



MLÉČNÁ UŽITKOVOST A KVALITA MLÉKA PŘI SUBKLINICKÝCH MASTITIDÁCH ZPŮSOBENÝCH ŘASOU PROTOTHECA

Hana Nejeschlebová, Oto Hanuš, Růžena Seydlová,
Jaroslav Kopecký, Radoslava Jedelská
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha,
pracoviště Šumperk a Praha

Úvod

Jedním z nejčastějších produkčních onemocnění dojníc a také nejčastější příčinou ekonomických ztrát chovatelů je zánět mléčné žlázy - mastitida. Ekonomické ztráty jsou jak přímé, způsobené snížením mléčné produkce, její kvality a vyřazováním postižených dojníc, tak nepřímé ve spojitosti s léčbou mastitid. Subklinické mastitidy, které se vyskytují až čtyřicetkrát častěji než klinická forma onemocnění, jsou vzhledem k nevýrazným symptomům a tudíž obtížnějšímu včasnému odhalení větším epidemiologickým rizikem a důsledkem vyšších finančních ztrát než mastitidy klinické. Vzhledem k tomu, že se jedná o polyfaktorové a polyetiologické onemocnění, v jehož patogenезi se uplatňují tři biosystémy, a to makroorganismus (hostitel), infekční agens a vnější prostředí, je nutné tyto systémy chápat společně a přistupovat k nim se stejným respektem [3].

Řasa *Prototheca* jako původce mastitid

Spektrum původců mastitid je široké a zahrnuje bakterie, viry, plísňe, kvasinky, ale také řasy. Právě mastitidám vyvolaným jednobuněčnou saprofytickou řasou rodu *Prototheca* (tzv. prototekózy)

začala být v poslední době věnována zvýšená pozornost. Byla popsána řada případů výskytu prototék jako původce mastitid s prevalencí srovnatelnou s „tradičními“ bakteriálními patogeny [4, 5, 9, 21]. Zatímco dříve byly prototékové mastitidy popisovány především jako problém tropických a subtropických oblastí, v současné době se jeví jako závažný problém chovů dojníc i v mírném klimatu. Studie publikovaná v roce 2019 v časopise *Journal of Dairy Science* označila prototéku s incidencí 4,6 % za třetí nejčastěji se vyskytující mastitidní patogen v chovech v jihovýchodním Polsku [4].

S bovinní prototékovou mastitidou je nejvíce spojena *Prototheca zopfii*, konkrétně její genotyp 2 (dle nové klasifikace *P. bovis*), sporadicky může být původcem také *P. zopfii* genotyp 1 a *P. blaschkeae* [17]. Prototéka se vyskytuje zejména ve vlhkém prostředí s obsahem organického materiálu jako hnůj či rozkládající se rostlinný materiál [1]. V chovech bývá izolována z výkalů, krmiva, napájecích žlabů [5] či podestýlky [19, 5]. Prevalence prototék v prostředových vzorcích se pohybuje přibližně od 9 do 50 % [5]. Do trávicího traktu zvířat se prototéka zřejmě dostává prostřednictvím krmiva, díky své odolnosti zůstává po průchodu trávicím traktem životaschopná a tím je umožněno další šíření infekčního agens výkaly a následně dojícní technikou [7].

Hlavními rizikovými faktory pro rozvoj prototékové mastitidy jsou špatné hygienické návyky - zejména nedostatečná hygiena dojení a ustájení, nekvalitní krmivo (např. zaplísňené) a nadměrné

používání antibiotik [15]. Jako náchylnější k prototékové mastitidě jsou popisovány také dojnice v raném stadiu laktace [14, 15]. Prototékové mastitidy se nejčastěji vyskytují v subklinické formě, manifestují se zvýšeným počtem somatických buněk (PSB; v řádech 10^6) a výrazným snížením dojivosti v důsledku poškození tkání mléčné žlázy [7]. Efektivní léčba není v současnosti známa. Ačkoliv in vitro byla prokázána citlivost prototék k některým antibiotikům a antifungálním léčivům, při aplikaci v léčbě prototékových mastitid se ukázaly jako neúčinné [11, 16].

Odolnost prototék je připisována přítomnosti biopolymeru sporopoleninu v buněčné stěně těchto řas [20]. Izoláty řasy *P. zopfii* vykazují značnou variabilitu v odolnosti vůči pasteračním teplotám. 100% devitalizaci *P. zopfii* lze zaručit až při ohřevu infikovaného mléka na 100 °C po dobu 1 sekundy [13]. Z desinfekčních přípravků jsou jako vysoce účinné zmiňovány prostředky na bázi jódu. Testování tří komerčních přípravků pro desinfekci struků na bázi roztoku jódu, kyseliny dodecylbenzensulfonové (DBSA) a didecylmethylamonium chlorid (DDAC) poukázalo právě na nejvyšší účinnost u roztoku jódu, který vykazoval účinek i při stonásobném ředění. DDAC byl účinný při desetinasobném ředění a DBSA vyžadovala pro účinné použití aplikaci v neředěném stavu [8]. Prototéky jsou schopny přežívat v prostředí o pH 1 a 12, zvýšená schopnost růstu byla zaznamenána při hodnotách pH 5 až 9 [12]. Dalším faktorem přispívajícím k perzistenci prototék v prostředí je jejich schopnost vytvářet biofilmy i na hladkých površích jako jsou nerezové či gumové materiály [2].

Prototéka je považována za současně environmentální i kontagiózní mastitidní patogen. Jako prevence prototékových mastitid se doporučuje dodržování zoohygienických podmínek s důrazem na snížení vlhkosti prostředí, čistou a suchou podestýlku, pečlivé



ošetřování struků, hygienu dojení a zajištění vyvážené výživy kvalitním krmivem [15].

Vzhledem k tomu, že u určitého procenta infikovaných dojnic dochází k intermitentnímu vylučování tohoto patogenu do mléka, nemusí být prototéka při laboratorním vyšetření vždy detekována [18]. Pravidelná vyšetření bazénových vzorků na přítomnost *Prototheca* spp. a dalších mastitidních patogenů by měla být proto součástí rutinní praxe. Jestliže se prototéková mastitida ve stádě vyskytne, je nutné vyšetřit všechny čtvrtkové vzorky dojnic ve stádě. K přesné laboratorní diagnostice v současnosti napomáhají pokročilé metody typu real-time PCR a MALDI-TOF, které umožní spolehlivou identifikaci.



Vzhledem k absenci účinné léčby se v případě potvrzení prototékové mastitidy doporučuje pro zabránění dalšímu šíření přistoupit k vyřazení postižené dojnice [7].

Modelový případ výskytu řasy *Prototheca zopfii* v chovu dojnic a její vliv na kvalitu mléčné produkce

Za účelem přispět k pochopení prototékových mastitid a jejich dopadu na mléčnou produkci bylo v chovu dojnic (skot český strakatý 90 %, holštýnského 10 %), který byl znám jako problémový z hlediska výskytu prototékových mastitid, provedeno u jednotlivých zvířat mikrobiologické vyšetření mléka na zjištění přítomnosti řasy *Prototheca*. Vyšetření určilo prevalenci *Prototheca* pozitivních dojnic ve stádě 26,5 % (57/215) a na jeho základě byly dojnice rozděleny na skupiny prototéka pozitivní (P+) a prototéka negativní (P-). Při dojení byly odebírány směsné vzorky mléka tak, aby vzniklo 6 bazénových vzorků od P+ a 6 bazénových vzorků od P- dojnic. Tyto vzorky byly následně analyzovány na složení, zdravotní, mikrobiologické a technologické ukazatele. Pro provedení komplexního hodnocení byla rovněž využita data z kontroly užitkovosti skotu a kontroly kvality mléka.

Získané výsledky určily jako hlavní příčinu mastitid v daném chovu řasu *Prototheca*. Na tuto skutečnost poukázala významná pozitivní korelace (0,81 až 0,86) mezi PSB jako hlavním diagnostickým ukazatelem poruch sekrece mléka a počtem *Prototheca*. Významně vyšší PSB u mléka skupiny P+ ($814 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$ vs. $127 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$; obr. 1) demonstroval závažnost současné situace v chovu z hlediska zpeněžování mléka. Skutečnost, že PSB cca $280 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$ zjištěný v rámci kontroly kvality bazénového mléka před pokusným odběrem byl výrazně nižší než průměr PSB všech 12 vzorků mléka $471 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$, poukazuje na nutnost vylučování značné části mléka z dodávky a nezanedbatelné finanční ztráty.

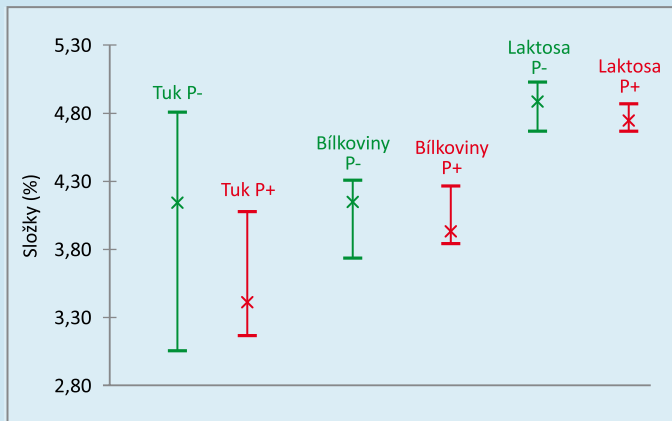
Přítomnost *Prototheca* jako jasně převažujícího mastitidního patogena v daném chovu potvrdilo i mikrobiologické vyšetření, které u všech 6 vzorků skupiny P+ potvrdilo přítomnost *Prototheca*, a to v množství $5,5 \times 10^3$ až $2,2 \times 10^4$ KTJ/ml. Ve skupině P- se *Prototheca* vyskytla ve zvýšeném počtu pouze u 1 vzorku ($3,9 \times 10^3$ KTJ/ml). Naopak v žádném z 12 vzorků nebyly identifikovány kontagiózní patogeny *Streptococcus agalactiae* a *Staphylococcus aureus*. Ve skupině P- byl ve dvou případech zachycen environmentální patogen *Enterococcus faecalis* v nízkých počtech ($3,0 \times 10^1$ KTJ/ml a $2,0 \times 10^2$ KTJ/ml), což může souviset s kontaminací v průběhu dojení, ne nutně s infekcí mléčné žlázy tímto patogenem. Ve skupině P+ byl zachycen ve třech případech rovněž environmentální patogen *Streptococcus uberis*, v tomto případě ve výraznějších počtech ($2,4 \times 10^4$ a $8,0 \times 10^5$ KTJ/ml). Lze tak předpokládat, že infekce *Prototheca* může být komplikována dalšími zejména environmentálními patogeny. Roli zde může hrát vliv snížené imunity současně se zvýšeným infekčním tlakem prostředí s nedostatky v zoohygieně jako rizikové faktory pro rozvoj mastitid.

Celkový počet mikroorganismů (CPM) byl významně nižší u P- než u P+ ($2,3 \times 10^3$ KTJ/ml vs. $2,5 \times 10^5$ KTJ/ml; obr. 2). Lze tak říci, že prototékové mastitidy představují rovněž problém pro hygienickou kvalitu mléka, a to i v souvislosti s tendencí ke komplikovaným infekcím více patogeny současně, jak bylo zmíněno výše. Z výsledků je totiž patrné, že kromě řasy *Prototheca* měl na vysoké hodnotě CPM u P+ značný podíl *Streptococcus uberis*.

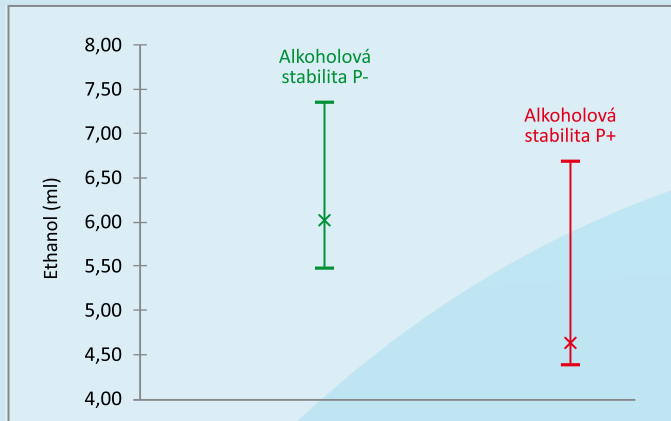
V rámci chemického složení byl u skupiny P+ zjištěn nižší obsah tuku, bílkovin, kaseinu, laktosy (obr. 3) a tukuprosté sušiny (obr. 4) Přestože se s výjimkou TPS jednalo o nevýznamné rozdíly, je tendence snižování obsahu těchto složek obecně v souladu se změnami ve složení mléka vlivem zánětu mléčné žlázy [10].



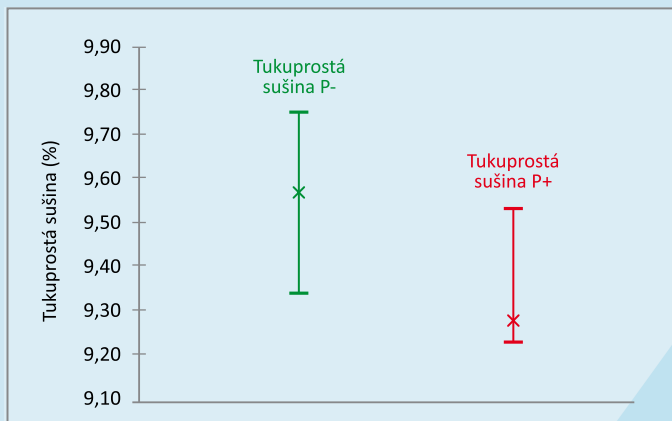
Obr. 3: Obsah složek v bazénovém mléce P- a P+ dojníc



Obr. 7 Alkoholová stabilita u bazénového mléka P- a P+ dojníc



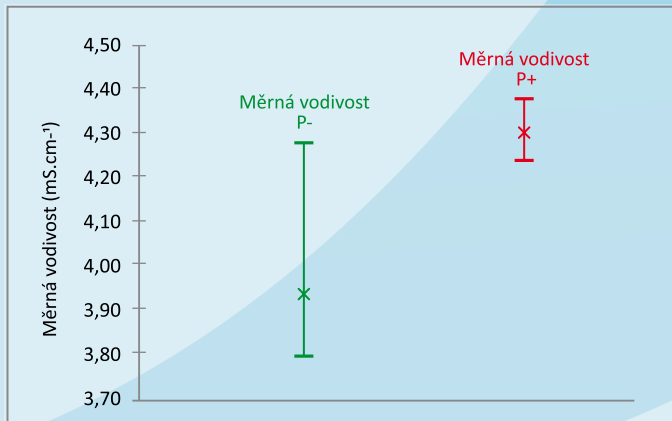
Obr. 4: Obsah tukuprosté sušiny v bazénovém mléce P- a P+ dojníc



Závěr

Řasa *Prototheca* se na úrovni jednotlivých chovů může stát původcem zodpovědným za převážnou část mastitid. Infekce *Prototheca* je častější u starších dojníc kolem 3. laktace a je záležitostí spíše hned počátku laktace, kdy je zvýšená vnímavost vůči mastitidám obecně. Prototékové mastitidy jsou příčinou ekonomických ztrát zejména v důsledku snížené dojivosti a nutnosti vylučování mléka s vysokým PSB z dodávky. Ovlivňují složení mléka a jeho fyzikálně-chemické a technologické vlastnosti: zvyšují elektrickou vodivost při zlepšení bodu mrznutí mléka, zhoršují alkoholovou stabilitu, působí alkalizaci mléka (nižší titrační kyselost) a mírně zhoršují kysací schopnost mléka. Toto narušení mléčné suroviny představuje riziko při jeho mlékárenském zpracování, a to zejména pro výrobky s vyšší přidanou hodnotou, které kladou vysoké nároky na mléčnou surovinu.

Obr. 5 Měrná vodivost u bazénového mléka P- a P+ dojníc



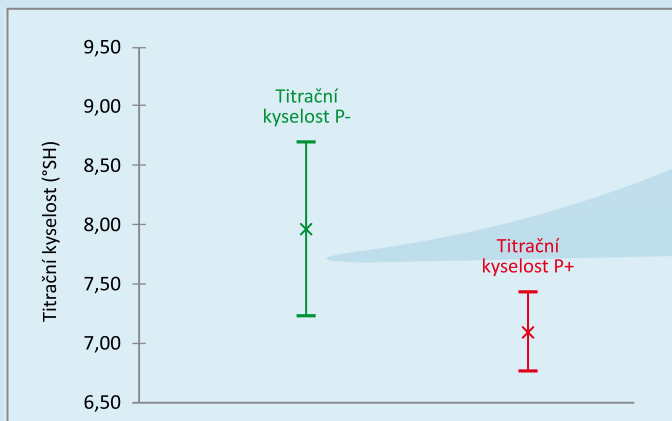
Vzhledem k tomu, že v současnosti není známá efektivní léčba prototékových mastitid, je pro chovatele klíčové výskyt této nákazy co nejdříve rozpoznat a zvolit odpovídající opatření pro zabránění dalšímu šíření.

Toto stručné, informačně-vzdělávací, praktické shrnutí bylo podporováno projektem MZe RO1422 a MZe NAZV Země QK 1910092. Dílčí aktivita Odboru živočišné výroby České akademie zemědělských věd.

Použitá literatura a další datové podklady jsou u autorů.

1 Anderson et al. 1988; 2 Goncalves et al. 2015; 3 Hofírek a Haas 2003; 4 a 5 Jagielski et al. 2019a, 2019b; 6 a 7 Jánosí et al. 2001a, 2001b; 8 Lassa et al. 2011; 9 Lavae et al. 2019; 10 Le Maréchal et al. 2011; 11, 12 a 13 Marques et al. 2006, 2009 a 2010; 14 Milanov et al. 2006; 15 Pieper et al. 2012; 16 Rapuntean 2017; 17 Ricchi et al. 2010; 18 Roesler a Hensel 2003; 19 Scaccabarozzi et al. 2008; 20 Ueno 2009; 21 Zeconi et al. 2020

Obr. 6 Titrační kyselost u bazénového mléka P- a P+ dojníc



1/2022

FENOTYP



DKU.CZ

ODBORNÉ INFORMACE, ZPRÁVY A ZAJÍMAVOSTI PRO CHOVATELE



Úvod – seznámení s metodami kontroly mléčné užitkovosti	4
Mléčná farma roku 2022	6
Výsledky KU u plemene holštýn – svět	10
Výsledky KU u strakatých plemen – svět	11
Mléčná užitkovost a kvalita mléka při subklinických mastitidách způsobených řasou prototheca	12
Mastitidy dojníc a moderní postupy jejich řešení	17
Holštýnské stádo okořeněné čestrem – Družstvo ZAGRA Kyjovice	23
Kariéra v DKU	38
Termíny chovatelských akcí	39

Okénko ČMSCH

Nahlédnutí do laboratoře iGenetiky	28
Inovace v laboratoři pro rozbor mléka v Brně	33
Proč a jak hlásit přirozenou plemenitbu do ústřední evidence	34

Okénko Plemdat

Od Cobolu k databázím	36
Bullselector - H	37

