

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství
Studijní obor: Živočišné biotechnologie
Katedra: Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů
Vedoucí katedry: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vybrané parametry jakosti mléka u léčených dojnic

(Selected milk quality parameters in cured cows)

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.
Konzultant diplomové práce: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.
Autor diplomové práce: Bc. Kristýna Hrubešová

České Budějovice, 2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Kristýna HRUBEŠOVÁ**
Osobní číslo: **Z12723**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Živočišné biotechnologie**
Název tématu: **Vybrané parametry jakosti mléka u léčených dojnic**
Zadávající 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 :

Rezidua inhibičních látek (RIL) jsou jedny z hlavních ukazatelů hygienické jakosti mléka a určují jeho vhodnost pro další zpracování. Jejich nejčastějším zdrojem v mléce jsou v důsledku např. léčby zánětů mléčné žlázy rezidua antibiotik.

Cílem diplomové práce bude sledování vybraných ukazatelů kvality mléka včetně RIL v mléce dojnic léčených vybranými skupinami antibiotik. Součástí práce bude analýza vybraných faktorů, které na tyto ukazatele působí.

Diplomová práce bude zpracována na základě zásad zpracování závěrečných prací uvedených na http://www.zf.jcu.cz/copy_of_students/informace-pro-studujici/dokumenty-studijniho-oddeleni/informace-pro-studujici/Jak_vypracovat_DP.pdf podle následující rámcové osnovy:

1. **Úvod** - charakteristika a význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. **Literární přehled** - současný stav poznání dané problematiky získaný studiem soudobé vědecké a odborné literatury
3. **Materiál a metodika** - popis použitých analytických metod včetně metod statistických
4. **Výsledky a diskuse** - tabulkové a grafické zpracování získaných dat navazující na cíl práce, jejich statistické vyhodnocení a porovnání s dostupnými literárními údaji
5. **Závěr** - stručné shrnutí výsledků vlastní práce, návrhy a doporučení vyplývající z řešené problematiky
6. **Summary** - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
7. **Seznam literatury** - jednotný, podle platných citačních zásad.

Rozsah grafických prací: tabulky a grafy dle potřeby

Rozsah pracovní zprávy: 35-50 stran textu

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

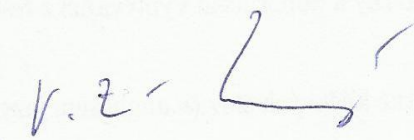
- LEE M.H. et al.: Public health risks: Chemical and antibiotic residues - Review. Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences, 2001, 14(3): 402-413.
- McEWEN S.A. et al.: Antibiotic residues (bacterial inhibitory substances) in the milk of cows treated under label and extra-label conditions. Canadian Veterinary Journal, 1992, 33(8): 527-534.
- MOLINA A. et al.: Residue persistence in sheep milk following antibiotic therapy. Veterinary Journal, 2003, 165(1): 84-89.
- Databáze WOS, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, PROQUEST, dostupné na: <http://www.lib.jcu.cz/cs/databaze>
- Vědecké a odborné články v časopisech a sbornících: př. Mlékařské listy, Mléko a sýry (Praha: VŠCHT), Ingrový dny (Brno: MENDELU) aj.
- Zákony, vyhlášky a nařízení legislativy ČR a EU týkající se zásad a požadavků na jakost a zdravotní nezávadnost živočišných produktů

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.
Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

Konzultant diplomové práce: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.
Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

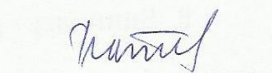
Datum zadání diplomové práce: 26. března 2013

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2014



prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13 ④
370 05 Česká Budějovice
L.S.



prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 26. března 2013

Prohlášení

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

25. dubna 2014

Bc. Kristýna Hruběšová

Poděkování

Úvodem diplomové práce bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce doc. Ing. Evě Samkové, Ph.D. a dále také MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D., za cenné rady a pomoc během zpracování diplomové práce.

Abstrakt

Práce se zabývá sledováním vybraných ukazatelů kvality mléka včetně reziduí inhibičních látek (RIL) v mléce dojnic léčených vybranými skupinami antibiotik. Součástí práce je analýza vybraných faktorů, které na tyto ukazatele působí.

Teoretická část práce pojednává o inhibičních látkách, jejich účincích na lidský organismus i na technologii zpracování. V práci jsou popsány aplikace antibiotik k léčbě mastitid a k zaprahování dojnic, včetně faktorů, které ovlivňují vylučování antibiotik mlékem. Součástí teoretické části jsou také legislativní nařízení vztahující se k této problematice. Praktická část byla rozdělena do tří částí. První část byla zaměřena na charakteristiku sledovaných léčených dojnic ve vybraných podnicích a farmách. Druhá část práce se soustředila na posouzení jakostních parametrů sledovaných vzorků (obsah tuku, bílkovin a počet somatických buněk (PSB)) a třetí část se věnovala faktorům, které ovlivnily přítomnost RIL ve vzorcích mléka.

Při stanovování jakostních ukazatelů mléka sledovaných léčených dojnic bylo potvrzeno, že obsah bílkovin i PSB jsou u těchto dojnic v důsledku onemocnění zvýšené a zjištěná průměrná hodnota PSB ani neodpovídala limitu danému legislativními předpisy. Při sledování faktorů, ovlivňujících přítomnost RIL, bylo zjištěno, že způsob aplikace léčiva a skupina použitého antibiotika měly vliv na přítomnost RIL po skončení ochranné lhůty.

Klíčová slova

mléko, kvalita mléka, antibiotika, ochranná doba, rezidua inhibičních látek

Abstract

The work deals with the monitoring of selected indicators of milk quality including residues of inhibitory substances (RIS) in the milk of cows treated with selected groups of antibiotics. It contains an analysis of selected factors that act on these indicators.

The theoretical part deals with the inhibitory substances, their effects on the human body and the processing technology. The paper describes the application of antibiotics to treat mastitis and drying off cows including factors that affect the excretion of antibiotics in milk. The legislative regulations relating to this issue are also a part of the theoretical section. The practical part is divided into three parts. The first part focuses on the characteristics observed in cows treated within selected businesses and farms. The second part is focused on the assessment of the quality parameters studied samples (fat, protein and somatic cell count (SCC)) and the third part is devoted to factors that influence the presence of RIS in milk samples.

In determining the quality indicators monitored in milk treated cows, it was confirmed that the protein content and SCC are in these cows due to disease increased and the mean value of the SCC did not correspond to a given limit legislation. When monitoring factors affecting presence RIS, it was found that the method of drug administration group and used antibiotics have influenced the presence RIS after the withdrawal period.

Keywords

milk, quality of milk, antibiotics, protection time, the residues of inhibitory substances

OBSAH

1	ÚVOD.....	10
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
2.1	Inhibiční látky a jejich rozdělení	11
2.2	Negativní účinky inhibičních látek.....	13
2.2.1	Zdravotní rizika.....	13
2.2.2	Technologické problémy.....	13
2.3	Důvody výskytu RIL	14
2.3.1	Aplikace antibiotik k léčbě mastitid.....	14
2.3.2	Aplikace antibiotik k zaprahování dojnic	16
2.4	Legislativní nařízení týkající se RIL v mléce.....	19
2.4.1	Mezní hodnoty obsahu	20
2.5	Faktory ovlivňující výskyt inhibičních látek v mléku.....	21
2.5.1	Vylučování antibiotik mlékem.....	21
2.5.2	Ochranná doba	22
2.5.3	Tepelná inaktivace antibiotik	24
3	MATERIÁL A METODIKA.....	25
3.1	Cíl práce	25
3.2	Metodika experimentální části	25
3.2.1	Charakteristika zemědělských podniků.....	27
3.2.2	Analýza vzorků	28
3.3	Statistické zpracování.....	30
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	31
4.1	Charakteristika sledovaných dojnic.....	31
4.1.1	Průměrná užitkovost za laktaci ve sledovaných chovech	32
4.1.2	Aplikace léčiv ve sledovaných chovech	33
4.2	Vybrané jakostní ukazatele mléka léčených dojnic.....	34
4.2.1	Vliv chovu na jakostní ukazatele mléka.....	36
4.2.2	Vliv plemene na jakostní ukazatele mléka.....	40
4.2.3	Vliv užitkovosti na jakostní ukazatele mléka.....	43
4.3	Faktory ovlivňující přítomnost RIL v mléce léčených dojnic.....	45
4.3.1	Vliv aplikace léčiva na přítomnost RIL	47
4.3.2	Vliv indikace léčiva na přítomnost RIL	48

4.3.3	Vliv plemene na přítomnost RIL	49
4.3.4	Vliv užítkovosti na přítomnost RIL	51
4.3.5	Vliv skupiny antibiotik na přítomnost RIL	52
5	ZÁVĚR	55
6	SUMMARY	56
7	POUŽITÁ LITERATURA	58
8	SLOVNÍK POJMŮ	66
9	SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ	67

1 ÚVOD

Mléko jako zemědělský produkt je významná surovina nejen pro výrobce, ale také pro spotřebitele. Kvalita syrového mléka je významným ukazatelem pro posouzení jeho zdravotní nezávadnosti, určení vhodnosti pro další zpracování, a slouží rovněž k jeho ocenění při zpeněžování. Mezi nejdůležitější jakostní parametry syrového mléka patří hygienická kvalita. Za jeden z nejvýznamnějších hygienických ukazatelů jsou považována rezidua inhibičních látek.

Výskyt reziduí inhibičních látek v mléku je spojen především s častým a neúměrným používáním veterinárních přípravků (antibiotik) využívaných k léčbě či zaprahování zvířat, s nedodrčováním ochranných lhůt a s nevyřazením mléka s obsahem reziduí z dodávky.

Zdravotní rizika způsobená požitím mléka kontaminovaného inhibičními látkami vyplývají zejména z příjmu mléka s obsahem malých dávek antibiotik. Takové dávky mohou ovlivnit zdraví spotřebitele přímo v důsledku změn ve skladbě přirozené střevní mikroflóry nebo způsobit zatížení organismu nežádoucími látkami, popřípadě snížit obranyschopnost organismu.

Cílem práce proto bylo sledování vybraných ukazatelů kvality mléka včetně reziduí inhibičních látek v mléce dojníc léčených vybranými skupinami antibiotik a faktorů, které na tyto ukazatele působí.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Inhibiční látky a jejich rozdělení

Inhibičními látkami se rozumí skupiny látek, jako jsou např. antibiotika, dezinfekční a sanitační prostředky, pesticidy, mykotoxiny, těžké kovy a mnoho dalších, jejichž rezidua v mléce mohou poškozovat zdraví konzumentů (Doležal et al., 2000).

Mezi nejzávažnější rezidua inhibičních látek (RIL) patří především rezidua farmakologicky účinných látek, ať už jsou to jejich účinné složky, pomocné látky nebo produkty rozkladu a jejich metabolity (Navrátilová, 2011). Tato rezidua zůstávají v potravinách pocházejících od zvířat, jimž byl podán daný veterinární léčivý přípravek.

Inhibiční látky se dělí na látky přirozeně se vyskytující a na látky cizorodé (Samková, 2010).

Látky přirozeně se vyskytující

Mezi přirozené inhibiční látky v mléce řadíme některé antibakteriální složky mléka, jako např. imunoglobuliny, lysozym nebo laktoferin. Tyto látky fungují jako ochrana před infekcí mléčné žlázy a také hrají roli v ochraně syrového mléka během skladování a transportu (Fernandes, 2009).

Imunoglobuliny plní v organismu obrannou funkci, mají schopnost vázat antigen, usnadňují fagocytózu, rozrušují buňky nebo neutralizují toxiny (Bartůňková et al., 2005). Lysozym štěpí peptidoglykany buněčné stěny grampozitivních bakterií. Hraje také důležitou roli v boji proti mastitidám (Salehin et al., 2009). Podle Samkové (2010) laktoferin inhibuje růst mikroorganismů, včetně patogenních, snížením dostupnosti železa, nebo přímou interakcí s bakteriální buněčnou stěnou, která vede ke změnám permeability.

K inaktivaci inhibičního účinku těchto látek dochází většinou při použití pasterace. Při zvýšených koncentracích nejsou inaktivovány úplně a zhoršují kysací schopnost mléka. Vyšší koncentrace přirozených inhibičních látek jsou zjišťovány např. v mastitidním mléce nebo mlezivu (Gajdůšek, 1994).

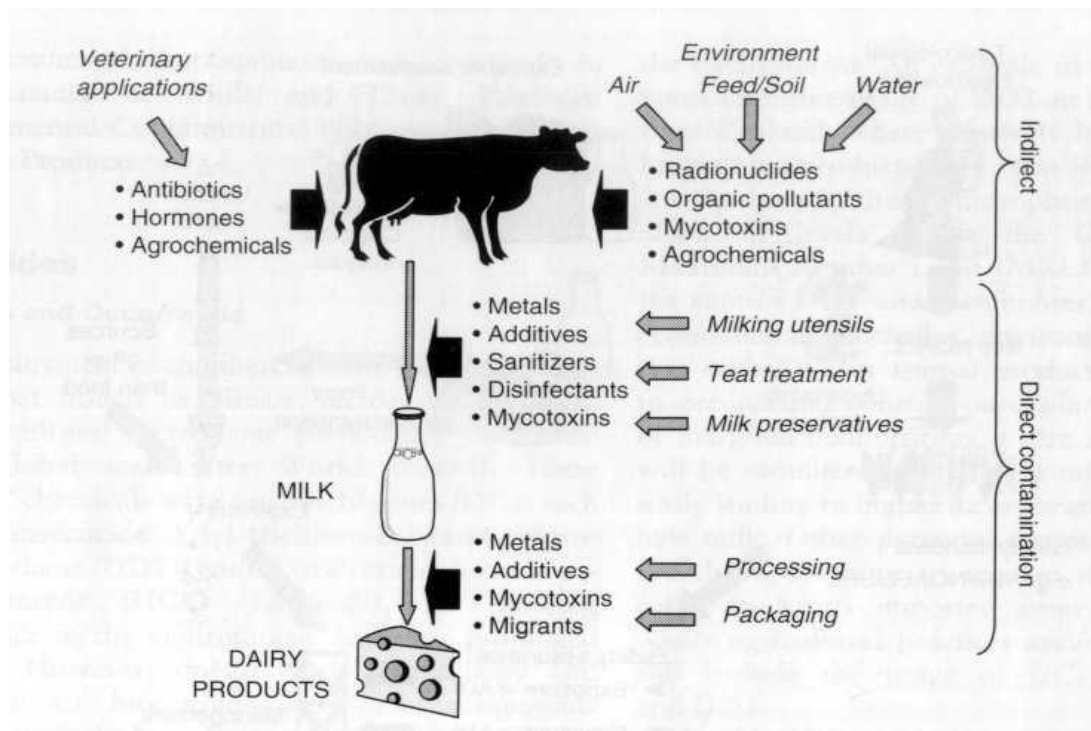
Látky cizorodé (kontaminující)

Do skupiny látek cizorodých patří jedna z nejvýznamnějších skupin, a to veterinární léčiva, především antibiotika a chemoterapeutika (Navrátilová, 2002). Mezi další přípravky používané ve veterinární praxi řadíme nitrofurany, antikokcidika, antiparazitika nebo některé mikroelementy. Zdrojem reziduí (Obr. č. 1) jsou dále např. pesticidy, sanitační prostředky používané k dezinfekci dojícího zařízení, těžké kovy, mykotoxiny a další (Kološta, 2007; Doležal, 2000).

Podle Kološty (2007) je riziko výskytu antiparazitik v mléce malé, a proto se stanovení jejich výskytu v mléce běžně neprovádí. Ektoparazitika se u laktujících dojnic téměř nepoužívají a endoparazitika se podávají většinou u mladých zvířat (nejsou ještě v laktaci), případně se léky podávají v období stání na sucho.

Stanovení hormonů v mléce směrnice Evropských společenství (ES) nepředepisují. Množství hormonů, které se využívá k léčbě, k synchronizaci říje, ke zvýšení plodnosti nebo k přípravě dárců a příjemců při přenosu embryí, nepřesahuje koncentraci fyziologického rozmezí, které se u dojnic v období gravidity vyskytuje (Kološta, 2007).

Obr. č. 1: Kontaminanty mléka a mléčných výrobků a jejich zdroje



Zdroj: Kološta (2007)

2.2 Negativní účinky inhibičních látek

Negativní účinky působení RIL jsou dvojího charakteru. Jedná se o možné škodlivé působení na lidský organismus způsobené požitím mléka s obsahem RIL nebo problémy při technologickém zpracování mléka na mléčné výrobky (Jahed Khaniki, 2007).

2.2.1 Zdravotní rizika

Některá RIL jsou známa svými kumulujícími účinky, a to především v játrech a ledvinách, u lipofilních sloučenin (např. pesticidy) v tukové tkáni. Vzhledem k jejich kumulaci v organismu a často dlouhému poločasu vylučování se mohou příznaky vyskytovat i po delší době (Samková, 2010). Řada cizorodých látek má přitom karcinogenní, hepato-, nefro- či neurotoxické účinky (Lochmann, 2008; Lüllmann, 2004).

Mezi další negativní účinky lze zařadit možnost výskytu např. alergických reakcí (Samanidou a Nisyriou, 2008). Tyto alergické reakce se odvíjejí jak od druhu použitého léčiva, koncentrace i od citlivosti konzumenta (Le Breton et al., 2006).

Holec (1994) uvádí, že rezidua čisticích a dezinfekčních prostředků mohou u osob s vyšší citlivostí vést k chorobným kožním projevům. Gajdůšek (1994) doplňuje technologická rizika spojená s výrazným inhibičním efektem reziduí čisticích a dezinfekčních prostředků. V mléce dochází ke snížení antioxidační kapacity, tj. schopnosti vychytávat, redukovat radikály, vzrůstá podíl volných kyslíkových radikálů, které se mohou podílet na vzniku a vývoji diabetes nebo nádorových onemocnění.

2.2.2 Technologické problémy

Kromě možného poškození lidského zdraví je dalším problémem výskytu RIL inaktivace čistých mlékařských kultur (ČMK), a to z důvodu bakteriostatického či baktericidního působení (Sýkorová Goffová et al., 2012; Kostelníková, 2008). Inhibicí mikroorganismů mlékárenských kultur dochází k nedostatečné fermentaci projevující se nedostatečným okyslením výrobků a z toho plynoucích změn smyslového profilu těchto výrobků (Jahed Khaniki, 2007; Samková, 2010). RIL nejvíce ovlivňují výrobu kysaných mléčných produktů a sýrů (Ruegg, 2013).

Současně může dojít k rozvoji nežádoucí kontaminační mikroflóry (Sýkorová Goffová et al., 2012).

Z těžkých kovů vykazuje toxický účinek na růst a metabolismus bakterií mléčného kysání kadmium. Bylo zjištěno, že koncentrace $7 \mu\text{g.l}^{-1}$ kadmia způsobila po 24 hodinovém působení v odstředěném mléce výraznou inhibici mlékárenských kultur (Kološta, 2007).

Při výzkumech prováděných s mykotoxinem zearalenonem a jeho vlivu na fermentační procesy při výrobě jogurtů bylo prokázáno, že i velmi nízké a reálné koncentrace tohoto mykotoxinu (0, 10, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g.l}^{-1}$) významně negativně ovlivňují fermentační proces, přičemž mezi koncentracemi mykotoxinu nejsou v negativním účinku na ušlechtilou mlékárenskou kulturu příliš podstatné rozdíly. Účinky nízkých koncentrací jsou velmi podobné a srovnatelné s účinky vyšších dávek zearalenonu (Kološta, 2007).

Vzhledem k charakteru diplomové práce bude pozornost dále zaměřena převážně na veterinární léčiva.

2.3 Důvody výskytu RIL

Výskyt reziduí veterinárních léčiv v mléce je z největší části zapříčiněn častým léčením (mastitida) a zaprahováním zvířat pomocí antibiotických preparátů (Knappstein et al., 2004).

2.3.1 Aplikace antibiotik k léčbě mastitid

Mastitidy jsou zánětlivá onemocnění mléčné žlázy, která nejčastěji způsobují mikrobiální patogeny (Jičínská a Havlová, 1995). Mezi nejběžnější původce mastitid patří *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* (Ferguson et al., 2007; Smith a Compton, 2003). Mimo klinických příznaků, jako je zarudnutí, otok a bolestivost mléčné žlázy, ovlivňují mastitidy jakost mléka, dochází ke snížení produkce, k senzorickým změnám a ke změnám ve složení mléka. Snižuje se nutriční hodnota mléka a technologická zpracovatelnost. Při zánětech mléčné žlázy se do mléka uvolňuje velké množství somatických buněk a mikroorganismů.

Hlavní snahou je minimalizování výskytu mastitid, jelikož úplná eradikace není při současné technologii chovu dojnic zcela možná. Tlumení mastitid má zvyšovat ekonomické ukazatele chovu dojnic a zvyšovat kvalitu mléka. Základní strategie tlumení mastitid jsou eliminace existujících mastitid a prevence vzniku nových mastitid (Škarda et al., 2000). Prevence vzniku mastitid spočívá v uplatňování vhodných antimastitidních programů (Jensen et al., 2013; Viguier et al., 2009).

Léčba klinických mastitid probíhá nejčastěji pomocí antibiotik (baktericidní, bakteriostatická, úzkospektrální a širokospektrální) (Lee, 2001).

Způsoby aplikace

Dnes se celosvětově používají dva způsoby podání léků při akutní mastitidě, a to parenterální (intramuskulární injekcí) a intramamární. Parenterální léčba je doplňkovou terapií intramamární léčby při perakutní a akutní mastitidě (Dobšíková et al., 2012).

Antibiotický přípravek určený pro intramamární podání musí splňovat následující: minimálně iritovat mléčnou žlázu, vykazovat nízkou minimální inhibiční koncentraci pro většinu patogenních mikroorganismů vemene, mít nízký stupeň vázání na bílkoviny mléka a tkáň mléčné žlázy, vykazovat znaky slabé zásady, mít dostatečnou rozpustnost v lipidech a vyžadovat krátké období pro vyřazení mléka z dodávky od léčené dojnice (Demnerová a Hochel, 2013; Kološta, 2007).

Při intramuskulárním podání dochází k poměrně rychlému nástupu účinku, a to v závislosti na míře prokrvení místa aplikace. Při tomto způsobu podání dochází nejdříve k absorpci léčiva z místa aplikace do přilehlých kapilár a poté do krevního oběhu (Dobšíková et al., 2012).

Skupiny antibiotik

Mezi nejčastěji používaná antibiotika pro léčbu mastitid řadíme β -laktamová antibiotika (např. ampicillin, amoxicillin, penicilin G), díky schopnosti difúze a distribuce v mléčné žláze (Colak, 2007; Lara et al., 2012). β -laktamová antibiotika svými baktericidními účinky brzdí syntézu buněčné stěny mikroorganismů (Lee, 2001).

Mezi další používané látky s baktericidním účinkem patří aminoglykosidová antibiotika. Jedná se o produkty bakterií *Streptomyces* nebo *Micromonospora*. Řadíme sem gentamycin, neomycin, dihydrostreptomycin nebo streptomycin. Aminoglykosidová antibiotika jsou známa svou ototoxicitou a nefrotoxicitou (Colak, 2007).

Další skupinou jsou antibiotika tetracyklinová, která se řadí do skupiny širokospektrálních antibiotik. Tetracyklinová antibiotika působí primárně bakteriostaticky především proti intracelulárním gramnegativním bakteriím a i proti mnoha druhům grampozitivních bakterií. Často využívané jsou např. oxytetracyklin, chlortetracyklin, tetracyklin nebo doxycyklin (Lee, 2001).

Riziko vzniku antibiotické rezistence

Podle Votavy et al. (2003) zavedení antibiotik do procesu léčení odstartovalo vývoj kmenů bakterií rezistentních vůči těmto látkám, a to zejména díky jejich častému a neúměrnému používání. První výskyt rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* byl popsán již v roce 1942, od té doby se počty rezistentních mikroorganismů neustále zvyšují.

2.3.2 Aplikace antibiotik k zaprahování dojníc

Velice důležitým krokem, který přispívá k úspěšnosti zvládnutí mastitidní situace po otelení je proces zaprahování (Anderson a Cote, 1990). Řada autorů uvádí, že v období stání na sucho vzniká více než 60 % nových infekcí. Zaprahovat lze buď s využitím antibiotik nebo neantibiotických přípravků. O zvoleném způsobu zaprahování se rozhoduje jednak na základě aktuálního zdravotního stavu mléčné žlázy, dále dle onemocnění mastitidou v posledních dvou měsících i v průběhu celé laktace (Seydlová, 2011).

Pokud v průběhu laktace nebyly u mléčné žlázy zaznamenány žádné zdravotní problémy a počet somatických buněk (PSB) dosahoval hodnot do 200 000 v 1 ml mléka, lze použít neantibiotický způsob zaprahování, např. pomocí přípravku Orbeseal (Ticháček, 2007).

Důvodem aplikace antibiotických přípravků je fakt, že k tvorbě mléka ve vemeni dochází i po posledním dojení, a jelikož toto mléko není již oddojováno, může dojít k masivnímu pomnožení patogenních mikroorganismů, které mohou vyvolat až těžké záněty (Seydlová, 2011).

Pokud v průběhu laktace byly u dojnice zjištěny hodnoty PSB vyšší než 200 000, ale bez klinického nálezu mastitidy, je třeba aplikovat antibiotikum (dle citlivosti na zjištěné patogeny) do jednotlivých struků a opatřit je strukovou zátkou Orbesealem.

Při zjištění mastitidy v době zaprahování se nejprve provede přeléčení antibiotiky určenými pro léčbu v laktaci a teprve poté se dojnice „zasuší“ podle předkládaného schématu antibiotiky (Ticháček, 2007).

Nejzávažnější situace nastává, pokud se u dojnice vyskytly dlouhodobé a opakované problémy se zdravotním stavem mléčné žlázy a nedařily se léčit. V takovémto případě se osvědčil následující postup: tři intramamární aplikace antibiotika pro léčení v laktaci, v návaznosti na to jedna intramamární aplikace antibiotika v době stání na sucho a následně pak minimálně 2 až 3 intramuskulární aplikace antibiotika s prodlouženým účinkem (Seydlová, 2011).

V intramamárních přípravcích jsou z účinných látek nejčastěji zastoupena β -laktamová antibiotika, zejména s účinnou látkou kloxacilinem. Přípravky určené pro období zaprahnutí bývají často označeny zkratkou DC (dry cow) (Pokludová et al., 2007). V České republice je v současnosti registrováno 15 těchto přípravků (Tab. č. 1).

Tab. č. 1: Registrované intramamární přípravky pro krávy stojící na sucho

Přípravek	Složení
Bovaclox DC Xtra	cloxacillinum, ampicillinum
Cepravin DC	cefalonium
Cobactan DC*	cefquinomum
Codilac	cloxacillinum
Drycloxa	cloxacillinum
Fatroximin DC*	rifaximinum
Kefamast DC	cefalexinum, dihydrostreptomycinum
Kloxerate plus DC	cloxacillinum, ampicillinum
Mastidry	cloxacillinum, ampicillinum
Nafpenzal DC	procaini benzylpencillinum monohydricum, nafcillinum Na monohydricum, dihydrostreptomycinum sulfas
Noroclox DC Xtra	cloxacillinum
Orbenin DC	cloxacillinum
Orbenin Extra DC	cloxacillinum
Polydry	cloxacillinum, neomycini sulfas
Rilexine	cefalexinum

Zdroj: Kvapilík et al. (2010) - upraveno

* - přípravek s indikačním omezením

Intramamární přípravky používané pro léčbu na konci laktace způsobují dlouhodobé a pozvolné uvolňování účinné látky, a tím působí v průběhu celé doby stání na sucho. Antimikrobiální složení zajišťuje vyšší stupeň vazby na bílkoviny tkání mléčné žlázy a tkání sekrečních. Na rozdíl od látek podávaných v laktaci se většinou aplikují pouze jednorázově a obsah účinné látky je relativně vyšší. Mezi důležité parametry účinné látky patří stabilita v prodlouženém intervalu působení, vhodně zvolená pomocná látka a jejich nedráždivost s ohledem na dlouhodobou perzistenci ve tkáních (Pokludová et al., 2007).

Jedním z přípravků využívaných v době zaprahování s účinnou látkou kloxacilinem a ampicilinem je např. intramamární suspenze Kloxerate Plus DC. Přípravek je určen k léčbě mastitidy dojnic v období zaprahnutí vyvolané citlivými bakteriálními kmeny (např. *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* včetně kmenů rezistentních k penicilinu, *Corynebacterium pyogenes* či *Escherichia coli*). Ochranná lhůta je u masa 28 dní a u mléka 96 hodin. Pokud dojde k otelení dříve než za 45 dní po poslední aplikaci přípravku, je mléko vhodné pro lidský konzum za 45 dnů plus 96 hodin. Dalším přípravkem je např. Mastidry (Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, 2011).

Při používání antibiotik ať z léčebných či preventivních důvodů, vždy je nutno dbát na určitá pravidla použití. Ticháček (2007) shrnuje tato pravidla takto:

- důsledné označování léčených zvířat;
- vedení písemných záznamů o způsobu léčby;
- vyloučení mléka léčených krav z dodávky minimálně po dobu ochranné lhůty léčiva (dojení do konví, omytí použitého dojicího stroje).

2.4 Legislativní nařízení týkající se RIL v mléce

V roce 1990 bylo vydáno Nařízení Rady (EHS) č. 2377/90, kterým se stanoví postup Společenství pro stanovení maximálních limitů reziduí veterinárních léčiv v potravinách živočišného původu. Toto nařízení, včetně jeho čtyř příloh (tzv. annexů I - IV) bylo platné až do roku 2009.

V roce 2009 bylo vydáno Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu, kterým se zrušuje původní Nařízení Rady (EHS) č. 2377/90 a kterým se mění Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/82/ES a Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 726/2004.

Od roku 2010 je platné Nařízení Komise (EU) č. 37/2010 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu.

2.4.1 Mezní hodnoty obsahu

Pro toxické a nežádoucí látky jsou na základě jejich působení na lidský organismus stanoveny mezní hodnoty jejich obsahu. Vlivy toxických látek na zdraví člověka jsou odvozovány z výsledků získaných v pokusech na zvířatech (Kološta, 2007; Navrátilová, 2011).

NOEL (No Observed Effect Level)

Podle Směrnice Komise 93/67/EHS jde o množství látky udané v mg.kg^{-1} živé hmotnosti, které neovlivňuje organismus po stránce klinické a dále neovlivňuje ani hematologické a enzymatické parametry krve a histologický obraz tkání.

ADI (acceptable daily intake)

Dle Nařízení Rady (EHS) č. 2377/90 tento pojem znamená, že denní příjem látky v udaném množství (mg.kg^{-1}) během celého života nepředstavuje s ohledem na současné znalosti zdravotní riziko. Např. povolený limit aflatoxinů u poživatin pro lidskou potřebu je $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (pro kojeneckou výživu $0,1 \mu\text{g.kg}^{-1}$) a u pesticidu DDT (dichlordiphenyltrichlorethan) $0,3 \text{ mg.60 kg}^{-1}$ (Herčík et al., 2013).

MRL (maximum residue limit)

Nejvýznamnějším limitem v případě antibiotik je maximální reziduální limit (MRL). Nařízení Rady (EHS) č. 2377/90 definuje MRL jako maximální přípustnou koncentraci látky v mg.kg^{-1} potraviny. Hodnoty MRL pro farmakologicky aktivní látky (Tab. č. 2) jsou podkladem pro stanovení ochranných lhůt veterinárních léčivých přípravků, aplikovaných potravinovým zvířatům (Billová, 2010).

MRL je stanoven podle typu a koncentrace rezidua, které není rizikové pro lidské zdraví, vyjádřené na základě limitu ADI a s možností analýzy dostupnými metodami (Sýkorová Goffová et al., 2012).

Suroviny, u nichž obsah reziduí překročil hodnotu MRL, nesmí být zařazeny do výroby potravin ani pro přímou výživu lidí (Navrátilová, 2011). Platnost nejvyšších zbytkových množství je stanovena na základě současného vědeckého poznání, a proto je nutné tyto hodnoty považovat za dočasné (Kološta, 2007).

Tab. č. 2: Maximální reziduální limit vybraných antibiotik v mléku ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Beta-laktamy		Ostatní ATB	
Amoxicilin	4	Flumechin	50
Ampicilin	4	Linkomycin	150
Cefacetrile	125	Trimethoprim	50
Cefalexin	100	Makrolidy	
Cefalonium	20	Erythromycin	40
Cefapirin	60	Spiramycin	200
Cefoperazon	50	Tylosin	50
Ceftiofur	100	Sulfonamidy	
Cloxacilin	30	Sulfathiazol	100
Dikloxacilin	30	Sulfamethazin	100
Nafcilin	30	Sulfadoxin	100
Oxacilin	30	Sulfadiazin	100
Penicilin	4	Sulfamerazin	100
Tetracykliny		Sulfacetamide	100
Dioxycylin	100	Aminoglykosidy	
Chlortetracyklin	100	Neomycin	1500
Oxytetracyklin	100	Spektinomycin	200
Tetracyklin	100	Streptomycin	200

Zdroj: Nařízení Komise (EU) č. 37/2010 – upraveno

LD₅₀ limit (median lethal dose)

Stanovení letální dávky toxických látek pro člověka je náročné. Vzhledem k této skutečnosti se využívá údajů zjištěných na souboru zvířat. Směrnice Komise 93/67/EHS označuje dávku, při níž uhynie 50 % pokusných zvířat, jako LD₅₀ – střední smrtelnou dávku. Vyjadřujeme ji obvykle v mg.kg^{-1} živé hmotnosti zvířete.

2.5 Faktory ovlivňující výskyt inhibičních látek v mléku

Mezi významné faktory ovlivňující výskyt inhibičních látek v mléku lze zařadit vylučování antibiotik mlékem, ochrannou dobu nebo tepelnou inaktivaci antibiotik.

2.5.1 Vylučování antibiotik mlékem

Roncada et al. (2000) uvádí, že množství léčiv a délka, po kterou se léky vylučují při parenterální a intramamární aplikaci, je většinou přímo úměrná velikosti použité dávky, jejich farmakokinetickým a farmakodynamickým vlastnostem podmíněných hlavně použitým nosičem (vehikulem).

Vylučování závisí i na rychlosti znovu se obnovujících procesů, ne tedy jen na stupni patologických změn a patologického procesu probíhajícího v mléčné žláze a frekvenci vydojování postižené oblasti. Při aplikaci antibiotik pouze do jedné nebo několika čtvrtí procházejí antibiotika i do mléka z neléčených čtvrtí, a to tak, že po resorpci do krevního oběhu se vylučují mlékem i ze čtvrtí neléčených skoro ve stejných koncentracích jako ze čtvrtí léčených. Antibiotika a jejich proces vylučování mlékem je řízen dynamickým zákonem eliminace těchto látek z organismu. Největší koncentrace antibiotik v mléce je po šesti hodinách od jejich podání a s postupem času hladina klesá, až vymizí (Holec, 1994).

U intramamárně podávaných přípravků bylo prokázáno, že přípravky rozpustné ve vodě, resp. emulgované v jednoduchých olejových suspenzích, se vylučují rychleji než přípravky rozpustné v tucích. Rezidua u depotních forem přípravků se vylučují mnohem déle, přičemž intramamární přípravky pro léčbu dojnic v období stání na sucho mají zjevně depotní (resp. protražované) účinky. Po jejich aplikaci laktujícím dojnícím se objevují rezidua v mléce ošetřené čtvrtě (ale i sousedních) po dlouhou dobu, tj. 10 a více dní (Holec, 1994; Kološta, 2007).

Mechanismus vylučování sulfonamidů z mléčné žlázy je obdobný jako u antibiotik. Doba, po kterou se vylučují sulfonamidy mlékem, závisí na druhu preparátu, způsobu aplikace a aplikovaného množství (Holec, 1994).

2.5.2 Ochranná doba

V Zákonu č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně souvisejících zákonů (veterinární zákon), nebo v Zákonu č. 378/2007 Sb., o léčivech, je pojem ochranná doba popsán jako období mezi posledním podáním léčivého přípravku zvířatům za běžných podmínek používání příslušného přípravku a okamžikem, kdy lze od těchto zvířat získávat potraviny tak, aby bylo zajištěno, že tyto potraviny neobsahují rezidua léčivého přípravku v množstvích přesahujících maximální limity stanovené zvláštními právními předpisy a předpisy Evropské unie.

Zvířata, kterým byla aplikována léčiva, mohou být využívána k získání a výrobě produktů určených pro lidskou spotřebu až po uplynutí ochranné doby (Tab. č. 3). Pokud se ochranná lhůta u léčiva pro daný druh nebo kategorii zvířat nevyskytuje, stanoví veterinář standardní ochrannou dobu, a to nejméně 7 dnů pro mléko a 28 dní pro maso (Billová, 2002; Navrátilová, 2011).

Uváděná ochranná lhůta nemusí u jednotlivých přípravků platit pro každou dojnici, neboť byla zjištěna z testů na skupině zvířat. U každé dojnice je délka vylučování přípravků různě dlouhá, a to v závislosti na metabolickém a zdravotním stavu (zejména výkonnosti jater) a individualitě dojnice. Jsou i případy, kde více jak 20 % dojníc po antibiotické léčbě vykazovalo po ukončení ochranné lhůty pozitivní nálezy RIL. Nejčastější překročení ochranné lhůty (i o 6 až 7 dní) bývá zaznamenáno u cefapirinu a penicilinu (Kološta, 2007).

Problémy mohou nastat také u dojníc, kterým se k léčbě mastitidy v době stání na sucho podávají antibiotika s dlouhodobým účinkem. Byly zaznamenány i případy, kdy i 21 dnů po ošetření se v mléce stále vyskytovala rezidua podaného přípravku a šestý den po otelení bylo pozitivních 20 až 40 % zvířat (Kološta, 2007).

Tab. č. 3: Ochranné doby u vybraných přípravků

Název přípravku	Ochranná doba	Indikace
Drycloxa - kel	Zaprahlost > 35 dní: 96 hod. po porodu Zaprahlost < 35 dní: 39 dnů po aplikaci	Léčba mastitidy v období zaprahnutí
Kloxerate Pluc DC	Zaprahlost > 49 dní: 96 hod. po porodu Zaprahlost < 49 dní: 49 dnů plus 96 hod.	Léčba mastitidy v období zaprahnutí
Multishield DC	Zaprahlost > 50 dní: 96 hod. po porodu Zaprahlost < 50 dní: 50 dnů plus 96 hod. po aplikaci	Léčba mastitidy v období zaprahnutí
Nafpenzal DC	Zaprahlost > 35 dní: 96 hod. po porodu Zaprahlost < 35 dní: 35 dnů plus 4 dny	Léčba mastitidy v období zaprahnutí
Ampiclox LC	60 hodin (5 dojení)	Léčba mastitidy v období laktace
Mastiplan LC	132 hodin (5,5 dne)	Léčba mastitidy v období laktace
Synolux	84 hodin (7 dojení)	Léčba mastitidy v období laktace
Tetra Delta	72 hodin (3 dny)	Léčba mastitidy v období laktace

Zdroj: Dočkalová (2013) – upraveno

2.5.3 Tepelná inaktivace antibiotik

Tepelná inaktivace antibiotik je u mléka složitější než u jiných potravin živočišného původu, jelikož se tepelné ošetření mléka provádí oproti jiným potravinám v krátkém časovém intervalu.

Zahřátí mléka na 80 °C po dobu 5 minut nemá téměř žádný vliv na kvantitu antibiotik v mléce. Větší míra inaktivace antibiotik byla zjištěna až při zahřátí mléka na 98 °C po dobu 10 minut. Pod hranici biologických metod důkazu se snížila u penicilinu koncentrace o 0,007 m.j..ml⁻¹ (mezinárodní jednotka), u tetracyklinu o 0,125 µg.ml⁻¹ nebo o 0,25 µg.ml⁻¹ u streptomycinu. Ostatní léčiva jsou vůči teplotám pasterizace a varu mléka odolné (Kološta, 2007).

Kellnerová et al. (2013) zkoumala vliv vysoké pasterace (85 °C/3 s) na obsah reziduí tetracyklinu a oxytetracyklinu. Zatímco u tetracyklinu došlo ke statisticky nevýznamnému snížení obsahu (o 5,74 %), obsah reziduí oxytetracyklinu se účinkem pasterace statisticky vysoce významně snížil ($p = 0,01$) o 15,3 %.

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo sledování vybraných ukazatelů kvality mléka včetně RIL v mléce dojnic léčených vybranými skupinami antibiotik. Součástí práce byla analýza vybraných faktorů, které na tyto ukazatele působí.

3.2 Metodika experimentální části

V období od října 2012 do října 2013 byla sledována přítomnost RIL v mléce dojnic léčených (n = 82), příp. zaprahovaných pomocí antibiotik (n = 26). V různých časových intervalech po aplikaci léčiva bylo od těchto dojnic získáno celkem 161 vzorků, které byly odebírány vždy z ranního nádoje, a to v šesti chovech - Tab č. 4.

Tab. č. 4: Rozdělení a počty vzorků podle chovů a příčin použití léčiva

	Mastitis	Zaprahování	Ostatní léčba	Celkový počet vzorků podle:			
				skupiny léčiv		léčiva	
Doba po aplikaci léčiva	1 - 16	21 - 98	1 - 11	n	%	n	%
Chov I.	42	0	0	42	26	62	32
Chov II.	40	25	4	69	43	71	37
Chov III.	20	0	5	25	16	34	18
Soukromé chovy	13	12	0	25	16	25	13
Celkem	115	37	9	161	100	192	100

Pro každý vzorek byly sledovány následující ukazatele:

- místo odběru (3 velkokapacitní kravíny, 3 soukromě hospodařící zemědělci);
- skupina použitého VLP (tetracykliny, β -laktamy, cefalosporiny, sulfonamidy, kombinace);
- použité VLP (18 přípravků: ENGEMYCIN, ALAMYCIN, TETRA DELTA, ORBENIN DC, KLOXERATE, SHOTAPEN, NOROBITIN, NOROCILIN, NOROCLAV, SYNULOX LC, AMPICLOX, DRYCLOXA-KEL, MASTIPLAN, COBACTAN, CEFTIOCYL, NOROSTREP, DUOFAST);
- indikace (léčba - mastitis, léčba - ostatní, zaprahování);
- doba po aplikaci léčiva (1. - 5. den; 6. - 10. den; 11. - 16. den; 21. - 46. den; 47. - 71. den; 72. den a více);
- doba ochranné lhůty (stanovení RIL před a po skončení OL);
- detekce přítomnosti RIL (0 - negativní; 1 - pozitivní);
- obsah tuku a bílkovin, PSB.

3.2.1 Charakteristika zemědělských podniků

Jednotlivé chovy jsou označeny velkými písmeny abecedy, dále budou v textu uváděna pouze tato písmena. Chov 1 = A, chov 2 = B, chov 3 = C a soukromé chovy = D.

Tab. č. 5: Charakteristika jednotlivých chovů

Charakteristika chovů					
Chov		A	B	C	D
Zemědělská půda (ha)		1096	1339	860	400
Rostlinná výroba		obiloviny luskoviny osiva	obiloviny	obiloviny	řepka obiloviny jeteloviny
Živočišná výroba	Plemena dojnic	holštýnské české strakaté	holštýnské	holštýnské české strakaté	holštýnské české strakaté
	Počet kusů dojnic	235	247	434	127
Ustájení	Počet objektů pro chov skotu	4	4	3	4
	Telata	36 VIB	42 VIB	VIB	VIB
	Jalovice	volné stelivové	volné bezstel. volné stelivové	volné stelivové	volné stelivové
	Zaprahnuté dojnice	volné stelivové	volné stelivové	volné stelivové	volné stelivové
	Dojnice	volné stelivové	volné stelivové	volné stelivové	volné bezstel. volné stelivové
Krmení		MKV do žlabů	žlaby pásky	MKV do krmiště	žlaby MKV do krmiště
Typ dojírny		rybinový 2x12	tandemový 2x5	tandemový 2x4	rybinový 2x5 rybinový 2x4

MKV = míchací krmný vůz; VIB = venkovní individuální boxy

3.2.2 Analýza vzorků

Vzorky byly analyzovány v Centrální laboratoři MADETA a.s., která je akreditována pro chemické analýzy a mikrobiologické zkoušky mléka dle ČSN EN ISO/IEC 17025 : 2005.

Stanovení RIL

Stanovení RIL se provádí podle platných standardních operačních postupů (SOP) zpracovaných dle návodu výrobce testů. Přítomnost RIL byla analyzována pomocí dvou různých screeningových metod, a to selektivním receptorovým testem TWINSENSOR BT 020 (SOP 02, 2011) a širokospektrálním testem DELVOTEST SP-NT (SOP 08, 2012) založeným na mikrobiologickém principu.

TWINSENSOR BT

Test je ve formátu ponorného proužku pro selektivní detekci antibiotik. Umožňuje současnou detekci antibiotik β -laktamových spolu s cefalosporiny a dále tetracyklinových antibiotik. Principem je receptorová analýza. Test se skládá ze dvou prvků. Prvním je mikrojamka obsahující přesné množství obou receptorů a protilátek vázaných na částice zlata a z ponorného proužku vytvořeného z membrán, tvořících testovací linky umístěné z obou stran kontrolní Twinsensor BT linky. Linka zachytávající peniciliny se nachází pod kontrolní linkou, zatímco linka specifická pro tetracykliny nad kontrolní linkou. Doba stanovení je kolem 6 minut.

Typy testu

BT 020 - detekce tetracyklinových antibiotik - $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (100 ppb)

BT 034 - detekce tetracyklinových antibiotik - $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (10 ppb)

Pracovní postup

Vzorek mléka o obsahu 200 μl se napipetuje do mikrojamky testu, promíchá se s obsahem jamky a následně se inkubuje po dobu 3 minut při 40 °C. Po zaznění signálu inkubátoru se do každé jamky ponoří testovací proužek a opět se vzorek nechá inkubovat 3 minuty při 40 °C. Testovaný vzorek začne vzlínat po proužku přes zachytné zóny. Jestliže je vzorek prostý antibiotik, objeví se barevné linky v daných zónách, které indikují nepřítomnost daného analytu ve vzorku mléka. Opačně, jestliže jsou ve vzorku přítomna antibiotika, neobjeví se v daných zachytných zónách barevné linky.

Po skončení inkubace se vyhodnotí barevná intenzita linek vizuálně nebo pomocí ReadSensoru.

DELVOTEST SP – NT

Jedná se o standardní difuzní test pro spolehlivé stanovení RIL v mléce a mléčných výrobcích, umožňující detekci širokého spektra antibiotik, sulfonamidů i dezinfekčních látek. Agarové živné médium (umístěné v ampulích či mikrotitračních destičkách) obsahuje přesně definované množství spor mikroorganismu *Bacillus stearothermophilus* v. c. C953, které jsou velice citlivé na RIL. V případě negativního vzorku se uvedený kmen během inkubace pomnožuje, produkuje kyseliny a mění se pH média, což způsobuje změnu zbarvení média.

Typy testu

DELVOTEST SP- NT 5 PACK - mikrotitrační destičky

DELVOTEST SP- NT – ampule

Pracovní postup

Z mikrodestičky se nejprve odstraní hliníková fólie, chránící médium před vyschnutím. Jako kontrolní test se napipetuje do první mikrojamky 0,1 ml obnoveného sušeného mléka, které neobsahuje antibakteriální rezidua (1 g sušeného mléka se rozpustí v 9 ml destilované vody). Do dalších mikrojamek se napipetuje vždy 0,1 ml testovaného vzorku mléka. Pro každý vzorek je nutné použít vždy čistou pipetu. Destička se důkladně přelepí proužky samolepicí pásky a vloží se vrchem nahoru do termostatu s teplotou $64 \pm 0,5$ °C. Inkubace probíhá 3 hodiny a je ukončena při změně barvy mikrojamky s kontrolním negativním vzorkem. Test se při hodnocení obrátí dnem vzhůru a výsledky se vyhodnocují dle barevné stupnice. Žluté zbarvení znamená, že je výsledek negativní, nejsou přítomna antibiotika nad stanovený limit. Fialové zbarvení vypovídá o tom, že výsledek je pozitivní na přítomnost antibiotik, jejichž koncentrace překračuje stanovený limit. Žlutá / fialová barva ukazuje přítomnost antibiotik v koncentraci ležící okolo uváděného limitu.

Stanovení tuku, bílkovin a PSB

Stanovení základních složek mléka podléhá normě ČSN 57 0536, stanovení PSB ČSN EN ISO 13 366-3. Vzorky pro stanovení základních složek mléka (tuk a bílkoviny) a PSB byly analyzovány na přístroji COMBIFOSS FT 6000, který je tvořen spojením přístrojů Milcoscan 6000 FT a Fossomatic 5000. Analýza vzorků mléka na infračerveném absorpčním analyzátoru Milcoscan 6000 FT je založena na FTIR technologii, přístroj Fossomatic 5000 je založen na principu průtokové cytometrie.

3.3 Statistické zpracování

Při statistickém zpracování dat byly pro výpočty výsledků využity programy Microsoft Excel a Statistica Cz 6.1 (Statsoft ČR). V programu Microsoft Excel byla získaná data rozdělena do tří souborů: charakteristika sledovaných dojníc ($n = 87$), jakostní ukazatele mléka sledovaných léčených dojníc ($n = 161$) a přítomnost RIL ve vzorcích mléka po ukončení ochranné lhůty ($n = 128$).

V programu Statistica 6.0 byly u vybraných proměnných vypočítány základní statistické charakteristiky a podle typu proměnné vytvořeny tabulky četností, rozkladové tabulky popisných statistik (kvantitativní proměnné), příp. kontingenční tabulky (kvalitativní proměnné).

V případě kvantitativních proměnných byly vyhodnoceny předpoklady pro užití parametrických metod a k analýze vlivů byla použita jednofaktorová analýza rozptylu. Pro porovnání (post-hoc testy) ve skupinách byl použit Fisherův LSD test na hladině významnosti $p < 0,05$.

K ověření statistické průkaznosti závislosti kvalitativních proměnných v rámci kontingenčních tabulek (nezávislé vzorky) byl zvolen chí-kvadrát test (X^2). Pro posouzení rozdílů mezi jednotlivými metodami detekce RIL (závislé vzorky) byl využit Wilcoxonův párový test.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnocení dat diplomové práce bylo rozděleno do tří částí. První část se zabývala mírou užítkovosti sledovaných dojnic a četností jejich léčení. Druhá část práce se soustředila na posouzení jakostních parametrů sledovaných vzorků, které byly analyzovány na obsah tuku, bílkovin a počet somatických buněk (PSB). Třetí část se věnovala faktorům, které ovlivnily přítomnost RIL ve vzorcích mléka.

4.1 Charakteristika sledovaných dojnic

V jednotlivých chovech byly sledovány vybrané léčené dojnice, u kterých byly zjišťovány následující údaje: plemeno (Tab. č. 6), parametry užítkovosti (Tab. č. 7 a 8) od narození až do současnosti a podávání veterinárních léčiv (antibiotik) (Tab. č. 9, 10 a 11). Data týkající se užítkovosti byla získávána z kontrolních listů dojnic a informace o léčení se zjišťovaly z knihy registrující veterinární úkony. Z důvodu nevedení řádného registru veterinárních úkonů, jsou sledované údaje o léčbě dojnic uváděny pouze za rok 2013.

Z tabulky č. 6, ve které je uvedeno zastoupení plemen v jednotlivých chovech, je patrné, že na farmě A je největší zastoupení dojnic plemene český strakatý skot (55 %) a na farmě B plemene holštýnského (86 %). Na farmě C je největší zastoupení kříženců s převahou holštýnského skotu (60 %) a na farmě D je největší zastoupení kříženců s převahou plemene českého strakatého skotu (47 %).

Tab. č. 6: Zastoupení plemen ve sledovaném souboru dojnic v jednotlivých chovech v %

Chov	H1	C1	H2	C2	O
A	35	55	5	0	5
B	86	0	10	4	0
C	20	0	60	13	7
D	12	12	12	47	17

H1 - podíl krve plemene holštýnského je 100 %; H2 - podíl krve plemene holštýnského je 50 % – 88 %; C1 - podíl krve českého strakatého skotu je 87 % a více; C2 - podíl krve českého strakatého skotu je 50 % – 86 %; O - jiné plemeno

4.1.1 Průměrná užitkovost za laktaci ve sledovaných chovech

Při sběru dat bylo zjištěno, že jeden ze tří soukromých chovů není zařazen v kontrole užitkovosti a tudíž nejsou k dispozici tato data a proto jsou tyto hodnoty v tabulce č. 7 a 8 uváděné pod písmenem D pouze od ostatních soukromých chovů.

Pokud se týká průměrné užitkovosti za laktaci (Tab. č. 7), nejvyšší užitkovost byla zjištěna v chovu D (9699 kg), přičemž maximální hodnota dosahovala až 12385 kg. Na druhé straně nejnižší užitkovost byla zjištěna v chovu A (5259 kg), s maximální hodnotou 8855 kg mléka za laktaci. V průměrné užitkovosti za laktaci byly mezi jednotlivými chovy zjištěny statisticky významné rozdíly. Průměrný počet laktací je v jednotlivých chovech téměř stejný, stejně jako jejich maximální počet, který je až na farmu C reprezentován číslem 5.

Tab. č. 7: Průměrná užitkovost a počet laktací sledovaných dojníc v jednotlivých chovech

Chov	n	Užitkovost za laktaci (kg)				Počet laktací			
		x	Sx	Min	Max	x	Sx	Min	Max
A	19	5259 ^b	1454	2858	8855	2	1	1	5
B	48	8085 ^a	1464	2269	10528	2	1	1	5
C	15	7981 ^a	1179	5421	9741	3	2	1	8
D	5	9699 ^c	1989	8054	12385	3	2	1	5
p		0,0000				0,9658			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value; a, b, c = průměrné hodnoty s odlišnými horními indexy se liší na hladině významnosti ($p < 0,05$)

Zatímco obsahy tuku v mléce dojníc z chovů A (3,76 %), B a C (shodně 3,95 %) byly téměř vyrovnané (Tab. č. 8), v chovu D byla zjištěna statisticky významně nižší hodnota (2,85 %). Nejvyšší obsah bílkovin byl zjištěn v chovu C (3,48 %) a nejnižší v chovu D (3,23 %). Vliv chovu na průměrný obsah tuku a bílkovin za laktaci byl statisticky vysoce významný.

Tab. č. 8: Průměrný obsah tuku (%) a bílkovin (%) za všechny laktace v mléku sledovaných dojnic v jednotlivých chovech

Chov	n	Obsah tuku (%)				Obsah bílkovin (%)			
		x	Sx	Min	Max	x	Sx	Min	Max
A	19	3,76 ^a	0,26	3,38	4,21	3,38 ^{bc}	0,14	3,10	3,64
B	48	3,95 ^a	0,37	3,16	4,90	3,27 ^a	0,23	2,86	3,81
C	15	3,95 ^a	0,40	3,36	4,65	3,48 ^c	0,22	3,12	3,84
D	5	2,85 ^b	0,32	2,52	3,26	3,23 ^{ab}	0,11	3,15	3,35
p		0,0000				0,0049			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value; a, b, c = průměrné hodnoty s odlišnými horními indexy se liší na hladině významnosti ($p < 0,05$)

4.1.2 Aplikace léčiv ve sledovaných chovech

Jak je uvedeno v tabulce č. 9, dojnice byly nejčastěji léčeny v chovu A, průměrně 8,24krát za rok, s rozpětím hodnot 1 až 18. Celkový počet léčení sledovaných dojnic dosáhl až k číslu 140. Naopak, nejnižší průměrný počet léčení byl zaznamenán v chovu D. V průměrném počtu léčení byly mezi jednotlivými chovy zjištěny statisticky významné rozdíly.

Tab. č. 9: Průměrný a celkový počet léčení sledovaných dojnic v jednotlivých chovech za rok 2013

Chov	n	Počet léčení				Celkem
		x	Sx	Min	Max	
A	17	8,24 ^b	5,73	1	18	140
B	47	2,57 ^a	1,64	0	8	121
C	13	1,38 ^a	0,96	0	3	18
D	17	0,94 ^a	0,83	0	2	16
p		0,0000				

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka p = p - value; a, b = průměrné hodnoty s odlišnými horními indexy se liší na hladině významnosti ($p < 0,05$)

Z tabulky č. 10, kde jsou zaznamenány počty použití antibiotik pro léčbu mastitid a pro zaprahování pomocí antibiotik, je patrné, že v chovu A jsou antibiotika aplikována převážně na léčbu mastitid. Z tabulky dále vyplývá, že chovy C a D využívají aplikaci antibiotik spíše pro zaprahování, výskyt mastitid u nich není tak častý.

Tab. č. 10: Použití antibiotik (%) na léčbu mastitidy, zaprahování a jiné nemoci u sledovaných dojnic v jednotlivých chovech v roce 2013

Chov	n	Mastitida	Zaprahování	Jiné
A	17	83	5	12
B	47	41	12	47
C	13	28	72	0
D	17	13	75	12

n = počet vzorků

Z tabulky č. 11 vyplývá, že v chovu A převažuje, jako v jediném chovu, intramuskulární podání léčiv. V chovu B je poměr intramamárního a intramuskulárního podání vyrovnaný a v chovu C a D převažuje způsob intramamární.

Tab. č. 11: Způsob aplikace antibiotik (%) u sledovaných dojnic v jednotlivých chovech v roce 2013

Chov	n	Intramamárně	Intramuskulárně	Jiné
A	17	41	55	4
B	47	50	50	0
C	13	61	39	0
D	17	75	13	12

n = počet vzorků

4.2 Vybrané jakostní ukazatele mléka léčených dojnic

Podle Doležala et al. (2000) lze kvalitu mléka definovat jako skupinu nejdůležitějších měřitelných, či jiným způsobem zjistitelných vlastností, které nás informují hlavně o zdravotní nezávadnosti pro konzumenty. Pešek (1999) uvádí, že výsledná jakost mléka, kterou je možno chápat jako souhrn „díličích jakostí“ a vlastností, je podmíněna především hygienickými (PSB, RIL) a mikrobiologickými ukazateli.

Tab. č. 12: Jakostní ukazatele v mléce sledovaných léčených dojnic

Ukazatele	n	x	Sx	Min	Max	Var.koef.
PSB (tis./ml)	161	1564	3072	12	22000	196,4
Tuk (%)	161	3,62	1,69	0,48	9,02	46,6
Bílkoviny (%)	161	3,79	0,98	1,54	10,45	25,8

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; PSB = počet somatických buněk

Z tabulky č. 12 je patrné, že průměrná hodnota PSB (1564 tis./ml) a zároveň i geometrický průměr, který byl 449 tis./ml, překročil hranici Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, které udává pro PSB v syrovém kravském mléce $\leq 400\ 000$ buněk v 1 ml. Za povšimnutí také stojí maximální zjištěné hodnoty PSB, které dosahovaly až hodnoty 22000 tis./ml, což podle Lindmark-Månsona et al. (2006) svědčí o míře narušení mléčné žlázy.

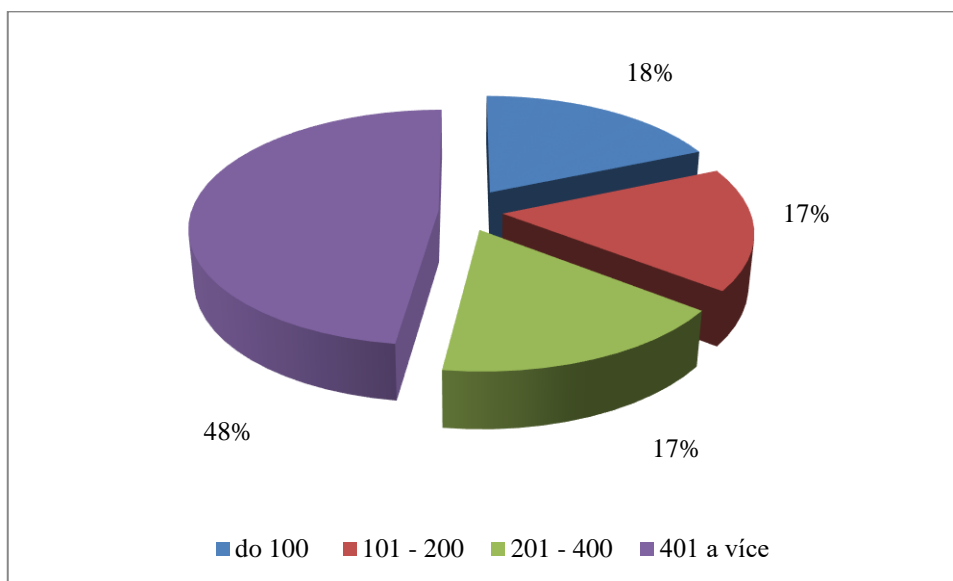
Průměrné hodnoty obsahu tuku (3,62 %) splňovaly hranici ČSN 57 0529 pro obsah tuku, který je 3,6 %, stejně jako průměrné hodnoty obsahu bílkovin (3,79 %), pro které je podle ČSN 57 0529 stanovena hranice 2,8 %.

Variabilita obsahu bílkovin a tuku v mléce je v průběhu laktace poměrně nízká a pohybuje se do 20 %, ale v námi sledovaném souboru dosáhla hodnot vyšších (tuk - 46,6 % a bílkoviny - 25,8 %). Vysokou variabilitu složek mléka způsobilo široké rozpětí hodnot, způsobené pravděpodobně jednak odlišným chemickým složením mléka jednotlivých lécených dojnic, jednak mohl být chybou i nepřesný odběr vzorků.

Z následujícího grafu č. 1, ve kterém je zaznamenáno rozdělení četností pro PSB je patrné, že limitu pro ukazatel PSB vyhovělo 52 % všech sledovaných vzorků a u 48 % došlo k překročení tohoto limitu. Limit charakterizující zdravé stádo je stanoven do 200 tis./ml PSB, z hodnot je tedy patrné, že u 17 % vzorků došlo k překročení tohoto limitu.

Kvapilík et al. (2012) uvádějí, že PSB byly v letech 2010, 2011 a 2012 poměrně stabilní, současně ale poněkud vyšší než stejný ukazatel ve většině chovatelsky vyspělých evropských států. Autoři uvádějí, že v roce 2012 splňovalo 91,1 % vzorků mléka limit pro PSB v syrovém kravském mléce.

Graf č. 1: Rozdělení četností pro počet somatických buněk (tis./ml) ve vzorcích mléka léčených dojnic (n = 161)



Kvapilík et al. (2012) doplňují, že zdravotní stav stád dojnic je při obsahu PSB do 100 tis./ml považován za velmi dobrý a při obsahu 100 až 200 tis./ml za uspokojivý. Při PSB v rozmezí 200 až 300 tis./ml se zdravotní stav stáda hodnotí jako ohrožený s nutností realizace vhodných opatření k jeho zlepšení.

4.2.1 Vliv chovu na jakostní ukazatele mléka

V tabulce č. 13 a grafu č. 2 jsou zaznamenány průměrné hodnoty obsahu bílkovin a tuku v mléce léčených dojnic v jednotlivých chovech. Chovy se od sebe lišily jak obsahem bílkovin, tak obsahem tuku. Podle Hučka et al. (2005) je obsah složek (především tučnost) mléka určován celkovým managementem chovu.

Z tabulky č. 13 vyplývá, že nejnižší průměrný obsah bílkovin byl zjištěn u dojnic v chovu A (3,48 %) a naopak nejvyšší v chovu C (4,11 %). Průměrné hodnoty obsahu bílkovin v mléce léčených dojnic hranici ČSN 57 0529 vyhovovaly, naopak hodnoty byly ještě o něco vyšší (o 0,68 až 1,31 %), než norma udává.

V průměrném obsahu bílkovin byly mezi jednotlivými chovy zjištěny statisticky významné rozdíly. Chov A se v obsahu bílkovin statisticky významně lišil od chovu B a C.

Minimální a maximální hodnoty ukazují, že u chovu D byl zjištěn nejnižší obsah bílkovin (1,54 %) a u chovu B nejvyšší (10,45 %).

Tab. č. 13: Vliv chovu na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojníc

Chov	n	Obsah bílkovin (%)				Obsah tuku (%)			
		x	Sx	Min	Max	x	Sx	Min	Max
A	42	3,48 ^b	0,37	2,77	4,32	3,07 ^a	1,65	0,48	7,56
B	69	3,92 ^a	1,23	2,29	10,45	4,34 ^b	1,55	1,42	9,02
C	25	4,11 ^a	1,03	2,89	6,27	3,49 ^a	1,35	1,96	7,71
D	25	3,64 ^{ab}	0,68	1,54	5,26	2,69 ^a	1,66	0,85	6,32
p		0,0315				0,0000			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value; a, b = průměrné hodnoty s odlišnými horními indexy se liší na hladině významnosti ($p < 0,05$)

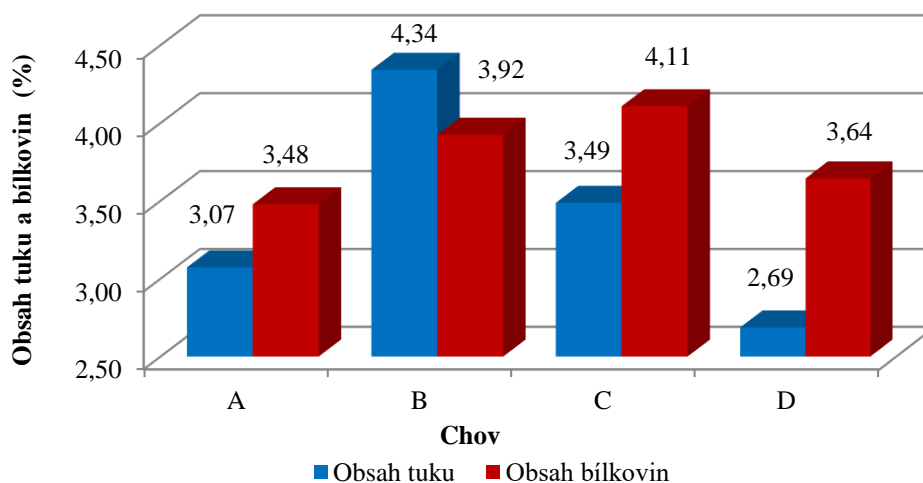
Co se týče obsahu tuku, průměrné hodnoty v mléce léčených dojníc byly, jak vyplývá z tabulky č. 13 a grafu č. 2, nejnižší v chovu D (2,69 %) a naopak nejvyšší v chovu B (4,34 %). Průměrné hodnoty obsahu tuku u chovu A a D nevyhovují ČSN 57 0529.

V chovu D, jak je uvedeno v tabulce č. 13 i grafu č. 2, byl zjištěn průměrný obsah tuku 2,69 %. Z výsledků lze usoudit, že tento chov by se pravděpodobně mohl potýkat se špatně sestavenou krmnou dávkou. Kudrna a Homolka (2007) uvádějí, že čím je v krmné dávce více objemné píče, tím se zvyšuje zastoupení kyseliny octové, která je dojnící využívána k syntéze mléčného tuku. V chovu D je tedy možné, že je dojnícím podáváno málo objemné píče. Ticháček et al. (2007) uvádí, že při nízkém obsahu složek mléka, může docházet ze strany mlékáren k udělování sankcí za nedodržení stanovených ukazatelů jakosti. Tyto sankce se pohybují od srážek z nákupní ceny mléka za příliš nízký obsah hlavních složek mléka (tuku a bílkovin) po nepřevzetí celé dodávky a úhradu nákladů za likvidaci znehodnoceného mléka při zjištění výskytu RIL v mléce a zastavení nákupu až do dosažení normálního stavu. Při shromažďování dat bylo zjištěno, že jednomu ze soukromých chovů, jsou opravdu udělovány sankce za nízký obsah tuku v mléku.

Stejně jako u obsahu bílkovin, byl vliv chovu na průměrný obsah tuku potvrzen. Z výsledků je patrné, že chov B se statisticky významně lišil od ostatních chovů.

Ryšánek (2007) uvádí, že při mastitidách se sice mění skladba složek mléka, ale poklesy a nárůsty frakcí bílkovin a tuku jsou přibližně v rovnováze, proto nebývá zjišťován statisticky významný pokles nebo vzrůst obsahu bílkovin nebo tuku v mléce, v důsledku zánětlivého procesu mléčné žlázy. Z výsledků obsahu bílkovin i tuku je tedy možné usoudit, že nízké (vysoké) hodnoty mohly být pravděpodobně ovlivněny spíše nesprávným odběrem individuálních vzorků.

Graf č. 2: Vliv chovu na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic



V následující tabulce č. 14 a grafu č. 3 je zaznamenán průměrný obsah PSB v mléce sledovaného souboru léčených dojnic v jednotlivých chovech. Lindmark-Månson et al. (2006) uvádějí, že mastitidy jsou doprovázeny zvýšenou tvorbou somatických buněk, což je objektivní ukazatel zvýšených obranných reakcí organismu dojnice. Somatické buňky jsou převážně tvořeny bílými krvinkami, leukocyty, jejichž počty svědčí o míře narušení zdraví mléčné žlázy.

Tab. č. 14: Vliv chovu na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic

Chov	n	Počet somatických buněk (tis./ml)			
		x	Sx	Min	Max
A	42	382 ^b	475	38	2315
B	69	1715 ^a	2427	44	10580
C	25	2749 ^a	4692	27	19193
D	25	1947 ^a	4437	12	22000
p		0,0135			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p - value; a, b = průměrné hodnoty s odlišnými horními indexy se liší na hladině významnosti ($p < 0,05$)

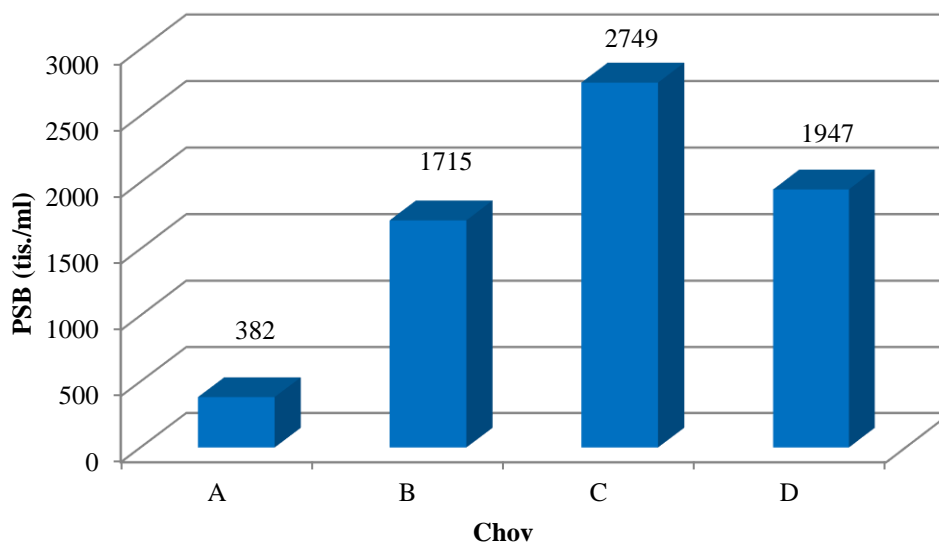
V chovu A byly zjištěny statisticky významně nižší průměrné hodnoty PSB (382 tis./ml) než v ostatních chovech (1715 až 2749 tis./ml) a zároveň tento chov dosahoval i nejnižších maximálních hodnot (Tab. č. 14).

I přesto, že se jedná o mléko lčených dojnic, průměrný obsah PSB (382 tis./ml) v tomto chovu odpovídá dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 hranici PSB pro syrové kravské mléko $\leq 400\ 000$ buněk v 1 ml, ale neodpovídá již požadavkům na zdravé stádo dojnic (PSB do 200 tis./ml). Z tabulky č. 14 dále vyplývá, že nejvyšších průměrných hodnot PSB bylo dosaženo v chovu C.

Nejnižší minimální a zároveň i nejvyšší maximální hodnoty PSB byly zjištěny v chovu D, kde byla maximální zjištěná hodnota 22000 tis./ml a minimální 12 tis./ml.

Jayarao et al. (2004) uvádějí, že stáda s nižším PSB mají lepší hygienické podmínky chovu dojnic nežli stáda s vysokým PSB. Illek et al. (1997) uvádějí, že nevhodné mikroklima, prašnost, nedostatečná nebo nadměrně znečištěná podestýlka, krátká stání s rošty špatné kvality či bezstelivové provozy nevhodné konstrukce, představují negativní faktory prostředí. Nejnižší hodnota PSB byla sice zjištěna v chovu A, ale jelikož je chov A zároveň chovem s nejvyšší frekvencí onemocnění (8,24) ročně, nelze jednoznačně potvrdit, že by v tomto chovu byly lepší hygienické podmínky, než v ostatních chovech.

Graf č. 3: Vliv chovu na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce lčených dojnic



Ticháček et al. (2007) uvádí, že PSB nejvíce koreluje s infekcí způsobenou *Streptococcus agalactiae* a méně koreluje s infekcemi způsobenými *Staphylococcus aureus*. U dalších patogenů, způsobujících především klinické formy mastitid, jsou korelace méně významné.

4.2.2 Vliv plemene na jakostní ukazatele mléka

V České republice je mléčný typ skotu zastoupen především plemenem holštýnským a kombinovaný typ skotu plemenem české strakaté. Obě plemena se od sebe liší jak obsahem tuku, tak obsahem bílkovin. Obsah bílkovin je významný nejen pro zpracovatelskou technologii a výživnou hodnotu mléka, ale také pro možnost kontroly výživy dojníc a tím též jejich zdravotního stavu. Mléčný tuk je základním zdrojem kalorické hodnoty mléka a také jeho chuťových vlastností (Čejna a Chládek, 2005). Následující tabulka č. 15 a graf č. 4 ukazuje obsah bílkovin a tuku v mléce sledovaného souboru léčených dojníc, rozdělených podle plemen.

Tab. č. 15: Vliv plemene na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojníc

Plemeno	n	Obsah bílkovin (%)				Obsah tuku (%)			
		x	Sx	Min	Max	x	Sx	Min	Max
H1	77	3,87	1,24	1,54	10,45	3,90	1,62	0,67	9,02
C1	28	3,62	0,37	3,11	4,32	3,34	1,78	0,48	7,56
H2	25	3,54	0,60	2,89	5,54	3,39	2,01	0,85	8,23
C2	14	4,13	0,58	3,26	5,26	3,55	1,51	1,05	5,72
O	6	3,54	0,83	2,96	5,17	2,03	0,97	0,92	3,24
p		0,2846				0,0798			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value; H1 - podíl krve plemene holštýnského je 100 %; H2 - podíl krve plemene holštýnského je 50 % - 88 %; C1 - podíl krve českého strakatého skotu je 87 % a více; C2 - podíl krve českého strakatého skotu je 50 % – 86 %; O jiné plemeno

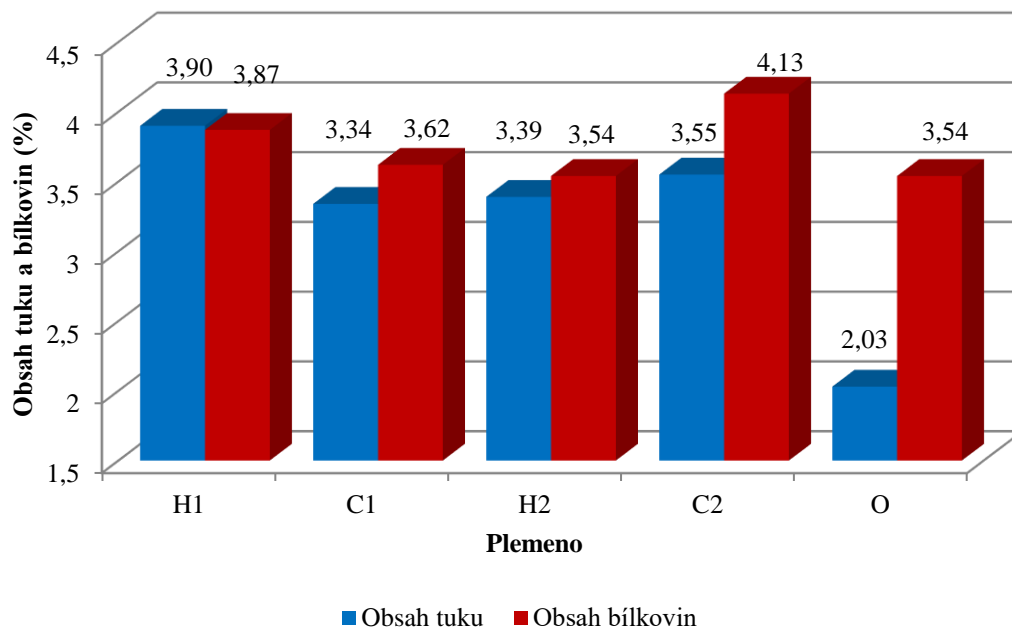
Z tabulky č. 15 je patrné, že nejvyšší průměrný obsah bílkovin byl v mléce léčených dojníc stanoven u kříženců s převahou českého strakatého skotu (4,13 %) a naopak nejnižší u kříženců s převahou holštýnského skotu (3,54 %) a plemen jiných (3,54 %). V průměrném obsahu bílkovin nebyly mezi jednotlivými plemeny zjištěny statisticky významné rozdíly.

Z tabulky č. 15 dále vyplývá, že minimální hodnoty obsahu bílkovin odpovídaly téměř u všech plemen, s výjimkou dojníc holštýnského plemene, minimální hranici ČSN 57 0529.

Nejvyšší průměrný obsah tuku (3,90 %) byl zjištěn u plemene holštýnského a naopak nejnižší u plemen jiných (2,03 %). V průměrném obsahu tuku i bílkovin nebyly mezi jednotlivými plemeny zjištěny statisticky významné rozdíly.

Zjištěné minimální hodnoty obsahu tuku u všech plemen nevyhovovaly ČSN 57 0529.

Graf č. 4: Vliv plemene na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojníc



Frelich et al. (2001) uvádějí, že obsah bílkovin v mléce je závislý jak na plemenné příslušnosti, tak na individualitě dojnice. Podle Čejny a Chládky (2005) obsah tuku ovlivňuje řada intravitálních vlivů, z nichž nejvýznamnější je výživa a zdravotní stav dojníc.

V následující tabulce č. 16 a grafu č. 5 jsou uvedeny hodnoty PSB u jednotlivých plemen sledovaných léčených dojníc. I přesto, že se vliv plemene na průměrný PSB nepotvrdil, můžeme si všimnout poněkud vyšších průměrných hodnot u plemene holštýnského (1635 tis./ml) a ještě vyšších u kříženců s převahou holštýnského skotu (2491 tis./ml). Naopak u plemene české strakaté byly zjištěné průměrné hodnoty PSB až 3krát menší. Průměrné hodnoty PSB překročily u každého plemene limit daný legislativními předpisy.

Tab. č. 16: Vliv plemene na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojníc

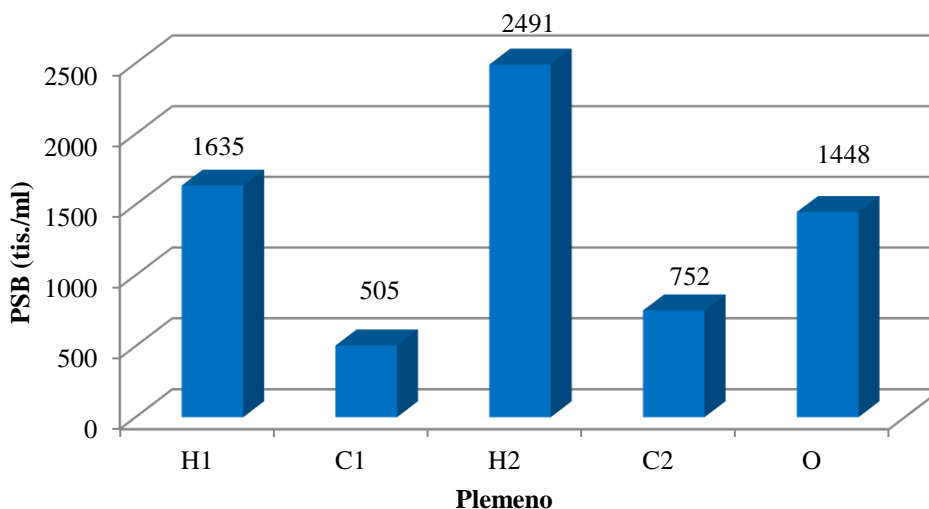
Plemeno	n	Počet somatických buněk (tis./ml)			
		x	Sx	Min	Max
H1	77	1635	2553	38	11831
C1	28	505	850	44	4351
H2	25	2491	4627	47	22000
C2	14	752	1033	12	2716
O	6	1448	1568	66	4362
p		0,0823			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value; H1 - podíl krve plemene holštýnského je 100 %; H2 - podíl krve plemene holštýnského je 50 % - 88 %; C1 - podíl krve českého strakatého skotu je 87 % a více; C2 - podíl krve plemene českého strakatého skotu je 50 % – 86 %; O - jiné plemeno

Lze usuzovat, že dojnice plemene holštýnského či kříženci s převažujícím podílem holštýnského skotu, vykazovaly v mléce vyšší PSB ve srovnání s plemenem české strakaté nebo kříženci s převažujícím zastoupením českého strakatého skotu.

Jak vyplývá z tabulky č. 16 a grafu č. 5, maximální hodnoty PSB u plemene holštýnského (11831 tis./ml) a kříženců s převahou tohoto plemene (22000 tis./ml) jsou tak vysoké, že léčba takových zvířat je ekonomicky nerentabilní. Dojnice s takto vysokým PSB, tzv. "milionářky", mají sklony k častým onemocněním (chronické infekce) a na jejich léčbu se vynaloží více finančních prostředků, než se utrží. Takovéto kusy není efektivní léčit a je vhodné je ze stáda vyřadit.

Graf č. 5: Vliv plemene na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojníc



4.2.3 Vliv užitkovosti na jakostní ukazatele mléka

Je prokázáno, že zánět vemene je nejčastějším onemocněním dojníc a jeho výskyt snižuje užitkovost. Produkce mléka z mléčné žlázy stížená subklinickou mastitidou se snižuje o cca 20 %, což způsobuje snížení tržeb o přibližně 100 € (2 750,- Kč) na dojnici a rok. Ztráty způsobené klinickými mastitidami mohou dosáhnout až 1 500 € (41 000,- Kč) na dojnici. Ze 77 % se na ztrátě podílí snížení dojivosti, z 12 % vyloučení mléka z dodávky pro nestandardní vlastnosti (inhibiční látky), ze 7 % zvýšení nákladů na obměnu stáda a ze 4 % náklady na léčení a léky (Ticháček et al., 2007).

V tabulce č. 17 a grafu č. 6 je zaznamenán obsah bílkovin a tuku v mléce léčených dojníc při různé užitkovosti. Z tabulky je patrné, že v nejnižší užitkovosti byl stanoven průměrný obsah bílkovin 3,58 % a v nejvyšší užitkovosti 3,85 %.

Tab. č. 17: Vliv užitkovosti na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojníc

Užitkovost (kg)	n	Obsah bílkovin (%)				Obsah tuku (%)			
		x	Sx	Min	Max	x	Sx	Min	Max
0 - 6000	33	3,58	0,45	2,74	4,43	3,38	1,73	0,48	7,56
6001 - 8000	47	3,81	0,83	2,29	6,18	3,83	1,88	0,67	9,02
8001 a více	56	3,85	1,33	1,54	10,45	3,57	1,65	0,85	7,71
p		0,4299				0,5092			

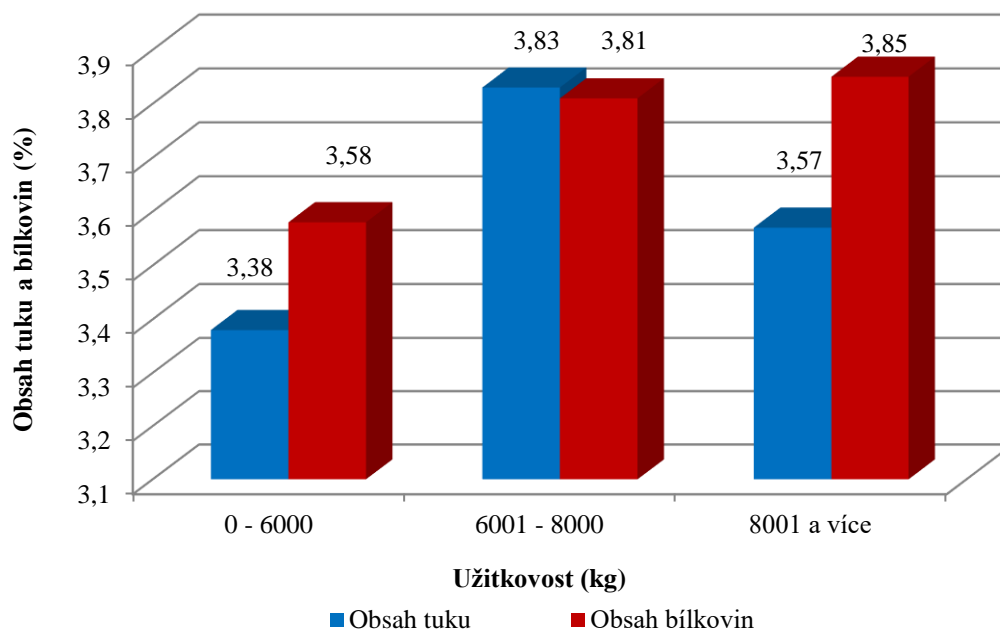
n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value

Z tabulky č. 17 a grafu č. 6 rovněž vyplývá, že průměrný obsah tuku byl nejvyšší při užitkovosti 6001 - 8000 kg (3,83 %) a nejnižší při užitkovosti 0 - 6000 kg (3,38 %). Vliv výše užitkovosti na průměrný obsah bílkovin a tuku potvrzen nebyl.

Dle Mikšíka a Žižlavského (2005) mléčná užitkovost je v negativní korelaci s obsahem tuku, což nebylo v mléce sledovaného souboru léčených dojníc potvrzeno.

Burgerta (2003) ve svém výzkumu sledoval, zda se zvyšující se užitkovostí klesá procento mléčných složek a uvádí, že v nižší užitkovosti (5681 kg) byl průměrný obsah tuku a bílkovin vyšší než při užitkovosti vyšší (10156 kg). V námi sledovaném souboru léčených dojníc obsah bílkovin i tuku se zvyšující se užitkovostí stoupal.

Graf č. 6: Vliv užitkovosti na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic



V následující tabulce č. 18 a grafu č. 7 je uváděn PSB při různé užitkovosti. Nejvyšší průměrný PSB byl zjištěn při užitkovosti 6001-8000 kg a nejnižší při užitkovosti 0-6000 kg mléka. Z tabulky č. 18 je jasné, že průměrné hodnoty PSB překročily u každé sledované skupiny dle výše užitkovosti limit daný legislativními předpisy.

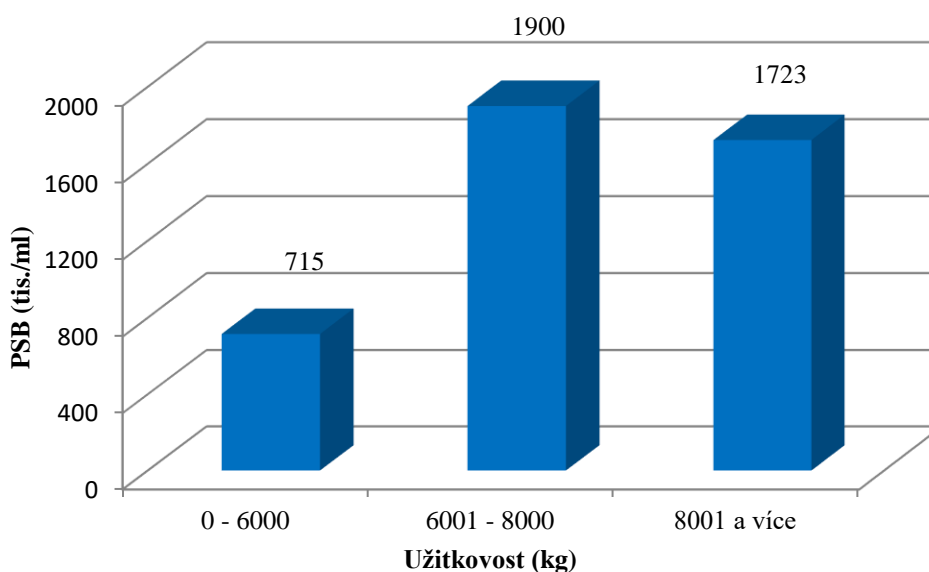
Tab. č. 18: Vliv užitkovosti na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic

Užitkovost (kg)	n	Počet somatických buněk (tis./ml)			
		x	Sx	Min	Max
0 - 6000	33	715	1408	38	7719
6001 - 8000	47	1900	2737	44	11831
8001 a více	56	1723	3435	42	22000
p		0,1514			

n = počet vzorků; x = průměr; Sx = směrodatná odchylka; p = p – value

I přesto, že výše užitkovosti neměla statisticky významný vliv na průměrný PSB v mléce léčených dojnic, lze pozorovat, že při vyšší užitkovosti byl PSB vyšší (1900 tis./ml) v porovnání s užitkovostí nejnižší (715 tis./ml).

Graf č. 7: Vliv užitkovosti na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic



4.3 Faktory ovlivňující přítomnost RIL v mléce léčených dojnic

Pro vyhodnocení vlivů na přítomnost RIL v mléce byly ve sledovaném souboru ponechány pouze vzorky od dojnic, kde byla ukončena ochranná lhůta a mléko tedy mohlo být zařazeno do dodávky. Pro posouzení faktorů byla přítomnost RIL sledována dvěma odlišnými testy - Twinsensor BT (dále jen Twnisensor) a Delvotest SP – NT (dále jen Delvotest). Tyto dva testy byly vybrány z důvodu odlišného principu stanovení a odlišné citlivosti testu.

Rozdíly v citlivosti mezi testy Delvotest a Twinsensor

Twinsensor je selektivní receptorový test umožňující současnou detekci antibiotik β -laktamových spolu s cefalosporiny a dále detekci tetracyklinových antibiotik. Delvotest je standardní difuzní test založený na mikrobiologickém principu, umožňující detekci širokého spektra antibiotik, sulfonamidů i dezinfekčních látek.

V následující tabulce č. 19 je uvedena rozdílná citlivost testu Twinsensor a Delvotest dle výrobce. U jednotlivých účinných látek jsou uvedeny MRL a koncentrace inhibičních látek, které testy Twinsensor a Delvotest zachycují.

Tab. č. 19: Hodnoty MRL ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) a porovnání citlivostí jednotlivých použitých testů na vybrané účinné látky

Účinná látka	MRL	Twinsensor BT	Delvotest SP - NT
Penicilin	4	2 - 3	2 - 3
Ampicilin	4	3 - 5	6 - 7
Kloxacilin	30	6 - 8	20 - 30
Cefacetril	125	30 - 40	
Cefquinome	20	30 - 40	
Cefapirin	60	6 - 8	6 - 8
Oxytetracyklin	100	50 - 60	800
Neomycin	1500		300 - 600

MRL = maximální reziduální limit dle Nařízení Komise (EU) č. 37/2010

V následující tabulce č. 20 jsou zaznamenány frekvence pozitivních a negativních nálezů RIL u 128 vzorků mléka získaných od léčených dojnic, zachycené jak testem Delvotest, tak testem Twinsensor. U testu Delvotest bylo ze 128 testovaných vzorků na obsah RIL 16 % vzorků pozitivních a 84 % negativních a u testu Twinsensor bylo ze stejného počtu vzorků 52 % pozitivních a 48 % negativních. Výsledky testů se od sebe statisticky významně lišily ($p = 0,0000$). Z údajů je zřejmé, že test Twinsensor má vyšší citlivost než test Delvotest, což potvrzuje i výrobce.

Tab. č. 20: Rozdíly v detekci reziduí inhibičních látek mezi testy Delvotest a Twinsensor (%)

Nález	Delvotest	Twinsensor
Negativní	84	48
Pozitivní	16	52

4.3.1 Vliv aplikace léčiva na přítomnost RIL

Nejpoužívanějšími způsoby podání léčiv při akutní mastitidě jsou aplikace intramamární a aplikace intramuskulární (Dobšíková et al., 2012). Intramamární aplikace spočívá v aplikaci léčiva přímo do strukového kanálku a intramuskulární aplikace je injekční vpravení účinného léku do svalu. Při intramuskulárním podání dochází nejdříve k absorpci léčiva z místa aplikace do přilehlých kapilár a poté do krevního oběhu (Dobšíková et al., 2012).

Z tabulky č. 21 a grafu č. 8 je patrné, že po skončení ochranné lhůty bylo testem Twinsensor zachyceno u intramuskulárního podání léčiv 71 % vzorků pozitivních na přítomnost RIL a u intramamárního podání 44 % vzorků. Delvotest zachytil u intramuskulárního podání léčiv 26 % vzorků pozitivních na přítomnost RIL a u intramamárního podání 13 % vzorků. Lze předpokládat, že vyšší frekvence pozitivních nálezů u Twinsensoru je způsobena vyšší citlivostí tohoto testu.

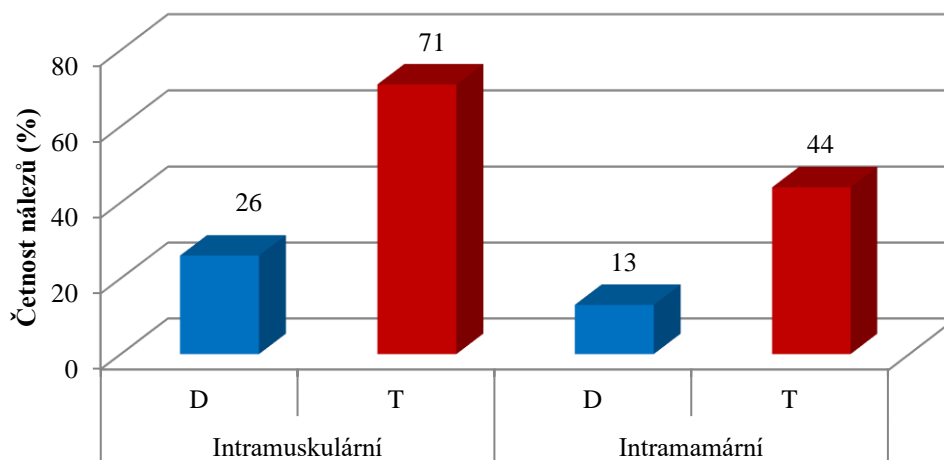
Statisticky významný vliv aplikace léčiva na přítomnost RIL se prokázal pouze u Twinsensoru ($p = 0,0058$). U testu Delvotest nebyly mezi jednotlivými způsoby aplikace zjištěny statisticky významné rozdíly v četnosti pozitivních vzorků RIL, ale i přesto tento test zachytil, stejně jako Twinsensor, vyšší frekvenci pozitivních vzorků RIL při aplikaci intramuskulární.

Tab. č. 21: Četnosti pozitivních nálezů RIL u intramuskulárního a intramamárního podání léčiv (%)

Aplikace	n	Delvotest	Twinsensor
Intramuskulární	35	26	71
Intramamární	93	13	44
p		0,0811	0,0058

n = počet vzorků; p = p – value

Graf č. 8: Četnosti pozitivních nálezů RIL u intramuskulárního a intramamárního podání léčiv (%)



D = Delvotest T = Twinsensor

4.3.2 Vliv indikace léčiva na přítomnost RIL

V tabulce č. 22 a grafu č. 9 jsou zaznamenány četnosti pozitivních vzorků RIL po léčbě mastitid a zaprahování pomocí antibiotik. Z této tabulky je patrné, že vyšší frekvence pozitivních vzorků RIL byla u obou dvou testů detekována po léčbě mastitid. Vliv indikace léčiva na přítomnost RIL nebyl ani u jednoho z testů potvrzen.

Nižší frekvence pozitivních vzorků RIL po zaprahování pomocí antibiotik by mohla být pravděpodobně způsobena dvěma důvody. Prvním důvodem by mohlo být, že dojnice má v období stání na sucho menší zátěž organismu než laktující dojnice, jelikož Šonková (2009) uvádí, že tvorba mléka je energeticky vysoce náročný proces, a antibiotika by mohla být z mléka vyloučena v průběhu ochranné lhůty snáze. Jelikož je největší část přijaté energie u laktujících dojnic spotřebovávána právě pro tvorbu mléka, může tím docházet k pomalejšímu vylučování reziduí antibiotik z organismu.

Druhou možností by mohlo pravděpodobně být, že přípravky využívané k zaprahování dojnic mají oproti přípravkům k léčbě mastitid mnohem delší ochrannou lhůtu a rezidua léčiv by tudíž mohla být v průběhu této lhůty vyloučena z mléka v mnohem větší míře, než rezidua léčiv po léčbě mastitid. Kološta (2007) uvádí, že ochranná lhůta je u přípravků používaných k zaprahování dojnic delší z důvodu jejich protražovaných účinků. Na druhou stranu, právě protražované účinky těchto

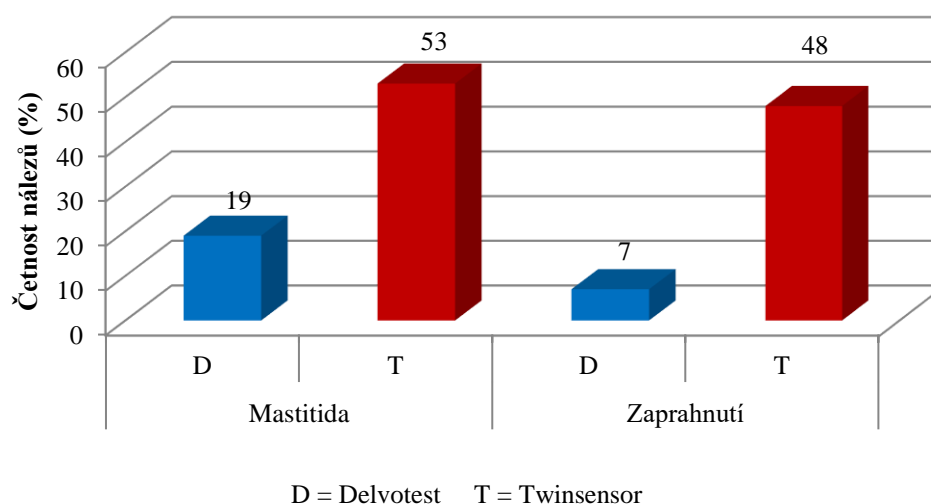
přípravků by mohly být odpovědné za pozitivní nálezy RIL (7 % u Delvotestu) po aplikaci antibiotik k zaprahování.

Tab. č. 22: Četnosti pozitivních nálezů RIL u aplikace antibiotik na léčbu mastitid a k zaprahování pomocí antibiotik (%)

Indikace	n	Delvotest	Twinsensor
Mastitida	99	19	53
Zaprahnutí	29	7	48
p		0,1159	0,6872

n = počet vzorků; p = p – value

Graf č. 9: Četnosti pozitivních nálezů RIL u aplikace antibiotik na léčbu mastitid a zaprahování pomocí antibiotik (%)



4.3.3 Vliv plemene na přítomnost RIL

Z tabulky č. 23 a grafu č. 10, ve kterých jsou zaznamenány četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých plemen, vyplývá, že po skončení ochranné lhůty byla nejvyšší frekvence pozitivních vzorků RIL detekována u testu Twinsensor u plemene české strakaté (65 %) a u testu Delvotest u plemene holštýnského (22 %). Zvláštností je, že u plemene české strakaté, kde Twinsensor detekoval nejvyšší frekvenci pozitivních vzorků RIL (65 %), Delvotest zachytil frekvenci nejnižší (5%). Vliv indikace léčiva na přítomnost RIL nebyl ani u jednoho z testů potvrzen.

Jak u Twinsensoru, tak u Delvotestu byly ve vzorcích mléka dojnic holštýnského plemene zjištěny vysoké hodnoty pozitivních nálezů RIL. Toto plemeno patří mezi dojná (mléčná) plemena skotu a je pro něj charakteristická vysoká užitkovost. Kvapilík (2010) uvádí, že vysoká užitkovost je často doprovázena zhoršením zdravotního stavu

dojnice, což souvisí s větší zátěží organismu, a tím by mohlo pravděpodobně docházet k pomalejšímu vylučování reziduí léčiv z mléka.

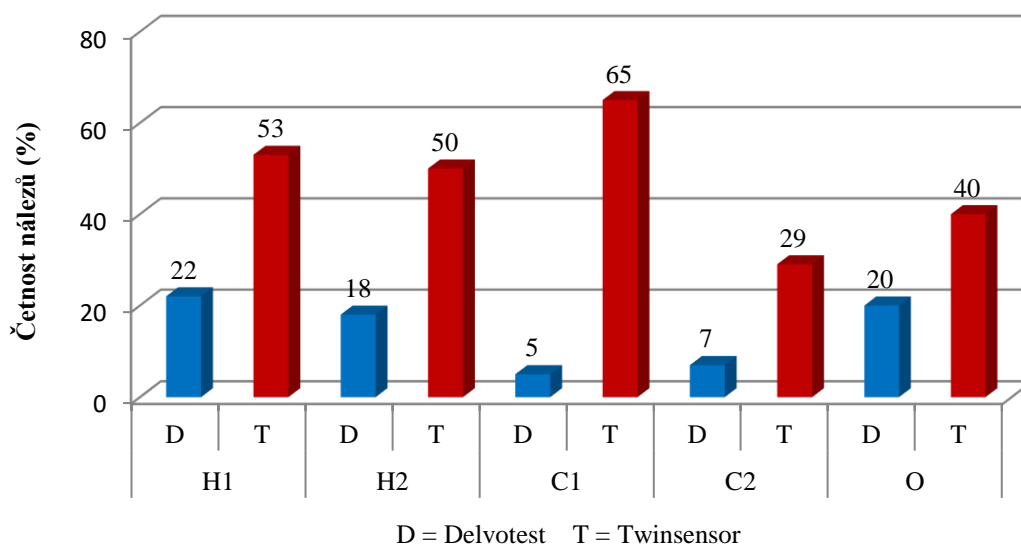
Tab. č. 23: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých typů plemen (%)

Plemeno	n	Delvotest	Twinsensor
H1	59	22	53
H2	22	18	50
C1	20	5	65
C2	14	7	29
O	5	20	40
p		0,3829	0,3204

n = počet vzorků; p = p – value; H1 - podíl krve plemene holštýnského je 100 %; H2 - podíl krve plemene holštýnského je 50 % - 88 %; C1 - podíl krve českého strakatého skotu je 87 % a více; C2 - podíl krve českého strakatého skotu je 50 % - 86 %; O - jiné plemeno

Z tabulky č. 23 rovněž vyplývá, že u dojnic plemen holštýnské a české strakaté byla zaznamenána u testu Twinsensor vyšší frekvence pozitivních vzorků RIL než vzorků negativních.

Graf č. 10: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých typů plemen (%)



4.3.4 Vliv užítkovosti na přítomnost RIL

V následující tabulce č. 24 a grafu č. 11 jsou zaznamenané četnosti pozitivních vzorků RIL v závislosti na výši užítkovosti. Z této tabulky je patrné, že po skončení ochranné lhůty, bylo testem Twinsensor zachyceno u mléka dojnic s užítkovostí 0 - 6000 kg mléka 56 % vzorků pozitivních na přítomnost RIL, s užítkovostí 6001 - 8000 kg 43 % vzorků a s užítkovostí 8001 a více kg 62 % vzorků. Ve skupině dojnic s užítkovostí 0 - 6000 kg mléka detekoval Delvotest 4 % vzorků pozitivních na přítomnost RIL, s užítkovostí 6001 - 8000 kg 22 % vzorků a s užítkovostí 8001 a více kg 24 % vzorků.

U testu Delvotest byla zachycena nejnižší frekvence pozitivních vzorků RIL (4 %) v mléce dojnic s užítkovostí 0 - 6000 kg mléka a nejvyšší frekvence (24 %) u dojnic s užítkovostí 8001 a více kg mléka. U Twinsensoru byla detekována nejvyšší frekvence pozitivních vzorků (62 %) u dojnic s užítkovostí 8001 a více kg mléka a nejnižší frekvence (43 %) byla zachycena u dojnic s užítkovostí 6001 - 8000 kg mléka.

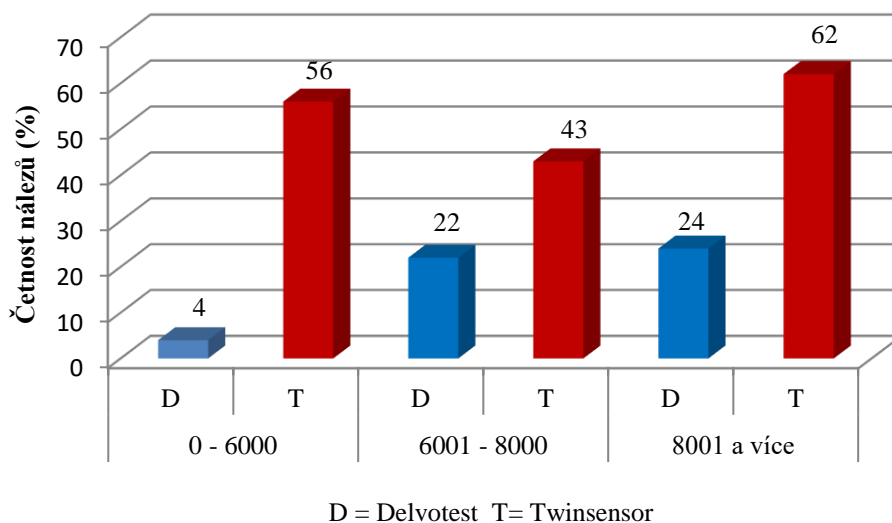
I přesto, že se vliv výše užítkovosti na přítomnost RIL ani u jednoho z testů nepotvrdil, z výsledků je zřejmé, že v nejvyšší užítkovosti byla u obou testů detekována nejvyšší frekvence pozitivních vzorků RIL. Tyto výsledky mohou pravděpodobně souviset s tím, že při vyšší užítkovosti je dojnice vystavena vyšší zátěži organismu, jelikož tvorba mléka je složitým fyziologickým procesem, jak potvrzuje Šonková (2009) a organismus nemá dostatek prostředků k vyloučení reziduí v průběhu ochranné doby.

Tab. č. 24: Četnosti pozitivních nálezů RIL v závislosti na výši užítkovosti (%)

Užitkovost (kg)	n	Delvotest	Twinsensor
0 - 6000	25	4	56
6001 - 8000	37	22	43
8001 a více	45	24	62
p		0,0935	0,2244

n = počet vzorků; p = p – value

Graf č. 11: Četnosti pozitivních nálezů RIL v závislosti na výši užítkovosti (%)



4.3.5 Vliv skupiny antibiotik na přítomnost RIL

Z následující tabulky č. 25 a grafu č. 12, ve kterých jsou zaznamenány četnosti pozitivních nálezů RIL u použití různých skupin antibiotik, vyplývá, že nejvyšší přítomnost pozitivních vzorků, po skončení ochranné lhůty, byla zachycena testem Twinsensor i Delvotest po kombinované léčbě (78 % a 26 %). Vliv skupiny antibiotik na přítomnost RIL byl potvrzen pouze u testu Twinsensor ($p = 0,0035$). U Delvotestu nebyly mezi jednotlivými skupinami antibiotik v četnosti pozitivních vzorků RIL zjištěny statisticky významné rozdíly ($p = 0,3296$).

V případě kombinované léčby mohla být pravděpodobně takto vysoká frekvence pozitivních vzorků RIL způsobena nedodržením správné ochranné lhůty, která se z důvodu aplikace více antibiotik prodloužila. Při kombinované léčbě byla ve většině případů použita kombinace antibiotik β -laktamových a tetracyklinových. Kološta (2007) uvádí, že nejčastější překračování ochranné lhůty bývá zaznamenáno u antibiotik β -laktamových, s čímž souhlasí i Kvapilík (2012) a dodává, že v roce 2012 byla v převážné většině pozitivních vzorků RIL zjištěna rezidua β -laktamových antibiotik.

Dalším důvodem mohl být pravděpodobně tak závažný zdravotní stav dojníc, že organismus nestihl v průběhu ochranné lhůty léčivo vyloučit, jelikož Kološta (2007) uvádí, že u každé dojnice je délka vylučování přípravků různě dlouhá, a to v závislosti na metabolickém a zdravotním stavu (zejména výkonnosti jater) a individualitě dojnice.

Z tabulky č. 25 a grafu č. 12 rovněž vyplývá, že u testu Twinsensor byla u skupiny antibiotik tetracyklinových (63 %) a po kombinované léčbě (78 %) zaznamenána vyšší frekvence vzorků pozitivních než negativních. Ani jeden z testů neprokázal po skončení ochranné lhůty ve vzorcích mléka přítomnost reziduí sulfonamidů, počet vzorků byl však v této skupině nízký (n = 5).

Tab. č. 25: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých skupin antibiotik (%)

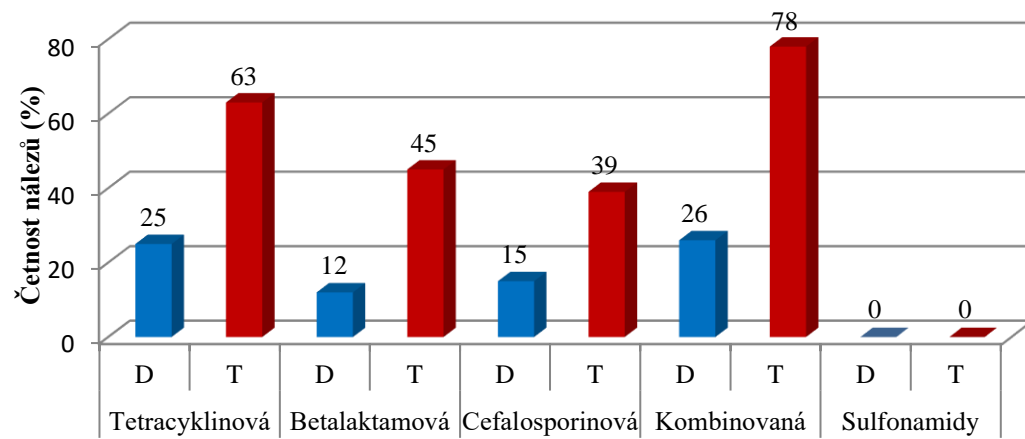
Skupina antibiotik	n	Delvotest	Twinsensor
Tetracyklinová	16	25	63
β-laktamová	67	12	45
Cefalosporinová	13	15	39
Kombinovaná	27	26	78
Sulfonamidy	5	0	0
p		0,3296	0,0035

n = počet vzorků; p = p - value

Kvapilík et al. (2012) uvádějí, že od roku 2004, kdy bylo zjištěno 0,27 % pozitivních vzorků RIL, dochází k poklesu záhytů pozitivních vzorků. V roce 2012 bylo vyšetřeno v laboratořích ČMSCH celkem 34 387 vzorků mléka, z toho bylo 0,14 % (50 vzorků) pozitivních.

Kopunecz (2013) uvádí, že v roce 2013 bylo vyšetřeno 30 701 vzorků mléka, z nichž bylo 0,16 % (48 vzorků) pozitivních na RIL. Z hodnot je patrné, že oproti roku 2012, došlo k mírnému nárůstu pozitivních vzorků. Dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 výsledky testů na obsah RIL, určeném ke spotřebě či zpracování, musí být negativní při použití vědecky uznávaných a prakticky ověřených metod.

Graf č. 12: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých skupin antibiotik (%)



D = Delvotest T = Twinsensor

5 ZÁVĚR

Mastitidy jsou jedny z velmi významných a ekonomicky velice závažných produkčních onemocnění. Toto celosvětově masivně rozšířené onemocnění je hlavní příčinou častého a často neúměrného podávání antibiotických preparátů, spojených s možným výskytem reziduí inhibičních látek v mléce. Rezidua inhibičních látek jsou jedny z významných ukazatelů hygienické jakosti mléka a určují jeho vhodnost pro další zpracování.

Cílem diplomové práce proto bylo sledování vybraných ukazatelů kvality mléka včetně reziduí inhibičních látek v mléce dojnic léčených vybranými skupinami antibiotik včetně faktorů, které na tyto ukazatele mohou působit.

V práci bylo potvrzeno, že způsob aplikace léčiva a skupina použitého léčiva měly statisticky významný vliv na pozitivní nález RIL. U dalších sledovaných faktorů (indikace léčiva, plemeno a výše užitkovosti) nebyly statisticky významné vlivy na přítomnost RIL prokázány.

Po skončení ochranné lhůty bylo testem Twinsensor zachyceno u intramuskulárního podání léčiv 71 % vzorků pozitivních na přítomnost RIL a u intramamárního podání 44 % vzorků. Delvotest zachytil u intramuskulárního podání léčiv 26 % vzorků pozitivních na přítomnost RIL a u intramamárního podání 13 % vzorků. Statisticky významný vliv aplikace léčiva na přítomnost RIL se prokázal pouze u Twinsensoru ($p = 0,0058$). I přesto, že u Delvotestu nebyl tento vliv prokázán, zachytil tento test, stejně jako Twinsensor, vyšší frekvenci pozitivních vzorků RIL při aplikaci intramuskulární.

Co se týče skupiny použitého léčiva, nejvyšší přítomnost pozitivních vzorků RIL, po skončení ochranné lhůty, byla zachycena testem Twinsensor (78 %) i Delvotest (26 %) u kombinované léčby. Vliv skupiny antibiotik na přítomnost RIL byl opět potvrzen pouze u testu Twinsensor ($p = 0,0035$). U Delvotestu nebyly mezi jednotlivými skupinami antibiotik zjištěny statisticky významné rozdíly v četnosti pozitivních vzorků ($p = 0,3296$).

V současné době je třeba klást největší důraz na prevenci, důslednou hygienu dojení a ustájení, jelikož tyto faktory jsou základem kvalitního antimastitidního managementu stáda, a mohou vést ke snížení výskytu mastitid vyžadujících časté používání léčiv.

6 SUMMARY

Mastitis is one of the serious production diseases that have a significant economic impact. The disease is widespread all over the world and is a main cause of frequent and often inadequate application of antibiotics, which may cause the occurrence of inhibitory substances residues (RIS) in milk. The residues of inhibitory substances are important indicators of milk hygienic quality which determine its suitability for further processing.

The goal of the diploma thesis was to monitor the selected milk quality indicators including the residues of inhibitory substances in the milk of dairy cows treated with certain antibiotic groups, including factors that may affect these indicators.

It was confirmed during the research that the method of drug application and the group of antibiotics had statistically significantly affected the positive finding of RIS. The other monitored factors (drug indication, breed and yield rate) were proved not to have statistically significant impact on the presence of inhibitory substances residues.

The Twinsensor test evidenced that 71 % of the samples were positive for the occurrence of RIS in the case of intramuscular injection of the drugs and 44 % in the case of intramammary application, after the end of the protective period. The Delvotest evidenced 26 % of positive samples after intramuscular injection and 13 % after intramammary application. A statistically significant effect of the drug application on the occurrence of RIS was only proved in the Twinsensor test ($p = 0.0058$). Although Delvotest did not prove the above mentioned effect, the test, as well as Twinsensor, evidenced a higher frequency of samples positive for RIS in the case of intramuscular application.

As far as the classes of drugs are concerned, the highest occurrence of RIS positive samples after the lapse of the protective period was ascertained both by Twinsensor (78 %) and Delvotest (26 %) in the case of combined treatment. The effect of the antibiotic class on the presence of RIS was again confirmed only by the Twinsensor test ($p = 0.0035$). Delvotest did not confirm any statistically significant differences in the occurrence of positive samples ($p = 0.3296$) between the respective antibiotic classes.

At present, it is necessary to place greater emphasis on prevention, consistent milking hygiene and cattle housing. These factors are essential for the high quality of anti-mastitis herd management, and may reduce the incidence of mastitis requiring frequent application of drugs.

7 POUŽITÁ LITERATURA

1. ANDERSON, N. G., COTE, J. F. *Dry cow therapy*. Ontario: Ministry of Agriculture and Food, 1990.
2. BARTŮŇKOVÁ, J., PAULÍK, M., HOLZELOVÁ, E., HRUŠÁK, O., SMETANA, K., ŠEDIVÁ, A., ŠPÍŠEK, R., ŠPRONGL, L., VERNEROVÁ, E. *Vyšetřovací metody v imunologii*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2005. 184 s.
3. BURGERTA, P. Lze dosáhnout vysokých mléčných složek i při vysoké mléčné užitkovosti? *Náš chov*, 2003, č. 12. 46 s.
4. COLAK, H., HAMPIKY, A. N. H., BINGOL E, B. Some residues and contaminants in milk and dairy products. *Asian Journal of Chemistry*, 2007, roč. 19, č. 3, s. 1789-1796.
5. ČSN 57 0529. *Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování*. 2.vyd. Praha, Český normalizační institut, 1993. 8 s.
6. ČEJNA, V., CHLÁDEK, G. *DIFFERENCES IN THE MAIN MILK CHARACTERISTICS BETWEEN HOLSTEIN AND MONTBELIARDE COWS*. Brno: MZLU, 2005.
7. DOBŠÍKOVÁ, R., ŠIROKÁ, Z., BLÁHOVÁ, J. *Farmakologie v produkci potravin*. Brno: VFU, 2012. 152 s. ISBN 978-80-7305-616-2.
8. DOLEŽAL, O., HLÁSNÝ, J., JÍLEK, F., HANUŠ, O., VEGRICHT, J., PYTLOUN, J., MATOUŠ, E., KVAPILÍK, J. *MLÉKO, DOJENÍ, DOJÍRNÝ*. Praha: Agrospoj, 2000. 241 s. ISBN neuvedeno.
9. FERNANDES, R. *Microbiology handbook: mechanisms and pathogenesis*. 3. vyd. Cambridge: Leatherhead Publishing, *Royal Society of Chemistry*, 2009. 173 s.
10. FERGUSON, J. D., AZZARO, G., GAMBINA, M., LICITRA, G. Prevalence of Mastitis Pathogens in Ragusa, Sicily. *Journal of Dairy Science*, 2007, roč. 90, s. 5798-5813.
11. FRELICH, J., BOUŠKA, J., DOLEŽAL, O., MARŠÁLEK, M., ŘÍHA, J., VOŘÍŠKOVÁ, J., ZEDNÍKOVÁ, J. *Chov skotu*. 1. vyd. České Budějovice: JU, 2001. 211 s. ISBN 80-7040-512-0.

12. GAJDŮŠEK, S. Problémy v technologické zpracovatelnosti mléka, zejména v jeho kysací schopnosti. In: Sborník ze semináře “*Inhibiční látky v mléce.*”, VÚCHS Rapotín 1994, s. 19-20.
13. HOLEC, J. Výskyt inhibičních látek v mléce a jeho hygienická a technologická rizika. In: *Inhibiční látky v mléce.* VÚCHS Rapotín, 1994, s. 11-15.
14. ILLEK, J., JAGOŠ, P., PECHOVÁ, A. Mastitidy – záněty vemene skotu. *Farmář*, 1997, roč. 3, č. 6, s. 31-34.
15. JAHED KHANIKI, Gh. R. Chemical Contaminants in Milk and Public Health Concerns: A Review. *International Journal of Dairy Science*, 2007, č. 2, s. 104-115.
16. JAYARAO, B. M., PILLAY, S. R., SAW ANT, A. A., WOLFGANG, D. R., HEDGE, N. V. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *Journal of Dairy Science*, 2004, roč. 87, č. 10, s. 3561-3573.
17. JENSEN, K., GÜNTHER, J., TALBOT, R., PETZL, W., ZERBE, H., SCHUBERT, H., SEYFERT, H., GLASS, E. J. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters. *BMC Genomics*, 2013, č. 14, s. 36.
18. JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J. *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích.* 1 vyd. Praha: ÚZPI, 1995. 106 s. ISBN 80-85120-47-X.
19. KOLOŠTA, M. *Riziko výskytu reziduí inhibičních látek v mléku.* Žilina: VÚM a.s., 2007. ISBN neuvedeno.
20. KVAPILÍK, J., RŮŽIČKA, Z., BUCEK, P. *Ročenka - CHOV SKOTU V ČESKÉ REPUBLICE - Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2009.* Praha, 2010. ISBN 978-80-904131-4-6.
21. LARA, F. J., DEL OLMO-IRUELA, M., CRUCES-BLANCO, C., QUESEDA-MOLINA, C., GARCIA-CAMPANA, A. M. Advances in the determination of beta-lactam antibiotics by liquid chromatography. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2012, roč. 38, s. 52-66.

22. LE BRETON, M. H., SAVOY-PERROUD, M. C., DISERENS, J. M. Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk. *Analytica Chimica Acta*, 2006, roč. 586, s. 1-2.
23. LEE, M. H., LEE, H. J., RYU, P. D. Public Health Risks: Chemical and Antibiotic Residues - Review. *Asian: Australasian Journal of Animal Sciences*, 2001, roč. 19, č. 14, s. 402-413.
24. LINDMARK-MÄNSON, H., BRÄNNING, C., GUN, A., PAULSSON, M. Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. *International Dairy Journal*, 2006, roč. 16, s. 717-727.
25. LOCHMANN, O. *Nežádoucí účinky antiinfekčních léčiv*. 1. vyd. Praha: Triton, 2008. 243 s. ISBN 978-80-7387-073-7.
26. LÜLLMANN, H., MOHR, K., WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 725 s. ISBN 80-247-0836-1.
27. MIKŠÍK, J., ŽIŽLAVSKÝ, J. *Chov skotu*. Brno: MZLU, 2005. 162 s.
28. NAVRÁTILOVÁ, P. Rezidua antimikrobiálních látek v mléce a jejich význam. In *Seminář RIL, IR a NIR technologie*. Brno: MZLU, 2011, s. 1-11.
29. NAVRÁTILOVÁ, P. Problematika reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce. *Veterinářství*, 2002, roč. 52, s. 478-481.
30. PEŠEK, M. *Ošetřování, hodnocení jakosti a zpracování mléka na farmě*. 1. vyd. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1999. 54 s.
31. RONCADA, P., TOMASI, L., STRACCIARI, G. L., ERMINI, L., STROCCHIA, A. Milk depletion of dicloxacillin residues in cows and sheep following intramammary administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000, roč. 23, č. 4, s. 237-241.
32. RUEGG, P. *Antimicrobial Residues and Resistance: Understanding and Managing Drug Usage on Dairy Farms*. University of Wisconsin: Central Veterinary Conference, 2013.
33. SALEHIN, M., GHOSH, A. K., MALLICK, P. K., BHATTACHARYA, T. K. Molecular characterization, polymorphism and association study of lysozyme gene

- with milk production and somatic cell trait in *Bos indicus* x *Bos taurus* cattle. *Animal*, 2009, č. 5, roč. 3, s. 623-631.
34. SAMANIDOU, V., NISYRIOU, S. Multi-residue methods for confirmatory determination of antibiotics in milk. *Journal of Separation Science*, 2008, roč. 31, č. 11, s. 2068-2090.
35. SAMKOVÁ, E. Inhibiční látky v mléce. In *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků*. Brno: MZLU, 2010.
36. SMITH, J., COMPTON, L. Mtua, a lipoprotein receptor antigen from *Streptococcus uberis*. *Institute for Animal Health*, 2003, roč. 9, s. 484-4849.
37. ŠKARDA, J., ŠKARDOVÁ, O. *Program péče o produkci a zdraví stáda dojnic*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000, roč. 5. 68 s. ISBN 80-7271-058-3.
38. TICHÁČEK, A., BJELKA, M., HANUŠ, O., KOPUNECZ, P., OLEJNÍK, P., PAVLATA, L., PECHOVÁ, A., PONÍŽIL, A. *Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka - (Metodika pro praxi)*. 1. vyd. Šumperk: AGRITEC, 2007. 86 s. ISBN 978-80-903868-0-8.
39. VIGUIER, C., ARORA, S., GILMARTIN, N., WELBECK, K., O'KENNEDY, R. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, 2009, roč. 27, č. 8, s. 486-493.
40. VOTAVA, M., ČERNOHORSKÁ, L., HEROLDOVÁ, M., HOLÁ, V., MEJZLÍKOVÁ, L., ONDROVČÍK, P., RŮŽIČKA, F., DVOŘÁČKOVÁ, M., WOZNICOVÁ, V., ZAHRADNÍČEK, O. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.

Elektronické zdroje

41. BILLOVÁ, V. Legislativa pro veterinární léčiva (včetně vazby na legislativu EU). *Farmakologie* [online]. 2002 [cit. 2013-12-31]. Dostupné z: <<http://farmakologie.webzdarma.cz/>>
42. BILLOVÁ, V. Veterinární léčiva - bezpečnost, rezidua, MRLs. *Fakulta veterinárního lékařství* [online]. 2010 [cit. 2013-12-31]. Dostupné z: <http://fvl.vfu.cz/export/sites/fvl/sekce_ustavy/farmakologie_farmacie/pedagog/Veterinarni_farmakologie_pro_FxF/05_Veterinarni_leciva_-_bezpecnostx_MRL.pdf>

43. DEMNEROVÁ, K., HOCHÉL, I. Úvod do farmaceutické mikrobiologie. *Ústav biochemie a mikrobiologie* [online]. 2013 [cit. 2014-03-06]. Dostupné z: <<http://biomikro.vscht.cz/vyuka/fm/Farmaka3.pdf>>
44. DOČKALOVÁ, K. Registrované vnitrostátním postupem a MRP/DCP. *ÚSTAV PRO STÁTNÍ KONTROLU VETERINÁRNÍCH BIOPREPARÁTŮ A LÉČIV* [online]. 2013 [cit. 2014-03-07]. Dostupné z: <<http://www.uskvbl.cz/cs/registrace-a-schvalovani/registrace-vlp/seznam-vlp/registrovane-vnitrostatnim-postupem-a-mrpdcp>>
45. HERČÍK, M., DIRNER, M. Ochrana životního prostředí. *Hornicko-geologická fakulta Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava* [online]. 2013 [cit. 2013-12-31]. Dostupné z: <<http://www.hgf.vsb.cz/export/sites/hgf/instituty-a-pracoviste/cs/546/studijni-materialy/EV-modul1.pdf>>
46. HUČKO, B., KODEŠ, A., MUDŘÍK, Z. Obsah tuku v mléce a možnosti jeho ovlivnění krmnou dávkou. *Agris* [online]. 2005 [cit. 2014-03-21]. Dostupné z: <http://www.agris.cz/Content/files/main_files/75/153131/33_05.pdf>
47. KELLNEROVÁ, E., NAVRÁTILOVÁ, P., BORKOVCOVÁ, I. *Vliv pasteračního záhřevu na rezidua tetracyklinových antibiotik v mléce*. Brno: VFU [online]. 2013 [cit. 2014-04-07]. Dostupné z: <http://fvhe.vfu.cz/opencms/adresa/sekce_ustavy/uvprp/links/1_h2013.pdf>
48. KOPUNECZ, P. Výsledky kvality nakupovaného mléka v roce 2013 podle analýz bazénových vzorků. *Českomoravská společnost chovatelů, a.s.* [online]. 2014 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <<http://www.cmsch.cz/store/prehledy-vysledku-za-rok-2013.pdf>>
49. KOSTELNÍKOVÁ, D. *Technologické procesy a rezidua antimikrobiálních látek v mléce* [online]. 2008 [cit. 2013-12-19]. Dostupné z: <<http://konference2008.ptacisvet.cz/4download/sbornik2008.pdf>>
50. KUDRNA, V., HOMOLKA, P. Vliv krmné dávky dojnic na množství a kvalitu mléčného tuku. *Výzkumný ústav živočišné výroby* [online]. 2007 [cit. 2014-04-29]. Dostupné z: <<http://www.vuzv.cz/sites/Studei%20Kudrna%20vliv%20krmne%20davky%20dojnic%20na%20mlecny%20tuk.pdf>>

51. KVAPILÍK, J., Z. RŮŽIČKA a P. BUCEK. ROČENKA CHOV SKOTU V ČESKÉ REPUBLICE. Českomoravská společnost chovatelů, a.s. [online]. 2013 [cit. 2014-04-26]. Dostupné z: <<http://www.cmsch.cz/store/rocenka-chovu-skotu-20121.pdf>>
52. KVAPILÍK, J. Hodnocení ekonomický ukazatelů výroby mléka. *Výzkumný ústav živočišné výroby* [online]. 2010 [cit. 2014-04-27]. Dostupné z: <http://www.vuzv.cz/sites/File/SKOT/EKONOMIKA/Methodika_Kvapilik_naklady_mleko.pdf>
53. POKLUDOVÁ, L., NOVOTNÁ, P., HERA, A. Současné možnosti antimikrobní terapie mastitid v ČR. *Veterinářství*. 2007, č. 57, s. 28-35. Dostupné z: <<http://vetweb.cz/soucasne-moznosti-antimikrobni-terapie-mastitis-v-cr/>>
54. RYŠÁNEK, D. Vliv mastitid na jakost a zdravotní nezávadnost mléka. *Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.* [online]. 2007 [cit. 2014-03-21]. Dostupné z: <http://www.vri.cz/cz/dusan_rysanek/+hl-vliv%20mastitid>
55. SEYDLOVÁ, R. *Zdravotní stav mléčné žlázy po otelení* [online]. 2011 [Cit. 2013-12-30]. Dostupné z: <<http://zemedelec.cz/zdravotni-stav-mlecne-zlazy-po-oteleni-2/>>
56. SÝKOROVÁ GOFFOVÁ, Z., KOŽÁROVÁ, I., MÁTÉ, D., MARCINČÁK, S., GONDOVÁ, Z., SOPKPVÁ, D. Comparison of detection sensitivity of five microbial inhibition tests for the screening of aminoglycoside residues in fortified milk. *Czech Journal of Food Sciences*, 2012, roč. 30, s. 314–320, [cit. 2013-12-28]. Dostupné z: <<http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/66439.pdf>>
57. ŠONKOVÁ. Téma měsíce říjen 2009: ...A ta kráva mléko dává...a dává...a dává... *Bio-info* [online]. 2009 [cit. 2014-04-26]. Dostupné z: <<http://www.bio-info.cz/zpravy/tema-mesice-rijen-2009-a-ta-krava-mleko-dava-a-dava-a-dava>>
58. Nařízení Rady (EHS) č. 2377/90 ze dne 26. června 1990, kterým se stanoví postup Společenství pro stanovení maximálních limitů reziduí veterinárních léčiv v potravinách živočišného původu. In: č. 2377/90. 1990. Dostupné z: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31990R2377:cs:HTML>>

59. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 ze dne 6. května 2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu. In: č. 470/2009. 2009. Dostupné z: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:152:0011:0022:CS:PDF>>
60. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví specifické hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu. In: č. 853/2004 sb. 2004. Dostupné z: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:03:45:32004R0853:CS:PDF>>
61. Nařízení Komise (EU) č. 37/2010 ze dne 22. prosince 2009 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu. In: č. 37/2010. 2009. Dostupné z: <http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-5/reg_2010_37/reg_2010_37_cs.pdf>
62. Směrnice Komise 93/67/EHS ze dne 20. července 1993, kterou se stanoví zásady hodnocení rizik pro člověka a životní prostředí u látek notifikovaných v souladu se směrnicí Rady 67/548/EH. In: č. 93/67/EHS. 1993. Dostupné z: <[http://www.mzp.cz/ris/ais-risdb-ec-table.nsf/973006FF56AB34B7C1256DDA003D89B8/\\$file/31993L0067fin.pdf](http://www.mzp.cz/ris/ais-risdb-ec-table.nsf/973006FF56AB34B7C1256DDA003D89B8/$file/31993L0067fin.pdf)>
63. ÚSTAV PRO STÁTNÍ KONTROLU VETERINÁRNÍCH BIOPREPARÁTŮ A LÉČIV. Kloxerate Plus DC. *Cymedica* [online]. 2011 [cit. 2013-12-31]. Dostupné z: <<http://www.cymedica.com/www/cz/produkty/kloxerate-plus-dc/>>
64. Zákon č. 166/1999 Sb. ze dne 13. července 1999 o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon). In: č. 166/1999 Sb. 1999. Dostupné z: <<http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/100050485.html>>
65. Zákon č. 378/2007 Sb. ze dne 6. prosince 2007, Zákon o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech). In: č. 378/2007 Sb. 2007. Dostupné z: <<http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2007-378>>
66. SOP 02: Detekce reziduí inhibičních látek selektivním rychlotestem (TWINSENSOR BT), Centrální laboratoř MADETA a.s., 2011, 4 s.

67. SOP 03: Detekce reziduí inhibičních látek v mléce a mlékárenských výrobcích komerčními testy dle návodu výrobce ECLIPSE, Centrální laboratoř MADETA a.s., 2012, 5 s.
68. SOP 08: Detekce reziduí inhibičních látek komerčně dodávaným testem (DELVOTEST), Centrální laboratoř MADETA a.s., 2012, 6 s.
69. ČSN EN ISO 13366 – 2 Stanovení počtu somatických buněk Část 2: Návod pro ovládání fluoro-opto-elektronického přístroje. 1. vyd. Praha: Český normalizační institut, 2007, 16 s.
70. ČSN 57 0536 Stanovení složení mléka infračerveným absorpčním analyzátozem, 1. vyd. Praha: Český normalizační institut, 1999, 12 s.
71. ČSN EN ISO/IEC 17025 : 2005 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří, 1. vyd. Praha: Český normalizační institut, 2005, 48 s.

8 SLOVNÍK POJMŮ

Antibiotikum	Lék, který usmrcuje některé mikroorganismy nebo brání jejich růstu.
Alergická reakce	Přehnaná reakce imunitního systému při styku s dráždivou látkou (alergenem).
Baktericidní účinky	Dochází k narušení životně důležité struktury nebo funkce mikroorganismu a jeho usmrcení.
Bakteriostatické účinky	Dochází k inhibici růstu a množení mikroorganismu, nikoliv k jeho usmrcení.
Cizorodé látky	V potravinách jsou to všechny látky, jež nejsou přirozenou součástí potraviny.
Nefrotoxicita	Akutní či chronické poškození ledvin způsobené působením cizorodé látky.
Ototoxicita	Poškození struktur vnitřního ucha nebo sluchového nervu působením cizorodé látky (lékem).
Čistá mlékařská kultura	Kultura složená ze známých a žádoucích druhů mikroorganismů, umožňující výrobu mléčných výrobků z pasterovaného mléka.

9 SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: Kontaminanty mléka a mléčných výrobků a jejich zdroje12

SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1: Registrované intramamární přípravky pro krávy stojící na sucho18

Tab. č. 2: Maximální reziduální limit vybraných antibiotik v mléku ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)21

Tab. č. 3: Ochranné doby u vybraných přípravků23

Tab. č. 4: Rozdělení a počty vzorků podle chovů a příčin použití léčiva25

Tab. č. 5: Charakteristika jednotlivých chovů27

Tab. č. 6: Zastoupení plemen ve sledovaném souboru dojnic v jednotlivých chovech v %31

Tab. č. 7: Průměrná užitkovost a počet laktací sledovaných dojnic v jednotlivých chovech32

Tab. č. 8: Průměrný obsah tuku (%) a bílkovin (%) za všechny laktace v mléku sledovaných dojnic v jednotlivých chovech33

Tab. č. 9: Průměrný a celkový počet léčení sledovaných dojnic v jednotlivých chovech za rok33

201333

Tab. č. 10: Použití antibiotik (%) na léčbu mastitidy, zaprahování a jiné nemoci u sledovaných dojnic v jednotlivých chovech v roce 201334

Tab. č. 11: Způsob aplikace antibiotik (%) u sledovaných dojnic v jednotlivých chovech v roce34

201334

Tab. č. 12: Jakostní ukazatele v mléce sledovaných léčených dojnic34

Tab. č. 13: Vliv chovu na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic
37

Tab. č. 14: Vliv chovu na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic 38

Tab. č. 15: Vliv plemene na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic40

Tab. č. 16: Vliv plemene na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic
42

Tab. č. 17: Vliv užitkovosti na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic43

Tab. č. 18: Vliv užitkovosti na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic44

Tab. č. 19: Hodnoty MRL ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) a porovnání citlivostí jednotlivých použitých testů na vybrané účinné látky	46
Tab. č. 20: Rozdíly v detekci reziduí inhibičních látek mezi testy Delvotest a Twinsensor (%).....	46
Tab. č. 21: Četnosti pozitivních nálezů RIL u intramuskulárního a intramamárního podání léčiv (%).....	47
Tab. č. 22: Četnosti pozitivních nálezů RIL u aplikace antibiotik na léčbu mastitid a k zaprahování pomocí antibiotik (%).....	49
Tab. č. 23: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých typů plemen (%)	50
Tab. č. 24: Četnosti pozitivních nálezů RIL v závislosti na výši užitkovosti (%).....	51
Tab. č. 25: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých skupin antibiotik (%)	53
n = počet vzorků; p = p - value	53

SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1: Rozdělení četností pro počet somatických buněk (tis./ml) ve vzorcích mléka léčených dojnic (n = 161)	36
Graf č. 2: Vliv chovu na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic 38	
Graf č. 3: Vliv chovu na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic	39
Graf č. 4: Vliv plemene na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic	41
Graf č. 5: Vliv plemene na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic 42	
Graf č. 6: Vliv užitkovosti na obsah bílkovin (%) a obsah tuku (%) v mléce léčených dojnic	44
Graf č. 7: Vliv užitkovosti na počet somatických buněk (tis./ml) v mléce léčených dojnic	45
Graf č. 8: Četnosti pozitivních nálezů RIL u intramuskulárního a intramamárního podání léčiv (%).....	48
Graf č. 9: Četnosti pozitivních nálezů RIL u aplikace antibiotik na léčbu mastitid a zaprahování pomocí antibiotik (%).....	49
Graf č. 10: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých typů plemen (%)	50
Graf č. 11: Četnosti pozitivních nálezů RIL v závislosti na výši užitkovosti (%).....	52
Graf č. 12: Četnosti pozitivních nálezů RIL u jednotlivých skupin antibiotik (%)	54