



## CERTIFIKOVANÁ METODIKA

---

**Získávání kvalitního mleziva  
na farmě a jeho kontrola**

**Ing. Stanislav Staněk, Ph.D.  
MVDr. Soňa Šlosárková, Ph.D.  
MVDr. Petr Fleischer, Ph.D.  
MVDr. Josef Krejčí  
Ing. Eliška Nejedlá  
MVDr. Monika Zouharová, Ph.D.**

**107  
2018**

# Získávání kvalitního mleziva na farmě a jeho kontrola

---

Autoři

**Ing. Stanislav Staněk<sup>1</sup>, Ph.D.** (40 %)  
**MVDr. Soňa Šlosárková<sup>2</sup>, Ph.D.** (20 %)  
**MVDr. Petr Fleischer<sup>2</sup>, Ph.D.** (20 %)  
**Ing. Eliška Nejedlá<sup>1</sup>** (10 %)  
**MVDr. Josef Krejčí<sup>2</sup>** (5 %)  
**MVDr. Monika Zouharová<sup>2</sup>, Ph.D.** (5 %)

<sup>1</sup>Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha

<sup>2</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i. Brno

Oponenti

**Ing. Jan Vodička**

*Odbor živočišných komodit*

*Ministerstvo zemědělství*

**prof. MVDr. Leoš Pavlata, Ph.D.**

*Ústav výživy zvířat a pícninářství, Agronomická fakulta*

*Mendelova univerzita v Brně*

Metodika byla vypracována v rámci řešení výzkumného projektu **NAZV QJ1510219 (100 %)** - Komplexní řízení mlezivové výživy telat a její zlepšování jako přirozený nástroj k podpoře zdraví telat, tlumení nákaz a snížení potřeby antibiotik.

Osvědčení č. 17210/2018 - 5 o uznání certifikované metodiky ze dne 17. 12. 2018

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

ISBN 978-80-88233-49-7

# **Obsah**

1	CÍL METODIKY .....	3
2	VLASTNÍ POPIS METODIKY .....	3
2.1	Úvod .....	3
2.2	Mlezivo.....	3
2.3	Imunologická kvalita mleziva.....	4
2.4	Faktory ovlivňující imunologickou kvalitu mleziva.....	5
2.4.1	Plemeno .....	6
2.4.2	Pořadí laktace .....	6
2.4.3	Objem .....	7
2.4.4	Doba od otelení k podojení.....	7
2.4.5	Zdravotní stav krav.....	7
2.4.6	Doba stání na sucho.....	8
2.4.7	Výživa krav v období stání na sucho .....	8
2.4.8	Expozice k patogenům a vakcinace .....	8
2.5	Mikrobiologická kvalita mleziva.....	9
2.5.1	Výskyt původců infekčních onemocnění v mlezivu .....	10
2.5.2	Mikrobiální kontaminace a dopad na imunitní výbavu telete .....	10
2.5.3	Úroveň mikrobiální kontaminace, hodnocení.....	10
2.6	Skladování a manipulace s mlezivem.....	11
2.6.1	Krátkodobé uchování mleziva .....	12
2.6.1.1	Chlazení .....	12
2.6.1.2	Konzervace sorbanem draselným .....	14
2.6.1.3	Pasterace .....	14
2.6.1.4	Okyselování .....	16
2.6.2	Dlouhodobé uchování mleziva .....	17
2.6.2.1	Zamražení .....	17
2.6.3	Rozmrazování mleziva .....	17
2.6.3.1	Vodní lázeň.....	17
2.6.3.2	Mikrovlnné záření.....	18
2.7	Možnosti ověřování imunologické kvality mleziva.....	19
2.7.1	Přímé stanovení IgG v mlezivu .....	20
2.7.2	Odhad obsahu IgG kolostroměrem .....	20
2.7.3	Odhad obsahu IgG refraktometrem .....	23
2.8	Možnosti ověřování mikrobiální kontaminace .....	24
2.8.1	Stanovení CPM laboratorně.....	25
2.8.2	Nepřímé ověření zdrojů kontaminace .....	27
3	SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ A ZDŮVODNĚNÍ .....	28
4	POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY .....	34
5	EKONOMICKÉ ASPEKTY .....	34
5.1	Náklady spojené se zavedením ověřování kvality mleziva .....	35
5.2	Přínosy spojené se zavedením kontrol kvality mleziva .....	35
6	SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY .....	37
7	SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE .....	43
	PŘÍLOHA K CERTIFIKOVANÉ METODICE 107/2018 .....	
	Získávání kvalitního mleziva na farmě a jeho kontrola <u>KROK ZA KROKEM</u> .....	

## **1 CÍL METODIKY**

Cílem této metodiky je rozšíření, resp. ucelení znalostí o aktuálních postupech správného získávání, uchovávání a případně ošetřování mleziva určeného pro napájení novorozených telat, k zajištění jejich adekvátní imunitní výbavy a snížení rizika přenosu infekčních onemocnění. Dalším cílem je popis faremních možností rychlého a efektivního hodnocení (odhadu) kvality mleziva, která je jedním ze základních pilířů zajištění dobrého zdraví telat v průběhu jejich odchovu.

## **2 VLASTNÍ POPIS METODIKY**

### **2.1 Úvod**

Nezastupitelný význam mleziva je dán faktem, že u skotu není kvůli syndesmochoriálnímu typu placenty umožněn prostup protilátek z krve matky do plodu. Telata se proto rodí téměř bez imunoglobulinů (Godden, 2008; Beam a kol., 2009) a jejich výbava protilátkami tak závisí na tzv. přirozené pasivní imunizaci, tj. na přijetí a resorpci imunoglobulinů (Ig) z mleziva (kolostra) přes stěnu střeva do krevního oběhu. Je zdokumentováno, že podání mleziva vysoké kvality (tj. s vysokým obsahem Ig) telatům co nejdříve po porodu vede k menší náchylnosti telat k onemocněním a ke snížení postnatální mortality (Tyler a kol., 1999). Plemenice by v době tvorby kolostra měla být již delší dobu ustájena v místě, kde bude následně odchováváno její tele, a to z důvodu zajištění specifické pasivní imunity vůči antigenům přítomným v daném prostředí. Konečná imunitní výbava telat je potom dána kombinací mnoha faktorů, zejména množstvím a kvalitou přijatého kolostra a také dobou od narození do napojení (Šlosáková a kol., 2017b).

### **2.2 Mlezivo**

Za mlezivo v pravém slova smyslu považujeme pouze to, které pochází z prvního podojení po otelení krávy, neboť obsahuje nejvyšší množství imunoglobulinů (Weaver a kol., 2000). Proces tvorby mleziva začíná přibližně 5 týdnů před otelením a významně se zintenzivňuje přibližně 2 týdny před otelením. Je ukončena náhle, a to porodem telete (Maunsell, 2014). V průběhu vysoké březosti je selektivně převáděno velké množství protilátek a dalších imunitních faktorů z krevního oběhu jalovice nebo krávy do mleziva. Mlezivo obsahuje mimo základní živiny, tj. bílkoviny, tuk a cukry, také minerální látky, vitamíny a z pohledu imunologického protilátky

třídy G, M, A a E, kdy zejména imunoglobuliny třídy G jsou klíčové k zajištění pasivní imunity telat.

Každá ze tříd imunoglobulinů má svou specifickou úlohu. Pro přežití telete jsou nejvýznamnější IgG<sub>1</sub> a IgG<sub>2</sub>, které představují 80 až 85 % všech imunoglobulinů (Kehoe a kol., 2007; Baumrucker a kol., 2010). Jakmile je tele napojeno mlezem, procházejí tyto imunoglobuliny jeho střevní sliznicí do mízy a odtud do krve. Jejich úlohou je identifikace a inaktivace mikroorganismů, které pronikly do krevního řečiště. Podobnou úlohu mají také imunoglobuliny třídy M, tj. IgM. Imunoglobuliny A se váží na střevní sliznici a zabraňují patogenům na ni přilnout a dále pronikat do krevního řečiště. Protilátky IgE jsou důležité při hypersenzitivitě (alergických reakcích) a ochraně proti parazitům. Imunoglobuliny zajišťují nejen vlastní pasivní imunitu (hladinu protilátek v krvi), ale také lokální imunitu ve střevě, čímž brání rozvoji zejména průjmových onemocnění telat.

Vedle protilátek jsou v nativním mlezu obsaženy také další složky, které stimulují a dotváří vlastní imunitní systém a ovlivňují vývoj řady dalších orgánových systémů narozených telat – např. inzulínu podobný růstový faktor (IGF-1), lakoferin, živé buňky imunitního systému, nespecifické antimikrobní faktory či inhibitor trypsinu aj. (Blum a Hammon, 2000; Godden, 2008). Tyto specifické látky však nejsou rutinně stanovovány a nejsou k nim ani interpretační kritéria pro jejich využití. Naproti tomu důležitost protilátek v mlezu je dlouhodobě známá, a proto je jejich obsah nejčastěji užíván jako základní ukazatel jeho kvality.

### 2.3 Imunologická kvalita mleziva

Imunologická kvalita mleziva se rutinně hodnotí na základě koncentrace protilátek. Jejich obsah je přitom velice variabilní, a to jak u jednotlivých zvířat v rámci farmy (Pritchett a kol., 1991), tak i mezi farmami. Například norská studie, která hodnotila kvalitu mleziv získaných na 119 farmách dojeného skotu, uvádí, že obsah imunoglobulinů G se pohyboval v rozpětí 4 až 235 g.l<sup>-1</sup>, přičemž medián byl jen 45 g.l<sup>-1</sup> (Gulliksen a kol., 2008). Studie Morrill a kol. (2012), která zahrnovala hodnocení 827 vzorků mleziva, které byly získány na 67 farmách dojeného skotu napříč USA, uvádí rozptyl koncentrace IgG mezi 1 až 200 g.l<sup>-1</sup> s průměrem 68,8 g.l<sup>-1</sup>. Obsah imunoglobulinů v 569 hodnocených vzorcích mleziva, získaných na 13 farmách dojeného skotu v Albertě v Kanadě, se pohyboval mezi 8,3 a 128,6 g.l<sup>-1</sup> s mediánem 65,1 g.l<sup>-1</sup> (Bartier a kol., 2015). Za akceptovatelně kvalitní je dlouhodobě mezinárodně považováno mlezivo

s koncentrací IgG minimálně 50 g.l<sup>-1</sup>, v některých novějších studiích teprve od hranice 60 g.l<sup>-1</sup> (Dairy Australia, 2012; Jones a Heinrichs, 2016).

Rutinní kontrola - odhad kvality mleziva může být jedním z klíčových prvků pro adekvátní nastavení managementu mlezivové výživy telat. Bohužel, z průzkumu Staňka (2013) vyplynulo, že kvalitu mleziva rutinně ověřuje pouze 44,1 % tuzemských chovů dojeného skotu (tabulka 1). Nižší podíl chovatelů rutinně kontrolujících kvalitu mleziva (20,8 %) uvádí rakouská studie Klein-Jöbstl a kol. (2015) a Vasseur a kol. (2010) dokonce píší, že kvalita mleziva nebyla chovateli rutinně hodnocena v žádném ze sledovaných kanadských chovů (n = 115 chovů).

Tabulka 1: Vybrané aspekty managementu mlezivové výživy ve 136 tuzemských chovech (Staněk, 2013)

Zkoumaná veličina	Kategorie	Všechny chovy (%)	Chovy C <sup>1</sup> (%)	Chovy H <sup>2</sup> (%)
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
Mlezivo od prvotek <sup>3</sup>	nezkrmujeme	8,1	7,8	8,5
	občas zkrmujeme	46,3	44,2	49,2
	vždy zkrmujeme	45,6	48	42,3

<sup>1</sup>C – český strakatý skot, <sup>2</sup>H – holštýnský skot, <sup>3</sup> – při prvním napojení po narození

## 2.4 Faktory ovlivňující imunologickou kvalitu mleziva

Obsah IgG v mlezivu může souviset s mnoha faktory, přičemž řada z nich je ovlivnitelná personálem farmy (Godden, 2008). Mezi nejpodstatnější, které jsou rozvedeny níže, patří:

- plemenná příslušnost,
- pořadí laktace,
- objem nadojeného mleziva,
- doba mezi otelením a podojením,
- zdravotní stav zvířete,
- délka období stání na sucho,
- expozice ke specifickým patogenům apod.

K dalším faktorům, které mohou ovlivnit imunologickou kvalitu mleziva, patří mimo jiné tepelný či sociální stres, sání telete, faktory dojení, sezóna telení aj. Z tohoto neúplného výčtu faktorů a z výše uvedeného faktu veliké variability je zřejmé, že z chovatelského hlediska nelze ani

u prvotek, ani u starších krav předpovědět, jaká bude výsledná kvalita kolostra. Nejúčinnějším způsobem řízení tohoto úseku mlezivové výživy je tedy napájení telat takovým mlezivem, u kterého byla ověřena – odhadnuta jeho kvalita bezprostředně po jeho získání, tj. nadojení.

#### 2.4.1 Plemeno

Obsah protilátek – imunoglobulinů v mlezivu může být ovlivněn plemenou příslušností krávy. Vyšší obsah imunoglobulinů byl popsán například ve studii Mullera a Ellingera (1981) u plemen jersey a ayrshire ve srovnání s dojnicemi plemene holštýn. Naopak, práce Morrill a kol. (2012) uvádí rozdíl v koncentraci IgG v kolostru krav plemene jersey a holštýn (65,8 versus 74,2 g.l<sup>-1</sup> IgG), avšak tento rozdíl nebyl zjištěn jako statisticky průkazný. Častěji jsou popisovány nižší koncentrace protilátek v mlezivu krav holštýnského plemene a tento fakt je dáván obvykle do souvislosti s vysokým objemem získávaného mleziva (Maunsell, 2014). Naopak v našem sledování (Staněk a kol., 2017) byla v mlezivech získaných od holštýnských krav zjištěna vyšší průměrná hladina imunoglobulinů, a to v porovnání s mlezivy získanými od krav plemene české strakaté. Částečně to však může být dáno tím, že zvířata rozdílných plemen pocházela z různých podniků s odlišnostmi v pracovních postupech, managementu, užitkovosti apod. Plemeno se tedy nejeví jako zásadní faktor, který by přímo sám o sobě významně ovlivňoval kvalitu mleziva. Tu významněji ovlivňují následující faktory.

#### 2.4.2 Pořadí laktace

Obsah protilátek v mlezivu je výrazně ovlivněn pořadím laktace. Muller a Ellinger (1981) popsali, že prvotelky měly nižší koncentrace protilátek oproti kravám na třetí a vyšší laktaci. Také Morrill a kol. (2012) doložili, že kvalita mleziva u dojnic kontinuálně stoupala od prvních do třetích a vyšších laktací (IgG: 1. laktace průměr 42,4 g.l<sup>-1</sup>, 2. laktace 68,6 g.l<sup>-1</sup> a 3. a další laktace 95,9 g.l<sup>-1</sup>). Obdobné výsledky zjistil i náš autorský kolektiv (Staněk a kol., 2017), a to na souboru více než 1380 imunologicky zhodnocených vzorků mleziv z chovů dojených krav v ČR, kde koncentrace IgG byla statisticky významně nižší u krav na 1., resp. 2. laktaci (medián 74,1 g.l<sup>-1</sup>) v porovnání s mlezivy od krav na 3., resp. 4. a vyšší laktaci (medián 82,9 g.l<sup>-1</sup>). Nicméně většina prvotek produkuje mlezivo dobré kvality - např. v našem souboru dat 74,3 % vzorků mleziva od prvotek dosahovalo akceptovatelné kvality ( $\geq 50$  g.l<sup>-1</sup> IgG), a proto by mlezivo od prvotek nemělo být paušálně vyřazováno. Ze studie Staněk (2013) vyplynulo, že ve 136 tuzemských chovech nenapájelo telata mlezivem od prvotek 8,1 % chovů vůbec, občas jej zkrmovalo 46,3 % a vždy jej zkrmovalo 45,6 % chovů. V chovech, kde je mlezivo od prvotek

automaticky vyřazováno, může nastat problém s náhradními zdroji kvalitního mleziva, protože prvotelky tvoří v závislosti na intenzitě brakování velmi podstatnou část základního stáda dojeného skotu (25 až 40 %). Upřednostněno by proto mělo být rutinní ověření kvality mleziva od prvotek, a nikoli automatické použití mleziva od krávy na vyšší laktaci.

#### 2.4.3 Objem

Objem získaného mleziva bývá v negativní korelaci s koncentrací imunoglobulinů (Kehoe a kol., 2011). Zjednodušeně lze říci, že vyprodukované množství protilátek jednotlivými kravami je spíše obdobné a záleží, do jak velkého objemu kolostra se dostane. Naše studie (Staněk a kol., 2017) ukázala, že mlezivo získané v objemu do 8 l mělo průkazně vyšší obsah IgG než mlezivo nadojené v objemech nad 8 l. Obdobně Pritchett a kol. (1991) zjistili vyšší koncentraci imunoglobulinů v mlezivu s objemem do 8,5 l. Příčinou těchto rozdílů může být v souladu s následujícím bodem i skutečnost, že ihned po otelení dochází k určitému „zřeďování“ mleziva (v průměru o 3,7 % za hodinu, ale u špičkových dojnic výrazněji) v důsledku intenzivní tvorby mléka, tj. dochází k rychlému přechodu mleziva - nezralého mléka na mléko zralé (Morin a kol., 2010).

#### 2.4.4 Doba od otelení k podojení

Dle výše uvedeného, doba od porodu do prvního podojení může významně ovlivnit kvalitu mleziva. Studie Moore a kol. (2005) doložila, že mlezivo s vyšším obsahem IgG bylo získáváno od krav, které byly podojeny do 2 hodin po otelení ( $113 \text{ g.l}^{-1}$ ) v porovnání s kravami, které byly podojeny za 6, 10 nebo 14 hodin po otelení (94, 82 resp.  $76 \text{ g.l}^{-1}$ ). Také výsledky naší studie (Staněk a kol., 2017) ukázaly, že mleziva nadojená do 4 hodin po otelení měla průkazně vyšší obsah IgG než mleziva získaná později. Vliv doby do podojení může zesílit, pokud tele po narození vyhledá vemeno a začne sát, čímž navodí spouštění a akceleruje tvorbu mléka. Zřeďování mleziva (technicky výše definovaného jako první nádoj) se tak urychlí.

#### 2.4.5 Zdravotní stav krav

Celkové infekční, nebo metabolické onemocnění plemenice v období stání na sucho, vede k produkci menšího množství, případně méně kvalitního kolostra a zvyšuje mortalitu novorozených telat, zejména pokud jde o dvojčata (Dardillat a kol., 1978). Také samotná infekce mléčné žlázy má negativní dopad na kvalitu mleziva. Korelaci mezi sníženým obsahem Ig v mlezivu a počtem somatických buněk (SB), tj. indikátorem subklinické mastitidy, doložili např. Gulliksen a kol. (2008). Právě studie Gulliksen a kol. (2008) ukázala, že u krav, které měly

v mlezivu hodnoceném bezprostředně po otelení obsah SB >50 tis. v 1 ml, byla 1,7× vyšší pravděpodobnost, že mlezivo bude obsahovat <30 g.l<sup>-1</sup> IgG. Klinický zánět mléčné žlázy zásadním způsobem ovlivňuje kvalitu mleziva (Maunsell a kol., 1999), protože při něm dochází nejen k poklesu jeho objemu, ale i ke snížení obsahu Ig a výrazné mikrobiální zátěži/kontaminaci mleziva. Takové mlezivo se následně může stát pro tele primárním zdrojem patogenních mikroorganismů. Vzhledem k faktu, že řada patogenů může prostupovat i do mléčné žlázy, by mělo být mlezivo od klinicky nemocné krávy vždy vyřazeno.

#### **2.4.6 Doba stání na sucho**

Zkracování období stání na sucho u krav z 60 na 40 dnů nemá podle Shoshani a kol. (2014) a dalších studií negativní dopad na kvalitu mleziva, nicméně zkrácení na méně než 21 dnů, případně úplné vynechání zaprahnutí krávy velmi úzce souvisí s poklesem koncentrace protilátek v získaném mlezivu (Rastani a kol., 2005; Verweij a kol., 2014).

#### **2.4.7 Výživa krav v období stání na sucho**

Vědecké práce dokládají, že různé krmné dávky (KD) v období stání na sucho v souladu s normami potřeby živin nemají zásadní vliv na objem ani koncentraci Ig v mlezivu (Dardillat a kol., 1978; Richards a kol., 2009). Ani doporučované zvyšování obsahu proteinu v KD v období přípravy na porod nevedlo dle studie Santos a kol. (2001) k vyššímu obsahu Ig ani objemu mleziva. Pozitivní vliv na obsah Ig i objem mleziva byl však zjištěn u některých mikopravků a vitamínů, např. pozitivní vliv aplikace selenu, pokud byly krávy v předchozím období krmeny krmnou dávkou na tento mikoprvek deficitní (jejich mleziva obsahovala méně imunoglobulinů), popsali např. Lacetera a kol. (1996). Pouze zásadní nedostatky ve výživě a krmení, obdobně jako závažné onemocnění, mohou mít za následek tvorbu menšího množství mleziva.

#### **2.4.8 Expozice k patogenům a vakcinace**

Produkce protilátek je stálý proces, který reaguje na přítomnost patogenů ve vnějším prostředí, resp. na kontakt s nimi, přičemž syntetizované protilátky jsou přísně specifické. K zajištění maximální možné pasivní imunity telat je proto potřeba, aby krávy byly po dobu minimálně tří až čtyř týdnů před porodem ustájeny v místě, kde budou ustájena i jejich telata. U jalovic je třeba, aby to byly dva, lépe však tři měsíce. Důvodem této delší časové periody v případě vysokobřezích jalovic je fakt, že ve velké části chovů, jsou jalovice chovány na samostatných střediscích, které jsou obvykle vzdálené od produkčních farem s dojnicemi. Specifickou odolnost lze podpořit vakcinací plemenic. Vakcinace 3 až 6 týdnů před porodem vede ke

zvýšení množství specifických protilátek vůči specifickým patogenům v krvi a následně i v mlezivu. Vliv na celkové množství protilátek v mlezivu je ale zanedbatelný. Pozitivní výsledky byly popsány s vakcínami proti průjmovým onemocněním telat (LeRousic a kol., 2000). V případě vakcinace březích zvířat je potřeba dodržet doporučenou dobu a schéma vakcinace, včetně revakcinace, tj. boostru. Teprve pokud je dostatečně dlouhá doba od revakcinace k otelení (nejméně 2 až 3 týdny), je zaručené zvýšení specifických protilátek v mlezivu a vakcíny tak mívají nejlepší účinek. To samozřejmě platí zejména tehdy, pokud kromě dostatečného vybavení telete protilátkami díky jeho správnému napojení mlezivem v průběhu prvního dne, je teleti zkrmováno mlezivo, resp. přechodové a nativní mléko vakcinovaných matek i v dalších dnech života. Tím se totiž navozuje tzv. laktogenní imunita, což znamená působení protilátek z mleziva a mléka lokálně přímo uvnitř střevního traktu.

## 2.5 Mikrobiologická kvalita mleziva

Zajištění dostatečné saturace telete imunoglobulinu nezávisí pouze na množství podaného mleziva a jeho adekvátní imunologické kvalitě, ale i na jeho mikrobiologické kvalitě. Při komplexním pohledu na management mlezivové výživy telat je nutné pamatovat na skutečnost, že silně mikrobiálně kontaminované mlezivo nejen poskytne méně imunoglobulinů, ale je i jedním z nejčasnějších potencionálních zdrojů infekčních agens pro novorozená telata. Patogenní mikroorganismy se do mleziva dostávají nejen ze samotné mléčné žlázy, ale častěji jejich počet značně vzrůstá v průběhu získávání mleziva (tj. při dojení) a při jeho skladování - z nádob, se kterými přichází mlezivo do kontaktu, a vlastním množením bakterií v průběhu skladování (McGuirk a Collins, 2004; Johnson a kol., 2007). K rizikovým faktorům ve vztahu k mikrobiální kontaminaci mleziva patří:

- a) zdraví mléčné žlázy krav před a v průběhu zaprahnutí,
- b) zdraví mléčné žlázy bezprostředně před a po otelení,
- c) předčasný odtok mleziva před otelením a po otelení (otevření strukového kanálku),
- d) hygiena ustájení vysokobřezích jalovic a krav (čistota těla plemenic – fekální kontaminace),
- e) úroveň toalety, resp. ošetření mléčné žlázy před dojením (pre-dipping, jednorázové utěrky, látkové utěrky apod.),
- f) hygiena dojicího zařízení (dojicí souprava, konev apod.),
- g) hygiena nádob pro krátkodobé nebo dlouhodobé uchovávání mleziva,

- h) hygiena nádob, kterými jsou telata napájena, včetně pomůcek pro nucené napájení telat (jícnová sonda, plovací dudlíky apod.),
- i) místo pro krátkodobé skladování mleziva (čistota a teplota v chladničce apod.).

### 2.5.1 Výskyt původců infekčních onemocnění v mlezivu

K nejvýznamnějším patogenům, které mohou kontaminovat mlezivo v průběhu jeho získávání (např. pokud je vemeno znečištěné fekáliemi) a dále v průběhu manipulace a skladování, patří fekální koliformní bakterie (*Escherichia coli*), případně *Salmonella* spp. K dalším mikrobiálním kontaminantům mleziva patří i *Staphylococcus* spp. a *Streptococcus* spp. (Fecteau a kol., 2002). K velmi závažným infekčním původcům, kteří se mohou dostávat z organismu infikované krávy do organismu telete prostřednictvím mleziva, patří zejména *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (původce paratuberkulózy u skotu), *Salmonella* spp., *Mycoplasma* species aj. (Stewart a kol., 2005; Houser a kol., 2008; Godden a kol., 2015). Uvedená infekční agens mohou u telat přímo vyvolávat různá onemocnění (enteritidy, sepse, infekce kloubů, uší apod.), která mohou vyústit až v úhyny telat, ale mohou být i příčinou vzniku latentních či subklinických infekcí, které se projeví až v pozdějším věku zvířat (např. paratuberkulóza).

### 2.5.2 Mikrobiální kontaminace a dopad na imunitní výbavu telete

Mikrobiální kontaminace mleziva hraje velmi podstatnou roli v systému vstřebávání imunoglobulinů z mleziva přes tenké střevo do krevního oběhu (Stewart a kol., 2005). Bakterie obsažené v mlezivu se mohou vázat na volné protilátky nebo také mohou blokovat vychytávání a vstřebávání protilátek střevními buňkami, případně degradovat bílkoviny, čímž mohou u telat velmi významně snižovat efektivní absorpci IgG (Morrill a kol., 2012). Obecně platí, že čím vyšší je mikrobiální kontaminace mleziva, tím vyšší je riziko selhání přenosu pasivní imunity u novorozeneho teleta (James a kol., 1981). Při zkrmování neošetřeného versus pasterovaného mleziva bylo zjištěno, že celkový počet mikroorganismů koreluje negativně s absorpcí IgG a tudíž koncentrací IgG v séru u jednodenních telat (Peterson a kol., 2008). Také Gelsinger a kol. (2014) zjistili, že vyššího obsahu IgG v plasmě telat bylo dosaženo při zkrmování pasterovaného mleziva v porovnání s mlezivem tepelně neošetřeným, a to v průměru o 18,4 %.

### 2.5.3 Úroveň mikrobiální kontaminace, hodnocení

Limity pro obsah celkového počtu mikroorganismů (CPM) v kolostru nejsou na rozdíl od mléka určeného pro lidský konzum definovány jednotně. Nejčastěji byl dosud používán limit, který publikovali McGuirk a Collins (2004) v hodnotě 100 tis. kolonie tvořících jednotek (KTJ) na

mililitr, protože vyšší počty korelují se zhoršenou imunitou telat. Nověji však byla doporučena přísnější hraniční hodnota, a to 20 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> (Heinrichs a Jones, 2017). Úroveň kontaminace mleziva v chovech dojeného skotu je velmi rozdílná. Fecteau a kol. (2002) ve své studii v Kanadě doložili, že ve vzorcích zkrmovaného mleziva byl průměrný CPM jen 23 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>, ale 35,9 % vzorků bylo považováno za kontaminované, protože obsahovaly CPM vyšší než 100 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>. Ve studii, která hodnotila vzorky mleziva přítomné v den návštěvy na 67 farmách ve 12 státech USA, bylo zjištěno, že průměrný obsah CPM byl 79,4 tisíc KTJ·ml<sup>-1</sup> a 43 % mleziv obsahovalo CPM vyšší než 100 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> (Morrill a kol., 2012). Phipps a kol. (2016) uvádějí, že ze vzorků získaných na 24 farmách dojeného skotu v Austrálii splnilo 58 % vzorků limitní požadavek do 100 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>. Heinrichs a Jones (2017) při hodnocení 55 vzorků mleziv z pensylvánských chovů u některých zjistili velmi silnou mikrobiální kontaminaci (průměrný CPM 997,5 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>, přitom ale 55 % z nich splnilo limit <20 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>). V ČR je situace v oblasti mikrobiální čistoty mleziva patrně podstatně méně uspokojivá. Dle naší studie Staněk a kol. (2016) byly zjištěny značné kontaminace čerstvě získaných mleziv, kdy střední hodnota - medián CPM hodnocených vzorků mleziv byl 530 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> a kdy tolerantnější limitní hodnotu <100 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> splnilo pouze 27,1 % hodnocených vzorků, zatímco přísnější limit <20 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> dokonce jen 12,9 %. S největší pravděpodobností ještě méně příznivé výsledky by byly získány, pokud by vzorky pocházely nikoli z čerstvě získaných, ale až ze zkrmovaných mleziv. Detailnější výsledky naší studie jsou uvedeny v kapitole 3, v tabulce 5.

Dalším jakostním parametrem z pohledu mikrobiologického je stanovení počtu koliformních bakterií, které jsou jedním ze základních indikátorů fekální kontaminace. Kontaminaci mleziva koliformními bakteriemi, tedy bakteriemi fekálního znečištění, můžeme klást za vinu nedokonalé či chybějící toaletě vemene vč. pre-dippingu, používání jedné utěrky pro více krav, chybějící dezinfekci dojicího zařízení (automatické, manuální) mezi dojeními ve starších typech dojíren (Staněk a kol., 2016). Počet koliformních bakterií v mlezivu by měl být <10 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> (McGuirk a Collins, 2004), dle Heinrichse a Jones (2017) dokonce <100 KTJ·ml<sup>-1</sup>.

## 2.6 Skladování a manipulace s mlezivem

Skladování mleziva významným způsobem ovlivňuje zejména jeho mikrobiální kvalitu. Z pohledu mikrobiologického je zásadní teplota mleziva a délka doby jeho uchovávání, jak uvádí studie Stewarta a kol. (2005). Dalším velmi významným faktorem, který ovlivňuje mikrobiologickou kvalitu mleziva, je i samotné prostředí, ve kterém je mlezivo uchováváno, ať

již krátkodobě nebo dlouhodobě. Z pohledu rizika možné kontaminace mleziva (např. přirozený spad mikroorganismů z prostředí), je rozdíl, jestli je mlezivo volně ložené ve vědru v dojírně, nebo jej chovatel rutinně uchovává, např. v 1,5 až 2 l uzavřených lahvích, které jsou navíc uložené v lednici. Dalším velmi rizikovým bodem je i čistota nádob a pomůcek, se kterými mlezivo přichází do styku. Z praxe víme, že úroveň hygieny těchto zařízení, nádob a pomůcek (láhve, cucáky, jícnové sondy, vědra, konve apod.) je velmi rozdílná. Rozlišujeme skladování mleziva krátkodobé (v rádech dnů) a dlouhodobé (v rádech měsíců).

## 2.6.1 Krátkodobé uchování mleziva

### 2.6.1.1 Chlazení

Mlezivo je výborným růstovým médiem pro bakterie, proto jeho uchovávání při pokojové teplotě vede k velmi významnému pomnožení v něm přítomných bakterií, což dokládá například práce Stewarta a kol. (2005). Výsledky této práce jsou uvedeny v tabulce 2. Mlezivo, které není zkrmeno telatům do dvou hodin po nadojení, by mělo být uchováváno buď krátkodobě v chladničce při teplotě 4 °C (McGuirk a Collins, 2004), nebo by mělo být zamraženo. Chlazení mleziva (4 °C) po dobu 48 hodin přitom dle práce Ramírez-Santany a kol. (2012) prokazatelně nemělo negativní vliv na jeho obsah imunoglobulinů. Cummins a kol. (2017) uvádějí, že mlezivo s obsahem IgG >50 g.l<sup>-1</sup>, které není okamžitě zkrmeno telatům, může být uchováváno v chladničce při teplotě ≤ 4 °C max. po dobu 2 dní, aniž by tím byla následně negativně ovlivněna pasivní imunita telat, která byla tímto mlezivem napojena.

Mikrobiální kontaminace mleziva je jedním z velmi podstatných faktorů, který se podílí na výsledné imunitní vybavenosti telat. Jak dokládá studie Peterson a kol. (2008), klesla efektivní absorpce protilátek (což je poměr mezi přijatým množstvím protilátek ke koncentraci protilátek v séru) z 39 % při obsahu CPM  $2 \times 10^6$  na 24 % při CPM  $8 \times 10^6$ , resp. efektivní absorpce IgG klesá o 2,4 % při vzestupu CPM o každý 1 log10. Zprostředkovaně o vlivu kontaminace referuje i práce Elizondo–Salazar a Heinrichs (2009), která dokládá nižší sérové koncentrace IgG u telat napojených čerstvým mlezivem ve srovnání s telaty napojenými pasterovaným mlezivem, což autoři vysvětlují právě snížením bakteriální kontaminace a tím lepším následným vstřebáním IgG do střeva. Studie Cumminse a kol. (2017) uvádí, že u mleziv skladovaných 2 dny při teplotě 22 °C byl zjištěn >42× vyšší obsah CPM a pH tohoto mleziva bylo o 0,85 jednotek nižší. Současně i telata napojená tímto mlezivem měla 2× nižší obsah IgG v séru, než telata napojená pasterovaným, čerstvým nebo 2 dny chlazeným (4 °C) mlezivem.

Tabulka 2: Průměrné počty mikroorganismů ( $\log_{10}$  KTJ·ml $^{-1}$ ) v mlezu v závislosti na způsobu jeho uchování (upraveno podle Stewarta a kol., 2005)

Zdroj/metoda uchování/konzervace	Celkový počet mikroorganismů	Počet koliformních bakterií
vemeno (odběr po desinfekci)	1,44	0,90
konev, 15 až 20 min. po nadojení	4,99	4,71
chladnička, 24 hod.	5,75	5,50
chladnička, 48 hod.	6,03	5,51
chladnička, 96 hod.	6,17	5,91
pokojová teplota 24 hod.	7,26	6,39
pokojová teplota 48 hod.	6,62	4,96
pokojová teplota 96 hod.	6,63	4,48
chladnička a konzervant*, 24 hod.	3,60	3,14
chladnička a konzervant*, 48 hod.	3,64	3,39
chladnička a konzervant*, 96 hod.	3,55	3,39
pokojová teplota a konzervant*, 24	5,43	4,71
pokojová teplota a konzervant*, 48	6,48	5,02
pokojová teplota a konzervant*, 96	6,54	2,87

\*) konzervant – sorban draselný 0,5 %

Jednou ze základních podmínek uchovávání mleziva v chladničce je její čistota a pravidelná kontrola teploty v ní. Jak dále dokládá studie Stewarta a kol. (2005) v mlezivech, která byla uchovávána při běžné pokojové teplotě, bylo dosahováno nejen velmi vysoké mikrobiální kontaminace, ale také v nich v rámci fermentačních procesů docházelo k poklesu pH, a to z hodnoty pH 5,59, naměřené bezprostředně po nadojení, na pH 4,40 po 96 hodinách. Tato informace je z chovatelského hlediska velmi důležitá, protože nativní fermentace v důsledku intenzivní mikrobiální činnosti vede nejen k zásadnímu snížení obsahu sušiny, proteinu, tuku a laktózy (Foley a Otterby, 1978), ale i k vlastní degradaci imunoglobulinů v mlezu obsažených (Quigley, 1997). Na základě všech výše uvedených informací je doporučováno zkrmovat zchlazené nativní mlezo nejlépe do 24, nejpozději pak do 48 hodin po nadojení. Při nutnosti delšího skladování v chladničce (do 96 hodin) je třeba mlezo konzervovat vhodným přípravkem, případně jej zamrazit a opětovně rozmrazit.

### **2.6.1.2 Konzervace sorbanem draselným**

Použití konzervačních látok je v chovatelské praxi velmi málo rozšířená metoda, která umožnuje krátkodobé uchování mleziva bez nutnosti jeho zamrazení. Jedním z prostředků používaných ke krátkodobému konzervování mleziva je sorban draselný, který je vzhledem ke svým antibakteriálním a antifungálním vlastnostem běžně používanou konzervační látkou při výrobě potravin a nápojů pro člověka (Patel a kol., 2014). Při testech s uchováváním mleziva v chladničce a při pokojové teplotě bez a s tímto konzervantem bylo prokázáno, že pro redukci množení bakterií v mlezivu je nejúčinnější užití sorbanu draselného v kombinaci s uchováváním mleziva v chladničce, oproti samotnému chlazení mleziva nebo jeho skladování při pokojové teplotě ať už s konzervantem, či bez něj (tabulka 2 - Stewart a kol., 2005). Obdobné výsledky zjistili také Denholm a kol. (2017). Chlazené mlezivo bez předchozí konzervace by mělo být zkrmeno telatům nejpozději do 24 hodin po nadojení, zatímco v případě jeho ošetření sorbanem draselným pak až do 96 hodin (Stewart a kol., 2005). Ke konzervaci je vhodné použít tekutý 50 % roztok sorbanu draselného s tím, že jeho výsledná koncentrace v mlezivu by měla dosáhnout 0,5 %. Kromě sorbanu draselného jsou v odborné literatuře zmínky i o užití dalších konzervačních látok, např. benzoanu sodného, kyseliny propionové, formaldehydu apod., avšak velmi často jsou některé tyto způsoby konzervace spíše problematické.

### **2.6.1.3 Pasterace**

Pasterace mleziva je doporučenou metodou pro snížení jeho bakteriální kontaminace (Godden a kol., 2006; McMartin a kol., 2006; Johnson a kol., 2007; Elizondo–Salazar a Heinrichs, 2009) a je důležitá pro omezení šíření infekcí, které mohou být z mleziva na telata přeneseny (Godden, 2008). Při hledání hraniční teploty, která nebude poškozovat viskozitu a funkční vlastnosti mleziva, McMartin a kol. (2006) doložili, že zahřátí mleziva na 60 °C (tj. pasterace) po dobu 120 minut nevede ke změně viskozity a signifikantnímu poklesu koncentrace imunoglobulinů. Stejně tak Elizondo–Salazar a Heinrichs (2009) doložili, že pasterace bovinního mleziva při 60 °C po dobu 30 nebo 60 minut neovlivňuje fyzikální vlastnosti (viskozitu) a pouze mírně snižuje obsah IgG. Také studie Godden a kol. (2014) dokládá, že pasterování mleziva při teplotě 60 °C po dobu 60 minut neovlivňovalo obsah IgG v mlezivu (pasterované mlezivo 61,4 g.l<sup>-1</sup> IgG, zatímco tepelně neošetřené mlezivo 63,9 g.l<sup>-1</sup> IgG), avšak významně redukovalo CPM (teplně neošetřené mlezivo 515000 KTJ·ml<sup>-1</sup>, zatímco pasterované mlezivo jen 2100 KTJ·ml<sup>-1</sup>) a počet koliformních bakterií (teplně neošetřené mlezivo 51500 KTJ·ml<sup>-1</sup> oproti jen 90 KTJ·ml<sup>-1</sup>). Zajímavé jsou i výsledky Johnson a kol. (2007), kteří zjistili, že již za 1 až 2 hodiny

skladování mleziva (tj. doba mezi nadojením mleziva a jeho zkrmením telatům) se počty bakterií v tepelně neošetřeném mlezu rapidně zvýšily v porovnání s pasterovaným mlezivem (CPM 4,67 versus  $2,92 \log_{10} \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ ; počet koliformních bakterií 4,38 versus  $2,81 \log_{10} \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ ). Jak popsala Godden (2008), pro pasterování mleziva nejsou vhodné teploty nad 63 °C, neboť při této teplotě již může docházet ke koagulaci mleziva, denaturaci proteinů a k redukci obsahu IgG až o jednu třetinu.

Godden a kol. (2006) doložili, že pasterace mleziva snižuje bakteriální zátěž, protože omezuje nebo kompletně eliminuje výskyt některých patogenů (*Mycoplasma bovis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*), kteří mohou potenciálně způsobit infekce u novorrozených telat. U *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) autoři uvádí, že jeho nepřítomnost pouze odvodili od nulového počtu ostatních bakterií v testovaných vzorcích po pasterizaci, kam byly tyto bakterie v přesných koncentracích cíleně nadávkovány. Autoři uzavírají, že jsou potřeba další výzkumy, které přinesou odpověď na otázku, nakolik je takto šetrná pasterace účinná pro eliminaci živých MAP v mlezu (Godden a kol., 2006).

Rozhodující roli v procesu pasterace hraje i objem pasterovaného mleziva. U velkého objemu (např. 95 l) trvá příliš dlouho, než se zahřeje na požadovanou teplotu, čímž kromě problémů s koagulací dochází k významnému snížení koncentrace IgG (Godden a kol., 2003). Objem 57 l se zdá být maximálním objemem pro pasterizaci bez následných negativních účinků. Ideálně by se však mělo pasterovat mlezo v objemu 8 až 16 l, protože při pasteraci tohoto objemu byl zaznamenán pokles IgG do  $2,0 \text{ g.l}^{-1}$  (Elizondo-Salazar a Heinrichs, 2009), resp. do  $5,3 \text{ g.l}^{-1}$  IgG (Johnson a kol., 2007).

Bylo prokázáno, že užívání pasterovaného mleziva zlepšilo úroveň mlezivové výživy. Elizondo-Salazar a Heinrichs (2009) podávali telatům tepelně ošetřené a neošetřené mlezo se stejným obsahem 254 g IgG. Telata krmená tepelně ošetřeným mlezem měla o téměř 20 % vyšší celkovou koncentraci cirkulujících IgG než telata napájená neošetřeným mlezem (23,4 vs.  $19,6 \text{ g.l}^{-1}$  IgG). Také studie Godden a kol. (2012) ukazuje, že telata napojená 3,8 l pasterovaného mleziva měla průkazně vyšší obsah IgG v séru ( $18,0 \pm 1,5 \text{ g.l}^{-1}$ ), a to opět v porovnání s telaty napájenými nativním mlezem ( $15,4 \pm 1,5 \text{ g.l}^{-1}$ ). Současně byla zaznamenána vyšší efektivní účinnost absorpce Ig u telat napájených pasterizovaným mlezem. Lepší absorpcí po tepelném ošetření lze vysvětlit tak, že protilátky mleziva se jinak mohou vázat na přítomné patogeny předtím, než může dojít k jejich absorpci (Acres, 1985; Saif a Smith, 1985). Takže snížením

počtu patogenů v mlezivu se také sníží počet patogenů, které se dostávají do střeva a více protilátek je potenciálně k dispozici pro absorpci. Kromě toho se bakterie mohou vázat na receptory neonatálních enterocytů a tak snížit počet dostupných receptorů pro příjem IgG (James a Polan, 1978; James a kol., 1981).

Shrnutí důvodů, proč CPM v mlezivu může snížit obsah IgG v séru telat, je: a) mikroorganismy se mohou navázat na IgG a tyto neutralizovat, čímž dochází ke snížení množství IgG, které jsou schopny absorpce, b) patogenní bakterie (*E. coli* aj.) mohou obsadit a poškozovat střevní epiteliální buňky, čímž zhorší jejich permeabilitu, c) poškození střevních epiteliálních buněk patogenními bakteriemi může vést k jejich nahrazení buňkami, které již nemají schopnost transportovat imunoglobuliny ze střeva do krve (Corley a kol., 1977; James a kol., 1981).

#### **2.6.1.4 Okyselování**

Okyselování zejména netržního mléka k napájení telat je relativně běžnou praxí, zatímco u okyselování mleziva tomu tak není ani v zahraničí, ani v ČR. Standardně je prostudováno používání řady kyselin a konzervačních látek jako potenciálních přísad do mléka (Chase, 2011) a jejich vliv na zdraví a užitkovost telat. Nejčastěji jsou mléčné nápoje okyselovány kyselinou propionovou a kyselinou mravenčí. Kyselina citronová je rutinně používána jako okyselovadlo mléčných krmných směsí. Canning a kol. (2009) uvádějí, že přídavek kyseliny citrónové do plnotučného mléka nebo mléčné náhražky udržuje pH na hodnotě přibližně 4,5 po dobu 4 dnů při teplotě 22,8 °C. Hill a kol. (2013) nenalezli žádné rozdíly mezi telaty krmenými mléčnou náhražkou s kyselinou citrónovou nebo bez ní, avšak rozdíl byl pozorován v objemech zbytkové mléčné náhražky, který byl vyšší při pH 4,2 než při pH 5,2. Dostupných údajů o acidifikaci mleziva a jejím dopadu je relativně málo. Ve starších studiích (Muller a kol., 1975; Otterby a kol., 1976) je popsáno užívání kyseliny propionové, mravenčí a octové, či formaldehydu k okyselení mleziva, jako postupu, který umožní udržet ve vysokých venkovních teplotách relativně konstantní pH mleziva a omezit ztráty živin a množení bakterií.

Nověji postup acidifikace mleziva kyselinou mravenčí s výsledným pH menším než 4,5 popisuje Anderson (2008). Dokumentuje také, že okyselení mleziva vede k redukcii patogenních mikroorganismů včetně živých MAP a to ze 100 % živých MAP při pH 5 na 16 % při pH 4,0, pokud bude acidifikace trvat 8 hodin. Testován byl i diskutabilní vliv okyselení mleziva na jeho příjem telaty. Existují práce popisující v závislosti na použitém přípravku a sezóně zhoršení příjmu, ale i práce, které tento efekt nepotvrzují (Polzin a kol., 1977). Ve většině prací není

potvrzen negativní vliv příjmu okyseleného mleziva na přírůstky hmotnosti, resp. na zdravotní stav zvířat (Polzin a kol., 1977, Otterby a kol., 1980, Jenny a kol., 1984).

## 2.6.2 Dlouhodobé uchování mleziva

### 2.6.2.1 Zamražení

Mít náhradní zdroj mleziva je důležité pro případy, kdy kráva po otelení není schopná podojení (metabolické problémy, mastitidy, poporodní komplikace, úrazy), nebo v situacích, kdy její mlezivo je nízké kvality a chovatel nemá k dispozici náhradní zdroj čerstvého mleziva. Tvorba rezervních zásob v podobě zmrazeného mleziva je velmi podstatným prvkem managementu řízení mlezivové výživy. V České republice nemělo rezervní zásoby mleziva 26,5 % analyzovaných chovů (tabulka 1; Staněk, 2013). Z pohledu imunologického nedochází v důsledku samotného zmrazení mleziva ke snížení obsahu imunoglobulinů v něm obsažených, a to ani po jednom roce skladování (Quigley, 1997; Godden, 2008). Stejně tak nemusí být, při dodržení pravidel rozmrzování (viz kapitoly níže), patrný ani jinak běžný určitý negativní dopad zkrmování rozmrzeného mleziva (v množství stejném jako při užívání nativního mleziva) na množství vstřebaných protilátek v séru telat (Diepersloot, 2013).

## 2.6.3 Rozmrazování mleziva

Rozmrazování mleziva musí být šetrné, aby nedocházelo ke znehodnocení protilátek ani živin. Na druhou stranu musí být ale dostatečně rychlé, aby nedocházelo k nárůstu nežádoucích mikroorganismů a prodlevě napojení telete. Doba mezi vyjmutím mleziva z mrazničky a jeho ohřevem by neměla překročit 45 minut. Bohužel se v praxi velmi často setkáváme se situací, že mezi vydáním mleziva z mrazničky, jeho rozmrzením a následným podáním teleti mnohdy uplynou i více než 2 hodiny.

### 2.6.3.1 Vodní lázeň

Z našeho provozního šetření v chovech dojeného skotu víme, že mlezivo je nejčastěji rozmrzováno vložením do vody s teplotou mezi 45 až 73 °C. Vyšší teploty (často i nad 65 °C) sice rychleji zmražené mlezivo zkапalní, avšak poškození protilátek je vyšší. Jak uvádí Balthazar a kol. (2015) pro rozmrzování mleziva je optimální teplota vodní lázně mezi 40 až 60 °C s tím, že u teploty 40 °C je nutné počítat logicky i s delší dobou rozmrzování. Při teplotě vodní lázně 70 °C byl zjištěn pokles obsahu IgG v mlezivu o 26 %, zatímco při teplotě vodní lázně 40 °C a 50 °C byl tento pokles 7 %, resp. 14 %. V tuzemských chovech se rutinně využívá rozmrzování

mleziva ve vodní lázni, kdy se láhve o objemu 1, resp. 1,5 či 2 litry vkládají do vědra o objemu 10 až 15 litrů s vodou o teplotě mezi 45 a 65 °C. Tato pracovní rutina má však jeden velký nedostatek, a tím je rychlé ochlazování teplé vody a neúměrné prodloužení doby rozmrazování mleziva. Z našeho výzkumu vyplynulo, že u vzorkovnic mleziva s výchozí teplotou -16 °C, které byly vloženy do vodní lázně o teplotě 40 °C (tato teplota byla kontinuálně udržována), nebylo ani po 70 minutách dosaženo požadované teploty 39 resp. 40 °C (teplota vhodná pro napojení telat). V případě vložení těchto vzorkovnic do vodní lázně o teplotě 45 °C bylo dosaženo rozmrazení a požadované teploty 40 °C za 30 minut. Při rozmrazování mleziva ve vodní lázni 50 °C bylo dosaženo výchozí teploty 40 °C již za 18 minut. S ohledem na tyto uvedené skutečnosti by chovatelé dojeného skotu měli investovat do zařízení, která mohou pomoci zkrátit dobu potřebnou k rozmrazení a následnému ohřátí mleziva. Obecné doporučení pro chovatelskou praxi je rozmrazovat mleživo ve vodní lázni s konstantní teplotou 40 až 50 °C.

V současné době mají chovatelé několik možností, a to:

- a) investovat do sofistikovaných zařízení pro skladování, uchovávání a rozmrazování mleziva (např. komerční systém Coloquick® s kazetovým způsobem uchovávání a rozmrazování mleziva),
- b) investovat částku 1 600 až 3 500 Kč do zavařovacího hrnce s nastavitelným termostatem a časovačem,
- c) pořídit si starší verzi vířivé pračky s nastavitelným termostatem,
- d) investovat do jiného systému, který zajistí kontinuální ohřev vody jako rozmrazovacího média (ponorné ohříváče vody) apod.

#### **2.6.3.2 Mikrovlnné záření**

Mikrovlnná trouba je dnes již běžným standardem každé domácnosti, avšak není příliš rozšířená jako nástroj pro rozmrazování mleziva. Efekt rozmrazování mleziva byl odzkoušen a publikován mj. již v roce 1987, a to Jonesem a kol., kteří testovali dva různé výkony mikrovlnné trouby při rozmrazování 1 l mleziva (výkon 650 W po dobu 10 min. a 325 W po dobu 17 min.). Výsledky byly porovnávány s výsledky mleziv, která byla rozmrazována ve vodní lázni při teplotě 45 °C po dobu 25 minut. U mleziv, která byla rozmrazena v mikrovlnné troubě, byl zjištěn nižší celkový obsah bílkovin a obsah IgA s tím, že mleživo bylo mírně koagulované. Studie Balthazara a kol. (2015) ukazuje, že u mleziv, která byla rozmrazována v mikrovlnné troubě při výkonu 200 a 350 W, došlo k poklesu obsahu IgG<sub>1</sub> o 20 %, resp. 31 %. Studie Pfeiffera

a kol. (2010), která srovnávala vliv rozmrazování mleziva ve vodní lázni o teplotě 46 °C a v mikrovlnné troubě při výkonu 250 W po dobu 15 minut zjistila, že pokles obsahu IgG byl u obou ošetření shodný, a to na úrovni 44 %. V pokusu Wikinga a Pedersena (2009), kteří rozmrazovali 9 vzorků mleziva o objemu 4 l, byly zjištěny problémy, které souvisejí s délkou rozmrazování (nad 1 hodinu při výkonu 170 až 680 W), tvorbou proteinových sraženin, pozorováním ledových krystalů mleziva s částečnou koagulací mleziva. Důvodem možných problémů s rozmrazováním větších objemů mleziva v mikrovlnné troubě může být jeho nerovnoměrné prohřívání (výrazné rozdíly v teplotním gradientu uvnitř mleziva v průběhu jeho rozmrazování). Možným způsobem, jak eliminovat rizika spojená zejména s přehříváním mleziva v mikrovlnné troubě, je: a) zajištění rotace rozmrazovaného mleziva v průběhu jeho rozmrazování a b) jeho časté a důkladné promíchávání.

Použití mikrovlnné trouby je z pohledu současné úrovně poznání relativně problematické, protože stále chybí relevantní studie, které by se této problematice věnovaly. Autoři této metodiky se na základě vlastních, zpočátku negativních zkušeností s rozmrazováním mleziva v mikrovlnné troubě při různých výkonech (tvorba sraženin, značné přehřívání mleziva apod.) spíše přiklánějí k názoru, že tento způsob by neměl být rutinně používán, i když rozmrazování mleziva ve vzorkovnicích o objemu 20 ml (při výkonu 160 W po dobu 15 minut) se nakonec ukázalo jako použitelné (Krejčí a kol., 2018). Pokud si chovatel ověří, v jakém režimu lze jeho mikrovlnnou troubu použít, je vhodné zamrazovat a následně rozmrazovat mleziva v menších objemech (do 1 až 1,5 l), ukládat je do misek, či plochých dóz, které zajistí rovnoměrnou větší plochu pro vystavení působení mikrovlnného záření, čímž se zkrátí doba rozmrazování, a umožnit současně otáčení a promíchávání.

## **2.7 Možnosti ověřování imunologické kvality mleziva**

Dobře nastavený management mlezivové výživy je pro zajištění adekvátní úrovně pasivní imunity telat ve stádech dojeného skotu klíčový (Phipps a kol., 2016). Základním prvkem dobře nastaveného managementu mlezivové výživy je, aby každý chovatel zajistil telatům podání nekontaminovaného a vysoce kvalitního mleziva s obsahem imunoglobulinů skupiny IgG nad 50 g.l<sup>-1</sup> včas a v dostatečném objemu (Godden, 2008). Rutinní pravidlo v chovech, které by mělo být dodržováno je tzv. „1, 2, 3“, tedy do 1 hodiny otelenou krávu podojit, do 2 hodin od narození tele napojit mlezivem, a to v dávce 3 litry. Kontrola kvality mleziva ve stádech dojeného skotu je jedním z klíčových bodů řízení mlezivové výživy telat a jedním z předpokladů

eliminace ztrát v odchovu telat (nemocnost, úhyny apod.). Z průzkumu Staňka (2013) vyplynulo, že kvalitu mleziva v ČR rutinně kontrolovalo pouze 44,1 % chovatelů, přičemž nejčastěji byl ke kontrole používán hustoměr – kolostroměr a ve výrazně menším měřítku refraktometr.

### 2.7.1 Přímé stanovení IgG v mlezivu

Přímé stanovení imunoglobulinů v kolostru lze provádět pouze v laboratorních podmínkách. Za zlatý standard je považována metoda radiální imunodifuze (RID), která je technicky, časově (výsledky jsou známé v horizontu 24 hodin) i materiálově náročná a z pohledu ceny také relativně drahá, tudíž není ani chovatelskou praxí využívána. Výhodou RID je přímé a relativně přesné stanovení koncentrace protilátek v mlezivu. Metoda přímého stanovení obsahu IgG v mlezivu je popsána ve Funkčním vzorku (Krejčí a kol., 2016). Alternativou RID je ELISA metoda, která je cenově relativně dostupná, avšak vzhledem k nutnosti mnohonásobného řeďení vzorku je její přesnost v mnoha případech nejistá. Přímé stanovování IgG v kolostru (ale i krevním séru nebo plasmě telat) je v současné době uplatňováno spíše ve vědecké sféře než v rutinní praxi. Jeho výrazným limitem je v současné době také jeho problematická automatizace.

### 2.7.2 Odhad obsahu IgG kolostroměrem

V chovatelské praxi se pro odhad kvality mleziva, resp. pro odhad koncentrace Ig, používají již mnoho desetiletí kolostroměry, tedy hustoměry. Jde o odhad měrné hmotnosti mleziva, která je ve vysoké korelace s celkovým obsahem sušiny mleziva, resp. s obsahem bílkovin a obsahem imunoglobulinů (Bielmann a kol., 2010).

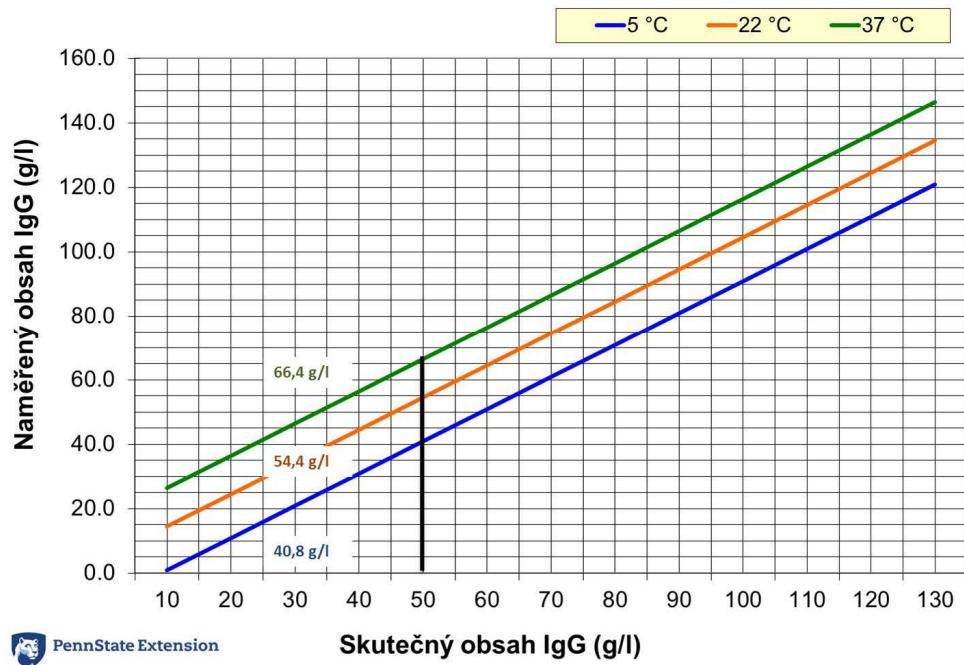
Kvalita mleziva je na kolostroměru vyjádřena podle typu jeho zpracování buď:

- a) číselnou stupnicí, kdy hodnoty  $>1\ 045\ \text{g.l}^{-1}$  indikují mlezivo velmi dobré kvality, rozmezí hodnot 1 035 až 1 045  $\text{g.l}^{-1}$  mlezivo dobré kvality a hodnoty  $<1\ 035\ \text{g.l}^{-1}$  pak mlezivo nízké kvality (jedná se ale o málo náročné zatřídování),
- b) barevnou škálou, kdy červeně barevné pole na hustoměru označuje mlezivo s obsahem imunoglobulinů v rozmezí  $\leq 50\ \text{g.l}^{-1}$  (mlezivo nízké kvality), zatímco žluté pole označuje mlezivo s obsahem imunoglobulinů v rozmezí  $>50$  a  $<100\ \text{g.l}^{-1}$  (mlezivo dobré kvality) a zelené pole označuje mlezivo s obsahem imunoglobulinů  $\geq 100\ \text{g.l}^{-1}$  (mlezivo výborné kvality).

V zahraničí (zejména USA, Austrálie) mají užívané kolostroměry někdy odlišnou škálu hodnocení. Zelené pásmo signalizuje obsah IgG >50 g.l<sup>-1</sup> mleziva, žluté 20 až 50 g.l<sup>-1</sup> IgG a červené pásmo <20 g.l<sup>-1</sup> IgG (Jones a Heinrichs, 2016). Problémy s hodnocením kvality mleziva pomocí kolostroměru mohou nastat, pokud mlezivo není měřeno při výrobcem doporučené teplotě (tj. teplotě použité při kalibraci), která se většinou pohybuje v rozmezí 20 až 23 °C. Rozdíly ve výsledcích měření obsahu Ig v závislosti na teplotě mleziva jsou uvedeny v adaptovaném grafu 1 (Jones a Heinrichs, 2016). Z tohoto grafu je patrné, jak teplota hodnoceného mleziva velmi významným způsobem ovlivňuje odhad jeho kvality. Příklad v grafu ukazuje, že u tří analyzovaných vzorků mleziva (při jejich rozdílné teplotě, a to 5, 22 a 37 °C) byl kolostroměrem odhadnut shodný obsah Ig, a to 50 g.l<sup>-1</sup>. Ale skutečný obsah Ig byl v mlezu proti odhadnuté hodnotě:

- a) při teplotě 5 °C nižší, a to 40,8 g.l<sup>-1</sup> (nízká teplota měřeného mleziva výslednou hodnotu NADHODNOCUJE),
- b) při teplotě 22 °C v podstatě shodný, a to 54,4 g.l<sup>-1</sup> (pokojová teplota měřeného mleziva odpovídala výrobcem doporučené teplotě, tudíž kolostroměr ukazoval KOREKTNĚ jen s mírnou diferencí – jde o metodu odhadovou),
- c) při teplotě 37 °C vyšší, a to 66,4 g.l<sup>-1</sup> (teplota blízká tělesné teplotě měřeného mleziva výslednou hodnotu PODHODNOCUJE).

Graf 1: Příklad korekce výsledků zjištěných kolostroměrem při různých teplotách mleziva (upraveno podle Jones a Heinrichs, 2016)



modrá přímka – teplota mleziva z chladničky; oranžová přímka – pokojová teplota mleziva; zelená přímka – teplota mleziva blízká tělesné teplotě

U kolostromérů tedy bývá velmi častým problémem (kromě jejich fragility) zavádějící odhad kvality mleziva, protože výsledky jsou silně ovlivněny teplotou mleziva, pěnivostí, poměrem tuku a jeho celkové sušiny, obsahem volných plynů v mlezivu po nadojení apod. Bartier a kol. (2015) zjistili poměrně vysokou korelaci ( $r=0,77$ ) mezi výsledky získanými RID a hustoměrem, avšak teprve hodnota  $80 \text{ g.l}^{-1}$  naměřená kolostromérem odpovídala nejlépe  $50 \text{ g.l}^{-1}$  IgG zjištěným RID.

Rutinní ověřování kvality mleziva kolostromérem by podle DAIRY AUSTRALIA (2012) mělo zahrnovat všechny tyto body:

- nechat čerstvé mlezivo tzv. „odstát“ 10 až 20 minut z důvodu snížení obsahu volných plynů v něm obsažených;
- vzorek nechat zchladit na teplotu dle požadavku výrobce (většinou 20 až  $22 \text{ }^{\circ}\text{C}$ );
- odstranit pěnu z hodnoceného vzorku (pěna brání korektnímu odečtení naměřené hodnoty);
- ponořit kolostromér do dostatečného objemu mleziva, aby v něm „plaval“ a odečíst výsledek na stupnici.

### 2.7.3 Odhad obsahu IgG refraktometrem

Ke kontrole kvality mleziva se v posledních letech čím dál více začínají používat víceúčelové refraktometry, a to jak optický, tak i digitální se stupnicí Brix (Deelen a kol., 2014; Morrill a kol., 2015). Stupnice Brix byla zavedena k vyjádření koncentrace sacharózy v roztoku (džusy, melasa, víno), kdy 1 stupeň Brix (1 % hmotnostní) odpovídá 1 g sacharózy ve 100 ml roztoku. U necukerných roztoků odráží jejich sušinu (Deelen a kol., 2014), přesněji koncentraci opticky aktivních látek v roztoku. U mleziva sušina koreluje s obsahem imunoglobulinů.

Pro rutinní odhad obsahu imunoglobulinů (odvozený od sušiny mleziva), je vhodné použít ruční optické refraktometry se stupnicí 0 až 32 % Brix, nebo digitální refraktometry se stupnicí obvykle od 0 do 56 % Brix, které se hodí i pro hodnocení sušiny mléčných nápojů apod. Při pořizování digitálního refraktometru by měl být pro chovatele rozhodující počet měřících elementů a počet pixel per inch a vybavení přístroje krytem (při měření), nikoli pořizovací cena. Levnější typy mají pouze 128 měřících elementů a 400 pixel per inch, zatímco kvalitnější typy jsou osmkrát přesnější (1 024 elementů, 3 256 pixel per inch). Další rozdíly pak můžeme najít v kvalitě použitých materiálů (např. skleněný hranol vs. safírový, hliníkový vs. nerezový prostor pro aplikaci vzorku), v přítomnosti či nepřítomnosti ochranného krytu a ve velikosti a podsvícení displeje.

Výhodou používání refraktometru je jeho automatická teplotní kompenzace (ATC), tedy nezávislost výsledků na teplotě hodnoceného mleziva (Bielmann a kol., 2010). Obecně byla jako hraniční hodnota pro označení mleziva za akceptovatelně kvalitní u velkých plemen skotu (holštýn apod.) brána hodnota 21 nebo 22 % Brix, která odpovídala 50 g Ig v 1 l mleziva (Quigley a kol., 2013). U plemene jersey doporučili Morrill a kol. (2015) na základě svých výsledků používat referenční hodnotu >18 % Brix. Vyšší naměřené hodnoty než hraniční signalizují jakostní - kvalitní mlezivo a naopak. Výhodou digitálních refraktometrů je jednoznačný výsledek (na jedno desetinné místo) i u vzorků mleziva s vyšším obsahem tuku, zatímco u manuálního refraktometru bývá v tomto případě identifikační pole velmi rozostřené, což způsobuje obtížnější odečet výsledku i jen v celých procentech (Jones a Heinrichs, 2016).

Pro získávání platných výsledků odhadu kvality mleziva (odvozených od sušiny) pomocí refraktometru je u všech typů nezbytné jej před vyšetřením vlastních vzorků mleziv zkalibrovat. Refraktometry kalibrujeme kápnutím 1 až 2 kapek vody (pitné, destilované) na šikmý hranol optického refraktometru nebo do měřící jamky digitálního refraktometru. Po přiklopení

průsvitné krytky u optického refraktometru a zhodnocení, kde se nachází modro-bílé rozhraní, hodnotitel kalibračním šroubováčkem nastaví jasné rozhraní na nulovou hodnotu. U digitálního refraktometru po zavření neprůhledného krycího víčka dochází stiskem tlačítka k přepnutí do kalibračního režimu a dále k automatickému kalibrování. Po kalibraci je nutné hranol či jamku otřít do sucha.

Pro práci s optickým refraktometrem máme ještě dvě doporučení:

- a) pracovat s nastavitelným okulárem refraktometru – jasné zaostření – lepší čitelnost naměřené hodnoty mleziva,
- b) pracovat v prostředí s intenzivním osvětlením (odečet proti světelnému zdroji) – lepší zobrazení barevného přechodu a s tím související přesnější odečtení výsledné hodnoty Brix.

## **2.8 Možnosti ověřování mikrobiální kontaminace**

Biologická bezpečnost, a to zvláště pokud jde o mlezivo, je velmi podstatná z pohledu eliminace ohrožení zdraví odchovávaných telat. Právě u této nejcitlivější věkové kategorie skotu si musíme uvědomit, že mikroorganismy vyvolaná infekce může mít svůj prvočátek právě v mlezivu. Z pohledu hygieny je to člověk, který významným způsobem ovlivňuje celou řadu rutinních činností (ustájení krav, zaprahování krav, hygienu dojení apod.) a podmiňuje tak výslednou imunologickou a mikrobiologickou kvalitu mleziva. Právě mlezivo je velmi dobrým živným médiem pro řadu mikroorganismů, zvláště pak bakterií, které se v něm velmi rychle množí. Vstupních cest pro mikroorganismy je celá řada, proto by mělo být cílem získávat co „nejčistší“ (tj. co nejméně mikrobiálně kontaminované) mlezivo a udržet jej od jeho získání do jeho zkrmení, pokud možno na téže úrovni mikrobiologické kvality. Z logiky věci je jasné, že je smysluplnější získávat mlezivo mikrobiálně co nejméně kontaminované, než velmi pracně a složitě řešit možnosti jeho dekontaminace.

Na rozdíl od více či méně rozšířeného odhadu imunologické kvality, mikrobiologický screening mleziva zatím není v chovech dojeného skotu běžně uplatňován. V tuzemských chovech jsou mikrobiologická vyšetření obvykle uskutečňována u krav postižených různými formami mastitidy, případně u telat s průjmovým či respiračním onemocněním. Autorský kolektiv této metodiky se domnívá, že pravidelné ověřování mikrobiální kontaminace mleziva by se ideálně mělo stát součástí standartních zootechnicko-veterinárních činností ve stádech dojeného skotu, resp. významným bodem řízení mlezivové výživy telat. Minimálně by se mikrobiologický

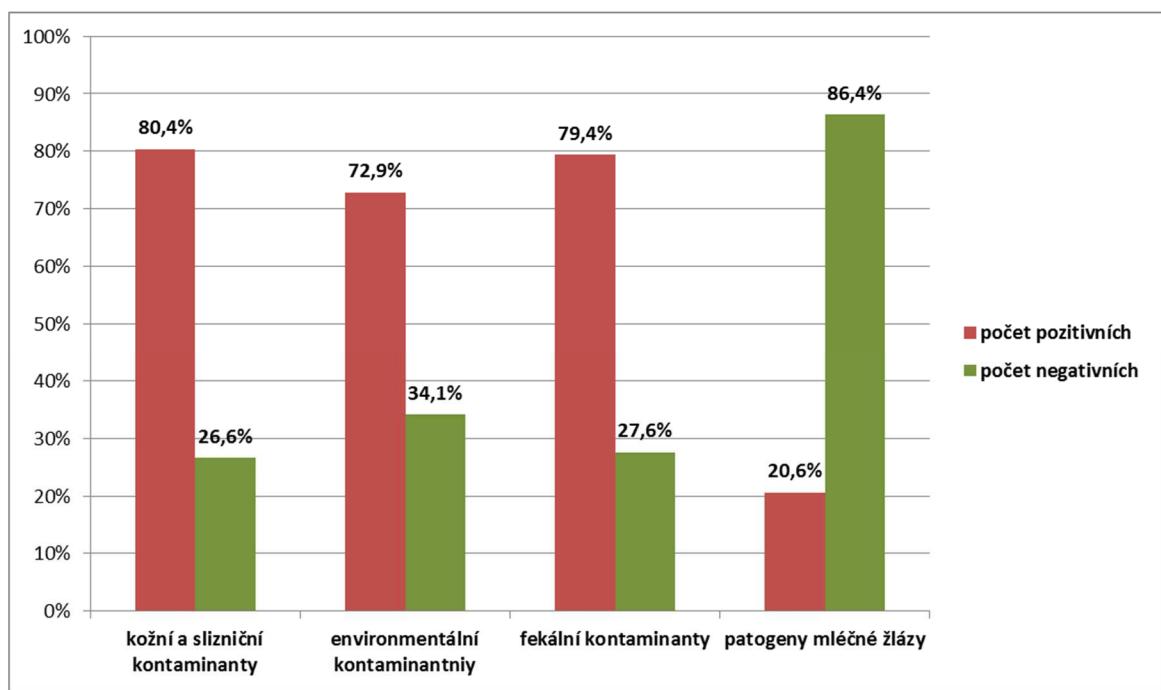
screening mleziva měl stát součástí auditů mlezivové výživy (v problémových údobích či v problémových chovech).

### 2.8.1 Stanovení CPM laboratorně

Množství bakterií obsažených v mlezivu lze vyšetřit prozatím pouze laboratorně, a to po jeho předchozím aseptickém odběru do sterilní vzorkovnice s následnou co nejrychlejší dopravou do laboratoře ve zchlazeném stavu (vzorky mohou být i zamraženy). Standardně by se v mlezivu měl vyšetřovat celkový počet mikroorganismů (CPM) a počet koliformních bakterií (KB), vyšetřit však lze cíleně i další specifické bakterie, jako jsou např. *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. apod. K posouzení úrovně znečištění lze použít hraniční hodnoty dle McGuirk a Collins (2004), které jsou pro CPM <100 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> a pro KB <10 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>. Je možné využít i přísnější limity, a to podle Jonesa a Heinricha (2016), kdy CPM by měl být <10 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> mleziva a KB <100 KTJ·ml<sup>-1</sup>.

Lze pracovat i s nálezy konkrétních mikroorganismů, a to podle jejich příslušnosti do skupin dle pravděpodobného původu: a) patogeny mléčné žlázy (původci mastitid), b) mikroorganismy běžně se vyskytující na kůži a sliznicích, c) fekální kontaminanty, d) mikroorganismy prostředí. V rámci našeho projektu jsme uskutečnili komplexní mikrobiologické vyšetření 108 vzorků z 18 chovů (Nejedlá a kol., 2018), výsledky jsou prezentovány v grafu 2 a tabulce 3. S detailnějšími výsledky může chovatel dále cíleně pracovat ve smyslu optimalizace kritických míst podle příslušné skupiny zjištěných mikrobiálních kontaminantů (patogeny mléčné žlázy – optimalizace řízení zdraví mléčné žlázy a postupů zaprahování; fekální kontaminanty – hygiena ustájení jalovic a krav v období stání na sucho, včetně kontroly postupů hygieny dojení apod.). Používání stájových kultivačních rychlotestů není v případě ověřování mikrobiologické kvality mleziva příliš využitelné, protože tyto testy neumožňují stanovit počty jednotlivých mikroorganismů. Při masivní mikrobiální kontaminaci je problémem stájových kultivací v důsledku tzv. přerůstání jednotlivých kolonií i obtížná identifikace různých původců.

Graf 2: Zastoupení skupin mikroorganismů (kožní a slizniční, environmentální, fekální a patogeni mléčné žlázy) ve vzorcích mleziv



Tabulka 3: Záchyt vybraných druhů mikroorganismů ve 108 hodnocených mlezivech a jejich zatřídění do skupin dle pravděpodobného původu (upraveno podle Nejedlé a kol., 2018)

Mikroorganismus	Počet vzorků se záhytem (n)	Podíl vzorků se záhytem (%)	Průměr KTJ·ml <sup>-1</sup>	Min. KTJ·ml <sup>-1</sup>	Max. KTJ·ml <sup>-1</sup>
<b>Patogeni mléčné žlázy</b>					
<i>Streptococcus uberis</i>	7	6,5	20000	50	100000
<i>Staphylococcus</i>	6	5,6	35667	500	200000
<i>Streptococcus</i>	11	10,3	18445	1000	120000
<b>Mikroorganismy kůže a sliznice</b>					
<i>Corynebacterium</i>	13	12,1	10869	500	50000
<i>Streptococcus spp.</i>	37	34,6	46548	50	800000
<i>Staphylococcus spp.</i>	44	41,1	22514	500	700000
<b>Fekální mikroorganismy</b>					
<i>Escherichia coli</i>	9	8,4	15643	500	36000
<i>Enterobacter spp.</i>	1	0,9	500	500	500
<i>Klebsiella spp.</i>	3	2,8	801667	500	2400000
<i>Enterococcus spp.</i>	76	71,0	23005	50	350000
<b>Environmentální mikroorganismy</b>					
<i>Bacillus spp.</i>	17	15,9	1694	500	10000
<i>Acinetobacter spp.</i>	9	8,4	15556	1000	56000
<i>Pseudomonas spp.</i>	8	7,5	68222	500	500000
<i>Moraxella osloensis</i>	45	42,1	244372	500	4800000
<i>Aspergillus</i>	1	0,9	1000	1000	1000
<i>Candida rugosa</i>	1	0,9	5000	5000	5000

Z výsledků uvedených v tabulce 3 vyplývá, že *Enterococcus spp.*, který patří do skupiny fekálních kontaminantů, byl izolován ze 71,0 % vzorků. Ze skupiny mikroorganismů běžně se vyskytujících na kůži a sliznicích byl u 41,1 % vzorků identifikován *Staphylococcus spp.* a u 34,6 % vzorků pak *Streptococcus spp.* U skupiny mikroorganismů z prostředí byla ve vzorcích nejvíce zastoupena *Moraxella osloensis* (42,1 %). Z původců mastitid byl detekován *Streptococcus parauberis* u 10,3 % vzorků a *Streptococcus uberis* u 6,5 % vzorků.

### 2.8.2 Nepřímé ověření zdrojů kontaminace

Nepřímé metody faremního ověřování zdrojů mikrobiální kontaminace jsou v současné době založeny především na detekování kritických míst z pohledu čistoty nádob, nástrojů a pomůcek, které slouží k získávání a skladování mleziva, a to pomocí „rychlitestů“. Tyto testy jsou založeny na principu rychlé detekce přítomnosti zbytkové bílkoviny nebo laktózy na povrchu hodnocených nádob, pomůcek či nástrojů. Jak viditelné, tak i neviditelné zbytky proteinu, ale i laktózy a mléčného tuku, tvoří v případě nedokonalého a nepravidelného čištění/sanitace zařízení a pomůcek podklad pro tvorbu biofilmu, tj. společenstva mikroorganismů vázaného k danému povrchu, který usnadňuje jejich přežívání a množení. Chovatelé by měli mít na mysli, že v ideálních podmínkách (např. v mlezivu při pokojové teplotě) dochází každých přibližně 20 minut ke zdvojnásobení počtu bakterií.

Rychlostěry pro stanovení přítomnosti reziduální bílkoviny nebo laktózy jsou založeny na barevné reakci. Po stěru požadovaného místa (víko konve, mléčné hadičky, cucák, jícnová sonda apod.) a zasunutí stěrové části zpět do zkumavky chovatel jednoduchým pohybem uvolní z ampule tekutý reagent, který steče do místa stěrového tampónu. Obsažený reagent v přítomnosti bílkoviny/laktózy během několika vteřin, případně minut, začne měnit svou barvu. Samotná rychlosť a barva indikuje i intenzitu, resp. míru znečištění hodnoceného povrchu. Rychlotesty lze využít v chovech při kontrole čistoty:

- dudlíků, věder a dalších pomůcek, které přicházejí do styku s mlezivem/mlékem,
- dojicí soupravy (mléčné hadičky, strukové návlečky aj.),
- konví a lahví na mlezivo a mléko,
- vozíků na mléko,
- nádrží na zchlazení a uchování mleziva a mléka,
- prostor pod nádrží na mléko (úroveň sanitace mléčnice) apod.

Výhody použití rychlotestů, lze shrnout do následujících bodů:

- rychlá detekce přítomnosti proteinu/laktózy,
- bezpřístrojový test,
- výsledku je dosaženo po 6 krocích,
- výsledek je znám do 10 minut,
- testování má vysokou citlivost (např. detekování již 50 µg proteinu),
- cena testu je do 80 Kč.

V současné době jsou na trhu také rychlé stěrové testy pro průkaz přítomnosti *E. coli*, případně prokázání koliformních bakterií, jakými jsou např. *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* apod.

### **3 SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ A ZDŮVODNĚNÍ**

Navrhovaný postup kontroly kvality mleziva vychází z poznatků o přetrvávajícím ne příliš uspokojivém stavu výbavy kolostrálními protilátkami u telat v ČR (Šlosárková a kol., 2014; Šlosárková a kol., 2017a) a z našich aktuálních poznatků o průměrné úrovni imunologické a neuspokojivé úrovni mikrobiologické kvality mleziva v chovech dojeného skotu v ČR (Staněk a kol, 2016; Staněk a kol., 2017; Nejedlá a kol., 2018; Pechová a kol., v tisku).

Dobrá kvalita mleziva je tedy jedním ze základních předpokladů k zajištění plnohodnotné výbavy telat kolostrálními protilátkami. Její zlepšení může být dosaženo zvyšováním kvality kolostra, přičemž ale kvantitativní imunologická kvalita kolostra není přímo snadno ovlivnitelná, a dále také zlepšováním celého systému mlezivové výživy telat. V systému napájení telat mlezivem by potom významným pomocníkem měla být kontrola kvality kolostra a následné kvalifikované rozhodování, jak naložit s jednotlivým konkrétním mlezivem a vyhodnocení situace v rámci chovu s návrhem postupů, jak zjištěnou úroveň kvality mleziv udržet, resp. při neuspokojivých výsledcích ji zlepšit.

K faremní kontrole imunologické kvality kolostra dlouhodobě sloužily pouze kolostroměry, viz předchozí kapitoly. Nověji lze využít i víceúčelové refraktometry (Staněk a kol., 2015). Refraktometry se stupnicí % Brix nebyly dosud v ČR u chovatelů skotu plošně rozšířené, což se v posledních letech měnilo i díky řešení projektu NAZV QJ1510219. Před jeho řešením nebyla v ČR publikována žádná vědecká práce o jejich využití k faremnímu ověřování imunologické kvality mleziva. Používání víceúčelového refraktometru přitom značně zjednoduší práci v chovu skotu, protože ten samý přístroj může být použit jak pro odhad obsahu celkové bílkoviny v krevním séru telat, tak pro odhad obsahu imunoglobulinů v mlezivu, případně ho lze

využít i k měření sušiny mléčné náhražky (Fleischer a kol., 2018). Prezentovaný postup dává možnost získávat rychlé a dostatečně spolehlivé výsledky přímo na farmě a eliminuje přitom nevýhody dřívějšího faremního systému vizuálních kontrol či měření pomocí kolostromérů.

Díky námi provedenému exaktnímu vyšetřování IgG v mlezivu pomocí RID a souběžnému odhadu IgG refraktometricky (Pechová a kol., v tisku) je možnost používání víceúčelového refraktometru se stupnicí Brix ke kontrole imunologické kvality mleziva v podmírkách ČR novým efektivním postupem.

Kontrola imunologické kvality kolostra by měla být doplňkem kontroly úrovně mlezivové výživy telat, rozsah jejího provádění však může být značně odlišný a každý chovatel si jej může stanovit dle podmínek vlastního chovu. Při uspokojivé úrovni imunitní výbavy telat může být mlezivo prověřováno pouze namátkově, jako součást průběžné kontroly rutinních postupů personálu farmy. Častější a plošnější kontrola by měla být realizována, pokud se vyskytují problémy v imunitní výbavě telat či pokud existují v chovu faktory, které negativně ovlivňují kvalitu mleziva (tepelný stres, zkrácení doby suchostojného období apod.). Rutinní kontrola mleziva by měla být prováděna u prvotek, aby se příp. eliminovalo zbytečné nevyužití kvalitního kolostra, a dále při tvoření zásob mleziva pro napájení telat zamrazováním apod.

Mikrobiologická kvalita mleziva byla v ČR opomíjeným limitujícím faktorem pro dosažení odpovídající kolostrální imunity u novorrozených telat, protože dosud chybělo povědomí, že čím vyšší je mikrobiální kontaminace mleziva, tím nižší je efektivní absorpcie imunoglobulinů. Mikrobiální kontaminace mleziva souvisí s nízkou čistotou mléčné žlázy a její nedostatečnou toaletou před prvním podojením a s nedostatečnou hygienou zařízení sloužících k získávání a uchovávání mleziva. Paradoxně tak při napájení mlezivem může stoupat riziko infikování telat jak patogeny, které mohou vyvolat akutní poruchy jejich zdravotního stavu (např. průjmová onemocnění, infekce kloubů apod.), tak i bakteriemi MAP, které mohou v pozdní dospělosti vyvolat chronické neléčitelné onemocnění - paratuberkulózu. Klíčovou roli při předcházení infekce MAP proto hraje, kromě vyšetřování matek, hygiena získávání a způsob používání mleziva. Základem programů tlumících výskyt paratuberkulózy je: a) hygiena porodních kotců, b) hygienické získávání kolostra (tj. minimalizace rizika kontaminace z prostředí pozitivních chovů), c) používání kolostra pouze od ELISA negativních matek (Collins a kol., 2010) a d) odchov telat v prostředí bez kontaminace MAP.

Velmi vysoká míra bakteriálního znečištění mleziv v ČR zjištěná v naší studii naznačuje nutnost plošného řešení a sledování mikrobiální kvality mleziva. Rutinně ji přitom chovatelé skotu prozatím v ČR nekontrolovali. Na tomto základě navrhujeme včlenit do standardního operačního postupu získávání a uchovávání mleziva alespoň

1. periodickou přímou kontrolu CPM v mlezivu, tj. cílené bakteriologické vyšetření reprezentativních vzorků v laboratoři,
2. systematické užívání rychlého screeningového testu PRO-Clean™. PRO-Clean detekuje proteinové zbytky a tudíž zprostředkováně signalizuje míru znečištění nádob a zařízení sloužících pro získávání a skladování mleziva. Tento krok dává možnost přímo na farmě rychle nalézt riziková místa podílející se na mikrobiální kontaminaci mleziva a uplatnit výsledky přímo na místě.

## Zdůvodnění

Jako první v ČR jsme provedli pro tuto certifikovanou metodiku výchozí studii hodnocení kvality mleziva jak po imunologické stránce, tak po stránce mikrobiologické. Hodnocení imunologické kvality se opíralo o zlatý standard, tj. o přímé stanovení IgG v mlezivu radiální imunodifuzí (díky našemu zavedení této metody a plošnému otestování RID) a o nepřímé stanovení obsahu imunoglobulinů, tj. o stanovení % Brix refraktometricky třemi přístroji: optickým refraktometrem - zkratka OPT, jednoduchým digitálním refraktometrem bez horního krytu - zkratka DIGI a komplexním digitálním refraktometrem MISCO – zkratka MISCO a přinesla srovnání těchto výsledků. Také tato vyšetření byla námi plošně testována v ČR poprvé.

Vyhodnoceno bylo 1522 vzorků mleziv z 38 chovů dojeného skotu, 56 % plemene české strakaté, 44 % plemene holštýn, které byly odebrány faremním personálem z prvního nádoje po otelení v letech 2015 až 2017. Vzorek mleziva byl vždy připraven dvojmo, kdy první vzorkovnice byla použita pro imunologické zhodnocení a druhá vzorkovnice byla určena pro mikrobiologické vyšetření. Nicméně pro mikrobiologické zhodnocení bylo z kapacitních důvodů vyšetřeno jen 1062 vzorků. Výsledky byly zhodnoceny v programu Statistica 10 (popisné statistiky, korelace a regrese, Kruskal-Wallis test, Man-Whitney U test aj.) a SAS. Výsledky jsou prezentovány v tabulkách 3 - 6. Tabulka 3 je viz výše kapitola 2.8.1.

Tabulka 4: Imunologická kvalita mleziva (RID, refraktometry; Pechová a kol., v tisku; n = 1522)

Parametr	Průměr	SD	Medián	Minimum	Maximum	Dolní kvartil (25 %)	Horní kvartil (75 %)
IgG (RID) g.l <sup>-1</sup>	82,3	40,3	76,9	5,2	199,1	52,2	108,2
% Brix (opt. refraktometr)	23,1	4,5	23,1	9,5	32,0	20,1	26,2
% Brix (jednoduchý dig. refraktometr)	18,9	4,9	19,1	5,4	35,0	15,5	22,2
% Brix (dig. refraktometr MISCO)	23,0	4,6	23,2	9,8	37,4	20,0	26,1

Z výsledků RID vyplývá, že kvalita kolostra v ukazatelích průměr a medián byla souhrnně nad požadovanou minimální hodnotou 50 g.l<sup>-1</sup> IgG. V případě hodnot zjištěných optickým a digitálním refraktometrem MISCO jsou průměrné a mediánové hodnoty souboru rovny nebo vyšší než 23 % Brix, což je hraniční hodnota, kterou jsme odvodili pro označení kolostra jako kvalitního, vhodného i pro zamrazení (Pechová a kol., v tisku). Viz příloha „Získávání kvalitního mleziva na farmě a jeho kontrola KROK ZA KROKEM“, kapitola 5. Výsledky z jednoduchého digitálního refraktometru indikovaly hodnoty IgG méně spolehlivě a navíc všechny vypočtené hodnoty byly oproti ostatním dvěma refraktometrům významně nižší.

## MIKROBIOLOGICKÉ HODNOCENÍ MLEZIVA

Mikrobiologická kvalita byla ověřována u 1062 mleziv přímým laboratorním stanovením celkového počtu mikroorganismů (CPM), počtu koliformních (KB) a Gram negativních nekoliformních bakterií (NKB). V dílčím souboru 108 mleziv bylo stanoveno zastoupení jednotlivých mikrobiálních druhů (viz výše kapitola 2.8.1).

Z výsledků uvedených v tabulce 5 vyplývá, že průměrná hodnota CPM byla na úrovni 2,6 milionů, více vypovídající střední hodnota – medián činila 530 tisíc kolonie tvořících jednotek (KTJ) na ml, což svědčí o značné mikrobiologické kontaminaci získávaných mleziv. Podíl vzorků, které obsahovaly u parametru CPM <100 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup>, byl jen 27,1 %, ale těch, co obsahovaly <20 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> bylo dokonce jen 11,9 %, u KB <10 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> bylo u 84,2 %, ale těch, co obsahovaly <100 KTJ·ml<sup>-1</sup> bylo jen 35,7 %, a u NKB <5 000 KTJ·ml<sup>-1</sup> pak bylo u 81,4 %. Podíl vzorků, které nebyly kontaminovány žádnými mikroorganismy, byl jen 0,6 % a oproti tomu řada vzorků dosahovala extrémních hodnot. Průkazně horší výsledky CPM byly získány

u plemene český strakatý skot - medián 750 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> oproti 270 tis. KTJ·ml<sup>-1</sup> u holštýnského skotu (Nejedlá a kol., 2018).

Tabulka 5: Mikrobiologické ukazatele kvality mleziva získaného prvním podojením (Staněk a kol., 2016; n = 1062)

Ukazatel	Limit KTJ·ml <sup>-1</sup>	Průměr KTJ·ml <sup>-1</sup>	Medián KTJ·ml <sup>-1</sup>	Minimum KTJ·ml <sup>-1</sup>	Maximum KTJ·ml <sup>-1</sup>	Podíl vzorků splňujících limit
<b>Celkový počet mikroorganismů</b>	<100 000 <sup>1</sup>	2 625 077	530 000	300	42 880 000	27,1 %
<b>Koliformní bakterie<sup>1</sup></b>	<10 000 <sup>1</sup>	11 990	325	0	472 000	84,2 %
<b>Nekoliformní bakterie<sup>1</sup></b>	<5 000 <sup>1</sup>	12 756	180	0	600 000	81,4 %

<sup>1)</sup> limit dle McGuirk et Collins (2004)

Naše výsledky ukázaly, že situace v zapojených chovech rozhodně nebyla uspokojivá, protože přibližně tři čtvrtiny kontrolovaných mleziv byly z pohledu mikrobiální kvality nevyhovující.

Z provedené studie vyplývá, že problém neuspokojivé úrovně kolostrální výživy telat v České republice může být zapříčiněn i nízkou kvalitou mleziva a to zejména mikrobiologickou. Potřeba zlepšení úseku získávání a následného skladování mleziva v tuzemských chovech je stále velká. Kolostrální výživa přitom představuje jeden ze základních faktorů rozhodujících o zdraví a prosperitě telat. Pro kompetentní řízení kvality mleziva tedy doporučujeme pravidelně a také indikovaně prověřovat úroveň jak imunologické, tak mikrobiologické kvality mleziva a významně zvýšit kontrolu na úseku hygiény získávání mleziva.

## OŠETŘOVÁNÍ KOLOSTRA

K problematice vhodnosti způsobu dekontaminace mleziva byl proveden pokus s 12 vzorky mleziva, u kterých byl porovnán vliv gama-záření (28 kGr, 8 hodin), šetrné pasterace (60 °C, 30 minut), okyselení (na pH 4,4), aktivního rozmražení ve vodní lázni (50 °C, 45 minut) a rozmražení pomocí mikrovlnné trouby (160 W, 15 minut) na jeho vybrané mikrobiologické a imunologické parametry (Krejčí a kol., 2018). Kromě stanovení RID detekovatelné koncentrace imunoglobulinů třídy G (IgG) a funkčnosti specifických protilátek byl posuzován také detekovatelný obsah laktóferinu a insulinu-podobného růstového faktoru (IGF). Z výsledků

v tabulce 6 je patrné, že gama-záření mělo nejsilnější dekontaminační účinek. Na druhé straně ale mělo průkazný negativní vliv na detekovatelný obsah IGF a případně i na IgG. Dostatečné dekontaminační účinky vykazovala také šetrná pasterace, ale zjištěný obsah IgG byl po ní statisticky průkazně nižší. Okyselení kolostra vedlo k určitému snížení mikrobiální kontaminace, ale také k omezení funkčnosti specifických protilátek. Biologickou kvalitu kolostra nejméně ovlivnilo aktivní rozmrazení oběma testovanými způsoby, které ale nesnižovaly průkazně mikrobiální zátěž, s výjimkou poklesu počtu koliformních bakterií po rozmrazení ve vodní lázni.

Tabulka 6: - Vliv různých způsobů ošetření mleziva na jeho imunologické a mikrobiologické parametry (Krejčí a kol., 2018; n = 12)

Parametr	Gama záření	Šetrná pasterace	Okyselení	Rozmrazení ve vodní lázni	Rozmrazení v mikrovlnné troubě
% Brix (refraktometr)	-	-	-	-	-
IgG (RID)	(↓)	↓	-	-	-
IGF (ELISA)	↓↓↓	-	-	-	-
Laktoferin (ELISA)	-	-	-	-	-
Specifické protilátky (ELISA)	-	-	↓↓↓	-	-
Celkový počet mikroorganismů	↓↓	↓↓	↓	-	-
Počet koliformních bakterií	↓↓	↓↓	↓	↓	-

Vyvozená doporučení pro praxi jsou následující: Hygienou a sanitací usilovat o mikrobiologickou kvalitu mleziva stejnou jako u tržního mléka. K dekontaminaci mleziva přistupovat spíše jen v mimořádně nepříznivé nákazové či jinak podmíněné situaci (tzn. spíše dočasně a rozhodně ne jako k nahradě prvně jmenovaného). Dekontaminaci mleziva lze nejlépe provádět šetrnou pasterací, je však nutno při ní počítat s jistým poklesem především obsahu imunoglobulinů. Okyselení lze rovněž použít, avšak je méně účinné a je rovněž doprovázeno snížením některých biologických aktivit mleziva. Zřejmě bude navíc spojeno s omezením příjmu takto ošetřeného mleziva, takže u tohoto způsobu ošetření

patrně málokdy budou převažovat benefity nad negativy. V případech tlumení opravdu masivního promoření chovu paratuberkulózou je smysluplnou pomocí dekontaminace gama zářením, avšak tato metoda je pro chovatele těžce dostupná. Rozmrazování zmrazeného mleziva lze provádět oběma námi použitými způsoby (pomocí vodní lázně či mikrovlnné trouby), dle technického vybavení chovu. K řízené vodní lázni, jejímu promíchávání a hlavně promíchávání rozmrazovaného mleziva se v chovech osvědčily např. malé pračky.

#### **4 POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY**

Z pohledu řízení zdraví telat je největším přínosem metodiky možnost zavést **efektivní systém hodnocení imunologické a mikrobiologické kvality mleziva v chovu a kontrolu míry znečištění zařízení a nádob sloužících k získávání, uchovávání a zkrmování kolostra.**

Nejzásadnější přínos spočívá v možnosti v daném chovu provádět pravidelná testování (s konstantním vybavením a stejným způsobem) a **sledovat dynamiku** – případné zlepšení či zhoršení situace na úseku produkce mleziva, či cíleně ověřovat dopad provedených změn. Pro chovatele je vhodná průběžná, v pravidelných (měsíčních) intervalech, prováděná kontrola kvality reprezentativních vzorků mleziva s vyhodnocováním imunologické kvality a určením dalšího užití daného mleziva. Tyto kontroly imunologické kvality by měly být doplněny indikovanými kontrolami hygieny získávání a uchovávání mleziva a screeningovými testy na kontrolu jeho znečištění. Obojí lze samozřejmě také použít při hledání příčin v případě neuspokojivé imunity novorozených telat či jako součást širšího auditu mlezivové výživy.

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

#### **5 EKONOMICKÉ ASPEKTY**

Monitoring kvality kolostra je významný, ale ještě důležitější je kontrolovat kolostrální imunitu telat. Nastavení vlastního systému kontrol kvality mleziva v chovu může zohlednit konkrétní a aktuální podmínky, resp. potřeby. Využití by mělo být vyšší např. při výběru mleziv vhodných pro zamrazování nebo při neuspokojivé imunitě telat (např. v zimě). Pokud je situace ve výbavě telat protílátkami plně uspokojivá, kontrola mleziva nemusí být prováděna vůbec, nebo pouze v delších odstupech pro základní monitoring. Nastavení frekvence a množství prováděných

vyšetření (kontrol) může dále reagovat zejména na aspekty, které potenciálně snižují kvalitu kolostra, jako jsou např. v průměru mírně nižší kvalita mleziva u prvotek, nižší kvalita v důsledku tepelného stresu krav apod. (viz výše).

## 5.1 Náklady spojené se zavedením ověřování kvality mleziva

Náklady na zavedení rutinního ověřování kvality mleziva (na 1 dojnicu) zahrnují:

1. Materiálové vybavení – pořízení refraktometru:
  - a) optický refraktometr (s rozsahem měření 0 až 32 % Brix) cena 1100 - 1500 Kč (průměrně 1300 Kč),
  - b) digitální Misco cena 20000 – 24000 Kč (průměrně 22000 Kč).
2. Materiálové vybavení – vzorkovnice:
  - a) vzorkovnice na odběr a skladování mleziva odběrová nesterilní – cena 3 Kč/ks,
  - b) vzorkovnice na odběr mleziva sterilní – cena 5 Kč/ks.
3. Materiálové vybavení – rychlé screeningové testy (detektory přítomnosti bílkoviny, laktózy)  
PRO-Clean – cena 65 Kč/ks.
4. Laboratorní vyšetření CPM – cena 90 – 130 Kč, dle rozsahu vyšetření (průměrně 120 Kč).

Kalkulace materiálových nákladů na zavedení systému kontroly imunologické kvality mleziva jsou **3 Kč** (vzorkovnice)/ **na vyšetřenou krávu** + jednorázové pořízení refraktometru. Na provedení kontroly mikrobiologické kvality je to náklad 5 Kč (vzorkovnice) + 120 Kč (laboratorní vyšetření), tj. **125 Kč/ na vyšetřenou krávu**. Na provedení detekce rizikových míst kontaminace mleziva na cca 6 rizikových místech (např. PRO-Clean) je to materiálový náklad **390 Kč/ jednu kontrolu**.

## 5.2 Přínosy spojené se zavedením kontrol kvality mleziva

Kontroly imunologické a mikrobiologické kvality mleziva jsou předpokladem ke zvýšení kvality kolostra podávaného telatům při prvním napojení, a tím při jeho správném užívání ke snížení nemocnosti a ztrát telat v průběhu jejich odchovu. Pokud budeme kalkulovat přínosy pro modelový chov 200 krav (+ prvotelky) s čistou natalitou telat na úrovni 99 % (198 telat), úhyny do odstavu 8 % a morbiditou telat do odstavu 50 %, pak lze tyto rozdělit na:

- **snížení nemocnosti telat (průjmová, respirační onemocnění)** v důsledku optimalizace managementu mlezivové výživy na základě hodnocení kvality kolostra o 10 %. Pokud se

v chovu narodí 198 telat, pak při 50% nemocnosti dojde k onemocnění 99 telat za rok. Snížení nemocnosti telat o 10 % představuje 10 telat.

Úsporu nákladů lze při použití kalkulací nákladů na lehký průběh průjmového, resp. respiračního onemocnění (cca 2500 Kč) podle Lührmanna (2009) odhadnout na:

**průjmové, nebo respirační onemocnění lehkého průběhu u 10 telat × 2500 Kč = 25000 Kč.**

**Celková úspora nákladů v důsledku snížení nemocnosti telat z hodnoty 50 % na 40 %, představuje částku +25000 Kč/rok.**

- **snížení úhynů telat do odstavu** – v modelovém chovu je počítáno s reálnými úhyny telat do odstavu na úrovni 8 %. V chovu je počítáno se snížením ztrát telat do odstavu o 1,0 % (akceptovatelný stav úhynů na úrovni do 5 %). Rozdíl mezi výchozím stavem (úhyn 16 telat/rok) a uvažovaným stavem (úhyn 14 telat/rok) činí ročně navíc zisk 2 telat. Při ceně narozeného telete cca 4500 Kč a úhynu telete v průměrném stáří 14 dní (14 dní × náklad na den odchovu telat 45 Kč = 630 Kč/tele), činí úspora nákladů u telete 5130 Kč. **Tedy vlivem poklesu podílu uhynulých telat o 1,0 %, dojde v modelovém chovu ke snížení ekonomických ztrát (2 telat × 5130 Kč/tele) o +10260 Kč.**

V modelovém chovu 200 krav, s čistou natalitou telat na úrovni 99 % (198 telat), pak lze kalkulovat, že **náklady na zavedení rutinní kontroly imunologické kvality mleziva** budou: 3 Kč na jednu vzorkovnici, s tím, že celkový počet vyšetřených vzorků bude rozdílný - nižší podle potřeb a zvolené strategie v chovu. Tady modelujeme použití u všech krav, zatímco v řadě chovů může být použití cílené a tudíž náklady budou nižší. Náklady 3 Kč × 198 porodů = **594 Kč, přibližně 600 Kč.**

Náklady na **kontrolu mikrobiálního znečištění** je možno vykalkulovat na základě výhledu čtvrtletního provádění vyšetření 10 vzorků mleziva na CPM 10 × 120 Kč = 1200 Kč, tj. za rok potom tyto dílčí náklady činí  $4 \times 1200 \text{ Kč} = 4800 \text{ Kč}$ . Další náklad je případná kontrolní detekce rizikových míst kontaminace mleziva. Opět při čtvrtletním monitoringu 6 míst (dojící souprava, strukový násadec, mléčná hadice, konev, nádoba na uschovávání mleziva, nádoba na vlastní napájení) jde o  $6 \times 65 \text{ Kč} = 390 \text{ Kč}$ , tj. za rok potom  $4 \times 390 \text{ Kč} = 1560 \text{ Kč}$ .

Souhrnně **celkové přímé náklady na provedení kontrol imunologické a mikrobiologické kvality mleziva jsou** 600 Kč + 4 800 Kč + 1560 Kč, tj. **6960 Kč.**

**Úspora nákladů, resp. snížení ztrát potom v modelovém podniku 200 ks krav je 25000 Kč (pokles nemocnosti) + 10260 Kč (snížení ztrát telat úhynem) = 35260 Kč.**

V prvním roce je nutno navíc počítat s odpisem přístroje, tj. refraktometru v hodnotě 1300, resp. 22000 Kč. V prvním roce tedy půjde o snížení nákladů 35260 – 1300, resp. – 22000 Kč, (náklady na přístroj) – 6960 Kč (přímé náklady na vyšetření) v hodnotě 27000, resp. 6300 Kč.

**Celkově (mimo první rok) tedy půjde o snížení nákladů 35260 – 6960 (přímé náklady) v hodnotě 28300 Kč.**

V chovech řádově větších než 200 krav je při uplatnění kontroly kvality mleziva a mikrobiálního znečištění dle metodiky (tj. případně u všech otelených zvířat jednorázová kontrola imunologické kvality a občasný – čtvrtletní monitoring mikrobiologické kvality se zlepšením mlezivové výživy všech telat) potenciál úspory nákladů ještě významně vyšší.

Úlohou každého chovatele by měla být snaha o minimalizování ztrát telat a o co nejlepší prosperitu v průběhu jejich odchovu. Úhyny telat způsobují problémy s doplňováním a stabilizací stáda a současně v případě vysokých ztrát a vysoké nemocnosti telat je snižován i jeho genetický a produkční potenciál. Z ekonomického vyhodnocení vyplývá, že uplatnění popsaného postupu systematického ověřování kvality mleziva s sebou může přinášet významný jednoznačně pozitivní finanční efekt a další kladné důsledky.

## **6 SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY**

- ACRES, S.D. 1985. Enterotoxicigenic Escherichia coli infections in newborn calves: a review. *J. Dairy Sci.* 68: 229 – 256.
- ANDERSON, N. 2008. Free-access Feeding of acidified milk setting up the system using formic acid. May 2008 – Ontario Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs. 12 pp.
- BALTHAZAR, E., DOLIGEZ, E., LERAY, O. Le COZLER, Y. 2015. A comparison of thawing methods on IgG1 concentration in colostrum of dairy cows. *Revue Méd. Vét.* 166(11 – 12): 341 – 344.
- BARTIER, A.L., WINDEYER, M.C., DOEPEL, L. 2015. Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. *J. Dairy. Sci.* 98: 1878 – 1884.
- BAUMRUCKER, C.R., BURKETT, A.M., MAGLIARO-MACRINA, A.L. DECHOW, C.D. 2010. Colostrogenesis mass transfer of immunoglobulin G1 into colostrum. *J Dairy Sci.* 93(7): 3031 – 3038.
- 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.

- BIELMANN, V., GILLAN, J., PERKINS, N., SKIDMORE, A., GODDEN, S. LESLIE, K. 2010. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93: 3713 – 3721.
- BLUM, J.W., HAMMON, H. 2000. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livest. Prod. Sci.* 66: 151 – 159.
- CANNING, P., McINTYRE, T., ANDERSON, N. 2009. Acidifying whole milk and milk replacer with citric acid. Ceptor Animal Health News, Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Dostupné z: <http://dairyherd.com/sites/default/files/September2.pdf>, navštívěno 07. 02. 2014.
- CUMMINS, C., BERRY, D.P., MURPHY, J.P., LORENZ, I., KENNEDY, E. 2017. The effect of colostrum storage conditions on dairy heifer calf serum immunoglobulin G concentration and preweaning health and growth rate. *J. Dairy Sci.* 100: 525 – 535.
- COLLINS, M.T., EGGLESTON, V., MANNING, E.J.B. 2010. Succesful control of Johne's disease in nine dairy herds: Results of a six-year field trial. *J. Dairy Sci.* 93: 1638 – 1643.
- CORLEY, L.D., STALEY, T.E., BUSH, L.J., JONES, E.W. 1977. Influence of colostrum on transepithelial movement of Escherichia coli 055. *J. Dairy Sci.* 60: 1416 – 1421.
- DAIRY AUSTRALIA 2012. Tools to determine colostrum quality. Dostupné z: [www.dairyaustralia.com.au](http://www.dairyaustralia.com.au), navštívěno 06. 08. 2017.
- DARDILLAT, J., TRILLAT, G., LARVOR, P. 1978. Colostrum immunoglobulin concentration in cows: relationship with their calf mortality and with the colostrum quality of their female offspring. *Annales de Recherches Vétérinaires, INRA Editions*, 9(2): 375 – 384.
- 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.
- DENHOLM, K.S., HUNNAM, J.C., CUTTANCE, E.L., McDougall, S. 2017. Influence of preservation methods on the quality of colostrum sourced from New Zealand dairy farms. *N Z Vet. J.*, 65(5): 264 – 269.
- DIEPERSLOOT, R., 2013. Pasteurization and freezing effect on colostrum characteristics, morbidity, IgG absorption and growth rates of Holstein heifer calves. A Senior project presented to the Faculty of the Dairy Science Department California Polytechnic State University, San Luis Obispo In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Bachelor of Science. 27 pp.
- ELIZONDO-SALAZAR, J.A., HEINRICHS, A.J. 2009. Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacteria concentrations to neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92: 4565 – 4571.
- FECTEAU, G., BAILLARGEON, P., HIGGINS, R. 2002. Bacterial contamination of colostrum fed to newborn calves in Québec dairy herds. *Can Vet J.* 43(7): 523 – 527.
- FLEISCHER, P., ŠLOSÁRKOVÁ, S., STANĚK, S., PECHOVÁ, A., NEJEDLÁ, E. 2018. Možnosti faremního monitorování kolostrální imunity telat pomocí univerzálního refraktometru. *Veterinářství* 68(1): 27 – 32.
- FOLEY, J.A., OTTERBY, D.E. 1978. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum - Review. *J. Dairy Sci.* 61(8): 1033 - 1060.
- GELSINGER, S.L., GRAY, S.M., JONES, C.M., HEINRICHS, A.J. 2014. Heat treatment of colostrum increases immunoglobulin G absorption efficiency in high-, medium-, and low-quality colostrum. *J. Dairy Sci.* 97(4): 2355 – 2360.

- GODDEN, S. 2008. Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24: 19 – 39.
- GODDEN, S., HAINES, D., M., KONKOL, K. 2014. Heat treatment of colostrum increases immunoglobulin G absorption efficiency in high-, medium-, and low-quality colostrum. *J. Dairy Sci.* 97: 2355 – 2360.
- GODDEN, S.M., McMARTIN, S., FEIRTAG, J., STABEL, J., BEY, R., GOYAL, S., METZGER, L., FETROW, J., WELLS, S., CHESTER-JONES, H. 2006. Heat-treatment of bovine colostrum. II: Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. *J. Dairy Sci.* 89: 3476 – 3483.
- GODDEN, S.M., SMITH, S., FEIRTAG, J.M., GREEN, L.R., WELLS, S.J., FETROW, J.P. 2003. Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 86: 1503 – 1512.
- GODDEN, S.M., SMOLENSKI, D.J., DONAHUE, M., OAKES, J.M., BEY, R., WELLS, S., SREEVATSAN, S., STABEL, J., FETROW, J. 2012. Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *J. Dairy Sci.* 95: 4029 – 4040.
- 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.
- GULLIKSEN S.M., LIE, K.I., SOLVEROD, L., OSTERAS O. (2008): Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 704 – 712.
- HEINRICHS, J., JONES, C. 2017. Composition and Hygiene of Colostrum on Modern Pennsylvania Dairy Farms. PennState Extension. Dostupné z: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/calves/colostrum/das-11-171>, navštívěno 25. 3. 2017.
- HILL, T.M., BATEMAN, H.G., ALDRICH, J.M., QUIGLEY, J.D., SCHLÖTTERBECK, R.L. 2013. Evaluation of ad libitum acidified milk replacer programs for dairy calves. *J. Dairy Sci.* 96: 3153 – 3162.
- 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 Pathogens and Disease*, 5(6): 853 – 858.
- CHASE, L.E. 2011. Preservatives and acidifying chemicals for milk. Cornell University. Dostupné z: <http://atticacows.com/library/newsletters/> AlternativechemicalstopreservemilkChaseN1116.pdf, navštívěno 22. 11. 2018.
- JAMES, R.E., POLAN C.E. 1978. Effect of orally administered duodenal fluid on serum proteins in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 61: 1444 – 1449.
- JAMES, R.E., POLAN, C.E., CUMMINS, K.A. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [Iodine-125]  $\gamma$ -globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 64: 52 – 61.
- JENNY, B.F., HODGE, S.E., O'DELL, G.D., ELLERS, J.E. 1984. Influence of colostrum preservation and sodium bicarbonate on performance of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 67: 313 – 318.
- JOHNSON, J.L., GODDEN, S.M., MOLITOR, T., AMES, T., HAGMAN, D. 2007. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 90(11): 5189 – 5198.

JONES, C.M., HEINRICHS, J. 2016. Colostrum Management Tools: Hydrometers and Refractometers. Dostupné z: <https://extension.psu.edu/colostrum-management-tools-hydrometers-and-refractometers>, navštívěno 20. 09. 2018.

JONES, L.R., TAYLOR, A.W., HINES, H.C. 1987. Characteristics of frozen colostrum thawed in a microwave oven. *J. Dairy Sci.* 70(9): 1941 – 1945.

KEHOE, S.I., HEINRICHS, A.J., MOODY, M.L., JONES, C.M., LONG, M.R. 2011. Comparison of immunoglobulin G concentrations in primiparous and multiparous bovine colostrum. *Prof. Anim. Scientist*, 27(3): 176 – 180.

KEHOE, S.I., JAYARAO, B.M., HEINRICHS, A.J. 2007. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management. Practices on Pennsylvania dairy farms. *J. Dairy Sci.*, 90(9): 4108 – 4116.

KLEIN-JÖBSTL, D., ARNHOLDT, T., STURMLECHNER, F., IWERSEN, M., DRILLICH, M. 2015. Results of an online questionnaire to survey calf management practices on dairy cattle breeding farms in Austria and to estimate differences in disease incidences depending on farm structure and management practices. *Acta Vet Scand.* 57(1): 44.

KREJČÍ, J., KOVAŘČÍK, K., KUDLÁČKOVÁ, H., LEVÁ, L., STANĚK, S., FLEISCHER, P. NEDBALCOVÁ, K., ZOUHAROVÁ, M., ŠLOSÁRKOVÁ, S., FALDYNA, M. 2018. Vliv různých způsobů ošetření kolostra na jeho mikrobiologické a imunologické parametry. *Veterinářství* 68(12), 876 – 880.

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.

LACETERA, N., BERNABUCCI, U., RONCHI, B., NARDONE, A. 1996. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *Am. J. Vet. Res.*, 57: 1776 – 1780.

LeROUSIC, S., KLEIN, N., HOUGHTON, S., CHARLESTON, B. 2000. Use of colostrum from rotavirus-immunised cows as a single feed to prevent rotavirus-induced diarrhoea in calves. *Vet Rec.* 147(6): 160 – 161.

LI-CHAN, E., KUMMER, A., LOSSO, J.N., KITTS, D.D., NAKAI, S. (1995). Stability of bovine immunoglobulins to thermal treatment and processing. *Food Research International*, 28: 9-16.

LÜHRMANN, B. 2009. Krank und teuer. *DLZ Agrar Magazin*, 7: 90 – 93.

MAUNSELL, F. 2014. Cow Factors That Influence Colostrum Quality. *WCDS, Advances in Dairy Technology*, 26: 113 – 121.

MAUNSELL, F.P., MORIN, D.E., CONSTABLE, P.D., HURLEY W.L., MCCOY G.C. 1999. Use of mammary gland and colostral characteristics for prediction of colostral IgG1 concentration and intramammary infection in Holstein cows. *JAVMA*, 214: 1817 – 1823.

McMARTIN, S., GODDEN, S., METZGER, L., FEIRTAG, J., BEY, R., STABEL, J., GOYAL, S., FETROW, J., WELLS, S., CHESTER-JONES, H., 2006. Heat treatment of bovine colostrum. I: effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. *J Dairy Sci.* 89(6): 2110 – 2118.

McGUIRK, S., M., COLLINS, M. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20: 593 – 603.

- MOORE, M., TYLER, J.W., CHIGERWE, M., DAWES, M.E., MIDDLETON, J.R. 2005. Effect of delayed colostrum collection on colostral IgG concentration in dairy cows. JAVMA, 226: 1375 – 1377.
- MORRILL, K.M., CONRAD, E., LAGO, A., CAMPBELL, J., QUIGLEY, J., TYLER, H. 2012. Nationwide evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States. J. Dairy Sci. 95: 3997 – 4005.
- MORRILL, K.M., ROBERTSON, K.E., SPRING, M.M., ROBINSON, A.L., TYLER, H.D. 2015. Validating a refractometer to evaluate immunoglobulin G concentration in Jersey colostrum and the effect of multiple freeze-thaw cycles on evaluating colostrum quality. J. Dairy Sci. 98: 595 – 601.
- MORIN, D.E., NELSON, S.V., REID, E.D., NAGY, D.W., DAHL, G.E. AND CONSTABLE, P.D. 2010. Effect of colostral volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostral IgG concentrations in dairy cows. JAVMA, 237(4): 420 – 428.
- MULLER, L.D., BEARDSLEY, G.L., LUNDENS, F.C. 1975. Amounts of sour colostrum for growth and health of calves. J. Dairy Sci. 58: 1360 – 1364.
- MULLER, L., D., ELLINGER, D., K. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. J. Dairy Sci. 64: 1727 – 1730.
- NEJEDLÁ E., STANĚK, S., ZOUHAROVÁ, M., FLEISCHER P., NEDBALCOVÁ K., ŠLOSÁRKOVÁ, S. 2018. Microbial quality of colostrum from Czech dairy herds. Cattle Practice: October 2018, Volume 26, Part 2, Additional posters, p. 3.
- OTTERBY, D.E., JOHNSON D.G., FOLEY, J.A., TOMSCHE, D.S., LUNDQUIST, R.G., HANSON, P.J. 1980. Fermented or chemically-treated colostrum and nonsalable milk in feeding programs for calves. J. Dairy Sci. 63: 951 – 958.
- OTTERBY, D.E., JOHNSON D.G., POLZIN, H.W. 1976. Fermented fed colostrum or milk replacer for growing calves. J. Dairy Sci. 59: 2001 – 2004.
- PATEL, S., GIBBONS, J., WATHES, D.C. 2014. Ensuring optimal colostrum transfer to newborn dairy calves. Cattle Practice, 22(1,4): 95 – 104.
- PECHOVÁ, A., ŠLOSÁRKOVÁ, S., STANĚK, S., NEJEDLÁ, E., FLEISCHER, P. (v tisku). Evaluation of colostrum quality in the Czech Republic by radial immunodiffusion and different types of refractometers, Vet. Med. Czech, v tisku.
- PETERSON, J., GODDEN, S., BEY, R. 2008. Relationship between bacteria levels in colostrum and efficiency of absorption of immunoglobulin G in newborn dairy calves. In Proc. 41st Annu. Meet. AABP. Sept. 25-27, 2008. Charlotte, NC.
- PHIPPS, A.J., BEGGS, D.S., MURRAY, A.J., MANSELL, P.D., STEVENSON, M.A., PYMAN, M.F. 2016. Survey of bovine colostrum quality and hygiene on northern Victorian dairy farms. J Dairy Sci. 99(11): 8981 – 8990.
- POLZIN, H.W., OTTERBY, D.E., JOHNSON, D.G., 1977. Responses of calves fed fermented or acidified colostrum. J Dairy Sci. 60(2): 224 – 234.
- PRITCHETT, L.C., GAY, C.C., BESSER, T.E., HANCOCK, D.D. 1991. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. J. Dairy Sci. 74: 2336 – 2341.

QUIGLEY, J. 1997. Calf Note 12 – Freezing and Tahwing Colostrum. Dostupné z: <http://www.calfnotes.com/pdffiles/CN013.pdf>, navštíveno 11. 10. 2018.

QUIGLEY, J.D., LAGO, A., CHAPMAN, C., ERICKSON, P., POLO, J. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 96: 1148 – 1155.

RAMÍREZ-SANTANA, C., PÉREZ-CANO, F.J., AUDÍ, C., CASTELL, M., MORETONES, M.G., LÓPEZ-SABATER, M.C., CASTELLOTE, C., FRANCH, A. 2012. Effects of cooling and freezing storage on the stability of bioactive factors in human colostrum. *J. Dairy Sci.* 95: 2319-2325.

RASTANI, R.R., GRUMMER, R.R., BERTICS, S.J., GÜMEN, A., WILTBANK, M.C., MASHEK, D.G., SCHWAB, N.C. 2005. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. *J. Dairy Sci.* 88: 1004 – 1014.

RICHARDS, B.F., JANOVICK, N.A., MOYES, K.M., BEEVER, D.E., DRACKLEY, J.K. 2009. Comparison of a controlled-energy high-fiber diet fed throughout the dry period to a two-stage far-off and close-up dietary strategy. *J. Dairy Sci.* 92(E. Suppl. 1): 140. (Abstr.)

SAIF, L.J., SMITH, K.L. 1985. Enteric viral infections of calves and passive immunity. *J. Dairy Sci.* 68: 206 – 228.

SANTOS, J.E.P., DePETERS, E.J., JARDON, P.W., HUBER, J.T. 2001. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 213 – 224.

SHOSHANI, E., ROZEN, S., DOEKES, J.J. 2014. Effect of a short dry period on milk yield and content, colostrum quality, fertility, and metabolic status of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 97(5): 2909 – 2922.

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. 2015. Použití refraktometrů v odchovu telat I. - hodnocení kvality mleziva. *Náš chov* 75(9): 70 – 71.

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., 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., 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.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., STANĚK, S., NEJEDLÁ, E. 2017a. 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. 2014. The assessment of colostral immunity in dairy calves based on serum biochemical indicators and their relationships. *Acta Vet Brno*, 83: 151 – 156.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., STANĚK, S., FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., NEJEDLÁ, E. 2017b. Rozšíření možností faremní kontroly úrovně kolostrální imunity telat. Certifikovaná metodika, 1. vyd. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., 37 s. Dostupné z: [https://www.vri.cz/cz/vyzkum/aplikovane\\_vysledky/certifikovane\\_metodiky](https://www.vri.cz/cz/vyzkum/aplikovane_vysledky/certifikovane_metodiky)

TYLER, J.W., HANCOCK, D. D., THORNE, J.G., GAY, C.C., GAY, J.M. 1999. Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* 13: 335 – 337.

VASSEUR, E., BORDERAS, F., CUE, R.I., LEFEBVRE, D., PELLERIN, D., RUSHEN, J., WADE, K.M., DE PASSILLÉ, A.M. 2010. A survey of dairy calf management practices in Canada that affect animal welfare. *J. Dairy Sci.* 93(3): 1307 – 15.

VERWEIJ, J.J., KOETS, A.P., EISENBERG, S.W.F., 2014. Effect of continuous milking on immunoglobulin concentrations in bovine colostrum. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 160(3–4): 225 – 229.

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.

WIKING, L., PEDERSEN, R.E. 2009. Effects of heating colostrum in a microwave oven on Immunoglobulin G concentration. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Sciences*, 59(1): 66 – 69.  
Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/232885374\\_Effects\\_of\\_heating\\_colostrum\\_in\\_a\\_microwave\\_oven\\_on\\_Immunoglobulin\\_G\\_concentration](https://www.researchgate.net/publication/232885374_Effects_of_heating_colostrum_in_a_microwave_oven_on_Immunoglobulin_G_concentration), navštíveno 24. 11 2018.

## 7 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., STANĚK, S., NEJEDLÁ E., ŠLOSÁRKOVÁ, S. 2018. Comparison of three refractometers in colostrum quality estimation. *Cattle Practice*: October 2018, Volume 26, Part 2, Additional posters, p. 2.

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: University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, 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.

KREJČÍ, J., KOVAŘČÍK, K., KUDLÁČKOVÁ, H., LEVÁ, L., STANĚK, S., FLEISCHER, P. NEDBALCOVÁ, K., ZOUHAROVÁ, M., ŠLOSÁRKOVÁ, S., FALDYNA, M. 2018. Vliv různých způsobů ošetření kolostra na jeho mikrobiologické a imunologické parametry. *Veterinářství* 68(12), 876 – 880.

NEJEDLÁ E., STANĚK, S., ZOUHAROVÁ, M., FLEISCHER P., NEDBALCOVÁ K., ŠLOSÁRKOVÁ, S. 2018. Microbial quality of colostrum from Czech dairy herds. *Cattle Practice*: October 2018, Volume 26, Part 2, Additional posters, p. 3.

PECHOVÁ, A., ŠLOSÁRKOVÁ, S., STANĚK, S., NEJEDLÁ, E., FLEISCHER, P. v tisku. Evaluation of colostrum quality in the Czech Republic by radial immunodiffusion and different types of refractometers, Vet. Med. Czech, v tisku.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P. 2015. Použití refraktometrů v odchovu telat I. - hodnocení kvality mleziva. Náš chov 75(9): 70 – 71.

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: University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, 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., JIROTOVÁ, 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: University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, 144.

STANĚK, S., ŠLOSÁRKOVÁ, S., ZOUHAROVÁ, M., FLEISCHER P., NEJEDLÁ E., NEDBALCOVÁ K. 2018. Microbial contamination of colostrum from Czech dairy herds. In Hungarian Veterinary Journal (Magyar Állatorvosok Lapja) 2018. 140 (Supplement I). Eger, Hungary: Herman Ottó Nonprofit Kft., 177 – 178.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., STANĚK, S., NEJEDLÁ, E. 2017a. Hodnocení kolostrální imunity telat v ČR na základě stanovení IgG radiální imunodifuzí a celkové bílkoviny laboratorně fotometricky a refraktometrem. Veterinářství 67(11): 883 – 889.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., STANĚK, S., FLEISCHER, P., PECHOVÁ, A., NEJEDLÁ, E. 2017b. Rozšíření možností faremní kontroly úrovně kolostrální imunity telat. Certifikovaná metodika, 1. vyd. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., 37 s. Dostupné z: [https://www.vri.cz/cz/vyzkum/aplikovane\\_vysledky/certifikovane\\_metodiky](https://www.vri.cz/cz/vyzkum/aplikovane_vysledky/certifikovane_metodiky)

## PŘÍLOHA K CERTIFIKOVANÉ METODICE 107/2018

# Získávání kvalitního mleziva

## na farmě a jeho kontrola

### KROK ZA KROKEM

1. PROSTORNÉ A HYGIENICKÉ USTÁJENÍ KRAV PŘED PORODEM A BĚHEM NĚJ .....	2
2. ZÍSKÁVÁNÍ MLEZIVA – FAKTOR ČASU .....	2
3. MINIMALIZACE MIKROBIALNÍ KONTAMINACE MLEZIVA PŘI JEHO ZÍSKÁVÁNÍ.....	3
4. MINIMALIZACE MIKROBIALNÍ KONTAMINACE MLEZIVA PO JEHO NADOJENÍ.....	8
5. HODNOCENÍ IMUNOLOGICKÉ KVALITY MLEZIVA .....	12
6. KONTROLA MIKROBIALNÍ KONTAMINACE MLEZIVA .....	15
7. DALŠÍ MOŽNÉ OŠETŘENÍ KOLOSTRA .....	19

## 1. PROSTORNÉ A HYGIENICKÉ USTÁJENÍ KRAV PŘED PORODEM A BĚHEM NĚJ

Vysokobřezí krávy a jalovice ustájí v dostatečně prostorných porodních kotcích, ideálně  $16\text{ m}^2/\text{ks}$ . Nedostatečná plocha porodního kotce, příp. přeplnění představuje zhoršení pohody až stres.



Hygiena ustájení ovlivňuje čistotu těla krav (vemeno, zadní partie), tím i následnou mikrobiologickou kvalitu mleziva a expozici čerstvě narozených telat přítomným mikroorganismům.



## 2. ZÍSKÁVÁNÍ MLEZIVA – FAKTOR ČASU

Koncentrace protilátek v mlezivu klesá přibližně o 4 % každou hodinu, která uplyne mezi otelením a podojením.



Mlezivo krav by mělo být získáno ideálně do 1 hodiny, nejpozději ale do 4 hodin po otelení.



### 3. MINIMALIZACE MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE MLEZIVA PŘI JEHO ZÍSKÁVÁNÍ

#### a) příprava na dojení mleziva

I před získáváním mleziva, tak jako před každým dojením, zkontrolujte stav dojicího zařízení a připravte ho.

Zkontrolujte čistotu všech nádob a pomůcek, které přijdou do styku s mlezivem. Konve aj. před začátkem dojení vždy znovu vycistěte, minimálně je vypláchněte.



Dojicí zařízení pro získávání mleziva by se mělo stejně jako v dojírnách po každém dojení automatizovaně sanovat/cístit tzv. „velkým proplachem“. Před zahájením každého dojení by se měl použít tzv. „malý proplach“. U dojicích jednotek, které nejsou denně napojeny na proplachové cykly, je udržení hygieny problematické. Jejich čistota je závislá na čištění dojici.

#### b) kontrola zdravotního stavu krav a kontrola vemene a struků

Posuďte celkový zdravotní stav krávy, a to před každým dojením. Důkladně prohlédněte i samotné vemeno.

Pouze kvalitní osvětlení vemene umožňuje dojici adekvátně posoudit zdravotní stav vemene vč. struků a rozsah jejich znečištění.



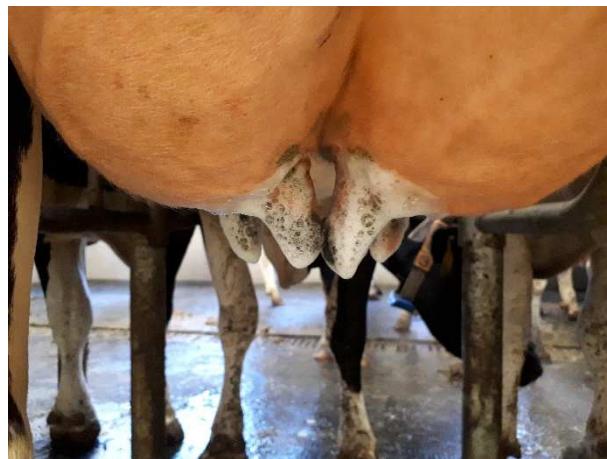
Mlezivo od krav se zjevnými příznaky onemocnění (těžké mastitidy, horečnaté stavy apod.) nepoužívejte pro napájení telat. Zdraví krávy a zejména zdraví mléčné žlázy úzce souvisí s rizikem přenosu původců nemocí do organismu telete (původci mastitid, *E. coli*, salmonely, původce paratuberkulózy aj.).

### c) kontrolní odstříky a pre - dipping

Důkladně odstříkněte první stříky mleziva a posuďte jeho barvu a konzistenci. Mlezivo změněné, především pokud se vyskytuje v jedné či dvou čtvrtích, nezkrmujte telatům, jedná se pravděpodobně o mastitidu. Vyvarujte se odstříků do ruky, na utěrku a podlahu. Zkontrolujte také čistotu hrotu struků.



Jedním ze základních úkonů toalety vemene, i před dojením mleziva, je desinfekce struků před dojením (pre – dipping), např. formou „napěnění“. Dodržte adekvátní dobu působení.



#### d) očista struků a vemene

Důkladně očistěte struky, případně i znečištěnou bázi vemene - ideálně jednorázovými utěrkami.



Na utěrkách nešetřete, použijte případně více utěrek k důkladnému očštění struků a báze vemene.



Jednorázové utěrky vybírejte podle jejich jemnosti, nikoliv podle ceny. I tyto by měly být před použitím namočeny do desinfekčního roztoku. Bavlněné utěrky musí být před opětovným použitím vyprány (vyvařeny) a následně opatřeny desinfekčním prostředkem.



Mokrá toaleta (sprchování) by měla být, s výjimkou zcela znečištěného vemene, vyloučena, protože bez odpovídajícího osušení vede k masivní kontaminaci.



Pokud je mokrá toaleta vemene nutná, pak musí být použita čistá utěrka a čistá voda s přídavkem desinfekčního prostředku.



#### e) nasazení dojicího stroje a jeho kontrola v průběhu dojení

Mezi odstříky, pre - dippingem a nasazením dojicího stroje by nemělo uplynout více než 90 sekund.



Kontrolujte průběh dojení. Především pokud vemeno není zcela čisté. (Foto špatné polohy strukových násadců).



Příklady špatné hygieny. Patrné zbytky výkalů jsou zdrojem kontaminace mleziva bakteriemi fekálního znečištění.



Strukové návlečky se před nasazením na vemeno nemají dotýkat dojicího stání (viz. foto). Po každém dojení dojicí soupravu dokonale omyjte a případně vydezinfikujte.



## 4. MINIMALIZACE MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE MLEZIVA PO JEHO NADOJENÍ

### a) uchovávání mleziva po jeho nadojení

Mlezivo zkrmte nejlépe do 1 hodiny po jeho nadojení. Jinak ho uchovávejte v chladničce při 4 °C v zakryté nádobě po dobu maximálně 48 hodin (za předpokladu, že nebylo při dojení silně kontaminováno). Dlouhodobé skladování mleziva (do 12 měsíců) zajistěte jeho zamražením.



Uskladnění přebytečného nativního mleziva v ledničce můžete prodloužit až na 4 dny při použití konzervačního přípravku.

Nevhodným skladováním mleziva dochází ke strmému zvyšování mikrobiální kontaminace. Při pokojové teplotě se zdvojnásobí za každých 20 minut. Postupně tak klesá i jeho imunologická kvalita.



V tuzemských chovech je mlezivo často uloženo v prostorách dojírny či přípravný krmiv pro telata, a to bez jakéhokoliv chlazení (obrázek vlevo). Vpravo mlezivo chlazené.

Mlezivo lze v zamrazeném stavu skladovat až jeden rok, a to bez významného poklesu jeho imunologické kvality (vyjma devitalizace imunitních buněk). Lze použít PET lahve o objemu 1 až 3 l, ale i speciální 4 litrové kazety (vpravo) vhodné i pro jeho ohřev a podání teleti.



**Zásoby mleziva** označte číslem krávy, datem nadojení a ideálně i údajem o kvalitě. Podle kvality získaného mleziva můžete modifikovat volbu nádoby pro zamrazení, resp. **volbu minimálního objemu potřebného pro 1. napojení telete**. Mlezivo je ale současně zdrojem i všech potřebných živin, aby tele bylo dostatečně saturováno, měl by 1. nápoj činit minimálně 8 % tělesné hmotnosti teleta, což při porodní hmotnosti 38 kg odpovídá cca 3 litrům. **Minimální množství prvního nápoje by tedy mělo být cca 3 litry**. Vhodné je tudíž **zamrazovat kvalitní mlezivo (tj.  $\geq 23\%$  Brix) do jedné 3 litrové lahve, resp. do dvou 1,5 litrových**, kvůli následné identifikaci lze doporučit je spojit k sobě (např. lepicí páskou). K tomu lze zamrazit totéž mlezivo ještě do 1litrové láhvě, pokud bude v chovu platit požadavek co největšího objemu prvního nápoje (tj. až 4 litry), protože lze kombinovat 3 + 1litrovou lahev. Pro napojení jednoho teleta se má použít mlezivo od jedné matky, tj. spojovat lahve mleziva od jedné matky k sobě. Další možnou variantou je zamrazovat mlezivo **do dvou 2litrových lahví**.

V chovech se zvláštním režimem odchovu telat (např. **při tlumení paratuberkulózy**) musí být striktně dodrženo **napojení telete mlezivem pouze od prověřené negativní krávy** (vlastní matky nebo jiné negativní krávy), případně kolostrální náhražkou, je vyloučeno napájení směsným mlezivem.

## b) rozmrazování, ohřev a pasterace mleziva

Mlezivo lze rozmrazit v zavařovacím hrnci o dostatečném objemu, s nastavením teploty a času. Je možné zde mlezivo i ohřát, resp. pasterovat (max. při 60 °C). Je vhodné zajistit míchání.



K rozmrazování, ohřevu, příp. pasterování mleziva se u kazetových systémů používají specifické jednotky s vodní lázní.



Nejrozšířenější je v tuzemských chovech umístění lahve s mlezivem do vědra s teplou vodou. Je potřeba s mlezivem pravidelně míchat a doplňovat teplou (max. 60 °C), nikoli horkou vodu. (pracné a relativně zdlouhavé)



Efektivní je rozmrazování mleziva např. v pračce s termostatem. Dostatečný objem a stálá teplota (max. 60 °C) zajistí rozmrazení mleziva za 45 až 80 minut - dle objemu láhve a teploty vody.



**Zamrazením, skladováním a správným rozmrazením** kvalita mleziva klesá jen málo.  
Rozmrazování mleziva lze provádět také:

1. Samovolně při pokojové teplotě, může být ale spojeno se značným pomnožením mikroorganismů, pokud mlezivo bylo zkонтaminováno při jeho získání.

2. Ve vodní lázni (teplota max. 60 °C), žádoucí je obsah zamražené nádoby během rozmrázování promíchávat (obojí lze zajistit použitím pračky).
3. Lze použít i mikrovlnné záření (trouba). Pozor, výsledek je závislý na aktuálním výkonu a délce užití. Protože hrozí sražení mleziva, doporučujeme nejdříve v praxi konkrétní mikrovlnnou troubu vyzkoušet. Při 150 W po dobu 15 minut by nemělo dojít k znehodnocení mleziva (podrobněji viz vlastní metodika).

## 5. HODNOCENÍ IMUNOLOGICKÉ KVALITY MLEZIVA

### a) výběr refraktometru

Používají se víceúčelové („univerzální“) refraktometry se stupnicí Brix, určené mj. k měření sušiny mléčných nápojů a kvality mleziva, a to (zleva) optické, jednoduché digitální a digitální refraktometry vyšší kvality (podrobně viz vlastní metodika, kapitola 2.7.3.).

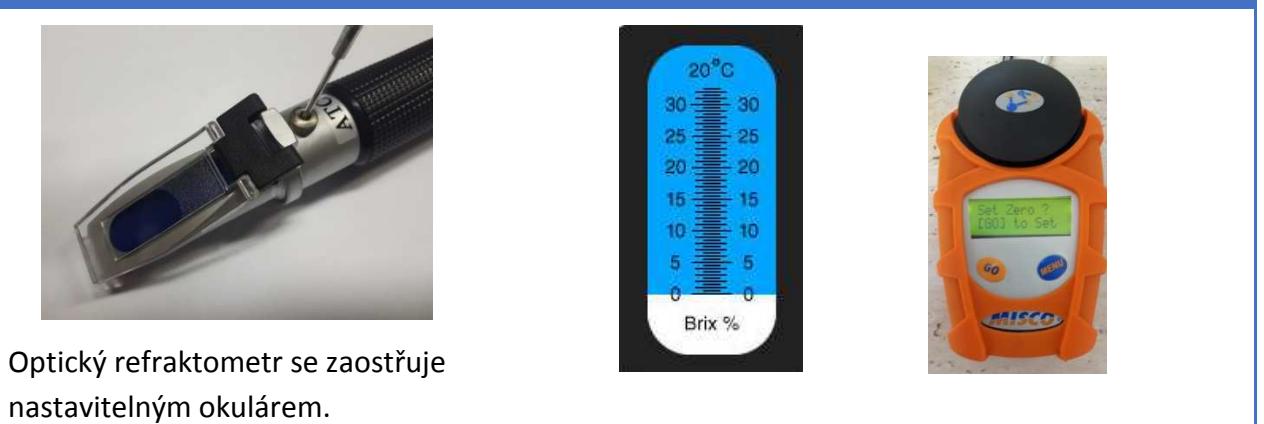


### b) kalibrování a seřízení refraktometru

Každý refraktometr je nutné v daný den před použitím zkalibrovat, a to 1) kápnutím destilované, nebo pitné vody.



2) Vlastní kalibrací. Optický refraktometr se kalibruje na nulu pomocí šroubováku, kterým se utahuje/uvolňuje závit nad měřícím hranolem. Digitální refraktometry se kalibrují automaticky po zvolení funkce kalibrace (podrobně viz vlastní metodika, kapitola 2.7.3.)



Optický refraktometr se zaostřuje nastavitelným okulárem.

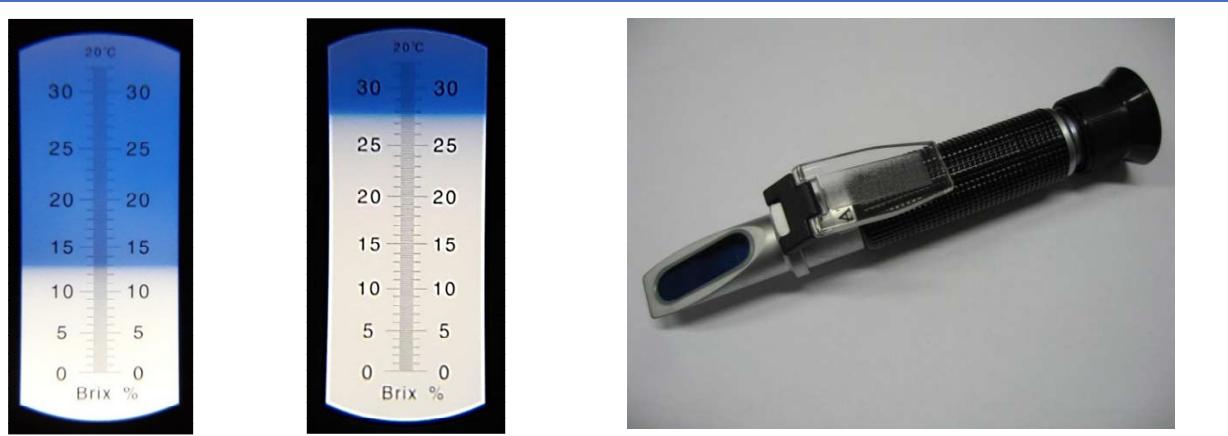
### c) odhad imunologické kvality mleziva (dle sušiny)

Vlastní odhad obsahu imunoglobulinů provádíme kápnutím několika kapek mleziva na osušený hranol, či do jamky digitálního refraktometru. Následuje vlastní měření a odečtení výsledku (viz níže). U digitálních refraktometrů se naměřená hodnota zobrazí automaticky na displeji. V optickém refraktometru odečteme hranici přechodu mezi světlým a tmavým, tj. modrým rozhraním.

Měření mleziva digitálním refraktometrem MISCO: 1. připravený k měření, 2. nanesení mleziva (po kalibraci), 3. po zavření krytu a zmáčknutí tlačítka GO - vlastní měření, 4) výsledek 27,2 jednotek (%) Brix (interpretace: mlezivo výborné kvality).



Příklady dvou výsledků v optickém refraktometru: vlevo mlezivo velmi nízké kvality (necelých 13 % Brix), vpravo od něj mlezivo výborné kvality (téměř 28 % Brix).



d) hodnocení mleziva a příklady jeho možného použití podle výsledků % Brix (Tabulka vychází z výsledků naší studie provedené na 1522 vzorcích mleziva).

% Brix <sup>&amp;</sup>	Přibližný <sup>#</sup> obsah IgG (g.l <sup>-1</sup> )	Odhad kvality	Příklady možného použití*
≥23	>75	Kvalitní mlezivo	Pro první napojení či zamrazení minimálně v objemu 3 l*
≥19 a <23	60-75	Dobré mlezivo	Pro druhé a případně další napojení
<19	<60	Nekvalitní mlezivo	Zkrmovat až 2. den věku telete

<sup>&</sup>Pozor – **digitální refraktometry jsou rozdílné kvality** (viz vlastní metodika, kapitola 2.7.3. a 3.).

<sup>#</sup>**Shoda mezi IgG a % Brix je jen přibližná** ( $r=0,67$ ), v naší studii byla spolehlivější u nižších, méně u vyšších hodnot; cíle a hranice je vhodné nastavit dle konkrétních **místních podmínek**.

\*Pokud chcete mít jednotný postup napájení telat mlezivem, zamrazujte a k napájení tak následně používejte **jednu 3litrovou láhev** a naplňujte nejdůležitější pravidlo ze všech: **Při prvním napojení má tele přijmout maximální možný objem mleziva.** Profesionální systémy (coloQuick) zamrazují, tj. při prvním napojení podávají 4 litry mleziva.

## 6. KONTROLA MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE MLEZIVA

### a) laboratorní stanovení

Vyšetření celkového počtu mikroorganismů (CPM), koliformních a nekoliformních bakterií:

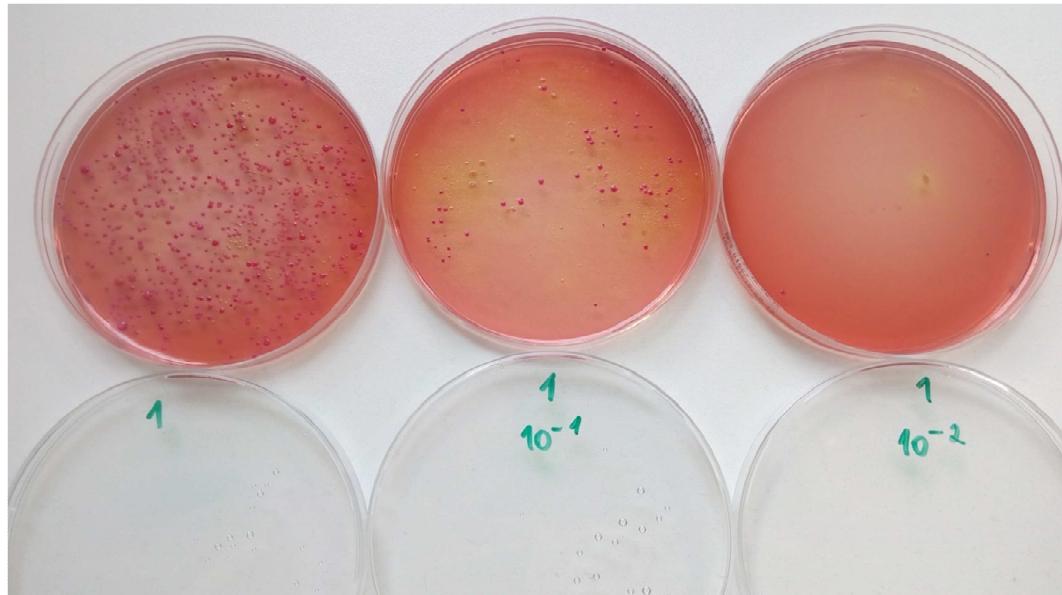
- a) odběr vzorku ihned po podojení do sterilní vzorkovnice,
- b) popsat vzorkovnice pořadovým číslem (evidence: pořadové číslo, číslo zvířete, datum odběru),
- c) zamrazit nebo odeslat v chlazeném stavu do laboratoře Státního veterinárního ústavu (SVÚ),
- d) vyhodnotit získané výsledky, porovnat s limity.

**Tabulka: Požadavky na mikrobiologickou kvalitu kolostra**

Parametr	Hraniční hodnota*	Jednotka
Celkový počet mikroorganismů (CPM)	<100 000 <sup>1</sup> resp. <20 000 <sup>2</sup>	KTJ·ml <sup>-1</sup>
Koliformní bakterie	<10 000 <sup>1</sup> resp. <100 <sup>2</sup>	KTJ·ml <sup>-1</sup>
Nekoliformní G- bakterie	<5 000 <sup>1,2</sup>	KTJ·ml <sup>-1</sup>

<sup>1</sup>McGuirk a Collins (2004), <sup>2</sup>Heinrichs a Jones (2017)

Ukázka mikrobiologického vyšetření vzorku mleziva



## b) detekování rizikových míst – zdrojů kontaminace (kontrola čistoty)

V pravidelných intervalech kontrolujte hygienu nádob na mlezivo a zajistěte jejich čistotu.  
(Obrázek: Nálepy uvnitř láhve určené k podávání mleziva.)



Kontrolujte také čistotu konví a dojicích souprav, které nejsou pravidelně napojeny na proplachový systém dojírny.



Detekujte riziková místa - zdroje kontaminace mleziva pomocí rychlotestů, které odhalí zbytková množství proteinu nebo laktózy. Jde o orientační testy a slouží k zhodnocení úrovně hygieny nádob, pomůcek a zařízení, která přicházejí do styku s mlezivem či mlékem.

Rychlotesty pro detekování přítomnosti proteinu a laktózy



Rychlotesty (např. PRO-Clean) uchovávejte v chladničce



Opatrně vyndejte střrovou tyčinku ze zkumavky, nedotýkejte se jí.



Udělejte stér z plochy ideálně 10x10 cm z konve, mléčných hadic, cucáků apod.



Zasuňte střrovou tyčinku zpět do zkumavky.

Zalomte horní uzávěr s reagentem a zajistěte jeho vtečení k vatové části tyčinky. Opatrně 5 až 10 sekund protřepávejte, odečtěte zbarvení reagentu po 1 minutě.



Rychlotesty pro detekování zbytkového množství proteinu nebo laktózy, včetně uvedení stupnice pro stanovení intenzity znečištění (přítomnosti proteinu/laktózy).



✓	ČISTÉ - OK
✗	ZNEČIŠTĚNÉ
✗	SILNĚ ZNEČIŠTĚNÉ
✗	EXTRÉMNĚ ZNEČIŠTĚNÉ

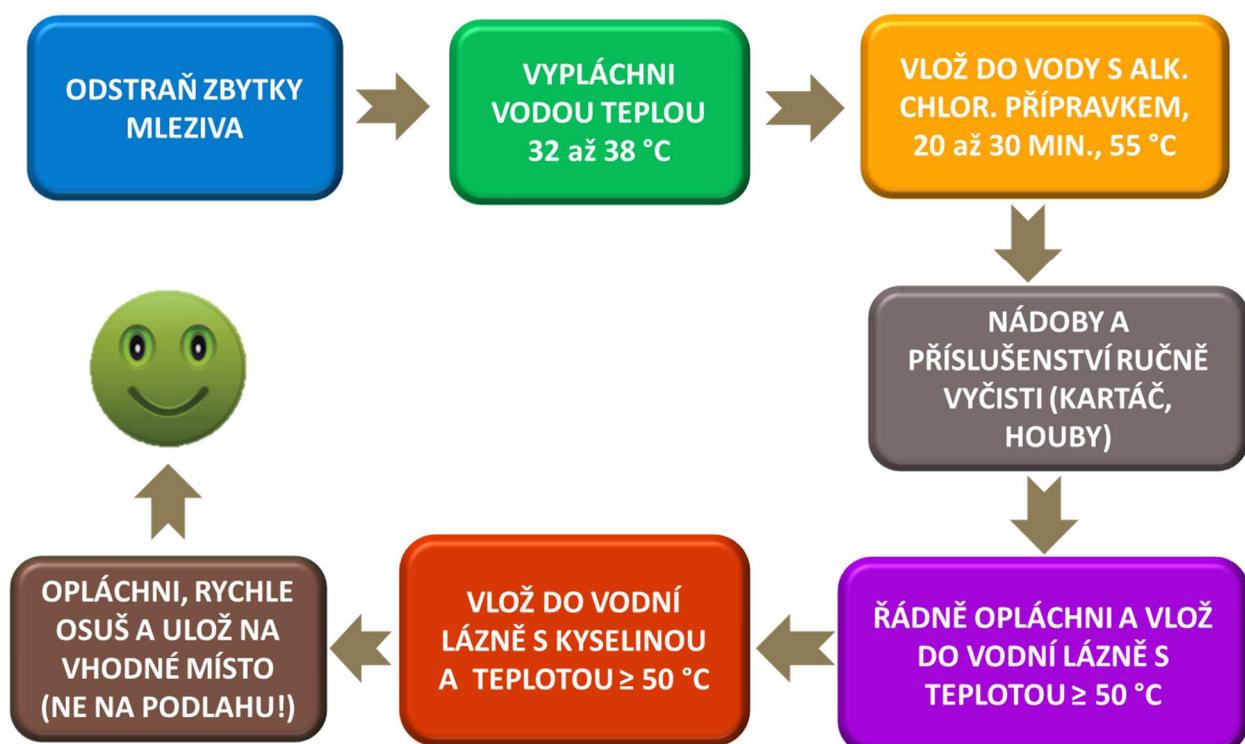
### c) eliminace zdrojů kontaminace

Nastavte v podniku systém důkladného čištění nádob, pomůcek a zařízení, které přicházejí do styku s mlezivem a mlékem.

Mějte zvlášť dojicí soupravy pro nemocné krávy a otelené krávy a tyto nikdy nezaměňujte. Dojicí soupravu a konev po každém dojení vyčistěte a před následným dojením vždy vypláchněte.



Schéma čištění nádob, pomůcek a zařízení, která přicházejí do styku s mlezivem a mlékem.



Zdůvodnění výše uvedeného schématu:

- a) odstranění zbytků mleziva = vypláchnutí nádoby vlažnou vodou (nepoužívejte příliš horkou vodu, která by vedla k ulpění bílkovin na stěnách nádoby a k tvorbě nežádoucího biofilmu).

b) použití detergentního alkalizačního přípravku s vyšším pH je důležité k odstranění tukových částic a zbytků bílkovin.

c) ruční čištění (houbičky, kartáče aj.) je velmi podstatné pro odstranění zbytků složek mleziva z nádob. Čištění by mělo trvat alespoň dvě minuty, zvláštní preciznosti je potřeba zvláště u cucáků a jícnových sond, které jsou hůře přístupné.

d) nádoby a pomůcky opět znova řádně omyjte v teplé vodní lázni a následně je umístěte do lázně s obsahem kyseliny. Použití kyseliny má dvě opodstatnění: 1) reakce s rezidui minerálů z vody, 2) nízké pH působí proti celé řadě mikroorganismů.

e) celý proces zakončete rychlým omytím a osušením vzduchem. Zařízení a nádoby zavěšujte nebo ukládejte do regálů, nikdy ne na zem a už vůbec ne tzv. „do stohů“. Nádoby musí řádně vyschnout. Před každým následným použitím vypláchněte nádoby a pomůcky pro napájení telat alespoň vlažnou, lépe teplou vodou.

## 7. DALŠÍ MOŽNÉ OŠETŘENÍ KOLOSTRA

Při potřebě zásadně omezit pravděpodobnou mikrobiální kontaminaci či přítomnost původců nemocí v mlezivu lze **pasterovat**. Proces pasterace musí být šetrný, protože mlezivo zahřáté na vyšší teploty se snadno sráží. Nešetrná pasterace vede k poškození imunoglobulinů, ale i dalších imunitních a nutričních faktorů mleziva.

Pokud se chovatel rozhodne pro pasterování mleziva, pak musí teplotu **60 °C** udržovat po dobu **30 až 60 minut**. Nutností je samozřejmě jeho pravidelné míchání (rovnoměrné tepelné ošetření). Toto ošetření nevede ke změnám viskozity mleziva, vede pouze k akceptovatelnému poklesu detekovatelných IgG ale hlavně **téměř kompletně usmrnuje běžné mikroorganismy** v mlezivu. V tuzemsku lze k pasterování mleziva využít zavařovacích hrnců s nastavitelnou teplotou termostatu, s nastavitelným časováním a objemem až 27 litrů (viz výše: 4b). Pasterovat tak lze menší objemy mleziva. V zahraničí jsou dostupná zařízení, která umí rozmrzovat, ohřívat, ale i pasterovat mlezivo v kazetových systémech (viz výše: 4a, 4b). Tyto systémy jsou obvykle na 2 nebo 4 kazety a lze je ovládat jak pomocí displeje, tak i pomocí mobilního telefonu či tabletu, který poskytuje např. přehled o průběhu pasteračního procesu (grafický výstup).

Pro **první napojení telete** je doporučitelné použít především to pasterované mlezivo, které **mělo výchozí odhadovanou kvalitu** patřící do **nejvyšší** v chovu dosahované **úrovně**, tj. minimálně  $\geq 23\%$  Brix, lépe ještě vyšší (100 a více g IgG.l<sup>-1</sup>; resp. 26 a více % Brix).



Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

Hudcová 296/70

621 00 Brno

Czech Republic

Tel.: +420 5 3333 1111; [www.vri.cz](http://www.vri.cz); e-mail: [vri@vri.cz](mailto:vri@vri.cz)