

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131 Zemědělství
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Katedra: Zootechnických věd
Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Dědičné poruchy zdraví skotu

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

Autor bakalářské práce: Petra Nováková

České Budějovice, 2015

Prohlášení

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 elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum: 24. 4. 2015

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych ráda srdečně poděkovala panu prof. Ing. Čítkovi, CSc., za cenné rady a odborné konzultace při vypracovávání mé bakalářské práce.

Anotace

Hlavním cílem práce je shrnout a popsat možnosti zlepšování genetické odolnosti dojnic proti zánětu mléčné žlázy za pomoci genetické selekce. Snaha odhalit veškeré genetické parametry mastitidy je obtížné a dlouhodobé výzkumy genů souvisejících s onemocněním jsou teprve na začátku. První část je věnována popisu mastitid, které jsou jedním z hlavních zdravotních problémů v chovu dojného skotu a mají mnoho negativních dopadů. Dále jsou uvedeny vybrané geny, které se prozatím vědcům podařilo spojit s nemocí.

Obsah

1.	Úvod	6
2.	Genetické poruchy zdraví	7
2.1	Původ mutací	7
2.2	Vliv mutace na funkci proteinu	8
2.3	Vliv mutace na organismus	8
2.4	Mutagenní faktory	9
3.	Genetické poruchy zdraví skotu	10
3.1	Selekce na genetické poruchy skotu	13
4.	Mastitidy	14
4.1	Rozdělení mastitid	14
4.1.1	Rozdělení dle příčiny:	14
4.1.2	Rozdělení dle průběhu nemoci:	15
4.2	Příčiny vzniku mastitidy	16
4.2.1	Mikrobiální původci	16
4.2.2	Prostředí	17
4.2.3	Zvíře	17
4.3	Vznik mastitidy	17
4.4	Klinické příznaky mastitid	18
4.4.1	Počet somatických buněk (PSB)	18
4.5	Diagnostika mastitid	19
4.5.1	Diagnostika klinických mastitid	19
4.5.2	Diagnostika subklinických mastitid	19
4.6	Léčba	20
4.7	Prevence proti vzniku mastitid	21
4.8	Genetické predispozice mastitid	22
4.8.1	Genom <i>Bos Taurus</i>	22
4.8.2	Heritability náchylnosti k mastitidám	23
4.8.3	Databáze genů související s mastitidami	24
4.9	Genetické vztahy rezistence mastitidy a znaků pro produkci mléka	31
4.9.1	Genetická asociace citlivosti k mastitidám a morfologii vemene	31
4.10	Genetická korelace mastitid a dalších poruch zdraví	33
4.11	Odolnost proti mastitidám	34
4.12	Selekce dojnic na rezistenci proti mastitidám	36
4.12.1	Genomická selekce	37
5.	Závěr	38
6.	Literární zdroje	39
7.	Internetový zdroj	41

1. Úvod

Bylo podloženo, že šlechtění na základě zvyšování dojivosti skotu je geneticky spojené se zvýšenou náchylností k nemocem (Shook, 1989). Dnes je tedy hlavním cílem nejen výběr skotu na základě vysoké produkce, ale také nalezení genetických markerů v genomu *Bos taurus*, které mají souvislost s rezistencí nebo náchylností zvířat k nemocem a následné šlechtění odolnějších plemenů.

Práce se zaměřuje především na genetické souvislosti mastitid. Popisuje geny související s mastitidami s použitím prozatím dostupných zdrojů. Tyto geny a mechanismy jejich účinky na zánět mléčné žlázy jsou podrobeny intenzivnímu výzkumu. Závěry napomáhají zlepšování zdraví skotu v odolnosti proti mastitidám a to vytvářením šlechtitelských programů na selekci rezistentních zvířat.

Mastitida je považována za jedno z nejvýznamnějších onemocnění skotu a jeden z hlavních důvodů vyřazování dojnic z chovu. Výrazně snižuje produkci, čímž negativně ovlivňuje ekonomiku podniku. Další dopad mastitid je snížení kvality mléka a následně i jakosti výrobků z něj. Přenos patogenů zoonóz z infikovaného mléka na člověka je důležitý rizikový faktor ohrožující lidské zdraví. V poslední době se řeší velmi diskutovaná otázka vzniku antibiotických rezistencí a jejich přenos na lidskou populaci.

Je tedy zřejmé, že alespoň částečná eradikace mastitid v chovech mléčného skotu je velmi důležitým cílem.

Do chovatelských programů se řadí významné kroky vedoucí ke zlepšování zdraví zvířat. Mezi ně se zahrnuje např. genetická selekce, včasná a správná léčba, případné vyřazení jedinců z chovu, preventivní opatření a jiné.

2. Genetické poruchy zdraví

Podstatou vzniku genetické poruchy je mutace genetické informace. Můžeme ji definovat jako jakoukoli změnu v struktuře DNA nebo v sekvenci nukleotidů (Nusbaum, 2004). Tato mutace na mateřské buňce se dále přenáší na další generace buněk (Kadlec, 1994). Změna v DNA důležitého genu může způsobit rozdíl ve funkci či množství genového produktu a výsledného proteinu (Nusbaum, 2004). Genetické mutace vedou k poruchám zdraví zvířete, k úhynu, nebo způsobují abnormální funkce či struktury (Parish, 2010).

Dědičná onemocnění jsou zapříčiněna geny obou rodičů. Ostatní genetické vady téměř vždy vznikají novou mutací DNA (Gholap, 2013).

2.1 Původ mutací

1. Genomové mutace - jsou způsobené vadnou segregací páru chromozomů během meiózy. Velmi časté jsou i u nádorových buněk (Nusbaum, 2004).

Frekvence 10^{-2} /buněčné dělení (Thompson, 1991).

2. Chromozomové mutace - nejsou většinou slučitelné se životem a jejich výskyt je mnohem menší, než je výskyt genomových mutací (Nusbaum, 2004).

Frekvence 6×10^{-4} /buněčné dělení (Thompson, 1991).

3. Genové mutace - týkají se změn přímo v genu a patří sem substituce, inserce a delece párových bází. Vznikají buď při replikaci RNA, nebo při nesprávném opravení poškozené DNA (Nusbaum, 2004).

Frekvence 10^{-5} - 10^{-6} /lokus/generace (Thompson, 1991).

2.2 Vliv mutace na funkci proteinu

1. Ztráta funkce proteinu - tyto poruchy způsobují mutace kódujících i regulačních elementů genu.
2. Zesílení funkce proteinu.
3. Získ nové vlastnosti proteinu.
4. Ektopická exprese- exprese genu v abnormálním místě v organismu (Sršeň, 2000).

2.3 Vliv mutace na organismus

1. Vitální mutace - je mutací vzniklá změna genotypu, jejíž dopad je buď pozitivní, nebo nevznikne výrazné snížení životaschopnosti a reprodukčních vlastností organismu. Vitální druh mutací je rozšířenější u prokaryontních organismů či u rostlin a je příčinou vzniku selekčních výhod jako např. specifické protilátky, růstové schopnosti, rezistence (Snustad, 2009).

2. Letální mutace - mají negativní důsledky. U organismu dochází ke snížení životaschopnosti až k úmrtí. Letální efekt genu se může projevit v různých stádiích vývoje (Snustad, 2009).

Dle rozsahu snížení životaschopnosti rozlišujeme letální mutace na:

- subvitální
- semiletální
- letální

2.4 Mutagenní faktory

Mutace v genetické informaci vznikají vlivem mutagenních faktorů. Takto označujeme zdroje, které mají mutagenní účinek (Snustad, 2009).

1. Fyzikální faktory- různé zdroje záření, především ionozujícího a ultrafialového a záření X (Snustad, 2009).
2. Chemické faktory- velmi rozsáhlé spektrum látek. Chemické látky jsou nejdůležitější skupinou mutagenů a dále se rozdělují na léky, chemické látky z potravy, pesticidy a ostatní chemické látky (Snustad, 2009).
3. Biologické faktory- do této skupiny řadíme především viry, v nichž nejvýznamnější jsou onkogenní viry (Snustad, 2009).

3. Genetické poruchy zdraví skotu

Genetické poruchy u skotu se liší ve známkách projevu, míře výskytu a způsobu dědičnosti (Parish, 2010). Většina genetických nemocí skotu je autozomálně recesivní. Zvýšení četnosti recesivních vad způsobuje přehnaný důraz na zvyšování plemenné hodnoty vedoucí k příbuzenské plemenitbě. Oproti tomu autozomálně dominantní genetické vady u skotu se většinou omezují pouze na jednotlivá stáda (Bishop, 2010).

Registrovaná zvířata většiny plemen byla vyšlechtěna z úzkého genofondu, což zapříčinilo, že většina recesivních vad je specificky vázaná na plemeno (Bishop, 2010). Příkladem nemoci vázané na plemeno může být porucha adheze leukocytů u skotu (BLAD), která je specifická pro Holštýnský skot (Gholap, 2013).

U skotu bylo identifikováno více než 200 různých dědičných vad. Velká část z nich se vyskytuje zřídka a má malé následky. Ale některé z těchto vad mají zvýšenou frekvenci výskytu i míru následků a stávají se významným chovatelským zájmem. Pokud porucha způsobuje výrazné snížení produkce nebo častější vyřazování z chovu, má to za následek zvýšení ekonomických ztrát podniku (Parish, 2010).

Genetické poruchy u skotu jsou specifické pro dané tkáně (např. kosterní, svalová, kožní, oční, centrální nervový systém) (Gholap, 2013). Klasifikace vad je založena na základě jejich frekvence výskytu u mléčného a masného skotu (Gholap, 2013).

Tabulka 1. Přehled některých genetických poruch zdraví u skotu (Parish, 2010)

Název vady	Klinické příznaky	Způsob dědičnosti	Plemenná specifita
Achondroplazie	Abortus v 6-8 měsíci, zkrácená horní čelist, deformovaná lebka, menší osvalení a vzrůst.	neúplně dominantní	
Alopecie	Úhyn před 7 měsícem věku, kožní změny, anémie.	recesivní	Hereford
Ankylóza	Rozštěp patra, abnormality kloubních spojů v těle.	recesivní	
Artrogrypóza	Úhyn brzy po narození, rozštěp patra, malformace páteře a kloubů končetin.	recesivní	Angus, Charolais
Dermoid	Výskyt kožní tkáně na oku/očním víčku.	polygenní	
Zdvojené osvalení	Výrazně zvětšené osvalení především zadních končetin. Zpomalený růst a ukládání tuku.	recesivní	Belgické modré, Piedmontes, Angus
Fawncalf syndrom	Příkrčený postoj při narození, abnormální postavení končetin, pomalý růst.	recesivní	Angus
Ideopatická epilepsie	Neurologická porucha doprovázená záchvaty.	recesivní	Hereford
Kryptorchismus	Nesestoupení jednoho nebo obou varlat do šourku.	pohlavím vázaná	
Mannosidoza	Letální nervové onemocnění.	recesivní	Angus, Murray, Galloway, Salers
Neuropatická hydrocefálie	Kumulace tekutiny v lebečném prostoru. Úhyn brzy po narození.	recesivní	Angus, Red Angus, Hereford
Osteopetróza	Zvýšená tvrdost a křehkost	recesivní	Angus, Red

	kostí, náchylnost ke zlomeninám.		Angus, Simmental, Holštýnský skot
Protoporfyrie	Citlivost na sluneční záření.	recesivní	Limousine
Předkus	Zkrácená spodní čelist	recesivní, polygenní	Angus, Simmental
Holenní hemimelie	Deformace lebky, zkroucené končetiny a velké břišní kýly.	recesivní	Shorthorn, Simmental, Galloway
Translokace	Chromozom se přeruší a jeho část se napojí na jiný chromozom. Postižení jedinci mají většinou sníženou plodnost.	recesivní	Simmental, Charolais, Blonde D'Aquita

3.1 Selektce na genetické poruchy skotu

Používání genetické selektce sloužící k vyřazování zvířat s genetickou vadou je výhodné, protože genetický zisk je kumulativní a trvalý. Geny zavedené do populace mohou přetrvávat po mnoho generací (Berry, 2011). Genetické zvyšování odolnosti je dlouhodobý a pomalý proces, ale přispívá ke snižování nutnosti léčby a porážky, zmenšuje ztráty produkce a ekonomické náklady chovů (Shook, 1989).

Probíhá snaha o výběr zvířat na zvýšení genetické odolnosti proti infekčním chorobám. Zkoumají se přesné biologické markery, které mohou být snadno měřeny na velkém počtu zvířat a objasňují se genomy patogenů a jejich interakce s genomem hostitele. To může pomoci s určováním způsobu infekce, preventivních opatření i vývojem očkovacích látek (Berry, 2011).

Nicméně rezistence proti většině nemocí je podmíněna velkým počtem genů a jejich mutacemi. Proto je nepravděpodobné, že se podaří úplná selektce na odolnost zvířat (Berry, 2011).

V současné době jsou k dispozici genetické testy pro nemoci jako citrulinémie nebo syndrom deficiencie adhezní schopnosti leukocytů (BLAD) a pracuje se na rozvoji dalších. Tyto testy jsou potřebné k detekci nežádoucích alel a vyřazení zvířat z chovu. Tím se přispěje k eliminaci nežádoucích genů (Gholap, 2013).

4. Mastitidy

Mastitida je infekční zánětlivá reakce organismu na původce. Celosvětové výzkumy odhadují frekvenci výskytu mastitid od 29,34 % do 78,54 % krav v laktaci ročně (Sharma, 2011). Mastitida je vážný problém ohrožující zdraví zvířat, způsobuje bolest, nepohodlí a v neléčených případech i smrt (Urioste, 2012).

Vyznačuje se fyzikálními, chemickými a bakteriologickými změnami v mléce a má vliv na kvalitu a množství mléka (Sharma, 2011).

Velký problém činí mastitidy v rámci ekonomiky chovů mléčného skotu. Ztráta produkce zaviněná především nediodagnostikovanými subklinickými mastitidami, náklady na léčbu či úplné vyřazení z chovu a negativní ovlivnění plodnosti, to vše zvyšuje ekonomické ztráty (Pritchard, 2013).

V neposlední řadě ohrožuje lidské zdraví přenosem patogenů způsobujících mastitidy zejména nepasterizovaným mlékem (Urioste, 2012). Bakteriální kontaminace činí mléko nevhodným k lidské spotřebě a poskytuje mechanismy k dalšímu šíření nemocí jako je tuberkulóza, Q-horečky, brucelóza a leptospiróza (Sharma, 2011). Další zdravotní riziko je obsah reziduí antibiotik v mléce (Urioste, 2012).

4.1 Rozdělení mastitid

4.1.1 Rozdělení dle příčiny:

Infekční mastitidy - vznikají v důsledku infekce mikrobiologickým původcem (Sršeň, 2000).

Neinfekční mastitidy – důsledek mechanického poškození vemene při dojení, hormonální nerovnováhy nebo nesprávné výživy (Doležal, 2000).

4.1.2 Rozdělení dle průběhu nemoci:

Subklinická forma – mléčná žláza ani mléko nevykazují zjevné změny, v mléce je zvýšený počet somatických buněk a má také změněnou chemickou stavbu. Patogenní původci nemusí být prokázáni (Doležal, 2000). Tato forma může trvat dlouhou dobu, *Staphylococcus aureus* je schopen přetrvat subklinicky týdny až měsíce, nebo přejít v klinickou formu. Subklinické mastitidy jsou hlavní složkou ekonomických ztrát způsobených mastitidami (Ticháček, 2007). Bylo prokázáno, že krávy na první laktaci jsou méně náchylné k subklinickým mastitidám (Zambrano, 2011).

Klinická forma – v mléce jsou prokazatelné patogenní zárodky. Klinická forma je dobře zjištělná dle změn mléčné žlázy i mléka a léčí se antibiotiky (Doležal, 2000).

Chronická forma – objevují se smyslové změny mléka, ale nejsou prokázáni patogenní původci (Doležal, 2000).

Latentní forma – v mléce jsou prokazatelné patogenní zárodky, ale zánět se neprojevuje klinickými příznaky (Doležal, 2000).

Tabulka 2. Klasifikace mastitid (Sršeň, 2000)

Typ onemocnění	Klinické příznaky	Smyslové změny mléka	Počet SB >100000	Kultivace patogenů
Zdravá mléčná žláza	-	-	-	-
Neinfekční mastitida	-	-	+	-
Latentní infekce	-	-	-	+
Subklinická mastitida	-	-	+	+
Klinická mastitida	+	+	+	+

4.2 Příčiny vzniku mastitidy

Mastitida je multifaktoriální onemocnění a za jejím vznikem stojí vzájemné působení tří predispozičních faktorů. Dojde-li působením rizikových faktorů k oslabení odolnosti dojnice, může to vést ke vzniku mastitidy (Doležal, 2000).

Tabulka 3. Predispoziční faktory mastitid (Doležal, 2000)

Predispoziční faktor	Vlivy zvyšující riziko onemocnění
Zvíře	Snížená odolnost, náchylnost, laktační stadium, stres, plemeno, věk, vysoká užitkovost
Původce	Počet patogenních zárodků, účinky vyvolávající onemocnění
Prostředí	Ustájení, získávání mléka, hygiena, klima, výživa, atd.

4.2.1 Mikrobiální původci

Nejčastějším původcem mastitid jsou bakterie, méně často se jako patogeny vyskytují plísně. Z bakteriálních patogenů jsou nejvýznamnější bakterie rodu *Streptococcus* a *Staphylococcus*, způsobující přibližně 90 % infekcí (Poutrel, 1983). Bezprostřední vznik mastitid zapříčiňuje infekce specifickými původci. Míra rizika infekce je závislá na množství a nakažlivosti původce. Dalším rizikem z hlediska léčby může být rezistence původce na antibiotika (Ticháček, 2007).

Tabulka 4. Nejčastější mikrobiální původci mastitid (Ticháček, 2007)

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Proteus</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>Pseudomonas auruginosa</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Prototheca</i>
<i>Mycoplasma bovis</i>	<i>Fungi</i>
<i>Mycoplasma cabadense</i>	
<i>Escherichia coli</i>	

4.2.2 Prostředí

Celá řada faktorů podílejících se na riziku vzniku mastitid přichází z prostředí zvířete. Zahrnujeme sem klimatické podmínky, hygienické podmínky, typ ustájení, vyváženou výživu, techniku dojení, správné seřízení dojícího stroje, hygienu dojení a další (Ticháček, 2007).

4.2.3 Zvíře

Byl zjištěn velký počet jednotlivých rizikových faktorů závislých na zvířeti, včetně plemene, stáří zvířete, počtu porodů, pořadí laktace, morfologie vemene a struků, věku při prvním otelení, reprodukčních poruch, produkce, množství somatických buněk v mléce (Nusbaum, 2004).

4.3 Vznik mastitidy

Prvotní příčina vzniku onemocnění je infekce vemene původcem zánětu. Ta může proběhnout jak v průběhu laktace, tak v době stání na sucho (Ticháček, 2007). Nejčastěji původce vstupuje přes strukový kanálek. K infekci strukového kanálku dochází buď přímým přenosem při dojení z nemocné čtvrti na další čtvrt' při nedostatečném očištění vemene a struků nebo z infikovaných dojících pomůcek. K přenosu původce může dojít také i kontaktem s ložní plochou a podestýlkou. Infekce pokračuje do žlaznaté tkáně mléčné žlázy, kde se původce pomnoží (Doležal, 2000).

Nejdříve dojde k poruchám průtoku krve v oblasti mléčné žlázy a tím se sníží přívod výživových a účinných látek. Poté dochází k hromadění látkových metabolitů a poškození buněk tkáně mléčné žlázy. V důsledku hromadění tekutiny vzniká otok mléčné žlázy, který zabraňuje cirkulaci krve a správnému zásobení tkáně. Krevní buňky a částice přeměňují rozrušenou tkáň mléčné žlázy na vazivovou a pojivovou

tkáň. Tato změna se projeví ztvrdnutím a zduřením celé postižené čtvrti mléčné žlázy a snížením produkce mléka (Doležal, 2000).

4.4 Klinické příznaky mastitid

Mastitida se klinicky projevuje změnami na mléčné žláze a to otokem, zvýšenou teplotou, zarudnutím a ztvrdnutím postižené části (Ticháček, 2007). Další změny se objevují na smyslovém posouzení mléka, zvláště prvních odstříků. Sekret může obsahovat vločky, být serózní či s příměsí krve. Mléko má zvýšený počet somatických buněk a změněné chemické složení (Doležal, 2000).

Při akutní formě mastitidy se mohou objevit i systémové příznaky jako zvýšená teplota, nechutenství, malátnost, otoky kloubů a končetin (Ticháček, 2007).

4.4.1 Počet somatických buněk (PSB)

Somatické buňky v mléce jsou ze 75 % leukocyty (neutrofilů, makrofágy, lymfocyty) a z 25 % epiteliální buňky (Sharma, 2011).

Vysoký PSB v mléce je hlavním ukazatelem infekce mléčné žlázy způsobené specifickými a nespecifickými mikroorganismy. Při zánětu dojde k velké migraci neutrofilů do mléčné žlázy a jejich počet se zvýší až na 90 % všech PSB (Sharma, 2011).

4.5 Diagnostika mastitid

Včasná a přesná diagnostika počínajícího zánětu mléčné žlázy slouží k rychlému vyřazení příslušné dojnice z mléčné produkce a tím se předejde ohrožení jakosti i zdravotní závadnosti mléka.

4.5.1 Diagnostika klinických mastitid

Závisí na způsobu vyšetření mléčné žlázy a jejích sekretů. Klinické příznaky snadno zjistitelné na mléčné žláze jsou otok, zvýšená teplota, zčervenání a ztvrdnutí. U chronických zánětů jsou na pohmat patrné oblasti, kde se parenchym přeměnil na vazivo. Sekret bývá serózní a s příměsí vloček, může obsahovat i krev. Nejlépe patrná změna sekretu je při prvních odstřicích před dojením (Ticháček, 2007).

4.5.2 Diagnostika subklinických mastitid

U subklinických forem zánětu se nevyskytují klinické příznaky, tudíž musíme spoléhat na celou řadu testů. Testy detekují infekční patogeny nebo změny sekretu. NK testy či měření elektrické konduktivity mléka jsou snadno a rychle proveditelné přímo ve stáji. Další méně často používané testy jsou Californie Mastitis test (CMT), laurylsulfát sodný test (SLST), Surf Field Mastitida Test (SFMT) a White Side test (WST) (Sharma, 2011). Sekret je možné dále vyšetřovat cytologicky a biochemicky (Ticháček, 2007).

Další možnost posouzení stavu dojnice je počet somatických neboli tělních buněk (PSB) v mléce. Převážná část PSB v mléce je zastoupena neutrofilými migrujícími z krve do tkáně mléčné žlázy jako imunitní odpověď na infekci, tato hodnota tedy odráží zdravotní stav vemene a je nepřímým ukazatelem vzniku mastitidy. Ovšem může být ovlivněna mnoha faktory, a proto se hodnoty u infikovaných a neinfikovaných zvířat mohou překrývat. (Rupp, 2010) Uvádí se, že průměr PSB by u zdravých dojnic během laktace neměl přesáhnout 200 000 buněk v 1 ml mléka.

Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004 (web) stanovuje PSB jako hygienický ukazatel a jeho hodnota nemá přesáhnout 400 000 buněk v 1 ml mléka (Sršeň, 2000).

Rychle se rozvíjející možnost včasné diagnostiky mastitid je diferenciální exprese genu v epiteliálních buňkách prsní žlázy a tkáni mléčné žlázy. Profily genové exprese u skotu epitelové buňky ukázaly, že *CXCL5* geny byly výrazně nadměrně exprimovány po stimulaci lipopolysacharidu *Escherichia coli* (LPS). Většina nadměrně exprimovaných genů byla spojena s vrozenou imunitní odpovědí epitelových buněk, včetně chemokinů (*CXCL1*, *CXCL2*) a *LPS-vázajícího proteinu CD14* (Rupp, 2010).

Výzkum zkoumající srovnání genové exprese po infekci patogeny *Escherichie coli* a *Staphylococcus aureus* ukázal na výraznou odlišnost. Exprese genů po infekci *E. coli* byla výraznější a geny spojené s migrací neutrofilů do tkání byly exprimované více. Infekce *S. aureus* se projevila expresí genů navazujících na laktotransferrin a antimikrobiální protein vylučovaný do mléka (Rupp, 2010).

4.6 Léčba

Základem léčby je omezení přítomnosti patogenů i jejich toxinů. Důležitý léčebný postup je mikrobiologické stanovení původce a jeho citlivosti na antibiotika. Určení bakteriálního původce může poukázat na způsob infekce a napomoc v zavedení prevence.

Léčba mastitidy spočívá v lokálním podávání antibiotik přímo do strukového kanálku. V případě narušení celkového zdravotního stavu je léčba antibiotiky systémová (Ticháček, 2007).

Účinnost léčby v období stání nasucho je prokazatelně vyšší. Naopak úspěšnost léčby krav v laktaci je nízká a nemoc často přejde do subklinické formy.

Dalším problematickým faktorem léčby mastitid jsou patogeny. Jejich odolnosti proti antibiotikům se liší s původcem. Například *Streptococcus agalactiae* velmi dobře reaguje na antibiotickou terapii (Holmberg, 2012).

Výzkum ukázal, že jedinci vykazující velkou odolnost proti infekci mají obtížnější léčbu než jedinci s větší náchylností k onemocnění (Franzén, 2012).

4.7 Prevence proti vzniku mastitid

Do prevence proti mastitidám můžeme zařadit zvýšenou pozornost na:

- welfare, znamenající komfortní, nestresové prostředí se standardní úrovní hygieny ustájení a čistoty dojnic
- dojící zařízení se správnou funkcí a vlastnostmi, které nepoškozuje mléčnou žlázu
- péči o zdraví a vyváženou výživu dojnic
- plošný měsíční screening PSB z bazénových vzorků a archivaci výsledků
- detekci zánětů mléčných žláz, jejich potřebnou léčbu a zavedení prevence

Kontroly mastitid jsou v praxi založeny na řádné hygieně při celém procesu dojení, snížení výskytu patogenů v prostředí a antibiotické léčbě zaprahnutých krav. Tyto metody snižují výskyt onemocnění (Sordillo, 1997).

4.8 Genetické predispozice mastitid

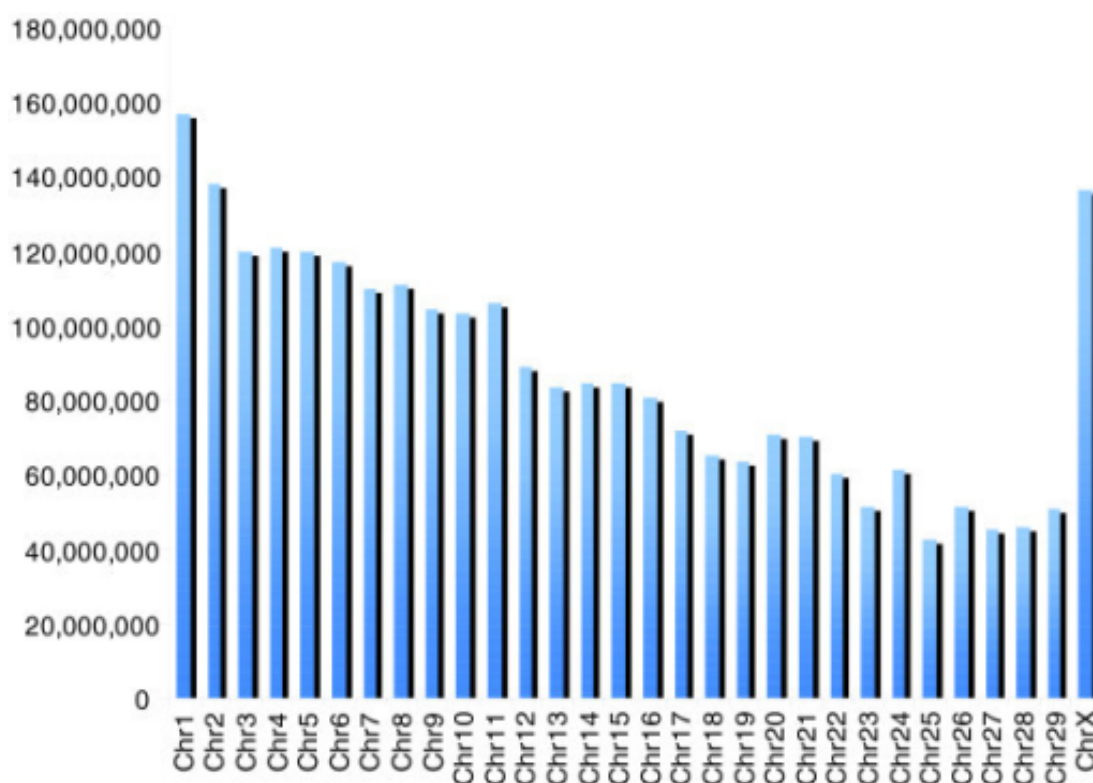
Je potvrzena určitá míra dědičné vnímavosti k mastitidám, ovlivňující snadnost pronikání infekce (Poutrel, 1983). V poslední době se klade velký důraz na výzkum genů souvisejících s citlivostí na mastitidy a jejich použití při selekci dojnic. Míra heritability klinických mastitid se odhaduje na 0,07-0,08 (Urioste, 2012). Bylo prokázáno, že citlivost k onemocnění se pohybuje mezi plemeny a jednotlivci, s dědivostí v rozmezí 0,07 - 0,12 (Franzén, 2012). Genetická korelace klinické mastitidy a subklinické mastitidy a PSB je pozitivní a vysoká (0,67-0,82 pro klinické a 0,94-0,99 pro subklinické). Je tedy prokázáno, že PSB vykazují genetickou variabilitu a úzké spojení s mastitidami. To potvrzuje jejich použití jako cenného ukazatele biologických vlastností (Urioste, 2012).

4.8.1 Genom *Bos Taurus*

Genom skotu (*Bos taurus*) byl v nedávné době sekvenován za použití metod hierarchického a genomového sekvenování.

Podarilo se sestavit soustavu 2 860 000 000 párů bází, která je výrazně vylepšená oproti předchozímu pokusu. Nová verze je úplnější a pokrývá větší část genomu, doplnilo se mnoho chybných inverzí, delecí a translokací. Zmapováno je přibližně 91 % genomu na 30 chromozomech. Také se poprvé odkryla část chromozomu Y (Zimin, 2009).

Obr. 1. Počet sekvencí v každém chromozomu (v párových bázích) (Zimin, 2009)



4.8.2 Heritability náchylnosti k mastitidám

Heritabilita migrace neutrofilů

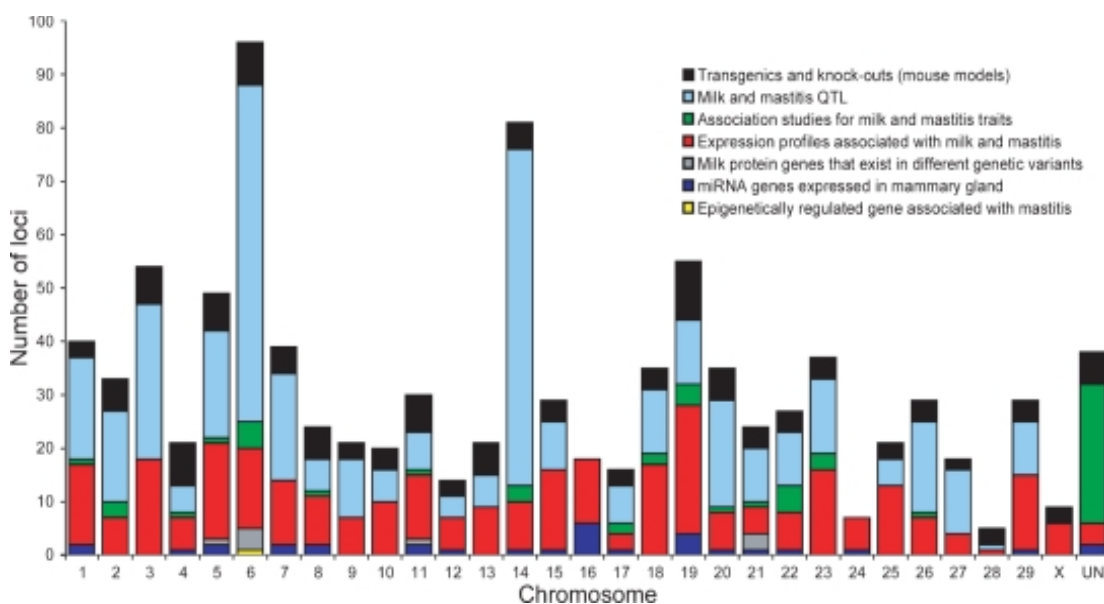
Možným znakem genetické predispozice k mastitidám jsou i znaky vztahující se k obranným mechanismům organismu. In vitro byla zjištěna heritabilita pro migraci neutrofilů (0,2-0,5), pro fagocytózu (0,3-0,7) i pro aktivitu komplementu (0,4-0,5). Tyto údaje mohou sloužit k selekci skotu na zvýšení odolnosti proti mastitidám.

Výzkumy prokázaly, že zvířata s nízkým PSB a nižší frekvencí klinických mastitid vykazují lepší funkci neutrofilů (Rupp, 2010).

4.8.3 Databáze genů související s mastitidami

Databáze genů a genetických markerů v souvislosti s produkcí mléka a mastitidám byla vyvinuta jako integrovaný výzkumný nástroj, zahrnující různé druhy informací ke studiu dojivosti, vývoje vemena a jeho zdraví.

Obr 2. Rozložení kandidátních genů a genetických markerů pro vývoj mléčné žlázy, znaky pro produkci mléka a citlivost nebo rezistenci k mastitidám na chromozomech (Ogorevc, 2009)



V této části práce následuje soupis některých nejvýznamnějších genů, u kterých byly nalezeny spojitosti s rezistencí či náchylností k rozvoji zánětu mléčné žlázy.

Studie a výzkumy genetických predispozic a vlivů stále pokračují, vědci se snaží objevit genetické markery, které by napomohly k lepšímu pochopení genetického ovládní mastitid. Výsledky se mohou použít v praktickém výběru zvířat v chovu se zaměřením na selekci zvířat odolných infekci.

název genu: *GC*

popis: součást specifické skupiny (vitamin D vázající protein)

typ: protein kodující

chromozom: 6

lokace: AC_000163.1 (88687845..88739292) (NCBI, 2015)

název genu: *NPFFR2*

popis: FF receptor neuropeptidu 2

typ: protein kodující

chromozom: 6

lokace: AC_000163.1 (88983576..89059819) (NCBI, 2015)

Byl proveden výzkum k identifikaci genů ovlivňujících mastitidy u dojnic, v němž se vybralo 6 chromozomálních oblastí na *Bos Taurus autosom* (BTA). Nejvíce signálů pro klinické mastitidy vykazoval BTA 6 obsahující dva geny: vitamin D-vázající prekurzor a FF receptoru neuropeptidu 2 (*NPFFR2*). Na základě známých biologických funkcí těchto dvou genů se dá předpokládat, že jsou vhodnými kandidáty na ovlivňování citlivosti na mastitidy. Nepodařilo se ovšem najít místo určení kauzálního genu. Zde zůstává otevřené pole pro další výzkumy (Urioste, 2012).

gen: *BOLA-DRB3*

popis: MHC, třída II.

typ genu: protein kodující

chromozom: 23

lokace: AC_000180.1 (25472161..25476885) (NCBI, 2015)

Různé studie prokázaly, že odpor nebo náchylnost k mastitidám jsou geneticky podmíněné. Hlavní histokompatibilní komplex (MHC) je soubor genů, které kontrolují, rozpoznávají a zpracovávají antigeny. Je tedy hlavní složkou genetické podmíněnosti k infekčním chorobám. U skotu je MHC známý jako bovinní lymfocytární antigen (*BOLA*). Geny z *BOLA* byly výzkumem propojeny s výskytem infekčních onemocnění jako jsou mastitidy a leukóza. Nejvýznamnějším úsekem z *BOLA* se zdá být *BOLA-DRB*. Pouze gen *BOLA-DRB3* byl nalezen ve funkčním lokusu. Je vysoce polymorfní a prokazuje souvislost s PSB v návaznosti na infekci mastitidami (Baltian, 2012).

Další výzkum sledující Holštýnský skot rozpoznal v genu *DRB3.2* celkem 23 alel.

Nejčastějších 10 alel jsou 23, 22, 24, 16, 33, 8, 39, 37, 27 a 18. Pouze některé alely mají vliv na náchylnost k mastitidám. Jsou to *DRB3.2*8* a *DRB3.2*14*. Krávy nesoucí ve svém genotypu alelu *DRB3.2*8* mají 2,48krát větší riziko onemocnění než ty s alelou *DRB3.2*24* (Zambrano, 2011).

HSP70

popis: gen tepelného šoku 70kDa protein 1A

typ: protein kodující

chromozom: 23

lokace: AC_000180.1 (27331772..27333870) (NCBI, 2015)

V poslední době se pozornost vědců zaměřuje na polymorfismus genu *HSP70-2*, který možná přispívá k náchylnosti zvířat k mastitidě. Patří do multigenové rodiny proteinů tepelného šoku (*HSP*). Aktivace *HSP* je velmi primitivní reakce vyvolaná stresem z životního prostředí. *HSP70* je klíčovým faktorem v regulaci exprese genů důležitých pro imunitu (*NF-κB*). Zvýšení exprese *HSP70* vedlo k inaktivaci *NF-κB* drah inhibicí *NF-κB P65* nukleární translokace. Naopak útlum *HSP70* může mít za následek zvýšenou aktivitu *NF-κB p65*. Gen *HSP70* tedy přispívá k aktivaci vrozené imunity.

Polymorfismy genu *HSP70-2* možná přispívají k náchylnosti skotu k mastitidám. Nicméně o genu a jeho funkcích je známo ještě příliš málo (Huang, 2015).

název genu: *IL8*

popis: chemokin (C-X-C motiv) ligand 8

typ: protein kodující

chromozom: 6

lokace: AC_000163.1 (90559882..90563647) (NCBI, 2015)

Gen *IL-8* významně koreluje s rezistencí mastitid a tento lokus může být užitečný genetický marker pro výběr odolných zvířat.

Studie prokázala, že *IL-8* je klíčovým faktorem pro obranyschopnost mléčné žlázy. Má významnou roli při zánětech a imunitních odpovědích. Při stimulaci mléčné

žlázy patogenem *Escherichia coli* se koncentrace mRNA *IL-8* rychle zvýšila.

Polymorfismus *IL-8* významně koreluje s dojivostí a PSB. Odlišné genotypy genu *IL-8* měly odlišné hladiny projevu mRNA. Proto by polymorfní oblasti mohly být užitečné genetické znaky pro mléčnou produkci a rezistenci infekcí mléčné žlázy (Chen, 2011).

název genu: *CXCR1*

popis: chemokin receptor (motiv C-X-C)

typ: protein kodující

chromozom: 2 (NCBI, 2015)

Gen receptoru chemokinů 1 (*CXCR1*) kóduje stejnojmenné receptory pro migraci, aktivaci a dlouhodobé přežití polymorfonukleárních neutrofilních leukocytů (PMNL). Obsahuje 16 polymorfismů a u některých z nich byla nalezena spojitost se skupinou specifických patogenů (Verbeke, 2012).

název genu: *FEZ family zinc finger 2 (FEZF2)*

popis: forebrain embryonic family zink finger 2

typ: protein kodující

chromozom: 22

lokace: AC_000179.1 (39066843..39073074) (NCBI, 2015)

název genu: *SEMA5A*

popis: Sema doména, transmembránové domény (TM) a krátké cytoplazmatické domény

typ: protein kodující

chromozom: 20

lokace: AC_000177.1 (63773451..64357675) (NCBI, 2015)

Skotu více citlivému k mastitidám byly objeveny v genu *FEZF2* tříbázové inzerce (Lam, 2008).

Mastitida indukuje expresi *FEZF2* a napadené části mléčné žlázy a tento proces přitahuje protein semaphorinu 5A produkovaného genem *SEMA5A* prostřednictvím sekvence GCAG.

U citlivých jedinců je genem *FEZF2* podporovaná produkce *SEMA5A* nižší než u rezistentních zvířat. Gen *SEMA5A* dále indukuje expresi dalších nejméně devíti genů souvisejících s imunitní reakcí, včetně *TNF* a *IL-8*.

FEZF2 gen ovládá vývoj monoaminergních neuronů. Obsahuje glycinový úsek, kde prodloužení 12 glycinů (12G) na 13 glycinů (13G) může mít vliv na imunitní odpověď. Délka glycinového řetězce může mít vliv na transkripční aktivitu. Výzkum ukázal, že 13G *FEZF2* jedinci mají dvojnásobnou míru citlivosti na mastitidu než 12G *FEZF2*. Důvodem tohoto jevu je fakt, že 12G *FEZF2* vyvolává *SEMA5A* odpověď na vyšší úrovni.

Z druhé strany, mastitida indukuje *SEMA5A* expresi. V pokusu byl použit LPS z *E. coli*, který vyvolal jak *FEZF2* tak *SEMA5A* expresi. Maximální indukce bylo dosaženo po 6 hodinách, což naznačuje, že *FEZF2-SEMA5A* signalizace je aktivní v pozdní fázi infekce (Sugimoto, 2006).

název genu: *BMAP-28*

popis: antimikrobiální aktivita proti gram.pozitivním bakteriím

typ: protein kodující

chromozom: 22 (Wu, 2014)

název genu: *MASP-2*

popis: mannan-vázající lektin-asociovaný serin proteáza

typ: protein kodující

chromozom: 16

lokace: AC_000173.1 (43463043..43478362) (NCBI, 2015)

Analýza mutace genů *BMAP-28* a *MASP-2* ukázala, že kombinace genomů *BMAP-28* genotyp CC a *MASP-2* genotyp GG je nejlepší, hodnoty PSB je při této kombinaci podstatně nižší než při jiných podmínkách (Wu, 2014).

název genu: *IGF1R*

popis: inzulin-podobný růstový faktor receptor 1

typ: protein kodující

chromozom: 21

lokace: AC_000178.1 (7967718..8268246) (NCBI. 2015)

Gen *IGF1R* se podílí na přirozené imunitě organismu prostřednictvím autofagie. V bovinním genotypu byl tento gen spojen s výskytem mastitidy. Výzkumy dokazují důležitou úlohu *IGF1R* a *FEZL*, o které se zmiňuje výše, při zprostředkování rezistence proti patogenům pomocí autofagie. *IGF1R* obsahuje region 5UTR s různou délkou úseku C, na který se váže *FEZL*. Dojnice nesoucí 13G *FEZL* a *IGF1R* s delším úsekem C vykazovaly vyšší PSB a větší výskyt mastitid (Sugimoto, 2012).

V tabulce 5. je uveden přehled dalších zkoumaných genů v souvislosti s onemocněním. Dosud provedené výzkumy neupřesnily jejich funkci ani přesný mechanismus vlivu na rezistenci nebo odolnost zvířat.

Tabulka 5. Přehled některých zkoumaných genů pravděpodobně souvisejících s mastitidou, u kterých nebyla zjištěná funkce (Wojdak, 2013; Tiezzi, 2015; Heringstad, 2006; Sahana, 2014)

název genu	popis	Typ	chromozom	lokace
<i>OSMR</i>	receptor onkostatinu M	protein kodující	20	AC_000177.1 (35519138..35588372)
<i>LY75</i>	lymfocytární antigen 75	protein kodující	2	AC_000159.1 (36557431..36647994)
<i>OXCT1</i>	3-oxoacid CoA transferaza 1	protein kodující	20	AC_000177.1 (32683996..32848726)
<i>C6</i>	složka komplementu 6	protein kodující	20	AC_000177.1 (33320073..33405582)
<i>C7</i>	složka komplementu 7	protein kodující	20	AC_000177.1 (33549485..33606517)

<i>GHR</i>	receptor růstového hormonu	protein kodující	20	AC_000177.1 (31890736..32064204)
<i>ITGB6</i>	integrit beta 6	protein kodující	2	AC_000159.1 (36201683..36350763)
<i>CARD 6</i>	doménová rodina kaspáz, člen 6	protein kodující	20	AC_000177.1 (33638644..33653345)
<i>DAB2</i>	Dab, fosfoprotein citlivý na mitogen, homolog 2	protein kodující	20	AC_000177.1 (35018908..35079162)
<i>DPP4</i>	dipeptyl- peptidaza 4	protein kodující	2	AC_000159.1 (34487609..34571857)
<i>LY6D</i>	lymfocytární antigen komplex 6, lokus D	protein kodující	14	AC_000171.1 (2801383..2803021)
<i>PRLR</i>	receptor prolaktinu	protein kodující	20	AC_000177.1 (38951574..39146316)
<i>TNF</i>	tumor nekrotizující faktor	protein kodující	23	AC_000180.1 (27533901..27536674)
<i>LTF</i>	laktotransferrin	protein kodující	22	AC_000179.1 (53514781..53556090)

4.9 Genetické vztahy rezistence mastitidy a znaků pro produkci mléka

Mezi rezistencí mastitid a produkčními vlastnostmi byl zdokumentován genetický antagonismus, což naznačuje, že zdravotní stav vemene se zhoršuje v důsledku selekce na užitkové vlastnosti. Průměrná genetická korelace PSB a dojivosti je přibližně 0,14.

Výsledky analýzy PSB u krav bez klinických mastitid naznačily, že PSB je heterogenní vlastnost. Heritabilita PSB byla 0,003 pro krávy trpící mastitidou a 0,08 pro zdravá zvířata. Genetická korelace mezi PSB a mastitidou je silně pozitivní a byla určena v rozmezí 0,30 až 0,98 (Wu, 2014).

Genetický antagonismus mezi klinickou mastitidou a dojivostí je výrazně vyšší, s hodnotami 0,2-0,55. Vysvětlením této vysoké hodnoty může být nepřímý vztah na tvar vemene a geny nemající související funkci (Bishop, 2010).

4.9.1 Genetická asociace citlivosti k mastitidám a morfologii vemene

Rezistence mastitid koreluje s několika anatomickými typy vemene u skotu. Hloubka a upevnění vemene obecně vykazují, že vyšší a těsněji upevněná vemena se posí s nižším PSB a tedy s nižším rizikem mastitid (Sender, 2013).

Genetický výběr skotu na základě morfologie vemene a struku může rozšířit snahy o kontrolu zánětu mléčné žlázy. Fyziologické znaky vemene a struků jsou středně až vysoce dědičné, některé odhady dědičnosti jsou uvedeny v tabulce 7. Z výsledků studií lze vyčíst, že vyšší a vysoce zavěšená vemena napomáhají odolnosti vůči mastitidám. Hlubší vemena mají naopak vyšší PSB a četnější výskyt nemoci (Seykora, 1985).

Infekce vemene patogeny nastane ve chvíli, kdy bakterie získají přístup přes strukový kanál. Z tohoto důvodu se považuje hrot struku za první linii obrany proti invazi infekce. Ve hrotu jsou umístěny svěrače, ty udržují hrot těsně uzavřený a brání

bakteriálnímu průniku. Zvýšená průchodnost svěračů je přímo úměrná zvýšenému výskytu mastitid (Sordillo, 1997).

Tabulka 6. Přehled dědičnosti znaků vemene a struků (Seykora, 1985)

Morfologie vemene	Přibližná heritabilita
Hloubka vemene	0,25
Rozmístění struků	0,20
Vizuální hloubka	0,27
Vzdálenost od vemene na zem	0,38
Rozštěp vemene	0,11
Délka struků	0,25
Tloušťka stěny struku	0,13
Velikost struků	0,26-0,63
Střední závěs vemene	0,16

Rizikové morfologické znaky vemene

- větší průměr strukového kanálku umožňuje infekci snadněji
- odstranění keratinu v oblasti hrotu struku snižuje odolnost
- velikost struků je spojena s rychlostí dojení, zraněním a rizikem infekce
- trychtýřovité tvary struků vykazují významně nižší frekvenci mastitid než válcovité
- tvar hrotu struku k mastitidě nejnáchylnější je diskový či obrácený tvar (Seykora, 1985)

4.10 Genetická korelace mastitid a dalších poruch zdraví

Klinická mastitida (CM), ketóza (KET), mléčné horečky (MF) a zadržení placenty (RP), patří mezi nejčastější onemocnění, která postihují mléčný skot. Výzkumy

potvrzené genetické korelace mezi těmito nemocemi jsou stanoveny jako nízké nebo střední. Nejvyšší hodnoty korelace jsou mezi MF a KET (Heringstad 1995). Mezi všemi vyjmenovanými nemocemi byly objeveny pozitivní korelace, což ukazuje na existenci genetické vazby obecné odolnosti proti nemocem s hlavním histokompatibilním komplexem (Lewin, 1999).

Tabulka 7. Odhad dědivosti (1) a genetických korelací (2) pro jednotlivá onemocnění (Zwald, 2004; Heringstad, 2005)

Ukazatel	Posunutí slezu	Ketóza	Mastitida	Cysty na vaječnicích	Mléčná horečka	Zadržetí placenty
Posunutí slezu	0,14	0,45	0,08	0,17	-	-
Ketóza		0,06	0,17	0,42	0,19	0,07
Mastitida			0,09	0,11	0,64	0,16
Cysty na vaječnicích				0,04	-	-
Mléčná horečka					0,13	-0,04
Zadržetí placenty						0,08

1) na diagonále

2) nad diagonálou

4.11 Odolnost proti mastitidám

Schopnost dojnic bránit se infekci a rozvoji mastitid je komplexní schopnost, která zahrnuje různé složky: zamezení vstupu patogenu do mléčné žlázy, imunitní reakce bránící pomnožení patogenu v mléčné žláze, obrana proti patogenním účinkům původce (Rupp, 2010).

Dané patogeny vyvolávající mastitidy, způsobují odlišné imunitní odpovědi, proto k imunitní reakci dojnice je třeba vysoce specifického patogenu (Thompson-Crispi, 2014).

Obecně se imunitní reakce organismu rozdělují na vrozené a získané.

1. Vrozené (nespecifické) imunitní reakce

Do této skupiny řadíme eliminaci patogenu neutrofily a makrofágy, opsonizaci původce komplementem, proteiny (laktoferin, lysozym) a antibakteriální peptidy pomáhající ničit bakterie, které nebyly pohlcené (Rupp, 2010). Převládá v raných fázích infekce. Nespecifické odpovědi jsou přítomny nebo aktivovány podněty v místě infekce, nicméně nejsou rozšiřovány opakovanou infekcí stejného druhu (Sordillo, 1997).

2. Získané (specifické) imunitní reakce

Tento systém rozpozná specifické determinanty patogenu, které usnadní selektivní eliminaci. Rozlišení patogenních faktorů je zprostředkováno molekulami protilátek a makrofágy. Vzhledem k paměti některých typů lymfocytů, specifická imunitní odpověď může být rozšířena pomocí opakovaného vystavení patogenu (Sordillo, 1997). Role T leukocytů u zánětu mléčné žlázy není zcela prozkoumána, stejně jako možnost vakcinace (Ticháček, 2007).

Tabulka 8. Mechanismy vrozené obranyschopnosti vemene proti mastitidám (Shook, 1989)

Lokace a charakteristika	Žádoucí forma
Konformace	
hloubka vemene	Střední až mělké
délka struků	Střední až krátké
tvár struku	trychtýř
Strukový kanál	
Průměr	Střední až úzký
Svěrač	těsný
keratinová vrstva	Fyzikální a baktericidní vlastnosti
Vnitřní část vemene a struku	
Proteiny	
Laktoperoxidáza-thiokyanatan- vodík-peroxid systém	
Lysozym	
koncentrace laktoferrinu	vysoká
poměr laktoferrinu a citrátu	vysoký
Komplement	
Imunoglobuliny	
Leukocyty	
Makrofágy	
polymorfonukleární leukocyty	
Fagocytóza	

4.12 Selekce dojnic na rezistenci proti mastitidám

Genetická variabilita odolnosti skotu proti zánětu mléčné žlázy je intenzivně prozkoumávána. Je zdokumentováno mnoho studií zaměřených na polygenní variantu znaku, podle odhadu heritabilit a genetických korelací mezi fenotypovými znaky souvisejícími s mastitidami. Dobře prostudovány jsou také role hlavního histakompatibilního komplexu (Rupp, 2003).

Selekce skotu pro zvýšení odolnosti vůči mastitidám je slibná možnost výrazného omezení tohoto onemocnění. Genetická korelace mezi PSB a mastitidami je přibližně 0,7 což znamená, že PSB slouží jako dobrý genetický odhad a může být použit v chovných programech pro selekci. Při výběru plemenných krav se může použít i genetická náchylnost k mastitidám.

Genetická standardní odchylka pro mastitidy se pohybuje v hodnotách 1,2 % až 7,0 %, což naznačuje, že výběrem pro klinické mastitidy může být dosaženo genetického zisku. Na základě údajů z dlouhodobě kontrolovaných experimentů v Norsku se ukázalo, že snížení genetické hodnoty na vnímavost vůči klinické mastitidě je dosažitelná s výběrem plemenných zvířat s příznivějším genetickým potenciálem pro klinické mastitidy. Po pěti letech selekce, se u krav vybíraných na nízkou frekvenci klinických mastitid snížil průměrný výskyt nemoci nižší než 5 %. Přičemž u dojnic selektovaných na zvýšení produkce byla frekvence mastitid vyšší než 25 % (Berry, 2011).

Zlepšení přesnosti výběru pro rezistenci mastitid stále pokračuje a zahrnuje pokroky v modelování, optimální kombinace znaků souvisejících onemocněním a jejich prediktory (morfologie vemene, definice chovatelského cíle a další) (Rupp, 2003).

4.12.1 Genomická selekce

Genomická selekce (GS) je nově vyvinutá technologie sloužící k přesné predikci plemenné hodnoty u kvantitativních znaků prostřednictvím četných markerů pokrývajících celý genom. Přesnost odhadu účinku markerů pomocí GS se pohybuje kolem 80 % (Schaeffer, 2006) a odvíjí se od použité metody, zatím dostupné metody jsou Genomic best linear unbiased prediction (G-BLUP), Bayesovské statistiky (BayesB) a kombinace modelů (MIXTURE).

Poznatky ze souboru referenčních dat lze použít na výpočet genomewide plemenné hodnoty (GW-EBV), tj. plemenná hodnota určená pomocí markerů rozprostřených po celém genomu a selekci na základě markerů genotypů (Luan, 2009).

Očekává se, že všechny genetické variace znaků budou vysvětleny a popsány pomocí dostatečně četných genomových markerů, veškeré lokusy kvantitativních znaků (QTL) jsou ve vazebné nerovnováze s minimálně jedním markerem (Callus, 2008).

GS byla poprvé představena v roce 2001 (Hayes, 2001) a bylo již provedeno mnoho výzkumných prací používajících simulovaná data, které ji potvrdily. Dostupnost jednoduchých nukleotidových polymorfismů (SNP) na markerech určila GS proveditelnou s reálnými daty (Luan, 2009).

Genomová predikce důležitých znaků u dojného skotu pomocí SNP již byla aplikována v chovech (Cuyabano, 2014). Vývoj genomických metod a zahrnutí genomických dat do selekce může výrazně zlepšit proveditelnost genetického zlepšování zdraví zvířat a snížit náklady (Gaddis, 2014).

5. Závěr

Vznik mastitid způsobuje primárně infekce patogeny. Geneticky podmíněná je míra citlivosti či odolnosti vůči nim. Vědecké práce zaměřující se na tyto predispoziční genetické faktory odhalily množství genů, které jsou pravděpodobně zodpovědné za náchylnost organismu k patogenům, imunitní odpověď nebo rezistenci ke rozvoji infekce.

Ovšem funkce a mechanismy genů jsou příliš složité a propojené, proto nikdy nebude možné vyselektovat nevhodné geny. Také polygenní charakter zánětu mléčné žlázy komplikuje přesné určení potřebných markerů. Do programu chovu skotu tedy musíme zahrnout i patřičné preventivní opatření a vhodnou, včasnou léčbu, případně vyřazení z chovu.

V práci je stručně popsána mastitida, mechanismy jejího vzniku, léčba a běžná prevence. Dále jsou popsány geny mající vztah k rozvoji zánětu mléčné žlázy. Nejvíce genů souvisejících s mastitidami bylo zatím nalezeno na 22. a 23. chromozomu *Bos taurus* (Sahana, 2014). V rámci imunitní odpovědi na infekci mléčné žlázy se zdají být nejdůležitějšími geny receptorů chemokinů (*IL8*, *CXCR1*). Další zkoumané geny patřící do skupiny hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) mají funkci v rozpoznávání antigenu.

Výzkum kandidátních genů a genetických markerů neustále intenzivně pokračuje a je snaha o co nejpřesnější určení mechanismu jejich vlivu na rezistenci k mastitidám. Vhodné lokusy by se pak mohly zařadit do selekčních programů skotu a mohla by být šlechtěna plemenná zvířata odolná proti zánětům mléčné žlázy. Zatím je tento cíl velkou snahou výzkumníků, šlechtitelů i chovatelů.

6. Literární zdroje

1. Baltian, L. R., Ripoli, M. V., Sanfilippo, S., Takeshima, S. N., Aida, Y., & Giovambattista, G. (2012). Association between BoLA-DRB3 and somatic cell count in Holstein cattle from Argentina. *Molecular biology reports*, 39(7), 7215-7220.
2. Berry, D. P., Bermingham, M. L., Good, M., & More, S. J. (2011). Genetics of animal health and disease in cattle. *Ir Vet J*, 64(1), 5.
3. Bucek, P. (2012). Vývoj odhadu plemenných hodnot pro rezistenci k mastitidám pro dojený skot v Kanadě. *Chov skotu*, 11(2)
4. Bucek, P., Hřeben, F. (2012). Kontrola zdravotního stavu mléčné žlázy dojených krav. *Chov skotu* 11(2).
5. BISHOP, S, R AXFORD, F NICHOLAS a John B OWEN. *Breeding for disease resistance in farm animals*. 3rd edition. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI, 2010, 1 online resource (viii, 362 pages)
6. DOLEŽAL, Oldřich. Mléko, dojení a dojírny. 1. vyd. Praha : AGROSPOJ, 2000. 241 s. ISBN
7. Calus, M. P. L., De Roos, A. P. W., & Veerkamp, R. F. (2008). Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. *Genetics*, 178(1), 553-561.
8. Cuyabano, B. C., Su, G., & Lund, M. S. (2014). Genomic prediction of genetic merit using LD-based haplotypes in the Nordic Holstein population. *BMC genomics*, 15(1), 1171.
9. Fonseca, I., Antunes, G. R., Paiva, D. S., Lange, C. C., Guimarães, S. E., & Martins, M. F. (2011). Differential expression of genes during mastitis in Holstein-Zebu crossbreed dairy cows. *Genetics and Molecular Research*, 10(3), 1295-1303.
10. Franzén, J., Thorburn, D., Urioste, J. I., & Strandberg, E. (2012). Genetic evaluation of mastitis liability and recovery through longitudinal analysis of transition probabilities. *Genetics Selection Evolution*, 44(1), 10.
11. Gholap P.N., Kale D.S. and Sirothia A.R. (2013). Genetic Diseases in Cattle: A Review. *Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences*, 2(2), 2320 – 6535
12. Hayes, B. J., & Goddard, M. E. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4), 1819-1829.
13. Heringstad, B., Chang, Y. M., Gianola, D., & Klemetsdal, G. (2005). Genetic analysis of clinical mastitis, milk fever, ketosis, and retained placenta in three lactations of Norwegian red cows. *Journal of dairy science*, 88(9), 3273-3281.
14. Heringstad, B., Gianola, D., Chang, Y. M., Ødegård, J., & Klemetsdal, G. (2006). Genetic associations between clinical mastitis and somatic cell score in early first-lactation cows. *Journal of dairy science*, 89(6), 2236-2244
15. Holmberg, M., Fikse, W. F., Andersson-Eklund, L., Artursson, K., & Lundén, A. (2012). Genetic analyses of pathogen-specific mastitis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 129(2), 129-137.
16. Huang, P., Lu, C., Li, J., Xu, J., Liu, Z., Wang, Q., ... & Cai, Y. (2015). Mutations in HSP70-2 gene change the susceptibility to clinical mastitis in Chinese Holstein. *Gene*.
17. Chen, R., Yang, Z., Ji, D., Mao, Y., Chen, Y., Li, Y., ... & Chang, L. (2011). Polymorphisms of the IL8 gene correlate with milking traits, SCS and mRNA level in Chinese Holstein. *Molecular biology reports*, 38(6), 4083-4088.

18. Ingman, W. V., Glynn, D. J., & Hutchinson, M. R. (2014). Inflammatory Mediators in Mastitis and Lactation Insufficiency. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 19(2), 161-167.
19. KADLEC, Ivan. Nejčastější příčiny snížení jakosti mléka : záněty mléčné žlázy. 1. vyd. Praha : Milcom servis a. s., 1994. 210 s. ISBN
20. Khan, M. Z., & Khan, A. (2006). Basic facts of mastitis in dairy animals: a review. *Pakistan Veterinary Journal*, 26(4), 204.
21. Lam T. J. G. M., Mastitis Control: From Science to Practice : Proceedings of International Conference 30 September-2 October 2008, The Hague, The Netherlands. 1. vyd. Wageningen Academic Pub, 2008. 453 s. ISBN-10: 9086860850
22. Lewin, H. A., Amills, M., Ramiya, V. K., Fries, R., & Ruvinsky, A. (1999). Molecular genetics of molecules with immunological functions: major histocompatibility complex, immunoglobulins, T-cell receptors, cytokines and their receptors. *The genetics of cattle.*, 163-197. 27
23. Luan, T., Woolliams, J. A., Lien, S., Kent, M., Svendsen, M., & Meuwissen, T. H. (2009). The accuracy of genomic selection in Norwegian red cattle assessed by cross-validation. *Genetics*, 183(3), 1119-1126.
24. Nakov, D., Hristov, S., Andonov, S., & Trajchev, M. (2014). Udder-related risk factors for clinical mastitis in dairy cows. *Veterinarski arhiv*, 84(2), 111-127.
25. NUSBAUM, Robert. Klinická genetika. 1. vyd. Praha : Triton, 2004. 425 s. ISBN 80-7254-475-6
26. Ogorevc, J., Kunej, T., Razpet, A., & Dovc, P. (2009). Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal genetics*, 40(6), 832-851.
27. Parish J. A., Smith T., (2010). Managing Genetic Defects in Beef Cattle Herds. *Service of Mississippi State University*, 1(1)
28. Poutrel, B. (1983). Susceptibility to mastitis: a review of factors related to the cow [dairy cow]. *Annales de Recherches Veterinaires (France)*.
29. Pritchard, T., Coffey, M., Mrode, R., & Wall, E. (2013). Genetic parameters for production, health, fertility and longevity traits in dairy cows. *Animal*, 7(01), 34-46.
30. Rupp, R., & Boichard, D. (2003). Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Veterinary research*, 34(5), 671-688.
31. Sahana, G., Gulbrandsen, B., Thomsen, B., Holm, L. E., Panitz, F., Brøndum, R. F., ... & Lund, M. S. (2014). Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 97(11), 7258-7275.
32. Seykora, A. J., & McDaniel, B. T. (1985). Udder and teat morphology related to mastitis resistance: a review. *Journal of dairy science*, 68(8), 2087-2093.
33. Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*, 24(3), 429-438.
34. Shook, G. E. (1989). Selection for disease resistance. *Journal of Dairy Science*, 72(5), 1349-1362.
35. Schaeffer, L. R. (2006). Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123(4), 218-223.
36. Sordillo, L. M., Shafer-Weaver, K., & DeRosa, D. (1997). Immunobiology of the mammary gland. *Journal of dairy science*, 80(8), 1851-1865.
37. SNUSTAD, D, Michael J SIMMONS, Jiřina RELICHOVÁ a Johann Gregor MENDEL. *Genetika*. Vyd. 1. Přeložil Anna Matalová. Brno: Masarykova

- univerzita, 2009. 871 s. ISBN 978-80-210-4852-2
38. SRŠEŇ, Štefan. Základy klinickej genetiky a jej molekulárna podstata. 3. vyd. Martin: Osveta, 2000. 409 s. ISBN 80-8063-021-6
 39. Sugimoto, M., Fujikawa, A., Womack, J. E., & Sugimoto, Y. (2006). Evidence that bovine forebrain embryonic zinc finger-like gene influences immune response associated with mastitis resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(17), 6454-6459.
 40. Sugimoto, M., & Sugimoto, Y. (2012). Variant in the 5' untranslated region of insulin-like growth factor 1 receptor is associated with susceptibility to mastitis in cattle. *G3: Genes| Genomes| Genetics*, 2(9), 1077-1084.
 41. THOMPSON, Margaret W. Thompson&Thompson: Genetics in medicine. 5. vyd. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1991. 500 s. ISBN 0-7216-3113-4
 42. Thompson-Crispi, K., Atalla, H., Miglior, F., & Mallard, B. A. (2014). Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. *Frontiers in immunology*, 5.
 43. Tiezzi, F., Parker-Gaddis, K. L., Cole, J. B., Clay, J. S., & Maltecca, C. (2015). A Genome-Wide Association Study for Clinical Mastitis in First Parity US Holstein Cows Using Single-Step Approach and Genomic Matrix Re-Weighting Procedure. *PloS one*, 10(2), e0114919.
 44. Ticháček, A., Pavlata L., Hanuš O., Kopunecz P., Olejník P. Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka. Agritec s.r.o. Šumperk, 2007. 86 s. ISBN 978-80-903868-0-8
 45. Uribe, H. A., Kennedy, B. W., Martin, S. W., & Kelton, D. F. (1995). Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 78(2), 421-430.
 46. Verbeke, J., Piepers, S., Peelman, L., Van Poucke, M., & De Vliegher, S. (2012). Pathogen-group specific association between CXCR1 polymorphisms and subclinical mastitis in dairy heifers. *Journal of Dairy Research*, 79(03), 341-351.
 47. Wojdak-Maksymiec, K., Szyda, J., & Strabel, T. (2013). Parity-dependent association between TNF- α and LTF gene polymorphisms and clinical mastitis in dairy cattle. *BMC veterinary research*, 9(1), 114.
 48. Wu, J., Bai, J. Y., Li, L., Huang, S., Li, C. M., & Wang, G. L. (2014). Genetic polymorphisms of the BMAP-28 and MASP-2 genes and their correlation with the somatic cell score in Chinese Holstein cattle. *Genetics and molecular research: GMR*, 14(1), 1-8.
 49. Zambrano, J. C., Echeverri, J., & López-Herrera, A. (2011). Alleles of the BoLA DRB3. 2 gene are associated with mastitis in dairy cows. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(2), 145-156.
 50. Zimin, A. V., Delcher, A. L., Florea, L., Kelley, D. R., Schatz, M. C., Puiu, D., ... & Salzberg, S. L. (2009). A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biol*, 10(4), R42.
 51. Zwald, N. R., Weigel, K. A., Chang, Y. M., Welper, R. D., & Clay, J. S. (2004). Genetic selection for health traits using producer-recorded data. II. Genetic correlations, disease probabilities, and relationships with existing traits. *Journal of dairy science*, 87(12), 4295-4302.

7. Internetový zdroj

National Center for Biotechnology Information . The Virtual Community [online]. updated on 20-Apr-2015 [cit. 15. 4. 2015]. Dostupný na World Wide Web: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>>.