

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Diplomová práce

**Zdravotní a produkční účinek imunomodulačního
preparátu Imrestoru u vysokoužitkových dojnic**

Autor práce: Bc. Kateřina Nezníková

Studijní program: N4103 – Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h.c.

Vedoucí práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

České Budějovice, 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Kateřina NEZNÍKOVÁ
Osobní číslo: Z18129
Studijní program: N4103 Zootechnika
Studijní obor: Zootechnika
Téma práce: Zdravotní a produkční účinek imunomodulačního preparátu Imrestoru u vysokoužitkových dojnic
Zadávací katedra: Katedra zootechnických věd

Zásady pro vypracování

Funkční přetížení dojnic v období kolem porodu se projevuje i sníženou obranyschopností organismu v souvislosti s nižší aktivitou neutrofilních granulocytů a lymfocytů.

U vysokoužitkových dojnic je v poporodním období v důsledku imunosuprese častější výskyt zánětů mléčné žlázy a dělohy.

Onemocnění negativně ovlivňuje reprodukci krav, jejich užitkovost a tím i rentabilitu chovu.

Cílem diplomové práce je zhodnotit imunomodulační účinek preparátu Imrestoru, jehož podstatnou součástí je cytokinin bG – CFS, na úroveň vybraných imunitních, metabolických, zdravotních a produkčních parametrů dojnic v chovu s průměrnou užitkovostí 12000 l mléka za laktaci.

Pro zpracování DP využijete údaje o zdravotním stavu a užitkovosti dojnic ošetřených Imrestorem (aplikace i.m. 3 týdny před porodem a v den porodu) a porovnáte se skupinou dojnic neošetřených.

U vybrané skupiny dojnic, u nichž bude souběžně s aplikací Imrestoru a v poporodním období odebrána krev pro laboratorní vyšetření, vyhodnotíte dynamiku hematologických a vybraných metabolických parametrů.

Výsledky zpracujte statisticky, uveďte v tabulkách a grafech.

V diskuzi vysvětlíte a zdůvodněte výsledky.

Posuďte význam Imrestoru pro posílení imunity dojnic v poporodním období.

Zpracujte přehledný stručný závěr a doporučení pro praxi.

Rozsah pracovní zprávy: 40 – 50 stran
Rozsah grafických prací: 10 tabulek, 5 grafů
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- Cunningham, J.G., Klein, B.G.: Textbook of Veterinary Physiology. Saunders Elsevier, 2007. 700 s.
Doležal, O. a kol.: Chov dojeného skotu. Praha. Profi Press, 2015.
Ferenčík, M., Rovenský, J., Nyulassy, Š.: Imunológia. SAP Bratislava, 1999. 283.
Hofírek, B. a kol.: Nemoci skotu. Česká buiatrická společnost. Noviko, 2009. 1149
Imrestor. Praktický průvodce. Elanco Animal Health, 2016. 9 s.
Jelínek, P., Koudela, K a kol.: Fyziologie hospodářských zvířat. MZLU Brno, 2003. 409 s.
Toman, M. a kol.: Veterinární imunologie. Grada Publishing, 2000. 413 s.
Elektronické informační zdroje Akademické knihovny JU v Č. Budějovicích (internetové databáze): ISI Web of Knowledge (Web of Science), Agroweb, Agris, Scopus, Česká zemědělská a bibliografická databáze, příslušné odborné a vědecké časopisy.

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
Katedra zootechnických věd

Konzultant diplomové práce: Ing. Jitka Kautská
Katedra zootechnických věd

Datum zadání diplomové práce: 25. března 2019

Termín odevzdání diplomové práce: 15. dubna 2020

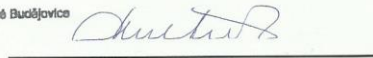
V Českých Budějovicích dne 25. března 2019



prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA ⁴³
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Budejovická 1860, 370 05 Česká Budějovice

L.S.



prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.
vedoucí katedry

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Zdravotní a produkční účinek imunomodulačního preparátu Imrestoru u vysokoužitkových dojnic vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou - 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.

V Českých Budějovicích dne:

Podpis:

Bc. Kateřina Nezníková

Poděkování

Touto cestou chci moc poděkovat panu prof. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc. za odbornou pomoc, věcné připomínky, vstřícnost a cenné rady, které mi poskytl během zpracovávání mé diplomové práce. Dále chci velice poděkovat konzultantce práce, paní Ing. Jitce Kautské, za ochotu a pomoc při zpracovávání získaných výsledků. Další poděkování patří pracovníkům laboratoře a členům Katedry zootechnických věd za odborné rady a pomoc. V neposlední řadě děkuji mé rodině a nejbližším přátelům za podporu a pochopení, kterou mi v průběhu studia věnovali.

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá zhodnocením vlivu imunomodulačního preparátu Imrestoru na zdravotní a produkční stav vysokoužitkových dojnic v tranzitním období. Pokus probíhal v zemědělském podniku Košetice v okrese Pelhřimov na dojnicích plemene holštýn. Zvířata vybraná pro pokus byla rozdělena do dvou skupin – kontrolní a pokusná. Preparát Imrestor byl dojnicím pokusné skupiny podáván subkutánně přibližně týden před porodem a v den porodu. Aktivní složkou tohoto preparátu je komerční forma přirozeně se vyskytujícího cytokinu (bG-CSF), který specificky působí na příslušné prekurzorové buňky neutrofilů a zvyšuje jejich produkci.

Dojnicím byly pro zjištění účinnosti preparátu odebírány vzorky krve a zároveň byl sledován jejich klinický zdravotní stav a výskyt nejčastějších onemocnění v tranzitním období. Celkem bylo odebráno 81 vzorků krve od 31 dojnic ze skupiny kontrolní a od 18 dojnic ze skupiny pokusné. V laboratoři bylo provedeno biochemické a hematologické vyšetření, kde byly stanoveny parametry červených krvinek, počty trombocytů a leukocytů, procentuální zastoupení leukocytů, biochemické parametry krevní plazmy a obsah minerálních látek.

Díky provedenému statistickému šetření bylo zjištěno, že preparát Imrestor statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) ovlivnil počty leukocytů a procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů a lymfocytů. Statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$) mezi sledovanými skupinami dojnic byly zjištěny v procentuálním zastoupení monocytů, v počtech trombocytů a aktivitě alkalické fosfatázy.

Klíčová slova: dojnice; okoloporodní období; neutrofilny; cytokiny; imunita;

Abstract

This thesis deals with evaluation of the impact of immunomodulatory preparation Imrestor (Elanco Animal Health) on the health and production of high-producing dairy cows in the transition period. The experiment was done in the agricultural company Košetice in the district of Pelhřimov on dairy cows of the Holstein breed. The animals selected for the experiment were divided into two groups – control and experimental. Imrestor was applied subcutaneously to the dairy cows of the experimental group approximately one week before calving and on the day of calving. The active component of this preparation is a commercial form of a naturally occurring cytokine (bG – CSF), which specifically affects on the neutrophil precursor cells and increases their production.

Blood samples were taken from all cows included in the experiment to evaluate the effect of the preparation Imrestor. At the same time was monitored their clinical health and the incidence of the most common diseases in the transition period. 81 blood samples were taken from 31 dairy cows from the control group and from 18 dairy cows from the experimental group. A biochemical and hematological examination was performed in the laboratory, where the parameters of red blood cells, trombocyte count, leukocyte count, leukocyte percentage, biochemical indicators of blood plasma and mineral content were determined.

By statistical evaluation was found, that Imrestor statistically highly significantly ($p < 0.01$) affected leukocyte counts and the percentage of neutrophil granulocytes and lymphocytes. Statistically significant differences ($p < 0.05$) between the observed groups of dairy cows were found in the trombocyte count, percentage of monocytes and alkaline phosphatase activity.

Key words: dairy cow, transition period; neutrophil; cytokines; immunity

Obsah

1. Úvod	10
2. Literární přehled	11
2.1 Imunitní systém a jeho funkce	11
2.1.1 Buňky imunitního systému	11
2.2 Cytokiny	15
2.2.1 Funkce cytokinů	16
2.2.2 Receptory cytokinů.....	17
2.2.3 Klasifikace cytokinů	17
2.3 Okoloporodní období – kritická biologická fáze dojnic.....	19
2.4 Nejčastější onemocnění dojnic v tranzitním období	20
2.4.1 Ketóza	20
2.4.2 Mastitida	22
2.4.3 Akutní poporodní endometritida a metritida.....	23
2.4.4 Zadržení lůžka	24
2.4.5 Pneumonie.....	26
3. Materiál a metodika	28
3.1 Charakteristika podniku.....	28
3.2 Vlastní metodika práce	29
3.2.1 Imunomodulační preparát Imrestor	30
3.2.2 Stanovení hematologických ukazatelů	31
3.2.3 Stanovení biochemických ukazatelů	31
3.2.4 Statistické vyhodnocení dat	32
4. Výsledky.....	33
4.1 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na hematologické ukazatele	33
4.1.1 Vliv preparátu Imrestoru na úroveň ukazatelů červených krvinek a počty trombocytů.....	34
4.1.2 Vliv preparátu Imrestoru na počet leukocytů a jejich relativní zastoupení	37
4.2 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na parametry krevní plazmy	43
4.2.1 Vliv preparátu Imrestoru na biochemické ukazatele	44
4.2.2 Vliv preparátu Imrestoru na obsah vybraných minerálních látek v krevní plazmě	49

4.3 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na klinické zdraví zvířat	51
4.3.1 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt subklinické ketózy	51
4.3.2 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt metritidy	52
4.3.3 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt klinické mastitidy	52
4.3.4 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt pneumonie	52
4.3.5 Vliv preparátu Imrestoru na četnost zadržení lůžka	53
4.4 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na ukazatele mléčné užitkovosti	53
5. Diskuze	55
6. Závěr	62
7. Použitá literatura a zdroje	63
8. Seznam obrázků	69
9. Seznam tabulek	69
10. Seznam grafů	70
11. Datové přílohy	71

1. Úvod

Chov skotu patří v České republice k nejdůležitějším ekonomickým odvětvím živočišné a zemědělské výroby. Kravské mléko představuje pro člověka významný zdroj mléčných bílkovin a tuku s vysokou biologickou hodnotou a stravitelností. V rámci lidské výživy představuje nenahraditelný zdroj vápníku a jódu.

Klíčová etapa života dojnice je pro chovatele okoloporodní (tranzitní) období. Toto období, které zahrnuje 3 týdny před a 3 týdny po porodu, rozhoduje o rentabilitě celého chovu. V těchto 6 týdnech chovatel velmi usiluje o udržení dobrého zdravotního stavu dojnic, neboť mají zásadní vliv na celou nadcházející užitkovost a úroveň reprodukce. V tranzitním období se často objevují mastitidy, ketózy, poporodní parézy, zadržení lůžka, metritidy apod. Důvodem zvýšeného výskytu těchto onemocnění u vysokoprodukčních dojnic v okoloporodním období je funkční přetížení organismu. To se projevuje sníženou obranyschopností organismu v souvislosti s nižší aktivitou neutrofilních granulocytů a lymfocytů.

Cílem diplomové práce je zhodnotit vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru, jehož významnou složkou je komerční forma přirozeně se vyskytujícího cytokinu – bovinní kolonie granulocytů stimulující faktor (bG – CSF), na zdravotní a produkční ukazatele u vysokoprodukčních dojnic. Tento cytokin specificky působí na příslušné prekurzorové buňky neutrofilů a zvyšuje tak jejich produkci.

2. Literární přehled

2.1 Imunitní systém a jeho funkce

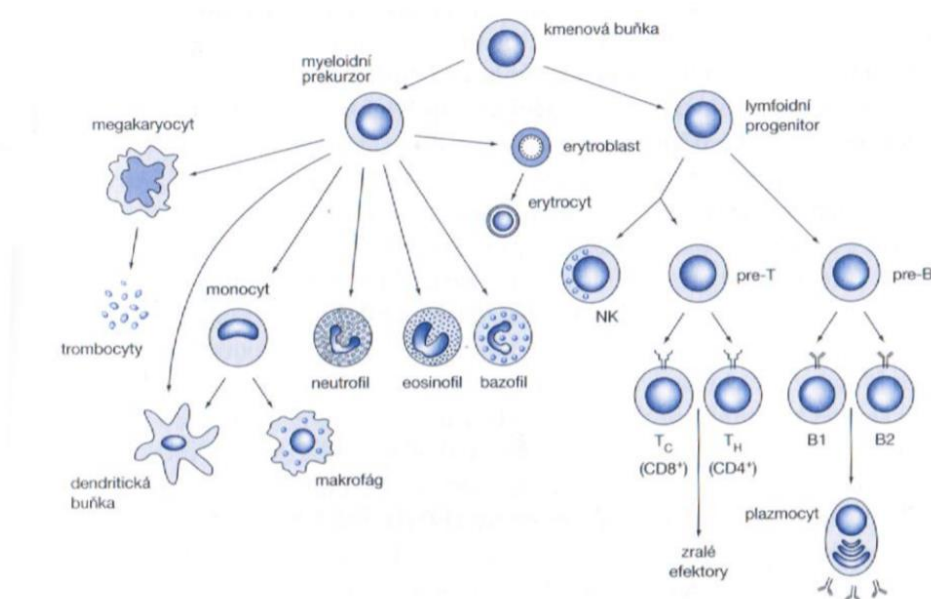
Imunitní systém (IS) je adaptační a regulační soustava. Spolu s nervovým a endokrinním systémem se podílí na zajištění celistvosti mnohobuněčného živočišného organismu a udržení jeho funkcí v homeostázi. Tyto tři systémy jsou propojeny. Buňky imunitního systému reagují na hormony a neurotransmitery, a dokonce je v některých případech i samy sekretují. Typické signalizační molekuly pro IS představují cytokiny. Ty jsou schopny díky navázání na receptory jiných buněk aktivovat nebo naopak tlumit jejich reakce (Toman a kol., 2009).

Imunitní systém představuje difúzní orgán, který tvoří různé buňky, lymfatické tkáně a orgány. Díky své schopnosti rozeznávat vnější škodliviny zajišťuje IS obranyschopnost organismu. Chrání tak organismus proti patogenním mikroorganismům a jejich toxickým produktům. Zároveň IS rozpoznává vlastní tkáně a udržuje je v toleranci (autotolerance). K významné funkci IS patří také imunitní dohled. Jedná se o dohled nad vnitřními škodlivinami, kdy IS průběžně odstraňuje staré, změněné nebo poškozené buňky (Hořejší a kol., 2017).

2.1.1 Buňky imunitního systému

Imunitních reakcí se účastní různé druhy buněk, které se dělí na buňky přímo patřící do imunitního systému (leukocyty) a podpůrné buňky, které spadají pod jiné systémy. Všechny druhy leukocytů vznikají z pluripotentních kmenových buněk v kostní dřeni. Působením různých faktorů se buňky vyvíjejí buď v myeloidní nebo lymfoidní linii. Z myeloidní linie vznikají makrofágy, monocyty a 3 druhy granulocytů: neutrofil, eozinofil a bazofil. Lymfoidní linie diferenciuje T-lymfocyty, B-lymfocyty, NK buňky (natural killer cells) a některé další typy lymfocytů (Hořejší a kol., 2017). Schéma diferenciací různých druhů leukocytů z kmenové buňky je znázorněno na obrázku 1.

Obrázek 1 – Diferenciace různých druhů leukocytů z kmenové buňky (Hořejší a kol., 2017)



Makrofágy se řadí mezi velmi důležité buňky přirozené imunity s významnou regulační funkcí. Chrání organismus před intracelulárními patogeny a odstraňují poškozené vlastní buňky. Jejich úlohou je také prezentace antigenu T-lymfocytům. Makrofágy řídí hemopoézu, hemostázy, hojení ran, regulují zánět a regenerují tkáň. Vyvíjejí se z kostní dřeně pod vlivem cytokinů IL-3, GM-CSF a M-CSF. Dále proliferují a diferencují se v monoblasty a promonocyty (Toman a kol., 2000).

Monocyty jsou buňky se schopností fagocytózy, které se dělí na monocyty klasické a hlídkující. Klasické monocyty se volně nachází v krevním oběhu a v případě infekce nebo poranění jsou transportovány k postižené tkáni. Diferencují do makrofágů nebo dendritických buněk a účastní se imunitní odpovědi. Hlídkující (neklasické) monocyty vynikají schopností adheze k cévní stěně, kde po luminálním povrchu cév migrují a fagocytují apoptotické endoteliální buňky. Čistí cévní stěny a přispívají k celistvosti endotelií (Hořejší a kol., 2017).

Neutrofil (neutrofilní granulocyty) se stejně jako monocyty nachází za fyziologických podmínek v krevním řečišti. Přes 90 % z celkového množství neutrofilů je uloženo v kostní dřeni, odkud se průběžně vyplavují, aby bylo v krevním oběhu obsaženo stále stálé množství (Hořejší a kol., 2017). Produkce neutrofilů je stimulována kolonií granulocytů stimulující faktor (G-CSF) (Abbas a kol., 2007). Neutrofil se vyznačuje segmentovaným jádrem s drobnými a různě se barvícími granulami v cytoplazmě. Za sekundu je vyprodukováno kolem milionu těchto buněk.

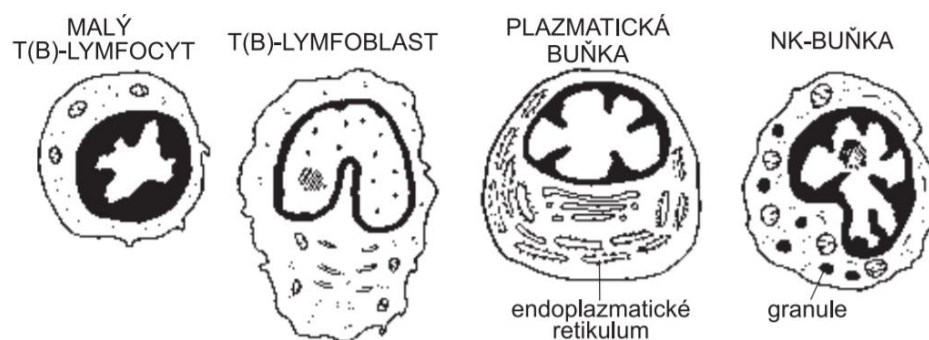
V případě zánětlivých onemocnění se produkce může ještě o řád zvýšit. V krevním oběhu zůstávají přibližně šest hodin a následně vstupují do tkání, v nichž přežívají asi dva dny. Pronikají rychle do zánětlivých ložisek, kde pohlcují mikroorganismy, zejména jsou-li opsonizované protilátkou (Toman a kol., 2000). Primární funkcí neutrofilů, stejně jako ostatních fagocytů, je rozpoznání cizích mikroorganismů a jejich následné pohlcení a zničení (Abbas a kol., 2007). Zabíjení pohlcených mikrobů probíhá buď neoxidativní cestou nebo oxidativním vzplanutím (Toman a kol., 2009).

Eozinofily (eozinofilní granulocyty) tvoří přibližně 1 % krevních leukocytů. Jejich vývoj v kostní dřeni trvá 2–6 dní a v krevním řečišti následně setrvávají 6–12 hodin, ve tkáních 4–10 dní. Typická jsou pro ně velká granula (0,5 μm) s centrálním krystaloidem. Sekretují několik interleukinů, TNF- α a TGF- β . Aktivované eozinofily jsou schopny fagocytózy imunitních komplexů a zabíjení mnohobuněčných parazitů toxickými produkty a kyslíkovými metabolity. Omezeně fagocytují mikroorganismy (prvky, houby a bakterie) (Toman a kol., 2009).

Bazofily (bazofilní granulocyty) jsou zastoupeny ze všech leukocytů v nejmenší míře. Velikostí jsou srovnatelné s neutrofilů, avšak jádro je dvousegmentové a hrubá cytoplazmatická granula se barví zásaditými barvivy modře. V granulech jsou obsaženy biologicky aktivní látky (histamin, heparin), které zasahují do obranných a reparačních procesů organismu (Sláma a kol., 2011).

Lymfocyty představují funkčně heterogenní populaci imunitních buněk. Největší podíl lymfocytů tvoří T- a B-lymfocyty zajišťující specifickou imunitu. K lymfocytům jsou však řazeny i NK-buňky (Toman a kol. 2009). Morfologie jednotlivých typů buněk lymfocytů je znázorněna v obrázku 2.

Obrázek 2 – Morfologie lymfocytů (Toman a kol., 2009)



T-lymfocyty se řadí mezi základní složky specifické (získané) imunity (Ferenčík a kol., 2005). Dozrávají z prekurzorových buněk v brzlíku (thymus), od něhož je odvozen jejich název. Na povrchu T-lymfocytů se nachází receptory (TCR), které jsou schopny na sebe navázat antigen. Receptory reagují s antigenními peptidy vázanými na povrchu antigen prezentujících buněk (makrofágy, dendritické buňky) a začínají plnit svou biologickou funkci (Lochmanová, 2006). Jsou rozeznávány pomocné, cytotoxické a paměťové T-lymfocyty a NKT lymfocyty. Pomocné T-lymfocyty dokáží regulovat imunitní reakce. Cytotoxické T-lymfocyty jsou charakteristické tím, že dokáží usmrtit buňky, na nichž se nachází antigen. Paměťové T-lymfocyty vznikají po střetnutí s určitým antigenem. Při opětovném setkání se stejným antigenem vzniká imunitní reakce rychleji a je intenzivnější. NKT-lymfocyty jsou typické některými vlastnostmi NK-buněk a zároveň T-lymfocytů (Ferenčík a kol., 2005).

B-lymfocyty vznikají z prekurzorů v kostní dřeni a jejich název je odvozen od bursy Fabricii, což je primární lymfoepiteliální orgán ptáků. Po opuštění kostní dřene, dochází k jejich transportu k lymfoidním orgánům. Vlivem kontaktu s antigenem jsou B-lymfocyty stimulovány a diferencovány na plazmatické buňky produkující protilátky a paměťové buňky. B-lymfocyty produkují protilátky a zároveň jsou obsaženy v buněčné membráně, kde pomáhají rozeznávat antigen (Lochmanová, 2006).

NK buňky (natural killer – „přirozený zabíječ“) jsou charakteristické svou schopností spontánně usmrcovat různé nádorové buňky a buňky infikované virem (Ferenčík a kol., 2005). Morfologicky se jedná o velké granulární lymfocyty. Mají membránové receptory NKAR (NK activating receptors) a KIR (killer cells inhibitory receptors) a Fc receptory pro IgG (CD16, CD32). Díky svým receptorům rozpoznávají buňky, jimž chybějí MHC I molekuly (hlavní histokompatibilní komplex). Při setkání se zdravou buňkou se jejich inhibiční receptory (KIR) navážou na molekuly MHC I a zabráňují usmrcení zdravé buňky. Naopak při absenci, sníženém množství nebo změně MHC I na cílové buňce dojde k cytotoxické reakci (Toman a kol., 2009).

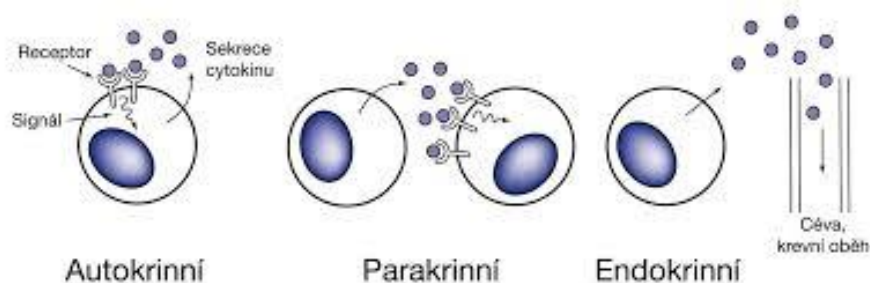
2.2 Cytokiny

Cytokiny jsou bílkovinné faktory, které pomáhají buněčné komunikaci v imunitních reakcích a ovlivňují pohyb buněk směrem k místům zánětu, infekce a traumatu (Toman a kol., 2000). Heterologní skupina cytokinů zahrnuje stovky nízkomolekulárních proteinů. Cytokiny se v těle nacházejí buď rozpuštěné v tekutině (plazma, tkáňová tekutina) nebo vázané na membránu (Hořejší a Bartůňková, 2005). Buňka, která produkuje cytokiny slouží jako jakýsi biologický senzor, který prostřednictvím cytokinu přenáší informaci na receptor citlivých buněk, vlastních efektorů biologické odpovědi (Teplan a kol., 2014). Navázáním cytokinu na receptor buňky se vytváří citlivě reagující regulační síť uvnitř imunitního systému (cytokinová síť) (Toman a kol., 2009). Díky širokému účinku působení nachází cytokiny uplatnění v medicíně, kde se využívá jejich schopnost zásadně ovlivnit průběh imunitní reakce (Lochmanová, 2006).

Regulátory imunitního systému cytokiny jsou sekretovány leukocyty a jinými buňkami. Prostřednictvím specifických receptorů působí na různé buňky imunitního systému i mimo něj. Vedle sekretovaných forem cytokinů existují také formy membránové, které jsou zakotveny v cytoplazmatické membráně hydrofobní sekvencí přibližně 20 aminokyselin. Také některé signalizační povrchové proteiny je možné považovat za membránové cytokiny. Většina cytokinů působí na několik různých buněk (pleiotropie) a často jeden cytokin indukuje tvorbu druhého (kaskáda). Cytokiny mohou působit autokrinně (cytokin ovlivňuje buňku, která ho sekretuje), parakrinně (ovlivňuje buňky ve své blízkosti) nebo endokrinně (cytokiny jsou krevním řečištěm transportovány ke vzdálenějším tkáním) (Hořejší a kol., 2017).

Znázornění autokrinního, parakrinního a endokrinního působení cytokinů je zobrazeno v obrázku 3.

Obrázek 3 – Schématické znázornění autokrinního, parakrinního a endokrinního působení cytokinů (Hořejší a kol., 2017)



Jako první cytokin byl objeven v roce 1957 interferon díky vědcům Issacs a Lindenmann jako solubilní faktor produkovaný buňkami po expozici inaktivovaným virem chřipky (Živná, 2018). V 70. letech 20. století byly první cytokiny označovány jako lymfokiny (produkty lymfocytů) a monokiny (produkty monocytů). Později bylo zjištěno, že mnoho cytokinů není produkováno pouze těmito dvěma typy buněk, a tak bylo od názvů upuštěno (Toman a kol., 2009). Skupiny cytokinů byly následně pojmenovány jako interleukiny, lymfokiny, tumor nekrotizující faktory, interferony, faktor stimulující kolonie, polypeptidové růstové faktory, stresové proteiny a chemokiny (Ferenčík a kol., 2005).

2.2.1 Funkce cytokinů

Hlavní úlohou cytokinů je regulace směru, rozsahu a délky trvání imunitní reakce. Cytokiny dále modelují a remodelují tkáň během ontogenetického vývoje jedince podle jeho genetického programu (Hořejší a kol., 2017). Cytokiny aktivitu imunitního systému ovlivňují tak, že stimulují aktivitu buněk, jejich proliferaci, funkci nebo diferenciaci. Jsou velmi účinné. Svůj signál předávají již v pikomolárních koncentracích prostřednictvím vazebných membránových receptorů. Cytokinový signál mění genovou expresi v cílových buňkách. Cytokiny mohou způsobovat více odlišných aktivit v jedné cílové buňce v průběhu času. Zároveň může více cytokinů zprostředkovávat stejnou aktivitu (Toman a kol. 2000). Mezi funkce cytokinů patří regulace zánětu a imunitní odpovědi, regulace apoptózy, zabíjení nádorově změněných buněk a intracelulárních parazitů. Diferenční faktory regulují krvetvorbu, výstavbu imunitních orgánů a diferenciaci imunitních buněk do funkčních populací. Další významnou funkcí cytokinů je zvýšení exprese MHC molekul (Toman a kol., 2011).

2.2.2 Receptory cytokinů

Cytokiny tvoří vazbu se svými specifickými receptory, jejichž vyjádření na membráně buněk je přesně regulováno (Toman a kol., 2009). Tyto receptory jsou obvykle složeny ze dvou, někdy i ze tří podjednotek. První z nich zajišťuje specifickou vazbu cytokinu. Druhá a třetí podjednotka jsou zodpovědné za spojení se signalizačními intracelulárními molekulami (Hořejší a kol., 2009). Vedle membránových receptorů jsou známy také rozpustné receptory, které slouží pouze k přenosu cytokinového signálu, ne k jeho příjmu. Receptory jsou tvořeny většinou z více proteinových řetězců a platí, že některé podjednotky jsou společné a mají konzervativní strukturu, podle níž se rozlišuje několik tříd (Toman a kol., 2009).

2.2.3 Klasifikace cytokinů

V současné době je charakterizováno téměř 200 druhů cytokinů. Podle funkce a typu buněk, které je uvolňují nebo na ně působí, se dělí do několika skupin. Hlavní skupiny cytokinů jsou uvedeny v tabulce 1 (Ferenčík a kol., 2005).

Tabulka 1 – Hlavní skupiny cytokinů (Ferenčík, 2005).

Název	Příklady	Funkce
Interleukiny	IL-1 až IL-32	Regulace imunitních reakcí
Lymfokiny	MAF, MIF	Aktivace makrofágů
Tumor nekrotizující faktor	TNF	Regulace zánětu, protinádorová obrana
Interferony	IFN- α , IFN- β ,	Antivirový účinek, regulace imunitních reakcí
Faktory stimulující kolonie	G-CSF, M-CSF	G-CSF stimuluje granulocyty
Polypeptidové růstové faktory	FGD, PDGF	FGF – fibroblastový růstový faktor
Transformující růstové faktory	TGF- α , TGF- β	Regulace embryonálního vývoje, imunitních reakcí a nádorové přeměny
Stresové proteiny	Hsp	Odpověď na buněčný stres
Chemokiny	CL, CCL, CXCL	Stimulují chemotaxi buněk IS

Interleukiny jsou cytokiny, které zajišťují komunikaci mezi leukocyty. Lymfokiny jsou produkovány lymfocyty a jejich úlohou je aktivace makrofágů (Ferenčík a kol., 2005). Tumor nekrotizující faktor (TNF) je skupina cytokinů s protizánětlivými a imunoregulačními účinky. Svůj název ale TNF cytokiny získaly především díky své funkci bránit se nádorům. TNF produkují především makrofágy, NK-buňky a žírné buňky (Toman a kol., 2009). TNF je označován také jako kachektin, neboť v případě jeho vyšších koncentrací v krvi způsobuje chorobné hubnutí (kachexii), horečku, nechutenství a letargii. Mezi nejdéle známé cytokiny se řadí interferony (IFN). Interferony se dělí na dvě třídy. Do první třídy patří IFN- α , IFN- β , IFN- ω a IFN- τ . Druhou třídu představuje IFN- γ . Interferony první třídy jsou produkovány leukocyty a mají především antivirové a antiproliferační účinky (inhibují dělení vlastních buněk). Velmi významnou skupinou jsou faktory stimulující kolonie (CSF). Jedná se o glykoproteiny, jejichž funkcí je regulování proliferace, dozrávání a aktivity

hematopoetických buněk (Ferenčík a kol., 2005). Patří k nim granulocytový CSF (G-CSF), který působí regulačně na granulocyty a makrofágový CSF (M-CSF) s funkcí ovlivňovat makrofágy. GM-CSF reguluje makrofágy a zároveň i granulocyty (Hořejší a kol., 2017). Existuje i multi-CSF (IL-3), který má vliv na růst a funkci nejen makrofágů a granulocytů, ale i jiných krevních buněk, včetně erytrocytů (Ferenčík a kol., 2005). Mezi polypeptidové růstové faktory patří TGF- α a TGF- β (Hořejší a kol., 2017). Ovlivňují embryonální vývoj, imunitní reakce a nádorové přeměny buněk. Stresové proteiny jsou zodpovědné za reakci na buněčný stres (vysoká teplota, nedostatek glukózy apod.). Chemokiny představují největší skupinu cytokinů. Jedná se o polypeptidy, které stimulují chemotaxi (regulovanou migraci) buněk imunitního systému. Dělí se na čtyři skupiny, přičemž každá z nich stimuluje chemotaxi jiných buněk (Ferenčík a kol., 2005).

2.3 Okoloporodní období – kritická biologická fáze dojnic

Okoloporodní období (přechodné, tranzitní) představuje u dojnic období přibližně 3 týdny před porodem a 3 týdny po porodu, tedy vstupu do laktace (Šlosárková a kol., 2006). Jde o kritickou biologickou fázi života dojnic, ve které jsou dojnice vystaveny velké funkční zátěži spojené s adaptací organismu na laktopoezu za situace přechodného živinového nedostatku (Roche a kol., 2017). Tranzitní období je charakterizované: zvýšenou potřebou energie, sníženým příjmem sušiny projevujícím se energetickým deficitem a oslabením imunitního systému. Dojnice jsou často v tomto období postiženy poruchami látkového a energetického metabolismu (Trimboli a kol., 2019). Důsledkem imunoprese dochází ke zvýšené frekvenci infekčních onemocnění, zejména mléčné žlázy a pohlavních orgánů (Lacasse a kol., 2018). Autoři Esposito a kol. (2014) korelují narůst těchto onemocnění v okoloporodním období s narušenou chemotaxí a aktivací neutrofilů, jež představují první obrannou linii v boji proti mikroorganismům a hrají klíčovou roli vrozené imunity (Rosales a kol., 2013).

Předcházení metabolických a infekčních onemocnění v tranzitním a následném období vysoké laktace je možné spatřovat v optimální krmné dávce, minimalizaci stresu a splnění podmínek welfare zvířat. Krmná dávka by měla obsahovat dostatečné množství energie, vlákniny, vitamínů a stopových minerálních látek v dostupných zdrojích. Všem dojnicím je nutné zajistit komfortní prostředí pro přijímání potravy,

napájení a odpočinek. Ležení by mělo být pohodlné, čisté, suché a velikostně odpovídající chovanému plemeni krav. Stres u dojnic minimalizuje i zajištění optimální teploty prostředí a správné větrání (Van San a kol., 2014). Mezi preventivní kroky v podpoře udržení zdraví dojnic v okoloporodním období patří i vizuální kontrola zvířat. Chovatel by měl každý den kontrolovat jejich kondici, postoj, chuť k příjmu potravy, přezvykování nebo charakter výkalů. Po porodu je nezbytné zkontrolovat pohlavní orgány a zaznamenat odchod lůžka. Důležité je i sledovat denní nádoj. Náhlý pokles dojivosti může značit probíhající patologický proces. Po těžkém porodu a při zdravotních komplikacích je doporučováno podávat přípravky na podporu bachorové činnosti, energetického, minerálního metabolismu a imunitního systému (Šlosárková a kol., 2006).

2.4 Nejčastější onemocnění dojnic v tranzitním období

Mezi nejčastější onemocnění dojnic, která se vyskytují v tranzitním období patří poporodní parézy, zadržení lůžka, poruchy involuce dělohy, bachorové acidózy, ketózy, dislokace slezu, laminitidy a mastitidy (Šlosárková a kol., 2006). Na farmě v Chyšné, kde pokus této diplomové práce probíhal, se nejčastěji vyskytovala u vysokoprodukčních dojnic v tranzitním období tato onemocnění: ketóza, mastitida, metritida, zadržení lůžka a pneumonie. Tyto nemoci budou podrobněji popsány v následujících kapitolách.

2.4.1 Ketóza

Ketóza představuje akutní až chronickou poruchu energetického metabolismu, která je charakterizovaná zvýšenou tvorbou ketolátek, špatnou tvorbou glukózy a tukovou degenerací jater (Kudrna a kol., 1998). Vyskytuje se u vysokoprodukčních dojnic nejčastěji mezi 2. až 6. týdnem po porodu. S nástupem laktace u dojnic dochází ke zvýšeným nárokům na příjem energie v krmné dávce (KD). Pokud jsou dojnice v tomto období krmeny běžnou KD bez zvýšené koncentrace energie, příjem je nedostatečný. Dochází u nich k negativní energetické bilanci (NEB) a jsou nuceny využívat své rezervní tuky a bílkoviny. Dojnice v KD potřebují vysoký obsah glukózy zároveň proto, neboť je základním stavebním kamenem laktózy (mléčného tuku). Při NEB a vysokých nárocích na tvorbu glukózy v játrech dochází k přílišnému odbourávání tuků a bílkovin a velkému zatížení jater. V játrech se oxidují neesterifikované mastné kyseliny (NEMK) na oxid uhličitý a vodu a jsou využívány

jako zdroj energie (Hofírek a kol., 2004). Aby došlo k úplné oxidaci NEMK, je potřeba dostatečné množství oxalacetátu, který je ovšem přednostně spotřebováván při glukoneogenezi. V případě nedostatku oxalacetátu nedochází k dostatečnému oksyločování mastných kyselin (MK), začínají vznikat ketolátky a v játrech se ukládají neoxidované MK (Ticháček a kol., 2017). Množství ketolátek nedokáže organismus využít, a tak se začínají hromadit v krvi, vylučují se mlékem a močí (Hofírek a kol., 2004). Mezi nejvýznamnější ketolátky patří aceton, kyselina acetoctová a kyselina betahydroxymásečná (Duffield a kol., 2000).

Ketóza je rozdělována na primární a sekundární. Důvodem primární ketózy je nedostatečný příjem energie v KD vysokoprodukčních dojníc při nástupu laktace. Objevuje se především u dojníc ztučnělých před porodem, které mají zároveň velký genetický potenciál pro produkci mléka. Vrchol laktace nastává 4–7 týdnů po porodu a dojnice v tomto období není schopna přijmout odpovídající množství krmiva, čímž dochází k odbourávání tělesných rezerv. Vrchol příjmu krmiva u dojníc nastává až 8–10 týdnů po porodu (Hofírek a kol., 2009).

Sekundární ketóza vzniká z důvodu energetického vyčerpání nebo snížením příjmu krmiva v souvislosti s jiným probíhajícím onemocněním. Typickým příkladem onemocnění v poporodním období je například metritida, mastitida, onemocnění pohybového aparátu a další onemocnění spojená se zvýšenou teplotou. Při tomto typu ketózy nezáleží na složení KD (Hofírek a kol., 2009).

Dále se ketóza dělí na subklinickou a klinickou. Častější subklinická ketóza je stav, kdy zvíře sice má zvýšenou hladinu ketolátek v těle, ale neprojevuje žádné klinické příznaky (Duffield a kol., 2000). Subklinická ketóza zapříčiňuje velké ekonomické ztráty, neboť jejím vlivem dochází ke snížené produkci mléka až o 20 %. Klinická ketóza se vyskytuje v našich chovech méně často. Příznaky mohou být velice různorodé. Digestivní forma klinické ketózy se projevuje nechutenstvím, sníženou činností předžaludků a střev a suchými výkaly. Později dochází k průjmům a kondice zvířat se zhoršuje. Nervovou formu charakterizuje podrážděnost, neklid, střídavé lehání a vstávání, deprese a křeče. Mléko, moč, dech i pot jsou cítit po acetonu (Pavlatá a kol., 2008).

2.4.2 Mastitida

Mastitida (zánět mléčné žlázy) patří k nejvýznamnějším zdravotním a ekonomickým problémům chovu dojného skotu (Hofírek a kol., 2009). Jedná se o kterékoliv zánětlivé změny na mléčné žláze, které jsou doprovázeny zvýšeným počtem somatických buněk, především leukocytů, v mléce. Dále se mění fyzikálně-chemické a mikrobiologické vlastnosti mléka a tkáň mléčné žlázy je také patologicky změněna (Hofírek a kol., 1990). Mastitidní mléko vykazuje počet somatických buněk nad 100 000/ml a současně se v mléku nachází patogenní mikroorganismy (Hofírek a kol., 2009).

Mastitidy vznikají nejčastěji při průniku patogenních mikroorganismů strukovým kanálkem do mléčné žlázy a následně dochází k interakci patogenu s hostitelem (Hejlíček a kol., 1987). V 90 % případů mastitidu vyvolávají bakteriální infekce, pouze v 10 % zánět mléčné žlázy způsobí mechanické trauma (Bečvář, 2012). Závažnost onemocnění určuje druh patogenního mikroorganismu, imunitní vybavenost zvířete a stresory působící na mléčnou žlázu. Mikroorganismy, které mastitidy způsobují, se běžně nachází v okolí dojnic a představují tak stálou hrozbu pro mléčnou žlázu. K nejvýznamnějším původcům zánětů mléčné žlázy skotu patří *Streptococcus agalactiae*, ostatní druhy rodu *Streptococcus* a *Staphylococcus aureus*. Mezi další závažné patogenní agens se řadí zástupci čeledi *Enterobacteriaceae*, především rod *Escherichia*, *Klebsiella* a *Enterobacter* spolu s druhy rodů *Pseudomonas*, *Corynebacterium* a *Mycoplasma* (Hejlíček a kol., 1987). Podle klinického hlediska je možné mastitidy rozdělovat na klinické a subklinické. Dále se pak dělí na lokální nebo celkové, katarální či parenchymatózní, environmentální nebo kontagiózní (infekční), akutní či chronické mastitidy. Pro klinickou mastitidu je typický otok, začervenání, zvýšená teplota a bolest mléčné žlázy způsobující ztrátu její funkce (Bečvář, 2012). V mléce se nachází vločky nebo sraženiny (Schroeder a kol., 2010). Postižené čtvrtě mléčné žlázy a supramamární mízní uzliny se zvětšují. Postupně se zhoršuje celkový zdravotní stav dojnice (horečka, anorexie, toxémie) (Hofírek a kol., 2004).

Subklinickou mastitidu charakterizuje zvýšený počet buněčných elementů v mléce bez zjevných klinických příznaků zánětu vemene. Pokud nedojde k úplnému vyléčení klinické mastitidy a patogen nadále přežívá ve tkáni mléčné žlázy, mastitida se také stává subklinickou (Bouška a kol., 2006).

Mastitida je považována za ekonomicky nejnáročnější onemocnění mléčného skotu. Jejím vlivem se snižuje produkce mléka, zvyšuje brakace stáda a rezidua antibiotik znehodnocují mléko (Hofírek a kol., 2009). Ztráty v důsledku mastitid tvoří průměrně 4 % tržní hodnoty mléka (Zelinková, 2008). Klinickou nebo subklinickou mastitidou onemocní během svého života 50 % dojnic (Hofírek a kol., 2009).

2.4.3 Akutní poporodní endometritida a metritida

Akutní poporodní endometritida a metritida jsou označení pro zánět děložní stěny v časném období po porodu. Endometritida a metritida se od sebe odlišují podle hloubky a intenzity zánětu. Akutní puerperální endometritida označuje katarální povrchový zánět lokalizovaný především na endometriu (děložní sliznici) a jedná se tedy o lehčí formu poporodního zánětu. Akutní poporodní metritida je označení pro těžší formu zánětu. Hluboký zánět je lokalizován na celé děložní stěně (endometrium a myometrium) a často ho doprovází hnilobný a nekrotický rozpad tkáně. Pokročilá forma metritidy může mít za následek celkové zhoršení zdravotního stavu, sepsi, intoxikaci nebo pyemii (Hofírek a kol., 2009). K hlavním faktorům, které vedou k zánětům dělohy patří ztížený porod, dvojčata, intenzivní asistence při porodu s manipulací v porodních cestách, nepřiměřený tah s traumatizací porodních cest, zadržené lůžko, pomalá involuce dělohy, nehygienicky vedený porod nebo špatné zoohygienické podmínky při porodu a v období po něm (Sheldon a kol., 2006). Velmi rizikovým je po otelení otevřený krček, který je přístupnější pro bakterie z okolního prostředí. Mezi hlavní patogeny, které se podílí na vzniku metritidy jsou *Truparella pyogenes*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* a *Prevotella melaninogenicus* (Jedlička, 2018).

Dominantním klinickým příznakem je patologický výtok z porodních cest. Výtok může být hnisavý nebo hnilobný (hustý, žlutobílý, mírně páchnoucí). Na onemocnění obvykle poukazuje také nechutenství, apatie, dehydratace a snížená produkce mléka (Hofírek a kol., 2009).

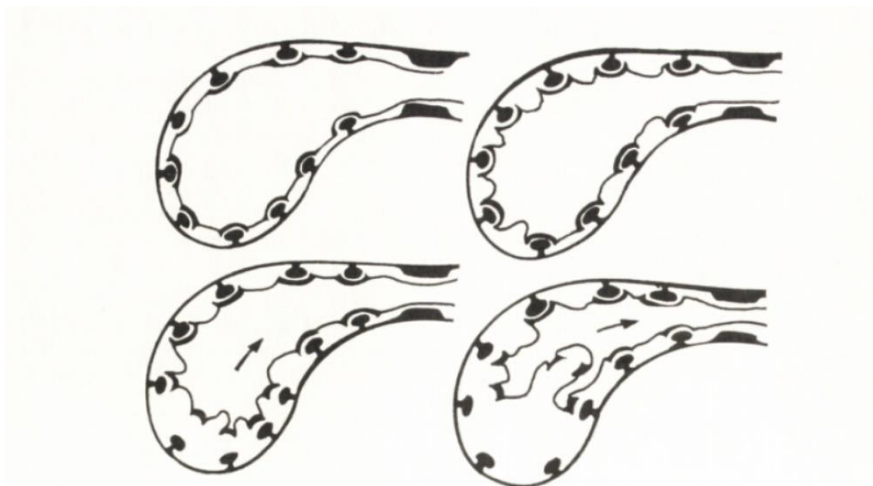
Výskyt této nemoci je v časném poporodním období vysoký, objevuje se u 11–37 % dojnic. Předcházení endometritidám a metritidám je důležité především z ekonomického hlediska. Fyziologický průběh raného poporodního období významně ovlivňuje užitečnost krav, vytváří optimální podmínky pro nástup laktace i časně zabřeznutí (Doležel a kol., 2005).

2.4.4 Zadržení lůžka

Zadržení lůžka (*Retentio secundinarum*) představuje selhání mechanismu vypuzení placenty v obvyklém, pro druh specifickém, intervalu po porodu (Hofírek a kol., 2009). Fyziologicky by u skotu mělo dojít k vypuzení lůžka do 12 hodin po porodu (Vlček, 2010). Nadměrné prodloužení přítomnosti placenty v děloze způsobuje v různé míře narušení zdraví dojnice. Rozlišuje se primární a sekundární zadržení lůžka. Při primárním zadržení lůžka k vypuzení placenty nedojde z důvodu selhání mechanismu uvolnění kotyledonů z karunkulů. Sekundární zadržení lůžka vzniká z mechanických příčin (úzké porodní cesty, atonie dělohy). Toto onemocnění se nejčastěji objevuje po potratech, po porodu dvojčat, po náročných porodech nebo v případě, že kráva stála před porodem na sucho jen krátkou dobu (Hofírek a kol., 2009). Velmi často k zadržení lůžka také dochází po císařském řezu (Zajíc a kol., 2010). Retence lůžka negativně ovlivňuje zdravotní, reprodukční, produkční i ekonomické ukazatele v chovu skotu. V souvislosti se zadrženým lůžkem častěji vznikají záněty dělohy, zpomalená involuce dělohy, mastitidy, ovariální cysty a acyklie (Hofírek a kol., 2009).

Uvolňování placenty u krávy fyziologicky nastává již v posledním období březosti, kdy začíná její tzv. zrání. Jedná se o kolagenizaci karunkulů, zplošťování a následné vymizení epitelu, který vystýlá krypty karunkulů a postupnou hyalinizaci stěn cév. Správné dozrání placenty je podmíněno zvýšenou hladinou estrogenů, které trvá nejméně po dobu 6 dní. Pevnost uchycení klků kotyledonů v kryptách karunkulů závisí na vazbě kotyledonárního a karunkulárního epitelu ke kolagenní matrix a přítomností bílkovinné tekutiny mezi epiteliálními buňkami, které mají vlastnosti tmelu. Narušení této vlastnosti umožňuje uvolnění kotyledonu od karunkulu. Pro správné uvolnění lůžka je důležité jeho mechanické oddělování při kontrakcích dělohy (Hofírek a kol., 2009). Uvolňování lůžka u přežvýkavců je znázorněno na obrázku 4.

Obrázek 4 – Schéma uvolňování lůžka u přežvýkavců (Kudláč a kol., 1977)



Příčiny zadržetí lůžka jsou různorodé povahy. Až 90 % případů retence lůžka je způsobeno poruchami uvolnění placenty ve spojitosti s hormonální dysbalancí nebo vznikem abnormálního fetomaternálního spojení. Může se jednat o důsledek nezralosti placenty v případě předčasného porodu nebo naopak následkem při přenášení, kdy dochází ke ztlustění pojivové tkáně. Mezi další možné příčiny se řadí edém choriových klků, hyperemie placentomů, degenerace až nekrotizace choriových klků nebo vzácně se vyskytující neschopnost dělohy se kontrahovat (Hofírek a kol., 2009).

U skotu většinou zpočátku nebývá zdravotní stav změněn. Kráva přijímá krmivo, hodnoty triasu bývají ve fyziologických mezích, ale je možné u ní pozorovat občasné tlačení (Kudláč a kol., 1977). Prvotním klinickým příznakem pro zadržetí lůžka je vyčnívání jeho menší nebo větší části z vulvy (obrázek 5) bez narušení celkového zdravotního stavu (Hofírek a kol., 2009). Po 2–3 dnech dochází ke zvýšenému pomnožení bakterií v děloze, lůžko se začíná v děloze hnilobně rozkládat. Bakterie a jimi vytvářené toxiny narušují leukocytární ochranný val a dochází k akutnímu zánětu dělohy (Kudláč a kol., 1977). Hnilobný rozklad plodových obalů vede k rychlému rozšíření zprvu nasládlého, poté odporného hnilobného zápachu. Z dělohy vytékají páchnoucí lochie, plodové obaly pomalu macerují a takto patologicky odloučené lůžko bývá opožděně spontánně vypuzeno z těla. Obvykle se ale hnilobně rozkládá a postupně je vypuzováno jako zapáchající výtok s kousky tkáně. Pokud tento stav trvá dlouho, zvíře přestává přijímat potravu, teplota a pulz se zvyšují, činnost bacheru se zpomaluje. Může nastat celková intoxikace, sepse nebo pozdější pyémie. Zadržetí lůžka se v českých chovech vyskytuje ve 3–8 % porodů (Hofírek a kol., 2009).

Obrázek 5 – Zadržení lůžka u krávy (Hofírek a kol., 2009).



2.4.5 Pneumonie

Pneumonie, onemocnění označované též jako zápal nebo zánět plic, patří mezi nejčastější respirační choroby skotu (Borkovec, 2018). Pneumonie je charakteristická exsudací (tvorbou zánětlivého výpotku) do plicních alveol, která je doprovázena horečkou a toxickými příznaky. Podle délky klinického průběhu se zánět plic rozděluje na akutní a chronický. Podle změn na plicní tkáni se rozlišuje: pneumonie katarální (bronchopneumonie), krupózní, hnisavá, snětivá, traumatická nebo zánět plic ze zahlcení (Hofírek a kol., 1990). Bronchopneumonie je charakteristická nesrážlivým exsudátem (výpotkem) s malým obsahem buněčných elementů, který vstupuje do plicních alveolů. Často bývají postiženy i bronchy (průdušky) a bronchioly (průdušinky) (Hofírek a kol., 2009). Krupózní (fibrinózní) pneumonie je stav, kdy jsou plicní alveoly naplněny srážejícím se exsudátem, který je bohatý na fibrinogen a buněčné elementy. Následkem tohoto typu pneumonie vzniká hepatizace plicní tkáně. Hnisavá pneumonie vzniká vlivem prodělaných infekčních embolů, po traumatizaci cizím tělesem nebo po vdechnutí cizího tělesa. Snětivý zánět plic je zapříčiněn infekcí plic hnilobnými zárodky, které způsobují akutní zánět a rozpad plicní tkáně. Traumatický zánět plic vzniká při vniknutí cizího tělesa do předžaludků, odkud pronikne přes čepec až do plic (Hofírek a kol., 1990).

Příčiny vzniku pneumonie mohou být různorodé. Mezi významné faktory patří stresové situace (přesuny, odrohování, apod.), nevhodné podmínky ustájení (špatné odvětrávání apod.), nevhodně utvářené skupiny jedinců různých věkových kategorií (Borkovec, 2018). Záněty plic skotu jsou často způsobené také virovými nebo bakteriálními infekcemi (Hofírek a kol., 1990). Mezi virové původce se řadí například bovinní herpesvirus typu 1 (BHV-1), který způsobuje závažné onemocnění IBR (infekční bovinní rinotracheitida) (Otrubová, 2018). Mezi bakteriální agens vyvolávající záněty plic patří diplokoky, streptokoky, stafylokoky, *Clostridium pyogenes* nebo *Pasteurelly* (Hofírek a kol., 1990). Záněty plic mohou vznikat i působením plicních parazitů - např. *Dictyocaulus viviparus* (Panciera a kol., 2010).

Pneumonie se zpočátku projevuje hyperemií plicní tkáně, hodnoty triasu jsou zvýšené a z nozder vytéká serózní nebo hlenovitý exsudát. Objevuje se suchý kašel, ze kterého se postupně stává kašel vlhký. Další specifické příznaky se liší podle typu pneumonie (Hofírek a kol., 1990).

Onemocnění s sebou přináší vysoké přímé náklady na léčbu a následné ztráty způsobené nižší užitkovostí. Nezřídka způsobuje i úhyny (Borkovec, 2018).

3. Materiál a metodika

3.1 Charakteristika podniku

Agropodnik Košetice, a. s. se nachází v okrese Pelhřimov v kraji Vysočina. Společnost je rozdělena na 3 střediska, z nichž jedním je farma Chyšná, kde probíhal pokus této diplomové práce. Podnik leží na Českomoravské vrchovině s průměrnou nadmořskou výškou 494–570 metrů n.m. Průměrné roční teploty se zde pohybují okolo 7,4 °C. Společnost hospodáří přibližně na 2850 ha, kde se z převážné většiny věnuje pěstování kukuřice, pšenice, řepky, brambor a výrobě senáží. Živočišná výroba se zaměřuje na chov skotu plemene holštýn, především pro produkci mléka a hovězího masa (Vlková, 2009). Základní stádo farmy v Chyšné tvoří 785 dojnic. Celoročně jsou dojnice krmeny monodietou, jejíž složení je uvedeno v tabulce 2.

V menší míře podnik pěstuje oves a ječmen. K dalším činnostem společnosti patří chov prasat a další doplňkové nezemědělské činnosti (Vlková, 2009).

Tabulka 2 – Složení kompletní krmné dávky dojnic na farmě v Chyšné

Krmivo	Množství krmiva (kg/ks)	Sušina krmiva (kg)
Kukuřičná siláž	21,00	5,04
Jetelotravní siláž	6,00	0,96
Melasa	0,80	0,62
DOVP*	2,30	2,00
DKS**	9,60	8,50
Celkem	39,70	17,12

*Krmná směs pro vysokoprodukční dojnice; ** Doplňková krmná směs

Dojení krav probíhá dvakrát denně v rybinové dojárně od firmy Westfalia, která je přizpůsobena pro dojení dvakrát dvanácti dojnic najednou. Dojící stání jsou vybaveny automatickými proplachy (airwash systém). Po každém podojení je spuštěn krátký proplach, který eliminuje výskyt patogenních mikroorganismů od mastitidních dojnic. Průměrná dojivost za sledované období byla 11 780 kg mléka.

Na farmě v Chyšné proběhla v roce 2009 kompletní rekonstrukce stáje pro dojnice (obrázek 6). Výsledkem rekonstrukce je stáj s volným ustájením. V lehacích boxech se nachází matrace, na které se přistýlá štípaná sláma (Jedlička, 2010).

Obrázek 6 – Zrekonstruovaná stáj na farmě v Chyšné (zdroj: <https://www.naschov.cz/mleko-hlavni-komoditou/>)



3.2 Vlastní metodika práce

Pro potřeby diplomové práce bylo v zemědělském středisku Chyšná náhodně vybráno 49 dojnic plemene holštýn. Tato zvířata byla rozdělena na skupinu kontrolní, kterou tvořilo 31 dojnic a skupinu pokusnou o 18 kusech. Dojnice byly po dobu pokusu chovány v naprosto identických podmínkách a krmeny stejnou krmnou dávkou. Pokusné skupině byl navíc přibližně týden před porodem a v den porodu podáván subkutánně (podkožně) imunomodulační preparát Imrestor v dávce 15 mg. Od obou skupin dojnic byly následně odebírány vzorky krve pro laboratorní vyšetření a posouzení účinků preparátu. Odběr krve proběhl dvakrát. První vzorek krve byl odebrán do 24 hodin po otelení. Druhý odběr proběhl 7 dní po otelení.

Krev byla odebírána z podocasní žíly (*vena cava caudalis*) do odběrových zkumavek HEMOS 02. Vzorky byly následně analyzovány v laboratoři, kde bylo provedeno hematologické a biochemické vyšetření. Laboratorní výsledky byly zpracovány v programu Excel a následně zhodnoceny pomocí programu STATISTICA 12. Pro vyhodnocení hladiny významnosti rozdílů v hodnotách obou skupin, byl vybrán dvouvýběrový t-test a Mann-Whitneyův U test (v případě nesplnění podmínky

homogenních rozptylů dat). Dále byly hodnoceny ukazatele zdraví a doживost sledovaných dojníc. Získané výsledky skupiny kontrolní a pokusné (ošetřené Imrestorem) pak byly porovnávány.

3.2.1 Imunomodulační preparát Imrestor

Imunomodulační preparát Imrestor, jehož účinky se zabývá tato diplomová práce, vynalezla americká firma Elanco Animal Health. Aktivní složkou Imrestoru je komerční forma přirozeně se vyskytujícího cytokinu – bovinní kolonie granulocytů stimulující faktor (bG-CSF). Tato rekombinantní molekula bG-CSF má stejnou biologickou aktivitu jako přirozená forma tohoto bovinního cytokinu. G-CSF je produkován mononukleárními leukocyty, endoteliálními buňkami a fibroblasty. Specificky působí na příslušné prekurzorové buňky neutrofilů a zvyšuje jejich produkci. Tento cytokin je složený ze 175 aminokyselin a je charakteristický svým velmi krátkým biologickým poločasem. Molekuly bG-CSF jsou při výrobě Imrestoru PEGylovány (Imrestor, 2016). PEGylací se rozumí navázání polyethylenglykolu (PEG) na povrch lipozomu, což zajišťuje ochranu proteinu před enzymatickým štěpením, zvyšuje stabilitu molekuly a snižuje rychlost vylučování cytokinu ledvinami (Holubová, 2014). Tím se zvyšuje udržení biologické aktivity bG-CSF v těle dojnice z hodin na dny. Pegylovaná molekula bG-CSF se nazývá pegbovigrastim. Pegbovigrastim působí pozitivně na aktivitu zralých neutrofilů a zároveň navyšuje jejich počty, díky zvýšené tvorbě z prekurzorových kmenových buněk v kostní dřeni.

Preparát Imrestor je dodáván ve formě předem naplněné 3 ml plastové injekční stříkačky s jehlou (obrázek 7). Jednorázová stříkačka obsahuje dávku pro krávu nebo jalovici 2,7 ml s obsahem 15 mg pufrovaného pegbovigrastimu.

Imrestor se doporučuje podávat dojnícím v okoloporodním období, kdy je jejich imunitní systém velmi zatížený a dochází tak ke snížení aktivity neutrofilů a lymfocytů. Snížená aktivita neutrofilů a lymfocytů zvyšuje riziko výskytu onemocnění. Imrestor zajišťuje posílení obranyschopnosti organismu a tím napomáhá k úspěšnému zvládnutí tranzitního období, které je důležité pro fyziologický průběh laktace, včetně období významné pro zabřeznutí (Imrestor, 2016).

Obrázek 7 – Preparát Imrestor (Imrestor, 2016)



3.2.2 Stanovení hematologických ukazatelů

Venózní krev pro hematologické vyšetření byla odebrána do zkumavek s heparinem, který zabraňuje srážení krve. Ihned po odběru bylo nutné krev s heparinem ve zkumavce lehce promíchat, aby se zabránilo vzniku mikrotrombů. Stanovení základního hematologické vyšetření bylo provedeno na analyzátoru Exigo Vet H400 v laboratoři katedry zootechnických věd ZF JU v Českých Budějovicích. Zjišťovány byly parametry červených krvinek (celkový počet erytrocytů, koncentrace hemoglobinu, hematokritová hodnota), počty trombocytů, počty leukocytů a procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů, lymfocytů a monocytů.

3.2.3 Stanovení biochemických ukazatelů

Pro biochemické vyšetření byla použita krev nesražená, která byla rovněž ošetřena antikoagulačním činidlem heparinem. Po promíchání byl vzorek převeden do uzavíratelné zkumavky a odstředěn v centrifuze. Odstředěním dochází k oddělení krevní plazmy od krevních elementů na základě jejich rozdílné specifické hmotnosti (Doubek a kol., 2014).

Stanovení základních biochemických parametrů bylo provedeno na biochemickému analyzátoru Ellipse od firmy Dialab v laboratoři katedry zootechnických věd ZF JU v Českých Budějovicích. Díky biochemickému vyšetření byly vyhodnoceny koncentrace celkové bílkoviny, cholesterolu, močoviny, triacylglycerolů aktivita

alkalické fosfatázy (ALP), gama-glutamtransferázy (GGT) a obsah vybraných minerálů (Ca, P, Mg).

3.2.4 Statistické vyhodnocení dat

Získané výsledky hematologických a biochemických vyšetření byly zpracovány v tabulkovém editoru MS Excel. Pro statistické zhodnocení dat byl použit program STATISTICA 12. Pro porovnání vlivu preparátu na jednotlivé hematologické a biochemické ukazatele byl vybrán dvouvýběrový (nepárový) t-test.

Mezi předpoklady pro použití t-testu patří splnění normality a homoskedasticity dat (data mají homogenní rozptyly). V případě, že nebyl splněn předpoklad pro provedení tohoto t-testu (nehomogenní rozptyly dat), musel být pro vyhodnocení statistické významnosti rozdílů mezi sledovanými daty použit Mann-Whitneyův U test (neparametrická analogie t-testu).

P-hodnota představuje číselnou hodnotu používanou při statistickém testování hypotéz. Její hodnota, která se získá pomocí statistického programu, se následně porovnává s hladinou významnosti ($\alpha = 0,05$; $\alpha = 0,01$). Pokud je p-hodnota menší, než hladina významnosti $\alpha = 0,05$, zamítá se nulová hypotéza (H_0) – v porovnání dat je shledán statisticky významný rozdíl. V případě, že je p-hodnota nižší než $\alpha = 0,01$, zamítá se nulová hypotéza (H_0) – rozdíl v porovnávaných datech je statisticky vysoce významný. P-hodnota vyšší než $\alpha = 0,05$ zamítá alternativní hypotézu (H_A) a potvrzuje H_0 – v porovnání dat není prokazatelný statisticky významný rozdíl (Uldrich, 2014).

4. Výsledky

4.1 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na hematologické ukazatele

Účinky imunomodulačního preparátu Imrestoru byly zkoumány v souvislosti s hematologickými ukazateli. V tabulce 3 jsou uvedeny statistické významnosti rozdílů hodnot hematologických parametrů mezi kontrolní a pokusnou skupinou dojnic v prvním (do 24 hodin po porodu) a ve druhém odběru (7 dní po porodu). Červeně jsou označeny statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$). Statisticky vysoce významné rozdíly ($p < 0,01$) jsou zvýrazněny tučně červenou barvou.

Díky statistickému vyhodnocení výsledků bylo zjištěno, že měl preparát při druhém odběru krve statisticky vysoce významný vliv na počty leukocytů a procentuální zastoupení lymfocytů a neutrofilů. Dále bylo zjištěno, že měl preparát Imrestor v 1. odběrech statisticky významný vliv na počty trombocytů a ve 2. odběrech byl statisticky významný vliv prokázán na hodnoty monocytů a trombocytů. Při porovnání ostatních hematologických parametrů mezi kontrolní a pokusnou skupinou nebyly v 1. ani ve 2. odběru rozdíly statisticky významné.

Tabulka 3 – Hodnoty statistické významnosti rozdílů hematologických ukazatelů (dvouvýběrový t-test, Mann-Whitneyův U test (MW))

Parametr	p-hodnota	
	1. odběr	2. odběr
Leukocyty	0,1078	MW 0,0001
Neutrofilly	0,1206	0,0042
Lymfocyty	0,0585	MW 0,0070
Monocyty	0,3476	0,0234
Trombocyty	MW 0,0167	0,0265
Erytrocyty	0,8933	0,9043
Hematokrit	0,9891	0,9822
Hemoglobin	0,9186	0,8836

4.1.1 Vliv preparátu Imrestoru na úroveň ukazatelů červených krvinek a počty trombocytů

V tabulce 4 jsou uvedeny základní statistické ukazatele počtu erytrocytů, koncentrace hemoglobinu, hematokritové hodnoty a počtu trombocytů kontrolní (K) a pokusné (P) skupiny dojnic. Naměřené hodnoty hematologických ukazatelů v krvi byly porovnávány s fyziologickým rozmezím podle autorů Jelínek a kol. (2003).

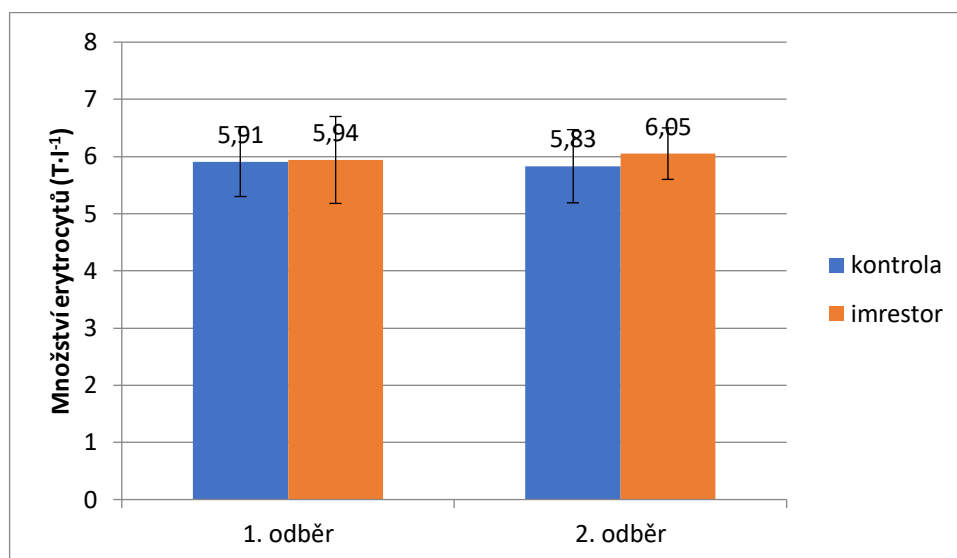
Tabulka 4 – Vliv preparátu Imrestoru na parametry červených krvinek a počty trombocytů (K – 1. odběr n = 31, 2. odběr n = 19; P – 1. odběr n = 18, 2. odběr n = 12)

Parametr	Fyziologické rozmezí	Skup.	Odběr	x	sx	Max	Min
Erytrocyty ($T \cdot l^{-1}$)	5,00–7,00	K	1.	5,91	0,61	7,02	4,60
			2.	5,83	0,64	7,04	4,85
		P	1.	5,94	0,76	7,05	4,44
			2.	6,05	0,45	7,02	3,00
Hemoglobin ($g \cdot l^{-1}$)	100,0–140,0	K	1.	105,16	9,49	125,00	87,00
			2.	103,74	9,24	121,00	88,00
		P	1.	104,83	12,60	122,00	80,00
			2.	107,90	6,79	123,00	49,00
Hematokrit ($l \cdot l^{-1}$)	0,30–0,45	K	1.	0,28	0,03	0,34	0,23
			2.	0,27	0,03	0,32	0,23
		P	1.	0,28	0,03	0,33	0,21
			2.	0,28	0,02	0,33	0,13
Trombocyty ($G \cdot l^{-1}$)	200,0–800,0	K	1.	334,1 ¹	161,3	695,0	35,0
			2.	347,0 ¹	155,1	731,0	54,0
		P	1.	276,8 ¹	89,0	432,0	89,0
			2.	218,5 ¹	125,9	413,0	35,0

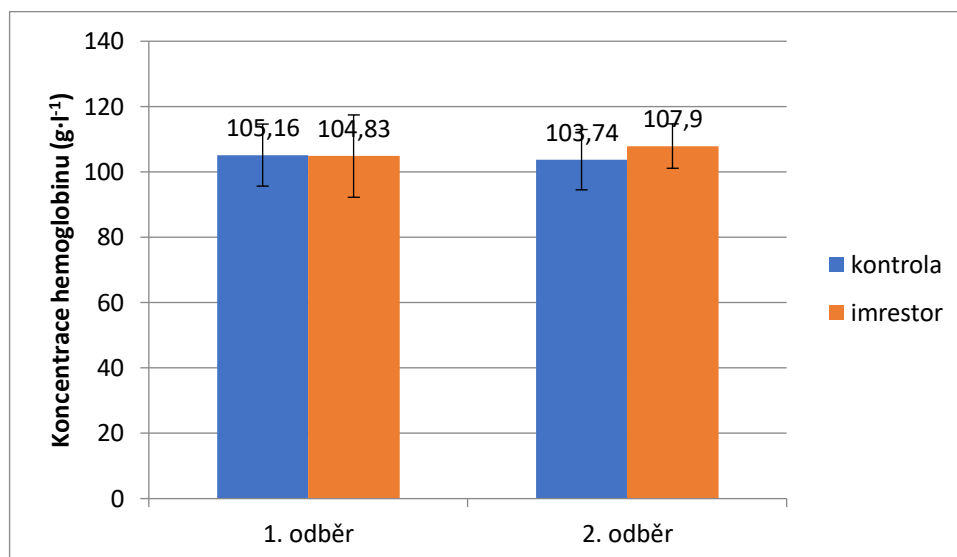
¹ p < 0,05

Průměrné hodnoty počtu erytrocytů (graf 1) a hemoglobinu (graf 2) se nacházely u kontrolní i pokusné skupiny ve fyziologickém rozmezí.

Graf 1 – Vliv preparátu Imrestoru na počty erytrocytů v krvi

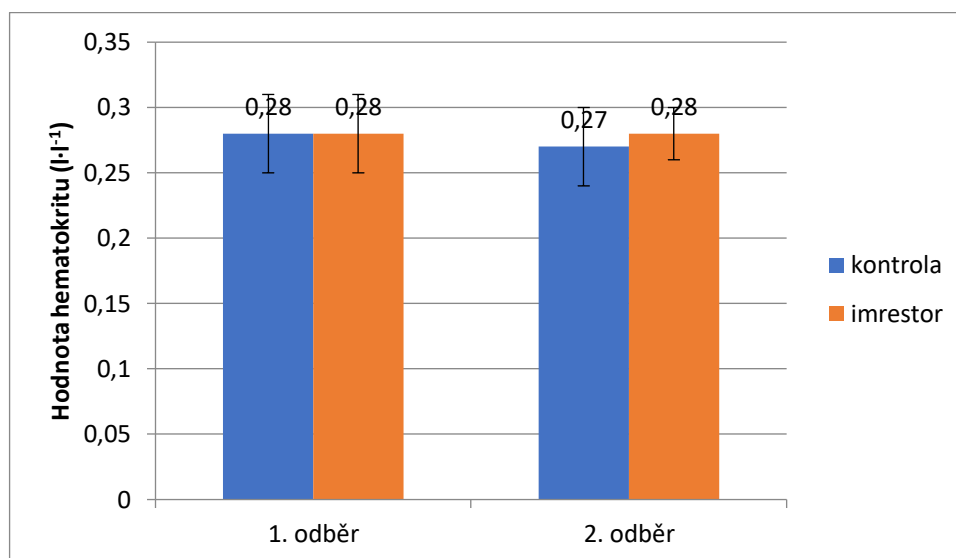


Graf 2 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci hemoglobinu v krvi



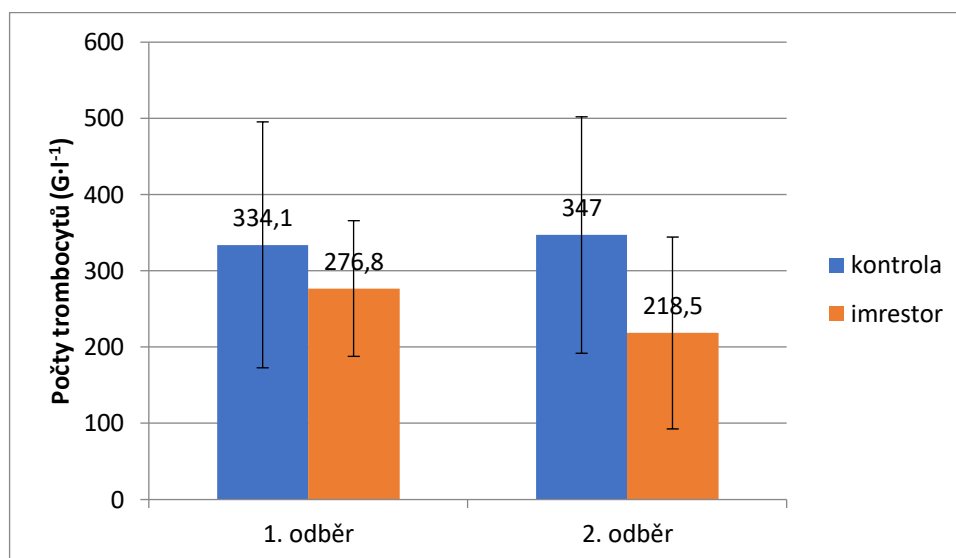
Průměrné hodnoty hematokritu byly u obou skupin v 1. i 2. odběru nižší, než udávají fyziologické hodnoty (0,30–0,45 l·l⁻¹) podle Jelínek a kol. (2003). Porovnání průměrných hodnot hematokritu je znázorněno v grafu 3. Rozdíly mezi průměrnými hodnotami počtu erytrocytů, obsahu hemoglobinu a hematokritu nebyly statisticky významné.

Graf 3 – Vliv preparátu Imrestoru na hodnotu hematokritu v krvi



V prvním odběru (do 24 hodin po porodu) bylo vyhodnocení statistické významnosti rozdílu v počtech trombocytů mezi K a P skupinou provedeno pomocí Mann-Whitneyova U testu z důvodu nehomogenních rozptylů dat. Zde byl prokázán statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) v počtech trombocytů mezi sledovanými skupinami dojnic ($p = 0,017$). Rozdíl v počtech trombocytů mezi P a K skupinou ve druhém odběru (7. den po porodu) byl také statisticky významný. P-hodnota byla při druhém odběru na úrovni $p = 0,027$. Skupina K měla průměrné počty trombocytů ve fyziologických mezích ($200,0\text{--}800,0 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$). Ve skupině P však průměrné počty trombocytů dosahovaly pouze spodní úrovně fyziologického rozmezí. Porovnání průměrných počtů trombocytů u obou sledovaných skupin dojnic v 1. a 2. odběru je znázorněno v grafu 4.

Graf 4 – Vliv preparátu Imrestoru na počty trombocytů v krvi



4.1.2 Vliv preparátu Imrestoru na počet leukocytů a jejich relativní zastoupení

Vliv preparátu Imrestoru na množství leukocytů (Leu) a na procentuální zastoupení jednotlivých druhů Leu v krvi je znázorněn v tabulce 5. V prvních odběrech (do 24 hodin po porodu) nebyl v počtech a procentuálním zastoupení Leu mezi K a P skupinou dojnic prokázán žádný statisticky významný rozdíl. V porovnání druhých odběrů (7 dní po porodu) byl mezi sledovanými skupinami určen statisticky vysoce významný vliv ($p < 0,01$) preparátu na počty leukocytů a na procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů a lymfocytů. Statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) byl stanoven v porovnání procentuálního zastoupení monocytů.

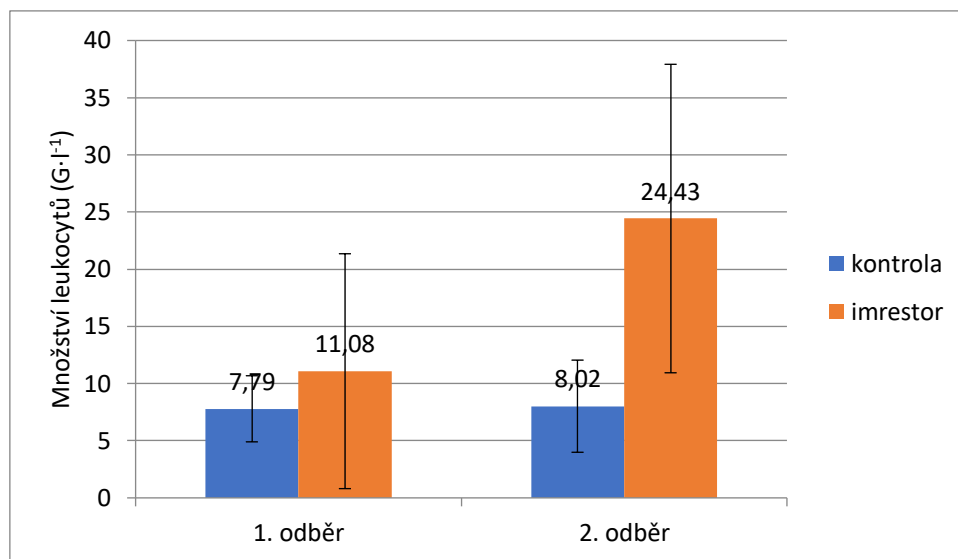
Tabulka 5 – Vliv preparátu Imrestoru na zastoupení leukocytů v krvi
(K - 1. odběr n = 31, 2. odběr n = 19; P - 1. odběr n = 18, 2. odběr n = 12)

Parametr	Fyziologické rozmezí	Skupina	Odběry	x	sx	max	Min
Leukocyty (G·l ⁻¹)	5,00 – 10,00	K	1.	7,79	2,89	18,90	2,90
		K	2.	8,02 ²	4,03	18,80	4,00
		P	1.	11,08	10,27	52,10	5,50
		P	2.	24,43 ²	13,49	55,40	9,30
Lymfocyty (%)	55,00 – 60,00	K	1.	47,60	11,03	64,50	25,70
		K	2.	51,05 ²	16,46	75,90	21,40
		P	1.	41,53	9,01	53,30	17,20
		P	2.	33,42 ²	8,84	48,20	20,90
Monocyty (%)	5,00 – 8,00	K	1.	10,91	2,54	16,30	5,00
		K	2.	10,98 ¹	2,98	17,00	5,00
		P	1.	11,75	3,49	17,90	4,50
		P	2.	13,62 ¹	2,73	16,90	14,65
Neutrofilly (%)	25,00 – 30,00	K	1.	41,35	12,66	67,70	23,20
		K	2.	38,36 ²	16,24	68,70	16,10
		P	1.	47,07	10,68	72,00	35,60
		P	2.	55,50 ²	11,20	72,60	35,50

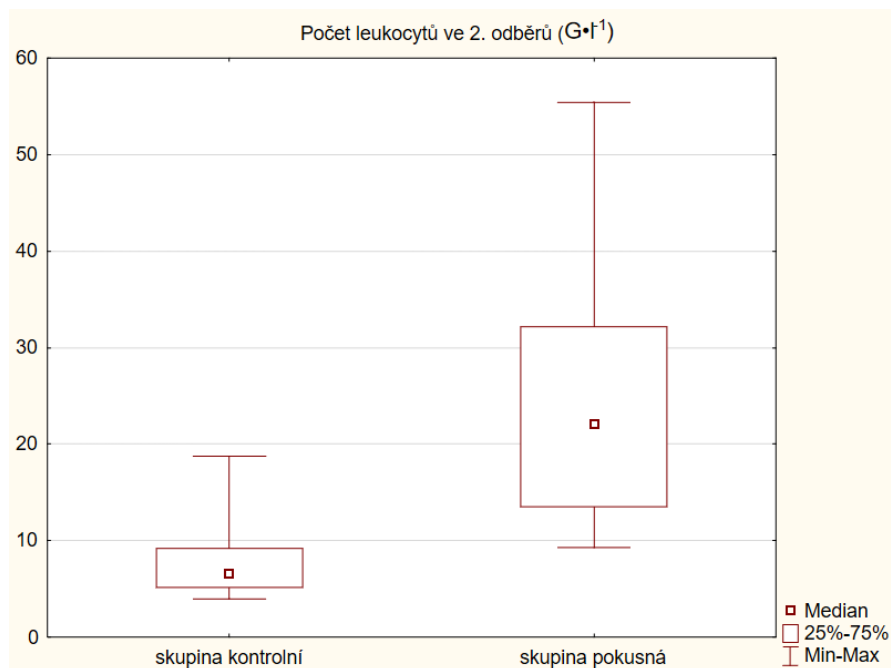
¹ p < 0,05; ² p < 0,01

Při porovnání prvních odběrů (do 24 hodin po porodu) nebyl v počtech leukocytů (Leu) stanoven statisticky významný rozdíl. Ve 2. odběru (7 dní po porodu) byl průměrný počet Leu u kontrolní skupiny 8,02 G·l⁻¹, zatímco pokusná skupina měla průměrné zastoupení leukocytů 24,43 G·l⁻¹. Pro stanovení statistické významnosti rozdílu v počtech leukocytů mezi K a P skupinou dojnic byl vybrán Mann-Whitneyův U test (nehomogenní rozptyly dat), pomocí kterého byl zjištěn v počtech leukocytů mezi K a P skupinou dojnic statisticky vysoce významný rozdíl (p < 0,01) s p-hodnotou na úrovni p = 0,0001. Ve srovnání s fyziologickým rozmezím 5,0–10,0 G·l⁻¹ (Jelínek a kol., 2003) byly průměrné počty leukocytů u pokusné skupiny ve 2. odběru výrazně vyšší. Vliv preparátu na počty Leu v krvi sledovaných dojnic byl znázorněn v grafu 5. Pro zvýraznění rozdílu v počtu leukocytů ve 2. odběru mezi kontrolní a pokusnou skupinou (ošetřenou Imrestorem) byly statistické hodnoty zpracovány formou krabicového grafu (graf 6).

Graf 5 – Vliv preparátu Imrestoru na počty leukocytů v krvi



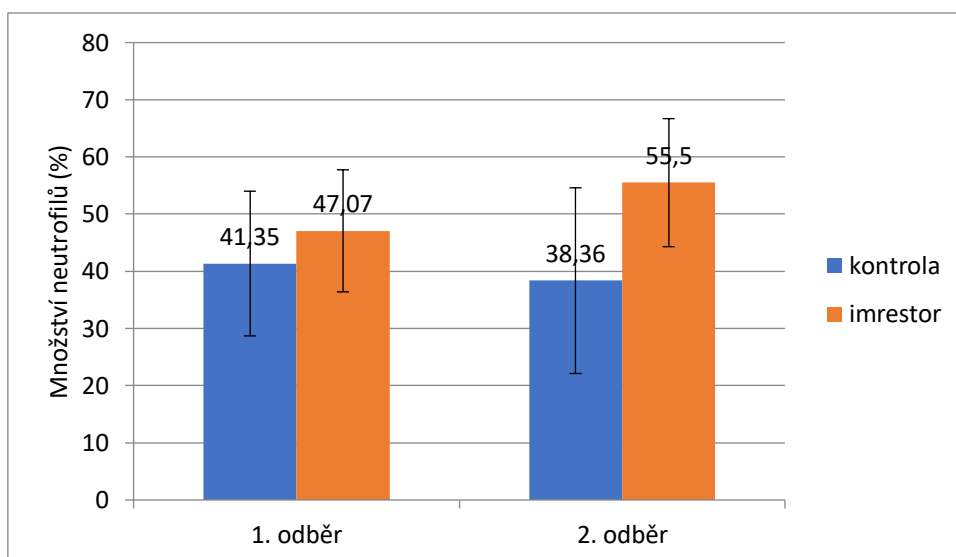
Graf 6 – Vliv preparátu Imrestoru na počty leukocytů (2. odběr)



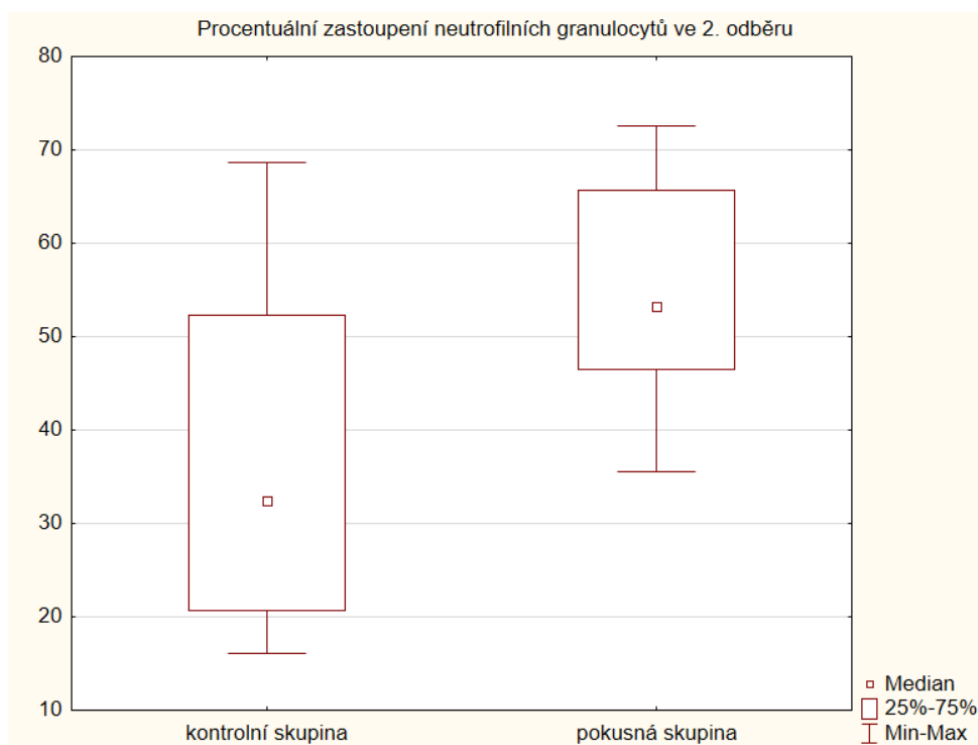
Dále byly sledovány hodnoty neutrofilů (Neu), lymfocytů (Ly) a monocytů (Mo). V prvních odběrech nebyl v procentuálním zastoupení Neu, Ly a Mo stanoven statisticky významný rozdíl. Dojnice pokusné skupiny vykazovaly ve srovnání s kontrolní skupinou vyšší zastoupení fagocytujících leukocytů (Neu a Mo) a nižší relativní zastoupení Ly. V procentuálním zastoupení neutrofilních granulocytů byly ve 2. odběru mezi pokusnou a kontrolní skupinou statisticky vysoce významné rozdíly ($p < 0,01$).

Průměrné procentuální zastoupení neutrofilů bylo u kontrolní skupiny ve 2. odběru 38,36 % a u skupiny pokusné (ošetřené Imrestorem) vzrostlo na 55,50 %. Vliv preparátu na procentuální zastoupení Neu je uveden v grafu 7. Pro zvýraznění rozdílu procentuálního zastoupení neutrofilů mezi kontrolní a pokusnou skupinou ve 2. odběru byly statistické hodnoty zpracovány pomocí krabicového grafu (graf 8).

Graf 7 – Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů

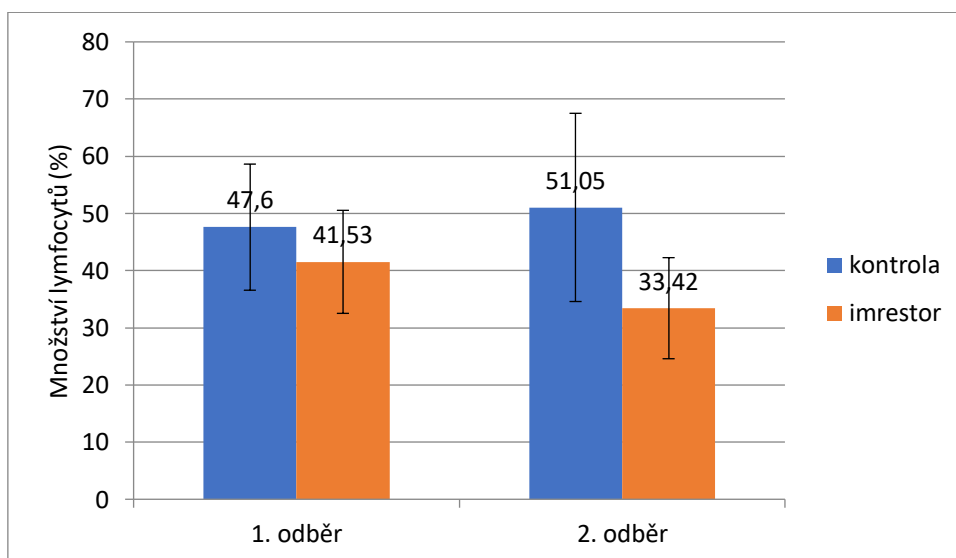


Graf 8 - Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů (2. odběr)

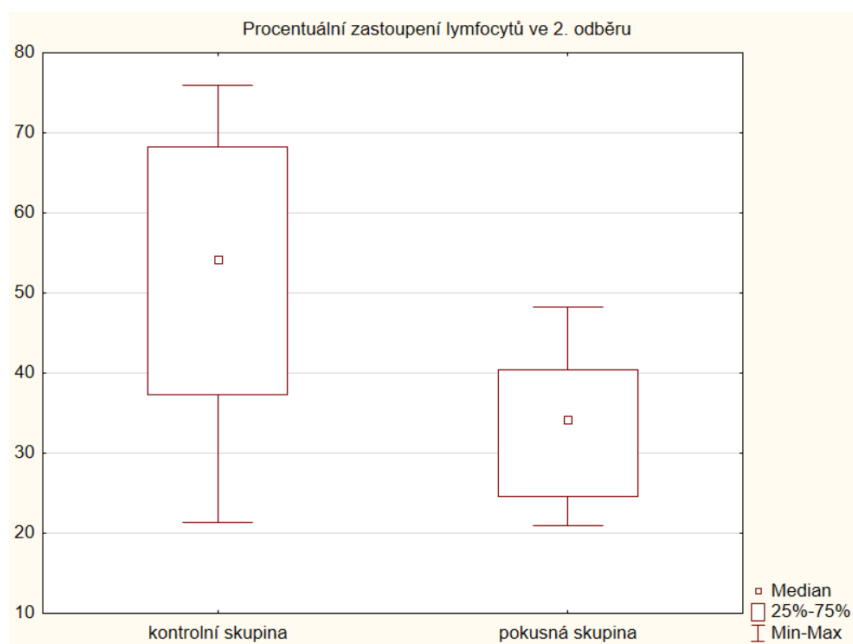


Rozdíl v procentuálním zastoupení lymfocytů (Ly) při 1. odběru (do 24 hodin po porodu) mezi K a P skupinou nebyl dvouvýběrovým t-testem vyhodnocen jako statisticky významný, ale p-hodnota byla na úrovni 0,059. Ve druhém odběru (7 dní po porodu) tvořilo zastoupení lymfocytů u K skupiny 51,05 % a u skupiny P pouze 33,42 %. Porovnávaná data neměla shodné rozptyly, a tak byl pro stanovení statistické významnosti rozdílu v procentuálním zastoupení Ly mezi sledovanými skupinami dojnic vybrán Mann-Whitneyův U test. V porovnání hodnocených dat byl stanoven statisticky vysoce významný rozdíl ($p < 0,01$) s p-hodnotou na úrovni $p = 0,007$. Vliv preparátu na % zastoupení Ly v krvi je znázorněn v grafu 9. Pro zvýraznění rozdílu procentuálního zastoupení lymfocytů mezi kontrolní a pokusnou skupinou ve 2. odběru byly statistické hodnoty znázorněny formou krabicového grafu (graf 10).

Graf 9 – Vliv preparátu Imrestoru na % zastoupení lymfocytů v krvi

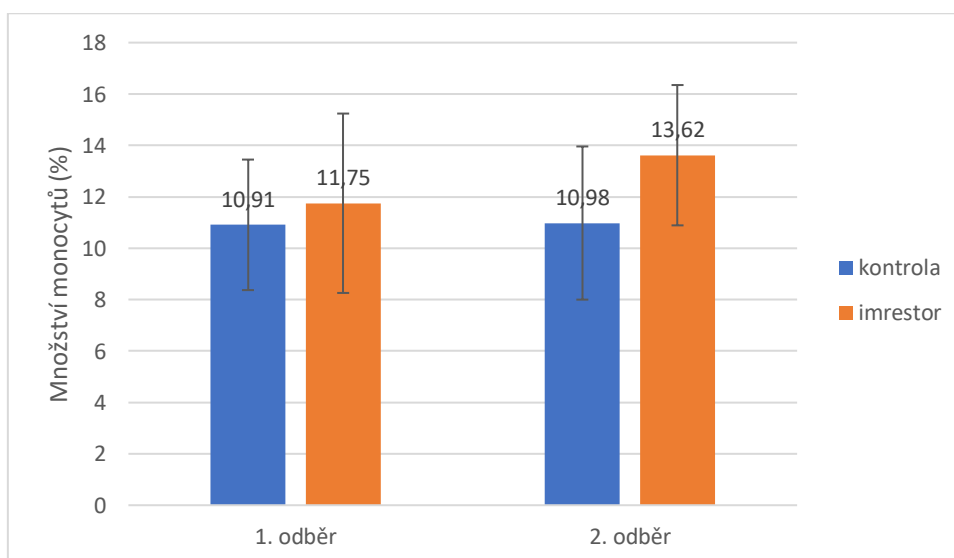


Graf 10 – Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení lymfocytů (2. odběr)



Zastoupení monocytů (Mo) nebylo při prvním odběru u obou skupin dojnic statisticky významně rozdílné. Ve skupině K bylo stanoveno zastoupení Mo na 10,91 % a ve skupině P monocyty tvořily 11,75 %. Obě hodnoty jsou vyšší, než udává fyziologické rozmezí (5,00 – 8,00 %) (Jelínek a kol., 2003). Při druhých odběrech bylo stanoveno zastoupení Mo u K skupiny na 10,98 % a u skupiny P podíl monocytů vzrostl na 13,62 %. Zde už byl prokázán statisticky významný rozdíl s p-hodnotou $p = 0,027$. Vliv preparátu Imrestoru na % zastoupení monocytů je znázorněn v grafu 11.

Graf 11 – Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení monocytů v krvi



4.2 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na parametry krevní plazmy

Vliv preparátu Imrestoru byl dále zkoumán ve vztahu k parametrům krevní plazmy. V tabulce 6 jsou uvedeny statistické významnosti rozdílů hodnot parametrů krevní plazmy mezi kontrolní a pokusnou skupinou dojnic v 1. odběru (do 24 hodin po porodu) a ve 2. odběru (7 dní po porodu). Červeně jsou označeny statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$).

Podle provedeného statistického šetření byl v 1. odběrech (do 24 hodin po otelení) statisticky významný rozdíl mezi skupinami dojnic stanoven v aktivitě alkalické fosfatázy (ALP). Ve druhých odběrech nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl v hodnotách biochemických ukazatelů a obsahu Ca, P a Mg mezi K a P skupinou dojnic.

Tabulka 6 – Hodnoty statistické významnosti rozdílů parametrů krevní plazmy (dvouvýběrový t-test, Mann-Whitneyův U test (MW))

Parametr	p-hodnota	
	1. odběr	2. odběr
Celková bílkovina	0,4851	0,1939
ALP	MW 0,0337	0,0587
Cholesterol	0,3010	0,5925
GGT	0,2889	0,4348
Močovina	0,4829	0,9012
Triacylglyceroly	0,3475	0,8708
Vápník	0,1577	0,9141
Fosfor	0,1182	0,8733
Hořčík	0,7715	0,1301

4.2.1 Vliv preparátu Imrestoru na biochemické ukazatele

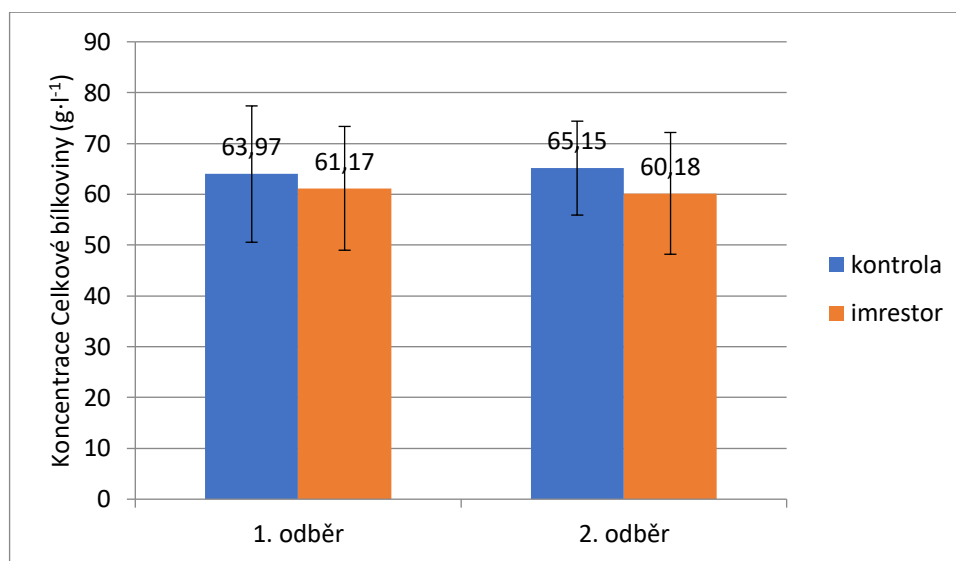
V tabulce 7 jsou uvedeny základní statistické ukazatele koncentrace celkové bílkoviny (CB), cholesterolu (Chol), močoviny, triacylglycerolů a aktivita alkalické fosfatázy (ALP) a gama-glutamyltransferázy (GGT) K a P skupiny. Naměřené hodnoty jednotlivých parametrů krevní plazmy jsou porovnávány s fyziologickým rozmezím podle autora Kopřiva (2011).

Tabulka 7 – Vliv preparátu Imrestoru na biochemické ukazatele
(K - 1. odběr n = 30, 2. odběr n = 17; P - 1. odběr n = 18, 2. odběr n = 13)

Parametr	Fyziologické rozmezí	Skupina	Odběry	x	sx	max	Min
Celková bílkovina ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) 65,00–80,00		K	1.	63,97	13,41	99,30	40,80
		K	2.	66,15	9,24	83,20	43,30
		P	1.	61,17	12,18	84,3	25,7
		P	2.	60,81	11,98	80,3	39,2
ALP ($\mu\text{kat}\cdot\text{l}^{-1}$) 0,60–3,30		K	1.	0,69	0,37	1,38	0,04
		K	2.	0,94	0,67	3,00	0,31
		P	1.	1,19	0,84	3,14	0,32
		P	2.	1,62	1,14	5,10	0,63
Cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) 2,50–6,00		K	1.	2,99	3,65	5,76	1,19
		K	2.	2,04	0,55	3,31	0,93
		P	1.	2,06	0,5	2,95	0,5
		P	2.	1,91	0,69	20,6	0,83
GGT ($\mu\text{kat}\cdot\text{l}^{-1}$) <0,55		K	1.	0,24	0,08	0,50	0,11
		K	2.	0,29	0,25	1,13	0,01
		P	1.	0,21	0,08	0,39	0,02
		P	2.	0,22	0,14	0,65	0,05
Močovina ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) 3,00–5,00		K	1.	3,11	1,22	6,65	1,75
		K	2.	3,97	0,94	5,75	2,83
		P	1.	3,66	0,95	5,23	1,96
		P	2.	3,93	0,84	5,7	2,49
Triacylglyceroly ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) 0,20–1,60		K	1.	0,16	0,10	0,40	0,01
		K	2.	0,07	0,04	0,15	0,01
		P	1.	0,19	0,09	0,33	0,05
		P	2.	0,08	0,04	0,16	0,02

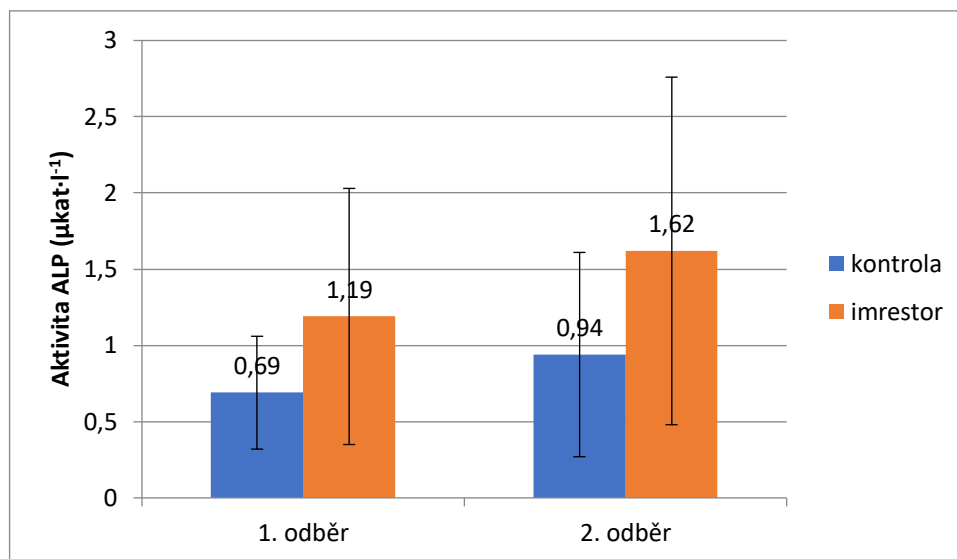
Na základě statistického vyhodnocení výsledků bylo zjištěno, že průměrná koncentrace celkové bílkoviny (CB) v krevní plazmě byla u P skupiny dojnic v obou odběrech (do 24 hodin a 7 dnů po porodu) a u skupiny K v 1. odběru nižší, než udává fyziologické rozmezí (65,00–80,00 g·l⁻¹). U skupiny P byly pozorovány nižší průměrné i minimální hodnoty CB oproti skupině K. Porovnání koncentrací CB mezi K a P skupinou dojnic je znázorněno v grafu 12.

Graf 12 – Vliv preparátu Imrestor na koncentraci CB v krevní plazmě



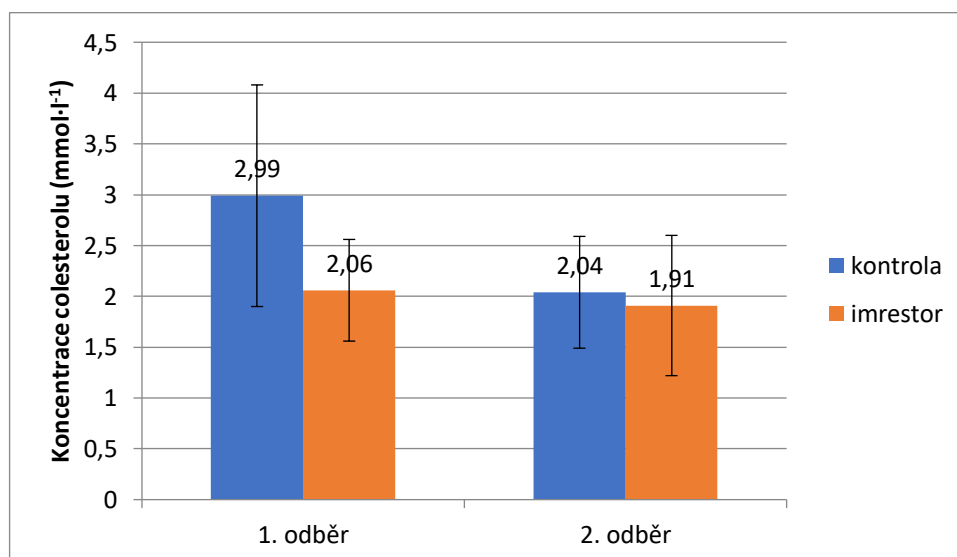
Zhodnocení statistické významnosti rozdílu v hodnotách aktivity enzymu alkalické fosfatázy (ALP) mezi skupinami dojnic bylo při prvním odběru provedeno pomocí Mann-Whitneyova U testu (nehomogenní rozptyly dat). Pomocí tohoto neparametrického testu byla stanovena statisticky významně vyšší ($p < 0,05$) aktivita ALP u skupiny P v porovnání se skupinou dojnic K. Průměrné hodnoty ALP byly u K i P skupiny v obou odběrech ve fyziologickém rozmezí (0,60–3,30 $\mu\text{kat}\cdot\text{l}^{-1}$), ačkoliv u kontrolní skupiny dosahovaly průměrné hodnoty v obou odběrech pouze na spodní hranici. V porovnání druhých odběrů byla p-hodnota na úrovni $p = 0,059$. Vliv preparátu na aktivitu ALP v krevní plazmě je znázorněn v grafu 13.

Graf 13 – Vliv preparátu Imrestoru na aktivitu ALP v krevní plazmě



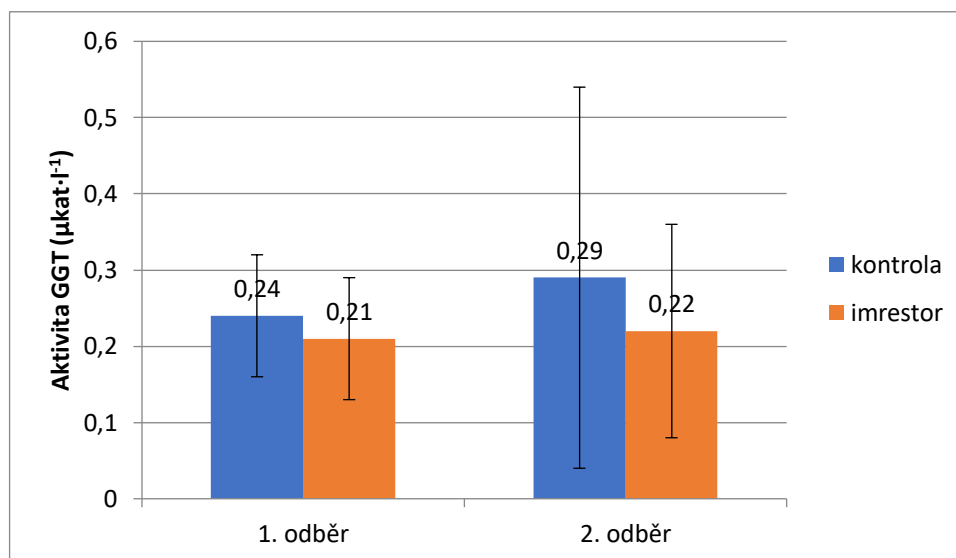
Průměrné koncentrace cholesterolu (Chol) byly u skupiny P v obou odběrech a u skupiny K ve 2. odběru pod fyziologickým rozmezím ($2,50\text{--}6,00\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$). U skupiny K byla stanovena v prvním odběru koncentrace Chol $2,99\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, což odpovídá spodní hranici fyziologických hodnot. Při porovnání koncentrace Chol mezi skupinou K a P v obou odběrech nebyl stanoven statisticky významný rozdíl. Vliv Imrestoru na koncentraci Chol v krevní plazmě je znázorněn v grafu 14.

Graf 14 – Vliv preparátu Imrestor na koncentraci cholesterolu v krevní plazmě



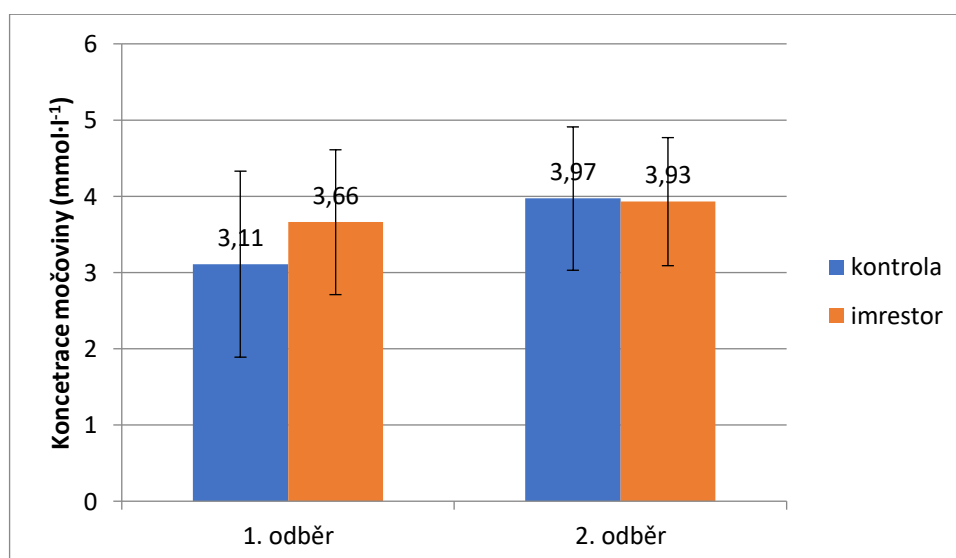
Průměrná aktivita gama-glutamyltransferázy (GGT) byla u K i P skupiny v obou odběrech ve fyziologickém rozmezí ($<0,55 \mu\text{kat}\cdot\text{l}^{-1}$). Statisticky významný rozdíl mezi sledovanými skupinami nebyl stanoven. Rozdíly v koncentracích GGT mezi K a P skupinou jsou patrné v grafu 15.

Graf 15 – Vliv preparátu Imrestoru na aktivitu GGT v krevní plazmě



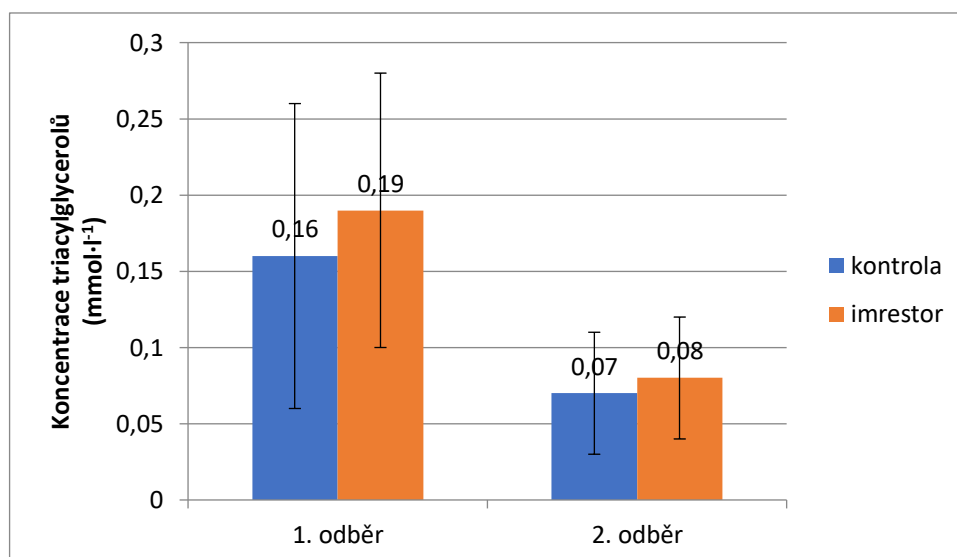
Průměrné koncentrace močoviny v krevní plazmě sledovaných dojnic odpovídají referenčním hodnotám ($3,00\text{--}5,00 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$). Podle statistického vyhodnocení výsledků nebyl shledán statisticky významný vliv preparátu na koncentraci močoviny v krevní plazmě. Porovnání průměrných koncentrací močoviny obou skupin je vyobrazeno v grafu 16.

Graf 16 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci močoviny v krevní plazmě



Průměrné koncentrace triacylglycerolů v krevní plazmě u obou sledovaných skupin dojnic byly v prvním i druhém odběru nižší oproti fyziologickému rozpětí (0,20–1,60 mmol·l⁻¹). Ve druhých odběrech u obou skupin dojnic průměrná koncentrace triacylglycerolů velmi klesla oproti prvním odběrům. V grafu 17 je znázorněno porovnání průměrných koncentrací triacylglycerolů K a P skupiny dojnic.

Graf 17 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci triacylglycerolů v krevní plazmě



4.2.2 Vliv preparátu Imrestoru na obsah vybraných minerálních látek v krevní plazmě

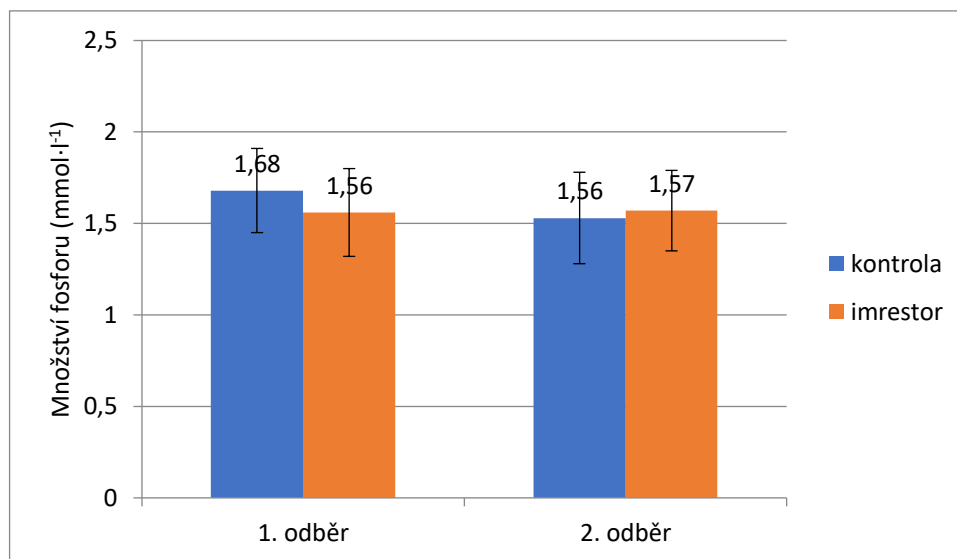
Vliv preparátu Imrestoru byl hodnocen dále v souvislosti s obsahem vybraných minerálních látek v krevní plazmě. V tabulce 8 jsou uvedeny statistické ukazatele obsahu vápníku, fosforu a hořčíku v krevní plazmě. Preparát Imrestor neměl podle zpracovaných výsledků na žádnou ze tří minerálních látek statisticky významný vliv.

Tabulka 8 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci minerálních látek v krevní plazmě
(K - 1. odběr n = 30, 2. odběr n = 17; P - 1. odběr n = 18, 2. odběr n = 13)

Parametr	Fyziologické rozmezí	Skupina	Odběry	x	sx	max	min
Fosfor (mmol·l⁻¹) 1,60 – 2,25		K	1.	1,68	0,23	2,05	1,25
		K	2.	1,56	0,25	1,93	1,03
		P	1.	1,56	0,24	1,90	1,01
		P	2.	1,57	0,22	1,91	1,24
Vápník (mmol·l⁻¹) 2,25 – 3,00		K	1.	1,94	0,38	2,36	0,64
		K	2.	1,88	0,36	2,43	0,98
		P	1.	2,12	0,41	2,85	1,15
		P	2.	1,89	0,33	2,34	1,30
Hořčík (mmol·l⁻¹) 0,78 – 1,10		K	1.	0,80	0,27	1,32	0,46
		K	2.	0,81	0,14	1,06	0,58
		P	1.	0,78	0,29	1,71	0,49
		P	2.	0,73	0,15	0,94	0,4

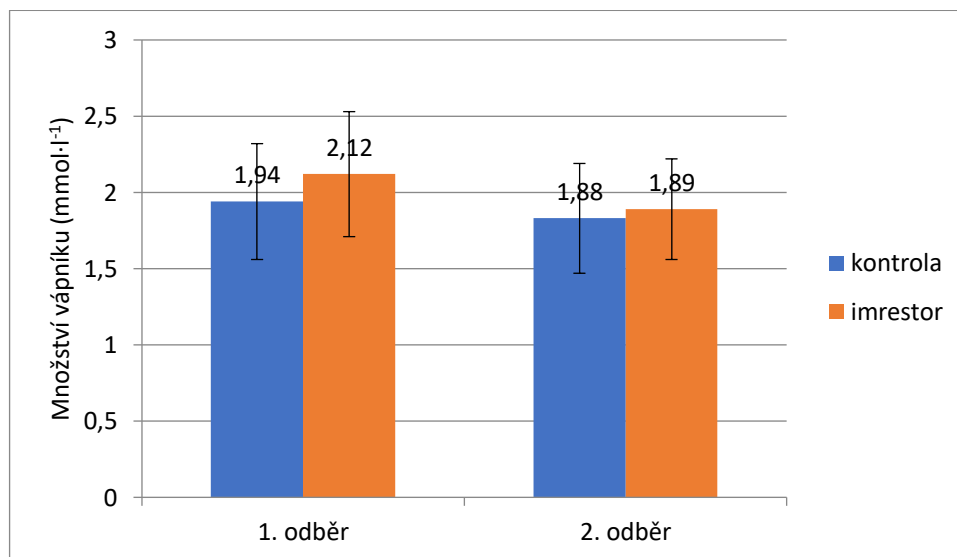
Průměrné koncentrace fosforu byly v obou odběrech u skupiny P a ve 2. odběru u skupiny K lehce pod fyziologickým rozmezím (1,60–2,25 mmol·l⁻¹). V prvním odběru u skupiny K byly hodnoty fosforu na spodní hranici referenčních hodnot (1,68 mmol·l⁻¹). Mezi průměrnými hodnotami fosforu v krevní plazmě u obou sledovaných skupin dojníc nebyl stanoven statisticky významný rozdíl. Porovnání obsahu fosforu v krevní plazmě K a P skupiny dojníc je uvedeno v grafu 18.

Graf 18 – Vliv preparátu Imrestoru na obsah fosforu v krevní plazmě



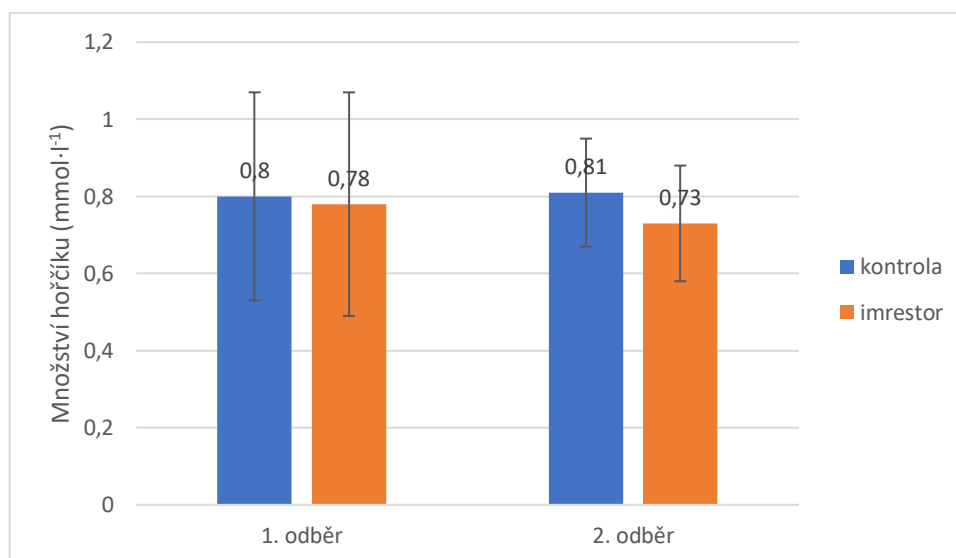
Průměrný obsah vápníku v krevní plazmě byl v obou odběrech (do 24 hodin a 7 dní po porodu) u K a P skupiny nižší, než udávají fyziologické hodnoty (2,25–3,00 mmol·l⁻¹). Statisticky významný rozdíl mezi skupinami dojnic v obsahu vápníku nebyl určen. Porovnání obsahu vápníku mezi sledovanými skupinami dojnic je znázorněno v grafu 19.

Graf 19 – Vliv preparátu Imrestoru na obsah vápníku v krevní plazmě



V obou odběrech u skupiny kontrolní a v 1. odběru u skupiny pokusné byl průměrný obsah hořčíku v krevní plazmě ve fyziologickém rozmezí (0,78–1,10 mmol·l⁻¹), ačkoliv na jeho spodní hranici. Ve 2. odběru u skupiny P byla stanovena nižší koncentrace hořčíku, než udává fyziologické rozpětí. V grafu 20 je znázorněn rozdíl v průměrných hodnotách obsahu hořčíku mezi skupinou dojnic K a P.

Graf 20 – Vliv preparátu Imrestoru na obsah hořčičku v krevní plazmě



4.3 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na klinické zdraví zvířat

Účinky imunomodulačního preparátu Imrestoru byly zkoumány dále v souvislosti s klinickým zdravím hodnocených zvířat. Pro hodnocení bylo vybráno 17 dojnic ze skupiny kontrolní a 18 dojnic ze skupiny pokusné. U těchto zvířat byl zaznamenáván výskyt ketózy, mastitidy, metritidy, zadržení lůžka a pneumonie. Následně byly porovnány rozdíly v četnosti těchto onemocnění mezi P a K skupinou. Bylo zjištěno, že frekvence výskytu zdravotních odchylek byla u dojnic pokusné skupiny (P) nižší ve srovnání s kontrolní skupinou (K) dojnic.

4.3.1 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt subklinické ketózy

Vliv preparátu Imrestoru na výskyt ketózy je zaznamenán v tabulce 9. V kontrolní skupině se objevila ketóza u 6 ze 17 hodnocených zvířat. Ve skupině pokusné pak ketózou onemocněla pouze 4 zvířata z 18 sledovaných. Pokusná skupina měla tedy o 13 % nižší výskyt ketózy než skupina kontrolní.

Tabulka 9 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt subklinické ketózy

	počet zvířat (ks)	Subklinická ketóza (ks)	Subklinická ketóza (%)
Kontrolní skupina	17	6	35
Pokusná skupina	18	4	22

5.3.2 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt metritidy

Metritida se objevila v kontrolní skupině u 3 dojnic, což činí 18 % ze 17 pozorovaných zvířat. Ve skupině pokusné byla metritida zaznamenána častěji, a to celkem u 5 dojnic. Ve skupině P se metritida objevila o 10 % častěji oproti skupině K. Výskyt metritidy u obou skupin je uveden v tabulce 10.

Tabulka 10 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt metritidy

	počet zvířat (ks)	Metritida (ks)	Metritida (%)
Kontrolní skupina	17	3	18
Pokusná skupina	18	5	28

4.3.3 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt klinické mastitidy

Vliv Imrestoru na četnost onemocnění klinickou mastitidou u sledovaných zvířat je patrný v tabulce 11. Mastitida byla diagnostikována u 4 dojnic ze skupiny K a u 3 dojnic ze skupiny P. Ve skupině pokusné došlo ke snížení výskytu mastitidy o 7 %.

Tabulka 11 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt klinické mastitidy

	počet zvířat (ks)	Mastitida (ks)	Mastitida (%)
Kontrolní skupina	17	4	24
Pokusná skupina	18	3	17

4.3.4 Vliv preparátu Imrestoru na výskyt pneumonie

Účinky preparátu Imrestoru byly hodnoceny také v souvislosti s výskytem pneumonií (tabulka 12). V kontrolní skupině touto chorobou onemocněla 2 zvířata. Ve skupině pokusné byla zaznamenána přítomnost pneumonie v 6 %, tedy pouze u jednoho z pozorovaných zvířat.

Tabulka 12 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt pneumonie

	počet zvířat (ks)	Pneumonie (ks)	Pneumonie (%)
Kontrolní skupina	17	2	12
Pokusná skupina	18	1	6

4.3.5 Vliv preparátu Imrestoru na četnost zadržení lůžka

Četnost zadržení lůžka u obou skupin dojníc je uvedena v tabulce 13. Častěji se zadržení lůžka objevilo ve skupině K, a to u 4 ze 17 zvířat. Onemocněním tedy trpěla téměř čtvrtina zvířat ze skupiny K. V pokusné skupině bylo zadržení lůžka diagnostikováno pouze u 1 dojnice (6 %). Ve skupině P se snížil výskyt tohoto onemocnění o 18 %.

Tabulka 13 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt zadržení lůžka

	počet zvířat (ks)	Zadržení lůžka (ks)	Zadržení lůžka (%)
Kontrolní skupina	17	4	24
Pokusná skupina	18	1	6

4.4 Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na ukazatele mléčné užitkovosti

Efekt imunomodulačního preparátu Imrestoru byl dále hodnocen v souvislosti s mléčnou užitkovostí dojníc. Pro pokus bylo vybráno 17 dojníc ze skupiny K a 17 dojníc ze skupiny P. U těchto dvou skupin dojníc byly porovnávány rozdíly v dojivosti mezi předchozí 100denní laktací bez podání preparátu Imrestoru a aktuální 100denní laktací (po podání Imrestoru). Zjišťovány byly i rozdíly v množství denního nádoje u předchozí a aktuální 100denní laktace u obou skupin dojníc. Porovnání dojivosti u K a P skupiny dojníc je uvedeno v tabulce 14. Ve skupině K byla průměrná aktuální dojivost za 100denní laktaci (B) 4179,5 kg mléka. V předchozí 100denní laktaci (A) dosáhly dojnice skupiny K průměrné dojivosti 3964,8 kg mléka. Rozdíl v množství nadojeného mléka mezi B a A u skupiny K činil 214,7 kg (nárůst o 5,4 %). Skupina P za aktuální 100denní laktaci (B) po podání preparátu Imrestoru průměrně nadojila 4108,6 kg mléka, přičemž v předchozí 100denní laktaci byla průměrná dojivost pouze 3723,3 kg mléka (A). U skupiny P byla dojivost po ošetření preparátem Imrestor při aktuální 100denní laktaci vyšší o 385,3 kg mléka (nárůst o 10,3 %) oproti předchozí 100denní laktaci. Maximální naměřená hodnota ve skupině P za aktuální laktaci byla 4929 kg mléka. Ve skupině K maximální hodnota dosahovala 5143 kg mléka.

V předchozí 100denní laktaci byl u skupiny K naměřen průměrný denní nádoj 39,6 kg mléka a v aktuální 100denní laktaci nádoj vzrostl o 2,2 kg na množství 41,8 kg mléka. Ve skupině pokusné byl nárůst mléka vyšší. Denní nádoj v předchozí laktaci u skupiny

P představoval 37,2 kg mléka. Po podání preparátu Imrestoru v aktuální 100denní laktaci průměrný denní nádoj vzrostl o 3,9 kg na 41,1 kg mléka.

U dojnic skupiny P byla tedy v aktuální 100denní laktaci po podání preparátu Imrestoru pozorován vyšší nárůst dojivosti i vyšší nárůst denního nádoje, než tomu bylo ve skupině K. Skupina dojnic K měla sice nižší nárůst množství mléka oproti skupině P, ale dojivost i denní nádoj byly vyšší.

Tabulka 14 – Vliv preparátu Imrestor na ukazatele mléčné užitkovosti

Užitkovost	Kontrolní skupina			Pokusná skupina		
	n	Průměr (kg mléka)	sx	n	Průměr (kg mléka)	sx
Předchozí 100denní laktace (A)	17	3964,8	595,3	18	3723,3	716,6
Aktuální 100denní laktace (B)	17	4179,5	708,3	18	4108,6	815,1
Rozdíl B-A (kg mléka, %)	214,7 kg / 5,4 %			385,3 kg / 10,3 %		
Denní nádoj v předchozí 100denní laktaci (A)	39,6			37,2		
Denní nádoj v aktuální 100denní laktaci (B)	41,8			41,1		
Rozdíl B-A (kg mléka)	2,2			3,9		

5. Diskuze

Fyziologická charakteristika dojnic v období vysoké březosti a v první fázi laktace vykazuje zásadní odlišnosti v úrovni látkového a energetického metabolismu a humorálních regulací. Funkční zatížení spojené s obdobím stání na sucho a začátkem laktace se projevuje i v oslabení nebo přetížení imunitních funkcí, vyšší vnímavostí vůči patogenům s následnými záněty mléčné žlázy a dělohy. Součástí imunitních mechanismů jsou neutrofilní granulocyty (neutrofilny), které se uplatňují při opsonizaci a zejména fagocytóze antigenů. Neutrofilny se podílí na likvidaci především bakteriálních infekcí (Bassel a kol., 2018). Tvorbu a aktivitu neutrofilů pozitivně ovlivňuje „bovinní faktor stimulující kolonie granulocytů (bG-CSF)“, který je podstatou imunomodulačního preparátu Imrestoru (Trimboli a kol., 2019), jehož metabolický a zdravotní účinek byl sledován v rámci této diplomové práce.

Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru (bG-CSF) na hematologické ukazatele

Parametry červených krvinek (tabulka 4), které u obou skupin dojnic odpovídaly hodnotám ve spodní třetině fyziologického rozmezí (hematokritu i pod fyziologickou úroveň) a v jednotlivých případech i mírným formám anemie (Jelínek a kol., 2003), lze spojit s funkčním přetížením charakteristickým pro první týdny laktace vysokoužitkových dojnic. Produkční zátěž dojnic chovu holštýnských krav zařazených do sledování vystihuje průměrná užitkovost 11 780 kg mléka za laktaci v roce 2019. Pokles hemoglobinu v postpartálním období souvisí i s katabolismem a mobilizací aminokyselin ve vazbě na tvorbu mléka (Paiano a kol., 2018). Rozdíly v průměrných hodnotách sledovaných ukazatelů mezi kontrolní (K) a pokusnou skupinou (P) nebyly však natolik rozdílné, aby se projevil statistickou významností. V experimentu se tedy neprokázal statisticky významně stimulační efekt Imrestoru na erythropoézu. Jiné studie, například Trimboli a kol. (2019), u skupiny krav plemene simmental ošetřených Imrestorem, zaznamenaly ve srovnání s kontrolní skupinou dokonce nižší počty erytrocytů v prvních 2 týdnech po porodu.

Statisticky významné rozdíly byly stanoveny v 1. i 2. odběru v počtu trombocytů (krevní destičky) (tabulka 4). Počty trombocytů byly v obou odběrech u pokusné skupiny nižší oproti skupině K. Tento výsledek je odlišný od zjištění autorů Trimboli a kol. (2019), kteří naopak u krav ošetřených Imrestorem zjistili statisticky významně vyšší počty trombocytů. Průměrné počty trombocytů obou skupin v 1. i 2. odběru

odpovídaly spodní třetině fyziologického rozmezí (Jelínek a kol. 2003) a individuální velmi nízké hodnoty naznačovaly výskyt trombocytopenií. Statisticky významně nižší počty trombocytů ($p < 0,05$) u pokusné skupiny (skupina P) v obou odběrech oproti kontrolní skupině, je možné odůvodnit jejich vývojem, který je vázán na společný myeloidní progenitor s granulocyty (Lapčíková a kol., 2011), jejichž počty byly u skupiny P ve srovnání se skupinou K naopak statisticky vysoce významně vyšší.

Statisticky významné rozdíly byly mezi skupinami v ukazatelích bílých krvinek (tabulka 5). Počty leukocytů byly u skupiny P výrazně nad fyziologickým rozmezím a ve druhém odběru byl stanoven v jejich zastoupení mezi K a P skupinou statisticky vysoce významný rozdíl ($p < 0,01$). Skupina K měla počty bílých krvinek oproti skupině P výrazně nižší, ačkoliv ve fyziologickém rozmezí. Trimboli a kol. (2019) ve své studii uvádí, že u dojnic plemene simmental ošetřených Imrestorem byl také vyhodnocen statisticky vysoce významný rozdíl v počtech leukocytů oproti skupině krav, které ošetřené nebyly. U skupiny krav ošetřených Imrestorem bylo naměřeno den po porodu průměrně $45 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$ leukocytů v krvi, zatímco ve skupině neošetřených krav byla průměrná hodnota $10 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$. Podobný výsledek zaznamenali ve své studii i McDougall a kol. (2017), kteří zkoumali vliv Imrestoru na skupinách dojnic plemen holštýn a Jersey. Dojnice ($n = 48$) po podání Imrestoru měly vyšší počty leukocytů oproti skupině kontrolní ($n = 49$). Jelínek a kol. (2003) uvádí, že k vzestupu leukocytů (leukocytóze) dochází také při stresu, fyzické zátěži a při zánětech. Na celkovém zvýšení počtu leukocytů v našem experimentu se v pokusné skupině podílely zejména neutrofilní granulocyty.

Procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů bylo ve 2. odběru u dojnic pokusné skupiny (ošetřené Imrestorem) oproti kontrolní skupině statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) vyšší. McDougall a kol. (2017) zaznamenali ve svém pokusu u skupiny dojnic ošetřených Imrestorem také významný vzestup procentuálního zastoupení neutrofilů. Ve vzorcích krve odebraných 7 dní po otelení zjistili u skupiny pokusné zastoupení neutrofilů průměrně v 68,5 %, u skupiny kontrolní byl podíl neutrofilů pouze 33,6 %. Podle autorů Ingvarssen a Moyes (2013) mají bovinní neutrofilové po porodu snížené účinky: chemotaxi, fagocytózu a oxidační vzplanutí. Důvodem této snížené funkce neutrofilů může být nedostatek živin a zvýšené koncentrace některých krevních metabolitů, které vznikají při lipomobilizaci tkáně při negativní energetické bilanci (Kehrli a kol., 1989). Neutrofilové jsou charakteristické svou ochrannou rolí vůči

infekčním onemocněním skotu, které se často vyskytují v okolopородním období. Pro zvládnutí tohoto období je velmi důležité jejich optimální zastoupení v organismu dojnic (Bassel a kol., 2018).

Procentuální zastoupení lymfocytů bylo v našem pokusu u skupiny P naopak statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) nižší než u skupiny K. Nižší zastoupení lymfocytů po ošetření Imrestorem pozorovali i Kegles a kol. (2019), kteří zkoumali působení Imrestoru na novorozená telata plemene holštýn v Brazílii. Pro experiment bylo vybráno 20 telat, která byla rozdělena na skupinu kontrolní ($n = 10$) a skupinu ošetřenou Imrestorem ($n = 10$). Skupina kontrolní vykazovala vyšší průměrné zastoupení lymfocytů oproti skupině, které byl podán preparát Imrestor. Naopak v již zmíněné studii Trimboli a kol. (2019) bylo zjištěno vyšší % zastoupení lymfocytů ve skupině dojnic, kterým byl podán Imrestor.

Statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi skupinou K a P byl v experimentu stanoven v porovnání relativního zastoupení monocytů. Pozorováno bylo vyšší zastoupení monocytů ve skupině P v porovnání s dojnicemi ze skupiny K. Průměrné hodnoty u obou sledovaných skupin dojnic v 1. i 2. odběru byly vyšší, než udává fyziologické rozmezí podle Jelínek a kol. (2003). Zinicola a kol. (2018) provedli experiment, ve kterém zkoumali působení Imrestoru na dojnice holštýnského plemene. Do experimentu bylo zařazeno 423 krav pro kontrolu a 417 krav bylo ošetřeno preparátem Imrestor. V této studii byl potvrzen statisticky vysoce významně vyšší zastoupení monocytů ve skupině krav ošetřených Imrestorem. U skupiny kontrolní byla pozorována koncentrace monocytů $0,95 \pm 0,07 \times 10^3 \mu\text{L}$. U skupiny krav ošetřených Imrestorem vzrostla koncentrace monocytů na $2,81 \pm 0,07 \times 10^3 \mu\text{L}$.

Pokus této diplomové práce tedy potvrdil významně stimulační efekt Imrestoru na leukopoezu, zejména fagocytujících bílých krvinek.

Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru (bG-CSF) na parametry krevní plazmy

V 1. odběrech byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) v porovnání hodnot parametrů krevní plazmy pouze v aktivitě alkalické fosfatázy (ALP). Ve druhých odběrech nebyl zjištěn statisticky významný vliv preparátu Imrestoru na parametry krevní plazmy (tabulka 7). Průměrná koncentrace močoviny a aktivita alkalické fosfatázy (ALP) a gama-glutamyltransferázy (GGT) v krevní plazmě byly u obou skupin dojnic v 1. i 2. odběru ve fyziologickém rozmezí podle Kopřiva (2011).

Koncentrace CB byly v obou odběrech u skupiny P a v 1. odběru u skupiny K lehce pod fyziologickým rozmezím. Ve 2. odběru u skupiny K koncentrace CB dosahovala spodní hranice referenčních hodnot. Snížená koncentrace celkové bílkoviny v plazmě může být způsobena deficitem proteinů v krmné dávce nebo může značit poruchu funkce jater (Pavlík, 2013).

Aktivita alkalické fosfatázy (ALP) byla v 1. odběru statisticky významně vyšší u skupiny P v porovnání se skupinou K, kde byla průměrná aktivita ALP na spodní hranici fyziologických hodnot. V humánní medicíně nízké hodnoty aktivity ALP značí výskyt anémie, snížené funkce štítné žlázy nebo nedostatku vitamínu B₁₂ (Kvasnicová, 2018). Autoři Lopreiato a kol. (2019), kteří hodnotili vliv Imrestoru na dojnicích plemen holštýn a simmental, zaznamenali také vyšší hodnoty ALP u skupiny dojníc ošetřených Imrestorem.

Hodnota cholesterolu byla u obou skupin dojníc ve 2. odběrech nižší, než udává referenční rozmezí. V prvním odběru byla koncentrace pod fyziologickým rozmezím pouze u skupiny P. Nízké hodnoty cholesterolu mohou naznačovat, že krmná dávka dojníc obsahuje vysoké množství sacharidů a nízké množství proteinů. Důsledkem nízké hladiny cholesterolu a vysokých hodnot triacylglycerolů může vznikat steatóza jater (Kulovaná, 2002). Cholesterol se u krav syntetizuje v játrech z acetátu a je základním substrátem pro tvorbu steroidních hormonů, vitamínu D a žlučových kyselin (Hofírek a kol., 2009).

Průměrné koncentrace GGT byly v tomto experimentu ve fyziologických mezích u skupiny K i P. Enzym gama-glutamyltransferáza (GGT) je vázaný na membránu, má vysokou aktivitu v játrech, pankreatu a kosterním svalstvu (Hofírek a kol., 2009). Průměrné hodnoty močoviny dosahovaly v obou odběrech u skupiny dojníc K i P spodní třetiny fyziologického rozmezí. Statisticky významné rozdíly mezi skupinou dojníc K a P v hodnotách močoviny nebyly pozorovány.

Hodnoty triacylglycerolů (TAG) se v pokusu pohybovaly u obou sledovaných skupin dojníc pod fyziologickým rozmezím. Podle Hofírek a kol. (2009) snížená koncentrace TAG vzniká v důsledku narušené mobilizace tuků v játrech, při narušené funkci jater nebo při dlouhodobém nedostatku energie v krmné dávce.

Nízké koncentrace plazmatických bílkovin, močoviny, cholesterolu a triacylglycerolů u dojníc obou skupin dokumentují metabolické zatížení dojníc s laktací převyšující

10000 litrů mléka. Uvedené metabolické parametry ukazují na limitní příjem energie, ale i dusíkatých látek (proteinů) a na omezené energetické rezervy v souvislosti s nadstandardní užitkovostí. Příznivé hodnoty enzymů ALP a zejména GGT na druhé straně ukazují na normální funkci jater a kostní tkáně dojnic.

Dále byl v experimentu diplomové práce hodnocen vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru na obsah vápníku, fosforu a hořčíku v krevní plazmě (tabulka 8). V našem pokusu nebyl zjištěn statisticky významný vliv Imrestoru na obsah těchto minerálních látek v krevní plazmě sledovaných dojnic.

Koncentrace vápníku (Ca) byla u obou skupin nižší, než udává fyziologické rozmezí. U skupiny K byly v obou odběrech pozorovány velmi nízké minimální hodnoty. Nedostatek Ca v období kolem otelení může vést ke zdravotním poruchám a snížit produkci mléka (Venjakob a kol., 2017). Podle Hofírek a kol. (2009) snížená koncentrace Ca v krevní plazmě ukazuje na nedostatečný příjem vápníku v KD, snížené vstřebávání Ca ze střeva nebo nedostatek vitamínu D. Dále snížený obsah Ca vzniká při omezené mobilizaci z kostí, při zvýšené lipolýze a glukoneogenezi, při poporodní paréze, rachitidě, osteomalácii, hypomagnezémii, acidóze nebo ketóze (Hofírek a kol., 2009).

Obsah fosforu (P) byl u obou sledovaných skupin dojnic v 1. i 2. odběru pod nebo na spodní hranici fyziologického rozmezí. Hofírek a kol. (2003) uvádí, že snížená koncentrace fosforu v krevní plazmě může naznačovat nedostatek fosforu v KD, nedostatek vitamínu D, alkalózu, ulehnutí dojnic, hemoglobinurii, osteomalacii nebo rachitidu. Vlivem nedostatku P vznikají poruchy plodnosti, snížení konverze živin, syndrom snížené tučnosti mléka a chronické indigesce (Jelínek a kol., 2003). Fosfor je charakteristický svou stavební funkcí v organismu, účastní se fosforylace, zasahuje do acidobazických procesů a je díky němu umožněn přenos energie (Hofírek a kol., 2009).

Hodnoty hořčíku (Mg) byly v tomto experimentu u obou skupin dojnic v 1. i 2. odběru pod nebo na spodní hranici referenčních hodnot. Ke snížené koncentraci hořčíku v krevní plazmě dochází při nedostatečném příjmu Mg v KD, při stájové, pastevní nebo transportní tetanii (Hofírek a kol., 2009). Jelínek a kol. (2003) uvádí, že nedostatek hořčíku způsobuje u zvířat syndrom předráždění, třes svalstva a vznikají

tonickocyklické křeče. Hořík představuje významný aktivátor řady enzymů (Hofírek a kol., 2003).

Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru (bG-CSF) na ukazatele zdraví dojníc

V experimentu byl dále porovnán výskyt nejčastějších okoloporodních onemocnění ve skupině K a P. Bylo zjištěno, že ve skupině P byl pozorován nižší výskyt subklinických ketóz, mastitid, zadržení lůžka a pneumonie, než tomu bylo u skupiny K.

Autoři Ruiz a kol. (2017) také pozorovali u skupiny ošetřené Imrestorem menší procento krav s klinickou mastitidou, než tomu bylo u skupiny kontrolní. Ve skupině kontrolní (n = 5213) zjistili mastitidu u 4,92 % dojníc a ve skupině dojníc, kterým byl podán Imrestor 7 dní před otelením a do 24 hodin po porodu (n = 5025), se mastitida objevila pouze v 3,69 %.

Výskyt poporodních zánětů dělohy byl naopak u dojníc skupiny P o 10 % vyšší, než tomu bylo u skupiny kontrolní. Ve studii autorů Ruiz a kol. (2017) byla pozorována klinická metritida také častěji u skupiny ošetřené Imrestorem (9,79 %) oproti skupině kontrolní (8,36 %). Autoři Canning a kol. (2017) také sledovali vliv Imrestoru na výskyt klinické metritidy. Jejich výsledek byl shodný s těmi přechozími. Častěji byla klinická metritida diagnostikována u skupiny dojníc ošetřených Imrestorem. Citované výsledky nasvědčují, že účinek imunomodulačního preparátu Imrestoru je v případě infekcí dělohy nepřesvědčivý.

Na druhé straně se v pokusu diplomové práce, ale i v experimentech například Zinicola a kol. (2018) nebo Ruiz a kol. (2017) prokázalo snížení výskytu zadržení lůžka po porodu. Například Ruiz a kol. (2017) uvádí, že u krav ošetřených Imrestorem se zadržení lůžka objevilo v 5,55 % a u krav neošetřených hodnota stoupla na 5,79 %.

Pneumonie se objevila v našem pokusu o 6 % častěji ve skupině K oproti skupině P. Autoři Canning a kol. (2017) pozorovali ve své studii stejnou četnost výskytu pneumonie ve skupině kontrolní, jako tomu bylo ve skupině ošetřené Imrestorem.

Vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru (bG-CSF) na ukazatele mléčné užitkovosti

Posledním parametrem, který byl v pokusu diplomové práce v souvislosti s Imrestorem hodnocený, byla mléčná užitkovost (tabulka 14). Bylo zjištěno, že dojnice skupiny P měly po podání preparátu Imrestoru vyšší nárůst dojivosti za 100denní laktaci i vyšší nárůst denního nádoje, oproti hodnotám ve skupině K. Studie autorů Zinicola a kol. (2018) uvádí, že dojnice prvotelky ošetřené Imrestorem během prvních 12 týdnů po otelení nadojily denně více mléka, než tomu bylo u skupiny kontrolních dojnic. Ošetřené dojnice měly průměrný denní nádoj $37,51 \pm 0,66$ kg mléka. Dojnice kontrolní nadojily za den průměrně pouze $35,91 \pm 0,65$ kg mléka. Oliveira a kol. (2020) naopak pozorovali ve svém experimentu nižší průměrný denní nádoj u skupiny dojnic, kterým byl podán Imrestor.

6. Závěr

Během tranzitního období je organismus vysokoprodukčních dojnic velmi zatížen a často dochází k oslabení imunitního systému. Důsledkem může být zvýšený výskyt onemocnění, která negativně ovlivňují nadcházející laktaci, zabřezávání a ekonomiku chovu. V diplomové práci byl zkoumán vliv imunomodulačního preparátu Imrestoru (bG-CSG) na hematologické a biochemické ukazatele a na ukazatele zdraví a užitkovosti u vysokoprodukčních dojnic v období po porodu. Pokus proběhl v roce 2019 na farmě v Chyšné a bylo do něj zapojeno celkem 49 dojnic.

V experimentu byl potvrzen stimulační efekt imunomodulačního preparátu Imrestoru na leukopoezu, především fagocytujících bílých krvinek. Bylo zjištěno, že preparát Imrestor působí statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) na počty leukocytů, na neutrofilní granulocyty a lymfocyty. Statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$) byly mezi skupinami dojnic prokázány v zastoupení monocytů a trombocytů a aktivitě alkalické fosfatázy. Ve skupině dojnic ošetřených imunomodulačním preparátem Imrestorem byl v poporodním období sledován nižší výskyt subklinické ketózy, mastitidy, pneumonie a zadržetí lůžka, než tomu bylo ve skupině K. Při porovnání aktuální (po podání Imrestoru) a předchozí (před podáním Imrestoru) 100denní laktace u K a P skupiny dojnic byl pozorován vyšší nárůst dojivosti a vyšší nárůst denního nádoje u skupiny P.

Experiment diplomové práce tedy potvrdil pozitivní účinky imunomodulačního preparátu Imrestoru na tvorbu bílých krvinek (zejména fagocytů), na ukazatele zdraví a na mléčnou užitkovost. Imrestor je tedy možné považovat za jednu z praktických možností v managementu stáda, která může pomoci k úspěšnému zvládnutí životně důležitých dnů v tranzitním období dojnic.

7. Použitá literatura a zdroje

1. **Abbas, A., Lichtman, A. H., Pillai, S.** (2007): *Cellular and molecular immunology*. 6. vydání. Elsevier, Philadelphia, ISBN: 97814116031222.
2. **Bassel, L. L., & Caswell, J. L.** (2018). *Bovine neutrophils in health and disease*. Cell and Tissue Research, 371(3), 617–637.
3. **Bečvář, O.** (2012): *Mastitida může být příběh s koncem*. Zemědělec. 11, s. 32.
4. **Borkovec, L.** (2018) *Kolik stojí výskyt pneumonie v masných chovech?* Český svaz chovatelů masného skotu. [online]. [cit. 2020-04-03].
5. **Bouška, J. a kol.** (2006): *Chov dojeného skotu*. Praha. Profi Press. ISBN: 80-86726-16-9.
6. **Canning, P., Hassfurth, R., TerHune, T., Rogers, K., Abbott, S., & Kolb, D.** (2017). *Efficacy and clinical safety of pegbovigrastim for preventing naturally occurring clinical mastitis in periparturient primiparous and multiparous cows on US commercial dairies*. Journal of Dairy Science, 100(8), 6504–6515.
7. **Doležel, R., Páleník T., Čech S., Jan Z., Zajíc J., Kratochvíl J.** (2005): *Význam tělesné teploty pro diagnostiku akutní endo/metritidy u krav*. Veterinářství, 55, 754-762.
8. **Doubek, J., Řeháková, K., Uhríková, I., Šlosárková, S., Doubek, R., Matalová, E., a kol.** (2014): *Základy laboratorní diagnostiky neinfekčních nemocí*. Ústav fyziologie Veterinární a farmaceutické univerzity Brno. 253 s.
9. **Duffield, T.** (2000): *Subclinical Ketosis in Lactating Dairy Cattle*. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 16, 231–253.
10. **Esposito, G.; Irons, P.C.; Webb, E.C.; Chapwanya, A.** (2014): *Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows*. Anim. Reprod. Sci.144, 60–71.
11. **Ferenčík, M., Rovenský, J., Shoenfeld, Y., Mat'ha, V.** (2005): *Imunitní systém: informace pro každého*. Vyd. 1. české. Praha: Grada. 236 s. ISBN: 80-247-1196-6.

12. **Hejlíček, K. a kol.** (1987): *Mastitidy skotu*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 201 s.
13. **Hofírek, B. a kol.** (1990): *Diagnostika a prevence chorob zvířat II., Nemoci skotu*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. 358 s.
14. **Hofírek, B. a kol.** (2004): *Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu*. Brno: Noviko. ISBN 80-7305-501-5.
15. **Hofírek, B. a kol.** (2009): *Nemoci skotu*. Brno: Noviko. ISBN 978-80-86542-19-5.
16. **Holubová, J., Vaculovičová, M. a Kizek R.** (2014): *Liposomální transportéry*. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*, 1, 6-9
17. **Hořejší, V. a kol.** (2009): *Základy imunologie 4. vydání*. Praha. Triton. 304 s. ISBN 978-80-7387-280-9
18. **Hořejší, V. a kol.** (2017): *Základy imunologie 6., aktualizované vydání*. Praha. Triton, 2017. 297 s. ISBN 978-80-7553-250-3.
19. **Hořejší, V. a J. Bartůňková.** (2005): *Základy imunologie. 3. vydání*. Praha. Triton, 2005. 279 s. ISBN 80-7254-686-4.
20. **Imrestor.** (2016) *Praktický průvodce*. Elanco Animal Health. 9 s.
21. **Ingvartsen, K. L., and K. Moyes.** (2013): *Nutrition, immune function and health of dairy cattle*. *Animal* 7:112–122.
22. **Jedlička, M. (2010):** *Mléko hlavní komoditou*. *Náš chov*. Odborný časopis, který se specializuje na chovatelskou činnost [online]. [cit. 2020-06-11]. Dostupné z: <https://www.naschov.cz/mleko-hlavni-komoditou/>.
23. **Jedlička, M. (2018):** *Metritida problémem imunosuprese*. *Náš chov*. Odborný časopis, který se specializuje na chovatelskou činnost. [online]. [cit.2020-03-08].Dostupné z: <https://www.naschov.cz/metritida-problemem-imunosuprese/>.
24. **Jelínek, P., Kudela, K. a kol.** (2003): *Fyziologie hospodářských zvířat*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-644-1.
25. **Kegles, F., Madruga, O. C., Schmoeller, E., Bragança, L. F., Londero, U. S., Marins, L., Del Pino, F. A. B.** (2018): *Hematological and biochemical parameters of dairy calves submitted to pegbovigrastim administration*. *Journal of Dairy Science*. 102:1–10.

26. **Kehrli, M. E., B. J. Nonnecke, and J. A. Roth.** (1989): *Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period.* Am. J. Vet. Res. 50:207–214.
27. **Kopřiva, V.** (2011): *Vybrané biochemické a fyziologické hodnoty jednotlivých druhů zvířat.* Doplnkový studijní materiál [online], 8 s. [cit. 2020-05-21]. Dostupné z: https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/VY_04_04.pdf.
28. **Kudláč, E., Elečko, J. a kol.** (1977): *Veterinární porodnictví a gynekologie.* Praha: Státní zemědělské nakladatelství. s. 776.
29. **Kudrna, V. a kol.** (1998): *Produkce krmiv a výživa skotu.* Agrospoj, Praha, 362 s.
30. **Kulovaná, E.** (2012): *Výživa březích krav a metabolické problémy po otelení.* Náš chov. [online]. [cit. 30.04.2020]. Dostupné z: <https://www.naschov.cz/vyziva-brezich-krav-a-metabolicke-problemy-po-oteleni/>.
31. **Kvasnicová, V.** (2018): *Alkalická fosfatáza.* Datový standard MZ ČR [online].[cit.2020-04-28].Dostupné z: http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/cd_ds3/hypertext/KVAAP.htm.
32. **Lacasse, P., Vanacker, N., Ollier, S., & Ster, C.** (2018): *Innovative dairy cow management to improve resistance to metabolic and infectious diseases during the transition period.* Research in Veterinary Science, 116, 40–46.
33. **Lapčíková, A. Divoký, V., Horváthová, M., Fellnerová, I.** (2011): *Laboratorní hematologie.* Univerzita Palackého v Olomouci. 52 s. ISBN 978-80-244-2876-5.
34. **Lochmanová, A.** (2006): *Základy imunologie.* Ostrava: Ostravská univerzita, Zdravotně sociální fakulta. 139 s. ISBN 80-7368-153-6.
35. **Lopreiato, V., Minuti, A., Trimboli, F., Britti, D., Morittu, V., M., Piccioli Cappelli, J J Loor, Trevisi E.** (2019): *Immunometabolic Status and Productive Performance Differences Between Periparturient Simmental and Holstein Dairy Cows in Response to Pegbovigrastim.* Journal of Dairy Science, 2019. 102(10):9312-9327.
36. **M. Zinicola, H. Korzec, A. G. V. Teixeira, E. K. Ganda, L. Bringhenti, A. C. C. H. Tomazi, R. O. Gilbert, and R. C. Bicalho** (2018): *Effects of*

- pegbovigrastim administration on periparturient diseases, milk production, and reproductive performance of Holstein cows. J. Dairy Sci.* 101:1–19.
37. **Oliveira, M. X. S., McGee, D. D., Brett, J. A., Larson, J. E., & Stone, A. E.** (2020): *Evaluation of production parameters and health of dairy cows treated with pegbovigrastim in the transition period.* Preventive Veterinary Medicine, 176, 104931.
38. **Otrubová, M.** (2018): *Infekční bovinní rinotracheitida.* Agropress.cz. [online].[cit.03.04.2020].Dostupné z: <https://www.agropress.cz/infekcni-bovinni-rinotracheitida-ibr/>
39. **Paiano, R.B.** (2018): *Efeitos da anemia en vacas periparturientes.* Universidade de Sao Paulo, 298, 77 s.
40. **Panciera, R. J., a Confer, A. W.** (2010): *Pathogenesis and Pathology of Bovine Pneumonia.* Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 26 (2), 191–214.
41. **Pavlata, L., Pechová, A., Dvořák, R.** (2008): *Diferenciální diagnostika syndromu ulehnutí u krav.* Veterinářství. 58., 43–51.
42. **Pavlík, A.** (2013): *Metody hodnocení vnitřního prostředí hospodářských zvířat.* Brno. Mendelova univerzita v Brně, 46 s., ISBN 978-80-7375-736-6.
43. **Roche, J. R., Burke, C. R., Crookenden, M. A., et al.** (2017): *Fertility and the transition dairy cow.* Reprod Fertil Dev.;30(1):85-100.
44. **Rosales, C.; Uribe-Querol, E.** (2013): *Fc receptors: Cell activators of antibody functions.* Adv. Biosci. Biotechnol. 2013, 4, 21–33.
45. **Ruiz, R., Tedeschi, L. O., & Sepúlveda, A.** (2017): *Investigation of the effect of pegbovigrastim on some periparturient immune disorders and performance in Mexican dairy herds.* Journal of Dairy Science, 100(4), 3305–3317.
46. **Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O.** (2006): *Defining postpartum uterine disease in cattle.* Theriogenology, 65(8), 1516–1530.
47. **Schroeder, J.W.** (2010): *Bovine mastitis and milking management.* North Dakota State University of Agriculture and Applied Science. 1129.

48. **Sláma, P., Pavlík, A., Tančín, V.** (2011): *Morfologie a fyziologie hospodářských zvířat*. Brno. 142 s. ISBN: 978-80-7375-479-2.
49. **Šlosárková, S., Skřivánek, M., Fleischer P.** (2006): *Program preventivních kroků k udržení dobrého zdravotního stavu dojníc v okolopородním období*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.
50. **Teplan, V.** (2014): *Cytokiny a adipocytokiny u chirurgických pacientů: role tukové tkáně*. Praha. Disertační práce.
51. **Ticháček, A. a kol.** (2007): *Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka*. Šumperk Agritec, 89 s., ISBN 978-80-903868-0-8.
52. **Toman, M. a kol.** (2000): *Vetrinární imunologie*. Grada Publishing. 413 s.
53. **Toman, M. a kol.** (2009): *Veterinární imunologie. 2., dopl. a aktualiz. vydání*. Praha: Grada, 2009. 392 s. ISBN: 978-80-247-2464-5.
54. **Trimboli, F., Morittu, V. M., Di Loria, A., Minuti, A., Spina, A. A., Piccioli-Cappelli, F., Lopreiato, V.** (2019): *Effect of Pegbovigrastim on Hematological Profile of Simmental Dairy Cows during the Transition Period*. *Animals*, 9 (10), 841.
55. **Uldrich, M.** (2014): *Úvod do statistiky v biomedicině*. StatSoft CR Dell | Dell Software Group (DSG). [online]. [cit.2020-06-16]. Dostupné z: <http://www.statsoft.cz/podpora/elektronicka-ucebnice-statistiky/>.
56. **Van Saun, R. J., & Sniffen, C. J.** (2014): *Transition Cow Nutrition and Feeding Management for Disease Prevention*. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30(3), 689–719.
57. **Venjakob, P. L., Borchardt, S., & Heuwieser, W.** (2017): *Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds*. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 9258–9266.
58. **Vlček, M.** (2010): *Okolopородní preventivní program*. s. 21–22. In: Illek, J. a Šterc, J. Císařský řez a komplikace při porodu u skotu. Česká buiatrická společnost, 2010. ISBN: 978-80-86542-24-6.
59. **Vlková, H.** (2009): *Agropodnik Košetice a. s.* [online] [cit. 2020-06-11]. Dostupné z: http://www.agrokosetice.cz/vismo/dokumenty2.asp?id_org=600174&id=1017&p1=52.

60. **Zajíc, J., Radovan, D., Čech, S.** (2010): *Komplikace při provádění císařského řezu a komplikace po císařském řezu.* s. 14–18. In: Illek, J. a Šterc, J. Císařský řez a komplikace při porodu u skotu. Česká buiatrická společnost. ISBN: 978-80-86542-24-6.
61. **Zelinková, G.** (2008): *Mastitidy a problematika počtu somatických buněk – jejich řešení na úrovni stáda.* Veterinářství, 2008. 59, 58, 234–243.
62. **Živná, H., Živný, P.** (2018): *Cytokiny.* Datový standard MZ ČR [online]. [cit.2020-03-08]. Dostupné z: http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/cd_ds3/hypertext/AJESQ.htm.

8. Seznam obrázků

Obrázek 1 – Diferenciace různých druhů leukocytů z kmenové buňky (Hořejší a kol., 2017)	12
Obrázek 2 – Morfologie lymfocytů (Toman a kol., 2009).....	14
Obrázek 3 – Schématické znázornění autokrinního, parakrinního a endokrinního působení cytokinů (Hořejší a kol., 2017).....	16
Obrázek 4 – Schéma uvolňování lůžka u přežvýkavců (Kudláč a kol., 1977).....	25
Obrázek 5 – Zadržení lůžka u krávy (Hofírek a kol., 2009).	26
Obrázek 6 – Zrekonstruovaná stáj na farmě v Chyšné (zdroj: https://www.naschov.cz/mleko-hlavni-komoditou/)	29
Obrázek 7 – Preparát Imrestor (Imrestor, 2016).....	31

9. Seznam tabulek

Tabulka 1 – Hlavní skupiny cytokinů (Ferenčík, 2005).	18
Tabulka 2 – Složení kompletní krmné dávky dojníc na farmě v Chyšné	28
Tabulka 3 – Hodnoty statistické významnosti rozdílů hematologických ukazatelů (dvouvýběrový t-test, Mann-Whitneyův U test (MW)	33
Tabulka 4 – Vliv preparátu Imrestoru na parametry červených krvinek a počty trombocytů.....	34
Tabulka 5 – Vliv preparátu Imrestoru na zastoupení leukocytů v krvi.....	38
Tabulka 6 – Hodnoty statistické významnosti rozdílů parametrů krevní plazmy (dvouvýběrový t-test, Mann-Whitneyův U test (MW)).....	43
Tabulka 7 – Vliv preparátu Imrestoru na biochemické ukazatele	44
Tabulka 8 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci minerálních látek v krevní plazmě	49
Tabulka 9 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt subklinické ketózy	51
Tabulka 10 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt metritidy	52
Tabulka 11 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt klinické mastitidy	52
Tabulka 12 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt pneumonie	52
Tabulka 13 – Vliv preparátu Imrestoru na výskyt zadržení lůžka.....	53
Tabulka 14 – Vliv preparátu Imrestor na ukazatele mléčné užitkovosti	54

10. Seznam grafů

Graf 1 – Vliv preparátu Imrestoru na počty erytrocytů v krvi	35
Graf 2 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci hemoglobinu v krvi	35
Graf 3 – Vliv preparátu Imrestoru na hodnotu hematokritu v krvi	36
Graf 4 – Vliv preparátu Imrestoru na počty trombocytů v krvi	37
Graf 5 – Vliv preparátu Imrestoru na počty leukocytů v krvi	39
Graf 6 – Vliv preparátu Imrestoru na počty leukocytů (2. odběr)	39
Graf 7 – Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů	40
Graf 8 - Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení neutrofilních granulocytů (2. odběr)	40
Graf 9 – Vliv preparátu Imrestoru na % zastoupení lymfocytů v krvi	41
Graf 10 – Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení lymfocytů (2. odběr)	42
Graf 11 – Vliv preparátu Imrestoru na procentuální zastoupení monocytů v krvi	42
Graf 12 – Vliv preparátu Imrestor na koncentraci CB v krevní plazmě	45
Graf 13 – Vliv preparátu Imrestoru na aktivitu ALP v krevní plazmě	46
Graf 14 – Vliv preparátu Imrestor na koncentraci cholesterolu v krevní plazmě	46
Graf 15 – Vliv preparátu Imrestoru na aktivitu GGT v krevní plazmě	47
Graf 16 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci močoviny v krevní plazmě	47
Graf 17 – Vliv preparátu Imrestoru na koncentraci triacylglycerolů v krevní plazmě	48
Graf 18 – Vliv preparátu Imrestoru na obsah fosforu v krevní plazmě	50
Graf 19 – Vliv preparátu Imrestoru na obsah vápníku v krevní plazmě	50
Graf 20 – Vliv preparátu Imrestoru na obsah hořčíku v krevní plazmě	51

11. Datové přílohy

Hodnoty hematologických a biochemických ukazatelů při 1. odběru u kontrolní skupiny dojnic

1. odběr	Lab. č. vzorku	Krev																		
		Kontrolní skupina																		
Evidenční číslo/zvřete		Hb	Hk	Ery	Leuko	TR	Ne	Ly	M	Gluk	CB	Chol	GMT	Moč.	ALP	Triglyc.	P	Ca	Mg	
referenční hodnoty		g/l	l/l	7/l	G/l				mmol/l	g/l	mmol/l	μmol/l	μmol/l	mmol/l	μkat/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	
	datum odběru	poznamená																		
1	09.04.2019	665284	137	0,45	8,5	10,5				4,1	82,0	3,2	0,60	8,65	5,50	0,8	2,1	3,1	1,23	
2	09.04.2019	581625	242	104	6,28	6,16	9,5	294	51,8	38,6	9,6									
3	09.04.2019	581655	237	125	0,34	6,5	7,1	364	42,8	48,1	9,1									
4	09.04.2019	581654	389	91	0,24	5,35	4,7	431	48,5	43,4	8,1									
5	09.04.2019	606767	124	109	0,28	5,99	10	525	60,9	30,6	8,5									
6	09.04.2019	134947	83	117	0,31	6,24	6,1	313	53,6	38,2	8,2									
7	15.04.2019	479086	279	116	0,3	6,03	7,8	383	49,4	39,7	10,9									
8	15.04.2019	492055	395	109	0,28	5,99	9,1	426	48,2	47,7	9,1									
9	15.04.2019	665325	54	109	0,29	6,3	8,4	308	48,5	40,7	10,8									
10	15.04.2019	665315	448	109	0,28	6,05	8,5	470	42,4	48,6	9,8									
11	15.04.2019	636559	289	106	0,28	5,87	18,9	136	32,6	54	13,5									
12	02.05.2019	581610	367	104	0,27	5,5	7,7	496	31,1	56,7	12,2									
13	02.05.2019	665320	406(ket.)	99	0,26	6,1	8,6	292	33,3	55,1	12,6									
14	02.05.2019	665319	196	120	0,32	6,82	5,3	147	26,5	63,8	9,7									
15	02.05.2019	665319	310	102	0,27	5,8	5,5	160	29,8	57,9	12,3									
16	14.05.2019	665263	480	111	0,3	6,87	10,1	129	67,7	25,7	6,7									
17	14.05.2019	606647	357	103	0,28	5,64	9,5	226	28,8	58,4	12,8									
18	14.05.2019	638503	466(ket.)	96	0,24	5,82	9,7	373	38	48,7	8,7									
19	14.05.2019	606885	13(ket.)	93	0,24	5,1	5,6	566	26,3	59,6	14,1									
20	14.05.2019	479113	198(ket.)	92	0,23	4,6	7,1	413	28,6	58,7	12,7									
21	28.05.2019	495575	58	111	0,3	6,65	7,2	268	39,8	46,6	13,6									
22	11.06.2019	545644	11	111	0,29	6,11	7,9	329	38,5	46,6	14,9									
23	11.06.2019	545485	322	111	0,29	6,71	3	312	63,20	31,80	5,00									
24	11.06.2019	521065	95	108	0,27	4,99	2,9	179	24,5	64,5	11									
25	18.06.2019	491931	23	108	0,28	6,62	8,1	189	30,7	56,9	12,4									
26	18.06.2019	665278	321	94	0,25	5,41	7,2	311	61,3	28	10,7									
27	18.06.2019	581601	139	101	0,27	5,34	7,3	45	37,9	47,7	14,4									
28	18.06.2019	491825	412	123	0,33	7,02	12	35	35,5	48,2	16,3									
29	18.06.2019	606840	95	105,15	0,28	5,91	7,79	334,13	41,35	47,60	10,91									
30	02.07.2019	545588	9,49	0,03	0,61	2,89	161,35	13,66	11,03	2,54										
x			125	0,34	7,02	18,9	695	67,7	64,5	16,3										
sk			87	0,23	4,6	2,9	35	23,2	25,7	5										
max			106	0,28	5,99	7,7	313	38,5	48,1	10,8										
min																				
median																				

Hodnoty hematologických a biochemických ukazatelů při 2. odběru u kontrolní skupiny dojců

2. odběr	Lab. č. vzorku	Evidenční čířvřete	Krev																	
			Hb	Hk	Ery	Leuko	TR	Ne	Ly	M	Glyk	CB	Chol.	GMT	Moč.	ALP	Triglyc.	P	Ca	Mg
			g/l	l/l	l/l	G/l					g/l	mmol/l	μkat/l	mmol/l	μkat/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l
		referenční hodnoty	137	0,27	5,0	5					2,2	64,0	2	0,10	2,9	0,55	0,17	1,8	2,25	0,74
		poznámka	448	0,32	6,65	9,2	435	50,7	41,7	8,7	4,1	82,0	3,2	0,60	8,65	5,50	0,8	2,1	3,1	1,23
1	24.04.2019		117	0,29	6,13	5,9	314	24,1	67,9	8		57,6	1,78	0,24	3,43	1,75	0,07	1,5	2,32	0,94
2	24.04.2019		108	0,28	5,68	6,4	335	67,5	21,4	11,1		43,3	0,93	0,01	3,43	0,97	0,09	1,4	1,75	0,71
3	24.04.2019		105	0,29	6,06	18,8	130	37,9	46,7	15,4		59,8	1,38	0,05	2,87	0,77	0,15	1,73	2,08	0,58
4	02.05.2019		79	0,23	4,93	7	731	31,7	54,9	13,4		65,9	2,14	0,63	4,81	1,45	0,1	1,53	1,86	0,67
5	02.05.2019		88	0,23	4,93	7	731	31,7	54,9	13,4										
6	02.05.2019		124 (ket.)	0,25	5,67	5,8	476	66,7	26,3	5										
7	02.05.2019		114	0,3	6,45	18,2	410	56,1	30,2	13,7		59,4	2,59	0,34	3,25	0,48	0,08	1,57	1,86	1,03
8	14.05.2019		100	0,26	4,95	9	320	32,4	54,2	13,4		69,2	3,31	0,35	3,26	0,31	0,15	1,82	1,97	0,98
9	28.05.2019		196	0,31	6,81	6,5	145	20,1	72,3	7,6		61,2	1,85	0,02	5,75	0,66	0,05	1,75	2,27	0,8
10	28.05.2019		310	0,26	5,75	5,2	158	20,7	70,9	8,4		73,1	1,84	0,25	5,66	0,51	0,03	1,92	2,28	0,9
11	28.05.2019		480	0,25	6,15	9,8	316	47,6	38,4	17		68,6	2,19	0,29	4,6	0,37	0,01	1,62	2,43	0,75
12	28.05.2019		357 (ket.)	0,23	4,85	4,5	510	16,1	75,9	8		55,6	1,6	0,24	3,96	0,59	0,04	1,85	2,14	0,86
13	27.06.2019		332	0,31	7,04	8,7	347	31,7	55,6	12,7		83,2	2,69	0,26	5,29	1,41	0,04	1,51	1,75	0,69
14	27.06.2019		58	0,27	6,05	5	331	19,7	69,9	10,7		68,4	1,91	0,13	3,76	0,41	0,1	1,16	1,77	0,64
15	27.06.2019		11	0,26	5,56	4	507	20,5	68,3	11,2		74	1,85	0,3	3,25	0,31	0,05	1,31	1,79	0,76
16	27.06.2019		139	0,27	5,24	8,2	256	31,6	57,1	14,3		64,5	1,5	0,16	2,83	1	0,03	1,03	0,98	1,06
17	02.07.2019		321	0,24	6,14	9,7	401	55	34,9	10,1		75,9	2	1,13	2,97	3	0,06	1,93	1,4	0,7
18	02.07.2019		412	0,28	5,83	6,5	418	44,4	46	9,6		68	2,49	0,3	3,75	1,22	0,09	1,3	1,86	0,82
19	02.07.2019		139 (ket.)	0,24	4,86	4	54	52,3	37,3	10,4		76,8	2,56	0,2	4,63	0,75	0,1	1,59	1,44	0,9
x			103,74	0,27	5,83	8,02	347,05	38,36	51,05	10,98		66,15	2,04	0,29	3,97	0,94	0,07	1,56	1,88	0,81
sx			9,24	0,03	0,64	4,03	155,07	16,24	16,46	2,98		9,24	0,55	0,25	0,94	0,67	0,04	0,25	0,36	0,14
max			121	0,32	7,04	18,8	731	68,7	75,9	17		83,2	3,31	1,13	5,75	3	0,15	1,93	2,43	1,06
min			88	0,23	4,85	4	54	16,1	21,4	5		43,3	0,93	0,01	2,83	0,31	0,01	1,03	0,98	0,58
median			103	0,27	5,83	6,5	335	32,4	54,2	10,7		68	1,91	0,25	3,75	0,75	0,07	1,57	1,86	0,8

Hodnoty hematologických a biochemických ukazatelů při 1. odběru u pokusné skupiny dojníc

Lab. č. vzorku	Evidenční číslo	Krev																	
		Hb	HK	Ery	Leuko	TR	Ne	Ly	M	Glyk	CB	Chol.	GMT	Moč.	ALP	Triglyc.	P	Ca	Mg
		g/l	l/l	T/l	G/l				mmol/l	g/l	mmol/l	μkat/l	mmol/l	μkat/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l
	č. zvířete	91	0,27	5,0	5				2,2	64,0	2	0,10	2,9	0,55	0,17	1,8	2,25	0,74	
	poznámka	137	0,45	8,5	10,5				4,1	82,0	3,2	0,60	8,65	5,50	0,8	2,1	3,1	1,23	
	aturní hod.									67,9	2,34	0,1	4,14	0,66	0,25	1,61	2,35	0,62	
1	15.04.2019	581610	367	6,13	7,5	312	46,9	44,1	9	62	2,95	0,2	4,29	1,28	0,25	1,65	2,31	0,53	
2	15.04.2019	636559	289	5,83	5,5	272	50	40,5	9,5	55,1	2,2	0,19	5,15	1,27	0,23	1,86	2,85	0,59	
3	15.04.2019	665324	315	7,05	11,7	250	44,6	46,4	9	64,7	2,43	0,24	4,06	0,64	0,32	1,54	2,37	0,49	
4	15.04.2019	665771	356	6,81	9,3	374	55,3	36,6	8,1	54,7	2,4	0,24	3,68	2,89	0,13	1,21	2,42	0,74	
5	24.04.2019	665284	241	0,21	4,74	52,1	199	17,2	10,8	25,7	0,5	0,17	2,81	0,32	0,11	1,01	1,15	0,5	
6	24.04.2019	581655	389	0,21	4,75	10,4	432	31,6	13,9	63,3	1,81	0,18	4,88	2,69	0,18	1,35	2,44	0,58	
7	24.04.2019	561625	237	0,29	5,51	17,3	303	40,2	15,1	58,9	1,85	0,28	2,09	1,06	0,06	1,31	1,68	1,12	
8	14.05.2019	636515	208	0,26	5,64	7,5	226	65,5	29,9	4,5	55,8	1,9	0,02	3,57	1,02	0,05	1,72	2,22	0,8
9	14.05.2019	665297	450	0,28	6,24	8,3	329	44	17,1	53	2,16	0,19	1,96	0,38	0,07	1,43	1,68	1,12	
10	14.05.2019	665412	250	0,3	6,57	6,2	264	64,7	29,2	6,1	62,3	1,91	2,87	1,01	0,09	1,51	1,84	1,71	
11	14.05.2019	561667	463	0,27	5,62	7,3	289	38,6	48,1	13,3	72,5	1,81	4,71	3,14	0,29	1,9	2,28	0,8	
12	11.06.2019	665373	128	0,27	5,51	8,5	366	37,8	50,2	12	77,3	2,47	3,42	1,41	0,33	1,85	2,53	0,85	
13	11.06.2019	636595	233	0,33	6,91	9,3	90	41,7	43,4	17,9	84,3	2,12	2,97	1,01	0,24	1,78	2,19	0,95	
14	11.06.2019	491925	399	0,22	4,44	5,9	395	35,6	53,3	11,1	72,6	2,11	3,71	0,39	0,28	1,83	2,44	0,81	
15	11.06.2019	606600	151	0,33	6,91	9,2	296	39,5	48	12,5	62,3	2,52	2,68	0,86	0,13	1,36	1,78	0,53	
16	18.06.2019	545550	331	0,3	6,06	8,1	231	38	48,7	13,3	51,1	1,57	5,23	0,93	0,26	1,63	1,78	0,61	
17	18.06.2019	665387	295	0,27	6,46	7,8	89	40,6	45	14,9	57,6	2,09	3,57	0,4	0,18	1,56	1,76	0,67	
18	18.06.2019	606631	344	0,28	5,78	7,6	266	37,8	48,8	13,4									
	x	104,83	0,28	5,94	11,08	276,83	47,07	41,53	11,75	61,17	2,06	0,21	3,66	1,19	0,19	1,56	2,12	0,78	
	sx	12,16	0,03	0,76	10,27	88,99	10,68	9,01	3,49	12,18	0,50	0,08	0,95	0,84	0,09	0,24	0,41	0,29	
	max	122	0,33	7,05	52,1	432	72	53,3	17,9	84,3	2,95	0,39	5,23	3,14	0,33	1,9	2,85	1,71	
	min	80	0,21	4,44	5,5	89	35,6	17,2	4,5	25,7	0,5	0,02	1,96	0,32	0,05	1,01	1,15	0,49	
	median	106	0,28	5,945	8,2	280,5	42,85	44,4	12,25	62,15	2,115	0,195	3,625	1,01	0,205	1,585	2,25	0,705	

Hodnoty hematologických a biochemických ukazatelů při 2. odběru u pokusné skupiny dojníc

2. odběr	imrestor	Evidenční číslo	Krev																				
			Hb	Hk	Ery	Leuko	TR	Ne	Ly	Mo	Glyk	CB	Chol.	GMT	Moč.	ALP	Triglyc.	P	Ca	Mg			
Lab. č. vzorku		č.zvířete	g/l	l/l	7/l	G/l									μkat/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l			
		datum odběru	91	0,27	5,0	5									64,0	2	0,10	2,9	0,55	0,17	1,8	2,25	0,74
		poznámka	137	0,45	8,5	10,5									82,0	3,2	0,60	8,65	5,50	0,8	2,1	3,1	1,23
1	24.04.2019	606324	315	0,27	6,24	21,2	256	72,6	20,9	6,9					68,9	1,43	0,25	4,16	1,22	0,13	1,62	2,18	0,5
2	24.04.2019	606771	356	0,31	6,74	55,4	335	67,5	21,4	11,1					58,9	1,98	0,19	3,57	2,65	0,16	1,53	2,21	0,69
3	28.05.2019	561667	463	0,28	6,01	15	413	61,4	26,5	12,1					72,5	2,06	0,26	4,65	0,97	0,04	1,56	1,92	0,9
4	28.05.2019	605412	250	0,28	6,14	9,3	300	44,8	43,8	11,4					55,8	1,9	0,05	3,57	1,02	0,05	1,72	2,22	0,8
5	28.05.2019	665297	450	0,26	5,87	25,8	118	54,1	29,6	16,3					65,4	3,79	0,22	4,14	0,66	0,03	1,89	2,34	0,81
6	28.05.2019	636515	208	0,26	5,76	25,1	122	49,7	35,3	15					67,7	2,39	0,65	4,72	1,3	0,06	1,91	2,25	0,8
7	18.06.2019	606600	151 (otel.)	0,29	5,56	23	46	46,4	38,5	14,8					42,9	1,22	0,14	2,75	0,63	0,07	1,89	1,62	0,65
8	18.06.2019	636595	233	0,33	7,02	12	35	35,5	48,2	16,3					46,3	1,5	0,12	2,49	0,93	0,11	1,37	1,3	0,63
9	18.06.2019	665373	128	0,29	5,96	16,9	221	46,7	38,8	14,8					55,5	1,63	0,31	3,54	1,67	0,1	1,46	1,62	0,94
10	27.06.2019	545550	331 (ket.)	0,28	5,69	10	279	71	42,1	16,9					69,2	1,64	0,23	3,87	1,95	0,08	1,27	1,69	0,69
11	27.06.2019	665387	295	0,13	3	38,6	106	52,3	33,2	14,5					39,2	0,83	0,07	4,61	5,1	0,02	1,46	1,4	0,4
12	27.06.2019	491925	399												80,3	20,6	0,17	3,29	1,21	0,08	1,55	1,86	0,88
13	02.07.2019	606631	344	0,27	5,56	40,9	391	64	22,7	13,3					72,9	2,38	0,25	5,7	1,71	0,05	1,24	2,01	0,75
		x	103,00	0,27	5,80	24,43	218,50	55,50	33,42	13,62					60,81	3,33	0,22	3,93	1,62	0,08	1,57	1,89	0,73
		sk	17,53	0,05	0,95	13,49	125,29	11,20	8,84	2,73					11,98	5,03	0,14	0,84	1,14	0,04	0,22	0,33	0,15
		max	123	0,33	7,02	55,4	413	72,6	48,2	16,9					80,3	20,6	0,65	5,7	5,1	0,16	1,91	2,34	0,94
		min	49	0,13	3	9,3	35	35,5	20,9	6,9					39,2	0,83	0,05	2,49	0,63	0,02	1,24	1,3	0,4
		median	106,5	0,28	5,915	22,1	238,5	53,2	34,25	14,65					63,9	1,9	0,22	3,87	1,22	0,07	1,55	1,92	0,75