

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE  
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

2125451

**INTERAKCIA POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK A TOKU  
MLIEKA ZO ŠTVRKY VEMENA KRÁV**

**2011**

**PetraPastuchová, Bc.**

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA**  
**V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**INTERAKCIA POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK A TOKU**  
**MLIEKA ZO ŠTVRKY VEMENA KRÁV**  
**(Diplomová práca)**

Študijný program: **Aplikovaná biológia**

Študijný odbor: **4.2.1. Biológia**

Školiace pracovisko: **Katedra veterinárnych disciplín, FAPZ**

Školiteľ: **doc. Ing. Vladimír Tančin, DrSc.**

Konzultant: **PaedDr. Michal Uhrinčať, PhD. (CVŽV Nitra)**

Nitra, 2011

Petra Pastuchová, Bc.

### **Čestné vyhlásenie**

Podpísaná Petra Pastuchová vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Interakcia počtu somatických buniek a toku mlieka zo štvrtky vemena kráv.“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 15. marca 2011

## **Pod'akovanie**

Táto diplomová práca bola vypracovaná vďaka odbornému usmerneniu doc. Ing. Vladimíra Tančina, DrSc a PaedDr. Michala Uhrinčaťa, PhD.

Touto cestou im ďakujem za cenné rady, predmetné pripomienky a pomoc pri vypracovaní.

## Abstrakt

Na úrovni vemena a štvrtky boli študované parametre toku mlieka vo vzťahu k počtu somatických buniek (PSB) a ďalším rizikovým faktorom vzniku mastitíd (bimodalita, doba trvania fázy znižovania a dĺžka trvania fázy naprázdno). Do pokusu bolo zaradených 38 Holsteinských kráv na prvej až šiestej laktácii po dobu 10 mesiacov laktácie. Mesačne boli odoberané vzorky mlieka na stanovenie PSB počas ranného dojenia. Toky mlieka zo štvrtky a vemena boli zaznamenávané denne. Krava bola zaradená do štatistického spracovania výsledkov, ak v štvrtke bol zistený PSB väčší ako  $200 \cdot 10^3$  buniek/ml. Na základe uvedeného kritéria bolo zaradených celkovo 3 262 kriviek toku mlieka na úrovni štvrtky a 840 kriviek toku mlieka na úrovni vemena od 22 kráv (6 prvôtok a 16 starších kráv). Pre spracovanie vzťahu parametrov toku mlieka k PSB bolo vybraných každý mesiac 5 po sebe idúcich raňajších dojení v období odberu vzoriek mlieka (odber vzoriek na 3. deň). Celkovo bolo analyzovaných 661 vzoriek mlieka. Ako na úrovni vemena tak aj úrovni štvrtky bola dojivosť nižšia v skupinách s vyšším PSB. Štvrtky s vyšším PSB ( $> 500 \cdot 10^3$  buniek / ml) mali nižší maximálny tok a dlhšiu fázu naprázdno v porovnaní s nízkymi PSB ( $< 200 \cdot 10^3$  buniek / ml). Dlhšie trvanie fázy znižovania bolo pozorované na úrovni štvrtky s vysokým PSB, ale tento efekt nebol zistený na úrovni vemena. Dlhšia fáza znižovania bola zistená pri krivkách s bimodálnym tokom mlieka zo štvrtky. Tento jav nebol pozorovaný na úrovni vemena. Taktiež bimodálny tok mlieka na úrovni štvrtky mal dlhšiu fázu dojenia naprázdno. Doba trvania fázy znižovania na úrovni štvrtky ovplyvnila všetky namerané parametre s výnimkou dĺžky trvania fázy zvyšovania. Štvrtky s dlhším trvaním fázy znižovania ( $\geq 80$  s) mali vyšší PSB a maximálny tok, ale nižšiu dojivosť v porovnaní so štvrtkami s kratšou dobou trvania fázy znižovania ( $< 27$  s). Trvanie fázy naprázdno ovplyvnilo všetky namerané parametre s výnimkou PSB. Na základe dosiahnutých výsledkov je možné konštatovať, že pre udržanie dobrého zdravia vemena, by sa mala brať doba trvania fázy znižovania na úrovni štvrtky za parameter súvisiaci s PSB a dobrou prípravu vemena na dojenie.

**Kľúčové slová:** počet somatických buniek, mastitída, tok mlieka

## Abstract

Milk flow parameters at udder and quarter levels were studied in relation to somatic cell count (SCC) and other risk factors for mastitis (bimodality, duration of decline, and duration of overmilking phase). Thirtyeight Holstein cows in their first to sixth lactations were investigated during 10 mo of lactation. Monthly milk samples were collected for SCC during morning milking. Quarter and udder milk flows were recorded daily. A cow was included if one quarter was found to have an SCC higher than  $200 \times 10^3$  cells/mL. A total of 3,262 quarter milk flow curves and 804 udder milk flow curves from 22 cows (6 primiparous and 16 multiparous) were selected and evaluated. Selected data for milk flow profiles in relation to SCC represented 5 consecutive morning milkings around the time of milk sampling (sampling on d 3). A total of 661 milk samples were analyzed. At both the udder and quarter levels milk yield was reduced in groups with increased SCC. Quarters with high SCC ( $>500 \times 10^3$  cells/mL) had lower peak flow rate and longer overmilking phases compared with quarters with low SCC ( $<200 \times 10^3$  cells/mL). There was a tendency for a longer duration of the decline phase in quarters with high SCC but no effect was observed at the udder level. There were longer declines in bimodal milk flows at the quarter, but not at the udder, level. Also, quarters with bimodality had longer overmilking phases. The duration of the decline phases at the quarter level influenced all measured parameters except the duration of the increase phase. The quarters with a longer duration of the decline phase ( $\geq 80$  s) had greater SCC and peak flow rate but had lower milk yield compared with quarters with a shorter duration of the decline phase ( $<27$  s). Duration of the overmilking phase influenced all measured parameters except SCC. We conclude that for good udder health, the duration of the decline phase at the quarter level should be considered for milking parameters and udder preparation before milking.

**Key words:** somatic cell count, mastitis, milk flow

# Obsah

Zoznam ilustrácií.....	7
Zoznam tabuliek.....	8
Zoznam skratiek a značiek.....	9
Úvod.....	10
<b>1. Súčasný stav riešenia problematiky.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Anatomická stavba vemena kravy .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2. Distribúcia mlieka vo vemene.....</b>	<b>13</b>
<b>1.4.1. Objem alveolárnej a cisternovej frakcie.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3. Charakteristika oxytocínu a jeho význam.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.1. Oxytocín.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.2. Účinky oxytocínu.....</b>	<b>15</b>
<b>1.4. Ejekcia mlieka.....</b>	<b>16</b>
<b>1.5. Tok mlieka.....</b>	<b>18</b>
<b>1.5.1. Charakteristika krivky toku mlieka.....</b>	<b>22</b>
<b>1.6. Zdravotný stav vemena.....</b>	<b>23</b>
<b>1.6.1. Ochorenie mastitída.....</b>	<b>23</b>
<b>1.6.2. Klasifikácia mastitíd.....</b>	<b>25</b>
<b>1.6.3. Vznik a priebeh ochorenia.....</b>	<b>27</b>
<b>1.6.2. Mastitída a tok mlieka.....</b>	<b>29</b>
<b>1.7. Počet somatických buniek.....</b>	<b>31</b>
<b>2. Cieľ práce.....</b>	<b>34</b>
<b>3. Metodika práce a metódy štúdia.....</b>	<b>35</b>
<b>4. Výsledky práce.....</b>	<b>38</b>
<b>5. Diskusia.....</b>	<b>43</b>
<b>6. Záver.....</b>	<b>45</b>
<b>7. Zoznam použitej literatúry.....</b>	<b>46</b>

## Zoznam ilustrácií

<i>Obr. 1</i> Prehľad anatómie vemena (Popesko et al., 1992) .....	12
<i>Obr. 2</i> Schéma reflexu ejakcie mlieka u kráv. (Tančín et al., 2001).....	17
<i>Obr. 3</i> Priebeh toku mlieka v 6. a 37. týždni v závislosti od stimulácie. Svetlá čiara s 1. min stimuláciou pred nasadením a hrubá čiara dojenie bez stimulácie (Tančín a Tančinová, 2008). .....	20
<i>Obr. 4</i> Vplyv prípravy vemena s a bez stimulácie na priebeh toku mlieka zo štvrtky vemena (Tančín et al., 2007).....	21
<i>Obr. 5</i> Charakteristika toku mlieka podľa jednotlivých fáz. (Tančín et al., 2005).....	22



## Zoznam tabuliek

Tab. 1 <i>Priemer najmenších štvorcov a SEM (stredná chyba priemeru) sledovaných parametrov na úrovni vemena a štvrtky vo vzťahu k počtu somatických buniek (PSB).</i>	39
Tab. 2 <i>Priemer najmenších štvorcov a SEM sledovaných parametrov na úrovni vemena a štvrtky vo vzťahu k bimodalite toku mlieka.</i>	40
Tab. 3 <i>Priemer najmenších štvorcov a SEM sledovaných parametrov vo vzťahu k trvaniu fázy znižovania a dojenja naprázdno.</i>	42

## Zoznam skratiek a značiek

SON.....	supraoptické jadrá hypotalamu
PVN.....	paraventriculárne jadrá hypotalamu
PMN.....	polymorfonukleárne leukocyty
PSB.....	počet somatických buniek
DIM.....	dni v laktácii
MTM.....	maximálny tok mlieka

## Úvod

Mlieko patrí k najdôležitejším výživovým produktom živočíšneho pôvodu. Je to sekret mliečnej žľazy, ktorý na určité obdobie poskytuje výživu novonarodeným mláďatám, ako aj imunitnú ochranu. Pre získanie zdravého a plnohodnotného produktu je potrebné zabezpečiť celkové zdravie dojnice. Je dôležité zabrániť šíreniu ochorení, najmä mastitíd.

Pre farmárov a spotrebiteľov nie je však dôležitá len kvalita mlieka, ale aj množstvo. Na produkciu a samotný tok mlieka vplýva množstvo faktorov, ako je napríklad zdravotný stav vemena, štádium laktácie, parita, pripravenosť na dojenie a faktory, ktoré spôsobujú zlé vydávanie mlieka. Tieto fyziologické faktory je možné zistiť z dynamiky toku mlieka a dojivosti.

V súčasnom období sa väčší dôraz kladie na štvrtkový tok mlieka, ako na tok mlieka z celého vemena. Navyše môžeme mlieko rozdeliť na cisternové a alveolárne. Aj poznanie tohto faktu je potrebné pre objasnenie toku mlieka, čo je dôležité pre správne strojové dojenie a zabezpečenie vhodných podmienok ustajnenia.

Ejekcia mlieka je vytlačenie mlieka z alveolárneho do cisternového priestoru. Pre správny tok mlieka je dôležité, aby bola ejakcia mlieka bola vyvolaná ešte pred samotným dojením, čo môže byť zabezpečené manuálnou alebo strojovou stimuláciou ceckov vemena. Pre dostatočný presun mlieka z alveol do cisterny zohráva významnú úlohu oxytocín. Keď doznie jeho účinok, ukončí sa aj reflex ejakcie mlieka.

Somatické bunky sú hlavné indikátory ochorenia mliečnej žľazy- mastitídy. Ich vzťah k parametrom toku mlieka by mohol byť dôležitý pre zlepšenie podmienok dojenia. Je dôležité vedieť, aká je charakteristika toku mlieka zo štvrky v súvislosti so zvýšeným PSB, čo môže byť použité pre včasnú identifikáciu zdravotných ťažkostí.

Zápaly mliečnej žľazy môžu byť vyvolané neinfekčnými fyzikálnymi faktormi, chemicko-toxickými faktormi, avšak najčastejšie mikrobiologickými faktormi. Náchylnosť na zápal vemena rastie so zlými podmienkami ustajnenia, počtom a štádiom laktácie, paritou a ďalšími faktormi prostredia a organizmu.

# 1. Súčasný stav riešenia problematiky

## 1.1. Anatomická stavba vemena kravy

**Mliečna žľaza** (*mamma glandula lactifera*) patrí medzi najdôležitejšie žľazy kože. Predstavuje najväčšiu žľazu s vonkajšou sekréciou, ktorá sa nachádza v organizme. Funkčne patrí k sekundárnym pohlavným orgánom a má úzky vzťah k pohlavnému cyklu. Sekrét mliečnej žľazy – mlieko (*lac*) slúži určité obdobie k výžive novonarodených mláďat a je pre ne jediným zdrojom živín, ktoré sú potrebné pre ich zdravý vývoj. Mledzivo a mlieko sú tiež pre mláďatá jediným zdrojom imunoglobulínov, čím mliečna žľaza zabezpečuje pasívnu imunitu novonarodených mláďat (Tančin et al., 2001; Budras and Habel, 2003).

Na povrchu je vemeno pokryté jemnou a tenkou kožou, ktorá je riedko zarastená jemnými chlpmi a obsahuje veľa mazových a potných žliaz (Hampl, 1978; Najbrt, 1982; Frandson et al., 2009).

Pod kožou sú uložené dve väzivové blany (*fascie*), a to povrchová a hlboká fascia, ktoré z brušnej steny prechádzajú na vemeno. **Povrchová fascia** (*fascia superficialis mammae*) je pokračovaním povrchovej fascie trupu. Je tenká a postupne sa zoslabuje a v úrovni bázy ceckov sa úplne stráca. **Hlboká fascia vemena** (*fascia profunda mammae*) pochádza zo žltej brušnej fascie (*tunica flava abdominis*), ktorá je súčasťou hlbkej fascie trupu. Je hrubšia a je rozdelená na dva listy (Hampl, 1978; Kresan, 1979; Budras and Habel, 2003).

Vonkajší list hlbkej fascie (*lamina lateralis apparatus suspensorii mammarum*) pokrýva laterálne plochy vemena, postupne sa stenčuje a prechádza do strednej vrstvy steny cecka (Hampl, 1978).

Vnútorňý list hlbkej fascie (*lamina medialis apparatus suspensorii mammarum*) prebieha po dorzálnnej ploche vemena, od laterálneho okraja až do mediálnej roviny, kde sa k sebe prikladajú obojstranne vnútorné listy a ventrálne sa zahýbajú v podobe zdvojeného stredového listu medzi obidve polovice vemena, čím vytvárajú medzi nimi hrubú priehradku (Suchánek a Klíčnik, 1973; Hampl, 1978; Najbrt, 1982).

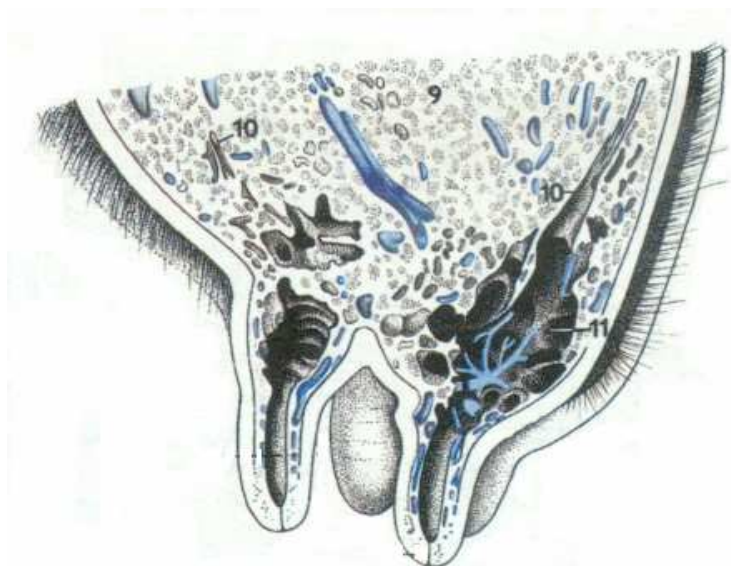
Na ventrálnu plochu vemena nasadá svojou mierne rozšírenou základňou **cecok** (*papilla mammae*) (Najbrt, 1982). Stena cecka je tvorená na povrchu bezchlpu kožou, pod ktorou sa nachádza hladkosvalová vrstva, bohatá na krvné a miazgové cievy a

elastické vlákna. Najvnútornejšiu vrstvu cecka predstavuje sliznica (Hampl, 1978; Mareta, 1990; Frandson et al., 2009).

Žľaznatý parenchým je tvorený tubuloalveolárnymi štruktúrami, vývodmi, žľazovou a ceckovou cisternou, ceckovým kanálikom. Jeho súčasťou je tiež tukové, kolagénové a riedke väzivo (Škarda, 1989).

Sekundárne závesné listy (*lamellae suspensoriae*) hlboko zasahujú do žľaznatého parenchýmu mliečnych žliaz a tým ho rozdeľujú na niekoľko listovitých zo strán sploštených lalokov (*lobi gl. mammariae*) (Hluchý et al., 1995).

**Mliečna cisterna** (*sinus lactiferus*) (Obr. 1) je dutina, v ktorej sa mlieko zhromažďuje pred vydojením alebo vycicaním. Žľaznatá časť mliečnej cisterny (*pars glandularis sinus lactiferi*) sa nachádza v spodnom úseku žľaznatého telesa. Cecková časť mliečnej cisterny (*pars papillaris sinus lactiferi*) je pokračovaním žľazovej cisterny. Je zúžená a nachádza sa v základni cecku. Žľaznatá a cecková časť mliečnej cisterny sú navzájom prepojené a hranicu medzi nimi tvorí kruhová slizničná riasa nachádzajúca sa v úrovni základne cecku. Ceckový kanálik ústi vonkajším ceckovým otvorom (*ostium papillare*) na vrchole cecku (Hampl, 1978; Kresan, 1979; Najbrt, 1982; Suchánek a Klíčnik, 1973; Frandson et al., 2009).



Obr. 1 Prehľad anatómie vemena (Popesko et al., 1992)

Vemeno tvorí súbor mliečnych žliaz. V každej štvrtke vemena sa u kráv nachádza jedna mliečna žľaza, ktorá je funkčne oddelená t.j. nesúvisí s mliečnou žľazou susednej štvrtky tej istej strany (Popesko et al., 1992; Frandson et al., 2009). Dve štvrtky sú umiestnené

laterálne vpravo a dve bočne vľavo. Vemeno je úplne rozdelené dvojitou stenou (*intermammary medial septum*), ktorá je veľmi pružná a odolná (Damian et al., 2009). Štvrtky nie sú prepojené ani cievnou cestou ani cestou žľaznatého parenchýmu. Táto nezávislosť

umožňuje preberanie tvorby mlieka poškodenej štvrtky ostatnými tromi štvrtkami (Tančin a Tančinová, 2008).

**Lymfatický systém vemena** má dôležitú úlohu v ochrane pred infekciou. Hampl (1968) zistil, že nadvemenné (supramamárne) uzliny sú vyvinuté pravidelne u všetkých mliečnych žliaz hovädzieho dobytku v počte od 1 do 9, najčastejšie od 2 do 4 uzlín v každej polovici vemena.

Hampl (1978) uvádza, že 61,1 % mliečnych žliaz má okrem nadvemenných lymfatických uzlín vyvinuté aj vnútrovemenné (intramamárne) lymfatické uzliny a to v počte od 1 do 8, najčastejšie 1 až 2 uzliny v každej polovici vemena. Tieto uzliny sú menšie.

## 1.2. Distribúcia mlieka vo vemene

Vemeno dojnice sa skladá zo štyroch funkčne oddelených a mohutne vyvinutých kužeľovitých mliečnych súborov (*corpora mammae*), ktoré sú priložené k sebe, ale fungujú úplne nezávisle a samostatne (Tančin et al., 2001; Reece, 2009).

Mlieko sa tvorí v sekrečných bunkách nepretržite, avšak získava sa v priebehu dňa periodicky. Štvrťkové mlieko môžeme definovať ako cisternové, alveolárne a zostatkové alveolárne mlieko. Mlieko môže byť uskladnené hlavne v alveolách alebo je riadne vyvinutý aj vývodný systém. U prežúvavcov časť mlieka tzv. alveolárna frakcia, zostáva v lúmene sekrečných alveol a alveolárnych a vnútroalveolárnych vývodov, kde je viazaná adhéznymi a kapilárnymi silami. Alveolárne mlieko (prvých 400 g) je možné získať len aktívnou účasťou dojnice prostredníctvom reflexu ejakcie mlieka t.j. aktívnym vytlačením mlieka z týchto priestorov. Druhá časť mlieka tzv. cisternová frakcia, predstavuje mlieko zostupujúce do medzilalôčkových a lalokových vývodov a následne do mliečnej a ceckovej cisterny, odkiaľ je prístupná pre mechanické získavanie prekonaním síl vytvorených kontrakciou ceckového zvierača. Cisternové mlieko predstavuje asi 20% pri 12- hodinovom intervale dojenia. Prvôstky majú zvyčajne menšie cisternové priestory ako staršie kravy (Tančin et al., 2001; Sarikaya and Bruckmaier, 2006; Sarikaya et al., 2006; Bruckmaier and Wellnitz, 2008; Mačuhová et al., 2008; Svennersten and Pettersson, 2008).

### **1.4.1. Objem alveolárnej a cisternovej frakcie**

Počas prvých 2 hodín po ukončení dojenja nie je v cisterne prítomné žiadne mlieko. Potom až do 5. hodiny nedochádza k výraznejšiemu naplňovaniu cisterny. Podľa iných zistení, bezprostredne po ukončení dojenja zostupuje do cisterny relatívne malé množstvo mlieka. Potom až do 4. hodiny sa v cisterne neobjavuje žiadne mlieko. Od 6. hodiny sa začne cisterna veľmi intenzívne naplňovať mliekom. K naplňovaniu cisterny dochádza oveľa skôr, než alveolárna časť dosiahne maximálny objem (Tančin et al., 2001).

Po 16 hodinách je alveolárny priestor naplnený približne na 90%, zatiaľ čo priestory cisterny sa naplňujú pomaly a dosahujú 70% naplnenie až po 24 hodinách (Davis et al., 1998).

Veľkosť alveolárnej a cisternovej frakcie značne kolíše v závislosti od individuality dojnice, štádia a poradia laktácie (Knight and Dewhurst, 1994).

S narastajúcim počtom laktácií dochádza k zväčšovaniu cisterny, na druhej strane hodnoty cisternovej frakcie so štádiom laktácie klesajú. Alveolárna frakcia mlieka predstavuje v priebehu laktácie väčšiu časť mlieka uloženého vo vemene (Tančin et al., 2001).

## **1.3. Charakteristika oxytocínu a jeho význam**

### **1.3.1. Oxytocín**

Oxytocín je tvorený deviatimi aminokyselinami a je výborným príkladom mediátorovej molekuly s rozmanitými fyziologickými účinkami ako aj spôsobmi dopravy k svojim cieľovým bunkám. Bol objavený sirom Henry Dale v roku 1906. Ako prvý ho syntetizoval v roku 1953 Vincent du Vigneaud a v roku 1955 mu bola udelená Nobelova cena. Oxytocín vykonáva účinky ako hormón prenášaný v telovom obehu k vzdialeným cieľovým orgánom, kde medzi najdôležitejšie patrí mliečna žľaza a maternica (Wakerley et al., 1988; Viero et al., 2010).

Oxytocín je základným a jediným dôležitým hormónom vyvolávajúcim ejekciu mlieka a spôsobuje kontrakcia maternice. Vplyv na maternicu závisí od fázy pohlavného cyklu, v ktorom sa zvieratá nachádzajú. Je dôležitý pri vyvolávaní a udržiavaní pôrodných bolestí (Tančin et al., 2001; Vodrážka et al., 1986).

Oxytocín sa tvorí na supraoptických (SON) a paraventriculárných (PVN) jadrách hypotalamu. Do neurohypofýzy sa dostáva po nervových vláknach ako neurosekrét vytváraný v špecializovaných nervových bunkách. Tieto sú schopné syntézy, prenosu a sekrécie polypeptidových látok do krvi (Tančin et al.,2001; Ross and Young, 2009). Uvoľnenie je spôsobené signálom z nervového systému a hormón je prepustený z hypofýzy po hmatovej stimulácii buď saním teľaťa, strojovým alebo ručným dojením (Vodrážka et al.,1986; Misof et al., 2007).

Oxitocínerné neuróny v priebehu laktácie v porovnaní s laktačným kľudom podliehajú morfológickým zmenám. V období laktácie sa mení aj štruktúrna organizácia synaptických kontaktov a gliových buniek. Napr. u nelaktujúcich samíc sú neurosekrečné neuróny zvyčajne oddelené gliovými bunkami. U laktujúcich samíc dochádza k zvýšeniu priamych kontaktov a to až na úroveň 30% v dôsledku retrakcie (stiahnutia) gliových buniek. V tomto období sa zvyšuje aj počet oxytocínerných neurónov z 1% na 7% (Tančin et al., 2001).

Oxytocín naviazaný na transportný peptid neurofyzín pokračuje z tela neurónu hypotalamu cez axóny nervových buniek hypotalamo- hypofyzárnej dráhy do terminálu zadného laloku hypofýzy- neurohypofýzy, kde sa uskladní a na zodpovedajúce dráždenie sa uvoľňuje od neurofyzínu a vylučuje sa do krvi. Sekrécia oxytocínu je riadená reflexne prostredníctvom frekvencie, počtu a charakteru prichádzajúcich nervových impulzov (Tančin et al., 2001).

Aj na úrovni neurohypofýzy dochádza počas laktácie k určitým morfológickým zmenám. Okrem vlákien oxytocínerných neurónov sa v neurohypofýze nachádzajú aj podporné bunky- pituicyty, ktoré plnia funkciu podporných buniek a ovplyvňujú sekréciu oxytocínu. Dôležitou úlohou pri modulovaní sekrécie oxytocínu je zmena difúzných bariér resp. vnútrobunkového mikroprostredia neurosekrečných vlákien (Tančin et al., 2001).

### **1.3.2. Účinky oxytocínu**

Oxytocín má významné postavenie v priebehu pôrodu a stimulácii pohlavných orgánov. Vyvoláva kontrakcie hladkej svaloviny maternice v závislosti od hladiny estrogénov a gestagénov v organizme a takto primárne prispieva k priebehu pôrodu a vytlačeniu plodu. Ak prevládajú gestagény, citlivosť maternice na oxytocín klesá. Po otvorení krčka maternice pôsobí na prechod plodu do pôrodných ciest (Tančin et al., 2001; Vodrážka et al.,1986; Woller et al., 2010).



Oxytocín vyvoláva kontrakcie myoepitelového tkaniva mliečnych alveol, čím sa dosiahne spustenie zadržaného mlieka po pôrode (Vodrážka et al., 1986). Stimulácia vaginálno- cervikálnej oblasti vyvoláva oveľa účinnejšie uvoľňovanie oxytocínu než stimulácia mliečnej žľazy počas laktácie. Tento spôsob uvoľňovania oxytocínu sa môže príležitostne využívať pri stimulovaní kráv s nedostatočným uvoľňovaním oxytocínu a ejakciou mlieka v reakcii na stimuláciu vemena. Počas situácie, kedy množstvo oxytocínu nie je dostatočné, spúšťanie mlieka je potláčané, čo vedie k strate (Tančin et al., 2001; Bruckmaier and Wellnitz, 2008).

Určitá skupina autorov považuje oxytocín za hormón, ktorý reguluje aj kontrakcie pohlavných orgánov samcov počas ejakulácie. Okrem toho je spájaný so zvýšeným počtom spermíí (Viero et al., 2010).

Oxytocín sa syntetizuje taktiež v ováriách (Shirasuna et al., 2007). Tančin et al. (2001) uvádza, oxytocín je vylučovaný predovšetkým zo žltého telieska corpus luteum. Kotwica et al. (2003) vo svojej práci predpokladajú, že nie je nevyhnutný pre luteolýzu, ale môže zosilňovať tento proces. Uvoľnený oxytocín v dôsledku zriedenia v periférnej krvi nezohráva významnejší vplyv pri indukovaní ejakcie mlieka.

Ukazuje sa, že uvoľňovanie oxytocínu môže výrazne ovplyvniť aj príjem potravy. Kŕmenie koncentrovanými krmivami pred vlastným dojením má pozitívny efekt na produkciu mlieka ako výsledok zvýšenej úžitkovosti a zníženého množstva reziduálneho mlieka (Tančin et al., 2001).

Podľa Misof et al. (2007), liečba oxytocínom môže ovplyvniť imunitný systém mliečnej žľazy. Vysoké dávky môžu umožniť migráciu imunitných buniek z krvi do mlieka, ktoré vedú k efektívnejšej imunitnej odpovedi na infekciu.

## **1.4. Ejekcia mlieka**

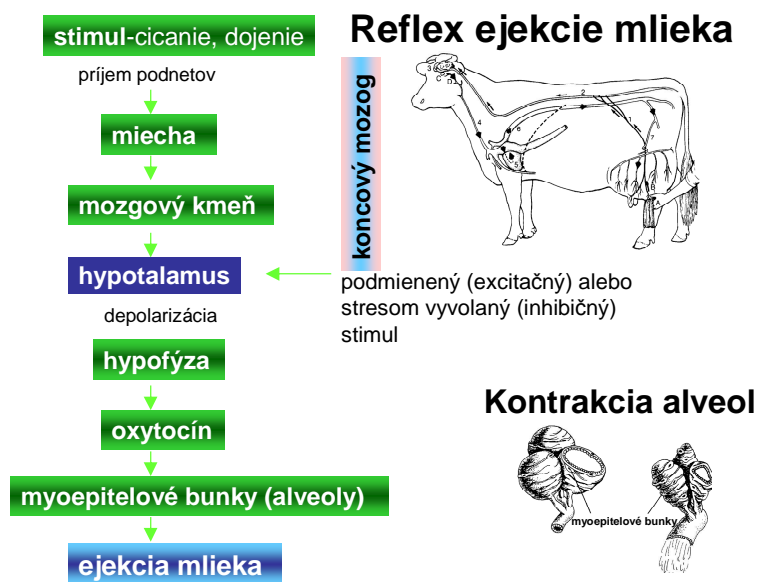
Spúšťanie mlieka je aktívny transport alveolárneho mlieka do cisternového priestoru. Skladá sa z kontrakcie myoepiteliálnych buniek, ktoré obklopujú žľaznaté alveoly ako kôš a prevodu mlieka systémom mliečného kanálika. Ejekcia mlieka je vrodený reflex a teda prebieha bez vedomého riadenia zvierateľom. K ejakcii dochádza v dôsledku reakcie organizmu na taktilnú stimuláciu mliečnej žľazy prostredníctvom tzv. **neuroendokrinného reflexného oblúka**, ktorého výsledkom je uvoľnenie hormónu oxytocínu z neurohypofýzy

do krvi a jeho fyziologický účinok na úrovni sekrečného epitelu mliečnej žľazy (Bruckmaier and Wellnitz, 2008).

Vytekание mlieka z ceckového kanálika dojnic je výsledkom relaxácie svalov kruhového zvierača a nie pôsobením oxytocínu. Určité podmienené reflexy môžu pozitívne ovplyvňovať rýchlosť toku mlieka počas dojenia, ako aj stupeň vydojenia (Tančin et al., 2001).

Neuroendokrinný reflexný oblúk ejakcie mlieka sa skladá z dvoch častí. Jedna je neurálna a druhá hormonálna (Lefcourt a Akers, 1984).

**Neurálna časť** sa začína mechanickými vzruchmi z mliečnej žľazy po stimulácii, ktoré sú vedené cez aferentné nervové dráhy po vrchnej strane neurónov do hypotalamu, presne do *nucleus supraopticus* a *paraventriculari*. Tieto magnocelulárne neuróny sú cez aferentné axóny spojené s neurohypofýzou, ktorá uložený oxytocín uvoľňuje exocytózou do krvného obehu. Uvoľnením oxytocínu z neurohypofýzy do krvi sa končia aferentné nervové dráhy. Normálne je oxytocín vylučovaný asynchrónne 1- 3 hroty/s, ale počas laktácie každých 5 min (Lincoln a Paisley, 1982; Ross and Young, 2009; Rossoni et al., 2008).



Obr. 2 Schéma reflexu ejakcie mlieka u kráv. (Tančin et al., 2001).

**Endokrinná cesta** predstavuje uvoľnenie oxytocínu z neurohypofýzy do krvného obehu a jeho transport do mliečnej žľazy. Tu dochádza k naviazaniu oxytocínu na špecifické receptory (Zavizion et al., 1992). Následkom tejto väzby dochádza k ich kontrakcii a tým vytlačeniu mlieka, čo sa prejavuje vzostupom vnútrovenného tlaku (Tančín et al., 2001).

Vyvolanie ejakcie mlieka je základnou podmienkou pre rýchle, úplné vydojenie a dosiahnutie maximálnej produkcie dojnice (Tančín et al., 2001). V čase pred dojením sa v cisterne vemena nachádza len malá časť mlieka z celkového množstva mlieka vo vemene (Davis et al., 1998; Belo and Bruckmaier, 2010). Po mechanickej stimulácii dochádza k vyvolaniu reflexu ejakcie mlieka, kedy sa až 50% všetkého mlieka vo vemene môže zhromaždiť v cisternách vemena a sprístupniť sa pre mechanické získavanie. Zostávajúce alveolárne mlieko v priebehu dojenia zostupuje z alveol do cisterny v dôsledku udržania ejakcie, t.j. neustálej kontrakcie myoepitelových buniek počas celého procesu získavania mlieka. Mlieko zostupuje do cisterny dovtedy, pokiaľ jeho tlak v cisterne, t.j. vnútrovenný tlak, nedosiahne svoje maximum. Neustála kontrakcia alveol a tým nepretržitý presun a tlak mlieka z vyšších častí vemena do cisterny je výsledkom zvýšenej hladiny oxytocínu (Bruckmaier a Blum, 1998). Ako náhle doznie účinok oxytocínu, nemožno už vydojiť alveolárne mlieko, ktoré ešte zostalo vo vemene (Bruckmaier et al., 1994; Bruckmaier and Wallnitz, 2008).

Ak sa posudzuje produkcia mlieka iba ako zdroj obživy mláďat, tak potom dojnice patria do skupiny zvierat, ktoré pre prirodzenú produkciu mlieka nepotrebujú reflex ejakcie mlieka (Lincoln a Paisley, 1982).

## **1.5. Tok mlieka**

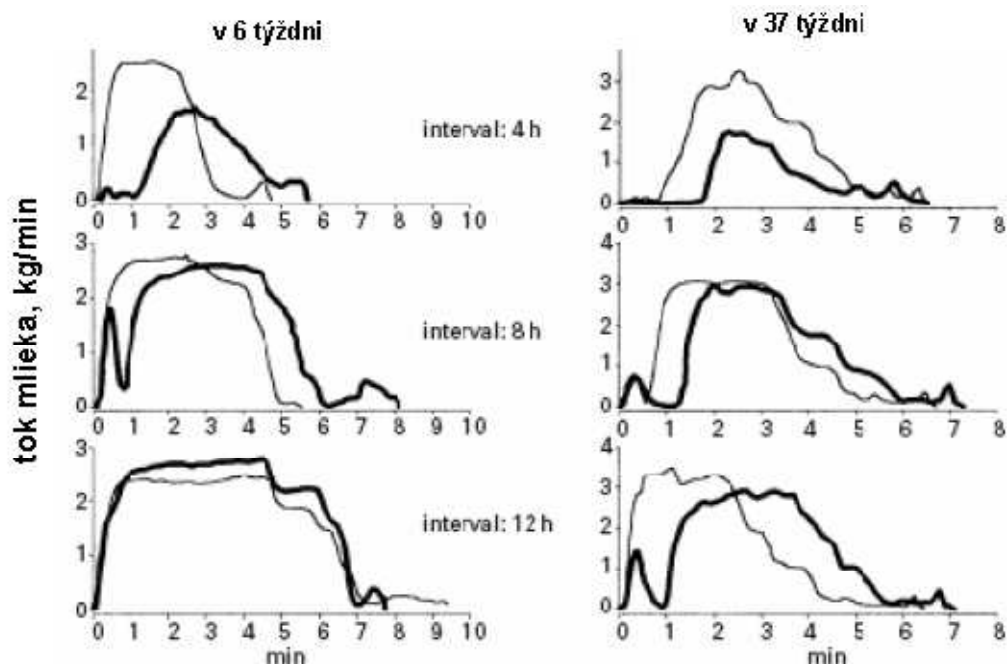
Pre rýchle a úplné vydojenie mlieka, ktoré je uložené vo vemene, je dôležitý už samotný začiatok dojenia. Ideálne je, aby už pred nasadením dojacej súpravy na cecky vemena došlo k ejakcii mlieka, ktorá je vyvolaná pôsobením oxytocínu uvoľneného na mechanické podnety prichádzajúce z vemena (Tančín et al., 2001; Sandrucci et al., 2007).

Dôkladná príprava vemena pred dojením sa predovšetkým odráža na rýchlosti a priebehu toku mlieka. Je potrebné si uvedomiť, že latentná doba od začiatku stimulácie po vyvolanie ejakcie mlieka zvyčajne trvá 1 až 2 minúty (Bruckmaier et al., 1994; Tančín et al., 1998; Bruckmaier and Wellnitz, 2008). Pri nasadení ceckových nástrčiek dojacieho

zariadenia na vemenó dojnice, u ktorej nebola vykonaná masáž, dochádza po vydojení mlieka z cisterien jednotlivých štvrtiek ku krátkemu prerušeniu toku mlieka (Tančin a Tančinová, 2008). Samotný ejekčný reflex sa vyvoláva až neskôr stimulačným pôsobením dojacieho zariadenia. V takomto prípade má tok mlieka tzv. dvojvrcholový charakter tzv. bimodalita toku (Rothenanger et al., 1996).

Prvý vrchol toku mlieka predstavuje mlieko z cisterny. K druhému vrcholu dochádza po uvoľnení mlieka z alveol následkom oneskorenej kontrakcie myoepitelových buniek mliečnych alveol vyvolaných účinkom oxytocínu. Bruckmaier and Blum (1996) pozorovali bimodalitu krivky toku mlieka aj u vysokoúžitových dojníc s nádojom väčším ako 60 kg mlieka, ak boli dojené bez akejkoľvek stimulácie. Autori uvádzajú, že pri znížení rýchlosti toku mlieka medzi dvomi vrcholmi sa vytvorí možnosť pre tzv. prechodné dojenie na prázdno (Sandrucci et al., 2007).

Dojenie bez predstimulácie predlžuje čas strojového dojenia a tým sa zvyšuje nebezpečenstvo poškodenia tkaniva a zvýšenia citlivosti k ochoreniu vemena- mastitíde (Bruckmaier and Blum, 1996; Sandrucci et al., 2007). Gorewit a Gassman (1985) zistili, že čas dojenia sa znižoval a rýchlosť toku mlieka sa zvyšovala s narastajúcou dobou stimulácie. Okrem času potrebného na stimuláciu mliečnej žľazy na vyvolanie reflexu ejekcie mlieka rozhoduje aj množstvo mlieka vo vemene (Bruckmaier and Wellnitz, 2008). Čím viac mlieka sa nachádza vo vemene tým sú nižšie časové požiadavky na stimuláciu vemena. To znamená, že dojnice dojené častejšie ako aj dojnice na konci laktácie potrebujú viac času na vyvolanie reflexu ejekcie mlieka. Na tieto závislosti poukazuje aj obr.



Obr. 3 Priebeh toku mlieka v 6. a 37. týždni v závislosti od stimulácie. Svetlá čiara s 1. min stimuláciou pred nasadením a hrubá čiara dojenie bez stimulácie (Tančín a Tančinová, 2008).

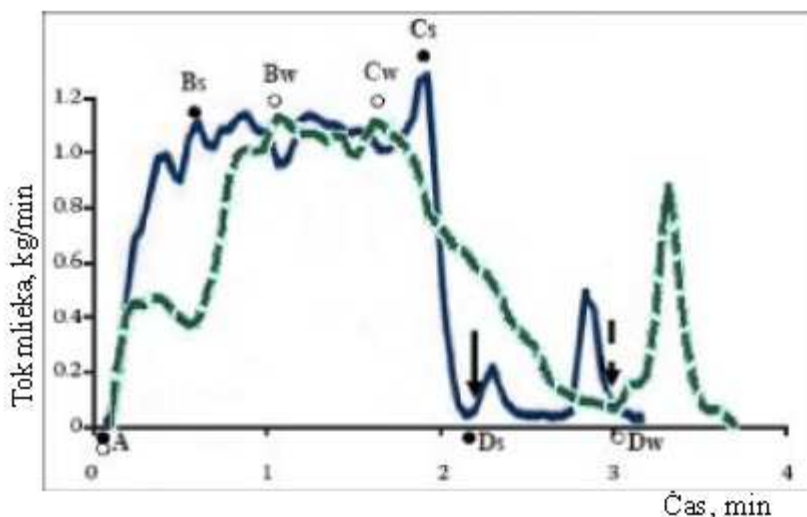
Ak je na začiatku dojenia veľmi vysoká rýchlosť toku mlieka, kapacitné možnosti naplňovania cisterny vemena mliekom z alveol zaostávajú za vydávaním. Potom je veľmi nízky prietok mlieka v ďalších fázach dojenia, čo sa odzrkadlí na nízkom priemernom toku mlieka za celé dojenie (Pfeilsticker et al., 1996).

Je potrebné zvýšenú pozornosť venovať vývoju dojacej techniky, ktorá na jednej strane bude minimalizovať potrebu času dojiča na prípravu dojnice a pritom zabezpečí optimálny tok mlieka, kde podiel kráv v stáde s bimodalitou krivky toku mlieka nepresiahne 5% (Schön et al., 1992).

Vo všeobecnosti sa ukazuje, že stimulácia či už manuálna alebo strojová pred dojením pozitívne ovplyvňuje charakteristiky dojenia, t.j. zlepšuje rýchlosť toku mlieka a skracuje čas dojenia, ale v podstate neovplyvňuje úžitkovosť. Predsa však pripravenosť dojnice na dojenie a zamedzenie výskytu bimodality toku mlieka počas dojenia môže byť jedným z faktorov znižovania rizík negatívneho pôsobenia dojacieho zariadenia na tkanivá ceckov a tým na zdravotný stav vemena (Tančín et al., 2001).

Kombinácia bežnej prípravy vemena na dojenie a strojovej stimulácie zhoršuje priebeh toku mlieka. Do pozornosti je potrebné dať priebeh toku mlieka pri ručnej masáži v kombinácii so strojovou stimuláciou a ručnou masážou bez strojovej stimulácie, kde strojová stimulácia oddialuje maximálny tok mlieka vyvolaný ručnou stimuláciou. Dojnice

s vysokým maximálnym tokom mlieka sú citlivejšie na prípravu vemena na dojenie. Na obr. 8 sú zdokumentované zmeny toku mlieka zo štvrtky pri dojení s a bez stimulácie (Tančín et. al., 2007). Z obrázku je zrejmé, že mení sa nielen fáza vzostupná, ale tok mlieka zo štvrtky odhaľuje aj zmeny toku mlieka vo fáze znižovania.



Obr. 4 Vplyv prípravy vemena s a bez stimulácie na priebeh toku mlieka zo štvrtky vemena (Tančín et al., 2007)

*Tok mlieka a začiatok dodávania s (s-plná) a bez (w-prerušovaná) stimulácie*

*Veľké písmena označujú trvanie fázy: AB zvyšovanie, BC plató, CD znižovanie*

Stimulácia pred dojením t.j. eliminácia bimodalít toku mlieka pozitívne vplýva aj na dynamiku toku mlieka pri ukončovaní dojenja (Tančín a Tančinová, 2008).

Bimodalita je v pozitívnej korelácii s dobou trvania fázy vzostupu a v negatívnej korelácii s množstvom mlieka získaným v priebehu prvej minúty dojenja. Doba trvania fázy stúpania ukázala pozitívnu koreláciu s bimodalitou v dôsledku dlhšej doby potrebnej na dosiahnutie plató fázy, kedy prechodne došlo k zníženému prietoku mlieka (Antalík a Strapák., 2010).

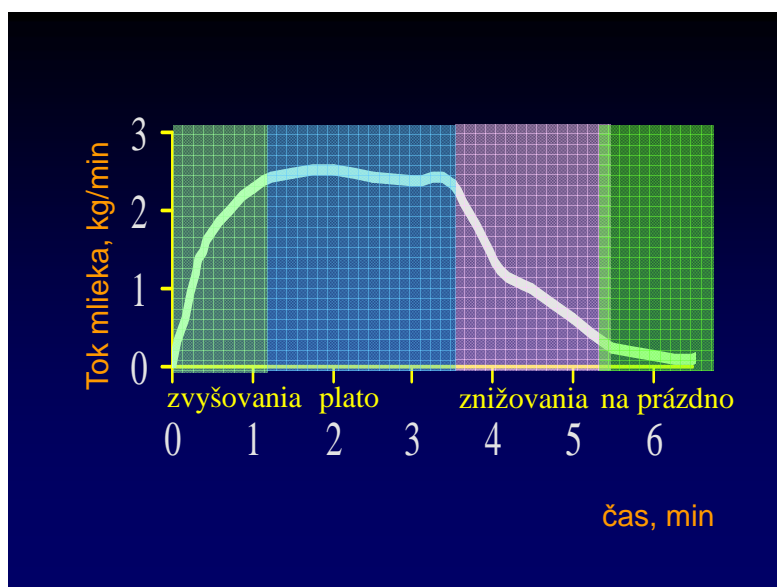
### 1.5.1. Charakteristika krivky toku mlieka

Priebeh toku mlieka na úrovni vemena a štvrtky je charakterizovaný tromi fázami (Hillerton, 1996):

1) Prvá fáza predstavuje začiatok toku mlieka a jeho postupný nárast až po dosiahnutie vyrovnaného toku. Nazývame ju **fázou zvyšovania**. Trvanie a charakteristika fázy vzostupu sú veľmi dôležitou informáciou o pripravenosti dojnice k dojeniu.

2) Počas druhej fázy je tok mlieka intenzívny a vyrovnaný- **fáza vyrovnaného toku mlieka (plato)**. Dĺžka trvania fázy vyrovnaného toku mlieka závisí hlavne od množstva mlieka v cisterne vemena, dojiteľnosti a od nastavených parametrov dojacieho zariadenia.

3) Tretia fáza je charakterizovaná postupným poklesom intenzity toku mlieka až jeho úplné zastavenie a nazýva sa **fázou znižovania**. Na úrovni toku mlieka z vemena poskytuje informácie o toku mlieka z jednotlivých štvrtiek a na úrovni štvrtky mlieka o vzájomnom vzťahu medzi naplnením cisterny mliekom z priestoru alveol a získaním mlieka dojacím zariadením. Uvedený popísaný typ toku mlieka označujeme ako **obdĺžnikový** typ toku mlieka.



Obr. 5 Charakteristika toku mlieka podľa jednotlivých fáz. (Tančin et al., 2005)

Ďalší tvar toku mlieka predstavuje rýchle dosiahnutie vrcholu toku mlieka a potom nepretržitý pokles až po ukončenie toku. Nazýva sa **trojuholníkový**. Dlhá fáza vzostupu je spôsobená vplyvom anatómie cecku, ale často krát aj dôsledkom predošlej infekcie alebo reakcie dojnice na zlú funkciu dojacieho zariadenia (Hillerton, 1996). Uvedený tok krivky pozorujeme pri dojniciach s vysokou dojiteľnosťou ku koncu laktácie (Tančin et al., 2002a).

Pri hodnotení resp. popise toku mlieka sa pozoruje aj priebeh, ktorý je nežiaduci. K hore uvedeným fázam sa môže zaradiť fáza štvrtá- dojenie **naprázdno**. Pri toku mlieka z vemena je možné túto fázou odstrániť pomocou zariadenia pre automatické ukončenie dojenia. Pri toku mlieka zo štvrtky sa toto dojenie nedá odstrániť. Tento ukazovateľ je podstatný pre zlepšovanie kvality mlieka a organizovanosti práce (Hamonn et al., 1994).

Pri vzostupnej fáze toku mlieka nie je výraznejší rozdiel pri interpretácii výsledkov medzi hodnotením z pohľadu vemena a štvrtky (Wellnitz et al., 1999; Mačuhová et al., 2003). Fáza vyrovnaného toku mlieka pri vemene predstavuje tok mlieka zo všetkých štvrtiek vemena. Pri toku mlieka zo štvrtky vyrovnaný tok poukazuje na intenzívnejšie zásobovanie cisterny mliečnej žľazy alveolárnym mliekom ako je jeho výtok do dojacej súpravy. Fáza poklesu toku mlieka pri vemene predstavuje predovšetkým postupné ukončovanie dojenia jednotlivých štvrtiek (Tančin et al., 2002a).

## **1.6. Zdravotný stav vemena**

### **1.6.1. Ochorenie mastitída**

Zápalové procesy postihujúce steny mliekovodu, žľaznaté alebo intersticiálne tkanivo vemena označujeme ako mastitídy (gr. *mastos*- prsia a *itis*- zápal). Tieto zápalové procesy môžu byť vyvolané neinfekčnými fyzikálnymi faktormi (poranenie), chemickotoxickými faktormi (dráždivé, leptavé a jedovaté látky), avšak najčastejšie mikrobiologickými faktormi (plesne, kvasinky, baktérie). Mnohý z týchto pôvodcov prenikajú do vemena ceckovým otvorom, lymfatickými cestami a poškodenou kožou alebo z vnútorného prostredia, kedy sa krvou prenášajú z infikovaných častí iných orgánov, poprípade sú prirodzenou súčasťou tráviaceho traktu (Přibil a kol., 1963; Vodrážka a kol., 1986). V praxi sa najviac vyskytujú infekčné mastitídy, na ktorého vzniku a šírení sa podieľajú hlavne makroorganizmus, infekčný činiteľ a vonkajšie prostredie (Martonková, 2010). Medzi patogénne mikroorganizmy spôsobujúce mastitídu patria: *Staphylococcus*



*aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* a *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* a *Klebsiella* (Zajác a kol., 2007; Hillerton and Berry, 2005).

Přibil a kol. (1963) uvádzejú, že náchylnosť k ochoreniu rastie so zvyšovaním produktivity. Mastitídami sú postihované najmä dojnice v dobe, keď ich úžitkovosť dosahuje vrchol. Výskyt ochorenia sa mení s vekom zvierat a fázou laktácie, približne 50% prípadov dochádza v prvých 60 dňoch alebo po otelení. Mnohí autori uvádzejú, že mliečna žľaza je vystavená širokému spektru baktérií práve počas laktácie. Tieto baktérie môžu produkovať látky, ktoré pôsobia na tkanivo mliečnej žľazy a môžu spôsobovať patogénne zmeny. Organizmus je však oslabovaný aj nepriaznivými podmienkami chovu a ochoreniami (Zajác a kol., 2007; Hillerton and Berry, 2005).

Zvyšovaním parity sa podľa Green et al. (2007) zvyšuje riziko chronickej mastitídy, dôvod však nie je úplne jasný. Je možné, že sa v priebehu času uskutočňujú anatomické zmeny struku, ktoré spôsobujú narušenie prirodzených obranných mechanizmov. Alebo to môže byť spôsobené systematickým znížením imunity spojenej so starnutím. Je tam tiež riziko, že infekcia prežíva prostredníctvom laktácie, obdobia státia nasucho.

Kravy s výrazným nedostatkom energie majú imunitu zníženú. Ketolátky tlmia bariéru, ktorá zabraňuje prenikaniu mikroorganizmov a usídlenie vo vemene, preto dochádza ku zvýšenej koncentrácii ketolátok v mlieku. Preto je potrebné vo všetkých fázach laktácie zabezpečiť vyvážený pomer medzi hladinou proteínu a energie (Strnisková, 2009).

Tiež acidostatické stavy vyvolané nedostatkom štruktúry, prípadne zvýšeným prísunom ľahko stráviteľných sacharidov môžu uľahčiť nástup zápalu vemena (Strnisková, 2009).

Mykotoxíny (metabolity mikroskopických húb) predovšetkým v silážach, ale tiež v jadrových krmivách, slame a sene predstavujú veľký potenciál ohrozenia zdravotného stavu vemena (Strnisková, 2009).

Nedostatok vápnika predstavuje veľké nebezpečenstvo pre zápal vemena. Pri nedostatku tohto prvku nepracuje optimálne svalstvo utvárajúce jednotlivé cecky, takže choroboplodné zárodky majú zvýšenú šancu preniknúť do mliečnej žľazy. Preto je dôležitá prevencia z hľadiska udržania dobrého zdravotného stavu vemena (Strnisková, 2009).

Zápal postihuje častejšie zadné štvrtky vemena než predné štvrtky. Sú svojou polohou, ako aj spôsobom ustajnenia viac vystavené mechanickým vplyvom i chemickému dráždeniu nečistotami (Přibil a kol., 1963).

Mastitídy je možné rozdeliť podľa mikrobiálneho pôvodcu:

- a) infekčné (prenos z dojnice na dojnica)
- b) environmentálne (mikroorganizmy prostredia) (Tančin a Tančinová, 2008).

### 1.6.2. Klasifikácia mastitíd

1) **Klinické mastitídy**: Je možné pozorovať opuch infikovanej štvrtky, v mlieku vločky a zmeny farby mlieka až krv (Tančin a Tančinová, 2008). Z mlieka sa izolujú patogénne mikroorganizmy a pri cytologickom vyšetrení sa zisťuje zvýšený počet buniek.

- a) **Akútna mastitída**- Na mliečnej žľaze sú výrazné a typické príznaky (teplo, bolestivosť, opuch), zvieratá majú zhoršený celkový zdravotný stav a mlieko je už pri makroskopickom posúdení zmenené. Mnohí vedci potvrdili, že niekoľko cytokínov, vrátane IL-6, vyvoláva reakciu akútnej fázy a umožňujú hromadenie leukocytov pri klinickej mastitíde hovädzieho dobytku (Sakemi et al., 2011).
- b) **Subakútna mastitída**- Na mliečnej žľaze sa nepozorujú príznaky zápalu, ale v prvých strekoch mlieka perzistujú vločky.
- c) **Chronická mastitída**- Zápal, ktorý bol niekoľkokrát po sebe počas dlhšieho časového obdobia neúspešne liečený, postihnutá štvrtka často atrofuje, čo môže viesť k skorej smrti zvieratá (Vodrážka a kol., 1986; Coban et al., 2009)

2) **Subklinické mastitídy**: Je veľmi ťažko zistiť, pretože dojnica vyzerá zdravá, vemenó nemá viditeľné príznaky zápalu a mlieko tiež vyzerá v poriadku. Laboratórne vyšetrenie odhalia prítomnosť patogénov, zvýšený resp. aj vysoký počet somatických buniek, ako aj zmeny chemických vlastností mlieka. Subklinická mastitída bola spojená s mnohými charakteristikami kráv, ale silný vzťah bol pozorovaný u kravy vo veku nad 10 rokov, zlej kondícii, s malou veľkosťou mliečne žily a fľaškovitým tvarom cecku. Počas zápalu mliečnej žľazy, zvýšením PSB sa produkuje veľa chemotaktických faktorov, ako sú cytokíny (Tančin a Tančinová, 2008; Vodrážka a kol., 1986; Uddin et al., 2009; Sakemi et al., 2011).

3) **„Abakteriálna“ mastitída**: Na mliečnej žľaze pozorujeme príznaky subklinickej resp. klinickej mastitídy, ale z mlieka neboli izolované patogénne mikroorganizmy, Môže to byť aj stav, keď zvýšený počet bielych krviniek v mlieku zlikvidoval baktérie a mlieko je sterilné. Mohlo dôjsť aj k zapuzdrovaniu infikovaného miesta, čím sa mlieko už

nekontaminovalo alebo baktérie boli pohltené bielymi krvinkami ale neboli zlikvidované (Tančin a Tančinová, 2008).

4) **Latentná mastitída**: Počet somatických buniek v mlieku je normálny, ale dokázala sa prítomnosť patogénnych mikroorganizmov (Vodrážka a kol., 1986).

Rozdelenie mastitíd podľa lokalizácie:

1) ***Mastitis catarrhalis***- Je spôsobená zápalom sliznice žľazovej a ceckovej cisterny a sliznice vývodných kanálikov mliečnej žľazy. Pôsobením baktérií dochádza k degenerácii epitelu mliečnych kanálikov a k emigrácii leukocytov, čím sa mení vzhľad sekrétu. Najľahšou formou je tzv. galaktoforitída, pri ktorej prvé streky vydojeného sekrétu sú zmenené vločkami kazeínu a hnisu, kým ďalšie, ktoré pochádzajú z vyšších a zdravých mliečnych kanálikov, majú vzhľad normálneho mlieka.

a) **Akútna katarálna mastitída**- Prejavuje sa len zmenami na mliečnej žľaze, pričom celkový zdravotný stav zvierat sa nemení. Podľa intenzity zápalu je pre štvrtku charakteristický opuch, sčervenanie, teplota, stvrdnutie. Mlieko má slaná chuť a zráža sa pri varení. Zrážaním kazeínu sa môže upchať mliekovod, čím sa môžu vytvoriť zdureniny, tzv. retenčné cysty.

b) **Chronická katarálna mastitída**- Klinické príznaky sú veľmi slabé ale bo vôbec nie sú zrejmé. Táto forma je charakterizovaná proliferatívnymi zápalmi cisterny alebo mliekovodu, čo má za následok zúženie kanálikov a atrofiu mliečnej žľazy. Klesá množstvo mlieka. (Přibíl a kol., 1963)

2) ***Mastitis parenchymatosa***- Je prejavom zápalu alveolárneho tkaniva, mliekovodu a interstícia vemena. Alveoly a vývodné kanáliky sa upchávajú.

a) **Mastitis parenchymatosa acuta simplex**- Je najľahšia forma a tvorí prechod medzi katarálnou a parenchymatóznou mastitídou.

b) **Mastitis parenchymatosa phlegmonosa accuta**- (akútna mastitída)- Veľmi rýchli rozvoj zápalového procesu s ťažkými celkovými i lokálnymi zmenami. Ochorenie sa prejaví náhlou zimnicou, horúčkou, zrýchleným pulzom, malátnosťou. Zvieratá majú potácavú chôdzu. Postihnutá štvrtka býva zväčšená edémom.

c) **Mastitis parenchymatosa chronica**- (mastitis indurativa)- Vyvíja sa prevažne z akútneho zápalu vemena.

- d) Mastitis suppurativa-apostematosa- (pyogénna mastitída)- Je hnisavý zápal mliečnej žľazy vyvolaný pyogénnymi mikroorganizmami. Sekrét je na začiatku rozvoja zápalu podobný mlieku, rýchlo hustne pridávaním hnisavých elementov.
  - e) Mastitis necrotica- Je charakteristická zápalom žľaznatého tkaniva. Postihuje nie len epitel, ale aj väzivový podklad alveol a cievy, ktoré trombotizujú, sú nepriechodné a praskajú.
  - f) Mastitis gangraenosa- (vlhká nekróza)- Hnilobný zápal je sprevádzaný ťažkými lokálnymi príznakmi. (Přibil a kol., 1963)
- 3) ***Mastitis interstitialis***- Obvykle je začiatočným štádiom parenchymatóznej mastitídy. Koža vemena je napätá, lesklá, červená, bolestivá, nepohyblivá, vemeno je zatvrdnuté a zväčšené. Mlieko nie je zmenené. (Přibil a kol., 1963)

### 1.6.3. Vznik a priebeh ochorenia

Najvýznamnejšou príčinou intramamárnych infekcií je vstup mikroorganizmov cez ceckový kanálik do ceckovej cisterny (Coban et al., 2009). Tieto baktérie sa množia a produkujú toxíny, ktoré spôsobujú poškodenie tkaniva vylučujúceho mlieko a kanálov v celej mliečnej žľazy (Jones and Bailey, 2009). Ceckový kanálik sa preto považuje za prvý obranný systém proti prenikajúcim mikroorganizmom do vemena. Medzi dvomi dojeniami je ceckový kanálik pevne uzavretý hladkým svalovým zvieračom. Jeho funkcia je držať kanálik uzavretý, zabrániť úniku mlieka zo struku a vstupu baktérií do struku. (Lefcourt et al., 1984; Jones and Bailey, 2009). Avšak táto ochrana nie je úplná. Zlyháva hlavne pri ochabnutí a zranení zvierača, ak sa vytvorí vo vývode krusty, jazvy, ale tiež pri státi mlieka vo vemene (Přibil a kol., 1963). Ceckový kanálik sa otvára počas dojenia a vytvára priestor pre prienik mikroorganizmov do vemena. Po skončení dojenia je ceckový kanálik otvorený (po dobu jednej až dvoch hodín). Toto veľmi napomáha prieniku mikroorganizmov z prostredia (Tančin a Tančinová, 2008).

Súčasťou ceckového kanáliku je keratín, ktorého hrúbka a zloženie ovplyvňuje prienik baktérií. Produkujú ho bunky sliznice kanáliku v struku. Keratín plní funkciu chemickej obrany a má aj antibakteriálny účinok. Obsahuje proteíny, ktoré inhibujú rast patogénov. Kanálik predstavuje aj priestor pre lokálnu imunologickú reakciu, kde tzv.

Furstenbergova roseta uvoľňuje biele krvinky. Krvinky pohlcujú v ceckovom kanáliku prenikajúce baktérie (Tančin a Tančinová, 2008; Jones and Bailey, 2009).

Po preniknutí baktérií do vemena časť z nich začína napádať a osídľovať nové tkanivá. Ďalšia časť baktérií v dôsledku pohybu dojnice postupuje do vyšších častí vemena cez novovytvorené mlieko. Najprv dochádza k poškodeniu tkaniva vývodných ciest. V mlieku sa nachádzajú leukocyty v nízkej koncentrácii ako prirodzená ochrana a s nimi prichádzajú do kontaktu- druhý obranný systém (Tančin a Tančinová, 2008).

Ak druhý obranný systém nie je schopný likvidácie prítomných baktérií v mlieku, tie pokračujú v raste a množení a začínajú osídľovať a poškodzovať aj vnútroalveolové vývody a samotné alveoly. Toxíny, ktoré produkujú baktérie, poškodzujú v alveolách bunky tvoriace mlieko, čo vedie k nárastu permeability krvných ciest. Vyvoláva to ďalší prísun leukocytov do infikovaných oblastí. Zároveň prenikajú aj minerálne látky a faktory stimulujúce zrážanie. Vyzrážané mlieko (vločky) môže uzatvárať vývodné cesty a tým izolovať celú infikovanú oblasť (Tančin a Tančinová, 2008; Jones and Bailey, 2009).

Baktérie majú širokú škálu obranných mechanizmov v snahe, aby sa zabránilo ich ničeniu. Stafylokoky napríklad produkujú toxín, ktoré môžu brániť migrácii polymorfonukleárných leukocytov (PMN) voči chemoatraktantom. Tiež ak infekcia pretrváva a mliečne kanáliky zostávajú upchaté, sekrečné bunky sa vrátia k non-produkčnému štádiu a alveoly sa začnú zmenšovať. Zoskupenia infekcie sú chránené a stávajú sa ťažko dosiahnuteľné antibiotikami (Jones and Bailey, 2009).

Ak infekcia pretrváva a vývodné cesty ostávajú zavreté, zadržané mlieko potláča ďalšiu tvorbu mlieka. Dochádza k útlmu aktivity sekrečných buniek a alveoly sa zmenšujú. Látky uvoľňované leukocytmi vyvolávajú úplnú deštrukciu alveolárnych štruktúr. Poškodenie epiteliálnych buniek a upchatie malých kanálov môže viesť v niektorých prípadoch k tvorbe jaziev s trvalou stratou funkcie tej časti žľazy. V iných prípadoch môže zápal ustupovať, tkanivo sa môže obnoviť a funkcie sa môžu vrátiť. Deštrukcia sekrečného tkaniva predstavuje tretí obranný systém, ktorý dostáva infekciu pod kontrolu. Je zrejmé, že s postupom infekcie dochádza k nárastu somatických buniek a poklesu produkcie mlieka (Tančin a Tančinová, 2008; Jones and Bailey, 2009).

Epitelové bunky mliečnej žľazy tvoria aj iné látky, ktoré sa podieľajú na obrannom mechanizme mliečnej žľazy. Patria sem laktoperoxidáza, lyzozým, cytokíny a laktoferín (Tančin a Tančinová, 2008).

## 1.6.2. Mastitída a tok mlieka

Zistilo sa, že dojnice s vyššou intenzitou toku mlieka sú náchylnejšie na infekcie mliečnej žľazy t.j. k mastitídám (Grindal and Hillerton, 1991). Okrem toho, pri hodnotení citlivosti a zvýšenej rizikovosti na vznik nových mastitíd je vyššia intenzita toku mlieka hodnotená prostredníctvom maximálneho a priemerného toku mlieka súčasťou komplexnejšieho hodnotenia. Napr. pri predlžovaní fázy poklesu toku mlieka z celého vemena alebo pri predlžovaní fázy dojenia naprázdno sa pozoruje nárast počtu somatických buniek v mlieku. Najväčší počet somatických buniek bol u kráv, ktoré mali vysoký maximálny tok mlieka a krátke trvanie dojenia (Mijić et al., 2004).

Podľa výsledkov Tamburini et al. (2010) je zdravotný stav spájaný s trvaním fázy plató, čas toku mlieka, bimodality a trvanie fázy naprázdno. S krátkou dobou plató fázy krátkou dobou toku mlieka (<5 min), prítomnosť bimodality a dlhá fáza naprázdno (> 0,8 min) je zvýšené riziko zhoršenia zdravotného stavu vemena. Tieto vlastnosti toku mlieka môžu byť prediktívne ukazovatele stavu zdravotný stav vemena.

Najdlhšie trvanie fázy poklesu toku mlieka zo štvrtiek sa zistilo na začiatku a na konci laktácie, ďalej pri vysokej dojiteľnosti a v zadných štvrtkách. Všetky tieto uvedené faktory sa najviac spájajú so zvýšeným rizikom vzniku nových infekcií mliečnej žľazy. Najčastejšie k vzniku infekcie vemena dochádza ku koncu dojenia, kedy sa cecková guma posúva hore ceckom, čo má za následok prienik kontaminovaných kvapiek mlieka cez ceckový kanálik do vnútra vemena ako aj to, že ku koncu dojenia dochádza k zníženiu toku mlieka, čím sa znižuje možnosť odplavovania kontaminovaného mlieka spod hrotu cecku (Tančin a Tančinová, 2008; Sandrucci et al., 2007).

Hoci sú predné štvrtky dojené na prázdno oveľa dlhší čas ako zadné, najčastejšie sa subklinická či klinická mastitída prejavuje v zadných štvrtkách. V tejto súvislosti výsledky rovnako poukazujú na to, že štvrtky s vysokou dojiteľnosťou majú oveľa kratšie trvanie fázy dojenia na prázdno než ostatné skupiny. Osteras and Lund (1988) vo svojej práci zistili, že prakticky dojenie naprázdno po dobu dlhšiu ako 1 minútu zvyšuje predispozície dojníc na vznik subklinických mastitíd. V každom prípade aj keď názor na dojenie na prázdno vo vzťahu k predispozíciám na ochorenie vemena nie je celkom jednoznačný je potrebné brať aj naďalej možné negatívne vplyvy na zdravie vemena a stav hrotov ceckov.

Analýza parametrov štvrtkového toku mlieka odhalila veľmi zaujímavé vzťahy medzi dĺžkou trvania fázy poklesu toku mlieka a PSB (Tančin et al., 2003). Trvanie fázy poklesu toku mlieka zo štvrtky je v pozitívnom vzťahu k počtu somatických buniek.

U kráv s veľmi dlhou dobou trvania fázy poklesu toku mlieka bol zistený vyšší počet somatických buniek (PSB) v mlieku (Neumann et al., 1998). Pri porovnaní dvoch skupín dojníc s nízkym a vysokým PSB sa zistilo, že dojnice v druhej skupine mali preukazne vyšší maximálny tok mlieka (Tančin et al., 2001).

Analýza toku mlieka zo štvrtky vo vzťahu k PSB ukázala, že citlivosť štvrtiek s vysokým maximálnym tokom mlieka k mastitídám môže mať aj ďalšie vysvetlenia, ktoré sa z celkového toku odhaliť nedajú. Je otázne, či štvrtky s vyšším maximálnym tokom mlieka sú náchylnejšie na mastitídu, pretože majú dlhšie trvanie fázy poklesu toku, alebo preto že majú dlhšie dojenie na prázdno (Novotný, 2007).

V literatúre bolo uvedených mnoho dôkazov o tom, že oxytocín je nevyhnutný pre vyvolanie ejakcie mlieka a tým pre rýchle a úplné vydojenie kráv. Uvoľňovanie oxytocínu do krvi v odpovedi na stimuláciu vemena môže byť ovplyvnené niektorými stresovými faktormi. Napr. klinické koliformné mastitídy je možné považovať za formu stresu. Zistilo sa, že experimentálne vyvolaná klinická forma koliformnej mastitídy v priebehu 4 hodín výrazne stimuluje uvoľňovanie kortizolu do krvi (Schuster a Harmon, 1992). Po 11 hodinách došlo k zníženiu hladiny na úroveň ako u neinfikovaných zvierat kontrolnej skupiny. I keď exogénny kortizol nemá priamy vplyv na ejakciu mlieka a tým sekréciu oxytocínu, predsa však vyvolanie stresovej reakcie môže mať určité súvislosti s ejakciou mlieka. Ukázalo sa, že počas dojenia v prvých hodinách po vzniku klinickej koliformnej mastitídy sekrécia oxytocínu bola výrazne potlačená, pričom nasledujúci deň sekrécia oxytocínu už nebola ovplyvnená vyvolanou mastitídou aj napriek výraznejšiemu potlačeniu produkcie mlieka v porovnaní s prvým dojením (Tančin et al., 2001). Experimentálne vyvolaná mastitída neovplyvnila sekréciu oxytocínu, ba dokonca došlo k nárastu oproti kontrolným zvieratám. Poruchy úžitkovosti pri mastitíde pravdepodobne nie sú ovplyvnené úrovňou oxytocínu v krvi.

## 1.7. Počet somatických buniek

Pri mastitíde je rozhodujúce zisťovanie počtu somatických buniek. PSB v mlieku sa mení v dôsledku mnohých vonkajších faktorov, ako sú mastitídy, štádia laktácie, obdobie, dojivosť a počet laktácií (Albenzio et al., 2004). Ak došlo k poraneniu alebo infekcii tkaniva mliečnej žľazy nevyhnutne vzniká zápalový proces rôznej intenzity. Počas zápalu mliečnej žľazy dochádza k preukaznému zvýšeniu prechodu bielych krviniek z krvi do mlieka. Počet somatických buniek sa zvyšuje v počiatočných fázach zápalu a znižuje sa postupným liečením. Predovšetkým neutrofilné leukocyty majú dôležitú obrannú úlohu. Znížená životaschopnosť polymorfonukleárných neutrofilných leukocytov blízko pôrodu môže vysvetľovať vysoký výskyt infekčných chorôb a vysoká prevalencia intramamárnych infekcií (Piepers et al., 2009). Biele krvinky sa pokúšajú pohlcovať a likvidovať mikroorganizmy, ktoré vyvolali infekciu, zatiaľ čo mikroorganizmy sa snažia množiť a uniknúť účinku bielych krviniek (Zajác, 2006; Tančín a Tančinová, 2008). Keď imunitný systém nie je schopný odstrániť baktérie, má to za následok spúšťanie chronickej infekcie do mliečnej žľazy a počty somatických buniek sú vysoké dlhodobo. Zvyčajne je pozorované kolísanie krvného obrazu (Schukken et al., 2003).

Schukken et al. (2003) uvádza, keď ochorie krava, obývajúce somatické bunky signalizujú neprítomnosť a neaktivitu bielych krviniek v krvnom riečisku, ale masívny prílev predovšetkým polymorfonukleárných buniek do materského mlieka. Tieto bunky ničia baktérie, a keď je infekcia vylúčená, potom obvykle počas niekoľkých týždňov sa bunky mlieka vrátia do normálu.

Výskumom bolo dokázané, že ak sú dojnice vystavené veľkému stresu, aktivita bielych krviniek vo vemene je menej účinná pri likvidácii mikroorganizmov vyvolávajúcich mastitídu (Tančín a Tančinová, 2008). U dojníc so zvýšenou produkciou mlieka sa mliečna žľaza stáva veľmi reaktívnym orgánom a u týchto kráv bol zistený vyšší podiel mastitíd. Ku zvýšenému počtu somatických buniek nedochádza však z dôvodu infekcie, ale ako dôsledok stresových faktorov. Vysoko produkčne dojnice sú citlivejšie na zhoršenú produkčnú pohodu a na daná stresor reagujú spustením somatických buniek do mlieka (Martonková, 2010).

PSB je ovplyvnená aj laktačnou fázou. Hneď po pôrode je počet somatických buniek vysoký, ale v priebehu 4-5 dní po otelení klesá na normálnu hodnotu. Ku koncu laktačnej periódy rastie pomaly (Pindeš, 2009).



Coban et al. (2009) uvádza vo svojej štúdií, že na počet somatických buniek má vplyv tvar koncov strukov. Aby toto kritérium bolo použité v chove zvierat, je potrebné vypočítať dedičnosť pre tvar koncov strukov.

Pojmom somatické bunky sa označujú viaceré typy buniek zahrňujúce polymorfonukleárne leukocyty, makrofágy, lymfocyty a epitelové bunky (Zajác, 2006).

Somatické bunky môžeme rozdeliť:

- 1. Bunky pochádzajúce z krvi:** Parenchým mliečnej žľazy čiastočne prepúšťa bunky krvi a táto priepustnosť sa zvyšuje za nenormálnych podmienok sekrécie mlieka (Zajác, 2006).
- 2. Bunky bieleho krvného obrazu:** U leukocytov možno podľa veľkosti a tvaru jadra rozlíšiť monocyt (makrofágy), lymfocyty (lymfocyty T, lymfocyty B, nešpecializované lymfocyty) a granulocyty (eozinofily, neutrofil, bazofily) (Zajác, 2006).
- 3. Bunky červeného krvného obrazu:** Zastúpené sú erytrocytmi. Zisťujeme ich pri ťažkých formách zápalu mliečnej žľazy, pri poranení mliečnej žľazy (Zajác, 2006).
- 4. Bunky pochádzajúce z mliečnej žľazy:** Na povrchu vemena, struku a strukových vývodov sa nachádza dlaždicový vrstevnatý epitel. Bunky majú tvar oválnych alebo polygonálnych zvrásnených útvarov a môžu sa vyskytovať fragmenty jadier. Dvojvrstvový cylindrický epitel pochádza z mliečnej cisterny a mliekovodu. Bunky sú oválne až obdĺžnikovité s excentricky uloženým jadrom. Epitelové bunky sa nachádzajú na drobných mliekovodoch a sekrečných alveolách. Majú guľovitý až oválny tvar a excentricky uložené jadro (Zajác, 2006).

Pomer bielych krviniek k epitelovým bunkám je ovplyvnený typom infekcie, ale pravidlom je, že biele krvinky tvoria pri infekcii až 98- 99 percentný podiel. U zdravej dojnice 50 % PSB tvoria biele krvinky. Počet epiteliálnych buniek a leukocytov sa normálne vyskytuje v mlieku a zvyšuje sa práve v období infekcie mastitídy. Zvýšený počet bielych krviniek v mlieku je reakciou organizmu na poranenie a infekciu štvrtky, zatiaľ čo zvýšený počet epitelových buniek je výsledkom poranenia (Tančin a Tančinová, 2008; Pindeš, 2009; Coban et al., 2009).

Monocyty majú obličkovité alebo laločnaté excentricky uložené jadro, lymfocyty majú veľké, guľaté, modro zafarbené jadro, ktoré vyplňa takmer celú krvinku. Granulocyty majú v mladom štádiu tyčinkové jadro, neskôr so zlúčeninami a starnutím sa rozpadá na segmenty. Najčastejšie sa v mlieku vyskytujú neutrofilné leukocyty. Sú segmentované na 2 až 3 diely. Majú vyvinutú fagocytárnu schopnosť (Zajác, 2006; Sarikaya et al., 2006).

Somatické bunky sú väčšinou bunky imunitného systému (80 % u neinfikovaných štvrtiek, 99 % u štvrtiek s mastitídou). Počet somatických buniek alebo parameter odvodený z tohto počtu, je často používaný na rozlišovanie medzi nakazenými a neinfikovanými štvrtkami. Je všeobecná zhoda medzi zdravotným stavom a zápalovou reakciou na infekciu k nameranému zvýšeniu PSB. Výskumy zo Severnej Ameriky a Európy ukázali, že neinfikované štvrtky majú približne 70 000 buniek. Preto, aby sme mohli rozlišovať medzi nakazenými a neinfikovanými štvrtkami, je potrebné určiť hraničnú hodnotu PSB. Hranica 200 000 nie je považovaná za fyziologickú koncentráciu buniek v mlieku na rozlišovanie "zdravých" od nezdravých alebo štvrtiek vemená, ale je to prahová hodnota v poľných podmienkach (minimalizácia chýb v diagnostike) (Schukken et al., 2003; Sarikaya and Bruckmaier, 2006).

Legislatíva Európskej únie upravuje počet somatických buniek v surovom kravskom mlieku prostredníctvom Nariadenia č. 1662/2006, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie 853/2004 Európskeho parlamentu a Rady z 29. Apríla 2004. Kritérium pre počet somatických buniek v surovom kravskom mlieku v bazénovej vzorke je maximálne 400 000 .ml<sup>-1</sup>.

## 2. Cieľ práce

Dynamika toku mlieka poskytuje dôležité informácie o podmienkach dojenia, reakcie dojníc a v poslednom období aj možný vzťah k PSB (počet somatických buniek), t.j. zdravotnému stavu mliečnej žľazy. Na PSB vplýva množstvo vonkajších a vnútorných faktorov. Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv poradia laktácie, štádia laktácie, maximálneho toku mlieka, PSB a bimodality na parametre dojiteľnosti na úrovni jednotlivých štvrtiek a celého vemena.

Ďalším cieľom práce bolo zhodnotiť trvanie fázy znižovania a dojenia na prázdno na parametre dojiteľnosti a PSB na úrovni štvrtky a celého vemena.

### 3. Metodika práce a metódy štúdia

#### Zvieratá a produkcia mlieka

Experimentálne merania boli realizované na experimentálnej farme "De Vijf Roeden" v Holandsku v rámci spolupráce CVŽV Nitra a Univerzity vo Wageningene. Tridsaťosem Holsteinských kráv (prvá až šiesta laktácia) bolo sledovaných počas 10 mesiacov laktácie. Kravy boli bez klinických príznakov mastitídy. Kravám bola poskytnutá zmiešaná kŕmna dávka pozostávajúca zo 70% trávnej siláže a 30% kukuričnej siláže. Časť jadrového krmiva bola dojniciam poskytnutá priamo v kŕmnej dávke tak aby bol zabezpečený príjem živín pre produkciu 26- 27 kg/d na jednu kravu. Ďalšiu časť jadrového krmiva dojnice dostávali v dojárni a to minimálne 1 kg/d a viac v závislosti na výške dennej dojivosti nad 27 kg.

Kravy boli dojené dvakrát denne o 5:30 a 15:30 h v autotandemovej dojárni 2x3. Príprava vemena pred dojením trvala 8-10 s a pozostávala z oddojenia prvých strekov mlieka, čistenia a sušenia suchým papierovým obrúskom. Dojacia súprava bola nasadená ihneď po príprave. Dojenie sa uskutočnilo pri nasledovných parametroch: podtlak 43 kPa, pulzačný pomer 65:35, počet pulzov 60 cyklov/min. Mlieko zo štyroch štvrtiek pritekalo do štyroch zberných nádob, ktoré boli umiestnené v suteréne pod dojárňou. Výškový rozdiel medzi dojacou súpravou na vemene a spodnou časťou nádoby v bol asi 180 cm. Dojacia súprava bola automaticky stiahnutá z vemena 4 s po tom, kedy prietok mlieka z celého vemena klesol pod 0,3 kg/min po dobu 6 s. Prírastok hmotnosti mlieka bol prepočítaný na profil toku mlieka pre každú jednotlivú štvrtku, ako je popísané v práci (Tančin et al., 2006).

V mesačných intervaloch boli odoberané pomerné vzorky mlieka z každej zbernej nádoby. Tok mlieka zo štvrtky aj vemena bol zaznamenaný denne. Pre hodnotenie vzťahu toku mlieka v súvislosti s PSB boli vybrané merania po dobu 5 po sebe idúcich ranných dojení v období odoberania vzoriek mlieka. Odber vzoriek mlieka pre stanovenie PSB bol realizovaný v mesačných intervaloch. Celkovo bolo analyzovaných 661 vzoriek mlieka. Krava bola zaradená do štatistického hodnotenia, ak sa zistil u jednej zo štvrtiek vemena  $PSB > 200 \cdot 10^3$  buniek / ml. Takto bolo analyzovaných 3 262 kriviek toku mlieka zo štvrtiek a 804 kriviek toku mlieka z vemena od 22 kráv (6 prvôstok, 16 starších kráv).

## Štatistické metódy

Dojivosť a parametre toku mlieka na úrovni štvrčky a vemena boli analyzované Mixed Model programu SAS (verzia 8.2, SAS Institute, 2001). Výsledky PSB boli transformované logaritmicke. V štatistickom modeli pre dáta vemena (model 1, dole) boli testované vplyvy poradia laktácie, štádia laktácie, maximálneho toku, PSB a bimodality. V modeli pre štvrčkové ukazovatele (model 2, dole) bol pridaný ďalší faktor - poloha jednotlivých štvrtiek.

Typy toku mlieka boli zoradené do dvoch skupín: tok mlieka s alebo bez bimodality. Štádium laktácie bolo rozdelené do troch období: menej než 100 DIM, medzi 100 a 200 DIM, viac než 200 DIM. Kravy boli rozdelené podľa poradia laktácie do dvoch skupín: prvôstky (n= 6) a staršie kravy ( $\geq 2$  laktácie, n = 16). Maximálny tok reprezentovali tri skupiny kráv s rôznym maximálnym tokom mlieka (MTM) počas celej laktácie: nízky (<3,2 kg / min, n = 4 kravy), stredný (medzi 3,2 a 4,2 kg / min, n = 13 kráv) a vysoký (> 4.2 kg / min, n = 5 kráv). Na základe PSB boli vytvorené tri skupiny štvrtiek: nízka (<200.10<sup>3</sup> buniek / ml, n = 2.669 štvrtiek), stredná (medzi 200. 10<sup>3</sup> a 500. 10<sup>3</sup> buniek / ml, n = 291 štvrtiek) a vysoká (> 500.10<sup>3</sup>buniek / ml, n = 291 štvrtiek). Celé vemeno na základe PSB bolo rozdelené do troch skupín na rovnakom princípe, ako bolo popísané vyššie: nízka (n = 353 vemena), stredná (n = 210 vemena) a vysoká (n = 241 vemena). Štvrčky s rôznou dobou trvania fázy naprázdno boli rozdelené do troch skupín: <15 s, medzi 16 a 99 s, a  $\geq 100$  s. Štvrčky s rôznou dĺžkou trvania fázy znižovania boli rozdelené do troch skupín: < 27 s, medzi 28 a 79 s, a  $\geq 80$  s. Faktor štvrtiek predstavoval polohu jednotlivých štvrtiek (ľavá predná, pravá predná, ľavá zadná a pravá zadná). Štatistický model bol nasledovný:

### Údaje vemena

$$y_{ijklp} = \mu + PAR_i + STAGE_j + PEAK_k + SCCI [1] \\ + BIMO_z + u_p + e_{ijklzp}$$

### Údaje štvrčky

$$y_{ijklmnop} = \mu + PAR_i + STAGE_j + PEAK_k + SCCI [2] \\ + DECM_m + OVER_n + QUAR_o + BIMO_z + u_p + e_{ijklmnoz}$$

kde  $y_{ijklp}$  a  $y_{ijklmop}$  = merania pre produkciu mlieka a prietok na úrovni vemena a štvrtky, respektíve pre modely [1] a [2];  $y$  = Celkový priemer,  $PARI$  = pevný efekt štádia laktácie ( $i = 1, \geq 2$  laktácie);  $STAGE_j$  = pevný efekt fázy laktácie ( $j = 0$  až 100, 101 až 200, > 200 d);  $PEAK_k$  = pevný efekt maximálneho toku mlieka ( $k = 1$  až 3);  $ScCl$  = pevný efekt počtu somatických buniek ( $l = 1$  až 3);  $DEC_m$  = pevný efekt trvania fázy znižovania ( $m = 1$  až 3);  $OVER_n$  = pevný efekt trvania fázy naprázdno ( $n = 1$  až 3);  $QUAR_m$  = pevný efekt pozície štvrtky ( $m = 1$  až 4);  $BIMO_z$  = pevný efekt bimodality ( $z = 1, 2$ );  $u_p$  = náhodný efekt kravy,  $u_p \sim N(0, \sigma^2_c)$  a  $e_{ijklmnozp}$  = náhodná chyba, za predpokladu, že  $e_{ijklmzp} \sim N(0, I \sigma^2_e)$ .

## 4. Výsledky práce

Počet somatických buniek nebol ovplyvnený poradím laktácie alebo MTM. Najnižšie PSB boli zistené u kráv s menej než 100 DIM ( $4,57 \pm 0,08 \log \text{PSB}$ ) a najvyšší u kráv s viac ako 200 DIM ( $5,08 \pm 0,08 \log \text{PSB}$ ,  $P < 0,05$ ; kravy od 100 do 200 DIM boli uprostred  $4,79 \pm 0,08 \log \text{PSB}$ ). Najnižšie PSB boli zistené v ľavej prednej štvrtke ( $4,64 \pm 0,08 \log \text{PSB}$ ) a najvyššie PSB boli zistené v zadnej pravej štvrtke [ $4,86 \pm 0,08 \log \text{PSB}$ ,  $P < 0,05$ ; pravá predná ( $4,73 \pm 0,08$ ) a ľavá zadná ( $4,78 \pm 0,08$ )].

Faktor PSB rozdielne ovplyvnil dynamiku toku mlieka ako na úrovni vemena tak aj jednotlivých štvrtiek (Tab. 1). Ako na úrovni vemena tak aj štvrtiek došlo k zníženiu dojivosti v skupinách s vysokým PSB. Štvrtky s vysokým PSB  $> 500 \times 10^3$  buniek / ml mali nižší MTM a dlhšiu fázu dojenja naprázdno v porovnaní so štvrtkami s nízkym počtom somatických buniek ( $< 200 \cdot 10^3$  buniek / ml). Bola tu zistená tendencia pre dlhšie trvanie fázy znižovania vo štvrtke s vysokým PSB, ale tento účinok nebol pozorovaný na úrovni vemena.

Štvrtky s nízkym a aj vysokým PSB mali rovnakú dobu trvania fázy zvyšovania, čo bolo pozorované aj na úrovni vemena. Trvanie fázy plató malo najvyššie hodnoty pri toku mlieka zo štvrtky s najnižším PSB. Tento stav však nebol potvrdený na úrovni vemena.

**Tab. 1 Priemer najmenších štvorcov a SEM sledovaných parametrov na úrovni vemena a štvrty vo vzťahu k počtu somatických buniek (PSB).**

	PSB na úrovni vemena, bunky/ml				<i>P</i> <	PSB na úrovni štvrty, bunky/ml			
	< 2x10 <sup>5</sup>	2x10 <sup>5</sup> - 5x10 <sup>5</sup>	> 5x10 <sup>5</sup>			< 2x10 <sup>5</sup>	2x10 <sup>5</sup> - 5x10 <sup>5</sup>	> 5x10 <sup>5</sup>	<i>P</i> <
<b>Počet</b>	353	210	241		2669	291	302		
<b>Celkový výdojok, kg</b>	18,61 ± 0,47 <sup>a</sup>	17,61 ± 0,45 <sup>b</sup>	17,30 ± 0,47 <sup>b</sup>	0,0001	4,29 ± 0,14 <sup>a</sup>	4,01 ± 0,14 <sup>b</sup>	3,61 ± 0,14 <sup>c</sup>	0,0001	
<b>Čas dojenia, s</b>	463 ± 15 <sup>a</sup>	429 ± 14 <sup>b</sup>	434 ± 15 <sup>b</sup>	0,0001	372 ± 13 <sup>a</sup>	362 ± 12 <sup>b</sup>	367 ± 13 <sup>b</sup>	0,0001	
<b>MTM, kg/min</b>	3,79 ± 0,21 <sup>a</sup>	3,94 ± 0,21 <sup>b</sup>	3,79 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,0009	0,95 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,83 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,0001	
<b>Výdojok v 1. min, g</b>	1661 ± 104	1732 ± 105	1582 ± 105	0,1114	422 ± 21 <sup>a</sup>	398 ± 23 <sup>b</sup>	320 ± 23 <sup>c</sup>	0,0001	
<b>Fáza zvyšovania, s</b>	83 ± 4	81 ± 4	83 ± 4	0,8106	75 ± 4	75 ± 4	75 ± 4	0,9159	
<b>Fáza plató, s</b>	212 ± 10 <sup>a</sup>	172 ± 10 <sup>b</sup>	178 ± 10 <sup>b</sup>	0,0001	231 ± 16	221 ± 16	228 ± 16	0,0875	
<b>Fáza znižovania, s</b>	169 ± 10	171 ± 10	168 ± 10	0,8996	63 ± 6	67 ± 6	70 ± 6	0,0578	
<b>Fáza naprázdno, s</b>					66 ± 6 <sup>a</sup>	62 ± 7 <sup>a</sup>	79 ± 7 <sup>b</sup>	0,0042	

<sup>abc</sup> Priemery najmenších štvorcov na úrovni riadku pri príslušnej úrovni hodnotenia s nerovnakými písmenami sa preukazne líšia *P* < 0,05

Faktor bimodalita toku mlieka ovplyvnil väčšinu sledovaných parametrov toku mlieka (Tab. 2). Pri tokoch mlieka s bimodalitou boli zistené vyššie hodnoty MTM a nižšia dojivosť. Nezistil sa žiadny vplyv bimodalita na trvanie fázy znižovania na úrovni toku



celého vemena avšak na úrovni štvrtky bolo zistené dlhšie trvanie fázy pri bimodálnych krivkách toku mlieka. Štvrtky s bimodálnym tokom mlieka mali dlhšie trvanie fázy dojenia naprázdno. V skupine kráv s nízkym PSB bol pomer kriviek s a bez bimodalít na úrovni vemena nasledovný 11:15, pri skupine so stredným PSB 23:21 a pri skupine s vysokým PSB 12:18. Na úrovni štvrtky v skupinách s rovnakým poradím ako v predchádzajúcej vete boli pomery nasledovné – 4:5, 47:34 a 4:6.

**Tab. 2 Priemer najmenších štvorcov a SEM sledovaných parametrov na úrovni vemena a štvrtky vo vzťahu k bimodalite toku mlieka.**

	Bimodalita na úrovni vemena			Bimodalita na úrovni štvrtky		
	Nie	Áno	<i>P</i> <	Nie	Áno	<i>P</i> <
<b>Počet</b>	375	429		1823	1439	
<b>Celkový výdojok, kg</b>	18,61 ± 0,43	17,19 ± 0,43	0,0001	4,08 ± 0,14	3,83 ± 0,14	0,0001
<b>Čas dojenia, s</b>	458 ± 13	428 ± 14	0,0001	375 ± 12	358 ± 12	0,0001
<b>MTM, kg/min</b>	3,76 ± 0,08	3,91 ± 0,08	0,0001	0,86 ± 0,04	0,93 ± 0,05	0,0001
<b>Výdojok v 1. min, g</b>	1791 ± 93	1563 ± 92	0,0001	411 ± 22	356 ± 23	0,0001
<b>Fáza zvyšovania, s</b>	76 ± 2	90 ± 2	0,0001	69 ± 3	83 ± 4	0,0001
<b>Fáza plató, s</b>	208 ± 9	170 ± 9	0,0001	241 ± 15	208 ± 16	0,0001
<b>Fáza znižovania, s</b>	173 ± 10	166 ± 10	0,2266	60 ± 5	73 ± 4	0,0001
<b>Fáza naprázdno, s</b>				61 ± 7	79 ± 7	0,0001
<b>PSB log x, bunky/ml</b>				4,78 ± 0,07	4,85 ± 0,07	0,2091

Doba trvania fázy zníženia na úrovni štvrtky ovplyvnila všetky merané ukazovatele, s výnimkou dĺžky trvania fázy zvyšovania (**Chyba! Nenašiel sa žiaden zdroj odkazov.**). Štvrtky s dlhým trvaním fázy znižovania ( $\geq 80$  s) mali vyšší PSB a vyššie hodnoty MTM, ale mali nižšiu dojivosť v porovnaní so štvrtkami s nižším trvaním fázy znižovania ( $<27$  s). Kratší čas dojenia bol pozorovaný u štvrtiek s dlhším trvaním fázy znižovania (27-79,  $>80$ ). Tieto štvrtky mali dlhšie trvanie fázy naprázdno. Doba trvania fázy naprázdno ovplyvnila všetky merané parametre s výnimkou PSB (Tab. 3). Pri nižšom trvaní fázy naprázdno bola najvyššia dojivosť a čas dojenia. Maximálny tok mlieka bol najvyšší pri fáze naprázdno trvajúcej  $>100$ . Fáza zvyšovania, fáza plató a fáza znižovania boli najvyššie pri najkratšej fáze naprázdno ( $< 15$ ). V týchto štvrtkách neboli pozorované zmeny na PSB pri vplyve fázy naprázdno.

**Tab. 3 Priemer najmenších štvorcov a SEM sledovaných parametrov vo vzťahu k trvaniu fázy znižovania a dojenja naprázdno.**

	Fáza znižovania, s			<i>P</i> <	Fáza naprázdno, s			<i>P</i> <
	<27	27-79	>80		<15	15-99	>100	
Počet štvrtiek	789	1695	778		985	1258	1019	
Celkový výdojok, kg	4,04 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,11 ± 0,14 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,15 <sup>b</sup>	0,0001	4,27 ± 0,15 <sup>a</sup>	3,98 ± 0,14 <sup>b</sup>	3,65 ± 0,15 <sup>c</sup>	0,0001
Čas dojenja, s	385 ± 13 <sup>a</sup>	359 ± 13 <sup>b</sup>	358 ± 13 <sup>b</sup>	0,0001	427 ± 12 <sup>a</sup>	366 ± 12 <sup>b</sup>	309 ± 13 <sup>c</sup>	0,0001
MTM, kg/min	0,79 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,89 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,99 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,0001	0,83 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,96 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,0001
Výdojok v 1. min, g	346 ± 22 <sup>a</sup>	392 ± 23 <sup>b</sup>	400 ± 23 <sup>c</sup>	0,0001	334 ± 23 <sup>a</sup>	380 ± 21 <sup>b</sup>	426 ± 23 <sup>c</sup>	0,0001
Fáza zvyšovania, s	75 ± 4	75 ± 4	76 ± 4	0,7471	80 ± 5 <sup>a</sup>	75 ± 4 <sup>b</sup>	72 ± 4 <sup>b</sup>	0,0002
Fáza plató, s	286 ± 16 <sup>a</sup>	232 ± 15 <sup>b</sup>	161 ± 15 <sup>c</sup>	0,0001	278 ± 15 <sup>a</sup>	227 ± 14 <sup>b</sup>	173 ± 15 <sup>c</sup>	0,0001
Fáza znižovania, s					75 ± 4 <sup>a</sup>	68 ± 4 <sup>b</sup>	65 ± 5 <sup>b</sup>	0,0001
Fáza naprázdno, s	63 ± 7 <sup>a</sup>	74 ± 7 <sup>b</sup>	71 ± 7 <sup>b</sup>	0,0025				
PSB log x, bunky/ml	4,68 ± 0,08 <sup>a</sup>	4,87 ± 0,07 <sup>b</sup>	4,91 ± 0,08 <sup>b</sup>	0,0003	4,80 ± 0,08	4,77 ± 0,08	4,85 ± 0,08	0,1526

<sup>abc</sup> Priemery najmenších štvorcov na úrovni riadku pri príslušnej úrovni hodnotenia s nerovnakými písmenami sa preukazne líšia *P* < 0,05

## 5. Diskusia

Vplyv poradia laktácie, štádia laktácie, MTM a polohy štvrtiek na dynamiku toku mlieka boli podrobnejšie opísané v inej práci (Tančin et al., 2006). Na základe výsledkov posledne uvedenej práce boli tieto faktory zaradené do štatistického modelu pre ich vplyv na dynamiku toku mlieka. Výsledky boli podobné tým, ktoré boli uverejnené v práci Tančin et al. (2006) a z uvedeného dôvodu nie sú v práci publikované.

V nami zistenom súbore dojnice s vyšším počtom laktácií mali vyšší PSB, čo je v súlade s pozorovaniami iných autorov (Miller a Paap, 1988; Laevens et al, 1997). Podľa našich výsledkov mali staršie kravy vyššie PSB v porovnaní s prvôstkami. Uvedené naše zistenia boli publikované aj inými autormi (Laevens et al., 1997). Zadné štvrtky mali vyšší PSB ako predné štvrtky (Tančin et al., 2002), čo bolo potvrdené aj v tejto práci.

Jedným z najdôležitejších krokov v prevencii mastitídy je dobrá príprava kravy na dojenie (Rittershaus et al., 2001). Vysoký podiel bimodálnych typov toku mlieka zistený ako na úrovni štvrtky tak aj vemena súvisel s relatívne krátkou prípravou vemena na dojenie. Krátka príprava vemena pred dojením znamená, že dojacie zariadenie bolo nasadené na vemeno ešte pred vznikom reflexu ejekcie mlieka (Bruckmaier and Blum, 1998; Tančin and Bruckmaier, 2001).

Zistili sme, že pri bimodálnych tokoch mlieka ako na úrovni štvrtky tak aj vemena boli namerané vyššie hodnoty MTM. Kravy s vyšším MTM sú citlivejšie na nedostatočnú prípravu vemena pred dojením. Štvrtky s bimodálnym tokom mlieka mali dlhšiu dobu zvyšovania, dlhšiu dobu znižovania a dlhšiu fázu dojenia naprázdno. Podobné vzťahy bimodality a dĺžky trvania jednotlivých fáz toku mlieka pozorovali aj Wellnitz et al. (1999).

Doba trvania fázy znižovania a maximálny tok mlieka by mohli byť dôležitým faktorom súvisiacim s PSB. Zistili sme vyšší PSB v štvrtke s fázou znižovania  $\geq 80$  s. Uvedené zistenia sú v súlade už so zisteniami uvedenými v práci Tančin et al., 2002. Štvrtky s dlhšou fázou znižovania mali nižšiu dojivosť a vyšší maximálny tok než štvrtky, ktoré mali kratšiu fázu znižovania. Štvrtky s dlhšou fázou dojenia naprázdno mali nižšiu dojivosť a vyššie MTM, ale nebol preukázaný možný vplyv na PSB. Na základe týchto zistení predpokladáme, že štvrtky s dlhšou fázou dojenia naprázdno sú štvrtky, ktoré sa doja rýchlejšie v dôsledku vyššieho maximálneho tok a nižšiu dojivosť. Štvrtky s dlhšou

fázou znižovania by mohli byť citlivejšie na zdravotné problémy, pretože tieto môžu mať vysoký MTM (Grindal a Hillerton, 1991).

Pri hodnotení faktoru PSB nebol zistený žiadny rozdiel v hodnotách MTM -na úrovni vemena, ale bolo pozorované nižšie hodnoty MTM na úrovni štvrtky s vysokým PSB. Tieto štvrtky mali najdlhšie trvanie fázy znižovania aj napriek nižšiemu MTM. Predpokladáme, že prítomnosť jednej alebo viacerých štvrtiek s vysokým PSB v rámci vemena znižuje produkciu mlieka a následne maximálny tok. Okrem toho môžeme konštatovať, že znížené hodnoty MTM v takýchto štvrtkách by mohli súvisieť s vysokým PSB a to tak, že ovplyvňuje voľný prietok mlieka cez mliečne kanáliky z alveol do cisterny. Ďalšie neznáme periférne mechanizmy môžu rovnako tok mlieka obmedziť (Bruckmaier et al., 1993). Pozitívny vzťah medzi PSB a dĺžkou fázy znižovania je ťažké vysvetliť, pretože nevieme, či vysoké PSB sú dôsledkom alebo následkom dlhšieho trvania fázy znižovania. Väčšina dojacím strojom vyvolaných infekcií vemena sa pozorujú ku koncu dojenia, pričom možné vysvetlenie podáva štúdia Philpota a Nickersona (1991). Uvedení autori uvažovali o možnom význame znižovania toku mlieka ku koncu dojenia. Znižovaním tokom mlieka ku koncu dojenia klesá pravdepodobnosť výskytu mikroorganizmov, ktoré obtečú struk a zvyšuje sa pravdepodobnosť infekcie v tejto štvrtke. Doba trvania fázy znižovania na úrovni štvrtky by mala byť minimalizovaná pre možný negatívny zdravotný stav vemena. Súčasný systém dojacích zariadení nie sú schopné skrátiť dobu trvania fázy znižovania. Zníženie vákua (Ipema et al., 2005) najmä pre štvrtku s vyšším MTM alebo lepšia príprava kráv na dojenie (zníženie bimodality) by mohli byť dôležitým faktorom pre nižšiu dobu trvania fázy znižovania.

Doba trvania fázy znižovania na úrovni vemena charakterizuje fázy dojenia naprázdno jednej alebo viacerých štvrtiek. V práci sa nepozoroval žiadny vplyv PSB na fázu znižovania na úrovni vemena hoci na úrovni štvrtiek s vysokým PSB boli najdlhšie fázy naprázdno. V literatúre bol popísaný negatívny vplyv dĺžky trvania fázy naprázdno na úrovni vemena na zdravotný stav vemena (Naumann et al, 1998.), ale tento vzťah ako sa zdá má menší význam na úrovni štvrtky (Wellnitz et al., 1999). Naše údaje tiež ukázali, že štvrtky s dlhšou fázou dojenia naprázdno sa nelíšia v PSB od štvrtiek s kratšou fázou dojenia naprázdno. Osteras a Lund (1988) uvádzajú, že tok naprázdno > 1 min zvyšuje riziko vzniku subklinických mastitíd kráv v podmienkach praxe, kde však hlavným príčinám nie je len dĺžka trvania dojenia na prázdno ale aj kolísanie podtlaku v systéme.

## 6. Záver

V práci sme sa venovali parametrom toku mlieka, ktoré by mohli ovplyvňovať PSB. Popísali sme vzťahy medzi parametrami toku mlieka na úrovni vemena a štvrtky a PSB v rovnakom štádiu laktácie.

Najnižší počet somatických buniek bol nájdený v ľavej prednej štvrtke a najvyšší v zadnej pravej štvrtke. Na úrovni vemena aj štvrtky bola znížená dojivosť práve vplyvom vysokých PSB. Na úrovni štvrtky bola predĺžená fáza znižovania a to práve vplyvom PSB, ale na úrovni vemena nebol tento jav pozorovaný.

V práci sme takisto potvrdili vplyv bimodalít toku mlieka na vyšší maximálny tok a zníženú dojivosť. Nebol pozorovaný vplyv na fázu znižovania na úrovni vemena. Štvrtky s bimodalitou mali dlhšiu fázu dojenia naprázdno. Vysoký výskyt bimodalít toku mlieka bol v dôsledku krátkej prípravy vemena pre dojením. Priebeh krivky toku mlieka je veľmi citlivý na dostatočnú a správnu prípravu vemena pred dojením, čo bolo popísané už mnohými autormi.

Prítomnosť jednej alebo viacerých štvrtí s vysokým PSB v rámci vemena znižuje produkciu mlieka a následne MTM. Nebol pozorovaný žiadny vplyv PSB na fázu znižovania na úrovni vemena.

Na úrovni štvrtiek s vysokým PSB boli zistené najdlhšie fázy naprázdno nie však naopak, kde neboli zistené rozdiely v PSB pri štvrtkách líšiacich sa dĺžkou trvania fázy dojenia na prázdno. ..

Všetky tieto parametre a zistenia môžu byť významnými indikátormi zápalu mliečnej žľazy. Zistilo sa, že dojnice s vyššou intenzitou toku mlieka sú náchylnejšie na infekcie mliečnej žľazy t.j. k mastitídám. Najčastejšie k vzniku infekcie vemena dochádza ku koncu dojenia. Nie je však celkom jasné, či nami stanovené parametre dojiteľnosti na úrovni štvrtky napr. fáza znižovania je dôsledkom alebo príčinou vyššieho PSB.

Záverom je možné konštatovať, že na základe dosiahnutých výsledkov je možné konštatovať, že pre udržanie dobrého zdravia vemena, by sa mala brať doba trvania fázy znižovania na úrovni štvrtky za parameter súvisiaci s PSB a dobrou prípravou vemena na dojenie.

## 7. Zoznam použitej literatúry

1. ALBENZIO, M.- CAROPRESE, M.- SANTILLO, A.- MARINO, R.- TAIBI, L.- SEVI, A. 2004. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese- making properties of ewe milk. In *Journal of Dairy Science*, roč. 87, 2004, č. 3, s. 533- 542.
2. ANTALÍK, P.- STRAPÁK, P. 2010. The evaluation of milkability of Slovak pinzgau cattle by lactocorder. In *Slovak Journal of Animal Science* [online], roč. 43, 2010, č. 4, s. 173- 178 [cit 2011-03-11]. Dostupné na: <[http://www.cvzv.sk/slju/10\\_4/Antalik.pdf](http://www.cvzv.sk/slju/10_4/Antalik.pdf)> . ISSN 1337-9984
3. BELO, C. J.- BRUCKMAIER, R. M. 2010. Suitability of low- dosage oxytocin treatment to induce milk ejection in dairy cows. In *Journal of Dairy Science*, roč. 98, 2010, č. 1, s. 63- 69.
4. BRUCKMAIER, R. M.- SCHALLIBAUM, M- BLUM, J. W. 1993. Escherichia coli endotoxin-induced mastitis in dairy cows: Changes and importance of insulin-like growth factor I and oxytocin. In *Milchwissenschaft*, roč. 48, 1993, s. 374– 378.
5. BRUCKMAIER, R. M.- SCHAMS, D.- BLUM, J. W. 1994. Continuously elevated concentrations of oxytocin during milking are necessary for complete milk removal in dairy cows. In *J. Dairy Res.*, roč. 61, 1994, s. 449- 456.
6. BRUCKMAIER, R.M.- BLUM, J. W. 1996. Simultaneous recording of oxytocin release, milk ejection and milk flow during milking of dairy cows with and without prestimulation. In *J. Dairy Res.*, roč. 63, 1996, s. 201- 208.
7. BRUCKMAIER, R.M.- BLUM, J. W. 1998. Oxytocin release and milk removal in ruminants. In *J. Dairy Sci.*, roč. 81, 1998, s. 939- 949.
8. BRUCKMAIER, R. M.- WELLNITZ, O. 2008. Induction of milk ejection and milk removal in different production system. In *Journal of Animal Science*, roč. 86, 2008, s. 15- 20.
9. BUDRAS, K. - HEBEL, R. E. 2003. *Bovine anatomy*. 1. vyd. Hannover: Schlütersche, 2003. 138 s. ISBN 9783899930009
10. COBAN, O.- SABUNCUOGLU, N.- TUZEMEN, N. 2009. A study of relationships between somatic cell count (SCC) and some udder traits in dairy

- cows. In *Journal of Animal and Veterinary Advances Year*, roč. 8, 2009, č. 1, s. 134- 138.
11. DAMIAN, A.- SOCACIU, Antonia- CHIRILEAN, Ioana- STAN, F.- GUDEA, Al.- CRISA, Melania- DEZDROBITU, C.- TUNS, F.- POP, Al.- AYMAN, A. R. 2009. Anatomical studies regarding the arterial vascular system of mammary gland in camel, cow and mare. In *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* [online], roč. 66, 2009, č. 1, s. 47- 54 [cit 2011-03-10]. Dostupné na: <<http://journals.usamvcj.ro/veterinary/article/view/3819>>. ISSN 1843-5378
  12. DAVIS, S. R.- FARR, V. C.- COPEMAN, P. J. A.- CARRUTHERS, V. R.- KNIGHT, C. H.- STELWAGEN. K. 1998. Partitioning of milk accumulation between cisternal and aleolar compartments of the bovine udder: relationship to production loss during one milking. In *Journal of Dairy science*, roč. 65, 1998, s. 1- 8.
  13. FRANDSON, R. D.- WILKE, W. L.- FAILS, A. D. 2009. *Anatomy and physiology of farm animals*. 7. vyd. Iowa: Wiley-Blackwell, 2009. 528 s. ISBN 978-0-8138-1394-3
  14. GOREWIT, R. C.- GASSMAN, K. B. 1985. Effects of duration of udder stimulation on milking dynamics and oxytocin release. In *J. Dairy Sci.*, roč. 68, 1985, s. 2051- 2055.
  15. GRINDAL, R. J.- HILLERTON, J. E. 1991. Influence of milk flow rate on new intramammary infection in dairy cows. In *J. Dairy Res.*, roč. 58, 1991, s. 263- 268.
  16. GREEN, M. J.- BRADLEY, A. J.- MEDLEY, G. F.- BROWNE, W. J. 2007. Cow, farm and management factors during the dry period that determine the rate of clinical mastitis after calving. In *Journal of Dairy Science*, roč. 90, 2007, č. 8, s. 3764- 3776.
  17. HAMMON, H. M.- BRUCKMAIER, R. M.- HONEGGER, U. E.- BLUM, J. W. 1994. Distribution and density of  $\alpha$ - a  $\beta$ - adrenergic binding sites in the bovine mammary gland. In *J. Dairy Res.*, roč. 61, 1994, s. 47- 57.
  18. HAMPL, A. 1968. Příspěvek k otázce regionální příslušnosti intramamárních mízních uzlin a jejich vztahu k uzlinám supramamárním u skotu. In *Acta Universitatis Agriculturae*, roč. 16, 1968, č. 2, s. 293- 298.
  19. HAMPL, A. 1978. Mliečna žláza. In *Morfologie hospodářských zvířat. Část II. Splanchnologie, náuka o kůži a smyslové ústrojí*. Praha: SPN, 1978. s. 106- 124.



20. HILLERTON, J. E. 1996. Milk yield, milking routine and under health. In *Secretion and Removal in Ruminants: Symp. Milk Syntes*. Bern, 1996, s. 91- 95.
21. HILLERTON, J. E.- BERRY, E. A. 2005. Treating mastitis in the cow- a tradition or an archaism. In *Journal of Applied Microbiology*, roč. 98, 2005, č. 6, s. 1250-1255.
22. HLUCHÝ, S.- UHRÍN, V.- ČUPKA, P. 1995. Histologická stavba mliečnych žliaz králikov v štádiu laktácie. In *Živočíšna výroba*, roč. 40, 1995, s. 391- 397.
23. IPEMA, B.- TANČIN, V.- HOGEWERF, P. 2005. Responses of milk removal characteristics of single quarters on different vacuum levels. In *Proc. Physiological and Technical Aspects of Machine Milking*,. Nitra: ICAR, 2005. s. 49- 55.
24. JONES, G. M.- Bailey, T. L. 2009. Understanding the basics of mastitis. [online]. Virginia Tech. aktualizované 2009. [cit 2011-03-12]. Dostupné na: <<http://pubs.ext.vt.edu/404/404-233/404-233.html>>.
25. KNIGHT, C. H.- DEWHURST, R. J. 1994. Once daily milking of dairy cows: relationship between yield loss and cisternal capacity. In *Journal of Dairy Science*, roč. 61, 1994, s. 441- 449.
26. KOTWICA, J.- DURAS, M.- AMAROWICZ, R. 2003. Relationship between progesterone and ovarian oxytocin within corpus luteum cow. In *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, roč. 47, 2003, s. 449- 457.
27. KRESAN, J. 1979. Mliečna žľaza. In *Morfológia hospodárskych zvierat*. Bratislava, Praha: Príroda v spolupráci s Státní zemědělské nakladatelství, 1979. s. 509- 520.
28. LAEVENS, H.- DELUYKER, H.- SCHUKKEN, Y. H.- De MEULEMEESTER, L.- VANDERMEERSCH, R.- E. De MUELENAERE, E.- De KRUIF, A. 1997. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. In *Journal of Dairy Science*, roč.80, 1997, s. 3219– 3226.
29. LEFCOURT, M.- AKERS, R. M. 1984. Small increase in peripheral noradrenaline inhibit the milk- ejection response by means of a peripheral mechanism. In *Journal of Endocrinology*, roč. 100, 1984, s. 337-344.
30. LINCOLN, D. W.- PAISLEY, A. C. 1982. Neuroendocrine control of milk ejection. In *J. Reprod. Fert*, roč. 65, 1982, s. 571- 586.
31. MARETTA, M. 1990. Mliečna žľaza. In *Veterinárna histológia*. Bratislava: Príroda, 1990. s. 452- 458.

32. MAČUHOVÁ, J.- TANČIN, V.- BRUCKMAIER, R. M. 2003. Oxytocin release and milk removal after delayed or long-lasting teat cup attachment during automatic milking. In *Liv. Prod. Sci.*, 2003.
33. MAČUHOVÁ, L.- UHRINČAŤ, M.- MAČUHOVÁ, J.- MARGETÍN, M.- TANČIN, V. 2008. The first observation of milkability of the sheep breeds Tsigai, Improved Valachian and their crosses with Lacaune. In *Czech Journal of Animal Science*, roč. 58, 2008, č. 12, s. 528- 536.
34. MARTONKOVÁ, L. 2010. Vplyv extrémnej produkčnej záťaže dojníc na ich úžitkové a metabolické parametre: autoreferát dizertačnej práce. Nitra: SPU, 2010. s. 20.
35. MIJIĆ, P.- KNEŽEVIĆ, I.- DOMAĆINOVIĆ, M. 2004. Connection of milk flow curve to the somatic cell count in bovine milk. In *Arch. Tierz., Dummerstorf*, roč. 47, 2004, č. 6, s. 551- 556.
36. MILLER, R. H.- PAAPE, M. J. 1988. Effects of parity, stage of lactation and dry period on *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activity of milk and dry secretion. In *Journal of Dairy Science*, roč. 71, 1988, s. 2508–2519.
37. WERNER- MISOF, C.- PFAFFL, M. W.- MEYER, H. H. D.- BRUCKMAIER, R. M. 2007. The effect of chronic oxytocin- treatment on the bovine mammary gland immune system. In *Veterinarni medicina*, roč. 52, 2007, č. 11, s. 475- 486.
38. NAJBRT, R. 1982. *Veterinární anatomie 2*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982. s. 542- 557.
39. NAUMANN, I.- FAHR, R. D.- LENGERKEN, VON G. 1998. The relationship between the somatic cell counts of milk and selected parameters of milk flow curves of cows. In *Archiv für Tierzucht*, roč. 41, 1998, s. 237- 250.
40. NOVOTNÝ, J. 2007. Analýza toku mlieka zo štvrtiek vemená kráv: diplomová práca. Nitra: SPU, 2007. 45 s.
41. OSTERAS, O.- LUND, A. 1988. Epidemiological analyses of the associations between bovine udder health and milking machine and milking management. In *Prev. Vet. Med.*, roč. 6, 1988, s. 91- 108.
42. PFEILSTICKER, H. U.- BRUCKMAIER, R. M.- BLUM, J. W. 1996. Cisternal milk in the dairy cow during lactation and after proceeding teat stimulation. In *J. Dairy Res.*, roč. 63, 1996, s. 509- 515.
43. PIEPERS, S.- OPSOMER, G.- MEYER, E.- DEMEYERE, K.- BERKEMA, H. W.- DE KRUIF A.- DE VliegHER, S. 2009. Heifer and quarter characteristics

- associated with periparturient blood and milk neutrophil apoptosis in healthy heifers and in heifers with subclinical mastitis. In *Journal of Dairy Science*, roč. 92, 2009, č. 9, s. 4330- 4339.
44. PINDEŠ, E. 2009. Celkový počet somatických buniek v surovom kravskom mlieku: bakalárska práca. Nitra: SPU, 2009. 40s.
  45. PHILPOT, W. N.- NICKERSON, S. C. 1991. Mastitis: Counter attack. A strategy to combat mastitis. In Babson Bros. Co., Naperville, IL
  46. POPESKO, P. 1992. Anatomia hospodárskych zvierat. Bratislava: Príroda, 1992. s. 692
  47. PŘIBIL, E.- HOLÝ, L.- HRIVNÁK, J.- KOZUMPLÍK, J.- KUDĚLKA, E.- KUDLÁČ, E.- VLČEK, Z.- VRTĚL, M.. 1963. Veterinární gynekologie. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1963. s. 364.
  48. REECE, W. O. 2009. *Functional anatomy and physiology of domestic animals*. 4. vyd. Iowa: Wiley-Blackwell, 2009. 592 s. ISBN 978-0-8138-1451-3
  49. RITTERHAUS, C.- SEUFERT, H.- WOLTER, W. 2001. Evaluation of milking routine by using LactoCorder in combination with cytobacterial analysis of the milk of Holstein Frisian. In *Proc. Physiol. Tech. Aspects of Machine Milking*. Nitra: ICAR, 2001. S. 69- 73.
  50. ROSS, H. E.- YOUNG, L. J. 2009. Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior. In *Front Neuroendocrinol*, roč. 30, 2009, č. 4, s. 534- 547.
  51. ROSSONI, E.- FENG, J.- TIROZZI, B.- BROWN, D.- LENG, G.- MOOS, F.. 2008. Emergent synchronous bursting of oxytocin neuronal network. In *PLoS Computational Biology* [online], roč. 4, 2008, č. 7 [cit 2011-03-10]. Dostupné na: <<http://www.ploscompbiol.org/article/info:doi%2F10.1371%2Fjournal.pcbi.1000123>>.
  52. ROTHEHANGER, E.- BRUCKMAIER, R. M.- BLUM, J. W. 1996. Assotiation and dissotiation of single quarter and total milk flow in dairy cows: effect of milking with and without prostimulation. In *Milchwissenschaft*, roč. 50, 1996, s. 63- 66.
  53. SAKEMI, Y.- TAMURAI, Y.- HAGIWARA, K. 2011. Interleukun-6 in quarter milk as a fether prediction marker for bovine subclinical mastitis. In *Journal of Dairy Research*, roč. 78, 2011, s. 118- 121.

54. SANDRUCCI, A.- TAMBURINI, A.- BAVA, L.- ZUCALI, M. 2007. Factors affecting milk flow traits in dairy cows: results of a field study. In *Journal of Dairy Science*, roč. 90, 2007, č. 3, s. 1159- 1167.
55. SARIKAYA, H.- BRUCKMAIER, R. M. 2006. Importance of the sampled milk fraction for the prediction of total quarter somatic cell count. In *Journal of Dairy Science*, roč. 89, 2006, č. 11, s. 4246- 4250.
56. SARIKAYA, H.- SCHLAMBERGER, G.- MEYER, H. H. D.- BRUCKMAIER, R. M. 2006. Leukocyte populations and mRNA expression of inflammatory factors in quarter milk fractions at different somatic cellscore levels in dairy cows. In *Journal of Dairy Science*, roč. 89, 2006, č. 7, s. 2479- 2486.
57. SAS Institute. 2001. SAS software. Version 8.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.
58. SHIRASUNA, K.- SHIMIZU, T.- HAYASHI, K. G.- NEGAI, K.- MATSUI, M.- MIYAMOTO, A. 2007. Positive association, in local release, of luteal oxytocin with endothelin and prostaglandin F<sub>2alpha</sub> during spontaneous luteolysis in the cow: a possible intermediary role for luteolytic cascade within the corpus luteum. In *Biology of reproduction*, roč. 76, 2007, č. 6, s. 965- 970.
59. SCHÖN, H.- ARTMANN, R.- WORSTORFF, H. 1992. The automatic of milking as a key issue in future oriented dairy farming. In *On Prospects for Automatic Milking: Proc. Iner. Sympos*, Wageningen, 1992, s. 17- 22.
60. SCHUKKEN, Y. H.- WILSON, D. J.- WELCOME, F.- GARRISON- TIKOFSY, L.- GONZALEZ, R. N. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell count. In *Vet. Rescue*, roč. 34, 2003, s. 579- 596.
61. SCHUSTER, D. E.- HARMON, R. J. 1992. High cortisol concentration and mediation of the hypogalactia during endotoxin- induced mastitis. In *J. Dairy Sci.*, roč. 75, 1992, s. 739- 746.
62. STRNISKOVÁ, L. 2009. Vplyv počtu somatických buniek na kvalitu surového kravského mlieka: diplomová práca. Nitra: SPU, 2009. 84 s.
63. SUCHÁNEK, B.- KLÍČNÍK, V. 1973. Mléčná žláza, tvorba a složení mléka. In *Zvyšování produkcie mléka*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1973. s. 20- 67.
64. SVENNERSTEN- SJAUNJA, K. M.- PETTERSSON, G. 2008. Pros and cons of automatic milking in Europe. In *Journal of Animal Science*, roč. 86, 2008, s. 37- 46.

65. ŠKARDA, J. 1989. Hormonální řízení mamogeneze, laktogeneze a laktace u přežvýkavců. In *Živočišná fyziologie: Sborník přednášek z kurzu 16.-19. Října*. Praha: ÚFGHZ, VÚŽV, 1989, s. 76- 94.
66. TAMBURINI, A.- BAVA, L.- PICCININI, R.- ZECCONI, A.- ZUCALI, M.- SANDRUCCI, A.. 2010. Milk emission and udder health status in primiparous dairy cows during lactation. In *Journal of Dairy Research*, roč. 77, 2010, s. 13- 19.
67. TANČIN, V. a i. 1998. *Vplyv spôsobu podmienok získavania mlieka na ejekciu mlieka: výskumná správa*. Nitra: VÚŽV, 1998, 62 s.
68. TANČIN, V.- BRUCKMAIER, R. M. 2001. Factors affecting milk ejection and removal during milking and suckling of dairy cows. In *Vet. Med. (Praha)*, roč. 46, 2001, s. 108–118.
69. TANČIN, V.- HLUCHÝ, S.- MIHINA, Š.- UHRINČAŤ, M.- HETÉNYI, L. 2001. *Fyziológia získavania mlieka a anatómia vemena*. 3. vyd. Nitra: VÚŽV, 2001. 120 s. ISBN 80-88872-13-8
70. TANČIN, V.- IPEMA, B.- HOGWERF, P.- MIHINA, Š.- GROOT KOERKAMP, P. 2002a. Milk flow patterns analysed on the quarter and udder levels. In *Polnohospodárstvo*, roč. 48, 2002a, s. 237- 243.
71. TANČIN, V.- IPEMA, B.- HOGWERF, P.- GROOT KOERKAMP, P.- MIHINA, S.- BRUCKMAIER, R. M. 2002b. Milk flow patterns at the end of milking at the whole udder or quarter levels: Relationship to somatic cell counts. In *Milchwissenschaft*, roč. 57, 2002b, s. 306–309.
72. TANČIN, V.- IPEMA, B.- PEŠKOVIČOVÁ, D.- HOGWERF, P.- MAČUHOVÁ, J. 2003. Quarter milk flow patterns in dairy cows: factors involved and repeatability. In *Vet. Med.- Czech.*, roč. 48, 2003, s. 275- 283.
73. TANČIN, V. - IPEMA, B. - HOGWERF, P. 2005. The quarter milk flow patterns influenced by stage of lactation and milkability in Multiparous dairy cows. In *Physiological and technical aspects of machine milking*. Nitra, 2005. s. 33-40. ISBN 92-95014-07-3
74. TANČIN, V.- IPEMA, B.- HOGWERF, P.- MAČUHOVÁ, J. 2006. Sources of variation in milk flow characteristics at udder and quarterlevels. In *Jornal of Dairy Science*, roč. 89, 2006, s. 978- 988.
75. TANČIN, V.- UHRINČAŤ, M.- MAČUHOVÁ, L.- BRUCKMAIER, R. M. 2007. Effect of prestimulation on milk flow pattern and distribution of milk constituents at a quarter level, In *Czech J. Anim. Sci.*, roč. 52, 2007, s. 117-121.

76. TANČIN, V. - TANČINOVÁ, D.. 2008. *Strojové dojenie kráv a kvalita mlieka*. 19. vyd. Nitra: SCPV, 2008. 105 s. ISBN 978-80-88872-80-1
77. UDDIN, M. A.- KAMAL, M. M.- HAQUE, M. E. 2009. Epidemiological study of udder and teat diseases in dairy cows. In *Bangl. J. Vet. Med.*, roč. 7, 2009, č. 2, s. 332- 340.
78. VIERO, C.- SHIBUYA, I.- KITAMURA, N.- VERKHRATSKY, A.- FUJIHARA, H.- KATOH, A.- UETA, Y.- ZINGG, . H.- CHVATAL, A.- SYKOVA, .- DAYANITHI, G.. 2010. Oxytocin: Crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy. In *CNS Neurosci Ther*, roč. 16, 2010, č. 5, s. 138- 156.
79. VODRÁŽKA, J. a kol. 1986. *Veterinárska medicína a farmakológia*. 2. vyd. Martin: Osveta, 1986. 806 s.
80. WAKERLEY, J. B.- CLARKE, G.- SUMMERLEE, A. J. S.1994. Milk ejection and its control. In *The Physiology of reproduction*. New York: Raven press LTD, 1994. s. 1131- 1177.
81. WELLNITZ, O.- BRUCKMAIER, R. M.- BLUM, J. W. 1999. Milk ejection and milk removal of single quarters in high yielding dairy cows. In *Milchwisnesschaft*, roč. 54, 1999, s. 303- 306.
82. WOLLER, Michael J.- KEELTY, Patrick- MOORE, Jason E.- PRUDOM, Shelly- ZIEGLER, Toni E. 2010. The effect of acute estrogen treatment on hormone release (Oxytocin, Vasopressin, Dopamine, Prolactin) from hypothalamic explants isolated from male common marmoset monkeys, *Callithrix jacchus* with and without parental experience. In *Biology of Reproduction*, roč. 83, 2010, s. 9.
83. ZAJÁC, P. 2006. Optimalizácia referenčnej metódy stanovenia počtu somatických buniek v surovom kravskom mlieku: autoreferát dizertačnej práce. Nitra: SPU, 2006. 26 s.
84. ZAJÁC, P.- GOLIAN, J.- NOVÁKOVÁ, R. 2007. Vplyv zvýšeného počtu somatických buniek na zdravotnú neškodnosť surového kravského mlieka. In *Potravinárstvo* [online], roč. 1, 2007, č. 1, s. 10- 15 [cit 2011-03-11]. Dostupné na internete: <[http://potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo\\_no1\\_2007.pdf](http://potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo_no1_2007.pdf)>. ISSN 1337-0960
85. ZAVIZION, B.- POLITIS, I.- GOREWIT, R. C. 1992. Bovine mammary myoepithelial cells. 1. Isolation culture and characterization. In *J. Dairy Sci.*, roč. 75, 1992, s. 3367- 3380.

86. **Nariadenie (ES) č. 853/2004** Európskeho parlamentu a Rady z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu
87. **Nariadenie (ES) č. 1662/2006** Európskeho parlamentu a Rady zo 6. novembra 2006, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.