

Vlastnosti vybraných bakterií mléčného kvašení izolovaných z nemléčných potravin

Vendula Matulíková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Vendula Matulíková
Osobní číslo:	T22205
Studijní program:	B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace:	Potravinářské biotechnologie a aplikovaná mikrobiologie
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Vlastnosti vybraných bakterií mléčného kvašení izolovaných z nemléčných potravin

Zásady pro vypracování

- Vypracujte literární rešerši zaměřenou na výskyt bakterií mléčného kvašení v potravinách nemléčného původu. Zaměřte se na jejich vlastnosti, které mohou ovlivňovat vlastnosti potravin, ve kterých se nacházejí.
- Dostupnými metodami charakterizujte vybrané kmeny bakterií mléčného kvašení izolované z potravin neobsahujících mléko.
- Výsledky vyhodnoťte, diskutujte a formulujte závěry práce.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

XU, Z., LUO, Y. et al. Spoilage Lactic Acid Bacteria in the Brewing Industry. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30(7): 955-961. 2020
NGUYEN, P. T., NGUYEN-THI, T. U. et al. Halophilic lactic acid bacteria — Play a vital role in the fermented food industry. *Folia Microbiologica*. 69: 305-321. 2024
XU, J., PENG, S. et al. A review on fermented vegetables: Microbial community and potential upgrading strategy via inoculated fermentation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 23(3): e13362. 2024
LAHTINEN, Sampo. Lactic acid bacteria. Boca Raton: CRC Press, 2012. ISBN 9781439836774
HOLZAPFEL, W. H. a WOOD, B. J. B. (ed.). Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy. Chichester: Wiley Blackwell, 2014. ISBN 9781444333831.
Elektronické zdroje dostupné z knihovny UTB ve Zlíně

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....

podpis autora

ABSTRAKT

Bakterie mléčného kvašení jsou proslulé svým významem pro potravinářství i krmivářství. Cílem této práce bylo zkoumat vybrané vlastnosti celkem 9 kmenů této skupiny bakterií původem z České sbírky mikroorganismů a izolovaných z rozličných druhů nemléčných potravin anebo krmiv.

U těchto bakterií mléčného kvašení byla zaměřena pozornost na tři oblasti, zaprvé schopnost růstu při různých teplotách, která byla sledována denzitometricky, zadruhé byla zkoumána schopnost tvorby biofilmu a vnějších faktorů na jeho tvorbu, a to za použití modifikované Christensenovy metody. Poslední vlastností byla antibiotická rezistence, jež byla zkoumána jak na fenotypové úrovni, tak na genotypové úrovni.

V práci bylo zjištěno, že všechny zkoumané kmeny lze považovat za mezofilní, přičemž většina kmenů vykazovala dobrý růst při 30 i 40 °C. U většiny kmenů byla rovněž pozorována tvorba biofilmu, avšak u dvou z nich se jednalo o schopnost danou zkoumanými podmínkami. Vliv teploty a přídavku sacharidů a soli na tvorbu biofilmu byl prokázán pouze u určitých kmenů. Zkoumané kmeny byly rezistentní ke třem až pěti antibiotikům. Tato práce tak doplňuje poznatky o těchto úžasných mikroorganismech.

Klíčová slova: Bakterie mléčného kvašení, růst, biofilm, antibiotická rezistence, fermentace

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are famous for its role in the food and feed industry. The aim of this bachelor's thesis was to examine some properties of 9 lactic acid bacteria strains obtained from the Czech collection of microorganisms which had been isolated from various non-dairy food sources or from feed.

In context of research, attention has been focused on three fields. Firstly, there has been monitored growth of the bacterial strains at different temperatures by spectrophotometer. Secondly, been examined ability to form biofilm has been examined and investigated the impact of external factors on ability to form this microbial structure through modified Christensen's method. The third characteristic – antibiotic resistance was examined at phenotype level and genotype level.

In this work, it was found that all examined strains could be considered as mesophiles and concurrently most of them have shown good growth properties in 30 and 40 °C. The most of strains was also shown ability to form biofilm. In the case of two biofilm producers this characteristic was determined by used cultivation conditions. The influence of temperature and content of carbohydrates and salt on ability to form biofilm has been observed in certain strains only. The strains tested were resistant to three to five antibiotics. This thesis thereby adds to the knowledge about these fascinating microorganisms.

Keywords: Lactic acid bacteria, growth, biofilm, antibiotic resistance, fermentation

Tato práce by buď vůbec nevznikla, anebo by vznikla ještě komplikovanější cestou, anebo by byla o něco nedokonalejší, než je, bez následujících lidí, kterým oprávněně patří můj vděk.

Na prvním místě děkuji prof. RNDr. Leoně Buňkové Ph.D., vedoucí mé práce, za její vstřícnost, odpovědi na mé otázky a za její zdánlivě záhadnou superschopnost opravit v textu celé práce i součástky tak nepatrné, jako jsou mezery a čárky mezi slovy. Na poli praktickém pak patří největší dík zejména paní laborantce Ing. Veronice Kučabové, ale také i paní laborantce Mgr. Markétě Havlišové, které mi byly nápomocné v laboratorní džungli.

Co se týče procesu vzniku bakalářské práce, své zásluhy má i Lucie Hofírková, díky níž jsou obrázky a schémata v teoretické části v českém jazyce a dále Tomáš Lekeš a Klára Šustrová, jež se zasloužili neuvěřitelnou záchranou podstatné části textu této práce z křemíkového záhrobí. Moc jste mi tímto pomohli.

Dále pak děkuji Ing. Ivaně Huňové, Ing. Pavlíně Píšové, Ing. Janě Šeré Ph.D. a Ing. Pavlu Plevovi Ph.D. za drobné rady a připomínky.

Díky patří také mým rodičům za podporu během mého studia.

A na závěr posílám ještě jedno poděkování, a to tvůrcům animovaného seriálu *Byl jednou jeden život*, jejichž podání složitých buněčných a biochemických procesů srozumitelnou formou mi v dětství otevřelo okno do tohoto neviditelného světa.

Kdyby to nebylo tak stresující, tak by mě to aj bavilo.

A pouze bůh, vskutku všemohoucí, viděl, že jsou to savci z jiného plemene – *Majakovskij*

OBSAH

ÚVOD.....	14
I TEORETICKÁ ČÁST	16
1 CHARAKTERIZACE BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	17
1.1 TAXONOMIE	17
1.1.1 Čeleď <i>Lactobacillaceae</i> a její revize.....	18
1.1.2 Rod <i>Leuconostoc</i>	18
1.1.3 Rod <i>Pediococcus</i>	19
1.1.4 Rod <i>Lacticaseibacillus</i>	19
1.1.5 Rod <i>Lactiplantibacillus</i>	19
1.1.6 Rod <i>Latilactobacillus</i>	20
1.1.7 Rod <i>Limosilactobacillus</i>	20
1.2 VÝZNAM BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	21
1.3 VÝSKYT BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	22
1.4 GENOM BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	23
1.5 BEZPEČNOST BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	23
2 VÝSKYT BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V NEMLÉČNÝCH POTRAVINÁCH.....	25
2.1 ROLE BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ PŘI PRODUKCI POTRAVIN	25
2.1.1 Bakterie mléčného kvašení v mase a fermentovaných masných výrobcích.....	26
2.1.2 Bakterie mléčného kvašení v rostlinných potravinách.....	27
2.2 KAŽENÍ POTRAVIN.....	29
2.2.1 Kažení kečupů, majonéz a dresingů.....	30
2.2.2 Kažení masa a masných výrobků	30
3 VLIV TEPLoty NA RŮST BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	32
3.1 NÍZKÉ TEPLoty	32
3.2 VYSOKÉ TEPLoty.....	33
3.3 RŮSTOVÁ KŘIVKA	33
3.3.2 Metody zjišťování průběhu růstové křivky	35
4 BIOFILM	38
4.1 VÝZNAM BIOFILMŮ BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	38
4.2 STRUKTURA BIOFILMU	39
4.3 TVORBA BIOFILMU	40
4.4 METODY ZKOUMÁNÍ TVORBY BIOFILMU	42
5 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE.....	44
5.1 MOŽNÁ RIZIKA SPOJENÁ S ANTIBIOTICKOU REZISTENCÍ BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	44

5.3	PŘENOS GENŮ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE V POTRAVINOVÉM ŘETĚZCI.....	47
5.4	METODY ZJIŠŤOVÁNÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE	48
5.4.1	Metody fenotypové.....	48
5.4.2	Metody genotypové	50
6	CÍLE PRÁCE.....	52
II	PRAKTICKÁ ČÁST	53
7	POUŽITÝ MATERIÁL	54
7.1	POUŽITÉ KMENY BAKTERIÍ	54
7.2	KULTIVAČNÍ MÉDIA.....	55
7.3	CHEMIKÁLIE A ROZTOKY	55
7.4	POUŽITÁ ANTIBIOTIKA.....	56
7.5	POUŽITÉ PRIMERY.....	56
7.6	POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	57
8	METODIKA.....	59
8.1	DENZITOMETRICKÉ MĚŘENÍ RŮSTOVÉ KŘIVKY PŘI RŮZNÝCH TEPLOTÁCH	59
8.2	ZJIŠŤOVÁNÍ TVORBY BIOFILMU.....	60
8.2.1	Stanovení tvorby biofilmu pomocí modifikované Christensenovy metody	60
8.2.2	Příprava bujónů ke zjišťování vlivu média na tvorbu biofilmu	61
8.3	ZJIŠŤOVÁNÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE.....	62
8.3.1	Zjišťování antibiotické rezistence diskovou difúzní metodou	63
8.3.2	Detekce přítomnosti vybraných genů antibiotické rezistence	64
9	VÝSLEDKY	69
9.1	SLEDOVÁNÍ RŮSTU PŘI RŮZNÝCH TEPLOTÁCH	69
9.1.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> CCM 1803	71
9.1.2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> CCM 2085	72
9.1.3	<i>Pediococcus acidilactici</i> CCM 4577	73
9.1.4	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> CCM 7052	74
9.1.5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> CCM 7039	75
9.1.6	<i>Latilactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> CCM 4302	76
9.1.7	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> CCM 7192	77
9.1.8	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i> CCM 4618.....	78
9.1.9	<i>Sporolactobacillus inulinus</i> CCM 7124.....	79
9.2	TVORBA BIOFILMU	80
9.2.1	Vliv teploty a doby kultivace na tvorbu biofilmu	80
9.2.2	Vliv složení živného média a doby kultivace na tvorbu biofilmu.....	81
9.3	ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE	83
9.3.1	Vyhodnocení antibiotické rezistence testované diskovou difúzní metodou.....	83
9.3.2	Detekce vybraných genů antibiotické rezistence	86

10	DISKUSE	90
10.1	RŮST BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ PŘI RŮZNÝCH TEPLOTÁCH	90
10.2	SCHOPNOST TVORBY BIOFILMU	95
10.2.1	Tvorba biofilmu u jednotlivých kmenů bakterií mléčného kvašení.....	95
10.2.2	Vliv různých podmínek na tvorbu biofilmu.....	96
10.3	ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE	99
	ZÁVĚR	108
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	109
	SEZNAM OBRÁZKŮ	145
	SEZNAM TABULEK.....	146
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	147
	SEZNAM PŘÍLOH.....	150

ÚVOD

Kdo jsou to bakterie mléčného kvašení? Žijí v nás, na nás, jíme je. Právě díky blízkému vztahu k člověku a v některých případech až domestikaci (mlékařské kultury, startovací kultury pro fermentované salámy), byly tyto organismy objeveny již roku 1857, a to Louisem Pasteurem, kdy byly ještě nazvány „kvasinkami mléčného kvašení“ (Chen, 2019).

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou tedy pro vědu objeveny více než 160 let, pravdou ale je, že nás provází již od počátku civilizace a pravděpodobně ještě déle. V těchto dávných dobách, kdy neexistovaly mnohé vymoženosti, jako je lednice, aseptické balení či mezinárodní obchod, bylo nutno potraviny jako je zelenina a maso uchovávat jinými způsoby. Kvašení, tedy jakési řízené kažení, je elegantním způsobem, jak potraviny a krmiva konzervovat. Jelikož jsou BMK poměrně nutričně náročné a neslynou zrovna silnou proteolytickou, amylolytickou či lipolytickou aktivitou, je jejich přeměna potravin *de facto* decentní a příjemná. Zároveň svou produkcí chemických látek jsou schopny odradit případně nežádoucí "breberky". Pro úplnost je však nutno dodat, že hranice mezi kvašením a kažením je tenká, a i mnohé BMK, např. z rodu *Leuconostoc*, dokážou občas potravináře potrápit.

BMK mohou růst na potravinové matrici ve formě biofilmu, který je v současnosti zkoumán i v rámci pozitivních aplikací, jako je produkce probiotik (Rezaei et al., 2023) nebo detoxikace potravin (Nahle et al., 2022). Zkoumání biofilmu v *in vitro* módu je však postiženo jistými neduhy:

- 1) žádný mikroorganismus v reálných podmínkách neroste izolovaně (což ostatně platí i pro makroorganismy), *zvláštění, že?*,
- 2) MRS médium se v prostředí běžně nevyskytuje.

Nicméně *in vitro* zkoumání tvorby biofilmu může poskytnout alespoň letmý náhled do tohoto kolektivního až inženýrského chování bakterií.

Antibiotická rezistence je ožehavé téma současnosti. Ostatně i biofilmy hrají roli při šíření genů antibiotické rezistence, což je dáno zejména vysokou koncentrací a vzájemnou blízkostí buněk v této struktuře. Antibiotická rezistence je ponejčastěji spojována s prokaryotickými celebritami klinického světa, jejichž zkratky VRE, CRAB či MRSA jsou známy mikrobiologům celého světa. I přes to má výzkum antibiotické rezistence u nepatogenních bakterií svůj význam, jelikož BMK jsou spolu s potravinami konzumovány v hojných počtech a část z nich je schopna prokrestit se nástrahami trávicího traktu a usadit

se v něm. Zde může k přenosu genů antibiotické rezistence z BMK na další komenzály a patogeny docházet. Schopnost přenosu byla prokázána v několika studiích (Toomey et al., 2009a; Toomey et al., 2010; Yang a Yu, 2019). Z tohoto důvodu EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin) nedoporučuje BMK hostící mobilní geny antibiotické rezistence uplatňovat jako startovací kultury.

A teplota zní poněkud banálně, ale je to kouzelná a tajnůstkářská veličina, která ovlivňuje, že se něco děje, a tak jako do všeho ve vesmíru, se propisuje i do růstu bakterií. Teplotní požadavky BMK pak utvářejí fermentaci a její průběh stejně tak schopnost růstu při nižších teplotách jistých BMK poukazuje na možnou schopnost kažení potravin uchovaných v relativním chladírenském bezpečí.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERIZACE BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ

Bakterie mléčného kvašení (BMK) hrají nezastupitelnou roli v různých fermentačních procesech (Bintsis, 2018). Název této skupiny bakterií se odvíjí od schopnosti zkvašovat různé sacharidy převážně na kyselinu mléčnou (Iskandar et al., 2019). Nejedná se však o jednotnou fylogenetickou skupinu (Pfeiler a Klaenhammer, 2007).

Bakterie patřící do této skupiny jsou grampozitivní, nesporulující (Bintsis, 2018) a až na výjimky (Neville et al., 2012), nepohyblivé (Mani-López et al., 2022). Zahrnují tyčinky a koky (Prihanto et al., 2024) uspořádané do dvojic, řetízků, případně mohou vytvářet i tetrády (Kieliszek et al., 2021).

Typické bakterie mléčného kvašení jsou za standardních podmínek acidotolerantní (König a Fröhlich, 2017), čemuž odpovídá jejich růstové optimum pH při 5,5-5,8 (Mokoena, 2017). Jsou organotrofní a striktně fermentativní, přičemž produkují kyselinu mléčnou jako hlavní konečný produkt přeměny sacharidů (König a Fröhlich, 2017). Tyto mikroorganismy mají komplexní nutriční požadavky na aminokyseliny, peptidy, nukleotidové báze, vitaminy, minerální látky, mastné kyseliny a sacharidy. Co se týče vztahu ke kyslíku, jsou nerespirující, ale aerotolerantní. Před škodlivými účinky kyslíku je chrání peroxidáza degradací peroxidu vodíku (Mokoena et al., 2017). Díky své aerotolerantní povaze osídlují zástupci BMK širokou škálu přírodních prostředí (Ammor a Mayo., 2007a), jako jsou např. fermentované potraviny, ovoce, květy, rhizosféra rostlin i sliznice (George et al., 2018).

1.1 Taxonomie

Za BMK jsou považovány bakterie patřící do kmene *Bacillota*, (podle LPSN, <https://lpsn.dsmz.de/order/lactobacillales>, viděno: 4.4. 2025) třídy *Bacilli* a řádu *Lactobacillales* (Price et al., 2012), který se dělí na čeledi *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae* a *Streptococcaceae* (De Melo Pereira et al., 2020; Capozzi et al., 2021), z nichž čeleď *Lactobacillaceae* obsahuje většinu rodů BMK (Parente et al., 2023).

Mezi BMK se někdy řadí rody *Bifidobacterium* nebo *Sporolactobacillus* s některými shodnými společnými znaky, avšak jedná se o taxony fylogeneticky nepříbuzné (Salminen a Von Wright, 2004).

1.1.1 Čeleď *Lactobacillaceae* a její revize

Před rokem 2020 bylo mezi BMK řazeno přes 300 druhů v 7 rodech a 2 čeledích, po revizi (Qiao et al., 2022) byly čeledi *Lactobacillaceae* a *Leuconostocaceae* sloučeny do společné čeledi *Lactobacillaceae* (Capozzi et al., 2021) s 36 rody obsahujícími původní rody *Lactobacillus*, *Paralactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Fructobacillus*, *Convivina*, *Oenococcus*, *Leuconostoc* a 28 nových rodů (dle LPSN <https://lpsn.dsmz.de/family/lactobacillaceae>, shlédnuto: 23.4.2025), které zahrnují i organismy dříve klasifikované jako rod *Lactobacillus* (Qiao et al., 2022). Od nástupu genomické éry se ukázalo, že rod *Lactobacillus* je stejně heterogenní jako typická bakteriální čeleď (Wittouck et al., 2019), zahrnoval 261 druhů (k březnu 2020), které byly velmi rozmanité na fenotypové, ekologické i genotypové úrovni (Zheng et al., 2020). Tento rod byl nově rozdělen do 25 rodů (Capozzi et al., 2021) a včetně pozměněného rodu *Lactobacillus*, který byl označen jako skupina *Lactobacillus delbrueckii* a *Paralactobacillus*, obsahuje 23 nových rodů *Holzapfeliella*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus*, *Lentilactobacillus* (Zheng et al., 2020), a doplněn o nově pojmenované rody *Euprator*, *Nicoliella*, *Periweissella*, *Philodulcibilactobacillus* a *Xylocopilactobacillus* (dle LPSN <https://lpsn.dsmz.de/family/lactobacillaceae>, shlédnuto: 23.4.2025).

Rodový termín „laktobacily“ bude i nadále v textu práce využíván pro označení všech organismů s morfologií tyčinek, které byly do roku 2020 zařazeny do čeledi *Lactobacillaceae* (Zheng et al., 2020). Následujících osm kapitol je zaměřených na rody bakterií, se kterými jsem pracovala v experimentální části práce.

1.1.2 Rod *Leuconostoc*

Rod *Leuconostoc* zahrnuje heterofermentativní druhy BMK vyskytující se v rozličných fermentovaných potravinách podílejících se i na kažení potravin (Raimondi et al., 2022). Taxonomie rodu *Leuconostoc* je z velké části založena na klasických fenotypových metodách a pravděpodobně bude nutné nové celogenomové zkoumání. Několik taxonomických reklasifikací na základě těchto metod bylo pro mikrobiology a odborníky z potravinářského průmyslu nedostatečných pro vymezení nového zástupce rodu

Leuconostoc (Kumar et al., 2022). Zkoumání pomocí srovnávací genomické analýzy může v blízké budoucnosti vést ke změně klasifikace rodu a druhů do něj náležících (Parente et al., 2023). Podle The List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) (<https://lpsn.dsmz.de/genus/leuconostoc> viděno: 15. 2. 2025) je do tohoto rodu zařazeno 18 platných druhů.

1.1.3 Rod *Pediococcus*

Rod *Pediococcus* náleží do čeledi *Lactobacillaceae* (Zheng et al., 2020). V roce 2015 bylo do tohoto rodu zařazeno pouze devět druhů, a to *P. acidilactici*, *P. clausenii*, *P. cellicola*, *P. damnus*, *D. dextranicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus*, *P. pentosus* a *P. stilesii*, které jsou považovány za legitimní zástupce tohoto taxonu (Todorov et al., 2023). Tento rod zahrnuje homofermentativní koky, jenž obývají různá prostředí jako je rostlinný materiál, maso a fermentované nápoje (Holzapfel a Wood, 2014).

1.1.4 Rod *Lacticaseibacillus*

Jedná se o rod zahrnující převážně homofermentativní mléčné tyčinky. Několik těchto druhů má ekonomický význam, neboť se uplatňují jako startovací kultury či probiotika. Zástupci tohoto rodu byli izolováni z fermentovaných potravin rostlinného či živočišného původu, výkalů a siláží (Zheng et al., 2020). Podle LPSN (<https://lpsn.dsmz.de/genus/lacticaseibacillus>, shlédnuto: 5.4. 2025) tento rod obsahuje 34 platných druhů mezi něž patří *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus paracasei* nebo *Lacticaseibacillus rhamnosus*.

1.1.5 Rod *Lactiplantibacillus*

Podle databáze LPSN se do tohoto rodu řadí 20 druhů (<https://lpsn.dsmz.de/genus/lactiplantibacillus>, shlédnuto 5.4. 2025). Tento rod zahrnuje homofermentativní mléčné tyčinky. Mnoho druhů z tohoto rodu je schopno metabolizovat širokou škálu sacharidů a fenolických sloučenin. Typicky bývají izolovány z fermentovaných rostlinných produktů, masa, mléka či obilovin, avšak část z nich je spojena i s hmyzem. *Lactiplantibacillus plantarum* má komerční význam jako startovací kultura (Zheng et al., 2020).

1.1.6 Rod *Latilactobacillus*

Do tohoto rodu se řadí homofermentativní mléčné tyčinky vyskytující se volně v prostředí. Jedná se o mezofilní a psychrotrofní bakterie, z nichž *Latilactobacillus sakei* a *Latilactobacillus curvatus* mají komerční význam jako startovací kultury v masném průmyslu. Zástupci tohoto rodu byli izolováni z chlazeného masa, fermentovaných masných výrobků a ryb, potažmo i z fermentované zeleniny (Zheng et al., 2020). Podle LPSN do tohoto rodu spadá 5 druhů (<https://lpsn.dsmz.de/genus/latilactobacillus>, shlednuto: 5.4. 2025).

1.1.7 Rod *Limosilactobacillus*

Mléčné tyčinky tohoto rodu jsou heterofermentativní a většina kmenů tohoto rodu produkuje extracelulární polymerní látky, díky čemuž získal tento rod svůj název (*limosus* - slizký). Kromě jediného známého zástupce *Limosilactobacillus fermentum*, se jedná o druhy adaptované na trávicí trakt obratlovců. Mezi další zástupce patří například *Limosilactobacillus reuteri*, *Limosilactobacillus pontis* či *Limosilactobacillus vaginalis* (Zheng et al., 2020). Doposud je dle LPSN řazeno do tohoto rodu 33 druhů (<https://lpsn.dsmz.de/genus/limosilactobacillus>, shlednuto: 5.4. 2025).

1.1.8 Rod *Loigolactobacillus*

Dle LPSN do tohoto rodu spadá 8 druhů (<https://lpsn.dsmz.de/genus/loigolactobacillus>, shlednuto: 5.4. 2025). Mezi zástupce tohoto rodu patří *Loigolactobacillus bifermentans* či oba poddruhy *Loigolactobacillus coryniformis* ssp. *coryniformis* a *Loigolactobacillus coryniformis* ssp. *torquensis*. Často se jedná o tyčinky nepravidelného tvaru. Různé druhy byly izolovány z potravin a siláží (Zheng et al., 2020).

1.1.9 Rod *Sporolactobacillus*

Přestože není *Sporolactobacillus* považován za BMK, je v této práci zahrnut z důvodu, že s ním byly provedeny experimenty. V roce 1963 byl zástupce tohoto rodu poprvé izolován z krmiva pro kuřata. Bylo zjištěno, že *Sporolactobacillus inulinus* tvoří terminálně umístěné endospory a je schopen se pohybovat pomocí bičíků. Sacharidy metabolizuje homofermentativně za produkce kyseliny mléčné (Kitahara a Suzuki, 1963), proto byl v minulosti řazen jako podrod rodu *Lactobacillus*. Vzhledem ke svým vlastnostem produkovat spory však byla tato bakterie později přiřazena k rodu *Sporolactobacillus*. V současnosti je rod *Sporolactobacillus* zařazen do kmene *Bacillota* a samostatné čeledi

Sporolactobacillaceae (podle <https://lpsn.dsmz.de/family/sporolactobacillaceae>, shlednuto: 4.4. 2025). Guo a kol. uvádí, že donedávna bylo známo pouze 11 druhů a 20 kmenů tohoto rodu (Guo et al., 2024).

1.2 Význam bakterií mléčného kvašení

Skupina BMK zahrnuje mikroorganismy vyskytující se v prostředí, jako součást rostlinné mikrobioty, komenzály lidí a zvířat i oportunní nebo obligátně patogenní bakterie (Gänzle, 2015). BMK jsou hojně konzumovány spolu s fermentovanými potravinami a nápoji (Casado Muñoz et al., 2014). Nalézají široké uplatnění v mlékárenství i dalších fermentačních technologiích, či krmivářství (Kieliszek et al., 2021). Ve vstupních zemědělských surovinách jsou přirozeně přítomny nebo jsou do nich záměrně přidávány jako startovací kultury za účelem kontroly fermentačního procesu, a mají proto hospodářský význam. Kromě toho pozitivně přispívají k výživovým a organoleptickým vlastnostem fermentovaných potravin a krmiv (Ammor a Mayo, 2007a). Navíc jsou uplatňovány jako ochranné kultury díky produkci řady antimikrobiálních látek.

V posledních desetiletích se BMK často používají jako probiotika, přičemž nejčastěji využívanými rody jsou zástupci mléčných tyčinek (dříve rod *Lactobacillus*) a rodu *Bifidobacterium*, který je fylogeneticky odlišný od BMK a nenáleží tak do této skupiny (Casado Muñoz et al., 2014). Bakterie, které jsou považovány za probiotika, mají pro spotřebitele příznivé účinky (Li et al., 2024), avšak probiotické vlastnosti jsou kmenově specifické (Zavišić et al., 2023), a ne všechny izoláty daného druhu prokázaly příznivý účinek na zdraví spotřebitele konzumujícího probiotika (Abdul Hakim et al., 2023).

Někteří zástupci se uplatňují i v dalších aplikacích, např. jako nosiče vakcín, startovací kultury v krmivech pro hospodářská zvířata (Li et al., 2024), v zemědělství (Raman et al., 2022) nalézají uplatnění např. jako biostimulační prostředky ke zlepšení růstu rostlin (George et al., 2018) a farmacii (Daba et al., 2021), kde se využívají např. dextrany syntetizované *Leuconostoc mesenteroides* (Singh et al., 2024). BMK proto mají širokou škálu aplikací, vysokou ekonomickou hodnotu (Li et al., 2024) a jejich význam v biotechnologiích roste (Kieliszek et al., 2021).

1.3 Výskyt bakterií mléčného kvašení

Obecně se BMK vyskytují na stanovištích s bohatou nabídkou živin. Vyskytují se na rozkládajícím se rostlinném substrátu a ovoci, v mléčných výrobcích, fermentovaném mase a rybách, kvásku, nakládané zelenině, či siláži (Douillard a De Vos, 2014). Byly izolovány také z gastrointestinálního traktu, dutiny ústní a vagíny člověka a zvířat (Ibraheim et al., 2023), nalezneme je také na hroznech, v hroznovém moštu a víně, a také v pivu (Douillard a De Vos, 2014). Tyto bakterie byly izolovány i z půdy či vody (Buron-moles et al., 2019).

Životní prostředí zástupců čeledi *Lactobacillaceae* zahrnuje obratlovce (většina izolátů rodů *Lactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Limosilactobacillus*), hmyz nebo rostliny (*Levilactobacillus*). Mezi rody s vícero přirozenými stanovišti se řadí *Lactocaseibacillus* a *Lactiplantibacillus*, druhy s neznámou ekologií jsou např. někteří zástupci rodu *Loigolactobacillus* (Parente et. al., 2023).

Většina druhů, které bývají izolovány z rostlin nebo fermentovaných rostlinných produktů, je, na rozdíl od druhů z živočišných zdrojů, aerotolerantní a jejich optimální růstová teplota je blízká teplotám suchozemských a vodních biotopů, takže většina druhů je schopna růst při teplotě 15 °C, ale nikoliv při 45 °C. Tyto druhy disponují geny kódujícími všestranný repertoár enzymů pro využití širokého spektra živin, včetně pentóz, sacharózy, laktózy, manitolu, celobiózy, dusičnanů, kyseliny citronové a kyseliny jablečné (Duar et al., 2017).

Zástupci rodu *Pediococcus* jsou často spojováni s fermentací zeleniny (Parente et al., 2023) a s kažením fermentovaných nápojů, zejména piva (Mokoena, 2017), ale mohou být izolováni i z dalších stanovišť. Totéž platí pro zástupce rodů *Leuconostoc* a *Weissella*, zatímco rody *Oenococcus*, *Fructobacillus* a nový rod *Periweissella* jsou úzce spojeny s rostlinami a kvašením rostlinných materiálů (Parente et al., 2023). *Oenococcus oeni* je bakterie mléčného kvašení, která je vysoce adaptovaná na prostředí hroznů a vína (Bech-Terkilsen et al., 2020).

Zástupci rodu *Sporolactobacillus* byli izolováni nejčastěji z půdy, kůry stromů či jejich zdroj není znám, zatímco menšina doposud známých druhů byla izolována z potravin (Guo et al., 2024).

1.4 Genom bakterií mléčného kvašení

Genomy BMK mají nízký podíl guaninu a cytosinu (Wu et al., 2017) a jejich velikost se pohybuje od 1,27 Mbp (*Lactobacillus iners*) do 4,91 Mbp (*Lentilactobacillus parakefiri*) (Li et al., 2024). Většina genomů BMK obsahuje přibližně 2000-3000 genů (De Vos, 2011). Během oddělení od třídy *Bacilli* ztratily v průběhu evoluce asi 1000 genů kódujících sporulaci, kofaktory, hemové cytochromy a katalázu (König a Fröhlich, 2017). Dalším znakem redukce genomu je také přítomnost pseudogenů (Wu et al., 2017), která je u BMK vyšší v porovnání s jinými bakteriemi (Schroeter a Klaenhammer, 2009). Adaptace na nutričně bohaté prostředí je pravděpodobně příčinou těchto jevů (Teusink a Molenaar, 2017).

Narozdíl od BMK, rod *Sporolactobacillus* nemá tak vysoké nutriční požadavky (Guo, et al. 2024) a sdílí některé vlastnosti (tvorba spor, pohyblivost) s rodem *Bacillus* (Huang et al., 2007). Průměrná velikost genomu v případě tohoto rodu je 3,48 Mbp, načež nejobsáhlejší známý genom patří druhu izolovanému z prostředí chudého na živiny (Guo et al., 2024).

BMK také získaly několik genů duplikací a horizontálním přenosem, což se týká genů biosyntézy mureinu a vitamínu B12, nových funkcí genů kódujících obvykle rezistenci k antibiotikům, obranným mechanismům fágů a IS elementům (inserčním sekvencím) (König a Fröhlich, 2017). BMK disponují kruhovými i lineárními plazmidy zodpovědnými za produkci bakteriocinů, obranné mechanismy proti fágům a rezistenci vůči antibiotikům (König a Fröhlich, 2017; Cui et al., 2015). Buňky BMK chrání před cizí DNA i systémy CRISPR-cas (nukleázový systém, klastry krátkých pravidelně rozmístěných palindromických repetit) (Crawley et al., 2018).

1.5 Bezpečnost bakterií mléčného kvašení

Bezpečnost BMK je předpokládána v návaznosti na historii bezpečného používání jako startovacích kultur a/nebo probiotik (Pariza et al., 2015). I přesto však použití mikrobiálního kmene patřícího k druhu s uznávanou historií bezpečného používání v potravině podléhá zvážení potenciální přítomnosti nežádoucích vlastností (Bourdichon et al., 2019) jako jsou schopnost způsobovat onemocnění, spojitost s toxickými účinky a přenosem genů rezistence vůči antibiotikům (Colombo et al., 2020). Veřejně dostupné sekvence genomu mnoha probiotických a fermentačních startovacích kultur umožňují studovat přítomnost nežádoucích genů (Pariza et al., 2015).

Řadu zástupců BMK Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických (FDA) uvádí na seznamu obecně uznávaných za bezpečné (GRAS), v případě Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) jim je udělen status kvalifikovaného předpokladu bezpečnosti (QPS) (Mora-Villalobos et al., 2020). Nicméně *Enterococcus* je jedním z rodů BMK využívaným v potravinářství i jako probiotikum (Kavitake et al., 2023), přestože nemá bezpečnostní status GRAS (Araújo a Ferreira, 2013). Mezi rody s patogenními zástupci patří také *Streptococcus* (Li et al., 2024).

Přestože jsou druhy BMK široce používány a uznávány jako bezpečné potravinářské a krmné přísady, byly v literatuře popsány vzácné případy závažných infekcí člověka i zvířat způsobené BMK, včetně bakteriémie, endokarditidy, pleuropneumonie, meningitidy a infekcí močových cest. Tyto infekce se vyskytují především u pacientů se závažnými primárními onemocněními, u imunokompromitovaných, nedonošených novorozenců nebo starších osob (Stefańska et al., 2021).

U některých laktobacilů byla prokázána přítomnost genů virulence získaných horizontálním přenosem obecně spojovaným s patogenními mikroorganismy, jako jsou např. *Staphylococcus* sp. (Zarzecka et al., 2020). Laktobacily se na onemocnění podílejí velmi zřídka. Výskyt bakteriémie způsobené laktobacily, respektive mléčnými tyčinkami, se odhaduje na 0,1-0,3 % všech případů bakteriemií (Gueimonde et al., 2016), podíl u endokartitid se pohybuje mezi 0,05-0,4 % (Bernardeau et al., 2006).

2 VÝSKYT BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V NEMLÉČNÝCH POTRAVINÁCH

BMK se nacházejí v celé řadě potravin, ať jsou zde žádoucí (Zapašník et al., 2022) nebo nežádoucí (Lyhs a Björkroth, 2008). Jejich význam v potravinářství může být mnohoznačný, například v pivovarství jsou považovány za kontaminanty (Riedl et al., 2019), zároveň však jsou v některých typech piv (např. Lambic) nedílnou součástí (Dysvik et al., 2020).

BMK jsou nezbytné pro fermentaci řady nemléčných potravin, ať už živočišného původu (masa, ryb) tak rostlinného (zelenina, obiloviny) (Hatti-Kaul et al., 2018). BMK jsou nezbytné také pro fermentaci krmiv (siláží) (Miranda et al., 2021).

Mohou být přirozeně přítomné v surovině anebo být přidávány jako startovací kultury, což jsou jednotlivé nebo smíšené kmeny s určitou enzymatickou aktivitou, které jsou po přidání v definované koncentraci schopny přeměnit surovinu na potravinářský výrobek (Laranjo et al., 2017), a které zajišťují požadovanou mikrobiologickou stabilitu výrobku (Grujović et al., 2022; Zhao et al., 2024). Oproti tomu spontánní fermentace je výsledkem konkurence různých autochtonních a kontaminujících mikroorganismů. Ty, které se nejlépe přizpůsobí podmínkám během fermentace, nakonec převládnu. Inicie spontánního procesu trvá poměrně dlouho a je u ní vysoké riziko selhání (Rodríguez et al., 2009). Zastoupení BMK je v tomto případě ovlivněno zejména surovinami používanými k fermentaci, časem, teplotou, geografickými podmínkami a dalšími faktory, přičemž výsledkem jsou fermentované potraviny s jedinečnými vlastnostmi (Wang et al., 2023). Spontánní fermentace se častěji využívá při fermentaci rostlinných materiálů než těch živočišných (Jasiak a Amund, 2022).

2.1 Role bakterií mléčného kvašení při produkci potravin

Kvašení je konzervační metoda, která je, díky své technologické a ekonomické nenáročnosti, jednou z nejstarších a nejrozšířenějších (Cai et al., 2024). BMK hrají důležitou roli v potravinářském průmyslu díky produkci kyselin, ale také díky produkci různých látek, jako jsou ethanol, aromatické sloučeniny, extracelulární polymerní látky a bakteriociny (Peng et al., 2020), z nichž řada inhibuje růst nežádoucích mikroorganismů (García-Díez a Saraiva, 2021). Fermentační technologie umožňují konzervaci potravin a zároveň jim dodávají

požadované organoleptické vlastnosti (Zapašnik et al., 2022). Neméně podstatný je také jejich podíl na textuře (Cirat et al., 2024).

Vlastnosti, jako jsou nutriční, environmentální a adhezivní adaptace, umožňují BMK obývat prostředí potravinových matric, jako jsou mléčné výrobky, maso, zelenina a kváskový chléb (Bintsis, 2018).

2.1.1 Bakterie mléčného kvašení v mase a fermentovaných masných výrobcích

Maso představuje díky svému vysokému obsahu vody, bílkovin a neutrálnímu pH vhodné prostředí pro mikroorganismy (Woraprayote et al., 2016). V mase a masných výrobcích mohou být BMK v roli původců jejich kažení, avšak mohou sloužit i jako startovací a ochranné kultury (Marcelli et al., 2024).

Během procesu zrání se populace BMK stává dominantní ve fermentovaném mase a dosahuje hodnot přesahujících 6 až 8 log CFU/g v důsledku jejich optimální adaptace na prostředí těchto výrobků (Carneiro et al., 2024).

Při zrání fermentovaných masných výrobků (FMV) se uplatňují jak nestartovací (Grujović et al., 2022), tak komerční startovací kultury BMK (Laranjo et al., 2017). Nadměrná produkce kyselin (včetně kyseliny mléčné), přeměna proteinů nebo produkce biogenních aminů však mohou být metabolickými specifiky některých BMK, které lze považovat za projevy kažení. Proto musí být u každé nové bakteriální kultury s použitím jako startovací (nebo přídatné) provedeno podrobné zhodnocení možných negativních účinků (Carneiro et al., 2024).

Vlivem produkce kyselin BMK dochází při výrobě fermentovaných masných výrobků ke koagulaci svalových bílkovin, čímž ztrácejí schopnost zadržovat vodu, což se odrazí na konzistenci (Drosinos et al., 2007), která se změní na pevnější a žvýkavější. Po nasolení syrového masa se určité bílkoviny rozpustí a denaturují vlivem okyselení, čímž se vytvoří homogennější struktura (De Souza et al., 2023). V kyselém prostředí dochází také k lepšímu zrání a rozvoji barvy (Drosinos et al., 2007).

BMK v technologii FMV zajišťují potlačení patogenů a prodloužení trvanlivosti (Lücke, 2000) díky produkci bakteriocinů, kyseliny mléčné a H_2O_2 (Rzepkowska et al., 2017). Jejich význam spočívá i v získání nových organoleptických vlastností suroviny (Lücke, 2000). U některých BMK byla ve FMV zaznamenána produkce problematických biogenních aminů (Barbieri et al., 2019).

Startovací kultury BMK používané při výrobě fermentovaných masných výrobků musí vykazovat toleranci k vyššímu obsahu kyselin a solí NaCl a NaNO₂ (Hu et al., 2022), které se do nich přidávají (Keuleyan et al., 2022). Žádoucí je také schopnost růstu při nižších teplotách (Agüero et al., 2020). *Latilactobacillus sakei*, *Latilactobacillus curvatus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus pentosus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Pediococcus pentosaceus* a *Pediococcus acidilactici* jsou druhy nejčastěji používané jako komerční startovací kultury přidávané do masa (Ammor a Mayo, 2007a).

Latilactobacillus sakei a *Latilactobacillus curvatus* se však nachází i ve spontánně fermentovaných masných výrobcích (Milani et al., 2024), dokonce i v rybích FMV (Belleggia et al., 2022). *Latilactobacillus sakei* je ve spontánně fermentovaných výrobcích nejčastějším druhem, v menší míře jsou zastoupeny *Latilactobacillus curvatus*, *Lactiplantibacillus plantarum* (Stavropoulou et al., 2018; Van Reckem, 2019) a některé pediokoky a leukonostoky (Stavropoulou et al., 2018). Další rody vyskytující se ve FMV jsou *Enterococcus* a *Weissella* (Erdoğan et al., 2021).

2.1.2 Bakterie mléčného kvašení v rostlinných potravinách

Rostliny obsahují mikroorganismy, které mají zásadní význam pro jejich výživu, zdravotní stav a obranu (Filannino et al., 2018). Jako epifyty jsou nejčastěji identifikovány mléčné tyčinky a druhy patřící do rodů *Leuconostoc*, *Weissella*, *Enterococcus* a *Pediococcus*, jejichž výskyt závisí na druhu ovoce či zeleniny. Nejfrekventovaněji nalézány druhy jsou *Weissella cibaria/confusa* a *Lactiplantibacillus plantarum*. Nicméně v ovoci a zelenině jsou BMK zastoupeny poměrně málo (2-4 log CFU/g) (Di Cagno et al., 2013). Některé BMK žijí uvnitř rostlin jako endofyty a mohou přežívat v semenech (Lamont et al., 2017) a následně odtud přecházet do mouky a do kvásku (Suo et al., 2021). BMK se nacházejí v mnoha potravinářských materiálech jako právě v kvásku (Wang et al., 2021), podílejí na fermentaci sójových produktů (Elhalis et al., 2024) či kakaových bobů (Figuerola-Hernández et al., 2019). BMK izolované z rostlin se mohou uplatnit jako startovací kultury pro výrobu rostlinných alternativ mléčných výrobků. (Huang et al., 2023).

Čerstvá a minimálně zpracovaná zelenina má obecně krátkou trvanlivost, protože může být vystavena kontaminaci patogeny. K vyřešení tohoto problému se užívají fermentační technologie, které zachovávají a zvyšují bezpečnost, nutriční a organoleptickou hodnotu a trvanlivost zeleniny (Yang et al., 2020).

2.1.2.1 Nakládáná zelenina

BMK se přirozeně vyskytují na povrchu zeleniny (Einson et al., 2018) jako je zelí, mrkev, řepa či okurky (Miller, 2019). Po nastolení podmínek fermentačního procesu BMK začnou prosperovat a produkovat organické kyseliny, přičemž nízké pH a vysoká salinita potlačuje růst nežádoucích mikroorganismů (Einson et al., 2018). Sekundární rostlinné metabolity, jako jsou např. fenolické sloučeniny v zelí, mají vliv na mikrobiální společenstva. Mezi BMK snášející vyšší hladiny fenolických sloučenin patří například *Lactiplantibacillus plantarum*, *Weissella* spp., *Levilactobacillus brevis* a *Leuconostoc mesenteroides*, což souvisí se schopností tyto sloučeniny metabolizovat (Tlais et al., 2022).

Mléčné kvašení zeleniny má dnes průmyslový význam při fermentaci okurek, zelí a oliv. Některé další druhy zeleniny (např. mrkev, francouzské fazolky, artyčoky, kapary a lilky) rovněž zvyšují své nutriční a organoleptické vlastnosti, včetně prodloužení trvanlivosti dané fermentací za standardizovaných průmyslových podmínek (Héctor Rodríguez et al., 2009).

Nakládané zelí se obvykle vyrábí spontánní fermentací na základě populací autochtonních BMK. Mikroorganismy, které se podílejí na fermentaci nakládaného zelí (Erdoğan et al., 2023), jsou *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactiplantibacillus pentosus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactiplantibacillus plantarum* a *Weissella* sp. (Alan a Yildiz, 2022). Zastoupení BMK se během fermentace proměňuje (Plengvidhya et al., 2007). Existuje mnoho fermentovaných asijských zeleninových pokrmů, jako např. khalpi, kimči či paocai, z nichž byly izolovány BMK (Tamang et al., 2016; Jung et al., 2022; Xu et al., 2024).

Ve spontánně kvašeném kimči, obvykle převažují BMK jako jsou *Leuconostoc*, mléčné tyčinky (dříve *Lactobacillus*) a *Weissella*, nejzastoupenější druhy jsou *Leuconostoc mesenteroides* a *Lactiplantibacillus plantarum* (Xiao et al., 2024).

2.1.2.2 Fermentované olivy

Na fermentaci oliv se podílí široké spektrum BMK (Abouloifa et al., 2024). Nejčastějšími izoláty ze stolních oliv jsou zástupci mléčných tyčinek (Hurtado et al., 2012) s převládajícími druhy *Lactiplantibacillus plantarum* a *Lactiplantibacillus pentosus* (Doulgeraki et al., 2013). Výskyt však záleží na odrůdě oliv či podmínkách fermentace. V menší míře byly izolovány také zástupci rodů *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* a *Lactococcus* (Hurtado et al., 2012).

Vznikající kyselina mléčná potlačuje růst jiných bakterií, které mohou olivy kazit. Zatímco *Leuconostoc* produkuje menší množství kyseliny mléčné, homofermentativní mléčné tyčinky produkují vyšší množství této kyseliny (Hurtado et al., 2012). BMK spolu s kvasinkami tvoří na povrchu oliv biofilm (Arroyo-López et al., 2012).

2.1.2.3 Siláž

BMK se významně podílejí v oblasti krmivářství při silážování, což je proces směřující ke konzervování čerstvé píce a rostlinných zbytků za anaerobních podmínek (Okoye et al., 2023).

BMK jsou na travinách obvykle přítomny v 1000krát nižším počtu oproti hlavním konkurentům, houbám a enterobakteriím. Po silážování dojde k vytvoření anaerobního prostředí (Yitbarek a Tamir, 2014), kde BMK začnou metabolizovat jednoduché rostlinné sacharidy na organické kyseliny (Kim et al., 2021). Za příznivých podmínek BMK rychle okyselí siláž do té míry, že konkurenční organismy nejsou schopny přežít, a konečným výsledkem je stabilní siláž (Yitbarek a Tamir, 2014) s pH kolem 4 (Hu et al., 2024; Kim et al., 2021).

Za účelem stimulace fermentace se do siláže přidávají (Yitbarek a Tamir, 2014) zvláště homofermentativní druhy BMK, jako jsou *Lactiplantibacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* a *Pediococcus* spp. Často jsou zahrnuty i heterofermentativní BMK (např. *Lentilactobacillus buchneri*), které rostou pomaleji a produkují větší množství kyseliny octové, která inhibuje plísně (Ellis et al., 2016; Okoye et al., 2023). V silážích se nachází rody *Enterococcus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* (Muck, 2013), *Lactiplantibacillus*, *Lactococcus*, přičemž jejich zastoupení se mění v závislosti na druhu silážované rostliny (Pang et al., 2011).

2.2 Kažení potravin

Kažení znamená jakoukoli změnu potravinářského výrobku, která jej činí pro spotřebitele nepřijatelným ze sensorického hlediska. Mikrobiální kažení je jeho nejčastější příčinou a může se projevovat jako viditelný růst (sliz, kolonie), texturní změny (degradace polymerů) nebo jako pachové a chuťové vady (Gram et al., 2002).

BMK jsou také známy jako bakterie způsobující kažení potravin a mohou představovat problém pro potravinářský průmysl. Ve většině případů BMK kazící potraviny pochází

z prostředí výroby nebo ze surovin a jsou odolnější vůči zátěži prostředí. Způsobují kontaminaci nebo znehodnocení masných výrobků, sýrů, nakládaných okurek, majonézy, salátových dresinků, sójových produktů a taktéž nápojů piva, vína, saké (Kubota et al., 2008) a ovocných šťáv (Gram et al., 2002). Při kažení piva a vína produkují určité kmeny extracelulární polymerní látky (EPS) způsobující vazkost (Rodríguez-Saavedra et al., 2020; Suzuki, 2011). Mléčné tyčinky (dříve *Lactobacillus*) a *Pediococcus* jsou nejběžnějšími grampozitivními bakteriemi, které kazí pivo. Díky toleranci chmele má zejména *Levilactobacillus brevis* schopnost růst v pivu a negativně měnit vzhled, chuť a vůni výrobku (Riedl et al., 2019). BMK se taktéž považují za příčinu akumulace biogenních aminů ve fermentovaných potravinách, jež mohou mít toxické účinky na spotřebitele (Barbieri et al., 2019).

Na rozvoj BMK mají vliv parametry konzervace, např. pH, teplota, složení atmosféry a přítomnost chemických konzervačních látek (Gram et al., 2002). Odolnost vůči soli a kyselině octové má za následek znehodnocení majonéz. Některé kmeny mléčných tyčinek mohou přežívat ve vysokých koncentracích kyseliny octové a jsou zodpovědné za kažení octa (Kubota et al., 2008). V některých speciálních druzích octa jsou však žádoucí (Li et al., 2014).

2.2.1 Kažení kečupů, majonéz a dresingů

Kečup je považován za relativně trvanlivou potravinu díky svému nízkému pH ($\text{pH} < 4$), tepelnému ošetření během výroby a přidavku chemických konzervačních látek. V kyselém prostředí kečupů se proto jako zástupci bakterií objevují BMK. Heterofermentativní mléčné tyčinky jsou zodpovědné za produkci plynu (Bjorkroth a Korkeala, 1997). Taktéž majonézy a salátové dresinky z obdobných důvodů bývají kaženy BMK, což se projevuje zkysnutím, které navíc může být doprovázeno tvorbou plynu. V těchto produktech byly nalezeny např. *Fructilactobacillus fructivorans*, *Levilactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici* (Osaili et al., 2023), *Lactiplantibacillus plantarum* a *Limosilactobacillus fermentum* (Waite et al., 2009).

2.2.2 Kažení masa a masných výrobků

BMK představují kontroverzní skupinu, neboť některé kmeny přispívají k tvorbě nežádoucích metabolitů a následnému organoleptickému znehodnocení masa, byť jiné produkují bioprotektivní látky, přičemž některé kmeny vykazují sníženou schopnost kažení a inhibiční aktivitu vůči kazícím mikroorganismům (Pothakos et al., 2015).

Maso a masné výrobky představují příznivé prostředí pro růst díky faktorům, jako je pH 5- 6,5, vysoká hodnota a_w (0,95-0,99), dostupnost živin, relativní vlhkost, teplota a složení balicí atmosféry. BMK, které se nejvíce podílejí na kažení masa, jsou heterofermentativní mléčné tyčinky, *Latilactobacillus curvatus* a *Latilactobacillus sakei*, heterofermentativní leukonostoky, *Carnobacterium* spp. a v menší míře homofermentativní mléčné tyčinky a *Pediococcus* spp. (Marcelli et al., 2024). Heterofermentativní BMK se obvykle podílejí na kažení masa více než homofermentativní rody. Proto komerčně dostupné startovací kultury pro výrobu FMV se skládají z homofermentativních mléčných tyčinek a *Pediococcus* ssp. Tyto BMK produkují téměř výhradně kyselinu mléčnou, která je senzoricky relativně příjemná, zatímco heterofermentativní druhy produkují méně žádoucí látky, jako je CO₂, ethanol, kyselinu octovou a acetoin. Za určitých podmínek mohou způsobovat zelenání masa (Krockel, 2013). BMK také produkují extracelulární polymerní látky, což se projevuje slizovitostí (Iulietto et al., 2016).

K prodloužení trvanlivosti čerstvého masa nebo tepelně opracovaných masných výrobků se často používá vakuové balení a skladování v chladu (Húngaro et al., 2016).

Vařené maso, ale třeba také uzeniny, mohou být po tepelné úpravě sekundárně kontaminovány během manipulace s výrobky a krájením před balením. Při anaerobním skladování v chladu, např. při vakuovém balení nebo balení v modifikované atmosféře, začnou BMK v procesu kažení převládat (Samelis et al., 2000), neboť jsou schopny růstu za anaerobních podmínek (Rombouts et al., 2020). Metabolická aktivita se projevuje nadouváním obalu v důsledku tvorby plynu (Samelis et al., 2000), Kazící mikroorganismy vakuově baleného nebo masa baleného v modifikované atmosféře tvoří především mléčné tyčinky, převážně *Latilactobacillus sakei* a *Latilactobacillus curvatus*, dále *Leuconostoc* spp., *Weisella* spp. a *Carnobacterium* spp. (Vermeiren et al., 2004). Po delší době skladování jsou převládající mikrobiotou psychrotrofní BMK (Yost a Nattress, 2002).

3 VLIV TEPLoty NA RŮST BAKTERÍÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ

Teplota je jedním z vnějších faktorů, které ovlivňují růst mikroorganismů v potravinách (Zurera-Cosano et al., 2006). Každý organismus vykazuje minimální, optimální a maximální teplotu růstu a jsou jeho důležitými charakteristikami, avšak tyto charakteristiky jsou ovlivňovány i dalšími faktory prostředí, jako je dostupnost živin, pH či vodní aktivita (Adams et al., 2024).

Při řízení bioprocusů v biotechnologiích a při bezpečném zacházení s potravinami, je důležité popsat vliv teploty na růst mikroorganismů (Matejčková et al., 2016). Pro zamezení znehodnocování potravin je důležité znát schopnosti určitých BMK (např. *Leuconostoc mesenteroides*) množit se v potravinářském výrobku za podmínek, které nastávají při zpracování, konzervaci, skladování a distribuci (Zurera-Cosano et al., 2006). Stejně tak jsou tyto znalosti důležité k optimalizaci fermentačních procesů (Di Biase et al., 2022). Nástrojem pro předvídání růstu mikroorganismů jsou matematické modely v rámci prediktivní mikrobiologie (Zurera-Cosano et al., 2006).

Při snížení teploty pod optimální rozsah pro růst jsou bakteriální buňky vystaveny teplotnímu stresu. I malé teplotní rozdíly mohou mít významný vliv na jejich životaschopnost. Proto by teplota v různých fázích výroby a skladování potravin měla být vhodná pro konkrétní kmeny, což je důležité zejména u potravin obsahující probiotika (Sionek et al., 2024), u nichž je důležité zachovat určitý počet životaschopných buněk ve výrobku (Acosta-Piantini et al., 2024).

3.1 Nízké teploty

Nízké teploty (ale vyšší než 0 °C) se používají pro fermentaci během zrání sýrů a pro skladování fermentovaných výrobků, aby se zabránilo jejich kažení. Nízké teploty tlumí základní metabolismus tím, že snižují fluiditu buněčných membrán, enzymatickou aktivitu a účinnost transkripce RNA a syntézy proteinů. Chladírenská teplota může zastavit růst, ale obecně není pro buňky letální (Wang a Zhong, 2024). Zachovávání životaschopnosti při nízkých teplotách skladování je důležitou vlastností pro probiotické BMK.

De Angelis a Gobbetti (2004) uvádí, že při poklesu teploty přibližně o 20 °C pod optimální růstovou teplotu jsou mléčné tyčinky schopny přizpůsobit se suboptimální teplotě a pokračovat v růstu se sníženou rychlostí a s prodloužením doby lag fáze. Například

6 různých druhů mléčných tyčinek je schopno růst při 15 °C, avšak již při 7 °C nerostou (De Angelis a Gobbetti, 2004).

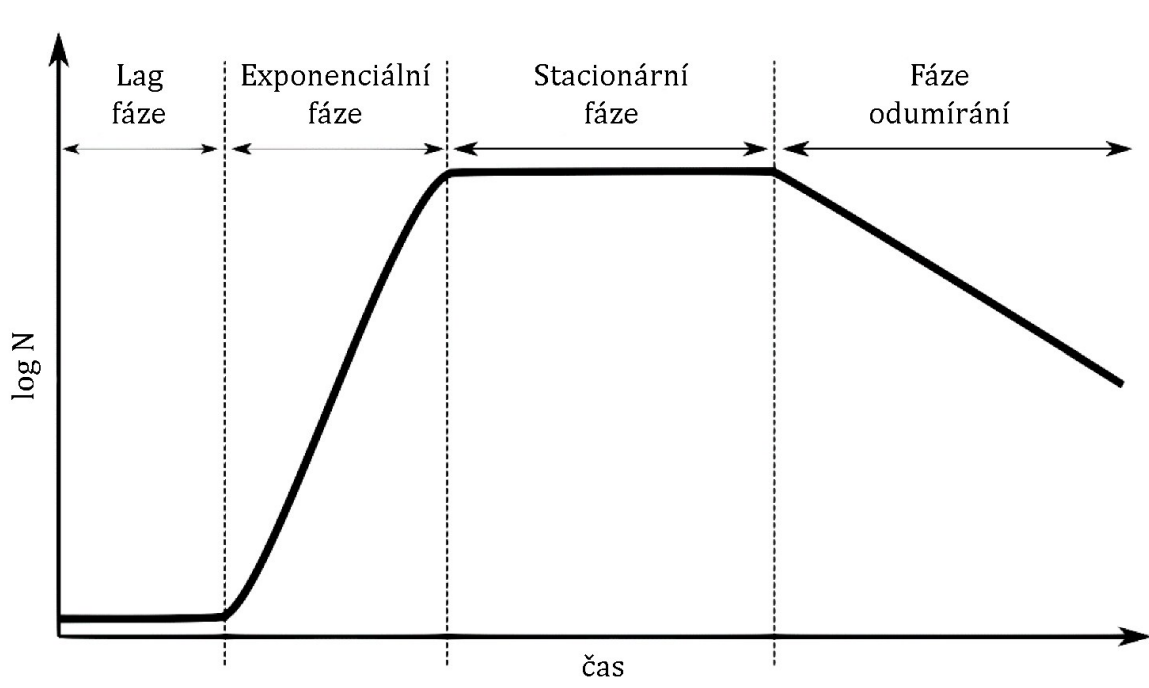
3.2 Vysoké teploty

Teplotní stres může vést k rozkládání a následné agregaci proteinů a degradaci a destabilizaci nukleových kyselin, což způsobuje útlum buněčného metabolismu. Kromě toho mohou vysoké teploty zvýšit fluiditu membrán a narušit tak buněčné aktivity (Wang a Zhong, 2024).

Na potlačení nepříznivých účinků tepla bakterie syntetizují tzv. heat shock proteiny (HSP), což je soubor proteinů indukovatelných právě teplem. Hlavní HSP se podílejí na opravě jiných poškozených proteinů. S tepelným stresem se běžně setkává mnoho BMK, například při fermentaci potravin či pasterizaci. Některé druhy mléčných tyčinek jsou relativně termotolerantní, například termizaci mléka (60 °C, 5 min) přežívá 90 % buněk *Lactocaseibacillus paracasei* 8R2. Na rozdíl od BMK izolovaných z potravin se jejich komenzální a patogenní souputníci setkávají s méně drastickými výkyvy teploty díky termoregulaci svého hostitele (Papadimitriou et al., 2016).

3.3 Růstová křivka

Růst bakteriální kultury zavedené do čerstvého média v uzavřeném systému, jako je zkumavka, vykazuje vždy následující fáze (Wang et al., 2015): lag fázi, exponenciální fázi, stacionární fázi a fázi odumírání (Rolfe et al., 2012). Tyto fáze se výrazně liší počtem buněk (obrázek 1), jejich metabolismem a fyziologií. Znalosti týkající se růstové fáze a její kinetiky jsou nezbytné pro výzkum bakterií, zejména pro taxonomickou identifikaci nebo např. sledování interakcí s léčivy (Kochan et al., 2020). Mezi konvenční metody stanovení koncentrace biomasy během kultivace patří stanovení hmotnosti sušiny buněk a metoda optické hustoty (OD). Obě metody mají své výhody a nevýhody (Muloiwa et al., 2020). Tradiční měření růstových křivek pomocí fotometrů a kyvet trpí několika nevýhodami, jako je nízké časové rozlišení, nízká účinnost a vysoká pracnost (Rogers et al., 2022).



Obrázek 1: Obecná růstová křivka a její základní fáze, upraveno podle (Pina et al., 2021)

$\log N$ – logaritmus počtu buněk

3.3.1 Průběh růstu během vsádkové kultivace

Průběh růstu při statické kultivaci je znázorněn na obrázku 1. V lag fázi se bakterie přizpůsobují novému prostředí a nereplikují se, ačkoliv buňky mohou zvětšovat svůj objem (Wang et al., 2015). Tento proces by mohl zahrnovat i opravu makromolekul a syntézu buněčných složek nezbytných pro růst (Rolfe et al., 2012). Některé aspekty lag fáze stále nejsou plně objasněny (Hamill et al., 2020).

V průběhu fáze logaritmické (exponenciální) se buňky pravidelně dělí. Kultura dosáhne maximální rychlosti růstu, kterou lze odhadnout podle generační doby nebo doby zdvojení, tj. doby jedné generace. V logaritmické fázi je přírůstek počtu buněk úměrný aktuální populaci: $dn/dt = \alpha n$, kde n je počet bakterií v kultivačním médiu v čase t a α je konstanta známá jako „specifická rychlost růstu“ (Wang et al., 2015).

Takový růst vyžaduje přítomnost řady faktorů v nadbytku, včetně zdrojů uhlíku, dusíku, fosforu a některých stopových prvků, jako je železo. Fyziologie exponenciálního růstu a replikace bakterií zahrnuje několik kol syntézy DNA spolu s transkripcí a translací, aby se syntetizovaly nezbytné makromolekuly (Rolfe et al., 2012).

Stacionární fáze je charakteristická tím, že počet buněk procházejících dělením se zdá být roven počtu buněk odumřelých (Wang et al, 2015) což je způsobeno vyčerpáním limitujících živin nebo nahromaděním odpadních produktů. Některé z buněk mohou využít živiny z odumřelých buněk. Tento proces probíhá v průběhu celého růstového cyklu, ale ve vysoké míře se vyskytuje ve stacionární fázi (Achinas et al., 2019).

Poslední je fáze odumírání, kdy bakterie ztrácí schopnost dělení (Wang et al., 2015) v důsledku vyčerpání živin (Muloiwa et al., 2020) a počet mrtvých buněk převyšuje počet živých (Wang et al., 2015). Kultivační prostředí může podporovat pouze určitý počet buněk po určitou dobu, po níž většina buněk již nemůže vykonávat opravné a udržovací funkce. Při odumírání buněk dochází k jejich rozpadu, přičemž přežívající buňky mohou metabolizovat ostatky svých mrtvých sourozenců, včetně bílkovin, sacharidů z buněčné stěny, lipidů z buněčné membrány i DNA.

Po fázi smrti je možné pozorovat i dlouhodobou stacionární fázi, ve které mohou buňky přežívat roky bez přídavku živin (Finkel, 2006). Protože se do dlouhodobých dávkových kultur nepřidávají žádné nové živiny, buňky během této fáze získávají energii a živiny ze zbytků odumřelých buněk (Ratib et al., 2021).

3.3.2 Metody zjišťování průběhu růstové křivky

Metod sloužících ke zjištění počtu buněk je vícero, patří sem metody mikroskopické, plotnové, ale i metody jako průtoková cytometrie (Hazan et al., 2012), kvantitativní PCR (Szermer-Olearnik et al., 2014) nebo reduktázový test (Nandy a Venkatesh, 2014). Nejběžnější metodou odhadu počtu buněk v kapalně suspenzi je měření optické hustoty (OD) (Beal et al., 2020), která se používá k měření populační hustoty více než 60 let (Mira et al., 2022).

Metodu OD lze provádět automaticky s vysokou kapacitou pomocí čtečky mikrotitračních destiček a je vhodná pro experimenty vyžadující průběžnou analýzu růstové křivky (Hazan et al., 2012). Metoda je preferována z důvodu časové a finanční nenáročnosti, a je snadno automatizovatelná (Beal et al., 2020). Mezi další přednost patří prakticky okamžitá odezva.

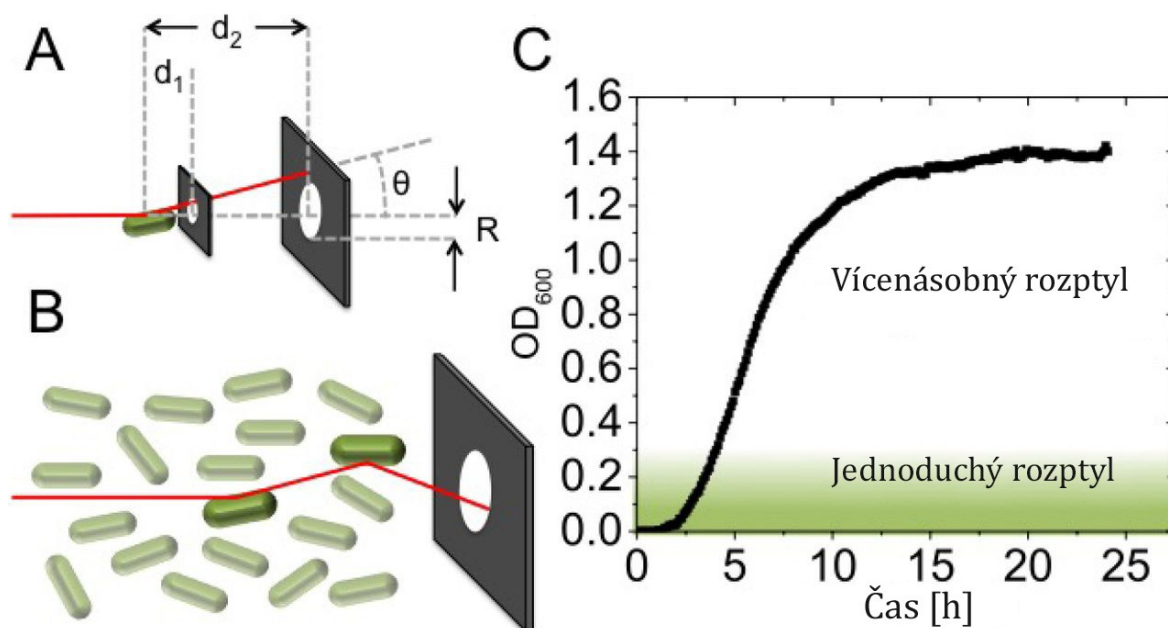
Tato metoda však není schopná rozlišit živé bakterie od mrtvých bakterií nebo částic. (Hazan et al., 2012). Měření může ovlivňovat i produkce extracelulárních polymerních látek (Bosma et al., 2017). Měření OD ve skutečnosti neposkytuje přímé měření počtu buněk, a dokonce mu s výjimkou omezeného rozsahu lineárně neodpovídá. Je to dáno tím, že

měření je založeno na rozptylu světla, nikoliv na absorbanci, a je navíc relativní ke konfiguraci konkrétního přístroje, což komplikuje porovnání hodnot OD mezi přístroji a experimenty (Beal et al., 2020).

Princip měření pomocí optické denzity

Měření pomocí optické denzity patří mezi nepřímé metody. Příslušným fyzikálním jevem je rozptyl (turbidimetrie). Světelné paprsky procházející přes vzorek jsou rozptýleny na částicích (bakteriích) a menší část z nich se tedy dostane do detektoru (Szermer-Olearnik et al., 2014). OD se měří pomocí spektrofotometru, obvykle při 600 nm, a je záporným logaritmem transmitance, což je podíl světla, který prošel kyvetou obsahující vzorek kultury. Podle Lambert-Beerova zákona je OD úměrná koncentraci roztoku, což však neplatí pro suspenze částic (tedy bakteriální kultury), protože místo aby světlo pohlcovalo, dochází k jeho rozptylu mimo osu detektoru (Mira et al., 2022). Většina bakterií a kvasinek rozptyluje světlo pod malými úhly (několik stupňů). Jednotlivé rozptylové události s větší pravděpodobností odkloní světlo od apertury, ale účinek tohoto rozptylu je velmi závislý na velikosti detektoru a vzdálenosti mezi detektorem a vzorkem (obrázek 2, část A).

S rostoucím počtem buněk však roste pravděpodobnost (Stevenson et al., 2016), že část světla, které je rozptýleno od detektoru jednou buňkou, bude následně rozptýlena zpět k detektoru jinou buňkou (obrázek 2, část B). OD se tudíž nezvyšuje tak rychle, jako koncentrace buněk (Mira et al., 2022). Pravděpodobnost vícenásobného rozptylu se v prostředí s velmi vysokou populační hustotou ještě více zvyšuje, čímž je světlo opět více vychylováno směrem od detektoru. Lambert-Beerův zákon lze s určitými výhradami použít pouze pro mikrobiální kultury s nízkou hustotou z důvodu parabolické závislosti OD na počtu buněk (Stevenson et al., 2016).



Obrázek 2: Princip měření OD spočívající v rozptylu světelného paprsku, upraveno podle (Stevenson et al., 2016)

A - závislost vzdálenosti buňky (d_1 , d_2), na níž se světlo láme o určitý úhel θ směrem od detektoru a poloměru šterbiny detektoru (R). B - při vyšší hustotě buněk se zvyšuje pravděpodobnost zpětného odrazu světelného paprsku do detektoru, tzn. vícenásobného rozptylu. C - rozsah OD, pro jednoduchý a vícenásobný rozptyl (Stevenson et al., 2016)

Údaje o optické hustotě (OD) neposkytují přímo růstovou křivku, lze je však použít ke zjištění specifické růstové rychlosti, a pokud jsou použity ve spojení se známým počátečním inokulem, údaji o maximální populaci a znalostí počtu buněk při předem definované OD ve známém čase, pak lze získat všechny informace potřebné k rekonstrukci standardní růstové křivky (Mytilinaios et al., 2012).

4 BIOFILM

Biofilm je společenství mikroorganismů vázaných v těsné blízkosti uvnitř vlastní ochranné matrice, které umožňuje vzájemné vyživování, interakci mezi buňkami a chemickou a fyzikální odolnost (Bastard et al., 2016). Biofilmy se mohou tvořit kdekoli, pokud jsou přítomny živiny a adhezivní povrch (Castellano et al., 2017). Biofilmy BMK jsou tedy nacházeny tam, kde se BMK vyskytují. Jedná se o prostředí potravin (potravinářské závody, potravinářské výrobky, mléko, maso a rostliny), trávicí trakt (GIT), lidské sliznice, domácí a průmyslové prostředí (Mgomi et al., 2023), přičemž v mnohých průmyslových systémech se využívají při nakládání s odpadními vodami, v pivovarnictví, při výrobě celulózy a papíru a při zpracování potravin (Castellano et al., 2017).

4.1 Význam biofilmů bakterií mléčného kvašení

Metabolismus *in vivo* přisedlých probiotických kmenů v podobě biofilmu může být užitečným prostředkem pro kontrolu růstu patogenních a kažení způsobujících bakterií, který by mohl být inovativním biotechnologickým řešením pro průmyslové a lékařské aplikace (Speranza et al., 2018). Například se zkoumá biofilm BMK jako prostředek kontroly růstu *Listeria monocytogenes* v měkkých sýrech (Speranza et al., 2009). Další možnou aplikací je podávání probiotik ve formě biofilmů na nosičích, kdy je využívána jejich odolnost zajišťující větší životaschopnost buněk v trávicím traktu (Yang, 2024).

Co se týče jejich negativního významu, biofilmy vyskytující se na technologických zařízeních (Somers et al., 2001) a v surovinách (Kubota et al., 2008) jsou zdrojem kontaminace potravin nežádoucími BMK (Somers et al., 2001). Pokud se jedná o biofilmy BMK produkující biogenní aminy, představují riziko pro bezpečnost potravin, protože může dojít ke kumulaci biogenních aminů během výroby a zrání (Villarreal et al., 2024). Kmeny *Lentilactobacillus parabuchneri* jsou považovány za významné producenty histaminu v sýrech, kam se mimo jiné mohou dostávat z prostředí výroby, kde perzistují jako biofilmy. Schopny jsou tvořit biofilm i na nerezové oceli, která často přichází do kontaktu se sýry během výroby (Diaz et al., 2016). Dalším druhem spojovaným s kažením potravin je *Lactiplantibacillus plantarum*, jenž je schopný znehodnotit širokou škálu výrobků, a jako možný zdroj kontaminace se uvádí biofilm (Fernández Ramírez et al., 2015).

4.2 Struktura biofilmu

Biofilm tvoří trojrozměrnou strukturu (Wilson et al., 2017). Mikroorganismy v biofilmech žijí v matrici hydratovaných extracelulárních polymerních látek (EPS), které tvoří jejich bezprostřední prostředí (Castellano et al., 2017). EPS se skládají z proteinů, extracelulární DNA a hlavně polysacharidů (Drame et al., 2021), které zajišťují mechanickou stabilitu biofilmů a jejich adhezi k povrchům a vytvářejí tak soudržnou trojrozměrnou polymerní síť, která propojuje a přechodně imobilizuje buňky biofilmu (Castellano et al., 2017). Důležitou složkou biofilmů je také voda, která zaujímá až 96,8 % celkového množství a podílí se na pohybu živin v biofilmech. Obecně se složení biofilmu mění v závislosti na jeho stáří, na kmenu BMK a na podmínkách prostředí, jako je přítomnost kyslíku, teplota, pH, dostupnost živin a vysychání (Mgomi et al., 2023).

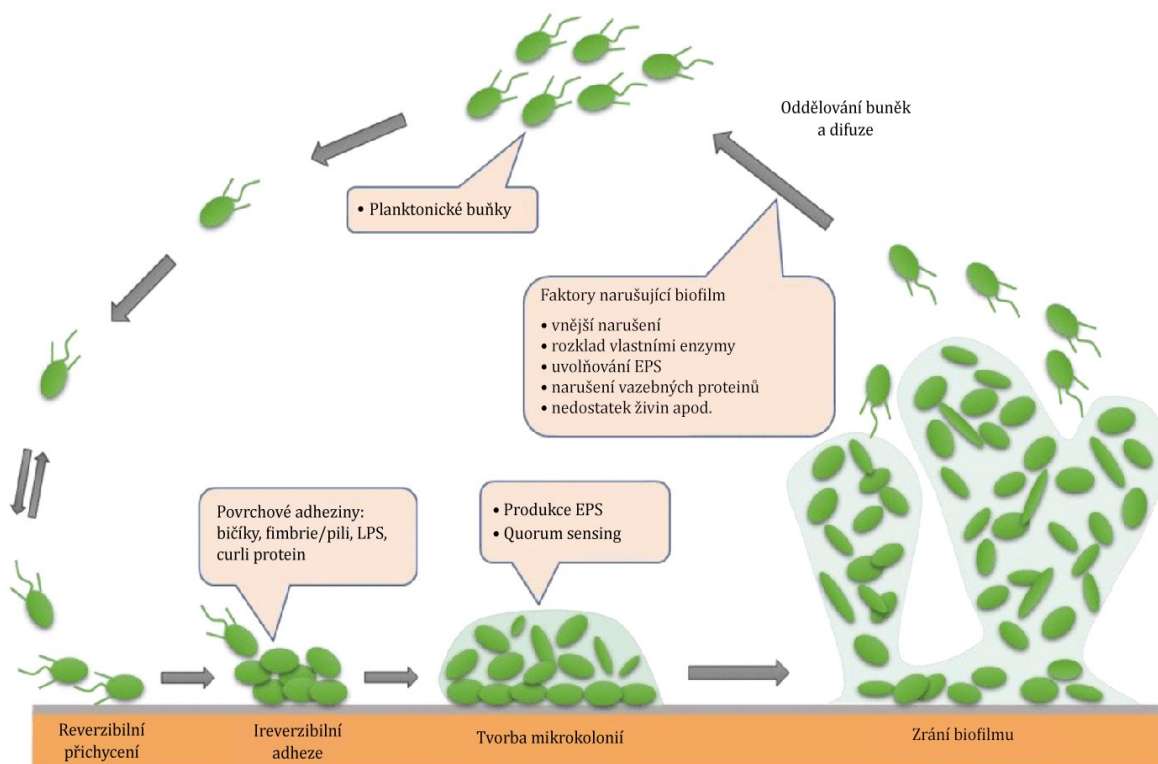
Význam quorum sensing

Tvorba biofilmu je regulována prostřednictvím *quorum sensing* (QS) (Johansen a Jespersen, 2017), což je systém mezibuněčné signalizace. QS je schopný aktivovat některé geny k sekreci EPS a proteinů, a taktéž ovlivňuje zrání biofilmu (Liu et al., 2023). Prostřednictvím QS jsou vylučovány signální molekuly zvané autoinduktory. S rostoucí hustotou bakteriální populace se zvyšuje koncentrace těchto signálních chemických látek, které po dosažení minimální prahové koncentrace přimějí bakterie ke kolektivní odpovědi a umožňují změny v chování (Erkihun et al., 2024).

Přítomnost vysoké hustoty buněk umožňuje bakteriím v biofilmu odolávat stresům, jako je změna pH nebo hladovění (Tatsaporn a Kornkanok, 2020). BMK jsou v biofilmech odolnější vůči působení organických kyselin a ethanolu (Kubota et al., 2009). Například u biofilmové kultury *Oenococcus oeni* byla pozorována zvýšená tolerance vůči stresu způsobeným vínem (Bastard et al., 2016) a u buněk biofilmu *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* větší odolnost vůči kyselině octové a ethanolu oproti planktonním (Kubota et al., 2008). Rovněž je pozorována zvýšená odolnost vůči antibiotikům, což je připisováno hlavně extracelulární polysacharidové matrix (Balcázar et al., 2015).

4.3 Tvorba biofilmu

Tvorba biofilmu je postupný proces, který začíná přichycením bakterie na určitý povrch. Typické základní fáze životního cyklu zachycuje obrázek 3 a jsou následující: 1) ireverzibilní adheze k povrchu, následovaná množením buněk a produkcí slizovitých látek (matrice EPS), 2) tvorba zralé trojrozměrné struktury biofilmu prostřednictvím biosyntézy matrice a proliferace buněk a konečně 3) rozptýlení biofilmu vede k odloučení buněk, což umožňuje kolonizaci nového povrchu (Mgomi et al., 2023).



Obrázek 3: Fáze tvorby biofilmu, upraveno podle (Liu et al., 2023)

EPS hrají zásadní roli při mechanismech agregace nebo adheze buněk k abiotickému i biotickému povrchu (např. střevní sliznici), a to prostřednictvím rozpoznávání a spolupráce buněk a působením jako ochranná bariéra (Speranza et al., 2020), což vede k lepšímu přežívání bakterií (Prete et al., 2021) potažmo toleranci vůči podmínkám gastrointestinálního traktu (Caggianiello et al., 2016).

EPS pravděpodobně hrají roli při kontrole QS, ve výměně genetické informace a v ochraně před bakteriofágy, predací prvoků, ionty kovů, nisinem, lysozymem a čistícími prostředky (Zannini et al., 2016).

Přítomnost bičků a pili posiluje adhezi bakterií na povrchy (Erkihun et al., 2024), a také se podílí na struktuře biofilmu (Drame et al., 2021). Další ze složek podílejících se na adhezi a tvorbě biofilmu je S-vrstva. Ta je ochranným obalem proti nežádoucím vlivům prostředí a má důležitou roli např. při usazování *Lactobacillus acidophilus* v trávicím traktu (Hooshdar et al., 2020).

Vliv podmínek na tvorbu biofilmu

V prostředí se mohou nacházet různé živiny, které mohou ovlivňovat tvorbu biofilmu. Bylo zjištěno, že růstová média bohatá na živiny mohou zvyšovat tvorbu biofilmu a zdá se, že přítomnost glukózy a NaCl také ovlivňuje tvorbu biofilmu, například u *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*. Na tvorbu biofilmu mají pravděpodobně vliv i ionty železa či vápníku. Bylo také zjištěno, že další faktory, jako je neletální koncentrace antimikrobiálních látek, tvorbu biofilmu zvyšují (Abdallah et al., 2014).

Ve studii Rezaei a kol. (2023) byla srovnávána schopnost tvorby biofilmu v prostředí média MRS a mléka. Biofilmy *Lactocaseibacillus rhamnosus* kultivované v mléce vykazovaly složitou trojrozměrnou strukturu. Naproti tomu biofilmy v bujónové kultuře MRS vykazovaly méně hustou strukturu. *Lactiplantibacillus plantarum* také vytvořil silnější biofilm v mléce než v MRS bujónu (Rezaei et al., 2023).

Urcan a kol. zase pozorovali, že na tvorbu biofilmu má vliv i ko-kultura vícero druhů BMK. Společná kultivace kmenů *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* a *Aplilactobacillus kunkeei* vykazovala více biofilmové biomasy než kultivace čistých kultur (Urcan et al., 2024).

Taktéž teplota, růstové médium i povrchový materiál mají vliv na počty buněk v biofilmu. Oulahal a kol. (2008) zjistili, že zkoumaný kmen *Stp. aureus* vykazuje vyšší počty při růstu na nerezové oceli než na polypropylenu, pokud bylo růstovým médiem pasterizované odstředěné mléko. Na nerezové oceli se při teplotě 25 °C počet buněk *Stp. aureus* zvýšil v 1. a 2. dni a dosáhl 8,0 log CFU/cm², ale 8. den již nebyl zjištěn žádný životaschopný *Stp. aureus*. Naproti tomu při teplotě 12 °C počty buněk nadále rostly a po 8denní kultivaci dosáhly cca 7,8 log CFU/cm². U syrového mléka a povrchu z nerezové oceli nebyl pozorován žádný rozdíl v počtu *Stp. aureus*, ať už při kultivaci při 12 °C nebo 25 °C po různých dobách inkubace (Oulahal et al., 2008).

4.4 Metody zkoumání tvorby biofilmu

Existuje vícero různých metod studia biofilmů a zjišťování jejich tvorby. Mohou být založeny na fenotypu (např. testy v mikrotitrační destičce, kultivace na agaru s kongo červení), či na genotypu (např. průkaz genů zodpovědných za tvorbu biofilmu metodou PCR) (Melo et al., 2013). Právě statické metody jsou pro studium tvorby biofilmu nejvyužívanější a patří mezi ně testy v mikrotitračních destičkách jako je barvení krystalovou violetí (Han a Lee, 2023), BioFilm Ring Test (Olivares et al., 2016) nebo Calgary Biofilm Device (Ceri et al., 1999).

Mezi dynamické metody, při nichž dochází k toku média a odvodu odpadních produktů, se řadí například rotační biofilmový reaktor nebo mikrofluidní systémy (Han a Lee, 2023). Tvorbu biofilmu je také možné stanovit pomocí hmotnosti biomasy nebo nepřímo pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie (Azeredo et al., 2016).

Metoda pomocí mikrotitrační destičky je vůbec nejpoužívanějším testem pro tvorbu biofilmu (Kragh et al., 2019). Při testech v mikrotitračních destičkách se biofilmy vytváří na povrchu polystyrenových jamek se statickým médiem. Tento široce používaný model představuje vysoce výkonný systém, který je vhodný pro zkoumání schopnosti vytvářet biofilm i pro testování antibiofilmových sloučenin. K testu lze využít různé druhy médií, od definovaných minimálních médií až po bohatší, komplexnější média (Kragh et al., 2019).

Je hojně používána ke kvantifikaci tvorby bakteriálního biofilmu *in vitro*, nicméně je omezena nemožností spolehlivě extrapolovat tyto výsledky na scénáře *in vivo* (Fernández-Barat et al., 2023), neboť fyziologické vlastnosti experimentálně získaných biofilmů jsou v přírodním prostředí neobvyklé. Navíc tvorbu biofilmu omezuje například nemožnost nepřetržitého přívodu čerstvého média a nedostatečné provzdušňování (Han a Lee, 2023).

Běžně používaná forma této metody je odvozena z protokolu publikovaného Christensenem a kol. (1985). Při tomto běžném postupu se buněčná suspenze zaočkuje do každé jamky mikrotitrační destičky a inkubuje se za určených podmínek. Během inkubace se na dně a stěnách jamek vytváří biofilm. Po opláchnutí mikrotitrační destičky se nepřichycené buňky odstraní a zůstane vytvořený biofilm. Následně se biofilmy v jamkách barví barvivem, například krystalovou violetí (Han a Lee, 2023). Krystalová violet' je bazické barvivo, které se nespecificky váže na záporně nabitě molekuly na povrchu buněk a v extracelulární matrix biofilmu. Vzhledem k nespecifické vazebné schopnosti se krystalová violet' používá k celkovému hodnocení biomasy biofilmu (Sharma et al., 2023).

Po přidavku krystalové violeti se biofilm inkubuje s barvivem při pokojové teplotě po určitou dobu, obvykle 5 až 30 minut. Po inkubaci se roztok barviva odstraní promytím vodou, aby se odstranilo neulpěné barvivo. Poté lze přidat odbarvovací roztok v objemu větším nebo rovném objemu původního kultivačního média a inkubovat jej s biofilmem po dobu 10-30 minut. Odbarvovací roztok se přidává s cílem rozpustit krystalovou violet' a obvykle se sestává z 90-95% roztoku ethanolu, ale lze použít i čistý ethanol nebo ethanol s acetonem nebo kyselinou octovou. Nakonec se odbarvovací roztok s krystalovou violetí přenese do čisté destičky s příslušnými slepými vzorky, aby se vyhodnotila absorbance při 530-600 nm (Wilson et al., 2017).

Lze však použít i jiné kolorimetrické nebo fluorometrické testy používající deriváty tetrazoliové soli, resazurinu, barviva SYTO-9 a propidium jodidu (Han a Lee, 2023).

Limity metody

Nevýhodou je, že biofilmy se mohou ztratit při promývání, které se provádí během barvení za účelem vizualizace biofilmů. Přesné pozorování biofilmu je navíc obtížné, protože se barví i biomasa odumřelých nebo sedimentovaných buněk (Han a Lee, 2023). Navíc se krystalová violet' může nespecificky vázat na negativně nabitě molekuly a nemusí také dojít k jejímu rovnoměrnému vyplavení ethanolem (Magana et al., 2018).

Kragh a kol. (2019) upozorňují, že je třeba brát v úvahu vysoce strukturované mikroprostředí biomasy v mikrotitračních jamkách. Při použití mikrotitračních destiček může stochastická variabilita způsobená růstem a manipulací vést k chybným závěrům. Kvantifikace biomasy v jamkách na základě snímků konfokální mikroskopie neukázala žádný významný rozdíl v množství biomasy mezi neporušenými jamkami a jamkami vyprazdňovanými pipetou. V jamkách promytých fyziologickým roztokem a v jamkách, které byly převráceny, bylo však ve srovnání s neporušenými jamkami biomasy významně méně (Kragh et al., 2019).

5 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

Antibiotická rezistence představuje vážný problém v humánní a veterinární medicíně (Haryani et al., 2023). Antimikrobiální rezistence je definována jako „neschopnost nebo snížená schopnost antimikrobiální látky inhibovat růst bakterie, což v případě patogenního organismu může vést k selhání léčby“. Ačkoliv je většina BMK neškodná lidskému zdraví (Chavez et al., 2024), potravinový řetězec je považován za jednu z klíčových cest přenosu rezistence vůči léčivům napříč populacemi bakterií (Zarzecka et al., 2020). Fermentované potraviny obsahují značné množství živých mikroorganismů, díky čemuž se mohou stát vehikuly pro přenos genů antibiotické rezistence na komenzální a patogenní bakterie v trávicím traktu (Erginkaya et al., 2018). Střevní mikrobiom člověka a domestikovaných zvířat je největším hostitelem genů antibiotické rezistence kvůli užívání antibiotik a vhodným podmínkám, které podporují horizontální přenos genů (Lerner et al., 2017). Přítomnost genů antibiotické rezistence je jedním z kritérií posuzování virulence kmenů BMK (Icer et al., 2023).

Hlavními mechanismy rezistence jsou snížená absorpce antibiotika, změna místa, na které antibiotikum cílí, inaktivace antibiotika a vylučování antibiotika efluxními pumpami (Mancuso et al., 2021).

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) uvádí, že bakteriální kmeny používané jako probiotika nebo přísady do krmiv by neměly nést geny rezistence vůči antibiotikům (Yilmaz et al., 2025).

5.1 Možná rizika spojená s antibiotickou rezistencí bakterií mléčného kvašení

Přestože jsou BMK charakterizovány jako prospěšné, mohou se u nich projevovat různé patogenní mechanismy a způsobovat onemocnění u člověka i zvířat (Colombo et al., 2020). Navzdory tomu, že jsou považovány za bezpečné, tedy mají status GRAS (generally recognized as safe) (Plavec a Berlec, 2020), některé studie ukazují, že někteří zástupci mléčných tyčinek mohou způsobit, zejména u jedinců s předchozími patologickými stavy, problémy, jako jsou bakteriémie, endokarditida a peritonitida (Colautti et al., 2022). Obzvláště problematický v tomto ohledu je rod *Enterococcus* (Landeta et al., 2013). U startovacích BMK antibiotická rezistence nepředstavuje přímé riziko pro spotřebitele,

protože tyto mikroorganismy nejsou patogenní (Zarzecka et al., 2020). Přednostním rizikem je, že tyto bakterie mohou fungovat jako rezervoár genů antibiotické rezistence (Zarzecka et al., 2020). Faktorem, představujícím jisté riziko, jsou geny usnadňující výměnu genetického materiálu (Colombo et al., 2020), načež problematický je potenciální přenos genů antibiotické rezistence na patogenní mikroorganismy (Colautti et al., 2022). Z tohoto důvodu EFSA na mikroorganismy v seznamu kvalifikovaného předpokladu bezpečnosti (QPS) uplatňuje požadavek, aby nebyly nositeli přenosné antibiotické rezistence (Zarzecka et al., 2020).

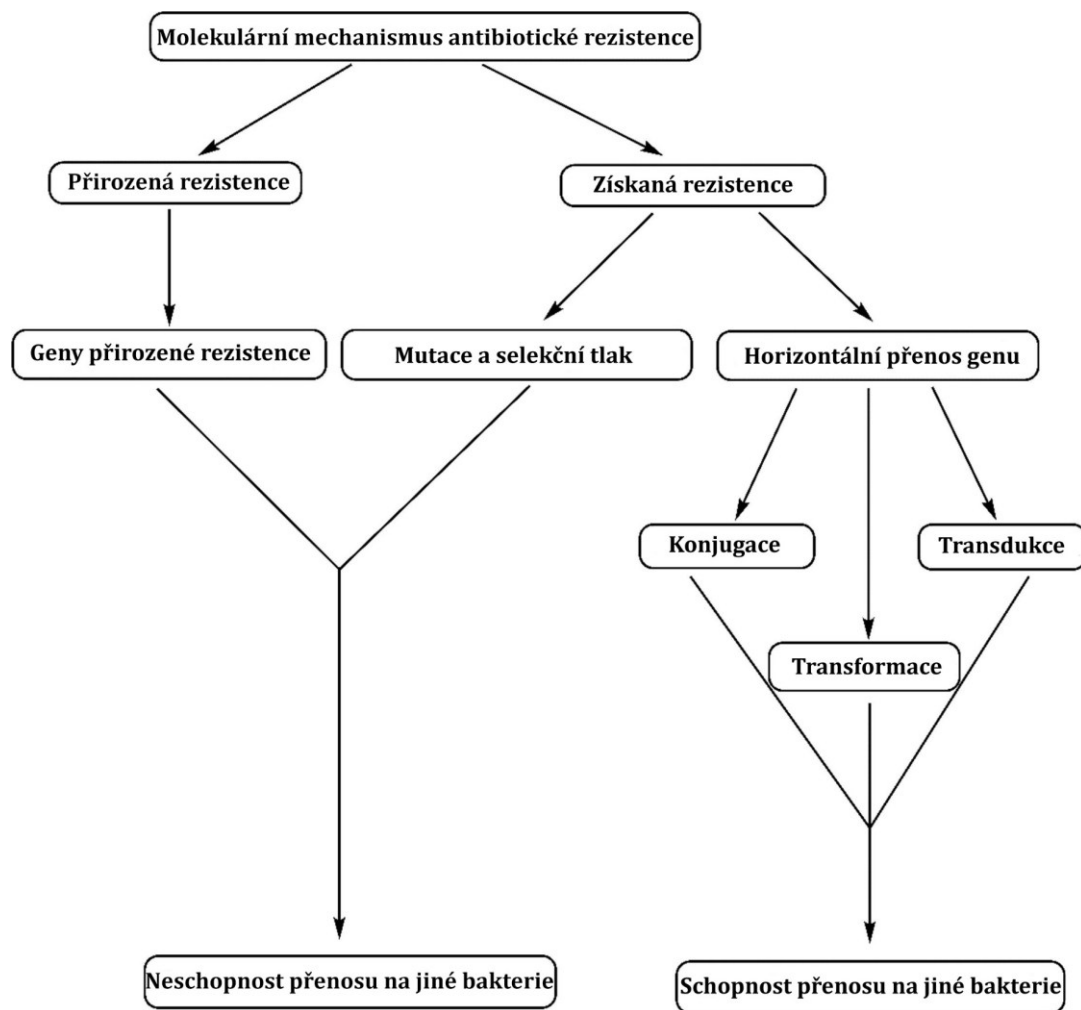
Stresové faktory jako je nízké pH, antimikrobní látky nebo vysoká koncentrace NaCl, které jsou typickými vlastnostmi pro fermentované potraviny (Casado Muñoz et al., 2014), mohou mít vliv na změny v profilu antibiotické rezistence těchto mikroorganismů. Nejčastěji se projevují zvýšením hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC). Navrhovanou příčinou je kombinace molekulárních mechanismů v reakci na stres a změny v expresi genů odpovědných za antibiotickou rezistenci (Zarzecka et al., 2020).

5.2 Způsoby šíření antibiotické rezistence

Antibiotická rezistence je buď vnitřní (přírozeně přítomná, genetická), nebo vnější (získaná). Vnitřní rezistence je specifická pro daný bakteriální druh nebo rod a horizontální přenos se při jejím šíření neuplatňuje. Naproti tomu vnější rezistence je pozorována u konkrétního kmene vůči určitému antibiotiku, avšak tento kmen náleží do taxonomické jednotky, která je vůči tomuto antibiotiku normálně citlivá. Přenáší se horizontálně (Colautti et al., 2022) třemi základními způsoby: transformací, při níž buňky přijímají a exprimují DNA z okolního prostředí, transdukcí, kdy je fágová DNA vložena do genomu hostitelské buňky, a konjugací, při níž je gen přítomný na mobilním genetickém elementu (plazmidu nebo konjugativním transpozonu) přenesen do jiné buňky přímým kontaktem (Toomey et al., 2009b).

Právě konjugace je nejčastější způsob přenosu genů antibiotické rezistence (Colautti et al., 2022). I u probiotických mléčných tyčinek byla zjištěna jako nejčastější způsob přenosu právě konjugace. Výsledky různých studií naznačují, že horizontální přenos genů z probiotických bakterií na patogenní bakterie, jako jsou *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus hirae*, a *Listeria monocytogenes*, může u těchto bakterií vyvolat rezistenci vůči antibiotikům (zejména tetracyklinu a erytromycinu) (Shahali et al., 2023). Způsoby

získávání a přenosu genů antibiotické rezistence a možnost dalšího přenosu na ostatní bakterie jsou znázorněny na obrázku 4.



Obrázek 4: Cesty přenosu genů antibiotické rezistence, upraveno podle (Li et al., 2020)

K šíření antibiotické rezistence přispívají i mobilní genetické elementy, které se mohou pohybovat uvnitř molekul DNA nebo mezi nimi, mezi něž patří inserční sekvence (IS). IS jsou úseky DNA, které se mohou pohybovat (s přidruženými geny rezistence) téměř náhodně na nová místa ve stejných nebo různých molekulách DNA v rámci jedné buňky (Jian et al., 2021). Antibiotická rezistence některých bakterií může být výsledkem spontánních mutací v kombinaci s dlouhodobým selekčním tlakem antibiotik (Li et al., 2020), při němž dochází k usmrcení nebo potlačení citlivých bakterií, načež rezistentní bakterie se mohou množit (Ammor et al., 2007b).

Biofilmy hrají taktéž roli v šíření genů antibiotické rezistence, a to především jako vhodné prostředí podporující výměnu genů, kde se nachází značné množství extracelulární

DNA a buněk v relativní blízkosti (Jian et al., 2021). Například několik studií prokázalo vyšší účinnost konjugace v biofilmech ve srovnání s planktonními buňkami (Balcázar et al., 2015).

5.3 Přenos genů antibiotické rezistence v potravinovém řetězci

Potravní řetězec lze považovat za hlavní cestu přenosu bakterií rezistentních vůči antibiotikům mezi zvířecí a lidskou populací (Mathur a Singh, 2005). Mnoho fermentovaných potravin se konzumuje v syrovém stavu, načež bakterie ve fermentovaných potravinách mají možnost interagovat s lidským mikrobiomem (Wolfe, 2023). Hustota mikrobiálních buněk v mnoha fermentovaných potravinách dosahuje 10^8 CFU/g. Buňky se mohou dostat do lidského trávicího traktu, kde mohou interagovat se střevním mikrobiomem, či se v něm usadit (Leeuwendaal et al., 2022). Vysoká hustota buněk také znamená, že také geny antibiotické rezistence ve fermentovaných potravinách mohou mít vysokou hustotu ve srovnání s jinými potravinami (Wolfe, 2023).

Vzhledem k vysokému počtu mikroorganismů vyskytujících se v těsném kontaktu v trávicím traktu, je toto prostředí ideálním místem pro přenos genů. Možnost přenosu podtrhuje význam mikrobiologické kvality fermentovaných potravin, zejména těch spontánně kvašených. O něco méně toto platí pro průmyslově fermentované výrobky, při kterých se uplatňují přesně definované startovací kultury (Abriouel et al., 2015). Ovšem i ty jsou schopny nést geny antibiotické rezistence (Zarzecka et al., 2020).

Pro zvažování potenciálních rizik, která představuje antibiotická rezistence, je důležitý vlastní způsob rezistence. Jedním ze způsobů je přirozená rezistence, kdy celý druh nebo mnoho druhů v rodu postrádá cílové antibiotikum nebo má jiné mechanismy, jak být rezistentní (Wolfe, 2023). Přirozeně rezistentní je většina mléčných tyčinek k aminoglykosidům, ciprofloxacinu (Campedelli et al., 2019), cefoxitinu a nitrofurantoinu (Fraqueza, 2015) a naopak je citlivá k β -laktamům, chloramfenikolu, tetracyklinu, erytromycinu a linezolidu. U některých mléčných tyčinek izolovaných z fermentovaných potravin však byla zjištěna získaná rezistence k tetracyklinu, erytromycinu, klindamycinu a chloramfenikolu (Campedelli et al., 2019). Právě získaná rezistence je hlavním problémem při výrobě a konzumaci fermentovaných potravin, protože má potenciál přecházet přes hranice druhů, z prospěšných mikrobů ve fermentovaných potravinách na

lidské komenzály nebo patogeny (Wolfe, 2023). Ovšem přenos genů antibiotické rezistence může probíhat i z komenzálních bakterií na bakterie z potravin (Founou et al., 2016).

5.4 Metody zjišťování antibiotické rezistence

Metody zjišťování citlivosti/rezistence na antibiotika lze rozdělit na metody fenotypové a genotypové. Mezi metody založené na fenotypu se řadí konvenční metody, jako je disková difúze, bujónová mikrodiluce, agarová diluce či E-test. Všechny tyto metody detekují fenotypovou citlivost bakterií vystavených působení antimikrobiálních látek skrze měření jejich růstu (Salam et al., 2023).

Antibiotická rezistence je schopnost bakterií disponovat geny, které zamezují inhibičnímu účinku antibiotik (Khan et al., 2019) a genotypové metody jsou právě založeny na identifikaci těchto genů. Je možné identifikovat specifický gen (geny) rezistence přítomných v chromozomové DNA nebo na plazmidu, nebo je možné identifikovat genetické mutace spojené s rezistentním fenotypem. To vše za pomoci molekulárních přístupů založených na DNA amplifikaci nebo sekvenování (Salam et al., 2023).

5.4.1 Metody fenotypové

Fenotypové metody mají oproti genotypovým metodám výhodu v prokázání kvalitativní i kvantitativní citlivosti. Většina klasických manuálních metod je však časově náročná, vyžaduje inokulum kultury a vizuální hodnocení růstu (Salam et al., 2023).

Přestože byly zavedeny nové technologie pro získávání údajů o citlivosti bakterií na antimikrobiální látky, stále se hojně používají konvenční metody. Kromě diskových difuzních testů citlivosti patří mezi nejpoužívanější bujónová makro- a mikrodiluční metoda a agarová diluční metoda, které jsou považovány za referenční. Pomocí nich lze stanovit minimální inhibiční koncentraci (MIC) (Gajic et al., 2022). Za MIC je považována nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která za kontrolovaných podmínek *in vitro* zabrání viditelnému růstu testovaného kmene (Kowalska-Krochmal a Dudek-Wicher, 2021). Hodnota MIC je základní pro posouzení citlivosti k danému antibiotiku a posouzení stupně citlivosti. Kromě toho lze těmito metodami zjistit i minimální baktericidní koncentraci (MBC) (Gajic et al., 2022).

Kvantitativní výsledek poskytuje také E-test (elipsometrický test), který se projeví opět zabráněním viditelného růstu kultury (Kaprou et al., 2021) a řadí se mezi gradientové metody

(Kowalska-Krochmal a Dudek-Wicher, 2021). E-test kombinuje principy diskové difúze a bujónové diluce. Jedná se o plastový proužek napuštěný gradientem koncentrace antibiotika. Po umístění na inokulovanou agarovou plotnu antibiotikum difunduje do média a vytváří elipsovitou inhibiční zónu (Yakobi a Nwodo, 2025).

Existují také automatizované fenotypové metody, při nichž se používají komerční zhotovené destičky nebo kazety s pozitivními kontrolami a gradientními koncentracemi antibiotik. Takové platformy jsou například VITEK® 2 COMPACT, Sensititre™ ARIS™ 2X a systém Alfred 60AST (Kaprout et al., 2021), které poskytují rychlejší výsledky (Mancini et al., 2020).

Difúzní disková metoda

Metoda diskové difúze nebo také Kirby-Bauer test (Yakobi a Nwodo, 2025; Furtado a Medeiros, 1980), byla vyvinuta ve 40. letech 20. století (Salam et al., 2023) a je jednou z nejstarších a nejpoužívanějších metod testování citlivosti vůči antimikrobním látkám. Je použitelná pro širokou škálu bakterií a látek a rovněž není potřeba speciálního vybavení (Jonasson et al., 2020), je jednoduchá a relativně levná.

Tato metoda má však některá omezení. Umožňuje testovat jedinou hodnotu antimikrobiální koncentrace a poskytuje pouze kvalitativní výsledek (citlivý, středně citlivý nebo rezistentní). Navíc její provedení, odečet a interpretace průměru inhibiční zóny závisí na obsluze (Palladini et al., 2023).

Metoda je založena na difúzi předem definovaného množství dané antimikrobiální látky obsažené v papírovém disku, která se umístí na povrch agarové plotny předem naočkované standardizovaným inokulem. Při difúzi léčiva se vytváří koncentrační gradient, který vede k vytvoření inhibiční zóny, v níž je koncentrace dostatečná k inhibici růstu inokulovaného mikroorganismu (Rivera et al., 2023). Po inkubaci se změří průměr inhibiční zóny a bakteriální kmen se na základě stanovených klinických breakpointů klasifikuje jako citlivý, středně citlivý nebo rezistentní. Standardně probíhá inkubace na Mueller-Hinton agaru (Yakobi a Nwodo, 2025).

Pro každou kombinaci bakterie a léčiva se běžně stanovují prahové hodnoty (breakpointy) pro interpretaci průměru zóny výběrem optimálního obsahu disku a vyhodnocením korelace mezi hodnotami minimální inhibiční koncentrace získanými referenčními metodami a průměry inhibičních zón (Rivera et al., 2023).

Metoda má však svá omezení, jako je například nízká výpovědní hodnota u pomalu či naopak rychle rostoucích bakterií. Výsledky jsou také ovlivňovány mnoha faktory, jako je teplota, pH, rozpustnost, odpařování (Khan et al., 2019), hloubka a složení agaru. Metodické pokyny pro diskovou difúzi poskytují CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) a EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (Rivera et al., 2023).

5.4.2 Metody genotypové

Molekulárně biologické metody přímo detekují specifické geny rezistence, stejně jako mutace a expresi těchto genů, a představují alternativu nebo doplněk ke konvenčním testům antibiotické rezistence. Obecně jsou rychlejší než klasické testy založené na kultivaci. Většina molekulárních metod je založena na amplifikaci, hybridizaci nebo sekvenaci.

U metod založených na amplifikaci je detekce zajištěna amplifikací cílového genu (Gajic et al., 2022). Do této skupiny můžeme zařadit polymerázovou řetězovou reakci (PCR), multiplex PCR, reverzní transkriptázovou PCR (RT-PCR), PCR v reálném čase (qPCR) a metody izotermické amplifikace (Yamin et al., 2023).

U technik založených na hybridizaci se detekce provádí za pomoci hybridizované sondy (Gajic et al., 2022) metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Konvenční metoda FISH je založena na cílené vazbě fluorescenčně značených jednořetězcových oligonukleotidových sond na RNA (nejčastěji rRNA). Po této technice následuje identifikace pomocí fluorescenčního mikroskopu. Teoreticky je možné hybridizovat sondy FISH s mnoha typy intracelulárních RNA. Je však možné použití jiných sond (Yamin et al., 2023).

Pomocí sekvenačních metod se analyzují sekvence genomu, aby se zjistily mutace nebo geny podporující rezistenci (Gajic et al., 2022). Metody next generation sequencing (NGS) umožňují identifikovat mnohem složitější genetické varianty, které se podílejí na rezistenci k antibiotikům (Ng et al., 2023).

PCR a sekvenování DNA jsou schopné identifikovat homology známých genů antibiotické rezistence ale nejsou schopné odhalit neznámé nebo vzdáleně příbuzné geny rezistence (Ouyang et al., 2024). Metody založené na genotypu mohou minimalizovat zdlouhavé kultivace bakterií a pravděpodobnost kontaminace. Tyto metody bývají však vysoce nákladné, mají rovněž určitá omezení detekce všech rezistentních genů a mohou být i falešně pozitivní (Salam et al., 2023).

Polymerázová řetězová reakce (PCR)

PCR je technologie *in vitro*, která umožňuje amplifikaci specifikovaných sekvencí DNA a RNA (Yamin et al., 2023), a tedy vybraného cílového genu (Galhano et al., 2021). PCR metody jsou považovány za nejpoužívanější, načež nalézají široké uplatnění při stanovení výskytu nebo šíření dobře známých genů antibiotické rezistence (např. na tetracyklin, fluorochinolon, sulfadiazin, β -laktamy a erytromycin) (Ouyang et al., 2024).

Jak konvenční PCR, tak PCR v reálném čase, spočívají v amplifikaci sekvencí nukleových kyselin, které kódují rezistenci k antibiotiku (Gajic et al., 2022) a umožňují současnou identifikaci a testování citlivosti k antibiotikům. Před tím je však nutná extrakce DNA z izolovaných kmenů, vyšší počet buněk k získání dostatečného množství DNA a předchozí znalosti o sekvencích, které je třeba amplifikovat (Maugeri et al., 2019).

Zároveň jsou vyvíjeny nové metody založené na PCR pro detekci genetických znaků rezistence. Byly také vyvinuty multiplexní testy pro testování více genetických determinant současně pro identifikaci genů kódujících řadu cefalosporináz a karbapenemáz (Gajic et al., 2022).

Techniky založené na molekulární analýze však mají svá omezení, jako je nemožnost stanovit MIC a možnost přehlédnutí některých genů antibiotické rezistence kvůli jejich omezenému pokrytí. PCR má také svá omezení při detekci neznámých či nových genů antibiotické rezistence. Navíc může docházet k falešně pozitivním výsledkům, čemuž lze předcházet negativními kontrolami a validacemi testů. Celkově lze říci, že techniky založené na molekulární analýze umožňují rychlou a citlivou detekci genů antibiotické rezistence (Yamin et al., 2023).

6 CÍLE PRÁCE

Cílem mé práce bylo vypracovat literární rešerši zabývající se vybranými vlastnostmi bakterií mléčného kvašení se zaměřením na jejich výskyt v nemléčných potravinách ať už rostlinného či živočišného původu. Pozornost byla taktéž zaměřena na druhy a rody bakterií mléčného kvašení, které byly zkoumány v této práci.

V praktické části bylo cílem sledovat vlastnosti devíti vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení dodaných z České sbírky mikroorganismů, které mohou ovlivňovat jejich chování v potravinách, a to:

- schopnost růstu při různých kultivačních teplotách,
- sledování tvorby biofilmu v závislosti na vnějších faktorech:
 - 1) teplotě kultivace,
 - 2) době kultivace,
 - 3) složení růstového média,
- sledování fenotypové antibiotické rezistence,
- průkaz vybraných genů antibiotické rezistence

II PRAKTICKÁ ČÁST

7 POUŽITÝ MATERIÁL

V praktické části bylo pracováno s kmeny BMK pocházejících z České sbírky mikroorganismů za použití kultivačních médií, přístrojů, chemikálií a roztoků dostupných v laboratoři mikrobiologie na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí.

7.1 Použité kmeny bakterií

V experimentální části bylo pracováno s devíti kmeny pocházejících z České sbírky mikroorganismů (CCM), jejichž výčet je uveden v tabulce 1. V laboratoři byly oživovány v MRS bujónu a následně uchovávány na Petriho miskách s MRS agarem v chladničce při teplotě 5 ± 1 °C. Při práci byly kmeny kultivovány za optimálních teplot doporučených sbírkou (uvedeny v tabulce 1) za aerobních podmínek. Pro dlouhodobé uchování byly kultury resuspendovány v eppendorfkových zkumavkách se 100% glycerolem jako kryoprotektantem. Takto byly uchovávány při teplotě -80 °C v mrazicím boxu.

Tabulka 1: Kmeny bakterií mléčného kvašení zkoumané v této práci

Číslo kmene	Druh	Zdroj	Kultivační teplota (°C)
CCM 1803	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	fermentované olivy, USA	30
CCM 2085	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	kvašené fazolové lusky	30
CCM 4577	<i>Pediococcus acidilactici</i>	suchý salám, Česká republika, Hustopeče	37
CCM 7052	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	zkažený kečup, Česká republika	37
CCM 7035	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	nakládané zeli	30
CCM 4302	<i>Latilactobacillus sakei</i>	vakuově balené hovězí maso, Francie	30
CCM 7192	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	fermentovaná řepa	37
CCM 4618	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>coryniformis</i>	siláž	30
CCM 7124	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	krmivo pro kuřata, Japonsko	30

7.2 Kultivační média

Ke kultivaci zkoumaných kmenů bylo použito MRS médium (De Man, Rogosa, Sharpe) od společnosti HiMedia® (Indie). Médium ve formě dehydratované granulované směsi bylo připravováno do lahví se šroubovacím uzávěrem. Navážka média byla zvolena podle návodu na obalu a po odvážení byla zalita odpovídajícím objemem destilované vody a rozpuštěna. V případě přípravy tuhé varianty bylo k základní směsi přidáno potřebné množství práškového agaru (HiMedia®). Pokud byl připravován bujón ve zkumavkách, bylo před sterilací médium dokonale rozpuštěno a rozplněno do zkumavek pomocí dávkovače v potřebném objemu. Následně bylo médium sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 20 minut. Sterilizované kultivační médium s agarem bylo asepticky rozlito do Petriho misek, a ponecháno k zatuhnutí ve vodorovné poloze. V případě, že nebylo médium ihned po zchladnutí využito, bylo skladováno v chladicí komoře při 12 °C.

7.3 Chemikálie a roztoky

- 100% glycerol (mikroCHEM s.r.o.)
- Glukóza p. a. (Lachema a.s.)
- Laktóza p. a. (Lachema a.s.)
- Chlorid sodný p. a. (Lachema a.s.)
- Fyziologický roztok (0,85% roztok chloridu sodného v destilované vodě)
- 96% ethanol (VWR chemicals)
- Roztok krystalové violeti
- Komerční izolační kit DNeasy®Blood and Tissue Kit 250 (Qiagen, Německo)
- PBS pufr (Phosphate Buffered Saline) (Lonza, Švýcarsko)
- Agaróza (SERVA, Německo)
- Barvivo GelRed® Nucleic Acid Stain (Biotium, USA)
- VWR Red Taq 2x Master Mix (VWR International, USA)
- 1x TAE pufr (Tris-acetát-EDTA)
- 50x TAE pufr (Tris-acetát-EDTA)

- Sterilní voda na PCR
- Specifické primery (Metabion international AG, Německo) (seznam primerů je uveden v tabulce 3)
- 100 pb Plus DNA Ladder (ČR)

7.4 Použitá antibiotika

U zkoumaných sbírkových kmenů byla testována citlivost na antibiotika za použití komerčně vyráběných antibiotik v podobě papírových disků o průměru 6 mm od výrobce HiMedia® (Indie). Použitá antibiotika jsou uvedena v následující tabulce 2:

Tabulka 2: Použitá antibiotika (rozdělení antibiotik podle (Beneš, 2018))

Skupina		Antibiotikum	Zkratka	Koncentrace (µg/disk)
β-laktamy	Cefalosporiny	Cefuroxim	CXM	30
		Cefoxitin	CX	30
	Peniciliny	Piperacilin/Tazobaktam	PIT	100/10
Rifamyciny		Rifampicin	RIF	5
Amfenikoly		Chloramfenikol	C	30
Aminoglykosidy		Streptomycin	HLS	300
		Gentamycin	HLG	120
Glykopeptidy		Vankomycin	VA	10
Linkosamidy		Klindamycin	CD	2
Makrolidy		Erytromycin	E	5
Nitrofurany		Nitrofurantoin	NIT	300
Tetracykliny		Doxycyklin hydrochlorid	DO	30

7.5 Použité primery

Primery ke genům antibiotické rezistence byly vybrány z dostupných publikací a syntetizovány společností Metabion international AG (Německo). Dodané primery byly nejdříve naředěny na koncentraci 100 µM objemem PCR vody dle doporučení výrobce, promíchána na vortexu a ponechány v termobloku při 65 °C po dobu 10 minut. Takto rozpuštěné primery pro jednotlivé geny byly před použitím 10krát naředěny PCR vodou

v eppendorfkové zkumavce a důkladně promíchány. Soupis použitých primerů uvádí následující tabulka 3:

Tabulka 3: Primery použité k detekci genů antibiotické rezistence

Gen	F/R	Sekvence 5' -> 3'	Délka produktu (bp)	Annealingová teplota (°C)	Reference
<i>blaCTX-M</i>	F	GCGGAAAAGCACGTCAATGGG	427	60	(Lesani et al., 2020)
	R	GCCAGATCACCGCGATATC			
<i>blaSVH</i>	F	GCTTTCCCATGATGAGCACC	292	57	
	R	AGGCGGGTGACGTTGTCGC			
<i>blaTEM</i>	F	GGTGAAAGTAAAGATGCTGAAG	559	57*	
	R	AACTTTATCCGCCTCCATC			
<i>aadE</i>	F	GCAGAACAGGATGAACGTATTCTG	369	55	(Shin et al., 2023)
	R	ATCAGTCGGAACATATGTCCC			
<i>aadB</i>	F	CACAACGCAGGTCACATTGATA	414	52*	(Wang et al., 2019)
	R	GGTACTTCATCGGCATA			
<i>van</i>	F	TTGGCGTCGTGTTAGGGA	503	58*	
	R	CTGATGCTGCGTGGGAATAGG			
<i>emrB</i>	F	TTTTGAAAGCCGTGCGTCTG	202	55	(Shin et al., 2023)
	R	CTGTGGTATGGCGGGTAAGTT			
<i>tetK</i>	F	CAATACCTACGATATCTA	352	50	
	R	TTGAGCTGTCTTGGTTCA			
<i>tetL</i>	F	TGGTCCTATCTTCTACTCATTC	385	53	
	R	TTCCGATTTCGGCAGTAC			

F – přední, R – zadní

*- annealingová teplota po optimalizaci

7.6 Pomůcky a přístroje

- Jednorázový laboratorní materiál: plastové Petriho misky (o průměrech 60 a 90 mm), polystyrenové mikrotitrační destičky s víčky, špičky pro automatické pipety, eppendorfkové zkumavky, plastové zkumavky se šroubovacím uzávěrem, plastové zkumavky do DensiLametri
- Laboratorní sklo: zkumavky, kádinky, skleněné lahve se šroubovacím uzávěrem, Erlenmeyerovy baňky, zahnuté tyčinky
- Biologický termostat (BT 120, ČSR)
- Biologický termostat (Memmert, Německo)
- Inkubátor chlazený (ST5/C/BASIC, Polsko)

- Záznamník růstu buněk RTS-1C (Biosan, Lotyšsko)
- Laboratorní autokláv (Tuttnauer, Izrael)
- Laboratorní autokláv (SANOclav, Německo)
- Denzitometr (DensiLametr®, ČR)
- Automatické pipety (Eppendorf, Discover)
- Spektrofotometr (Tecan Infinite M200 PRO, Tecan, Švýcarsko)
- Termocykler (Aeris™, ESCO®, Singapur)
- Očkovací box (SCS Evo II-4, MERCI®, ČR)
- Očkovací box (Euroflow, Schoeler, ČR)
- Dekontaminační PCR box (Aura PCR, BioAir®, Itálie)
- Odstředivka (MiniSpin Plus, Eppendorf®, Německo)
- Odstředivka (HERMLE Z100M, Jižní Korea)
- Termoblok (Bio TDP-100, Biosan, Lotyšsko)
- Mikrovlnná trouba (Elektrolux, Švédsko)
- Vortex Mixer (VX-200, Labnet, USA)
- Bio vortex V1 (Biosan, Lotyšsko)
- Horizontální elektroforetická vana (Multi SUB, Cleaver scientific, Spojené království)
- Kouzelná skříňka ládující volty do elektroforézy (Consort EV 243, Belgie)
- UV transluminátor (Syngene InGenius LHR2, Indie)
- Mrazák na -20 °C (Beko, Turecko)
- Mrazicí box na -80 °C (MDF-DU502VH, PHC Corporation, Japonsko)
- Lednice (Beko, Turecko)
- Chladicí komora (MasoProfit®, ČR)

8 METODIKA

Experimentální část byla vypracována v laboratořích mikrobiologie na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí na FT Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. U devíti kmenů BMK byly *in vitro* zkoumány celkem tři hlavní vlastnosti, a to schopnost růstu při různých teplotách, tvorba biofilmu a antibiotická rezistence.

Růstové křivky byly měřeny denzitometricky pomocí záznamníku růstu buněk Biosan RTS-1C při teplotách 20, 30 a 40 °C. Schopnost tvorby biofilmu byla zjišťována modifikovanou Christensenovou metodou pomocí barvení krystalovou violetí a následným měřením absorpance spektrofotometrem Tecan Infinite M200 PRO. Zároveň byl sledován vliv doby kultivace, kultivační teploty a složení média na tvorbu biofilmu. Antibiotická rezistence byla zjišťována jak fenotypově diskovou difúzní metodou, tak genotypově metodou klasické PCR hledáním vybraných genů antibiotické rezistence.

8.1 Denzitometrické měření růstové křivky při různých teplotách

Zkoumaný kmen byl naočkován do zkumavky s MRS bujónem a kultivován přes noc při teplotě uvedené v tabulce 1. Do sterilních plastových zkumavek bylo převedeno 30 ml MRS bujónu a následně zaočkováno 50 µl předem promíchané 24hodinové bakteriální suspenze a důkladně uzavřeno. Plastové zkumavky (TubeSpin®, Bioreactor) byly vybaveny víčky s membránovým filtrem propustným pro plyny, kultivace tedy probíhala za aerobních podmínek. Biosan RTS-1C zaznamenával optickou denzitu (OD) při 850 nm měřenou pomocí NIR světelné diody. Parametry kultivace osmi kmenů, které byly zvoleny dle doporučení výrobce (RTS-1, RTS-1C Personal bioreactor User instructions, 2023), jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Parametry kultivace pro testování růstu při různých teplotách

Teplota	20/30/40 °C
Frekvence měření	30 min ⁻¹
Počet otáček	0 ot./min
Frekvence reverzních otáček	0 s ⁻¹
Objem kultivačního média	30 ml

V případě kmene *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* byly z důvodů silné tvorby sedimentu parametry upraveny (viz tabulka 5). Parametry kultivace byly navoleny prostřednictvím softwaru RTS control (verze 2.7.4.3). Přístroj zaznamenával i specifickou růstovou rychlost během kultivace. Při měření byl daný kmen kultivován v každé jednotlivé teplotě paralelně dvakrát, přičemž po ukončení měření byly hodnoty OD z těchto paralelních měření zprůměrovány.

Tabulka 5: Parametry kultivace *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*

Teplota	20/30/40 °C
Frekvence měření	30 min ⁻¹
Počet otáček	1000 ot./min
Frekvence reverzních otáček	1 s ⁻¹
Objem kultivačního média	30 ml

8.2 Zjišťování tvorby biofilmu

Tvorba biofilmu byla zjišťována pomocí modifikované Christensenovy metody, jejíž princip je popsán v kapitole 4.3.2. Pro zjišťování vlivu teploty kultivace byly zvoleny teploty 30 a 37 °C. K testování vlivu doby kultivace byly bakteriální kmeny kultivovány po dobu 48, 72 a 96 hodin a k testování vlivu složení média byly použity MRS bujóny s různým přídatkem glukózy, laktózy a NaCl, uvedené v kapitole 8.2.2.

8.2.1 Stanovení tvorby biofilmu pomocí modifikované Christensenovy metody

Nejprve, pro zajištění čerstvé kultury, bylo všech devět kmenů vyočkováno do zkumavky s MRS bujónem a kultivováno v termostatu přes noc, použité kultivační teploty pro jednotlivé kmeny jsou uvedeny v tabulce 1.

Do polystyrenové 96jamkové mikrotitrační destičky bylo do každé jamky napipetováno 200 µl MRS bujónu. Poté bylo po dvou sloupcích jamek naočkováno 10 µl bakteriální suspenze určitého kmene a zároveň byly ponechány dva sloupce jamek bez inokula jako negativní kontrola. Destička byla přikryta víkem a zabalena v plastovém obalu kvůli omezení odparu média. Destičky byly kultivovány po dobu 48, 72 a 96 hodin při teplotách 30 i 37 °C ke zjištění vlivu doby a teploty kultivace na tvorbu biofilmu.

Po kultivaci byl obsah destičky vylit, jednotlivé jamky byly šetrně promyty destilovanou vodou, aby byly odstraněny planktonní buňky a zbytková voda vyklepána na

filtrační papír. Poté byla každá jamka naplněna 200 μ l 96% ethanolem k fixaci biofilmu. Po vylití a důkladném oschnutí ethanolu bylo do jamek napipetováno 200 μ l krystalové violeti k obarvení buněk biofilmu. Barvivo se nechalo působit 20 minut při pokojové teplotě. Po uplynutí této doby byla krystalová violet vylita a destička byla několikrát propláchnuta destilovanou vodou, dokud se barvivo znatelně neuvolňovalo. Zbytek vody byl opět vyklepán na filtrační papír, načež byly jamky naplněny opět 200 μ l 96% ethanolu k rozpuštění zbytkové krystalové violeti.

Absorbance kapaliny v jednotlivých jamkách byla měřena spektrofotometricky na spektrofotometru Tecan při 595 nm, přičemž intenzita zbarvení měřené kapaliny je přímo úměrná množství vzniklého biofilmu (Pleva et al., 2022). Celkem bylo získáno 16 opakování v rámci jednoho měření. Vzhledem k tomu, že část získaných dat neměla normální rozdělení bylo vyřazeno minimum hodnot pouze na základě laboratorního záznamu. Odlehlost hodnot negativní kontroly byla zkontrolována podle interkvartilového rozpětí.

Poté byly z naměřených absorbancí odečteny negativní kontroly a z těchto rozdílů byla vypočtena průměrná absorbance (A_{595}) pro každý testovaný kmen. Pro výpočet mezní hodnoty pro tvorbu biofilmu (cutoff value, zkr. CV) byl použit součet trojnásobku směrodatné odchylky negativní kontroly a jejího průměru (Stepanović et al., 2000). Hodnota CV byla stanovena zvlášť pro každou destičku. S touto hodnotou byly porovnávány naměřené absorbance jednotlivých kmenů pouze v příslušné destičce.

Kmeny byly podle porovnání jejich absorbance (A_{595}) s cutoff value (CV) rozděleny na:

- netvořící biofilm ($A_{595} \leq CV$),
- slabě tvořící biofilm ($CV < A_{595} \leq 2CV$),
- středně tvořící biofilm ($2CV < A_{595} \leq 4CV$),
- silně tvořící biofilm ($A_{595} > 4CV$) (Singh et al., 2017).

8.2.2 Příprava bujónů ke zjišťování vlivu média na tvorbu biofilmu

Celkem byly připraveny MRS bujóny s celkovým obsahem:

2 % (w/v) glukózy

3 % (w/v) glukózy

4 % (w/v) glukózy

1 % (w/v) laktózy

2 % (w/v) laktózy

1 % (w/v) NaCl

K základní směsi MRS byla přidána vypočtená navážka sacharidu či NaCl. Po zalití odpovídajícího množství destilované vody a rozpuštění bylo připravený bujón sterilován v autoklávu při 121 °C po dobu 20 minut. Dále bylo postupováno obdobně jako v předchozí kapitole (8.2.1), avšak veškeré mikrotitrační destičky již byly kultivovány pouze při 30 °C.

8.2.3 Statistická analýza

Vzhledem k mému pozdějšímu zjištění, že naměřené hodnoty některých kmenů nemají normální rozdělení, bylo k testování vlivu teploty a doby kultivace na tvorbu biofilmu použito neparametrického Wilcoxonova testu pro párové hodnoty, a to ke zjišťování vlivu rozdílných podmínek jak u jednotlivých kmenů (jako vícenásobné testování), tak u všech testovaných kmenů BMK jako celku. Hladina významnosti 0,05 byla pro vícenásobné testování upravena Bonferroniho korekcí a vzhledem k nemožnosti nalézt tabelovanou kritickou hodnotu pro 0,005, byla pro testování zvolena kritická hodnota pro nejbližší hladinu významnosti 0,005. Pro celkové testování vlivů bylo použito srovnání mediánů jednotlivých kmenů a vypočtená hodnota W byla porovnávána s kritickou hodnotou pro hladinu významnosti 0,05.

Vliv složení média byl testován neparametrickým Mann-Whitneyho testem, kdy byly porovnávány hodnoty modifikovaného média se standardním MRS. Vypočtená hodnota U byla porovnána s odpovídající tabulkovou hodnotou podle počtu hodnot obou srovnávaných skupin, a to na hladině významnosti 0,005 (opět zohlednění Bonferroniho korekce). K hodnocení celkového vlivu byly použity mediány zjištěných hodnot pro jednotlivé kmeny a testovány na hladině významnosti 0,05.

8.3 Zjišťování antibiotické rezistence

Fenotypová rezistence k antibiotikům byla zjišťována diskovou difúzní metodou. K testům bylo vybráno celkem 12 antibiotik, jež jsou uvedena v tabulce 2. Následně bylo vybráno devět genů antibiotické rezistence související s testovanými antibiotiky, jejichž přítomnost či nepřítomnost byla zjišťována metodou klasické PCR.

8.3.1 Zjišťování antibiotické rezistence diskovou difúzní metodou

Fenotypová rezistence byla zjišťována pomocí diskové difúzní metody. Metoda byla oproti standardům Evropského výboru pro testování antimikrobiální citlivosti (EUCAST) (Matuschek et al., 2014) upravena kvůli specifickým vlastnostem bakterií mléčného kvašení.

Všech devět kmenů bylo vyočkováno do zkumavky s MRS bujónem a kultivováno v biologickém termostatu přes noc při teplotách uvedených v tabulce 1. Z čerstvých kultur byla připravena ve sterilní plastové zkumavce suspenze ve fyziologickém roztoku o zákalu 1 McFarland, načež zákal byl měřen denzitometrem (DenziLametr®). Na Petriho misky s MRS agarem bylo naočkováno 100 µl připravené suspenze metodou roztěru pomocí skleněné zahnuté tyčinky, načež každý z kmenů byl vyočkován na čtyři misky. Na každou misku bylo pomocí sterilní jehly přenesena šestice disků s různými antibiotiky, umístěnými tak, aby se nacházely co nejdál od sebe i od okrajů misky. Každá šestice antibiotik na určitém kmeni byla testována paralelně dvakrát. Následně byly kmeny kultivovány po dobu 24 hodin při 30 °C za aerobních podmínek. Po kultivaci byl pomocí pravítka měřen průměr zóny smrti, přičemž průměr jednoho disku je 6 mm.

Tabulka 6: Prahové hodnoty průměru inhibiční zóny pro jednotlivá antibiotika

Zkratka antibiotika	Koncentrace (µg/disk)	Průměr inhibiční zóny (mm)			Reference
		R	I	C	
CXM	30	≤ 15	16-17	≥ 18	(Charteris et al., 1998)
CX	30	≤ 14	15-17	≥ 18	(Melo et al., 2017)
PIT	85**	≤ 18	19-20	≥ 21	(Charteris et al., 1998)
RIF	5	≤ 16	17-20	≥ 21	(Moghimi et al., 2021)
C	30	≤ 13	14-17	≥ 18	(Melo et al., 2017)
HLS	300	≤ 6	7-9	≥ 10	(Khan et al., 2022)
HLG	120	≤ 8	ND	≥ 10	
VA	30**	≤ 14	15-16	≥ 17	(Melo et al., 2017)
CD	2	≤ 8	9-11	≥ 12	
E	15**	≤ 13	14-17	≥ 18	
NIT	300	≤ 14	15-16	≥ 17	(Charteris et al., 1998)
DO*	30	≤ 20	21-24	≥ 25	(Maaland et al., 2013)

* – testováno na stafylokocích

** – jiná než testovaná koncentrace v této práci

R – rezistentní, I – intermediární, C – citlivý, ND – nedefinována

CXM – cefuroxim, CX – cefoxitin, PIT – piperacilin/tazobaktam, RIF – rifampicin, C – chloramfenikol, CX – cefoxitin, HLG – gentamycin, VA – vankomycin, CD – klindamycin, E – erytromycin, NIT – nitrofurantoin, DO – doxycyklin

Velikost inhibiční zóny byla porovnávána s dostupnou literaturou a dle prahových hodnot velikostí inhibičních zón (viz tabulka 6) uváděných v této literatuře byly jednotlivé kmeny rozděleny na citlivé, intermediární (středně citlivé) a rezistentní. V pokynech EUCAST totiž nejsou zavedeny prahové hodnoty pro testování mléčných tyčinek a postup navržený institutem pro klinické a laboratorní standardy (CLSI) není přizpůsoben požadavkům růstu všech druhů těchto bakterií (Dec et al., 2017).

8.3.2 Detekce přítomnosti vybraných genů antibiotické rezistence

Hledané geny antibiotické rezistence uvedené v tabulce 3 byly detekovány pomocí klasické PCR s následnou gelovou elektroforézou a vizualizací pomocí barvení barvivem GelRed® a UV transluminátoru. Nejdříve bylo všech devět kmenů vyočkováno do zkumavky s MRS bujónem a kultivováno v termostatu přes noc, jednotlivé kmeny byly kultivovány při teplotách uvedených v tabulce 1 k získání čerstvé kultury.

8.3.2.1 Izolace DNA

V prvním kroku byla DNA ze zkoumaných bakteriálních kmenů izolována pomocí DNeasy Blood and Tissue komerční soupravy dle návodu výrobce s drobnými modifikacemi.

V principu se buňky nejprve lyzují pomocí proteinázy K. Po nanesení lyzátu na kolonku DNeasy Mini spin se během odstředování DNA selektivně váže na membránu DNeasy v přítomnosti chaotropní soli, zatímco doprovodné látky jsou odstraněny ve dvou promývacích krocích a DNA je poté eluována ve vodě nebo pufru a připravena k použití (DNeasy Blood and Tissue Kits for DNA Isolation, 2023). Postup izolace znázorňuje obrázek 5.

Pro získání buněk byly nejdříve odpipetovány 2ml 24hodinové kultury do eppendorfkové zkumavky a odstředěny pomocí centrifugy při 14 500 ot./min po dobu 2 minut. Supernatant byl opatrně vylit a pelet buněk byl resuspendován ve 200 µl PBS pufru. Následně bylo přidáno 20 µl roztoku proteinázy K, 200µl AL pufru a obsah byl důkladně protřepán. Zkumavka byla umístěna do termobloku, kde se ponechala po dobu 10 minut za působení teploty 56 °C.



Obrázek 5: postup izolace DNA, upraveno podle (DNeasy Blood and Tissue Kits for DNA Isolation, 2023)

Po vytažení z termobloku bylo přidáno 200 μ l 96% ethanolu a opět byl obsah zkumavky protřepán. Obsah zkumavky byl napipetován do zkumavky s DNeasy Mini spin kolonkou a odstředěn při 8000 ot./min po dobu 1 minuty, přičemž obsah nahromaděný ve sběrné zkumavce byl vylit. Poté bylo přidáno 500 μ l pufru AW1 s opětovným odstředěním při 8000 S ot./min po dobu 1 minuty a obsah ve sběrné nádobce byl vylit. Poté bylo na kolonku nanášeno 500 μ l pufru AW2 a následovalo odstředění při 14 000 ot./min po dobu 3 minut. Obsah ze sběrné zkumavky byl opět vylit, přičemž kolonka byla přemístěna do nové

eppendorfkové zkumavky. V posledním kroku bylo do středu kolonky naneseo 100 μl AE pufru a po 5minutové inkubaci při pokojové teplotě byly zkumavky odstředěny při 8000 ot./min po dobu 1 minuty (DNeasy Blood and Tissue Kits for DNA Isolation, 2023). Získaný roztok s DNA byl skladován v mrazáku při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

8.3.2.2 Měření koncentrace a čistoty izolované DNA

Po očištění spektrofotometrické destičky ethanolem a oschnutí byly na příslušná místa naneseny 2 μl vzorku izolované DNA. Jako negativní kontrola (blank) byl použit čistý AE pufr. Následně bylo pomocí spektrofotometru Tecan Infinite M200 PRO změřena absorbance při 260 a 280 nm, z čehož byla zjištěna koncentrace DNA v ng/ μl a její čistota. DNA přečištěná pomocí DNeasy soupravy by měla mít poměr absorbancí při 260 a 280 nm 1,7-1,9 (DNeasy Blood and Tissue Kits for DNA Isolation, 2023).

8.3.2.3 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Amplifikaci požadovaného úseku DNA byla provedena klasickou PCR pomocí termocykleru (AerisTM, ESCO®). Jako templát byla použita DNA izolovaná v předchozím kroku (kapitola 8.3.2.1).

Pro každé jednotlivé stanovení genu byla připravena směs sestávající se ze složek uvedených v tabulce 7. Nejprve byla připravena směs sterilní PCR vody, Master mixu a obou primerů, přidávaných v tomto pořadí, a to v množství potřebném pro devět vzorků, negativní kontrolu a určitou rezervu. Použitý Master mix obsahoval VWR Taq polymerázu, deoxyribonukleotidy, MgCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Tween 20, Tris HCl a inertní červené barvivo. Tato směs byla důkladně promíchána pomocí vortexu a nadávkována do stripu PCR eppendorfkových mikrozkuavek po 24 μl . V závěru byl do jednotlivých zkumavek přidán 1 μl promíchané templátové DNA zkoumaného kmene. Jedna zkumavka byla ponechána bez DNA templátu jakožto negativní kontrola PCR směsi

Tabulka 7: Složení PCR směsi pro amplifikaci genu jednoho vzorku DNA

Reakční složka	Objem (μl)
Master mix	12,5
Primer F	0,5
Primer R	0,5
Sterilní PCR voda	10,5
Templát DNA	1
Celkově	25

Pro minimalizaci vzniku nespecifických produktů byla v případě některých hledaných genů zředěna templátová DNA 10krát PCR vodou.

Zkumavky byly umístěny do termocykleru, kde probíhala samotná PCR reakce dle navoleného tepelného programu (viz tabulka 8), jenž byl totožný pro všechny experimenty s výjimkou annealingové teploty. Annealingové teploty pro jednotlivé primery jsou uvedeny spolu s výčtem použitých primerů v tabulce 3. V některých případech byla nutná optimalizace annealingové teploty uvedené v původní literatuře. Po ukončení PCR byly mikrozkušavky se vzorky zchlazeny na 4 °C a do doby vyjmutí z termocykleru byly skladovány v lednici při 5 ± 1 °C do další analýzy.

Tabulka 8: Tepelný program pro PCR amplifikaci genů

Sled reakcí	Teplota (°C)	Čas (min)
Počáteční denaturace	95	2
35 cyklů:		
Denaturace	95	0,5
Annealing	viz tab č. 3	0,6
Extenze	72	1,5
Po proběhnutí všech cyklů:		
Závěrečná extenze	72	10
Uchování vzorků	4	neomezeně

8.3.2.4 Agarózová elektroforéza

Pomocí agarózové elektroforézy byla provedena detekce PCR produktu amplifikovaného v předchozím kroku (kapitola 8.3.2.3).

Byl připraven 1,5% agarózový gel z příslušné navážky agarózy a 1x koncentrovaného TAE pufru. Po rozpuštění agarózy pomocí ohřevu v mikrovlnné troubě bylo po zchladnutí na teplotu přibližně 60 °C přidáno pár kapek barviva GelRed® načež byl obsah promíchán a vylit do připravené formy s hřebínky. Případné bubliny byly odstraněny špičkou. Po utuhnutí bylo z formy opatrně odejmuto silikonové těsnění a hřebínky a gel byl takto ponořen do elektroforézní vany tak, aby byly komůrky u záporné katody pro zajištění migrace záporně nabitě DNA ke kladně nabitě anodě. Gel byl převrstven 1x koncentrovaným TAE pufrem tak, aby jeho hladina byla 1-2 mm nad povrchem gelu.

Do jednotlivých komůrek byly následně automatickou pipetou nanášeny vzorky včetně negativní kontroly o objemu 4 µl. Rovněž byl nanesen srovnávací 100 bp marker o objemu

3 μ l. Po přiklopení víkem byla elektroforetická vana (Multi SUB, Cleaver scientific) připojena ke zdroji stejnosměrného proudu o napětí 120 V po dobu 40 minut. Po uplynutí 40 minut byl gel přemístěn do UV transluminátoru (Syngene InGenius LHR2), kde byly DNA amplikony zviditelněny UV zářením a zdokumentovány. V některých případech bylo působení elektrického napětí prodlouženo o 20 minut, kvůli lepší separaci úseků DNA. Pomocí markeru byly určeny velikosti PCR produktů a porovnány s předpokládanou délkou úseku genu (viz tabulka 3) uvedeným v literatuře.

9 VÝSLEDKY

V rámci této práce bylo zjištěno, že většina zkoumaných kmenů BMK jsou mezofilní a většina z nich má teplotní optimum růstu kolem 30 až 40 °C. Růstové teplotní nároky se však napříč kmeny lišily ve schopnostech růstu při 20 a 40 °C a v rozpětí teplot, při nichž byl pozorován dobrý růst.

Kmeny BMK se odlišovaly i ve schopnosti tvorby biofilmu *in vitro*, kdy celkem byla prokázána biofilmpozitivita u 6 kmenů z 9 a to u *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *P. acidilactici*, *Lt. sakei*, *Lm. fermentum*, *Lp. plantarum* a *S. inulinus*. U dvou z nich se však jednalo o vlastnost podmíněnou určitými podmínkami, v případě *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* se jednalo o teplotu a v případě *Lt. sakei* o přidavek sacharidů a NaCl. Celkově nebyl u testovaných kmenů prokázán statisticky významný rozdíl v tvorbě biofilmu při teplotách kultivace 30 a 37 °C, ani při přidavku glukózy, laktózy a NaCl. Naopak u většiny sledovaných podmínek byl prokázán celkově pozitivní vliv doby kultivace na tvorbu biofilmu. Kultivační teplota a přidavek sacharidů a NaCl však měly pozitivní vliv u některých kmenů. Vliv podmínek na tvorbu biofilmu je tedy spíše kmenově specifický.

Všechny testované kmeny vykazovaly rezistenci na 3 až 5 zkoumaných antibiotik. Vysoká míra rezistence byla pozorována u vankomycinu, cefuroximu, cefoxitinu a doxycyklinu. Zároveň všech 9 kmenů bylo citlivých na chloramfenikol, klindamycin, streptomycin a gentamycin. V případě dvou kmenů však byl detekován gen *aadB*, kódující rezistenci právě na poslední jmenované antibiotikum, a to u kmenů *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* a *Lg. coryniformis*. Zároveň byl detekován gen *van* u kmene *Lt. sakei*, kódující rezistenci k vankomycinu.

9.1 Sledování růstu při různých teplotách

U devíti sbírkových kmenů byl sledován růst při třech různých teplotách (20, 30 a 40 °C), při nichž nejčastěji probíhají fermentace. Postup a parametry kultivace jsou uvedeny v kapitole 8.1. Výsledky schopnosti růstu jsou znázorněny graficky růstovými křivkami.

Všech devět testovaných kmenů lze považovat za mezofilní, což je patrné i z doporučených kultivačních teplot dle CCM. Kmeny *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *P. acidilactici*, *Lc. paracasei*, *Lm. fermentum* a *S. inulinus* vykazovaly teplotní optimum mezi 30 až 40 °C. Kmeny *Lp. plantarum*, *Lt. sakei* a *Lg. coryniformis* již nejlépe

rostly při 30 °C a kmen *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* vykazoval optimální teplotu růstu mezi 20 a 30 °C.

U celkem šesti testovaných kmenů BMK byla teplota, při níž bylo dosaženo nejvyššího nárůstu, 30 °C, nicméně u dvou z nich (*P. acidilactici* a *S. inulinus*) byl tento nárůst jen mírně vyšší než při kultivaci při 40 °C. U dalších dvou (*Lc. paracasei* a *Lm. fermentum*) bylo nejvyššího nárůstu dosaženo dokonce při 40 °C. Jediný kmen, *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* izolovaného z fermentovaných oliv, nevykazoval při této teplotě žádný růst. Co se týče růstu při 20 °C, vyjímaje *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, nejvyššího nárůstu při této teplotě oproti optimálním vykazoval *S. inulinus*, kdy nárůst při 20 °C dosáhl více než poloviční hodnoty nárůstu při 30 a 40 °C. O něco méně výraznější (již bezmála méně než poloviční) nárůst oproti nárůstu při 30 °C vykazoval také kmen *Lg. coryniformis*. Oba tyto kmeny byly izolovány z krmiv a nikoli z potravin.

V případě teplot kultivace s nejkratší lag fází bylo celkem u pěti kmenů pozorována nejkratší lag fáze při 40 °C. Teploty kultivace, při nichž bylo dosaženo nejvyššího a nejnižšího nárůstu a nejkratší lag fáze shrnuje tabulka 9.

Tabulka 9: Teploty kultivací s nejvyšším, nejnižším nárůstem a nejkratší lag fází

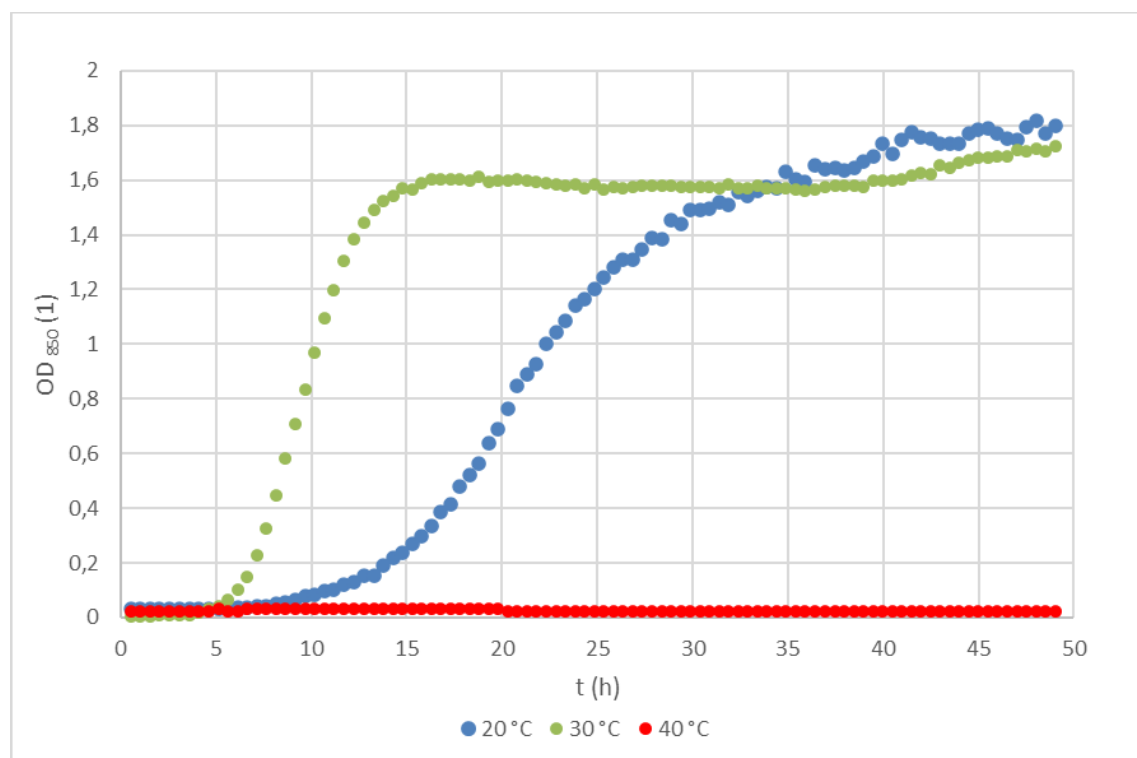
Číslo kmene (CCM)*	Teplota nejvyššího nárůstu (°C)	Teplota nejkratší lag fáze (°C)	Teplota nejnižšího nárůstu (°C)
1803	20 (30)	30	40
2085	30	40	20
4577	30 (40)	40	20
7052	40	40	20
7039	30	30	20
4302	30	30	20 (40)
7192	40	40	20
4618	30	30	40
7124	30 (40)	40	20

*CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* ssp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

Hodnota uvedená v závorce znamená teplotu kultivace, při níž byla hodnota parametru srovnatelná.

9.1.1 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CCM 1803

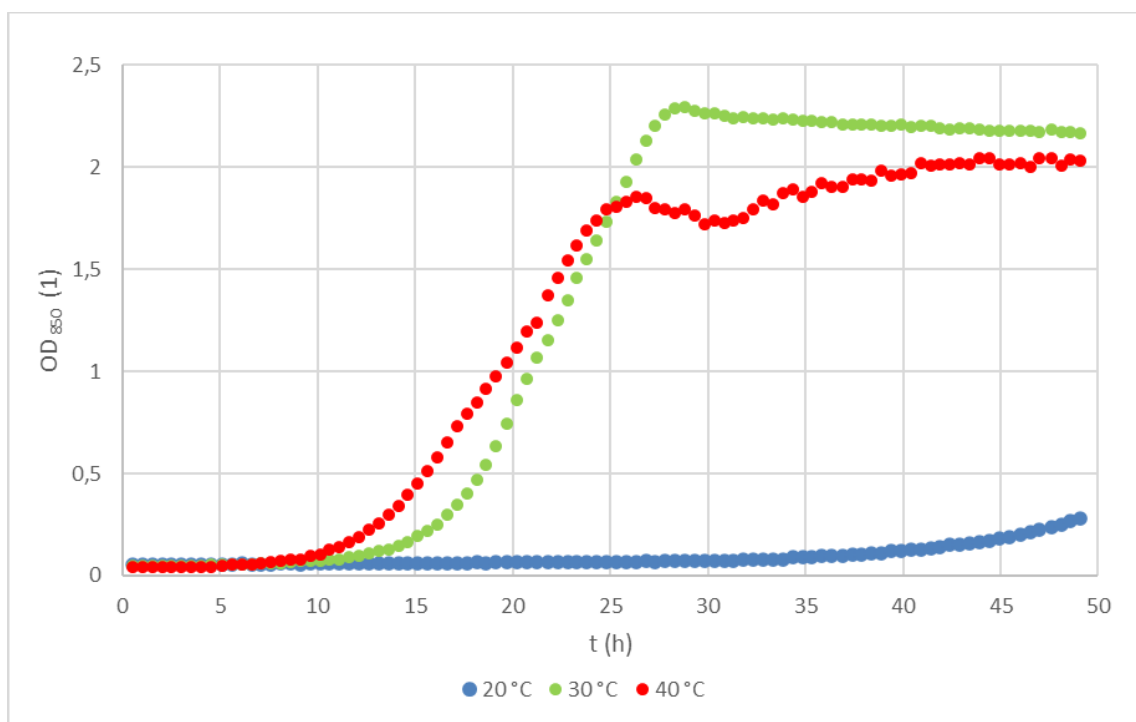
Na obrázku 6 jsou znázorněny růstové křivky *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CCM 1803 izolovaného z fermentovaných oliv. U této bakterie byla pozorována nejkratší lag fáze (5 hodin) při 30 °C, přičemž následovala exponenciální fáze, po níž hustota buněk dosáhla $OD = 1,6$ v čase 15 hodin. Hodnota nárůstu během kultivace zůstávala konstantní a od 41. hodiny došlo k mírnému nárůstu, který v samém konci dosáhl $OD = 1,75$. Během kultivace při 20 °C byla pozorována bezmála dvakrát delší lag fáze (9 hodin) a rovněž i pozvolnější růst v exponenciální fázi, nicméně během kultivace bylo dosaženo nejvyššího nárůstu právě při této teplotě a to $OD = 1,8$. Naopak při 40 °C nebyl růst vůbec zaznamenán. Naměřené výkyvy OD ke konci kultivace mohly být způsobeny tvorbou shluků buněk. Z grafu lze usuzovat, že kmen *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CCM 1803 je mezofilní až mírně psychrofilní s teplotním optimem mezi 30 a 20 °C, přičemž je pravděpodobně schopen dobrého růstu i při nižších teplotách.



Obrázek 6: Růstové křivky *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CCM 1803

9.1.2 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* CCM 2085

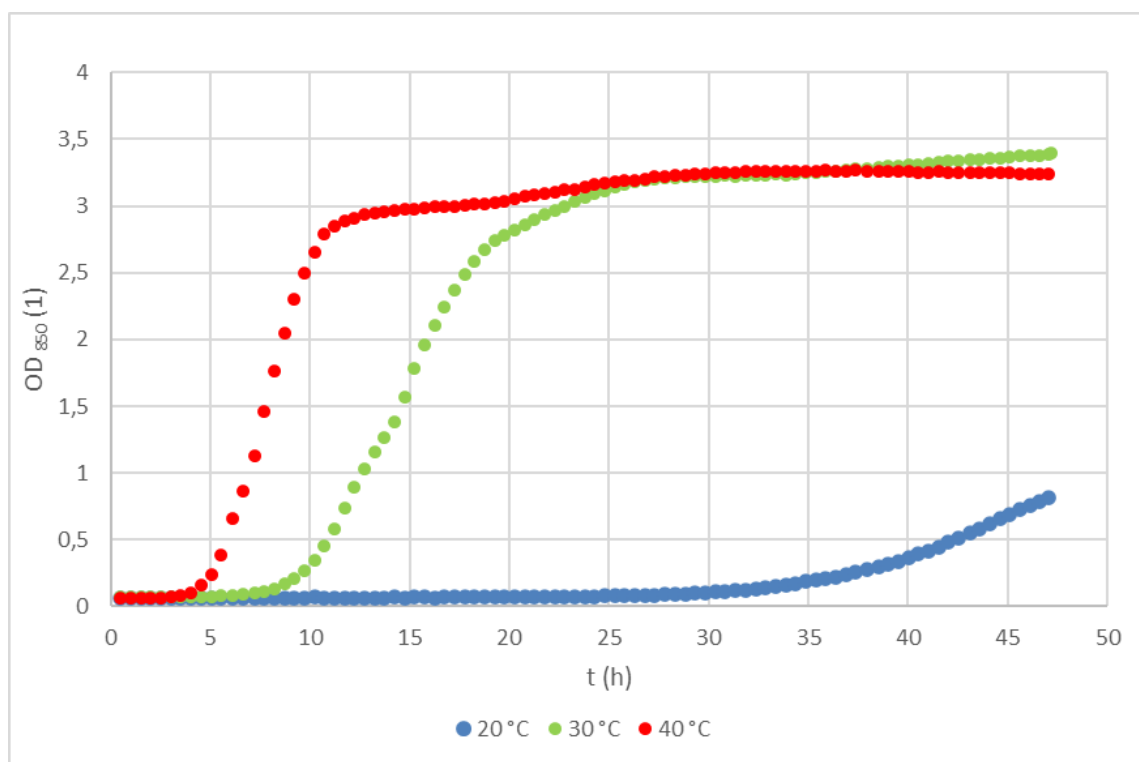
Na obrázku 7 lze vidět růstové křivky při různých teplotách. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* CCM 2085 vykazoval nejkratší lag fázi při teplotě 40 °C, a to s dobou 10 hodin. O dvě hodiny delší lag fáze byla pozorována během kultivace při 30 °C. Během kultivace při 40 °C byl po dosažení vrcholu ($OD = 1,85$) patrný menší pokles OD a následně opětovný pozvolný nárůst, a to až do hodnot kolem 2,06. Ačkoliv měla kultura *Leuc. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* CCM 2085 při 30 °C delší lag fázi (zhruba o 3 hodiny), dosáhla při ní nejvyššího nárůstu s maximem v hodnotě $OD = 2,3$. Při kultivaci při 20 °C vykazoval kmen prodlouženou lag fázi, která trvala 39 hodin, byla tedy více než třikrát delší oproti kultivaci při 40 °C. Po 48 hodinách kultivace bylo dosaženo hodnoty $OD = 0,25$; což je nárůst bezmála devětkrát nižší v porovnání s nárůstem při teplejších kultivacích. Ze zjištěné růstové křivky lze považovat testovaný mikroorganismus za mezofilní s růstovým optimem v rozmezí 30 až 40 °C.



Obrázek 7: Růstové křivky *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* CCM 2085

9.1.3 *Pediococcus acidilactici* CCM 4577

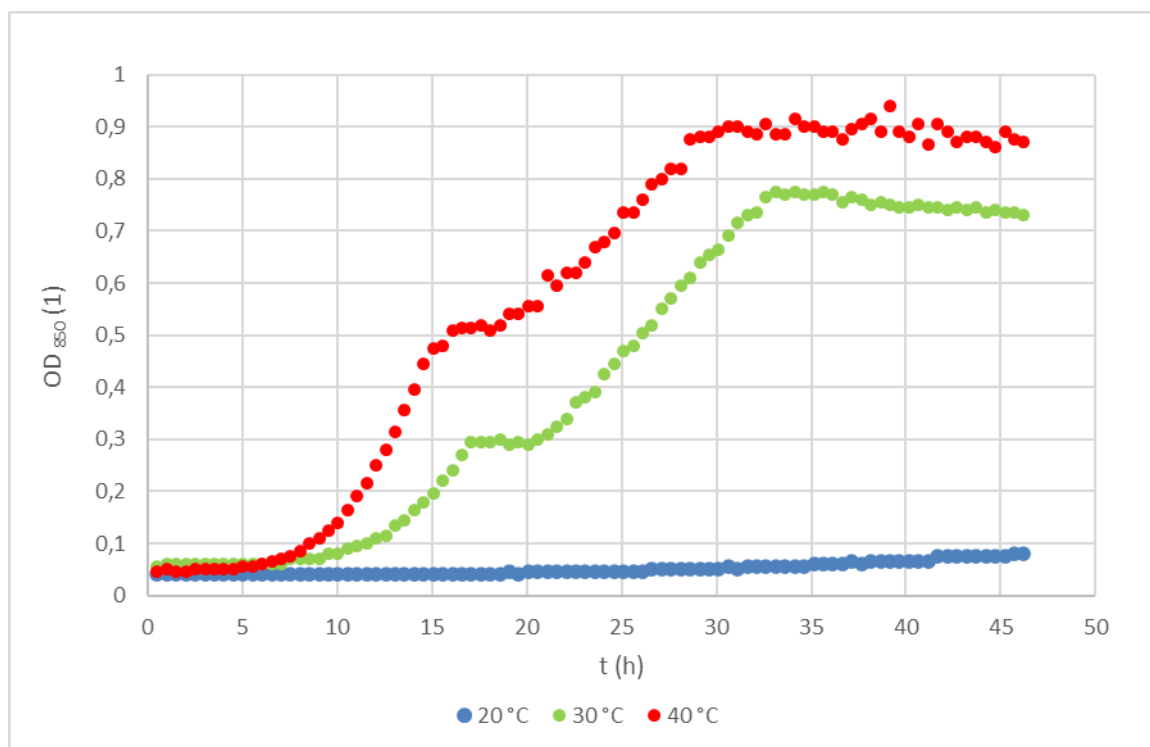
Obrázek 8 znázorňuje růstové křivky kmene *Pediococcus acidilactici* CCM 4577. Tento kmen vykazoval nejkratší lag fázi při 40 °C, jež trvala 4 hodiny. Při této teplotě zároveň vykazoval i nejstrmější růst. Po exponenciální fázi dosáhla bakteriální suspenze $OD = 3$ a to v době 12. hodiny kultivace. Následovala stacionární fáze, kdy hodnota OD byla poměrně neměnná, načež bylo pozorováno velmi mírné zvyšování OD na hodnotu 3,2. K závěru kultivace bylo naměřeno velmi mírného poklesu. Kultivace při 30 °C vykazovala dvakrát delší lag fázi v porovnání se 40 °C kultivací. Po 20 hodinách kultivace, kdy suspenze dosáhla $OD = 2,8$; se růst zpomalil, avšak OD se stále mírně zvyšovala po celou dobu měření a své maximální hodnoty ($OD = 3,4$) dosáhla v samém závěru. Nárůst buněk při 30 a 40 °C je srovnatelný. Kultivace při 20 °C vykazovala bezmála šestinásobné prodloužení oproti kultivaci při 40 °C a pozorován byl pozvolný nárůst, který ke konci dosahoval $OD = 0,8$. Měření specifické růstové rychlosti napovídalo, že by růst při této teplotě již nezinenzivňoval vzhledem ke se snižující specifické růstové rychlosti ke konci kultivace (viz příloha 1, obrázek 19). Podle růstových křivek se lze domnívat, že zkoumaný kmen *P. acidilactici* CCM 4577 je mezofilní bakterie s růstovým optimem mezi 30 a 40 °C.



Obrázek 8: Růstové křivky *Pediococcus acidilactici* CCM 4577

9.1.4 *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* CCM 7052

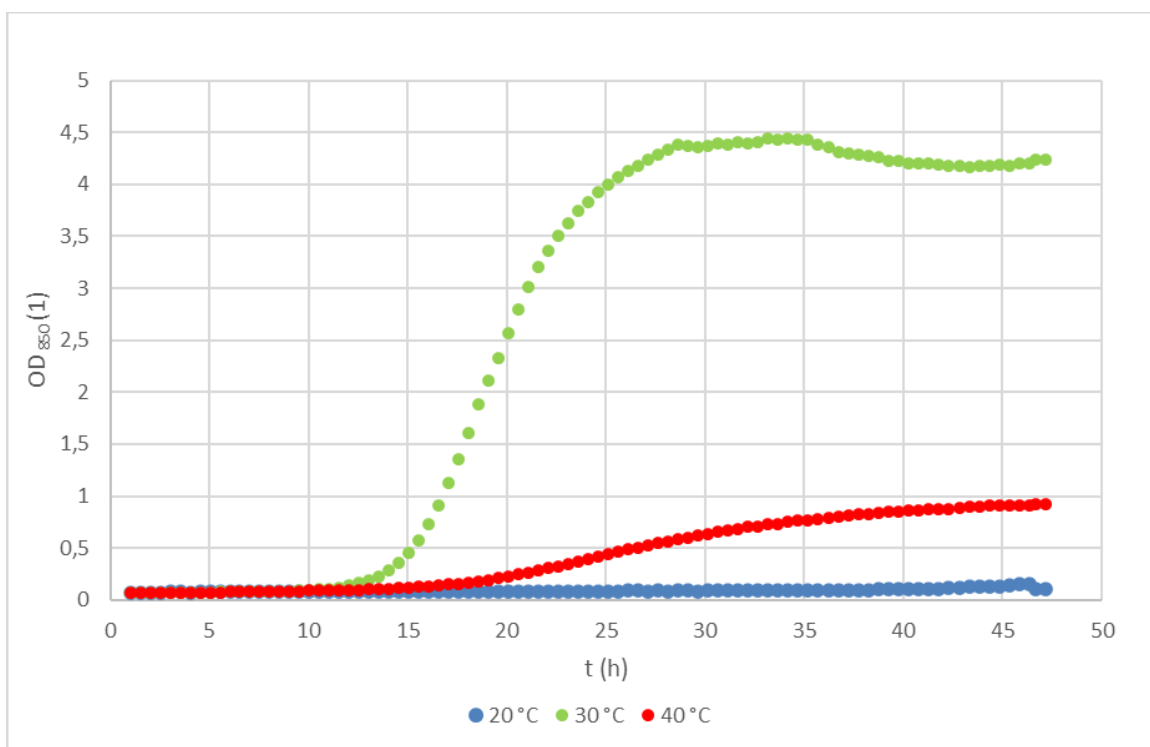
Obrázek 9 zachycuje růstové křivky *Lc. paracasei* subsp. *paracasei* CCM 7052. Nejkratší délka lag fáze (6,5 hodiny) byla zaznamenána během kultivace při 40 °C. Po této fázi následoval vzrůst, který v 15. hodině kultivace zastavil a až po 5 hodinách se OD začala opět zvyšovat, avšak pomalejším tempem. Své nejvyšší hodnoty OD dosáhla suspenze buněk po 30 hodinách od zaočkování, a to hodnoty 0,9; kolem níž se naměřené hodnoty pohybovaly do konce kultivace s patrným mírným poklesem. Obdobný bifázický charakter růstové křivky byl pozorován i během kultivace při 30 °C, zde byla však lag fáze prodloužena o 2 hodiny. Po dosažení OD = 0,3 v 17. hodině kultivace došlo k zastavení růstu, a dokonce k velmi mírnému poklesu a posléze k jeho obnovení po 3 hodinách. Maximální OD = 0,77 bylo dosaženo po 33 hodinách kultivace, po nichž následoval mírný, ale konstantní pokles. Fluktuace naměřené OD, zejména v poslední fázi kultivace mohla být způsobena tvorbou větších shluků buněk. Zjištěný růst při 20 °C byl velmi pozvolný a na konci kultivace OD blížila hodnotě 0,1. Ze zjištěných křivek lze považovat kmen *Lc. paracasei* subsp. *paracasei* CCM 7052 za mezofilní mikroorganismus s růstovým optimem kolem 40 °C.



Obrázek 9: Růstové křivky *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* CCM 7052

9.1.5 *Lactiplantibacillus plantarum* CCM 7039

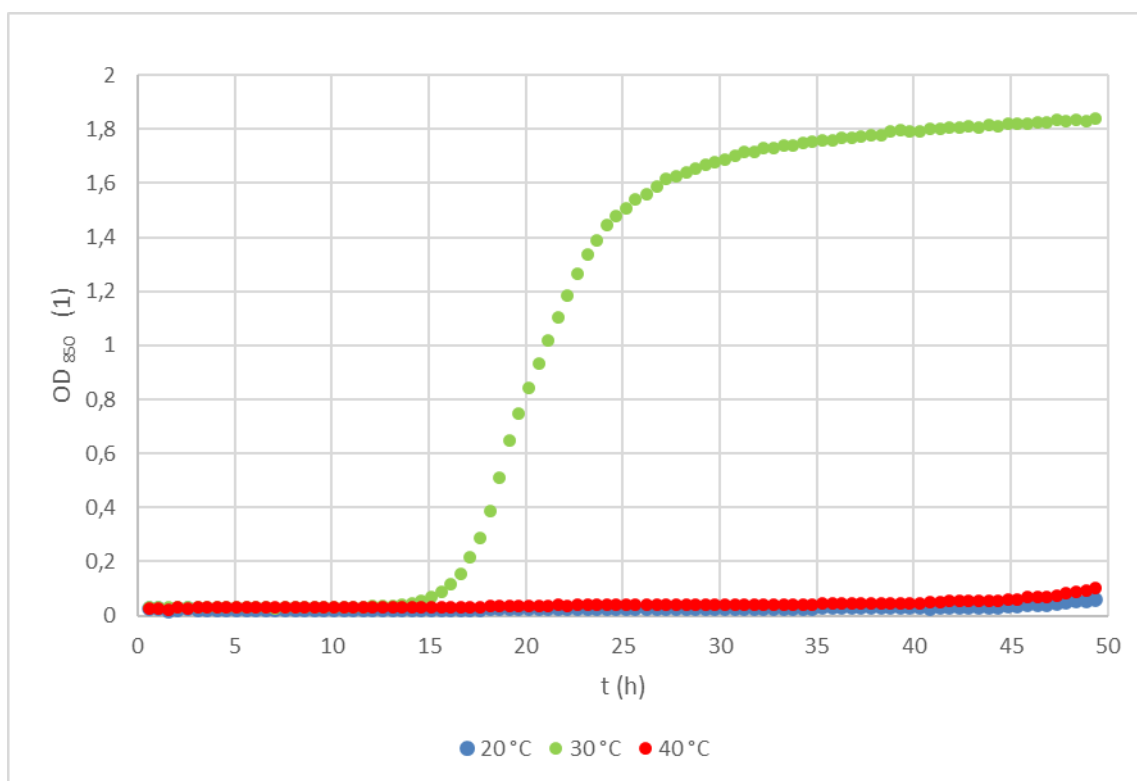
Obrázek 10 znázorňuje růstové křivky *Lp. plantarum* CCM 7039 při třech různých teplotách. Lag fáze u této bakterie byla nejkratší při 30 °C, a to s délkou 12,5 hodiny. Tato fáze byla následována strmějším nárůstem buněk v exponenciální fázi, jejichž OD dosáhla maximální hodnoty 4,4 ve 28. hodině kultivace. Po dosažení maximální hodnoty OD byl pozorován její mírný pokles a v závěru kultivace byl zaznamenán mírný vzrůst OD. Naproti tomu testovaný kmen nevykazoval téměř žádný růst při 20 °C. Při 40 °C byla lag fáze o třetinu prodloužena v porovnání s růstem při 30 °C. Po lag fázi buněčná suspenze vykazovala velmi pozvolný nárůst, který ke konci kultivace zpomaloval, přičemž po 47 hodinách kultivace dosáhl nejvyšší zaznamenané OD = 0,92. Vývoj specifické růstové rychlosti (viz příloha 1, obrázek 20) vykazuje od 43. hodiny kultivace stagnaci. Z naměřených křivek je možné usuzovat, že kmen *Lp. plantarum* CCM 7039 je mezofilní, s růstovým optimem kolem 30 °C, přičemž teplotní rozmezí pro optimum je spíše užší.



Obrázek 10: Růstové křivky *Lactiplantibacillus plantarum* CCM 7039

9.1.6 *Latilactobacillus sakei* subsp. *sakei* CCM 4302

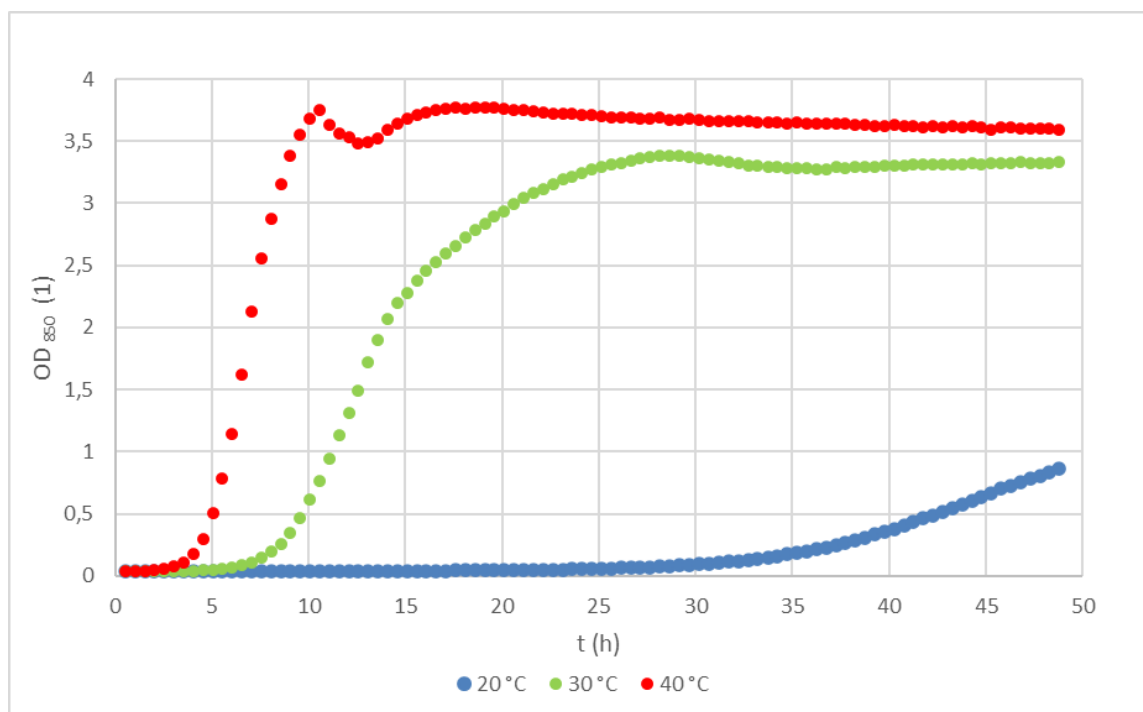
Na obrázku 11 můžeme pozorovat růstové křivky *Lt. sakei* CCM 4302 při třech různých teplotách. U *Lt. sakei* CCM 4302 byla pozorována nejkratší lag fáze při 30 °C, a to s délkou 14 hodin, přičemž následovala exponenciální fáze. Po dosažení hodnoty OD = 1,7 po 28 hodinách kultivace se růst výrazně zpomalil, nicméně setrval a ke konci kultivace hodnota OD dosahovala 1,85. Naproti tomu při 20 i 40 °C byla lag fáze zhruba čtyřnásobně delší a trvala téměř po celou dobu kultivace čili 48 hodin. Během kultivace při nejvyšší testované teplotě dosahoval maximální nárůst buněk na konci kultivace OD = 0,1; zatímco při 20 °C byl maximální nárůst ještě nižší, a to OD = 0,06. Ze zjištěných křivek lze vyčíst, že bakterie *Lt. sakei* subsp. *sakei* CCM 4302 je mezofilní s teplotním optimem okolo 30 °C, přičemž optimální růstové rozmezí teplot je poměrně úzké v porovnání s ostatními testovanými BMK.



Obrázek 11: Růstové křivky *Latilactobacillus sakei* subsp. *sakei* CCM 4302

9.1.7 *Limosilactobacillus fermentum* CCM 7192

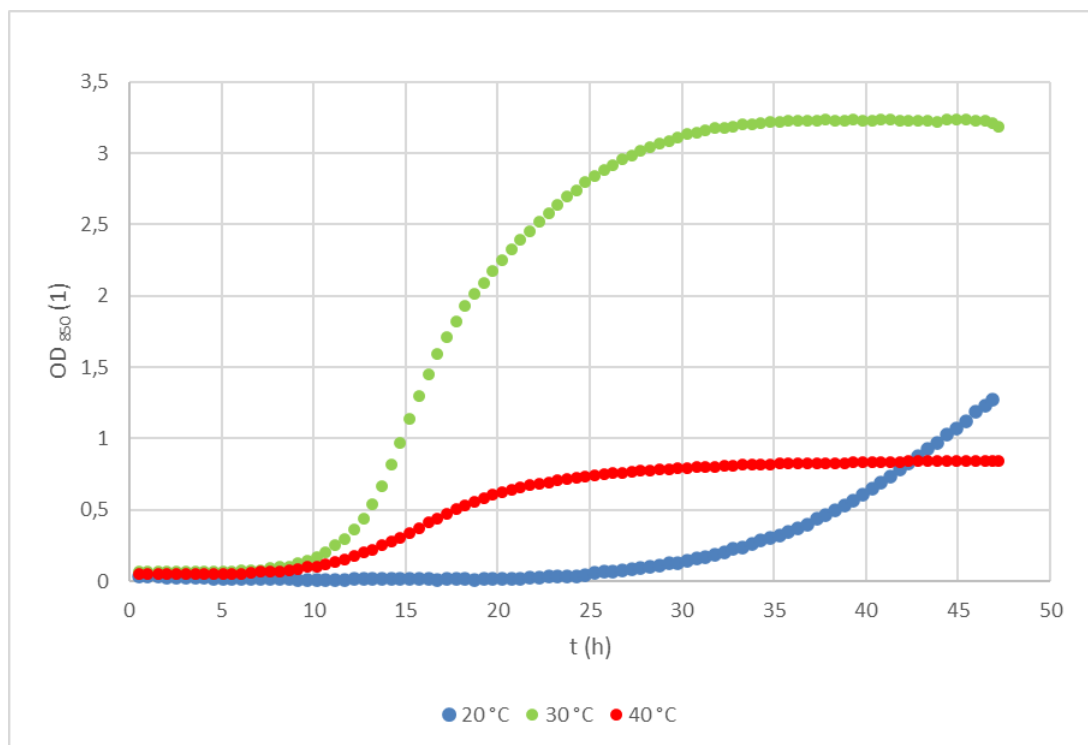
Na obrázku 12 jsou zaznamenány růstové křivky *Lm. fermentum* CCM 7192 při třech různých teplotách. U *Lm. fermentum* CCM 7192 byla pozorována nejkratší lag fáze při 40 °C, a to s délkou 3 hodin. Během kultivace kmen vykazoval prudký nárůst OD, načež po 10 hodinách dosáhla svého maxima v hodnotě 3,75. Po dosažení této hodnoty došlo k mírnému krátkodobému poklesu OD, která se následně opět mírně zvýšila a v čase kolem 20 hodin od počátku měření začala OD až do konce kultivace pozvolna, ale souvisle klesat. Při 30 °C kultivaci byla délka lag fáze dvojnásobná oproti teplotě 40 °C. Exponenciální fáze, která následovala, nevykazovala tak výrazný sklon jako v teplejší vsádce a zpomalování růstu bylo pozvolnější, přičemž byla naměřena nejvyšší OD kolem 3,4; v čase 39 hodin. Poté následoval velmi mírný pokles, načež se OD do konce měření výrazně neměnila. Kultivace při 20 °C vykazovala lag fáze desetinásobně prodlouženou oproti 40 °C. U kmene byl zjištěn pozvolný nárůst OD, jejíž maximum OD = 0,86 bylo zaznamenáno na samém konci experimentu. Na základě zjištěných růstových křivek lze usuzovat, že testovaný kmen *Lm. fermentum* CCM 7192 je mezofilní.



Obrázek 12: Růstové křivky *Limosilactobacillus fermentum* CCM 7192

9.1.8 *Loigolactobacillus coryniformis* CCM 4618

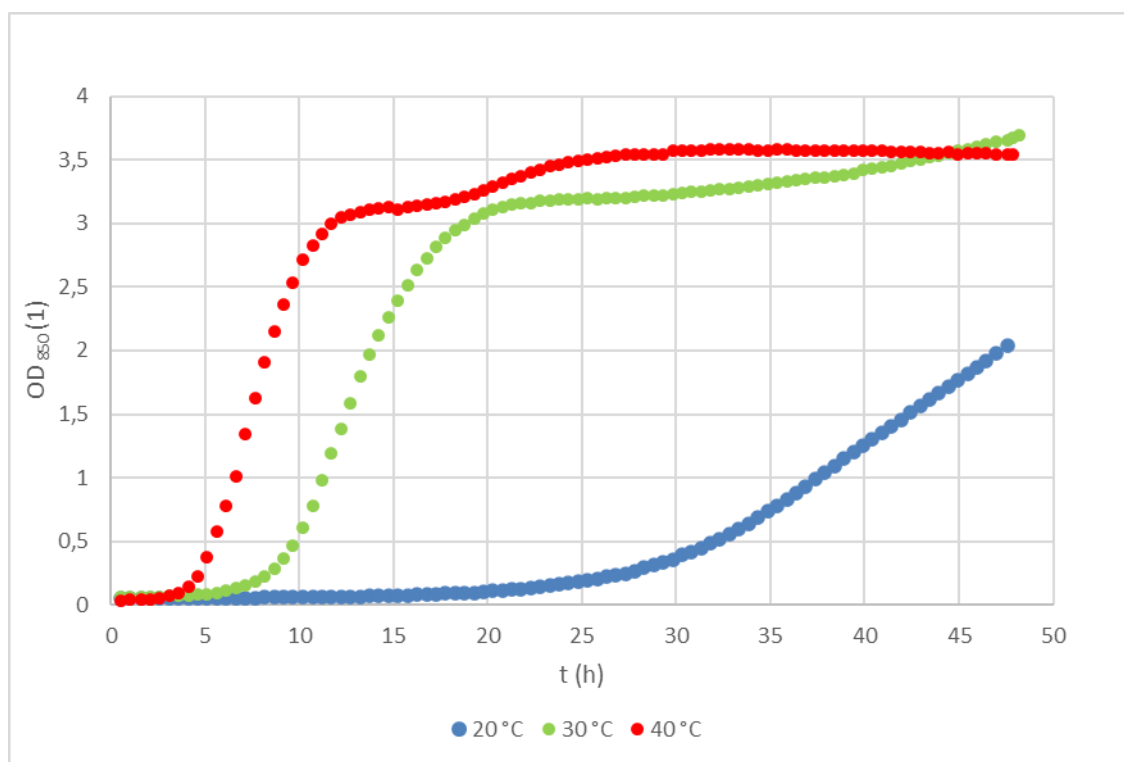
Růstové křivky *Loigolactobacillus coryniformis* CCM 4618 ilustruje obrázek 13. V případě této bakterie vykazovala nejkratší lag fázi vsádka při 30 °C, a to s délkou 10 hodin po níž následoval prudší nárůst buněk, který se pozvolna zpomaloval a dosáhl své nejvyšší hodnoty $OD = 3,2$ po 33 hodinách kultivace. Po dosažení této hodnoty zůstávala OD konstantní až do ukončení měření. Obdobná délka lag fáze byla zaznamenána během kultivace při 40 °C, avšak následná exponenciální fáze růstu v porovnání s o 10 °C chladnější vsádkou byla výrazně pozvolnější. Po dosažení $OD = 0,65$ v čase 20 hodin se růst zpomalil a po zbytek měření byla zaznamenána $OD = 0,8$; což je méně než trojnásobek oproti zjištěné OD při 30 °C ve stacionární fázi. Růstová křivka při 20 °C vykazovala lag fázi trvající 25 hodin a taktéž pozvolnější nárůst oproti kultivaci při 30 °C, nicméně tento nárůst byl intenzivnější než při 40 °C. Nejvyššího nárůstu dosáhla kultura při ukončení měření, a to s hodnotou $OD = 1,3$. Ze sledování specifické růstové rychlosti (viz příloha 1, obrázek 21) vyplývá, že růst při 20 °C pokračuje s již sníženou intenzitou. Ze zjištěných křivek lze usuzovat, že testovaný kmen *Lg. coryniformis* CCM 4618 je mezofilní a růstovým optimem kolem 30 °C, avšak s určitou schopností růstu i při 20 °C.



Obrázek 13: Růstové křivky *Loigolactobacillus coryniformis* CCM 4618

9.1.9 *Sporolactobacillus inulinus* CCM 7124

Na obrázku 14 jsou znázorněny růstové křivky *S. inulinus* CCM 7124 při třech různých teplotách. *S. inulinus* CCM 7124 vykazoval nejkratší délku lag fáze při 40 °C (4 hodiny). Tato lag fáze byla následována poměrně prudkým vzrůstem OD ve fázi exponenciální. Po dosažení hodnoty 3,1 v čase 13 hodin růst dále zpomaloval a v průběhu kultivace se OD pozvolně zvýšila na hodnotu 3,5; přičemž tento stav trval až do ukončení experimentu. Zjištěná křivka při 30 °C vykazovala dvojnásobné prodloužení lag fáze oproti kultivaci při vyšší teplotě a bakteriální suspenze po 20. hodině kultivace dále OD výrazně nezvyšovala. Oproti kultivaci při vyšší teplotě se dostavila stacionární fáze o 7 hodin později, nicméně intenzita nárůstu při obou teplotách byla srovnatelná. V samém závěru kultivace při 30 °C byla zaznamenána maximální OD = 3,7; což je hodnota mírně vyšší, než při 40 °C. Během kultivace při 20 °C bylo pozorováno pětinasobné prodloužení lag fáze oproti kultivaci při 40 °C. Následoval pozvolnější nárůst buněk, jejichž maximální OD = 2 byla zaznamenána v závěru měření. Z naměřených křivek vyplývá, že *S. inulinus* CCM 7124 je mezofilní, s růstovým optimem mezi 30 a 40 °C a je schopen dobrého růstu i při 20 °C, jedná se tedy o bakterii s poměrně širokým rozpětím teplot růstu.



Obrázek 14: Růstové křivky *Sporolactobacillus inulinus* CCM 7124

9.2 Tvorba biofilmu

Tvorba biofilmu byla zjišťována *in vitro* v MRS bujónu v polystyrenové mikrotitrační destičce pomocí modifikované Christensenovy metody. Výsledné absorbance jednotlivých kmenů byly na základě porovnání s cut off value (CV) rozděleny na netvořící, slabě tvořící, středně tvořící a silně tvořící biofilm. Hodnoty CV se u experimentů pohybovaly od 0,15 do 0,44. Odlišnost je zapříčiněna různými faktory jako je doba a teplota kultivace a náhodnými vlivy při barvení a vyplachování destiček.

Celkově biofilm tvořily alespoň při určitých vybraných podmínkách biofilm kmeny *Leuconostoc mesenteroides* subssp. *mesenteroides* CCM 1803, *P. acidilactici* CCM 4577, *Lp. plantarum* CCM 7039, *Lt. sakei* CCM 4302, *Lm. fermentum* CCM 7192 a *S. inulinus* CCM 7124.

Naproti tomu žádná tvorba biofilmu nebyla u žádných z testovaných podmínek pozorována u *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Lc. paracasei* a *Lg. coryniformis*.

9.2.1 Vliv teploty a doby kultivace na tvorbu biofilmu

V MRS bujónu biofilm tvořilo alespoň v jedné fázi kultivace 5 kmenů z celkových 9, jednalo se o *P. acidilactici*, *Leuc. masenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lm. fermentum*, *Lp. plantarum* a *S. inulinus*. Tyto kmeny biofilm tvořily jak při 30 °C, tak při 37 °C, avšak v závislosti na fázi kultivace. Teplota kultivace však celkově neměla vliv ($P \geq 0,05$) na tvorbu biofilmu. V rámci jednotlivých kmenů byl prokázán vliv u některých z nich, a to v závislosti na době kultivace. Po 48 a 72hodinové kultivaci byl prokázán pozitivní vliv kultivace při 37 °C u pouze u *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*. Po 96 hodinách se vliv teploty ukázal i u *P. acidilactici* a *Lm. fermentum*, nicméně došlo naopak ke snížení tvorby biofilmu při vyšší teplotě. V případě pozitivního vlivu zvýšené tvorby biofilmu u *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* je zajímavé, že se dle růstové křivky (obrázek 6) jeví jako mezofilní až psychrofilní. Tvorba biofilmu je možná i odpověď na teplotní stres.

Z toho pozorování lze usuzovat, že teploty 30 a 37 °C mění schopnost tvorby biofilmu *in vitro* pouze u některých kmenů a tato reakce na teplotu je kmenově specifická.

Doba kultivace měla, na rozdíl od teploty, pozitivní vliv na tvorbu biofilmu ($P < 0,05$). Během inkubace při obou teplotách byl vliv prokázán mezi 48. a 72. hodinou, kdežto mezi 72. a 96. hodinou již vliv prokázán nebyl. Celkový vliv teploty v první a poslední fázi kultivace však byl patrný při obou kultivačních teplotách ($P < 0,05$). U jednotlivých kmenů

byl pozorován buď pozitivní nebo žádný vliv doby na naměřenou absorbanci v závislosti na fázi kultivace, kmenu (i u některých netvořících biofilm) a kultivační teplotě. Vývoj tvorby biofilmu v čase při obou kultivačních teplotách zachycuje tabulka 10.

Tabulka 10: Tvorba biofilmu při kultivačních teplotách 30 °C a 37 °C

Číslo kmene (CCM)*	Teplota (°C) / Doba kultivace (h)					
	30/48	30/72	30/96	37/48	37/72	37/96
1803	NE	NE	NE	ANO	ANO	ANO
2085	NE	NE	NE	NE	NE	NE
4577	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
7052	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7039	NE	NE	ANO	NE	ANO	ANO
4302	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7192	NE	ANO	ANO	NE	ANO	ANO
4618	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7124	NE	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO

NE – bez tvorby biofilmu; ANO – slabá tvorba biofilmu; ANO – střední tvorba biofilmu

*CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

9.2.2 Vliv složení živného média a doby kultivace na tvorbu biofilmu

Vliv složení kultivačního média byl porovnáván se standardním MRS bujónem, jenž obsahuje 1 % glukózy.

Přídavek glukózy neměl významnější vliv na tvorbu biofilmu ($P \geq 0,05$), a to v žádné z testovaných koncentrací (2, 3 a 4 % w/v). Nicméně u některých kmenů byl prokázán ($P < 0,005$) pozitivní vliv glukózy na tvorbu biofilmu, a to u kmenů *P. acidilactici*, *Lt. sakei*, *Lm. fermentum*, *Lp. plantarum* a *S. inulinus* u každé z testovaných koncentrací tohoto sacharidu. Pozitivní vliv se však lišil v rámci doby kultivace. Například u kmene *Lm. fermentum* byl pozorován pozitivní vliv ve všech fázích kultivace. Jinak tomu bylo např. u *Lt. sakei*, kdy se pozitivní vliv ukázal až po 72 či 96 hodinách inkubace.

Přídavkem glukózy počet biofilm pozitivních kmenů stoupl o jeden, a zároveň u těchto kmenů došlo ke zvýšení tvorby biofilmu, v průměru 1,9x až 5,3x v závislosti na koncentraci glukózy a době kultivace. Tvorbu biofilmu v závislosti na přídavku glukózy a době kultivace ukazuje tabulka 11:

Tabulka 11: Tvorba biofilmu v závislosti na přidavku glukózy

Číslo kmene (CCM)*	Koncentrace glukózy (%) / Doba kultivace (h)								
	2/48	2/72	2/96	3/48	3/72	3/96	4/48	4/72	4/96
1803	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
2085	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
4577	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
7052	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7039	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
4302	NE	NE	ANO	NE	ANO	ANO	NE	ANO	ANO
7192	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
4618	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7124	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO

NE – bez tvorby biofilmu; ANO – slabá tvorba biofilmu, ANO – střední tvorba biofilmu, ANO – silná tvorba biofilmu

*CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

Rovněž přidavek laktózy neměl celkově pozitivní vliv na tvorbu biofilmu ($P \geq 0,05$). V rámci jednotlivých kmenů byl pozorován pozitivní vliv přidavku laktózy opět u kmenů *P. acidilactici*, *Lt. sakei*, *Lp. plantarum*, *Lm. fermentum* a *S. inulinus*, a to v obou testovaných koncentracích ($P < 0,005$). Pozitivní vliv jak při 1%, tak 2% koncentraci během všech fází kultivace byl prokázán u *P. acidilactici* a *Lm. fermentum* izolovaných z fermentovaného masného výrobku, respektive fermentované řepy. Tyto dva kmeny vykazovaly nejvyšší tvorbu biofilmu v médiích s přidavkem laktózy ze všech testovaných kmenů. Přidavkem laktózy došlo u biofilm pozitivních kmenů k průměrnému zvýšení tvorby 2x až 4,6x.

Při kultivaci v médiu s 1% přidavkem NaCl nebyl celkově zaznamenán vliv na tvorbu ($P \geq 0,05$). Jako biofilm pozitivní se v těchto podmínkách ukázalo opět celkem 5 kmenů: *P. acidilactici*, *Lt. sakei*, *Lm. fermentum*, *Lp. plantarum* a *S. inulinus*. Pozitivní vliv přidavku NaCl na tvorbu biofilmu byl prokázán alespoň v jedné fázi kultivace u každého z nich ($P < 0,005$). Zejména u *Lt. sakei*, izolovaného z vakuově baleného masa, došlo po 48 hodinách k bezmála 19násobnému zvýšení naměřené absorbance oproti kultivaci v MRS. U ostatních kmenů činilo toto navýšení v závislosti na kmeni a podmínkách 1,6x až 8x. Tvorbu biofilmu u jednotlivých kmenů v přidavku laktózy a NaCl shrnuje tabulka 12:

Tabulka 12: Tvorba biofilmu v závislosti na přídavcích laktózy a NaCl

číslo kmene (CCM)*	koncentrace laktózy (%) /doba kultivace (h)						1 % NaCl/ doba kultivace		
	1/48	1/72	1/96	2/48	2/72	2/96	48	72	96
1803	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
2085	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
4577	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
7052	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7039	NE	NE	ANO	ANO	NE**	ANO	ANO	ANO	ANO
4302	NE	ANO	ANO	NE	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
7192	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
4618	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
7124	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO

NE – bez tvorby biofilmu; ANO – slabá tvorba biofilmu, ANO – střední tvorba biofilmu, ANO – silná tvorba biofilmu

*CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

** – rozdíl mezi CV a A je -0,03

9.3 Antibiotická rezistence

Antibiotická rezistence u devíti kmenů BMK byla testována na úrovni fenotypu i genotypu. Fenotypová rezistence byla zjišťována diskovou difúzní metodou, kdy byla testována citlivost na celkem 12 antibioticích uvedených v tabulce 2 v kapitole 7.4. Poté bylo hledáno 9 genů antibiotické rezistence pomocí klasické PCR za použití primerů uvedených v tabulce 3 v kapitole 7.5.

9.3.1 Vyhodnocení antibiotické rezistence testované diskovou difúzní metodou

Všech 9 kmenů BMK vykazovalo rezistenci k vankomycinu, cefuroximu a cefoxitinu, přičemž u většiny z těchto kmenů nebyla pozorována inhibiční zóna (viz tabulka 13). Dalším antibiotikem, kde byla pozorována rezistence u většiny testovaných kmenů byl doxycyklin hydrochlorid, kdy citlivost vůči tomuto antibiotiku vykazoval pouze kmen *Lt. sakei*, další tři kmeny byly pak klasifikovány jako intermediární. V případě nitrofurantoinu byla zaznamenána rezistence u 4 z celkových 9 kmenů, a to u *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lt. sakei*, *Lg. coryniformis* a *S. inulinus*. U dvou kmenů BMK (*P. acidilactici* a *Lm. fermentum*) byly pozorovány bodové kolonie rostoucí v inhibiční zóně, což může poukazovat na přítomnost rezistentních mutantů. V případě rifampicinu již byl

pozorován pouze jediný rezistentní kmen *Lp. plantarum*, nicméně tři další zástupci BMK (*Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *P. acidilactici* a *Lm. fermentum*) byly vyhodnoceny jako intermediární.

Naopak u celkem 4 antibiotik (streptomycinu, gentamycinu, klindamycinu a chloramfenikolu) byla pozorována citlivost všech testovaných kmenů a u dvou testovaných léčiv (piperacilin/ tazobaktam a erytromycin) byl zaznamenán pouze jediný případ intermediární rezistence a u zbývajících BMK byla taktéž pozorována citlivost. Fenotypová antibiotická rezistence u jednotlivých kmenů je znázorněna v následující tabulce 13.

Tabulka 13: Antibiotická rezistence testovaných kmenů BMK (průměry inhibičních zón v mm a jejich vyhodnocení)

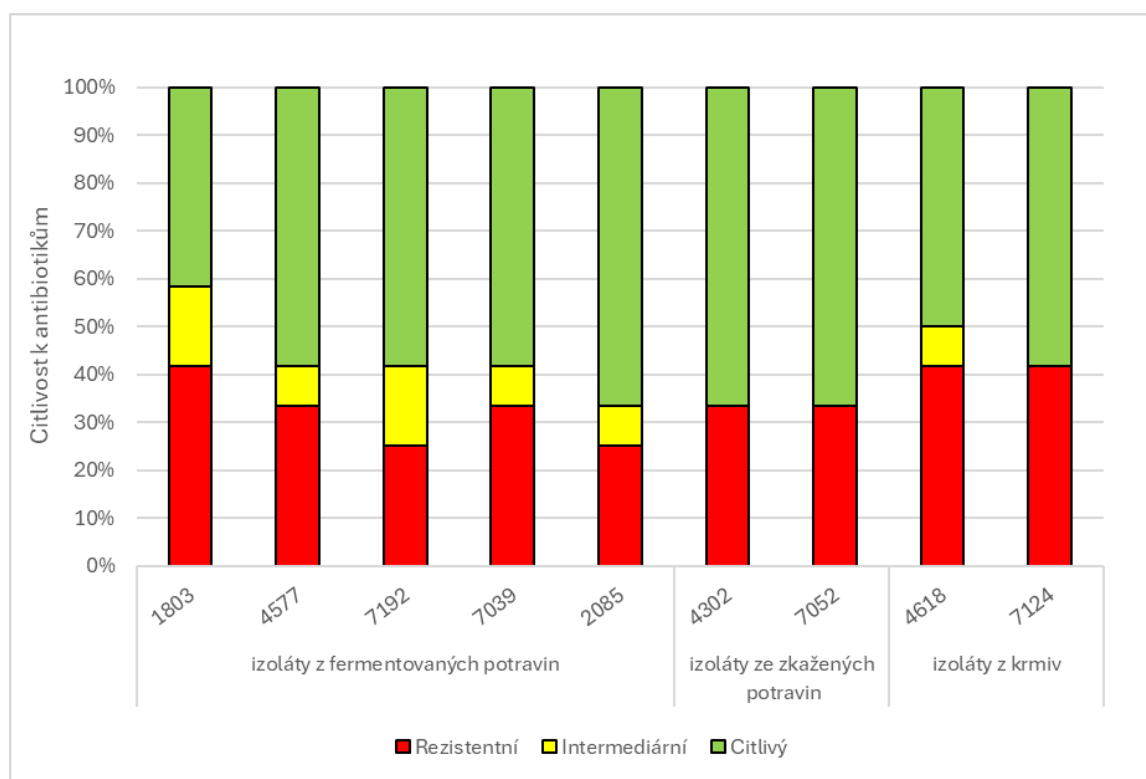
Antibiotikum	Koncentrace (µg/disk)	Rezistence (mm)	Citlivost (mm)	Číslo kmene								
				1803	2085	4577	7052	7039	4302	7192	4618	7124
Cefuroxim	30	15	18	N	N	11,5	N	15	N	15	N	N
Cefoxitin	30	14	18	N	8,5	N	N	N	N	N	N	N
Piperacilin/ Tazobaktam	100/10	18	21	20,5	25,5	25	29	25	25	25	25,5	24
Rifampicin	5	16	21	19	37	18,5	22,5	14	24,5	18	23,5	23
Chloramfenikol	30	12	18	19	32	21	29	26	29,5	25,5	28	30
Streptomycin	300	6	10	18,5	24	20,5	26	20	14	19,5	24	12,5
Gentamycin	120	8	10	17,5	29,5	21,5	21,5	21	26	23	23,5	23
Vankomycin	10	14	17	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Klindamycin	2	8	12	18	36	24,5	27	23	32,5	27	33	24
Erytromycin	5	13	18	18,5	22	20	20	24,5	24,5	25	16	22
Nitrofurantoin	300	14	17	N	24,5	23**	22,5	27	7,5	25**	N	10
Doxycyklin hydrochlorid	30	20	25	20	22,5	20	15	20,5	32,5	22	20	14

červená – rezistentní, žlutá – intermediální, zelená – citlivý, N – nepozorována žádná zóna inhibice, průměr disku 6 mm

*CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

**– výskyt bodových kolonií v zóně

Co se týče jednotlivých kmenů, podíl rezistence k testovaným antibiotikům se pohyboval od 25 do 42 %, viz obrázek 15. *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* izolovaný z fermentovaných oliv a *Lg. coryniformis* a *S. inulinus* izolované z krmiv vykazovaly nejvyšší podíl rezistence k antibiotikům (42 % tj. 5 z 12). Zároveň u *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* byla pozorována nejvyšší podíl intermediární rezistence. Naproti tomu nejvyšší podíl citlivosti k testovaným antibiotikům vykazuje *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* izolovaný z kvašených fazolových lusků, který byl rezistentní pouze ke třem testovaným antibiotikům. Obdobně tomu tak bylo i u *Lm. fermentum* izolovaného z fermentované řepy.



Obrázek 15: Poměry rezistence a citlivosti k antibiotikům u testovaných kmenů BMK

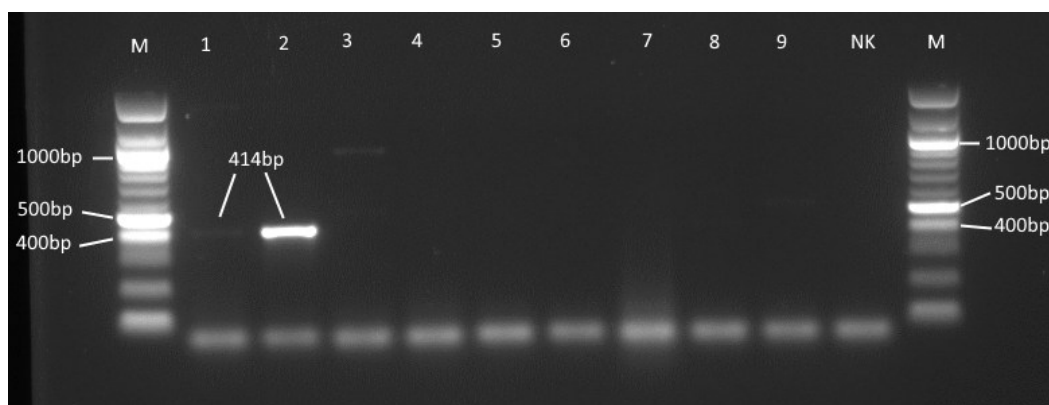
*CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

9.3.2 Detekce vybraných genů antibiotické rezistence

Výsledky detekce genů antibiotické rezistence shrnuje tabulka 14. U všech devíti zkoumaných kmenů nebyl detekován gen *blaCTX-M*, kódující širokospektrální β -laktamázu (schopna štěpit peniciliny i cefalosporiny) (Beneš, 2018), přestože u všech těchto kmenů byla zaznamenána rezistence vůči oběma cefalosporinům (cefuroximu a cefoxitinu). Rovněž

nebyly detekovány geny pro základní β -laktamázy *blaTEM* a *blaSVH* schopny štěpit především peniciliny (Beneš, 2018). K piperacilin/tazobaktamu však nevykazoval žádný kmen rezistenci a pouze jediný kmen *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* byl kandidátem na přítomnost zmíněných genů, nicméně ani u něj nebyly tyto geny nalezeny.

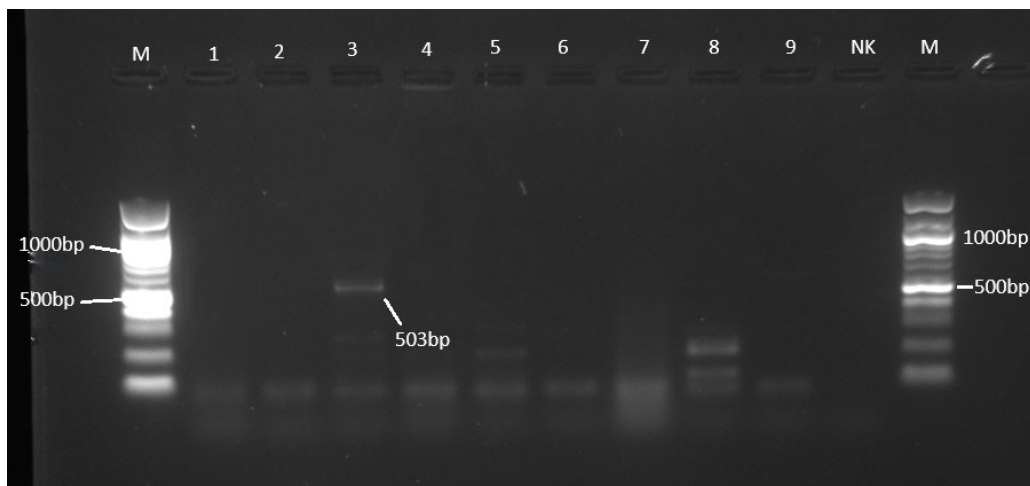
Všechny kmeny vykazovaly fenotypovou rezistenci vůči testovaným aminoglykosidům. V případě streptomycinu nebyl nalezen gen rezistence *aadE*, avšak v případě genu rezistence vůči gentamycinu, *aadB*, byl tento gen detekován u kmene *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* izolovaného z kvašených fazolových lusků a u kmene *Lg. coryniformis* původem ze siláže (obrázek 16), ačkoliv diskovou difúzní metodou byly tyto kmeny k tomuto antibiotiku shledány jako citlivé (viz tabulka 13 výše). To může být vysvětleno špatnou funkcí či nedostatečnou expresí genu *aadB*.



Obrázek 16: Detekce genu *aadB* u testovaných kmenů BMK

M – marker, 1 – *Lg. coryniformis*, 2 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 3 – *Lt. sakei*, 4 – *S. inulinus*, 5 – *P. acidilactici*, 6 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 7 – *Lc. paracasei*, 8 – *Lm. fermentum*, 9 – *Lp. plantarum*, NK – negativní kontrola

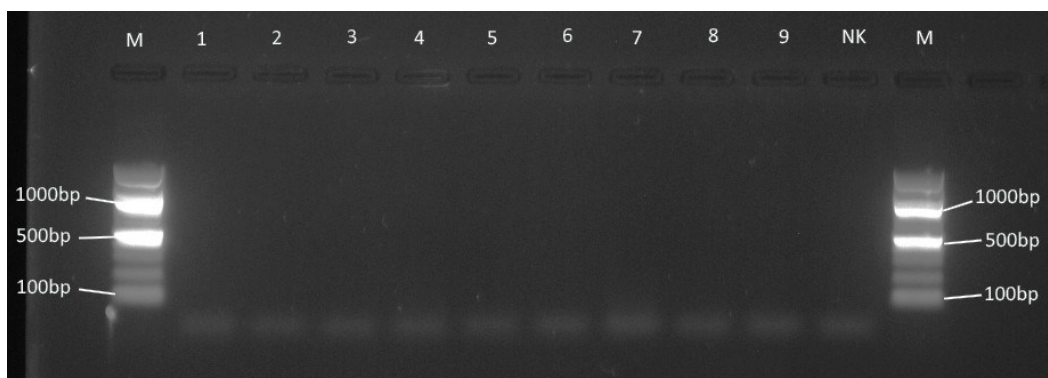
Gen rezistence vůči vankomycinu *van* byl detekován u jediného kmene, a to u *Lt. sakei* (viz obrázek 17) izolovaného z vakuově baleného masa. Všechny kmeny však vůči tomuto léčivu vykazovaly rezistenci, tato rezistence je však u BMK hlavně vnitřní (Goldstein et al., 2015), což znamená, že není přenosná na další bakterie (Colautti et al., 2022).



Obrázek 17: Detekce genu *van* u testovaných BMK

M – marker, 1 – *Lg. coryniformis*, 2 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 3 – *Lt. sakei*, 4 – *S. inulinus*, 5 – *P. acidilactici*, 6 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 7 – *Lc. paracasei*, 8 – *Lm. fermentum*, 9 – *Lp. plantarum*, NK – negativní kontrola

Gen propůjčující rezistenci vůči erytromycinu nebyl detekován u žádného z testovaných kmenů BMK, a taktéž osm z devíti kmenů vykazovaly vůči erytromycinu citlivost zjištěnou diskovou difúzní metodou. Ani u středně citlivého kmene *Lg. coryniformis* nebyl gen *emrB* detekován. Stejně tomu tak bylo i u genů *tetK* a *tetL* (negativní detekce viz obrázek 18), což jsou geny kódující efluxní pumpy pro tetracyklin (Stefaňska et al., 2021), které jsou do určité míry účinné i na chemicky příbuzný doxycyklin (Beneš, 2018). Zároveň však bylo po fenotypové stránce pozorováno relativně vysoké zastoupení rezistentních kmenů vůči doxycyklinu.



Obrázek 18: Negativní detekce genu *tetL* u testovaných BMK

M – marker, 1 – *Lg. coryniformis*, 2 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 3 – *Lt. sakei*, 4 – *S. inulinus*, 5 – *P. acidilactici*, 6 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 7 – *Lc. paracasei*, 8 – *Lm. fermentum*, 9 – *Lp. plantarum*, NK – negativní kontrola

Tabulka 14: Detekce genů antibiotické rezistence u zkoumaných kmenů

Rezistence na antibiotikum	Gen rezistence	Číslo kmene (CCM)*								
		1803	2085	4577	7052	7039	4302	7192	4618	7124
β - laktamová	<i>blaCTX-M</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Peniciliny	<i>blaSVH</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>blaTEM</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptomycin	<i>aadE</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamycin	<i>aadB</i>	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Vankomycin	<i>van</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Erytromycin	<i>ermB</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tetracykliny	<i>tetK</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>tetL</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) – negativní, (+) – pozitivní

* CCM: 1803 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 2085 – *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 4577 – *P. acidilactici*, 7052 – *Lc. paracasei*, 7039 – *Lp. plantarum*, 4302 – *Lt. sakei*, 7192 – *Lm. fermentum*, 4618 – *Lg. coryniformis*, 7124 – *S. inulinus*

10 DISKUSE

Skupina BMK zahrnuje mezofilní a termofilní druhy (Zannini et al., 2005), přičemž optimální teplota pro růst většiny z nich se pohybuje v rozmezí 30 – 43 °C (Terpou et al., 2019), nicméně teploty růstu mohou být variabilní (Śliżewska a Chlebicz-Wójcik, 2020). Tomu odpovídají i výsledky této práce. U některých kmenů se však zjištěné optimální teploty mírně rozcházejí s literaturou.

Mléčné tyčinky zahrnující laktobacily podle výsledků studie Sun a kol. (2020) mají většinově schopnost tvorby biofilmu, čemuž odpovídají i výsledky této práce. Zároveň je schopnost tvorby biofilmu považována za kmenově specifickou. Vliv teploty a doby na tvorbu biofilmu se napříč studiemi i kmeny různí, ale ze studií vyplývá, že nejvyšší tvorby je dosaženo nejčastěji při 30 °C a 37 °C (Chen et al., 2017; Fernández Ramírez et al., 2015). Také v této práci nebyl prokázán jednoznačný vliv teploty kultivace na tvorbu biofilmu a tento vliv se lišil v závislosti na kmeni, nicméně pozitivní vliv doby kultivace již pozorován byl na rozdíl od studie (Chen et al., 2017).

Podle studie Muruzović a kol. (2018) měl také přídavek glukózy a laktózy pozitivní vliv na určité kmeny BMK, nikoliv však na všechny. Přídavek NaCl podle studie Akoğlu (2020) neměl jednoznačný vliv na všechny kmeny.

Podle Campedelli a kol. (2019) jsou BMK obecně citlivé na β -laktamová antibiotika, chloramfenikol, erytromycin a klindamycin. U těchto antibiotik byla rovněž pozorována vyšší míra citlivosti. Zároveň uvádí, že jsou rezistentní k aminoglykosidům, což se neshoduje s výsledky této práce. BMK vykazují také rezistenci k cefoxitinu, nitrofurantoinu a vankomycinu (Fraqueza, 2015; Goldstein et al., 2015), což se s výsledky této práce shoduje. Na rozdíl od studie Wang a kol. (2019), byl u určitých kmenů detekován gen *aadB*.

10.1 Růst bakterií mléčného kvašení při různých teplotách

Skupina BMK zahrnuje mezofilní a termofilní druhy (Zannini et al., 2005), přičemž optimální teplota pro růst většiny z nich se pohybuje v rozmezí 30 – 43 °C (Terpou et al., 2019), nicméně teploty růstu mohou být variabilní (Śliżewska a Chlebicz-Wójcik, 2020). Některé BMK, např. jogurtová kultura roste i při 45 °C (Terpou et al., 2019). Sionek a kol. (2024) uvádí, že některé termofilní kmeny vykazují životaschopnost při teplotách až 60 °C.

Navíc podmínky kultivace a složení fermentačního média, mohou ovlivnit parametry růstové kinetiky (Śliżewska a Chlebicz-Wójcik, 2020).

V této práci bylo zjištěno, že všechny testované kmeny BMK byly mezofilní, nicméně jejich teplotní optimum se v rámci mezofily liší v závislosti na kmeni. Většina z nich vykazovala optimum mezi 30 a 40 °C.

U *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* bylo pozorováno teplotní optimum mezi 20 a 30 °C. O něco vyšší optimum pozorovali Jeon a kol. (2017), kteří sledovali růst různých poddruhů *Leuc. mesenteroides* při 9 různých teplotách mezi 4 a 45 °C. V případě *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ATCC 8293 (u téhož kmene zkoumaného v této práci) byl pozorován růst v rozmezí 10 – 40 °C s optimálním rozsahem 25-37 °C. U kmene *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* izolovaného ze sýra bylo pozorováno rozmezí růstu 15 – 40 °C s optimem při 30 °C (Jeon et al., 2017). U kmene *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* zkoumaného v této práci byl pozorován optimální růst při 30 až 40 °C.

Mataragas a kol. (2003) pozorovali, že ze zjišťovaných teplot 20, 25 a 30 °C roste kmen *Leuc. mesenteroides* izolovaný z fermentovaného salámu nejlépe při 30 °C. Ko a kol. (2024) zaznamenali u kmene *Leuc. mesenteroides* izolovaného z kimči nejkratší lag fázi a nejvyšší nárůst při 30 °C, avšak nejvyšší hodnota specifické růstové rychlosti byla zaznamenána dokonce při 37 °C. Zároveň zjistili, že tento kmen je schopen srovnatelného růstu při 5 °C jako další vybrané psychrotrofní BMK.

Dva kmeny *Leuc. mesenteroides* izolované ze zkažené vakuově balené šunky vykazovaly taktéž optimální teplotu růstu při 30 °C při kultivaci v MRS bujónu, přičemž po krátké lag fázi byl pozorován rychlý růst. Dobrý růst vykazovaly i při 37 °C. Naopak při teplotě 44 °C již nebyl růst zaznamenán. Zjistili také, že nízké kultivační teploty (12 a 4 °C) vedly sice ke zpomalení růstu, jeho rychlost však byla stabilní a bylo dosaženo vysokých koncentrací buněk (až 8,9 log CFU/ml) a to při 4 °C. Schopnost růst při chladírenských teplotách umožňuje těmto kmenům využívat živiny z takto uskladněných masných výrobků (Cenci-Goga et al., 2020). Zástupci *Leuconostoc mesenteroides* totiž často způsobují kažení masných výrobků (Wang et al., 2013).

Kmeny *P. acidilactici* byly zaznamenány ve spojení s fermentovanými potravinářskými produkty rostlinného a živočišného původu. Tyto kmeny jsou charakterizovány jako mírní termofilové s optimem 40 °C, přičemž některé z nich vykazují schopnost růstu i při 50 °C (Todorov et al., 2023). Totéž optimum uvádí i Papagianni a Anastasiadou, (2009). Charakteristiku termotolerance a schopnosti růstu při teplotách vyšších než 50 °C zmiňuje

i Bosma et al., (2017). Tu a kol. (2024) dokonce uvádí, že zástupci rodu *Pediococcus* se podílejí na Daqu fermentaci, při níž první fáze dosahuje teplot 60 – 65 °C, a která tedy vyžaduje adaptaci na vysoké teploty.

Ve studii Bosma a kol. (2017) vykazovalo celkově 10 ze 13 zkoumaných kmenů *P. acidilactici* reprodukovatelný růst při teplotách do 50 °C i když se začaly projevovat rozdíly mezi jednotlivými kmeny v naměřených hodnotách OD již při 45 °C, kdy některé kmeny rostou znatelně hůře než jiné. Růst při 37 °C byl u všech 13 kmenů *P. acidilactici* dobrý. V této práci byl také pozorován dobrý růst při 40 i při 30 °C.

Zhang a kol. (2020) zkoumali vliv teploty kultivace na růst *P. acidilactici* PA204, který byl kultivován při teplotách 27, 32, 37, 42, 47 a 57 °C. Hodnota OD dosáhla nejvyšší hodnoty při 37 °C, následována kultivací při 42 °C.

Collins a kol. (1989) uvádějí, že *Lc. paracasei* subsp. *paracasei* roste v rozmezí 10 až 40 °C, přičemž některé kmeny rostou při 5 a 45 °C. Ve studii Di Biase a kol. (2022) u čtyř kmenů *Lc. paracasei* (2 izolovány z lidských výkalů a 2 ze stolních oliv) byla při kultivaci v MRS zjištěna optimální teplota v rozmezí 33 °C až 36 °C. Jeden ze čtyř kmenů byl schopen růstu při 40 °C a vykazoval výrazně vyšší hodnotu maximální teploty růstu ve srovnání se třemi zbývajících kmeny. V případě kmene zkoumaného v této práci byl nejlepší růst zaznamenán právě při 40 °C.

U tří dalších kmenů *Lc. paracasei* izolovaných z keřirových zrn a kultivovaných v mléce bylo pozorováno zlepšení růstu s rostoucí teplotou. Růst kmenů byl zkoumán při teplotách 20, 30 a 37 °C. Dva kmeny vykazovaly přijatelnou rychlost růstu a acidifikace i při 20 °C, přičemž k dosažení maximálního růstu potřebovaly dvakrát delší čas oproti kultivaci při 30 a 37 °C. Bengoa a kol. (2023) podotýkají, že v kinetice růstu mezi jednotlivými kmeny mohou být rozdíly.

V této práci byla pozorována optimální teplota růstu *Lp. plantarum* při 30 °C s jistou omezenou schopností růstu i při 40 °C. *Lp. plantarum* je považován za mezofilní bakterii schopnou růstu při teplotách mezi 10 a 40 °C. Za optimální teplotu pro *Lp. plantarum* se běžně považuje 30 °C, ale několik výzkumů uvádí 37 °C (Popova-Krumova et al., 2024). Například kmen izolovaný z tradičního fermentovaného nápoje Shalgam dosahoval o něco lepší růstové vlastnosti při 37 °C, než při 30 °C (Yetiman et al., 2022). Taktéž Matejčková a kol. (2016) uvádí, že optimální teplota růstu kmene *Lp. plantarum* izolovaného z mateřského mléka při kultivaci v UHT mléce je blízká 37 °C. Zároveň vykazoval dobré růstové vlastnosti v teplotním rozmezí od 8 do 40 °C. Pro tentýž kmen byla pomocí modelu

CTMI (Cardinal temperature model with inflection) vypočtena optimální růstová teplota pro kultivaci v MRS bujónu 36,6 °C a maximální 41 °C. Pro kultivaci v mléce jsou však tyto parametry mírně odlišné (Matejčková et al., 2019).

Také kmen *Lactiplantibacillus plantarum* izolovaný z fermentovaných kukuřičných a sójových odpadů při kultivaci v MRS vykazoval optimální teplotu při 37 °C (Nwachukwu et al., 2019). Ko a kol. (2024) zjistili, že kmen *Lp. plantarum* izolovaný z kimči má nejvyšší OD při 30 °C, zato nejvyšší specifická růstová rychlost a nejkratší lag fáze byly pozorovány při 37 °C. Ve studii Zhou a kol. (2015) pozorovali méně odlišný růst při 30 a 40 °C než v této práci. Také ale uvádějí, že schopnost růstu je výrazněji snížena při teplotě nižší než 25 °C.

Lt. sakei je spojován zejména s prostředím masa a masných výrobků (McLeod et al., 2008), s čímž může souviset také odolnost vůči nízkým teplotám, které se v současnosti používají pro skladování masných výrobků. Uváděná optimální teplota pro růst *Lt. sakei* je 30 °C, což odpovídá výsledku této práce. Nicméně byl popsán jako blízce příbuzný psychrotrofním druhům (*Latilactobacillus curvatus*, *Latilactobacillus fuchuensis* a *Latilactobacillus graminis*) (Zheng et al., 2020), jež jsou adaptovány na prostředí masa, tj. na nízkou teplotu skladování používanou pro masné výrobky (Zagorec a Champomeier-Vergès 2017). *Lt. sakei* je schopen růstu při 4 °C, což ukazuje, že tento druh je schopen se přizpůsobit nízkým teplotám. V této práci však růst při 20 °C pozorován nebyl. Nicméně Marceau a kol. (2023) si všimli, že rychlost růstu a konečná OD jsou u *Lt. sakei* negativně ovlivněny suboptimální teplotou. Schopnost vykazovat srovnatelné růstové parametry při 5 °C s psychrotrofními BMK byla pozorována ve studii Ko et al., (2024).

Šest kmenů *Lt. sakei* zkoumaných Montanari a kol. (2018) pocházejících z různých masných výrobků při kultivaci v MRS rostlo při teplotách od 5 do 35 °C, ale žádný nebyl schopen růstu při 40 °C, což se shoduje s pozorováním v této práci. Mezi kmeny ve studii Ko a kol. (2024) byla značná variabilita v růstu, zejména při nižších teplotách. Nejlepší průměrné růstové výkony byly pozorovány mezi 25 a 35 °C. Naopak nejvyšší hodnoty specifické růstové rychlosti (μ max) byly zaznamenány při 35 °C, respektive 30 °C. Konkrétně u kmene izolovaného z kimči byla zjištěna nejkratší lag fáze při 30 °C, ačkoliv nejvyšší nárůst byl zaznamenán při 37 °C. Nicméně Drosinos a kol. (2007) podotýkají, že některé kmeny izolované z fermentovaných masných výrobků z jižního Řecka byly schopny růstu i při 45 °C, konkrétně se jednalo o 10 izolátů z celkových 130.

Calasso a Gobbetti (2011) uvádí, že *Lm. fermentum* není schopen růstu při 15 °C, avšak je schopen růstu při 45 °C. Zhao a kol. (2023) uvádí teplotní optimum pro tento druh v rozmezí 30 až 45 °C, což souhlasí se zjištěným optimem v této práci.

Např. kmen *Lm. fermentum* izolovaný z indického fermentovaného mléčného nápoje při kultivaci v MRS vykazoval optimální růst při 30 °C a 37 °C, avšak dobrý růst byl zaznamenán i při 45 °C a 50 °C (Pakroo et al., 2022). Mandal a Mandal (2023) sledovali kinetiku růstu kmene *Lm. fermentum* izolovaného z tvarohu v různých médiích a zjistili naopak, že lag fáze byla o 2 hodiny kratší při 28 °C než 37 °C. Ve studii Bosma a kol. (2017) kmen *Lm. fermentum* vykazoval reprodukovatelný růst při kultivaci až do 48 °C.

Rahman a kol. (2018) kultivovali dva kmeny *Lg. coryniformis* subsp. *torquensis* a *Lg. coryniformis* izolované z tlamouna nilského při třech různých teplotách (27, 37 a 45 °C). Oba kmeny vykazovaly nejvyšší nárůst při 37 °C a nejslabší při 27 °C, přičemž byly schopny růst ve všech zkoumaných teplotách. Podle predikcí Schoug a kol. (2008) je za optimální teplotu pro kmen *Lg. coryniformis* izolovaný ze siláže považována 34 °C, kdežto teplota 42 °C byla považována za teplotní stres a 26 °C za stres chladový. Dle výsledků této práce se taktéž jedná o mezofilní bakterii s optimem růstu kolem 30 °C, zároveň však od predikcí studie byl pozorován relativně dobrý růst i při 20 °C.

Při kultivaci tohoto druhu byla využívána teplota 30 °C ve studiích Elvan Gezer et al., (2024) a Magnusson a Schnürer, (2001) nebo 37 °C ve studii Xu et al., (2023). Magnusson a Schnürer (2001) zkoumali antimykotickou aktivitu u kmene *Lg. coryniformis* subsp. *coryniformis* izolovaného ze siláže. Buňky byly inkubovány při teplotě 25 a 30 °C v MRS bujónu. Bylo zjištěno, že antimykotická aktivita je maximální při 30 °C, přičemž se však teplotně příliš nelišila.

Kitahara a Suzuki (1963) uvádí, že vykazuje dobrý růst *Sporolactobacillus inulinus* v rozmezí teplot 25 – 40 °C s optimem okolo 35 °C. Při 45 °C již růst nebyl zaznamenán a zároveň vykazuje slabý růst při 15 °C. Růst byl sledován v GYP (glukóza, kvasničný extrakt a pepton) médiu. Výsledky této studie se shodují s pozorováním v této práci, zároveň byl však pozorován dobrý růst i při 20 °C. Při výzkumu *S. inulinus* byl kultivován i při teplotách 37 °C v následujících studiích (Bai et al., 2015; Bai et al., 2016; Huang et al., 2007).

10.2 Schopnost tvorby biofilmu

Sun a kol. (2020) uvádí, že tvorba biofilmu je spíše kmenově nežli druhově specifická. V jejich studii zkoumali tvorbu biofilmu převážně u zástupců mléčných tyčinek (dříve *Lactobacillus*) izolovaných z fermentovaných mléčných potravin. Ve studii vykazovalo z celkových 79 izolátů 27 silnou tvorbu biofilmu a pouze u 5 kmenů nebyla zaznamenána žádná schopnost tvorby při kultivaci v MRS při 37 °C po dobu 24 h.

10.2.1 Tvorba biofilmu u jednotlivých kmenů bakterií mléčného kvašení

Aoudia a kol. (2016) pozorovali tvorbu biofilmu u 2 kmenů *Lp. plantarum* a 3 kmenů *Lm. fermentum* izolovaných z lidských zdrojů a ze sbírky po 24hodinové kultivaci při 30 °C (Aoudia et al., 2016; Van den Nieuwboer et al., 2016). Všechny kmeny vykazovaly tvorbu biofilmu, schopnost tvorby se však lišila v závislosti na kmeni. Nejvýraznější tvorba biofilmu byla pozorována u kmenů *Lp. plantarum* (Aoudia et al., 2016). V této práci byla pozorována tvorba biofilmu až po 72 respektive 96 h hodinách kultivace, nicméně u obou kmenů *Lm. fermentum* a *Lp. plantarum* schopnost tvorby biofilmu pozorována byla.

V případě *S. inulinus* byla ve standardním MRS pozorována nejvýraznější tvorba biofilmu, což by mohlo souviset i s tím, že disponuje bičíky (Kitahara a Suzuki, 1963). Právě povrchové struktury jako jsou bičíky posilují přichycení bakteriálních buněk k povrchům (Achinas et al., 2019), kdežto nepohyblivé bakterie jsou při adhezi k povrchu závislé na sedimentaci (Fernández Ramírez et al., 2015).

Vyšší podíl biofilm pozitivních kmenů BMK pozorovali ve studii Goméz a kol. (2016). Po 48 h kultivaci sledovali silnou tvorbu biofilmu u kmene *Lt. sakei* izolovaného ze salámu, stejně tak i u kmenů *Lt. curvatus* či *Lc. casei*. Celkově z 8 zkoumaných zástupců BMK bylo 7 z nich klasifikováno jako silní producenti biofilmu. M'hamed a kol. (2023) zaznamenali silnou tvorbu biofilmu u kmene *Lc. paracasei* izolovaného z fermentovaného mléčného výrobku po 24h kultivaci. Landeta a kol. (2013) zkoumali tvorbu biofilmu u BMK izolovaných z fermentovaného masného výrobku, kdy byly izoláty kultivovány v MRS s 0,25% přídatkem glukózy při 37 °C po dobu 24 h. Tvorbu biofilmu vykazoval jediný kmen *Lg. coryniformis* a 9 kmenů z celkových 20 *Lt. sakei*. Naopak tvorba biofilmu nebyla detekována ani u jednoho ze 4 kmenů *Lp. plantarum* a 2 kmenů *Lc. paracasei*.

Badel a kol. (2008) pozorovali pozitivní tvorbu biofilmu u *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* a například Song a kol. (2011) pozorovali tvorbu biofilmu u *Pediococcus pentosaceus* na borosilikátu při kultivaci v MRS.

10.2.2 Vliv různých podmínek na tvorbu biofilmu

Tvorba biofilmu BMK nezávisí pouze na signalizačních systémech, ale také na hydrofobnosti povrchu bakterií a faktorech prostředí, jako jsou např. teplota, zdroj uhlíku, pH a ionty kovů. Zdroj uhlíku má velký vliv na tvorbu biofilmu a souvisí s preferencí kmene. Glukóza je zdrojem uhlíku běžně používaným pro kultivaci mléčných tyčinek a většina z nich vykazuje nárůst tvorby biofilmu s rostoucím množstvím glukózy (Yao et al., 2025).

Buňky biofilmu jsou odolnější než planktonní buňky. Některé druhy BMK mají přirozený sklon ke tvorbě biofilmů, avšak u některých může být tvorba biofilmu vyvolána stresem (Papadimitriou et al., 2016).

Fernández-Ramírez a kol. (2015) zaznamenali pozitivní vliv doby kultivace na intenzitu obarvení biofilmu krystalovou violetí v rámci jednotlivých kmenů, konkrétně u 5 kmenů *Lp. plantarum* ze 7. Nejvyšší tvorba byla zaznamenána po 72 hodinách, tedy nejdelším zkoumaném čase.

Chen a kol. (2017) sledovali tvorbu biofilmu kmene *Lp. plantarum* a dvou kmenů *Leuc. citreum* izolovaných z mléčného výrobku. Ze zaznamenaných hodnot v čase 24, 36, 48, 60 a 72 hodin byla u všech kmenů zaznamenána nejnižší adherence po 24 h. Nejvyšší adherence byla detekována u všech tří kmenů po 48 h, u jednoho kmene *Leuc. citreum* byla ještě zaznamenána obdobná adherence i po 60 h, u ostatních kmenů se již snížila. Trend snižování se projevil i po 72h kultivaci. Obdobně i Rezaei a kol. (2021) zaznamenali nejvyšší tvorbu biofilmu po 48 h kultivaci u sledovaných kmenů *Lc. rhamnosus* a *Lp. plantarum* a po 72h kultivaci zaznamenali mírný pokles. Song a kol. (2011) zase sledovali tvorbu biofilmu u kmene *P. pentosaceus*, kdy zjištěná tvorba biofilmu pomocí barvení krystalové violeti s dobou kultivace narůstala, nicméně nárůst po 36 a po 48 h se již příliš nelišil.

Optimální teplota pro mikroorganismus je spojena se zvýšeným příjmem živin a aktivitou enzymů, což obecně vede k rychlé tvorbě biofilmu. Optimální teploty vedou ke zdravému růstu bakteriálních populací a naopak teploty, které se vzdalují od optimálních, zpomalují jejich růst (Garrett et al., 2008). Přestože vliv teploty na vývoj biofilmů, zejména v první fázi tvorby, je hojně zkoumán, vliv teploty, kdy je biofilm již vytvořen, zůstává nejednoznačným (Achinas et al., 2019).

Studie Achinas a kol. (2019) ukazuje, že bakterie mají při nižších teplotách (10 °C) větší povrch ve srovnání s vyššími teplotami (35 °C), což někteří přičítají počtu různých povrchových struktur, neboť například počet bičíků bývá závislý na teplotě. Přítomnost

bičků a pili také posiluje adhezi bakterie na povrchy (Erkihun et al., 2024). V případě *Sporolactobacillus inulinus* schopného bičíky tvořit (Kitahara a Suzuki, 1963) však vliv teploty kultivace na tvorbu biofilmu pozorován nebyl.

Fernández-Ramírez a kol. (2015) zkoumali vliv kultivační teploty na tvorbu biofilmů u 6 izolátů *Lp. plantarum* ze zkažených potravin a kmene WCFS1. Se zvyšující teplotou bylo barvení krystalovou violetí intenzivnější u většiny kmenů, nejvyšších hodnot u jednotlivých kmenů dosahovalo při 30 potažmo 37 °C, oproti teplotám 20 a 25 °C. Byly také pozorovány rozdíly mezi jednotlivými kmeny (Fernández Ramírez et al., 2015). Chen a kol. (2017) pozorovali u kmene *Lp. plantarum* a dvojice kmenů *Leuc. citreum* nejvyšší tvorbu biofilmu při 30 °C. Tvorba biofilmu při 37 °C byla oproti 30 °C poloviční až třetinová. Zároveň i při nižších kultivačních teplotách (22 až 26 °C) kmeny vykazovali nižší tvorbu

Pozitivní efekt glukózy zaznamenala studie Akoğlu (2020), která zkoumala 4 kmeny rodu *Enterococcus* a 2 kmeny rodu *Lactococcus* a jejich tvorbu biofilmu při 0,5; 1,5; 2,5 a 3,5% koncentraci glukózy. Všechny 6 BMK mělo nejnižší tvorbu biofilmu v médiu M17 bez přídavku glukózy, a naopak nejsilnější tvorba byla zaznamenána při 1,5% koncentraci. Zároveň při kontrole byla nejvyšší tvorba biofilmu v případě *E. lactis*, avšak po přídavku glukózy byl nejsilnějším producentem biofilmu *E. faecalis*. Muruzović a kol. (2018) zjišťovali vliv glukózy na tvorbu biofilmu u určitých BMK izolovaných ze sýra. Sledované koncentrace 0,5; 1,5; 2,5 a 3,5 % byly porovnávány s kontrolou růstu. U kmene *Lm. fermentum* byl pozorován celkově pozitivní efekt přídavku glukózy na tvorbu biofilmu. Vůbec nejvyšší efekt měla koncentrace 0,5 % a spolu s nárůstem koncentrace glukózy se stimulační účinek snižoval. Obdobně tvorbu biofilmu vykazoval i *Lac. lactis*, který měl vysokou tvorbu biofilmu při 0,5 i 1,5% koncentraci. V případě *E. hirae* byl zase pozorován negativní efekt přídavku glukózy.

Naproti tomu Leebert a kol. (2007) uvádí, že *Lc. rhamnosus* GG netvoří biofilm ve standardním médiu MRS, jakmile však byla z MRS média vynechána glukóza, představující hlavní zdroj uhlíku, bylo možné pozorovat tvorbu biofilmu. Biofilm potlačující účinek glukózy byl potvrzen přidáním glukózy do mTSB média (modifikovaný bujón se sójovým tryptonem), což vedlo ke snížení tvorby biofilmu, v němž se v rámci pozitivní kontroly biofilm tvořil.

Urcan a kol. (2024) zase hodnotili efekt přídavku glukózo-fruktózového sirupu na tvorbu biofilmu u kmenů *Lm. plantarum*, *L. acidophilus* a *Aplilactobacillus kunkeei*. U všech

tří kmenů bylo po přidavku zaznamenán mírný nárůst biomasy biofilmu oproti kontrole v MRS. Nejvyšší tvorba biofilmu jak při kontrolních podmínkách, tak po přidavku sirupu byla u kmene *Lp. plantarum*.

Podle Akoğlu (2020) měl přídavek laktózy pozitivní efekt na tvorbu biofilmu u kmenů rodů *Enterococcus* a *Lactococcus*. Tvorba biofilmu byla sledována v M17 médiu s koncentracemi laktózy 0,5; 1,5; 2,5 a 3,5 %. Optimální koncentrace pro tvorbu biofilmu byla odlišná v závislosti na kmeni, například u *Lac. lactis* byla zaznamenána nejvyšší tvorba biofilmu při 0,5% koncentraci a u *E. faecalis* byla srovnatelná tvorba při 1,5; 2,5 i 3,5 % laktózy. Stejně jako v případě glukózy byl v médiu bez přidavku laktózy nejsilnějším producentem biofilmu kmen *E. lactis*, avšak po přidavku laktózy byl nejsilnějším producentem *E. faecalis*. Muruzović a kol. (2018) také zkoumali vliv laktózy na kmeny BMK izolovaných ze sýra. Bylo využito stejných koncentrací jako v předchozí studii. U *Lm. fermentum* byl pozorován pozitivní vliv přidavku laktózy na tvorbu biofilmu. Vůbec nejvýraznější tvorba biofilmu byla pozorována při 1,5 %. Obdobně tomu bylo u kmene *Lac. lactis*. V případě *E. hirae* byl naopak zaznamenán inhibiční účinek laktózy na tvorbu biofilmu, přičemž při 0,5 a 2,5 % koncentraci nebyla pozorována žádná tvorba biofilmu.

Aoudia a kol. (2016) zaznamenali u zkoumaných kmenů *Lp. plantarum* a *Lm. fermentum* 1,5 až 2krát vyšší tvorbu biofilmu v přítomnosti 0,3 M NaCl než v kontrolních podmínkách bez stresu. Jeden z kmenů *Lm. fermentum* tvorbu biofilmu zvýšil mírněji. Koncentrace 0,3 M NaCl (odpovídá koncentraci přibližně 1,7 %) navíc neovlivnila růst žádného kmene v planktonních podmínkách. Naproti tomu Leeber a kol. (2007) pozorovali u kmene *Lc. rhamnosus* GG mírné snížení tvorby biofilmu pod vlivem 0,3 M NaCl. Tvorba biofilmu však byla sledována v jiných médiích než MRS.

Akoğlu (2020) zjistila, že studované koncentrace NaCl (4; 6,5 a 8 %) neovlivňovaly nebo měly snižující účinek na tvorbu biofilmu u 4 kmenů rodu *Enterococcus* a 2 kmenů *Lactococcus* izolovaných ze sýra, s výjimkou kmene *Enterococcus faecium*, kdy byl pozorován naopak pozitivní efekt soli. Se zvyšující se koncentrací soli se tvorba biofilmu u *E. lactis*, který vykazoval nejvyšší tvorbu biofilmu, snižovala přibližně o 50 %. Konstatuje, že obecně sůl nemá pozitivní vliv na tvorbu biofilmu. Zároveň však jí testované koncentrace byly násobně vyšší.

Muruzović a kol. (2018) sledovali schopnost tvorby biofilmu u druhů *E. hirae*, *Lac. lactis* ssp. *lactis* a *Lm. fermentum* izolovaných ze sýra ve stejných koncentracích soli jako v předchozí studii. Přídavek každé ze tří koncentrací NaCl měl stimulační účinek na

tvorbu biofilmu u *Lm. fermentum*, vůbec nejvyšší byla zaznamenána při 4 %, kdy byla tvorba biofilmu oproti kontrole překročena několikanásobně, přičemž následně byl pozorován určitý pokles stimulačního efektu u vyšších koncentrací soli. U *E. hirae* byl pozorován pozitivní efekt soli na tvorbu biofilmu pouze při 4% koncentraci, kdežto u *Lac. lactis* byla nejvyšší tvorba biofilmu zaznamenána při koncentraci 6,5 %.

Chen a kol. (2017) sledovali tvorbu biofilmu při vybraných koncentracích soli mezi 6 až 284 mg/ml. Dva izoláty *Leuconostoc citreum* vykazovaly nejlepší tvorbu biofilmu při koncentraci 12 mg/ml, kdežto kmen *Lp. plantarum* až při 48 mg/ml. Při vyšších koncentracích než 48 mg/ml již kmeny svou tvorbu biofilmu snižovaly.

10.3 Antibiotická rezistence

Jasiak a Amund (2022) uvádí, že u BMK izolovaných ze spontánně fermentovaných potravin rostlinného původu byla zaznamenána rezistence vůči řadě antibiotik z různých skupin. Mezi tyto skupiny patří aminoglykosidy (gentamicin, kanamycin, neomycin, streptomycin), cefalosporiny (cefuroxim, cefotaxim, cefoxitin), chinolony, fenikoly (chloramfenikol), makrolidy (erytromycin), glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin), linkosamidy (klindamycin), peniciliny, rifamyciny a tetracykliny (Jasiak a Amund, 2022). Například Gad a kol. (2014) zjistili u celkem 138 izolátů mléčných tyčinek častou rezistenci na vankomycin (u 40,6 %) a streptomycin (u 17,4 %). Jedním z nejčastěji detekovaných genů antibiotické rezistence u BMK je *erm(B)* propůjčující rezistenci k erytromycinu.

Na začátek je dobré upozornit, že ačkoli jsou k dispozici dobře zavedené standardní postupy a mezní hodnoty pro testování citlivosti bakterií s klinickým významem, jsou nedostatečně validované nebo nevhodné pro testování citlivosti nepatogenních bakterií, jako jsou neenterokokové BMK. V důsledku toho byla popsána široká škála technik pro testování citlivosti těchto bakterií *in vitro*. Vzhledem k různým použitým podmínkám testování (např. metodiky, základní média, teplota, čas a atmosféra) je srovnatelnost i interpretace výsledků pro detekci rezistence v různých studiích omezená (Mayrhofer et al., 2008).

Mléčné tyčinky (dříve *Lactobacillus*), jsou na β -laktamy obecně citlivé (Anisimova et al., 2022), ve větší míře na piperacilin a inhibitory β -laktamáz, ale již méně na některé cefalosporiny, jako je cefoxitin (Ammor et al., 2007b). V případě piperacilinu/tazobaktamu byla ve studii Salminen a kol. (2006) pozorována u krevních klinických izolátů *Lc. rhamnosus*, *Lm. fermentum* a *Lc. casei* citlivost. Stejně tak v této práci byla pozorována

citlivost vůči tomuto antibiotiku všech kmenů vyjímaje *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, jenž byl vyhodnocen jako středně citlivý.

Herreos a kol. (2005) difúzní diskovou metodou taktéž zjistili, že jimi izolované kmeny *Leuc. mesenteroides*, *Lp. plantarum*, *Lv. brevis* a *Lc. casei* byly rezistentní na cefoxitin. Rokon-Uz-Zaman a kol. (2023) zjistili, že 62,9 % zástupců laktobacilů pocházejících z probiotických produktů určených pro drůbež vykazuje rezistenci na cefuroxim a méně než 40 % na cefoxitin. Co se týče genů pro β -laktamázy, identifikovali gen *blaTEM* ve 2 izolátech z celkových 35 laktobacilů. Zároveň v jednom izolátu identifikovali gen *blaCTX-M-1* a *blaCTX-M-2*. Ani u jednoho izolátu nebyl detekován gen *blaSHV*. Ve studii Floris a kol. (2025) byl detekován gen *blaTEM* u části izolátů *Lc. paracasei* a *Lt. curvatus* z mléčných výrobků. V porovnání s fenotypovou rezistencí však nebyla prokázána shodnost. Na rozdíl od těchto studií nebyl v rámci této práce detekován gen pro žádnou ze sledovaných β -laktamáz TEM, SHV a CTX-M.

Na rozdíl od výsledků této práce, Sharma a kol. (2016) vyhodnotili z celkových 30 izolátů laktobacilů pouze jediný jako rezistentní vůči cefuroximu s inhibiční zónou 11 mm v případě *L. acidophilus*. U ostatních se velikost inhibiční zóny pohybovala v rozmezí 19 až 40 mm, a to za využití stejné koncentrace (30 μ g/ disk). Laktobacily byly izolovány z komerčních probiotických produktů a byly identifikovány jako *Lp. plantarum*, *Lc. rhamnosus*, *L. acidophilus* a *Lm. fermentum*. Obdobně nižší zastoupení rezistentních kmenů vůči cefuroximu pozorovali Gad a kol. (2014), kdy ze 138 izolátů mléčných tyčinek bylo rezistentních pouze 7,2 %.

Rifampicin je širokospektré antibiotikum, které inhibuje funkci RNA polymerázy u bakterií. Již dříve bylo experimentálně zjištěno, že mutace v genu *rpoB* kódujícím β -podjednotku RNA polymerázy je zodpovědná za rezistenci k rifampicinu u dvou kmenů BMK, konkrétně u *Leuc. mesenteroides* ATCC 8293 (kmen testovaný v této práci jako CCM 1803). Právě u tohoto kmene, který je zkoumán i v této práci byla pozorována střední citlivost.

Podle Flórez a kol. (2016) žádný z 18 kmenů *Leuc. mesenteroides* nevykazoval rezistenci na rifampicin. Nicméně za rezistentní by bylo podle nich možné považovat tři jimi zkoumané kmeny (2 kmeny *Leuc. citreum* a *Lac. lactis*). U pediokoků Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) při diskovém difúzním testu zjistili, že polovina zkoumaných izolátů *P. acidilactici* z potravin živočišného původu jsou k rifampicinu citlivé. V této práci byl kmen *P. acidilactici* CCM 4577 klasifikován jako středně citlivý. U většiny testovaných

kmenů však byla rovněž prokázána citlivost. Gad a kol. (2014) uvádí, že z celkových 138 izolátů mléčných tyčinek (dříve *Lactobacillus*) vykazovalo rezistenci 11,6 %. Odpovídající podíl rezistentních kmenů byl zjištěn i v této práci.

Naopak určitou rezistenci u BMK zaznamenali Herreros a kol. (2005), kdy vykazoval rezistenci vždy 1 z celkových 2 kmenů *Leuc. mesenteroides*, *Lp. plantarum* a *Lc. casei*. Rezistenci k rifampicinu zaznamenali Landeta a kol. (2013), kdy všechny 4 kmeny *Lp. plantarum* a 6 z celkem 20 kmenů *Lt. sakei* vykazovali rezistenci. Oba izoláty *Lc. paracasei* a *Lg. coryniformis* byly citlivé.

Mechanismus působení chloramfenikolu spočívá v blokaci proteosyntézy (Dec et al., 2017). Anisimova a Yarullina (2019) uvádějí, že laktobacily jsou obecně na inhibitory proteosyntézy citlivé (Anisimova a Yarullina, 2019), což bylo pozorováno v této práci, kdy všech 9 testovaných kmenů bylo citlivých.

Citlivost u všech kmenů získaných z probiotických preparátů, 12 *Lp. plantarum* a 3 *Lc. paracasei* prokázali i ve studii Anisimova et al., (2022). Rovněž Stefanska a kol. (2021) zjistili u sbírkových BMK i BMK izolovaných z fermentovaného ovoce a zeleniny a z probiotických nápojů, že všech 26 kmenů *Lp. plantarum*, 7 kmenů *Lm. fermentum* a jediný *P. acidilactici* jsou ke chloramfenikolu citliví a všech 18 kmenů *Pediococcus* ve studii Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) bylo citlivých. Naproti tomu Tammerman a kol. (2003) pozorovali u 38 % kmenů *P. acidilactici* rezistenci, zároveň však také citlivost u všech 6 kmenů *Lp. plantarum* a 17 *L. johnsonii*.

Campedelli a kol. (2016) zjistili, že z celkových 182 testovaných kmenů laktobacilů bylo rezistentních 49 %. Ačkoliv ve studii Gad a kol (2014), kdy bylo testováno celkem 138 izolátů laktobacilů, vykazovalo rezistenci vůči tomuto antibiotiku pouze 3,6 % izolátů. Zástupci rodu *Leuconostoc* jsou taktéž obecně považováni za citliví ke chloramfenikolu (Salveti et al., 2021), ačkoliv například El Issaoui a kol. (2021) prokázali rezistenci ke chloramfenikolu u *Leuc. mesenteroides* izolovaného ze stolních oliv.

Vyšší podíl rezistence uvádějí Flórez a kol. (2016), jež u 32 kmenů *Leuconostoc* izolovaných z mléčných výrobků zjistili rezistenci. Rovněž upozorňují, že předchozí výsledky uváděly, že většina druhů *Leuconostoc* je k tomuto antibiotiku citlivá, protože navrhovaný mikrobiologický breakpoint byl vyšší. Herreros a kol. (2005) zase metodou diskové difúze zjistili rezistenci u obou kmenů *Leuc. mesenteroides*, nikoliv však u *Lp. plantarum*.

Většina laktobacilů je vnitřně rezistentní k aminoglykosidům (gentamicinu, kanamycinu, streptomycinu a neomycinu) (Campedelli et al., 2019). Aminoglykosidy mají široké spektrum účinku, nicméně bakteriální absorpce aminoglykosidů je u grampozitivních anaerobů a fakultativních anaerobů obtížnější ve srovnání s gramnegativními bakteriemi, kvůli nízkému membránovému potenciálu. Tento jev vysvětluje přirozenou rezistenci k nízkým koncentracím těchto antibiotik. BMK zbavené jakékoliv získané rezistence však mohou být usmrceny zvýšenými dávkami (Jaimee a Halami, 2016).

Aminoglykosidy jsou antibiotika, která narušují syntézu proteinů tím, že se vážou na akceptorové místo (A) umístěné na 16 S rRNA ribozomální podjednotky 30 S, což vede k zablokování translace (Colautti et al., 2022). Rezistence k aminoglykosidům je vysvětlována jako důsledek zhoršeného transportu nebo mutací metyltransferázy nebo enzymatické inaktivace. Právě enzymatická inaktivace zprostředkována AME (Jaimee a Halami, 2016) (aminoglykosid-modifikujícími enzymy (Degtyareva et al., 2017)) je obecně spojena s BMK. AME jsou obvykle kódovány plasmidy nebo nesený transpozony a inserčními sekvencemi (Jaimee a Halami, 2016). Tato skupina enzymů zahrnuje aminoglykosidové acetyltransferázy, nukleotidyltransferázy a fosfotransferázy, které katalyzují modifikaci na hydroxylových nebo aminových funkčních skupinách aminoglykosidů, čímž znemožňují vázat se na ribozomální cíl (Degtyareva et al., 2017).

Stefańska a kol. (2021) zkoumali antibiotickou rezistenci u sbírkových BMK i BMK izolovaných z fermentovaného ovoce a zeleniny a z probiotických nápojů. Všechny 26 kmenů *Lp. plantarum* bylo také citlivých na gentamycin a všechny 7 kmenů *Lm. fermentum* bylo citlivých jak ke gentamicinu, tak ke streptomycinu. Naproti tomu jediný izolát *P. acidilactici* vykazoval ke streptomycinu rezistenci, rovněž však citlivost ke gentamicinu. Vysokou citlivost ke gentamicinu a o něco nižší citlivost ke streptomycinu pozorovali i Ojha a kol. (2023), kteří testovali fenotypovou rezistenci pomocí E testu na BMK izolovaných z různých potravin. Všechny 7 kmenů *Lm. fermentum* a jediný izolát *Lp. plantarum* byli citliví na gentamycin, kdežto na streptomycin byly citlivé pouze 2 kmene *Lm. fermentum*.

Vysokou citlivost ke streptomycinu a gentamicinu pozorovali Flórez a kol. (2016), kdy u všech 32 izolátů *Leuconostoc* prokázali citlivost ke gentamicinu. V případě streptomycinu vykazoval rezistenci pouze 1 kmen *Leuc. mesenteroides*. U izolátů laktobacilů z komerčních probiotických produktů, startérových kultur a kandidátů na probiotika Rozman a kol. (2020) zjistili citlivost ke gentamicinu i streptomycinu u kmenů *Lc. casei*, *Lm. fermentum*, *Lt. sakei* a dvou *Lc. paracasei*. Na rozdíl od výsledků této práce Rahman a kol. (2018) u kmene

Lg. coryniformis nepozorovali žádnou inhibiční zónu u streptomycinu, zároveň však jimi použitá koncentrace byla nižší (10 µg/disk).

Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) uvádějí, že všech 18 zkoumaných kmenů *P. pentosaceus* a *acidilactici* izolovaných z potravin živočišného původu jsou citliví vůči gentamycinu a streptomycinu. Gen *aadE* nebyl nalezen v žádném izolátu *Pediococcus*. Ve studii Shin a kol. (2023) taktéž nebyl detekován gen *aadE* u jediného z 57 zástupců mléčných tyčinek izolovaných z probiotických produktů. Anisimova a Yarullina (2019) detekovali tentýž gen u 3 izolátů *Lp. plantarum* z celkových 20 zkoumaných mléčných tyčinek. Zároveň byla u většiny z nich pozorována fenotypová rezistence. Ve studii Wang a kol. (2019) nebyl detekován gen *aadB* u žádného z 9 izolátů *Sc. thermophilus* a *L. bulgaricus* přestože převažoval gentamycin rezistentní fenotyp. V této práci však byly detekovány gen *aadB* u dvou kmenů.

Rezistence na vankomycin patří k vnitřním rezistencím (Goldstein et al., 2015). Rezistence některých laktobacilů k vankomycinu je poměrně dobře charakterizovanou vnitřní rezistencí (Gueimonde et al., 2013). Vankomycin je na BMK neúčinný vzhledem ke slabé vazbě na jejich buněčné stěny (Selim, 2021). Vankomycin se běžně váže na D-alanin/D-alaninový konec pentapeptidu, čímž zabraňuje polymerizaci prekurzorů peptidoglykanu. U některých BMK je však D-alaninový zbytek v muramyl-pentapeptidu nahrazen D-laktátem nebo D-serinem (Gueimonde et al., 2013), což výrazně snižuje afinitu vankomycinu k této struktuře (Van Pijkeren, 2012), a proto se stávají vůči antibiotiku rezistentní (Gueimonde et al., 2013).

Výsledky studií se shodují s výsledky této práce, kdy např. Herreos a kol. (2005) difúzní diskovou metodou zjistili, že jimi izolované kmeny *Leuc. mesenteroides* a *Lp. plantarum* jsou rezistentní na vankomycin. Taktéž Duche a kol. (2023) zjistili fenotypovou rezistenci u všech 28 kmenů laktobacilů (*Lc. casei*, *Lp. paracasei*, *Lv. brevis*, *Lp. plantarum*, *Lp. pentosus*) izolovaných z potravin i lidských zdrojů. Rovněž Tammerman a kol. (2003) zaznamenali u všech 8 izolátů *P. acidilactici* a 6 *Lp. plantarum* rezistenci k tomuto léčivu. Ojha a kol. (2023) pozorovali u celkem 7 izolátů *Lm. fermentum* z různých potravin rezistenci k vankomycinu. Georgieva a kol. (2014) pozorovali rezistenci k vankomycinu u kmenů *Lp. plantarum*, *Lc. rhamnosus*, *Lc. paracasei*, *Lm. fermentum* a *Lv. brevis* izolovaných z různých potravin. Landeta a kol. (2013) zkoumali diskovou difúzi rezistenci u BMK izolovaných z fermentovaného masného salámu. U všech 20 kmenů *Lt. sakei*, 4 *Lp. plantarum*, 2 *Lc. paracasei* a jednoho *Lg. coryniformis* byla pozorována rezistence.

Taktéž u zástupců rodu *Leuconostoc*, Flórez a kol. (2016) zjistili, že všech 32 kmenů izolovaných z mléčných výrobků je rezistentních.

V této práci byl detekován gen *van* kódující vankomycin rezistentní protein u jednoho kmene. Ve studii Wang a kol. (2019) byl detekován u 11, 1 % izolátů *Sc. thermophilus* a *L. bulgaricus* izolovaných z mléčných výrobků. V případě jednoho z *van* pozitivních byla prokázána i fenotypová rezistence.

Při detekci dalších genů *van* byla u *Pediococcus pentosaceus* a *P. acidilactici* izolovaných z různých potravin živočišného původu byla zjištěna rezistence u 17 z celkových 18 izolátů, a zároveň u izolátů *P. acidilactici*, nebyly detekovány žádné ze sledovaných genů (*vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2*, *vanC3*, *vanD*, *vanE*, *vanG*). Geny *vanE*, *vanC1* a *vanC2* však byly detekovány u několika kmenů *P. pentosaceus* (Akpınar Kankaya a Tuncer, 2020). Anisimova a Yarullina (2019) zjistili, že všechny 4 kmeny *Lm. fermentum* byly rezistentní k vankomycinu a z 12 kmenů *Lp. plantarum* byl pouze jeden citlivý. Zároveň byl u většiny testovaných kmenů detekován gen *vanX*.

Klindamycin je taktéž antibiotikum inhibující proteosyntézu (Colautti et al., 2022). Interaguje s peptidyl transferázovým centrem (PTC) ve výstupním tunelu (nascent peptide exit tunnel) bakteriálního ribozomu. V tomto místě narušuje správnou orientaci tRNA, čímž inhibuje tvorbu peptidové vazby a stericky blokuje postup vznikajícího peptidu. Makrolidy, jejichž vazebné místo v ribozomu se překrývá s místem klindamycinu, stejně jako u některých sloučenin třídy tetracyklinů, se vážou na začátek výstupního tunelu pro syntetizovaný peptid ribozomální podjednotky 50S v blízkosti PTC a sdílejí stejný mechanismus inhibice syntézy proteinů, a to i přes strukturní rozdíly (Armillei et al., 2024).

Ve studii Campedelli a kol. (2019) bylo zkoumáno 182 kmenů laktobacilů z různých sbírek z nichž 13 vykazovalo ke klindamycinu rezistenci. Výskyt rezistence u laktobacilů je tak považován za nízký. Stefaňska a kol. (2021) prokázali rezistenci ke klindamycinu pouze u 1 z celkových 26 izolátů *Lp. plantarum*. U tohoto kmene byl zároveň detekován gen *emrB*, ačkoliv k erytromycinu vykazoval citlivost. Všechny 7 izolátů *Lm. fermentum* a jediný izolát *P. acidilactici* vykazovali citlivost ke klindamycinu. Rodríguez-Alonso a kol. (2009) testovali diskovou difúzní metodou 19 kmenů laktobacilů a 22 kmenů leukonostoků izolovaných ze sýra, přičemž všechny byly citlivé vůči tomuto antibiotiku. Také v této práci byla zjištěna citlivost u všech testovaných kmenů. Citlivost byla pozorována i u Rozman a kol. (2020), kde byly testovány probiotické kmeny či kandidátské kmeny na probiotika. Kmeny *Lm. fermentum*, *Lt. sakei* a dva kmeny *Lc. paracasei* byly citlivé. Jeden ze

zkoumaných kmenů, *L. gasseri* však vykazoval rezistenci ke klindamycinu při stanovení MIC mikrodiluční metodou.

Jistou rezistenci k tomuto antibiotiku zaznamenali Landeta a kol. (2013) v případě 3 z celkových 4 kmenů *Lc. plantarum* a 3 kmenů z celkových 20 *Lt. sakei* izolovaných z fermentovaného masného výrobku. Zároveň byla pozorována citlivost u izolátu *Lg. coryniformis* a 2 izolátů *Lc. paracasei*.

Makrolidy mezi něž patří erytromycin (Vázquez-Laslop a Mankin, 2018), mají široké spektrum antimikrobiální aktivity (Waško et al., 2012). Antibiotika z této skupiny mají obdobné cílové místo jako antibiotika ze skupiny linkosamidů (Vázquez-Laslop a Mankin, 2018), což může mít za následek vznik tzv. makrolid-linkosamid-streptogramin rezistentního fenotypu (MLS). Právě MLS fenotyp u laktobacilů je často spojována s přítomností genů *erm* (Waško et al., 2012) (erytromycin ribosome methylase) (Colautti et al., 2022).

Všech 31 leukonostoků zkoumaných Flórez a kol. (2016) bylo citlivých s výjimkou jednoho kmene *Leuc. mesenteroides* ssp. *dextranicum*, který ukázal rezistenci k vysokému množství tohoto antibiotika a rovněž byl u něj detekován gen *emrB*. Mezi BMK je tento gen nejrozšířenějším genem propůjčujícím rezistenci k erytromycinu. Všechny zkoumané kmeny taktéž vykazovaly citlivost ke klindamycinu, opět s výjimkou výše zmíněného kmene *Leuc. mesenteroides*. Například ale ve studii El Issaoui a kol. (2021) u *Leuc. mesenteroides*, izolovaného ze stolních oliv vykazující rezistenci k tomuto antibiotiku, gen *ermB* prokázán nebyl.

Stefańska a kol. (2021) ve všech 26 izolátech *Lp. plantarum*, 7 izolátech *Lm. fermentum* a jediném izolátu *P. acidilactici* prokázali citlivost k erytromycinu. V případě rodu *Pediococcus*, Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) taktéž zjistili, že všechny zkoumané izoláty *P. pentosaceus* a *acidilactici* jsou citlivé a zároveň u nich nebyl detekován gen *ermB*. Sukmarini a kol. (2014) detekovali v jednom z 5 izolátů *Lp. plantarum* gen *emrB*, avšak v žádném z izolátů *Lm. fermentum* a *P. acidilactici*. V této práci nebyl tento gen detekován u žádného testovaného kmene.

Podobné výsledky pozorovali Anisimova a kol. (2022). Citlivých bylo 10 z 12 kmenů *Lp. plantarum*, přičemž zbylé kmeny klasifikovali jako středně rezistentní. Citlivost pozorovali také u všech 3 kmenů *Lc. paracasei*. Při zkoumání přítomnosti genů rezistence nebyl detekován *ermB*. Taktéž Rozman a kol. (2020) zaznamenali citlivost kmenů,

Lm. fermentum, *Lt. sakei* a dvou kmenů *Lc. paracasei* citlivost k erytromycinu, stejně tak ve zbytku dalších zástupců laktobacilů. Landeta a kol. (2013) prokázali u celkem 17 z 20 kmenů *Lt. sakei* citlivost, přičemž zbývající klasifikovali jako středně rezistentní. Taktéž 4 kmeny *Lp. plantarum*, 2 kmeny *Lc. paracasei* a kmen *Lg. coryniformis* byly citlivé.

Naproti tomu Ojha a kol. (2023) zjistili u 6 z celkových 7 izolátů *Lm. fermentum* k erytromycinu rezistenci a taktéž Tammerman a kol. (2003) zjistili u 33 % izolátů *Lp. plantarum* rezistenci.

Nitrofurantoin vykazuje dlouhodobou odolnost proti bakteriální rezistenci, díky multifaktoriálnímu mechanismu účinku. Jeho aktivita vyžaduje redukci nitroskupiny v jeho molekulární struktuře bakteriálními nitroreduktázami po přijetí do buňky, čímž vznikají reaktivní meziprodukty, které cílí na řadu životně důležitých metabolických procesů, jako je syntéza proteinů, DNA a RNA. Tyto multifaktoriální účinky způsobují, že vývoj rezistence je velmi složitý, protože k současnému překonání každého škodlivého účinku jsou nutné změny (prostřednictvím mutací) více mechanismů (Kettlewell et al., 2024).

Zdarta a Kaczorek (2023) podotýkají, že údaje o rezistenci BMK vůči nitrofuranovým antibiotikům nejsou jednoznačné a že přesný mechanismus rezistence BMK k nitrofuranům zůstává neznámý (Zdarta a Kaczorek, 2023).

Výsledky studií citlivosti k nitrofurantoinu se poměrně liší. Například Singhal a kol. (2020) testovali diskovou difúzní metodou na MRS 29 kmenů laktobacilů izolovaných z vagín, mezi nimiž byly i druhy *Lc. paracasei*, *Lt. curvatus*, *Lm. fermentum* a *Lp. paraplantarum*. Všechny izoláty byly vyhodnoceny jako citlivé.

Naproti tomu ve studii od Herreros a kol. (2005) byly testovány BMK izolované z ovčího sýra diskovou difúzní metodou a to celkem 2 kmeny *Leuc. mesenteroides*, 2 *Lp. plantarum*, 2 *Lv. brevis* a 3 *Lc. casei*. Všechny tyto izoláty vykazovaly na nitrofurantoin rezistenci. Danielsen a Wind (2003) zkoumali sbírkové kmeny laktobacilů pomocí E testu. Mezi kmeny stejného druhu pozorovali různé úrovně citlivosti k nitrofurantoinu. Rovněž při testování rezistence k nitrofurantoinu zaznamenali jednotlivé (bodové) kolonie přítomné v inhibiční zóně, a předpokládá se, že se jednalo o rezistentní mutanty. Podíl kmenů bez z inhibiční zóny odpovídal studii Sharma a kol. (2016), kteří nepozorovali žádnou zónu inhibice u 5 z celkových 18 kmenů, jednalo se o druhy *L. acidophilus*, *Lc. rhamnosus* a *Lp. plantarum*. Zároveň však podíl citlivých kmenů byl

vyšší, neboť u zbývajících kmenů se velikost zóny pohybovala mezi 18 až 40 mm. Testovaná koncentrace antibiotika byla stejná, jako v této práci.

V případě pediokoků Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) při diskovém difúzním testu zjistili, že počty rezistentních a citlivých izolátů *Pediococcus pentosaceus* a *acidilactici* (celkem 18) jsou vyrovnané.

Nižší podíl rezistence pozorovali Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) u celkových 18 kmenů *Pediococcus*, pocházejících z potravin živočišného původu, prokázali diskovou difúzní metodou u 12 kmenů citlivost a u 2 kmenů rezistenci vůči doxycyklinu, u 4 kmenů byla rezistence klasifikována jako intermediální, kdežto v této práci bylo u jediného zástupce *P. acidilactici* zjištěna rezistence. Sharma a kol. (2016) ve své studii testovali 30 izolátů laktobacilů z komerčních probiotických produktů pomocí diskové difúzní metody. Všechny 30 izolátů vyhodnotili jako citlivé k doxycyklinu, přičemž průměr zóny se pohyboval v rozmezí 20 až 40 mm, zatímco v této práci se pohybovali mezi 14 až 32,5 mm. Použitá koncentrace byla tatáž, ale prahová hodnota pro rezistenci byla ≤ 14 mm, na rozdíl od mnou použité (≤ 20 mm) ze studie (Maaland et al., 2013).

Dec a kol. (2017) si všimli, že 74 % laktobacilů vykazovalo rezistenci k doxycyklinu a současně i tetracyklinu, což indikuje zkříženou rezistenci k antibiotikům patřícím do stejných chemických skupin.

V této práci nebyly detekovány geny *tetK* a *tetL* u žádného z testovaných kmenů. Nízký či žádný výskyt tohoto genu potvrzují i studie Anisimova a kol. (2022) u jednoho kmene *Lc. paracasei* (z celkově 19 izolátů laktobacilů) detekovali gen *tetK*, kódující efluxní pumpu na tetracyklin, nicméně tento kmen nevykazoval k tetracyklinu fenotypovou rezistenci. Ve studii Akpınar Kankaya a Tuncer (2020) u žádného z pěti izolátů *Pediococcus*, které byly středně rezistentní k tetracyklinu, nebyly identifikovány geny rezistence *tetL* či *tetK*. Ve studii Shin a kol. (2023) také u žádného z 57 mléčných tyčinek izolovaných z probiotických produktů nebyly detekovány geny *tetK* a *tetL*, přestože některé kmeny vykazovali fenotypovou rezistenci vůči tetracyklinu. Nicméně ve studii Floris a kol. (2025) byly u části izolátů *Lp. plantarum*, *Leuc. mesenteroides* a *Leuc. pseudomesenteroides* gen *tetK* detekován. Shoda mezi fenotypovou a genotypovou rezistencí však byla minimální.

ZÁVĚR

U vybraných zástupců bakterií mléčného kvašení byly zkoumány celkem tři vlastnosti, které mohou ovlivňovat jejich chování v potravinách, a to růst při třech různých teplotách, tvorba biofilmu v závislosti na daných podmínkách a antibiotická rezistence.

Dle výsledků této práce se lze domnívat, že všechny zkoumané kmeny jsou mezofilní, přičemž většina vykazuje dobrý růst při teplotách 30 a 40 °C. Zároveň však některé kmeny vykazovaly dobrý růst pouze při 30 °C a v případě *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CCM 1803 se jednalo o růst dokonce ve 20 a 30 °C. Odlišnosti mezi jednotlivými kmeny byly pozorovány i ve schopnosti tvorby biofilmu. Čtyři kmeny alespoň v určité fázi kultivace biofilm tvořily za všech zkoumaných podmínek, kdežto u dalších dvou zástupců se jednalo o tvorbu podmíněnou. V případě výše zmíněného leukonostoka se jednalo o pozitivní vliv teploty a *Lt. sakei* CCM 4302 zase k tvorbě biofilmu vyžadoval obohacení média. Všem kmenům byla společná rezistence na vybrané cefalosporiny a vankomycin a rovněž citlivost ke streptomycinu, gentamycinu, klindamycinu a chloramfenikolu. U kmene *Lt. sakei* CCM 4302 byl detekován gen *van*, zodpovědný za rezistenci k vankomycinu, a u *Lg. coryniformis* CCM 4618 a *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* CCM 2085 byl detekován gen *aadB*, kódující rezistenci ke gentamycinu.

Přínos této práce, je také ve vyvstání dalších otázek: Proč *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CCM 1803 favorizuje jinou teplotu pro růst a jinou pro tvorbu biofilmu? Proč jsou *Lg. coryniformis* CCM 4618 a *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* CCM 2085 fenotypově citliví ke gentamycinu, ačkoliv u nich byl detekován gen *aadB* zajišťující rezistenci vůči této látce? Naráží se zde na nějaké metodické chyby s ohledem na nesjednocené testování antibiotické rezistence diskovou difúzí pro tuto skupinu bakterií? Mohlo tedy dojít k chybnému vyhodnocení? Anebo je ten gen nefunkční...má mutaci? Poškozený promotor? Jiný kodon usage? A co bičíkatý *Sporolactobacillus*? Byl teplotní rozdíl 37 a 30 °C příliš malý na to, aby se projevila případná změna počtu bičíků? Anebo jej bičíky při tvorbě biofilmu příliš neovlivňují? A čím to vlastně je, že kmeny na jiné podmínky reagují při tvorbě biofilmu jinak?

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABDALLAH, Marwan, Corinne BENOLIEL, Djamel DRIDER, Pascal DHULSTER a Nour-Eddine CHIHIB, 2014. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of Microbiology* [online]. **196**, 453–472 [cit. 2025-02-14]. ISSN 1432-072X. Dostupné z: 10.1007/s00203-014-0983-1

ABDUL HAKIM, Bibi Nabihah, Ng Jia XUAN a Siti Nur Hazwani OSLAN, 2023. A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria: Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods* [online]. **12**(15), 1–22 [cit. 2024-08-28]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods12152850

ABOULOIFA, Houssam, Sara GAAMOUCHE, Nabil GHABBOUR, Bouchra EL GUERROUJ, Salwa KARBOUNE, Ennouamane SAALAOUI a Abdeslam ASEHRAOU, 2024. Lactic acid bacteria from Moroccan traditional foods: Techno-functional, health-promoting, nutraceutical value and application as a starter and bio-preservative agent in the food products. *Bioresource Technology Reports* [online]. **27**, 1–15 [cit. 2024-09-16]. ISSN 2589014X. Dostupné z: doi:10.1016/j.biteb.2024.101941

ABRIOUEL, Hikmate, María del Carmen CASADO MUÑOZ, Leyre LAVILLA LERMA, et al., 2015. New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. *Food Research International* [online]. **78**, 465–481 [cit. 2024-12-23]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2015.09.016

ACOSTA-PIANTINI, Elsa, Maria Carmen VILLARÁN, Ángel MARTÍNEZ a José Ignacio LOMBRAÑA, 2024. Examining the Effect of Freezing Temperatures on the Survival Rate of Micro-Encapsulated Probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA5 Using the Flash Freeze-Drying (FFD) Strategy. *Microorganisms* [online]. **12**(3), 1 [cit. 2025-04-06]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms12030506

ADAMS, Martin R., Peter J. MCCLURE a Maurice O. MOSS, 2024. *Food microbiology*. 5th. Royal Society of Chemistry. ISBN 978-1-83767-182-3.

AGÜERO, Nadia de L., Laureano S. FRIZZO, Arthur C. OUWEHAND, Gonzalo ALEU a Marcelo R. ROSMINI, 2020. Technological Characterisation of Probiotic Lactic Acid Bacteria as Starter Cultures for Dry Fermented Sausages. *Foods* [online]. **9**(5), 1–18 [cit. 2024-09-18]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9050596

ACHINAS, Spyridon, Nikolaos CHARALAMPOGIANNIS a Gerrit Jan Willem EUVERINK, 2019. A Brief Recap of Microbial Adhesion and Biofilms. *Applied Sciences* [online]. **9**(14), 1–15 [cit. 2025-01-26]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app9142801

AKOĞLU, Aylin, 2020. The effect of some environmental conditions on planktonic growth and biofilm formation by some lactic acid bacteria isolated from a local cheese in Turkey. *Biotechnology Letters* [online]. **42**, 481–492 [cit. 2025-02-13]. ISSN 1573-6776. Dostupné z: 10.1007/s10529-020-02794-4

AKPINAR KANKAYA, Didem a Yasin TUNCER, 2020. Antibiotic resistance in vancomycin-resistant lactic acid bacteria (VRLAB) isolated from foods of animal origin. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. **44**(6), 1-14 [cit. 2025-03-02]. ISSN 0145-8892. Dostupné z: doi:10.1111/jfpp.14468

ALAN, Yusuf a Neslihan YILDIZ, 2022. Effects of Lactobacillus used as the starter culture on naturally fermented pickled cabbage. *Food Science and Technology* [online]. **42**, 1-9 [cit. 2024-09-04]. ISSN 1678-457X. Dostupné z: doi:10.1590/fst.45020

AMMOR, Mohammed Salim a Baltasar MAYO, 2007a. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science* [online]. **76**(1), 138-146 [cit. 2024-09-18]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2006.10.022

AMMOR, Mohammed Salim, Ana BELÉN FLÓREZ a Baltasar MAYO, 2007b. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology* [online]. **24**(6), 559-570 [cit. 2024-07-29]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2006.11.001

ANISIMOVA, Elizaveta a Dina YARULLINA, 2019. Antibiotic Resistance of LACTOBACILLUS Strains. *Current Microbiology* [online]. **76**, 1407–1416 [cit. 2025-03-06]. ISSN 1432-0991. Dostupné z: doi:10.1007/s00284-019-01769-7

ANISIMOVA, Elizaveta, Islamiya GOROKHOVA, Guzel KARIMULLINA a Dina YARULLINA, 2022. Alarming Antibiotic Resistance of Lactobacilli Isolated from Probiotic Preparations and Dietary Supplements. *Antibiotics* [online]. **11**(11), 1-12 [cit. 2025-02-02]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics11111557

AOUDIA, Nabil, Aurélie RIEU, Romain BRIANDET, Julien DESCHAMPS, Johanna CHLUBA, Gaëtan JEGO, Carmen GARRIDO a Jean GUZZO, 2016. Biofilms of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus fermentum: Effect on stress responses, antagonistic effects on pathogen growth and immunomodulatory properties. *Food Microbiology* [online]. **53**, 51-59 [cit. 2025-03-18]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2015.04.009

ARAÚJO, Tatiane Ferreira a Célia Lúcia de Lucas Fortes FERREIRA, 2013. The genus Enterococcus as probiotic: safety concerns. *Brazilian Archives of Biology and Technology* [online]. **56**(3), 457-466 [cit. 2024-09-22]. ISSN 1516-8913. Dostupné z: doi:10.1590/S1516-89132013000300014

ARMILLEI, Maria K., Ivan B. LOMAKIN, James Q. DEL ROSSO, Ayman GRADA a Christopher G. BUNICK, 2024. Scientific Rationale and Clinical Basis for Clindamycin Use in the Treatment of Dermatologic Disease. *Antibiotics* [online]. **13**(3), 1-27 [cit. 2025-03-08]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics13030270

ARROYO-LÓPEZ, F.N., J. BAUTISTA-GALLEGO, J. DOMÍNGUEZ-MANZANO, V. ROMERO-GIL, F. RODRIGUEZ-GÓMEZ, P. GARCÍA-GARCÍA, A. GARRIDO-FERNÁNDEZ a R. JIMÉNEZ-DÍAZ, 2012. Formation of lactic acid bacteria–yeasts communities on the olive surface during Spanish-style Manzanilla fermentations. *Food*

Microbiology [online]. **32**(2), 295-301 [cit. 2024-10-14]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2012.07.003

AZEREDO, Joana, Nuno F. AZEVEDO, Romain BRIANDET, et al., 2016. Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology* [online]. 2016-11-08, **43**(3), 313-351 [cit. 2025-02-16]. ISSN 1040-841X. Dostupné z: doi:10.1080/1040841X.2016.1208146

BADEL, S., C. LAROCHE, C. GARDARIN, T. BERNARDI a P. MICHAUD, 2008. New Method Showing the Influence of Matrix Components in *Leuconostoc mesenteroides* Biofilm Formation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* [online]. **151**(2-3), 364-370 [cit. 2025-03-22]. ISSN 0273-2289. Dostupné z: doi:10.1007/s12010-008-8199-y

BAI, Zhongzhong, Zhen GAO, Bingfang HE a Bin WU, 2015. Effect of lignocellulose-derived inhibitors on the growth and d-lactic acid production of *Sporolactobacillus inulinus* YBS1-5. *Bioprocess and Biosystems Engineering* [online]. **38**(10), 1993-2001 [cit. 2025-02-12]. ISSN 1615-7591. Dostupné z: doi:10.1007/s00449-015-1440-5

BAI, Zhongzhong, Zhen GAO, Junfei SUN, Bin WU a Bingfang HE, 2016. D-Lactic acid production by *Sporolactobacillus inulinus* YBS1-5 with simultaneous utilization of cottonseed meal and corncob residue. *Bioresource Technology* [online]. **207**, 346-352 [cit. 2025-02-12]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2016.02.007

BALCÁZAR, José L., Jéssica SUBIRATS a Carles M. BORREGO, 2015. The role of biofilms as environmental reservoirs of antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2015-10-31, **6**, 1-9 [cit. 2025-04-05]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2015.01216

BARBIERI, Federica, Chiara MONTANARI, Fausto GARDINI a Giulia TABANELLI, 2019. Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria: A Review. *Foods* [online]. **8**(1), 1-27 [cit. 2024-08-15]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods8010017

BASTARD, Alexandre, Christian COELHO, Romain BRIANDET, Alexis CANETTE, Régis GOUGEON, Hervé ALEXANDRE, Jean GUZZO a Stéphanie WEIDMANN, 2016. Effect of Biofilm Formation by *Oenococcus oeni* on Malolactic Fermentation and the Release of Aromatic Compounds in Wine. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2016-04-27, **7**(4), 1-14 [cit. 2024-08-30]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.00613

BEAL, Jacob, Natalie G. FARNY, Traci HADDOCK-ANGELLI, et al., 2020. Robust estimation of bacterial cell count from optical density. *Communications Biology* [online]. **3**(1), 1-29 [cit. 2025-02-05]. ISSN 2399-3642. Dostupné z: doi:10.1038/s42003-020-01127-5

BECH-TERKILSEN, S., J.O. WESTMAN, J.H. SWIEGERS a H. SIEGUMFELDT, 2020. *Oenococcus oeni*, a species born and moulded in wine: a critical review of the stress impacts of wine and the physiological responses. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. **26**(3), 188-206 [cit. 2024-08-22]. ISSN 1322-7130. Dostupné z: doi:10.1111/ajgw.12436

BELLEGGIA, Luca, Ilario FERROCINO, Maria RITA CORVAGLIA, et al., 2022. Profiling of autochthonous microbiota and characterization of the dominant lactic acid

bacteria occurring in fermented fish sausages. *Food Research International* [online]. **154**, 1-15 [cit. 2024-09-19]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2022.110990

BENEŠ, Jiří, 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing. ISBN 9788027106363.

BENGOA, Ana Agustina, María Teresa DUEÑAS, Alicia PRIETO, Graciela L. GARROTE a Analía G. ABRAHAM, 2023. Exopolysaccharide-producing *Lactocaseibacillus paracasei* strains isolated from kefir as starter for functional dairy products. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2023-2-24, **14**, 1-12 [cit. 2025-03-15]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2023.1110177

BERNARDEAU, Marion, Micheline GUGUEN a Jean Paul VERNOUX, 2006. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2006-07-01, **30**(4), 487-513 [cit. 2024-09-03]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.2006.00020.x

BINTSIS, Thomas, 2018. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology* [online]. **4**(4), 665-684 [cit. 2024-08-01]. ISSN 2471-1888. Dostupné z: doi:10.3934/microbiol.2018.4.665

BJORKROTH, K.Johanna a Hannu J. KORKEALA, 1997. *Lactobacillus fructivorans* Spoilage of Tomato Ketchup. *Journal of Food Protection* [online]. **60**(5), 505-509 [cit. 2024-12-01]. ISSN 0362028X. Dostupné z: doi:10.4315/0362-028X-60.5.505

BOSMA, Elleke F., Jochen FORSTER a Alex Toftgaard NIELSEN, 2017. Lactobacilli and pediococci as versatile cell factories – Evaluation of strain properties and genetic tools. *Biotechnology Advances* [online]. **35**(4), 419-442 [cit. 2025-02-12]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2017.04.002

BOURDICHON, F., S. LAULUND a P. TENNING, 2019. Inventory of microbial species with a rationale: a comparison of the IDF/EFFCA inventory of microbial food cultures with the EFSA Biohazard Panel qualified presumption of safety. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2019-03-06, **366**(5), 1-6 [cit. 2024-08-22]. ISSN 1574-6968. Dostupné z: doi:10.1093/femsle/fnz048

BURON-MOLES, Gemma, Anna CHAILYAN, Igor DOLEJS, Jochen FORSTER a Marta Hanna MIKŠ, 2019. Uncovering carbohydrate metabolism through a genotype-phenotype association study of 56 lactic acid bacteria genomes. *Applied Microbiology* [online]. **103**, 3135-3152 [cit. 2024-07-29]. ISSN 01757598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-019-09701-6

CAGGIANIELLO, Graziano, Michiel KLEEREBEZEM a Giuseppe SPANO, 2016. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **100**(9), 3877-3886 [cit. 2024-08-12]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-016-7471-2

CAI, Haotian, Lei TAO, Xianyuan ZHOU, Yu LIU, Di SUN, Qingbao MA, Zhongjie YU a Wei JIANG, 2024. Lactic acid bacteria in fermented fish: Enhancing flavor and ensuring safety. *Journal of Agriculture and Food Research* [online]. **16**, 1-13 [cit. 2024-08-06]. ISSN 26661543. Dostupné z: doi:10.1016/j.jafr.2024.101206

CALASSO, M. a M. GOBBETTI, 2011. Lactic Acid Bacteria | *Lactobacillus* spp: Other Species. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* [online]. 2nd. Elsevier, s. 125-131 [cit. 2025-01-24]. ISBN 9780123744074. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00265-X

CAMPEDELLI, Ilenia, Harsh MATHUR, Elisa SALVETTI, et al., 2019. Genus-Wide Assessment of Antibiotic Resistance in *Lactobacillus* spp. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **85**(1), 1-21 [cit. 2024-12-23]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.01738-18

CAPOZZI, Vittorio, Maria TUFARIELLO, Nicola DE SIMONE, Mariagiovanna FRAGASSO a Francesco GRIECO, 2021. Biodiversity of Oenological Lactic Acid Bacteria: Species- and Strain-Dependent Plus/Minus Effects on Wine Quality and Safety. *Fermentation* [online]. **7**(1), 1-17 [cit. 2024-08-03]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation7010024

CARNEIRO, Kayque Ordonho, Gabriela Zampieri CAMPOS, João Marcos SCAFURO LIMA, Ramon da Silva ROCHA, Manuela VAZ-VELHO a Svetoslav Dimitrov TODOROV, 2024. The Role of Lactic Acid Bacteria in Meat Products, Not Just as Starter Cultures. *Foods* [online]. **13**(19), 1-22 [cit. 2024-11-18]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods13193170

CASADO MUÑOZ, María del Carmen, Nabil BENOMAR, Leyre Lavilla LERMA, Antonio GÁLVEZ a Hikmate ABRIOUEL, 2014. Antibiotic resistance of *Lactobacillus pentosus* and *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolated from naturally-fermented Aloreña table olives throughout fermentation process. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **172**(2), 110-118 [cit. 2024-07-29]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.025

CASTELLANO, Patricia, Mariana PÉREZ IBARRECHE, Mariana BLANCO MASSANI, Cecilia FONTANA a Graciela VIGNOLO, 2017. Strategies for Pathogen Biocontrol Using Lactic Acid Bacteria and Their Metabolites: A Focus on Meat Ecosystems and Industrial Environments. *Microorganisms* [online]. **5**(3), 1-25 [cit. 2024-08-04]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms5030038

CENCI-GOGA, Beniamino T., Paola SECHI, Maria F. IULIETTO, Shahin AMIRJALALI, Salvatore BARBERA, Musafiri KARAMA, Sharif S. ALY a Luca GRISPOLDI, 2020. Characterization and Growth under Different Storage Temperatures of Ropy Slime-Producing *Leuconostoc mesenteroides* Isolated from Cooked Meat Products. *Journal of Food Protection* [online]. **83**(6), 1043-1049 [cit. 2025-01-27]. ISSN 0362028X. Dostupné z: doi:10.4315/JFP-19-521

CERI, H., M. E. OLSON, C. STREMICK, R. R. READ, D. MORCK a A. BURET, 1999. The Calgary Biofilm Device: New Technology for Rapid Determination of Antibiotic Susceptibilities of Bacterial Biofilms. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **37**(6),

1771-1776 [cit. 2025-02-16]. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.37.6.1771-1776.1999

CIRAT, Radjaa, Vittorio CAPOZZI, Zineb BENMECHERNENE, Giuseppe SPANO, Francesco GRIECO a Mariagiovanna FRAGASSO, 2024. LAB Antagonistic Activities and Their Significance in Food Biotechnology: Molecular Mechanisms, Food Targets, and Other Related Traits of Interest. *Fermentation* [online]. **10**(4), 1-19 [cit. 2024-09-05]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation10040222

COLAUTTI, Andrea, Martina ARNOLDI, Giuseppe COMI a Lucilla IACUMIN, 2022. Antibiotic resistance and virulence factors in lactobacilli: something to carefully consider. *Food Microbiology* [online]. **103**(5), 1-17 [cit. 2024-07-30]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2021.103934

COLLINS, M. D., B. A. PHILLIPS a P. ZANONI, 1989. Deoxyribonucleic Acid Homology Studies of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* sp. nov., subsp. *paracasei* and subsp. *tolerans*, and *Lactobacillus rhamnosus* sp. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* [online]. 1989-04-01, **39**(2), 105-108 [cit. 2025-03-14]. ISSN 0020-7713. Dostupné z: doi:10.1099/00207713-39-2-105

COLOMBO, Monique, Luis Augusto NERO a Svetoslav Dimitrov TODOROV, 2020. Safety profiles of beneficial lactic acid bacteria isolated from dairy systems. *SpringerLink* [online]. [cit. 2024-07-25]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-020-00227-y>

CRAWLEY, Alexandra B., Emily D. HENRIKSEN, Emily STOUT, Katelyn BRANDT a Rodolphe BARRANGOU, 2018. Characterizing the activity of abundant, diverse and active CRISPR-Cas systems in lactobacilli. *Scientific Reports* [online]. **8**(1), 1 [cit. 2024-09-14]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-29746-3

CUI, Yanhua, Tong HU, Xiaojun QU, Lanwei ZHANG, Zhongqing DING a Aijun DONG, 2015. Plasmids from Food Lactic Acid Bacteria: Diversity, Similarity, and New Developments. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **16**(6), 13172-13202 [cit. 2024-09-14]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms160613172

DABA, Ghoson M., Marwa O. ELNAHAS a Waill A. ELKHATEEB, 2021. Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **173**, 79-89 [cit. 2024-08-28]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.01.110

DANIELSEN, Morten a Anette WIND, 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **82**(1), 1-11 [cit. 2025-03-06]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(02)00254-4

DE ANGELIS, Maria a Marco GOBBETTI, 2004. Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. *PROTEOMICS* [online]. **4**(1), 106-122 [cit. 2025-01-11]. ISSN 1615-9853. Dostupné z: doi:10.1002/pmic.200300497

DE MELO PEREIRA, Gilberto V, Alexander DA SILVA VALE, Dão Pedro DE CARVALHO NETO, Elisângela SM MUYNARSK, Vanete Thomaz SOCCOL a Carlos R SOCCOL, 2020. Lactic acid bacteria: what coffee industry should know? *Current Opinion in Food Science* [online]. **31**, 1-8 [cit. 2024-09-22]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2019.07.004

DE SOUZA, Evandro L, Kataryne ÁR DE OLIVEIRA a Maria EG DE OLIVEIRA, 2023. Influence of lactic acid bacteria metabolites on physical and chemical food properties. *Current Opinion in Food Science* [online]. **49**, 1-8 [cit. 2024-11-19]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2022.100981

DE VOS, Willem M., 2011. Systems solutions by lactic acid bacteria: from paradigms to practice. *Microbial Cell Factories* [online]. **10**(Suppl 1), 1-13 [cit. 2024-08-10]. ISSN 14752859. Dostupné z: doi:10.1186/1475-2859-10-S1-S2

DEC, Marta, Renata URBAN-CHMIEL, Dagmara STEPIEŃ-PYŚNIAK a Andrzej WERNICKI, 2017. Assessment of antibiotic susceptibility in *Lactobacillus* isolates from chickens. *Gut Pathogens* [online]. **9**(1), 1-16 [cit. 2025-03-08]. ISSN 1757-4749. Dostupné z: doi:10.1186/s13099-017-0203-z

DEGTYAREVA, Natalya N., Changjun GONG, Sandra STORY, Nathanael S. LEVINSON, Adegboyega K. OYELERE, Keith D. GREEN, Sylvie GARNEAU-TSODIKOVA a Dev P. ARYA, 2017. Antimicrobial Activity, AME Resistance, and A-Site Binding Studies of Anthraquinone–Neomycin Conjugates. *ACS Infectious Diseases* [online]. 2017-03-10, **3**(3), 206-215 [cit. 2025-03-07]. ISSN 2373-8227. Dostupné z: doi:10.1021/acsinfecdis.6b00176

DI BIASE, Mariaelena, Yvan LE MARC, Anna Rita BAVARO, Palmira DE BELLIS, Stella Lisa LONIGRO, Paola LAVERMICOCCA, Florence POSTOLLEC a Francesca VALERIO, 2022. A Predictive Growth Model for Pro-technological and Probiotic *Lactocaseibacillus paracasei* Strains Fermenting White Cabbage. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2022-6-6, **13**, 1-14 [cit. 2025-01-28]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2022.907393

DI CAGNO, Raffaella, Rossana CODA, Maria DE ANGELIS a Marco GOBBETTI, 2013. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology* [online]. **33**(1), 1-10 [cit. 2024-11-09]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2012.09.003

DIAZ, Maria, Beatriz DEL RIO, Esther SANCHEZ-LLANA, Victor LADERO, Begoña REDRUELLO, María FERNÁNDEZ, M. Cruz MARTIN a Miguel A. ALVAREZ, 2016. Histamine-producing *Lactobacillus parabuchneri* strains isolated from grated cheese can form biofilms on stainless steel. *Food Microbiology* [online]. **59**, 85-91 [cit. 2024-10-16]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2016.05.012

DNeasy Blood and Tissue Kits for DNA Isolation, 2023. *QIAGEN* [online]. [cit. 2025-04-11]. Dostupné z: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/dneasy-blood-and-tissue-kit>

DOUILLARD, François P a Willem M DE VOS, 2014. Functional genomics of lactic acid bacteria: from food to health. *Microbial Cell Factories* [online]. **13**(Suppl 1), 1-21 [cit. 2024-08-01]. ISSN 1475-2859. Dostupné z: doi:10.1186/1475-2859-13-S1-S8

DOULGERAKI, Agapi I., Paraskevi PRAMATEFTAKI, Anthoula A. ARGYRI, George-John E. NYCHAS, Chrysoula C. TASSOU a Efstathios Z. PANAGOU, 2013. Molecular characterization of lactic acid bacteria isolated from industrially fermented Greek table olives. *LWT - Food Science and Technology* [online]. **50**(1), 353-356 [cit. 2024-09-16]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2012.07.003

DRAME, Ibrahima, Christine LAFFORGUE, Cecile FORMOSA-DAGUE, Marie-Pierre CHAPOT-CHARTIER, Jean-Christophe PIARD, Mickaël CASTELAIN a Etienne DAGUE, 2021. Pili and other surface proteins influence the structure and the nanomechanical properties of *Lactococcus lactis* biofilms. *Scientific Reports* [online]. **11**(1), 1-13 [cit. 2024-08-12]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-021-84030-1

DROSINOS, Eleftherios H., Spiros PARAMITHIOTIS, George KOLOVOS, Ioannis TSIKOURAS a Ioannis METAXOPOULOS, 2007. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology* [online]. **24**(3), 260-270 [cit. 2024-09-18]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2006.05.001

DUAR, Rebecca M., Xiaoxi B. LIN, Jinshui ZHENG, et al., 2017. Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2017-06-30, **41**(Supp_1), S27-S48 [cit. 2024-08-22]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1093/femsre/fux030

DUCHE, Rachael T., Anamika SINGH, Arundhati Ganesh WANDHARE, Vikas SANGWAN, Manvesh Kumar SIHAG, Tochukwu N. T. NWAGU, Harsh PANWAR a Lewis. I. EZEUGU, 2023. Antibiotic resistance in potential probiotic lactic acid bacteria of fermented foods and human origin from Nigeria. *BMC Microbiology* [online]. **23**(1), 1-18 [cit. 2025-03-09]. ISSN 1471-2180. Dostupné z: doi:10.1186/s12866-023-02883-0

DYSVIK, Anna, Sabina Leanti LA ROSA, Gert DE ROUCK, Elling-Olav RUKKE, Bjørge WESTERENG, Trude WICKLUND a Danilo ERCOLINI, 2020. Microbial Dynamics in Traditional and Modern Sour Beer Production. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2020-07-02, **86**(14), e00566-20 [cit. 2025-02-15]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.00566-20

EINSON, Jonah, Asha RANI, Xiaomeng YOU, et al., 2018. A Vegetable Fermentation Facility Hosts Distinct Microbiomes Reflecting the Production Environment. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **84**(22), 2 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.01680-18

EL ISSAOUI, Kaoutar, El Ouardy KHAY, Jamal ABRINI, Sanae ZINEBI, Nadia AMAJOU, Nadia Skali SENHAJI a Hikmate ABRIQUEL, 2021. Molecular identification and antibiotic resistance of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from table olives. *Archives of Microbiology* [online]. **203**(2), 597-607 [cit. 2025-03-02]. ISSN 0302-8933. Dostupné z: doi:10.1007/s00203-020-02053-0

ELHALIS, Hosam, Xin Hui CHIN a Yvonne CHOW, 2024. Soybean fermentation: Microbial ecology and starter culture technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2024-08-17, **64**(21), 7648-7670 [cit. 2024-09-01]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2023.2188951

ELLIS, J.L., I.K. HINDRICHSEN, G. KLOP, R.D. KINLEY, N. MILORA, A. BANNINK a J. DIJKSTRA, 2016. Effects of lactic acid bacteria silage inoculation on methane emission and productivity of Holstein Friesian dairy cattle. *Journal of Dairy Science* [online]. **99**(9), 7159-7174 [cit. 2024-09-18]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2015-10754

ELVAN GEZER, Mensure, Kathrine GRAVLUND FØNSS, Maria Florencia BAMBACE, Angeliki MARIETOU, Sanne SANDBERG OVERBY, Ulrik SUNDEKILDE, Clarissa SCHWAB a Charles M. DOZOIS, 2024. Investigation on L -rhamnose metabolism of *Loigolactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* DSM 20001 and its propionate-containing fermentates. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. e01613-24 [cit. 2025-01-26]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/aem.01613-24

ERDOĞAN, Arife Kübra a Bilge ERTEKIN FILİZ, 2023. Menaquinone content and antioxidant properties of fermented cabbage products: Effect of different fermentation techniques and microbial cultures. *Journal of Functional Foods* [online]. **102**(3), 1-11 [cit. 2024-09-04]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2023.105467

ERDOĞMUŞ, SEVİM FEYZA, UĞUR CENGİZ ERIŞMIŞ a Cevdet UĞUZ, 2021. Isolation and identification of lactic acid bacteria from fermented meat products and evaluation of their antimicrobial effect. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. **39**(4), 289-296 [cit. 2024-09-17]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/222/2020-CJFS

ERGINKAYA, Z., E. U. TURHAN a D. TATLI, 2018. Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iranian Journal of Veterinary Research* [online]. **19**(1), 53-56 [cit. 2024-09-15]. ISSN 17281997. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&an=128779198&scope=site>

ERKIHUN, Mulat, Zelalem ASMARE, Kirubel ENDALAMEW, Birhanu GETIE, Teklehaimanot KIROS a Ayenew BERHAN, 2024. Medical Scope of Biofilm and Quorum Sensing during Biofilm Formation: Systematic Review. *Bacteria* [online]. **3**(3), 118-135 [cit. 2025-02-14]. ISSN 2674-1334. Dostupné z: doi:10.3390/bacteria3030008

FERNÁNDEZ RAMÍREZ, Mónica D., Eddy J. SMID, Tjakko ABEE a Masja N. NIEROP GROOT, 2015. Characterisation of biofilms formed by *Lactobacillus plantarum* WCFS1 and food spoilage isolates. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **207**, 23-29 [cit. 2025-03-18]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.030

FERNÁNDEZ-BARAT, Laia, Nil VÁZQUEZ BURGOS, Victoria ALCARAZ, et al., 2023. The value of biofilm testing to guide antimicrobial stewardship in chronic respiratory diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2023-5-2, **13**, 1-10 [cit. 2025-02-16]. ISSN 2235-2988. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2023.1142274

FIGUEROA-HERNÁNDEZ, Claudia, Jatziri MOTA-GUTIERREZ, Ilario FERROCINO, Zorba J. HERNÁNDEZ-ESTRADA, Oscar GONZÁLEZ-RÍOS, Luca COCOLIN a Mirna

L. SUÁREZ-QUIROZ, 2019. The challenges and perspectives of the selection of starter cultures for fermented cocoa beans. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **301**, 41-50 [cit. 2024-09-02]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.002

FILANNINO, Pasquale, Raffaella DI CAGNO a Marco GOBBETTI, 2018. Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. **49**, 64-72 [cit. 2024-11-09]. ISSN 09581669. Dostupné z: doi:10.1016/j.copbio.2017.07.016

FINKEL, Steven E., 2006. Long-term survival during stationary phase: evolution and the GASP phenotype. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2006-02-01, **4**(2), 113-120 [cit. 2025-01-27]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro1340

FLÓREZ, Ana Belén, Ilenia CAMPEDELLI, Susana DELGADO, et al., 2016. Antibiotic Susceptibility Profiles of Dairy *Leuconostoc*, Analysis of the Genetic Basis of Atypical Resistances and Transfer of Genes In Vitro and in a Food Matrix. *PLOS ONE* [online]. 2016-1-4, **11**(1), 1-20 [cit. 2025-03-08]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0145203

FLORIS, Irene, Roberta BATTISTINI, Clara TRAMUTA, et al., 2025. Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Dairy Products in Northern Italy. *Antibiotics* [online]. **14**(4), 6 [cit. 2025-04-21]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics14040375

FOUNOU, Luria Leslie, Raspail Carrel FOUNOU a Sabiha Yusuf ESSACK, 2016. Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country-Perspective. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2016-11-23, **7**, 1-19 [cit. 2024-12-23]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.01881

FRAQUEZA, Maria João, 2015. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **212**, 76-88 [cit. 2024-12-23]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.035

FURTADO, G L a A A MEDEIROS, 1980. Single-disk diffusion testing (Kirby-Bauer) of susceptibility of *Proteus mirabilis* to chloramphenicol: significance of the intermediate category. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **12**(4), 550-553 [cit. 2025-02-19]. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/jcm.12.4.550-553.1980

GAD, Gamal Fadl M., Ahmed M. ABDEL-HAMID a Zeinab Shawky H. FARAG, 2014. Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from some pharmaceutical and dairy products. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. **45**(1), 25-33 [cit. 2025-02-01]. ISSN 1517-8382. Dostupné z: doi:10.1590/S1517-83822014000100005

GAJIC, Ina, Jovana KABIC, Dusan KEKIC, et al., 2022. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics* [online]. **11**(4), 1-26 [cit. 2025-02-19]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics11040427

GALHANO, Beatriz S. P., Rafaela G. FERRARI, Pedro PANZENHAGEN, Ana Carolina S. DE JESUS a Carlos A. CONTE-JUNIOR, 2021. Antimicrobial Resistance Gene

Detection Methods for Bacteria in Animal-Based Foods: A Brief Review of Highlights and Advantages. *Microorganisms* [online]. **9**(5), 1-15 [cit. 2025-03-03]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms9050923

GÄNZLE, Michael G, 2015. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science* [online]. **2**, 106-117 [cit. 2024-08-03]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2015.03.001

GARCÍA-DÍEZ, Juan a Cristina SARAIVA, 2021. Use of Starter Cultures in Foods from Animal Origin to Improve Their Safety. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. **18**(5), 1-25 [cit. 2024-09-02]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph18052544

GARRETT, Trevor Roger, Manmohan BHAKOO a Zhibing ZHANG, 2008. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science* [online]. **18**(9), 1049-1056 [cit. 2025-02-14]. ISSN 10020071. Dostupné z: doi:10.1016/j.pnsc.2008.04.001

GEORGE, Fanny, Catherine DANIEL, Muriel THOMAS, et al., 2018. Occurrence and Dynamism of Lactic Acid Bacteria in Distinct Ecological Niches: A Multifaceted Functional Health Perspective. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2018-11-27, **9**, 1-15 [cit. 2025-03-14]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.02899

GEORGIEVA, Ralitsa, Lyubomira YOCHEVA, Lilia TSEROVSKA, et al., 2014. Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. intended for use as starter and probiotic cultures. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* [online]. 2014-12-02, **29**(1), 84-91 [cit. 2025-03-09]. ISSN 1310-2818. Dostupné z: doi:10.1080/13102818.2014.987450

GOLDSTEIN, Ellie J. C., Kerin L. TYRRELL a Diane M. CITRON, 2015. *Lactobacillus* Species: Taxonomic Complexity and Controversial Susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2015-05-15, **60**(suppl_2), S98-S107 [cit. 2024-08-08]. ISSN 1537-6591. Dostupné z: doi:10.1093/cid/civ072

GÓMEZ, Natacha C., Juan M. P. RAMIRO, Beatriz X. V. QUECAN a Bernadette D. G. DE MELO FRANCO, 2016. Use of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) Biofilms for the Control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, and *Escherichia coli* O157: H7 Biofilms Formation. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2016-06-10, **7**, 1-15 [cit. 2025-03-18]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.00863

GRAM, Lone, Lars RAVN, Maria RASCH, Jesper Bartholin BRUHN, Allan B CHRISTENSEN a Michael GIVSKOV, 2002. Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **78**(1-2), 79-97 [cit. 2024-11-30]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(02)00233-7

GRUJOVIĆ, Mirjana Ž., Katarina G. MLADENOVIĆ, Teresa SEMEDO-LEMSADDEK, Marta LARANJO, Olgica D. STEFANOVIĆ a Sunčica D. KOCIĆ-TANACKOV, 2022. Advantages and disadvantages of non-starter lactic acid bacteria from traditional fermented foods: Potential use as starters or probiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **21**(2), 1537-1567 [cit. 2024-11-09]. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12897

GUEIMONDE, Miguel, Arthur C. OUWEHAND a Seppo SALMINEN, 2016. Safety of probiotics. *Scandinavian Journal of Nutrition* [online]. 2016-12-13, **48**(1), 42-48 [cit. 2024-08-05]. ISSN 1102-6480. Dostupné z: doi:10.1080/11026480410026447

GUEIMONDE, Miguel, Borja SÁNCHEZ, Clara G. DE LOS REYES-GAVILÁN a Abelardo MARGOLLES, 2013. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology* [online]. **4**, 1-6 [cit. 2025-02-02]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2013.00202

GUO, Xinyu, Leilei YU, Meifang XIAO, et al., 2024. Sporolactobacillus—a new functional genus with potential applications. *Current Research in Food Science* [online]. **9**, 1-12 [cit. 2025-01-23]. ISSN 26659271. Dostupné z: doi:10.1016/j.crfs.2024.100822

HAMILL, Philip G., Andrew STEVENSON, Phillip E. MCMULLAN, et al., 2020. Microbial lag phase can be indicative of, or independent from, cellular stress. *Scientific Reports* [online]. **10**(1), 1-20 [cit. 2025-01-26]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-020-62552-4

HAN, Areum a Sun-Young LEE, 2023. An overview of various methods for in vitro biofilm formation: a review. *Food Science and Biotechnology* [online]. **32**(12), 1617-1629 [cit. 2025-02-16]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-023-01425-8

HARYANI, Yuli, Nadrah Abdul HALID, Goh Sur GUAT, Mahmud Ab Rashid NOR-KHAIZURA, Muhammad Asyraf Md HATTA, Suriana SABRI, Son RADU a Hanan HASAN, 2023. High prevalence of multiple antibiotic resistance in fermented food-associated lactic acid bacteria in Malaysia. *Food Control* [online]. **147**, 1 [cit. 2024-09-12]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2022.109558

HATTI-KAUL, Rajni, Lu CHEN, Tarek DISHISHA a Hesham El ENSHASY, 2018. Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2018-08-30, **365**(20), 1-20 [cit. 2024-11-18]. ISSN 1574-6968. Dostupné z: doi:10.1093/femsle/fny213

HAZAN, Ronen, Yok-Ai QUE, Damien MAURA a Laurence G RAHME, 2012. A method for high throughput determination of viable bacteria cell counts in 96-well plates. *BMC Microbiology* [online]. **12**(1), 1-7 [cit. 2025-02-05]. ISSN 1471-2180. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2180-12-259

HERREROS, M.A., H. SANDOVAL, L. GONZÁLEZ, J.M. CASTRO, J.M. FRESNO a M.E. TORNADIJO, 2005. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiology* [online]. **22**(5), 455-459 [cit. 2025-03-06]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2004.11.007

HOLZAPFEL, Wilhelm H. a Brian J.B. WOOD, ed., 2014. *Lactic Acid Bacteria* [online]. Wiley [cit. 2025-04-05]. ISBN 9781444333831. Dostupné z: doi:10.1002/9781118655252

HOOSHDAR, Pegah, Rouha K. KERMANSHAHI, Parinaz GHADAM a Kianoush KHOSRAVI-DARANI, 2020. A Review on Production of Exopolysaccharide and Biofilm in Probiotics Like Lactobacilli and Methods of Analysis. *Biointerface Research in Applied*

Chemistry [online]. 2020-10-15, **10**(5), 6058-6075 [cit. 2024-08-11]. ISSN 2069-5837. Dostupné z: doi:10.33263/BRIAC105.60586075

HU, Yifei, Gang PAN, Meirong ZHAO, et al., 2024. Suitable fermentation temperature of forage sorghum silage increases greenhouse gas production: Exploring the relationship between temperature, microbial community, and gas production. *Science of The Total Environment* [online]. **950**, 3 [cit. 2024-09-18]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2024.175325

HU, Yingying, Yuan TIAN, Jiamin ZHU, Rongxin WEN, Qian CHEN a Baohua KONG, 2022. Technological characterization and flavor-producing potential of lactic acid bacteria isolated from traditional dry fermented sausages in northeast China. *Food Microbiology* [online]. **106**, 1-9 [cit. 2024-09-18]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2022.104059

HUANG, Hui-Ying, Shih-Yi HUANG, Pei-Yu CHEN, V. An-Erl KING, Yeu-Pyng LIN a Jen-Horng TSEN, 2007. Basic Characteristics of *Sporolactobacillus inulinus* BCRC 14647 for Potential Probiotic Properties. *Current Microbiology* [online]. **54**(5), 396-404 [cit. 2025-02-12]. ISSN 0343-8651. Dostupné z: doi:10.1007/s00284-006-0496-5

HUANG, Wenkang, Anran DONG, Huong Thi PHAM, et al., 2023. Evaluation of the fermentation potential of lactic acid bacteria isolated from herbs, fruits and vegetables as starter cultures in nut-based milk alternatives. *Food Microbiology* [online]. **112**(6), 1-11 [cit. 2024-09-03]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2023.104243

HÚNGARO, Humberto M., Magdevis Y.R. CATURLA, Cláudia N. HORITA, Marianna M. FURTADO a Anderson S. SANT'ANA, 2016. Blown pack spoilage in vacuum-packaged meat: A review on clostridia as causative agents, sources, detection methods, contributing factors and mitigation strategies. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **52**, 123-138 [cit. 2024-12-01]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.04.010

HURTADO, Albert, Cristina REGUANT, Albert BORDONS a Nicolas ROZÈS, 2012. Lactic acid bacteria from fermented table olives. *Food Microbiology* [online]. **31**(1), 1-8 [cit. 2024-09-16]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2012.01.006

CHARTERIS, William P., Phillip M. KELLY, Lorenzo MORELLI a J. Kevin COLLINS, 1998. Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic *Lactobacillus* Species. *Journal of Food Protection* [online]. **61**(12), 1636-1643 [cit. 2025-01-30]. ISSN 0362028X. Dostupné z: doi:10.4315/0362-028X-61.12.1636

CHAVEZ, Mariannys, Sharon VISCARDI, María José RUIZ, Eulàlia SANS-SERRAMITJANA a Paola DURÁN, 2024. CLI: A new protocol for the isolation of Lactic Acid Bacteria from complex plant samples. *Journal of Microbiological Methods* [online]. **221**, 1 [cit. 2024-09-12]. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2024.106937

CHEN, Qiqi, Ren SA, Junwei JIA a Rihua XU, 2017. Research on Biofilm Formation Ability of Lactic Acid Bacteria under Different Conditions. *Advance Journal of Food Science and Technology* [online]. 2017-02-25, **13**(2), 77-82 [cit. 2025-03-22]. ISSN 20424868. Dostupné z: doi:10.19026/ajfst.13.3769

CHEN, Wei, 2019. *Lactic Acid Bacteria* [online]. Springer [cit. 2025-04-27]. ISBN 978-981-13-7832-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-13-7832-4

IBRAHEIM, Hanaa Khaleel, Khadeeja S. MADHI, Gaida K. BAQER a Hasanain A. J. GHARBAN, 2023. Effectiveness of raw bacteriocin produced from lactic acid bacteria on biofilm of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Veterinary World* [online]. **16**, 491-499 [cit. 2024-07-24]. ISSN 09728988. Dostupné z: doi:10.14202/vetworld.2023.491-499

ICER, Mehmet Arif, Sena ÖZBAY, Duygu AĞAGÜNDÜZ, Bayram KELLE, Elena BARTKIENE, João Miguel F. ROCHA a Fatih OZOGUL, 2023. The Impacts of Acidophilic Lactic Acid Bacteria on Food and Human Health: A Review of the Current Knowledge. *Foods* [online]. **12**(15), 1-30 [cit. 2024-09-02]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods12152965

ISKANDAR, Christelle F., Catherine CAILLIEZ-GRIMAL, Frédéric BORGES a Anne-Marie REVOL-JUNELLES, 2019. Review of lactose and galactose metabolism in Lactic Acid Bacteria dedicated to expert genomic annotation. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **88**, 121-132 [cit. 2024-07-26]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2019.03.020

IULIETTO, Maria F., Paola SECHI, Elena BORGOGNI a Beniamino T. CENCI-GOGA, 2016. Meat Spoilage: A Critical Review of a Neglected Alteration Due to Ropy Slime Producing Bacteria. *Italian Journal of Animal Science* [online]. 2016-02-17, **14**(3), 1-12 [cit. 2024-11-30]. ISSN 1828-051X. Dostupné z: doi:10.4081/ijas.2015.4011

JAIMEE, G. a P. M. HALAMI, 2016. Emerging resistance to aminoglycosides in lactic acid bacteria of food origin—an impending menace. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **100**, 1137-1151 [cit. 2025-02-02]. Dostupné z: DOI 10.1007/s00253-015-7184-y

JASIAK, Kinga a Daniel AMUND, 2022. Are spontaneously fermented plant-based foods potential sources of transferable antibiotic resistance genes? *Food Frontiers* [online]. **3**(1), 46-55 [cit. 2024-12-22]. ISSN 2643-8429. Dostupné z: doi:10.1002/fft2.123

JEON, Hye Hee, Kyung Hyun KIM, Byung Hee CHUN, Byung Hee RYU, Nam Soo HAN a Che Ok JEON, 2017. A proposal of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *jonggajibkimchii* subsp. nov. and reclassification of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *suionicum* (Gu et al., 2012) as *Leuconostoc suionicum* sp. nov. based on complete genome sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2017-07-01, **67**(7), 2225-2230 [cit. 2024-12-26]. ISSN 1466-5026. Dostupné z: doi:10.1099/ijsem.0.001930

JIAN, Zonghui, Li ZENG, Taojie XU, et al., 2021. Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control. *Journal of Basic Microbiology* [online]. **61**(12), 1049-1070 [cit. 2025-04-04]. ISSN 0233-111X. Dostupné z: doi:10.1002/jobm.202100201

JOHANSEN, Pernille a Lene JESPERSEN, 2017. Impact of quorum sensing on the quality of fermented foods. *Current Opinion in Food Science* [online]. **13**, 16-25 [cit. 2024-09-21]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2017.01.001

JONASSON, Emma, Erika MATUSCHEK a Gunnar KAHLMEISTER, 2020. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2020-04-01, **75**(4), 968-978 [cit. 2025-02-19]. ISSN 0305-7453. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkz548

JUNG, Mi-Ja, Juseok KIM, Se Hee LEE, Tae Woong WHON, Hojun SUNG, Jin-Woo BAE, Yoon-E. CHOI a Seong Woon ROH, 2022. Role of combined lactic acid bacteria in bacterial, viral, and metabolite dynamics during fermentation of vegetable food, kimchi. *Food Research International* [online]. **157**, 1-11 [cit. 2024-09-03]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2022.111261

KAPROU, Georgia D., Ieva BERGŠPICA, Elena A. ALEXA, Avelino ALVAREZ-ORDÓÑEZ a Miguel PRIETO, 2021. Rapid Methods for Antimicrobial Resistance Diagnostics. *Antibiotics* [online]. **10**(2), 1-30 [cit. 2025-02-18]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics10020209

KAVITAKE, Digambar, Palanisamy Bruntha DEVI, Cedric DELATTRE, G. Bhanuprakash REDDY a Prathap Kumar Halady SHETTY, 2023. Exopolysaccharides produced by *Enterococcus* genus — An overview. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **226**, 111-120 [cit. 2024-09-22]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.12.042

KETTLEWELL, Riannah, Charlotte JONES, Timothy W. FELTON, Mato LAGATOR a Danna R. GIFFORD, 2024. Insights into durability against resistance from the antibiotic nitrofurantoin. *Npj Antimicrobials and Resistance* [online]. **2**(1), 1-6 [cit. 2025-03-06]. ISSN 2731-8745. Dostupné z: doi:10.1038/s44259-024-00056-1

KEULEYAN, Eléna, Aline BONIFACIE, Thierry SAYD, et al., 2022. In vitro digestion of nitrite and nitrate preserved fermented sausages – New understandings of nitroso-compounds' chemical reactivity in the digestive tract. *Food Chemistry: X* [online]. **16**, 1 [cit. 2024-09-18]. ISSN 25901575. Dostupné z: doi:10.1016/j.fochx.2022.100474

KHAN, Ayesha, William R. MILLER, Dierdre AXELL-HOUSE, Jose M. MUNITA, Cesar A. ARIAS a Romney M. HUMPHRIES, 2022. Antimicrobial Susceptibility Testing for *Enterococci*. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2022-09-21, **60**(9), e00843-21 [cit. 2025-01-31]. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/jcm.00843-21

KHAN, Zeeshan A., Mohd F. SIDDIQUI a Seungkyung PARK, 2019. Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics* [online]. **9**(2), 1-17 [cit. 2025-02-20]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics9020049

KIELISZEK, Marek, Katarzyna POBIEGA, Kamil PIWOWAREK a Anna M. KOT, 2021. Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules* [online]. **26**(7), 1-15 [cit. 2024-08-20]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26071858

KIM, Dahye, Kyung DONG LEE a Ki CHOON CHOI, 2021. Role of LAB in silage fermentation: Effect on nutritional quality and organic acid production—An overview. *AIMS Agriculture and Food* [online]. **6**(1), 216-234 [cit. 2024-09-18]. ISSN 2471-2086. Dostupné z: doi:10.3934/agrfood.2021014

KITAHARA, Kakuo a Jiro SUZUKI, 1963. SPOROLACTOBACILLUS NOV. SUBGEN. *The Journal of General and Applied Microbiology* [online]. **9**(1), 59-71 [cit. 2025-01-24]. ISSN 1349-8037. Dostupné z: doi:10.2323/jgam.9.59

KO, Hye In, So-Rim KIM, Ju Young LIM, Chae-Rim JEONG, Jong-Bang EUN a Tae-Woon KIM, 2024. Evaluation of growth behavior of lactic acid bacteria isolated from kimchi via kinetic modeling. *LWT* [online]. **204**, 1-11 [cit. 2025-01-01]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2024.116463

KOCHAN, Kamila, Elizabeth LAI, Zack RICHARDSON, Cara NETHERCOTT, Anton Y. PELEG, Philip HERAUD a Bayden R. WOOD, 2020. Vibrational Spectroscopy as a Sensitive Probe for the Chemistry of Intra-Phase Bacterial Growth. *Sensors* [online]. **20**(12), 1-13 [cit. 2025-01-26]. ISSN 1424-8220. Dostupné z: doi:10.3390/s20123452

KÖNIG, Helmut a Jürgen FRÖHLICH, 2017. Lactic Acid Bacteria. *SpringerLink* [online]. [cit. 2024-08-02]. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-60021-5_1

KOWALSKA-KROCHMAL, Beata a Ruth DUDEK-WICHER, 2021. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* [online]. **10**(2), 1-21 [cit. 2025-02-21]. ISSN 2076-0817. Dostupné z: doi:10.3390/pathogens10020165

KRAGH, Kasper Nørskov, Maria ALHEDE, Lasse KVICH a Thomas BJARNSHOLT, 2019. Into the well—A close look at the complex structures of a microtiter biofilm and the crystal violet assay. *Biofilm* [online]. **1**, 1-9 [cit. 2025-02-15]. ISSN 25902075. Dostupné z: doi:10.1016/j.biofilm.2019.100006

KROCKEL, Lothar, 2013. The Role of Lactic Acid Bacteria in Safety and Flavour Development of Meat and Meat Products. In: KONGO, J. Marcelino, ed. *Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes* [online]. InTech, s. 129-152 [cit. 2024-11-30]. ISBN 978-953-51-0955-6. Dostupné z: doi:10.5772/51117

KUBOTA, Hiromi, Shouko SENDA, Hajime TOKUDA, Hiroo UCHIYAMA a Nobuhiko NOMURA, 2009. Stress resistance of biofilm and planktonic *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* JCM 1149. *Food Microbiology* [online]. **26**(6), 592-597 [cit. 2024-10-19]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2009.04.001

KUBOTA, Hiromi, Shouko SENDA, Nobuhiko NOMURA, Hajime TOKUDA a Hiroo UCHIYAMA, 2008. Biofilm Formation by Lactic Acid Bacteria and Resistance to Environmental Stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. **106**(4), 381-386 [cit. 2024-08-30]. ISSN 13891723. Dostupné z: doi:10.1263/jbb.106.381

KUMAR, Sanjeet, Kanika BANSAL a Santosh KUMAR SETHI, 2022. Comparative genomics analysis of genus *Leuconostoc* resolves its taxonomy and elucidates its biotechnological importance. *Food Microbiology* [online]. **106**, 1-11 [cit. 2024-08-21]. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2022.104039

LAMONT, John R., Olivia WILKINS, Margaret BYWATER-EKEGÄRD a Donald L. SMITH, 2017. From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant

production. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **111**, 1-9 [cit. 2024-08-14]. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2017.03.015

LANDETA, G., J.A. CURIEL, A.V. CARRASCOSA, R. MUÑOZ a B. DE LAS RIVAS, 2013. Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. *Meat Science* [online]. **95**(2), 272-280 [cit. 2024-09-20]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2013.05.019

LARANJO, Marta, Miguel ELIAS a Maria João FRAQUEZA, 2017. The Use of Starter Cultures in Traditional Meat Products. *Journal of Food Quality* [online]. **2017**, 1-18 [cit. 2024-11-18]. ISSN 0146-9428. Dostupné z: doi:10.1155/2017/9546026

LEBEER, Sarah, Tine L. A. VERHOEVEN, Mónica PEREA VÉLEZ, Jos VANDERLEYDEN a Sigrid C. J. DE KEERSMAECKER, 2007. Impact of Environmental and Genetic Factors on Biofilm Formation by the Probiotic Strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **73**(21), 6768-6775 [cit. 2025-03-18]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.01393-07

LEEUEWENDAAL, Natasha K., Catherine STANTON, Paul W. O'TOOLE a Tom P. BERESFORD, 2022. Fermented Foods, Health and the Gut Microbiome. *Nutrients* [online]. **14**(7), 1-26 [cit. 2024-12-22]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu14071527

LERNER, Aaron, Torsten MATTHIAS a Rustam AMINOV, 2017. Potential Effects of Horizontal Gene Exchange in the Human Gut. *Frontiers in Immunology* [online]. 2017-11-27, **8**, 1-14 [cit. 2024-09-15]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2017.01630

LESANI, Shima Sadat, Mohammad SOLEIMANI, Pegah SHAKIB a Mohammad Reza ZOLFAGHARI, 2020. Prevalence of blaCTX-M, blaSHV, and blaTEM Genes in *Escherichia coli* Strains Isolated From Urinary Tract Infection Samples of Patients in the Intensive Care Unit in Qom, Iran. *Gene, Cell and Tissue* [online]. 2020-05-26, **7**(2), 1-5 [cit. 2025-01-30]. ISSN 2345-6833. Dostupné z: doi:10.5812/gct.102700

LI, Pan, Sha LI, Lili CHENG a Lixin LUO, 2014. Analyzing the relation between the microbial diversity of DaQu and the turbidity spoilage of traditional Chinese vinegar. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **98**(13), 6073-6084 [cit. 2024-12-01]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-014-5697-4

LI, Ting, Da TENG, Ruoyu MAO, Ya HAO, Xiumin WANG a Jianhua WANG, 2020. A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food Research International* [online]. **136**(10), 1-16 [cit. 2024-08-05]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.109571

LI, Weicheng, Qiong WU, Lai-yu KWOK, Heping ZHANG, Renyou GAN a Zhihong SUN, 2024. Population and functional genomics of lactic acid bacteria, an important group of food microorganism: Current knowledge, challenges, and perspectives. *Food Frontiers* [online]. **5**(1), 3-23 [cit. 2024-08-27]. ISSN 2643-8429. Dostupné z: doi:10.1002/fft2.321

LIU, Xiaoli, Huaiying YAO, Xihong ZHAO a Chaorong GE, 2023. Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. *Molecules* [online]. **28**(6), 1-19 [cit. 2025-02-11]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28062432

LÜCKE, Friedrich-Karl, 2000. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science* [online]. **56**(2), 105-115 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00029-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00029-2)

LYHS, Ulrike a Johanna K. BJÖRKROTH, 2008. Lactobacillus sakei/curvatus is the prevailing lactic acid bacterium group in spoiled maatjes herring. *Food Microbiology* [online]. **25**(3), 529-533 [cit. 2024-11-09]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2007.11.007

M'HAMED, Amina Cheikh, Karima NCIB, Abderrahmen MERGHNI, et al., 2023. Characterization of Probiotic Properties of Lacticaseibacillus paracasei L2 Isolated from a Traditional Fermented Food "Lben." *Life* [online]. **13**(1), 1-17 [cit. 2025-03-19]. ISSN 2075-1729. Dostupné z: doi:10.3390/life13010021

MAALAND, Marit Gaastra, Mark G. PAPICH, John TURNIDGE a Luca GUARDABASSI, 2013. Pharmacodynamics of Doxycycline and Tetracycline against Staphylococcus pseudintermedius: Proposal of Canine-Specific Breakpoints for Doxycycline. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **51**(11), 3547-3554 [cit. 2025-01-31]. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.01498-13

MAGANA, Maria, Christina SERETI, Anastasios IOANNIDIS, et al., 2018. Options and Limitations in Clinical Investigation of Bacterial Biofilms. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. **31**(3), e00084-16 [cit. 2025-02-17]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00084-16

MAGNUSSON, Jesper a Johan SCHNÜRER, 2001. Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis Strain Si3 Produces a Broad-Spectrum Proteinaceous Antifungal Compound. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **67**(1), 1-5 [cit. 2025-01-26]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.67.1.1-5.2001

MANCINI, Stefano, Elias BODENDOERFER, Natalia KOLENSNIK-GOLDMANN, Sebastian HERREN, Kim RÖTHLIN, Patrice COURVALIN a Erik C BÖTTGER, 2020. Evaluation of standardized automated rapid antimicrobial susceptibility testing of Enterobacterales-containing blood cultures: a proof-of-principle study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2020-11-01, **75**(11), 3218-3229 [cit. 2025-02-19]. ISSN 0305-7453. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkaa336

MANCUSO, Giuseppe, Angelina MIDIRI, Elisabetta GERACE a Carmelo BIONDO, 2021. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens* [online]. **10**(10), 3 [cit. 2024-09-15]. ISSN 2076-0817. Dostupné z: doi:10.3390/pathogens10101310

MANDAL, Sucheta a Narayan Chandra MANDAL, 2023. Formulation of food grade Limosilactobacillus fermentum for antifungal properties isolated from home-made curd. *Scientific Reports* [online]. **13**(1), 1-19 [cit. 2025-02-13]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-023-45487-4

MANI-LÓPEZ, Emma, Daniela ARRIJOJA-BRETÓN a Aurelio LÓPEZ-MALO, 2022. The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **21**(1), 604-641 [cit. 2024-08-06]. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12872

MARCEAU, Anika, Monique ZAGOREC a Marie-Christine CHAMPOMIER-VERGÈS, 2003. Positive effects of growth at suboptimal temperature and high salt concentration on long-term survival of *Lactobacillus sakei*. *Research in Microbiology* [online]. **154**(1), 37-42 [cit. 2025-02-07]. ISSN 09232508. Dostupné z: doi:10.1016/S0923-2508(02)00010-4

MARCELLI, Valerio, Andrea OSIMANI a Lucia AQUILANTI, 2024. Research progress in the use of lactic acid bacteria as natural biopreservatives against *Pseudomonas* spp. in meat and meat products: A review. *Food Research International* [online]. **196**, 1-11 [cit. 2024-11-09]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2024.115129

MATARAGAS, M., J. METAXOPOULOS, M. GALIOTOU a E.H. DROSINOS, 2003. Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Science* [online]. **64**(3), 265-271 [cit. 2025-01-01]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/S0309-1740(02)00188-2

MATEJČEKOVÁ, Zuzana, Denisa LIPTÁKOVÁ, Sabína SPODNIÁKOVÁ a Ľubomír VALÍK, 2016. Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca* [online]. 2016-10-1, **9**(2), 104-108 [cit. 2025-01-01]. ISSN 1337-978X. Dostupné z: doi:10.1515/acs-2016-0018

MATEJČEKOVÁ, Zuzana, Sabína SPODNIÁKOVÁ, Elena DUJMIĆ, Denisa LIPTÁKOVÁ a Ľubomír VALÍK, 2019. Modelling growth of *Lactobacillus plantarum* as a function of temperature: Effects of media. *Journal of Food and Nutrition Research* [online]. **58**(2), 125-134 [cit. 2025-02-06]. ISSN 1336-8672. Dostupné z: ResearchGate

MATHUR, Shalini a Rameshwar SINGH, 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **105**(3), 281-295 [cit. 2024-07-27]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008

MATUSCHEK, E., D. F. J. BROWN a G. KAHLMETER, 2014. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. **20**(4), O255-O257 [cit. 2025-04-11]. Dostupné z: doi:10.1111/1469-0691.12373

MAUGERI, Gaetano, Iana LYCHKO, Rita SOBRAL a Ana C. A. ROQUE, 2019. Identification and Antibiotic-Susceptibility Profiling of Infectious Bacterial Agents: A Review of Current and Future Trends. *Biotechnology Journal* [online]. **14**(1), 1-18 [cit. 2025-02-23]. ISSN 1860-6768. Dostupné z: doi:10.1002/biot.201700750

MAYRHOFER, Sigrid, Konrad J. DOMIG, Christiane MAIR, Ulrike ZITZ, Geert HUYS a Wolfgang KNEIFEL, 2008. Comparison of Broth Microdilution, Etest, and Agar Disk Diffusion Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Lactobacillus acidophilus* Group Members. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2008-06-15, **74**(12), 3745-3748 [cit. 2025-02-01]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.02849-07

MCLEOD, Anette, O. Ludvig NYQUIST, Lars SNIPEN, Kristine NATERSTAD a Lars AXELSSON, 2008. Diversity of *Lactobacillus sakei* strains investigated by phenotypic and genotypic methods. *Systematic and Applied Microbiology* [online]. **31**(5), 393-403 [cit. 2025-02-07]. ISSN 07232020. Dostupné z: doi:10.1016/j.syapm.2008.06.002

MELO, Poliana de Castro, Luciano Menezes FERREIRA, Antônio NADER FILHO, Luiz Francisco ZAFALON, Hinig Isa Godoy VICENTE a Viviane de SOUZA, 2013. Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. **44**(1), 119-124 [cit. 2025-02-15]. ISSN 1517-8382. Dostupné z: doi:10.1590/S1517-83822013005000031

MELO, Tauá Alves, Thalys Ferreira DOS SANTOS, Lennon Ramos PEREIRA, Hêlic Moreira PASSOS, Rachel Passos REZENDE a Carla Cristina ROMANO, 2017. Functional Profile Evaluation of *Lactobacillus fermentum* TCUESC01: A New Potential Probiotic Strain Isolated during Cocoa Fermentation. *BioMed Research International* [online]. **2017**, 1-7 [cit. 2025-01-30]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2017/5165916

MGOMI, Fedrick C., Yi-ran YANG, Gen CHENG a Zhen-quan YANG, 2023. Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms. *Biofilm* [online]. **5**, 1-12 [cit. 2024-08-11]. ISSN 25902075. Dostupné z: doi:10.1016/j.biofilm.2023.100118

MILANI, Giovanni, Giulia TABANELLI, Federica BARBIERI, et al., 2024. Technological traits and mitigation activity of autochthonous lactic acid bacteria from mediterranean fermented meat-products. *LWT* [online]. **196**, 1-10 [cit. 2024-09-19]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2024.115861

MILLER, Esther R., Patrick J. KEARNS, Brittany A. NICCUM, Jonah O'Mara SCHWARTZ, Alexa ORNSTEIN a Benjamin E. WOLFE, 2019. Establishment Limitation Constrains the Abundance of Lactic Acid Bacteria in the Napa Cabbage Phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **85**(13), 1-18 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.00269-19 19 4 498

MIRA, Portia, Pamela YEH, Barry G. HALL a Abdelwahab OMRI, 2022. Estimating microbial population data from optical density. *PLOS ONE* [online]. 2022-10-13, **17**(10), 1-8 [cit. 2025-02-05]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0276040

MIRANDA, Carla, Diogo CONTENTE, Gilberto IGREJAS, Sandra P. A. CÂMARA, Maria de Lurdes Enes DAPKEVICIUS a Patrícia POETA, 2021. Role of Exposure to Lactic Acid Bacteria from Foods of Animal Origin in Human Health. *Foods* [online]. **10**(9) [cit. 2024-11-13]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods10092092

MOKOENA, Mduduzi Paul, 2017. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules* [online]. **22**(8), 1-13 [cit. 2024-08-08]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22081255

MOGHIMI, Bahare, Maryam GHOBADI DANA a Reza SHAPOURI, 2021. *Investigation of Some Antibiotic Resistance Genes of Indigenous Lactobacilli Isolated From Traditional*

Yogurt In Zanjan Province of Iran [online]. [cit. 2025-04-27]. Dostupné z: 10.21203/rs.3rs-612605/v1

MONTANARI, Chiara, Federica BARBIERI, Michael MAGNANI, Luigi GRAZIA, Fausto GARDINI a Giulia TABANELLI, 2018. Phenotypic Diversity of *Lactobacillus sakei* Strains. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2018-8-28, **9**, 1-13 [cit. 2024-08-16]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.02003

MORA-VILLALOBOS, José Aníbal, Jéssica MONTERO-ZAMORA, Natalia BARBOZA, et al., 2020. Multi-Product Lactic Acid Bacteria Fermentations: A Review. *Fermentation* [online]. **6**(1), 1-21 [cit. 2024-08-10]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation6010023

MUCK, Richard, 2013. Recent advances in silage microbiology. *Agricultural and Food Science* [online]. 2013-03-27, **22**(1), 3-15 [cit. 2024-09-18]. ISSN 1795-1895. Dostupné z: doi:10.23986/afsci.6718

MULOIWA, Mpho, Stephen NYENDE-BYAKIKA a Megersa DINKA, 2020. Comparison of unstructured kinetic bacterial growth models. *South African Journal of Chemical Engineering* [online]. **33**, 141-150 [cit. 2025-01-26]. ISSN 10269185. Dostupné z: doi:10.1016/j.sajce.2020.07.006

MURUZOVIĆ, Mirjana Ž., Katarina G. MLADENOVIĆ a Ljiljana R. ČOMIĆ, 2018. In vitro evaluation of resistance to environmental stress by planktonic and biofilm form of lactic acid bacteria isolated from traditionally made cheese from Serbia. *Food Bioscience* [online]. **23**, 54-59 [cit. 2025-02-13]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2018.03.005

MYTILINAIOS, I., M. SALIH, H.K. SCHOFIELD a R.J.W. LAMBERT, 2012. Growth curve prediction from optical density data. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **154**(3), 169-176 [cit. 2025-02-05]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.035

NAHLE, Sahar, André EL KHOURY, Jean Claude ASSAF, Nicolas LOUKA, Ali CHOKR a Ali ATOUI, 2022. A promising innovative technique for mycotoxin detoxification from beverages using biofilms of lactic acid bacteria. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [online]. **82**, 1-7 [cit. 2024-09-19]. ISSN 14668564. Dostupné z: doi:10.1016/j.ifset.2022.103165

NANDY, Subir Kumar a K. V. VENKATESH, 2014. Study of CFU for individual microorganisms in mixed cultures with a known ratio using MBRT. *AMB Express* [online]. **4**(38), 1-7 [cit. 2025-02-05]. Dostupné z: doi:10.1186/s13568-014-0038-7

NEVILLE, B. Anne, Brian M. FORDE, Marcus J. CLAEISSON, et al., 2012. Characterization of Pro-Inflammatory Flagellin Proteins Produced by *Lactobacillus ruminis* and Related Motile Lactobacilli. *PLoS ONE* [online]. 2012-7-10, **7**(7), 1-12 [cit. 2024-10-20]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0040592

NG, Ho-Yu, Wai K. LEUNG a Ka-Shing CHEUNG, 2023. Antibiotic Resistance, Susceptibility Testing and Stewardship in *Helicobacter pylori* Infection. *International*

Journal of Molecular Sciences [online]. **24**(14), 1-33 [cit. 2025-02-23]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms241411708

NWACHUKWU, Ujunwa, Uzoamaka GEORGE-OKAFOR, Uloma OZOANI a Nnenna OJIAGU, 2019. Assessment of probiotic potentials of *Lactobacillus plantarum* CS and *Micrococcus luteus* CS from fermented milled corn-soybean waste-meal. *Scientific African* [online]. **6**, 1-8 [cit. 2025-02-06]. ISSN 24682276. Dostupné z: doi:10.1016/j.sciaf.2019.e00183

OJHA, Anup Kumar, Nagendra Prasad SHAH, Vijendra MISHRA, Neela EMANUEL a Neetu Kumra TANEJA, 2023. Prevalence of antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from traditional fermented Indian food products. *Food Science and Biotechnology* [online]. **32**(14), 2131-2143 [cit. 2025-03-07]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-023-01305-1

OKOYE, Charles Obinwanne, Yongli WANG, Lu GAO, Yanfang WU, Xia LI, Jianzhong SUN a Jianxiong JIANG, 2023. The performance of lactic acid bacteria in silage production: A review of modern biotechnology for silage improvement. *Microbiological Research* [online]. **266**, 1-21 [cit. 2024-09-18]. ISSN 09445013. Dostupné z: doi:10.1016/j.micres.2022.127212

OLIVARES, Elodie, Stéphanie BADEL-BERCHOUX, Christian PROVOT, Benoît JAULHAC, Gilles PRÉVOST, Thierry BERNARDI, François JEHL a R. PATEL, 2016. The BioFilm Ring Test: a Rapid Method for Routine Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation Kinetics. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **54**(3), 657-661 [cit. 2025-02-16]. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.02938-15

OSAILI, Tareq M., Fayeza HASAN, Anas A. AL-NABULSI, Amin N. OLAIMAT, Mutamed AYYASH, Reyad S. OBAID a Richard HOLLEY, 2023. A worldwide review of illness outbreaks involving mixed salads/dressings and factors influencing product safety and shelf life. *Food Microbiology* [online]. **112**, 1-14 [cit. 2024-12-01]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2023.104238

OULAHAL, Nadia, Wilfried BRICE, Adèle MARTIAL a Pascal DEGRAEVE, 2008. Quantitative analysis of survival of *Staphylococcus aureus* or *Listeria innocua* on two types of surfaces: Polypropylene and stainless steel in contact with three different dairy products. *Food Control* [online]. **19**(2), 178-185 [cit. 2025-03-23]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2007.03.006

OUYANG, Bowei, Cong YANG, Ziyue LV, Baowei CHEN, Lei TONG a Jianbo SHI, 2024. Recent advances in environmental antibiotic resistance genes detection and research focus: From genes to ecosystems. *Environment International* [online]. **191**, 1-13 [cit. 2025-02-23]. ISSN 01604120. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2024.108989

PAKROO, Shadi, Armin TARRAH, Rohit TAKUR, Manyu WU, Viviana CORICH a Alessio GIACOMINI, 2022. *Limosilactobacillus fermentum* ING8, a Potential Multifunctional Non-Starter Strain with Relevant Technological Properties and Antimicrobial Activity. *Foods* [online]. **11**(5), 1-13 [cit. 2025-02-12]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11050703

PALLADINI, Giorgia, Chiara GARBARINO, Andrea LUPPI, Simone RUSSO, Anita FILIPPI, Norma ARRIGONI, Elisa MASSELLA a Matteo RICCHI, 2023. Comparison between broth microdilution and agar disk diffusion methods for antimicrobial susceptibility testing of bovine mastitis pathogens. *Journal of Microbiological Methods* [online]. **212**, 1-7 [cit. 2025-02-01]. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2023.106796

PANG, Huili, Guangyong QIN, Zhongfang TAN, Zongwei LI, Yanping WANG a Yimin CAI, 2011. Natural populations of lactic acid bacteria associated with silage fermentation as determined by phenotype, 16S ribosomal RNA and recA gene analysis. *Systematic and Applied Microbiology* [online]. **34**(3), 235-241 [cit. 2024-09-18]. ISSN 07232020. Dostupné z: doi:10.1016/j.syapm.2010.10.003

PAPADIMITRIOU, Konstantinos, Ángel ALEGRÍA, Peter A. BRON, et al., 2016. Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. **80**(3), 837-890 [cit. 2025-01-23]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.00076-15

PAPAGIANNI, Maria a Sofia ANASTASIADOU, 2009. Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories* [online]. **8**(1), 1-16 [cit. 2025-02-07]. ISSN 1475-2859. Dostupné z: doi:10.1186/1475-2859-8-3

PARENTE, Eugenio, Teresa ZOTTA, Marilisa GIAVALISCO a Annamaria RICCIARDI, 2023. Metataxonomic insights in the distribution of Lactobacillaceae in foods and food environments. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **391-393**, 1-10 [cit. 2024-08-21]. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110124

PARIZA, Michael W., Kevin O. GILLIES, Sarah F. KRAAK-RIPPLE, Gregory LEYER a Amy B. SMITH, 2015. Determining the safety of microbial cultures for consumption by humans and animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. **73**(1), 164-171 [cit. 2024-09-08]. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1016/j.yrtph.2015.07.003

PENG, Kaidi, Mohamed KOUBAA, Olivier BALS a Eugène VOROBIEV, 2020. Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: A review. *Food Research International* [online]. **137**, 1-17 [cit. 2024-09-01]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.109544

PFEILER, Erika A. a Todd R. KLAENHAMMER, 2007. The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in Microbiology* [online]. **15**(12), 546-553 [cit. 2024-07-31]. ISSN 0966842X. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2007.09.010

PINA, Miguel, Pedro GASPAR a Tânia LIMA, 2021. Decision Support System in Dynamic Pricing of Horticultural Products Based on the Quality Decline Due to Bacterial Growth. *Applied System Innovation* [online]. **4**(4), 1-19 [cit. 2025-02-11]. ISSN 2571-5577. Dostupné z: doi:10.3390/asi4040080

PLAVEC, Tina Vida a Aleš BERLEC, 2020. Safety Aspects of Genetically Modified Lactic Acid Bacteria. *Microorganisms* [online]. **8**(2), 1-21 [cit. 2024-12-01]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8020297

PLENGVIDHYA, Vethachai, Fredrick BREIDT JR., Zhongjing LU a Henry PLENGVIDHYA, 2007. DNA Fingerprinting of Lactic Acid Bacteria in Sauerkraut Fermentations. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **73**(23), 7697 - 7702 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.01342-07

PLEVA, Pavel, Lucie BARTOŠOVÁ, Daniela MÁČALOVÁ, Ludmila ZÁLEŠÁKOVÁ, Jana SEDLAŘÍKOVÁ a Magda JANALÍKOVÁ, 2022. Biofilm Formation Reduction by Eugenol and Thymol on Biodegradable Food Packaging Material. *Foods* [online]. **11**(1), 1-14 [cit. 2025-03-29]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11010002

POPOVA-KRUMOVA, Petya, Svetla DANOVA, Nikoleta ATANASOVA a Dragomir YANKOV, 2024. Lactic Acid Production by *Lactiplantibacillus plantarum* AC 11S—Kinetics and Modeling. *Microorganisms* [online]. **12**(4), 1-18 [cit. 2025-01-23]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms12040739

POTHAKOS, Vasileios, Frank DEVLIEGHERE, Francesco VILLANI, Johanna BJÖRKROTH a Danilo ERCOLINI, 2015. Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat Science* [online]. **109**, 66-74 [cit. 2024-11-13]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2015.04.014

PRETE, Roberta, Mohammad Khairul ALAM, Giorgia PERPETUINI, Carlo PERLA, Paola PITTIA a Aldo CORSETTI, 2021. Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Producers: A Sustainable Tool for Functional Foods. *Foods* [online]. **10**(7), 1-26 [cit. 2024-08-30]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods10071653

PRICE, Claire E., Araz ZEYNIYEV, Oscar P. KUIPERS a Jan KOK, 2012. From meadows to milk to mucosa – adaptation of *Streptococcus* and *Lactococcus* species to their nutritional environments. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2012-09-01, **36**(5), 949-971 [cit. 2024-10-06]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00323.x

PRIHANTO, Asep A., Nada Itorul UMAM a Jessica D.G. BANGUN, 2024. Unveiling the Secrets of Indonesian fermented Fish: Characteristics of lactic acid bacteria, roles, and potential in product development. *Food Bioscience* [online]. **61**, 8 [cit. 2024-09-16]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2024.104629

QIAO, Nanzhen, Stijn WITTOUCK, Paola MATTARELLI, Jinshui ZHENG, Sarah LEBEER, Giovanna E. FELIS a Michael G. GÄNZLE, 2022. After the storm—Perspectives on the taxonomy of *Lactobacillaceae*. *JDS Communications* [online]. **3**(3), 222-227 [cit. 2024-08-03]. ISSN 26669102. Dostupné z: doi:10.3168/jdsc.2021-0183

RAHMAN, Md. Mijanur, Salma AKTAR, Mohammad Omar FARUK, Mohammad Sharif UDDIN, Jannatul FERDOUSE a Md. Nural ANWAR, 2018. Probiotic Potentiality of *Lactobacillus coryniformis* subsp. *Torquens* MTi1 and *Lactobacillus coryniformis* MTi2 Isolated from Intestine of Nile Tilapia: An In vitro Evaluation. *Journal of Pure and Applied Microbiology* [online]. 2018-09-30, **12**(3), 1037-1045 [cit. 2025-03-09]. ISSN 09737510. Dostupné z: doi:10.22207/JPAM.12.3.01

RAIMONDI, Stefano, Francesco CANDELIERE, Alberto AMARETTI, Stefania COSTA, Silvia VERTUANI, Gloria SPAMPINATO a Maddalena ROSSI, 2022. Phylogenomic

analysis of the genus *Leuconostoc*. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2022-7-25, **13**, 1 [cit. 2025-04-05]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2022.897656

RAMAN, Jegadeesh, Jeong-Seon KIM, Kyeong Rok CHOI, Hyunmin EUN, Dongsoo YANG, Young-Joon KO a Soo-Jin KIM, 2022. Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Sustainable Agriculture: Advantages and Limitations. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **23**(14), 1-22 [cit. 2024-08-28]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23147784

RATIB, Nicole R., Fabian SEIDL, Ian M. EHRENREICH, Steven E. FINKEL a Jimmy D. BALLARD, 2021. Evolution in Long-Term Stationary-Phase Batch Culture: Emergence of Divergent *Escherichia coli* Lineages over 1,200 Days. *MBio* [online]. 2021-02-23, **12**(1), e03337-20 [cit. 2025-01-27]. ISSN 2161-2129. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.03337-20

REZAEI, Zeinab, Amir SALARI, Saeid KHANZADI, Jong-Whan RHIM a Ehsan SHAMLOO, 2023. Preparation of milk-based probiotic lactic acid bacteria biofilms: A new generation of probiotics. *Food Science & Nutrition* [online]. **11**(6), 2915-2924 [cit. 2025-02-15]. ISSN 2048-7177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.3273

REZAEI, Zeinab, Saeid KHANZADI a Amir SALARI, 2021. Biofilm formation and antagonistic activity of *Lactocaseibacillus rhamnosus* (PTCC1712) and *Lactiplantibacillus plantarum* (PTCC1745). *AMB Express* [online]. **11**(1), 1-7 [cit. 2025-03-22]. ISSN 2191-0855. Dostupné z: doi:10.1186/s13568-021-01320-7

RIEDL, Robert, Nicole DÜNZER, Maximilian MICHEL, Fritz JACOB a Mathias HUTZLER, 2019. Beer enemy number one *Lactobacillus brevis*: genetic diversity, physiology and biofilm formation of *Lactobacillus brevis*. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **125**(2), 250-260 [cit. 2025-02-15]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/jib.553

RIVERA, Alba, Belén VIÑADO, Natividad BENITO, et al., 2023. Recommendations of the Spanish Antibiogram Committee (COESANT) for in vitro susceptibility testing of antimicrobial agents by disk diffusion. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)* [online]. **41**(9), 571-576 [cit. 2025-02-19]. ISSN 2529993X. Dostupné z: doi:10.1016/j.eimce.2022.12.009

RODRÍGUEZ, Héctor, José Antonio CURIEL, José María LANDETE, Blanca DE LAS RIVAS, Félix LÓPEZ DE FELIPE, Carmen GÓMEZ-COROVÉS, José Miguel MANCHEÑO a Rosario MUÑOZ, 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **132**(2-3), 79-90 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.025

RODRÍGUEZ-SAAVEDRA, Magaly, Dolores GONZÁLEZ DE LLANO a M. Victoria MORENO-ARRIBAS, 2020. Beer spoilage lactic acid bacteria from craft brewery microbiota: Microbiological quality and food safety. *Food Research International* [online]. **138**, 1-9 [cit. 2024-10-16]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.109762

RODRÍGUEZ-ALONSO, P., C. FERNÁNDEZ-OTERO, J.A. CENTENO a J.I. GARABAL, 2009. Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria and Micrococcaceae / Staphylococcaceae Isolates from Artisanal Raw Milk Cheeses, and Potential Implications

on Cheese Making. *Journal of Food Science* [online]. **74**(6), M284-M293 [cit. 2025-03-10]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01217.x

ROGERS, Ariel, Kaitlin BULLARD, Akash DOD a Yong WANG, 2022. Bacterial Growth Curve Measurements with a Multimode Microplate Reader. *BIO-PROTOCOL* [online]. **12**(9), 1-8 [cit. 2025-01-01]. ISSN 2331-8325. Dostupné z: doi:10.21769/BioProtoc.4410

ROKON-UZ-ZAMAN, Md., Anica BUSHRA, Tanjida Akter POSPO, Monika Akter RUNA, Sadia TASNUVA, Mst. Sonia PARVIN a Md. Taohidul ISLAM, 2023. Detection of antimicrobial resistance genes in *Lactobacillus* spp. from poultry probiotic products and their horizontal transfer among *Escherichia coli*. *Veterinary and Animal Science* [online]. **20**, 1-7 [cit. 2025-03-09]. ISSN 2451943X. Dostupné z: doi:10.1016/j.vas.2023.100292

ROLFE, Matthew D., Christopher J. RICE, Sacha LUCCHINI, et al., 2012. Lag Phase Is a Distinct Growth Phase That Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulation. *Journal of Bacteriology* [online]. **194**(3), 686-701 [cit. 2025-01-01]. ISSN 0021-9193. Dostupné z: doi:10.1128/JB.06112-11

ROMBOUTS, Julius Laurens, Elsemiek Madeleine Maria KLANENDONK, Alberte REGUEIRA, David Gregory WEISSBRODT, Robbert KLEEREBEZEM a Mark Cornelis Maria VAN LOOSDRECHT, 2020. Selecting for lactic acid producing and utilising bacteria in anaerobic enrichment cultures. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. **117**(5), 1281-1293 [cit. 2024-12-01]. ISSN 0006-3592. Dostupné z: doi:10.1002/bit.27301

ROZMAN, Vita, Petra MOHAR LORBEG, Tomaž ACCETTO a Bojana BOGOVIČ MATIJAŠIĆ, 2020. Characterization of antimicrobial resistance in lactobacilli and bifidobacteria used as probiotics or starter cultures based on integration of phenotypic and in silico data. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **314**, 1-11 [cit. 2025-03-09]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108388

RTS-1, RTS-1C Personal bioreactor User instructions, 2023. *Biosan* [online]. [cit. 2025-04-11]. Dostupné z: <https://biosan.lv/products/rts-1c-real-time-cell-growth-logger-2/>

RZEPKOWSKA, Anna, Dorota ZIELIŃSKA, Aleksandra OŁDAK a Danuta KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, 2017. Safety assessment and antimicrobial properties of the lactic acid bacteria strains isolated from polish raw fermented meat products. *International Journal of Food Properties* [online]. **20**(11), 2736-2747 [cit. 2024-09-17]. ISSN 10942912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2016.1250098

SALAM, Md. Abdus, Md. Yusuf AL-AMIN, Jogendra Singh PAWAR, Naseem AKHTER a Irine Banu LUCY, 2023. Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi Journal of Biological Sciences* [online]. **30**(3), 1-15 [cit. 2025-02-20]. ISSN 1319562X. Dostupné z: doi:10.1016/j.sjbs.2023.103582

SALMINEN, M. K., H. RAUTELIN, S. TYNKKYNNEN, T. POUSSA, M. SAXELIN, V. VALTONEN a A. JARVINEN, 2006. *Lactobacillus* Bacteremia, Species Identification, and Antimicrobial Susceptibility of 85 Blood Isolates. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2006-03-01, **42**(5), e35-e44 [cit. 2025-04-21]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/500214

SALMINEN, Seppo a Atte VON WRIGHT, ed., 2004. *Lactic Acid Bacteria* [online]. 3rd. CRC Press [cit. 2024-08-24]. ISBN 9780824752033. Dostupné z: doi:10.1201/9780824752033

SALVETTI, Elisa, Ilenia CAMPEDELLI, Ilaria LARINI, Giada CONEDERA a Sandra TORRIANI, 2021. Exploring Antibiotic Resistance Diversity in *Leuconostoc* spp. by a Genome-Based Approach: Focus on the *IsaA* Gene. *Microorganisms* [online]. **9**(3), 1-17 [cit. 2025-03-08]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms9030491

SAMELIS, John, Athanasia KAKOURI a John REMENTZIS, 2000. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. *Food Microbiology* [online]. **17**(3), 329-340 [cit. 2024-11-13]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1006/fmic.1999.0316

SELIM, Samy, 2021. Mechanisms of gram-positive vancomycin resistance (Review). *Biomedical Reports* [online]. 2021-11-26, **16**(1), 1-6 [cit. 2025-02-02]. ISSN 2049-9434. Dostupné z: doi:10.3892/br.2021.1490

SHAHALI, Ali, Rasool SOLTANI a Vajihe AKBARI, 2023. Probiotic *Lactobacillus* and the potential risk of spreading antibiotic resistance: a systematic review. *Research in Pharmaceutical Sciences* [online]. **18**(5), 468-477 [cit. 2025-02-02]. ISSN 1735-5362. Dostupné z: doi:10.4103/1735-5362.383703

SHARMA, Ayushi, Nidhi TYAGI a Rahul SHRIVASTAVA, 2023. Optimization of protocol for quantification of biofilm formed by pathogenic rapidly-growing nontuberculous mycobacteria for diagnostic screening. In: *Biofilms* [online]. Elsevier, s. 67-99 [cit. 2025-02-16]. Methods in Microbiology. ISBN 9780323988339. Dostupné z: doi:10.1016/bs.mim.2023.05.003

SHARMA, Poonam, Sudhir Kumar TOMAR, Vikas SANGWAN, Pawas GOSWAMI a Rameshwar SINGH, 2016. Antibiotic Resistance of *Lactobacillus* sp. Isolated from Commercial Probiotic Preparations. *Journal of Food Safety* [online]. **36**(1), 38-51 [cit. 2025-03-11]. ISSN 0149-6085. Dostupné z: doi:10.1111/jfs.12211

SHIN, Eunju, Jennifer Jaemin PAEK a Yeonhee LEE, 2023. Antimicrobial Resistance of Seventy Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial Probiotics in Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology* [online]. 2023-04-28, **33**(4), 500-510 [cit. 2025-02-01]. ISSN 1017-7825. Dostupné z: doi:10.4014/jmb.2210.10041

SCHROETER, Joel a Todd KLAENHAMMER, 2009. Genomics of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* [online]. **292**(1), 1-6 [cit. 2024-09-14]. ISSN 03781097. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01442.x

SCHOUG, Åsa, Janett FISCHER, Hermann J. HEIPIEPER, Johan SCHNÜRER a Sebastian HÅKANSSON, 2008. Impact of fermentation pH and temperature on freeze-drying survival and membrane lipid composition of *Lactobacillus coryniformis* Si3. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* [online]. **35**(3), 175-181 [cit. 2025-03-15]. ISSN 1367-5435. Dostupné z: doi:10.1007/s10295-007-0281-x

SINGH, AshishKumar, Pradyot PRAKASH, Arvind ACHRA, GyanPrakash SINGH, Arghya DAS a RakeshKumar SINGH, 2017. Standardization and classification of In vitro biofilm formation by clinical isolates of Staphylococcus aureus. *Journal of Global Infectious Diseases* [online]. **9**(3), 95 [cit. 2025-04-22]. ISSN 0974-777X. Dostupné z: doi:10.4103/jgid.jgid_91_16

SINGH, Davinder, Yashika SHARMA, Divya DHEER a Ravi SHANKAR, 2024. Stimuli responsiveness of recent biomacromolecular systems (concept to market): A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **261**, 1-28 [cit. 2025-03-14]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.129901

SINGHAL, Lipika, Varsha GUPTA, Menal GUPTA, Poonam GOEL a Jagdish CHANDER, 2020. Identification and Sensitivity of Vaginal and Probiotic Lactobacillus species to Urinary Antibiotics. *Journal of Laboratory Physicians* [online]. 2020-09-01, **12**(02), 111-114 [cit. 2025-03-06]. ISSN 0974-2727. Dostupné z: doi:10.1055/s-0040-1716604

SIONEK, Barbara, Aleksandra SZYDŁOWSKA, Monika TRZĄSKOWSKA a Danuta KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, 2024. The Impact of Physicochemical Conditions on Lactic Acid Bacteria Survival in Food Products. *Fermentation* [online]. **10**(6), 1-17 [cit. 2025-01-11]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation10060298

ŚLIŻEWSKA, Katarzyna a Agnieszka CHLEBICZ-WÓJCIK, 2020. Growth Kinetics of Probiotic Lactobacillus Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium. *Biology* [online]. **9**(12), 1-13 [cit. 2025-01-28]. ISSN 2079-7737. Dostupné z: doi:10.3390/biology9120423

SOMERS, E.B., M.E. JOHNSON a A.C.L. WONG, 2001. Biofilm Formation and Contamination of Cheese by Nonstarter Lactic Acid Bacteria in The Dairy Environment. *Journal of Dairy Science* [online]. **84**(9), 1926-1936 [cit. 2024-10-20]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74634-6

SONG, Hyun-Jung, Kang-Jin KIM, Hee-Dai KIM, Jung-Hee YOO, Jae-Geun KOO a Kwon-Sam PARK, 2011. Probiotic Properties of Pediococcus pentosaceus SH-10 Isolated from the Hard Clam Meretrix meretrix Shikhae. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* [online]. 2011-12-30, **44**(6), 605-611 [cit. 2025-03-22]. ISSN 0374-8111. Dostupné z: doi:10.5657/KFAS.2011.0605

SPERANZA, Barbara, Arcangelo LISO a Maria Rosaria CORBO, 2018. Use of design of experiments to optimize the production of microbial probiotic biofilms. *PeerJ* [online]. **6**, 1-23 [cit. 2024-09-21]. ISSN 2167-8359. Dostupné z: doi:10.7717/peerj.4826

SPERANZA, Barbara, Arcangelo LISO, Vincenzo RUSSO a Maria Rosaria CORBO, 2020. Evaluation of the Potential of Biofilm Formation of Bifidobacterium longum subsp. infantis and Lactobacillus reuteri as Competitive Biocontrol Agents Against Pathogenic and Food Spoilage Bacteria. *Microorganisms* [online]. **8**(2), 1-14 [cit. 2024-08-30]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8020177

SPERANZA, Barbara, Milena SINIGAGLIA a Maria Rosaria CORBO, 2009. Non starter lactic acid bacteria biofilms: A means to control the growth of Listeria monocytogenes in

soft cheese. *Food Control* [online]. **20**(11), 1063-1067 [cit. 2024-09-21]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2009.01.006

STAVROPOULOU, Despoina Angeliki, Panagiota FILIPPOU, Stefaan DE SMET, Luc DE VUYST a Frédéric LEROY, 2018. Effect of temperature and pH on the community dynamics of coagulase-negative staphylococci during spontaneous meat fermentation in a model system. *Food Microbiology* [online]. **76**, 180-188 [cit. 2024-09-19]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2018.05.006

STEFAŃSKA, Ilona, Ewelina KWIECIEŃ, Katarzyna JÓŹWIAK-PIASECKA, Monika GARBOWSKA, Marian BINEK a Magdalena RZEWUSKA, 2021. Antimicrobial Susceptibility of Lactic Acid Bacteria Strains of Potential Use as Feed Additives - The Basic Safety and Usefulness Criterion. *Frontiers in Veterinary Science* [online]. 2021-7-1, **8**, 1-11 [cit. 2024-12-19]. ISSN 2297-1769. Dostupné z: doi:10.3389/fvets.2021.687071

STEPANOVIĆ, Srdjan, Dragana VUKOVIĆ, Ivana DAKIĆ, Branislava SAVIĆ a Milena ŠVABIĆ-VLAHOVIĆ, 2000. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods* [online]. **40**(2), 175-179 [cit. 2025-05-12]. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/S0167-7012(00)00122-6

STEVENSON, Keiran, Alexander F. MCVEY, Ivan B. N. CLARK, Peter S. SWAIN a Teuta PILIZOTA, 2016. General calibration of microbial growth in microplate readers. *Scientific Reports* [online]. 2016-12-23, **6**(1), 1-7 [cit. 2025-02-05]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep38828

SUKMARINI, Linda, Apon Zaenal MUSTOPA, Maridha NORMAWATI a Ikrimah MUZDALIFAH, 2014. Identification of Antibiotic-Resistance Genes from Lactic Acid Bacteria in Indonesian Fermented Foods. *HAYATI Journal of Biosciences* [online]. **21**(3), 144-150 [cit. 2025-03-16]. ISSN 19783019. Dostupné z: doi:10.4308/hjb.21.3.144

SUN, Linlin, Yu ZHANG, Xiaojie GUO, Lidong ZHANG, Wei ZHANG, Chaoxin MAN a Yujun JIANG, 2020. Characterization and transcriptomic basis of biofilm formation by *Lactobacillus plantarum* J26 isolated from traditional fermented dairy products. *LWT* [online]. **125**, 1-19 [cit. 2025-03-21]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2020.109333

SUO, Biao, Xinyi CHEN a Yuexia WANG, 2021. Recent research advances of lactic acid bacteria in sourdough: origin, diversity, and function. *Current Opinion in Food Science* [online]. **37**, 66-75 [cit. 2024-11-09]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2020.09.007

SUZUKI, Koji, 2011. 125th Anniversary Review: Microbiological Instability of Beer Caused by Spoilage Bacteria. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. **117**(2), 131-155 [cit. 2024-08-09]. ISSN 00469750. Dostupné z: doi:10.1002/j.2050-0416.2011.tb00454.x

SZERMER-OLEARNIK, Bożena, Marta SOCHOCKA, Katarzyna ZWOLIŃSKA, Jarosław CIEKOT, Anna CZARNY, Joanna SZYDZIK, Konrad KOWALSKI a Janusz BORATYŃSKI, 2014. Comparison of microbiological and physicochemical methods for enumeration of microorganisms. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* [online].

2014-1-2, **68**, 1392-1396 [cit. 2025-02-06]. ISSN 1732-2693. Dostupné z: doi:10.5604/17322693.1130086

TAMANG, Jyoti P., Koichi WATANABE a Wilhelm H. HOLZAPFEL, 2016. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2016-03-24, **7**(3), 1-28 [cit. 2024-09-04]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.00377

TATSAPORN, Todhanakasem a Ketbumrung KORNKANOK, 2020. Using Potential Lactic Acid Bacteria Biofilms and their Compounds to Control Biofilms of Foodborne Pathogens. *Biotechnology Reports* [online]. **26**, 1-8 [cit. 2024-08-30]. ISSN 2215017X. Dostupné z: doi:10.1016/j.btre.2020.e00477

TEMMERMAN, R., B. POT, G. HUYS a J. SWINGS, 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **81**(1), 1-10 [cit. 2025-03-10]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(02)00162-9

TERPOU, Antonia, Aikaterini PAPADAKI, Iliada LAPPA, Vasiliki KACHRIMANIDOU, Loulouda BOSNEA a Nikolaos KOPSAHELIS, 2019. Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients* [online]. **11**(7), 1-32 [cit. 2025-01-11]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu11071591

TEUSINK, Bas a Douwe MOLENAAR, 2017. Systems biology of lactic acid bacteria: For food and thought. *Current Opinion in Systems Biology* [online]. **6**, 7-13 [cit. 2024-07-28]. ISSN 24523100. Dostupné z: doi:10.1016/j.coisb.2017.07.005

TLAIS, Ali Zein Alabiden, Wilson José FERNANDES LEMOS JUNIOR, Pasquale FILANNINO, Stefano CAMPANARO, Marco GOBBETTI a Raffaella DI CAGNO, 2022. How Microbiome Composition Correlates with Biochemical Changes during Sauerkraut Fermentation: a Focus on Neglected Bacterial Players and Functionalities. *Microbiology Spectrum* [online]. **10**(4), 1-18 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: doi:10.1128/spectrum.00168-22

TODOROV, Svetoslav Dimitrov, Clarizza MAY DIOSO, Min-Tze LIONG, Luis Augusto NERO, Kianoush KHOSRAVI-DARANI a Iskra Vitanova IVANOVA, 2023. Beneficial features of pediococcus: from starter cultures and inhibitory activities to probiotic benefits. *World J Microbiol Biotechnol* [online]. **39**(4), 1-20 [cit. 2025-01-23]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1007/s11274-022-03419-w

TOOMEY, Niamh, Áine MONAGHAN, Séamus FANNING a Declan J. BOLTON, 2009a. Assessment of Antimicrobial Resistance Transfer Between Lactic Acid Bacteria and Potential Foodborne Pathogens Using In Vitro Methods and Mating in a Food Matrix. *Foodborne Pathogens and Disease* [online]. **6**(8), 925-933 [cit. 2025-04-27]. ISSN 1535-3141. Dostupné z: doi:10.1089/fpd.2009.0278

TOOMEY, Niamh, Áine MONAGHAN, Séamus FANNING a Declan J. BOLTON, 2009b. Assessment of horizontal gene transfer in Lactic acid bacteria – A comparison of mating techniques with a view to optimising conjugation conditions. *Journal of Microbiological*

Methods [online]. **77**(1), 23-28 [cit. 2024-09-15]. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2008.12.002

TOOMEY, Niamh, Declan BOLTON a Séamus FANNING, 2010. Characterisation and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs. *Research in Microbiology* [online]. **161**(2), 127-135 [cit. 2025-04-27]. ISSN 09232508. Dostupné z: doi:10.1016/j.resmic.2009.12.010

TU, Huabin, Guanyu ZHOU, Jianjun LU, et al., 2024. Cooperative interaction between *Pediococcus* and *Bacillus* communities as a key factor in the high-temperature Thermal differentiation of *Daqu*. *Food Bioscience* [online]. **62**, 1-12 [cit. 2025-01-23]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2024.105457

URCAN, Adriana Cristina, Adriana Dalila CRISTE, Otilia BOBIȘ, Mihaiela CORNEA-CIPCIGAN, Alexandru-Ioan GIURGIU a Daniel Severus DEZMIREAN, 2024. Evaluation of Functional Properties of Some Lactic Acid Bacteria Strains for Probiotic Applications in Apiculture. *Microorganisms* [online]. **12**(6), 1-23 [cit. 2025-02-15]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms12061249

VAN DEN NIEUWBOER, Maurits, Saskia VAN HEMERT, Eric CLAASSEN a Willem M. DE VOS, 2016. *Lactobacillus plantarum* WCFS 1 and its host interaction: a dozen years after the genome. *Microbial Biotechnology* [online]. **9**(4), 452-465 [cit. 2025-03-18]. ISSN 1751-7915. Dostupné z: doi:10.1111/1751-7915.12368

VAN PIJKEREN, Jan-Peter a Robert A. BRITTON, 2012. High efficiency recombineering in lactic acid bacteria. *Nucleic Acids Research* [online]. 2012-05-01, **40**(10), 1-13 [cit. 2025-02-02]. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gks147

VAN RECKEM, Emiel, Wim GEERAERTS, Christina CHARMPI, David VAN DER VEKEN, Luc DE VUYST a Frédéric LEROY, 2019. Exploring the Link Between the Geographical Origin of European Fermented Foods and the Diversity of Their Bacterial Communities: The Case of Fermented Meats. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2019-10-9, **10**, 2 [cit. 2024-09-19]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2019.02302

VÁZQUEZ-LASLOP, Nora a Alexander S. MANKIN, 2018. How Macrolide Antibiotics Work. *Trends in Biochemical Sciences* [online]. **43**(9), 668-684 [cit. 2025-03-08]. ISSN 09680004. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibs.2018.06.011

VERMEIREN, L., F. DEVLIEGHERE a J. DEBEVERE, 2004. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **96**(2), 149-164 [cit. 2024-11-13]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.016

VILLARREAL, Luis Alberto, Victor LADERO, Agustina SARQUIS, Beatriz MARTINEZ, Beatriz DEL RIO a Miguel A. ALVAREZ, 2024. Bacteriocins against biogenic amine-accumulating lactic acid bacteria in cheese: Nisin A shows the broadest antimicrobial spectrum and prevents the formation of biofilms. *Journal of Dairy Science* [online]. **107**(7), 4277-4287 [cit. 2024-09-23]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2023-24358

WAITE, Joy G., Joseph M. JONES a Ahmed E. YOUSEF, 2009. Isolation and identification of spoilage microorganisms using food-based media combined with rDNA sequencing: Ranch dressing as a model food. *Food Microbiology* [online]. **26**(3), 235-239 [cit. 2024-12-01]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2009.01.001

WANG, Anyi a Qixin ZHONG, 2024. Drying of probiotics to enhance the viability during preparation, storage, food application, and digestion: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **23**(1), 1-30 [cit. 2025-01-11]. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.13287

WANG, Hue-Yu, Ching-Feng WEN, Yu-Hsien CHIU, I-Nong LEE, Hao-Yun KAO, I-Chen LEE, Wen-Hsien HO a Hans A. KESTLER, 2013. Leuconostoc Mesenteroides Growth in Food Products: Prediction and Sensitivity Analysis by Adaptive-Network-Based Fuzzy Inference Systems. *PLoS ONE* [online]. 2013-5-21, **8**(5), 1-16 [cit. 2024-12-26]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0064995

WANG, Kaidi, Hongwei ZHANG, Jinsong FENG, Luyao MA, César de la FUENTE-NÚÑEZ, Shuo WANG a Xiaonan LU, 2019. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dairy products in Tianjin, China. *Journal of Agriculture and Food Research* [online]. **1**, 1-5 [cit. 2025-01-31]. ISSN 26661543. Dostupné z: doi:10.1016/j.jafr.2019.100006

WANG, Liyun, Daming FAN, Wei CHEN a Eugene M. TERENTJEV, 2015. Bacterial growth, detachment and cell size control on polyethylene terephthalate surfaces. *Scientific Reports* [online]. 2015-12-07, **5**(1), 1-11 [cit. 2025-01-01]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep15159

WANG, Yaqi, Jiangtao WU, Mengxin LV, et al., 2021. Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. 2021-5-12, **9**(5), 1-19 [cit. 2024-09-01]. ISSN 2296-4185. Dostupné z: doi:10.3389/fbioe.2021.612285

WANG, Yingyu, Chenhao ZHANG, Fengsong LIU, Zhengyu JIN a Xiaole XIA, 2023. Ecological succession and functional characteristics of lactic acid bacteria in traditional fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2023-08-29, **63**(22), 5841-5855 [cit. 2024-11-13]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2021.2025035

WAŚKO, Adam, Katarzyna SKRZYPCZAK, Magdalena POLAK-BERECKA a Adam KUZDRAŁIŃSKI, 2012. Genetic mechanisms of variation in erythromycin resistance in *Lactobacillus rhamnosus* strains. *The Journal of Antibiotics* [online]. **65**(11), 583-586 [cit. 2025-03-08]. ISSN 0021-8820. Dostupné z: doi:10.1038/ja.2012.73

WILSON, Christina, Rachel LUKOWICZ, Stefan MERCHANT, et al., 2017. Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Res Rev J Eng Technol* [online]. **6**(4), 1-42 [cit. 2025-02-16]. Dostupné z: <http://www.rroj.com/open-access/quantitative-and-qualitative-assessment-methods-for-biofilm-growth-a-minireview-.pdf>.

WITTOUCK, Stijn, Sander WUYTS, Sarah LEBEER a Johanna BJÖRKROTH, 2019. Towards a Genome-Based Reclassification of the Genus *Lactobacillus*. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **85**(3), e02155-18 [cit. 2024-08-15]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.02155-18

WOLFE, Benjamin E, 2023. Are fermented foods an overlooked reservoir of antimicrobial resistance? *Current Opinion in Food Science* [online]. **51**, 1-8 [cit. 2024-07-27]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2023.101018

WORAPRAYOTE, Weerapong, Yuwares MALILA, Supaluk SORAPUKDEE, Adisorn SWETWIWATHANA, Soottawat BENJAKUL a Wonnop VISESSANGUAN, 2016. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science* [online]. **120**, 118-132 [cit. 2024-11-09]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2016.04.004

WU, Chongde, Jun HUANG a Rongqing ZHOU, 2017. Genomics of lactic acid bacteria: Current status and potential applications. *Critical Reviews in Microbiology* [online]. **43**(4), 393-404 [cit. 2024-07-25]. ISSN 1040841X. Dostupné z: doi:10.1080/1040841X.2016.1179623

XIAO, Hang, Guillermo Eduardo SEDÓ MOLINA, Miguel TOVAR, Ha MINH QUOC, Egon Bech HANSEN a Claus Heiner BANG-BERTHELSEN, 2024. Isolation and characterization of plant-based lactic acid bacteria from spontaneously fermented foods using a new modified medium. *LWT* [online]. **192**, 9 [cit. 2024-09-17]. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115695

XU, Buqing, Ting MI, Shiyuan MA, Xiawei YI, Ping HUANG, Pan HUANG a Chongde WU, 2024. Insight into the autochthonous lactic acid bacteria as starter culture for improving the quality of Sichuan radish paocai: Changes in microbial diversity and metabolic profiles. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **425**, 1-12 [cit. 2024-09-04]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110877

XU, Xiaoqing, Yu QIAO, Qing PENG a Bo SHI, 2023. Probiotic Properties of *Loigolactobacillus coryniformis* NA-3 and In Vitro Comparative Evaluation of Live and Heat-Killed Cells for Antioxidant, Anticancer and Immunoregulatory Activities. *Foods* [online]. **12**(5), 1-18 [cit. 2025-03-15]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods12051118

YAKOBI, Sinethemba H. a Uchechukwu U. NWODO, 2025. Microbiological methodologies: Comparative evaluation of microbial community and enhanced antibiotic susceptibility testing. *Electronic Journal of Biotechnology* [online]. 1-34 [cit. 2025-02-19]. ISSN 07173458. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejbt.2025.01.001

YAMIN, Dina, Vuk USKOKOVIĆ, Abubakar WAKIL, et al., 2023. Current and Future Technologies for the Detection of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Diagnostics* [online]. **13**(20), 1-43 [cit. 2025-02-23]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics13203246

YANG, Chao a Tao YU, 2019. Characterization and transfer of antimicrobial resistance in lactic acid bacteria from fermented dairy products in China. *The Journal of Infection in*

Developing Countries [online]. 2019-02-28, **13**(02), 137-148 [cit. 2025-04-27]. ISSN 1972-2680. Dostupné z: doi:10.3855/jidc.10765

YANG, Shanshan, Xinyu HU, Weihe CANG, Shuaiqi JI, Rina WU a Junrui WU, 2024. Biofilm-based probiotic delivery system and its application in the food industry. *Food Bioscience* [online]. **62**, 1-13 [cit. 2024-10-06]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2024.105172

YANG, Xiaozhe, Wenzhong HU, Zhilong XIU, et al., 2020. Comparison of northeast sauerkraut fermentation between single lactic acid bacteria strains and traditional fermentation. *Food Research International* [online]. **137**, 1-12 [cit. 2024-11-13]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.109553

YAO, Peilin, Effarizah MOHD ESAH a Chuanping ZHAO, 2025. Regulatory mechanisms and applications of *Lactobacillus* biofilms in the food industry. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2025-1-7, **15**, 3-4 [cit. 2025-04-21]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2024.1465373

YETIMAN, Ahmet E., Abdullah KESKIN, Büşra Nur DARENDELI, Seyfullah Enes KOTIL, Fatih ORTAKCI a Mahmut DOGAN, 2022. Characterization of genomic, physiological, and probiotic features *Lactiplantibacillus plantarum* DY46 strain isolated from traditional lactic acid fermented shalgam beverage. *Food Bioscience* [online]. **46**, 1-13 [cit. 2025-02-06]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.101499

YILMAZ, Nurten, Yesim OZOGUL, Elif COŞKUN DAĞGEÇEN, İsmail AKYOL, Nikheel BHOJRAJ RATHOD, Vijay Kumar REDDY SURASANI a Fatih OZOGUL, 2025. Isolation, characterization and antibiotic resistance of lactic acid bacteria from dairy and seafood sources. *Food Bioscience* [online]. **64**, 1-11 [cit. 2025-02-02]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2025.105895

YITBAREK, Melkamu Bezabih a Birhan TAMIR, 2014. Silage Additives: Review. *Open Journal of Applied Sciences* [online]. **04**(05), 258-274 [cit. 2024-09-18]. ISSN 2165-3917. Dostupné z: doi:10.4236/ojapps.2014.45026

YOST, Chris K a Frances M NATTRESS, 2002. Molecular typing techniques to characterize the development of a lactic acid bacteria community on vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **72**(1-2), 97-105 [cit. 2024-12-01]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(01)00623-7

ZAGOREC, Monique a Marie-Christine CHAMPOMIER-VERGÈS, 2017. *Lactobacillus sakei*: A Starter for Sausage Fermentation, a Protective Culture for Meat Products. *Microorganisms* [online]. **5**(3), 1-13 [cit. 2025-02-07]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms5030056

ZANNINI, Emanuele, Deborah M. WATERS, Aidan COFFEY a Elke K. ARENDT, 2016. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **100**(3), 1121-1135 [cit. 2024-08-31]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-015-7172-2

ZANNINI, Emanuelle, Sara SANTARELLI, Andrea OSIMANI, Luana DE'AQUILA a Francesca CLEMENTI, 2005. Effect of process parametres on the production of lactic acid bacteria in batch fermentation. *Annals of Microbiology* [online]. **55**(4), 273-278 [cit. 2024-12-25]. Dostupné z: <https://iris.uniroma1.it/handle/11573/1660956#>

ZAPAŚNIK, Agnieszka, Barbara SOKOŁOWSKA a Marcin BRYŁA, 2022. Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods* [online]. **11**(9), 1-17 [cit. 2024-08-03]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: [doi:10.3390/foods11091283](https://doi.org/10.3390/foods11091283)

ZARZECKA, Urszula, Anna ZADERNOWSKA a Wioleta CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, 2020. Starter cultures as a reservoir of antibiotic resistant microorganisms. *LWT - Food Science* [online]. **127**, N.PAG [cit. 2024-07-29]. ISSN 00236438. Dostupné z: [doi:10.1016/j.lwt.2020.109424](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109424)

ZAVIŠIĆ, Gordana, Milka POPOVIĆ, Svetlana STOJKOV, Deana MEDIĆ, Vera GUSMAN, Nataša JOVANOVIĆ LJEŠKOVIĆ a Aleksandra JOVANOVIĆ GALOVIĆ, 2023. Antibiotic Resistance and Probiotics: Knowledge Gaps, Market Overview and Preliminary Screening. *Antibiotics* [online]. **12**(8), 1-15 [cit. 2024-08-25]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: [doi:10.3390/antibiotics12081281](https://doi.org/10.3390/antibiotics12081281)

ZDARTA, Agata a Ewa KACZOREK, 2023. Nanomechanical changes in probiotic bacteria under antibiotics exposure: Implications on Lactobacillus biofilm formation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* [online]. **1870**(7), 1-14 [cit. 2025-03-06]. ISSN 01674889. Dostupné z: [doi:10.1016/j.bbamcr.2023.119533](https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2023.119533)

ZHANG, Zhenting, Yanan LI, Jianguo ZHANG, Nan PENG, Yunxiang LIANG a Shumiao ZHAO, 2020. High-Titer Lactic Acid Production by *Pediococcus acidilactici* PA204 from Corn Stover through Fed-Batch Simultaneous Saccharification and Fermentation. *Microorganisms* [online]. **8**(10), 1-9 [cit. 2025-02-07]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: [doi:10.3390/microorganisms8101491](https://doi.org/10.3390/microorganisms8101491)

ZHAO, Muqier, Jian BAO, Zhijun WANG, Shuai DU, Cuiping GAO, Dinghan NAN, Xingquan YAN a Gentu GE, 2023. Evaluation of the fermentation performance and functional properties of bacterial communities of amaranth silage supplemented with *Limosilactobacillus fermentum* and *Latilactobacillus graminis*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* [online]. **10**(1), 1-16 [cit. 2025-01-24]. ISSN 2196-5641. Dostupné z: [doi:10.1186/s40538-023-00476-7](https://doi.org/10.1186/s40538-023-00476-7)

ZHAO, Shanshan, Jinzhu YUE, Yue WANG, Junhua SHAO, Zijing LI a Mohan LI, 2024. The regulation of volatile flavor compounds in fermented meat products mediated by microorganisms: A review. *Food Bioscience* [online]. **62**, 1-27 [cit. 2024-11-18]. ISSN 22124292. Dostupné z: [doi:10.1016/j.fbio.2024.105180](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105180)

ZHENG, Jinshui, Stijn WITTOUCK, Elisa SALVETTI, et al., 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2020-04-01, **70**(4), 2782-2858 [cit. 2024-08-13]. ISSN 1466-5026. Dostupné z: [doi:10.1099/ijsem.0.004107](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107)

ZHOU, Kang, Yi-ting ZENG, Xin-feng HAN a Shu-liang LIU, 2015. Modelling Growth and Bacteriocin Production by *Lactobacillus plantarum* BC-25 in Response to Temperature and pH in Batch Fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* [online]. **176**(6), 1627-1637 [cit. 2025-01-01]. ISSN 0273-2289. Dostupné z: doi:10.1007/s12010-015-1666-3

ZURERA-COSANO, G., R.M. GARCÍA-GIMENO, R. RODRÍGUEZ-PÉREZ a C. HERVÁS-MARTÍNEZ, 2006. Performance of response surface model for prediction of *Leuconostoc mesenteroides* growth parameters under different experimental conditions. *Food Control* [online]. **17**(6), 429-438 [cit. 2024-12-25]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2005.02.003

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Obecná růstová křivka a její základní fáze, upraveno podle (Pina et al., 2021)	34
Obrázek 2: Princip měření OD spočívající v rozptylu světelného paprsku, upraveno podle (Stevenson et al., 2016)	37
Obrázek 3: Fáze tvorby biofilmu, upraveno podle (Liu et al., 2023)	40
Obrázek 4: Cesty přenosu genů antibiotické rezistence, upraveno podle (Li et al., 2020)	46
Obrázek 5: postup izolace DNA, upraveno podle (DNeasy Blood and Tissue Kits for DNA Isolation, 2023)	65
Obrázek 6: Růstové křivky <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> CCM 1803	71
Obrázek 7: Růstové křivky <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> CCM 2085	72
Obrázek 8: Růstové křivky <i>Pediococcus acidilactici</i> CCM 4577	73
Obrázek 9: Růstové křivky <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> CCM 7052	74
Obrázek 10: Růstové křivky <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> CCM 7039	75
Obrázek 11: Růstové křivky <i>Latilactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> CCM 4302	76
Obrázek 12: Růstové křivky <i>Limosilactobacillus fermentum</i> CCM 7192	77
Obrázek 13: Růstové křivky <i>Loigolactobacillus coryniformis</i> CCM 4618	78
Obrázek 14: Růstové křivky <i>Sporolactobacillus inulinus</i> CCM 7124	79
Obrázek 15: Poměry rezistence a citlivosti k antibiotikům u testovaných kmenů BMK	86
Obrázek 16: Detekce genu <i>aadB</i> u testovaných kmenů BMK	87
Obrázek 17: Detekce genu <i>van</i> u testovaných BMK	88
Obrázek 18: Negativní detekce genu <i>tetL</i> u testovaných BMK	88

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Kmeny bakterií mléčného kvašení zkoumané v této práci	54
Tabulka 2: Použitá antibiotika (rozdělení antibiotik podle (Beneš, 2018))	56
Tabulka 3: Primery použité k detekci genů antibiotické rezistence.....	57
Tabulka 4: Parametry kultivace pro testování růstu při různých teplotách.....	59
Tabulka 5: Parametry kultivace <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	60
Tabulka 6: Prahové hodnoty průměru inhibiční zóny pro jednotlivá antibiotika	63
Tabulka 7: Složení PCR směsi pro amplifikaci genu jednoho vzorku DNA.....	66
Tabulka 8: Tepelný program pro PCR amplifikaci genů	67
Tabulka 9: Teploty kultivací s nejvyšším, nejnižším nárůstem a nejkratší lag fází.....	70
Tabulka 10: Tvorba biofilmu při kultivačních teplotách 30 °C a 37 °C	81
Tabulka 11: Tvorba biofilmu v závislosti na přídatku glukózy	82
Tabulka 12: Tvorba biofilmu v závislosti na přídatcích laktózy a NaCl	83
Tabulka 13: Antibiotická rezistence testovaných kmenů BMK (průměry inhibičních zón v mm a jejich vyhodnocení).....	85
Tabulka 14: Detekce genů antibiotické rezistence u zkoumaných kmenů	89

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	adenin
A ₅₉₅	absorbance
a _w	aktivita vody
AME	aminoglykosid-modifikující enzymy
BMK	bakterie mléčného kvašení
bp	párů bází
C	cytosin
CCM	Česká sbírka mikroorganismů
CFU	kolonie tvořící jednotka
CLSI	Institut pro klinické a laboratorní standardy
CRAB	karpabenem rezistentní <i>Acinetobacter baumannii</i>
CRISPR-Cas	klastry krátkých pravidelně rozmístěných palindromických repetice
CTMI	kardinální teplotní model s inflexí
CV	cutoff value (mezní hodnota)
dn	změna počtu buněk
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dt	změna času
<i>E.</i>	<i>Enterococcus</i>
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EPS	extracelulární polymerní látky
EUCAST	Evropský výbor pro testování antimikrobiální citlivosti
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv USA
FMV	fermentované masné výrobky
FISH	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
G	guanin

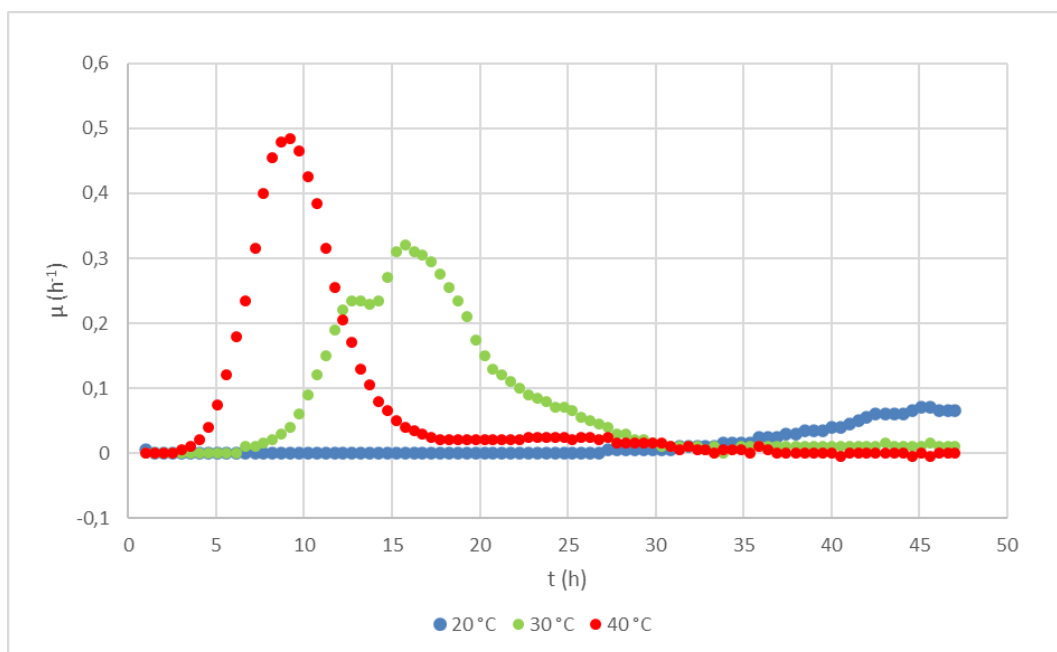
GRAS	všeobecně považován za bezpečný
GYP	médium s glukózou, kvasničným extraktem a peptonem
IS	inserční sekvence
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lac.</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Lc.</i>	<i>Lactocaseibacillus</i>
<i>Leuc.</i>	<i>Leuconostoc</i>
<i>Lg.</i>	<i>Loigolactobacillus</i>
<i>Lm.</i>	<i>Limosilactobacillus</i>
<i>Lp.</i>	<i>Lactiplantibacillus</i>
LPSN	Seznam názvů stávající nomenklatury prokaryot
<i>Lt.</i>	<i>Latilactobacillus</i>
<i>Lv.</i>	<i>Levilactobacillus</i>
M	mol/l
M17	růstové médium pro mléčné koky
Mbp	milion párů bází
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MLS	makrolid-linkosamid-streptogramin
MRS	De Man Rogosa Sharpe médium
MRSA	met icilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
mTSB	modifikovaný bujón se sójovým tryptonem
μ	specifická růstová rychlost
μn	součin specifické růstové rychlosti a počtu buněk
NIR	blízké infračervenému záření
OD	optická denzita
ot.	otáčky

P	pravděpodobnost
<i>P.</i>	<i>Pediococcus</i>
p. a.	čistota per analysis
PCR	polymerázová řetězová reakce
pH	potenciál vodíku
PTC	peptidyl transferázové centrum
qPCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce
QPS	kvalifikovaný předpoklad bezpečnosti
QS	quorum sensing
RNA	ribonukleová kyselina
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
RT-PCR	polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí
S	Svedbergova jednotka
<i>S.</i>	<i>Sporolactobacillus</i>
<i>Sc.</i>	<i>Streptococcus</i>
subsp.	poddruh
<i>Stp.</i>	<i>Staphylococcus</i>
t	čas
T	thymín
tRNA	transferová ribonukleová kyselina
UHT	ultra high temperature (ošetření ultra vysokou teplotou)
UV	ultrafialové záření
V	Volt
VRE	vankomycin rezistentní enterokoci

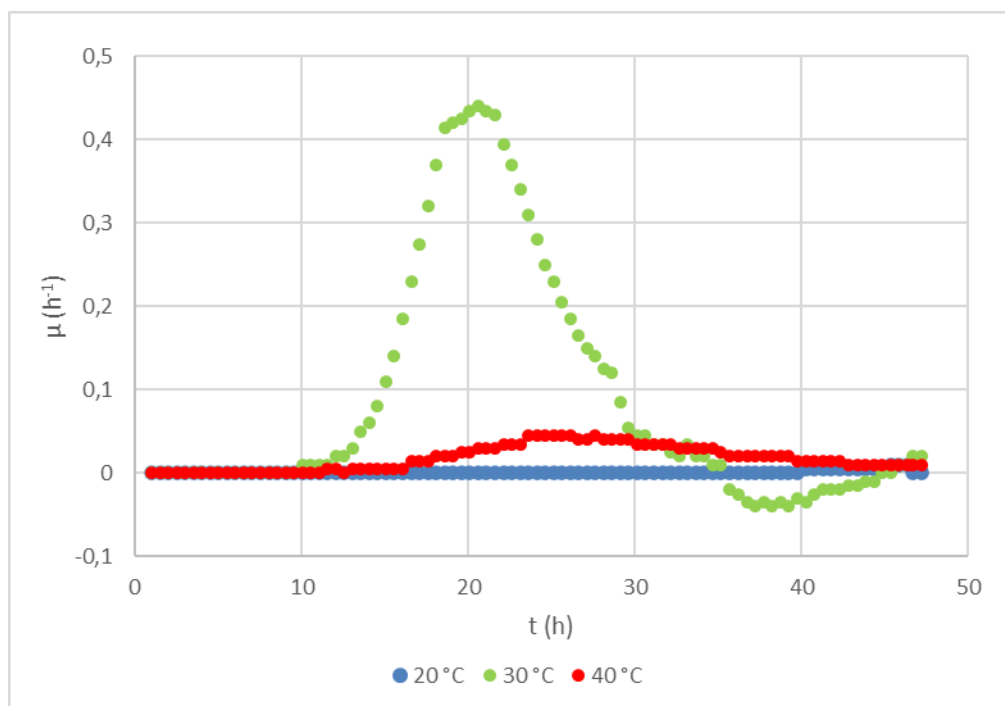
SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Specifická růstová rychlost

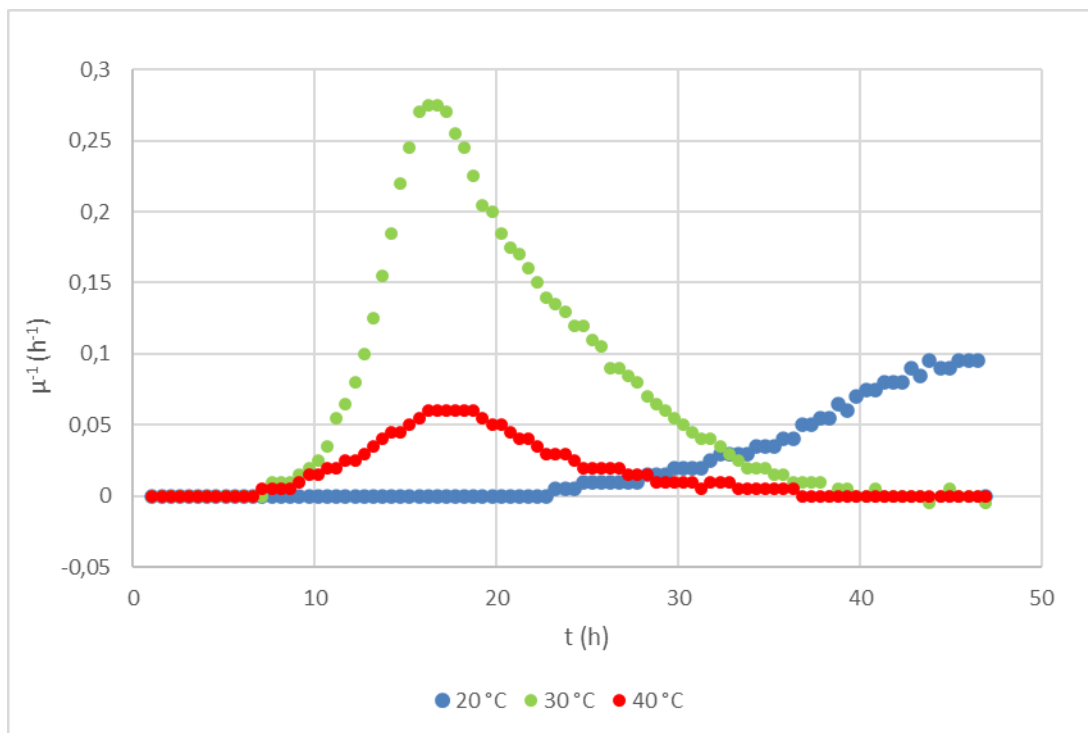
PŘÍLOHA P I: SPECIFICKÁ RŮSTOVÁ RYCHLOST



Obrázek 19: graf specifické růstové rychlosti *Pediococcus acidilactici* CCM 4577



Obrázek 20: graf specifické růstové rychlosti *Lactiplantibacillus plantarum* CCM 7039



Obrázek 21: graf specifické růstové rychlosti *Loigolactobacillus coryniformis* CCM 4618