

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra: Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů
Studijní program: B4131 Zemědělství
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Mastitidy u koz
(Mastitis in goats)

Autor: Markéta Bendová

Vedoucí bakalářské práce: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice
2013

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Markéta BENDOVIÁ
Osobní číslo: Z10081
Studijní program: B4131 Zemědělství
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Název tématu: Mastitidy u koz
Zadávací katedra: Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

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

Úvod a cíl: Chov koz nabývá v dnešní době stále většího významu. Kozí mléko je z nutričního hlediska a z hlediska stravitelnosti považováno za velmi kvalitní a využitelné i pro skupiny obyvatel, pro které je kravské mléko nevhodné. Toto tvrzení však platí pouze za předpokladu správné hygieny a zdravotní nezávadnosti získávaného mléka. Podobně jako v chovech dojevného skotu, i u koz je problematika mastitid velmi významnou a sledovanou.

Cílem bakalářské práce bude zpracovat literární přehled, týkající se mastitid u koz. Ve sledovaném chovu budou prováděny pravidelné odběry vzorků mléka, které budou následně analyzovány. V chovu bude vyhodnocen výskyt klinických a subklinických mastitid.

Literární přehled: Současný stav poznání dané problematiky, zpracovaný na základě studia odborné a vědecké literatury.

Materiál a metodika: Charakteristika chovu, odběr vzorků, a jejich zpracování, popis mikrobiologické analýzy včetně vyhodnocení

Výsledky a diskuze: Vyjádření získaných výsledků pomocí komentovaných grafů a tabulek. Porovnání výsledků s literárními prameny.

Závěr: Zhodnocení výsledků práce. Navržení případných opatření pro sledovaný chov.

Abstrakt: Přehled nejdůležitějších výsledků práce- v českém a anglickém jazyce, včetně klíčových slov

Bakalářská práce je součástí řešení projektu OP VK CZ.1.07/2.4.00/17.0026 Vytvoření partnerské sítě vzdělávání a výzkumu v oblasti mastitid

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy: 25-40 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

- Jičínská E., Havlová J.: Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích. 1 vydání. ÚZPI Praha, 1995, 106s. ISBN 80-85120-47-X.
 - Contreras A., Sierra D., Sanchez A., Corales J.C., Marco J.C., Paape M.J., Gonzalo C.: Mastitis in small ruminants. Small Ruminant Research, 2007, 68: 145-153.
 - Mungatana N.K., Ngure R.M., Shitandi A., Onyiego B., Mutumba M.: Effect of experimental Staphylococcus aureus mastitis on compositional quality of goat milk. International Journal of Dairy Technology, 2011, 64 (3): 360-364.
 - Stastkova Z., Karpiskova S., Karpiskova R.: Occurrence of methicillin-resistant strains of Staphylococcus aureus at a goat breeding farm. Veterinary Medicine, 2009, 54 (9): 419-426.
- podle ČSN ISO 690 (010197)

Vedoucí bakalářské práce:

MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Datum zadání bakalářské práce: 8. března 2012

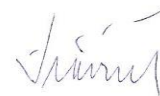
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2013



Ing. Karel Suchý, Ph.D.

proděkan pověřený vedením ZF

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice
I.S.



prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 8. března 2012

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích

.....
Markéta Bendová

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí bakalářské práce MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D. za odborné vedení v průběhu zpracování mé bakalářské práce.

Dále děkuji paní Lucii Čákové za umožnění odběru vzorků mléka a poskytnutí podkladů k vypracování mé bakalářské práce.

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá problematikou mastitid u koz. Kozí mléko se v současné době těší stále větší oblibě. V průběhu laktační periody bylo odebráno ve čtyřech odběrech celkem 80 individuálních vzorků a čtyři bazénové vzorky syrového mléka. Byly stanoveny somatické buňky, celkové počty mikroorganismů a psychrotrofní mikroorganismy. Lze usuzovat, že sání kůzlat může mít vliv na zvýšené hodnoty na začátku laktace, přesto u žádného vzorku nebyly hodnoty vyšší než platná legislativa. Nízká hygiena chovu u koz zvyšuje riziko vzniku mastitid a tím znehodnocuje kvalitu mléka a mléčných výrobků, naopak dobré hygienické podmínky chovu se odráží ve výborné kvalitě kozího mléka a následně zajišťují spokojenost zákazníků.

Klíčová slova: koza; mléko; klinická mastitida; subklinická mastitida

Abstract

This bachelor thesis deals with the problems of mastitis in goats. Goat milk is currently enjoying an increasing popularity. During the lactation period there were collected a total of 80 individual samples in four samplings and four pool samples of raw milk. In the samples were analyzed somatic cells count, total microbial counts and psychrotrophic microorganisms. It can be concluded that suckling kids can have an impact on the increased value at the beginning of lactation, even though the milk samples weren't higher than the applicable legislation. Poor hygiene of breeding goats increases the risk of mastitis and thus degrades the quality of milk and dairy products, while keeping good hygienic conditions is reflected in the excellent quality of goat milk and subsequently ensure customer satisfaction.

Key words: goat; milk; clinical mastitis; subclinical mastitis

Seznam použitých zkratk

CPM	celkový počet mikroorganismů
G+	grampozitivní bakterie
G-	gramnegativní bakterie
KA	krevní agar
KNS	koaguláza negativní stafylokoky
PSB	počet somatických buněk
PSY	psychrotrofní mikroorganismy

Obsah

Abstrakt

Seznam použitých zkratk

1. Úvod a cíl	9
2. Literární přehled.....	10
2.1 Význam kozího mléka.....	10
2.2 Mastitida.....	10
2.3 Příznaky mastitid.....	11
2.3.1 Příznaky klinické mastitidy.....	12
2.3.2 Příznaky subklinické mastitidy	12
2.4 Původci mastitid.....	13
2.5 Diagnostika mastitid	16
2.5.1 Diagnostika klinické formy.....	16
2.5.2 Diagnostika subklinické formy	17
2.6 Léčba mastitid	21
2.7 Prevence mastitid	23
3. Materiál a metody	25
3.1 Charakteristika farmy.....	25
3.2 Sledované kozy a jejich rozdělení.....	26
3.3 Odběr a zpracování vzorků mléka.....	27
4. Výsledky a diskuse.....	31
4.1 Posouzení klinických mastitid.....	31
4.2 Vyhodnocení počtu somatických buněk.....	31
4.3 Vyhodnocení celkového počtu mikroorganismů	34
4.4 Vyhodnocení celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů.....	37
4.5 Vyhodnocení mikrobiologické analýzy.....	39
5. Závěr	43
6. Seznam použité literatury.....	44
7. Přílohy	48

1. Úvod a cíl

Mléko, ať už kozí či kravské, je plnohodnotnou potravinou, která obsahuje mnoho živin i důležitých vitaminů a minerálních látek. Lze jej používat dále jako surovinu při výrobě mléčných produktů. Nejdůležitějším předpokladem pro kvalitu mléka a následujících mléčných výrobků je zdravotní nezávadnost mléka.

Jedním z nejvýznamnějších onemocnění mléčné žlázy u přežvýkavců je mastitida (zánět mléčné žlázy). Toto onemocnění se může vyskytovat jak u laktujících zvířat, tak i u zaprahých jedinců.

Kozí mléko se v posledních letech dostává do popředí zájmu. Se stoupajícím trendem ekologických farem se zvyšuje i nabídka kozího mléka a výrobků z něj. Požadavky na hygienickou a mikrobiologickou kvalitu získaného kozího mléka jsou shodné jak pro ekologické, tak pro konvenční farmy. Chovatelé by měli zajistit produkci nezávadného mléka a předcházet vzniku mastitid.

Konzumace hygienicky závadného mléka ve větším množství může způsobit různá onemocnění. Při dalším zpracování ve výrobě takové mléko zhoršuje výtěžnost konečného produktu a znehodnocuje jej jak po senzorické, tak po chuťové stránce.

Snahou každého chovatele koz chovaných na mléčnou produkci jsou zdravá zvířata, kvalitní mléko a spokojení, vracející se zákazníci. Nezbytným předpokladem produkce hygienicky a mikrobiologicky nezávadného mléka je adekvátní péče o zdravotní stav chovaných zvířat, hygienicky nezávadné krmení a stájové prostředí a samozřejmě bezproblémové dojení a péče o mléčnou žlázu.

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární přehled, týkající se mastitid u koz. Ve sledovaném chovu byly prováděny pravidelné odběry vzorků mléka, které byly následně analyzovány. V chovu byl vyhodnocen výskyt klinických a subklinických mastitid.

2. Literární přehled

2.1 Význam kozího mléka

Kozí mléko, stejně jako kravské patří mezi kaseinová mléka a v základním složení se mu i podobá (Němcová a Kalhotka, 2010). V porovnání s kravským mlékem je kozí mléko stravitelnější (Park, 2000), zásaditější (Aganga a kol., 2002) a je méně alergizující (Martin-Diana a kol., 2003).

Počet koz chovaných na mléčnou produkci na celém světě za posledních 20 let stále narůstá, a s tím i rovněž vzrůstá produkce kozího mléka (Haenlein, 2004).

Množství bílkovin v kozím mléce je stejné jako v kravském mléce, avšak jejich skladba je rozdílná, což je pravděpodobně důvod, proč zejména kojenci, kteří nesnášejí kravské mléko jako náhražku mateřského mléka, dobře snášejí mléko kozí (Fantová, 1997).

Haenlein (2004) dále uvádí význam kozího mléka především pro rozvojové země ve výživě hladovějících a podvyživených osob. Naopak v některých vyspělých zemích je mléčná produkce velmi dobře organizována a kozí mléko slouží pro gastronomické znalce.

2.2 Mastitida

Mastitidy jsou zánětlivá onemocnění mléčné žlázy, na jejichž vzniku se podílejí různé druhy mikroorganismů, narušení fyziologických procesů organismu a mléčné žlázy a fyzikální a chemická traumata. Ekonomicky nejvýznamnější mastitidy jsou vyvolány mikrobiální infekcí, která se do mléčné žlázy dostává přes strukový kanálek tehdy, pokud se v důsledku působení nepříznivých faktorů vnějšího prostředí naruší rovnováha mezi přirozenými obrannými mechanismy mléčné žlázy a počtem a patogenitou mikroorganismů (Škarda a Škardová, 2000).

Hofírek a kol. (2009) označují mastitidu jako polyfaktorové a polyetiologické onemocnění, na jejímž vzniku a rozvoji se podílejí tři ekosystémy:

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

Škarda a Škardová (2000) uvádějí jako příčiny mastitid kumulativní působení různých stresorů, jako jsou například:

- nízká hygiena ustájení
- nízká úroveň hygieny a techniky dojení
- špatná funkce dojícího stroje
- nízká úroveň výživy a techniky krmení
- nízká úroveň chovatelské péče.

V našich podmínkách jsou zvířata buď po celý rok, nejméně však po část roku ve stájích. Pobyt zvířat ve stájích zvyšuje výskyt mastitid, protože stájové prostředí je více zamořeno mikroorganismy, které se množí v organické hmotě především ve výkalech, což zvyšuje nebezpečí pro vznik mastitidy (Doležal a kol., 2000).

Mikroklima stáje hraje významnou roli, neboť vysoká vlhkost zvyšuje přežívání a rozmnožování mikroorganismů. Bylo zjištěno, že za vysoké vzdušné vlhkosti je podestýlka sídlem ohromného množství mikroorganismů, i když se jeví jako čistá a suchá (Doležal a kol., 2000). Ndegwa a kol. (2000) rovněž uvádí jako významný rizikový faktor pro vznik mastitidy špatnou hygienu ustájení.

Bergonier a kol. (2003) tvrdí, že dojící vybavení a praxe při dojení jsou důležitými faktory podílejícími se na vzniku tohoto onemocnění. U zvířat byl také pozorován vztah mezi poraněním struku a rozvojem zánětu mléčné žlázy.

2.3 Příznaky mastitid

Klinická mastitida je charakterizována jako viditelné abnormality na vemeni nebo v mléce (Shearer a Harris, 1992). Méně zřejmé, avšak o to závažnější je narušení funkce mléčné žlázy při nezjevných nebo-li subklinických

mastitidách (Pešek, 1999).

2.3.1 Příznaky klinické mastitidy

Detekce klinických mastitid závisí na způsobu vyšetřování mléčné žlázy a jejích sekretů (Doležal a kol., 2000). Rozlišení nových a dlouhodobě probíhajících zánětů je možné pouze na základě jejich každodenní diagnostiky a evidence (Škarda a Škardová 2000).

Klinické onemocnění bývá nejčastěji pozorováno u laktujících zvířat, zejména na začátku laktace, ale může se vyvinout také u zaprahých mléčných žláz. Protože zvířata stojící na sucho jsou zřídka pečlivě sledována, zůstávají tyto případy mastitid často nezjištěné až do porodu (Doležal a kol., 2000).

Contreras (2007) a Bergonier a kol. (2003) ve svém výzkumu zjistili, že každoroční výskyt klinických mastitid u malých přežvýkavců je obecně nižší než 5 %.

Příznaky chronické klinické mastitidy se dají rozpoznat podle vloček v mléce při oddojování prvních stříků, podle vodnatého mléka, mírného otoku nebo ztvrdnutí vemene a náhlého nevysvětlitelného poklesu produkce mléka. Často jsou zjevné jen některé z těchto příznaků (Pešek, 1999). Doležal a kol. (2000) dále uvádí, že mléčná žláza může být oteklá, má zvýšenou teplotu, může být zatvrdlá a mohou být hmatné oblasti, kde se parenchym přeměnil na vazivo. Mléko může obsahovat příměs krve.

Akutní případy jsou navíc charakterizovány náhlým nástupem bolesti, horka, otoku, zarudnutím vemene a snížením nebo změnou sekrece mléka z postižené poloviny. V závislosti na závažnosti případu akutní mastitidy jsou významné charakteristiky také horečka, deprese a slabost. Nejtěžší formy mohou být i smrtelné. Takové případy vyžadují okamžitou péči (Shearer a Harris, 1992). Axmann (2012) také potvrzuje, že akutní mastitida představuje vždy přímé ohrožení života zvířete.

2.3.2 Příznaky subklinické mastitidy

Zánět nemusí být zjistitelný běžným diagnostickým vyšetřením mléka nebo mléčné žlázy. Tyto mastitidy jsou označovány jako subklinické

(Doležal a kol., 2000).

Pro subklinickou mastitidu je charakteristické zvýšení počtu somatických buněk (PSB) a nález patogenů při mikrobiologickém vyšetření. Vedle toho dochází rovněž ke změnám některých biochemických ukazatelů mléka (např. pH, kyselost mléka) a ke zvýšení elektrické vodivosti (Hofírek a kol., 2009).

Shearer a Harris (1992) označují tuto formu mastitidy za významnější z následujících důvodů:

- obvykle předchází klinická forma
- delší trvání nemoci
- obtížnější diagnostika
- snižování produkce mléka
- nepříznivé ovlivnění kvality mléka.

Zvířata se subklinickou mastitidou navíc představují významný rezervoár mikroorganismů a jsou zdrojem nakažení dalších jedinců ve stádě (Shearer a Harris, 1992).

Každoroční výskyt subklinických mastitid u koz je 5 – 10 % (Contreras a kol., 2003). Gebrewaihid (2012) ve svém výzkumu malých přežvýkavců uvádí výskyt až 18 %.

Doležal a kol. (2000) uvádí, že diagnóza dle počtu somatických buněk vycházející z jednoho vzorku může být nepřesná, neboť změny způsobené v počtu somatických buněk se významně mění se stádiem laktace a výší užitkovosti. Počet somatických buněk v kolostru je přirozeně zvýšený. S postupující laktací a klesající užitkovostí stoupá jak počet somatických buněk, tak elektrická konduktivita. U mléčných žláz, kde je parenchym výrazně poškozen již zcela odeznělým zánětem, může být složení mléka i počet somatických buněk nenávratně změněn.

Bergonier a kol. (2003) také dodává, že vyšší počty somatických buněk byly pozorovány na začátku laktace v souvislosti s obdobím sání kůzlat.

2.4 Původci mastitid

Mikroorganismy představují významný biosystém, který se uplatňuje při vzniku mastitid. Původci se z epidemiologického hlediska rozdělují do dvou

základních skupin:

- infekční
- environmentální

(Hofírek a kol., 2009)

První skupinou jsou původci dependentní na organismu dojnice (Bzdil, 2012). Infikovaná mléčná žláza je primárním zdrojem patogenů (Hofírek a kol., 2009). Doležal a kol. (2000) dodává, že infekce se šíří v průběhu laktace, i když se někdy může vyskytnout i v období stání na sucho. Tyto mikroorganismy dobře přežívají na kůži struku, kolonizují strukový kanálek a různá místa poranění.

Mezi mikroorganismy vyvolávající nejčastěji infekční mastitidy náleží *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* a v některých případech *Streptococcus dysgalactiae* (Doležal a kol., 2000). Těmto původcům je v převážné míře věnována v zemědělských podnicích prioritní pozornost a jsou realizovány různé antimastitidní programy (Hofírek a kol., 2009).

Z infekčních původců je nejčastěji izolovaným zástupcem u koz *Staphylococcus aureus* (White a Hinckley, 1999; Bergonier a kol., 2003; Mungatana a kol., 2011). Shearer a Harris (1992) charakterizují mastitidu způsobenou *Staphylococcus aureus* přítomností vodnaté, tmavě červené sekrece. V akutních případech je celkový zdravotní stav dojnice narušený, objevuje se zvýšená teplota a mléčná produkce je snižena až zcela zastavená (Hofírek a kol., 2009). Pokud kůzlata sají od různých dojnic může docházet k přenosu *S. aureus* i mezi dojnicemi. Ten může mimo jiné být odpovědný za zvýšení somatických buněk (Contreras a kol., 2003). Šťastková a kol. (2009) uvádí výskyt *S. aureus* u mastitid koz v 14,7 % případů.

Nejčastěji izolované koaguláza negativní stafylokoky (KNS) z infikovaného mléka koz a ovcí jsou *Staphylococcus epidermis*, *S. caprae*, *S. simulans*, *S. chromogenes* and *S. xylosus* (Contreras a kol., 2007). Moroni a kol. (2005) ve svém výzkumu ještě doplňuje *Staphylococcus warnerii*. Ndegwa a kol. (2000) a Gebrewahid a kol. (2012) uvádějí jako převažující původce mastitid u koz právě koaguláza negativní stafylokoky. *S. capre* je schopný přetrvávat v mléčné žláze i během stání na sucho (Contreras a kol., 2003).

Bergonier a kol. (2007) dodává, že KNS mohou být kultivovány nejen

z mléka, ale i z kůže struků. Kontaminace mlékárenských výrobků bakteriemi rodu *Staphylococcus* může významně ovlivnit zdravotní nezávadnost a znehodnotit konzumní jakost těchto potravin (Jičínská a Havlová, 1995).

Fantová (2000) uvádí, že u koz jsou mastitidy nejčastěji způsobovány mikrobiálními původci rodu *Streptococcus* a pokud se neléčí, přecházejí do chronické podoby. Gebrewahid a kol. (2012) uvádí výskyt rodu *Streptococcus* jako původce mastitid u koz v 10,63 % případů. *Streptococcus agalactiae* a *Streptococcus dysgalactiae* jsou běžně izolováni z mléčné žlázy jako původci mastitid (Shearer a Harris, 1992). White a Hinckley (1999) uvádějí ve svém výzkumu mastitid u koz výskyt *S. agalactiae* ve 4,1 % případů. Původci rodu *Streptococcus* běžně přežívají na kůži mléčné žlázy (Hofírek a kol., 2009).

Druhou skupinou jsou původci nezávislí na organismu dojnice (environmentální), kteří se mohou pomnožovat i v prostředí stáje a jejich šíření je spojeno právě s nízkou úrovní hygieny (Brzdil, 2012).

Typickým zástupcem je *Streptococcus uberis*, dále *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* a *Enterobacter spp.* (Bzdil, 2012). Další původci jsou z rodu *Serratia* a *Yersinia*, které se běžně množí ve stájovém prostředí, zejména v podestýlce, ale i mimo ni.

Rod *Streptococcus* je schopný v některých stádech vyvolat chronické mastitidy (White a Hinckley, 1999). *Streptococcus uberis* je běžný původce izolovaný z infikované mléčné žlázy (Shearer a Harris, 1992), Contreras a kol. (2003) udává výskyt v 5 – 10 % případech mastitid u koz. Tento původce je většinou spojován se špatnou hygienou ustájení. *S. uberis* kolonizuje kůži zvířat, je vylučován s výkaly, a tak kontaminuje veškeré okolní prostředí (Doležal a kol., 2000).

Escherichia coli je další environmentální patogen kultivovaný z mastitidního mléka (Moroni a kol., 2005). V některých stádech je patogen spojen se špatnou hygienou při dojení, znečištěnou vodou, mokrou podestýlkou a kontaminovanou dezinfekcí pro ošetřování struků před a po dojení (Contreras a kol., 2003). Pro přežití a pomnožování *E. coli* v syrovém mléce jsou výhodná mléka s nízkými počty kontaminující mikroflóry, protože v mléce špatné mikrobiologické jakosti inhibují

růst *E. coli* nepatogenní kontaminanty (pseudomonády, bakterie mléčného kvašení) (Jičínská a Havlová, 1995). White a Hinckley (1999) uvádějí výskyt *E. coli* v 1,6 % případů mastitid u koz.

Příležitostně se objevuje jako environmentální původce mastitid *Pseudomonas spp.* (Contreras a kol., 2003). Výskyt *Pseudomonas spp.* byl zaznamenán v 1,2 % případů mastitid u koz. Tento původce vede k abnormalitám v sekreci mléčné žlázy (White a Hinckley, 1999).

V menší míře se jako původce mastitidy vyskytuje *Bacillus cereus*. Za kontaminaci mléka mohou spíše spory z ovzduší, jestliže se dojení neprovádí v dojárnách, nýbrž přímo ve chlévě, kde se manipuluje s krmivem (Jičínská a Havlová, 1995).

2.5 Diagnostika mastitid

Diagnostika klinických mastitid se provádí vyšetřováním mléčné žlázy a posouzením jejích sekretů (Megersa a kol., 2010).

K diagnostice subklinických mastitid existuje celá řada testů. Buď detekují infekční patogeny nebo změny v sekreci jako následek zánětu (Doležal a kol., 2000).

2.5.1 Diagnostika klinické formy

Diagnostiku klinických mastitid u laktujících dojnic musejí provádět dojiči před každým dojením posouzením prvních stříků mléka a zjištěním bolestivosti, zduření a teploty mléčné žlázy, popřípadě tělesné teploty a chování dojnice (Škarda a Škardová, 2000).

Diagnostiku klinických mastitid dojnic stojících nasucho zajišťují (pohledem a pohmatem) faremní zootechnici a ošetřovatelé dojnic na porodnách, a to zvláště v prvních dnech zaprahování a poté před porodem (Škarda a Škardová, 2000). Naopak Doležal a kol. (2000) uvádí, že zvířata stojící na sucho jsou zřídka kdy pečlivě sledována, a proto zůstávají tyto případy mastitid obvykle nezjištěné až do porodu.

Diagnostika klinických mastitid zahrnuje celkové vyšetření zdravotního stavu zvířete, kdy se posuzuje chování a vyšetřují se jednotlivé orgánové systémy.

Dále se provádí vyšetření vemene a sekretu mléčné žlázy, kdy se vyšetřuje velikost, tvar, kůže (poranění) a struky (zevní část strukového kanálku, strukové anomálie, průchodnost strukového kanálku sondou) (Hofírek a kol., 2009).

Palpací je posuzována elasticita kůže, konzistence parenchymu, velikost a konzistence lymfatických uzlin, náplň žlázy mlékem a dojitelnost.

Smyslové vyšetření sekretu mléčné žlázy se nejlépe provádí v nádobě s černým dnem, do které se oddojuje několik prvních stříků mléka. Někdy může mléko získat pach svého okolí, potom zapáchá po siláži, dezinfekčních prostředcích, amoniaku nebo moči (Hofírek a kol., 2009).

Dle Megersa a kol. (2010) se pozorují změny v konzistenci mléka, změny barvy, přítomnosti vloček a zápach.

Prohmatání vemene po dojení rovněž přispívá k detekci klinických mastitid, ovšem vzhledem ke zvyšující se produktivitě práce a automatickému snímání strukových násadců je tento způsob diagnózy vyloučen. Výhodné jsou senzory, které jsou schopny detekovat abnormální mléko (Doležal a kol., 2000).

2.5.2 Diagnostika subklinické formy

Diagnóza u subklinických mastitid je založena na zjištění zvýšeného počtu somatických buněk v mléce, a to buď v příslušné laktologické laboratoři, nebo přímo v terénu prostřednictvím nepřímých testů (Axmann, 2012).

Počet somatických buněk (PSB) je suma jaderných buněčných útvarů v mléce (velikost v průměru 4 μm). PSB je tvořen zejména buňkami bílé krevní řady, dále artefakty buněk sekrečního epitelu a dlaždicovitého epitelu mléčné žlázy. PSB je jednak hygienickým ukazatelem, ale zejména technologickým ukazatelem a zdravotním ukazatelem vemene, neboť se zvyšuje s výskytem a vzrůstem intenzity především infekčního zánětlivého procesu (Doležal a kol., 2000).

Ve stáji se používá tzv. NK test (Doležal a kol., 2000).

NK test je dnes nejpoužívanější screeningovou metodou při diagnostice mastitid. Reaguje nejen na změny pH mléka a ztrátu pufrovacích schopností,

ale reaguje i na zmnožení buněčných elementů v patologicky změněném mléce. Jako indikátor je v NK testu použita fenolová červeň. Reagenční roztok NK testu se mísí s čerstvě nadojeným mlékem v poměru 1:1, zpravidla 2 ml mléka a 2 ml reagenčního roztoku, na posuzovací paletě zhotovené k tomuto účelu. Mírným nakláněním a kruhovými pohyby palety se mléko s reagenčním roztokem současně promíchá ve všech miskách a reakce proběhne do 30 sekund. Hodnocení se provede do 1 minuty.

Pozitivní reakce se projeví nejprve tvorbou jemného filmu a posléze podle intenzity reakce různě výraznou tvorbou gelu, který se při velmi silné reakci stahuje do středu ustálené misky. Na tvorbě gelu se vedle leukocytů podílí také fibrinogen a mléčné proteiny. Současně dochází ke změně barvy směsi mléka s reagencií, která je vyvolána působením rozdílného pH mléka.

U čerstvého mléka od zdravých dojnic je barva směsi s reagencií citronově růžová a při stupňujícím se zánětu a stoupajícím pH se postupně barva stává červenou, purpurově červenou až fialovou. Úměrně ke změnám se zvyšuje současně počet somatických buněk v mléce. Intenzita reakce se označuje čísly 1-4 nebo křížky (+, ++, +++, +++++) (Hofírek a kol., 2009).

Bergonier a kol. (2003) uvádí, že chovatelé koz používají NK test pouze v 57 až 65 % případů.

Axmann (2012) udává, že pro kozí mléko je potřeba jednokřížkovou reakci v testu hodnotit jako „normální“.

Podle Shearer a Harris (1992) se výsledky z tohoto testu dle reakce označují 0-3. Vzorky NK testu u malých přežvýkavců s výsledky 0 a 1 jsou považovány za negativní (zdravé vemeno), zatímco výsledky 2 a 3 jsou považovány za pozitivní (onemocnění) (Gebrewahid a kol., 2012).

Obsah somatických buněk v kozím mléce je vyšší než v mléce kravském a fyziologicky kolísá od 0 do 500 000 buněk/ml. Detekce mastitidy vede ke zvýšení PSB na hodnoty 500 000 až 2 000 000 buněk/ml (Axmann, 2012).

Jako oficiální standard Evropské unie pro kravské mléko uvádí Směrnice rady EHS 92/46 „Kvalita mléka a mléčných výrobků“ kritérium pro počet somatických buněk $\leq 400\ 000$ buněk v 1 ml kravského mléka. Avšak počet somatických buněk pro kozí mléko směrnice neuvádí (Rozsypal a kol., 2012).

Bergonier a kol. (2003) uvádí počet somatických buněk pro kozí mléko

v rozmezí od 556 000 do 1 200 000 buněk na 1 ml mléka. Přidalová a kol. (2009) uvádí na jedné sledované kozí farmě až 1 875 000 buněk/ml mléka, na jiné farmě zjistili 895 000 buněk na 1 ml mléka.

Podle Peška (1999) nelze opomenout skutečnost, že i stresové podněty mohou vést ke zvýšení počtu somatických buněk v mléce. Počet buněk bývá zvýšen na začátku laktace, podstatné zvýšení je zaznamenáno i na konci laktace. Dále je třeba se zmínit o tom, že vyšší počet somatických buněk byl zaznamenán ve vzorcích z večerního dojení proti vzorkům odebranných při ranním dojení. Počet buněk v mléce je dále ovlivňován ročním obdobím. Přesto Pešek (1999) uvádí jako nejzávažnější příčinu zvýšení somatických buněk v syrovém mléce výskyt subklinických zánětů mléčné žlázy.

Diagnostiku subklinických mastitid u jednotlivých dojnic plně nahrazuje pravidelné stanovení počtu somatických buněk v bazénovém vzorku mléka a léčbu subklinických mastitid během laktace výhodněji nahrazuje léčba všech dojnic při zaprahování (Škarda a Škardová, 2000).

Řízení procesu zaprahování včetně léčení se věnuje čím dál větší pozornost. Dokonce se hovoří o období zaprahování jako o začátku další laktace z hlediska dosažení optimálního zdravotního stavu mléčné žlázy. Volba procesu zaprahování by měla být individuální podle konkrétní situace. Pokud dojnice neměla v laktaci problémy ze zdravotním stavem mléčné žlázy a je při zaprahování mléčná žláza zdravá, antibiotické zaprahování se nemusí vůbec používat (Rozsypal a kol., 2012).

Základním ukazatelem mikrobiální jakosti mléka je celkový počet mikroorganismů (CPM) (Rozsypal a kol., 2012). Zdrojem CPM v mléce může být jednak infikovaná mléčná žláza a kontaminované ústí strukového kanálku, ale zejména všechny mikrobiologicky kontaminované povrchy, které během dojení a skladování přišly do styku s mlékem (Malá a kol., 2009). Němcová a Kalhotka (2010) nazývají tyto kontaminace jako primární (zdroj infikovaná mléčná žláza) a sekundární (následná kontaminace nedodržením hygieny).

V příloze č. 1 Zákona č. 203/2003 Sb. o veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky jsou stanoveny hodnoty CPM pro syrové kozí, ovčí a buvolí mléko (aniž jsou dotčeny stanovené limity reziduí):

1. je-li určeno k výrobě konzumního tepelně ošetřeného mléka nebo tepelně ošetřených výrobků: celkový počet mikroorganismů při 30°C (na ml) < 1 500 000
2. je-li určeno k výrobě výrobků „vyrobených se syrovým mlékem“ postupem, který nezahrnuje žádné tepelné ošetření: celkový počet mikroorganismů při 30°C (na ml) < 500 000 (Česko, 2003).

Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů (PSY) je počet růstuschopných mikroorganismů na kultivační půdě za standartních podmínek metody při 6,5°C bez ohledu na jejich růstové tepelné optimum. Slouží jako doplňkový hygienický ukazatel kvality pro mlékárny s náročnějšími technologiemi (jogurty, sýry atd.). Hlavními představiteli jsou obvykle druhy rodu *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Escherichia* a *Aeromonas*. Tyto mikroorganismy převážně disponují termostabilními enzymy – lipázami a proteázami (Doležal a kol., 2000).

Zdrojem psychrotrofních mikroorganismů je většinou voda, půda, stelivo a případně krmivo (Rozsypal a kol., 2012).

Pouhé stanovení počtu mikroorganismů je důležité pro posouzení kvality mléka, ale pro diagnostiku mastitid se vyžaduje identifikace patogenů mléčné žlázy. Běžná kultivace se provádí na krevním agaru nebo na jiných speciálních půdách. Cílem mikrobiologického vyšetření tedy je zachytit a identifikovat původce infekce mléčné žlázy. Výsledek mikrobiologického vyšetření může být ovlivněn mnoha okolnostmi a podmínkami objektivního i subjektivního charakteru. Jde zejména o:

- dodržování správného postupu při odběru vzorků,
- správné ošetřování odebraných vzorků,
- správný metodický postup při laboratorním vyšetřování,
- správný metodický postup při vyhodnocování výsledků laboratorního vyšetření,
- správnou interpretaci a závěry pro praxi.

(Hofírek a kol., 2009)

V několika posledních letech se v řadě chovů ve Spojených státech amerických rozšířil systém kultivace prováděný přímo na farmě, jehož smyslem je identifikace bakteriálního původce mastitidy a cílená neboli tzv. strategická léčba

založená na výsledku kultivace. Tento systém využívá speciálních kultivačních médií, která určí přítomnost nebo absenci bakterií. Při průkazu bakterií odliší gramnegativní a grampozitivní původce (Bečvář, 2009).

2.6 Léčba mastitid

Při vzniku mastitidy je třeba zvolit vhodný léčebný postup, nejlépe v návaznosti na laboratorní průkaz původce se zjištěnou citlivostí k antibiotikům. Dojde-li k zanedbání péče o zánětem postiženou mléčnou žlázu, může dojít k trvalým změnám mléčného parenchymu (Doležal a kol., 2000; Ježková, 2013).

Stále se opakující mastitidy u dojnic jsou důvodem k brakování postižených zvířat (Doležal a kol., 2000). U malých přežvýkavců musí být průměrná cena za léčbu nižší než porážková hodnota zvířete. Před léčbou je nutný předpoklad úplného uzdravení zvířete (Bergonier a kol., 2003).

Shearer a Harris (1992) uvádějí jako první postup při léčbě mastitidy úplné vydojení mléčné žlázy. Späth a Thume (1994) dodávají, že mléčná žláza se musí častěji vydojovat.

Základní otázkou je volba antibiotika a jeho podání (Axmann, 2012). Některé léky jsou speciálně registrované pro použití u malých přežvýkavců. Použití antibiotik registrovaných pro krávy nebo pro ovce nese vysoké riziko z hlediska bezpečnosti a účinnosti při použití u koz (Contreras a kol., 2007). Bergonier a kol. (2003) dodávají, že je celkový nedostatek publikací věnujících se speciálně léčbě mastitid u malých přežvýkavců.

V některých oblastech je používání antibiotik při zasušování stále častěji používanou metodou. Účinnost této léčby je u koz 50 – 92,5 % v závislosti na délce období zasušení. Účinnost je lepší pro koaguláza negativní stafylokoky než pro *Staphylococcus aureus* (Bergonier a kol., 2003). Záleží na správné metodě zasušování, tj. zasušování rychlé, s aplikací antibiotik ihned po posledním dojení. Struky se vydezinfikují, ošetří se ústí strukového kanálku a následně se aplikují antibiotika. Pak znovu probíhá dezinfekce, což se opakuje po několik dní, alespoň 1x denně (Doležal a kol., 2000).

Vývoj kmenů patogenních mikroorganismů odolných vůči běžně používaným

antibiotikům je celosvětový problém. Jedním z nejdůležitějších původců mastitid v tomto ohledu je *Staphylococcus aureus*, zejména jeho methicillin-rezistentní kmeny (Šťastková a kol., 2009). Rezistence se stává stabilnější, jestliže je dostatek času pro vytvoření její stabilizace. Svědčí o tom skutečnost, že dlouhodobá expozice k nízkým dávkám antimikrobiálních látek napomáhá stabilitě a udržení genů rezistence. Naproti tomu krátkodobá expozice k vysokým dávkám antibiotika, které je schopno zabít bakterie nebo zabránit jejich růstu je málo pravděpodobnou podporou vzniku rezistence (Hofírek a kol., 2009). Izolace zástupců *Staphylococcus spp.* z mléka a mléčných výrobků může být zdrojem toxinů a na antibiotika rezistentních kmenů pro člověka. Ve studii kozího mléka v Íránu bylo na penicillin rezistentních 100 % izolovaných kmenů *S. aureus* a 33,33 % *S. epidermis* a k methicillinu bylo rezistentních 28,57 % kmenů *S. aureus* a 22 % *S. epidermis* (Ebrahimi a kol., 2010).

Rizika zanechání reziduí antibiotik v kozím mléce po vyléčení jsou málo prozkoumána. Během laktace byla detekována rezidua amoxicillinu v kozím mléce ještě za 112 hodin po posledním podání (Buswell a kol., 1989). V další podobné studii byla rezidua cloxacillinu detekována za 156 hodin po posledním podání (Bergonier a kol., 2003).

V ekologických chovech se využívá terapie pomocí léčivých rostlin. Nasekané rostliny s květy, u některých druhů i s kořeny, se luhují v horké vodě 15 až 20 minut. Výluh je používán pomocí bavlněné tkaniny jako obklad, který se nechá působit do vychladnutí (Lans a kol., 2007).

Dle Nařízení komise (ES) č. 889/2008 je možné ve výjimečných případech v ekologických chovech podat chemicky syntetizovaná alopatická veterinární léčiva nebo antibiotika, a to na zodpovědnost veterináře. Ochranná lhůta mezi posledním podáním alopatického veterinárního léčiva zvířeti za normálních podmínek užívání a produkcí surovin z tohoto zvířete s odkazem na ekologickou produkci je dvojnásobně dlouhá oproti zákonné ochranné lhůtě a v případě, že zákonná ochranná lhůta není stanovena, činí čtyřicet osm hodin (Česko, 2008).

Léčbu mastitid je nutné neodkládat, aby nedošlo k nezvratnému poškození tkáně mléčné žlázy (Doležal a kol., 2000).

2.7 Prevence mastitid

Prevence mastitid spočívá v zabezpečení vhodných zoohygienických podmínek v chovu, v kvalitním krmení, kontrole stáda s včasným vyhledáním a léčbou postižených jedinců a dále v odpovídající hygieně dojení a kontrole prvních stříků (Fantová, 2000).

Zelinková (2009) uvádí, že důležitá je struktura krmné dávky a dále welfare zvířat. Dojnice by měly být čisté a v dobrém kondičním stavu. Kondice dojnic jednoznačně vychází ze zkrmování kvalitní a vyrovnané krmné dávky, která respektuje dojnici a její fyziologický stav. Základem krmné dávky by měla být kvalitní objemná krmiva, ideální formou je pastva (Rozsypal a kol., 2012).

Paznehty by měly být ošetřovány průměrně 3x během roku (Rozsypal a kol., 2012), tím se snižuje riziko poranění mléčné žlázy (Shearer a Harris, 1992).

Ustájení, dojírna a další prostory by měly být čisté, uklizené a větrané, díky čemuž je poskytováno pohodlné prostředí pro kozí stáda (Shearer a Harris, 1992). Dojírna je místo, které se dle počtu dojení musí pravidelně dezinfikovat. Povrchy by měly být čištěny pravidelně, aby nedocházelo k namnožení mikroorganismů, včetně patogenních. Po každém dojení je nutné dojící zařízení očistit vodou a alespoň jednou týdně saponátem a dezinfekcí, neboť toto může sloužit jako zdroj původců mastitid a současně cesta jejich šíření mezi jednotlivými jedinci. Ježková (2012) doporučuje čištění kyselým nebo alkalickým prostředkem po každém dojení. Nedodržování a nevhodná konstrukce strukových násadců rovněž zvyšují výskyt mastitid (Doležal a kol., 2000).

Dojnice by měly přicházet na dojírnu čisté s čistou mléčnou žlázou (Rozsypal a kol., 2012). Zelinková (2008) uvádí, že "menší zlo" je suchá špína, přischlá na kůži mléčné žlázy a očista pouze kůže struků, nežli mokré nečistoty stékající ke hrotu struku při mokré toaletě před dojením. Proto se v praxi jeví jednoznačně nejvhodnější suchá toaleta a dezinfekce před dojením s použitím striktně individuálních utěrek.

Důležité je odstříknutí prvních stříků mléka do nádoby s černým dnem a posouzení případných změn mléka. Ke každé dojnici je potřeba přistupovat jako k

potenciálně infekční, takže odstříknutí prvních stříků na podlahu dojírny je neakceptovatelné, neboť může mít za následek rozptýlení patogenů v prostředí dojírny (Zelinková, 2008).

Po ukončení dojení se strukový kanálek uzavírá několik desítek minut, proto je nezbytné věnovat péči ošetření mléčné žlázy bezprostředně po dojení (Doležal a kol., 2000). U malých přežvýkavců je ošetření po dojení používáno hlavně u vysoce nakažených stád (Contreras a kol., 2007). Význam dezinfekce po dojení spočívá ve vydezinfikování okolí strukového svěrače bezprostředně po dojení a v případě bariérových preparátů také v neprodyšném uzavření strukového kanálku a zabránění průniku zárodků z prostředí (Zelinková, 2008).

Prevence je nejúspěšnější a nejlevnější metodou předcházení vzniku onemocnění a měla by být v chovech zdůrazněna a respektována na každém kroku (Rozsypal a kol., 2012).

3. Materiál a metody

3.1 Charakteristika farmy

Sledovaná farma se nachází ve Středočeském kraji, 15 km od města Sedlčany. Farma hospodaří v režimu ekologického zemědělství od roku 2008 a pobírá dotace celkem na 3,5 ha. Pastviny pro kozy zaujímají rozlohu 2 ha a 1,5 ha je trvalý travní porost na seno.

Farma chová celkem 18 dojných koz. Nejčastěji kozy plemene bílá krátkosrstá a hnědá krátkosrstá. Část koz jsou kříženci různých plemen.

Kozy jsou přes letní období v režimu 24/7 na pastvě, kde mají možnost využití přístřeší v podobě stromů či boudiček s pšeničnou slámou. Pastvina je vybavená káděmi na vodu a také menším jezírkem. V zimním období jsou kozy ustájené přes noc ve stáji a dle počasí jsou přes den pouštěny do výběhu, kde mají k dispozici seno v neomezeném množství.

V pastevním období jsou kozy příkrmovány směsí z mačkaného ovsa a ječmene v poměru 50:50. Příkrmování probíhá jednou denně při dojení.

Dojí se pomocí mobilního dojícího zařízení jednou denně (ráno), ke konci laktace pouze obden. Mléko se jímá do nerezové konve a ihned po dojení se dále zpracovává na výrobu sýrů pro prodej ze dvora. Kozy chodí na dojení do stáje, kde je pro ně postaven dojící box. Dojící zařízení je nastaveno na 80 pulzů/min a 40 kPa podtlak. Před dojením se celé dojící zařízení proplachuje vlažnou vodou. Po dojení následuje také proplach vodou. Rozebrání a důkladné umytí celého dojícího zařízení se provádí jednou měsíčně.

Průměrná dojivost se pohybuje okolo 2 litrů/dojnici/den. Nejvyšší dojivost se pohybuje okolo 3 litrů/dojnici/den. Prvníčky dojí okolo 1 litru/den. Kozy chodí postupně po dvou do dojícího boxu přímo z pastvy. Ošetření mléčné žlázy před dojením spočívá v odstranění nejhrubších nečistot, jsou-li nějaké, vlažnou vodou a řádném osušení jednorázovou papírovou utěrkou. Ošetření mléčné žlázy po dojení se neprovádí. Dodojování se provádí ručně, aby dojící zařízení zbytečně nenamáhalo vemeno. Před odstříknutím prvních stříků se provádí důkladná masáž vemene,

která pokračuje průběžně i během dojení. První stříky z vemene se odstříkují do samostatné plastové misky s černým dnem o objemu 300 ml a nepřidávají se do konve.

NK testy prováděny nejsou. Počet somatických buňek v tomto chovu není stanovován. Ekologická farma si nechává 2x ročně stanovovat celkové počty mikroorganismů ve vzorku mléka, kvůli přímému prodeji mléka a mléčných výrobků. Za poslední 2 roky byly výsledky CPM vždy menší než 1×10^2 .

3.2 Sledované kozy a jejich rozdělení

Pro vlastní práci bylo na ekologické farmě vybráno a sledováno 10 koz, které byly rozděleny do dvou skupin dle počtu laktací. První skupinou byly kozy na třetí až páté laktaci. Druhou skupinu tvořily kozy na první a druhé laktaci, tedy mladé v průměru dvou až tří let stáří (**Tab. 1**).

V průběhu laktace roku 2012 byly uskutečněny čtyři odběry mléka. Mléko bylo odebíráno na začátku laktace (8.5.), dále v první polovině (20.5.), druhé polovině (30.7.) a přibližně 14 dní ke konci laktace (15.10) v průběhu dojení.

Po celou dobu laktace byly vybrané kozy sledovány z hlediska výskytu klinických mastitid. Zvláštní pozornost se kladla na senzorické změny v mléce a změny na vemeni (zvýšení teploty, otoky a bolestivost), dále byl sledován celkový zdravotní stav koz.

Tabulka 1 Rozdělení sledovaných koz do skupiny 1 (starší) a 2 (mladší kozy) včetně

Skupina 1	Číslo kozy	Označení vzorku	Pořadí laktace	Dojivost (l/den)
	1	1 _P	4.	2
		1 _L		
	2	2 _P	5.	2,5
		2 _L		
	3	3 _P	4.	3,5
		3 _L		
	4	4 _P	4.	2,5
		4 _L		
	5	5 _P	3.	2,3
		5 _L		
Skupina 2				
	6	6 _P	2.	3
		6 _L		
	7	7 _P	1.	1
		7 _L		
	8	8 _P	1.	2
		8 _L		
	9	9 _P	1.	1,8
		9 _L		
	10	10 _P	1.	1,3
		10 _L		

způsobu označování vzorků mléka

X_P, X_L – vzorek z pravého, resp. levého struku; Dojivost (l/den) – průměrná dojivost stanovená na začátku laktace

3.3 Odběr a zpracování vzorků mléka

Vzorky mléka byly odebírány do sterilních zkumavek opatřených korkovou zátkou a do vzorkovnic s víčkem o objemu 100 ml. Byly odebírány individuální vzorky z každé mléčné žlázy a bazénový vzorek z celého dojení. Během laktační periody, která trvala od poloviny března 2012 do konce října 2012 bylo odebráno celkem 80 individuálních vzorků mléka celkem od deseti koz a dále čtyři bazénové vzorky.

Před vlastním odběrem byl každý struk pečlivě vydezinfikován systémem třech tampónů namočených v dezinfekčním roztoku (70% ethanolu). Dezinfekce se prováděla nejdříve na vzdálenějším struku spolu s odběrem vzorku mléka,

následovala dezinfekce a odběr ze struku bližšího. Prvním tamponem se provedla dezinfekce hrotu struku od vývodu strukového kanálku směrem k okraji hrotu. Druhým tamponem se dále dezinfikovalo od hrotu struku k jeho bázi. Třetím tamponem se provedla dezinfekce krouživým pohybem na vyústění strukového kanálku.

Dále byly oddojeny do plastové misky s tmavým dnem z každého struku první tři stříky, které byly posouzeny na výskyt abnormalit v mléce. Poté se odebíraly vzorky mléka nejdříve do sterilní vzorkovnice a poté do zkumavky. Vzorkovnice i zkumavka byly drženy pod úhlem přibližně 45 °, aby se zamezilo spadu nečistot do vzorku mléka. Každý vzorek mléka byl řádně označen a zaevidován (**Tab. 1**).

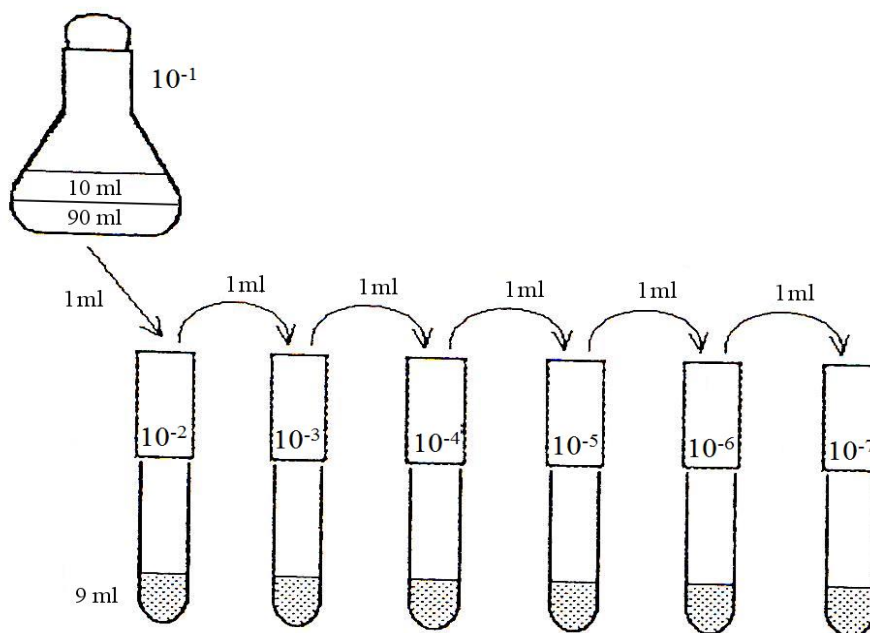
Vzorky mléka byly do dvou hodin po odebrání schlazeny na 4°C. Po předání do laboratoře byly ihned zpracovány.

Vzorky ze všech odběrů zpracovávala laboratoř Katedry veterinárních disciplín a kvality produktů na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity. Stanovovaly se celkové počty mikroorganismů (CPM) a psychrotrofní mikroorganismy (PSY) z mléka odebraného do vzorkovnic. Mléko ze zkumavek bylo kultivováno na krevním agaru první den a poté znovu za 24 hod. U narostlých kolonií byla makroskopicky posouzena jejich morfologie, byl proveden katalázový test a dále byly vyhotoveny mikroskopické preparáty, které byly obarveny barvicí technikou dle Gramma. Vykultivované kolonie byly rozděleny na grampozitivní (G+), gramnegativní (G-).

Celkové počty mikroorganismů a počet psychrotrofních mikroorganismů se stanovovaly podle ČSN ISO 6887-5. ve třech po sobě jdoucích ředěních (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Nejdříve bylo připraveno tzv. základní ředění (10^{-1}) tak, že 10 ml vzorku se napipetovalo do 90 ml ředícího roztoku. Poté byla připravena ředící řada tak, že ze základního ředění se 1 ml napipetoval do 9 ml ředícího roztoku (druhé ředění) atd. (**Obr. 1**). Dále se 1 ml z každého zvoleného ředění vzorku napipetoval sterilní pipetou souběžně do dvou prázdných, řádně označených Petriho misek. Poté se Petriho misky zalily rozpuštěnou agarovou půdou (vytemperovanou na 45°C) v takovém množství, aby se vytvořila vrstva agaru o tloušťce asi 2 – 3 mm ("aby se uzavřela hladina"). Rozehřátá půda s inokulem se poté ihned pečlivě promíchala

krouživými pohyby tak, aby došlo k rovnoměrnému rozptýlení mikroorganismů v hmotě půdy. Dále se nechaly Petriho misky na rovném povrchu řádně zchladnout a ztuhnout. Ztuhlé misky byly uloženy do termostatu dnem vzhůru při stanovených teplotních časech a podmínkách.

Obrázek 1 Ředění vzorku



Vzorky pro stanovení celkového počtu mikroorganismů se kultivovaly při teplotě 30 °C, po dobu 72 hodin. Jako živná půda byl použit agar s glukózou, peptonem a kvasničným extraktem.

Vzorky pro stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů se kultivovaly při teplotě 6,5 °C, po dobu 10 dní. Jako živná půda byl použit stejný agar jako pro stanovení CPM.

Spočítaly se kolonie na obou souběžně očkovaných miskách pokud na nich vyrostlo množství kolonií odpovídající povolenému rozsahu (10 – 300). Jestliže se vyskytují misky jen s počty nižšími než počty povolené normou, provede se výpočet stejným způsobem a výsledek se označí jako přibližný. Jestliže se vyskytují misky s počtem vyšším než povoluje norma, použije

se k výpočtu miska s počtem nejbližším normou povolenému nejvyššímu a výsledek se opět označí jako přibližný.

Jestliže je v každém ze dvou nebo tří po sobě následujících ředění normou povolené rozmezí kolonií, vezmou se v úvahu obě nebo všechna tři ředění a výpočet se provádí dle vzorce:

- počet buněk stanovené bakterie/skupiny = v 1 ml vzorku:

$$\frac{C}{(n_1 + 0,1 n_2 + 0,01 n_3) d}$$

C součet všech kolonií ze všech počítaných misek **n₃** počet misek počítaných s třetím ředěním
n₁ počet misek počítaných s prvním ředěním **d** nejnižší počítané ředění
n₂ počet misek počítaných s druhým ředěním

Výsledkem je konkrétní hodnota vyjádřená v KTJ (kolonie tvořících jednotek, ang. CFU = colony forming unit) v 1 ml vzorku. Výsledek se dále zaokrouhlí a vyjádří v násobku mocniny deseti.

Vzorky mléka z prvních dvou odběrů byly analyzovány v laboratoři Výzkumného ústavu chovu skotu, s.r.o., v Rapotíně. Zde byl stanoven počet somatických buněk metodou fluoro-opto-elektronickou. Dále byly druhově identifikovány kolonie narostlé na krevním agaru (KA) pocházející z laboratoře Katedry veterinárních disciplín a kvality produktů.

4. Výsledky a diskuse

4.1 Posouzení klinických mastitid

Pro průkaz přítomnosti klinických mastitid u sledovaných koz byl průběžně sledován jejich celkový zdravotní stav, změny na vemeni a změny v mléce.

Ve sledovaném období (březen 2012 až říjen 2012) byl zdravotní stav zvířat výborný. Nebyl zaznamenán výskyt horečky ani slabostí, které jsou dle Shearer a Harris (1992) známkou klinických mastitid spolu s dalšími symptomy jako je nechutenství a následná vyhublost, které popisuje Doležal a kol. (2009).

Změny na vemeni, která odpovídají mastitidě tj. otok, ztvrdnutí a zarudnutí vemene (Shearer a Harris, 1992) rovněž nebyly po celé období pozorovány.

Z prvních stříků mléka, které byly posuzovány v oddojovací nádobě, nebyly pozorovány žádné změny v mléce. Nebyl zjištěn výskyt vloček v mléce ani vodnatý charakter, který popisuje Pešek (1999). Změna barvy mléka také nebyla prokázána.

Z dostupných údajů je možné říci, že výskyt klinických mastitid ve vybraném chovu koz nebyl prokázán.

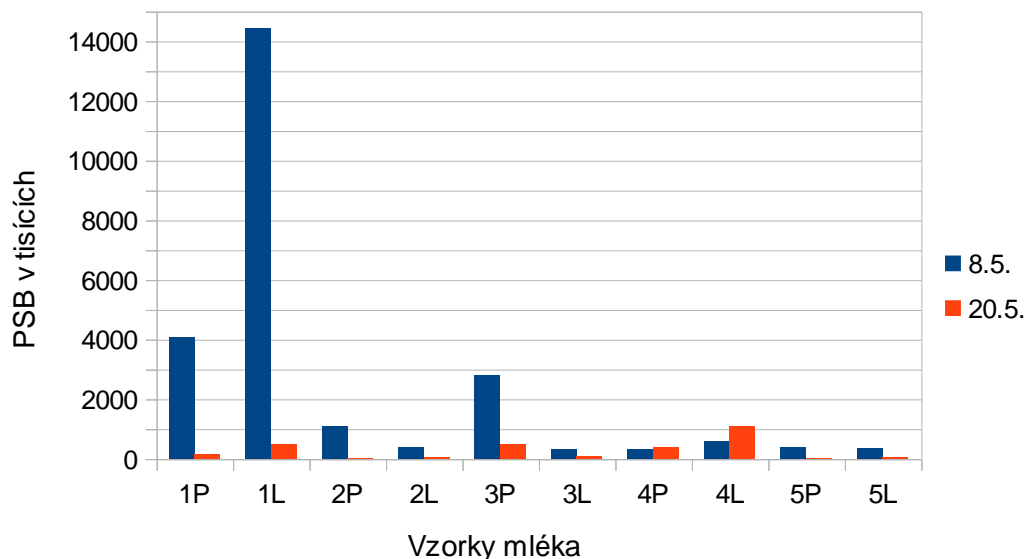
4.2 Vyhodnocení počtu somatických buněk

Počty somatických buněk byly vyhodnoceny u prvních dvou odběrů (8.5., 20.5.) Průměrné hodnoty PSB byly 1 828 000 buněk na 1 ml (8.5.) a 197 000 buněk na 1 ml (20.5.). Průměrná hodnota počtu somatických buněk z 8.5. se shoduje s literaturou, kdy Přidalová a kol. (2009) uvádí 1 875 000 buněk/ml. Souza a kol. (2012) uvádí horní hranici u zdravé mléčné žlázy až 2 000 000 buněk/ml. Bergonier a kol. (2003) ve své studii uvádí nižší hodnoty, v rozpětí od 556 000 do 1 200 000 buněk/ml.

Výsledek PSB z bazénového vzorku z prvního odběru byl 734 000, z druhého 11 000 na 1 ml mléka.

Počet somatických buněk u 1. skupiny

Graf 1. Přehled výsledků počtu somatických buněk u skupiny 1

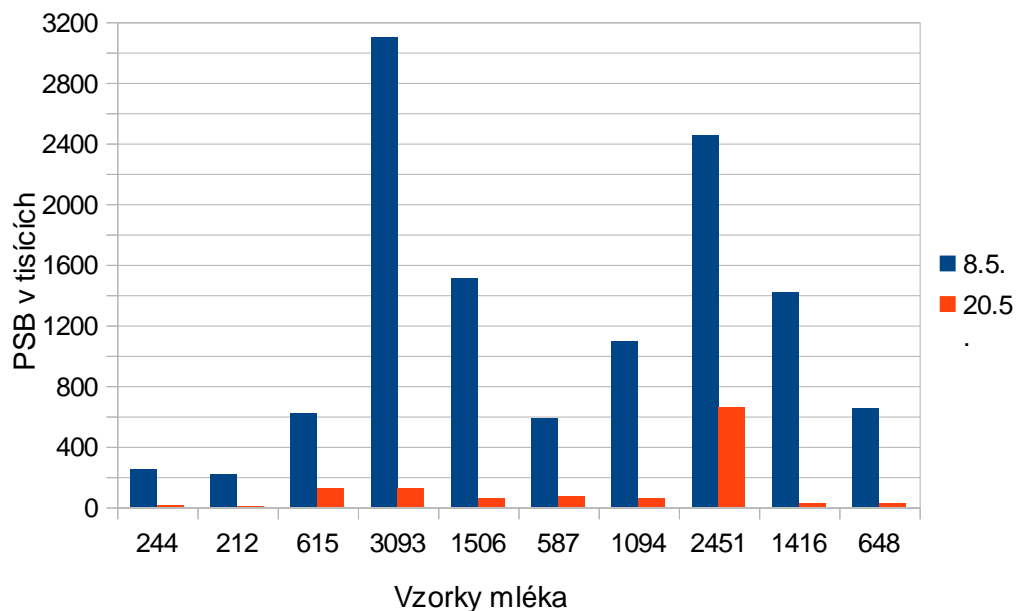


Nejvyšší hodnoty PSB v odběru ze dne 8.5. byly ve skupině starších koz zjištěny u vzorku č. 1 (pravý struk – 4 060 000 buněk/ml, levý struk 14 439 000 buněk/ml mléka). Koza v době odběrů měla pod sebou dvě kůzlata. Zvýšené hodnoty byly detekovány také u vzorku č. 3 v pravém struku (2 781 000 buněk/ml), koza měla v době odběrů pod sebou také jedno kůzle. Bergonier a kol. (2003) uvádí sání kůzlat jako jeden z faktorů, ovlivňujících PSB, což naše výsledky rovněž potvrzují.

Nejvyšší naměřené hodnoty PSB v odběru ze dne 20.5. byly zaznamenány ve vzorku č. 4_L (1 082 000 buněk/ml). Všechny ostatní vzorky pocházející od koz ze skupiny 1 nepřesáhly hodnotu 500 000 PSB na 1 ml mléka.

Počet somatických buněk u 2. skupiny

Graf 2. Přehled výsledků počtu somatických buněk u skupiny 2



Nejvyšší hodnoty PSB v odběru ze dne 8.5. byly ve skupině mladších koz zjištěny u vzorku č. 7 (levý struk – 3 039 000 buněk/ml), koza v době odběrů měla pod sebou kůzle. Zvýšené hodnoty PSB byly detekovány také u vzorku č. 9 v levém struku (2 451 000 buněk/ml). Nejnižší hodnoty z 8.5. byly zaznamenány ve vzorku č. 6, a to v pravém struku 244 000 buněk/ml a v levém struku 212 000 buněk/ml.

Nejvyšší naměřená hodnota PSB v odběru ze dne 20.5. byla ve vzorku č. 9_L (657 000 buněk/ml). Lze však říci, že námi zjištěná nejvyšší hodnota PSB je v porovnání s ostatními studii relativně nízká, např. Souza a kol. (2012) uvádí průměrnou hodnotu 2 000 000 buněk/ml mléka. Všechny ostatní vzorky mléka pocházející od koz ze skupiny 2 nepřesáhly hodnotu 130 000 PSB na 1 ml mléka.

V obou skupinách byl počet somatických buněk vyšší na začátku laktace. Bergonier a kol. (2003) také uvádí vyšší počet somatických buněk na začátku laktace. Vyšší výskyt mastitid okolo porodu je většinou důsledek zvýšené infekce v období stání nasucho a snížených obranných funkcí před porodem (Doležal a kol., 2000). Naopak Přidalová a kol. (2009) uvádí vyšší PSB na konci laktace. V našem sledování nebyl PSB na konci laktace posuzován.

4.3 Vyhodnocení celkového počtu mikroorganismů

Celkové počty mikroorganismů byly vyhodnocovány v individuálních vzorcích z každé mléčné žlázy a ve vzorcích bazénových, a to ve všech čtyřech odběrech.

Tabulka 2 Průměrné hodnoty celkových počtů mikroorganismů v jednotlivých odběrech

Číslo odběru	Datum odběru	Průměrná hodnota CPM
1	8.5.	$4,9 \cdot 10^3$
2	20.5.	$1,9 \cdot 10^2$
3	30.7.	$2,1 \cdot 10^3$
4	15.10.	$0,3 \cdot 10^2$

CPM – celkový počet mikroorganismů vyjádřený jako CFU/ml mléka

Průměrné hodnoty v jednotlivých odběrech byly $4,9 \cdot 10^3$ CFU/ml, $1,9 \cdot 10^2$ CFU/ml, $2,1 \cdot 10^3$ CFU/ml a $0,3 \cdot 10^2$ CFU/ml. Nejvyšší hodnoty CPM byly naměřeny v prvním odběru (8.5.), nejnižší na konci laktace (15.10.).

Cupáková a kol. (2012) ve své studii popsali průměrné hodnoty CPM v rozmezí $3,6 - 1,6 \cdot 10^5$ CFU/ml syrového mléka a $0,3 - 5,1 \cdot 10^3$ CFU/ml u pasterizovaného mléka. V našem sledování nebylo posuzováno pasterizované mléko, výsledky CPM v syrovém mléce byly nižší než v práci Cupákové a kol. (2012). Fuschino a kol. (2002) prokázali v Itálii průměrnou hodnotu $5 \cdot 10^4$ CFU/ml a Muehlherr a kol. (2003) ve Švýcarsku hodnotu $9,3 \cdot 10^4$ CFU/ml. Podle legislativy (Zákon č. 203/ 2003 Sb.) jsou námi zjištěné průměrné i individuální výsledky nižší než povolená norma ($1,5 \cdot 10^6$ CFU/ml u mléka dále tepelně ošetřovaného a $5 \cdot 10^5$ CFU/ml u mléka zpracovávaného bez tepelného ošetření).

Celkový počet mikroorganismů u 1. skupiny

Tabulka 3 Přehled výsledků celkového počtu mikroorganismů u skupiny 1

Číslo vzorku	Odběr dne 8.5.	Odběr dne 20.5.	Odběr dne 30.7.	Odběr dne 15.10.
1 _P	4,9.10 ⁴	4.10 ²	0	0,3.10 ²
1 _L	9.10 ²	1,9.10 ³	0	0
2 _P	1,2.10 ⁴	3.10 ²	0,2.10 ²	0
2 _L	1,1.10 ³	0	0,5.10 ²	0
3 _P	4.10 ²	0,1.10 ²	0,2.10 ²	0
3 _L	5.10 ²	0	N	0,5.10 ²
4 _P	9.10 ²	0	2,3.10 ³	0,4.10 ²
4 _L	1,2.10 ³	0	4.10 ²	0
5 _P	3,3.10 ²	0,6.10 ²	0,1.10 ²	0,1.10 ²
5 _L	2.10 ⁴	0,3.10 ²	0,4.10 ²	0

N – nevyšetřeno (rozbitá vzorkovnice)

Nejvyšší hodnoty CPM v odběru ze dne 8.5. byly ve skupině starších koz zjištěny ve vzorku č. 1 v levém struku, a to 4,9.10⁴ CFU/ml. Koza měla v době odběru pod sebou dvě kůzlata. Dále byly vyšší hodnoty naměřeny u kozy č. 5 v levém struku (2.10⁴ CFU/ml). Nejnížší hodnoty byly zjištěny u vzorku č. 3 v pravém struku (4.10² CFU/ml).

Celkové počty mikroorganismů byly v druhém odběru mnohem nižší. Od většiny koz byla kůzlata již odstavena. Kozy již byly převedeny na pastvu v režimu 24/7. Nejvyšší hodnoty CPM v odběru ze dne 20.5. byly ve skupině starších koz zjištěny ve vzorku č. 1 v levém struku (1,9.10³ CFU/ml). Ve 40 % vzorků (tj. čtyři vzorky) nebyly detekovány žádné kolonie.

Nejvyšší hodnoty CPM v odběru ze dne 30.7. byly zjištěny u vzorku č. 4 v pravém struku (2,3.10³ CFU/ml). Nejnížší hodnoty byly zjištěny ve vzorku č. 1 (pravý i levý struk 0 CFU/ml).

V době posledního odběru (15.10) již byly kozy dojeny pouze obden. Zjištěná průměrná hodnota byla 0,3.10² CFU/ml, což je vůbec nejnížší průměrná naměřená hodnota ve všech čtyřech měřeních. Nejvyšší hodnoty celkového počtu

mikroorganismů byly zjištěny ve vzorku č. 3 (levý struk $0,5 \cdot 10^2$ CFU/ml), přesto je tato hodnota v porovnání s dostupnými literárními prameny velmi nízká. Cupáková a kol. (2012) uvádí ve svém výzkumu průměrné hodnoty CPM $3,6 \cdot 10^5$ CFU/ml.

Celkový počet mikroorganismů u 2. skupiny

Tabulka 4 Přehled výsledků celkového počtu mikroorganismů u skupiny 2

Číslo vzorku	Odběr dne 8.5.	Odběr dne 20.5.	Odběr dne 30.7.	Odběr dne 15.10.
6 _P	$0,5 \cdot 10^2$	$0,5 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$0,2 \cdot 10^2$
6 _L	$1,9 \cdot 10^3$	0	$2,7 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^3$
7 _P	$2 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^2$	N	$0,2 \cdot 10^2$
7 _L	$6 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$7 \cdot 10^2$	$0,3 \cdot 10^2$
8 _P	$2,2 \cdot 10^3$	$0,1 \cdot 10^2$	$0,5 \cdot 10^2$	$0,3 \cdot 10^2$
8 _L	$7 \cdot 10^2$	0	$0,3 \cdot 10^2$	$0,3 \cdot 10^2$
9 _P	$9 \cdot 10^2$	0	N	$0,2 \cdot 10^2$
9 _L	$4 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^3$	0
10 _P	$1,6 \cdot 10^3$	$0,2 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^4$	$0,4 \cdot 10^2$
10 _L	$9 \cdot 10^2$	$0,1 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^4$	$0,4 \cdot 10^2$

N – nevyšetřeno (rozbité vzorkovnice)

Nejvyšší hodnoty CPM v odběru ze dne 8.5. byly ve skupině mladších koz zjištěny ve vzorku č. 10 v pravém struku ($1,6 \cdot 10^3$ CFU/ml). Nízké hodnoty CPM byly zjištěny ve vzorku č. 7 (pravý struk – $2 \cdot 10^2$ CFU/ml, levý struk $6 \cdot 10^2$ CFU/ml).

Nejvyšší hodnoty CPM v odběru ze dne 20.5. byly zjištěny ve vzorcích č. 7 (pravý struk) a 9 (levý struk). Obě hodnoty CPM byly $4 \cdot 10^2$ CFU/ml. Ve 30 % vzorků (tj. tři vzorky) byla hodnota CPM nula.

Nejvyšší hodnoty CPM v odběru ze dne 30.7. byly zjištěny ve vzorku č. 10 (pravý struk – $1,2 \cdot 10^4$ CFU/ml, levý struk – $1,4 \cdot 10^4$ CFU/ml). Nejnižší naměřené hodnoty byly zjištěny u vzorku č. 8 v levém struku ($0,3 \cdot 10^2$ CFU/ml).

V posledním odběru (15.10) s dojením pouze obden byly nejvyšší naměřené hodnoty CPM u vzorku č. 6 v levém struku ($3,1 \cdot 10^3$ CFU/ml). Pouze ve vzorku č. 9

(levý struk) byla zjištěna hodnota CPM nula.

Bazénové vzorky ve všech čtyřech odběrech byly nepočítatelné.

4.4 Vyhodnocení celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů

Celkové počty psychrotrofních mikroorganismů byly vyhodnocovány ze všech čtyř odběrů. Celkem bylo vyhodnoceno 80 individuálních vzorků a čtyři bazénové vzorky.

Tabulka 5 Průměrné hodnoty celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů v jednotlivých odběrech

Číslo odběru	Datum odběru	Průměrná hodnota PSY
1	8.5.	$3,4 \cdot 10^3$
2	20.5.	$0,4 \cdot 10^2$
3	30.7.	$1,5 \cdot 10^3$
4	15.10.	$1,2 \cdot 10^3$

PSY – celkový počet mikroorganismů vyjádřený jako CFU/ml mléka

Nejvyšší průměrné hodnoty PSY mikroorganismů byly naměřeny v prvním odběru, ve kterém taktéž CPM byly nejvyšší. Naopak nejnižší průměrné hodnoty ($0,38 \cdot 10^2$ CFU/ml) byly naměřeny 20.5.

Zákon č. 203/2003 Sb. O veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky neuvádí žádná kritéria o celkových počtech psychrotrofních mikroorganismů pro kozí mléko. Kalhotka a kol. (2009) uvádějí ve svém výzkumu počet psychrotrofních mikroorganismů $1,5 \cdot 10^4$ CFU/ml a Sablé a kol. (1997) uvádějí až $2 \cdot 10^8$ CFU/ml.

Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů u 1. skupiny

Tabulka 6 Přehled výsledků celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů u skupiny 1

Číslo vzorku	Odběr dne 8.5.	Odběr dne 20.5.	Odběr dne 30.7.	Odběr dne 15.10.
1 _P	$2 \cdot 10^2$	0	$0,3 \cdot 10^2$	0
1 _L	$1 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	0
2 _P	$4 \cdot 10^2$	$0,5 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10^3$	$0,9 \cdot 10^2$
2 _L	$7 \cdot 10^2$	0	$2 \cdot 10^2$	$0,9 \cdot 10^2$
3 _P	$0,4 \cdot 10^2$	0	$0,1 \cdot 10^2$	0
3 _L	$6 \cdot 10^2$	0	N	0
4 _P	$1,2 \cdot 10^3$	0	$2,8 \cdot 10^3$	$8,8 \cdot 10^2$
4 _L	$6 \cdot 10^2$	0	$2,9 \cdot 10^3$	0
5 _P	$1,5 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$0,6 \cdot 10^2$	$0,7 \cdot 10^2$
5 _L	$5 \cdot 10^4$	$0,2 \cdot 10^2$	$0,2 \cdot 10^2$	0

N – nevyšetřeno (rozbitá vzorkovnice)

Nejvyšší počet psychrotrofních mikroorganismů z odběru dne 8.5. byl zaznamenán ve vzorku č. 5 v levém struku ($5 \cdot 10^4$ CFU/ml). Všechny ostatní vzorky mléka nepřekročily hranici $1,5 \cdot 10^3$ CFU/ml. Nejnižší počet psychrotrofních mikroorganismů byl zjištěn ve vzorku č. 3 v pravém struku ($0,4 \cdot 10^2$ CFU/ml).

Nejvyšší naměřená hodnota z odběru dne 20.5. byla zjištěna ve vzorku č. 1 v levém struku ($3 \cdot 10^2$ CFU/ml), přesto jsou všechny výsledky nízké. Ve skupině starších koz bylo 60 % vzorků na nulové hodnotě, naproti tomu ve skupině mladších koz bylo pouze 40 % vzorků na nulové hodnotě.

Nejvyšší hodnoty PSY v odběru ze dne 30.7. byly ve skupině starších koz zjištěny ve vzorku č. 4 (pravý struk – $2,8 \cdot 10^3$ CFU/ml, levý struk – $2,9 \cdot 10^3$ CFU/ml). Nejnižší hodnota byla zjištěna u vzorku č. 3 v pravém struku ($0,1 \cdot 10^2$ CFU/ml).

Nejvyšší hodnoty PSY v odběru ze dne 15.10. byly ve skupině starších koz zjištěny ve vzorku č. 4 v pravém struku ($8,8 \cdot 10^2$ CFU/ml). V 60 % vzorků (tj. šest vzorků) byla zjištěna hodnota PSY nula. Kozy na konci laktace byly dojeny pouze obden.

Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů u 2. skupiny

Tabulka 7 Přehled výsledků celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů u skupiny 2

Číslo vzorku	Odběr dne 8.5.	Odběr dne 20.5.	Odběr dne 30.7.	Odběr dne 15.10.
6 _P	0	$0,4 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^2$
6 _L	$5 \cdot 10^2$	0	$3,7 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^4$
7 _P	$5 \cdot 10^2$	$0,2 \cdot 10^2$	N	$0,3 \cdot 10^2$
7 _L	$3,1 \cdot 10^3$	$0,3 \cdot 10^2$	$2,1 \cdot 10^3$	$3,8 \cdot 10^2$
8 _P	$3,6 \cdot 10^3$	$0,2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^2$
8 _L	$1,5 \cdot 10^3$	0	$9 \cdot 10^2$	$1,6 \cdot 10^3$
9 _P	$3 \cdot 10^2$	0	N	$0,4 \cdot 10^2$
9 _L	$0,5 \cdot 10^2$	$0,5 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$0,3 \cdot 10^2$
10 _P	$2,1 \cdot 10^3$	0	$1,5 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^2$
10 _L	$9 \cdot 10^2$	$0,2 \cdot 10^2$	$7,7 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^2$

N – nevyšetřeno (rozbité vzorkovnice)

Nejvyšší hodnoty PSY v odběru ze dne 8.5. byly ve skupině mladších koz zjištěny ve vzorku č. 8 (pravý struk – $3,6 \cdot 10^3$ CFU/ml). Nejnižší (nulová) hodnota byla zjištěna u vzorku č. 6.

Nejvyšší hodnoty PSY v odběru ze dne 20.5. byly zjištěny ve vzorku č. 9, v levém struku ($0,5 \cdot 10^2$ CFU/ml). Ve 40 % vzorků (tj. čtyři vzorky) nebyly detekovány žádné kolonie.

Nejvyšší hodnoty v odběru z 30.7. byly zjištěny u vzorku č. 10 v levém struku ($7,7 \cdot 10^3$ CFU/ml). Zvýšené hodnoty byly zjištěny u vzorku č. 6 v levém struku ($3,7 \cdot 10^3$ CFU/ml).

Nejvyšší naměřená hodnota z odběru dne 15.10. byla u vzorku č. 6 v levém struku, a to $1,9 \cdot 10^4$ CFU/ml.

4.5 Vyhodnocení mikrobiologické analýzy

Vzorky mléka ze všech čtyř odběrů byly kultivovány na krevním agaru.

U narostlých kolonií bylo provedeno základní rozlišení na grampozitivní a gramnegativní mikroorganismy (**Tab. 8**). V případě odběrů ze dne 8.5. a 20.5. byly izoláty narostlé na krevních agarech zaslány do Výzkumného ústavu pro chov skotu, s.r.o. v Rapotíně za účelem druhové identifikace.

Tabulka 8 Přehled výsledků rozlišení dle Grammova barvení

Datum odběru	Celkem vzorků	G+		G-		Celkem	
		n	%	n	%	n	%
8.5.	20	3	15	1	5	4	20
20.5.	20	7	35	0	0	7	35
30.7.	20	6	30	4	20	10	50
15.10.	20	0	0	0	0	0	0
Celkem	80	16	20	5	6,25	23	26,25

n – počet vzorků

Z celkem 80 individuálních vzorků bylo zjištěno 16 (20 %) vzorků grampozitivních a 5 (6,25 %) vzorků gramnegativních. Moroni a kol. (2005) ve své studii uvádějí, že až 86 % případů mastitid u koz bylo způsobeno grampozitivními bakteriemi. White a Hinckley (1999) uvádějí jako nejčastějšího původce infekčních mastitid z grampozitivních bakterií *Staphylococcus aureus*. Výskyt *Staphylococcus aureus* v syrovém kozím mléce se podle Cupákové a kol. (2012) výrazně liší dle místních podmínek příslušné farmy.

Nejvíce pozitivních vzorků bylo zjištěno v odběru ze dne 30.7., a to deset (50 %) vzorků. V odběru na konci laktace (15.10.) byly všechny vzorky mléka kultivačně negativní. Nejvíce gramnegativních vzorků bylo zjištěno v odběru ze dne 30.7., a to čtyři (20 %) vzorky. Contreras a kol. (2003) ve své studii uvádějí *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli* jako nejčastější gramnegativní původce mastitid. Megersa a kol. (2010) také uvádí *Pseudomonas aeruginosa* coby možného původce mastitid u koz.

Vyhodnocení mikrobiologické analýzy u 1. skupiny

Tabulka 9 Rozlišení vykultivovaných bakterií dle Grammova barvení u skupiny 1

Datum odběru	Celkem vzorků	G+		G-		Celkem	
		n	%	n	%	n	%
8.5.	10	0	0	0	0	0	0
20.5.	10	3	30	0	0	3	30
30.7.	10	1	10	3	30	4	40
15.10.	10	0	0	0	0	0	0
Celkem	40	4	10	3	7,5	7	17,5

n – počet vzorků

Z celkem 40 individuálních vzorků u skupiny starších koz byly zjištěny čtyři (10 %) vzorky grampozitivní a tři (7,5 %) vzorky gramnegativní. Na začátku a na konci laktace nebyla na krevním agaru zjištěna žádná mikrobiální kontaminace mléka. Nejvíce kultivačně pozitivních vzorků bylo zjištěno v odběru dne 30.7., a to 4 (40 %) vzorky.

V odběru ze dne 20.5. byl ve vzorku č. 1 (levý struku) a vzorku č. 5 (levý struk) identifikován *Staphylococcus xylosus*, který patří do skupiny koaguláza negativních stafylokoků (**Foto 1**). Contreras a kol. (2007) uvádějí KNS jako velmi časté mikrobiální původce mastitid a Gebrewahid a kol. (2012) uvádí výskyt v 44,7 % případů mastitid u koz. Dále byl ve vzorku č. 5 (pravý struk) identifikován *Bacillus cereus* (**Foto 2**). Jičínská a Havlová (1995) uvádějí *B. cereus* jako původce environmentální mastitidy jako méně běžný. *B. cereus* se typicky nachází na zbytcích rostlin, v půdě, hnoji a krmivech. U tohoto vzorku lze předpokládat, že se jednalo o sekundární kontaminaci.

Vyhodnocení mikrobiologické analýzy u 2. skupiny

Tabulka 10 Přehled vykultivovaných bakterií dle Grammova barvení u skupiny 2

Datum odběru	Počet vzorků	G+		G-		Celkem	
		n	%	n	%	n	%
8.5.	10	3	30	1	10	4	40
20.5.	10	4	40	0	0	4	40
30.7.	10	5	50	1	10	6	60
15.10.	10	0	0	0	0	0	0
Celkem	40	12	30	2	5	14	35

n – počet vzorků

Z celkem 40 individuálních vzorků u skupiny mladších koz bylo zjištěno 12 (30 %) vzorků grampozitivních a dva (5 %) vzorky gramnegativní. V odběru na konci laktace (15.10.) byly všechny vzorky kultivačně negativní. V odběru dne 8. 5. a 30.7. byl vždy zjištěn jeden kultivačně pozitivní vzorek na gramnegativní mikroorganismy. V odběru dne 8.5. byl tento vzorek blíže specifikován jako *Escherichia coli*. *E. coli* je v prvovýrobě a v mlékárenském prostředí považován za běžnou součást mikroflóry prostředí (Jičínská a Havlová, 1995). Lze předpokládat, že pozitivní kultivace *E. coli* u vzorku č. 10 mohla být způsobena sekundární kontaminací mléka.

V odběru ze dne 20.5. byl ve vzorku č. 7 (pravý struk) a vzorku č. 9 (levý struk) identifikován *Bacillus cereus*. Jak už bylo řečeno výše, u *B. cereus* může jít o sekundární kontaminaci mléka. Dále byl ve vzorku č. 7 (levý struk) identifikován *Enterobacter aerogenes* (**Foto 3**). Contreras a kol. (2007) uvádí tohoto původce u případů mastitid koz jako méně častého. Ve vzorku č. 8 v pravém struku byl identifikován *Staphylococcus warneri* (**Foto 4**). Jak již bylo řečeno výše, *S. warneri* patří mezi koaguláza negativní stafylokoky a Contreras a kol. (2007) uvádějí KNS jako velmi časté mikrobiální původce mastitid u koz.

5. Závěr

Mikrobiální kontaminace syrového kozího mléka je bezpochyby jedním z důležitých ekonomických faktorů, který má rozhodující význam při zpeněžování mléka i při jeho dalším zpracování na výrobky a tudíž by měla být prioritou v každém chovu.

U sledovaného chovu byla výsledná mikrobiologická jakost syrového kozího mléka ovlivněna zejména fází laktace. Na začátku laktace, v období sání kůzlat, byly zjištěny vyšší hodnoty oproti zbytku laktačního období.

Průměrný celkový počet mikroorganismů na začátku laktace byl, ve srovnání s následujícími odběry, opět vyšší. Lze předpokládat, že dojení koz pouze obden na konci laktace může mít vliv na zjištěné nízké hodnoty celkového počtu mikroorganismů. Podle platné legislativy byly naměřené hodnoty celkového počtu mikroorganismů v normě.

Ve sledovaném období nebyl v chovu prokázán výskyt klinických mastitid. Mikrobiologickou analýzou bylo zjištěno 20 % kultivačně pozitivních vzorků. Izolovány byly koaguláza negativní stafylokoky, které jsou označovány jako relativně častí původci subklinických mastitid u koz. Přítomnost *Escherichia coli* a *Bacillus cereus* byla zřejmě zapříčiněna sekundární kontaminací při manipulaci.

Ošetřování mléčné žlázy před a po dojení není ve zmiňovaném chovu prováděno. Domnívám se, že zavedení dezinfekce mléčné žlázy, zejména po dojení, by ve sledovaném chovu mohlo být z hlediska předcházení případného výskytu klinických či subklinických mastitid přínosné.

Mohu konstatovat, že ve sledovaném chovu má na kvalitu kozího mléka velmi příznivý vliv prováděná celodenní pastva v období laktační periody, ruční dodojování a v neposlední řadě také kladný přístup ke zvířatům.

6. Seznam použité literatury

AGANGA, A. A., AMARTEIFIO, J. O., NKILE, N. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2002, 15, 5: 533–543. ISSN 0889-1575.

AXMANN, R. Možnosti redukce výskytu mastitid ve stádech ovcí. *Náš chov*. 2012, 72., č. 2, s. 37-39. ISSN 0027-8068.

BEČVÁŘ, O. a J. PRASEK. Systém kultivace na farmě jako základ cílené léčby zánětů mléčné žlázy. *Veterinářství*. 2009, roč. 59, č. 2, s. 115-117.

BERGONIER, D., R. DE CRÉMOUX, R. RUPP, G. LAGRIFFOUL a X. BERTHELOT. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Record*. 2003, č. 34, 689 - 716. DOI: 10.1051.

BUSWELL, J.F., C.H. KNIGHT a D.M.L. BARDER. Antibiotic persistence and tolerance in the lactating goat following intramammary therapy. *Veterinary Record*. 1989, č. 125, s. 301-303.

BZDIL, J. Prevalence vybraných patogenů mléčné žlázy skotu v letech 2000 - 2010. *Veterinářství*. 2012, č. 1, s. 28-32.

CONTRERAS, A., C. LUENGO, A. SÁNCHEZ a J.C. CORRALES. The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science*. 2003, č. 79, s. 273-283.

CONTRERAS, A., D. SIERRA, A. SÁNCHEZ, J.C. CORRALES, J.C. MARCO, M.J. PAAPE a C. GONZALO. Mastitis in small ruminants. *Small ruminant research*. 2007, č. 68, 145 - 153.

CUPÁKOVÁ, Š., M. POSPÍŠILOVÁ, R. KAŠPÍRKOVÁ, B. JANŠTOVÁ a L. VORLOVÁ. Microbiological quality and safety of goat's milk from one farm. *Agta univ. agrarie. et silvie. Mendel. Brun.* 2012, LX, č. 6, s. 33-38.

České republika. O veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky. In: č. 203/2003. 2003, roč. 2003, č. 203, 73. Dostupné z: http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=203/2003&typeLaw=zakon&what=Cislo_zakona_smlouvy

Česká republika. Úplné znění nařízení komise (ES) č. 889/2008 ze dne 5. září 2008: kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 853/2004 o

ekologické produkci a označování ekologických produktů, pokud jde o ekologickou produkci, označování a kontrolu. In: č. 889/2008. 2008.

DOLEŽAL, O., J. HLÁSNÝ, F. JÍLEK, O. HANUŠ, J. VEGRICHT, J. PYTLOUN, E. MATOUŠ a J. KVAPILÍK. *Mléko, dojení, dojírny.* Praha: Agrospoj, 2000.

EBRAHIMI, A., N. SHAMS, S. SHAHROKH a P. MIRSHOKRAEI. Characteristics of Staphylococci isolated from mastitic goat milk in Iraian dairy herds. *Veterinary World.* 2010, roč. 3, č. 5, s. 205-208.

FANTOVÁ, M. *Základy chovu koz.* 2. vyd. Praha: Institut výchovu a vzdělání Ministerstva zemědělství ČR, 1997. ISBN 80-7105-143-8.

FANTOVÁ, M. *Chov koz.* Vyd. 1. Praha: Český svaz chovatelů, 2000, 191 s., [8] s. barev. obr. příl. ISBN 80-209-0290-2.

GEBREWAHID, T, B ABERA a H MENGHISTU. Prevalence and Etiology of Subclinical Mastitis in Small Ruminants of Tigray Regional State, North Ethiopia. *Veterinary World.* 2012, roč. 5, č. 2, s. 103-109. ISSN 0972-8988. DOI: 10.5455/vetworld.2012.103-109.

HAENLEIN, G.F.W. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research.* 2004, roč. 512, č. 2, s. 155-163.

HOFÍREK, B., R. DVOŘÁK, L. NĚMEČEK, R. DOLEŽAL a Z. POSPÍŠIL. *Nemoci skotu.* Brno: Noviko a. s., 2009, 1149 s. ISBN 978-80-86542-19-5.

JEŽKOVÁ, A. O zdraví mléčné žlázy. *Náš chov.* 2013, LXXIII., č. 2, s. 49-50. ISSN 0027-8068.

JEŽKOVÁ, A. Účinná dezinfekce a hygiena v chovu dojníc. *Náš chov.* 2012, č. 2, s. 64-66. ISSN 0027-8068.

JIČÍNSKÁ, E. a J. HAVLOVÁ. *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích.* 1. vyd. Praha: ÚZPI-Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1995, 106 s. ISBN 80-851-2047-X.

KALHOTKA, L., K. ŠUSTOVÁ, B. KVASNIČKOVÁ, T. LUŽOVÁ a J. ZÁHORA. Významné skupiny mikroorganismů stanovené v syrovém kozím mléce. *Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin - "Ingrový dny"* [online]. 2009, Sborník příspěvků XXXV, s. 85-90 [cit. 2013-03-29]. ISSN 978-80-7375-281-1. Dostupné z:

<http://www.mendelu.cz/lide/clovek.pl?id=10986;zalozka=5;podrobnosti=141045>

LANS, Ch., N. TURNER, T. KHAN, G. BRAUERD a W. BOEPPLE. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in British Columbia, Canada. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2007, č. 3, s. 3-11.

MALÁ, G., P. NOVÁK a M. MARKOVÁ. Účinnost čištění a dezinfekce dojícího zařízení pro ovce. *Veterinářství*. 2009, roč. 59, č. 2, s. 110-114. ISSN 0506-8231.

MARTIN-DIANA, A. B., JANER, C., PELAEZ, C., REQUENA, T., 2003: Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 13, 10: 827–833. ISSN 0958-6946.

MEGERSA, B., Ch. TADESSE, F. ABUNNA, A. REGASSA, B. MEKIBIB a E. DEBELA. Occurrence of mastitis and associated risk factors in lactating goats under pastoral management in Borana, Southern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*. 2010, roč. 42, č. 6, s. 1249-1255. ISSN 0049-4747. DOI: 10.1007/s11250-010-9557-7.

MORONI, P., G. PISONI, G. RUFFO a P.J. BOETTCHER. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. *Preventive Veterinary Medicine*. 2005, roč. 69, 3-4, s. 163-173. ISSN 01675877. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2004.10.013.

MUNGATANA, NANCY K, RAPHAEL M NGURE, ANAKALO SHITANDI, BERNARD ONYIEGO a MAURICE MUTUMBA. Effect of experimental *Staphylococcus aureus* mastitis on compositional quality of goat milk. *International Journal of Dairy Technology*. 2011, roč. 64, č. 3, s. 360-364. ISSN 1364727x. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2011.00672.x.

NDEGWA, E.N., C.M. MULEI a J.M. MUNYUA. Risk factors associated with subclinical subacute mastitis in Keny dairy goats. *Veterinary Medicine*. 2000, roč. 56, č. 1.

NĚMCOVÁ, M. a L. KALHOTKA. Growth of important groups of microorganisms in cow and goat milk. *MendelNet2012*. 2010, s. 742-749.

PARK, Y.W. PARK, Y. W. Comparison of mineral and cholesterol composition of different commercial goat milk products manufactured in USA. *Small ruminant research*. 2000, roč. 37, 1-2, s. 115-124. ISSN 0921-4488.

PEŠEK, M. *Ošetřování, hodnocení jakosti a zpracování mléka na farmě*. Praha:

Institut výchovy a vzdělání Ministerstva zemědělství ČR, 1999. ISBN 80-7105-191-8.

PŘIDALOVÁ, H., B. JANŠTOVÁ, Š. CUPÁKOVÁ, M. DRAČKOVÁ, P. NAVRÁTILOVÁ a L. VORLOVÁ. Somatic cell count in goat milk. *Folia veterinaria*. Košice: Univerzita veterinárského lékařstva, 2009, roč. 53, č. 2, s. 101-105.

ROZSYPAL, R., L. BÍLÝ, Z. CELTA, P. DAVID, J. DOVRTĚL, J. DUDEK, L. DVOŘÁKOVÁ, I. HRBEK, J. KOZÁKOVÁ, B. POJAR, M. SIKYLA, R. SEYDLOVÁ a K. ŠUSTOVÁ. *Produkce, zpracování a odbyt bioláka*. Brno: MZe ČR, 2012.

SHEARER, J.K. a B. HARRIS. Mastitis in dairy goats. *Florida Cooperative Extension Service*. 1992.

SOUZA, F.N., M.G. BLAGITZ, C.F.A.M. PENNA, A.M.M.P. DELLA LIBERTA, M.B. HEINEMANN a M.M.O.P. CERQUEIRA. Somatic cell count in small ruminants: Friend or foe?. *Small Ruminant Research*. 2012, č. 107, s. 65-75.

SPÄTH, H. a O. THUME. *Chováme kozy*. Ostrava: BLESK, 1994. ISBN 80-85606-81-X

ŠKARDA, J. a O. ŠKARDOVÁ. *Program péče o produkci a zdraví stáda dojníc*. Praha: Ústav zemědělství a potravinářských informací, 5/2000. ISBN 80-7271-058-3.

ŠŤASTKOVÁ, Z., S. KARPÍŠKOVÁ a R. KARPÍŠKOVÁ. Occurrence of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* at a goat breeding farm. *Veterinární Medicína*. 2009, roč. 54, č. 9, s. 419-426.

WHITE, E.C. a L.S. HINCKLEY. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Ruminant Research*. 1999, č. 33, s. 117-121.

ZELINKOVÁ, G. Mastitidy a problematika počtu somatických buněk - jejich řešení na úrovni stáda. *Veterinářství*. 2008, roč. 58, č. 4, s. 234-243. ISSN 0506-8231.

ZELINKOVÁ, G. Řešení mastitid a počtu somatických buněk metodou ozdravení rozdoje. *Veterinářství*. 2009, č. 2, s. 98-103. ISSN 0506-8231.

7. Přílohy

Foto 1 *Staphylococcus xylosus*

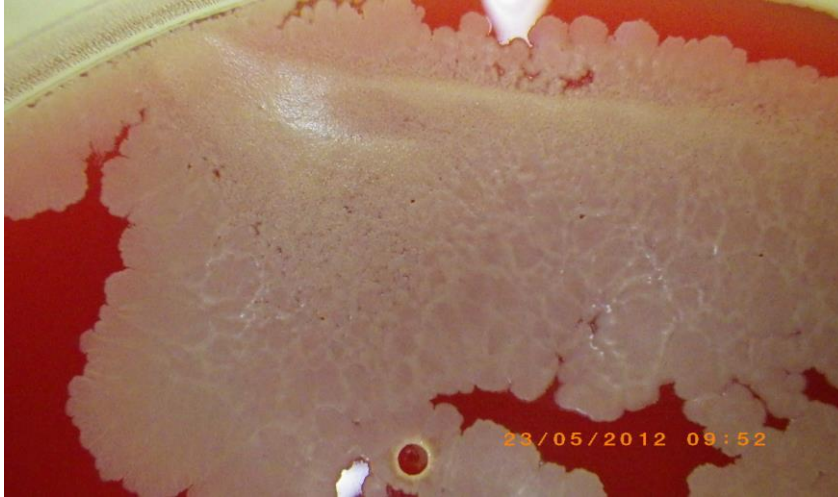


Foto 2 *Bacillus cereus*

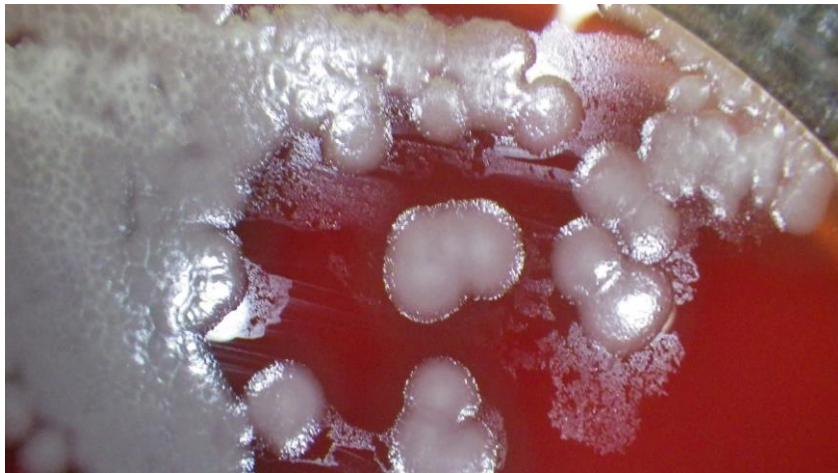


Foto 3 *Enterobacter aerogenes*

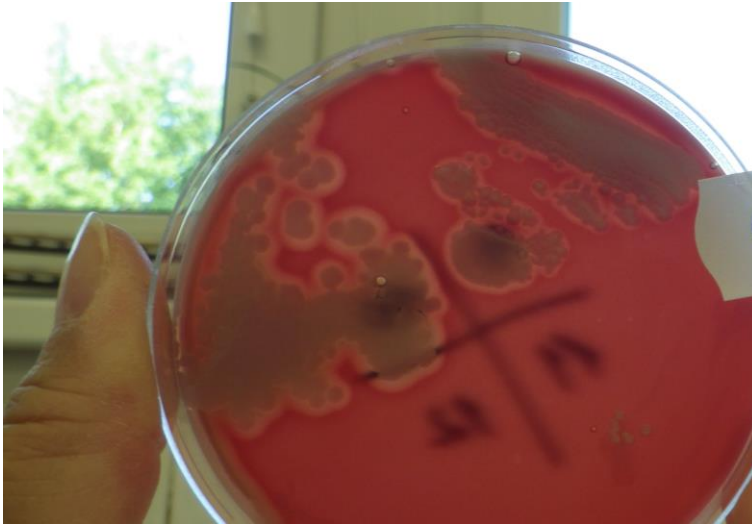


Foto 4 *Staphylococcus warneri*



Zdroj fotodokumentace: Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů