

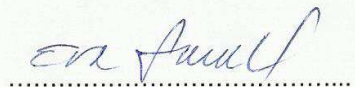
## Prohlášení

Diplomová práce s názvem „Vybrané parametry jakosti mléka u léčených dojnic“ (Selected milk quality parameters in cured cows) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2014 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.

Vedoucí diplomové práce

doc. Ing. Eva SAMKOVÁ, Ph.D.

  
.....

Autor diplomové práce

Bc. Kristýna Hruběšová

  
.....

Vedoucí katedry

doc. Ing. Miroslav MARŠÁLEK, CSc.

  
.....

V Českých Budějovicích, dne 25. 4. 2014

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**  
Zadávací katedra: **Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů**

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

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](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.

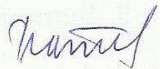
Rozsah grafických prací: tabulky a grafy dle potřeby  
Rozsah pracovní zprávy: 35-50 stran textu  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:

- 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 Hrubešová

## **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) 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 počet somatických buněk (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) 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 static cell count (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	POUŽITÁ LITERATURA .....	29

# 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 nejdůležitějších 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 nedodržením 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).

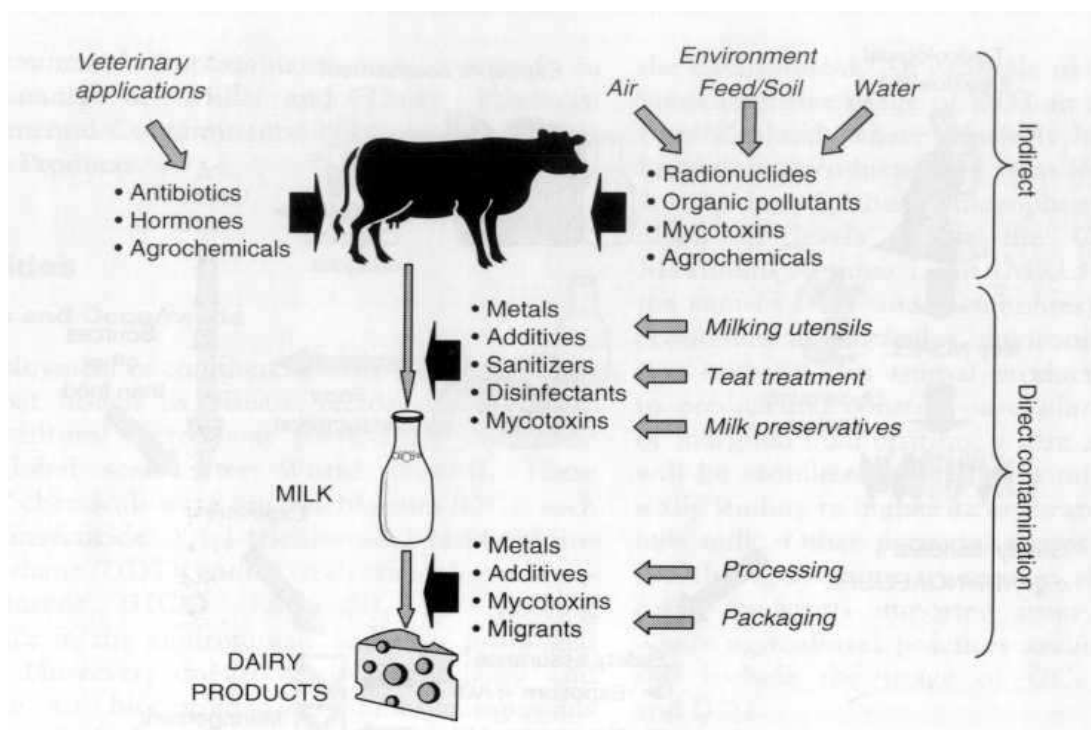
## Látky cizorodé (kontaminující)

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 sensorickým 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  $\beta$ -laktamová antibiotika (např. ampicillin, amoxicillin, penicilin G), díky schopnosti difúze a distribuce v mléčné žláze (Colak, 2007; Lara et al., 2012).  $\beta$ -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 nefrotoxitou (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  $\beta$ -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

<b>Přípravek</b>	<b>Složení</b>
Bovaclox DC Xtra	cloxacillinum, ampicillinum
Cepravin DC	cefalonium
Cobactan DC*	cefquinomum
Codilac	cloxacillinum
Drycloxa	cloxacillinum
Fatroximín 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  $\text{mg.kg}^{-1}$  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 ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) 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  $\text{mg.kg}^{-1}$  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 ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )

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

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

### **LD<sub>50</sub> 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 LD<sub>50</sub> – střední smrtelnou dávku. Vyjadřujeme ji obvykle v  $\text{mg.kg}^{-1}$  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 % dojnic 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 dojnic, 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

<b>Název přípravku</b>	<b>Ochranná doba</b>	<b>Indikace</b>
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<sup>-1</sup> (mezinárodní jednotka), u tetracyklinu o 0,125 µg.ml<sup>-1</sup> nebo o 0,25 µg.ml<sup>-1</sup> 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 %.



Následující pasáž „ MATERIÁL A METODIKA“ o rozsahu 6 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ VÝSLEDKY A DISKUSE“ o rozsahu 24 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ZÁVĚR“ o rozsahu 1 strany je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ SUMMARY“ o rozsahu 2 strany je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

### 3 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](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](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](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%20davy%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](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](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., MÁTĚ, 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](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.