při posuzování kolostrální koncentrace IgG je také důležité vzít v úvahu celkové množství produkovaného mleziva. Klisny s mlezivem s nižší koncentrací IgG nemusí být problematické v případě, že klisna produkuje celkově velké množství mleziva (Paradis, 2006).

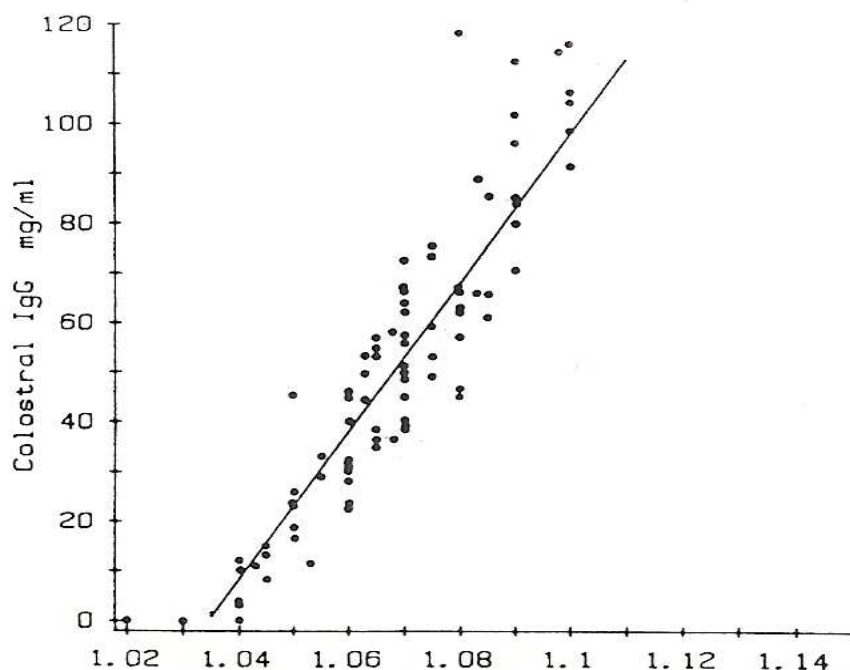
Mlezivo se specifickou hmotností 1,060 a více má obvykle dostatečné množství imunoglobulinů. Tuto hmotnost můžeme změřit pomocí kolostrometru. (obr. 5)

Tab. 9 Kvalita mleziva hodnocená refraktometrem ukazuje vztah mezi obsahem cukru a koncentrací IgG (Knottenbelt, 2004)

Obsah cukru (%)	IgG koncentrace (g/l)	kvalita kolostra
Pod 10 – 15	0 - 28	Chudé
15 – 20	28 - 50	Hraniční
20 – 30	50 - 80	Adekvátní
Nad 30	nad 80	velmi dobré

Když mlezivo dosahuje specifické hmotnosti nad 1,060, hřibě obvykle dosáhne koncentrace IgG v séru nad 50,0 g/l (Koterba, 1990). Přibližně 75 % hřibat přijme mlezivo, které má specifickou hmotnost pod 1,060 a bude mít koncentraci IgG v séru pod 40,0 g/l (Koterba, 1990).

Obr. 2 Vztah koncentrace IgG a hustoty mleziva (Koterba, Drumond, 1990)



Další možností pro posouzení kvality mleziva je index lomu mleziva, který může souviset s koncentrací imunoglobulinů. K tomuto posouzení použijeme refraktometr. Použitím refraktometru lze změřit kvalitu mleziva spolehlivě a rychle i v terénních podmínkách (Chavatte-Palmer a kol., 2001). Trochu skepticky se ke stanovení IgG refraktometricky staví Paradis (2006), která ji považuje za technicky jednoduché a levně proveditelné vyšetření, ale poměrně nepřesné jako ukazatel koncentrace IgG v séru hřibat.

Pro měření koncentrace imunoglobulinu G v mlezivu, mléce a vzorků séra byl vyvinut detekční systém ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (Erhard a kol., 2001). Je to jeden z nejcitlivějších testů pro detekci protilátek na bázi imunoenzymatické reakce (Toman, 2009).

Dr. Monica Venner a její kolegyně z Univerzity veterinárního lékařství v Hannoveru (2005) hodnotili vliv vybraných ukazatelů na kvalitu mleziva. Pro studii využili 36 teplokrevných klisen, jimž odebírali vzorky kolostra z obou struků vemínka. Mlezivo odebrali celkem pětkrát během prvních 12 hodin po ohřebení. V prvních šesti hodinách byl hříbatům zamezen přístup k vemeni, aby se zabránilo jejich sání. Pro měření hladin imunoglobulinů použili kolostrometr a refraktometr a k porovnání hodnot test ELISA.

3.5 Náhražky mléka

Když zhodnocené mlezivo neodpovídá požadavkům hříbat, je třeba využít jiné alternativy. K dnešnímu dni neexistuje na trhu žádná uspokojivá náhrada za kvalitní mlezivo a doporučuje se využití nespotřebovaného zmrazeného mleziva (Chavatte-Palmer a kol., 2001). Větší chovy často mívají zamražené kolostrum od starších klisen, hlavně pro prevenci špatné kvality mleziva u mladých klisen nebo při úhynu klisny po porodu. Chavatte-Palmer a kol. (2001) poukazují na testy provedené v jejich laboratoři, kde se ukázalo, že zmražené mlezivo může poskytnout uspokojivou imunitní ochranu jako kompletní náhrada za mlezivo. Kolostrum se uchovává v plastové lahvi zamražené na -20 °C a před použitím je nutné ho rozmrazit v teplé vodní lázni, jelikož vyšší teploty ohřevem mohou zdenaturovat obsažené protilátky (Bečvářová, 2009).

Mlezivo shromažďované v mléčných bankách by mělo mít vysokou koncentraci IgG (nad 7000 mg/dl, kolostrální specifická hmotnost nad 1,090) (Koterba, 1990). Obvykle se shromažďuje okolo 200 ml mleziva od klisen s vysokou kvalitou, aniž by to mělo vliv na jejich vlastní hříbě. Alternativně lze dojit klisny, které uhynuly po porodu nebo klisny jimž uhynulo hříbě (Koterba, 1990).

Mlezivo by mělo být zmrazeno v malé láhvi (250 ml) pro snadné rozmrazení a uchovávané zmražené při teplotě - 20 °C a koncentrace IgG by měla být stabilní alespoň po dobu 18 měsíců (Koterba, 1990). Mlezivo by mělo být rozmrazováno při pokojové teplotě nebo ve vodní lázni s teplotou, která nepřesahuje 38 °C (Koterba, 1990). Kolostrum lze podat buď z napájecí lahve, pokud má hříbě normální sací reflex anebo nejlépe žaludeční sondou (Bečvářová, 2009). Při napájení z lahve s dudlíkem bývá problém se zalitím, protože silným sacím reflexem přijme velmi lehce a rychle nabízené množství mléka z lahve za velmi krátký časový interval - otvor v dudlíku oproti struku klisny mu to totiž umožňuje. Tím nedochází k proslinění a polyká na jeden hlt až 5 - 10x větší množství mléka. Do žaludku se tak dostane rychle velké množství mléka, které žaludek dilatuje, čímž se zpomaluje

peristaltika (Dražan, 2002). Maximální objem na jedno podání je 0,5 l mleziva na 50 kg tělesné hmotnosti a poté je třeba počkat alespoň hodinu před podáním zbývajících objemu (Bečvářová, 2009). Byly zkoušeny i jiné alternativy k náhradě mleziva: mlezivo skotu, plazmatické IgG nebo vyvolání laktace u klisny (Drogoul a Clement, 2006). Kravské kolostrum je méně ideální z důvodu rychlého poločasu rozpadu bovinního IgG (9 dnů) v porovnání s poločasem rozpadu IgG klisny (26 dnů) Imunita získaná z kravského kolostra taktéž není pro hříbě kompletní (Bečvářová, 2009). Plazmatická koncentrace IgG nad 80,0 g/l je adekvátní.

Ve studii Chavatte-Palmer P. a kol. (2001) bylo zjištěno, že laktaci klisen je možné navodit do 2 týdnů po podání farmak a že některé klisny produkují dobré a kvalitní mlezivo. Cílem studie bylo přimět k laktaci neplodné klisny a zhodnotit produkci mléka. V prvním roce bylo použito 10 klisen a v druhém roce 12 klisen. V prvním roce klisny dostaly kortikosteroidy a v druhém roce stejné kortikosteroidy plus sulpirid nebo domperidon. 1 minutu před dojením dostaly injekčně oxytocin. V prvním roce všechny klisny začaly laktovat 1 - 5 den po ošetření s obsah IgG na 14 – 92 g/l. V druhém roce byly výsledky podobné jako v roce prvním, s vrcholem IgG v rozmezí 4,2 - 106,7 g/l a větší denní produkcí.

Kravské mléko je nutné upravit s přihlédnutím na jeho tučnost. Kravské mléko (podle tučnosti) zředit převařenou vodou v poměru 1 : 2 až 1 : 3 (aby výsledná tučnost byla kolem 1,2 %) a na 1,5 l této směsi přidat 15 g cukru, nejlépe hroznového (Glukopur) a podávat v lahvi s dudlíkem ohřáté na 38 °C (Navrátil, 2000).

Hříbě se napájí (Navrátil, 2000) :

- 1. týden - každé 2 hodiny po 0,5 l
- 2. týden - 7 krát denně 1 l, od 10. dne přikrmovat mačkaný oves
- 3. týden - 7 krát denně 1,5 l
- od 4. týdne - každé 4 hodiny (6.00 – 22.00 hod.), celkem 10,5 – 12 l
- od 12. týdne – postupně více zředit vodou

4. Materiál a metodika

4.1 Odběry vzorků

Vzorky mleziva byly odebírány v březnu a dubnu roku 2011 v Národním hřebčíně Slatiňany ve stádě Starokladrubských vraníků. Klisny (Tab. 10) byly ustájeny ve stejné stáji a měli stejnou krmnou dávku odpovídající normě – sušina 8,22 kg, SE_K 85,38 MJ, NL 982,6 g. Voda byla podávána ad libitum. Měsíc před plánovaným porodem byly přemístěny z volného ustájení do porodní stáje, nejprve na vazné stání a zhruba týden před porodem do porodního boxu.

Do osmého měsíce březosti byly pracovně využívány (pod sedlem či v zápřeži) a každý den od 9 hodin do 15 hodin byly ve výběhu. Vakcinace proběhla jednotně v měsíci listopadu kombinovanou vakcínou Duvaxyn IE-T Plus (Fort Dodge Animal Health, Netherlands). Odčervení bylo provedeno týden před očekávaným termínem porodu pastou Noromectin (NORBROOK, Severní Irsko).

Klislám byl týden před porodem změřen obvod hrudníku páskou EQUIMAX od firmy Pavo a výsledná hodnota v cm byla podle stupnice převedena na hmotnost klisny v kg (Tab. 11)

Tab. 10 Klisny zařazené do pokusu

číslo	Klisna	Jméno	rok naroz.	pořadí březosti	datum zapuštění	plemeník
1	407	Montana	1994	8	26.4.	Solo XXVI
2	432	Romy	1996	9	9.5.	Solo XXII
3	485	Barcia	2005	1	27.4.	Solo XXIV
4	388	Cantanela	1990	14	5.4.	Solo XXII
5	462	Montilla	2001	4	5.4.	Gss. XL
6	472	Falsa	2002	2	8.5.	Romke X
7	484	Samanada	2005	1	27.4.	Solo XXII
8	465	Xea	2001	3	3.4.	Solo XXII
9	443	Isca	1997	5	6.4.	Solo XXII
10	447	Batinea	1999	6	29.5.	Solo XXIV

Tab. 11 Hmotnost klisen týden před porodem

číslo	Klisna	Jméno	rok naroz.	hmotnost týden a.p. kg)
1	407	Montana	1994	695
2	432	Romy	1996	767
3	485	Barcia	2005	728
4	388	Cantanela	1990	805
5	462	Montilla	2001	805
6	472	Falsa	2002	731
7	484	Samanada	2005	731
8	465	Xea	2001	758
9	443	Isca	1997	677
10	447	Batinea	1999	735

Mlezivo bylo odebíráno ve třech časových obdobích – do 1 hodiny po porodu, 12 – 18 hodin po porodu a 36 – 42 hodin po porodu (Tab. 12) do čistých nádob, označeno číslem klisny a pořadím odběru po porodu (Obr. 1). Po vychladnutí bylo mlezivo zamrazeno v mrazícím boxu při teplotě – 20°C.

Tab. 12 Odběry vzorků po porodu a informace o porodu

číslo	Klisna	Jméno	datum a čas				pohlaví hříběte	komplikace
			porod	1.odběr	2. odběr	3. odběr		
1	407	Montana	8.4.	8.4.	9.4.	10.4.	Klisna	
			20.45	20.45	10.30	11.00		
2	432	Romy	18.4.11	19.4.	20.4.	21.4.	Klisna	
			19.00	19.00	13.15	15.30		
3	485	Barcia	17.4.11	17.4.	18.4.	19.4.	Klisna	
			16.20	16.20	9.00	9.00		
4	388	Cantina	13.3.11	13.3.	14.4.	15.4.	Hřebeč	
			18.10	18.10	11.45	11.30		
5	462	Montilla	22.3.11	22.3.	22.3.	23.3.	Klisna	
			6.30	6.30	18.00	8.00		
6	472	Falsa	19.4.11	19.4.	20.4.	21.4.	Hřebeč	natržená pochva, teplota 2 dny
			5.20	5.20	13.15.	15.30		
7	484	Samana da	8.4.11	8.4.	9.4.	10.4.	Klisna	zadržené lůžko, aplikace oxytocinu
			19.25	19.25	10.30	11.00		
8	465	Xea	13.3.11	13.3.	14.4.	15.4.	Hřebeč	
			23.45	23.45	11.45	11.30		
9	443	Isca	11.3.11	11.3.	12.3.	13.3.	Klisna	
			20.00	20.15	10.15	10.00		
10	447	Batinea	7.4.11	7.4.	nešlo	nešlo	hřebeč	předčasný porod, hříbě uhynulo
			2.45	2.45	odebrat	odebrat		

4.2 Metody stanovení

Celková bílkovina TP (g. 100ml⁻¹) byla stanovena refraktometricky přístrojem (model RHC-200/ATC, výrobce Lexi-Comp, Inc, Hudson Ohio) (Obr. 2). Principem metody je závislost indexu lomu na koncentraci bílkovin v mlezivu. Měření vychází z předpokladu, že koncentrace elektrolytů a malých organických molekul v séru je u všech pacientů natolik stálá a vzhledem k nesrovnatelně větší hmotnosti sérových proteinů je jejich vliv na index lomu zanedbatelný (Novák, 2002). Refraktometry jsou kalibrovány na standardní sérum a koncentraci proteinu lze odečítat přímo ze stupnice a dosahují přesnosti +/- 1 % a správnosti +/- 1 g. 100ml⁻¹ celkových bílkovin (Novák, 2002).

Postup práce: Kapku mleziva jsme pomocí pipety umístili na čisté sklíčko refraktometru (Obr. 3). Proti světlu jsme v zorném poli pomocí dělicí linky (dělí světlejší a tmavší část) odečítali hodnotu celkové bílkoviny v g. 100ml⁻¹. Po zapsání výsledku jsme sklíčko očistili a osušili a pokračovali v měření dalších vzorků. Celkové koncentrace bílkoviny koreluje s koncentrací imunoglobulinů.

Zákalový test se síranem zinečnatým - je založen na principu vysrážení sérových Ig roztokem ZnSO₄. Intenzita vzniklého zákalu je přímo úměrná množství sérových Ig a měří se fotometricky. Za dostatečnou koncentraci Ig je v literatuře považován výsledek vyšetření vyšší než 15 – 20 jednotek zinksulfátové turbidity (U ZST) (Pavlatá, 2005).

Postup: Mlezivo před vyšetřením předředěno - 10 ml mleziva s 90 ml destilované vody a 5 ml pracovního roztoku ZnSO₄ (Obr. 4).

Základní roztok 10,4 g ZnSO₄ · 7 H₂O byl doplněn ve 100 ml odměrné baňce destilovanou vodou po značku

Pracovní roztok ZnSO₄ – 1 ml základního roztoku ZnSO₄ byl doplněn vychlazenou destilovanou vodou (8 °C) v 500 ml odměrné baňce po značku

Kalibrační roztoky

1. kalibrační roztok – do 250 ml odměrné baňky byla napipetována 10 ml 5 N H₂SO₄ a po značku doplněna vychlazenou destilovanou vodou (10 °C).

2. kalibrační roztok – do 50 ml odměrné baňky bylo nepipetováno 1,5 ml 0,0962 N BaCl₂ a doplněna po značku vychlazeným kalibračním roztokem (10 °C).

Kalibrace: podle schématu (Tab. 13) byly připraveny kalibrační roztoky. Po změření absorbance při 520 nm byl vypočítán faktor pro přepočítání na zinksulfátové jednotky.

Tab. 13 Metodika ředění kalibračních roztoků absorbance při

Kalibrační roztok 1 (ml)	Kalibrační roztok 2 (ml)	ZSJ	Absorbance	Faktor
4,5	1,5	5	0,196	25,50
3,0	3	10	0,429	23,30
1,5	4,5	15	0,614	24,20
	6	20	0,646	30,90

Po 1 hodině byly změřeny absorbance jednotlivých vzorků proti H₂O při vlnové délce 520 nm na spektrofotometru (Biochrom, NSR) (Obr. 5) a násobeny průměrným faktorem 25,98 a následně výsledky násobeny 10x . zákalové normály. Hodnoty odpovídají zinksulfátovým jednotkám.

Hustota mleziva bylo stanovena **kolostroměrem** (Exatherm s.r.o., ČR) (Obr. 6), který funguje na principu, kdy se množství imunoglobulinů odráží v množství celkové bílkoviny mleziva a tím i jeho měrné hmotnosti.

Postup : Do odměrného válce o objemu 50 ml bylo nalito mlezivo o teplotě 20 °C. Na stupnici kolostroměru byla odečtena hustota (měrnou hmotnost) v g. cm⁻³.

K měření byly použity jen vzorky z druhého a třetího odběru, které měly dostatečný objem pro změření.

Měření základních složek mleziva bylo realizováno na přístroji **MilkoScan FT 120** (MILCOM a.s., ČR) (Obr. 7). Přístroj pracuje na principu FTIR (interferometr), analyzuje měření absorpce infračerveného záření při specifických vlnových délkách pro každou stanovovanou komponentu. Například pro tuk je infračervené záření absorbováno při vlnové délce $5,73 \cdot 10^{-6}$ m mezi atomy uhlíku a kyslíku v karboxylové skupině mastných kyseliny. Protože je absorbance ovlivňována i ostatními komponenty ve vzorku, musí se naměřené údaje uvést do souladu s referenčními hodnotami pomocí kalibrace. V mléce stanovuje tuk, bílkoviny, laktózu, celkovou sušinu, tukuprostou sušinu (TPS), bod mrznutí, celkovou kyselost, hustotu. Přístroj se skládá ze dvou hlavních částí a to z měřicí jednotky a osobního počítače.

Potřeby : MilkoScan FT 120 (MILCOM, a.s., ČR)

Vodní lázeň

Absorpční papír

Odměrné nádoby

Postup : Mlezivo jsme ohřáli ve vodní lázni na 40 °C. Ohřáté mlezivo jsme dali do připravených odměrných nádobek a doplnili po rysku (Obr. 8). Před každým vzorkem jsme MilkoScan propláchli a očistili a osušili vibrační nasávací pipety. Do nádoby se vzorkem jsme ponořili nasávací pipetu a přístroj spustili. Z každého vzorku přístroj vyhodnotil 2 měření a my jsme získané hodnoty zprůměrovali.

Při stanovení základních živin měřených v přístroji MilcoScan (MILCOM a.s., ČR) jsme se zaměřili na hustotu mleziva (g/ cm³), obsah hrubé bílkoviny (%/ 100g), obsah tuku (%/ 100g), obsah laktozy (%/ 100g), aciditu (SH) a obsah neesterifikovaných mastných kyselin (FFA, mmol/ 10l).

Pro využití MilkoScanu je potřeba minimální množství 50 ml, a proto jsme nemohli měření provést u všech odebraných vzorků a u klisen č. 9 a 10 jsme nemohli měřit ani jeden vzorek.

Statistické vyhodnocení

Ke statistickému zpracování dat byly použity metody :

1. Popisné statistiky (k výpočtu aritmetického průměru, směrodatné odchylky u každé proměnné)

2. ANOVA s podrobnějším vyhodnocení Scheffeho test (statistické vyhodnocení průměrů TP a ZSJ prvního až třetího odběru)
3. Test korelace a regrese a při nesplnění předpokladů pro využití těchto testů test Spearmanův (Statistická významnost vnějších vlivů (věk a hmotnost klisny, pohlaví hříběte, délka březosti)
4. Párový t-test (statistické vyhodnocení rozdílů mezi průměry druhého a třetího odběru ukazatelů mleziva změřených na přístroji MilkoScan (MILCOM a.s., ČR).

5. Výsledky

Průměrná hodnota (TP) v 1. odběru po porodu (p. p) byla 17,09 g. 100ml⁻¹ (Tab. 15, Graf 2). Nejvyšší hodnota celkové bílkoviny (TP) byla zjištěna v mlezivu klisny č. 6 odebraného 0,5 hodiny po porodu a to 24 g. 100ml⁻¹. (Tab. 14). Hodnoty 12 hodin (2. odběr) po porodu se pohybovaly v rozmezí 7 – 12,6 g. 100ml⁻¹. (Tab. 14, Graf 1). Průměrná hodnota TP ve druhém odběru byla 9,39 g. 100ml⁻¹ (Tab. 15). Obsah celkových bílkovin mleziv v druhém odběru statisticky významně ($p < 0,05$) poklesl v porovnání s prvním odběrem (Tab. 16). Průměrná hodnota TP ve 3. odběru byla 6,97 g. 100ml⁻¹ (Tab. 15). Tento pokles byl statisticky významný ($p < 0,05$) v porovnání s prvním, ne však s druhým odběrem (Tab. 16).

Tab. 14 Hodnoty celkových bílkovin mleziva jednotlivých klisen

Klisna	Výsledky refraktometr (g. 100ml ⁻¹)		
	1.odběr	2 odběr	3 odběr
1	15,6	8,2	7,00
2	15,6	8,2	7,00
3	13,2	7,8	7,00
4	16,4	12	7,80
5	17,2	11,5	8,00
6	24	12,6	7,00
7	13,2	7	6,80
8	15,6	8,6	5,50
9	23	8,6	6,60
10	nelze změřit	x	x

Tab. 15 Průměrné hodnoty celkové bílkoviny mleziva v prvním, druhém a třetím odběru

	celková bílkovina mleziva g.100ml ⁻¹		
	1. odběr	2. odběr	3. odběr
Průměr	17,09	9,39	6,97
SD	0,46	2,19	0,46
VK	0,14	3,21	0,14

Tab. 16. Závislost hodnot celkové bílkoviny (TP) mleziva na době odběru

Scheffeho test; proměnná hodnota TP Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 6,5857, sv = 24,000			
odběr	1.	2.	3.
Obsah TP	17,09	9,39	6,97
1		0,000007	0,00
2	0,000007		0,156662
3	0,00	0,156662	

Porovnáním koncentrací TP mleziv a délky březosti, kdy při průměrné délce březosti 340 – 349 dní dosahovaly průměrné hodnoty 17,6 g.100 ml⁻¹ a u délky březosti nad 350 dní 15,2 g.100 ml⁻¹ u prvních odběrů (Tab.17), se statisticky významná závislost ($p < 0,05$) neprokázala (Tab. 18, Graf 4).

Tab. 17. Hodnoty celkových bílkovin mleziva podle délky březosti jednotlivých klisen

Délka březosti	Výsledky refraktometr (g/ 100ml ⁻¹)		
	1.odběr	2 odběr	3 odběr
340 - 345	17,65	9,35	6,73
345 - 349	17,6	9,27	6,93
350 -	15,2	9,65	7,50

Tab. 18 Porovnání hodnoty celkové bílkoviny ((TP) mleziva v prvním odběru na délce březosti klisny

n=9	Výsledky regrese se závislou proměnnou : 1. odběru TP a délky březosti				
	b*	Sm.chyba	b	Sm.chyba	p-hodn.
		z b*		z b	
Abs.člen			17,15461	2,226253	0,000116
březost	-,01422	0,377926	-0,01286	0,341715	0,971032

Porovnáním koncentrace TP mleziv prvního odběru a hmotnosti klisen před porodem (a. p.) se statisticky významná závislost ($p < 0,05$) neprokázala (Tab. 19). Nejvyšší hodnoty v prvním odběru byly u klisen ve věku 11 – 17 let a to 17,85 g. 100ml⁻¹. Naproti tomu ve druhých a třetích odběrech měli vyšší hodnoty klisny starší 18 –ti let a to 10,1 g. 100ml⁻¹ respektive 7,40 g. 100ml⁻¹ (Tab.20, Graf 3)

Tab. 19 Korelace hodnot celkové bílkoviny mleziv prvního odběru s hmotností klisen a.p.

n=9	Spearmanovy korelace	
	Označ. korelace jsou významné na hl. $p <,05000$	
	hmotnost klisny a. p	hodnota TP
hmotnost klisny a. p	1	0,090136
hodnota TP	0,090136	1

Tab. 20 Koncentrace TP (g. 100 ml⁻¹) u jednotlivých klisen dle věku

Věk	Celková bílkovina mleziv (g/ 100ml ⁻¹)		
	1.odběr	2 odběr	3 odběr
do 10 let	16,8	9,13	6,93
11 - 17 let	17,85	9,23	6,78
nad 18 let	16	10,1	7,40

Korelace mezi koncentrací TP mleziv v prvním odběru a pohlavím hříběte se prokázala statisticky významná závislost ($r=0,7$; $p < 0,05$) (Tab. 21). Vyšší průměrné hodnoty v prvním odběru byly u klisen s narozenými hřebečky a to 18,77 g. 100ml⁻¹. Naproti tomu u klisen s narozenými klisničkami byla průměrná hodnota nižší a to 16,3 g. 100ml⁻¹ (Tab 22).

Tab. 21 Korelace hodnot celkové bílkoviny mleziv prvního odběru s pohlavím hříběte

n=9	Spearmanovy korelace Označené. korelace jsou významné na hl. $p < ,05000$	
	klisnický TP	hřebečci TP
klisnický TP	1	0,6891
hřebečci TP	0,6891	1

Tab. 22 Průměrné hodnoty celkových bílkovin (TP) mleziv klisen rozdělených dle pohlaví narozeného hříběte

Klisny s narozenými	Celková bílkovina (TP) g.100ml ⁻¹ 1.odběr
hřebečky	18.77
klisničkami	16,33

Průměrná hodnota ZSJ v 1. odběru po porodu byla 222,5 (Tab. 24, Graf 5). Byla potvrzena kvalita mleziva u klisny č. 6 odebraného 0,5 hodiny po porodu a to 290,4 ZSJ. Hodnoty 12 hodin (2. odběr) po porodu se pohybovaly v rozmezí 77,4 – 182,9 ZSJ (Tab. 23, Graf 6). Obsah ZSJ mleziv v druhém odběru statisticky významně ($p < 0,05$) poklesl (Tab. 24). Průměrná hodnota ZSJ byla 135,2 (Tab. 23). Průměrná hodnota ZSJ ve 3. odběru byla 99,7. Tento pokles byl statisticky významný ($p < 0,05$) v porovnání s prvním i druhým odběrem (Tab. 24).

Tab. 23 Hodnoty ZSJ mleziva jednotlivých klisen

Klisna	Zinksulfátová reakce (ZSJ)		
	1. odběr	2 odběr	3 odběr
1	189,90	128,30	104,70
2	157,70	73,80	66,50
3	182,90	155,90	134,30
4	169,10	120,00	109,10
5	290,40	174,70	112,00
6	290,40	182,90	127,30
7	179,90	77,40	73,50
8	124,70	103,60	66,50
9	224,90	200,00	103,60
10	414,60	X	X
průměr	222,45	135,18	99,72
SD	86,40	45,90	25,32

Tab.24 Závislost hodnot ZSJ mleziva na době odběru

Scheffeho test; proměnná hodnota ZSJ			
Odběr	1. odběr	2. odběr	3. odběr
Průměr	222,45	135,18	103,0
1. odběr		0,016454	0,001519
2. odběr	0,016454		0,559334
3. odběr	0,001519	0,559334	

Porovnáním hodnoty ZSJ mleziv a délky březosti se statisticky významná závislost ($p < 0,05$) neprokázala (Tab. 25). Porovnány byly hodnoty ZSJ prvního odběru.

Tab. 25 Porovnání hodnoty ZSJ mleziva v prvním odběru na délce březosti klisny

n=10	Výsledky regrese se závislou proměnnou 1. odběr ZSJ a délka březosti				
	b*	Sm.chyba	b	Sm.chyba	p-hodn.
		z b*		z b	
Abs.člen			23,51329	4,845026	0,001267
Březost	-0,11432	0,351236	-0,2439	0,74939	0,753176

Ani pohlaví hřiběte (Tab. 26, Tab. 27) či hmotnost klisny (Tab. 28) statisticky významně ($p < 0,05$) neovlivnily hodnoty ZSJ v mlezivu klisen. Porovnávány byly hodnoty ZSJ prvního odběru. Vyšší

průměrné hodnoty ZSJ v prvním odběru byly u klisen s hřebečky a to 249,7. Klisny s klisničkami dosáhly průměrné hodnoty 204,3 ZSJ.

Tab. 26 Korelace hodnot ZSJ s pohlavím narozeného hříběte

n=10	Spearmanovy korelace	
	Označ. korelace jsou významné na hl. p <.05000	
	klisnický ZSJ	hřebecci ZSJ
klisničky ZSJ	1	0,536364
hřebecci ZSJ	0,536364	1

Tab. 27 Porovnání hodnoty ZSJ mleziva v prvním odběru a pohlaví hříběte

n=10	Výsledky regrese se závislou proměnnou pohlaví hříběte x ZSJ					
	b*	Sm.chyba	B	Sm.chyba	t(25)	p-hodn.
		z b*		z b		
Abs.člen			13,1892	4,620885	2,854259	0,008545
Pohlaví	0,11869	0,198586	1,85267	3,099784	0,597677	0,555431

Tab. 28 Porovnání hodnoty ZSJ mleziva v prvním odběru a hmotnosti klisny

n=10	Výsledky regrese se závislou proměnnou hmotnost x ZSJ					
	b*	Sm.chyba	B	Sm.chyba	t(8)	p-hodn.
		z b*		z b		
Abs.člen			31,52271	54,29172	0,580617	0,577483
hmotnost klisny a.p.	-0,060393	0,352908	-0,01248	0,07295	-0,17113	0,868371

Při porovnání průměrné hodnoty TP a ZSJ podle počtu porodů (vícerodící a prvorodící) (Tab. 29) byla v prvním odběru po porodu vyšší hodnota u klisen všerodících a to 232,71 ZSJ a TP 18,20 g/ 100 ml⁻¹. U klisen rodících poprvé byly hodnoty v prvním odběru nižší, ZSJ 181,4 a TP 13,2 g/ 100ml⁻¹. Ve třetích odběrech se průměrné hodnoty již nelišily. Vícerodící ZSJ 98,53 a TP 6,99 a prvorodící ZSJ 103,9 a TP 6,9 g/ 100ml⁻¹.

Tab. 29 Porovnání průměrné hodnoty TP a ZSJ podle počtu porodů

Klisny	Zinksulfátová reakce (ZSJ)			Výsledky refraktometr (g/100ml)		
	1.odběr	2 odběr	3 odběr	1.odběr	2 odběr	3 odběr
vícerodící	232,71	140,47	98,53	18,20	9,96	6,99
prvorodící	181,4	116,65	103,9	13,2	7,4	6,9

Průměrná hodnota hustoty vzorků mleziva 2. a 3. odběru po porodu byla 1,038 g/ cm³. Nejvyšší hustota byla naměřena u klisny č.6, a to v třetím odběru hodnotou 1,046 g/ cm³. Průměrná hodnota třetích odběrů po porodu byla 1,037 g/ cm³ (Tab. 30). Hodnoty jsou porovnatelné s hustotou stanovenou přístrojem MilkoScan (MILCOM a.s., ČR), kdy průměrná hodnota hustoty mleziv 2. odběrů byla 1,039 g/ cm³ (Tab. 31). Nejvyšší hustota byla naměřena u též klisny č. 6, a to 1,042 g/ cm³. Průměrná hustota mleziva 3. odběrů byla 1,037 g/ cm³. Porovnáním průměrných výsledků hustoty mezi druhým a třetím odběrem statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) neprokázaly (Tab. 32).

Porovnáním průměrných výsledků TP a hustoty jsme prokázaly statisticky významnou závislost ($r_s = 0,72$) TP a hustoty v prvním odběru po porodu (Tab. 31). V dalších odběrech již tato závislost prokázána nebyla (Tab. 32 a Tab. 33).

Porovnáním průměrných výsledků ZSJ a hustoty jsme prokázaly statisticky významnou závislost ($r_s = 0,86$) TP a hustoty v prvním odběru po porodu (Tab. 34) a statisticky významnou závislost ($r_s = 0,74$) ZSJ a hustoty u druhého odběru po porodu. Ve třetím odběru již tato závislost prokázána nebyla (Tab. 32 a Tab. 33).

Tab. 30 Hodnoty hustoty mleziva jednotlivých klisen

Klisna	Hustota mleziv	
	g/ cm ³	
	2. odběr	3. odběr
1		1,039
2	1,036	
3		1,036
4		1,038
5	1,039	
6	1,046	
7	1,036	
8		1,035
9	nedost.mleziva	
10	nedost.mleziva	
Průměr	1,039	1,037

Tab. 31 Závislost TP a hustoty – 1. odběr

Proměnná	Spearmanovy korelace (zakl data 6,4,2012,na korelace TPa hust)	
	ChD vynechány párově Označ. korelace jsou významné na hl. p <,05000	
	Výsledky refraktometr (g/100ml) 1. odber	hustota
Výsledky refraktometr (g/100ml) 1. Odber	1	0,721519
Hustota	0,721519	1

statisticky významná silná korelace (závislost) ($r_s = 0,72$) mezi 1. odběrem TP a hustotou

Tab. 32 Závislost TP a hustoty – 2. odběr

Proměnná	Spearmanovy korelace (zakl data 6,4,2012,na korelace TPa hust)	
	ChD vynechány párově Označ. korelace jsou významné na hl. p <,05000	
	2.odber	hustota
2.odber	1	0,574249
Hustota	0,574249	1

Statisticky nevýznamná korelace mezi 2. odběrem TP a hustotou

Tab. 33 Závislost TP a hustoty – 3. odběr

Proměnná	Spearmanovy korelace (zakl data 6,4,2012,na korelace TPa hust)	
	ChD vynechány párově Označ. korelace jsou významné na hl. p <,05000	
	3.odber	hustota
3.odber	1	0,634326
Hustota	0,634326	1

Statisticky nevýznamná korelace mezi 3. odběrem TP a hustotou

Tab 34 Závislost ZSJ a hustoty – 1. odběr

Proměnná	Spearmanovy korelace (zakl data 6,4,2012,na korelace ZSJ a hust)	
	ChD vynechány párově Označ. korelace jsou významné na hl. p <,05000	
	Výsledky Zinksulfátová reakce 1.odber	hustota
Výsledky Zinksulfátová reakce 1.odber	1	0,858286
Hustota	0,858286	1

Statisticky významná korelace ($r_s = 0,86$) mezi 1. odběrem ZSJ a hustotou

Tab. 35 Závislost ZSJ a hustoty – 2. odběr

Proměnná	Spearmanovy korelace (zakl data 6,4,2012,na korelace ZSJ a hust)	
	ChD vynechány párově Označ. korelace jsou významné na hl. p <,05000	
	2.odber	hustota
2.odber	1	0,736543
Hustota	0,736543	1

Statisticky významná korelace ($r_s = 0,74$) mezi 2. odběrem ZSJ a hustotou

Tab. 36 Závislost ZSJ a hustoty – 3. odběr

Proměnná	Spearmanovy korelace (zakl data 6,4,2012,na korelace ZSJ a hust)	
	ChD vynechány párově Označ. korelace jsou významné na hl. p <,05000	
	3.odber	hustota
3.odber	1	0,112194
Hustota	0,112194	1

Statisticky nevýznamná korelace mezi 3. odběrem ZSJ a hustotou

Tab. 37 Hodnoty hustoty, bílkovin, tuku, laktózy, acidity, volných mastných kyselin (FFA) stanovených přístrojem MilcoScan (MILCOM a.s.) ve 2. a 3. odběru mlezivu jednotlivých klisen

Klisna	MilcoScan (MILCOM a.s., ČR)					
	Hustota	Protein	tuk	laktosa	acidity	FFA
	g/cm ³	%/100g	%/100g	%/100g	0 SH	mmol/10l
2	1,035	2,94	2,8	6,01	6,75	15,21
5	1,035	6,65	2,24	3,84	20,01	17,64
6	1,042	7,29	1,65	5	23,19	18,71
7	1,033	2,56	1,61	5,56	7,01	13,09
Průměr 2.odběr	1,036	0,86	2,08	5,1	14,24	16,16

Klisna	MilcoScan					
	Hustota	Protein	tuk	laktosa	acidity	FFA
	g/cm ³	%/100g	%/100g	%/100g	0 SH	mmol/10l
1	1,038	3,04	1,93	6,41	5,59	9,55
3	1,035	2,85	3,15	6,13	7,51	25,72
4	1,037	2,82	2,09	6,45	5,6	12,29
6	1,034	2,73	2,98	6,15	5,32	10,68
8	1,034	2,65	3,95	6,8	10,21	11,75
Průměr 3. Odběr	1,036	2,82	2,82	6,39	6,85	14
9	nedost.mleziva					
10	nedost.mleziva					

Tab. 38 Porovnání hustoty mleziva v druhém a třetím odběru

n=8	t-test pro závislé vzorky								
	Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$								
	Průměr	Sm.odch.	N	Rozdíl	Sm.odch.	t	sv	P	Int. spolehl.
				Rozdílu					-95,00%
hustota-2. odběr	1,03435	0,000714							
hustota-3. odběr	1,03605	0,001957	4	-0,0017	0,001838	-1,84936	3	0,161528	-0,00463

Vyšší průměrná hodnota hrubého proteinu byla u 2. odběrů po porodu a to 4,86 %/ 100g (Tab. 37). U 3. odběru po porodu byla hodnota nižší a to 2,82 %/ 100g. Průměrné výsledky hrubého proteinu druhých a třetích odběrů statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl mezi průměry neprokázali (Tab. 39).

Tab. 39 Porovnání obsahu proteinů v mlezivu v druhém a třetím odběru

n=8	t-test pro závislé vzorky Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$								
	Průměr	Sm.odch.	N	Rozdíl	Sm.odch. rozdílu	T	sv	P	Int. spolehl. -95,00%
protein-2. Odběr	4,7	2,257004							
protein-3. Odběr	2,84	0,159792	4	1,86	2,257742	1,647664	3	0,197979	-1,73257

Druhé odběry mleziv po porodu měly průměrnou hodnotu tuku nižší, a to 2,08 %/ 100g (Tab. 37). Průměrná hodnota 3. odběrů byla 2,82 %/ 100g. Průměrné výsledky obsahu tuku v druhých a třetích odběrech statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl mezi průměry neprokázaly (Tab. 40).

Tab. 40 Porovnání obsahu tuku v mlezivu v druhém a třetím odběru

n=8	t-test pro závislé vzorky Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$								
	Průměr	Sm.odch.	N	Rozdíl	Sm.odch. rozdílu	T	sv	p	Int. spolehl. -95,00%
tuk-2	2,2225	0,486236							
tuk-3	2,78	0,949456	4	-0,5575	1,245348	-0,89533	3	0,436583	-2,53913

Nejvyšší průměrné hodnoty laktózy byly zjištěny u 3. odběrů, a to 6,39 %/ 100g (Tab. 37). 2. odběry dosáhly průměrné hodnoty 5,10 %/ 100g. Průměrné hodnoty laktózy v druhém a třetím odběru statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl mezi průměry neprokázaly (Tab. 41).

Tab. 41 Porovnání obsahu laktózy v mlezivu v druhém a třetím odběru

n=8	t-test pro závislé vzorky Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < 0,05000$								
	Průměr	Sm.odch.	N	Rozdíl	Sm.odch. rozdílu	T	sv	p	Int. spolehl. -95,00%
laktosa-2	4,8125	1,137874							
laktosa-3	6,4475	0,274757	4	-1,635	1,315561	-2,48563	3	0,088826	-3,72835

Průměrné hodnoty acidity 2. a 3. odběrů statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl mezi průměry neprokázaly (Tab. 42). Hodnota acidity se u 2. odběrů po porodu pohybovala v rozmezí 6,75 – 23,19 SH (Tab. 37). Nižší hodnoty byly u 3. odběrů a to 5,60 – 10,21 SH.

Tab. 42 Porovnání hodnot acidity mleziva v druhém a třetím odběru

n=8	Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$								
	Průměr	Sm.odch.	N	Rozdíl	Sm.odch. rozdílu	T	sv	p	Int. spolehl. -95,00%
acidita-2	13,445	7,581352							
acidita-3	7,2275	2,183672	4	6,2175	7,092712	1,753208	3	0,177849	-5,06859

Průměrná hodnota neesterifikovaných mastných kyselin - FFA u 2. odběrů byla 16,16 mmol/ 10l (Tab. 37). Naproti tomu nižší hodnoty byly naměřeny u 3. odběrů a to 14 mmol/ 10l. Průměrné hodnoty druhých a třetích odběrů statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl mezi průměry neprokázaly (Tab. 43).

Tab. 43 Porovnání obsahů neesterifikovaných mastných kyselin v mlezivu v druhém a třetím odběru

n=8	t-test pro závislé vzorky								
	Označ. rozdíly jsou významné na hlad. $p < ,05000$								
	Průměr	Sm.odch.	N	Rozdíl	Sm.odch. rozdílu	t	sv	P	Int. spolehl. -95,00%
FFA-2. Odběr	15,895	2,192966							
FFA-3. Odběr	14,8275	7,357728	4	1,0675	9,374172	0,227753	3	0,834478	-13,8489

6. Diskuse

Výsledky stanovení hustoty v námi sledovaných mlezivech potvrdily tvrzení LeBlanc (2001), která konstatuje, že kvalita kolostra přímo souvisí s jeho hustotou a množstvím imunoglobulinů, které obsahují. Konkrétně u klisny č. 6 byla nejvyšší hustota mleziva, a to 1,046 g/ cm³, a zároveň nejvyšší hodnota TP 24 g/ 100ml⁻¹ i nejvyšší koncentrace Ig měřených v 290,4 ZSJ. Korelace výsledků refraktometru a hustoměru potvrzují názor Venner a kol. (2008), kteří konstatují, že výsledky stanovení TP refraktometricky a hustoty kolostroměrem jsou vhodné pro hodnocení kolostrálních IgG koncentrace v mlezivu klisen.

Výsledky druhých odběrů po 12 – 18 hodinách nepotvrdily tvrzení Paradis (2006), která říká, že za 2 – 3 hodiny po porodu klesá obsah kolostrálních IgG pod 5 g/ 100ml⁻¹. Průměrná hodnota našich odběrů byla 9,39 g/ 100ml⁻¹ což odpovídá tvrzení Erhardt a kol. (2001), který uvádí, že k výraznému poklesu na 10,1 IgG/ 100ml⁻¹ došlo za 9 – 13 hodin po porodu.

Měření hustoty vzorků mleziva potvrdily vztah mezi hustotou mleziva a obsahem celkové bílkoviny. Vzorky mleziva s vyšší hustotou měly zároveň nejvyšší obsah celkové bílkoviny (TP), což je v soulase s Koterba (1990), která konstatovala, že hustota kolostra přímo koreluje s koncentrací IgG (imunoglobulinů) a když je kolostrální hustota nad 1,060 g/ cm³ hřibě obvykle dosáhne koncentrace IgG séru nad 5 g. l⁻¹. Takových hodnot dosáhly mleziva odebraná do 8 hodin po porodu. V námi sledovaných vzorcích mleziv klesla hustota po 38 a více hodinách pod 1,039 g/ cm³. Měření hustoty mleziva je metoda velice jednoduchá a levná na provedení i v terénních podmínkách a podle dosažených výsledků ji může chovatel sám použít pro preventivní kontrolu kvality mleziva a včasnou detekci klisen s nekvalitním mlezivem.

Hodnoty celkových bílkovin a IgG vyjádřených v ZSJ porovnáváné v závislosti na čase prokázalyostupný pokles, a to signifikantní, což je v soulase se zjištěními Bečvářové (2009), která konstatuje, že koncentrace IgG v kolostru klisny se po prvním sání rapidně snižuje z důvodu naředění tvořícím se mlékem, a proto musí hřibě dostat maximální množství mleziva během prvních 24 hodin po porodu. Také Erhardt a kol. (2001) zjistili, že 4 hodiny po porodu byla průměrná koncentrace IgG mleziva 54,5 mg/ ml a k výraznému poklesu na 10,1 IgG/ ml došlo za 9 – 13 hodin po porodu. Stejně tak konstatuje Kudláč, Doležel a kol. (2000), že kolostrum s každým sáním mláďete nebo vydojením mléčné žlázy rychle ztrácí svůj charakter a stává se více mléčným sekretem. I Paradis (2006) uvádí, že

koncentrace imunoglobulinů v mléce klesá během 12 hodin na zanedbatelnou úroveň. Námi naměřené hodnoty TP 9,39 g/ 100ml⁻¹ a ZSJ 135,2 mleziv nadojených 9 – 13 hodin po porodu byly také nižší v porovnání s 1. odběrem (od 30 minut do 2hodin po porodu), a to u ZSJ signifikantně.

Výsledky obsahu proteinu měřené na přístroji MilkoScan (MILCOM a.s., ČR) se rozcházejí s výsledky zjištěnými Buechner-Maxwell (2005), který uvádí, že mlezivo obsahuje asi 2,7 % bílkovin. Naše naměřené hodnoty z odběrů 12 – 18 hodin po porodu se pohybovaly v rozmezí 2,56 – 7,9 %. Sobotková a kol. (2009), konstatují, že po 24 hodinách dochází k rychlému poklesu gama-globulinů a obsahu bílkovin a naopak stoupá obsah tuku a laktózy. Stejně tak Meyer (2003) prokázal, že v mlezivu klisen je větší množství bílkovin, ale nižší hodnoty tuku a laktózy než v raném mléce. Tato zjištění zčásti potvrzuje ve svých pokusech i Lesté-Lasserre (2008), která konstatuje, že množství laktózy během laktace stoupá, bílkovin ubývá, ale naopak zjistila, že obsah tuků klesá. Částečně její závěry potvrdil Martin a kol.(1992), který uvádí, že fáze laktace má významný vliv na obsah laktosy a na obsah mléčné bílkoviny, ale obsah tuku a hrubé energie mléka se nezmění. Naše výsledky byly v soulase s tvrzeními Sobotkové a kol (2009) a Meyer (2008), protože průměrná hodnota obsahu tuku v druhých odběrech po porodu (12 – 18 hodin) byla 2,08 %/ 100g a ve třetích odběrech (36 – 42 hodin po porodu) stoupl na průměrnou hodnotu 2,82 %/ 100 g, rozdíly však nebyly signifikantní, což lze vysvětlit malým počtem odběrů. Laktosa naopak u námi sledovaných mleziv byla ve třetích odběrech vyšší, v porovnání s druhými, a to na hranici signifikantnosti. Tato zjištění jsou v soulase se závěry práce Martin a kol.(1992), Meyer (2003) a Sobotková a kol. (2009).

Z námi sledovaných vnějších faktorů, které by mohly ovlivnit kvalitu kolostra byly již některé ověřovány a to např. doba porodu, věk klisny, hmotnost klisny před porodem (a. p.) (Wlodarczyk-Szydłowska a kol., 2005, Drogoul a kol., 2006).

Ve shodě s Duggan a kol. (2008) nebyla námi potvrzena závislost hodnot ZSJ a TP v 1. odběru mleziv na věku námi sledovaných klisen. Naše výsledky se naproti tomu neshodovaly s tvrzením Venner (2005), která zjistila, že klisny, které rodily poprvé, v porovnání s vícerodičkami, měly koncentrovanější mleziva a v dalších odběrech obsah Ig u prvorodíček klesal více než u klisen vícerodících. Naše klisny č. 3 a 7, které rodily poprvé měly TP 13,2 g/ 100ml⁻¹ a ZSJ 181,4 v prvním odběru po porodu, oproti průměrné hodnotě prvních odběrů vícerodících klisen TP (17,09 g/ 100ml⁻¹ a 232,71 ZSJ) a ve třetích odběrech už měly hodnoty srovnatelné s klisnami vícerodícími.

Porovnáním obsahu TP mleziv u klisen různého věku bylo zjištěno, že klisny ve věku 11 – 17 let měly vyšší obsah TP v odběrech těsně po porodu, v porovnání se staršími klisnami. Naproti tomu klisny starší 18 let udržovaly vyšší hodnoty v dalších odběrech. Proto lze předpokládat, že hříbata od těchto klisen budou mít dostatečný příjem kvalitního mleziva. Naše výsledky se však neshodly se závěry Paradis (2006), která zjistila, že kolostrální IgG byly nejvyšší v mlezivech klisen tří až desetiletých, stejně jako závěry studie Włodarczyk-Szydłowska a kol. (2005) která prokázala, že hladina Ig v mlezivu klesá s věkem klisen.

Můžeme podpořit tvrzení Venner a kol. (2005), která konstatuje, že nejvyšší koncentrace imunoglobulinů s ohledem na celkové množství mleziva dosahovali klisny rodičí potřetí.

Sledováním závislost hmotnosti klisen před porodem a obsahu TP a ZSJ v mlezivech nebyla prokázána jako statisticky významná a nepotvrdil závěr studie Włodarczyk-Szydłowska a kol. (2005), která prokázala, že hladiny proteinů a úroveň Ig závisí na hmotnosti klisen.

Námi zjištěný statisticky nevýznamný rozdíl závislosti obsahu TP a ZSJ v mlezivech z 1.oběru na délce březosti nepotvrdil tvrzení Zurek a Danek (2011), kteří konstatují, že doba březosti ovlivnila obsah IgG v mlezivu.

Zajímavé bylo zjištění, a to statisticky významné, ovlivnění obsahu celkové bílkoviny pohlavím narozeného mláděte. V literatuře dosud tato závislost nebyla prokázána.

7. Závěr

- Na základě výsledků jednotlivých testů můžeme říci, že metoda zjištění celkové bílkoviny mleziv refraktometricky a hustoty kolostroměrem mají velkou vypovídací hodnotu v hodnocení kvality mleziva a jsou vhodné pro využití v terénních podmínkách, kde pomohou včas odhalit kolostrální nedostatečnost. Drogoul a Clement (2006) doporučují kontrolu kvality mleziva ihned po narození, aby byla možnost zajistit včasnou a dostatečnou náhradu v případě špatné kvality mleziva.
- Hodnoty Ig měřené zákalovým testem se síranem zinečnatým byly ve shodě s výsledky hodnot TP měřených refraktometrem a odrážely kvalitu mleziva. Souhlasíme však se závěry Sedlinské (1998), že pro chovatele je využití metody časově náročné a dle našich dílčích výsledků není nevhodnějším pro použití v terénních podmínkách.
- Sledováním obsahu TP a IgG měřené ZSJ bylo prokázáno, že s postupujícím časovým intervalem klesaly jejich hodnoty, a to významně
- Kvantitativní změny u mleziv v závislosti na čase od porodu byly zjištěny u tuků, proteinů i laktózy.
- Našimi sledováními nebyla prokázána souvislost kvality mleziva a vnějších vlivů jako je věk klisny, délka březosti, a hmotnost klisny v poslední třetině březosti.
- Prokázala se však závislost kvality mleziva a pohlaví hříběte.

8. Použitá literatura

- ✓ BÁRTA, O. 2008. Veterinární klinická imunologie. Akademické nakladatelství CERVM, s.r.o. Brno. p. 324. ISBN 9788072045532.
- ✓ BEČVÁŘOVÁ, I. 2009. Výživa osiřelého hříběte. Sborník referátů ze semináře Výživa koní. Česká hipiatrická společnost Dibaq a.s. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 18 - 21
- ✓ BUECHNER-MAXWELL, VA. 2005. Nutritional support for neonatal foals. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 21 (2). 487 – 494.
- ✓ CELER, V., JAHN, P., SEDLINSKÁ, M. 2000. Herpesvirové infekce koní. Veterinářství. 50. 255 – 258.
- ✓ DROGOUL, C., CLEMENT, F. 2006. Equine colostrum production and utilisation : basic and applied aspects more options. European association for animal production publication. 120. 203 – 219.
- ✓ DURUTTYA, M. 2005. Velká etologie koní. HIPO-DUR Košice-Praha. Praha. p. 583. ISBN 8023950886.
- ✓ DUŠEK, J. 1999. Chov koní. Nakladatelství Brázda s.r.o. Praha. p. 350. ISBN 8020902821.
- ✓ ERHARD, M.H., LUFT, C., REMLER, H.P., STANGASSINGER, M. 2001. Assessment of colostrum transfer and systemic availability of immunoglobulin G in new-born foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system. Journal of animal physiology and animal nutrition-zeitschrift fur tierphysiologie tierernahrung und futtermittelkunde. 85 (5 - 6). 164 – 173
- ✓ ESPY, B. DVM, Dipl. ACT. Ins and Outs of Equine Lactation [online]. 01 July 2009 [cit 2012-03-02]. Dostupné z <<http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=14451&src=RA>>.
- ✓ HAMMER, C.J., THORSON, J.F., KARREN, B.J., BAUER, M.L., CAVINDER, C.A., COVERDALE, J.A. 2001. Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals: Foaling data. Journal of Animal Science. 2010 (88). 982 - 990.
- ✓ HAYES, CM.H. 1987. Veterinary notes for horse owners. Stanley Paul. London. p. 768. ISBN 0091715113377.
- ✓ CHAVATTE – PALMER, P., ARNAUD, G., DUVAUX – PONTER, C., BROSSE, L., BOUGEL, S., DAELS, P., GUILLAUME, D., CLEMENT, F., PALMER, E. 2002. Quantitative and qualitative assessment of milk production after pharmaceutical induction of lactation in the mare. Journal of Veterinary Internal Medicine. 16 (4). 472 – 477.
- ✓ CHAVATTE – PALMER, P., DUVAUX – PONTER, C., CLEMENT, F. 2001. Passive transfer of immunity in horses. Pferdeheilkunde. 17 (6). 669 - 672.
- ✓ KNOTTENBELT, D.C. 2004. Equine neonatology medicine and surgery. Saunders. Philadelphia USA. p. 368. ISBN 07020269212004.

- ✓ KOTERBA, A.M., DRUMOND, W.H. 1990. Equine clinical neonatology. Williams and Wilkins. Baltimore USA. p. 846. ISBN 0812111842.
- ✓ KREJČÍ, J. 2006. Postnatální vývoj koncentrace imunoglobulinů izotypů IgG, IgM a IgA u hříbat. Acta Veterinaria. Brno. 2 (75). 175 - 182.
- ✓ KUDLÁČ, E., DOLEŽEL, R. a kol. 2000. Veterinární porodnictví. Veterinární a farmaceutická univerzita. Brno. p. 193. ISBN 8085114917.
- ✓ LEBLANC, M.M. 2001. Update on Passive transfer of immunoglobulins in the foal. Pferdeheilkunde. 17 (6). 662 – 665.
- ✓ LESTÉ – LASSERRE, CH. Foals', Mares' Nutritional Needs Change Over Time, Milk Study Says [online]. 24 February 2008 [cit 2012-03-02]. Dostupné z <<http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=11383>>.
- ✓ LESTÉ – LASSERRE, CH. Tetanus Death Review Finds Correlation to Age, Vaccination Status [online]. 02 November 2008 [cit 2012-03-02]. Dostupné z <<http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=13002>>.
- ✓ LUDVÍKOVÁ, E. 2008. Nutriční myodegenerace u sajících zvířat. Veterinářství. 58. 566 – 570.
- ✓ MACHEK, J., GAUDÍKOVÁ, J. 2010. Situační a výhledová zpráva koně. Ministerstvo zemědělství. p. 34. ISBN 8070849149.
- ✓ MARLUZZI, F., DOREAU, M. 2006. Mare milk composition: Recent findings about protein fractions and mineral content. EAAP European association for animal production publication. 120. 65 – 76.
- ✓ MARTI, E., EHRENSPERGER, F., BURGER, D. a kol. 2009. Maternal transfer of IgE and subsequent development of IgE responses in the horse (Equus caballus). Veterinary immunology and imunopathology. 127 (3 – 4). 203 – 211.
- ✓ MARTIN, R.G., MCMENIMAN, N.P., DOWSETT, K.F. 1992. Milk and water of foals sucking grazing mares. Equine Veterinary journal. 24 (4). 295 – 299.
- ✓ MOLÍNKOVÁ, D., CELER, V. 2008. Herpesvirus koní 1 (EHV-1): aktuální situace v ČR. Veterinářství. 58. 716 – 720.
- ✓ NAJBRT, R. a kol. 1982. Veterinární anatomie 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. p. 596. ISBN 07006820450.
- ✓ NAVRÁTIL, J. 2000. Základy chovu koní. Institut výchovy vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR v Praze. Praha. p. 32. ISBN 8071052132.
- ✓ NOVÁK, F. 2002. Úvod do klinické biochemie. Učební texty univerzity Karlovy v Praze. Univerzita Karlova v Praze – Nakladatelství Karolinum. Praha. p. 341. ISBN 8024603667.
- ✓ OFTEDAL, O.T., HINTZ, H.F., SCHRYVER, H.F. 1983. Lactation in the horse: milk composition and intake by foals. Journal nutrition. 113 (10). 2096 – 2106.

- ✓ PAGAN, J.D. 2009. Nutriční management koně. Sborník referátů ze semináře Výživa koní. Česká hipiatrická společnost Dibaq a.s. VFU Brno. Brno. 1 – 13.
- ✓ PARADIS, M.R. 2006. Equine neonatal medicine – A Case-Based Approach. North Grafton, Saunders Imprint. Elsevier publication. Massachusetts. p. 286. ISBN 9781416023531.
- ✓ PAVLATA, L., PECHOVÁ, A., DVOŘÁK, R. 2005. Diagnostika a prevence poruch kolostrální výživy telat. Veterinářství. 55. 689-695.
- ✓ REECE, W.O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada Publishing. Praha. p. 473. ISBN 9788024732824.
- ✓ ROB, O., ŠTIKA, O., SOMOL, J. 1973. Porodnictví a prevence poruch reprodukce hosp. zvířat. SPN. Praha. p. 264. ISBN 14018615.
- ✓ SEDLÁČEK, P. 2009. Boj proti čipům (kloubním myškám). Koně. 2009 (5). 25.
- ✓ SEDLINSKÁ, M. 2009. Polyquan inj. - součást terapie neonatální sepse hříbat při selhání pasivního transportu protilátek. Bioveta-news-2009/1. 13 – 15.
- ✓ SEDLINSKÁ, M., KREJČÍ, J., VYSKOČIL, M. 2005. Evaluation of field methods for Determining Immunoglobulins in Sucking Foals. ACTA VET. Brno. 74. 51 – 58.
- ✓ SEDLINSKÁ, M. 1998. Problematika kolostrální imunity hříbat. Veterinářství. 48. 415 – 419.
- ✓ SOBOTKOVÁ, E., PRAUSOVÁ, M., VEČEŘEK, M. Mléko jako zdroj výživy hříbat [online]. 03 července 2009 [cit 2012-03-02]. Dostupné z <[http:// www.agroweb.cz/Mleko-jako-zdroj-vyzivy-hribat_s397x33944.html](http://www.agroweb.cz/Mleko-jako-zdroj-vyzivy-hribat_s397x33944.html)>.
- ✓ TOMAN, M. 2000. Veterinární imunologie. Grada publishing s.r.o. Praha. p. 413. ISBN 8071697273.
- ✓ VENNEN, M., MARKUS, R.G., STRUTZBERG – MINDER, K., KLUG, E. 2005. Investigation on immunoglobulin G concentration by colostrometry and an ELISA-technique in colostrum of mares. Pferdeheilkunde. 21. 119 – 120.
- ✓ VINCZE, B., HORVATH, D., KULIK, M. a kol. 2010. Control of immunoglobulin concentration of newborn foal and colostrum in the field. Magyar allatorvosok Lapja. 132 (9). 507 – 515.
- ✓ WEST, CH. Nutrition and Reproduction [online]. 11 November 2002 [cit 2012-03-02]. Dostupné z <<http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=3930>>.
- ✓ WINTZER, H. J. a kol. 1999. Choroby koní – sprievodca štúdiom a praxou. Nakladateľství Hajko a Hajková. Bratislava. P. 538. ISBN 8088700450.
- ✓ WLODARCZYK-SZYDLOWSKA, A., NOWACKI, W., WIERZBICKI, H. 2005. Influence of chosen factors on the quality of mare's colostrums and immunoglobulin level in foals. Medycyna Weterynaryjna. 61 (8). 923 – 926.

- ✓ ZEMAN, L. Prof. Ing. CSc. a kol. 2006. Výživa a krmení hospodářských zvířat. Nakladatelství Profi Press. s.r.o. Praha. p. 360. ISBN 8086726177.
- ✓ ZUREK, U., DANEK, J. 2011. Maternal behavior of mares and the condition of foals after parturition. Bulletin of the veterinary institute in Pulawy. 55 (3). 451 – 456.

9. Samostatné přílohy

Seznam příloh :

Obr. 1 Vzorky mleziva označené číslem klisny a pořadím odběru

Obr. 2 Refraktometr (model RHC-200/ATC, výrobce Lexi-Comp, Inc, Hudson Ohio)

Obr. 3 Pracovní plocha s vzorky mleziva pro hodnocení refraktometrem

Obr. 4 Příprava vzorků pro zinksulfátovou reakci

Obr. 5 Spektrofotometr (Biochrom, NSR)

Obr. 6 Kolostroměr

Obr. 7 MilkoScan

Obr. 8 Odměrná nádobka s ryskou

Graf 1 Výsledky celkové bílkoviny (TP) v g. 100ml⁻¹

Graf 2 Závislost hodnot celkové bílkoviny mleziva na době odběru v g/ 100 ml⁻¹

Graf 3. Hodnoty celkových bílkovin podle věku klisen (g. 100ml⁻¹)

Graf 4 Hodnoty celkové bílkoviny podle délky březosti

Graf 5 Závislost hodnot ZSJ mleziva na době odběru

Graf 6 Výsledky ZSJ u jednotlivých klisen

Obr. 1 Vzorky mleziva označené číslem klisny a pořadím odběru



Obr. 2 Refraktometr (model RHC-200/ATC, výrobce Lexi-Comp, Inc, Hudson Ohio)



Obr. 3 Pracovní plocha s vzorky mleziva pro hodnocení refraktometrem



Obr. 4 Příprava vzorků pro zinksulfátovou reakci



Obr. 5 Spektrofotometr (Biochrom, NSR)



Obr. 6 Kolostroměr



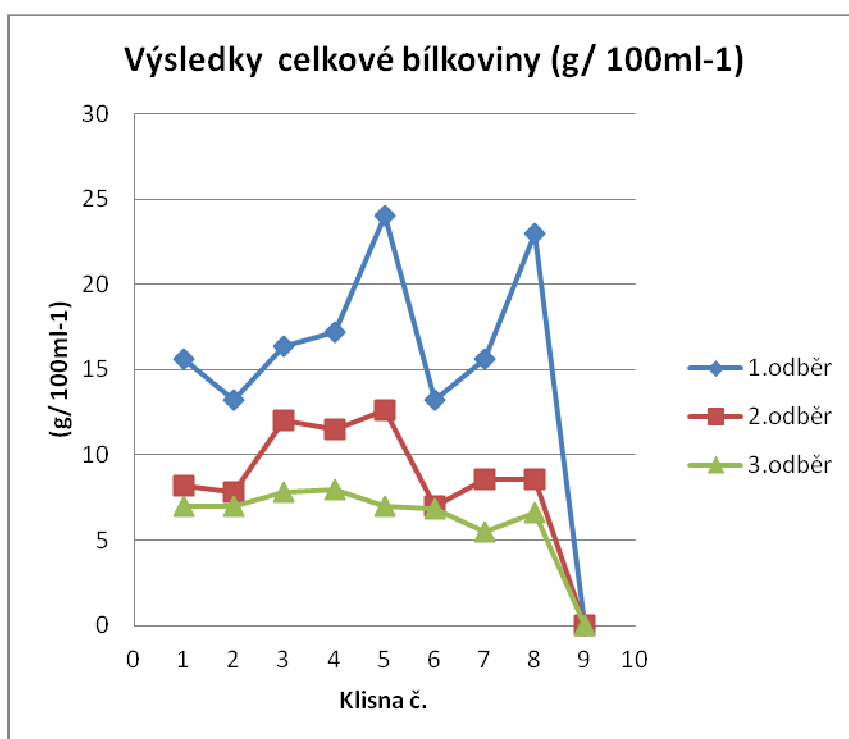
Obr. 7 MilkoScan (MILCOM a.s., ČR)



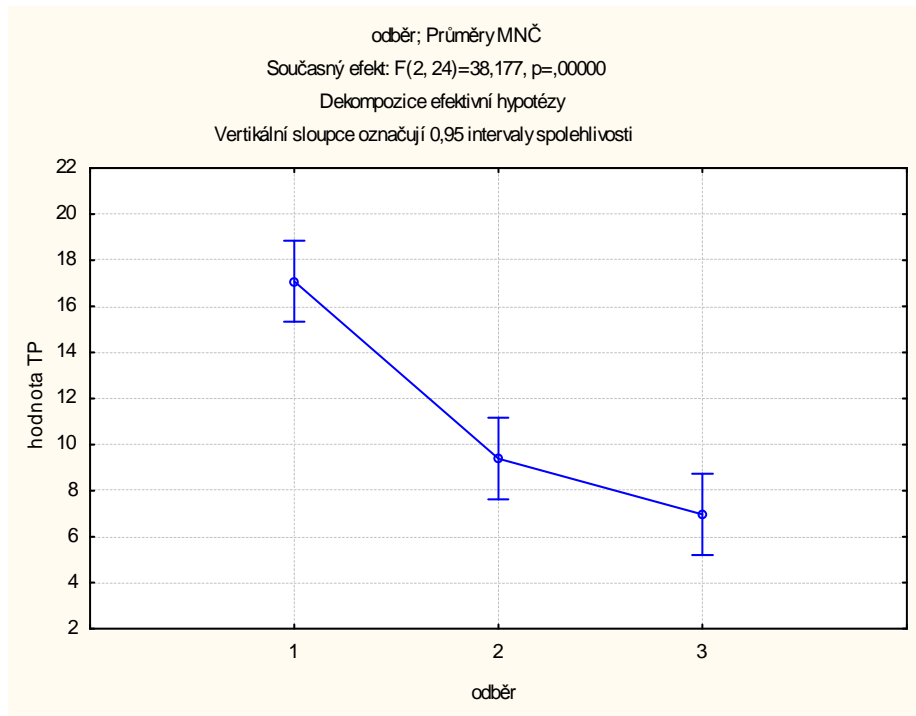
Obr. 8 Odměrná nádobka s ryskou



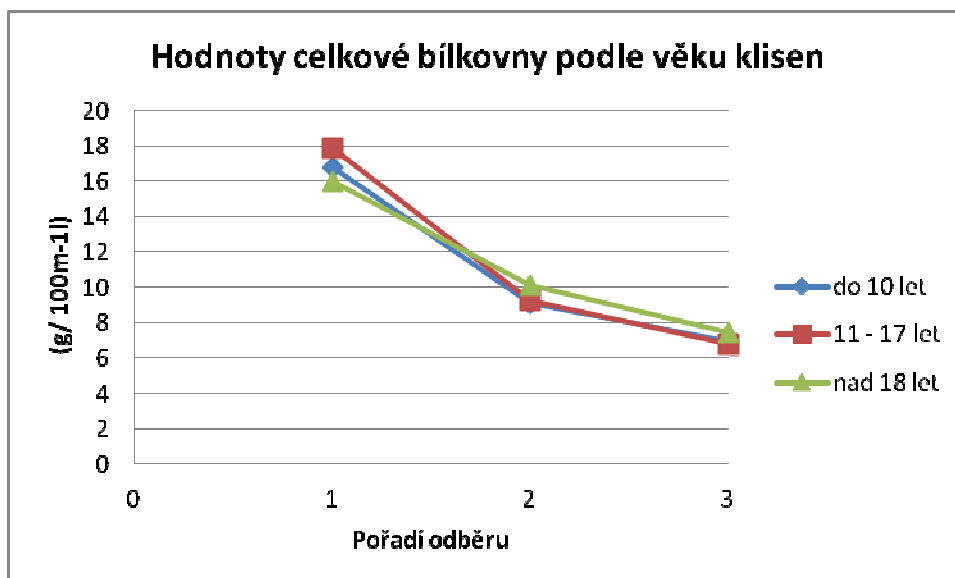
Graf 1 Výsledky celkové bílkoviny (TP) v g. 100ml⁻¹



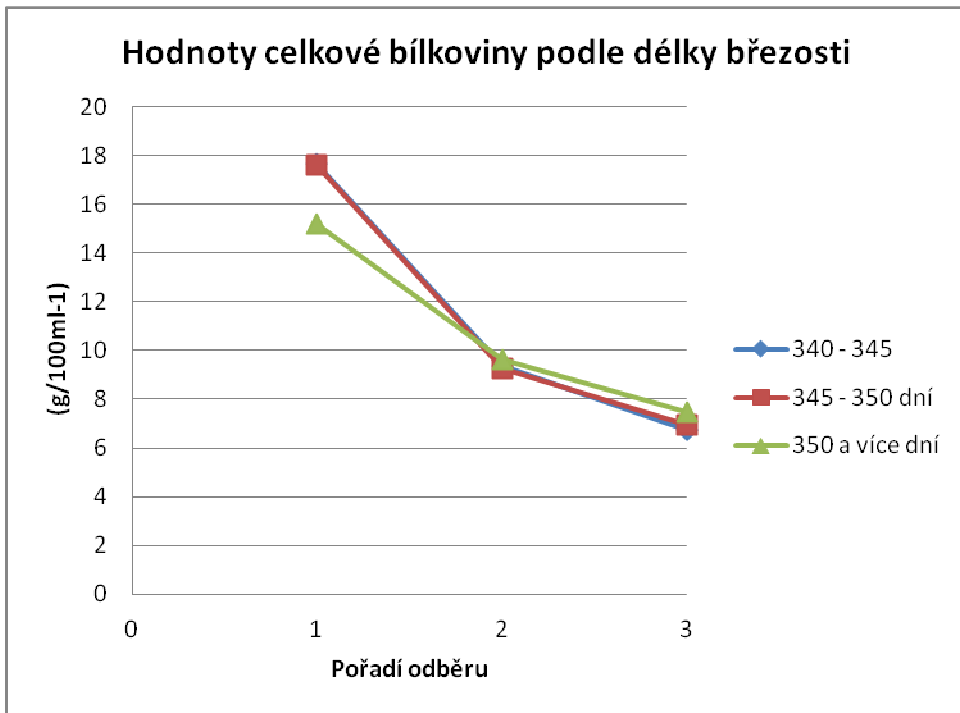
Graf 2 . Závislost hodnot celkové bílkoviny mleziva na době odběru v g/ 100 ml⁻¹



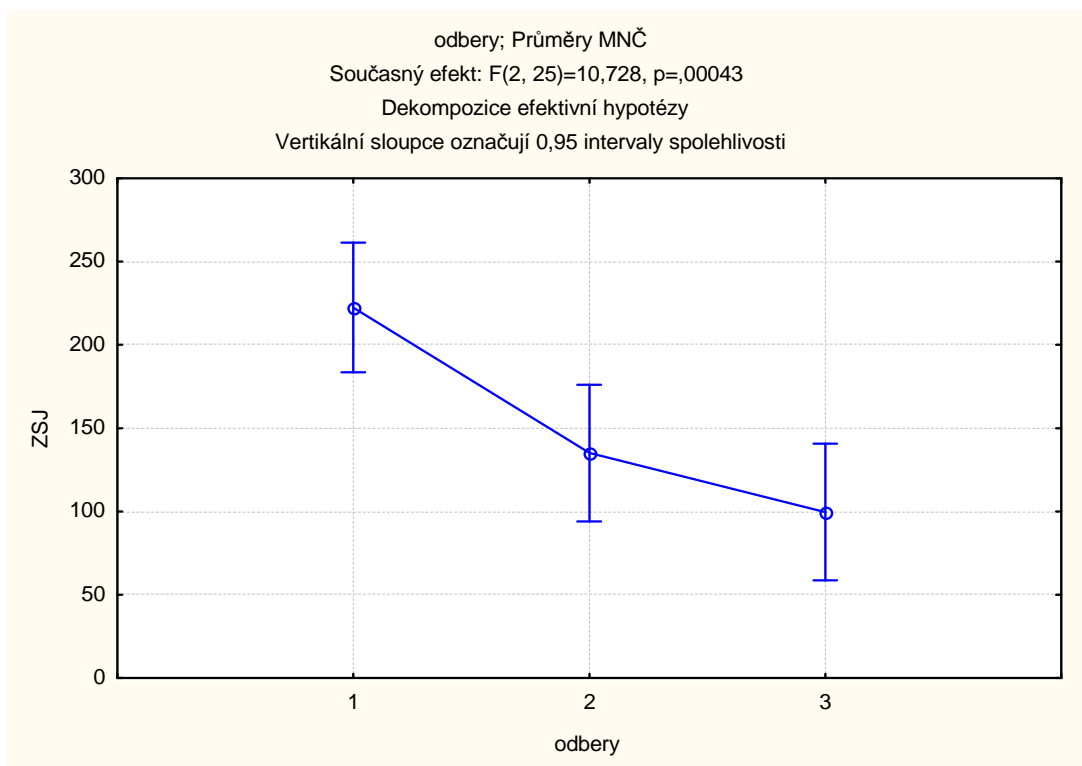
Graf 3. Hodnoty celkových bílkovin podle věku klisen (g. 100ml⁻¹)



Graf 4 Hodnoty celkové bílkoviny podle délky březosti



Graf 5 Závislost hodnot ZSJ mleziva na době odběru



Graf 6 Výsledky ZSJ u jednotlivých klisen

