

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Prevence mastitid s využitím vakcinačních protokolů
ve stádě dojnic**

Diplomová práce

Autor práce

Bc. Lucie Metalová, Dis.

Chov hospodářských zvířat

Vedoucí práce

Ing. Matúš Gašparík, Ph.D.

Konzultant

doc. Ing. Mojmír Vacek, CSc.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Prevence mastitid s využitím vakcinačních protokolů ve stádě dojnic" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10.4.2023

Mesalová

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Matúši Gašparíkovi, Ph.D za vedení diplomové práce, dále děkuji panu doc. Ing. Mojmíru Vackovi, CSc. za pomoc, konzultaci a cenné rady. Petru Novákovi za poskytnutí podkladů a informací. MVDr. Jiřímu Maškovi a celému týmu Zdravé krávy za materiály, postřehy a fotografie. Nemalé díky patří mé rodině, která mě během studia podporovala.

Prevence mastitid s využitím vakcinačních protokolů ve stádě dojnic

Souhrn

Předmětem této diplomové práce bylo sledování a hodnocení reakce stáda dojnic na různé podávané antimastitidní vakcíny a jejich působení na snížení počtu zánětů a počtu somatických buněk v mléce. Literární přehled byl zaměřen na mléčnou žlázu, problematiku mastitid a její původce. Ve stádě byly během let 2012–2021 použity tři komerční vakcíny a různě upravovaná autovakcína. Vakcíny se od sebe lišily formou a intervalem podání, množstvím aplikované látky a také obsahem patogenních kmenů. Reakce zvířat na podávané přípravky byla rozdílná. Dojnice se před použitím vakcín potýkaly s vysokým počtem zánětů mléčné žlázy. Měsíčně bylo postiženo průměrně 14 dojnic, což odpovídá 8,1 % stáda. Před vakcinací dosahoval PSB 270 tis./ml. V roce 2012 byla ve stádě aplikována první komerční vakcína Startvac, která vedla ke snížení PSB o 37,7 tis./ml na 232,3 tis./ml, ale nesnížila počet zánětů: měsíčně bylo postiženo mastitidou 15,2 (8,7 %) dojnic. Druhá v pořadí byla aplikována vakcína Mastivac, během níž bylo měsíčně léčeno se zánětem mléčné žlázy 13,3 (7,6 %) zvířat a PSB byl 225,1 tis./ml. Při použití vakcíny J-Vac byl měsíční výskyt mastitid 8,7 (5,1 %) a bylo dosaženo PSB 200,7 v tis./ml. Během použití Sevaron 1 se ve stádě vyskytovalo měsíčně 7,8 (4,4 %) dojnic postižených mastitidou, PSB dosahoval 208,7 tis./ml. Za vakcinace přípravkem Sevaron 2 bylo měsíčně nakaženo 2,4 % dojnic s PSB 139,1 tis./ml. V období očkování vakcínou Sevaron 3 byl mezi dojnicemi 0,7% výskyt mastitid měsíčně, to odpovídalo 1,2 nakažených dojnic, PSB byl 148,5 tis./ml. Způsob podání přípravků zde hrál velkou roli: intramuskulární podání autovakcín Sevaron 1 a 2 (které byly aplikovány plošně všem dojnicím) způsobilo u většiny zvířat imunitní reakci jako zvýšení teploty, otoky v místě vpichu, embryonální odumrtě, nechutenství a pokles užitkovosti v prvních dvou dnech po jejím podání. Aplikace přípravku Sevaron 3, který měl stejné složení jako Sevaron 2, proběhla intradermálně. Při intradermální aplikaci nedošlo k žádnému negativnímu projevu. Intradermální podání je bezjehelné a tudíž je šetrnější k organismu dojnice. Z výsledků bylo zjištěno, že vakcinací přípravky Mastivac, J-Vac a autovakcínou klesl ve stádě výskyt zánětů mléčné žlázy o 7,4 %, ze 14 postižených dojnic měsíčně na 1. Počet somatických buněk se snížil o 121,5 tis./ml. Na základě dosažených výsledků lze říci, že hypotéza byla potvrzena. Vakcinací došlo ke snížení počtu mastitid na hladině významnosti ($P < 0,05$) i ke snížení PSB na hladině významnosti ($P < 0,05$).

Klíčová slova: dojnice, mastitida, mléčná žláza, prevence, léčba, vakcína

Prevention of mastitis using vaccination protocols in dairy herd

Summary

The subject of this thesis was monitoring and evaluation of the response of dairy herd to different administered anti mastitis vaccines and their effect on the reduction of inflammation and somatic cell count in milk. The literature review focused on the mammary gland, mastitis problematics and its causes. Three commercial vaccines and variously modified auto vaccines were used in the herd during 2012–2021. The vaccines differed in the form and interval of administration, the amount of agent administered, and the content of pathogenic strains. The response of the animals to the administered preparations varied. Dairy cows had a high incidence of mammary gland inflammation prior to the use of vaccines. An average of 14 dairy cows per month were affected, corresponding to 8.1 % of the herd. Before vaccination, the PSB was 270 thousand/ml. In 2012, the first commercial vaccine Startvac was applied in the herd, which led to a reduction in PSB by 37.7 thousand/ml to 232.3 thousand/ml, but did not lead to reduction in mastitis, with 15.2 (8.7 %) dairy cows affected per month. Mastivac vaccine was administered second, during which 13.3 (7.6 %) animals were treated with mastitis per month. PSB was 225.1 thousand/ml. During the use of the J-Vac vaccine, the monthly incidence of mastitis was 8.7 (5.1 %) and a PSB of 200.7 wk/ml was achieved. During the use of Sevaron 1, the monthly incidence of mastitis in the herd was 7.8 (4.4 %) and the PSB was 208.7 thousand/ml. During vaccination with Sevaron 2, 2.4 % of dairy cows were infected monthly with a PSB of 139.1 thousand/ml. During the Sevaron 3 vaccination period, the incidence of mastitis among dairy cows was 0.7% per month, corresponding to 1.2 infected dairy cows. The PSB was 148.5 thousand/ml. The method of administration of the products played a major role here, because intramuscular administration of the auto vaccines Sevaron 1 and 2, which was administered indiscriminately to all dairy cows, caused an immune reaction in most animals, such as an increase in temperature, swelling at the injection site, embryonic die-off, lack of appetite and a decrease in performance in the first two days after administration. Sevaron 3, which had the same composition as Sevaron 2, was administered intradermally. No adverse effects occurred with intradermal application. Intradermal administration is needle-free and therefore more gentle on the dairy cow. The results showed that vaccination with Mastivac, J-Vac and autovaccine reduced the incidence of mastitis in the herd by 7.4 %, from 14 affected cows per month to 1. Somatic cell counts decreased by 121.5 thousand/ml. Based on the results obtained, it can be said that the hypothesis was confirmed. The vaccination reduced the number of mastitis at the level of significance ($P < 0.05$) as well as PSB at the level of significance ($P < 0.05$).

Keywords: dairy cow, mastitis, mammary gland, prevention, treatment, vaccine

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce a vědecká hypotéza.....	8
3	Literární rešerše.....	9
3.1	Fyziologie a morfologie mléčné žlázy	9
3.2	Mastitida	10
3.3	Původci mastitid.....	11
3.3.1	Streptokoky	11
3.3.1.1	Streptococcus uberis.....	11
3.3.1.2	Streptococcus agalactiae.....	12
3.3.1.3	Streptococcus dysgalactiae.....	12
3.3.2	Stafylokoky	12
3.3.2.1	Escherichia coli	12
3.3.2.2	Klebsiella pneumoniae	12
3.3.3	Clostridium	13
3.4	Prevence mastitid	13
3.4.1	Omezení zootecnických příčin vzniku mastitid.....	13
3.4.2	Zasušování dojníc	15
3.4.3	Vakcinace.....	16
3.4.3.1	Způsoby aplikace vakcín.....	18
4	Metodika	20
4.1	Představení podniku	20
4.1.1	Charakteristika stáda.....	21
4.1.2	Vakcinační schémata	22
5	Výsledky.....	24
5.1	Startvac	24
5.2	Mastivac	26
5.3	J-VAC.....	27
5.4	Autovakcína Sevaron 1.....	28
5.5	Autovakcína Sevaron 2.....	30
5.6	Autovakcína Sevaron 3.....	32
6	Shrnutí výsledků a diskuze	34
7	Závěr	37
8	Literatura	38
8.1	Obrázky.....	I
8.2	Tabulky	I

1 Úvod

Chov skotu je základním odvětvím živočišné výroby a má zásadní podíl na celkových tržbách zemědělských podniků. Zároveň je z ekonomického hlediska nejvíce náročným odvětvím živočišné výroby. Záněty mléčné žlázy jsou nejvýznamnějším zdravotním i ekonomickým problémem mléčného skotu. Patří k nejčastějším chorobám vyskytujícím se v chovech dojného skotu po celém světě (Halasa et al. 2007). Na vzniku tohoto onemocnění se podílí vnější i vnitřní faktory a celá řada infekčních agens. Nyman et al. (2007) se domnívají, že výskyt mastitid je ovlivněn manažerskými a environmentálními faktory jako je ustájení krav, správné nastavení dojícího zařízení, krmný režim, hygienická kvalita krmiva a vody, čistota krav, provádění preventivních opatření a obecné postupy týkající se např. zaprahování krav. Nejefektivnější je systémové uplatnění preventivních opatření, které vede k eliminaci vzniku mastitid i dalších onemocnění, čímž snižuje aplikaci antibiotik a možnost případného vzniku rezistence mikrobiálních původců na antibiotika. Základním opatřením prevence mastitid je dodržování správné rutiny dojení včetně dezinfekce struků, pravidelná sanitace dojících zařízení a udržování čistoty boxových loží, podestýlky a pravidelný odklíz výkalů z pohybových chodeb. Dalším účinným preventivním opatřením, i když u nás ne příliš rozšířeným, je vakcinace krav k posílení imunity proti původcům onemocnění.

Cílem práce je vyhodnotit účinnost vakcinačních protokolů v konkrétním chovu dojníc.

2 Cíl práce a vědecká hypotéza

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit vliv vakcinace několika dostupnými přípravky na výskyt onemocnění mléčné žlázy a počet somatických buněk v mléce ve stádě holštýnských krav.

Hypotéza: Vakcinace krav přípravky Startvac, Mastivac, J-Vac a autovakcíny proti mastitidě specifické pro stádo dojnic na farmě v Kochánově významně snižuje výskyt mastitid dojnic a počet somatických buněk v mléce.

3 Literární rešerše

V následující kapitole je popsána mléčná žláza a její fungování, je zde zmíněna problematika mastitid, její nejčastější původci a mikroorganismy vyskytující se v podávaných vakcínách na farmě v Kochánově.

3.1 Fyziologie a morfologie mléčné žlázy

Mléčná žláza je svým fylogenetickým původem kožní žlázou, která se zakládá v raném embryonálním období u samičího i samčího pohlaví (Marvan et al. 2011). Plně se však vyvíjí jen u samic a k dokončení jejího růstu dochází v období březosti (Vliegheer et al. 2012). Reece (2010) uvádí, že se u skotu nachází v krajině stydké a je rozdělena na dvě poloviny vemennou brázdou. Tyto poloviny jsou dále rozděleny příčnými brázdami na čtvrtky. Každá čtvrt' mléčné žlázy je zakončena strukem. Jednotlivé čtvrtě vemene skotu nejsou zcela rovnoměrné. Břišní bývají často menší než zadní a tvoří zhruba 40 % hmotnosti vemene. Vzhledem k požadavkům na vysokou produkci mléka by vemeno mělo být polovejčitého tvaru se širokou základnou a dobře vyvinutým závěsným aparátém. V každé čtvrti vemene se nachází žlázový parenchym. Ten je složen z velkého množství drobných lalůčků, které jsou spojeny intersticiálním vazivem. Základní jednotkou lalůčku je sekreční alveolus (McGeady et al. 2006). Sekreční alveoly, ve kterých se tvoří mléko, jsou pomocí sekrečních tubulů spojeny do nitrolalůčkového vývodu, který ústí ve vývodu mezilalůčkovém (Marvan et al. 2011). Alveoly a tubuly jsou z vnější strany obklopeny sítí plochých buněk hvězdicovitého tvaru. Tyto buňky svými kontrakcemi smršťují mléčné alveoly a tubuly a napomáhají vytlačení mléka do vývodných cest. Mezilalůčkové vývody přechází postupným sléváním do mlékojemu, kde se mléko shromažďuje (Reece 2010). Každá čtvrt je zakončena strukem uzavřeným pomocí svěrače skládajícího se z hladkosvalových snopců (Marvan et al. 2011), jímž je zabráněno výtoku mléka. Tlak při dojení nebo sání způsobuje roztažení struku a mléko tak může vytéct strukovým kanálkem z mlékojemu (Reece 2010). Vliegheer et al. (2012) upozorňují, že schopnost shromažďovat mléko významně rozhoduje o vhodných intervalech mezi dojeními, aby nedošlo ke snížení intenzity sekrece mléka.

Přeměna látek na prekurzory mléka probíhá v největší míře v játrech: z živin, které jsou krví dopravovány z trávicího traktu do mléčné žlázy. Mechanickým drážděním mléčné žlázy dochází ke spuštění ejekčního reflexu, tím k uvolnění hormonu oxytocinu z neurohypofýzy prostřednictvím hypothalamu. Ten se krví dopravuje k myoepiteliálním buňkám, které obklopují alveoly a vývody mléčné žlázy a způsobuje jejich smrštění a zvýšení nitrovemenného tlaku (Reece 2010). Oxytocin začne účinkovat přibližně minutu od stimulace vemene. Stresové faktory jako je bolest, strach, hluk atd. můžou sekreci mléka negativně ovlivnit, doplňují Vliegheer et al. (2012). McGeady et al. (2006) se zmiňují o vrozené absenci jedné nebo více mléčných žláz a naopak o nadpočetných bradavkách, označovaných jako pastruky, které jsou obvykle umístěny kaudálněji a dorzálněji oproti normálním strukům. Ačkoli jsou tyto struky často základní a nedokonalé, můžou vylučovat mléko.

3.2 Mastitida

Mastitidy neboli záněty mléčné žlázy jsou nejčastějším a nejvýznamnějším zdravotním i ekonomickým problémem chovů mléčného skotu (Seegers et al. 2003). Jedná se o komplexní velmi závažné polyfaktoriální onemocnění, které vede k fyzikálním, chemickým a bakteriologickým změnám mléka (Raynal et al. 2007). Zánět mléčné žlázy je obvykle důsledkem invaze a kolonizace mléčné sekreční tkáně jedním nebo více patogeny (England & Heimendahl 2010). Carlén et al. (2004) tvrdí, že zdraví vemene je ovlivněno geneticky a to nepříznivě koreluje s dojivostí. Vývoj mastitidy může ovlivnit mnoho faktorů. Častými příznaky zánětu jsou: snížená produkce mléka, bolestivost, otok mléčné žlázy, vločky a sraženiny v mléce, případně zvýšená tělesná teplota (Blowey 2016).

Mastitida neohrožuje chovy skotu jen pro sníženou produkci mléka. Negativně působí také na reprodukci, která je pro toto odvětví stejně důležitá jako kvalita mléka. Existuje velké množství antimastitidních programů, zajišťujících prevenci proti vzniku tohoto onemocnění a různé formy řešení při rozšíření infekce ve stádě (Nielsen 2009). Mléko obsahuje určitý počet somatických buněk (PSB), jejichž množství je indikátorem zdraví mléčné žlázy. Pokud je mléčná žláza infikována či mechanicky poškozena, spouští se zánětlivá reakce a imunitní systém reaguje vyplavováním bílých krvinek v místě zánětu (Schroeder 2012). Dochází k nárůstu počtu somatických buněk v mléce (Futo et al. 2012). Piepers et al. (2007) uvádí, že počet somatických buněk se používá po celém světě jako indikátor stavu mléčné žlázy, podle Persson & Olefsson (2011) je to nejčastěji používaný ukazatel a Stuhr et al. (2013) ho označují za velmi přesný detektor mastitidy. Tato metoda se používá pro hodnocení kvality mléka a slouží pro zařazení mléka do jakostních tříd (Raynal et al. 2007). Zvýšení počtu somatických buněk v 1 ml mléka je buď důsledkem zánětlivého procesu, nebo je ovlivněno některým z fyziologických procesů, jako je např. říje nebo pokročilá fáze laktace (Raynal et al. 2007). Postižená tkáň mléčné žlázy reaguje obrannou reakcí ve formě silného zánětu, leukocyty z krve se ve velkých počtech přesouvají do alveol, aby zničily patogeny, které pronikly do mléčné žlázy. Tím dochází k odumírání mlékovitorných buněk, jež jsou společně s leukocyty mlékem vylučovány z vemene ven (England & Heimendahl 2010).

Nejčastějšími původci podílejícími se na vzniku mastitid jsou mikroorganismy. Lze je rozdělit do dvou rozsáhlých kategorií. První skupinou jsou volně se vyskytující patogeny, které se nazývají enviromentální. Druhou skupinou jsou nakažlivé patogeny, které se šíří vzájemným kontaktem mezi jedinci (Callaway & Edrington 2012). Stejně jako u jiných onemocnění může být projev zánětu mléčné žlázy klinický nebo subklinický (Aqib et al. 2019). Klinická forma mastitidy má výraznější a rychlejší průběh. Při absenci léčby může způsobit trvalé zdravotní postižení jedince i smrt. Při klinickém zánětu dochází velmi často k narušení celkového zdravotního stavu, to se projevuje velmi rychlým zvýšením počtu somatických buněk v mléce, horečkou, poklesem produkce mléka, nechutenstvím, apatií, změnami na mléčné žláze a změnami v obsahu mléka (England & Heimendahl 2010). Subklinická forma mastitidy může přetrvávat až několik měsíců. Často je pokračováním klinické mastitidy. Jedním z ukazatelů této formy je přetrvávající vysoký počet somatických buněk bez zjevných klinických příznaků. Mléko je vizuálně nezměněné, mléčná žláza nevykazuje žádné abnormality, celková tělesná teplota jedince se udržuje v rozmezí normálních hodnot a nedochází k výraznému poklesu produkce mléka (Aqib et al. 2019).

Mastitida je zánětlivá reakce vyvolaná patogenními mikroorganismy, které se dostanou strukovým kanálkem do vemene, překonají obranné mechanismy, začnou se ve vemeni množit a produkují toxiny škodlivé pro mléčnou žlázu. Dochází pak k poškození tkáně vemene. V důsledku toho se mění složení mléka: dochází k úniku krevních složek, sérových proteinů, enzymů a solí do mléka. Zřejmá je snížená syntéza kaseinů, laktózy a snížená kvalita tuku (Østerås 2000). Rozsah těchto změn je dán závažností infekce (Harmon 1994). Spektrum bakterií způsobujících mastitidu se často mění (Nielsen et al. 2010).

3.3 Původci mastitid

Původce mastitid lze z epidemiologického hlediska rozdělit na enviromentální a infekční. Mezi mikroorganismy vyvolávající nejčastější infekční mastitidy řadíme hlavně stafylokoky a streptokoky (Harmon 1994) – ty nejčastěji způsobují klinickou mastitidu (Djabri et al. 2002) a vedou k nejrozsáhlejším změnám složení mléka (Harmon 1994). Tyto infekce jsou nejčastěji způsobeny *Staphylococcus aureus*, *Streptococci (agalactiae, dysgalactiae, uberis)*, *Escherichia coli* a *Klebsiella* spp. Menší patogeny, včetně *Corynebacterium bovis* a koaguláza-negativní stafylokoky, způsobují pouze středně závažnou infekci a jsou nejčastěji spojovány se subklinickou mastitidou (Harmon 1994; Djabri et al. 2002). Při infekční mastitidě je mléčná žláza primárním rezervoárem patogenů. Enviromentální mastitidy jsou vyvolány organismy, které se nachází v životním prostředí, probíhají velmi často akutně nebo preakutně a jsou terapeuticky obtížně zvládnutelné. Patří sem původci G- bakterie, zejména enterobakterie. Typickým zástupcem je *E. coli*. Významné jsou také bakterie z rodu *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* a *Yersinia*, které se množí ve stájovém prostředí (Djabri et al. 2002). Situace ve výskytu klinických i subklinických mastitid na jednotlivých farmách může být velmi rozdílná (Peeler et al. 2000; Schreiner & Ruegg 2003). Například ve Švédsku jsou nejčastějšími patogeny izolovanými v případech klinických mastitid *Staph. aureus*, *Strept. dysgalactiae* a *E. coli* (Waller et al. 2009). V závislosti na vektoru přenosu jsou bakterie považovány buď za nakažlivé nebo za patogeny prostředí. *Staph. aureus* a *Strep. agalactiae* jsou nakažlivé patogeny, jejichž hlavním rezervoárem jsou vemena infikovaných krav. Nakažlivé patogeny se šíří z krávy na krávu, především během dojení, a mají tendenci vést k chronickým subklinickým projevům (Harmon 1994). Mezi patogeny prostředí patří *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Strept. dysgalactiae* a *Strept. uberis*. Ty primárně osidlují podestýlku, hnůj a půdu. Většina infekcí způsobených environmentálními patogeny je klinická a má krátké trvání (Harmon 1994).

3.3.1 Streptokoky

3.3.1.1 Streptococcus uberis

Streptococcus uberis je střevní, slizniční a epiteliální komenzál skotu. Bakterie příležitostně napadají mléčnou žlázu starších krav v prostředí silně znečištěném výkaly (Steenefeld et al. 2007). Tento kmen je zodpovědný za zhruba 20 až 30 % případů klinické mastitidy u stád dojnic v Evropě a Severní Americe. Po vstupu přes strukový kanálek se bakterie váže, proliferuje a indukuje příliv neutrofilů do sekrečních částí, což je patrné po 24 hodinách. Následuje septický edém a nekróza alveol. Závažnost mastitidy se velmi liší, je určována počtem

infikujících organismů, virulencí kmene, imunitním stavem dojnice, ročním obdobím, paritou a stádiem laktace (Gyles et al. 2010).

3.3.1.2 *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae je důležitým zástupcem způsobujícím chronickou nakažlivou bovinní mastitidu. Zároveň způsobuje i jiná onemocnění nesouvisející s mléčnou žlázou. *Streptococcus agalactiae* je parazitem tkání a epitelu mléčné žlázy u přežvýkavců, u člověka je komenzálem v gastrointestinálním traktu. Mastitidu způsobenou touto bakterií lze vyléčit (Fraser et al. 2018).

3.3.1.3 *Streptococcus dysgalactiae*

Streptococcus dysgalactiae se vyskytuje jako epidermální a mukózní komenzál většiny savců a ptáků a zároveň jako patogen domácích zvířat. Některé jeho kmeny jsou příčinou klinické i subklinické mastitidy u skotu (Gyles et al. 2010).

3.3.2 Stafylokoky

Stafylokok je v současné době jeden z nejvýznamnějších původců mastitidy. Způsobuje jak akutní, tak i chronickou formu mastitidy (Barkema et al. 2006). Na rozdíl od streptokoků nekolonizují stafylokoky na kůži, ale infikují pouze mléčnou žlázu. Pokud se vyskytne stafylokoková mastitida, je vysoká pravděpodobnost, že akutní onemocnění přejde do chronické fáze bez úplného vyléčení (Fraser et al. 2018). Mnoho kmenů *Staphylococcus aureus* je rezistentních na penicilin. Léčba subklinické infekce nebývá úspěšná. Pravděpodobnost úspěšné léčby závisí na imunitním stavu zvířete, jeho věku a patogenním kmenu. S rostoucím věkem zvířete a zvyšujícím se počtem somatických buněk v mléce úspěšnost léčby klesá. *Staphylococcus aureus* způsobuje často až gangrenózní mastitidu. Akutní mastitida může být systematicky léčena vhodným antibiotikem, například erytromycinem, streptomycinem, oxytetracyklinem nebo chlortetracyklinem (Barkema et al. 2006).

3.3.2.1 *Escherichia coli*

Mezi hlavní zástupce koliformních bakterií způsobujících záněty mléčné žlázy patří *Escherichia coli* (Waller et al. 2009). Nejčastěji způsobuje mastitidy do tří týdnů po zasažení, protože se strukový svěrač déle uzavírá. Projevit se může i v průběhu laktace z důvodu tepelného stresu při uléhání dojníc do mokrých hnojných chodeb nebo ze zaplísňeného krmiva. T-2 toxin blokuje správnou funkci svěrače struku. *E. coli* se v mléčné žláze rychle rozmnožuje a infekce se tak rychle rozvíjí. Endotoxiny poškozují alveoly a krevní cévy, čímž dochází k nekróze postižené čtvrti. Způsobuje převážně akutní a perakutní formy onemocnění, které často končí náhlým úmrtím zvířete (Gröhn et al. 2004). Při akutní formě mastitidy je z postižené čtvrti vydojována žlutá tekutina s hrudkami. Reparace tohoto stavu trvá týdný (Věříš 2017).

3.3.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

Tuto bakterii najdeme především v půdě, vodě a na kůži vemene dojníc (Hofírek 2009). Infekce má podobný průběh jako bakterie *E. coli*. Produkce toxinů má však závažnější dopad. *Klebsiella*

pneumoniae je nejčastější příčinou náhlé smrti u krav po zasušení (Věříš 2017). Do mléčné žlázy pronikají bakterie neuzavřeným nebo poškozeným strukovým kanálkem. Klinicky toto onemocnění propuká převážně pod vlivem nepříznivých faktorů, které snižují imunitu dojnice (Gröhn et al. 2004).

3.3.3 Clostridium

Nezpůsobují záněty mléčné žlázy, ale jsou nedílnou součástí vakcinačních schémat proti mastitidě. Clostridium je grampozitivní, tyčinkovitá, anaerobní a sporotvorná bakterie. Čítá 250 druhů, které lze nalézt v různých prostředích (McDonnell & Holmes 1990). Způsobuje vážné ekonomické ztráty v chovech skotu (Brazier et al. 2000). Exotoxiny Clostridium způsobují mírné až těžké poškození gastrointestinálního traktu, měkkých tkání a nervového systému. Důležitou prevencí je správná hygiena a vakcinace, proto je pravidelné očkování účinným způsobem kontroly klostridiové infekce ve světě (Carter et al. 2007). Vyhodnocení ekonomických ztrát způsobených *C. septicum* je obtížné kvůli nedostatku dat. Vzhledem k vysoké úmrtnosti však lze odhadnout vážné poškození (Baldassi et al. 1985). Kontrola *C. septicum* je založena na preventivních měřeních a vakcinaci stáda (Thachil et al. 2013). U skotu je často v odchovných podávána kombinace čtyřcestné vakcíny, která se skládá z usmrcených kultur *C. chauvoei*, *C. septicum*, *C. novyi* a *C. sordellii*. Klostridiové vakcíny často způsobují tkáňové reakce a otoky, a proto by měly být skotu podávány spíše do krku a subkutánně než intramuskulárně (Lakshmi 2016).

3.4 Prevence mastitid

3.4.1 Omezení zootecnických příčin vzniku mastitid

Zamezení šíření původců mastitid v rámci stáda je hlavním cílem preventivního opatření v chovu dojníc (Bouška et al. 2006). V patogenezi mastitid skotu mají zásadní význam technologie získávání mléka a technologie ustájení – ty mají především vliv na výskyt environmentálních mastitid. Ustájení je potenciální činitel snižující přirozenou odolnost zvířat. Děje se tak zejména stresovými vlivy, což zahrnuje nepohodlí zvířat, strach nebo bolest. Může se jednat o nevhodné mikroklima stáje, nebo mechanické překážky vedoucí k poranění mléčných žláz, překážky omezující zvířata při odpočinku vleže, případně omezující jejich pohybovou aktivitu ve volném bezstelivovém ustájení (Hofírek et al. 2009). Doležal et al. (2000) uvádí, že pobyt krav ve stájích zvyšuje výskyt mastitid, protože stájové prostředí je více zamořeno mikroorganismy, které se množí v organické hmotě a ve výkalech. Seydlová (2006) uvádí, že v našich klimatických podmínkách je ustájeno téměř 82 % dojníc ve stájích, kde dojnice nemají možnost pobytu venku.

De Vliegher et al. (2012) upozorňují, že špatná hygiena už v době telení je spojena se zvýšenou citlivostí k zánětům. Taktéž Piepers et al. (2011) zmiňují vyšší pravděpodobnost infikování environmentálními patogeny krátce po porodu. Pro prevenci mastitid způsobených environmentálními patogeny je nejvhodnější volné boxové bezstelivové ustájení s měkkými matracemi. Matrace je nutné čistit a dezinfikovat. Často se používá vápno, které snižuje přítomnost patogenů a matrace vysouší (Veauthier 2011a). Tvrdé gumové matrace jsou pro dojnice nepohodlné a vedou k uléhání mimo boxy (Hofírek et al. 2004). Dojnice se špinavými

vemeny mají vyšší riziko mastitidy (Compton et al. 2007). Ustájení na hluboké podestýlce je pro dojnice nevhodné (Hofírek et al. 2004). Čím větší je primární znečištění steliva, tím je stelivo vlhčí, teplota ustajovacích prostor vyšší a vede k pomnožení bakterií (Brzdil 2011). Owens et al. (1998) zmiňují mouchy jako faktor přenosu patogenů na dojnice. Piepers et al. (2011) doporučují použít vhodnou formu kontroly výskytu much.

Vlivy mikroklimatu stájí mají významnou roli, neboť bylo prokázáno, že vysoká teplota (nad 25°C), vysoká relativní vlhkost vzduchu (nad 85 %) a průvan jsou vhodné faktory pro vznik mastitid (Hofírek et al. 2004). Tepelný stres u dojnic negativně ovlivňuje příjem krmiva, zvyšuje příjem vody a může vést k výraznému poklesu mléčné užitkovosti a změně chování (Tao et al. 2018). Zhoršuje také reprodukční funkce u krav a ovlivňuje welfare zvířat, což může mít dlouhodobé následky (Whay & Shearer 2017). Tepelný stres lze minimalizovat podpořením přirozené výměny vzduchu ve stáji a ventilátory. Jedná se o mechanické systémy, nejčastěji cirkulační ventilátory, které mísí a urychlují proudění vzduchu ve stáji, popisuje Mondaca (2019). Další možností je ochlazování zvířat pomocí jednotek evaporačního ochlazování, které jsou umístěny na nosný rám situovaný nad krmištěm (Ježková 2017). Znalost těchto zásad by měla stimulovat farmáře ke zlepšení ustájení a pohodlí zvířat (Vlieghe et al. 2012).

Technologie a hygiena získávání mléka hrají významnou roli zejména z hlediska výskytu kontagiózních mastitid. Technologie může působit jako traumatizující faktor, který začíná působit již okamžikem odchodu dojnic z prostoru ustájení do dojírny (Hofírek et al. 2009). Prostředí vhodné pro dojení by mělo být čisté a splňovat hygienické požadavky. Nemělo by pro dojnice představovat stres (Schroeder 2010). Hofírek & Haas (2003) upozorňují, že pokud je zvíře neklidné, častěji kálí v čekárně či v dojírně. Dodržování zásad hygieny získávání mléka je třeba považovat za preventivní opatření, kdy dochází k minimalizaci počtu mikroorganismů v prostředí dojnice (Seydlová 2006). Dojnice by se měly přesouvat do čekárny a dojírny pomalou chůzí, nikoli naháněním, a trávit čekáním co nejméně času. Při těchto přesunech je třeba eliminovat křik nebo dokonce násilí.

U vysokoprodukčních zvířat může docházet při naplněné mléčné žláze ke spontánnímu odtoku mléka. Hofírek et al. (2009) tento jev hodnotí jako rizikový pro vznik mastitid. Mléko kapající z jednoho nebo více struků je spojeno se zvýšeným rizikem infekce vemene a rozvoje mastitidy (Persson et al. 2003). Dojící stroj může působit na dojnice jako vektor přenosu infekce, ale také může způsobovat traumatizaci vemene (Hofírek et al. 2009). Sanitace je důležitým bodem při udržení hygienického stavu dojícího zařízení. Příprava mléčné žlázy patří mezi nejdůležitější pracovní operace před dojením (Doležal & Kopunecz 2010). Dezinfekce struků před dojením může být prováděna různými způsoby. Seydlová (2006) uvádí, že predippingem lze snížit výskyt zánětů způsobených patogeny z vnějšího prostředí až o 50–55%. Před vlastním dojením kontrolujeme, zda mléčná žláza nevykazuje příznaky zánětu. Proto provádíme odstřík mléka do speciální nádoby s tmavým dnem, dále kontrolujeme případný otok, bolestivost a teplotu mléčné žlázy. Po stimulaci mléčné žlázy je vylučován oxytocin, proto nesmí doba přípravy mléčné žlázy trvat příliš dlouho. Dojící zařízení je nutné nasadit na suché struky (Schroeder 2010) a nesmí docházet k předojování, respektive k dojení na sucho, to by představovalo traumatizaci struku, která usnadňuje kolonizaci sliznice environmentálními původci mastitid (Hofírek & Haas 2003). Po dojení je naprosto nezbytné struky dezinfikovat tzv. postdippingem – ten je klíčový v prevenci environmentálních mastitid.

Dojnice s nadměrnou ztrátou tělesné kondice jsou vystaveny vysokému riziku edému vemene, který je zase spojen se zvýšeným rizikem mastitidy (Compton et al. 2007). Strategie k minimalizaci ztráty tělesné kondice a nadměrné mobilizace tělesné tkáně se tedy jeví jako racionální způsob snížení rizika mastitidy dojníc. Podle Nymana et al. (2007) bylo prokázáno, že zkrmování sena, senáže, cukrovarských řízků nebo kukuřičné siláže před otelením zvyšuje riziko mastitidy. Chyby v krmení vysokoužitkových dojníc jsou stále častěji spojovány s obtížnou léčbou mastitid (Veauthier 2011b). Výzkum ukázal, že některé vitamíny a minerální látky jsou důležité v boji proti infekcím. Složení minerálních doplňků je podle Rodenburga (2011) v mnoha případech nedostatečné. Rodenburg (2011) zmiňuje, že vyvážený poměr všech živin zlepšuje odolnost krav proti infekcím, včetně mastitid. Byl zaznamenán pozitivní vliv selenu a vitamínu E. Tyto prvky jsou spojovány se sníženým rizikem zánětu mléčné žlázy, protože zvyšují fagocytární aktivitu (Barkema et al. 2006). Vitamin E také působí pozitivně při snižování otoku mléčné žlázy (Heinrichs et al. 2009). Barkema et al. (2006) dodává, že nejnižší koncentrace vitamínu E v krvi dojníc bývá v období kolem porodu. Rodenburg (2011) uvádí, jako nedostatečné minerální doplňky zejména u krav v zaprahlosti. Také krmné dávky jalovic by měly být vhodně doplněny, aby se zajistily dostatečné zásoby minerálů a vitamínů v první laktaci (Heinrichs et al. 2009). Doplnění minerálních látek a vitamínů je spojeno s vyšší životaschopností polymorfonukleárních neutrofilů krve a mléka (klíčových buněk ve vrozené imunitní obraně vemena) v době kolem porodu u dojníc (Piepers et al. 2011). Pavlata et al. (2006) upozorňuje na nadměrné množství jódu, ten naopak snižuje odolnost proti chorobám. Podle Heinrichs et al. (2009), má měď antioxidantní účinky a mohla by snížit mastitidy u dojníc.

Mykotoxiny v krmení představují potenciální riziko pro vznik mastitid. Koliformní bakterie při rozpadu uvolňují endotoxiny a tím kontaminují krmivo. Proniká-li velké množství endotoxinů přes bariéru střeva, může docházet k negativnímu působení na tkáň mléčné žlázy (Veauthier 2011b). Nevhodně skladovaná siláž obsahuje vyšší hladinu popelovin, kyseliny máselné, octové a také alkoholu (Ježková 2017). Obilí určené ke krmení musí být přísně kontrolováno, aby nebylo naklíčené, neboť takové obilí obsahuje vyšší množství mykotoxinů (Veauthier 2011b). Proto Nehasilová (2009) doporučuje nekvalitní krmiva z krmných dávek vyřadit. Také zdravotně nezávadná voda je zásadní podmínkou pro zajištění zdraví dojníc (Ticháček et al. 2007).

Jalovičky krmené mastitidním mlékem představují významný rezervoár infekce pro ostatní jedince ve stádě, případně u nich může při zátěži vypuknout mastitida (Doktorová 2002). Při zkrmování mastitidního mléka dochází k zachycení infekčních agens na mandlích telete. Zárodky ve zvířeti přežívají do otelení a přecházejí do mléka (Doktorová 2002). Při dlouhodobém podávání podprahových koncentrací antibiotik dochází u zvířat k vytvoření rezistence na léčbu antibiotiky (Kořínek 1999).

3.4.2 Zasušování dojníc

Období stání na sucho by mělo představovat pro dojnici odpočinek a regeneraci mléčné žlázy. Kráva se během této doby připravuje na porod a následnou laktaci (Neff & Stabel 2007). Doporučená délka tohoto období je 60 až 70 dní (Andersen et al. 2005). Období stání na sucho je důležité pro zdravotní stav krav (Kim et al. 2003), produkci mléka (Annen et al. 2004) a plodnost dojníc (Beever 2006). Kratochvíl (2006) označuje období, kdy není mléčná žláza

vydojována, jako nejrizikovější pro vznik mastitid. V období zprahlosti vzniká 2–3x více zánětů mléčných žláz než v době laktace. Bradley et al. (2011) upozorňují, že krávy mohou být infikovány i během procesu zasušování. Během stání na sucho je nutné zajistit čisté a suché prostředí pro dojnice, protože průnik environmentálních patogenů do vemene představuje zvýšené riziko (Ticháček et al. 2007). Vytvoření keratinové zátky je obranný systém proti průniku mikroorganismů do mléčné žlázy v období stání na sucho. Zátka se tvoří v průběhu prvního týdne po zaprahnutí uvnitř strukového kanálku. Problém nastává, když se tato zátka nevytvoří (Kratochvíl 2006). Problémové uzavírání strukového kanálku mohou vyřešit neantibiotické preparáty na zaprahování, které uzavřou a vyplní strukový kanálek (Ticháček et al. 2007). Zasušování prováděné postupným snížením příjmu krmiva a snížením četnosti dojení během 3–5 dní dokázalo snížit únik mléka a prevalenci intramamárních infekcí (Tucker et al. 2009). Odensten et al. (2007) ovšem upozorňují, že drastičtější omezení krmiva ve formě slámové diety způsobuje zvýšenou hladinu kortizolu, což naznačuje vyšší míru stresu. Podle Andersona (2005) je praxí prověřeno, že rychlý proces zaprahování u zdravé mléčné žlázy probíhá bez nepříznivých následků. V problémových stádech může zasušení zhoršit zdravotní stav vemen se subklinicky probíhajícími záněty (Ticháček et al. 2007). Klasická antibiotická léčba v zprahlosti má za cíl eliminaci stávající infekce a prevenci nových infekcí během doby zprahlosti. Vzájemný poměr těchto dvou cílů se začíná měnit ve prospěch prevence, protože v dobrých chovech klesá počet krav, které mají infekci v době zaprahování (Kratochvíl 2006). Terapeutická hladina antibiotik ve vemeni přetrvává po celou dobu stání na sucho (Kratochvíl 2006). Ve většině chovů se stala antibiotická léčba v zprahlosti rutinní záležitostí (Ticháček et al. 2007). Teale & Moulin (2012) nedoporučují plošné užívání antibiotik bez předchozího bakteriologického vyšetření. Ticháček et al. (2007) zmiňuje možnost zaprahování zdravých krav s počtem somatických buněk na konci laktace do 200 tis. v ml bez použití antibiotik. Jedná se o tzv. vnitřní tmely (Scott et al. 2011). U nás je přípravek dostupný pod názvem OrbeSeal (Kratochvíl 2006). Po otelení je přípravek jednoduše vydojen (Kratochvíl 2006). Huxley et al. (2002) ve své studii prokázali, že tento prostředek může významně snížit počet nových intramamárních infekcí získaných během období stání na sucho. Použití tmelů se doporučuje výhradně u krav bez subklinické mastitidy (Rabiee & Lean 2013). Pouze bakteriologické vyšetření mléka může prokázat, že čtvrt' není subklinicky infikována (Crispie et al. 2004).

3.4.3 Vakcinace

Očkování je jednou z nejúčinnějších metod prevence nemocí. Vakcína pomáhá imunitnímu systému těla identifikovat a vymýtit život ohrožující patogeny (Springer & Selbitz 1999). Vakcinace zaujímá významné místo v boji proti infekčním onemocněním (Zhylkaidar et al. 2021). Možnost provádění imunoprophylaxe u mastitid je známá po celém světě (Scott et al. 2011). Většina vakcín byla založena na dosažení vysoké hladiny specifických protilátek v krvi dojníc, které pak přechází do mléka. Úspěch prevence vakcín závisí na kvalitě vakcín a včasné proočkovanosti ohrožených populací (Zhylkaidar et al. 2021). Imunoprophylaxe mastitid zahrnuje postupy a prostředky cíleného zvyšování specifické imunity vůči infekčnímu agens (Ticháček et al. 2007). Vakcinace proti mastitidě je nejběžnějším přístupem ke zlepšení přirozené imunity dojníc (Sordillo et al. 1997). Vývoj vakcíny probíhal i v minulém století, ale

v té době nebyla účinnost vakcín proti mastitidě potvrzena. V mléčné žláze jsou přítomny antibakteriální systémy, ale jejich účinnost proti mastitidě je velmi omezená (Sordillo et al. 1997). Podle Krejčího (2006) spočívá jedno z úskalí v tom, že přestup protilátek z krve do mléka probíhá aktivním transportem nezávislým na koncentraci protilátek v krvi, ale na fyziologickém stavu mléčné žlázy. Dalším úskalím je nízká hladina komplementu v mléce a nízká výkonnost neutrofilů. Pro ně je limitující vysoká spotřeba kyslíku, ten má v mléce stokrát nižší koncentraci než v krvi. Kromě toho fagocyty buňky potřebují energii, kterou mohou čerpat z glukózy, té je však v mléce také velmi málo. Dalším problémem je, že velká část fagocytárních buněk fagocytuje i neškodné tukové kapénky, čímž se vyčerpává jejich počet (Hofírek et al. 2009).

K dispozici je široká škála vakcín, jednotlivě nebo v kombinacích, které se skládají z bakterinů, toxoidů nebo jejich směsí. Jednotlivá vakcinace většinou neposkytuje adekvátní úroveň ochrany a musí po ní následovat posilovací dávka během 3–6 týdnů (Springer & Selbitz 1999). V programu tlumení zánětů mléčné žlázy lze použít stájovou monovalentní (*Staphylococcus aureus*) nebo polyvalentní (streptokoky/stafylokoky) vakcínu (Hofírek et al. 2009). Jedním z problémů je vysoký počet patogenů mastitid a jejich heterogenita. Imunoglobuliny se do vemene dostávají až po rozvinutí mastitidy, což vysvětluje špatnou účinnost parenterálních vakcín starého typu (Pankey et al. 1985). Ve vakcinačních schématech jsou často používané polyvalentní vakcíny. Jedná se o inaktivované vakcíny zmiňuje Ryšánek (2010), jsou to klasické vakcíny založené na imunogenních vlastnostech usmrcených bakterií a na bakteriálních toxinech s upravenou toxicitou. Subjednotkové vakcíny s purifikovaným antigenem jsou zaměřeny na protilátky proti molekulám, které na povrchu bakterií představují faktory virulence. Základem vakcín s deletovanými geny jsou bakteriální mutanty, které byly vytvořeny tak, aby byl z jejich genomu odstraněn jeden gen nebo skupina genů, kódující faktory virulence (Ryšánek 2010). Hogan & Smith (2003) upozorňují na experimentální výzkumy, které dokázaly, že současné vakcíny s deletovanými geny snižují výskyt a intenzitu průběhu klinických forem mastitid způsobených bakteriálními druhy rodů *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia* a *Proteus*. Chang et al. (2008) uvádí, že se ve stádech dojníc běžně používají jak komerční vakcíny, tak autovakcíny specifické pro stádo využívající usmrcené celé bakteriální buňky s uspokojivými výsledky ve většině případů.

Vakcína vycházející z tohoto základu je nabízena americkou firmou Pfitzer pod různými názvy Upjohn J-5, E. coli Bacterin a Enviracor J-5 a španělskou firmou Hipra pod názvem Startvac (Ryšánek 2010). O vakcíně jádrového antigenu J5 k prevenci koliformní mastitidy se zmiňují ve své práci autoři Hogan & Smith (2003) – ta je v USA komerčně dostupná již více než deset let. Snižuje výskyt koliformních mastitid, ale zprávy o jeho účinnosti jsou stále kontroverzní (Tomita et al. 2000). Imunologický základ účinku není znám. Vakcína s jádrovým antigenem J5 je široce používána v programech kontroly mastitidy ve stádě v USA. Podle většiny (avšak ne všech) studií, komerční vakcína snížila závažnost onemocnění (Erskine et al. 2002). Aplikace těchto přípravků je ve své podstatě preventivní opatření směřující ke zvýšení kvality mléka a udržení dobrého zdravotního stavu dojníc (Ryšánek 2010). Bez ohledu na typ použité vakcíny však tato vakcína sama o sobě nemusí být nutně účinná nebo ekonomická, zejména u stád dojníc s vysokým výskytem mastitid (Chang et al. 2008). Kombinace vakcinace a aplikace dalších postupů kontroly infekce, jako jsou vynikající hygienické postupy při dojení, léčba klinických případů, segregace a utracení infikovaných krav, jsou podle Changa et al.

(2008) důležitými preventivními opatřeními, která obvykle vedou k významnému snížení výskytu a trvání intramamární infekce.

Toušová et al. (2011) uvádí, že v podmínkách ČR nebyly dosud ověřeny a publikovány výsledky aplikace této vakcíny ve vztahu k ukazatelům zdraví dojnic. Podle dostupných informací lze předpokládat, že preventivní aplikace vakcíny zvýší odolnost organismu dojnice a projeví se pozitivně změnami ve složení mléka, počtu somatických buněk, resp. výskytu mastitid.

3.4.3.1 Způsoby aplikace vakcín

Ve stádě probíhala aplikace vakcín několika způsoby. Subkutánní podání léčiv představují autoři Kubová et al. (2014) jako způsob aplikace léčivých látek injekcí do podkožní tkáně. Subkutánní aplikace léčiv představuje méně častou, ale velmi významnou cestu podání léčivých látek. Jedná se o přívod léčivé látky do podkožní tkáně s krevními a lymfatickými kapilárami, ze kterých se léčivo dále vstřebává (Kinnunen et al. 2014). Rychlost absorpce je poměrně nízká a závislá na místě a způsobu aplikace. Je možné ji modifikovat, zrychlení absorpce lze dosáhnout masáží či prohrátím v místě vpichu, popřípadě fyzickou aktivitou, zpomalení pak přísadou vazokonstrikčních látek. Nástup účinku je v porovnání s intramuskulární aplikací pomalejší. Ve srovnání s intravenózní aplikací léčiv představuje subkutánní podání méně invazivní cestu (Dostálek 2006). Po subkutánní aplikaci dochází k vytvoření depa v podkožní tkáni. V závislosti na koncentraci glykosaminu v podkoží a molekulové hmotnosti rozpuštěné látky jsou jednotlivé molekuly léčiva transportovány difuzí. Pomalou difuzí z podkoží přes lymfatický systém do krevního řečiště je vysvětlován i nižší výskyt nežádoucích účinků ve srovnání s intravenózní aplikací (Katdare & Chaubal 2006). Intramuskulární aplikace je podle Mikšové et al. (2005) vpravení účinného léku do svalové tkáně. Intramuskulární injekce podáváme za účelem terapeutickým a profylaktickým, tento typ podání zajišťuje rychlejší vstřebávání látek než aplikace subkutánní. Protože svaly jsou lépe prokrveny než podkožní tkáně. Intramuskulárním podáním můžeme vpravit do organismu větší množství injekční látky a nespornou výhodou je možnost aplikace léků silně dráždivých kůže a podkoží, které tak nelze aplikovat subkutánně.

Porovnání aplikace intradermální bezjehelné a intramuskulární se nachází v Tabulce 1. Rozdíl mezi intradermálním a intramuskulárním podáním je dobře patrný na Obrázku 5 v příloze.

Tabulka 1. Porovnání injekční a bezjehelné aplikace (převzato od MVDr. Jiřího Maška)

	Injekční aplikace do svaloviny	Bezjehelná aplikace do pokožky
+	dostupnost, vybavení, samotná aplikace	není přenos patogenů mezi zvířaty, méně bolestivé, pouze lokální reakce na kůži, delší trvání imunity a lepší reakce imunitního systému, bez vedlejších reakcí u většiny zvířat
-	možné lokální reakce-abscesy, zvýšené teploty do 24 hod od aplikace – zhoršení reprodukce, pokles žravosti, až 3 dny od aplikace snížený nádoj	finanční náročnost vybavení, zvuk přístroje při aplikaci, provedení aplikace (vybavení)

4 Metodika

Údaje využitě při zpracování práce byly získány ze záznamů shromážděných veterinárním lékařem, majitelem farmy a autorkou diplomové práce za období 2012-2021 na rodinné mléčné farmě Petra Nováka v Kochánově zabývající se chovem holštýnského skotu. Na zmíněné rodinné farmě byly od roku 2012 aplikovány u dojnic první vakcíny proti mastitidám a byly vyzkoušeny různé dostupné vakcíny proti různým původcům mastitid. Přípravky byly injekční emulze pro skot s inaktivovanými kmeny bakterií. Způsob a interval podání jednotlivých antimastitidních přípravků byl rozdílný a je popsán níže.

Výskyt zánětů během sledovaných let byl zaznamenán do tabulek. Stejně tak počet somatických buněk a počet dojených zvířat v jednotlivých měsících. Pomocí grafů byl vyjádřen výskyt mastitid a jejich četnost v procentech a počet somatických buněk (PSB). Stupnice kombinovaného grafu vlevo značí počet mastitid a stupnice vpravo určuje počet somatických buněk, grafy jsou rozděleny podle použité antimastitidní vakcíny. Výsledky byly mezi sebou porovnány a vyhodnoceny a získaná data následně zpracována v programu Excel.

4.1 Představení podniku

Rodinná farma v Kochánově se zabývá především chovem mléčného skotu a plemenných zvířat. Novákovi hospodaří na 200 hektarech půdy a veškeré vypěstované plodiny slouží ke krmení. Na pozemcích majitele farmy jsou budovány krajinné prvky, remízky, tůně a v polích jsou zasety květinové pásy sloužící hmyzu, viz obrázek č. 8 v příloze. Dojeno je zde kolem 180 krav, největší zastoupení na farmě má holštýnské plemeno, dále pak plemeno brown swiss, několik kusů českých strak, kříženců a několik plemenných zvířat wagy. Reprodukce je řešena inseminací zvířat a ve velké míře embryotransfery. Plemenní býci z chovu Petra Nováka působí v mnoha chovech, ale i inseminačních stanicích, nejen v České republice.

Současná stáj byla dokončena a naskladněna v roce 1997 a od té doby je původní s minimem úprav. Je vybavena ventilátory, které v horkých letních dnech udržují ve stáji přijatelné mikroklima. Roštové podlahy byly pro lepší komfort dojnic v roce 2019 upraveny položením gumových rohoží. Taktéž došlo k úpravě střechy, kde byla vytvořena regulovatelná větrací štěrbinová. Lehátka jsou 2x týdně nastýlána pilinami. Stáj je rozdělena do 5 sekcí: skupina 1 a 2 mají každá kapacitu 60 krav, ve třetím kotci jsou krávy před zasušením a ve čtvrtém se nachází krávy na začátku laktace. V pátém kotci jsou ustájeny jalovice, které se budou zapouštět. Součástí kravína je dojírna pro 10 krav 2 x 5 autotandem od firmy Westfalia, která bude příští rok nahrazena třemi dojírci roboty od firmy GEA. Krávy jsou po zaprahnutí přesunuty na pastvu, která se nachází pod areálem farmy. Původní budova kravína slouží jako porodna, je rozdělena na dvě sekce, každá o kapacitě 15 ks. Je zde hluboká podestýlka a na telící se krávy je dohlíženo kamerovým systémem. Krávy jsou na porodnu přesunuty čtrnáct dní před termínem porodu, po otelení jsou nechány společně s telaty 4 až 5 dní. Pokud nemají zdravotní problémy jsou krávy převezeny do hlavní stáje a telata do areálu teletníku. Zástavoví býčci jsou prodáváni. Telata plemenná jsou umístěna do věku 2,5 měsíců v individuálních boudách. Po odstavu jsou přemístěna do skupinových boxů po 6 kusech. A ve věku cca 5 měsíců jsou ustájena v teletníku. Nejstarší jalovice jsou převezeny do vedlejší vesnice, kde stojí

jalovárna. Jsou zde ustájeny do doby před zapaštěním, k inseminaci jsou dovezeny zpět do Kochánova. Po zjištění březosti jsou opět dovezeny do jalovárny v Chýšce, kde mají nepřetržitý přístup na pastvinu.

V roce 1997 došlo k naskladnění nově postavené stáje zvířaty z různých stád importovaných převážně z Německa. Od roku 2000 se zvířata začala potýkat s oslabenou imunitou a velkým počtem nemocí, z celkového množství 180 dojnic se měsíčně vyskytovalo průměrně 27 zvířat se zánětem mléčné žlázy. V letních měsících bylo běžně měsíčně léčeno kolem 40 dojnic s mastitidou. Tato neúnosná situace začala být od roku 2005 řešena změnou veterinárního lékaře a následnou prevencí ve stádě. Zpočátku se jednalo o posílení imunity dojnic a zařazení plemenných zvířat do vakcinačních schémat už od narození.

V roce 2007 byl majitel farmy na pracovní stáži na mléčné farmě v USA ve státě Wisconsin, kde rodinná farma vlastnila 120 dojnic plemene holštýn s vysokým genetickým potenciálem. Dojnice byly ustájeny vazným způsobem, byly dojeny 3x denně do systému potrubního dojení. Po ranním dojení, kdy probíhalo čištění stáje, trávily čas ve výběhu. Za celý rok se tam neseťkal s žádným případem mastitidy díky vakcínám J-5. Z tohoto důvodu se rozhodl pro použití vakcinace ve svém stádě.

4.1.1 Charakteristika stáda

Průměrné hodnoty ukazatelů mléčné užitkovosti krav ve stádě Petra Nováka za sledované období 2012-2021 jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2. Průměrné hodnoty ukazatelů mléčné užitkovosti krav ve stádě

rok	dojivost v NL	% tuku	% bílkovin	mezidobí
2012	8 646	3,96	3,23	403
2013	8 762	3,8	3,19	395,5
2014	8 477	3,8	3,23	398
2015	9 375	3,99	3,18	401
2016	9 473	4,08	3,17	389,8
2017	10 335	4,09	3,19	404,4
2018	9 873	3,75	3,17	405
2019	10 407	3,82	3,25	408,4
2020	10 337	3,87	3,3	428,1
2021	10 355	3,98	3,37	422,5

4.1.2 Vakcinační schémata

Časový přehled vakcinačních schémat je uveden v Tabulce 3.

Tabulka 3. Vakcinační schéma

Vakcinační schéma	zahájení	ukončení
Startvac	září 2012	prosinec 2013
Mastivac	leden 2014	prosinec 2014
J-vac	leden 2015	červen 2015
Autovakcína Sevaron 1.	červenec 2015	březen 2016
Autovakcína Sevaron 2.	duben 2016	červenec 2019
Autovakcína Sevaron 3.	srpen 2019	prosinec 2021

Startvac byl podán dojnícím intramuskulárně před otelením a pak 2x během prvních tří měsíců laktace. Působil proti *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Vakcína je určena ke stimulaci aktivní imunity proti bakteriím kmene *Staphylococcus aureus*, koliformním mikroorganismům a koaguláza negativním stafylokokům. Obsahuje inaktivované kmeny *E. coli*, *S. aureus*. Stádo bylo vakcinované podle doporučení v příbalovém letáku. Dávka 2 ml byla aplikována dojnici způsobem hluboké intramuskulární injekce do krčních svalů. Přípravek byl podán všem zaprahkým kravám od 45. do 14. dne před termínem porodu, vysokobřezím jalovicím 45 až 30 dní před otelením. Druhá dávka byla aplikovaná 30 dní po otelení, třetí dávku pak dojnice dostala za další 2 měsíce.

Mastivac chrání dojnici proti největšímu množství patogenů *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyogenes* a *Escherichia coli*. Vakcína byla podána podle doporučení v příbalovém letáku kompletně všem dojnícím bez ohledu na fázi laktace a vysokobřezím jalovicím 60 dní před otelením. Proběhla dvě očkování s odstupem 15 dnů. Vakcína (5 ml) byla vpravena subkutánně, do krku nebo do zad. Imunita by se dle informací o přípravku měla dostavit 8-10 dní po aplikaci druhé dávky.

J-Vac byl vakcinován intramuskulárně 2ml v době zaprahnutí, 60 a 14 dní před porodem a působil pouze proti zánětům způsobeným *Escherichia coli*.

Autovakcína byla speciálně vyvinutá pro stádo dojnic na farmě v Kochánově. Původci mastitid byli zjišťováni faremní kultivací pomocí PM testů (Obrázek 1 v příloze). V chovu byly postupně použity 3 typy této vakcíny, které se lišily následovně:

Autovakcína **Sevaron 1** složená ze čtyř kmenů *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* byla podána intramuskulárně všem zvířatům jednorázově v jediný den a byla každé 3 týdny revakcinována.

Autovakcína **Sevaron 2** se od předchozí lišila tím, že byly společně podány pouze 2 kmeny. Vakcinační schéma se střídalo po třech měsících. Společná vakcína pro *Escherichia coli* a *Streptococcus uberis* se aplikovala po půl roce, stejně jako *Staphylococcus aureus* a *klebsiella*. Tzn. v dubnu *Escherichia coli* a *Streptococcus uberis*, v červenci *Staphylococcus aureus* a *Klebsiella pneumoniae*, v říjnu *Escherichia coli* a *Streptococcus uberis*, v lednu *Staphylococcus aureus* a *klebsiella pneumoniae*.

Ve vakcíně **Sevaron 3** byly použity stejné kmeny bakterií jako v předešlém případě. Vakcinační schéma se střídalo po třech měsících. Společná vakcína pro *Escherichia coli*

a *Streptococcus uberis* se aplikovala po půl roce, stejně jako *Staphylococcus aureus* a *Klebsiella pneumoniae*, stejně jako v předešlém schématu pouze se lišilo podání. Aplikace pobíhala bezjehelně - intradermálně viz Obrázek č. 4 v příloze.

Dojnice reagovaly na podání jednotlivých vakcín rozdílně a každý přípravek měl jiný progres. Údaje o počtu somatických buněk byly shromážděny z výsledků kontroly mléčné užitkovosti, do které je stádo zařazeno. Kontrola mléčné užitkovosti byla zpravidla prováděna do 10. dne každého měsíce. Pro lepší přehlednost a orientaci jsem data rozdělila na období, podle aplikace jednotlivých vakcín. V příloze se nachází Tabulka I, kde jsou data rozdělena podle let. Období, kdy byly jednotlivé přípravky podány, jsou odděleny barevně.

Bez vakcinace

Jako kontrolní období bylo zvoleno období 8 měsíců před uplatněním prvního vakcinačního schématu v září 2012, kdy nebylo stádo ještě vakcinováno. Průměrné hodnoty sledovaných ukazatelů jsou uvedeny v Tabulce 4. V tomto období se ve stádě vyskytovalo průměrně 14 zánětů měsíčně, zároveň však období neznázorňuje nejhorší situaci ve stádě. V předchozích letech se ve stádě v letních měsících vyskytovalo běžně až 33 mastitid měsíčně. Průměrný počet somatických buněk byl 270 tis./ml.

Tabulka 4. Přehled hodnocených ukazatelů v období před před vakcinací

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2012	leden	175	11	6,3	285
	únor	177	15	8,5	270
	březen	177	12	6,8	299
	duben	179	12	6,7	336
	květen	175	11	6,3	195
	červen	179	15	8,4	230
	červenec	172	20	11,6	285
	srpen	170	17	10,0	260
měsíční průměr	\bar{x}	175,5	14,1	8,1	270,0
	s	3,00	3,02	1,82	40,27

Pořízené záznamy byly přeneseny do programu MS Excel, v němž byly vypočteny základní statistické parametry (\bar{x} = průměr; s = směrodatná odchylka) a ověřena statistická významnost rozdílů mezi průměry hodnot ukazatelů jednotlivých skupin podle schéma vakcinace pomocí T-testu.

5 Výsledky

5.1 Startvac

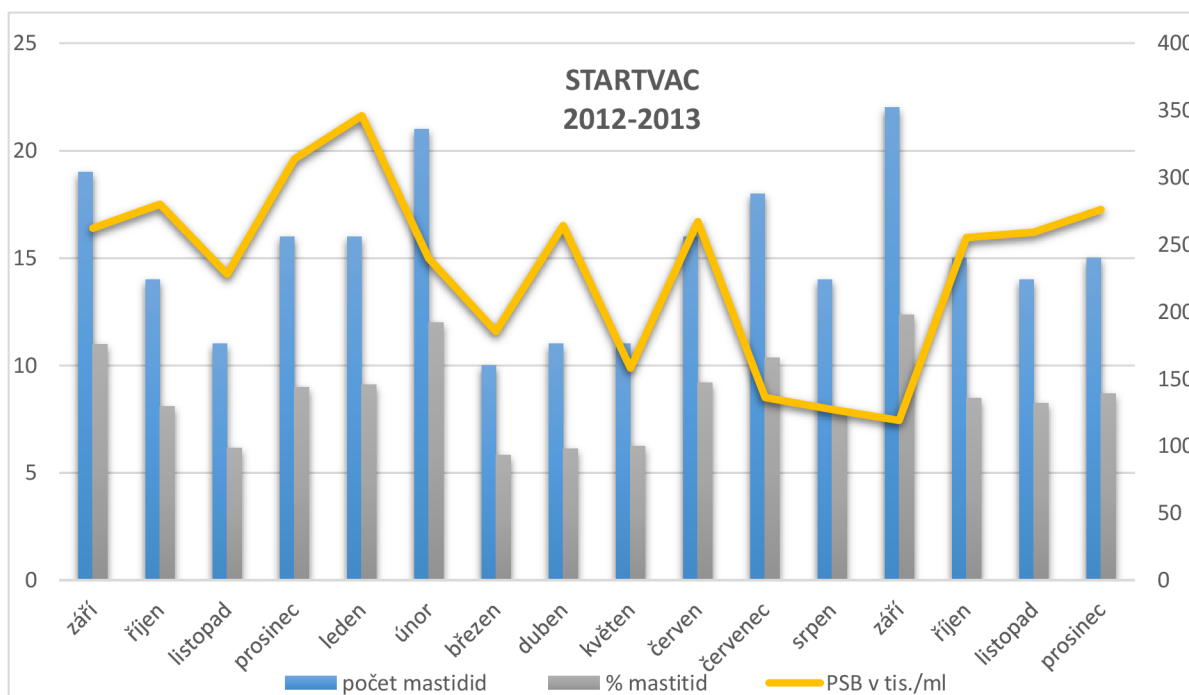
Začátkem září roku 2012 byly na farmě aplikovány první vakcíny značky Startvac. Vakcína byla ve stádě používána 16 měsíců. Tento přípravek byl z komerčně dostupných vakcín používán nejdéle a obsahuje inaktivované kmeny *E. coli*, *S. aureus*. Stádo bylo vakcinované podle doporučení v příbalovém letáku. Dávka 2 ml byla aplikována dojnici způsobem hluboké intramuskulární injekce do krčních svalů. Přípravek byl podán všem zaprahkým kravám od 45. do 14. dne před termínem porodu. Vysokobřezím jalovicím 45 až 30 dní před otelením. Druhá dávka byla aplikovaná 30 dní po otelení. Třetí dávku dojnice dostala za další 2 měsíce. Tzn. dojnice dostala dávku před otelením a pak 2x během prvních tří měsíců laktace. Tento interval podání vakcíny by měl stačit jako prevence v nejvyšší fázi laktace.

V Tabulce 5 je přehled počtu zánětů, somatických buněk a dojeného počtu zvířat a PSB v období použití přípravku Startvac. Informace o počtu somatických buněk byly převzaty z protokolů kontroly mléčné užitkovosti jako průměr za celé stádo. Z Grafu 1 je patrný pokles následující měsíce po podání vakcíny. V prvních měsících nemůžeme s jistotou určit, zda byly výsledky ovlivněny vakcinací či nikoliv, protože dávky vakcíny byly podávány postupně a vakcinovaná byla pouze část stáda. Každý měsíc se podíl vakcinovaných zvířat zvyšoval, tento ukazatel nebyl předmětem sledování. V měsíci září 2012, kdy byla vakcína podána prvním dojnícím, se ve stádě vyskytlo 19 případů mastitidy z celkového počtu 173 zvířat, toto číslo odpovídá 11 %. Nejvíce dojnic se zánětem mléčné žlázy během použití vakcíny Startvac bylo v září roku 2013, kdy bylo postiženo 22 zvířat (12,4 %). V této době už ve stádě rok probíhala imunoprolaxe. Dalším kritickým měsícem byl únor 2013, kdy se počet zánětů vyšplhal na 21 (12 %). Vyšší výskyt zánětů v letních měsících lze očekávat kvůli vyššímu tlaku na dojnice v horkých dnech, ale v tomto případě se čísla případů nevyšplhala k výše zmíněným počtům. Čísla mastitid v letních měsících se příliš nelišila od měsíčního průměru (15,2). Stupnice kombinovaného grafu vlevo značí počet mastitid a stupnice vpravo určuje počet somatických buněk (PSB). Modré sloupce grafu značí počet zvířat s výskytem mastitidy. V šedých sloupcích grafu vidíme % zánětů během jednotlivých měsíců. Spojnicový graf znázorňuje počet somatických buněk v mléce. Použité výsledky jsou souhrnem za celé stádo dojnic zařazených v kontrole užitkovosti. PSB by měl kopírovat sloupce grafu. Graf 1 naznačuje, že četnost výskytu zánětů mléčné žlázy se po podání vakcíny po dobu 4 měsíců mírně snížila. Přesto průměrný počet mastitid v období vakcinace přípravkem Startvac byl ze sledovaného období nejvyšší. Průměrný PSB během tohoto období byl 232 tis./ml. Za sledované období od září 2012 do prosince 2013 (16 měsíců) se ve stádě vyskytlo 243 zánětů. V měsících červenec, srpen a září můžeme vidět neobvyklý výsledek, kdy je PSB na nízké úrovni a naopak výskyt mastitid v těchto měsících je vysoký. Tento jev lze vysvětlit tak, že se jednalo o environmentální záněty mléčné žlázy, které byly zjištěny a vyřazeny. Pokud by záněty měly subklinický projev, pravděpodobně by nebyly zjištěny a zvýšily by PSB. Dalším možným vysvětlením by mohl být výskyt intramamární infekce až po odběru vzorků kontroly mléčné užitkovosti, tedy v druhé polovině měsíce.

Tabulka 5. Přehled období během použití přípravku Startvac

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2012	září	173	19	11,0	262
	říjen	173	14	8,1	280
	listopad	179	11	6,1	228
	prosinec	178	16	9,0	314
2013	leden	176	16	9,1	346
	únor	175	21	12,0	240
	březen	172	10	5,8	185
	duben	180	11	6,1	264
	květen	176	11	6,3	158
	červen	174	16	9,2	267
	červenec	174	18	10,3	136
	srpen	178	14	7,9	127
	září	178	22	12,4	119
	říjen	177	15	8,5	255
	listopad	170	14	8,2	259
	prosinec	173	15	8,7	276
měsíční průměr	\bar{x}	175,4	15,2	8,7	232,3
	s	2,74	3,43	1,96	65,74

Graf 1. Frekvence výskytu mastitid v jednotlivých měsících během použití vakcíny Startvac



5.2 Mastivac

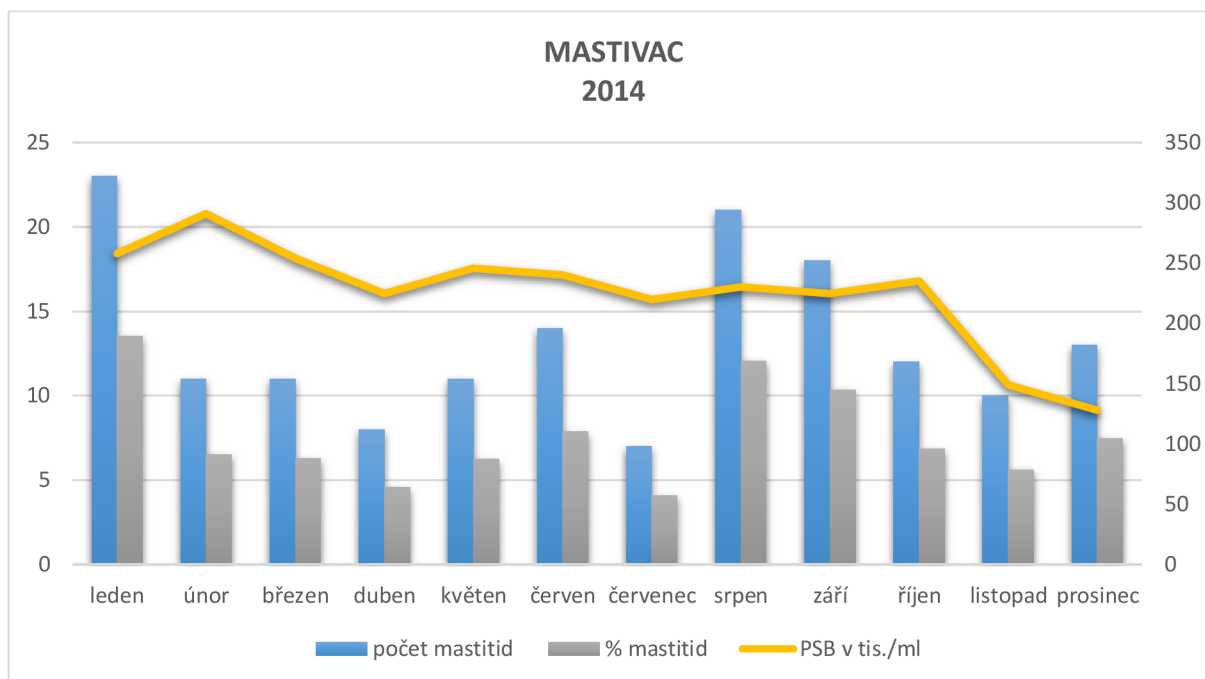
V lednu 2014 byl zvířatům aplikován přípravek mastivac. Přípravek se používá pro aktivní imunizaci proti klinické i subklinické mastitidě skotu, produkované následujícími mikroorganismy: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyogenes* a *Escherichia coli*. Vakcína byla podána podle doporučení v příbalovém letáku kompletně všem dojnícím bez ohledu na fázi laktace a vysokobřezím jalovicím 60 dní před otelením. Proběhla dvě očkování s odstupem 15 dnů. Vakcína byla vpravena subkutánně, do krku nebo do zad. Imunita by se dle informací o přípravku měla dostavit 8-10 dní po aplikaci druhé dávky. Obě dávky (každá 5ml) vakcinace byly podány v lednu.

Mastivac byl ve stádě aplikován 12 měsíců. Během měsíce ledna se ve stádě vyskytovalo 23 zánětů (13,5 %) to byl nejvyšší výskyt během použití tohoto přípravku. V únoru, následujícím měsíci byl výskyt mastitid o polovinu nižší 11 (6,5 %). Je tedy vidět reakce na vakcínu už dva týdny po podání druhé dávky. V měsících březen až červenec nepřekročil počet zánětů (7,9 %). Nejnižší % zánětů (4,1) bylo v červenci, ve stádě se nakazilo 7 dojnic. Revakcinace celého stáda byla provedena v srpnu. V tomto byl ve stádě opět vysoký výskyt zánětů 21 (12,1 %). Z grafu 2 je patrná imunita trvajících 6 měsíců po očkování. Průměrný PSB během období vakcinace přípravkem Mastivac byl 225 tis./ml. PSB v lednu 2014 kdy byl poprvé podán Mastivac byl 258 tis./ml. V posledním měsíci prosinci PSB dosahoval 128 tis./ml. Během roku došlo k poklesu o téměř 50 %.

Tabulka 6. Přehled období během použití přípravku Mastivac

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2014	leden	170	23	13,5	258
	únor	169	11	6,5	291
	březen	175	11	6,3	254
	duben	175	8	4,6	225
	květen	176	11	6,3	246
	červen	178	14	7,9	240
	červenec	172	7	4,1	220
	srpen	174	21	12,1	230
	září	174	18	10,3	225
	říjen	175	12	6,9	235
	listopad	178	10	5,6	149
	prosinec	174	13	7,5	128
měsíční průměr	\bar{x}	174,2	13,3	7,6	225,1
	s	2,64	4,76	2,79	43,10

Graf 2. Frekvence výskytu mastitid v jednotlivých měsících během použití vakcíny Mastivac



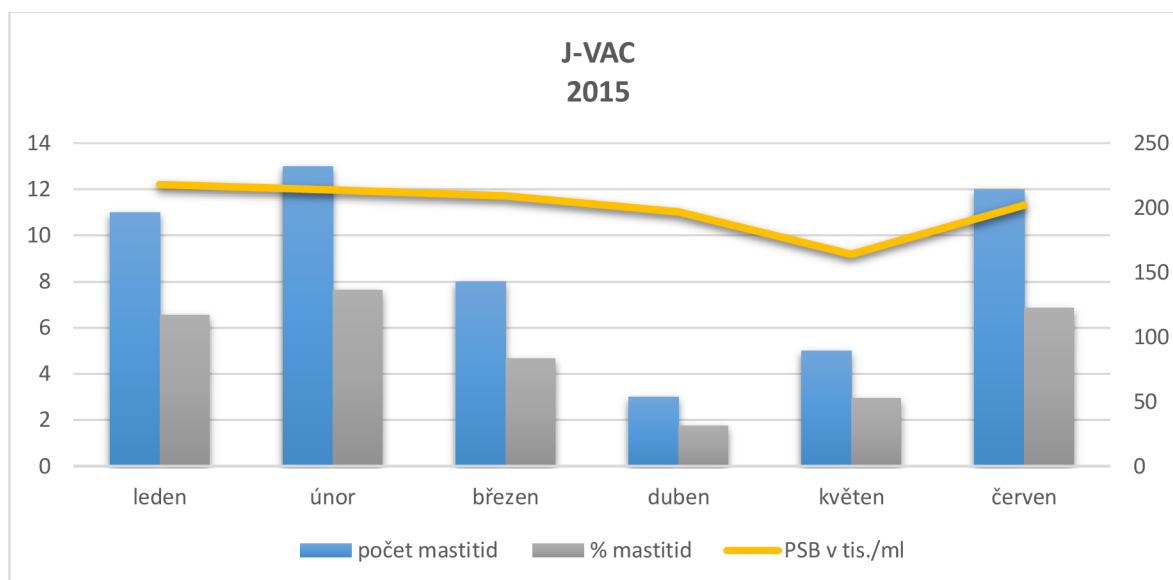
5.3 J-VAC

J-Vac byl vakcinován intramuskulárně v době zaprahnutí, 60 a 14 dní před porodem a působil pouze proti zánětům způsobeným *Escherichia coli*. První dávka vakcíny J-Vac byla zvířatům podána v lednu roku 2015. Jednalo se o bakterinový toxoid *Escherichia coli*. Tento přípravek je účinný proti mastitidě způsobené *Escherichia coli* a endotoxémii způsobené *E. Coli* a *Salmonella typhimurium*. Aplikace přípravku proběhla podle informací v příbalovém letáku. Dávka 2 ml byla vpravena intramuskulárně nebo subkutánně dojnícím při zaprahnutí a jalovicím v 7. měsíci březosti. Revakcinace byla provedena 1 až 3 týdny před termínem porodu. Přípravek byl používán 6. měsíců. Průměrný měsíční počet mastitid za období používání J-Vac dosahoval 8,7 (5,1 %). Nejvyšší počet mastitid byl v měsících únor (7,6 %), červen (6,9 %) a leden (6,5 %). Naopak nejméně zánětů bylo v dubnu 2015, kdy bylo postiženo 5 dojnic (1,7 %). Tyto údaje jsou dobře patrné z Grafu 3. Průměrný PSB během období vakcinace přípravkem J-Vac (6 měsíců) byl 200,7 tis./ml.

Tabulka 7. Přehled období během použití přípravku J-Vac

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2015	leden	168	11	6,5	218
	únor	170	13	7,6	214
	březen	172	8	4,7	209
	duben	172	3	1,7	197
	květen	170	5	2,9	164
	červen	175	12	6,9	202
měsíční průměr	\bar{x}	171,2	8,7	5,1	200,7
	s	2,19	3,68	2,15	17,83

Graf 3. Frekvence výskytu mastitid v jednotlivých měsících během použití vakcíny J-Vac



5.4 Autovakcína Sevaron 1

Vakcína byla vyvinutá z patogenních kmenů nejčastěji se vyskytujících ve stádě dojnic v Kochánově. Ty byly detekovány pomocí PM testů. Autovakcína od firmy Sevaron byla poprvé použita 10. července 2015. Vakcína byla složena ze 4 kmenů *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* a byla aplikována intramuskulárně všem zvířatům jednorázově v jediný den, kvůli snaze o sjednocení vakcinací celého stáda. Každé 3 týdny docházelo k revakcinaci. Takto probíhala imunizace po celé období (9 měsíců) použití přípravku Sevaron 1.

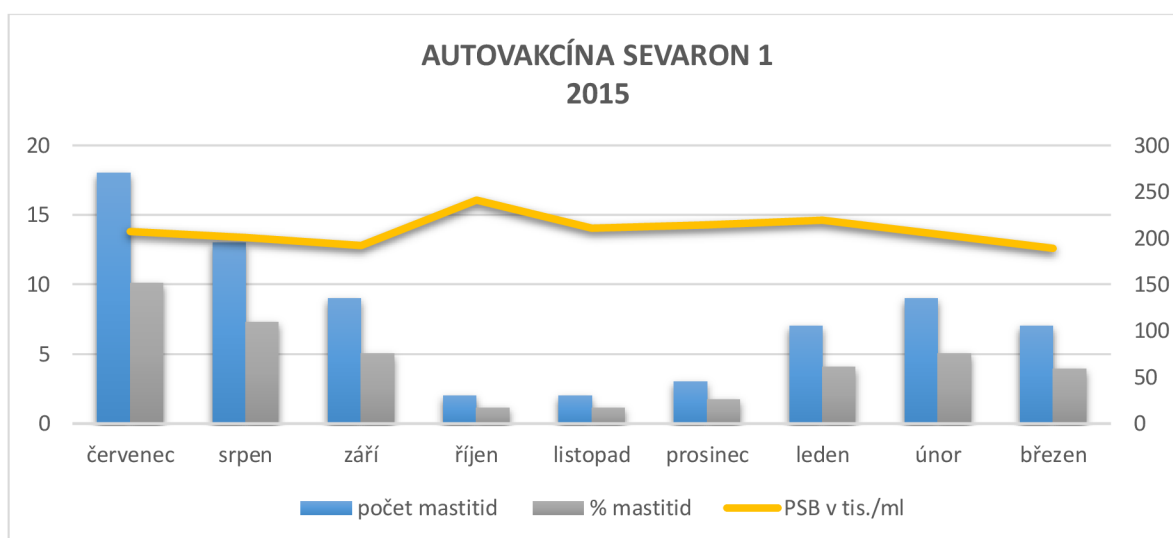
Reakce stáda na tento přípravek byla různá, téměř všechna zvířata měla lokální otok v místě vpichu o průměru cca 5 cm. Docházelo k nechutenství, starší zvířata na 5. a vyšší laktaci se s vakcinací hůře vypořádávala, objevila se u nich zvýšená teplota, docházelo k embryonálním odúmrtím, krávy se telily o 3 týdny dříve. Snížená žravost a pokles produkce

mléka se projevoval po každém očkování. Týden po prvním podání vakcíny klesl v bazénovém vzorku mléka PSB na 50 tis./ml. Za období použití první autovakcíny se ve stádě vyskytovalo průměrně 7,8 intramamárních infekcí za měsíc. V červenci roku 2015, počet zánětů dosáhl čísla 18 (10,1 %), toto číslo bylo zaznamenáno jako posledním nejvyšší výskyt. Počet zánětů mléčné žlázy od této doby tuto hranici nepřekonal. Následující měsíc bylo nakaženo mastitidou 13 zvířat (7,3 %). Nejnižší počet zánětů byl v měsících říjen a listopad, kdy se v každém měsíci vyskytly pouze 2 záněty (1,1 %). Průměrný PSB během období vakcinace přípravkem Sevaron 1 (9 měsíců) byl 208,7 tis./ml. Oproti předchozímu období byl PSB mírně vyšší.

Tabulka 8. Přehled období během použití přípravku Sevaron 1

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2015	červenec	178	18	10,1	207
	srpen	178	13	7,3	201
	září	179	9	5,0	192
	říjen	174	2	1,1	241
	listopad	174	2	1,1	211
	prosinec	173	3	1,7	214
	leden	172	7	4,1	219
	únor	178	9	5,1	204
	březen	177	7	4,0	189
měsíční průměr	\bar{x}	175,9	7,8	4,4	208,7
	s	2,47	5,01	2,80	14,66

Graf 4. Frekvence výskytu mastitid v jednotlivých měsících během použití vakcíny Sevaron 1



5.5 Autovakcína Sevaron 2

Vakcína byla upravena tak, že byly aplikovány místo čtyř kmenů dva. V dubnu 2016 byla podána autovakcína proti *Escherichia coli* a *Streptococcus uberis*. V červenci byly podány zbylé dva kmeny, *Staphylococcus aureus* a *Klebsiella pneumoniae*. Tzn., že vakcinace probíhala každé tři měsíce a střídaly se tyto dvě vakcíny. K úpravě došlo primárně kvůli velkému zásahu do imunitního systému zvířat předchozím postupem aplikace antimastitidní vakcíny. Rozdělení vakcíny nepřispělo ke zlepšení situace, snížení žravosti bylo stále patrné. Nedochozelo k němu každé tři týdny, jak tomu bylo v případě předchozí vakcinace, ale po třech měsících, kvůli zvětšení intervalu imunoprolaxe. Nejvyšší výskyt mastitid 12 (6,7 %) byl v měsíci dubnu 2016, kdy probíhala vakcinace a srpnu 2017, kdy bylo postiženo 13 dojnic (7,6 %). Toto zvýšení ukazuje na zapomenutou vakcinaci v měsíci červenec. Zapomenutá vakcinace v byla přesunuta na měsíc srpen. Patrný nárůst počtu dojnic se zánětem mléčné žlázy, mohl být částečně způsoben horkým počasím. Průměrný PSB během období vakcinace autovakcínou specifickou pro stádo 2 (40 měsíců) byl 139 tis./ml.

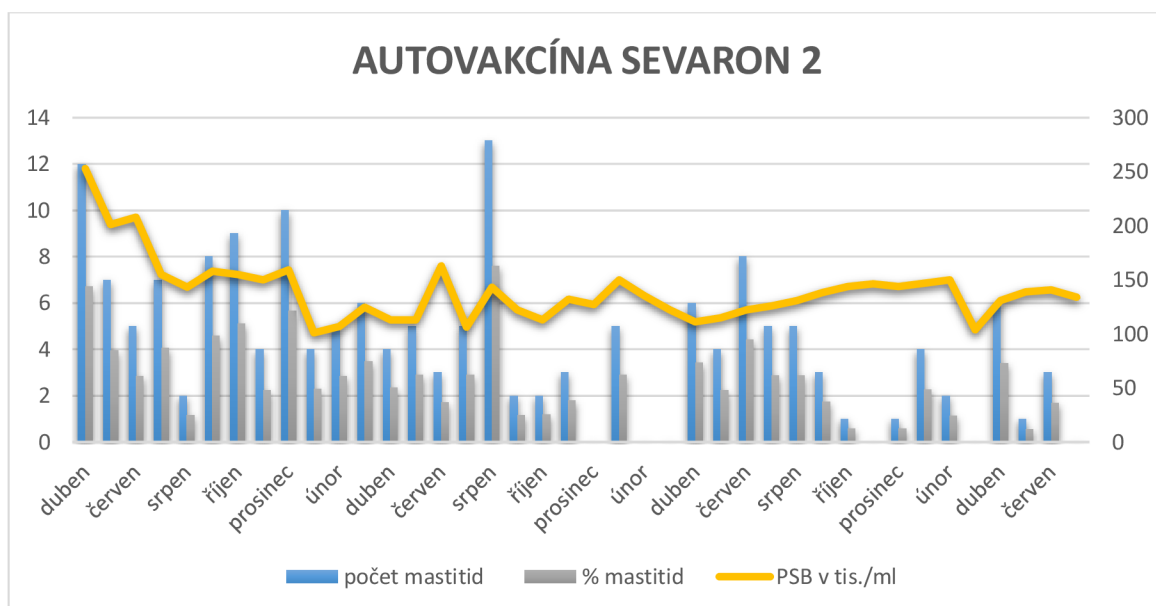
Tabulka 9a. Přehled období během použití přípravku Sevaron 2

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2016	duben	179	12	6,7	253
	květen	177	7	4,0	201
	červen	176	5	2,8	208
	červenec	173	7	4,0	155
	srpen	173	2	1,2	143
	září	175	8	4,6	158
	říjen	176	9	5,1	155
	listopad	179	4	2,2	150
	prosinec	177	10	5,6	159
2017	leden	175	4	2,3	101
	únor	176	5	2,8	107
	březen	172	6	3,5	125
	duben	171	4	2,3	113
	květen	173	5	2,9	113
	červen	176	3	1,7	163
	červenec	173	5	2,9	106
	srpen	171	13	7,6	143
	září	174	2	1,1	122
	říjen	170	2	1,2	113
	listopad	168	3	1,8	132
	prosinec	172	0	0,0	127

Tabulka 9b. Přehled období během použití přípravku Sevaron 2

2018	leden	173	5	2,9	150
	únor	178	0	0,0	135
	březen	175	0	0,0	122
	duben	175	6	3,4	111
	květen	180	4	2,2	115
	červen	181	8	4,4	122
	červenec	174	5	2,9	126
	červenec	174	5	2,8	126
	srpen	174	5	2,9	131
	září	172	3	1,7	138
	říjen	173	1	0,6	144
	listopad	173	0	0,0	146
	prosinec	173	1	0,6	144
2019	leden	176	4	2,3	147
	únor	177	2	1,1	150
	březen	171	0	0,0	104
	duben	176	6	3,4	131
	květen	178	1	0,6	139
	červen	177	3	1,7	141
	červenec	177	0	0,0	134
měsíční průměr	\bar{x}	174,7	4,3	2,4	139,1
	s	2,79	3,19	1,81	28,77

Graf 5. Frekvence výskytu mastitid v jednotlivých měsících během použití vakcíny Sevaron 2



5.6 Autovakcína Sevaron 3

Podání přípravku proti mastitidě Sevaron 3 probíhalo stejně jako v předešlém období pouze byla změna v podání vakcíny. Novinkou bylo intradermální podání. Revakcinace probíhala každé tři měsíce a střídaly se dvě vakcíny *Escherichia coli* + *Streptococcus uberis* a *Staphylococcus aureus* + *Klebsiella pneumoniae*. Cílem intradermálního podání bylo snížit již zmiňované omezení příjmu krmiva po intramuskulární aplikaci vakcíny. Tento typ podání byl zásadní pro sjednocení vakcinací celého stáda.

Během použití přípravku Sevaron 3 se ve stádě za sledované období 29 měsíců vyskytovalo průměrně 1,2 zánětů měsíčně, toto číslo odpovídá 1,2 % stáda. Průměrný PSB byl 148,5 tis./ml. Nejvyšší počet zánětů byl ve stádě v červnu 2020 a dubnu 2021, kdy bylo nakaženo 6 dojnic (3,4 %). V září 2019 se nacházelo ve stádě 5 (2,8 %) postižených zvířat mastitidou. Naopak celkem šestnáct měsíců byl ve stádě nulový výskyt mastitidy. Tato bilance je dobře pozorovatelná z Grafu 6.

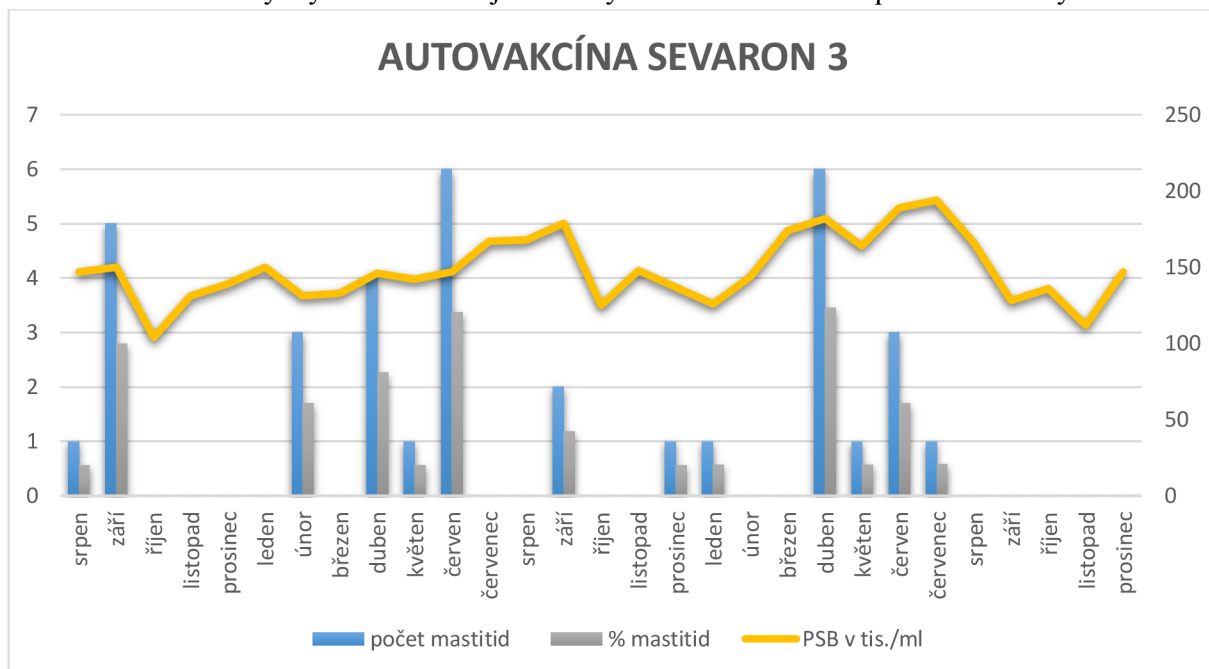
Tabulka 10a. Přehled období během použití vakcíny Sevaron 3

rok	měsíc	počet dojnic	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
2019	srpen	180	1	0,6	147
	září	179	5	2,8	150
	říjen	177	0	0,0	104
	listopad	173	0	0,0	131
	prosinec	173	0	0,0	139
2020	leden	169	0	0,0	150
	únor	176	3	1,7	131
	březen	176	0	0,0	133
	duben	177	4	2,3	146
	květen	178	1	0,6	142
	červen	178	6	3,4	147
	červenec	172	0	0,0	167
	srpen	173	0	0,0	168
	září	169	2	1,2	179
	říjen	168	0	0,0	125
	listopad	175	0	0,0	148
	prosinec	178	1	0,6	137
2021	leden	176	1	0,6	126
	únor	179	0	0,0	144
	březen	182	0	0,0	174
	duben	174	6	3,4	182
	květen	176	1	0,6	164

Tabulka 10b. Přehled období během použití vakcíny Sevaron 3

2021	červen	176	3	1,7	189
	červenec	173	1	0,6	194
	srpen	171	0	0,0	166
	září	175	0	0,0	128
	říjen	174	0	0,0	136
	listopad	177	0	0,0	112
	prosinec	178	0	0,0	147
měsíční průměr	\bar{x}	175,2	1,2	0,7	148,5
	s	3,33	1,85	1,05	21,80

Graf 6. Frekvence výskytu mastitid v jednotlivých měsících během použití vakcíny Sevaron 3



6 Shrnutí výsledků a diskuze

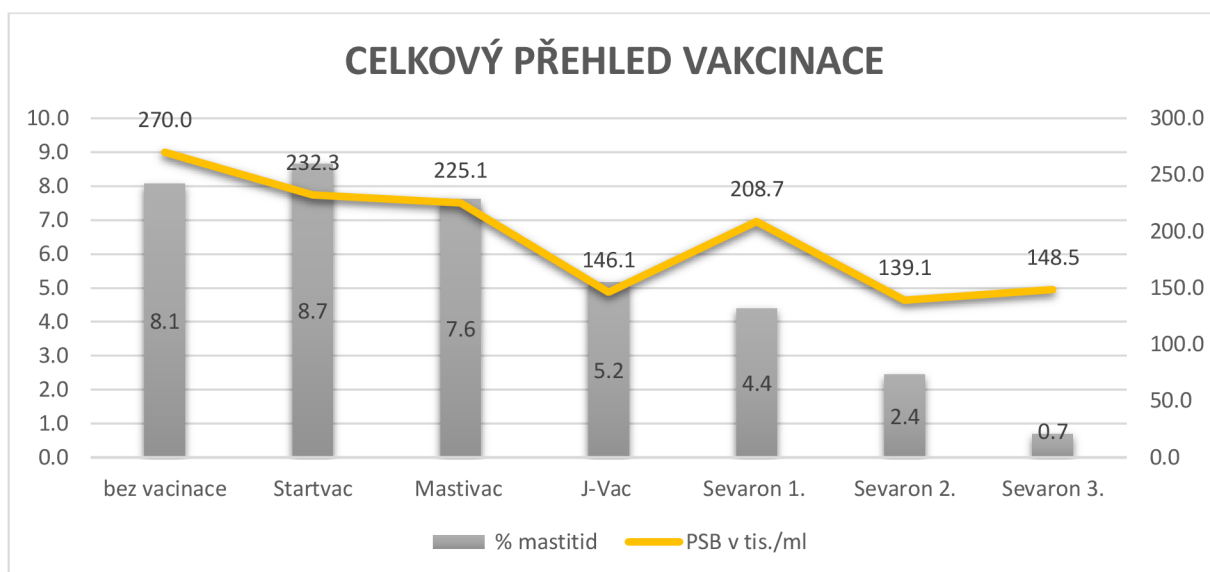
Ve sledovaném stádě bylo použito šest vakcín. U pěti vakcín byl prokázán pozitivní vliv vakcinace dojníc proti mastitidě. Očkování přípravkem Startvac nevedlo ke snížení počtu zánětů.

Během sledovaného období 10 let docházelo k postupnému zlepšování situace ve stádě (Graf 7). V období, kdy dojnice nebyly vakcinovány, byl výskyt mastitid v průměru 14,1 případů, to odpovídalo 8,1 % z počtu krav ve stádě. Průměr PSB v této době dosahoval 270 tis./ml. První použitá vakcína Startvac byla aplikována po 9 měsících. Očkování přípravkem Startvac nevedlo ke snížení počtu zánětů, ale měl vliv na snížení PSB o 37,7 tis./ml oproti kontrolní skupině. Během tohoto období bylo zaznamenáno průměrně 15,2 případů mastitid (8,7 %) měsíčně, PSB dosahoval 232,3 tis./ml. Mastivac byl aplikován 12 měsíců a během jeho používání byl průměrný měsíční počet zánětů mléčné žlázy 13,3, což odpovídá 7,6 % z počtu krav ve stádě a PSB byl 225,1 tis./ml. Vakcína J-Vac byla podávána dojnícím 6 měsíců a za tu dobu byl průměrný výskyt mastitid 8,7 (5,1 %) měsíčně. PSB byl 200,7 tis./ml. Aplikace vakcíny specifické pro stádo Sevaron 1 probíhala 9 měsíců. Během této doby byl průměrný měsíční výskyt zánětů mléčné žlázy 7,8 (4,4 %) a PSB dosahoval 208,7 tis./ml. Nejdelší období (40 měsíců) bylo stádo vakcinováno přípravkem Sevaron 2. Během této doby byl průměrný počet mastitid 4,3 (2,4 %), PSB byl 139 tis./ml. V posledním sledovaném období s použitím přípravku Sevaron 3 bylo ve stádě postiženo průměrně 1,2 dojníc měsíčně, toto číslo odpovídalo 0,7 %. Statistická významnost byla vyhodnocena pomocí T-testu. Výsledná hodnota $p=0,011$ dokazuje statisticky průkazný rozdíl ve výskytu mastitid mezi skupinami krav. V případě počtu somatických buněk v mléce byla zjištěna hodnota $p=0,002$.

Tabulka 11. Průměrné hodnoty sledovaných ukazatelů podle použitého vakcinačního schématu

Schéma (n = počet měsíců)		počet dojníc	počet mastitid	% mastitid	PSB v tis./ml
bez vakcinace (n=8)	\bar{x}	175,5	14,1	8,1	270,0
	s	3,00	3,02	1,82	40,27
Startvac (n=16)	\bar{x}	175,4	15,2	8,7	232,3
	s	2,74	3,43	1,96	65,74
Mastivac (n=12)	\bar{x}	174,2	13,3	7,6	225,1
	s	2,64	4,76	2,79	43,10
J-Vac (n=6)	\bar{x}	171,2	8,7	5,2	146,1
	s	2,19	3,68	2,99	97,71
Sevaron 1 (n=9)	\bar{x}	175,9	7,8	4,4	208,7
	s	2,47	5,01	2,80	14,66
Sevaron 2 (n=41)	\bar{x}	174,7	4,3	2,4	139,1
	s	2,79	3,19	1,81	28,77
Sevaron 3 (n=29)	\bar{x}	175,2	1,2	0,7	148,5
	s	3,33	1,85	1,05	21,80

Graf 7. Přehled použitých přípravků a jejich vývoj



V období, kdy dojnice nebyly vakcinovány, dosahoval výskyt mastitid průměru 14,1, což odpovídalo 8,1 %. PSB v této době dosahoval 270 tis./ml. Přípravek Startvac měl vliv na snížení PSB o 37,7 tis./ml. Během tohoto období bylo zaznamenáno průměrně 15,2 (8,7 %) zánětů měsíčně. Jednotlivé antimastitidní vakcíny přispěly ke snížení počtu zánětů mléčné žlázy a PSB (počtu somatických buněk) v mléce.

Vakcínu Startvac podrobilo výzkumu hned několik autorů, kteří dospěli k různým výsledkům. Freick et al. (2016) hodnotili výskyt mastitid způsobený patogenem *S. aureus*. Břeží jalovice, stejně jako krávy s různými klasifikacemi zdravotního stavu vemene, byly očkovány komerční vakcínou a porovnávány se stádovými kolegyněmi, které byly očkovány vakcínou specifickou pro stádo obsahující *S. aureus* (Best Vac) nebo neočkovanými. Mastitida *S. aureus* byla významně nižší u krav, které byly vakcinovány ve srovnání s dojnicemi nevakcinovanými. U krav, které sledovali Bradley et al. (2015) bylo u první skupiny očkování podáno podle doporučení na etiketě, u druhé byla vakcína aplikována 90 dní po úvodní vakcinaci a třetí skupina byla ponechána bez vakcinace, aby fungovala jako kontrolní. Očkování podle doporučení na etiketě vedlo k významnému snížení závažnosti klinické mastitidy. Bylo také zjištěno, že krávy vakcinované produkovaly významně více mléka než neočkované krávy.

V jiné terénní klinické studii byla také hodnocena komerční vakcína Startvac. Do studie byly náhodně vybrány krávy ze sedmi různých mléčných farem, kterým byla podána vakcína podle doporučení na etiketě. V prvních 120 dnech laktace nebyl mezi žádnou ze tří skupin signifikantní rozdíl v incidenci nebo prevalenci klinické nebo subklinické mastitidy (Bradley et al. 2015). Výsledek tohoto výzkumu by mohl vysvětlovat to, že po 16. měsíční době, kdy bylo stádo dojnic v Kochánově imunizováno přípravkem Startvac, nedošlo k výraznému zlepšení ve výskytu mastitid.

Výsledky této práce se shodují s výzkumem Landin et al. (2015). Ti hodnotili vliv přípravku Startvac ve dvou velkých švédských mléčných stádech, kde byly krávy očkovány podle doporučení na etiketě. V žádném ze zkoumaných parametrů nebyly mezi očkovánými

a neočkovanými skupinami žádné významné rozdíly. Tato studie dospěla k závěru, že vakcinace pomocí komerční polyvalentní vakcíny nebyla přínosná.

Schukken et al. (2014) sledovali krávy, vakcinované přípravkem Startvac, po dobu 21 měsíců a analyzovali míru vyléčení mastitidy, míru nových infekcí, prevalenci a trvání infekcí. V této studii bylo zjištěno, že vakcinace vede k mírnému snížení výskytu nových případů mastitidy způsobených *S. aureus* a koaguláza-negativním stafylokokem. Navíc očkování vedlo k prudkému zkrácení doby trvání mastitidy. Krávy byly vakcinovány 3krát intramuskulárně v dvoutýdenních intervalech. Vakcinované krávy tvořily detekovatelné protilátky přibližně 4 týdny po imunizaci. *S. aureus* nebyl izolován z mléka očkovaných krav, zatímco u 75 % neočkovaných krav byly bakterie izolovány z jejich mléka. Zmíněná studie ukázala, že by tato komerční vakcína mohla chránit krávy před intramamární infekcí během laktace (Chang et al. 2008).

Další komerční vakcína (hlavně proti mastitidě) *S. aureus* byla hodnocena v rozsáhlé terénní studii očkování. Vakcinované jalovice byly sledovány po dobu 2 let po očkování. Protilátky byly detekovány u všech vakcinovaných krav již 4-5 týdnů po primární imunizaci a přetrvávaly po celou dobu experimentu. Výskyt mastitid a produkce mléka byly významně odlišné mezi očkovanými a neočkovanými skupinami. Výsledky naznačují, že tato komerční vakcína vyvolala kromě specifické ochrany proti *S. aureus* i nespecifické zlepšení zdravotního stavu vemene (Leitner et al. 2003). Podle výsledků výzkumu (Leitner et al. 2003; Chang et al. 2008; Schukken et al. 2014) má přípravek Startvac pozitivní vliv na mastitidy způsobené *S. aureus*. Lze tedy předpokládat, že mastitidy ve stádě dojnic v Kochánově v letech 2012-2013 byly způsobeny jinými patogeny.

Přípravek J-Vac působící proti mastitidám *E. coli*, mohl být během sledovaného období účinný díky tomu, že se jednalo právě o původce zánětů vyskytujících se ve stádě. Autovakcína specifická pro stádo (Best Vac) byla testována u březích jalovic i dospělých krav ve stádech dojnic proti mastitidě *S. aureus*. Výsledky byly také porovnány s kravami ve stejném stádě, které byly vakcinovány pomocí vakcíny Startvac. Vakcína specifická pro stádo vedla k významnému snížení prevalence mastitidy u vakcinovaných krav podobně jako výsledky získané komerční vakcínou. Parametry produkce mléka se také významně zlepšily u vakcinovaných krav (Freick et al. 2016).

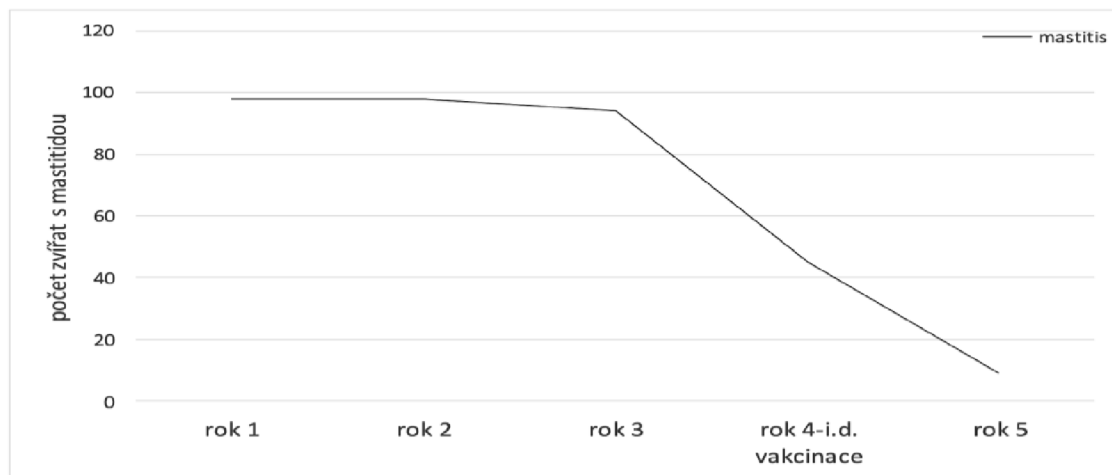
V studii Czernomysy-Furowicz et al. (2014), byla hodnocena účinnost autovakcíny specifické pro stádo samotné nebo v kombinaci s intramamární antibiotickou terapií s použitím cefuroximu při eliminaci infekce *S. aureus* ve stádě s vysokým výskytem subklinických mastitid. Dospělo se k závěru, že kombinace antibiotikum/autovakcína byla účinnou metodou k odstranění subklinických problémů s mastitidou způsobenou *S. aureus* v tomto stádě. Dle studie klinická mastitida nebyla u vakcinovaných krav zaznamenána po dobu nejméně 2 let.

Pozitivní výsledky autovakcíny specifické pro stádo potvrdil ve svém výzkumu Magaš et al. (2013). Polyvalentní autovakcína specifická pro stádo obsahující *S. aureus* a *S. agalactiae* byla účinná. Slobodanka et al. (2008) ve své studii připravili z buněk *S. aureus* autovakcínu specifickou pro stádo. Vakcína vedla k významnému snížení výskytu subklinických a klinických mastitid u vakcinovaných krav.

Intradermální podání vakcíny lze porovnat s výsledky Maška et al. (2022). Stejně jako v našem případě došlo k poklesu mastitid po zařazení bezjehelné aplikace vakcín. V Grafu 8 je zobrazena redukce výskytu mastitid v průběhu jejich profylaxe. Modelové stádo holštýnských

dojnic, 5 roků, 3 roky intramuskulární a 2 intradermální antimastitidní vakcinace dojnic. Z komerčních vakcín byl nejnižší PSB u přípravku J-Vac. Ze všech použitých přípravků byl nejnižší během používání přípravku Sevaron 2.

Graf 8. Redukce výskytu mastitid v průběhu jejich profylaxe (MVDr. Jiří Mašek)



7 Závěr

Předmětem této diplomové práce bylo sledování a hodnocení reakce stáda dojnic na různé podávané antimastitidní vakcíny a jejich působení na snížení počtu zánětů mléčné žlázy a počtu somatických buněk v mléce. Stanovená hypotéza: Vakcinace krav přípravky Startvac, Mastivac, J-Vac a autovakcíny proti mastitidě specifické pro stádo dojnic na farmě v Kochánově významně snižuje výskyt mastitid dojnic a počet somatických buněk v mléce.

Během sledovaného období 10 let docházelo k postupnému zlepšování situace ve stádě. Měsíční výskyt zánětů mléčné žlázy klesl ze 14 (8,1 %) dojnic postižených mastitidou na 1 zánět měsíčně (0,7 %). Vakcinací dojnic došlo ke snížení počtu zánětů mléčné žlázy na hladině významnosti ($P < 0,05$). Počet somatických buněk klesl o 121,5 tis./ml z 270 tis./ml na 148,5 tis./ml. Pokles počtu somatických buněk v mléce se pohyboval na hladině významnosti ($P < 0,05$). Nejlepších výsledků bylo dosaženo bezjehelnou aplikací autovakcíny Sevaron 3 započatou v srpnu 2019. Přípravek byl používán 29 měsíců, z tohoto období se 16 měsíců nevyskytl žádný zánět mléčné žlázy.

V současné době se ve stádě dojnic v Kochánově díky vakcinaci proti mastitidám vyskytují záněty převážně způsobené mechanickým poškozením struku (našláplý struk). Proto doporučuji zmenšit koncentraci zvířat v jednotlivých sekcích, aby měly dojnice dostatek volných lehacích míst.

Chovatelům, kteří mají ve stádě problém s vysokým výskytem mastitid, doporučuji použití antimastitidní vakcinace.

8 Literatura

- Aqib A, Ijaz M, Anjum A, Kulyar M, Shoaib M, Farooqi S. 2019. Reconnoitering Milk Constituents of Different Species, Probing and Soliciting Factors to Its Soundness, Milk Production, Processing and Marketing, Khalid Javed, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.82852.
- Andersen JB, Madsen TG, Larsen T, Ingvarsen KL, Nielsen MO. 2005. The Effects of Dry Period Versus Continuous Lactation on Metabolic Status and Performance in Periparturient Cows. *Journal of Dairy Science* **88**:3530-3541.
- Anderson NG. 2003. Dry cow therapy. *Facchees* **410**:3-9.
- Annen EL, Collier RJ, McGuire MA, Vicini JL. 2004. Effects of dry period length on milk yield and mammary epithelial cells. *Journal of Dairy Science* **87**:66-76.
- Baldassi L. 1985. Observações sobre a incidência de gangrena gasosa e carbúnculo sintomático durante 10 anos, 1970-79, no estado de São Paulo. *Biológico* **51**:161-165.
- Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. 2006. The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* **89**:1877-1895.
- Beever DE. 2006. The impact of controlled nutrition during the dry period on dairy cow health, fertility and performance. *Animal Reproduction Science* **96**:212-226.
- Blowey RW. 2016. *The Veterinary Book for Dairy Farmers*. Publishing 5m, Portland.
- Bouška J, Doležal O, Jílek F, Kudrna V, Kvapík J, Příbyl J, Rajmon R, Sedmíková M, Skřivanová V, Šlosárková S, Tyrolová Y, Vacek M, Žižlavský J. 2006. *Chov dojného skotu*. Profi Press, Praha.
- Bradley AJ, Breen JE, Payne B, Green MJ. 2011. A comparison of broad-spectrum and narrow-spectrum dry cow therapy used alone and in combination with a teat sealant. *Journal of Dairy Science* **94**:692-704.
- Bradley AJ, Breen JE, Payne B, White V, Green MJ. 2015. An investigation of the efficacy of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens under field conditions in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science* **98**:1706-1720.
- Brazier JS, Borriello SP. 2000. Microbiology, epidemiology and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Curr Top Microbiol Immunol* **250**:1-33.
- Brzdil J. 2011. Sezónnost výskytu vybraných patogenů mléčné žlázy skotu. *Veterinářství* **60**: 38-42.
- Callaway TR, Edrington TS. 2012. *On-Farm Strategies to Control Foodborne Pathogens*. Nova Science Publishers, New York.
- Carter GP, Lyras D, Allen DL, Mackin KE, Howarth PM, O'Connor JR, Rood JI. 2007. Binary toxin production in *Clostridium difficile* is regulated by CdtR, a LytTR family response regulator. *Journal Bacteriol* **189**:7290-301.

- Carlén E, Strandberg E, Roth A. 2004. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, and Production in the First Three Lactations of Swedish Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* **87**:3062-3070.
- Compton CWR, Heuer C, Parker KI, McDougall S. 2007. Risk factors for peripartum mastitis in pasture-grazed dairy heifers. *Journal of Dairy Science* **90**:4171-4180.
- Czernomysy-Furowicz D, Fijalkowski K, Silecka A, Karakulska J, Nawrotek P, Drozd R, Ferlas M, Borkowski J, Jankowiak D. 2014. Herd-specific autovaccine and antibiotic treatment in elimination of *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cattle. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **38**:1-5.
- Crispie F, Flynn J, Ross RP, Hill C, Meaney WJ. 2004. Dry cow therapy with a non-antibiotic intramammary teat seal a review. *Irish Veterinary Journal* **57**:412-418.
- Djabri B, Bareille N, Beaudreau F, Seegers H. 2002. Quarter Milk Somatic Cell Count in Infected Dairy Cows: a Meta-Analysis. *Veterinary Research* **33**:335-357.
- Doktorová J. 2002. Jak radí výživám ze Záhoří u Písku. *Farmář* **57**:1.
- Doležal O. 2000. Mléko, dojení, dojírny. Agrospoj, Praha.
- Doležal O, Kopunecz P. 2010. Management dojení, jeho optimalizace a hodnocení kvality dodávek mléka. Institut vzdělávání v zemědělství, Praha.
- Dostálek M. 2006. Farmakokinetika. Grada Publishing a.s., Praha.
- England GCV, Heimendahl A. 2010. Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester.
- Erskine RJ, Van Lente JL, Phipps CR, Bartlett PC. 2002. Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe coliform mastitis. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74340-3.
- Freick M, Frank Y, Steinert K, Hamedy A, Passarge O, Sobiraj A. 2016. Mastitis vaccination using a commercial polyvalent vaccine or a herd-specific *Staphylococcus aureus* vaccine. Results of a controlled field trial on a dairy farm. *Tierarztl. Prax.* **4**:219-229.
- Fraser RS, Lumsden JS, Lillie BN. 2018. Identification of polymorphisms in the bovine collagenous lectins and their association with infectious diseases in cattle. *Immunogenetics* **70**:533-546.
- Futo P, Markus G, Kiss A, Adányi N. 2012. Development of Catalase-Based Amperometric Biosensor for the Determination of Increased Catalase Content in Milk Samples. *Electroanalysis* **24**:107-113.
- Gröhn YT, Wilson DJ, Gonzalez RN, Hertl JA, Schulte H, Bennett G, Schukken YH. 2004. Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **87**:3358-3374.
- Gyles CL. 2010. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Wiley Blackwell publishing, New Jersey.
- Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. 2007. Economic Effects of Bovine Mastitis and Mastitis Management. A Review. *Veterinary Quarterly* **29**:18-31.

- Harmon RJ. 1994. Symposium Mastitis and Genetic Evaluation for Somatic Cell Count - Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science* **77**:2103-2112.
- Heinrichs AJ, Costello SS, Jones CM. 2009. Control of heifer mastitis by nutrition. *Vet. Microbiol* **134**:172-176.
- Hofírek B, Haas D. 2003. Kategorizace zdraví mléčné žlázy, klinické formy mastitid a jejich terapie. Pages 10-23 in Mastitidy skotu editors. Kongresové centrum Aldis a.s., Hradec Králové.
- Hofírek B, Pechová A, Doležal R, Pavlata O, Dvořák R, Fleischer P. 2004. Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno.
- Hofírek B, Dvořák R, Němeček L, Doležal R, Pospíšil Z. 2009. Nemoci skotu. Noviko a.s., Brno.
- Hogan J, Smith KL. 2003. Coliform mastitis. *Vet.res.* **34**:507-519.
- Huxley JN, Green MJ, Green LE, Bradley AJ. 2002. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. *Journal of Dairy Science* **85**:551-561.
- Chang BS, Moon JS, Kang HM, Kim YI, Le HK, Kim JD, Lee BS, Koo HC, Park YH. 2008. Protective effects of recombinant *Staphylococcal* enterotoxin Type C mutant vaccine against experimental bovine infection by a strain of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis in dairy cattle. *Vaccine*. **26**:2081-2091.
- Ježková A. 2017. Management ve stádě dojnic, ustájení a dojení pro minimalizaci výskytu mastitid. *Náš chov. Profi Press* **77**:68-71.
- Katdare A, Chaubal M. 2006. Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery systems. New York, CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420004137>.
- Kubová K, Mašková E. 2014. Subkutánní aplikace léčiv, přehled a výhody podání. *Remedia* **25**.
- Kim IH, Suh GH. 2003. Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology* **60**:1445-1456.
- Kinnunen HM, Mørnsy RJ. 2014. Improving the outcomes of biopharmaceutical delivery via the subcutaneous route by understanding the chemical, physical and physiological properties of the subcutaneous injection site. *J Control Release* **182**:22-32.
- Kořínek D. 1999. Riziko zbytkového mléka. *Schaumann* **2**:3.
- Kratochvíl J. 2006. Kombinace antibiotické a neantibiotické léčby v zaprahlosti-cesta ke snížení výskytu mastitid. Pages 25-26 in Mastitidy skotu editors. Hotel Voroněž, Brno.
- Krejčí J. 2006. Imunita mléčné žlázy. Pages 20-21 in Mastitidy skotu editors. Hotel Voroněž, Brno.

- Lakshmi R. 2016. Bovine mastitis and its diagnosis. *International Journal of Applied Research* **2**:213-216.
- Landin H, Jansson M, Larsson MM, Waller KP. 2015. Vaccination against *Staphylococcus aureus* mastitis in two Swedish dairy herds. *Acta Vet. Scand.* **57**:81.
- Leitner G, Yadlin N, Lubashevsky E, Ezra E, Glickman A, Chaffer M, Winkler M, Saran A, Trainin Z. 2003. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trial. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **4**:153-158.
- Magaš V, Slobodanka V, Pavlovic V, Velebit B, Mirilovic M, Maletic M, Duric M, Svetkana N. 2013. Efficiency evaluation of a bivalent vaccine in the prophylaxis of mastitis in cows. *Acta Vet. Beograd* **63**:525-536.
- Marvan F. 2011. *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda, Praha.
- Mašek J, Šašková K, Rychlíková M, Hanuš O, Hegedüšová Z, Holásek R. 2022. Vývoj a aplikace antimastitidní vakcinace dojníc (AVD), její podstata, předpoklady, přednosti i nedostatky. MVDr. Jiří Mašek, s.r.o. Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha.
- McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT. 2006. *Veterinary Embryology*. Blackwell Publishing, Oxford.
- McDonnell AM, Holmes LA. 1990. Haemoglobinuria due to *Clostridium perfringens* type A mastitis in a ewe. *British Veterinary Journal* **146**:380-381.
- Mikšová Z, Froňková M, Zajíčková M. 2005. *Kapitoly z ošetrovatelské péče II*. Grada Publishing a.s., Praha.
- Mondaca MR. 2019. Ventilation systems for adult dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim.* **35**:139-156.
- Neff K, Stabel D. 2007. Trockenstellen und Trockenzeit. *UFA-Revue* **5**:1-4.
- Nehasilová D. 2009. Záhadné mastitidy: Často je na vině krmení. *Zemědělský týdeník* **35**:12-15.
- Nielsen CH. 2009. *Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows*. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science. SLU Service/Repro, Uppsala.
- Nielsen CH, Østergaard S, Emanuelson U, Andersson H, Berglund B, Strandberg E. 2010. Economic consequences of mastitis and withdrawal of milk with high somatic cell count in Swedish dairy herds. *Animal* **4**:1758-1770.
- Nyman AK, Ekman T, Emanuelson U, Gustafsson AH, Holtenius K, Waller KP, Sandgren CH. 2007. Risk Factors Associated with the Incidence of Veterinary Treated Clinical Mastitis in Swedish Dairy Herds with a High Milk Yield and a Low Prevalence of Subclinical Mastitis. *Preventive Veterinary Medicine* **78**:142-160.
- Odensten MO, Berglund B, Waller KP, Holtenius K. 2007. Metabolism and udder health at dry-off in cows of different breeds and production levels. *Journal of Dairy Science* **90**:1417-1428.

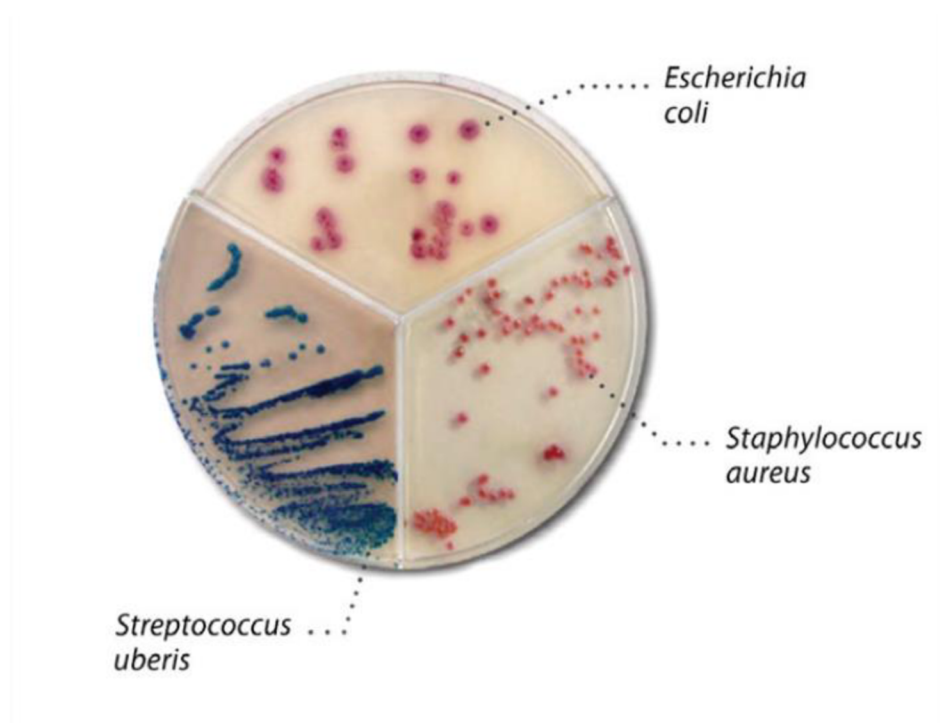
- Østerås O. 2000. The Cost of Mastitis an Opportunity to Gain More Money. Proceedings of the British Mastitis Conference 67-77.
- Owens WE, Oliver SP, Gillespie BE, Ray CH, Nickerson SC. 1998. Role of horn flies *Haematobia irritans* in *Staphylococcus aureus* induced mastitis in dairy heifers Am. J. Vet. Res. **59**:1122-1124.
- Pankey JW, Boddie NT, Watts JL, Nickerson SC. 1985. Evaluation of protein A and a commercial bacterin as vaccines against *Staphylococcus aureus* mastitis by experimental challenge. Journal of Dairy Science **68**:726-731.
- Pavlatá L, Pechová A, Dvořák R. 2006. Vybrané nutriční faktory ve vztahu k nespecifickým mastitidám. Pages 9-12 in Mastitidy skotu editors. Hotel Voroněž, Brno.
- Peeler EJ, Green MJ, Fitzpatrick JL, Morgan KL, Green, LE. 2000. Risk Factors Associated with Clinical Mastitis in Low Somatic Cell Count British Dairy Herds. Journal of Dairy Science **83**:2464-2472.
- Persson Y, Olofsson I. 2011. Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats. Acta Veterinaria Scandinavica **53**:15.
- Persson W, Westermark T, Ekman T, Svennersten, K. 2003. Milk leakage -An Increased risk in automatic milking systems. American dairy science association **86**:3488-3497.
- Piepers S, De Meulemeester L, Kruif A, Opsomer G, Barkema HW, De Vliegher S. 2007. Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. Journal of Dairy Research **74**:478-483.
- Piepers S, Peeters K, Opsomer G, Barkema HW, Frankena K, De Vliegher S. 2011. Pathogen-specific risk factors at the herd, heifer and quarter level for intramammary infections in early lactating dairy heifers. Prev. Vet. Med. **99**:91-101.
- Reece WO. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. 2010. Grada, Praha.
- Raynal LK, Pirisi A, De Crémoux R, Gonzalo C. 2007. Somatic cell of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. Small Ruminant Research **68**:126-144.
- Ryšánek D. 2010. Imunoprofylaxe mastitid-Skutečnost a vize. Veterinářství **60**:14-18.
- Rabee AR, Lean IJ. 2013. The effect of internal teat sealant products (Teatseal and Orbeseal) on intramammary infection, clinical mastitis, and somatic cell counts in lactating dairy cows: A meta-analysis. Journal of Dairy Science **96**:6915-693.
- Rodenburg J. 2011. Mastitis prevention for dairy cattle: Environmental control. Factsheet, **410**:90-104.
- Scott RP, Penny DC, Macrae A. 2011. Cattle medicine. Manson Publishing The Veterinary Press, London.
- Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. 2003. Production Effects Related to Mastitis and Mastitis Economics in Dairy Cattle Herds. Veterinary Research **34**:475-491.

- Seydlová R. 2006. Řešení problematiky environmentálních mastitid v zemědělských provozech. Pages 31-35 in Mastitidy skotu editors. Hotel Voroněž, Brno.
- Schreiner DA, Ruegg PL. 2003. Relationship Between Udder and Leg Hygiene Scores and Subclinical Mastitis. *Journal of Dairy Science* **86**:3460-3465.
- Schroeder JW. 2010. Bovine mastitis and milking management. North Dakota State University of Agriculture and Applied Science 1129.
- Schroeder JW. 2012. Bovine mastitis and milking management. *Drug therapy* **8**:4.
- Schukken YH, Bronzo V, Locatelli C, Pollera C, Rota N, Casula A, Testa F, Scaccabarozzi L, March R, Zalduendo D, Guix R, Moroni P. 2014. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J. Dairy Sci.* **97**:5250-5264.
- Slobodanka V, Pavlović M, Pavlović V, Sonja O. 2008. Immunoprophylaxis of *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cows. *Acta. Vet. Beograd* **58**:221-230.
- Sordillo LM, Weaver KS, DeRosa D. 1997. Immunobiology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.* **80**:1851-65.
- Steenefeld W, Swinkels J, Hogeveen H. 2007. Stochastic Modelling to Assess Economic Effects of Treatment of Chronic Subclinical Mastitis Caused by *Streptococcus uberis*. *Journal of Dairy Research* **74**:459-467.
- Stuhr T, Aulrich K, Barth K, Knappstein K, Larsen T. 2013. Influence of udder infection status on milk enzyme actives and somatic cell count throughout early lactation in goats. *Small Ruminant Research* **111**:139-146.
- Springer S, Selbitz H. 1999. The control of necrotic enteritis in sucking piglets by means of a *Clostridium perfringens* toxoid vaccine. *Immunology and Medical Microbiology*. DOI:10.1111/j.1574-695X.1999.tb01302.x
- Tao S, Orellana RM, Weng X, Marins TN, Dahl GE, Bernard JK. 2018. Symposium review: The influences of heat stress on bovine mammary gland function. *Journal of Dairy Science* **101**:5642-5654.
- Teale CJ, Moulin G. 2012. Prudent use guidelines: a review of existing veterinary guidelines. *Revue Scientifique et Technique* **31**:343-354.
- Thachil AJ. 2013. Vaccination of turkeys with *Clostridium septicum* bacterin-toxoid: evaluation of protection against clostridial dermatitis. *Avian Diseases* **57**:214-219.
- Ticháček A, Ponížil A, Pechová A, Pavlata L, Olejník P, Kopunecz P, Habuš O, Bjelka M. 2007. Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka. Agritec, Šumperk.
- Tomita M, Ray CH, Nickerson SC, Owens WE, Gallo GF. 2000. A Comparison of Two Commercially Available *Escherichia coli* J5 Vaccines against *E. coli*. *Journal of Dairy Science* **83**:2276-2281.

- Toušová R, Stádník L, Ducháček J, Baráková M. 2011. Influence of vaccination against mastitis on its incidence, somatic cells amount and content of solid components in milk of primiparous dairy cows. *Cattle Research* 196 **4**:84-90.
- Tucker CB, Lacy-Hulbert SJ, Webster JR. 2009. Effect of milking frequency and feeding level before and after dry off on dairy cattle behavior and udder characteristics. *Journal of Dairy Science* **92**: 3194-3203.
- Veauthier G. 2011a. Die Einstreu lebt. Elite best practice. *Eutergesundheit* **6**:46-48.
- Veauthier G. 2011b. Fütterungsfehler erhöhen das Mastitis-Risiko. Elite best practice. *Eutergesundheit* **6**:50-51.
- Věříš M. 2017. Jak zvítězit nad mastitidami. *Náš chov, Profi Press* **6**:12-16.
- Vliegheer De S, Fox L, Piepers K, McDougall S, Barkema HW. 2012. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease potential, prevention, and control, *Journal of Dairy Science* **95**:1025-1040.
- Waller KP, Bengtsson B, Lindberg A, Nyman A, Ericsson Unnerstad H. 2009. Incidence of Mastitis and Bacterial Findings at Clinical Mastitis in Swedish Primiparous Cows - Influence of Breed and Stage of Lactation. *Veterinary Microbiology* **134**:89-94.
- Whay HR, Shearer JK. 2017. The Impact of Lameness on Welfare of the Dairy. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice* **33**:153-164.
- Zhylkaidar A, Oryntaev K, Altenov A, Kylpybai E, Chayxmet E. 2021. Prevention of Bovine Mastitis through Vaccination DOI: 10.22092/ari.2021.356008.1764.

8.1 Obrázky

Obrázek 1 PM Test- Petriho miska s původci mastitid



<https://www.eurofarm.cz/faremni-kultivace>

Obrázek 2 Kultivace *Klebsiella pneumoniae*



<https://universe84a.com/klebsiella-pneumoniae-introduction/>

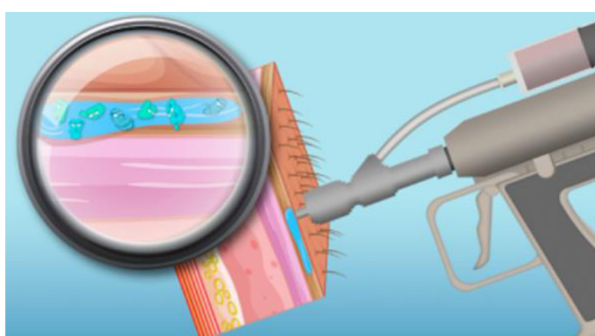
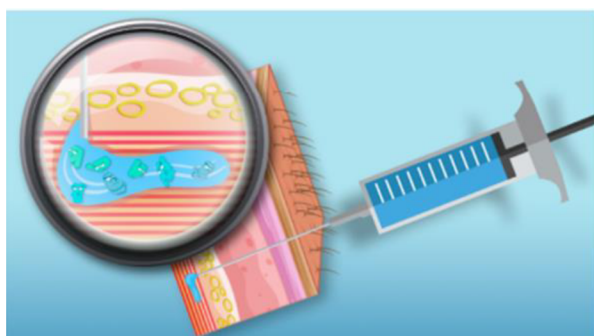
Obrázek 3 Přístroj na intradermální aplikaci



Obrázek 4 Intradermální aplikace vakcíny



Obrázek 5 Rozdíl mezi intramuskulární a intradermální aplikací



Obrázek 6 Pohled do stáje na farmě v Kochánově



Obrázek 7 Zasušené dojnice na pastvě



Obrázek 8 Květinové pásy v polích Petra Nováka



Obrázek 9 Dojnice z chovu Petra Nováka



8.2 Tabulky







Tabulka Ia. Průměrné hodnoty ukazatelů v jednotlivých letech sledování s vyznačením období použití daného vakcinačního schématu

ukazatel		leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec
20	počet zánětů	11	15	12	12	11	15	20	17	19	14	11	16
	počet dojnic	175	177	177	179	175	179	172	170	173	173	179	178
	% zánětů	6,3	8,5	6,8	6,7	6,3	8,4	11,6	10,0	11,0	8,1	6,1	9,0
	PSB v tis./ml	285	270	299	336	195	230	285	260	262	280	228	314
20	počet zánětů	16	21	10	11	11	16	18	14	22	15	14	15
	počet dojnic	176	175	172	180	176	174	174	178	178	177	170	173
	% zánětů	9,1	12,0	5,8	6,1	6,3	9,2	10,3	7,9	12,4	8,5	8,2	8,7
	PSB v tis./ml	346	240	185	264	158	267	136	127	119	255	259	276
20	počet zánětů	23	11	11	8	11	14	7	21	18	12	10	13
	počet dojnic	170	169	175	175	176	178	172	174	174	175	178	174
	% zánětů	13,5	6,5	6,3	4,6	6,3	7,9	4,1	12,1	10,3	6,9	5,6	7,5
	PSB v tis./ml	258	291	254	225	246	240	220	230	225	235	149	128
20	počet zánětů	11	13	8	3	5	12	18	13	9	2	2	3
	počet dojnic	168	170	172	172	170	175	178	178	179	174	174	173
	% zánětů	6,5	7,6	4,7	1,7	2,9	6,9	10,1	7,3	5,0	1,1	1,1	1,7
	PSB v tis./ml	218	214	209	197	164	202	207	201	192	241	211	214
20	počet zánětů	7	9	7	12	7	5	7	2	8	9	4	10
	počet dojnic	172	178	177	179	177	176	173	173	175	176	179	177
	% zánětů	4,1	5,1	4,0	6,7	4,0	2,8	4,0	1,2	4,6	5,1	2,2	5,6
	PSB v tis./ml	219	204	189	253	201	208	155	143	158	155	150	159
20	počet zánětů	4	5	6	4	5	3	5	13	2	2	3	0
	počet dojnic	175	176	172	171	173	176	173	171	174	170	168	172
	% zánětů	2,3	2,8	3,5	2,3	2,9	1,7	2,9	7,6	1,1	1,2	1,8	0,0
	PSB v tis./ml	101	107	125	113	113	163	106	143	122	113	132	127

Tabulka Ib.

ukazatel		leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec
20	počet zánětů	5	0	0	6	4	8	5	5	3	1	0	1
	počet dojnic	173	178	175	175	180	181	174	174	172	173	173	173
	18 % zánětů	2,9	0,0	0,0	3,4	2,2	4,4	2,9	2,9	1,7	0,6	0,0	0,6
	PSB v tis./ml	150	135	122	111	115	122	126	131	138	144	146	144
20	počet zánětů	4	2	0	6	1	3	0	1	5	0	0	0
	počet dojnic	176	177	171	176	178	177	177	180	179	177	173	173
	19 % zánětů	2,3	1,1	0,0	3,4	0,6	1,7	0,0	0,6	2,8	0,0	0,0	0,0
	PSB v tis./ml	147	150	104	131	139	141	134	142	147	170	162	149
20	počet zánětů	0	3	0	4	1	6	0	0	2	0	0	1
	počet dojnic	169	176	176	177	178	178	172	173	169	168	175	178
	20 % zánětů	0,0	1,7	0,0	2,3	0,6	3,4	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,6
	PSB v tis./ml	150	131	133	146	142	147	167	168	179	125	148	137
20	počet zánětů	1	0	0	6	1	3	1	0	0	0	0	0
	počet dojnic	176	179	182	174	176	176	173	171	175	174	177	178
	21 % zánětů	0,6	0,0	0,0	3,4	0,6	1,7	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	PSB v tis./ml	126	144	174	182	164	189	194	166	128	136	112	147

Legenda: Období použití jednotlivých vakcinačních schémat

Vakcinační schéma	zahájení	ukončení	Barevné rozlišení v tabulce
Bez vakcinace	leden 2012	srpen 2012	
Startvac	září 2012	prosinec 2013	
Mastivac	leden 2014	prosinec 2014	
J-vac	leden 2015	červen 2015	
Autovakcína Sevaron 1.	červenec 2015	březen 2016	
Autovakcína Sevaron 2.	duben 2016	červenec 2019	
Autovakcína Sevaron 3.	srpen 2019	prosinec 2021	