

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/330716151>

Monitoring failure of passive transfer in dairy calves (In Czech) Rozšíření možností faremní kontroly úrovně kolostrální imunity telat

Technical Report · November 2017

CITATIONS

0

READS

96

5 authors, including:



Šlosárková Soňa

Independent Researcher

22 PUBLICATIONS 52 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Stanislav Staněk

Mikrop Čebín

24 PUBLICATIONS 42 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Fleischer Petr

Veterinary Research Institute, Brno

17 PUBLICATIONS 13 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Alena Pechova

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno

362 PUBLICATIONS 1,834 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



EFSA FEEDAP Panel 2018-2021 [View project](#)



NAZV QJ1510217 [View project](#)



CERTIFIKOVANÁ METODIKA

Rozšíření možností faremní kontroly úrovně kolostrální imunity telat

**MVDr. Soňa Šlosárková, Ph.D.
Ing. Stanislav Staněk, Ph.D.
MVDr. Petr Fleischer, Ph.D.
doc. MVDr. Alena Pechová, CSc.
Ing. Eliška Nejedlá**

**Certifikovaná metodika
90/2017**

Rozšíření možností faremní kontroly úrovně kolostrální imunity telat

Autoři

MVDr. Soňa Šlosárková¹, Ph.D. (35 %)

Ing. Stanislav Staněk², Ph.D. (25 %)

MVDr. Petr Fleischer¹, Ph.D. (25 %)

doc. MVDr. Alena Pechová¹, CSc. (10 %)

Ing. Eliška Nejedlá² (5 %)

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i. Brno

²Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha

Oponenti

Ing. Jan Vodička

MZe ČR

doc. MVDr. Leoš Pavlata, Ph.D.

MENDELU Brno

Metodika byla vypracována v rámci řešení výzkumného projektu **NAZV QJ1510219** (80 %) a **MZe RO0517** (10 %) a **MZe RO0717** (10 %).

Osvědčení č. 17210/2017-4 o uplatnění certifikované metodice ze dne 31. 11. 2017

Vydalo: Ministerstvo zemědělství, Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1

ISBN 978-80-88233-10-7

Obsah

1	CÍL METODIKY	3
2	VLASTNÍ POPIS METODIKY	3
2.1	Úvod	3
2.2	Faktory ovlivňující kolostrální imunitu.....	3
2.2.1	Kvalita mleziva.....	3
2.2.2	Objem mleziva.....	4
2.2.3	Čas podání mleziva.....	5
2.2.4	Způsoby podání mleziva.....	5
2.2.5	Bakteriální kontaminace mleziva	7
2.3	Selhání pasivního přenosu imunity.....	7
2.4	Možnosti ověřování dosažené kolostrální imunity.....	8
2.4.1	Odběry krve a separace séra.....	8
2.4.2	Vyšetření kolostrální imunity telete.....	9
2.4.2.1	Přímé stanovení obsahu imunoglobulinů.....	9
2.4.2.2	Nepřímé ověření kolostrální imunity.....	10
2.4.2.2.1	Laboratorní stanovení celkové bílkoviny, příp. globulinů	10
2.4.2.2.2	Stanovení celkové bílkoviny refraktometrem	11
2.4.2.2.3	Stanovení % Brix refraktometrem	11
2.5	Vyhodnocování výsledků a využití v managementu.....	12
2.5.1	Vyhodnocování výsledků na úrovni telete	12
2.5.2	Vyhodnocování výsledků na úrovni skupiny telat/stáda	15
3	SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ A ZDŮVODNĚNÍ.....	16
4	POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY	21
5	EKONOMICKÉ ASPEKTY.....	21
5.1	Náklady na zavedení ověřování kolostrální imunity	23
5.2	Přínosy spojené se zavedením rutinní kontroly imunitní vybavenosti.....	24
6	SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY	26
7	SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	29
8	SEZNAM ZKRATEK.....	30
PŘÍLOHA K METODICE		
FAREMNÍ KONTROLA KOLOSTRÁLNÍ IMUNITY TELAT KROK ZA KROKEM.....		31
1. POSTUP PŘI ZÍSKÁVÁNÍ KREVNÍCH SÉR TELAT		32
2. TYPY REFRAKTOMETRŮ PRO VYŠETŘENÍ KREVNÍCH SÉR.....		34
3. VYŠETŘENÍ KREVNÍHO SÉRA REFRAKTOMETRY		35
4. VYHODNOCOVÁNÍ.....		36
Vyhodnocování výsledků na úrovni telete.....		36
Vyhodnocování výsledků na úrovni skupiny telat/stáda		37
Ověření výsledků laboratorním vyšetřením celkové bílkoviny (globulinů), příp. IgG		37

1 CÍL METODIKY

Cílem této metodiky je rozšíření, resp. ucelení znalostí o aktuálních možnostech, jak ověřovat množství kolostrálních protilátek u novorozených telat, které je závislé na jejich vstřebání v trávicím traktu z přijatého mleziva do krve. Dalším cílem je formulování zejména faremních možností rychlého a efektivního hodnocení imunitní vybavenosti telat.

2 VLASTNÍ POPIS METODIKY

2.1 Úvod

U skotu není kvůli syndesmochoriálnímu typu placenty umožněn prostup protilátek z krve matky do plodu. Telata se proto rodí v podstatě bez imunoglobulinů (Godden, 2008; Beam a kol., 2009) a jejich imunitní výbava tak závisí na tzv. pasivní imunizaci, tj. na přijetí mleziva a resorpci kolostrálních imunoglobulinů a dalších imunologicky aktivních látek přes střevo. U dojených plemen skotu tedy pasivní imunizace závisí výhradně na správném a včasném napojení telete mlezivem nebo mlezivovou náhražkou (Weaver a kol., 2000). Mlezivem se rozumí nádoj z prvního podojení po otelení.

2.2 Faktory ovlivňující kolostrální imunitu

Pro zajištění dobré úrovně mlezivem zprostředkované imunity u telat jsou klíčové následující faktory:

- kvalita mleziva,
- objem přijatého mleziva,
- doba podání první (a druhé) dávky mleziva,
- způsob podání mleziva,
- bakteriální kontaminace mleziva

(např. Weaver a kol., 2000; Godden, 2008; Godden a kol., 2009; Fleischer a Šlosárková, 2013).

2.2.1 Kvalita mleziva

Mlezivo sice obsahuje mnoho imunologicky a nutričně jedinečných složek, ale jeho imunologická kvalita se posuzuje rutinně pouze na základě zhodnocení koncentrace imunoglobulinů třídy G (IgG), tj. na základě kvantitativního hodnocení. Obsah IgG je přitom velice variabilní. Za akceptovatelně kvalitní je mezinárodně považováno mlezivo s koncentrací

IgG minimálně 50 g·l⁻¹, v některých studiích teprve od 60 g·l⁻¹ (Dairy Australia, 2012; Heinrichs a Jones, 2017). Rutinní kontrola kvality mleziva může být jedním z klíčových prvků pro adekvátní nastavení managementu mlezivové výživy telat. Bohužel, z průzkumu Staňka a kol. (2014) vyplynulo, že kvalitu mleziva ověřuje pouze 44,1 % tuzemských chovů dojeného skotu (tabulka 1).

Tabulka 1: Souhrn základních parametrů managementu mlezivové výživy ve 136 tuzemských chovech (Staněk a kol., 2014), upraveno

Zkoumaná veličina	Kategorie	Všechny chovy %	Chovy C ¹ %	Chovy H ² %
Mlezo od prvotetek	nezkrumujeme	8,1	7,8	8,5
	občas zkrumujeme	46,3	44,2	49,2
	vždy zkrumujeme	45,6	48	42,3
Kontrola kvality mleziva	ano	44,1	39	50,9
	ne	55,9	61	49,1
Zásobní rezervy mleziva	ano	73,5	72,7	74,6
	ne	26,5	27,3	25,4

¹ C – český strakatý skot, ² H – holštýnský skot

2.2.2 Objem mleziva

Pro zajištění adekvátní imunitní vybavenosti je třeba, aby tele přijalo při prvním napojení 150 až 200 g IgG. S ohledem na výše uvedené požadavky na kvalitu mleziva by proto tele při prvním napojení mělo dostat, a to v závislosti na způsobu podání, minimálně 2,8 l (při sání z cucáku), nebo 3,8 litrů mleziva při podávání sondou (McGuirk, 2010), přesněji ekvivalent odpovídající 10 až 12 % tělesné hmotnosti narozeného telete, obzvláště pokud nebyla zkontrolována kvalita mleziva (Godden, 2008). Podle United States Department of Agriculture (USDA, 2010) by měla telata plemen velkého tělesného rámce s porodní hmotností cca 40 kg (např. plemena holštýnského skotu a brown swiss) dostat jícnovou sondou vysoce kvalitní mlezivo v objemu 3,8 l během první hodiny po narození, zatímco u telat plemen menšího tělesného rámce (např. plemena jersey a ayrshire) může postačovat 2,8 l mleziva. Fleischer a Šlosárková (2013) dokladovali vyšší výsledky koncentrace protilátek v krvi novorozeneých telat, kterým byly při optimalizovaném postupu péče při prvním napájení nabídnuty 4 l mleziva na rozdíl od telat rutinně ošetřených a napojených 2 litry. Bohužel v tuzemských chovech bylo dokladováno napájení telat první dávkou mleziva do 6 hodin od narození v objemu průměrně 2,25 l, následně pak mezi 6 až 24 hodinami 2,5 l mleziva, přičemž medián celkového objemu

podaného mleziva na tele byl 5 l (Staněk a kol., 2014). Godden a kol. (2009) zjistili, že u 37,5 % telat byl problém s přijetím objemu 3 l mleziva na první napojení (láhev s cucákem).

2.2.3 Čas podání mleziva

S postupujícím časem mezi otelením a napojením první dávkou mleziva dochází u telat k zranění střevních epitelových buněk, ale i kolonizaci střeva bakteriemi a zvyšování produkce trávicích enzymů, tedy k procesům, které zhoršují, až zcela brání, vstřebávání bílkovin z mleziva (Quigley, 2002). Např. 6 hodin po otelení činí absorpční kapacita střeva pouze přibližně 50 % původní kapacity. Zásadní vliv na tento pokles přitom má kontakt střevních buněk s jakýmkoli materiálem (Cortese, 2009). Tyto procesy jsou také významně akcelerovány, pokud tele zůstává u matky déle jak 15 až 30 minut, nebo pokud se od ní pokouší sát mlezivo (McGuirk, 2011a). V tuzemských chovech je dle Staňka a kol. (2014) nejčastější dvouhodinový interval mezi narozením a prvním napojením telete mlezivem. To je zcela v souladu s doporučeními, že by chovatel měl podat mlezivo telatům v průběhu 1. až 2. hodiny po narození, nejpozději však do 6 hodin (Godden, 2008). Pro chovatele je v tomto směru závazná vyhláška č. 208/2004 Sb., O minimálních standardech pro ochranu hospodářských zvířat, resp. § 2, kde se uvádí, že „chovatel musí zajistit, aby novorozené tele přijalo co nejdříve, nejpozději do 6 hodin po narození, dostatečné množství mleziva od matky nebo z jiného zdroje“.

2.2.4 Způsoby podání mleziva

U telat dojených plemen není pro zajištění dostatečné hladiny protilátek vhodné se spoléhat na přirozené sání od matky, protože zde hrozí vysoké riziko příjmu nedostatečného množství mleziva a/nebo nedostatečně kvalitního mleziva. Důvodů pro řízené napájení telat mlezivem je hned několik:

- některé krávy mají vemena a/nebo struky nevhodných tvarů a rozměrů, což může být výraznou komplikací při sání telete (zvláště v případě prověšených vemen se struky nízko nad podlahou porodního kotce apod., zatímco přirozeně tele hledá vemeno v místě přechodu břicha ve stehno),
- ne každá kráva je ochotná nechat tele sát (problémy spojené s některými prvotelkami – chybějící mateřský pud, agresivita matky apod.),
- zcela chybí kontrola kvality (a smyslové posouzení) mleziva,
- u telete sajícího pod matkou není přehled o množství přijatého mleziva,

- akcelerace uzavírání sliznice střeva (díky často masivnímu kontaktu s mikroflórou a/nebo s mlezivem),
- telata s nedostatečným sacím reflexem a jinými zdravotními problémy, např. po ztížených porodech, jsou odkázána na asistenci ošetřovatele, protože sama by se nenapila, nebo pozdě a málo.
- v případě omezené průchodnosti strukového kanálku je u telete zvýšené riziko nedostatečného příjmu mleziva.

Výhody a nevýhody různých způsobů podávání mleziva telatům jsou uvedeny v tabulce 2. Doplnit lze, že pokud tele nevypije během např. 10 minut požadované množství mleziva, zbytek mleziva by mu měl být podán jícnovou sondou. Při nedostatku mleziva nebo při šetření kolostrální náhražkou je třeba upřednostnit sání z láhve před podáním sondou pro vyšší účinnost vstřebávání IgG (Godden a kol., 2009).

Tabulka 2: Výhody a nevýhody různých způsobů podávání mleziva telatům (Staněk a kol., 2014), upraveno

Způsob podání mleziva	Výhody	Nevýhody
Pozinkované nádoby s cucákem	Sání mleziva přes cucák, jednoduché zacházení a snadné čištění, dobrá skladovatelnost, dostatečný objem – 3, resp. 4 litry.	Chybí rysky pro odměřování vypitého mleziva, rychlejší chladnutí mleziva, a to v porovnání s plastovými láhvemi.
Plastové láhve s cucákem	Sání mleziva přes cucák, jednoduché zacházení, výborný přehled o množství přijatého mleziva, dobrá skladovatelnost, povětšinou dostatečný objem – 3 litry, některé typy umožňují regulovat průtok mleziva při sání, dobrá termostabilita mleziva.	Čištění vyžaduje použití mycích pomůcek, některé o objemu jen 2 l, některé typy cucáků mají neadekvátně velký průměr, u některých typů cucáků dochází k velmi rychlému znehodnocení jeho špičky – prasknutí cucáku (nutná pravidelná kontrola a výměna), některé cucáky jsou pro telata příliš „tvrdé“.
Plastová vědra s cucákem	Sání mleziva přes cucák, umožňuje odměřovat dávky mleziva a kontrolovat i jeho spotřebu, samotná vědra lze dobře čistit a dezinfikovat.	Namáhavější manipulace s více vědry současně, rychlejší chladnutí mleziva, horší čištění (držák cucáku a případně i nasávací trubička), často neadekvátně velký průměr cucáku.
Napájení z volné hladiny	Velmi jednoduché - snadné čištění a dezinfekce, dobrá skladovatelnost většího počtu nádob.	Rychlé chladnutí mleziva, zcela nefyziologický a organizačně náročný způsob napájení telat mlezivem, <u>nedoporučuje se!</u>

Jícnová sonda	Zajištění příjmu mleziva u telat s omezeným sacím reflexem či bez něj. Možnost podat požadovaný/větší objem, který by tele samo nepřijalo. Relativně rychlý způsob. Přehled o příjmu mleziva teletem.	Vyžaduje zručnost a zkušenost ošetřovatele při zavádění sondy (riziko zavedení sondy do průdušnice). Nižší efektivita absorpce IgG (pro opožděný přesun do střeva). Horší čistitelnost (často v jícnové sondě jsou zbytky mleziva – zahnívající, plesnivějící), některé typy příliš tvrdých sond mohou velmi dráždit sliznici dutiny ústní a jícn (riziko protržení jícnu), druhé a další napojení bývá problematické – častá neochota telat sát.
----------------------	---	---

2.2.5 Bakteriální kontaminace mleziva

Přijímané mlezivo může obsahovat patogenní organismy, které mohou pocházet ze samotné mléčné žlázy, častěji však počet mikroorganismů v mlezivu značně vzrůstá v průběhu jeho získávání (tj. dojení), při jeho skladování, z nádob, se kterými přichází mlezivo do kontaktu, a vlastním množením bakterií v uskladněném mlezivu (McGuirk a Collins, 2004; Johnson a kol., 2007) a situace v tomto ohledu není v ČR zdaleka uspokojivá (Staněk a kol., 2016). K nejvýznamnějším patogenům, které mohou být do mleziva přenášeny uvolňováním z mléčné žlázy, nebo se do něj dostávají z prostředí, patří mj. *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* (Stewart a kol., 2005; Houser a kol., 2008; Godden a kol., 2015). Tyto infekční agens mohou přímo vyvolávat onemocnění (enteritidy, sepse, infekce kloubů), ale mohou být i příčinou vzniku řady chronických či subklinických infekcí, které se projeví až výrazně později (např. paratuberkulóza). Mikrobiální kontaminace mleziva negativně zasahuje i do systému vstřebávání imunoglobulinů v tenkém střevě (Stewart a kol., 2005), čímž redukuje pasivní kolostrální imunitu (James a kol., 1981).

2.3 Selhání pasivního přenosu imunity

Úroveň dosažené kolostrální imunity má zásadní vliv na zdraví a prosperitu telat v období mléčné výživy. Nedostatečná výbava mateřskou imunitou se u nich v závislosti na dalších podmínkách chovu často projevuje zvýšením nemocnosti a příp. i úhynů, (McGuirk a Collins, 2004; Mokhber-Dezfooli a kol., 2012). V nepříznivých podmínkách u nich byla zaznamenána 3krát větší nemocnost a 6krát častější úhyn v porovnání s telaty s adekvátní koncentrací IgG v krvi (Stilwell a Carvalho, 2011). Výbava protilátkami ale ovlivňuje prosperitu zvířat i po odstavu, zejména má vliv na přírůstky, konverzi živin, věk při prvním otelení, a dokonce i mléčnou užitkovost v první a druhé laktaci (Fallon, 1978; Robison a kol., 1988). Zajišťování

kolostrální imunity je problémem zejména v chovech dojeného skotu. Ponechání telete u matky a sání kolostra přímo od ní vede velmi často k nízké kolostrální imunitě a k vystavení telete i vysokému počtu bakterií. Z hlediska zdraví telat je tedy doporučováno oddělení telete od matky do 15., maximálně 30 minut, vydojení kolostra a jeho následné řízené podávání teleti (McGuirk, 2011b). Nedostatečné vybavení telat imunoglobuliny je označováno jako „selhání pasivního přenosu imunity“ (SPPI). Je to situace, kdy obsah imunoglobulinů třídy G (IgG) v séru telete 2. a 3. den po narození je nižší než $10,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ (Godden, 2008), protože telata v prvním týdnu života by měla mít v séru obsaženo minimálně $10,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ IgG (McGuirk, 2011b). Meta-analýza nákladů spojených s výskytem SPPI dospěla k hodnotě 60 € při rozmezí 10 až 109 € (Raboisson a kol., 2013).

2.4 Možnosti ověřování dosažené kolostrální imunity

Chovatelé dojeného skotu mohou celý úsek mlezivové výživy kontrolovat posouzením dosažené úrovně kolostrální imunity telat (Šlosárková a kol., 2017). Tím také ověří adekvátnost nastavených pracovních postupů a hlavně jejich dodržování. V současnosti je již několik dostupných metod, resp. možností, podmínkou všech je mít k dispozici krev, resp. krevní sérum od kontrolovaného telete do jednoho týdne věku.

Názorně a jednoduše jsou terénní postupy ověřování dosažené kolostrální imunity zpracovány v příloze „Faremní kontrola kolostrální imunity telat krok za krokem“, zatímco zde jsou následně rozvedeny pracovní postupy včetně jejich vysvětlení a zdůvodnění, které se opírají o námi provedenou studii úrovně kolostrální imunity telat v ČR (viz kapitola 3).

2.4.1 Odběry krve a separace séra

Odběry krve zajišťuje chovateli standardně veterinární technik, či veterinární lékař. Krev se odebírá u telat 2. až 7. den jejich věku (tj. věk min. 24 hodin a max. týden) z jugulární žíly, a to např. do jednorázových odběrových zkumavek typu HEMOS pro skot, nebo do zkumavek určených pro odběr krve, resp. získávání séra, ideálně s přidanými separačními granulemi urychlujícími srážení (ty jsou benefitem zejména v zimním období, kdy je srážení krve problematické, jelikož nebývá včas zajištěna dostatečná teplota vzorku pro nastartování přirozeného srážení). Po odběru je vhodné postavit zkumavky s krví svisle do nádoby nebo stojánku a mít je uloženy v teple (ideálně nejméně 0,5 hod. při teplotě 38°C), poté dalších 6 až 24 hod. při pokojové teplotě, čímž se usnadní srážení krve a uvolnění séra. Je potřeba se vyvarovat třepání se vzorkem (docházelo by k mechanickému poškození červených krvinek

a k jejich rozpadu - hemolýze) a vzorek se nesmí vystavit přímému slunečnímu záření. Krevní sraženinu, pokud je pevně uchycena na stěně, je před odsátím (stažením) séra potřeba nejprve obkroužit špejlí, aby klesla na dno a aby sérum mohlo vystoupit nad ni. Po takovémto uvolnění sraženiny je vhodné znovu několik hodin nechat vzorek stát, aby došlo k opětovnému usazení zvířených červených krvinek. Další možnou variantou je odstředění plně sražené krve v přenosných a na trhu cenově dostupných malých centrifugách (cena od cca 10000 Kč). Odstředování při maximálně 3000 otáčkách za minutu většinou trvá 15 minut. Získané sérum určené k vyšetření, by mělo mít žlutavou barvu. Načervenalá až červená barva séra ukazuje na hemolýzu a takový vzorek nebude při vyšetření vykazovat správné hodnoty (Staněk a kol., 2016).

2.4.2 Vyšetření kolostrální imunity tele

Kolostrální imunitu, resp. její přenos lze vyšetřit buď přímo stanovením obsahu imunoglobulinů, nebo nepřímě. Nepřímé ověření se dělá buď biochemickým vyšetřením jiných parametrů, kterými jsou zejména celková bílkovina, případně další, např. globuliny, gama-glutamyltransferáza (Pavlat, 2009), nebo fyzikálně – refraktometricky stanovenými parametry, kterými jsou opět celková bílkovina nebo v ČR nově procenta Brix (% Brix).

2.4.2.1 Přímé stanovení obsahu imunoglobulinů

Nejpřesnější metodou určení úrovně přenosu kolostrální imunity telat je cílené stanovení koncentrace imunoglobulinů v séru. Toto vyšetření lze prozatím provádět pouze v laboratorních podmínkách. Je několik metod, kterými lze koncentraci IgG stanovit.

Z přímých metod byla a je doposud v ČR využívána pouze zjednodušená kontrola kolostrální imunity prostřednictvím precipitačního testu se síranem zinečnatým (Šlosárková a kol., 2014), což je poměrně stará metoda srážející dominantně imunoglobuliny, která vychází z metodiky publikované Slaninou a kol. (1976).

Další možností je stanovování IgG standardizovanými komerčními ELISA metodami, které doposud nebyly v ČR rutinně uplatněny.

Za zlatý standard ve stanovení koncentrace IgG je celosvětově považována radiální imunodifuze (RID). Stanovování hovězích IgG pomocí RID (IgG-RID) nebylo do současnosti v laboratořích ČR komerčně dostupné. Lze ho aktuálně provádět na Výzkumném ústavu veterinárního lékařství, kde byla tato metoda, která je známá ze zahraničí, modifikována a zavedena. Princip spočívá

v tom, že vzorek séra, resp. v něm obsažené protilátky po nanesení do jamky v agaru difundují do okolí a ve vrstvě agaru reagují s králičími protilátkami proti hovězím IgG, které jsou do agaru v určitém objemu dodány. Reakce je vizuálně detekovatelná jako prstenec. Jeho průměr se následně vyhodnocuje pomocí kalibrační křivky, která je sestavena ze vzorků se známou koncentrací IgG. Přesný postup RID je detailně popsán ve funkčním vzorku (Krejčí a kol., 2016), který byl za účelem ověřování úrovně kolostrální imunity telat vyvinut.

Jakkoli je RID považována za zlatý standard, je její realizace relativně časově i materiálově náročná, pracná a existuje u ní vyšší riziko nespolehlivosti (McCracken a kol., 2017). Proto jde také o metodu s vysokou cenou (80 Kč/vzorek). Z těchto důvodů je její použití omezeno spíše pro vědecké účely a pro účely ověření výsledků ostatních, v současnosti především terénních alternativních metod.

2.4.2.2 Nepřímé ověření kolostrální imunity

Chovatelská praxe má dnes možnost hodnotit imunitní vybavenost telat rychleji a levněji než dříve. Jedná se o její nepřímou kontrolu především na základě měření obsahu celkové bílkoviny (CB) v séru telat buď laboratorně biochemicky, či pomocí refraktometru, protože imunoglobuliny jsou její významnou částí a oba parametry spolu úzce korelují. Např. v USA je CB v sérech jaloviček dojených plemen rutinně kontrolována ve 40 % podniků specializujících se na smluvní odchov jaloviček, resp. v 32 % těchto podniků s počtem 100 až 999 jaloviček a v 72 % podniků s počtem 1000 jaloviček a vyšším (USDA, 2012). Nově lze posuzovat úroveň imunitní vybavenosti telat pomocí univerzálního refraktometru (% Brix).

2.4.2.2.1 Laboratorní stanovení celkové bílkoviny, příp. globulinů

Celkovou bílkovinu v sérech telat lze nechat vyšetřit v laboratořích, a to jak veterinárních, tak i v humánních. V laboratořích je CB stanovována fotometricky standardizovanou metodou na principu biuretové reakce. Toto vyšetření je dnes rutinně prováděno pomocí biochemických analyzátorů s komerčními diagnostickými sety určenými ke stanovení celkové bílkoviny (např. L Protein total, Cat. No. 12751 (Biovendor, ČR)). Cena analýzy činí přibližně 20 Kč/vzorek.

Mírně přesnější výsledky (vzhledem k vyšší korelaci s IgG-RID) lze dosáhnout při souběžném laboratorním stanovení albuminu, resp. dopočítání koncentrace globulinů (odečtem obsahu albuminu od CB). Pro nepříznivý poměr vyšších nákladů vyšetření (o přibližně 25 Kč/vzorek) a jeho přínosů tato kombinace není běžně využívána.

2.4.2.2.2 Stanovení celkové bílkoviny refraktometrem

Druhou metodou stanovení obsahu CB je použití refraktometru. Na trhu jsou dostupné ruční refraktometry jak optické (cena přibližně 1 až 4 tis. Kč), tak i digitální (cena od 5 až do 20 tis. Kč) s rozsahem měření od 1 až do 14 g·dl⁻¹, tj. od 10 až do 140 g·l⁻¹ séra, s teplotní kompenzací nebo bez ní. Všechny typy ručních refraktometrů byly prověřeny a vyhodnoceny jako v zásadě použitelné (Calloway a kol., 2002; Deelen a kol., 2014; Elsohaby a kol., 2015). Refraktometry pro stanovení obsahu celkové bílkoviny pracují s indexem lomu světla, které prochází daným roztokem. Tyto hodnoty byly korelovány jak s indexem lomu čisté vody, tak i s přesně stanovenými laboratorními hodnotami. Index lomu světla krevního séra nebo plasmy je přímo závislý na obsahu proteinů, které tvoří jejich majoritní pevné složky.

Před měřením vzorků je třeba refraktometr kalibrovat. Kalibrování se provádí kápnutím 1 až 2 kapek vody (pitné, destilované) na šikmý hranol optického refraktometru nebo do měřicí jamky digitálního refraktometru. Po přiklopení průsvitné krytky u optického refraktometru a zhodnocení, kde se nachází modro-bílé rozhraní, hodnotitel kalibračním šroubováčkem nastaví rozhraní na nulovou hodnotu. U digitálního refraktometru po zavření neprůhledného krycího víčka, dochází stiskem tlačítka k automatické kalibraci. Po osušení je následně refraktometr připraven k užití.

Na hranol optického, nebo do měřicí jamky digitálního refraktometru se kápnou 1 nebo 2 kapky séra a uživatel ihned buď odečte výslednou hodnotu celkové bílkoviny na stupnici díky zobrazenému barevnému rozhraní, nebo u digitálního refraktometru přečte výsledek z displeje.

2.4.2.2.3 Stanovení % Brix refraktometrem

Nejnovější možností je hodnocení krevního séra telat pomocí univerzálního refraktometru se stupnicí Brix (%), tj. refraktometru, který chovatelé mohou současně používat i k hodnocení kvality mleziva (Morrill a kol., 2012; Deelen a kol., 2014).

Stupnice Brix byla zavedena k vyjádření koncentrace sacharózy v roztoku (džusy, melasa, víno), kdy 1 stupeň Brix (1 % hmotnostní) odpovídá 1g sacharózy ve 100 ml roztoku. U necukerných roztoků vyjadřuje jejich sušinu (Deelen a kol., 2014), přesněji koncentraci opticky aktivních látek v roztoku. U krevního séra i mleziva sušina koreluje s obsahem imunoglobulinů. I tyto refraktometry je třeba kalibrovat, viz výše. Pro odhad imunitní vybavenosti telat je vhodné použít ruční optické refraktometry se stupnicí 0 až 32 % Brix.

2.5 Vyhodnocování výsledků a využití v managementu

Výsledky vyšetření jednotlivých (zvolených) parametrů **se** v poradenské, ale i ve vědecké oblasti, zpravidla nakonec neposuzují podle jejich absolutní výše, ale **porovnávají s hraniční hodnotou** (cut-pointem). Pokud potom máme výsledky většího počtu telat (což je pro monitoring žádoucí), vyjadřuje se většinou počet, resp. podíl telat nedostatečně (a dostatečně) vybavených kolostrálními protilátkami a hodnocení se nakonec soustředí na stanovení podílu vzorků, které daný limit nesplňují (a splňují).

Tímto tradičním přístupem bylo vyhodnocování zpracováno i do přehledné a jednoznačné podoby v příloze této metodiky „Faremní kontrola kolostrální imunity telat krok za krokem“, zatímco v této kapitole jsou podrobněji rozvedeny i inovované varianty vyhodnocování včetně jejich zdůvodnění a návrhů na užití k motivaci výkonných pracovníků.

2.5.1 Vyhodnocování výsledků na úrovni telete

Selhání pasivního přenosu imunity je sice definováno na základě IgG-RID - „zlatého standardu“, ale stanovování přímo IgG-RID je ale poměrně komplikované (McCracken a kol., 2017) a jako rutinní diagnostická metoda není využíváno nikde ve světě.

Při rutinním monitoringu úrovně kolostrální imunity se běžně používají výše popsané nepřímé metody. Hodnocení dle výsledků nepřímých metod se ale neshodují 100% s hodnoceními dle standardu (tj. neshodují se vždy v zařazení telat mezi akceptovatelně, či nedostatečně vybavená), mj. proto, že se u nepřímých metod nejedná o stanovení téže látky pouze jinou metodou, ale o stanovení jiného parametru.

Hraniční hodnoty jsou obecně vyhledávány tak, že se ve studiích s IgG-RID a daným druhým parametrem stanoveným konkrétní metodou (vč. konkrétního přístroje) hledá **vyvážený stav mezi citlivostí testu a specifičností**, tj. co nejsprávnější zařazení jak pozitivních, tak negativních výsledků současně, i když jedno jde vždy na úkor druhého. Odborně vyjádřeno se jedná o (nejlepší) kombinaci senzitivity (neboli citlivosti testu) a specifity (specifičnosti) a tudíž dohromady o (co největší) přesnost, tj. správnost v rozhodování, zda se jedná o selhání pasivního přenosu imunity či nikoli. I při stejné metodě vyšetření CB nebo % Brix ale různé studie dospívají k jiným hraničním hodnotám s nejlepší kombinací senzitivity a specifity. Rozdíly v optimálních hraničních hodnotách jsou vysvětlovány např. variabilitou refraktometrů použitých v různých studiích (Elsohaby a kol., 2015). Především u digitálních refraktometrů hraje podstatnou roli jeho konstrukční provedení, tj. kvalita, mající vliv na jeho cenu (již od 5 do 24 tis. Kč), ale i na spolehlivost jednotlivých výsledků, tj. na korelaci se standardem.

U celkové bílkoviny stanovené refraktometricky (CB-R) doporučujeme hraniční hodnotu 52 g/l. V zahraniční odborné literatuře jsou pro posuzování adekvátnosti přenosu imunity používány **hraniční hodnoty 50, 52 a aktuálně nejčastěji 55 g/l** (McGuirk, 2011b, Elsohaby a kol., 2015), mj. i proto, že při této byla jimi zjištěna nejlepší kombinace senzitivity a specifity (Elsohaby a kol., 2015). V naší studii, která byla podkladem pro tuto certifikovanou metodiku, indikovala selhání pasivního přenosu imunity vyváženěji hraniční hodnota CB-R 52 g·l⁻¹ (Šlosárková a kol., 2017).

Pro koncentraci **celkové bílkoviny stanovené laboratorně (CB-L)** byla v ČR původně doporučena vyšší hraniční hodnota 60 g·l⁻¹ (Pavlata, 2009, Šlosárková a kol., 2011), která vychází z laboratorního stanovení CB fotometricky na principu biuretové reakce. Tato, resp. obecně vyšší hodnota pro CB-L než pro CB-R je v souladu s dřívějším poznatkem, že hodnoty CB stanovené fotometricky jsou mírně vyšší než refraktometrické hodnoty (Kraft a Dürr, 2001, Fleischer a Šlosárková, 2013). Stockham a Scott (2008) upřesnili, že tento rozdíl dosahuje cca 3 g·l⁻¹, ale u vzorků, které nejsou hemolytické. U žloutenkových a lipemických byly popsány i mnohem větší rozdíly. Nicméně tuzemská hranice CB-L 60 g·l⁻¹ nebyla odvozena od „zlatého standardu“ ale od výsledků jiných parametrů. Námi je na základě aktuálně provedené studie s IgG-RID (viz kapitola 3) prezentována jako v daných souvislostech **doporučitelná hraniční hodnota pro CB-L 55 g·l⁻¹** (Šlosárková a kol., 2017).

Výše uvedené mezní hodnoty byly stanoveny z významné části na holštýnském plemeni. V práci zaměřené čistě na plemeno jersey byla jako nejvyváženější hraniční hodnota CB-R nalezena koncentrace 46 g·l⁻¹, současně bylo prověřeno a doporučeno u plemene jersey používat jako hraniční hodnotu CB-R maximálně 50 g·l⁻¹ (McCracken a kol., 2017).

U nejnovějšího způsobu hodnocení kolostrální imunity pomocí univerzálních refraktometrů, které měří **% Brix**, byly v novějších studiích v souladu s námi jako **hraniční hodnoty** pro vyváženou indikaci SPPI u **holštýnských** telat nalezeny (tj. měly nejlepší kombinaci senzitivity a specifity) hodnoty **8,4** resp. **8,3 % Brix** (Deelen a kol., 2014, resp. Elsohaby a kol., 2015), zatímco u telat plemene jersey byla nalezena hodnota 7,3 % Brix (McCracken a kol., 2017).

Z předchozího vyplývá, že absolutní **výše hraniční hodnoty je variabilní** a to **v závislosti na okolnostech**, kterými jsou např. metoda stanovení, typ přístroje, plemeno nebo způsob využití hodnocení. Navíc hodnocení telat na základě výsledků nepřímých metod se shodují s hodnoceními dle standardu maximálně v 80 – 85 % případů, tj. minimálně u 15 – 20 % zvířat

dochází k chybě při zatřídění telat mezi akceptovatelně, či nedostatečně vybavená. Volba hraničních hodnot tak zůstává i do budoucna otevřenou záležitostí dle okolností, protože může záviset i na snaze omezit právě falešně pozitivní (SPPI) nebo falešně akceptovatelné výsledky. Zjednodušeně vyjádřeno, pokud by například byl účelem testování podklad pro negativní hodnocení ošetřovatelů za telata neuspokojivě vybavená, měly by se použít hraniční hodnoty nižší než vyvážené, které mají ještě menší pravděpodobnost, že tele sice bude akceptovatelně vybavené dle IgG-RID, tj. nebude mít méně než $10,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ IgG, ale bude podlimitní v hodnotě CB. Naopak pokud by hodnoty CB měly sloužit pro odměňování za příkladně vybavená telata, pak by se mohly použít hraniční hodnoty vyšší než vyvážené, u kterých je minimální pravděpodobnost, že nedostatečně vybavené tele bude mít nadlimitní hodnotu CB.

Kromě upozornění na omezenou správnost v zatřídění všech telat pomocí nepřímého ověřování, chceme dále upozornit na možnost, že si podnik (především větší nebo ten, který zavede vyšetřování většiny/všech telat) může vytvořit **vlastní systém motivace výkonných pracovníků**, přičemž nejúčinnější motivací je odměňování. Pro podnikový systém mohou být zvoleny nebo odvozeny hraniční hodnoty, které budou korespondovat s úrovní podnikových výsledků.

Navíc netradičně spíše než na nedostatečně vybavená telata je možné se pozitivně zaměřit na **dosahování co nejlepších hodnot**. Tj. např. menší odměna bude za nadprůměrně vybavené tele, (resp. tele, jehož výsledek bude v lepší polovině výsledků) a větší odměna za tele opravdu příkladně vybavené, tj. takové, jehož výsledek se např. dostal mezi čtvrtinu nejlépe vybavených telat. V našem souboru (viz kapitola 3, tabulka 3) by za příkladně vybavená mohla být označena telata, jejichž výsledek dosáhl minimálně hodnoty pro 3. kvartil (hranice horních 25 % výsledků). Přibližně v tomto duchu bylo u nás již dříve doporučeno usilovat o hodnoty přesahující u CB-L $65 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a u globulinů $35 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ (Šlosárková a kol., 2011). V malé australské studii (48 telat, plemeno holštýnské a jeho kříženci) (Thornhill a kol., 2015) si od „zlatého standardu“ odvodili, že budou jako hraniční hodnotu používat 10 % Brix jako žádoucí hodnotu, nad níž už 100% žádné tele nemá SPPI. Přitom tato hodnota u nich byla těsně pod ½ lepších výsledků (pod mediánem). Tato studie jasně ukazuje, že hraniční hodnoty mohou být výrazně rozdílné. Taková hraniční hodnota by totiž v podmínkách naší studie byla neúměrně vysoká (viz kapitola 3, tabulka 3), protože je značně výše než i naše hranice 25 % nejlepších výsledků (9,2 % Brix). Patrně nejrychlejšího pokroku na úseku mlezivové výživy by podnik mohl dosahovat, pokud by používal **dvě hraniční hodnoty u téhož parametru**. První nízká hraniční hodnota by měla

ohraničovat oblast nezpochybnitelně velmi vysokého rizika SPPI a hlavně jeho následků. Druhá vysoká hraniční hodnota by naopak měla ohraničovat oblast velice nízkého rizika nedostatku kolostrální imunity, tj. oblast s předpokladem velmi pevného zdraví. Reakce vedoucích pracovníků (důsledky do odměňování) by měly být vyvozovány jak z výsledků pod nízkou hranicí tak i z výsledků nad vysokou hranicí. Nízká a vysoká hraniční hodnota by měly být od sebe poměrně vzdálené. Navrhujeme, aby tyto dvě hraniční hodnoty byly zvoleny přibližně v oblasti hranice dolních a horních 25 % výsledků. Na příkladu výsledků naší studie by zaokrouhleně mohly u CB-R činit 50 a 60 g·l⁻¹ a u % Brix přibližně 8 a 9 % Brix.

Odměňování za nadprůměrně dobře či příkladně vybavené tele by mohlo v řadě podniků **navázat na již praktikované osobní odměňování za odvedený porod** a ošetření novorozeného telete. Navíc by se tak mohlo podpořit správné vedení porodů, protože zbytečné zasahování do porodu až do podoby ztíženého porodu kvůli jeho úspěchání je jedním z faktorů snižujících výrazně vitalitu telat a možnost jejich příkladného vybavení mateřskými protilátkami (McGuirk, 2011a).

Přes určitou diskutabilnost výběru vhodné hraniční hodnoty CB nebo % Brix a jejich počtu je pro chovatele, resp. veterinární lékaře zásadní, že mají možnost zavést **efektivní systém hodnocení imunitní vybavenosti telat**. Nejpraktičtější je stanovení koncentrace CB v séru telat, případně % Brix refraktometricky, které je možno provádět přímo na farmách (Staněk a kol., 2016), případně stanovit CB fotometricky s využitím laboratorního zázemí.

2.5.2 Vyhodnocování výsledků na úrovni skupiny telat/stáda

I když spolehlivost zhodnocení mlezivové výživy u jednotlivých telat může být do určité míry omezená a komplikovaná volbou/použitím limitních hodnot, z pohledu managementu stáda je nejvýznamnější možnost periodicky vyhodnocovat úroveň kolostrální výživy telat prostřednictvím vyšetření reprezentativní skupiny. Doporučeno je **posuzování skupin telat (10, lépe 12 zvířat)**, přičemž se má hodnotit podíl telat s nedostatečnou kolostrální imunitou. **Při refraktometrickém stanovení CB má být maximálně 10 % telat pod 52 g/l a maximálně 20 % pod 55 g/l** (McGuirk, 2011a; McGuirk, 2011b; Staněk a kol., 2016). Při jednoznačně vyšší indikaci SPPI, např. při zjištění neuspokojivého přenosu u 4 a více telat z 12 (CB-R pod 55 g/l), se jedná o problém celého chovu, který je nutné důsledně řešit (McGuirk, 2011b).

Nejzásadnější a nezpochybnitelný přínos tedy spočívá v možnosti v daném chovu provádět víceméně pravidelná periodická testování (s konstantním vybavením a stejným způsobem) a **sledovat dynamiku** – případné zlepšení či zhoršení situace na úseku mlezivové výživy.

Kontrola mlezivové výživy by samozřejmě měla být navíc prováděna např. i při hromadnějším zhoršení zdraví či prosperity telat, při změně chovatelských postupů nebo při změně ošetřovatelů.

3 SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ A ZDŮVODNĚNÍ

Navrhovaný postup ověřování úrovně imunitní výbavy novorozených telat protilátkami z mleziva (odhalování telat nedostatečně vybavených) vychází z ověření poznatků o pozitivní korelaci mezi zlatým standardem detekovanými protilátkami a mezi stanovováním obsahu celkové bílkoviny v krevním séru laboratorně fotometricky a refraktometricky (tabulka 3).

Univerzální refraktometry se stupnicí % Brix dosud nebyly v ČR u chovatelů skotu rozšířené a v ČR nebyla publikována žádná práce o jejich využití k ověřování přenosu mateřských protilátek. Používání univerzálního refraktometru zjednodušuje práci v chovu skotu, protože umožňuje vybavení pouze jedním univerzálním přístrojem, který slouží jak pro práci s kolostrem, tak s krevním sérem telat, případně může být použit i pro měření sušiny mléčné náhražky apod. Prezentovaný postup dává možnost rychlého zisku výsledků přímo na farmě.

Na základě našeho ověření navrhované rutinní používání univerzálního refraktometru se stupnicí Brix ke kontrole imunitní výbavy telat je v ČR zcela novým postupem.

Jako první v ČR jsme provedli pro tuto certifikovanou metodiku výchozí studii hodnocení kolostrální imunity, která se opírala o zlatý standard, tj. o přímé stanovení IgG v séru telat radiální imunodifuzí (díky zavedení a plošnému otestování RID) a která přinesla srovnání výsledků RID s dvěma metodami stanovení CB, se stanovením % Brix a globulinu, viz tabulka 3.

V metodice jsou rozvedeny možnosti interpretace výsledků a využití ověřování kolostrální imunity k systematickému motivování výkonných pracovníků, což by mělo napomoci zlepšit její úroveň, která není souborně uspokojivá (Šlosárková a kol, 2017), jak vyplývá i zde níže ze zdůvodnění. Navrženo bylo i používání dvou (podnikových) hraničních hodnot téhož parametru, jako postup, který v ČR zatím není uplatňován.

Zdůvodnění

V rámci výzkumného projektu NAZV QJ 1510219 byla provedena studie o aktuální úrovni kolostrální imunity u novorozených telat v ČR. Vyhodnoceno bylo celkem 691 vzorků krevních sér (vyšetřených níže uvedenými metodami), které byly odebrány od klinicky zdravých telat ve 2.–7. dnu jejich věku. Telata pocházela ze 38 chovů dojeného skotu, přičemž se jednalo o 21 chovů plemene českého strakatého, 14 chovů plemene holštýnského skotu a ve 3 chovech byla chována obě plemena.

Tato studie se jako první v ČR opírala o zlatý standard hodnocení kolostrální imunity, tj. o přímé stanovení IgG v séru telat radiální imunodifuzí. Souběžně byla laboratorně změřena koncentrace celkové bílkoviny (CB-L) a globulinů, celková bílkovina byla stanovena také digitálním refraktometrem (CB-R), kterým bylo stanoveno i % Brix. Výsledky jsou prezentovány v tabulce 3.

Tabulka 3: Koncentrace IgG stanovené radioimunodifuzí (IgG-RID), globulinů, celkové bílkoviny stanovené laboratorně (CB-L) a refraktometrem (CB-R), a % Brix v krevních sérech novorozených telat (n=691), korelační koeficienty s IgG-RID, hraniční hodnoty a podíl vzorků s indikovaným selháním pasivního přenosu imunity (SPPI).

Parametr	Průměr	SD	1. kvartil (25 %)	2. kvartil (50 %)	3. kvartil (75 %)	r s IgG- RID	Hraniční hodnota	SPPI (%)
IgG-RID (g·l ⁻¹)	14,0	7,0	8,8	13,0	18,1	-	10,0	31,7
Globuliny (g·l ⁻¹)	33,2	8,7	26,7	32,6	38,9	0,82	30,0	38,4
CB-L (g·l ⁻¹)	57,4	9,0	50,7	56,7	63,3	0,77	55,0	42,3
CB-R (g·l ⁻¹)	54,7	7,8	49,0	54,0	60,0	0,75	52,0	36,5
% Brix	8,6	0,9	7,9	8,5	9,2	0,75	8,3	36,6

SD - směrodatná odchylka, 2. kvartil – medián, r - korelační koeficient

Námi zjištěná průměrná koncentrace IgG-RID byla 14 (medián 13) g·l⁻¹, což je nižší výsledek, než publikovaly dvě zahraniční studie, kde medián IgG-RID v krevním séru dosáhl více než 20 g·l⁻¹ (Beam a kol., 2009; McCracken a kol., 2017). Tyto studie však byly prováděny v odlišných podmínkách, případně na menších počtech zvířat.

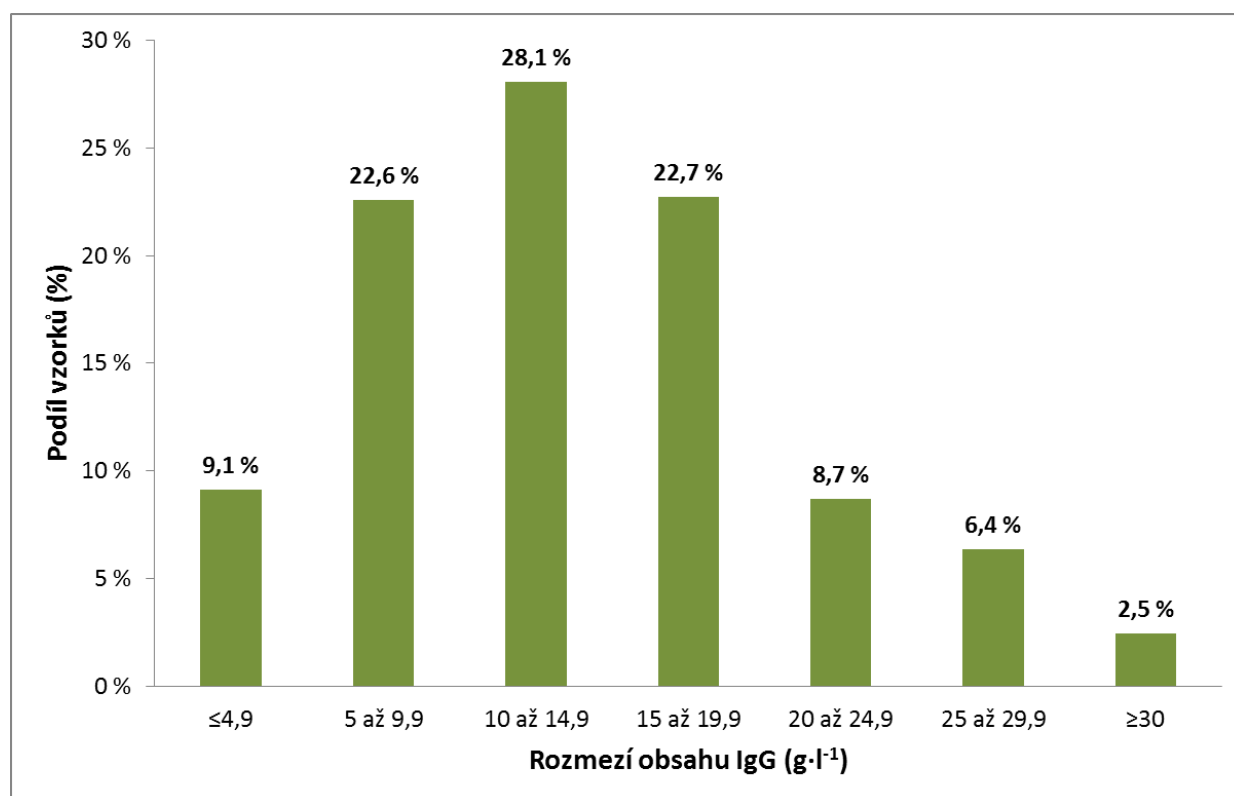
Námi stanovované parametry (tabulka 3) poměrně úzce korelovaly se zlatým standardem IgG-RID, korelační koeficienty r byly v rozmezí 0,75 – 0,82.

Prakticky významnější než průměrné či střední hodnoty kteréhokoli parametru je hodnocení kolostrální imunity telat z pohledu četnosti výskytu SPPI. Při tomto způsobu posuzování je v našem souboru dle koncentrace IgG téměř 1/3 vzorků, přesně 31,7 % pod hranicí $10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (graf 1). K řádově analogickým vyhodnocením výsledků jsme dospěli i u ostatních námi sledovaných parametrů (např. graf 2; graf 3). Použili jsme přitom pro globuliny hraniční hodnotu $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Pavlata, 2009) a u ostatních parametrů méně náročné hraniční hodnoty (CB-L $55 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, CB-R $52 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, % Brix 8,3), které nejvyváženěji indikovaly SPPI. Selhání pasivního přenosu imunity bylo tímto způsobem indikováno u 36,5 – 42,3 % telat.

Naše výsledky ukazují, že situace v zapojených chovech rozhodně není uspokojivá, protože dokladuje, že v průměru třetina novorozených telat byla vystavena vyššímu riziku rozvoje poruch zdraví a zhoršené prosperity v důsledku chyb v kolostrální výživě. Ve studii z USA (přes 2000 vzorků) bylo radiální imunodifuzí zjištěno SPPI „pouze“ u 19,2 % telat (Beam a kol., 2009).

Graf 1

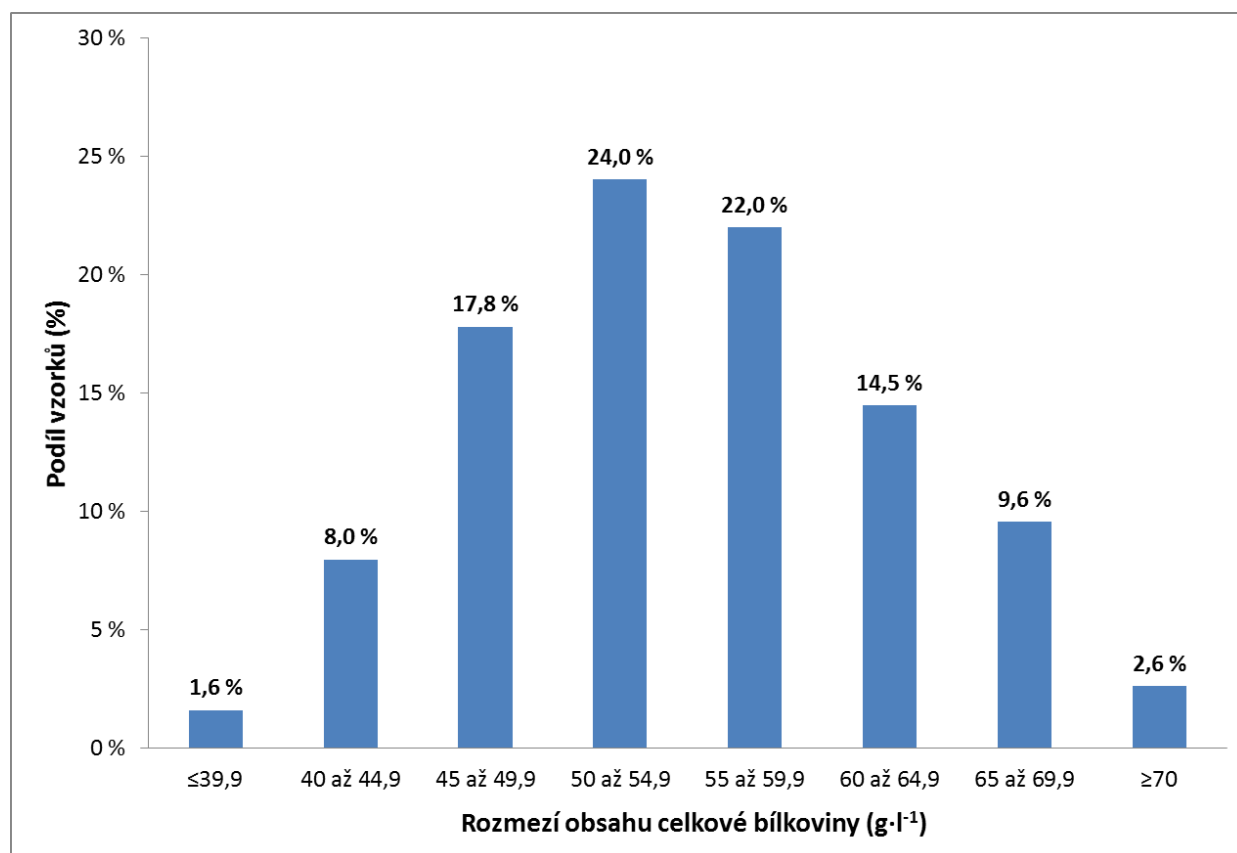
Rozložení koncentrací IgG stanovených radioimunodifuzí v krevních sérech telat (n=691)



U námi hodnocených parametrů lze udělat také rámcové zhodnocení porovnáním hodnot dolního kvartilu s výše uvedenými hraničními hodnotami. U všech parametrů jsou hodnoty dolního kvartilu více či méně hluboko pod i méně náročnými hraničními hodnotami. Z toho plyne, že nezpochybnitelně minimálně každé čtvrté tele bylo vybaveno kolostrální imunitou velmi nedostatečně.

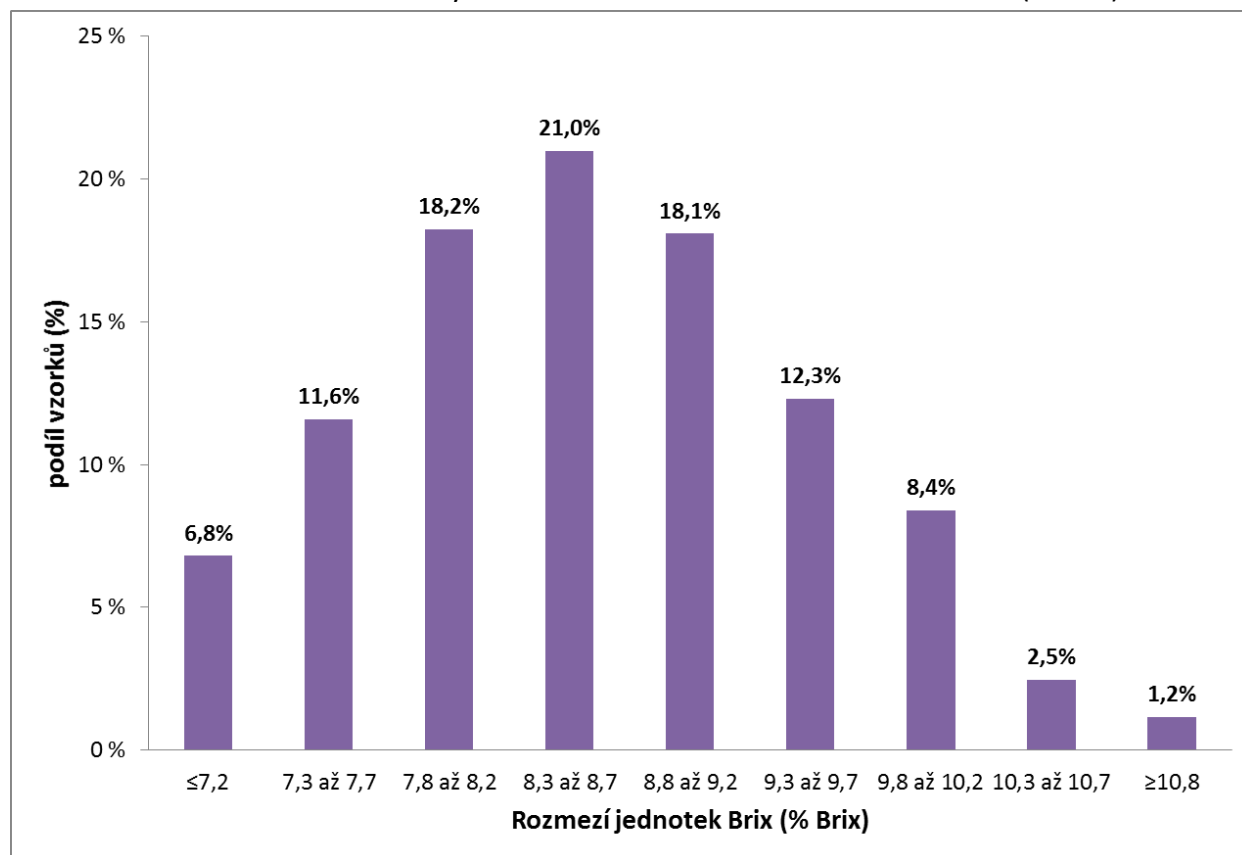
Graf 2

Rozložení koncentrací celkové bílkoviny stanovených digitálním refraktometrem v krevních sérech telat (n=691)



Graf 3

Rozložení hodnot % Brix stanovených refraktometrem v krevních sérech telat (n=691)



Z provedené studie vyplývá, že problém neadekvátní kolostrální výživy telat je v České republice vysoce aktuální. Zjištěný výskyt SPPI (31,7 % na základě IgG) lze hodnotit jako poměrně vysoký a ukazuje na stále velkou potřebu zlepšení úseku kolostrální výživy v tuzemských chovech. Kolostrální výživa přitom představuje jeden ze tří hlavních pilířů zdraví a prosperity telat. Dalšími dvěma pilíři jsou výživa a ustájení/ošetřování telat. Pouze pokud jsou plně stabilní dva z těchto tří pilířů, mohou telata zvládnout určité nedostatky u třetího z nich (McGuirk, 2011a). Tudíž námi zjištěné významné nedostatky v kolostrální imunitě se nemusí automaticky projevit přímo úměrně ve zvýšení morbidita či dokonce mortality, ale (společně s dalšími vlivy) „jen“ omezenou prosperitou telat. Jako cíl odchovu si lze vytyčit např. zdvojnásobení živé hmotnosti při odstavu v osmi týdnech věku (McGuirk, 2011a). Pro kompetentní řízení odchovu je tedy doporučitelné pravidelně plus indikovaně prověřovat úroveň imunitní vybavenosti telat, jakožto jednoho z centrálních kontrolních bodů odrážejícího celý úsek mlezivové výživy.

4 POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Daná metodika je určena zejména pro chovatele a ošetřovatele dojeného skotu a dále pro jejich poradce. Uplatnění by měla najít i ve veterinární praxi u hospodářských zvířat, obzvláště pokud je progresivně zaměřena na produkční a preventivní medicínu skotu, protože z pohledu řízení zdraví telat je jejím zásadním přínosem návrh zavedení **efektivního a ekonomicky nenáročného systému hodnocení kolostrální imunity telat v chovu**, jakožto jednoho z centrálních kontrolních bodů odrážejícího celý úsek mlezivové výživy. Vzhledem k uvedení východisek k navrženým postupům může sloužit i jako podklad k výuce studentů příslušných studijních oborů a k dalšímu vzdělávání chovatelů a ošetřovatelů skotu.

Čtenářům předkládá aktualizované informace o stupni poznání problematiky, o inovovaných možnostech kontroly úrovně kolostrální imunity telat v ČR a zároveň konkrétní návod na jednoduché provádění nejnovějších způsobů faremní kontroly mlezivové výživy. Díky objasnění vyšetřovacích metod a jejich srovnání se standardem potom představuje možné způsoby vyhodnocování výsledků a návrhy na kontinuální zlepšování její úrovně včetně návrhů na motivaci výkonných pracovníků k dosahování plně uspokojivé výbavy telat kolostrálními protilátkami.

Uživatelem této metodiky bude Svaz chovatelů českého strakatého skotu, z. s.

5 EKONOMICKÉ ASPEKTY

Odchov telat je rozhodující období pro budoucí výrobní a ekonomické výsledky výroby mléka. Výchozí **cenu novorozeného telete** je možné na základě ekonomických kalkulací (Poláčková a kol., 2010; Novák, 2014; Kvapilík a Syrůček, 2016; Kvapilík a kol., 2016) orientačně stanovit na 4172 Kč. Náklady na odchov telete do šestého měsíce jeho věku v ČR (bez režijních nákladů), vykázané v 24 podnicích dosahovaly průměrné výše 8987 Kč, což odpovídá částce cca 45 Kč na jeden den odchovu, z toho náklady na veterinární úkony činily průměrně 4,2 %, individuálně však dosahovaly až 12 % (Kvapilík a Syrůček, 2016). Nemoci a ztráty telat přispívají k zvýšení nákladů a nepřímým ztrátám (Kvapilík a Syrůček, 2016), přičemž úhyny telat do odstavu v ČR dosahují přibližně 5,2 %, resp. 4,7 % (Staněk, 2013; Kvapilík a kol., 2017).

Vztah mezi neadekvátní saturací telat mateřskými protilátkami a jejich vyšší náchylností k onemocněním a následným úhynům je známý (Stilwell a Carvalho, 2011). Ekonomické ztráty u telat, pokud prodělají různě závažné respirační nebo průjmové onemocnění, uvádí Lührmann (2009) v tabulce 4 a 5.

Tabulka 4: Náklady spojené s léčbou alimentárních onemocnění u telat podle německého modelu Lührmanna (2009)*

Ztráty, náklady	průběh průjmového onemocnění			
	těžký		lehký	
	v Kč	v %	v Kč	v %
veterinární služba ¹⁾	1875	56	1125	69
léky, elektrolyty aj.	1800		750	
prodloužení doby odchovu	9 dní	12	4 dny	13
náklady spojené s prodloužením odchovu ²⁾	765		340	
ztráty nemocných telat	13 %	18	2 %	7
náklady celkových ztrát ³⁾	1200		185	
pracovní vícenáklady	2,5 hod.	14	0,8 hod.	11
pracovní vícenáklady ⁴⁾	937,50		300	
celkové náklady	6577,50 Kč		2700 Kč	
Ø denní přírůstky telat v průběhu odchovu	697 g		754 g	

* 1 € = 25 Kč; 1) cestovné a vlastní úkony ošetření, 2) doplňkové náklady odchovu 85 Kč·den⁻¹; 3) 9225 Kč náklady za ztrátu telete (6250 Kč cena telete, 2975 Kč výsledné náklady na odchov); 4) 375 Kč·hod.⁻¹ práce ošetřovatele

Tabulka 5: Náklady spojené s léčbou respiračních onemocnění u telat podle německého modelu Lührmanna (2009)*

Ztráty, náklady	průběh respiračního onemocnění			
	těžký		lehký	
	v Kč	v %	v Kč	v %
veterinární služba ¹⁾	2250	69	750	66
léky	1800		750	
prodloužení doby odchovu	7 dní	10	3 dny	11
náklady spojené s prodloužením odchovu ²⁾	595		255	
ztráty nemocných telat	9 %	14 %	3 %	12 %
náklady celkových ztrát ³⁾	830		277,50	
pracovní vícenáklady	1 hod.	7 %	0,6 hod.	11 %
pracovní vícenáklady ⁴⁾	375		225	
celkové náklady	5850 Kč		2257,50 Kč	
Ø denní přírůstky telat v průběhu odchovu	720 g		766 g	

* 1 € = 25 Kč; 1) cestovné a vlastní úkony ošetření, 2) prodloužení odchovu - doplňkové náklady odchovu 85 Kč·den⁻¹; 3) 9225 Kč náklady za ztrátu telete (6250 Kč cena telete, 2975 Kč výsledné náklady na odchov); 4) 375 Kč·hod.⁻¹ práce ošetřovatele

5.1 Náklady na zavedení ověřování kolostrální imunity

1. Materiálové vybavení – odběrová zkumavka – HEMOS – cena 9 Kč/ks,
 2. Materiálové vybavení – cena mikrozukavky pro uchování séra – 1,50 Kč/ks,
 3. Náklady na odběr vzorku – cena veterinárního úkonu 30 až 40 Kč/tele,
 4. Náklady na jednorázovou pipetu – cena 1,20 Kč.
- Tj. průběžné náklady na materiál a úkon jsou cca 52 Kč/tele.
5. Pořízení refraktometru:
 - a. optický refraktometr univerzální (0 až 32 % Brix) – cena 1 100 až 1 500 Kč,
 - b. optický refraktometr pro stanovení obsahu celkové bílkoviny (CB) v séru s rozsahem měření 20 až 140 g CB/l – cena 1 200 až 1 600 Kč,
 - c. digitální refraktometr MISCO s možností volby 5 zootechnicko/veterinárních parametrů včetně % Brix a celkové bílkoviny – cena 19 000 až 24 000 Kč.
 6. Centrifuga pro separaci krevního séra – cena 10 000 až 15 000 Kč.

Celkové přístrojové náklady na zavedení operativního postupu hodnocení imunitní vybavenosti telat jsou uvedeny v tabulce 6. Zahrnuty jsou 4 varianty, které se liší přístrojovým vybavením:

- Minimalistická – nákup univerzálního optického refraktometru (jeho další využití – hodnocení kvality mleziv a obsahu sušiny mléčného nápoje),
- Základní - nákup optického refraktometru pro hodnocení obsahu CB v krevním séru,
- Rozšířená - nákup optického refraktometru pro hodnocení obsahu CB v krevním séru; pořízení centrifugy pro separaci séra,
- Komfortní - nákup digitálního veterinárně/zootechnického refraktometru; pořízení centrifugy pro separaci séra.

Tabulka 6: Přehled nákladů na přístrojové vybavení k rutinní kontrole kolostrální imunity telat podle varianty vybavení chovu

Varianta	Optický refraktometr univerzální (1 200 Kč)	Optický refraktometr stupnice pro CB (1 300 Kč)	Digitální refraktometr (20 000 Kč)	Centrifuga pro separaci séra (13 000 Kč)	Celkové náklady v Kč
Minimalistická	x				1 200
Základní		x			1 300
Rozšířená		x		x	14 300
Komfortní			x	x	33 000

Z tabulky 6 vyplývá, že náklady na přístrojové vybavení k zavedení rutinního vyšetřování kolostrální imunity telat se v chovu pohybují v rozmezí od 1 200 do 33 000 Kč. U refraktometrů, zejména digitálních s možností nastavení až 5 volitelných parametrů, je může chovatel dále využít v chovu krav, a to např. volbou těchto dalších proměnných (kromě CB v séru): celkový obsah sušiny v moči, specifická hmotnost moči, celkový obsah sušiny mléka, koncentrace síranu měďnatého.

Přepočet nákladů na zavedení rutinního vyšetřování imunitní vybavenosti telat na tele, a to v modelovém chovu s počtem 200 krav a čistou natalitou 99 % (198 telat):

1. náklad na odběr krve a separaci vzorku séra = 51,70 Kč/tele,
2. náklady na pořízení refraktometru – odpisy 3 roky,
 - a. optický refraktometr pro stanovení sérového proteinu – 3 roky x 198 telat = 1 300 Kč/594 telat za 3 roky = 2,20 Kč/tele,
 - b. digitální refraktometr - 3 roky x 198 telat = 20 000 Kč/594 telat za 3 roky = 33,70 Kč/tele,
3. náklady na pořízení centrifugy - odpisy 3 roky = 13000 Kč/594 telat za 3 roky = 21,90 Kč.

Přibližné přímé náklady na zavedení systému rutinní kontroly imunitní vybavenosti telat lze u minimalistické a základní verze odhadnout ve výši 54 Kč/tele, u verze rozšířené na 76 Kč/tele a u verze komfortní pak 107 Kč/tele. Náklady na odchov telete do šestého měsíce jeho věku dosahují výše 8 987 Kč, tedy celkem jde o náklady ve výši 9 041 Kč až 9 094 Kč (zvýšení nákladů o +0,6 % až +1 %).

5.2 Přínosy spojené se zavedením rutinní kontroly imunitní vybavenosti

Souběžně se zajištěním dobrých podmínek chovného prostředí, odpovídající výživy a ošetrovatelské péče znamená adekvátní mlezivová výživa snížení nemocnosti a ztrát telat v průběhu jejich odchovu. Pokud budeme kalkulovat přínosy pro modelový chov 200 krav, s čistou natalitou telat na úrovni 99 % (198 telat), úhyny do odstavu 7 %, morbiditou telat do odstavu 55 %, pak lze tyto rozdělit na:

- **snížení nemocnosti telat (průjemová, respirační onemocnění)** v důsledku optimalizace managementu mlezivové výživy na základě hodnocení úrovně imunitní vybavenosti telat o 15 %. Pokud se v chovu narodí 198 telat, pak při 55% nemocnosti dojde k onemocnění 109 telat za rok. Snížení nemocnosti telat v rozsahu 15 % představuje 30 telat.

Kategorizace onemocnění telat v chovu: 65 % ($30 \text{ telat} \times 0,65 = 20 \text{ telat}$) průjmová/alimentární onemocnění a 35 % ($30 \text{ telat} \times 0,35 = 10 \text{ telat}$) respirační onemocnění. Úsporu nákladů lze při použití kalkulací nákladů na lehký průběh onemocnění podle Lührmanna (2009) odhadnout na:

- o **průjmová onemocnění lehkého průběhu** = $20 \text{ telat} \times 2\,700 \text{ Kč} = 54\,000 \text{ Kč}$,
- o **respirační onemocnění lehkého průběhu** = $10 \text{ telat} \times 2\,257,50 \text{ Kč} = 22\,575 \text{ Kč}$.

Celková úspora nákladů v důsledku snížení nemocnosti telat z hodnoty 55 % na 40 %, představuje částku +76 575 Kč/rok.

- **snížení úhynů telat do odstavu** – v modelovém chovu je počítáno s reálnými úhyny telat do odstavu na úrovni 7 % a je počítáno se snížením ztrát telat do odstavu o 3,0 % (cílový stav úhynů na úrovni 4 %). Tedy rozdíl mezi aktuálním stavem (úhyn 14 telat/rok) a uvažovaným stavem (úhyn 8 telat/rok) činí +6 telat. Při ceně narozeného 4 172 Kč a úhynu telete v průměrném stáří 14 dní ($14 \text{ dní} \times \text{náklad na den odchovu telat } 45 \text{ Kč} = 630 \text{ Kč/tele}$), činí úspora nákladů u telete 4 802 Kč. **Tedy vlivem poklesu podílu uhynulých telat o 3,0 %, dojde v modelovém chovu ke snížení ekonomických ztrát na úrovni +28 812 Kč (6 telat $\times$ 4 802 Kč/tele).**

Sumárně tedy v modelové chovu 200 krav, s čistou natalitou telat na úrovni 99 % (198 telat), pak lze kalkulovat, že **celkové náklady** na zavedení a provádění rutinní kontroly mlezivové výživy v prvních třech letech budou: **54, resp. 76, resp. 107 Kč/na tele $\times$ 198 telat = 10 692, resp. 15 048, resp. 21 186 Kč.** Úspora nákladů, resp. snížení ztrát **76 575 Kč (pokles nemocnosti) + 28 812 Kč (snížení ztrát) = 105 387 Kč.**

Celkově jde tedy v prvních třech letech (po které je započítáván odpis přístrojů) o snížení nákladů o 94 695 Kč, res. 90 339 Kč, resp. 84 201 Kč. Po této době půjde o významně vyšší úspory, protože budou následovat výdaje pouze za spotřební materiál a veterinární úkony.

Úspora nákladů bude ještě významnější, protože zde není počítáno např. se ztrátou, kterou chovatel má nerealizovanou produkci vzhledem k uhynulým kusům, resp. se ztrátou produkce vznikající v souvislosti se zařazením jalovic, které byly v průběhu odchovu nemocné, případně se ztrátou spojenou s omezením případného prodeje vysokobřezích jalovic při dostatečném počtu zvířat k zajištění obrátu stáda.

V chovech významně větších než 200 krav při uplatnění kontroly vybavenosti dle metodiky jen u reprezentativních skupin telat, ale se zlepšením mlezivové výživy všech telat, je potenciál úspory nákladů ještě významně vyšší.

Úlohou každého chovatele by měla být snaha o minimalizování ztrát telat v průběhu jejich odchovu. Úhyny telat způsobují problémy s doplňováním a stabilizací chovu a současně v případě vysokých ztrát je snižován i jeho genetický potenciál. Z ekonomického vyhodnocení vyplývá, že uplatnění popsaného postupu rutinního ověřování kolostrální imunity telat s sebou může přinášet jednoznačně velmi vysoký pozitivní finanční efekt.

6 SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

BEAM, A., L., LOMBARD, J., E., KOPRAL, C., A., GARBER, L., P., WINTER, A., L., HICKS, J., A., CHLATER, J., L. 2009. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *J. Dairy Sci.* 92:3973-3980.

CALLOWAY, Ch., D., TYLER, J., W., TESSMAN, R., K., HOSTETLER, D., HOLLE, J. 2002. Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. *JAVMA*, 221(11):1605–1608.

CORTESE, V., S. 2009. Neonatal immunology. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 25(1):221-227.

DAIRY AUSTRALIA 2012. Tools to determine colostrum quality. Cit. 6.8.2017. Dostupné z: www.dairyaustralia.com.au

DEELEN, S., M., OLLIVETT, T., L., HAINES, D., M., LESLIE, K., E. 2014. Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 97:3838-3844.

ELSOHABY, I., MCCLURE, J. T., KEEFE, G. P. 2015. Evaluation of digital and optical refractometers for assessing failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* 29:721–726.

FALLON, R., J. 1978. The effect of immunoglobulin levels on calf performance and methods of artificially feeding colostrum to the newborn calf. *Annales de Recherches Veterinaires* 9:347-352.

FLEISCHER, P., ŠLOSÁRKOVÁ, S. 2013. Zefektivnění prvního napojení telat kolostrem. *Náš chov* 73(8):72-74.

GODDEN, S. 2008. Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24(1):19–39

GODDEN, S., HAINES, D., M., KONKOL, K., PETERSON, J. 2009. Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. *J. Dairy Sci.* 92:1758–1764.

- GODDEN, S. M., WELLS, S., DONAHUE, M., STABEL, J., OAKES, J. M., SREEVATSAN, S., FETROW, J. 2015. Effect of feeding heat-treated colostrum on risk for infection with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, milk production, and longevity in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:5630-5641.
- HEINRICHS, J., JONES, C. 2017. Colostrum Management Tools: Hydrometers and Refractometers. The Pennsylvania State University. <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/calves/colostrum/das-11-174>
- HOUSER, B. A., DONALDSON, S. C., KEHOE, S. I., HEINRICHS, A. J., JAYARAO, B. M. 2008. A survey of bacteriological quality and the occurrence of *Salmonella* in raw bovine colostrum. *Foodborne Pathog. Dis.* 5(6):853-858.
- JAMES, R. E., POLAN, C. E., CUMMINS, K. A. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of 125 gamma – globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 64:52-61.
- KRAFT, W., DÜRR, U. 2001. Klinická laboratórna diagnostika vo veterinárnej medicíne. Bratislava; H&H, 380 s.
- KREJČÍ, J., KUDLÁČKOVÁ, H., TESAŘÍK, R., GEBAUER, H., FALDYNA, M., ŠLOSÁRKOVÁ, S. 2016. Imunodifúzní test pro stanovení imunoglobulinů v kravském kolostru. Funkční vzorek. 1. vyd. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., 19 s.
- KVAPILÍK, J., SYRŮČEK, J. 2016. Ekonomické ukazatele odchovu telat v podnicích s výrobou mléka v ČR. *Náš chov* 76(4):34-36.
- KVAPILÍK, J., KUČERA, J., BUCEK, P., ABRAHAMOVÁ, M., ŠKARYD, V., VESELÁ, Z., KOUDELOVÁ, L., VONDRÁŠEK, L., HŘEBEN, F., KOPEC, T., KRÁL, P. 2016. Ročenka–Chov skotu v České republice. Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2015. ČMSCH, VÚŽV, SCHCSS, SCHS, CSCHMS. 89 s.
- KVAPILÍK, J., SYRŮČEK, J., BURDYCH, J. 2017. Produkce mléka v roce 2016 v ČR. *Náš chov* 77(8):25-29.
- LÜHRMANN, B. 2009. Krank und teuer. *DLZ Agrar Magazin* 7:90–93.
- MCCRACKEN, M. M., MORRILL, K. M., FORDYCE, A. L., TYLER, H. D. 2017. Technical note: Evaluation of digital refractometers to estimate serum immunoglobulin G concentration and passive transfer in Jersey calves. *J. Dairy Sci.* 100:8438-8442.
- MCGUIRK, S., M. 2010. Herd-Based Problem Solving: Failure of Passive Transfer. School of Veterinary Medicine University of Wisconsin – Madison. Dostupné z: <https://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/8calf/calf_herd_FPT_Troubleshooting.pdf>
- MCGUIRK, S., M. 2011a. Péče o krávy a telata v okolo porodním období. In: Sborník 3. americko-český projekt, Efektivní postupy při řízení stáda dojníc. Větrný Jeníkov; VFU Brno, 35-47.
- MCGUIRK, S., M. 2011b. Management of dairy calves from birth to weaning. In: Risco, C.A, Melendez, P. (Ed.). *Dairy Production Medicine*. West Sussex, UK, Wiley–Blackwell, 175-193.
- MCGUIRK, S., M., COLLINS, M. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20(3):593–603.
- MOKHBER-DEZFOOLI, M., R., NOURI, M., RASEKH, M., CONSTABLE, P., D. 2012. Effect of abomasal emptying rate on the apparent efficiency of colostrum immunoglobulin G absorption in neonatal Holstein-Friesian calves. *J. Dairy Sci.* 95:6740-6749.

- MORRILL, K., M., CONRAD, E., TYLER, H., D. 2012. Nation-wide evaluation of colostrum quality. Animal Industry Report: AS 658, ASL R2711.
- NOVÁK, J. 2014. Rostlinná produkce a technologie – náklady a ceny vstupů a výstupů v RV. Tabulka 36 – Ceny statkových hnojiv, organických hnojiv a substrátů. ÚZEI. Citováno 20. 11. 2017. Dostupné z: www.agronormativy.cz/docs/rpttab2040013.pdf
- PAVLATA, L. 2009. Vztah matka - mládě. In: Hofírek, B., Dvořák, R., Němeček, L., Doležel, R., Pospíšil, Z. (Ed.). Nemoci skotu. Brno; Česká buiatrická společnost, 954-957.
- POLÁČKOVÁ, J., BOUDNÝ, J., JANOTOVÁ, B., NOVÁK, J. 2010. Metodika kalkulací nákladů a výnosů v zemědělství. Ústav zemědělské ekonomiky a informací, 73 s.
- QUIGLEY, J. 2002. Passive immunity in newborn calves. Advances in Dairy Technology 14:273-292.
- RABOISSON, D., TRILLAT, P., CAHUZAC, C. 2016. Failure of passive immune transfer in calves: A meta-analysis on the consequences and assessment of the economic impact. Plos One 11(3): e0150452.
- ROBISON, J., D., STOTT, G., H., DeNISE, S., K. 1988. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. J. Dairy Sci. 71:1283-1287.
- SLANINA, L., VAJDA, V., BLAŽEJ, J. 1976. Turbidimetrické stanovenie imunoglobulínov u teliat a ich klinické hodnotenie. Veterinářství 16:392-394.
- STANĚK, S. 2013. Kritické body odchovu telat v období mléčné výživy ve stádech dojeného skotu. Doktorská disertační práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. 186 s.
- STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P. 2016. Použití refraktometrů v odchovu telat II - hodnocení imunitní vybavenosti telat. Náš chov 76(1):22-24.
- STANĚK, S., ZINK, V., DOLEŽAL, O., ŠTOLC, L. 2014. Survey of preweaning dairy calf-rearing practices in Czech dairy herds. J. Dairy Sci. 97:3973-3981.
- STEWART, S., GODDEN, S., BEY, R., RAPNICKI, P., FETROW, J., FARNSWORTH, R., SCANLON, M., ARNOLD, Y., CLOW, L., MUELLER, K. 2005. Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. J. Dairy Sci. 88:2571-2578.
- STILWELL, G., CARVALHO, R., C. 2011. Clinical outcome of calves with failure of passive transfer as diagnosed by a commercially available IgG quick test kit. Can. Vet. J. 52(5):524-526.
- STOCKHAM, S., L., SCOTT, M., A. 2008. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 920 s.
- SVENSSON, C., LINDER, A., OLSSON, S. O. 2006. Mortality in Swedish Dairy Calves and Replacement Heifers. J. Dairy Sci. 89:4769-4777.
- ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., STANĚK, S., NEJEDLÁ, E. 2017. Kolostrální imunita telat v ČR dle IgG (RID) a celkové bílkoviny stanovené i refraktometrem. Veterinářství 67(11):883-889.
- ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., PĚNKAVA, O., SKŘIVÁNEK, M. 2011. Zajištění kolostrální imunity u novorozených telat dojeného skotu a ověřování její úrovně v chovatelské a veterinární praxi. Certifikovaná metodika. Brno; VFU Brno, 24 s.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., PĚNKAVA, O., SKŘIVÁNEK, M. 2014. The assessment of colostral immunity in dairy calves based on serum biochemical indicators and their relationships. *Acta Vet. Brno*, 83:151-156.

THORNHILL, J., KREBS, G., PETZEL, C. 2015. Evaluation of the Brix refractometer as an on-farm tool for the detection of passive transfer of immunity in dairy calves. *Aust. Vet. J.*, 93: 26–30.

TYLER, J., W., HANCOCK, D., D., PARISH, S., M., REA, D., E., BESSER, T., E., SANDERS, S., G., WILSON, L., K. 1996. Evaluation of 3 assays for failure of passive transport in calves. *J. Vet. Internal Med.* 10:304-307.

USDA. 2010. Dairy 2007. Heifer Calf Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations, 2007. s. 50, 63.

USDA. 2012. Dairy Heifer Raiser 2011. An overview of operations that specialize in raising dairy heifers. s. 64.

WEAVER, D., M., TYLER, J., W., VENMETRE, D., C., HOSTETLER, D., E., BARRINGTON, G., M. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Internal Med.* 14:569-577.

7 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

KREJČÍ, J., FALDYNOVÁ, H., LEVÁ, L., VICENOVÁ, M., KUDLÁČKOVÁ, H., ŠLOSÁRKOVÁ, S., ILLEK, J., FALDYNA, M. 2017. Biologically active substances and anti-inflammatory properties of colostrum and transient milk. *Proceedings of XVII Middle European Buiatrics Congress, May 3-6, 2017, Štrbské Pleso – High Tatras, Slovakia*:153.

KREJČÍ, J., KUDLÁČKOVÁ, H., TESAŘÍK, R., GEBAUER, H., FALDYNA, M., ŠLOSÁRKOVÁ, S. 2016. Imunodifúzní test pro stanovení imunoglobulinů v kravském kolostru. *Funkční vzorek*. 1. vyd. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., 19 s.

STANĚK, A., ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P. 2016. Použití refraktometrů v odchovu telat II – hodnocení imunitní vybavenosti telat. *Náš chov* 76(1):22-24.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., PECHOVÁ, A., FLEISCHER, P., FALDYNA, M., NEJEDLÁ, E. 2017. Imunologická kvalita mleziva v tuzemských chovech dojeného skotu. *Náš chov* 77(9):76-78.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., PECHOVÁ, A., FLEISCHER, P., ZOUHAROVÁ, M., NEJEDLÁ, E. 2017. Quality of Colostrum and Impacting Factors in the Dairy Cattle Herds in the Czech Republic. *Proceedings of XVII Middle European Buiatrics Congress, May 3-6, 2017, Štrbské Pleso – High Tatras, Slovakia*:12.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., ZOUHAROVÁ, M., NEJEDLÁ, E., FLEISCHER, P., FALDYNA, M. 2016. Mikrobiologická kvalita mleziva v tuzemských chovech dojeného skotu. *Náš chov* 76(12): 26-27.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., ZOUHAROVÁ, M., NEJEDLÁ, E., JIROUTOVÁ, P., FLEISCHER, P. 2017. The evaluation of colostrum microbiological quality in Czech dairy herds. *Proceedings of XVII Middle European Buiatrics Congress, May 3-6, 2017, Štrbské Pleso – High Tatras, Slovakia*:144.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., STANĚK, S. NEJEDLÁ, E. 2017. Kolostrální imunita telat v ČR dle IgG (RID) a celkové bílkoviny stanovené i refraktometrem. Veterinářství 67(11):883-889.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., NEJEDLÁ, E., FALDYNA, M. 2017. Imunitní vybavenost telat kolostrálními protilátkami v tuzemských chovech dojníc. Náš chov 76(12):17-20.

8 SEZNAM ZKRATEK

C český strakatý skot

CB celková bílkovina

CB-L celková bílkovina stanovená laboratorně fotometricky na principu biuretové reakce

CB-R celková bílkovina stanovená refraktometrem

H holštýnský skot

IgG imunoglobuliny třídy G

IgG-RID imunoglobuliny třídy G stanovené radiální imunodifuzí

r korelační koeficient

RID radiální imunodifuze

SD směrodatná odchylka

SPPI selhání pasivního přenosu imunity

USDA United States Department of Agriculture

PŘÍLOHA K METODICE

FAREMNÍ KONTROLA

KOLOSTRÁLNÍ IMUNITY TELAT

KROK ZA KROKEM

1. POSTUP PŘI ZÍSKÁVÁNÍ KREVNÍCH SÉR TELAT

1. Výběr zvířat pro hodnocení (telata 2. až 7. den věku), nejméně však 24 hodin po narození.



2. Odběr krve z krční žíly zajišťuje veterinární lékař nebo veterinární technik.



3. Odebírané množství krve je min. 4 ml, tj. cca ½ hemosky.



4. Hemosky s krví nevystavujeme silnému slunečnímu záření a hlavně chladu!



5. Hemosky umístíme a) buď do termostatu 38 °C, nebo b) do místnosti s pokojovou teplotou!



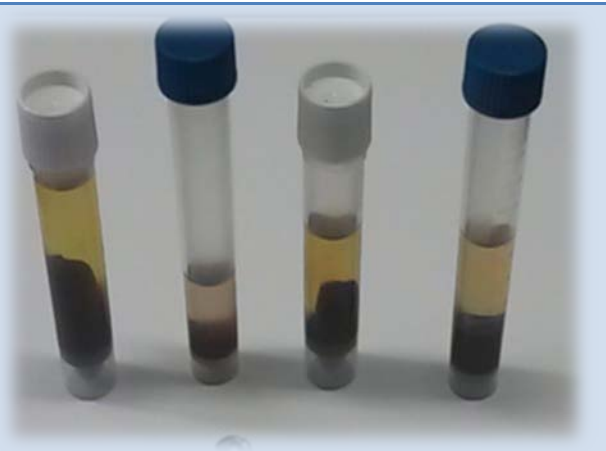
6. Možností rychlejší separace krevních sér je použití přenosné centrifugy.



7. Po dobrém nastartování srážení je možné uložit hemosky/zkumavky do chladničky a sérum separovat až za 2 příp. 3 dny.



8. Sérum má mít jantarově žlutou barvu. Narůžovělá až červená barva séra = rozpad červených krvinek → nespolehlivý výsledek!



9. Vysrážené sérum je vhodné z hemosky /zkumavky odsát jednorázovou pipetou do malých uzavíratelných mikrozkuvek.



10. Krevní séra v mikrozkuvkách. Následuje vyšetření na farmě/v laboratoři. Hemolytické vzorky neuchovááme!



2. TYPY REFRAKTOMETRŮ PRO VYŠETŘENÍ KREVNÍCH SÉR

1. Ruční optický refraktometr – univerzální stupnice Brix v rozsahu 0 až 32 % (cena 1100 až 1500 Kč)



2. Ruční optický refraktometr – pravá stupnice pro celkovou bílkovinu, tj. „SERUM OR PLASMA PROTEIN“ v rozsahu 2 až 14 g („gms“)/100ml (cena 1200 až 1600 Kč)



3. Jednoduchý ruční digitální refraktometr – univerzální stupnice Brix v rozsahu 0 až 85% (cena 5 200 až 5 500 Kč)



4. Ruční digitální refraktometr MISCO – 5 volitelných parametrů: stupnice Brix (%), celková bílkovina „TPR“ (g/dl), atd. (cena 19 000 až 24 000 Kč)



Velmi podstatnou vlastností pro výběr refraktometru je, zda vybraný typ má tzv. ATC – automatickou teplotní kompenzaci. S refraktometry pracujeme v prostředí s pokojovou teplotou.

3. VYŠETŘENÍ KREVNÍHO SÉRA REFRAKTOMETRY

1. Kalibrování refraktometru před vlastním měřením se provádí kápnutím pitné (destilované) vody

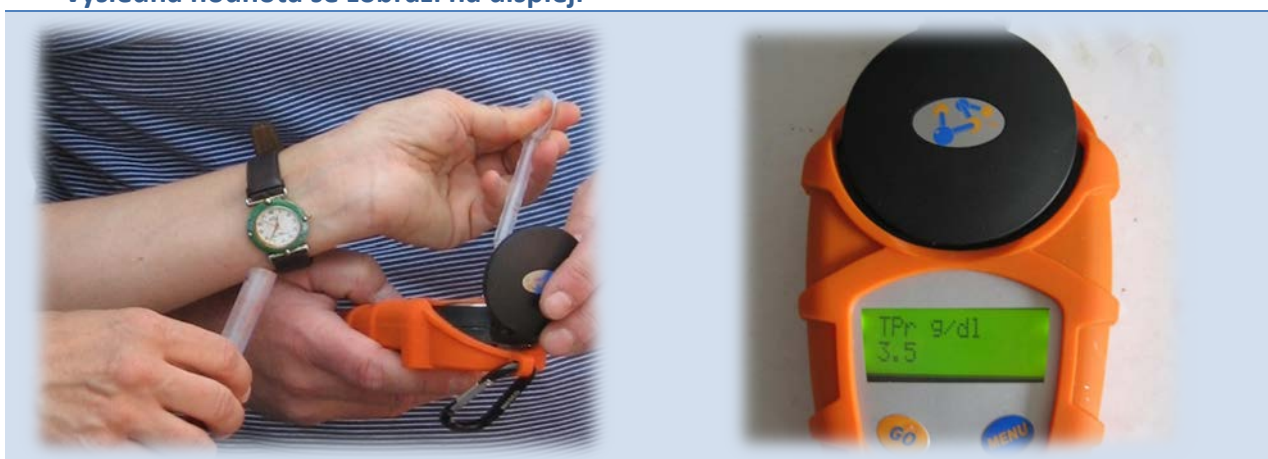
na hranol nebo do měřicí jamky a seřízením na hodnotu 0:

a) u ručních optických refraktometrů pomocí regulačního šroubu,

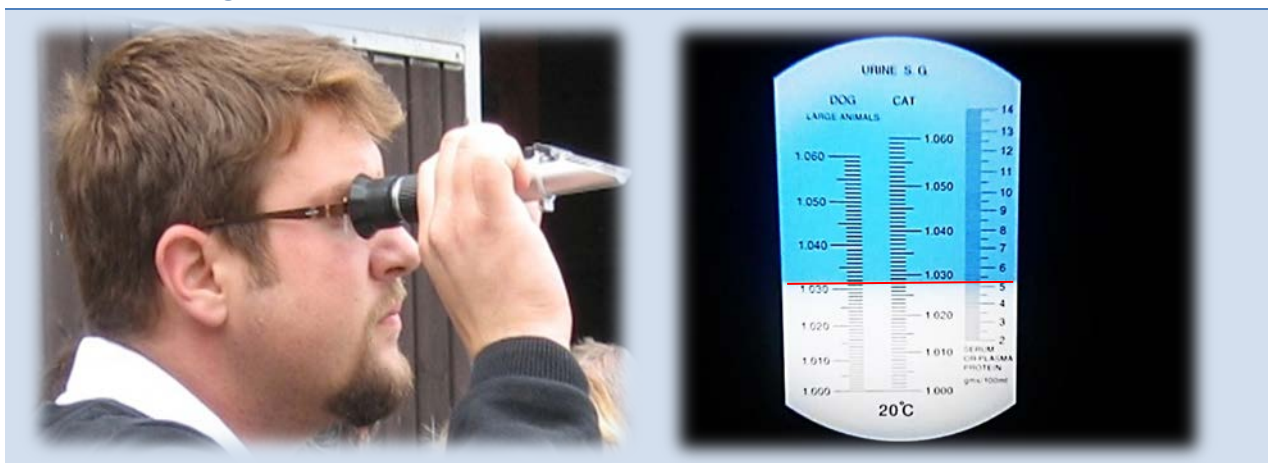
b) u digitálních refraktometrů pomocí volby programu pro kalibrování.



2a. Po odstranění vody pro kalibraci (osušení) se do měřicí jamky digitálního refraktometru nakape několik kapek krevního séra, spustí se program pro automatické změření a výsledná hodnota se zobrazí na displeji



2b. Po odstranění vody pro kalibraci (osušení) se na měřicí hranol optického refraktometru nakape několik kapek krevního séra, překryje se průsvitnou krytkou a výsledná hodnota se odečte pohledem do okuláru – **VÝSLEDNÁ HODNOTA JE PŘECHODEM MEZI SVĚTLÝM A TMAVÝM ROZHRÁNÍM**



Pro jasněji zobrazené rozhraní je nutné u optických refraktometrů zaostřit okulár a přizpůsobit jej svému oku! Obsah celkové bílkoviny je většinou uváděn v g/dl (100ml), proto je nutné výsledek násobit 10×, čímž získáme hodnoty v gramech na litr!

4. VYHODNOCOVÁNÍ

Vyhodnocování výsledků na úrovni telete

Výsledek vyšetření zvoleného parametru se posuzuje srovnáním s hraniční hodnotou (tabulka 1). Telata, která mají výsledek vyšetřovaného parametru pod hraniční hodnotou, jsou považována za nedostatečně vybavená mateřskými protilátkami, tj. za zvířata s pravděpodobným selháním pasivního přenosu imunity.

V tabulce 1 jsou uvedeny hraniční hodnoty. U celkové bílkoviny jsou na prvním místě uvedeny námi doporučené hraniční hodnoty, které byly prověřeny v našich podmínkách společně u holštýnského a českého strakatého skotu a byly shledány jako vyváženě přesné. Za lomítkem jsou uvedeny varianty hraničních hodnot pro náročnější posuzování imunitní výbavy telat, které snižují riziko, že tele s nedostatečnou koncentrací protilátek v krvi bude hodnoceno jako dobře imunitně vybavené.

Tabulka 1: Hraniční hodnoty jednotlivých parametrů k posuzování adekvátnosti výbavy telat kolostrálními protilátkami

Parametr	Jednotka	NEVYHOVUJÍCÍ HODNOTA	VYHOVUJÍCÍ HODNOTA
Imunoglobuliny třídy G - Radiální imunodifuze	g·l ⁻¹	<10	≥10
Globuliny	g·l ⁻¹	<30	≥30
Celková bílkovina - Laboratorní fotometrické stanovení	g·l ⁻¹	<55/<60	≥55/≥60
Celková bílkovina – Refraktometr	g·l ⁻¹	<52/<55	≥52/≥55
% Brix – Refraktometr	% Brix	<8,3	≥8,3

Hraniční hodnota se může upravit dle okolností. Její volba závisí např. na metodě stanovení, plemeni, přístroji užívaném k vyšetření, na účelu hodnocení (viz vlastní metodika, kap. 2.5).

Vyhodnocování výsledků na úrovni skupiny telat/stáda

Pro posuzování úrovně mlezivové výživy na úrovni chovu je vhodné vyhodnocovat periodicky (1× měsíčně) výsledky vyšetření krevního séra u reprezentativní **skupiny telat (min. 10, lépe 12 telat)**. Výsledky se porovnají s hraniční hodnotou a vyjadřuje se **podíl telat s výsledkem pod hraniční hodnotou**, tj. podíl telat s pravděpodobně nedostatečnou kolostrální imunitou.

Při refraktometrickém stanovení celkové bílkoviny je akceptovatelné (tabulka 2), aby ve skupině bylo **maximálně 10 % telat pod 52 g·l⁻¹, nebo maximálně 20 % telat pod 55 g·l⁻¹** (McGuirk, 2011a; b).

Tabulka 2: Vyhodnocování úrovně kolostrální imunity u skupiny telat

Celková bílkovina – Refraktometr hraniční hodnota (g·l ⁻¹)	DOBŘÁ ÚROVEŇ	NEVYHOVUJÍCÍ ÚROVEŇ
52	≥90 % testovaných telat ≥52 g·l ⁻¹	>10 % testovaných telat <52 g·l ⁻¹
55	≥80 % testovaných telat ≥55 g·l ⁻¹	>20 % testovaných telat <55 g·l ⁻¹

Kromě výše navrhovaného posuzování reprezentantů stáda lze doporučit plošné testování většiny, resp. všech telat, jako nedílnou součást důsledného řízení zdraví chovu. Zásadní je ale hlubší kontrola zejména v případech hromadného zhoršení zdravotního stavu, v situacích jako je změna ošetřovatelů, změna pracovních postupů apod.

Ověření výsledků laboratorním vyšetřením celkové bílkoviny (globulinů), příp. IgG

Výsledky faremního vyšetření krevního séra pomocí refraktometru si chovatel může ověřit (validovat) zasláním těch samých vzorků k laboratornímu vyšetření. Ověření je vhodné při zavádění této metody, při zakoupení nového přístroje, při zacvičování faremního personálu k provádění rutinní kontroly, ke kontrole správnosti vyšetření apod.

Doporučený postup:

1. Sérum lze nechat vyšetřit v běžných biochemických laboratořích (humánních, veterinárních). Rutinně v nich lze nechat vyšetřit obsah celkové bílkoviny, případně ještě i obsah albuminu nutný k výpočtu obsahu globulinů.
2. Ze séra lze vyšetřit exaktně přímo imunoglobuliny třídy G (IgG) pomocí radiální imunodifuze (RID). Vyšetření zajišťuje VÚVeL, v.v.i. zaslací adresa: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., paní Kudláčková, paní Kotlářová, Hudcova 296/70, 621 00 Brno, e-mail: kotlarova@vri.cz. Na žádanku je nutné uvést chovatele, datum odběru vzorků, věk každého telete při odběru, kontakty: e-mail, telefon, adresu a fakturační údaje. Z kapacitních důvodů je nutná předchozí domluva s výše uvedenými osobami.



Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 296/70
621 00 Brno
Czech Republic
Tel.: +420 5 3333 1111; www.vri.cz; e-mail: vri@vri.cz