



VÝSKYT REZIDUÍ INHIBIČNÍCH LÁTEK V SYROVÉM KRAVSKÉM MLÉČE V ČESKÉ REPUBLICE – MOŽNÁ SROVNÁNÍ

Hana Nejeschlebová¹, Oto Hanuš¹, Eva Samková², Lenka Vorlová³, Markéta Borková¹, Josef Kučera⁴, David Lipovský⁴, Martina Tišnovská⁴, Lucie Hasoňová², Karolína Hálová², Radoslava Jedelská¹

¹ Výzkumný ústav mlékařenský s.r.o., Praha

² Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

³ Veterinární univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

⁴ Českomoravská společnost chovatelů a.s., Hradištko

Occurrence of residues of inhibitory substances in raw cow's milk in the Czech Republic – possible comparisons

Abstrakt

Rezidua inhibičních látek (RIL) v syrovém mléce (zejména antibiotika) poškozují fermentační zpracovatelské technologie v mlékařství a jsou potenciálním rizikem i pro zdraví konzumentů. Výskyt RIL v mléce je nežádoucí. Aby mohl být redukován, je nezbytné vysvětlit zdroje variability výskytu RIL, pro možnost zavádět preventivní opatření v mlékařské praxi. Cílem práce bylo přispět dílčím způsobem k vysvětlení této variability výskytu RIL. Ve dvou stupních (primární a sekundární) byla statisticky zpracována databáze výskytu RIL (330 000 původních bazénových vzorků mléka a 120 měsíčních průměrů; RIL +/-, frekvence výskytu + v %) z oficiální kontroly kvality mléka v České republice (ČR; 2/3 objemu) za posledních 10 let. Spolu s faktory jako je sezóna a rok byly k hodnotám RIL logicky vztaženy i hygienické mléčné ukazatele jako celkový počet mikroorganismů (CPM; 10^3 KTJ \times ml⁻¹) a počet somatických buněk (PSB; 10^3 \times ml⁻¹). Výsledky této retrospektivní analýzy naznačily významný pokles

frekvence výskytu RIL v ČR z 0,16 % (2013) na hodnoty 0,06 (2017), 0,05, 0,06 a 0,11 % (2020). Těsnot vztahu časového vývoje poklesu RIL byla -0,76 ($P < 0,001$). Tlak na zlepšení technologie péče o dojnice a hygienu dojení v čase vysvětloval 57,8 % variací ve snížení výskytu RIL. Bylo zmíněno předchozí mezinárodní srovnání výsledků RIL, kde rostoucí velikost stáda dojníc zvyšovala pravděpodobnost výskytu RIL ($P < 0,05$; indexy korelace od 0,49 do 0,51). To vysvětlovalo 24,3 až 26,6 % variability výskytu RIL. V časové periodě 2011 až 2020 byly v trendech všechny mléčné ukazatele (RIL, CPM a PSB) zřetelně zlepšeny. CPM byl redukován na 23,6 10^3 KTJ \times ml⁻¹ (2020) a PSB na 221 a 230 10^3 \times ml⁻¹ (2019 a 2020). Opakovaná sezónnost ukazatelů v kalendářních měsících po rocích byla zřetelná pro CPM, zejména pro PSB (obojí lze vysvětlovat sezónními teplotními fluktuacemi prostředí – technologické a zdravotní efekty) a méně pro RIL (užší vazba na chyby v technologii chovu krav a dojení). Lineární regrese vztahu log CPM \times RIL podle měsíčních průměrů za 10 roků ukázala korelační koeficient (r ; $P > 0,05$) 0,18 s mírným zvyšováním RIL s rostoucím CPM. U vztahu PSB \times RIL byl r 0,23 ($P \leq 0,05$) s možným růstem RIL s rostoucím PSB. Jen 5,3 % variací v hodnotách RIL je vysvětlitelných variabilitou PSB. Vztah log CPM \times log PSB měl r 0,47 ($P \leq 0,001$), kde až 22,1 % variací ve zdravotním stavu mléčné žlázy krav může být vysvětleno kolísáním v hygieně chovu krav a dojení mléka. Důsledné provádění technologických bodů antimastitidního programu ve stádech dojníc, zejména v hygieně jejich dojení, je významnou položkou zlepšování situace ve výskytu RIL.

Klíčová slova: syrové mléko, rezidua inhibičních látek, antibiotika, celkový počet mikroorganismů, počet somatických buněk, faktory variability, vztahy

Abstract

Residues of inhibitory substances (RIL) in raw milk (especially antibiotics) damage fermentation processing technologies in dairy and are also a potential risk to the health of consumers. RIL presence in milk is undesirable. In order to be reduced, it is necessary to explain the sources of variability in the occurrence of RIL, which will

allow to introduce preventive measures in dairy practice. The aim of the work was to contribute in part to the explanation of this variability in the RIL occurrence. A database of the RIL occurrence (330,000 original bulk tank milk samples and 120 monthly averages; RIL +/-, frequency of + occurrence in %) from the official milk quality control in the Czech Republic (CR; 2/3 of the volume) for the last 10 years was statistically processed in two stages (primary and secondary). Along with factors such as season and year, hygienic milk indicators such as the total count of microorganisms (CPM; 10^3 KTJ \times ml $^{-1}$) and the somatic cell count (PSB; 10^3 \times ml $^{-1}$) were logically related to the RIL values. The results of this retrospective analysis indicated a significant decrease in the frequency of RIL occurrence in the CR from 0.16% (2013) to 0.06 (2017), 0.05, 0.06 and 0.11% (2020). The tightness of the time course relationship of the RIL decrease was -0.76 (the correlation coefficient, $P < 0.001$). The pressure to improve dairy care technology and milking hygiene over time explained 57.8% of the variations in reducing the RIL incidence. A previous international comparison of RIL results was mentioned, where the increasing size of the dairy herd increased the probability of RIL occurrence ($P < 0.05$; correlation indexes from 0.49 to 0.51). This explained 24.3 to 26.6% of the variability in the RIL incidence. In the time period 2011 to 2020, all milk indicators (RIL, CPM and PSB) were clearly improved in the trends. CPM was reduced to 23.6 10^3 KTJ \times ml $^{-1}$ (2020) and PSB to 221 and 230 10^3 \times ml $^{-1}$ (2019 and 2020). Repeated seasonality of indicators in calendar months by years was clear for CPM, especially for PSB (both can be explained by seasonal temperature fluctuations of the environment – technological and health effects) and less for RIL (closer link to errors in cow rearing and milking technology). Linear regression of the log CPM \times RIL relationship according to monthly averages over 10 years showed a correlation coefficient (r ; $P > 0.05$) of 0.18 with a slight increase in RIL with CPM increasing. For the PSB \times RIL relationship, r was 0.23 ($P \leq 0.05$) with a possible increase in RIL with PSB increasing. Only 5.3% of the variations in RIL values can be explained by the variability of the PSB. The relationship log CPM \times log PSB had a r 0.47 ($P \leq 0.001$), where up to 22.1% of variations in the health status of the mammary gland of cows can be explained by fluctuations in the hygiene of cow rearing and milking. Consistent implementation of the technological points of the antimastitis program in dairy herds, especially in the hygiene of their milking, is an important item in improving the situation in the RIL occurrence.

Keywords: raw milk, residues of inhibitory substances, antibiotics, total count of microorganisms, somatic cell count, variability factors, relationships

Úvod

Antibiotická léčiva jsou od 2. světové války široce používána ve veterinární praxi při léčbě hospodářských

zvířat. Vzrůstající spotřeba antibiotik a mnohdy nesprávné používání však vedly ke vzniku a následnému prudkému nárůstu rezistence patogenních bakterií k antimikrobiálním přípravkům (HUGHES a KARLÉN, 2014; BARRIERE, 2015). V současnosti antibiotická rezistence představuje významné zdravotní riziko jak pro zvířecí, tak lidskou populaci (BEYENE, 2016) a řadí se k závažným problémům humánní i veterinární medicíny.

Současný odhad roční spotřeby antibiotik v chovech hospodářských zvířat činí celosvětově 63,151 \pm 1,560 tun, přičemž se předpokládá, že v rozvojových a nově industrializovaných zemích bude tato spotřeba dále výrazně narůstat (VAN BOECKEL et al., 2015). V rozvinutých zemích naopak dochází k postupnému zlepšování situace. Významným krokem ve snaze redukovat spotřebu antibiotik na úrovni Evropské unie byl zákaz používání antibiotických stimulatorů růstu od roku 2006 (nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003). Tlak na snižování spotřeby antibiotik vyvolává potřebu výzkumu a vývoje alternativních prostředků léčby bakteriálních infekcí. Jedná se např. o imunomodulátory, probiotika, prebiotika, fágovou terapii či rostlinné extrakty (ALLEN et al., 2013; CHENG et al., 2014). Ačkoliv se řada těchto alternativ v současnosti s větší či menší úspěšností využívá, nelze předpokládat, že by v blízké době mohly zcela nahradit klasická antibiotika. Pro zajištění efektivní léčby infekcí lidí a zvířat je proto nezbytné klást důraz na rozumnou a cílenou aplikaci antibiotik, při čemž mohou být nápomocna včasná klinická vyšetření, posuzování parametrů welfare zvířat či vyhodnocování informací získaných z laboratorních testů (CHENG et al., 2014).

Antibiotika podávaná zvířatům se při nedodržení chovatelských a veterinárních opatření mohou snadno stát zdrojem kontaminace živočišných produktů. Mléko je antibiotickými rezidui kontaminováno nejčastěji v důsledku prevence a tlumení zánětů mléčné žlázy (FRANCOZ et al., 2016). Dalšími možnými kontaminanty s inhibičním účinkem jsou např. dezinfekční chemické prostředky používané při sanitaci dojícího zařízení, agrochemikálie či mykotoxiny (ŠALOMSKIENÉ et al., 2013).

Rezidua inhibičních látek (RIL) v mléce brzdí růst ušlechtilých mlékařských kultur při jeho zpracování na mléčné výrobky. Tím poškozují jejich kvalitu. Poněvadž kromě toho řada z nich může být riziková i pro lidské zdraví, je v rámci ochrany konzumentů jejich výskyt v mléce obecně nežádoucí.

Tuto situaci je proto nutno kontrolovat. Taková koncepce je v souladu s aktuálně vytyčovanými směry pro chov hospodářských zvířat k trvalému zlepšování jejich zdraví a welfare jako prioritě (BENNEWITZ et al., 2021). Platí to zejména dnes, kdy obecně roste spotřeba mléčných výrobků, a ve středoevropském regionu především v ČR (ve srovnání se zeměmi V4), kde je dlouhodobě nejvyšší (KUBICOVÁ et al., 2021).

Současná legislativa (nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004) ukládá provozovatelům potravinářských podniků zavést postupy, jimiž zajistí, že

syrové mléko nebude uvedeno na trh, pokud obsahuje rezidua antibiotik v množstvích, která překračují tzv. maximální reziduální limity (MRL) uvedené v nařízení Komise (EU) č. 37/2010.

Prvovýrobce a následně zpracovatel mléka tak zodpovídají za výskyt těchto látek v mléce. Každá dodávka mléka je při příjmu v mlékárně testována na přítomnost RIL za použití screeningových metod (enzymatické, receptorové, mikrobiologické) a případná pozitivita je následně konfirmována. Pozitivní výsledek pro dodavatele znamená nemalé sankce, což je často vede k tomu, aby prováděli testování na RIL ještě v samotných chovech. Ochranné lhůty stanovené pro veterinárně léčivé přípravky, jejichž dodržování je vyžadováno legislativou (nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004), jsou stanoveny pro zdravá zvířata a neberou tak v úvahu abnormální metabolismus některých zvířat, v jehož důsledku může dojít vylučování léčiva v nadlimitním množství i po uplynutí ochranné lhůty (BURMAŇCZUK et al., 2017). Příčinou výskytu RIL v mléce může být také nedostatečně proškolený personál či nedůsledné vyřazování mléka léčených dojníc z dodávky.

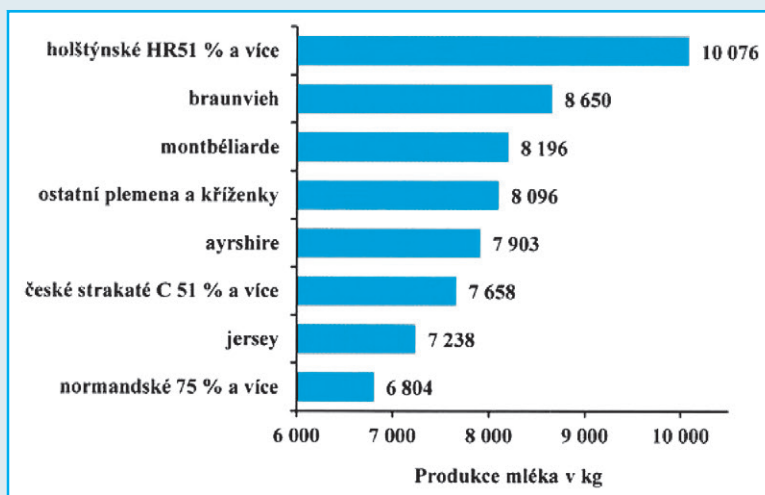
Riziko výskytu RIL lze odhadovat na základě výsledků běžně zjišťovaných parametrů kvality mléka. Stáda dojného skotu s vysokým počtem somatických buněk v mléce vykazují vyšší frekvenci výskytu RIL. Programy vedoucí k redukci subklinických mastitid mohou tak současně vést k redukci rizika výskytu RIL (RUEGG a TABONE, 2000).

Cílem práce bylo posoudit, na velké základní databázi bazénových vzorků mléka z kontroly jeho kvality za delší časové období v ČR, vztahy výskytu RIL k některým dalším mléčným, zejména hygienickým, ukazatelům a posoudit některé vybrané zdroje variability RIL pro získání poznatků k dalšímu směřování potenciálních postupů redukce RIL v syrovém mléce.

Materiál a metody

Bazénové vzorky mléka

Byly použity výsledky bazénových vzorků mléka z oficiální kontroly kvality syrového mléka v ČR (cca 2/3 objemu) prostřednictvím Českomoravské společnosti chovatelů a.s. (ČMSCH). Z jedné farmy dojníc byly zpravidla analyzovány dva vzorky měsíčně po dobu deseti let (2011 – 2020). Počet vzorků za měsíc (podle evidence RIL) se pohyboval průměrně kolem 2 750 (KOPUNECZ, 2020; BUCEK, 2021). Celá primární databáze tak zahrnovala minimálně 330 000 vzorků. Na farmách jsou chována plemena dojníc: Holštýn 58,266 %, České strakaté 34,364 %, ostatní plemena a křížanky 5,55 %, Montbéliarde 0,916 %, Braunvieh 0,481 %, Jersey 0,361 %, Normandské 75 % a více 0,054 %, Ayrshire 0,008 %,



Obr. 1 Dojivost za normovanou laktaci (v kg mléka) plemen dojníc v české kontrole mléčné užitkovosti (BUCEK et al., 2020)

(BUCEK et al., 2020). Podle výsledků kontroly mléčné užitkovosti v ČR průměrná dojivost krav za normovanou laktaci (305 dní) byla podle hodnot uvedených v grafu na obr. 1 (BUCEK et al., 2020). Vzorky byly dodávány do laboratoře chlazené (≤ 6 °C) a konzervované (CPM a RIL, Heeschenovo činidlo; PSB, tablety bronopol PSL Microtabs) v souladu s oficiálním postupem ošetření vzorků při kontrole kvality mléka v ČR.

Sledované mléčné ukazatele

Pro dané vyhodnocení byly sledovány především hygienické mléčné ukazatele: – celkový počet mezofilních mikroorganismů, CPM; – počet somatických buněk, PSB; – rezidua inhibičních látek, RIL. Právě výběr těchto dalších hygienických mléčných ukazatelů k analýze výskytu RIL v mléce se jeví jednak jako logický z podstaty věci a zkušenosti a také jako potenciálně efektivní z pohledu metody kvalifikovaného odhadu.

Tyto ukazatele byly stanoveny v akreditované mléčné laboratoři (ČSN EN ISO/IEC 17025) LRM Buštěhrad (ČMSCH) podle relevantních standardních operačních postupů. Věrohodnost výsledků byla pravidelně validována v regulérních testech výkonnosti a analytické způsobilosti podle příručky jakosti příslušné akreditované laboratoře.

Pro stanovení CPM bylo použito zařízení IBC (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA) s metodou průtočné cytometrie (FC) a s relevantními přepočtovými rovnicemi (HANUŠ et al., 2016) bakteriálních impulsů (IBC) na kolonie-formní jednotky (výsledky v $10^3 \text{KTJ} \times \text{ml}^{-1}$).

Pro stanovení PSB byla použita analytická zařízení Somacount 300 (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA) a CombiFoss FT+ (Foss, Hilleröd, Denmark) s metodou průtočné cytometrie (FC), kontrolovaná referenčními vzorky na bázi přímé mikroskopické metody stanovení PSB (výsledky v $10^3 \times \text{ml}^{-1}$).

Pro stanovení RIL byly použity relevantní, rutinní, validované a certifikované, mikrobiologické inhibiční testy

na bázi *Geobacillus stearothermophilus* (testovací mikroorganismus s vysokou citlivostí vůči antibiotikům, růst při 65 °C, s pH indikátorem), Eclipse 50 (ZEU-INMUNOTEC, Zaragoza, Spain) a Delvotest (DSM, Fleminglaan, Delft, The Netherlands) s inkubační dobou 2,5 až 3,5 hodiny (výsledky RIL % +).

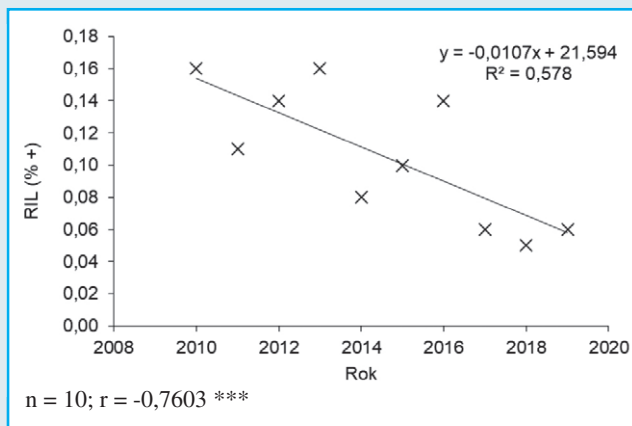
Statistické postupy

Z výsledků primární databáze byly vypočteny průměrné měsíční a roční hodnoty (KOPUNECZ, 2020; BUCEK, 2021). Tato sekundární databáze pak zahrnovala 120 hodnot pro každý sledovaný ukazatel. Data CPM a PSB byla logaritmičsky transformována (\log_{10} ; JANŮ et al., 2007), i když se jednalo o bazénové mléko, kde transformace obvykle není nezbytná, a průměrné měsíční hodnoty jsou blízké normální frekvenční distribuci.

V retrospektivní analýze byly sestaveny časové grafy dynamiky vývoje příslušných mléčných ukazatelů pro posouzení případných trendů. Byla provedena korelační analýza vzájemných vztahů mléčných ukazatelů metodou lineární regrese a posouzena významnost vztahů na konvenčních hladinách pravděpodobnosti intervalu spolehlivosti (ns $P > 0,05$; * (s) $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$). K vyhodnocení byl použit program MS Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA).

Výsledky a diskuse

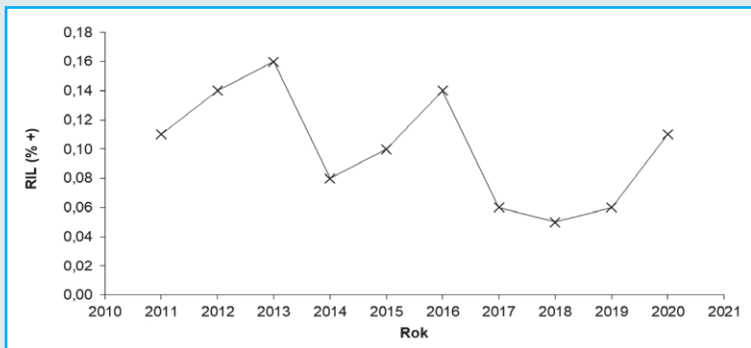
Data výskytu RIL v ČR ukazují výrazné zlepšení kvality mléka za období 1997 – 2016 (20 let), z hlediska zdravotní bezpečnosti spotřebitele (HANUŠ et al., 2019). Podle dalších dat, KVAPILÍK et al. (2015), KOPUNECZ (2020), BUCEK et al. (2020) a BUCEK (2021), lze nalézt (Obr. 2) stále ještě významné ($P < 0,001$) zlepšení kvality syrového mléka podle poklesu výskytu RIL za posledních deset let. Přitom, v roce 1991 (GENČUROVÁ et al., 1992) byla frekvence výskytu RIL 1,6 % v tehdy nadprůměrně kvalitativně (z pohledu kvality syrového mléka) konsolidované svozné oblasti mlékárny Zábřeh na Moravě. Dále MALÍKOVÁ et al. (1987) uvedli tamtéž pro roky 1986 a 1987, za využití plotnové metody detekce RIL, hodnoty 15,7 a 6,2 % (obojí cit. HANUŠ et al., 2003). Korelační vztah tohoto posledního vývoje (Obr. 2) v čase poskytl značně těsný korelační koeficient -0,76. Tlak na zlepšení technologie péče o dojnice a hygienu dojení v čase vysvětloval 57,8 % (Obr. 2) variací ve zlepšení (snížení) výskytu RIL. Tato skutečnost ukazuje na dobré technologické podmínky a kvalitní práci personálu v českém mlékařství. Nicméně, i za těchto okolností, je však aktuální možnost výskytu RIL (zejména antibiotik z veterinárních léčiv) potenciálním nebezpečím pro kvalitu mléčných výrobků a zdraví konzumentů



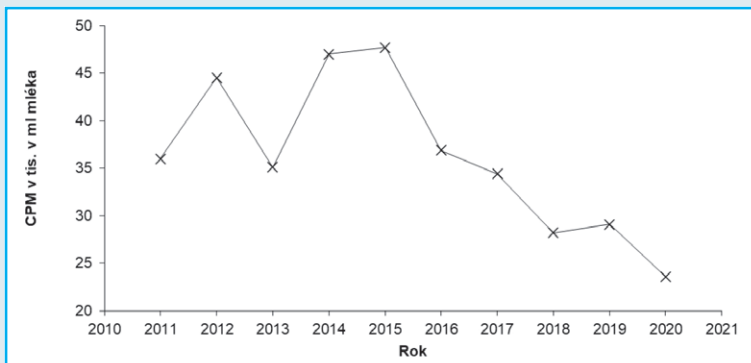
Obr. 2 Vztah mezi časovým vývojem a hodnotami frekvence výskytu RIL v ČR za předchozích deset let

(BARRIERE, 2015; BEYENE, 2016). Proto je nutné výskyt RIL v syrovém mléce trvale striktně kontrolovat, vysvětlovat zdroje variability a korigovat pozitivně opatření vedoucí k trvalému snižování rizika této zátěže mléčného potravinového řetězce.

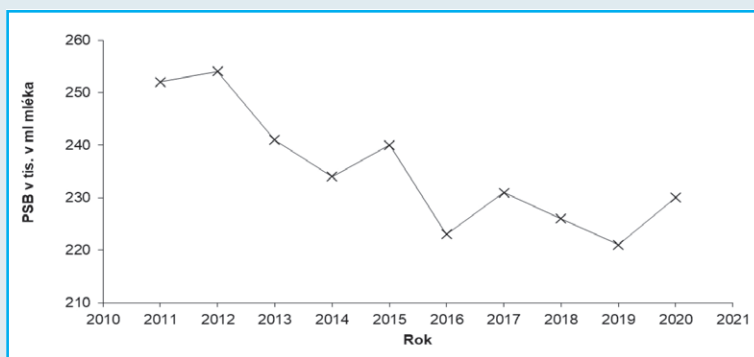
Výsledky provedených statistických vyhodnocení dynamiky hodnot RIL a korelačních analýz mezi sezónními vztahy RIL (data KOPUNECZ (2020) a BUCEK (2021)) a dalších hygienických ukazatelů jako PSB a CPM jsou uvedeny na Obr. 3 až 14. Tyto naznačily významný pokles frekvence výskytu RIL v ČR (Obr. 3) po rocích na hodnoty 0,06 (2017), 0,05, 0,06 a 0,11 % (2020). Stejně tak se zlepšily i další sledované hygienické a zdravotní, mléčné ukazatele CPM a PSB, což jsou relativně



Obr. 3 Trend vývoje výskytu reziduí inhibičních látek (RIL; %+) po rocích v kontrole kvality syrového mléka v ČR



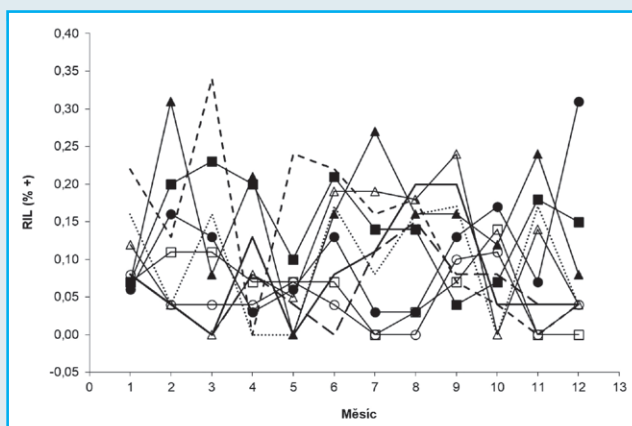
Obr. 4 Trend vývoje celkového počtu mikroorganismů (CPM; 10^3 KTJ \times ml⁻¹) po rocích v kontrole kvality syrového mléka v ČR



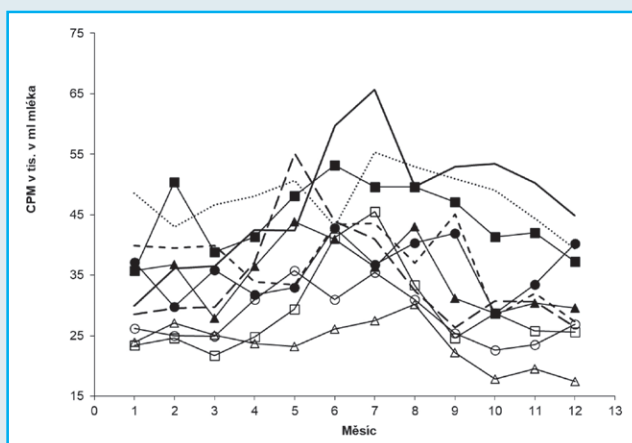
Obr. 5 Trend vývoje počtu somatických buněk (PSB; $10^3 \times \text{ml}^{-1}$) po rocích v kontrole kvality syrového mléka v ČR

velmi příznivá hodnocení pro kvalitu českého mlékařství. Průměrná hodnota CPM byla redukována (Obr. 4) po rocích na $23,6 \cdot 10^3 \text{ KTJ} \times \text{ml}^{-1}$ (2020) a PSB (Obr. 5) na 221 a $230 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (2019 a 2020).

Sezónnost sledovaných mléčných ukazatelů (RIL, CPM a PSB) v jednotlivých rocích (10 křivek) je zachycena na dalších třech grafech (Obr. 6, 7 a 8). Zatímco u RIL (Obr. 6) je sezónnost hůře postřehnutelná a do jisté míry nepravidelná, což souvisí s její vazbou více na



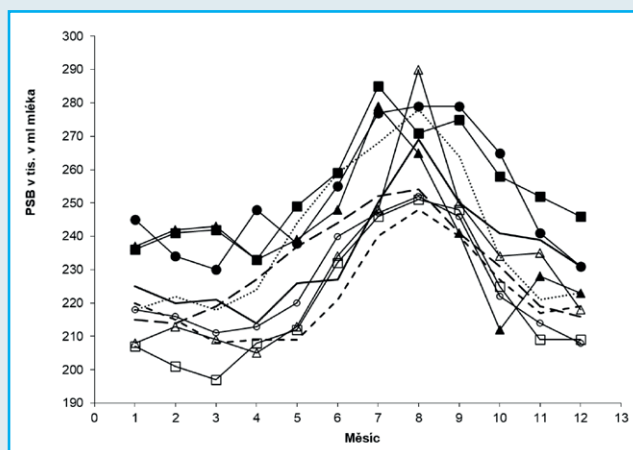
Obr. 6 Mírné opakování sezonního efektu u reziduí inhibičních látek (RIL; %+) v měsících podle roků (10 let) v kontrole kvality syrového mléka v ČR



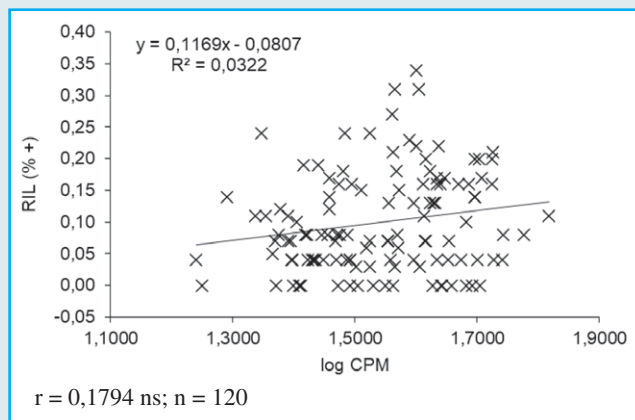
Obr. 7 Zřetelné opakování sezonního efektu u celkového počtu mikroorganismů (CPM; $10^3 \text{ KTJ} \times \text{ml}^{-1}$) v měsících podle roků (10 let) v kontrole kvality syrového mléka v ČR

opakovaný a někdy nepravidelný (technologické chyby) průběh režimu péče o zvířata a dojení, u ukazatelů CPM (Obr. 7) a zejména PSB (Obr. 8), které mohou být více vázány na teplotu prostředí (tepelný stres zvířat a obtížnější chladicí procesy při letních vyšších teplotách) je korespondující opakování sezónnosti velmi zřetelná.

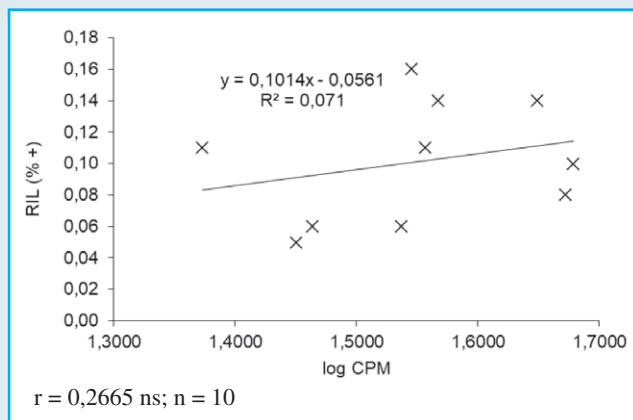
Z korelační analýzy jsou prezentovány výběrově pouze výsledky s vyšší statistickou výtěžností ve smyslu netransformovaných a transformovaných hodnot CPM a PSB. Lineární regrese vztahu $\log \text{ CPM} \times \text{RIL}$ podle měsíčních průměrů za 10 roků ukázala (Obr. 9) nevýznamnou pozitivní korelaci ($P > 0,05$) $0,18$ naznačující mírné zvyšování výskytu RIL s rostoucím CPM. Podobně u vztahu $\text{PSB} \times \text{RIL}$ (Obr. 10) byl nicméně nalezen významný, pozitivní korelační koeficient ($P \leq 0,05$) $0,23$ s odkazem na skutečnost možného růstu výskytu RIL s rostoucím PSB, tedy s vyšší frekvencí zejména subklinických mastitid a jejich případné léčby. Avšak, i takto, jen $5,3 \%$ variací ve vzrůstu výskytu RIL v syrovém mléce je vysvětlitelných prostřednictvím variability v PSB, tedy případnou, korespondující fluktuací zdravotního stavu dojníc. Vztah $\log \text{ CPM} \times \log \text{ PSB}$ (Obr. 11) poskytl významný ($P \leq 0,001$), kladný korelační koeficient $0,47$, kde až $22,1 \%$ dlouhodobých variací ve zdravotním stavu mléčné žlázy krav může být vysvětlováno kolísáním v hygieně chovu krav a dojení mléka, tedy, jinak řečeno, technologickými chybami mlékařského výrobního procesu. Uvedené souvislosti nepostrádají, jak patrně, vnitřní logiku kolem patogeneze a tlumení mastitid. Tedy, důsledně provádění známých technologických bodů antimastitidního programu ve stádech dojníc, zejména v hygieně jejich dojení, je významnou položkou zlepšování situace ve výskytu RIL a tedy v kontrole kvality a bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Ostatně, na významný vztah PSB stád dojníc k finančním ztrátám u tržeb za mléko podle



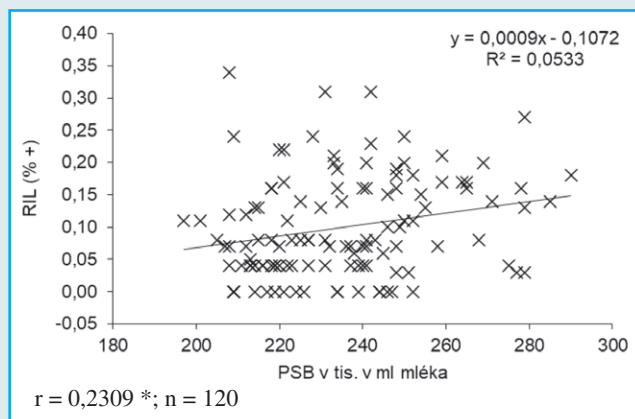
Obr. 8 Výrazné opakování sezonního efektu u počtu somatických buněk (PSB; $10^3 \times \text{ml}^{-1}$) v měsících podle roků (10 let) v kontrole kvality syrového mléka v ČR



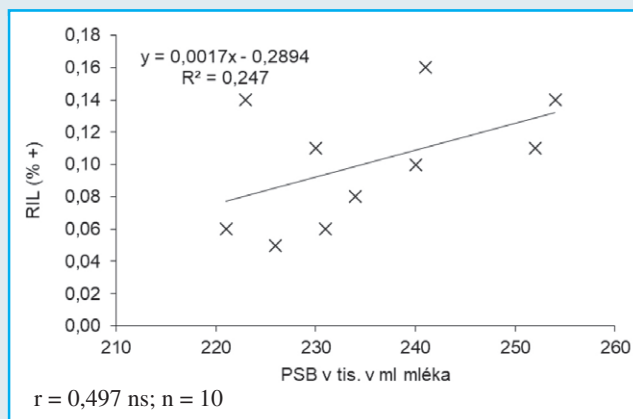
Obr. 9 Lineární regrese vztahu log CPM × RIL (%+) podle měsíčních průměrů v kontrole kvality syrového mléka v ČR



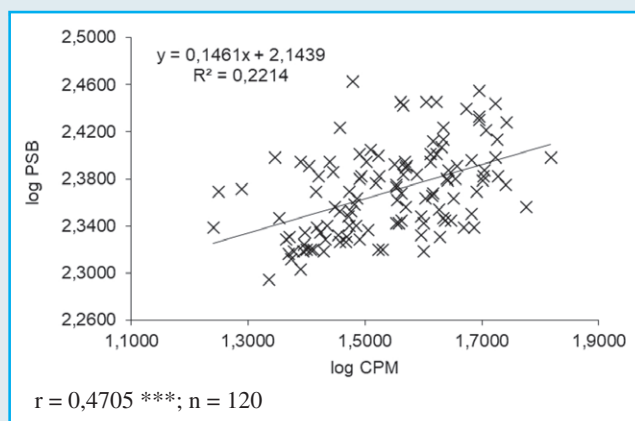
Obr. 12 Lineární regrese vztahu log CPM × RIL (%+) podle ročních průměrů v kontrole kvality syrového mléka v ČR



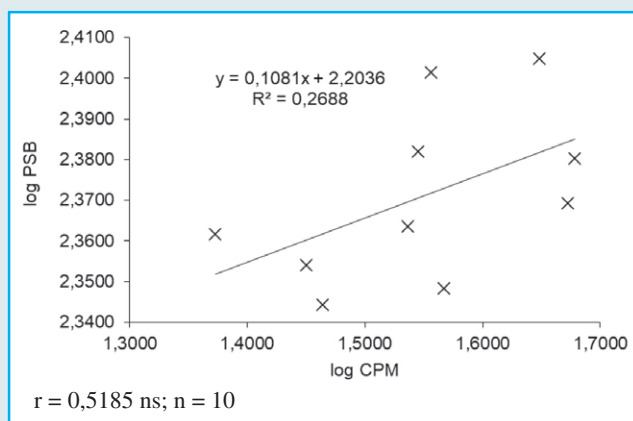
Obr. 10 Lineární regrese vztahu PSB ($10^3 \times ml^{-1}$) × RIL (%+) podle měsíčních průměrů v kontrole kvality syrového mléka v ČR



Obr. 13 Lineární regrese vztahu PSB ($10^3 \times ml^{-1}$) × RIL (%+) podle ročních průměrů v kontrole kvality syrového mléka v ČR



Obr. 11 Lineární regrese vztahu log CPM × log PSB podle měsíčních průměrů ($n = 120$) v kontrole kvality syrového mléka v ČR

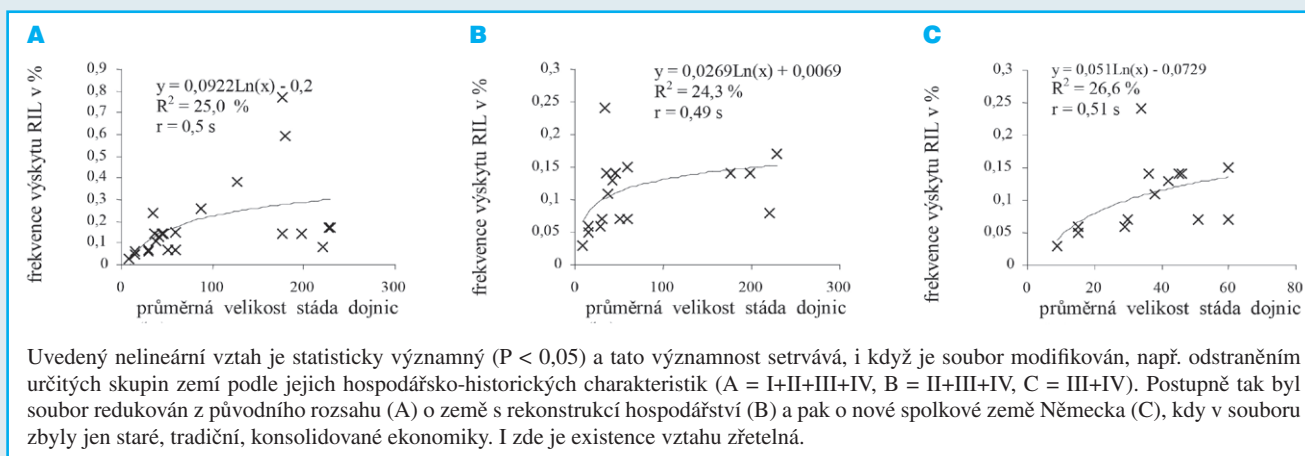


Obr. 14 Lineární regrese vztahu log CPM × log PSB podle ročních průměrů ($n = 10$) v kontrole kvality syrového mléka v ČR

RIL upozorňovala již zpráva Milchprüfingu Bayern e. V. (1999), jako na významný bod péče o snížení PSB ve smyslu podpory zdraví konzumentů mléčných potravin s ohledem na výskyt rizikových RIL v syrovém mléce. K obdobnému závěru dospěli taktéž RUEGG a TABONE (2000).

Vnitřní logika všech výše uvedených vztahů mezi sledovanými mléčnými ukazateli byla trendově potvrzena

i lineárními regresemi podle průměrů roků ($n = 10$), jakkoliv byly tyto dosažené, korespondující, kladné korelační koeficienty (Obr. 12, 13 a 14) všechny nevýznamné ($P > 0,05$; statisticky především z důvodu nižšího n). Místy však byly hodnotově výraznější (0,27; 0,5; 0,52), takže by mohly vysvětlovat až 7,1, 24,7 a 26,9 % variací závisle proměnných (y ; RIL, RIL a log PSB) podle variability nezávisle proměnných (x ; log CPM, PSB a log



Obr. 15 Vztahy mezi průměrnou velikostí stád dojnic a rezidui inhibičních látek (RIL) v dodavatelském mléce ke zpracování v mlékařsky vyspělejších zemích Evropy

CPM), což na biologicko-technologické závislosti není úplně málo.

Není snadné provést korektní srovnání výskytu RIL v ČR aktuálně k ostatním zemím, natož průběžně, neboť tato data nejsou často veřejně dostupná s výjimkou několika málo zemí (Německo, Dánsko a to v obtížněji dostupných zprávách zemských kontrolních spolků) a nejsou ani příliš ochotně uvolňována, zejména pokud tato nepatří k nejlepším. Takové srovnání lze provést

Tab. 1 RIL syrového kravského mléka dodávaného ke zpracování a průměrné velikosti stád dojnic (1999, 2000, 2001) v různých zemích Evropy

Stát, země, resp. region	RIL (% + náleží)	VS (kusů)	
1	Česká republika	0,38	127
2	Slovensko	0,77	176
3	Maďarsko	0,59	180
4	Litva	1,75	2,6
5	Sasko	0,08	221
6	Durynsko	0,17	229
7	Meklenbursko-Přední Pomořansko	0,14	198
8	Braniborsko	0,17	228
9	Sasko-Anhaltsko	0,14	176
10	Bavorsko	0,06	29
11	Bádensko-Württembersko	0,07	30
12	Šlesvicko-Holštýnsko	0,15	60
13	Hanover-Brémy	0,14	46
14	Weser-Ems	0,13	42
15	Westfálsko-Lipsko	0,11	38
16	Severní Porýní	0,07	51
17	Hesensko	0,14	36
18	Porýní-Falc, Sársko	0,14	45
19	Jižní Tyrolsko	0,06	15
20	Švýcarsko	0,05	15
21	Rakousko	0,03	8,9
22	Holandsko	0,07	60
23	Belgie	0,24	34
24	Kypr	0,26	87

I = země s transformujícími se ekonomikami 1 až 4; II = transformované ekonomiky nových spolkových zemí Německa 5 až 9; III = tradiční ekonomiky starých spolkových zemí Německa 10 až 18; IV = ostatní tradiční ekonomiky 19 až 24.

v podstatě stále jen na bázi dotazníku a dobrých kontaktů pro jeho návratnost. V době, kdy byla frekvence výskytu RIL v ČR 0,38 % (HANUŠ et al., 2003) bylo takové srovnání provedeno s výsledkem relací k ČR podle Tab. 1, včetně odhadu vztahu výskytu RIL k velikosti stáda (Obr. 15). Výsledky ČR v tomto porovnání nebyly špatné, a při současně stále se lepším trendu (Obr. 2), u nás i jinde, lze očekávat, že tomu tak bude i dnes. Je nutné poznamenat, že lepšící se trend výskytu RIL je dosahován i přes občas interferující zvyšování citlivosti rutinně používaných inhibičních testů do statistických výsledků historických vývoje, což je jistě příznivá zpráva z hlediska zajišťování bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Frekvence výskytu RIL může významně ($P < 0,05$; indexy korelace od 0,49 do 0,51) vzrůstat s velikostí stáda dojnic (Obr. 15), neboť se stává obtížnějším spolehlivě kontrolovat průběh technologie dojení. Velikost stáda dojnic tak může vysvětlovat 24,3 až 26,6 % variability ve výskytu RIL v syrovém mléce. U velkých stád jsou tím kladeny vyšší kvalifikační a organizační nároky na dojící personál, aby i tak zůstala zdravotně-bezpečnostní situace syrového mléka pod řádnou hygienickou kontrolou.

Uvedený nelineární vztah je statisticky významný ($P < 0,05$) a tato významnost setrvává, i když je soubor modifikován, např. odstraněním určitých skupin zemí podle jejich hospodářsko-historických charakteristik (A = I+II+III+IV, B = II+III+IV, C = III+IV). Postupně tak byl soubor redukován z původního rozsahu (A) o země s rekonstrukcí hospodářství (B) a pak o nové spolkové země Německa (C), kdy v souboru zbyly jen staré, tradiční, konsolidované ekonomiky. I zde je existence vztahu zřetelná.

Závěr

Aby bylo možné efektivně pokračovat v další praktické redukci výskytu reziduí inhibičních látek v mléce v ČR, v zájmu podpory kvality mléčných výrobků, ochrany zdraví konzumentů a tím ochrany životního prostředí,

je potřebné znát aktuální zdroje variability výskytu RIL v mléce.

Tato retrospektivní analýza výskytu RIL v syrovém mléce a jejich vztahů k základním hygienickým a zdravotním mléčným ukazatelům dojení krav, ukázala některé zajímavé vztahy podle měsíčních i ročních průměrů. Z výsledků je zřejmá potřeba prevence subklinických mastitid a podpora hygienických procesů ve stájích dojnic, která by pravděpodobně umožnila další redukci výskytu RIL v syrovém mléce snížením potřeby nezbytné antibiotické terapie krav.

Důležitá je další efektivní specifikace zdrojů variability výskytu RIL v mléce a rozšíření analýzy o spektrum potenciálních technologických faktorů chovu krav včetně způsobu dojení mléka

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektů MZe NAZV ZEMĚ QK21010326, MZe RO 1420 a GAJU-028/2019/Z.

Seznam literatury

- ALLEN, H. K., LEVINE, U. Y., LOOFT, T., BANDRICK, M., CASEY, T. A. (2013): Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends in Microbiology*, 21, (3), s. 114-119. DOI: 10.1016/j.tim.2012.11.001.
- BARRIERE, S. L. (2015): Clinical, economic and societal impact of antibiotic resistance. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 16, (2), s. 151-153.
- BAUMGARTNER, CH. und Expertengruppe für Qualitätssicherung und Qualitätsmanagement: Qualitäts (2000): *Leitfaden für den Betrieb von Routine – Untersuchungsgeräten in Rohmilch – Prüfungslaboratorien*, 1. Ausgabe, Oktober, s. 32.
- BENNEWITZ, J., GÖTZ, K.-U., TETENS, J., THALLER, G., THOLEN, E. (2021): Wege zu einer gesellschaftlich akzeptierten Tierzucht. *Züchtungskunde*, 93, (3), s. 190-200.
- BEYENE, T. (2016): Veterinary Drug Residues in Food-animal Products: Its Risk Factors and Potential Effects on Public Health. *Journal of Veterinary Science and Technology*, 7, (1). DOI: 10.4172/2157-7579.1000285.
- BOECKEL, T. P. VAN, BROWER, C., GILBERT, M., GRENFELL, B. T., LEVIN, S. A., ROBINSON, T. P., TEILLANT, A., LAXMINARAYAN, R. (2015): Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, (18), s. 5649-5654. DOI: 10.1073/pnas.1503141112
- BUCEK, P. (2021): Výsledky kvality nakupovaného mléka v roce 2020 – podle analýz bazénových vzorků. Hradištko, Českomoravská společnost chovatelů, 16 s. (on-line). Staženo 29. 7. 2021. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/getattachment/5dd44149-f808-42e0-9dbe-0b7e5ec6321c/Vysledky-kvality-nakupovaneho-mleka-v-roce-2020.pdf.aspx?lang=cs-CZ>.
- BUCEK, P., KUČERA, J., SYRŮČEK, J. et al. (2020): Ročenka – Chov skotu v České republice. Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2019. Praha, ČMSCH a. s., 69 s. (on-line). Staženo 28. 7. 2021. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/plemenarska-prace/ku-kontrola-uzitkovosti/chovatel-ske-rocenky/rocnky-chovu-skotu/>.
- BURMAŇCZUK, A., TOMASZ, G., GBYLIK-SIKORSKA, M., GAJDA, A., KOWALSKI, C. (2017): Withdrawal of Amoxicillin and Penicillin G Procaine from Milk after Intramammary Administration in Dairy Cows with Mastitis. *Journal of Veterinary Research*, 61, (1), s. 37-43. DOI: 10.1515/jvetres-2017-0005.
- CHENG, G., HAO, H., XIE, S., WANG, X., DAI, M., HUANG, L., YUAN, Z. (2014): Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry?. *Frontiers in microbiology*, 5, 217. s. 1-15. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00
- FRANCOZ, D., WELLEMANS, V., ROY, J., LACASSE, P., ORDONEZ-ITURRIGA, A., LABELLE, F., DUFOUR, S. (2016): Non-antibiotic approaches at drying-off for treating and preventing intramammary infections: A protocol for a systematic review and meta-analysis. *Animal Health Research Reviews*, 17, (2), s. 169-175. DOI:10.1017/S1466252316000177.
- HANUŠ, O., JEDELSKÁ, R., KOPUNECZ, P., KLÍMOVÁ, Z., TUČKOVÁ, R., ZLATNÍČEK, J., KLIMEŠ, M., KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2016): Re-kalkulace přepočtové rovnice bakteriálních elektronických impulsů na celkový počet mikroorganismů v kontrole kvality mléka v České republice. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 27, 156, (3), s. 1-7.
- HANUŠ, O., KLIMEŠ, M., KOZÁKOVÁ, A., MIHULA, P., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R. (2003): Chovatelské aspekty výskytu inhibičních látek v mléce. Sborník referátů. *Šlechtitelské a technologické aspekty chovu dojených krav a kvality mléka (zejména s ohledem na bod mrznutí)*. Rapotín, VÚCHS, s. 111-125. ISBN 80-903142-1-X.
- HANUŠ, O., ROUBAL, P., KLIMEŠOVÁ, M., JEDELSKÁ, R., HEGEDŮŠOVÁ, Z. (2019): Retrospektivní analýza trendů vývoje dojivosti a kvality syrového kravského mléka v České republice. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 30, 172, (1), s. 4-11.
- HUGHES, D., KARLÉN, A. (2014): Discovery and preclinical development of new antibiotics. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 119, (2), s. 162-169. DOI: 10.3109/03009734.2014.896437.
- JANŮ, L., HANUŠ, O., BAUMGARTNER, C., MACEK, A., JEDELSKÁ, R. (2007): The analysis of state, dynamics and properties of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. Analýza stavu, dynamiky a vlastností ukazatelů kvality syrového kravského mléka v České republice. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 10, (3), s. 74-85.
- KOPUNECZ, P. (2020): Výsledky kvality nakupovaného mléka v roce 2019 – podle analýz bazénových vzorků. Hradištko, Českomoravská společnost chovatelů, 16 s.
- KUBICOVÁ, L., PREDANÓCYOVÁ, K., ŠEDÍK, P., SMUTKA, L., KÁDEKOVÁ, Z., KOŠIČIAŘOVÁ, I. (2021): Consumption trends of milk and dairy products in Slovakia and its comparison with other V4 countries. *Innovative Marketing*, 17, (3), s. 56-73. doi:10.21511/im.17(3).2021.05
- KVAPILÍK, J., RŮŽIČKA, Z., BUCEK, P. et al. (2015): Chov skotu v České republice. Ročenka 2014. Praha, Českomoravská společnost chovatelů, 81 s. (on-line). Staženo 26. 5. 2021. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/plemenarska-prace/ku-kontrola-uzitkovosti/chovatel-ske-rocenky/rocnky-chovu-skotu/>.
- MILCHPRÜFRING BAYERN E. V. (1999): Tätigkeitsbericht.
- NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1831/2003 ze dne 22. září 2003 o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat
- NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, ve znění pozdějších předpisů.
- NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 37/2010 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu, ve znění pozdějších předpisů.
- RUEGG, P. L., TABONE, T. J. (2000): The relationship between antibiotic residue violations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 83, (12), s. 2805-2809. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75178-2.
- ŠALOMSKIENĚ J., MAČIONIENĚ I., ŽVIRDAUSKIENĚ R., JONKUVIENĚ D. (2013): Impact of the residues of detergents and disinfectants used in dairy farms on the results of inhibitor tests for raw milk. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4, s. 266-272. DOI: 10.4236/abb.2013.42A036.

Korespondující autor:

prof. Ing. Oto Hanuš, PhD.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

Přijato do tisku: 11. 11. 2021

Lektorováno: 27. 1. 2022