

VALIDAČNÍ HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ ALGORITMU SELEKCE DOJNIC K ANTIBIOTICKÉMU ZASUŠENÍ LAKTACE Z DYNAMIKY DAT KONTROLY MLÉČNÉ UŽITKOVOSTI

Oto Hanuš¹, Lucie Kejřová-Ryřová², Hana Neješlebová¹,
Josef Kučera³, Monika Rychlířková⁴, David Lipovský³,
Martina Tišřnovská³, Radoslava Jedelská¹

¹ Výzkumný úřtav mlékářenský s.r.o., Praha

² Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů

³ Českomoravská společnost chovatelů a. s., Hradištko

⁴ MVDř. Jiří Mašek s.r.o., Zdravé krávy, Měříř

**Validation evaluation of the results
of the algorithm for selecting dairy cows for
antibiotic lactation drying from the dynamics
of milk recording data**

Abstrakt

Subklinické mastitidy jsou stále jedním z hlavních zdrojů zřtát na produkci a kvalitě mléka a také důvodů použití antibiotik (ATB) k léčbě dojnic. Nadužití ATB v mlékařství je celosvětově jedním z důvodů pro vzrůst rizika tvorby rezistence bakteriálních patogenů vůči těmto ATB. Toto, na principu zpětné vazby, ohrožuje účinnost léčby infekčních nemocí u lidí i zvířat. Narůstá proto význam snížení spotřeby ATB obecně. V mlékařství k tomu může přispět omezení plošného (100 %) preventivně-léčebného ošetřeni krav ATB při ukončení jejich laktace. Práce statisticky validuje výsledky algoritmu, který vybírá dojnice k neantibiotickému zasušeni laktace podle dynamiky počtu somatických buněk (PSB, resp. lineárního skóre PSB) během laktace. Postup je ověřován na ročních výsledcích reálného komerčního stáda dojnic (plemeno Holštýř) v kontrole mléčné užitkovosti (KU). Z hlediska celkového hodnocení frekvencí: - počet dojnic (PD) na 1. aktaci s počtem záznamů v KU 5 a více a majících v celkovém hodnocení označení neATB a ATB byl 41 a 143 (5,6 a 19,5 %; 735 dojnic = 100 %); - PD na 2. a vyšší laktaci s počtem záznamů v KU 5 a více a majících v celkovém hodnocení označení neATB a ATB byl 173 a 378 (23,5 a 51,4 %). Celkem by 29,1 % krav bylo zasušeno bez administrace ATB a 70,9 % s ATB. Podíl 70,9 % se může jevit jako mírně vyšší, než by bylo nezbytné. To může ukazovat na potřebu mírnější korekce výběřových kritérií v praxi. Praktická realizace postupu: 1) - rozšřřřuje spektrum nabídky služeb chovatelské organizace chovatelům dojnic;

2) - podporuje kvalitu managementu zdraví mléčného stáda; 3) - může přispět ke snížení nadbytečné spotřeby ATB v mlékařství; 4) - může obecně podpořit snižování rizika vzniku patogenní rezistence vůči ATB.

Klíčová slova: kráva, individuální vzorek mléka, skóre počtu somatických buněk, kontrola užitkovosti, poruchy sekrece mléka, antibiotikum, zasušeni laktace

Abstract

Subclinical mastitis is still one of the main sources of losses in milk production and quality and also the reason for the use of antibiotics (ATB) for the treatment of dairy cows. Overuse of ATB in dairy farming is one of reasons for the increase in the risk of bacterial pathogens developing resistance to these ATB worldwide. This, on the principle of feedback, threatens the effectiveness of the treatment of infectious diseases in humans and animals. Therefore, the importance of reducing ATB consumption in general is increasing. In dairy farming, limiting the widespread preventive and therapeutic treatment of cows with ATB during the end (drying) of their lactation (100%) may contribute to this. The work statistically validates the results of an algorithm that selects dairy cows for non-antibiotic drying-off of lactation according to the dynamics of the somatic cell count (SCC, or linear SCC score (SCS)) during their lactation. The procedure is verified on the annual results of a real commercial dairy herd (Holstein breed) in the milk recording (MR). In terms of the overall frequency assessment: - the number of dairy cows (NDC) in the 1st lactation with the number of records in the MR of 5 or more and having the designations noATB and ATB in the overall assessment was 41 and 143 (5.6 and 19.5%; 735 dairy cows = 100 %); - NDC in the 2nd and higher lactation with the number of records in the MR of 5 or more and having the designations noATB and ATB in the overall assessment was 173 and 378 (23.5 and 51.4%). In total, 29.1% of cows would have been dried without ATB administration and 70.9% with ATB. The proportion of 70.9% may seem slightly higher than would be necessary. This may indicate the need for a more moderate correction of the selection criteria in practice. Practical implementation of the procedure: 1) - expands the spectrum of services offered by the breeding organization to dairy farmers; 2) - supports the quality of dairy herd management for health; 3) - can contribute to reducing excess consumption of antibiotics in dairy farming; 4) - can support the reduction of the risk of pathogenic resistance to antibiotics in general.

Keywords: cow, individual sample of milk, somatic cell count score, milk recording, milk secretion disorders, antibiotic, lactation drying up

Chov dojeného skotu v ČR stručně v číslech

Chov skotu je pravděpodobně nejvýznamnější odvětví živočišné produkce a zemědělské výroby obecně přesto,

že stavy skotu, zvláště dojeného, prodělaly v nedávných letech v ČR poměrně značný pokles. V roce 1990 bylo evidováno 1 013 586 uzavřených laktací, ale v roce 2004 už to bylo pouze 346 877 uzávěrek (Hering et al., 2005). V současnosti (kontrolní rok 2023) bylo uzavřeno celkem 290 161 laktací (Syrůček et al., 2024). Významný pokles dojnic v ČR, a tím i v kontrole mléčné užitkovosti (KU), byl vyrovnáván rostoucí dojivostí krav.

V kontrolním roce 1990 vykazovala užitkovost v KU průměrně 4 053 kg mléka, což při 4,09 % tučnosti představovalo průměrnou produkci 166 kg tuku. Průměrný obsah bílkovin v tomto kontrolním roce činil 3,40 %, tj. produkce 138 kg bílkovin na zapojenou dojnici. V roce 2010 již byla zjištěna průměrná užitkovost 7 726 kg mléka o tučnosti 3,84 %, tzn. průměrnou produkci tuku 297 kg. Průměrná produkce bílkovin byla při 3,34 % obsahu 258 kg. V kontrolním roce 2016 vystoupila průměrná užitkovost v KU na 8 725 kg mléka, což při průměrných obsahových složkách 3,88 % tuku, resp. 3,39 % bílkovin představuje průměrnou produkci tuku na úrovni 339 kg, resp. 296 kg bílkovin. V předchozím ukončeném kontrolním roce KU 2023 (339 272 krav v KU, 342 426 v roce 2022) vzrostla průměrná užitkovost na 9 741 (9 530 v 2022) kg mléka, což při průměrných obsahových složkách 3,89 (3,92 v 2022) % tuku, resp. 3,42 (3,42 v 2022) % bílkovin, představuje průměrnou produkci bílkovin na úrovni 333 (326 v 2022) kg (Syrůček et al., 2024).

Možné ztráty na dojivosti v důsledku zhoršení zdravotního stavu mléčné žlázy

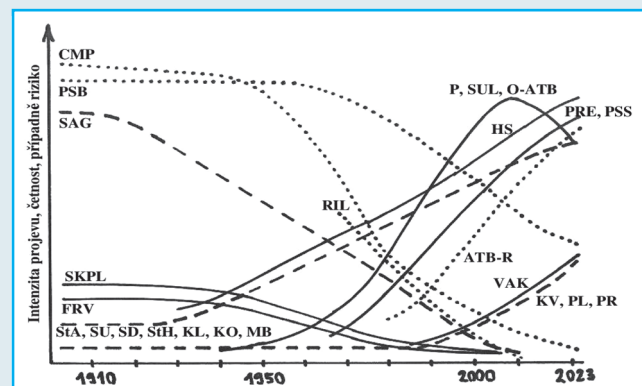
Ztráta mléčné užitkovosti v důsledku mastitidy (převážně subklinické) vzrůstala se zvýšením počtu testovacích dnů s PSB $\geq 100 \cdot 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ (Hadrich et al., 2018). Mastitidní ztráta mléka je pak u prvoteků o 33 až 45 % (podle mléčných kvartilů) nižší, než u dalších laktací (Hand et al., 2012). Krávy s denním PSB $200 \cdot 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ měly ztrátu mléka za 24 hodin v rozmezí od 0,35 do 1,09 kg a s PSB $2 000 \cdot 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ od 1,49 do 4,70 kg. Ztráta mléka za laktaci se výrazně zvýšila v rozmezí od 165 do 919 kg, když se zvýšil laktační průměr PSB. V mírném protikladu bylo uvedeno nově umenšení přehnaných očekávání ohledně možností efektivity eliminace mastitidních ztrát dojivosti (Chen et al., 2021): „Odhady zpětně získatelné ztráty mléka založené na posunu k nižším bazénovým PSB, kde se ještě mléčná ztráta stále vyskytuje, byla relativně menší, pokud je tato srovnána s tradičním předpokladem, že veškerá mléčná ztráta by byla zpětně nabyta, a menší než by očekávala většina vlastníků stád a poradců.“ Výše uvedené prameny pojednávají více o posledním období. Nicméně, ztráty na dojivosti v důsledku mastitid byly kvantifikovány již dříve a jsou sledovány dlouhodobě (Ali a Shook, 1980; Shook, 1982; Raubertas a Shook, 1982; Reneau et al., 1983 a 1988; Reneau, 1986; Wiggans a Shook, 1987). Výsledky těchto prací se snaží přispět ke kontrole

výskytu poruch sekrece. Pokud pak kontrolní mastitidní programy zahrnují léčbu mastitidy antibiotiky (ATB), což je dlouhodobě fakt, je potřebné zabývat se i otázkou efektivity této léčby, aby tato ATB, vedle nesporných pozitivních léčebných výsledků, nebyla na druhé straně nadužívána se všemi negativními důsledky (např. vzrůst rezistence patogenů na ATB).

Potřeba snižování výskytu antimikrobiálních látek v mlékařství

Záněty mléčné žlázy dojnic (mastitidy), resp. poruchy sekrece mléka, jsou stále jedním z významných zdrojů ztrát na produkci a kvalitě mléka (Kvapilík et al., 2014, 2015, 2017; Chen et al., 2021; Arikian et al., 2024) a také zároveň důvodů použití antibiotik (ATB) k léčbě zvířat

Obr. 1 Obecné rámcové schéma v oblasti hygieny dojení, mastitidní situace a kvality mléka v mlékařství, ve stádech dojnic, v komplexu relevantních faktorů a dynamiky jejich vývoje, 1900 – 2023 (Hanuš et al., 2023)



Parametr	Bakteriální		Nebakteriální
	Gram negativní (G-)	Gram pozitivní (G+)	
Hospodářsky významné patogeny mastitid	KL <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; KO koli, <i>Escherichia coli</i> ; MB <i>Mycoplasma bovis</i> (bez buněčné stěny s ohledem na G, nebarví se)	SAG <i>Streptococcus agalactiae</i> ; StA <i>Staphylococcus aureus</i> ; SU <i>Streptococcus uberis</i> ; SD <i>Streptococcus dysgalactiae</i> ; StH <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	KV kvasinky; PL plísňe; PR řasy, prototéky (P), <i>Prototheca bovis</i>
	Kontagiózní – nakažlivé	Prostřed'ové – environmentální	
	SAG, StA, MB.	StA, SD, SU, StH, KL, KO, KV, PL, PR	

- Další ukazatele mastitid a hygieny mléka a stájového prostředí: PSB počet somatických buněk v mléce; „CMP“ (= CPM) celkový počet mikroorganismů v mléce; RIL rezidua inhibičních látek v mléce.
- Faktory léčby a prevence: FRV frekventní vydojování; HS hygienické pracovní a technologické systémy péče o mléko a chovné prostředí; PRE prevence mastitid – pětibodový antimastitidní program; PSS pravidelný smluvní servis technického stavu strojního dojení; VAK antimastitidní vakcinace dojnic.
- Základní léčiva: SKPL starší konvenční protizánětlivá léčiva; PEN penicilin; SUL sulfonamidy; O-ATB ostatní antibiotika.
- Možné důsledky: ATB-R antibiotická rezistence patogenních mikroorganismů.
- Čárkovaná linie = vlivy patogenů dle jejich charakteristik (reakce na vývoj chovatelských technologií a opatření včetně hygienických); plná linie = základní léčebné a preventivní postupy; tečkovaná linie = hygienické a zdravotní ukazatele mléka a ostatní faktory a důsledky.

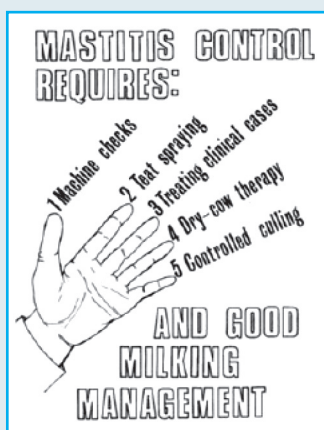
v mlékařství. Ze zvýšeného použití ATB pak vyplývá vzrůst rizika tvorby rezistence bakteriálních patogenů vůči těmto ATB (Boireau et al., 2018; Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022; Laxminarayan, 2022; The Lancet, 2022), jak již bylo zmíněno výše. Toto dále může vést k ohrožení efektivity léčby infekčních nemocí v populacích hospodářských zvířat a humánní populaci. Uvedené vytváří společenský tlak na redukci spotřeby antibiotik obecně, tedy i v mlékařství. Okolnosti a časové relace dřívějšího vzestupu používání ATB v mlékařství, včetně souvisejících dopadů v praxi, jsou rámcově zaznamenány v obecném, schematickém grafickém znázornění (Obr. 1).

Pravidelná kontrola mléčné užitkovosti (KU; ČMSCH), která poskytuje průběžný přehled o vybraných mléčných ukazatelích u dojnic a individuálních vzorků mléka, může přispět, na principu zpětné vazby, k možnosti selekce krav pro jejich antibiotický/neantibiotický (ATB/neATB) odstav, tzn. k efektivnímu zasušení laktace. To může vést k omezení nasazování zbytečné (v aktuálně téměř plošném pojetí zaprahování s ATB), tedy nadbytečné, léčby dojnic, zejména antibiotické, a tím následně k redukci výskytu průniku ATB do prostředí. ATB samozřejmě stále dál mají svůj význam v oblasti léčby infekčních bakteriálních onemocnění u lidí i zvířat, nicméně, obecným problémem se stal fakt rozšíření jejich neefektivního nadužívání.

Cílem sdělení je provést modelovou validaci postupu pro selekci dojnic k neantibiotickému zasušení mléčné žlázy na konci laktace pro kontrolu snížení uvolňování antibiotik do mlékařského prostředí v rámci praktické kontroly mléčné užitkovosti dojnic.

Materiál a metody

Byl navržen algoritmus k pravidelnému návrhu sestavy krav k ATB/neATB zasušení laktace podle dynamiky vybraných mléčných ukazatelů v KU (Hanuš et al., 2022; Tab. 1). Tento výsledkový výstup může být pravidelně (měsíčně) k dispozici chovatelům dojnic v datové sestavě výsledků KU. Z rutinně, měsíčně měřených mléčných ukazatelů KU jsou poruchám sekrece svou vypovídací hodnotou a variabilitou nejbližší dojivost, laktóza a zejména PSB. Variabilita těchto ukazatelů však podléhá také vlivu řady chovatelských faktorů (výživa, plemeno, pořadí a stadium laktace atd.). Ovšem, nejpřímější vztah k mastitidě, pro využití v selekci dojnic k ATB/neATB ošetření při zasušení laktace (které je součástí profylaxe mastitid a obecně, profesně, známého pětibodového kontrolního mastitidního programu (Hillerton a Booth, 2018; Obr. 2), jako technologického opatření), má PSB.



Obr. 2 Školící leták ohledně odbornosti v eliminaci mastitid z Nového Zélandu (MAF, 1974; cit. Hillerton a Booth, 2018)

Z hlediska vlastních algoritmových postupů:

- každá dojnice musí mít v KU během laktace minimálně 5 záznamů (dojivost, PSB) před termínem zasušení laktace, pro vstup do hodnocení, s uvedením pořadí laktace;
- individuální hodnoty PSB se transformují na data LS PSB (LS, lineární skóre) se zaokrouhlením na čtyři desetinná místa;
- těsně před ukončením normované (305denní) laktace (po 9. měsících) se z dat LS PSB dojnice vypočtou aritmetický průměr (\bar{x}_a), jeho směrodatná odchylka (s_d) a variační koeficient (v_x v %);
- dojnice je označena v sestavě dat z KU za selekovanou pro vybraný typ zaprahnutí (neATB, neATB! a ATB) ve vazbě na pořadí laktace (první, ostatní) podle limitních hodnot statistických parametrů LS PSB v rozhodovacím schématu v Tab. 1, ve variantách I a II. Prakticky bude varianta I mnohem častější. Přesto je variantu II, s ohledem na současný vývoj terapeutických metod v oblasti mastitid, třeba brát jako reálnou alternativu;
- kdykoliv zapadne zvíře jedním z kritérií (A, B nebo C) do vyššího rizika zdravotního stavu mléčné žlázy během aktuálně končící laktace (v tabulce směrem dolů, v typu zaprahovacího ošetření), bude přednostně označeno pro tento typ ošetření v zaprahlosti.

Validační statistické hodnocení účinnosti postupu podle algoritmu bylo provedeno na modelu, jako reálném holštýnském stáde dojnic v průběhu jednoho roku KU. Mléčné ukazatele v KU byly podchyceny podle závazných metodických postupů KU v Českomoravské společnosti chovatelů a.s. (garant KU v ČR), které podléhají pravidelnému internacionálnímu auditu a akreditaci ICAR (The International Committee for Animal Recording – The Global Standard for Livestock Data (Icar.org)). Analytické výsledky mléčných ukazatelů pak byly získány podle standardních operačních postupů akreditované mléčné laboratoře LRM Brno–Tuřany (č. 1312.2, osvědčení o akreditaci 521/2024, do 7. 10. 2029; akreditační autorita Český institut pro akreditaci o.p.s. (Revize MPA 50-01-24 k aplikaci ČSN EN ISO/IEC 17021-1:2016)). Pro statistické výpočty byl následně použit software MS Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA).

Použitá modelová varianta pro validační kalkulaci není zcela totožná s případem jednoho stáda a měsíční zprávy KU v praxi, protože obsahuje celý rok historie stáda, některá zvířata se v periodě objevují dvakrát na dvou následných laktacích, některá zvířata prodlužují laktaci a jsou použity jejich celé laktace a ne 9 měsíců, které budou zahrnovány v realitě. Je tedy více drobných rozdílů oproti aplikaci algoritmu pravidelně po měsících. Nicméně

proto, že kalkulace zahrnuje reálná data KU, relativní výstupy selekčního tlaku na výběr neATB ošetření při zasušení laktace mohou být podobné a tudíž srovnatelné k prezentovaným názorům na optimální funkčnost. Test je proveden na variantě I (Tab. 1, striktní dělení neATB/ATB), což je dostatečné pro posouzení výsledku validace a případný náznak návrhu iniciačních a možná průběžných korektur aplikovaných kritérií, protože ve variantě II (Tab. 1) obsažený mezistupeň neATB! je pouze jemnou korekturou k přístupu k zasušení laktace, ale nemění zásadně vlastní selekci.

Výsledky a diskuse

Podle postupu výše bylo modelově, pro validaci, hodnoceno (podle Tab. 1) holštýnské stádo dojníc (počet měření po vyřazení dojníc s méně než 5 záznamy v KU, $n = 6\ 608$, tzn. 918 celkově zahrnutých dojníc; Tab. 2). Průměrné číslo pořadí laktace bylo 2,4 (medián 2). Průměrná denní dojivost činila $35,02 \pm 10,09$ kg (vx 28,8 %). Ostatní statistické charakteristiky mléčných ukazatelů byly možno říci reprezentativní pro podmínky ČR. Důležité charakteristiky pro PSB, jako stěžejní ukazatel selekce pro případné neantibiotické zasušení laktace dojníc, byly: pro PSB $x \pm sx$ $238 \pm 765\ 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (vx 321 %), xg $85\ 10^3 \times \text{ml}^{-1}$, m $75\ 10^3 \times \text{ml}^{-1}$; pro log PSB $1,8798 \pm 0,5755$; pro LS PSB $2,6235 \pm 1,8752$ a medián 2,4005. Z tohoto výčtu lze stádo označit za poměrně velmi dobré s ohledem na zdravotní stav mléčné žlázy, tedy zcela vhodné k praktickému provádění případné se-

lekce na neATB v konci laktace. Z hlediska frekvenčních statistik: - bylo 183 dojníc s méně než 5 a více záznamy v databázi KU; - počet dojníc (PD) na první laktaci činil 290 (PD s méně než 5 a 5 a více záznamy byl 106 a 184) a na 2. a dalších 628 (PD s méně než 5 a 5 a více záznamy byl 77 a 551); - PD na 1. laktaci s počtem záznamů v KU 5 a více a majících ve třídě A označení neATB a ATB byl 168 a 16; - PD na 2. a vyšší laktaci s počtem záznamů v KU 5 a více a majících ve třídě A označení neATB a ATB byl 463 a 88; - PD na 1. laktaci ve třídě B s označení neATB a ATB byl 174 a 10; - PD na 2. a vyšší laktaci ve třídě B s označením neATB a ATB byl 483 a 68; - PD na 1. laktaci ve třídě C s označení neATB a ATB byl 42 a 142; - PD na 2. a vyšší laktaci ve třídě C s označením neATB a ATB byl 181 a 370.

Z hlediska celkového hodnocení frekvencí případů pak: - PD na 1. laktaci s počtem záznamů v KU 5 a více a majících v celkovém hodnocení označení neATB a ATB byl 41 a 143 (5,6 a 19,5 %; $n\ 735 = 100\ %$); - PD na 2. a vyšší laktaci s počtem záznamů v KU 5 a více a majících v celkovém hodnocení označení neATB a ATB byl 173 a 378 (23,5 a 51,4 %). Celkem tedy z dané množiny, jako modelového stáda, by 29,1 % krav bylo zasušeno bez administrace ATB a 70,9 % s ATB. Tento podíl 70,9 % se může jevit jako mírně vyšší, než by bylo nezbytné, jak je dále diskutováno, a může ukazovat na potřebu mírnější korekce výběrových kritérií v praxi.

Ve Finsku nejdříve, ve vyspělém mlékařském světě, byl zahájen, zhruba před 10 – 12 lety, odklon od již zcela za-

Tab. 1 Selektce dojníc podle dynamiky individuálních hodnot LS PSB v KU pro typ zaprahnutí laktace – rozhodovací schéma

Laktace	1.	1.	1.	1.	1.	1.	≥ 2.	≥ 2.	≥ 2.	≥ 2.	≥ 2.	≥ 2.
Varianta	I	I	I	II	II	II	I	I	I	II	II	II
Typ/Krit.	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
neATB	≤ 2x	< 4,3	≤ 33 a < 4,2	≤ 1x	< 4,2	< 30 a < 4,2	≤ 3x	< 4,5	≤ 38 a < 4,4	≤ 2x	< 4,4	< 35 a < 4,4
neATB!	–	–	–	2 – 3x	4,2 – 4,5	30 – 35 a < 4,2	–	–	–	3 – 4x	4,4 – 4,7	35 – 40 a < 4,4
ATB	≥ 3x	≥ 4,3	> 33 a ≥ 4,2	≥ 4x	> 4,5	> 35 a ≥ 4,2	≥ 4x	≥ 4,5	> 38 a ≥ 4,4	≥ 5x	> 4,7	> 40 a ≥ 4,2

Praktické lokální interpretační varianty: - I = ATB/neATB; - II = neATB, neATB! a ATB.

Limitní kritéria statistických parametrů LS PSB (Krit.): - A = počet měsíčních hodnot LS PSB za laktaci > 4,5; - B = x_s LS PSB za laktaci; - C = v_x LS PSB za laktaci v % a současně limit x_s . Typ zaprahovacího ošetření: - neATB (neantibiotické zaprahnutí s dezinfekcí struků); - neATB! (neantibiotické zaprahnutí s dezinfekcí struků a další vybraná profylaxe jako podpora); - ATB (antibiotické zaprahnutí, obvykle také s dezinfekcí struků). Dezinfekce struků zpravidla bariérová.

Platí preference jakéhokoliv horšího zařazení (vyšší LS PSB a jeho variabilita), jako určující pravidlo pro výslednou klasifikaci.

Tab. 2 Základní statistické charakteristiky mléčných ukazatelů ročního klasifikovaného souboru dat holštýnské stádo v KU

Ukazatel/Parametr	Dojivost	T	B	L	STP	PSB	log PSB	LS PSB	M	VMK	KC	A	PL
Jednotka	kg × den ⁻¹	%	%	%	%	10 ³ × ml ⁻¹	–	třída	mg × 100 ml ⁻¹	mmol × 100 g ⁻¹	%	mmol.l ⁻¹	
n	6 600	6 605	6 605	6 605	6 605	6 608	6 608	6 608	6 605	6 605	6 476	6 605	
x	35,02	4,25	3,49	4,9	9,11	238	1,8798	2,6235	25,06	0,94	0,15	0,07	2,4
xg						76							
sx	10,09	0,86	0,44	0,19	0,43	765	0,5755	1,8752	6,25	0,53	0,04	0,06	1,48
vx	28,8	20,1	12,7	3,9	4,7	321	30,6	71,5	24,9	56,5	23,4	78,6	61,5
min.	2,3	1,27	2,21	2,41	6,93	4	0,6021	0	2,4	0	0,05	0	1
max.	70,6	13,35	8,5	5,34	12,68	28 266	4,4513	11,1429	62,2	5,96	0,41	0,84	10
m	35,4	4,21	3,46	4,93	9,11	66	1,8195	2,4005	24,9	0,85	0,15	0,06	2

n počet případů; x aritmetický průměr; xg geometrický průměr; sx směrodatná odchylka; vx variační koeficient (%); min. minimum; max. maximum; m medián; T obsah tuku; B obsah hrubých bílkovin; L obsah monohydrátu laktózy; STP obsah sušiny tukuprosté; PSB počet somatických buněk; log PSB logaritmus počtu somatických buněk; LS PSB lineární skóre počtu somatických buněk; M koncentrace močoviny; VMK obsah volných mastných kyselin mléčného tuku; KC koncentrace kyseliny citronové; A obsah acetonu; PL pořadí laktace.

vedené praxe plošného zasušování laktace krav pod ATB clonou, který naopak byl zaveden téměř na 100 %, jako součást prevence zvýšeného rizika výskytu nových infekcí mastitid v průběhu involuce mléčné žlázy, před cca 30 až 35 lety. Důvodem bylo zjištěné riziko růstu bakteriální rezistence v důsledku nadměrné aplikace ATB. Niemi et al. (2022) zaznamenali celkové zastoupení krav (na 2. a vyšší laktaci), které byly ošetřeny ATB při zasušování laktace, ve finských stádech ($n = 172$, 2015 – 2017) se selektivním výběrem krav k ATB ošetření při zasušení, 25 % (1 176/4 720). Tato hodnota naznačuje, že oproti chovům s plošným ukončením laktace ATB je zasušováno 75 % krav z běžných 2/3 dojníc stáda bez ATB. To je poměrně vysoké číslo, které jistě přináší výrazně zvýšenou úsporu nákladů na ATB preparáty (sealanty, ITS) a provedení ošetření. Dále, jistě takto ostrý poměr významně přispívá i k redukci možného průniku ATB do prostředí v mlékařství a tím i rizika následné podpory rozvoje ATB rezistence u patogenů mastitid, a stávové mikroflóry vůbec. To mohou být tedy efekty pozitivní. Nicméně, i když vždy záleží na konkrétních podmínkách chovu (aktuální zdravotní stav stáda s ohledem na výskyt subklinických mastitid (SM)), jaký poměr to bude, je skutečně třeba opatrnost při uskutečňování této selekce, aby to nebylo příliš, a na škodu věci. Hodnotit tyto poměry je namísto na bázi výskytu právě SM, neboť obvykle 10krát dominují nad výskytem mastitid klinických (v aktuální moment), jejichž výskyt přes 2 % začíná být alarmující situací pro dané stádo. Přijatelný je do 1 %. SM bývá oněch 20 až 30 % za běžného stavu (podle našich dřívějších studií), od lepšího ke zhoršenému stavu (vyšší poměr je zcela alarmující), což je hodnota, která by v úvahách zhruba odpovídala dosaženému poměru ATB zasušování ve finských selektujících stádech. Ukazuje se pro management stáda, že je třeba opatrnosti, aby tento nalezený poměr (25 %) těsně na hranici běžného výskytu SM, nebyl příliš ostrý, rozuměj nízký. Uvedený kvalifikovaný odhad v tomto směru je důležitý pro výchozí praktické nastavení selekčního tlaku ve zde popisovaném algoritmovém postupu (Tab. 1). Lze se oprávněně domnívat, že vhodné nastavení selekčního tlaku (algoritmových kritérií, Tab. 1) na zisk poměru cca 50 % pro ATB ošetření, by obecně mohlo výrazně spolehlivěji pokrýt případy výskytu SM během laktace, a přesto by přineslo jak redukci nákladů na ATB, tak významné snížení rizika jejich průniku do prostředí. Teoreticky a podle výsledků provedené modelové validace, je zřejmé, že vždy zůstane ve vyjádření výsledků (měsíčním reportu KU) jisté procento falešně pozitivních (F+) a falešně negativních (F-) případů. Výskyt těchto F+ a F- případů prakticky znamená, že jedny jsou „zbytečně“ léčebně ošetřeny, zatímco druhé nejsou ošetřeny „omylem“. Toto je implicitní (inherentní) vlastnost všech statistických diagnostik, které se zabývají posouzením biologických, resp. fyziologických nebo patologických charakteristik. Obecně, pro podobné systémy (postupy), řešící nějakou formou diagnostiku, z hlediska principů léčby, včetně etických,

jsou více rizikové případy F+, které fakticky propustí stav nemoci bez léčby, než případy F-, které aplikují omylem léčbu. Podle tohoto pravidla je třeba nastavovat výběrová kritéria systému (Tab. 1) tak, aby vždy hrozilo vyšší procento F+ než F- případů. Korekce kritérií při praktickém rozběhu systému (postupu) tak budou potřebné.

Výše uvedené, cca 50% korigované, praktické, cílové nastavení selekce (Tab. 1) krav k neATB zasušení laktace v KU, by mělo relativně spolehlivě pokrýt i výskyt SM u mastitidně problémového stáda dojníc. Zde by však, při hranici PSB nad $300 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ váženého (dojivosti) aritmetického průměru z měsíčního reportu KU, mělo být přechodně, do stavu zřetelného zlepšení (pod uvedený limit (threshold)), znovu navrženo plošné zasušení laktace s ATB. To by znamenalo pravidelné použití selekce (Tab. 1) cca u 66 až 70 % stád v KU. Za daných okolností, pokud by celkový postup navrhovaného metodického nastavení (Tab. 1 a limitace zdravotního charakteru stáda podle váženého aritmetického průměru PSB v KU) byl v KU přijat plošně, bylo by kvalifikovaným odhadem možné kvantifikovat celkově dosaženou redukci spotřeby ATB, v prvovýrobě mléka při zasušení laktace, na 30 až 40 %.

Počet somatických buněk (PSB) je v praxi kontroly užítkovosti (KU) základním zdravotním ukazatelem mléčné žlázy, a jak známo, jeho rostoucí hodnoty a dynamika v laktaci jsou také ukazateli ztrát na produkci mléka (Tab. 3) podle lineárního skóre počtu somatických buněk (SCS), v důsledku rostoucího výskytu a vlivu subklinických mastitid (Ali a Shook, 1980; Shook, 1982; Rauber-tas a Shook, 1982; Reneau et al., 1983 a 1988; Reneau, 1986; Wiggans a Shook, 1987; Chen et al., 2021). Hlavní příčinou ekonomických ztrát na dojivosti krav, ale i v jejich dalších položkách (jako jsou práce navíc, náklady na léčení, léčiva nebo vyřazení mléka při antibiotickém ošetření krav z dodávky k potravinářskému použití) jsou mastitidy subklinické (SM). Arian et al. (2024) v dané souvislosti provedli odhad výskytu SM v Turecku. Metaanalýza založená na 26 pracích (10 334 krav) ukázala celkovou prevalenci SM 44,13 %, tzn. od 36 do 52,5 % při intervalu spolehlivosti 95 %. Taková hodnota je poměrně vysoká v porovnání k našim podmínkám, nicméně podobná metaanalýza z 22 studií (21 745 čtvrtí vemene) ukázala prevalenci SM 31,44 %, tzn. od 27 do 36,2 % při intervalu spolehlivosti 95 %. Tato hodnota může být již srovnatelná s našimi poměry a zároveň je doloženo, že tento ukazatel může velmi výrazně kolísat. Zároveň odvodili celkovou ekonomickou ztrátu na případ SM jako ekvivalentní 233,2, 685,4 a 1 799,1 litrům mléka pro případ mírného, středního a silnějšího onemocnění SM. To odpovídalo 84,3, 247,8 a 650,5 USD. Odhad z ČR (Kvapilík et al., 2015) uvedl celkovou ztrátu na případ mastitidy 360 Euro.

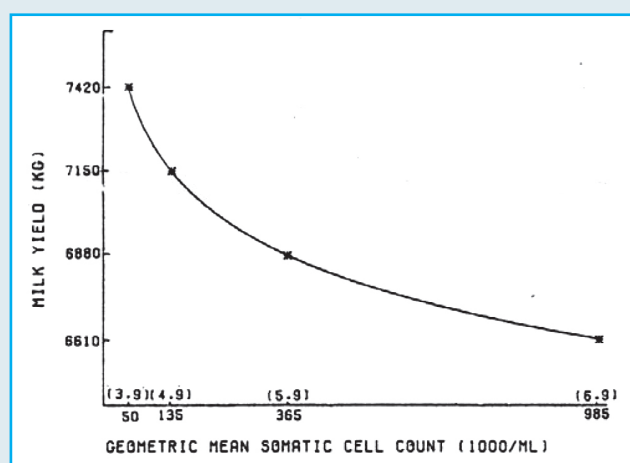
Transformace dat jsou někdy nezbytné, logaritmické, ale i jiné, vrcholem je pak Box-Coxova transformace, kterou lze tak ohýbat vhodnou modifikací řídicího členu, že téměř vždy dosáhne normality transformovaných dat.

Tab. 3 Ztráty dojitosti (% , 1. laktace a ostatní laktace) s PSB (SCC, počet somatických buněk) podle lineárního SCS (LS PSB, lineární skóre počtu somatických buněk, 0 – 9), individuální mléko z kontroly užítkovosti (Reneau et al., 1983 a 1988; * hranice používaná k rozlišení pravděpodobně infikovaných od pravděpodobně zdravých dojnic)

Lineární bodové hodnocení PSB (SCS)	PSB $10^3 \times \text{ml}^{-1}$		Relativní ztráta dojitosti %	
	Střed	Rozsah	I. laktace	II. a další laktace
0	12,5	0 – 17	0	0
1	25	18 – 34	0	0
2	50	35 – 70	0	1
3	100	71 – 140	1,5	2,5
4	200	141 – 282	3,3	5,0
5	400	283 – 565*	5,1	7,4
6	800	566 – 1130	6,6	9,9
7	1600	1131 – 2262	8,4	12,6
8	3200	2263 – 4525	9,9	15,0
9	6400	4526 –	11,7	17,5

U mléka jsou transformace dat třeba zejména pro celkový počet mikroorganismů (a ostatní mikrobiologické ukazatele jako termorezistentní a psychrotrofní bakterie atd. – v bazénovém mléce), PSB, VMK, ketony (aceton) a třeba laktoferin (v individuálních vzorcích mléka v KU), z důvodu dosažení normality a regulérnosti dalšího statistického testování (Hanuš et al., 2007, 2009, 2011; Janů et al., 2007). Zde také jsou lepšími středními ukazateli souborů, při jejich původní nenormalitě, geometrické průměry (resp. průměry logaritmovaných hodnot) nebo mediány, pro jejich reprezentaci. Tedy s ohledem na základ, nejčastěji se používají přirozené Napierovy logaritmy (základ 2,718, Eulerovo číslo), nebo dekadické. V podstatě záleží na souboru dat, jeho charakteristikách (jaká je tam původní variabilita, zda 10, 30, 100 nebo 300 % ve variačním koeficientu, jaké jsou tam extrémy atd.), a lze měnit základ k dosažení lepší normality. Proto byla rozpracována problematika SCS pro PSB. Tato Ali-Shook-Reneau-Raubertas-Wiggansova transformační rovnice ($\text{LS PSB (SCS)} = \log_2 (\text{PSB}/100) + 3$, kde $\text{PSB} = v \cdot 10^3 \text{ v } 1 \text{ ml}$) je skutečně úspěšné vědecké dílo. Pro účely transformace dat PSB je velmi vhodná, často se používá ve vědeckých časopisech, ale je i praktickým základem kontroly mastitid a ztrát mléka přes analýzy KU (Ali a Shook, 1980; Shook, 1982; Raubertas a Shook, 1982; Reneau et al., 1983 a 1988; Reneau, 1986; Wiggans a Shook, 1987). V USA (Minnesota) v KU pracuje tento systém úspěšně asi od roku 1983, jinde podle států s postupnými modifikacemi, jako měsíční protokol pro farmáře ohledně rizika a odhadu ztrát mléka z výskytu subklinických mastitid, cca již 40 roků. Za mastitidně podezřelou krávu se považuje (Tab. 3), bez nároku na jistotu (pravděpodobně, systém nezohledňuje výsledek bakteriologického vyšetření, který není rutinně dostupný), hodnota $283 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$, tedy od 5. třídy SCS. Dojnice jsou značeny v aktuálních sestavách jako mastitidně podezřelé. Toto SCS od 0 do 9, což je výstupem dané transformační rovnice, je používáno třeba i pro odhad

plemenných hodnot otců pro PSB a jeho redukcí šlechtěním, tedy posílení mastitidní rezistence dcer. Prakticky je ale používáno především k teoretickému odhadu pravděpodobných ztrát mléka na krávu podle PSB a laktace a odhadu finanční ztráty a tato informace je poskytnuta chovatelům. Rovnice má log základ 2 a je obecně platná i po letech, i když byla odvozena od plemene Holštýn, k linearizaci vztahu PSB a ztrát mléka v % produkce (Tab. 3) z původně nelineární závislosti dojitosti na zdravotním stavu vemene (Obr. 3). Ztráta je podle krav vypočtena farmáři za stádo a určí, kolik finančně ztrácí při daném stavu, a že by měl tedy investovat do prevence. Každý měsíc je vytvořena zpráva za stádo. Proto se s SCS (0 – 9, 10 tříd) dobře pracuje, když rovněž redukuje počet číslic v pravidelných počítačových sestavách, zprávách, a na pohled i fakticky je jednoduché pro chovatele. Proto byl tento ukazatel SCS (Tab. 3) použit jako hlavní pro posouzení dynamiky laktace z hlediska zdraví mléčné žlázy po stanovení modifikovatelných thresholdů (kvalifikovaným odhadem a podle průběžné, případně i lokální, zkušenosti; Tab. 1) pro selekci dojnic k ATB/neATB zasušování jejich laktace.



Obr. 3 Vztah mezi mléčnou užítkovostí z 305denní laktace a geometrickým průměrem (x_g) PSB pro krávy na 2. a pozdějších laktacích (v závorkách jsou $\log x_g$, Raubertas a Shook, 1982; Shook, 1982). Každý jednotkový nárůst v $\log x_g$ je spojen s 270 kg poklesu v dojitosti.

Pokud pak relevantní selekční algoritmus označí individuální zvíře v KU za potřebné k zasušení laktace za asistence ATB, jedná se spolehlivě o organismus s rizikovou úrovní a dynamikou zdravotních ukazatelů vemene během laktace, které k užití ATB opravňuje. Za těchto okolností je pak třeba dbát metodicky o efektivní zasušení laktace na bázi ATB, komerčními preparáty s dlouhodobou antibiotickou clonou, až 60 dnů. Tzn., oddělení prvních stříků mléka, alkoholická dezinfekce ústí strukového kanálku a zavedení aplikátoru jen do 6 mm do strukového kanálku a jeho vyprázdnění se zbytkem i ve strukovém kanálku a použití preparátu strukové dezinfekce po dojení (NADIS). Preparát vmasírovat do

mléčné žlázy. V případě stejné aplikace Internal Teat Sealant (ITS), zátky bez ATB, je postup bez vmasírování náplně do horní části vemene (Tikofsky, 2020). Důvodem je zabránit stržení případných patogenů z kanálku (vzdor oddělení prvních stříků mléka a dezinfekci vyústění strukového kanálku) aplikátorem suspenze ATB hlouběji do vemene. ITS by měl zůstat pouze ve strukové cisterně a kanálku.

Niemi et al. (2022) k selektivní terapii při zasušení laktace definují antibiotickou terapii zasušovaných krav na konci laktace jako efektivní opatření kontroly mastitid. Pro selektivní terapii uvádějí, že jsou ošetřeny pouze infekční nebo předpokládaně infekční dojnice namísto aby antibiotikum bylo použito pro všechny krávy. Autoři nabádají k opatrnosti v této souvislosti, kdy zmiňují, že chybějící antibiotická terapie u krav s vysokým PSB v laktaci před zasušením měla negativní vliv na dojivost a PSB v následné laktaci, což zdůrazňuje význam spolehlivé selekce krav k ošetření.

Závěr

Postup vychází ze základní a relevantní zdravotní premisy: „Je prakticky, biologicky i eticky nepřijatelné podávat antibiotikum zdravému zvířeti.“ Míra závažnosti označení dojnic ke konci laktace jako ATB/neATB je však definována pouze jako pravděpodobnostní doporučení a konkrétní rozhodnutí k výběru postupu zasušení laktace je ponecháno na zootechnikovi, případně rozhodnutí veterinárního lékaře v indikovaných případech.

Uvedené výsledky naznačují možné poměry ve výběru k neATB zasušení laktace dojnic u konkrétního modelového stáda. Podmínky praxe ovšem mohou být značně variabilní. Odhad limitních hodnot statistických parametrů LS PSB pro selekci dojnic v KU k zaprahnutí je tzv. kvalifikovaným odhadem. Tyto hodnoty lze proto průběžně, na základě zpětné vazby v praxi korigovat, během testovacího období, pro dosažení vybalancovaného stavu žádoucí účinnosti selekce.

Praktická realizace může přinést pozitivní posun portfolia nabídky služeb KU (laboratoře pro rozbor mléka) pro chovatele a následně snížení aplikace ATB v mlékařské praxi.

Práce vznikla za podpory projektu MZe NAZV Země QK 21010123.

Seznam literatury

- ALI, A. K. A., SHOOK, G. E. (1980): An optimum transformation for somatic cells concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 63, s. 487–490.
- ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS (2022): Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*, www.thelancet.com Vol. 399, February 12, s. 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- ARIKAN, M. S., MAT, B., ALKAN, H., ÇEVIRIMLI, M. B., AKIN, A. C., BAŞAR, E. K., TEKINDAL, M. A. (2024): Determination of Subclinical Mastitis Prevalence in Dairy Cows in Türkiye through Meta-Analysis and Production Loss Calculation. *Pakistan Veterinary Journal*, 44, (2), 391–399. <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2024.142>
- BOIREAU, C., CAZEAU, G., JARRIGE, N., CALAVAS, D., MADEC, J.-Y., LEBLOND, A., HAENNI, M., GAY, E. (2018): Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006–2016. *Journal of Dairy Science*, 101, s. 9451–9462. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14835>
- HADRICH, J. C., WOLF, C. A., LOMBARD, J., DOLAK, D. M. (2018): Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 101, s. 3588–3596. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13840>
- HAND, K. J., GODKIN, A., KELTON, D. F. (2012): Milk production and somatic cell counts: A cow-level analysis. *Journal of Dairy Science*, 95, s. 1358–1362.
- HANUŠ, O., JANŮ, L., SCHUSTER, J., KUČERA, J., VYLETĚLOVÁ, M., GENČUROVÁ, V. (2011): Exploratory analysis of dynamics of frequency distribution of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LIX, 1, s. 83–100.
- HANUŠ, O., JANŮ, L., VYLETĚLOVÁ, M., KUČERA, J. (2009): Research and development of a synthetic quality indicator for raw milk assessment. *Folia Veterinaria*, 53, (2), s. 90–100.
- HANUŠ, O., JANŮ, L., VYLETĚLOVÁ, M., MACEK, A. (2007): Validace použitelnosti algoritmu relativního syntetického ukazatele kvality syrového mléka (SQSM) pro konzistentní modifikaci farmářské ceny. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LV, 5, s. 71–82.
- HANUŠ, O., NEJESCHLEBOVÁ, H., KUČERA, J., LIPOVSKÝ, D., TIŠNOVSKÁ, M., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J. (2022): Popis pravidel a statistických postupů pro algoritmy k umožnění redukce použití antibiotik v chovu dojnic z dynamiky dat kontroly kvality mléka a mléčné užitkovosti. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 33, 193, (4), s. 7–13.
- HANUŠ, O., SEYDLOVÁ, R., MORÁVKOVÁ, M., KUCHAROVIČOVÁ, I., BABÁK, V., ROUBAL, P., NEJESCHLEBOVÁ, H., KLIMEŠOVÁ, M., JEDELSKÁ, R. (2023): *Nebakteriální mastitidy v chovech dojnic*. Den s mlékem, Ingrový dny, Mendelova Univerzita v Brně, 2. 3. 2023, ISBN: 978-80-7509-917-4, s. 143–157. <https://doi.org/10.11118/978-80-7509-917-4>
- HERING, P., BUČEK, P., HŘEBEN, F., PYTLOUN, P., PYTLOUN, J., MATOUŠ, E. (2005): *100 let kontroly mléčné užitkovosti skotu v Čechách, na Moravě a ve Slezsku*. ISBN 80-239-5481-4, s. 105.
- HILLERTON, J. E., BOOTH, J. M. (2018): *The Five-Point Mastitis Control Plan – A Revisory Tutorial!* National Mastitis Council, Annual Meeting Proceedings, 3-19.
- CHEN, H., WEERSINK, A., KELTON, D., VON MASSOW, M. (2021): Estimating milk loss based on somatic cell count at the cow and herd level. *Journal of Dairy Science*, 104, (7), s. 7919–7931.
- 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. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 10, (3), s. 74–85.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., BARTOŇ, L., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2015): Mastitis of dairy cows and financial losses: an economic meta-analysis and model calculation. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21, (5), s. 1092–1105.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., ROUBAL, P., ŘÍHA, J., URBAN, P., JEDELSKÁ, R., SEYDLOVÁ, R., KLIMEŠOVÁ, M., KOPUNECZ, P. (2017): Somatic cells in bulk samples and purchase prices of cow milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65, 3, s. 879–892.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., SYRŮČEK, J., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2014): The economic importance of the losses of cow milk due to mastitis: a meta-analysis. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20, (6), s. 1501–1515.
- LAXMINARAYAN, R. (2022): The overlooked pandemic of antimicrobial resistance. *Lancet*, www.thelancet.com, 399, February 12, s. 606–607. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00087-3)
- NADIS ANIMAL HEALTH SKILLS: *Mastitis part 8 – Drycow therapy*. <https://www.nadis.org.uk/disease-a-z/cattle/mastitis/mastitis-part-8-dry-cow-therapy/>

- NIEMI, R. E., HOVINEN, M., RAJALA-SCHULTZ, P. J. (2022): Selective dry cow therapy effect on milk yield and somatic cell count: A retrospective cohort study. *Journal of Dairy Science*, 105, 1387–1401. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20918>
- RAUBERTAS, J. K., SHOOK, G. E. (1982): Relationship between lactation measures of SCC and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 65, s. 419–425.
- RENEAU, J. K., APPLEMAN, R. D., STEURNAGEL, G. R., MUDGE, J. W. (1983, 1988): *Somatic cell count. An effective tool in controlling mastitis*. Agricultural Extension Service, University of Minnesota, AG-FO-0447.
- RENEAU, J. K. (1986): Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science*, 69, s. 1708–1720.
- SHOOK, G. E. (1982): *Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability*. National Mastitis Council, Louisville, Kentucky, s. 1–17.
- SYRŮČEK, J., LIPOVSKÝ, D., SLÁDEK, M. et al. (2024): *Chov skotu v České republice*. Ročenka 2023. ČMSCH a.s. Praha, s. 43.
- THE LANCET (2022): Antimicrobial resistance: time to repurpose the Global Fund. *Lancet*, www.thelancet.com, 399, January 22, s. 335. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00091-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00091-5)
- TIKOFSKÝ, L. (2020): The Dry Cow May Be the Missing Piece to Your Mastitis Management Puzzle. *Hoards Dairyman*. <https://hoards.com/blog-28841-the-dry-cow-may-be-the-missing-piece-to-your-mastitis-management-puzzle.html>
- WIGGANS, G. R., SHOOK, G. E. (1987): A lactation measure of somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 70, s. 2666–2672.

Korespondující autor: prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

Přijato do tisku: 11. 11. 2024

Lektorováno: 2. 12. 2024

STANOVENÍ SCHOPNOSTI TVORBY BIOMASY U EPS-PRODUKUJÍCÍCH KMENŮ PO SELENIZACI POMOCÍ KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIE

Gabriela Krausová¹, Iva Mrvíková^{1,3}, Václav Peroutka²,
Irena Němečková¹, Ivana Hyršlová^{1,3}, Antonín Kaňá²

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

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

³ Česká zemědělská univerzita v Praze

Determination of biomass formation ability in EPS-producing strains after selenization using confocal microscopy

Abstrakt

Předložená studie zkoumá vliv selenizace na schopnost tvorby biomasy u bakteriálních kmenů produkujících exopolysacharidy (EPS), pomocí konfokální mikroskopie. Testováno bylo pět bakteriálních kmenů (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 72, *Enterococcus faecium* CCDM 922A, *Streptococcus thermophilus* CCDM 144 a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

CCDM 767), včetně probiotického kmene *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®], které byly kultivovány v médiu s různými koncentracemi seleničitanu sodného (10, 30 a 50 mg/l). Schopnost tvorby biomasy selenizovaných kmenů byla porovnávána s neselenizovanými kmeny. Po sedmi dnech kultivace byla vyhodnocena tloušťka vzniklé komplexní biomasy (4,8–14 μm) pomocí konfokální mikroskopie. Výsledky naznačují rozdílný vliv koncentrace seleničitanu na schopnost tvorby biomasy testovaných kmenů. Statisticky významný vliv selenizace byl prokázán pouze u kmene BB-12[®] ($p < 0,05$), avšak nebyla zjištěna přímá závislost mezi koncentrací seleničitanu sodného a tloušťkou vytvořené biomasy. Ačkoliv se jedná o pilotní studii, získané výsledky přispívají k rozšíření dosavadních poznatků o vlivu selenizace na schopnost vybraných kmenů formovat biomasu, což je málo prozkoumaná oblast.

Klíčová slova: konfokální mikroskopie, biomasa, selenizace, exopolysacharidy, bakterie mléčného kvašení, BB-12[®]

Abstract

The presented study investigates the effect of selenization on the biomass formation ability of exopolysaccharide (EPS)-producing bacterial strains using confocal microscopy. Five bacterial strains were tested: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 72, *Enterococcus faecium* CCDM 922A, *Streptococcus thermophilus* CCDM 144, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 767, and the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®]. These strains were cultivated in a medium containing varying concentrations of sodium selenite (10, 30, and 50 mg/L). The biomass formation ability of the selenized strains was compared to that of non-selenized strains. After seven days of cultivation, the thickness of the formed complex biomass (ranging from 4.8 to 14 μm) was evaluated using confocal microscopy. The results indicate that the concentration of sodium selenite had varying effects on biomass formation among the tested strains. A statistically significant effect of selenization was observed only in the BB-12[®] strain ($p < 0.05$). However, no direct correlation was found between the sodium selenite concentration and the thickness of the formed biomass. Although this is a pilot study, the findings contribute to expanding existing knowledge about the impact of selenization on the ability of selected strains to form biomass, an area that remains underexplored.

Keywords: confocal microscopy, biomass, selenization, exopolysaccharides, lactic acid bacteria, BB-12[®]

Úvod

Konfokální laserová skenovací mikroskopie (CLSM) je fluorescenční mikroskopie s vysokým rozlišením, která umožňuje neinvazivní snímání vzorků v reálném čase. V základním uspořádání poskytuje fluorescenční vizualizaci