

Molekulární typizace bakteriocinů produkovaných bakteriálními kmeny izolovanými z potravin

Bc. Kateřina Salvová

Diplomová práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Kateřina Salvová
Osobní číslo:	T23483
Studijní program:	N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Molekulární typizace bakteriocinů produkovaných bakteriálními kmeny izolovanými z potravin

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část:

Charakteristika bakteriocinů produkovaných mikroorganismy.

Významní producenti bakteriocinů.

Využití bakteriocinů v potravinářství.

II. Praktická část:

Posuďte antimikrobiální aktivitu potravinových izolátů.

Proveďte bakteriocinotypizaci u produkčních kmenů metodou PCR.

Zjištěná data vyhodnoťte, porovnejte s výstupy literární rešerše a zformulujte závěry práce.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Lacroix, Ch. *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*. 1st ed., Cambridge: Woodhead Publishing, 2011, 536 p., ISBN 978-0-85-709052-2.
- [2] Taylor, T. M. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*. 1st ed., Cambridge: Woodhead Publishing, 2015, 442 p., ISBN 978-1-78242-042-2.
- [3] Vědecké zdroje zahrnuté v databázích ScienceDirect, Web of Science, Scopus, Scifinder Scholar aj.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Khatantuul Purevdorj, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **1. ledna 2025**

Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 14. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení diplomové práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji diplomovou 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 – diplomovou 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 diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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 diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....

podpis autora

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zaměřuje na molekulární typizaci bakteriocinů produkovaných bakteriálními kmeny izolovanými z potravin, zejména bakteriemi mléčného kvašení (BMK) rodů *Lacticaseibacillus*, *Limosilactobacillus* a *Leuconostoc*. Teoretická část poskytuje přehled klasifikace bakteriocinů, jejich biosyntézy, mechanismů účinku, významných rodů produkujících bakteriociny a potenciálního využití jako biokonzervačních látek v potravinářství. Praktická část zahrnovala screening antimikrobiální aktivity 133 izolátů vůči třem indikátorovým mikroorganismům (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella aerogenes*) pomocí agar spot testu. Na základě výsledků antimikrobiální aktivity této práce a studie Novotného (2023) bylo vybráno 30 kmenů, které byly následně podrobeny molekulární analýze metodou PCR ke zjištění genů kódujících bakteriociny. U kmenů *Lacticaseibacillus* byly detekovány geny *lacA*, *lacB*, *acdA* a *bacSJ2-8*, zatímco u *Leuconostoc pseudomesenteroides* byly potvrzeny geny *mesB*, *lcck* a *B-tal1a*. Výsledky naznačují vysoký biokonzervační potenciál těchto kmenů a podporují jejich možné využití v potravinářském průmyslu.

Klíčová slova: antimikrobiální látky, bakteriociny, bakterie mléčného kvašení, PCR, molekulární typizace bakteriocinů

ABSTRACT

This diploma thesis focuses on the molecular typing of bacteriocins produced by bacterial strains isolated from food, specifically lactic acid bacteria of the genera *Lacticaseibacillus*, *Limosilactobacillus*, and *Leuconostoc*. The theoretical part provides an overview of bacteriocin classification, biosynthesis, modes of action, key bacteriocin-producing genera, and their potential application as natural biopreservatives in the food industry. The experimental part involved screening the antimicrobial activity of 133 isolates against three indicator microorganisms (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella aerogenes*) using the agar spot test. Based on these results and data from Novotný (2023), thirty strains were selected for molecular analysis by PCR to detect genes encoding bacteriocins. In *Lacticaseibacillus* strains, the genes *lacA*, *lacB*, *acdA*, and *bacSJ2-8* were identified, while *Leuconostoc pseudomesenteroides* strains carried the *mesB*, *lcck*, and *B-tall1a* genes. The results demonstrate the promising biopreservative potential of these strains and supporting their future application in food production.

Keywords: antimicrobial substances, bacteriocins, lactic acid bacteria, PCR, molecular typing of bacteriocins

Ráda bych poděkovala Ing. Khatantuul Purevdorj, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce, věnovaný čas, trpělivost a cenné rady. Mé velké díky také patří laborantkám Ing. Veronice Kučabové a Mgr. Markétě Havlišové, které mi při práci v laboratoři byly velmi nápomocné. Poděkování patří také přátelům, partnerovi a rodině, kteří mi byli oporou po celou dobu mého studia.

OBSAH

ÚVOD.....	13
I TEORETICKÁ ČÁST	14
1 BAKTERIOCINY	15
1.1 BAKTERIOCINY VS. ANTIBIOTIKA	16
2 KLASIFIKACE BAKTERIOCINŮ	19
2.1 BAKTERIOCINY GRAMPOZITIVNÍCH BAKTERIÍ.....	19
2.1.1 Třída I – Lantibiotika	19
2.1.2 Třída II – Ne-lantibiotka	20
2.1.3 Třída III – velké, tepelně labilní proteiny	21
2.1.4 Třída IV – komplexní bakteriociny	21
2.2 BAKTERIOCINY GRAMNEGATIVNÍCH BAKTERIÍ	22
2.2.1 Koliciny.....	22
2.2.2 Bakteriociny podobné kolicinům	22
2.2.3 Mikrociny	23
2.2.4 Tailociny	23
2.3 BAKTERIOCINY <i>ARCHAEA</i>	24
3 BIOSYNTÉZA A MECHANISMUS ÚČINKU BAKTERIOCINŮ	25
3.1 BIOSYNTÉZA BAKTERIOCINŮ	25
3.2 MECHANISMY ÚČINKU BAKTERIOCINŮ	27
3.2.1 Narušení integrity cytoplazmatické membrány	27
3.2.2 Inhibice biosyntézy buněčné stěny.....	28
3.2.3 Interference s intracelulárními procesy	29
3.2.4 Další mechanismy účinku	29
3.3 MECHANISMY REZISTENCE.....	30
4 VÝZNAMNÍ PRODUCENTI BAKTERIOCINŮ	31
4.1 LAKTOBACILY (DŘÍVE ROD <i>LACTOBACILLUS</i>).....	31
4.2 ROD <i>ENTEROCOCCUS</i>	32
4.3 ROD <i>STREPTOCOCCUS</i>	33
4.4 ROD <i>PEDIOCOCCUS</i>	33
4.5 ROD <i>CARNOBACTERIUM</i>	34
4.6 ROD <i>LEUCONOSTOC</i>	34
4.7 ROD <i>BIFIDOBACTERIUM</i>	35
4.8 ROD <i>LACTOCOCCUS</i>	35
5 SOUČASNÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ BAKTERIOCINŮ	36
5.1 POTRAVINÁŘSKÉ APLIKACE.....	36
5.1.1 Biokonzervace potravin	36
5.1.2 Proces schvalování a regulační požadavky	37

5.1.3	Bioaktivní obaly	39
5.2	KLINICKÉ A DALŠÍ APLIKACE	40
II	PRAKTICKÁ ČÁST	42
6	CÍLE PRÁCE.....	43
7	MATERIÁLY	44
7.1	POMŮCKY A PŘÍSTROJE	44
7.2	ROZTOKY A CHEMIKÁLIE	45
7.3	KULTIVAČNÍ MÉDIA	45
7.4	POUŽITÉ BAKTERIÁLNÍ KMENY	48
8	METODIKA.....	50
8.1	OBNOVA A KONTROLA BAKTERIÁLNÍCH KMENŮ	50
8.1.1	Identifikace izolátů pomocí MALDI-TOF	50
8.2	AGAR SPOT TEST.....	52
8.3	IZOLACE A PURIFIKACE BAKTERIÁLNÍ DNA	52
8.4	MOLEKULÁRNÍ TYPIZACE BAKTERIOCINŮ METODOU PCR.....	53
8.5	ELEKTROFORÉZA	55
9	VÝSLEDKY A DISKUZE	57
9.1	IDENTIFIKACE POMOCÍ MALDI-TOF MS	57
9.2	AGAR SPOT TEST.....	58
9.3	MOLEKULÁRNÍ TYPIZACE BAKTERIOCINŮ	64
9.3.1	Detekce příslušných genů u zástupců z rodu <i>Lacticaseibacillus</i> a <i>Lactobacillus</i>	64
9.3.2	Detekce příslušných genů u zástupců z rodu <i>Limosilactobacillus</i>	69
9.3.3	Detekce příslušných genů u zástupců z rodu <i>Leuconostoc</i>	70
	ZÁVĚR.....	73
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	75
	SEZNAM OBRÁZKŮ	98
	SEZNAM TABULEK.....	99
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	100
	SEZNAM PŘÍLOH.....	102

ÚVOD

V potravinářském průmyslu hraje bezpečnost a trvanlivost potravin klíčovou roli. Navzdory pokrokům v konzervačních technikách, zůstává kažení a kontaminace potravin významnou výzvou. Současně se zvyšuje preference spotřebitelů k přírodním a minimálně zpracovaným potravinám, což vyvolává potřebu alternativních, přírodních metod konzervace, které zachovávají bezpečnost a kvalitu potravin.

V tomto kontextu se bakteriociny jeví jako slibné biokonzervační látky díky své stabilitě, specifické účinnosti proti potravinovým patogenům a nízké pravděpodobnosti vzniku rezistence. Výzkum v oblasti bakteriocinů se zaměřuje na identifikaci a charakterizaci bakteriocinogenních kmenů, detekci genů pro bakteriociny a studium mechanismů jejich účinku. Ačkoli nisin a pediocin PA-1/AcH jsou v současnosti jediné bakteriociny s širokým komerčním využitím jako biokonzervanty, mnoho dalších vykazuje slibný potenciál pro prodloužení trvanlivosti potravin a kontrolu specifických patogenů (např. *Listeria monocytogenes*).

Bakterie mléčného kvašení (BMK) představují z hlediska aplikace v potravinářském průmyslu obzvlášť atraktivní skupinu mikroorganismů nejen díky své schopnosti produkovat antimikrobiální látky, ale především kvůli svému dlouhodobě ověřenému bezpečnostnímu profilu. Mnohé druhy BMK, jako jsou zástupci rodů *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus*, *Leuconostoc* nebo *Limosilactobacillus*, jsou řazeny mezi mikroorganismy s označením GRAS (Generally Recognized As Safe) nebo mají status QPS (Qualified Presumption of Safety). Tyto statusy znamenají, že použití těchto mikroorganismů v potravinářských produktech je považováno za bezpečné pro spotřebitele, a značně usnadňují jejich komerční využití.

Tato diplomová práce se zabývá molekulární typizací bakteriocinů u kmenů BMK izolovaných z potravin. Hlavním cílem je detekovat geny kódující bakteriociny u vybraných kmenů, což přispěje k lepšímu pochopení jejich biokonzervačního potenciálu a k rozvoji aplikací v potravinářském průmyslu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BAKTERIOCINY

Bakteriociny jsou obecně definovány jako ribozomálně syntetizované antimikrobiální peptidové molekuly, které mohou být enzymaticky modifikované nebo zůstat v nezměněné podobě. Produkce bakteriocinů je rozšířená mezi bakteriemi i *Archaea*, přičemž se předpokládá, že 30 % až 99 % druhů může syntetizovat alespoň jeden typ bakteriocinu (Reuben a Torres, 2024; Cheruvari a Kammara, 2025). Bakteriociny mají obvykle úzké spektrum baktericidní nebo bakteriostatické aktivity proti taxonomicky příbuzným bakteriím, avšak v některých případech mohou vykazovat i široké spektrum účinku proti nepříbuzným bakteriím. Bakterie produkující bakteriocin obvykle mají mechanismy, které zabráňují jejich zabití vlastními bakteriociny, a to buď syntézou proteinů vlastní imunity, nebo použitím efluxních pump, případně použitím obou systémů (Reuben a Torres, 2024).

Termín „bakteriocin“ poprvé zavedl François Jacob v roce 1953, ale výzkum těchto antimikrobiálních peptidů sahá až do 20. let 20. století. Prvním objeveným bakteriocinem byl kolicin V, který popsal belgický biolog André Gratia (1925) při studiu antagonismu mezi kmeny *Escherichia coli*. Koliciny, tepelně stabilní látky, produkované právě *E. coli*, byly identifikovány pro svou schopnost inhibovat jiné kmeny této bakterie (Daba et al., 2022; Banerjee et al., 2022). O několik let později Rogers a Whittier (1928) objevili první antimikrobiální látku produkovanou bakteriemi mléčného kvašení. Následně v roce 1947 Mattick a Hirsch tuto látku izolovali a pojmenovali „nisin“, který je dodnes využíván jako přírodní konzervant (Daba et al., 2022). Nisin A bakteriocin produkovaný *Lactococcus lactis*, byl schválen jako bezpečná látka pro lidskou spotřebu Světovou zdravotnickou organizací (WHO, World Health Organization) v roce 1969 a Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA, Food and Drug Administration) v roce 1988 (Chan et al., 2023).

Výskyt bakteriocinů je široký a jejich producenty lze nalézt v konvenčních i nekonvenčních zdrojích. Zatímco lidské střevo je považováno za konvenční prostředí pro bakteriocinogenní bakterie, mezi nekonvenčními zdroji patří půda, voda, potraviny a potravinářské výrobky, zvířecí střeva a sliznice (Reuben a Torres, 2024). Ve střevech lidí mezi nejčastějšími producenty bakteriocinů patří zástupci rodu *Enterococcus*, *Escherichia*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* a laktobacily. Tyto bakterie nejen že působí jako první linie obrany proti patogenům, ale jejich bakteriociny mohou také přispívat k posílení imunitního systému (Reuben a Torres, 2024).

Největší množství dosud identifikovaných a charakterizovaných bakteriocinů pochází z bakterií mléčného kvašení (BMK), které se přirozeně vyskytují v mléce a mléčných výrobcích. BMK získaly značný vědecký zájem díky svému bezpečnostnímu statusu, který je označován jako „obecně uznávaný jako bezpečný“ (GRAS) nebo „kvalifikovaný předpoklad bezpečnosti“ (QPS) (Reuben a Torres, 2024). Mezi běžné bakteriocinogenní bakterie izolované z mléčných výrobků patří *Lactococcus lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Levilactobacillus brevis*, *Enterococcus* spp. a *Streptococcus thermophilus*. *Brevibacillus brevis* a *Bifidobacterium lactis* jsou nejběžnější BMK v syrovém mléce, zatímco *Lactobacillus acidophilus* je běžně izolován z jogurtu a fermentovaných sójových produktů. Obecně platí, že laktokoky, laktobacily a streptokoky jsou převládajícími probiotickými bakteriemi v mléčných výrobcích (Darbandi et al., 2022; Reuben a Torres, 2024).

Díky své rozmanitosti, antimikrobiální aktivitě a nízké pravděpodobnosti vzniku rezistence jsou považovány za slibnou alternativu k antibiotikům i syntetickým konzervantům v potravinářství a medicíně (Jain et al., 2024; Reuben a Torres, 2024). Tyto látky nacházejí široké využití jako biokonzervační prostředky a potenciální náhrada antibiotik, zejména díky schopnosti eliminovat cílové mikroorganismy při minimálním riziku vzniku rezistence. V současnosti je známo, že rezistence vůči bakteriocinům je v porovnání s konvenčními antibiotiky poměrně vzácná, což z nich činí atraktivní nástroj v boji proti patogenním mikroorganismům (Jain et al., 2024).

1.1 Bakteriociny vs. antibiotika

V posledních letech se stále více diskutuje o potřebě nalezení alternativ k antibiotikům, zejména v souvislosti s rostoucí rezistencí bakterií na tyto léčiva. Antibiotická rezistence se stala závažným globálním problémem veřejného zdraví, neboť patogenní bakterie si postupně vyvíjejí mechanismy, které jim umožňují přežít i při expozici vysokým dávkám antibiotik (Putri et al., 2024). Podle údajů globálního systému sledování rezistence na antibiotika byly v roce 2020 v 66 zemích světa pozorovány vysoké úrovně rezistence (Yu et al., 2023), přičemž genetické faktory hrají klíčovou roli v přenosu rezistentních genů mezi buňkami, kmeny a druhy bakterií. Kromě toho dlouhodobé užívání antibiotik nejenže podporuje vývoj rezistence, ale také ovlivňuje mikrobiotu a může vést k negativním vedlejším účinkům na lidské zdraví. Jednou z perspektivních alternativ k antibiotikům jsou

bakteriociny, které vykazují antimikrobiální aktivitu a zároveň minimalizují riziko vzniku rezistence (Putri et al., 2024).

Bakteriociny jsou sloučeniny podobné antibiotikům, které vykazují antimikrobiální nebo terapeutické vlastnosti. Navzdory podobnostem existuje několik rozdílů mezi bakteriociny a antibiotiky, které shrnuje Tabulka 1 (Putri et al., 2024). Jeden z rozdílů spočívá v syntéze – zatímco antibiotika jsou sekundárními metabolity vznikající činností enzymových komplexů, bakteriociny jsou syntetizovány ribozomálně (Gradisteanu Pircalabioru et al., 2021; Al-Omari et al., 2022; Putri et al., 2024). Výhodou bakteriocinů oproti antibiotikům je jejich stabilita při různých teplotách a pH. Díky posttranslačním modifikacím (cyklizace nebo tvorba disulfidických můstků) jsou bakteriociny méně náchylné k degradaci než antibiotika. Na druhé straně některé bakteriociny mohou být citlivé na proteázy, což může být limitující v některých aplikacích (Gradisteanu Pircalabioru et al., 2021). Ve srovnání s antibiotiky vykazují bakteriociny vyšší účinnost při inhibici růstu patogenních bakterií i při nízkých koncentracích. Na rozdíl od širokospektrálních antibiotik, která působí na širokou škálu bakteriálních druhů bez ohledu na jejich příbuznost, jsou bakteriociny cílené – působí specificky na určité mikroorganismy (Putri et al., 2024). Mechanismus účinku bakteriocinů může zahrnovat narušení integrity buněčné membrány, inhibici syntézy buněčné stěny nebo ovlivnění genové exprese a syntézy proteinů. Tyto rozdíly dávají bakteriocinům potenciál jako selektivní antimikrobiální látky, které nevedou k masivnímu narušení mikrobiální rovnováhy, což je častý problém při podávání širokospektrálních antibiotik (Gradisteanu Pircalabioru et al., 2021).

Výsledky řady studií ukazují, že bakteriociny mohou sloužit jako efektivní doplněk k antibiotikům díky své vysoké stabilitě, absenci vedlejších účinků a schopnosti vyvolat synergický efekt. V kombinaci s antibiotiky působí bakteriociny synergicky, čímž zvyšují jejich účinnost, přispívají k prevenci vzniku rezistentních bakteriálních kmenů a zároveň umožňují snížit potřebnou dávku antibiotik, což vede ke zmírnění jejich vedlejších účinků (Darbandi et al., 2022).

Vývoj a aplikace dalších bakteriocinů vyžaduje důkladný výzkum, včetně klinických studií, které by potvrdily jejich účinnost a bezpečnost. Významným krokem vpřed je výzkum genetického inženýrství, které umožňuje modifikaci bakteriocinů za účelem zvýšení jejich stability, spektra účinku a odolnosti vůči působení proteáz (Cheruvuri a Kammara, 2025).

Tabulka 1: Srovnání bakteriocinů a antibiotik; upraveno dle Putri et al. (2024)

	Bakteriociny	Antibiotika
Aplikace	Potraviny	Klinické
Syntéza	Ribozomální	Několik enzymatických komplexů
Velikost	15–80 kDa	0,3–0,5 kDa
Spektrum	Úzká, většinou vnitrodruhová selektivita	Široké
Bioflexibilita (biologické inženýrství)	Vysoká	Nízká
Imunita hostitelských buněk	Ano	Ne
Odolnost vůči životnímu prostředí	Nízká	Vysoká
Citlivost na proteázové enzymy	Citlivý	Méně citlivý
Cytotoxicita	Nízká	Vysoká
Mechanismy rezistence cílových mikrobiálních buněk	Přizpůsobení ovlivněním obsahu buněčné membrány, která vykazuje rezistentní vlastnosti	Přenos geneticky určených faktorů, které ovlivňují různá místa v závislosti na způsobu účinku každého antibiotika
Stabilita při teplotě a pH	Vysoká pro bakteriociny třídy I a II	Nízká
Způsob působení	Vytváření pórů a inhibice syntézy cílové mikrobiální buněčné stěny	Cílení na buněčnou membránu nebo intracelulárně cílové mikrobiální buňky

2 KLASIFIKACE BAKTERIOCINŮ

Klasifikace bakteriocinů prošla v průběhu let značným vývojem. Po první klasifikaci navržené Klaenhammerem (1993) byly postupně zavedeny další systémy, které reflektují pokroky ve výzkumu jejich struktury, funkcí a mechanismů účinku. Různé klasifikační systémy vycházejí z faktorů zahrnujících například fyzikální vlastnosti, chemickou strukturu, molekulární složení, velikost, stabilitu, mechanismus účinku, posttranslační modifikace, cílové mikroorganismy nebo původce produkce (Reuben a Torres, 2024).

Pokus o zařazení všech známých bakteriocinů do jednoznačných skupin je však složitý kvůli jejich obrovské rozmanitosti a překrývajícím se strukturálním i genetickým charakteristikám (Simons et al., 2020). Pro lepší přehlednost bylo vytvořeno i několik databází, jako například APD3, BACTIBASE, BAGEL, ADAM a další, které katalogizují antimikrobiální peptidy na základě velikosti, molekulární struktury a modifikace (Bahrami et al., 2024; Reuben a Torres, 2024).

Jedním z nejnovějších přístupů ke klasifikaci je systém navržený Soltanim a jeho kolegy, kteří dělí bakteriociny do dvou hlavních skupin: třída I (modifikované) a třída II (nemodifikované) (Soltani et al., 2020). Tento systém reflektuje rozdíly ve způsobu syntézy a v posttranslačních modifikacích (Bahrami et al., 2024). Vzhledem k široké variabilitě klasifikací a snaze o jejich sjednocení se v této diplomové práci zaměřuji na rozdělení bakteriocinů podle typu buněčné stěny produkujícího organismu, tedy na bakteriociny grampozitivních bakterií a gramnegativních bakterií podle Simonse et al. (2020).

2.1 Bakteriociny grampozitivních bakterií

Bakteriociny produkované grampozitivními bakteriemi jsou nejvíce prozkoumanou skupinou antibakteriálních peptidů vzhledem k jejich potenciálu pro komerční použití v potravinách a dalších produktech (Verma et al., 2014). Bakteriociny produkované grampozitivními bakteriemi jsou dle Simonse et al. (2020) rozděleny do čtyř různých tříd.

2.1.1 Třída I – Lantibiotika

Bakteriociny třídy I, známé jako lantibiotika, jsou malé peptidy s molekulovou hmotností menší než 5 kDa, obsahující 19–34 aminokyselin, které podléhají posttranslačním modifikacím. Tyto modifikace vedou k přítomnosti neobvyklých aminokyselin, lantioninu a β -metyllantioninu, zajišťujících tepelnou stabilitu a odolnost vůči pH či proteolýze (Simons et al., 2020; Liang et al., 2025a). Lantibiotika se dělí do podtříd Ia a Ib.

- **Podtřída Ia** zahrnuje kladně nabitě, flexibilní, lineární peptidy, například nisin, epidermin či gallidermin, které tvoří póry v bakteriálních membránách a inhibují grampozitivní bakterie, včetně potravinových patogenů (Simons et al., 2020; Aljohani et al., 2023).
- **Podtřída Ib** zahrnuje globulární, neflexibilní peptidy se záporným nebo žádným nábojem, jako lakticin 481, mersacidin nebo salivaricin, jež působí inhibicí specifických enzymů nezbytných pro cílové bakterie (Negash et al., 2020; Simons et al., 2020). Obě podtřídy vykazují široké antibakteriální spektrum, zejména proti patogenům *Listeria* a *Staphylococcus* (Liang et al., 2025a).

2.1.2 Třída II – Ne-lantibiotka

Bakteriociny třídy II tvoří heterogenní skupinu malých, tepelně stabilních peptidů s molekulovou hmotností nižší než 10 kDa, které se vyznačují minimálními nebo žádnými posttranslačními modifikacemi a absencí neobvyklých aminokyselin, jako je lantionin (Taylor, 2015; Simons et al., 2020). Tyto peptidy, běžně produkováné bakteriemi mléčného kvašení, působí proti grampozitivním bakteriím, včetně patogenních druhů jako *Listeria monocytogenes*. Jejich účinek spočívá v narušení buněčné membrány, což vede k tvorbě pórů, úniku vnitrobuněčných složek a následné buněčné smrti (Simons et al., 2020). Třída II se dělí na několik podtříd:

- **Podtřída IIa** zahrnuje antilisteriální peptidy, které se skládají z 37–48 aminokyselin, mají lineární strukturu s bisulfidovými můstky a cílí na mannóзовou permeázu v membráně citlivých buněk (např. pediocin PA-1, sakacin A nebo leukocin A) (Taylor, 2015; Simons et al., 2020).
- **Podtřída IIb** zahrnuje dvoupeptidové bakteriociny (α/β), které jsou produkovány rovnoměrně a oba jsou nezbytné k prokázání antibiotické aktivity (např. laktokocin G, laktokocin Q a plantaricin NC8) (Simons et al., 2020).
- **Podtřída IIc** zahrnuje cirkulární peptidy s kovalentně spojenými N- a C-konci, například gassericin A nebo karnocyklin A, které jsou díky své struktuře odolné vůči proteázám a vykazují různé mechanismy účinku, včetně permeabilizace membrány a inhibice tvorby septa (Taylor, 2015; Yaghoubi et al., 2020).
- **Podtřída IId** shromažďuje podskupiny bakteriocinů bez vedoucí sekvence a podskupinu peptidů nepodobné pediocinu (Yi et al., 2022).

2.1.3 Třída III – velké, tepelně labilní proteiny

Od bakteriocinů třídy I a třídy II se bakteriociny třídy III liší především svou velikostí, kdy bývá vyšší než 30 kDa a také tím, že jsou tepelně labilní. Tyto bakteriociny jsou dále rozděleny do dvou podtříd IIIa a IIIb, na základě jejich aktivity podobné hydrolázám (Simons et al., 2020; Liang et al., 2025a).

- **Potřída IIIa** zahrnuje bakteriociny známé jako bakteriolysiny, disponují aktivitou podobnou hydroláze, což vede k narušení bakteriální buněčné stěny a k následné lýzi buněk. Příklady bakteriocinů třídy IIIa zahrnují zoocin A a enterolysin A (Yu et al., 2023; Liang et al., 2025a).
- **Podtřída IIIb** naopak zahrnuje bakteriociny, které jsou považovány za nelytické, protože jejich aktivita není založena na hydrolázovém působení. Mezi běžné zástupce této podskupiny patří helveticin M a laktokocin 972, syntetizované bakteriemi rodů *Lactococcus* a laktobacily (Liang et al., 2025a).

Antibakteriální účinek bakteriocinů třídy III tak souvisí s jejich schopností narušit integritu buněčné stěny, ať už lytickým či nelytickým mechanismem (Liang et al., 2025a). Tato skupina má navíc tu zvláštnost, že zahrnuje některé bakteriociny, které jsou za určitých okolností také produkovány gramnegativními bakteriemi, např. klebcin (Solis-Balandra a Sanchez-Salas, 2024).

2.1.4 Třída IV – komplexní bakteriociny

Bakteriociny třídy IV se vyznačují komplexními strukturami, které zahrnují neproteinové složky (lipidy nebo sacharidy), jež jsou klíčové pro jejich antimikrobiální aktivitu (Bahrami et al., 2024). Například plantaricin S, leukonocin S nebo laktocin 27, narušují bakteriální buněčnou membránu díky přítomnosti lipidových nebo sacharidových částí (Simons et al., 2020; Reuben a Torres, 2024). Lipoproteinové bakteriociny jsou charakteristické přítomností lipidových skupin, které zvyšují jejich schopnost interagovat s buněčnými membránami cílových mikroorganismů. Naopak glykosylované bakteriociny obsahují navázané cukerné zbytky, jež ovlivňují jejich stabilitu a biologickou aktivitu (Bahrami et al., 2024). Tato struktura však činí bakteriociny třídy IV citlivými na glykolytické nebo lipolytické enzymy, což může omezit jejich stabilitu (Simons et al., 2020).

Řada studií, například Kulkarni et al. (2024) a Liang et al. (2025), třídu IV do klasifikace bakteriocinů nezařazuje, zatímco jiné, jako Putri et al. (2024) či Bahrami et al.

(2024), naopak rozlišují více tříd. Tato rozporuplnost poukazuje na značnou rozmanitost bakteriocinů a zároveň podtrhuje komplexnost a nejednotnost jejich systematického zařazování.

2.2 Bakteriociny gramnegativních bakterií

Antimikrobiální aktivita bakteriocinů produkovaných gramnegativními bakteriemi vykazuje užší spektrum účinnosti, což omezuje jejich praktické využití ve srovnání s bakteriociny grampozitivních bakterií. Přesto tvoří tato skupina významnou součást antimikrobiálních peptidů. Většina bakteriocinů G^- bakterií byla izolována z kmenů *Escherichia coli*, avšak antimikrobiální peptidy produkují i další rody, například *Pseudomonas* či *Klebsiella* (Simons et al., 2020). Bakteriociny G^- bakterií jsou systematicky rozděleny do čtyř odlišných kategorií: koliciny, bakteriociny podobné kolicinům, mikrociny a tailociny.

2.2.1 Koliciny

Koliciny představují nejvíce studovanou skupinu bakteriocinů gramnegativních bakterií, zejména produkovaných kmeny *Escherichia coli*, které obsahují kolicinogenní plazmid (Banerjee et al., 2022; Solis-Balandra a Sanchez-Salas, 2024). Tyto baktericidní proteiny s molekulovou hmotností 30–80 kDa jsou produkovány specifickým mechanismem, který zahrnuje souběžnou expresi lyzačního proteinu, což má pro buňku fatální následky (Zimina et al., 2020). Dle jejich mechanismu účinku můžeme rozdělit na: pórotravné koliciny (např. E1, A, K), které narušují vnitřní membránu a vyvolávají buněčnou smrt únikem cytoplazmatických složek; nukleázové koliciny (např. E2–E9), degradující DNA a RNA; a peptidoglykanové koliciny, inhibující syntézu peptidoglykanu (Darbandi et al., 2022). Koliciny se hojně používají jako modelové systémy pro studium struktur, funkcí a evoluce bakteriocinů (Zimina et al., 2020).

2.2.2 Bakteriociny podobné kolicinům

Bakteriociny podobné kolicinům tvoří skupinu proteinových antimikrobiálních peptidů produkovaných G^- bakteriemi, které sdílejí strukturální a funkční vlastnosti s koliciny (Banerjee et al., 2022). Tyto bakteriociny cílí na kmeny úzce příbuzné producentským bakteriím, obvykle stejného druhu, a nesou druhově specifické názvy, například klebiciny (*Klebsiella* spp.), pesticiny (*Yersinia pestis*) či S-pyociny (*Pseudomonas pyocyanea*) (Darbandi et al., 2022). Jejich antimikrobiální účinek je založen buď na tvorbě pórů, nebo na nukleázové aktivitě, podobně jako u kolicinů (Simons et al., 2020).

2.2.3 Mikrociny

Mikrociny tvoří třetí skupinu bakteriocinů gramnegativních bakterií, které se podílejí na kompetitivních interakcích mezi členy *Enterobacteriaceae*. Jsou charakteristické nízkou molekulovou hmotností (<10 kDa) a vysokou stabilitou vůči teplotě, pH a proteázám. Na rozdíl od kolicinů jsou kódovány převážně v genomové DNA nebo v plazmidech a jsou vylučovány pomocí ABC transportního systému bez lyzačního genu. Dělí se na dvě podtřídy podle molekulové hmotnosti a posttranslačních modifikací (Zimina et al., 2020; Solis-Balandra a Sanchez-Salas, 2024).

- **Podtřída I** (<5 kDa) zahrnuje modifikované peptidy, například mikrociny B17, C7 a J25 (Simons et al., 2020).
- **Podtřída II** (5–10 kDa) zahrnuje nemodifikované nebo minimálně modifikované peptidy, například mikrociny E492, V a H47 (Simons et al., 2020).

2.2.4 Tailociny

Tailociny, označované též jako bakteriociny podobné fágovému ocasu, jsou velké proteinové struktury (20–100 kDa) složené z osmi až čtrnácti polypeptidových podjednotek, které vykazují morfologickou a genetickou podobnost s ocasními strukturami bakteriofágů čeledí *Myoviridae* a *Siphoviridae* (Banerjee et al., 2022; Darbandi et al., 2022; Woudstra et al., 2024). Tyto bakteriociny jsou kódovány shlukem genů větším než 40 kbp v bakteriálních genomech, jenž zahrnuje geny pro strukturní proteiny, assembly enzymy, chaperony, regulační geny a lyzační kazety umožňující uvolnění tailocinů do prostředí (Zimina et al., 2020). Rozdělují se na dvě skupiny: kontraktilní tailociny typu R, evolučně příbuzné *Myoviridae*, tvoří dlouhou trubici s obalem a bazální ploténkou s proteiny vážícími receptory, zatímco nekontraktilní typ F, příbuzný *Siphoviridae*, obal postrádá (Zimina et al., 2020; Woudstra et al., 2024).

2.3 Bakteriociny *Archaea*

Archaea produkují archeociny, antimikrobiální látky podobné bakteriocinům, z nichž byly popsány dva typy: halociny a sulfolobiciny. Halociny, syntetizované halobakteriemi, vykazují značnou diverzitu a jsou klasifikovány podle molekulové hmotnosti na mikrohalociny (3,4 kDa) a větší halociny (35 kDa). Jejich mechanismus účinku na cílové organismy zahrnuje indukci buněčného bobtnání s následnou lýzí, přičemž primárně ovlivňují buněčnou membránu prostřednictvím změn permeability nebo inhibicí antiporteru Na^+/H^+ a protonového toku. Sulfolobiciny, produkované druhem *Sulfolobus islandicus*, který prospívá v extrémních podmínkách při pH 2–4 a teplotách 65–85 °C, jsou úzkospektrální a asociované s membránou, avšak jejich přesný mechanismus působení zůstává neobjasněn (Verma et al., 2014; Juturu a Wu, 2018).

3 BIOSYNTÉZA A MECHANISMUS ÚČINKU BAKTERIOCINŮ

3.1 Biosyntéza bakteriocinů

Biosyntéza bakteriocinů obecně představuje komplexní proces zahrnující ribozomální syntézu a posttranslační modifikace (Darbandi et al., 2022; Sharma et al., 2022). Produkce bakteriocinů je typicky spojena s exponenciální fází růstu producentského kmene a ovlivněna faktory jako kultivační podmínky, dostupnost živin (uhlík, dusík, fosfáty) či přítomnost kationtů, povrchově aktivních látek či inhibitorů (Mekala a Ansari, 2023).

Genetický aparát biosyntézy bakteriocinů je organizován v operonech, které mohou být lokalizovány na plasmidech, chromozomech nebo jiných mobilních genetických elementech (Kumariya et al., 2019; Singh et al., 2024). Plazmidy spojené s produkcí bakteriocinů se liší velikostí a některé nesou determinanty pro více bakteriocinů současně. Například u karnobakteriocinů může být jeden bakteriocin (karnobakteriocin B2) kódován plazmidem, zatímco jiný (karnobakteriocin BM1) chromozomálně (Todorov, 2009).

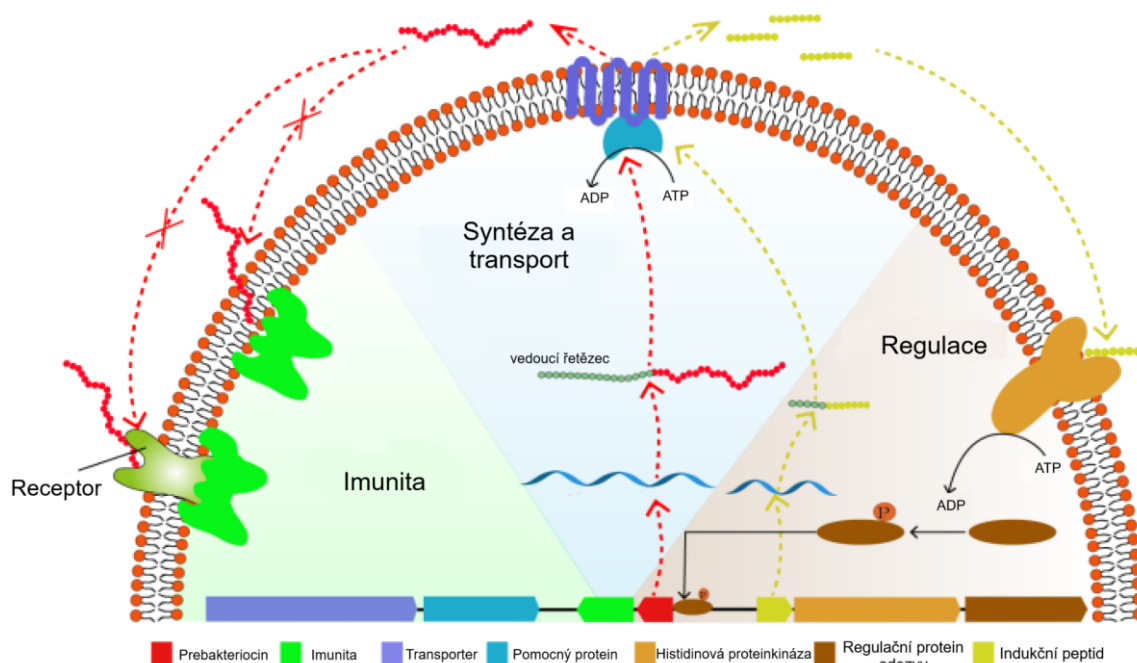
Tato kapitola se dále zaměřuje zejména na biosyntézu bakteriocinů třídy II, do které spadá většina bakteriocinů analyzovaných v praktické části této diplomové práce. Třída II představuje skupinu nemodifikovaných bakteriocinů, která vykazuje značný potenciál pro aplikace v potravinářském průmyslu díky své struktuře a antimikrobiální aktivitě.

Bakteriociny třídy IIa (Obrázek 1) jsou nejprve ribozomálně syntetizovány jako prebakteriociny, které obsahují N-koncovou vedoucí sekvenci (15-30 aminokyselin), která udržuje peptid v buňce neaktivní. Tato sekvence zároveň slouží jako signál pro zpracování a sekreci specializovaným systémem zahrnujícím transportní ABC (ATP Binding Cassette) a pomocný protein (Zhang et al., 2022; Mekala a Ansari, 2023). ABC transportér, s C-koncovou ATP-vazebnou a N-koncovou transmembránovou doménou štěpí vedoucí řetězec na místě dvojitého glycinu a translokuje zralý bakteriocin přes membránu. Přídavný protein může usnadňovat translokaci nebo tvorbu disulfidových vazeb (Zhang et al., 2022). Některé bakteriociny, např. enterocin P nebo bakteriocin 31, však postrádají motiv dvojitého glycinu a využívají sec-dependentní systém s hydrofobním N-koncem, kde vedoucí řetězec odstraňuje signální peptidáza (Zhang et al., 2022; Bahrami et al., 2024).

Syntéza bakteriocinů třídy IIa je typicky regulována systémem *quorum sensing* se třemi složkami: indukčním peptidem, histidinovou proteinkinázou (HPK) a regulačním proteinem odezvy (RR) (Sharma et al., 2022; Zhang et al., 2022). Indukující peptid, zpočátku prepeptid,

je při sekreci štěpen ABC transportérem; jeho koncentrace roste s hustotou buněk, aktivuje HPK a fosforylovaný RR spouští expresi biosyntetických genů (Obrázek 1) (Zhang et al., 2022).

Imunitní proteiny (81–115 aminokyselin) chrání produkující bakterii. C-koncová oblast se podílí na specifickém rozpoznávání jim příbuzných bakteriocinů. Byla však pozorována „zkřížená imunita“ vůči jiným bakteriocinům třídy IIa, což znamená odolnost bakterie nejen vůči vlastnímu bakteriocinu, ale i vůči strukturálně příbuzným bakteriocinům produkovaným jinými kmeny. Imunitní protein tvoří čtyřšroubovicovou strukturu a podle dvou modelů buď blokuje bakteriocin přímo, nebo jeho interakci s receptorem (Obrázek 1) (Zhang et al., 2022).



Obrázek 1: Schématický diagram biosyntézy bakteriocinů třídy IIa; upraveno dle Zhang et. al (2022)

Na rozdíl od bakteriocinů třídy IIa, které jsou tvořeny jedním prepeptidem, jsou bakteriociny třídy IIb tvořeny dvěma odlišnými peptidy, jejichž antimikrobiální účinek je podmíněn jejich současnou přítomností v přibližně stejném množství. Oba peptidy jsou syntetizovány jako prebakteriociny s vedoucí sekvencí dvojitého glycinového typu, která je odštěpena specifickým ABC transportérem podobně jako u třídy IIa. Geny pro oba peptidy, imunitní protein a často i pro transportní systém a pomocný protein jsou uspořádány v těsně sousedících operonech. Biosyntéza třídy IIb je tedy komplexnější než u IIa, a vyžaduje koordinovanou expresi více genetických prvků i přítomnost dvou funkčně propojených peptidů (Nissen-Meyer et al., 2010; Zhang et al., 2022).

Bakteriociny třídy IIc jsou specifické svou cirkulární strukturou, kde je N-konec peptidu kovalentně navázán na C-konec. Na jejich biosyntéze se podílejí tři klíčové kroky: štěpení vedoucího řetězce, cyklizace a export zralého bakteriocinu. Na rozdíl od lineárních bakteriocinů (IIa, IIb, IId) jsou syntetizovány jako lineární prebakteriociny, které během zrání podstupují specifický proces cyklizace. Právě mechanismus tohoto cyklického propojení není dosud objasněn. Není ani známo jaké enzymy jej zajišťují a jak je provázán s transportem a imunitou. Biosyntetické genové klastry třídy IIc jsou navíc složitější, často vyžadují přítomnost více membránových proteinů a ATPáz, jejichž úlohy zatím také nejsou zcela známy. Přesný mechanismus biosyntézy tak zůstává plně nepochopen a je předmětem řady studií (Gabrielsen et al., 2014; Perez et al., 2018; Zhang et al., 2022).

Třída IId obecně zahrnuje podskupinu bakteriocinů bez vůdce a podskupinu peptidů nepodobné pediocinu (Yi et al., 2022). Bakteriociny bez vůdce, označované také jako „leaderless“, postrádají N-koncovou vedoucí sekvenci, a jsou tedy funkčně aktivní ihned po translaci. Absence vedoucí sekvence však zároveň znamená, že produkující buňky mohou být vůči vlastním bakteriocinům citlivé, jak je známo například u lakticinu Q (Hourigan et al., 2024). Mechanismus jejich exportu z buňky není dosud zcela objasněn, i když se předpokládá účast ABC transportérů (Zhang et al., 2022; Hourigan et al., 2024). Lineární bakteriociny nepodobné pediocinu jsou syntetizovány s dvojitou vedoucí sekvencí glycinového typu a jsou transportovány buď specializovaným ABC transportérem, nebo pomocí sec-systému, který zajišťuje přenos proteinů přes cytoplazmatickou membránu (Yi et al., 2022).

3.2 Mechanismy účinku bakteriocinů

Bakteriociny vykazují různé mechanismy antimikrobiálního účinku v závislosti na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech a přítomnosti či nepřítomnosti posttranslačních modifikací (Soltani et al., 2020). Tyto mechanismy zahrnují například narušení integrity bakteriální buněčné membrány, inhibici syntézy buněčné stěny či potlačení důležitých buněčných procesů, například syntézu proteinů nebo nukleových kyselin (Obrázek 2) (Demirgöl et al., 2025; Liang et al., 2025a; Liang et al., 2025b).

3.2.1 Narušení integrity cytoplazmatické membrány

Jedním z primárních mechanismů účinku bakteriocinů je jejich schopnost narušit cytoplazmatickou membránu cílových bakterií, což vede k tvorbě pórů a úniku

intracelulárních složek. Kationtový charakter bakteriocinů umožňuje elektrostatické interakce s negativně nabitými fosfolipidy v membráně, čímž dochází k počátečnímu kontaktu. Následný průnik peptidu do fosfolipidové dvojvrstvy lokálně narušuje její uspořádání, což vede k tvorbě pórů nebo iontových kanálů. Například interakce s membránovým prekurzorem peptidoglykanu lipidem II, který slouží jako kotvící mechanismus, umožňuje některým lantibiotikům (např. nisinu) přilnout k membráně a vyvolat odtok malých molekul, včetně iontů draslíku, hořčíku, fosforu, aminokyselin a ATP. Tento proces narušuje membránový potenciál a gradient pH, inhibuje funkci protonové pumpy a vede k poklesu intracelulární hladiny ATP, což nakonec způsobuje buněčnou smrt (Banerjee et al., 2022). Naopak nelantibiotika, jako jsou bakteriociny podobné pediocinu, se vážou na extracelulární povrch Man-PTS (systém manóзовé fosfotransferázy), což vede k tvorbě pórů a poruchám transportu manózy (Liang et al., 2025b). Příkladem bakteriocinů cílících na receptor Man-PTS jsou např. acidocin A, bakteriocin BacSJ nebo laktokocin A (Ye et al., 2024).

Kromě vazby na lipid II a systém Man-PTS způsobují některé bakteriociny tvorbu pórů ještě dalšími způsoby (Demirgöl et al., 2025). Existují různé modely narušování membrány, například „kobercový model“ nebo „model sudové tyče“. V prvním modelu se jednotlivé peptidy zarovnávají rovnoběžně s povrchem membrány a způsobují její dočasné narušení. V druhém modelu hydrofilní části amfipatických šroubovic peptidů tvoří póry, zatímco hydrofobní oblasti interagují s fosfolipidy. Tyto interakce byly pozorovány zejména u bakteriocinů třídy IIa produkovaných bakteriemi mléčného kvašení (BMK) (Banerjee et al., 2022; Liang et al., 2025a). Bakteriociny gramnegativních bakterií, například koliciny A, B či E1, rovněž tvoří póry v cytoplazmatické membráně, přičemž jejich působení nevyžaduje specifické proteinové receptory, ale spoléhá na elektrostatické interakce s fosfolipidovou vrstvou (Demirgöl et al., 2025).

3.2.2 Inhibice biosyntézy buněčné stěny

Dalším významným mechanismem je inhibice syntézy buněčné stěny, která je zásadní pro udržení buněčné integrity a morfologie. Bakteriociny nisin A, nukacin ISK-1 nebo laktocin 481 se vážou na lipid II, klíčový prekurzor peptidoglykanu, čímž blokuji jeho transport a zpracování, což vede k narušení biosyntézy buněčné stěny. Mersacidin, další z lantibiotik, se také váže na lipid II, jenže na rozdíl od nisinu netvoří póry, ale inhibuje transglykosylační krok biosyntézy buněčné stěny (Patton a Van der Donk, 2005; Banerjee et al., 2022). U gramnegativních bakterií kolicin M degraduje lipid II, což způsobuje ztrátu

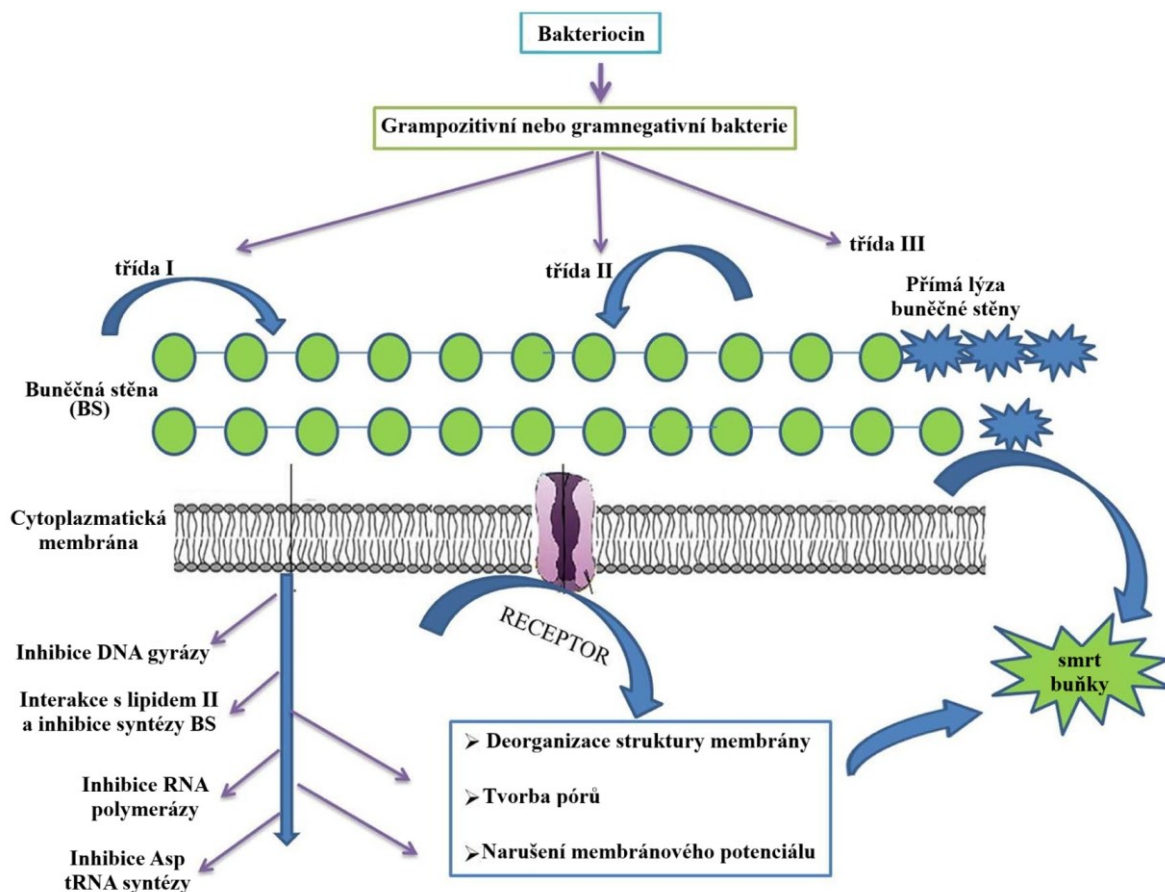
peptidoglykanových podjednotek v periplazmatickém prostoru, čímž dochází k inhibici syntézy peptidoglykanu a následně k lýzi buňky (Demirgöl et al., 2025). Tento mechanismus je zvláště účinný proti rezistentním kmenům, například enterokokům rezistentním na vankomycin (VRE) nebo methicilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Demirgöl et al., 2025).

3.2.3 Interference s intracelulárními procesy

Některé bakteriociny ovlivňují intracelulární procesy, mezi které patří replikace DNA, transkripce nebo translace. Bakteriocin mikrocin B17 inhibuje například aktivitu DNA gyrázy, zatímco mikrocin J25 potlačuje transkripci vazbou na RNA polymerázu a zacílením na intracelulární aspartyl-tRNA syntetázu (Putri et al., 2024; Liang et al., 2025a). Koliciny E2, E7, E8 a E9 vykazují DNázovou aktivitu závislou na kovových iontech a štěpí DNA na náhodných místech. To vede k rozsáhlému poškození DNA a následné buněčné smrti. Pro svou funkci tyto koliciny vyžadují kovy (nikl, kobalt, měď, zinek), které jim umožňují vazbu na DNA. Na úrovni translace koliciny E3, E4 a E6 štěpí 16S rRNA v ribozomu, čímž blokují syntézu proteinů, zatímco mikrocin C7/C51 inhibuje aminoacylaci tRNA napodobováním molekuly aspartyl-adenylátu (Aljohani et al., 2023; Demirgöl et al., 2025).

3.2.4 Další mechanismy účinku

Kromě výše uvedených mechanismů mohou bakteriociny vyvolat lýzu buněk aktivací autolytických enzymů. Interakce bakteriocinu s kyselinou teichoovou nebo lipoteichoovou v buněčné stěně způsobuje aktivaci příslušných autolytických enzymů, které vedou k autolýze buňky (Banerjee et al., 2022). Některé bakteriociny, například garvicin A, zase inhibují tvorbu septa, což vede k narušení buněčného dělení (Demirgöl et al., 2025).



Obrázek 2: Mechanismy účinku bakteriocinů; upraveno dle Ahmad et al. (2017)

3.3 Mechanismy rezistence

Cílové organismy mají přirozeně tendenci k adaptaci na životní prostředí. Dlouhodobá expozice bakteriocinům může vést k rozvoji rezistence u cílových bakterií. Rezistence vůči bakteriím byla dosud většinou studována v systémech *in vitro* a modelových systémech a může být buď získaná (vznikla z dříve vnímavých kmenů), nebo vrozená (přirozeně inherentní taxonomicky příbuzným kmenům) (Reuben a Torres, 2024; Singh et al., 2025).

Mechanismy rezistence zahrnují změny buněčných povrchů, enzymatickou inaktivaci, modifikace membránových lipidů, D-alanylní kyseliny teichoové, efluxní pumpy či syntézu kapsule, aby se zabránilo kontaktu s bakteriociny. Rezistence byla prokázána u různých bakteriocinů příkladem může být mesentericin, lakticin 3147, lysostaphin, nisin nebo leukocin A. U pediocinu PA-1 se uvádí výskyt rezistence až 8 % u *L. monocytogenes*. Kombinace bakteriocinů s jinými antimikrobiálními látkami, enkapsulace nebo bioinženýrské modifikace mohou zvýšit jejich účinnost a citlivost cílových organismů. Další výzkum je nezbytný pro pochopení těchto mechanismů a vývoj efektivních protiopatření (Reuben a Torres, 2024; Singh et al., 2025).

4 VÝZNAMNÍ PRODUCENTI BAKTERIOCINŮ

Bakteriociny produkují různé bakterie, přičemž jejich produkce je často spojována s konkrétními bakteriálními rody. V této kapitole jsou uvedeni nejvýznamnější producenti bakteriocinů, zejména ze skupiny bakterií mléčného kvašení (BMK), kterým se věnuje z hlediska produkce bakteriocinů nejvíce pozornosti (Martinez et al., 2013). Nicméně je třeba zohlednit, že produkce konkrétního bakteriocinu nemusí být vždy striktně vázána na jediný bakteriální rod nebo druh. Významnou roli hraje prostředí, v němž bakterie žijí a kde mohou získávat nebo šířit antimikrobiální strategie. Tento proces podporuje zejména horizontální přenos genů, při kterém si bakterie předávají geny pro syntézu bakteriocinů prostřednictvím plazmidů nebo transpozonů (Almeida-Santos et al., 2021; Lund et al., 2025).

4.1 Laktobacily (dříve rod *Lactobacillus*)

Rod *Lactobacillus* dříve zahrnoval více než 200 druhů, což z něj činilo největší a nejrozmanitější rod bakterií mléčného kvašení (BMK). V roce 2020 proběhla taxonomická reorganizace BMK a překlasifikovala rod *Lactobacillus* do 25 nových rodů. Laktobacily jsou jedni z nejběžnějších rodů zkoumaných v potravinářské mikrobiologii jako biokonzervační činidla díky svým širokospektrálním antimikrobiálním aktivitám a probiotickým vlastnostem. Skupina laktobacilů zaujímá různé prostředí, včetně potravin, rostlin, ale i gastrointestinální trakt lidí a zvířat (Zhang et al., 2022).

Mezi nevýznamnější bakteriociny této skupiny patří plantaricin, produkováný zejména druhem *Lactiplantibacillus plantarum*, který je schopen syntetizovat nejméně šest různých bakteriocinů (Darbandi et al., 2022). Plantariciny inhibují široké spektrum bakterií mléčného kvašení, včetně přirozených konkurentů *Lcp. plantarum*, ale také zástupce rodů *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Clostridium* a *Propionibacterium*. Plantaricin S, dvoupeptidový bakteriocin izolovaný z *Lcp. plantarum*, se uplatňuje při fermentaci a konzervaci zelených oliv (Zacharof a Lovitt, 2012). Druh *Lacticaseibacillus casei* produkuje například bakteriocin KLS1, který si zachovává účinnost i při nízkém pH a teplotách až 121°C. Navíc vykazuje inhibiční účinky vůči širokému spektru potravinových patogenů, včetně *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. a *Mucor* spp. (Xue et al., 2024). Mezi další bakteriociny produkované tímto druhem patří kaseicin A1 a A2 (Salini et al., 2024) či laktocin 705 (Zacharof a Lovitt, 2012). Blízce příbuzný druh *Lacticaseibacillus paracasei* je producentem bakteriocinu paracin C, jenž vykazuje antimikrobiální aktivitu vůči *Alicyclobacillus acidoterrestris* (Pei et al., 2013).

Mezi další významné druhy rodu *Lacticaseibacillus* lze zařadit *Lacticaseibacillus rhamnosus*, který je známý nejen svými probiotickými vlastnostmi, ale také schopností produkovat bakteriociny (Capurso, 2019). Například bakteriocin rhamnocin 519 vykazující antimikrobiální aktivitu vůči *Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aureus* (Jeong a Moon, 2015) nebo bakteriocin kmene *Lac. rhamnosus* A5 mající inhibiční účinek i proti *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a *Salmonella enterica* (Ren et al., 2022).

Další významné druhy zahrnují *Ligilactobacillus salivarius*, který představuje slibné probiotikum izolované z gastrointestinálního traktu lidí, prasat a ptáků, produkujícího nemodifikované bakteriociny jako například salivaricin P nebo salivaricin CRL 1328. Z rodu *Latilactobacillus* pak zejména bakteriociny s antilisterální aktivitou, například *Latilactobacillus curvatus* produkující curvaticiny (Xiraphi et al., 2006) nebo *Latilactobacillus sakei* vytvářející sakaciny (Mathiesen et al., 2005). *Lactobacillus acidophilus* je známý produkcí bakteriocinů (acidocin, laktacin B a laktacin F), které inhibují grampozitivní bakterie včetně *L. monocytogenes*, *S. aureus* či enterokoků, čímž přispívá k rovnováze střevní mikroflóry a ochraně fermentovaných potravin (Ahmed et al., 2010). Podobný účinek byl zaznamenán i u příbuzného druhu *Lactobacillus gasseri* produkující gassericyny (Garcia-Gutierrez et al., 2020).

Z rodu *Limosilactobacillus* je neznámější druh *Limosilactobacillus reuteri*, a to zejména díky produkci nízkomolekulární antimikrobiální sloučeniny reuterinu, ale byla popsána i produkce bakteriocinů, např. reutericinu 6 nebo reutericyklinu (Lima et al., 2025). Také u druhu *Limosilactobacillus fermentum* bylo popsáno několik bakteriocinů, např. bakteriolysin BLF3872 spadající do třídy III (Abramov et al., 2023) nebo helveticin J, který je běžně produkován spíše druhem *Lactobacillus helveticus* (Epishkina et al., 2022).

4.2 Rod *Enterococcus*

Rod *Enterococcus* je považován za nejkontroverznější skupinou BMK, která zahrnuje jak patogenní, tak komenzální mikroorganismy. Druhy jako *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* jsou nejrozšířenější v gastrointestinální mikroflóře člověka. Některé kmeny *Enterococcus* spp. jsou vysoce přizpůsobeny několika potravinovým systémům a podílejí se také na fermentační činnosti tradičně vyráběného sýra, trvanlivých fermentovaných uzenin a oliv (Zhang et al., 2022; Chaudhary et al., 2024). Přestože jsou považovány za oportunní patogeny způsobující různé infekce, vykazují také zajímavé probiotické a biokonzervační vlastnosti (Darbandi et al., 2022). Bakteriociny tohoto rodu,

známé jako enterociny, působí jako účinné antimikrobiální látky a zabraňují růstu bakterií, včetně *Staphylococcus* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* spp., *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Vibrio cholera* (Chaudhary et al., 2024).

4.3 Rod *Streptococcus*

Streptokoky jsou běžnou součástí komplexní ústní mikroflóry savců, avšak některé z nich mohou být patogenní. Například *Streptococcus pyogenes* je všudypřítomný organismus, který u lidí vyvolává širokou škálu onemocnění. K jeho inhibici bylo charakterizováno lantibiotikum salivaricin A, které je produkováno *Streptococcus salivarius* a vykazuje silný antibakteriální účinek proti *S. pyogenes*. Další významné peptidové bakteriociny produkuje *Streptococcus mutans*, přičemž tyto látky jsou označovány jako mutaciny. Streptokokové bakteriociny byly rovněž charakterizovány v prostředí souvisejícím s fermentací potravin. Například z řemeslného sýra byl izolován kmen nově popsaneho druhu *Streptococcus macedonicus*, který produkuje lantibiotikum macedocin, zatímco thermophilin 13 byl identifikován u kmene *Streptococcus thermophilus* izolovaného z jogurtu (Nes et al., 2007; Zhang et al., 2022). Ze *Streptococcus uberis* byla izolována varianta nisinu, nisin U, která vykazuje 78% sekvenční podobnost s nisinem A, jenž je produktem *Lactococcus lactis* (Lahiri et al., 2022).

4.4 Rod *Pediococcus*

Pediokoky patří mezi BMK a vyskytují se v rostlinném prostředí často spolu s laktobacily a *Leuconostoc*. V důsledku toho se běžně nacházejí v potravinách rostlinného původu vzniklých fermentačními procesy – například v pivu, moštu, siláži, kysaném zelí nebo fermentované zelenině. Ale mohou se vyskytovat i v dalších typech fermentovaných produktů, například v sýrech či uzeninách (Holland et al., 2011). Rod *Pediococcus* spp. zahrnuje druhy jako *P. ethanolidurans*, *P. inopinatus*, *P. claussenii*, *P. cellicola* a *P. parvulus*, přičemž jednotlivé druhy a kmeny se mohou lišit v toleranci k faktorům, mezi něž patří přítomnost kyslíku, pH, teplota či koncentrace NaCl. Mezi klíčové druhy tohoto rodu, schopné produkovat bakteriociny třídy II, zejména pediocin a další bakteriociny podtřídy IIa, patří *P. pentosaceus*, *P. damnosus* a *P. acidilactici* (Zhang et al., 2022; Karnwal a Malik, 2024). Použití pediocinů v potravinách představuje účinnou alternativu pro jejich ochranu před potravinovými patogeny, jako jsou *L. monocytogenes*, *Pseudomonas*, *E. coli* a *S. aureus* (Bahrami et al., 2024).

4.5 Rod *Carnobacterium*

Bakteriociny z tohoto rodu nejčastěji patří do bakteriocinů třídy I a II, a bývají účinné zejména proti patogenu *L. monocytogenes*. Oba rody, *Listeria* i *Carnobacterium*, jsou psychrotrofní a mají podobné nároky na pH a teplotu. Díky této vlastnosti mohou bakteriociny produkované rodem *Carnobacterium* zabránit růstu *L. monocytogenes* během zpracování a skladování různých chlazených potravin (Cailliez-Grimal et al., 2014; Darbandi et al., 2022). Nejčastější tři druhy, *Carnobacterium piscicola*, *Carnobacterium divergens* a *Carnobacterium maltaromaticum* bývají často izolovány z různých masných a mléčných výrobků. *C. piscicola* produkuje bakteriociny, konkrétně piscikocin VIa a piscikocin VIb o molekulových hmotnostech 4416 Da a 4526 Da. *C. piscicola* 213 produkuje karnocin KZ213 se silnou antilisteriální aktivitou. U *C. maltaromaticum* byla zjištěna schopnost tvorby bakteriocinů třídy IIa, mezi které patří především karnobakteriocin BM1 a karnobakteriocin B2 (Zhang et al., 2022). Nicméně geny pro produkci karnobakteriocinů byly nalezeny i u jiných bakteriálních rodů, např. u *Lactocaseibacillus rhamnosus* nebo *Lac. paracasei* (Rodrigo-Torres et al., 2022).

4.6 Rod *Leuconostoc*

Zástupci rodu *Leuconostoc* jsou heterofermentativní BMK, které se často nacházejí v mezofilních startovacích kulturách. Rostou v těsné symbióze s populací *Lactococcus* a jejich přítomnost je technologicky prospěšná díky schopnosti tvořit aromatické sloučeniny, například diacetyl a acetoin vznikající z citrátu, dále produkovat plyn a syntetizovat dextrany (McAuliffe, 2017). Zástupci *Leuconostoc* spp. jsou rozšířené ve fermentované zelenině, v mléčných výrobcích, v masných výrobcích a ve víně. Bakteriociny tohoto rodu jsou běžně známé jako leukociny, které se řadí nejčastěji do třídy II. Leukocin A byl prvním typem bakteriocinu, izolovaným z *Leuconostoc gelidium* UAL 187, po kterém následoval objev a identifikace různých dalších typů bakteriocinů z rodu *Leuconostoc*. Bylo prokázáno, že několik kmenů *Leuconostoc* spp. produkuje bakteriociny s anti-listeriální aktivitou, včetně *Leuconostoc mesenteroides* Y105 z koziho mléka, *Lcn. mesenteroides* 6 ze sladového ječmene nebo *Lcn. mesenteroides* UL5 z čedaru. Bakteriociny z rodu *Leuconostoc*, tak mohou sloužit jako biokonzervační prostředek pro fermentované potraviny (Xiraphi et al., 2008; Lahiri et al., 2022).

4.7 Rod *Bifidobacterium*

Většina zástupců tohoto rodu je dobře známá jako probiotika s příznivými účinky na lidské zdraví. Bifidobakterie představují významnou skupinu komenzálních bakterií lidského střevního mikrobiomu, kde tvoří přibližně 3-7 % mikrobioty u dospělých jedinců, přičemž u novorozenců je to až 91 % (Martinez et al., 2013; Li et al., 2023a). Jejich antibakteriální účinek je primárně připisován produkci organických kyselin a snižování pH, což vedlo k podceňování jejich schopnosti produkovat bakteriociny. Přesto byla u rodu *Bifidobacterium* prokázána schopnost syntetizovat bakteriociny (Martinez et al., 2013). Konkrétně u kmene *Bifidobacterium animalis* BB04 bylo prokázáno, že purifikovaný bifidocin A vykazuje antimikrobiální aktivity proti širokému spektru mikroorganismů podílejících na kažení potravin, např. *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* a některé kvasinky (Liu et al., 2015).

4.8 Rod *Lactococcus*

Nejznámější příklad bakteriocinu produkovaný zástupcem rodu *Lactococcus* je nisin. Jedná se o tepelně stabilní malý peptid obsahující 34 aminokyselinových zbytků z třídy lantibiotik, který je produkován mnoha kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Taylor, 2015; Lahiri et al., 2022; Zhang et al., 2022; Karnwal a Malik, 2024). Vyskytuje ve více variantách, např. varianta A obsahuje histidin na pozici 27 a varianta Z má asparagin (Juturu a Wu, 2018). Tento bakteriocin vykazuje antimikrobiální účinek pouze proti grampozitivním bakteriím, včetně *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus* a dalších, a obecně neinhibuje gramnegativní bakterie, kvasinky nebo plísňe (Taylor, 2015; Karnwal a Malik, 2024). Nisin byl schválen regulačními orgány ve více než 80 zemích, včetně Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) a Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) (Field et al., 2023). V zemích Evropské unie se nisin, jakožto biokonzervační složka, uvádí pod číselným kódem E234 (Lahiri et al., 2022). Kromě toho byla účinnost nisinu prokázána v různých potravinářských výrobcích, jako jsou konzervované potraviny, cukrovinky, pivovarnictví, živočišné a mořské plody, mléčné výrobky a drůbež (Karnwal a Malik, 2024). Dalším příkladem bakteriocinu produkovaného laktokokem může být i laktokocin A. Producentem je *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (Holo et al., 1991), který se hojně vyskytuje v syrovém nepasterizovaném mléce (Olajide a LaPointe, 2022).

5 SOUČASNÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ BAKTERIOCINŮ

Bakteriociny představují strukturně heterogenní skupinu látek, jejichž genetická informace je kódována vysoce variabilními a komplexními biosyntetickými genovými klastry, které se vyznačují rychlým vývojem. Jak věda o bakteriocinech neustále postupuje, oblasti jejich použití se úměrně zvyšují a zahrnují dříve neznámé oblasti. Od svého objevu se bakteriociny používají ke zlepšení výroby, konzervace a bezpečnosti potravin v potravinářském průmyslu. Jejich potenciál se však nyní rozšířil do různých oblastí, včetně biotechnologie, ekologie, farmacie, zemědělství, klinického prostředí a veterinární medicíny (Reuben a Torres, 2024).

5.1 Potravinářské aplikace

S rostoucím povědomím společnosti o zdravotních rizicích spojených s některými potravinářskými přídatnými látkami se zvyšuje důraz na bezpečnost potravin. V tomto kontextu představuje použití bakteriocinů bezpečnou alternativu, jelikož pocházejí z přírodních zdrojů. V potravinářství nacházejí uplatnění různými způsoby – například jako součást obalů, nebo jako přídatné látky (Cheruvári a Kammara, 2025).

5.1.1 Biokonzervace potravin

Biokonzervace potravin pomocí bakteriocinů představuje perspektivní alternativu k tradičním metodám, které často využívají syntetické konzervační látky, jako jsou dusitaný či benzoát sodný, jež mohou při dlouhodobé konzumaci negativně ovlivňovat lidské zdraví (Mehenktaş, 2022; Putri et al., 2024). Na rozdíl od těchto chemických přísad nabízejí bakteriociny přírodní a udržitelný přístup (Putri et al., 2024). Od svého objevení jsou bakteriociny intenzivně studovány pro své využití v potravinářství. Tyto antimikrobiální látky jsou slibné hlavně tím, že jsou přirozeně syntetizovány, jsou bez barvy, chutě a zápachu, a tedy neovlivňují senzorické vlastnosti potravin. Navíc některé bakteriociny vykazují také stabilitu při vysokých teplotách a při nízkých hodnotách pH, což zvyšuje jejich význam v potravinářském průmyslu (Reuben a Torres, 2024). Například nisin je stabilní při teplotách až do 121 °C, což umožňuje jeho použití i v tepelně zpracovaných potravinách (Moretti de Almeida et al., 2020).

Aby mohl být bakteriocin efektivně využit jako konzervant, musí splňovat několik klíčových požadavků: a) být bezpečný pro lidskou konzumaci a nemít vliv na střevní mikrobiotu, b) účinný proti široké škále nežádoucích mikroorganismů, c) odolný vůči

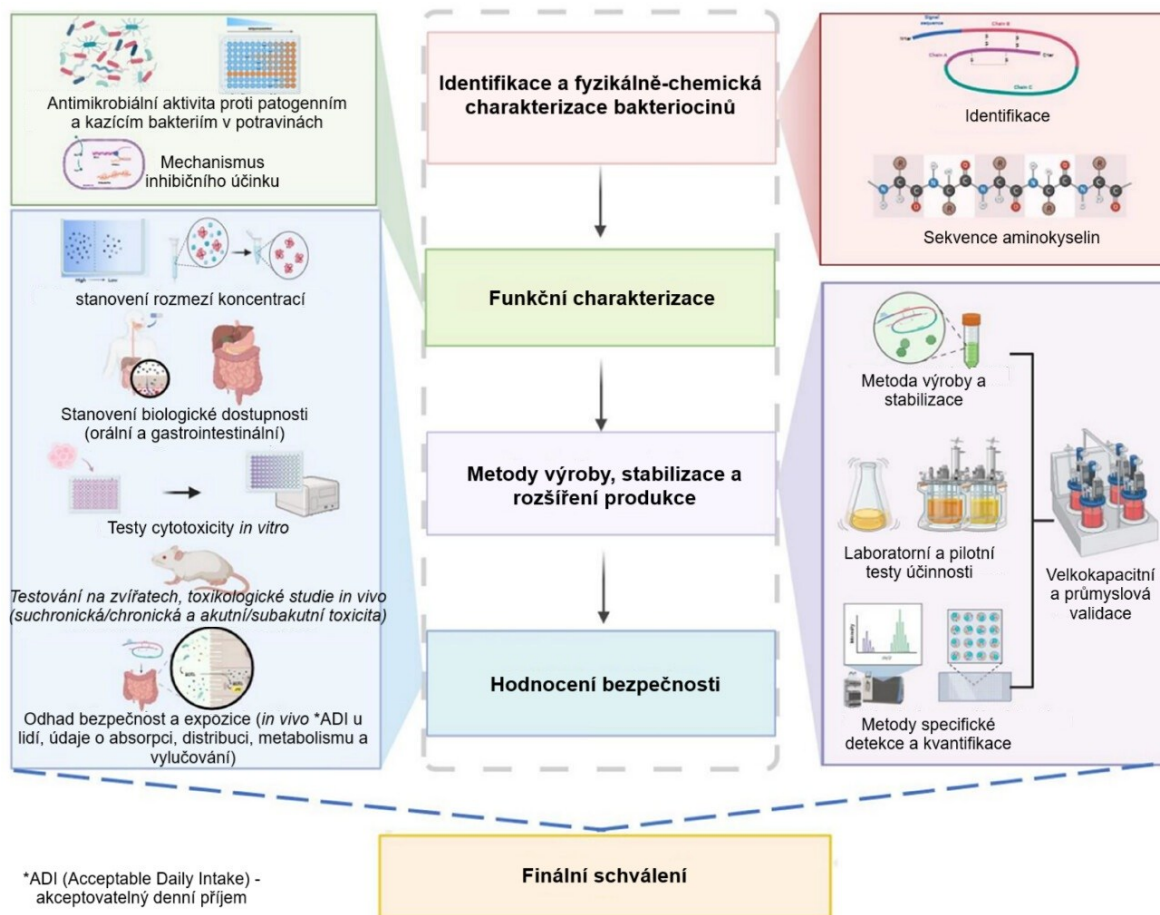
enzymům přítomných v potravinové matrici a d) stabilní při různých teplotách, pH a koncentracích soli, aby vyhovoval různým technikám přípravy potravin (Karnwal a Malik, 2024; Singh et al., 2025). Kmeny produkující bakteriociny by měly být klasifikovány jako potravinářsky bezpečné (GRAS nebo QPS) a vykazovat vysokou specifickou aktivitu proti patogenním mikroorganismům (Mehenktaş, 2022). Příkladem je již dříve zmíněný nisin, první bakteriocin objevený u *Lactococcus lactis*, komerčně dostupný jako Nisaplin®. Dalším příkladem je pediocin PA-1, prodáváný jako Alta® 2341 nebo Microgard™, který je účinný proti *Listeria monocytogenes* v masných výrobcích, a dále enterocin AS-48 se používá v moštech a zeleninových šťávách (Daba et al., 2022; Thapar a Salooja, 2023).

Bakteriociny lze do potravin začleňovat třemi hlavními způsoby: přímým přidáním purifikovaných či polopurifikovaných bakteriocinů, použitím předem fermentované složky s bakteriocinem, nebo inkorporací kultur produkujících bakteriociny přímo do fermentačních procesů (Messaoudi et al., 2013; Negash et al., 2020). Tyto metody umožňují nejen inhibici patogenů, ale také přispívají ke zlepšení kvality potravin, například prevencí nežádoucího pozdního duření během zrání sýra (Morandi et al., 2025).

Lze tedy říci, že potenciální aplikace bakteriocinů může být prospěšná hned v několika aspektech: 1) snížení rizika otravy jídlem 2) snížení křížové kontaminace v potravinovém řetězci 3) zlepšení trvanlivosti potravinářských výrobků 4) snížení ekonomických ztrát v důsledku kažení potravin 5) snížení množství přidávaných chemických konzervačních látek 6) snížení intenzity fyzikálního ošetření za účelem lepšího zachování nutriční hodnoty a případně snížení nákladů na zpracování 7) poskytnutí alternativní metody konzervace „nových potravin“, která odpovídá rostoucí poptávce spotřebitelů po minimálně zpracovaných potravinách s čerstvou chutí a prodlouženou trvanlivostí (Messaoudi et al., 2013; Daba et al., 2022; Reuben a Torres, 2024).

5.1.2 Proces schvalování a regulační požadavky

Předpisy a legislativa týkající se bezpečnosti potravinářských přídatných látek se neustále zpřísnují. Použití bakteriocinů z BMK podléhá různým schvalovacím procesům v závislosti na konkrétní zemi. Obecně jsou bakteriociny považovány za potenciální antimikrobiální činidla nebo potravinářské přídatné látky, jejichž regulaci zajišťují příslušné dozorové orgány – ve Spojených státech je to FDA, v rámci Evropské unie pak EFSA (Liang et al., 2025a).



Obrázek 3: Proces schvalování bakteriocinů; upraveno dle Liang et al. (2025a)

Prvním krokem je podání žádosti regulačním orgánům. Součástí žádosti je i dokument obsahující komplexní informaci o produktu, dále reprezentativní vzorky produktu a zprávy o posouzení bezpečnosti produktu. Regulační orgány poté schvalují použití bakteriocinů v potravinách na základě komplexního hodnocení, které zahrnuje následující kroky (Obrázek 3) (Liang et al., 2025a):

- 1) **Identifikace a fyzikálně-chemická charakterizace bakteriocinů** – zahrnuje stanovení struktury bakteriocinu a jeho biologických vlastností.
- 2) **Funkční testování** – zahrnuje hodnocení antimikrobiální účinnosti proti patogenním a bakteriím způsobujících kažení potravin, stanovení minimální inhibiční koncentrace a mechanismu účinku.
- 3) **Bezpečnostní posouzení** – zahrnuje testy toxicity *in vitro* i *in vivo*, hodnocení absorpce, distribuce, metabolismu a vylučování.

- 4) **Škálování výroby a validace** – zahrnuje optimalizaci produkčních metod, laboratorní a pilotní testy účinnosti, průmyslovou validaci a vývoj metod pro stanovení konečné koncentrace bakteriocinů v potravinách.

Po splnění těchto kroků regulační orgány rozhodují o schválení a povolení k uvedení na trh.

5.1.3 Bioaktivní obaly

Další z inovativních cest využití bakteriocinů k prodloužení trvanlivosti potravin a ochraně před patogenními mikroorganismy, je jejich integrace do obalových materiálů. Zejména jedlé polymerní fólie na bázi přírodních látek (polysacharidy, proteiny a lipidy), umožňují účinné a bezpečné využití těchto antimikrobiálních peptidů (García-Anaya et al., 2025). Tento přístup zajišťuje řízené uvolňování bakteriocinů přímo na povrch potravin, čímž se minimalizuje růst mikroorganismů způsobujících kažení (Bangar et al., 2021).

Bakteriociny lze do polymerních filmů začlenit dvěma způsoby: buď přímým přidáním purifikovaného bakteriocinu do filmogenního roztoku, nebo inkorporací bakteriální kultury schopné bakteriociny produkovat. Aktivní obaly na bázi bakteriocinů byly aplikovány na různých potravinách, včetně ryb, mořských plodů, mléčných a masných výrobků či ovoci. Účinně zde pak bránily růstu následujících patogenů: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis a *Pseudomonas aeruginosa* (García-Anaya et al., 2025).

Například ve studii Liu et al. (2019) vyvinuli obalové fólie na bázi celulózy s přídavkem bakteriocinu bifidocin A, které se ukázaly jako slibná metoda pro potlačení růstu bakterií rodů *Pseudomonas* a *Enterobacteriaceae*. Tyto fólie umožnily prodloužit skladovatelnost čerstvých filetů španělské makrely až na 12 dní bez známek znehodnocení. Bioaktivní obal na bázi želatiny obsahující nisin Z vytvořili vědci Pattanayaiying et al. (2019). Tento obal byl aplikován na tygří krevety a filety chňapala velkookého. Tato forma obalu vykazovala účinnost proti patogenům *Vibrio parahaemolyticus* a *Salmonella* Typhimurium, a to i po 21 dnech skladování v chlazených a mražených podmínkách, což potvrzuje potenciál bakteriocinů v ochraně mořských plodů před mikrobiální kontaminací.

Při vývoji bioaktivních obalů založených na bakteriocinech je třeba zohlednit několik faktorů ovlivňujících jejich účinnost, včetně podmínek skladování, typu bakteriocinu, pH potravin a jejího mikrobiálního složení. Zatímco některé bakteriociny zůstávají stabilní v širším teplotním rozmezí, jiné vyžadují specifické skladovací podmínky, aby si zachovaly svou aktivitu. Kromě toho může být životaschopnost bakteriocinů ovlivněna také

polymerem použitým při výrobě fólie. Neméně důležitým aspektem je i vzhled aktivního obalu, který ovlivňuje přijetí ze strany spotřebitelů a závisí na faktorech, jako je typ bakteriocinu či biopolymeru (García-Anaya et al., 2025). V tomto ohledu Ma et al. (2019) zkoumali integraci *Lactococcus lactis* a zjistili, že jeho přítomnost snižuje lesk a průhlednost filmů. Je tedy důležité vybrat jak bakteriocin, tak polymer, který příliš nemění fyzikální vlastnosti filmů (García-Anaya et al., 2025).

5.2 Klinické a další aplikace

Bakteriociny se kromě potravinářství uplatňují i v medicíně, farmacii, veterinární péči, zemědělství či kosmetice.

Antimikrobiální léčba proti multirezistentním bakteriím

Vzhledem k rostoucí rezistenci bakterií na antibiotika se bakteriociny jeví jako slibná alternativa. Mají vysokou účinnost a specifitu vůči patogenům, jako jsou *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a multirezistentní *Staphylococcus* i při nízkých koncentracích. Studie ukázaly, že mohou sloužit jako adjuvantní terapie s tradičními antibiotiky nebo být produkovány přímo probiotickými bakteriemi, čímž se snižuje riziko jejich degradace enzymy. Výzkum se dále zaměřuje na zapouzdření peptidů pro zvýšení jejich stability (Fernandes a Jobby, 2022).

Protirakovinné účinky

Bakteriociny, jako mikrocin E492 a koliciny (A, D, E1, E2, E3), vykazují selektivní cytotoxicitu vůči rakovinným buňkám díky jejich kladnému náboji, který interaguje se záporně nabitými složkami buněčné stěny nádorových buněk. Mechanismus účinku zahrnuje indukci apoptózy a depolarizaci membrány, což vede k narušení permeability buněk. Přestože mechanismus byl popsán, klinické studie zatím chybí (Soltani et al., 2020; Solis-Balandra a Sanchez-Salas, 2024).

Potenciální antikoncepční účinek

Nisin, subtilosin, fermenticin a lakticin 3147 mohou ovlivnit pohyblivost lidských spermií a tím fungovat jako přirozené spermicidní látky. Fermenticin HV6b produkovaný *Limosilactobacillus fermentum* HV6b navíc inhibuje růst bakterií způsobujících vaginální infekce, čímž by mohl být využit v kombinovaných vaginálních přípravcích (Negash et al., 2020).

Antivirová aktivita

Enterociny produkované *Enterococcus faecium* (např. enterocin CRL35) vykazují antivirový účinek proti virům *Herpes simplex* (HSV-1, HSV-2), což naznačuje jejich potenciál pro použití jako antivirotika (Solis-Balandra a Sanchez-Salas, 2024)

Veterinární využití

Nisin byl testován jako léčba bovinní mastitidy, závažného onemocnění skotu. Injekční formulace na bázi nisinu dokázaly eliminovat 99,9 % bakterií způsobujících infekci, včetně *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae* (Negash et al., 2020).

Podpora růstu rostlin

Bakteriociny produkované rhizobakteriemi mohou zlepšit růst plodin a bojovat proti rostlinným patogenům. Například thuricin 17 (produkce *Bacillus thuringiensis* NEB17) zvyšuje rychlost fotosyntézy, syntézu fytohormonů a podporuje lepší příjem vody a živin (Bisht et al., 2024).

Kosmetika a péče o pleť

Bakteriociny, jako např. ty produkované *Bacillus subtilis* a nisin z *Lactococcus lactis*, vykazují potenciál v kosmetice. Aplikace bakteriocinů z *B. subtilis* vedla ke snížení výskytu *Staphylococcus aureus* na aknézní pleti o 38 % a zároveň k úbytku zánětlivých i nezápětlivých lézí (Alessandrini et al., 2023). Nisin navíc prokázal účinnost jako přírodní konzervant, schopný inhibovat růst grampozitivních bakterií. Navíc v kombinaci s dalšími konzervanty splňoval požadavky normy ISO 11930 pro antimikrobiální ochranu proti širšímu spektru mikroorganismů (Maurício et al., 2017).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části této diplomové práce bylo provést literární rešerši o bakteriocinech produkovaných mikroorganismy s důrazem na jejich charakteristiku, významné producenty a možnosti využití v potravinářství.

V praktické části práce bylo cílem posoudit antimikrobiální aktivitu bakterií získaných z potravinových izolátů a pomocí metody PCR provést bakteriocinotypizaci u produkčních kmenů. Získaná data následně vyhodnotit a porovnat s dostupnými poznatky z literární rešerše a formulovat závěry práce.

7 MATERIÁLY

Tato kapitola zahrnuje seznam použitých pomůcek, přístrojů, chemikálií a kultivačních půd.

7.1 Pomůcky a přístroje

- Laboratorní sklo (zkumavky, kádinky, odměrné válce, lahve).
- Váhy 440-47 N d=0,01 g (KERN, Německo).
- Automatické mikropipety/multipipety (Eppendorf, Německo).
- Biohazard box (Clean Air, Česká republika).
- Dekontaminační digestoř Aura PCR (BioAir, Itálie).
- Centrifuga Eppendorf MiniSpin plus (Eppendorf, Německo).
- Třepačka Vortex Mixer VX-200 (Labnet International, USA).
- Termostat blokový CH-100 (Biosan, USA).
- Termocykler Aeris™ (ESCO, Singapur).
- Termocykler BIO-RAD C1000 Touch™ (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).
- Infinite®M200 (Tecan, Švýcarsko).
- Elektroforetická vana (Cleaver Scientific Ltd, UK)
 - včetně příslušenství (těsnění, hřebínky).
- Elektrický zdroj pro elektroforézu EV243 (Consort, Belgie).
- Elektrický zdroj pro elektroforézu MP-300N (Major Science, USA).
- UV-transimulátor InGeniusLHR (Syngene, UK).
- Další běžné laboratorní pomůcky a vybavení: stojánky, dávkovače, sterilní bakteriologické kličky, sterilní špičky, Petriho misky, zkumavky Eppendorf, mikrozkušavky pro PCR, kryokrabičky, nitrilové rukavice, pravítko, mikrovlnná trouba, termostaty pro kultivaci, lednice, mrazicí box, autokláv.

7.2 Roztoky a chemikálie

- 30% roztok glycerolu.
- 96% ethanol (PENTA, ČR).
- DNeasy® Blood & Tissue Kit (250) (QIAGEN, Německo).
- Destilovaná voda.
- Redestilovaná voda pro molekulární biologii.
- VWR Red Taq DNA Polymerase Master Mix (Avantor, Dánsko).
- Tris-acetátový pufr (TAE pufr) – 2 M Tris-base, 1 M acetát sodný, 50 M EDTA, pH 7,4 (Merck, USA).
- Agaróza SERVA (SERVA, Německo).
- 100 bp DNA Ladder N3231L (Biolabs. Inc., New England).
- Barvivo GelRed (Biotium).
- Primery (Metabion, Německo).

7.3 Kultivační média

Pro reaktivaci a kultivaci poskytnutých izolátů, které byly uchovávány v mrazícím boxu při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly použity následující kultivační média:

Agar Type I (HiMedia, Bombai, Indie)

Pro běžná bakteriologická kultivační média.

Nutrient broth (HiMedia, Bombai, Indie)

Obecně použitelné kultivační médium.

Složení (g/l):

- | | |
|---------------------|-----|
| • Masový pepton | 5 |
| • Hovězí extrakt | 1,5 |
| • Kvasničný extrakt | 1,5 |
| • Chlorid sodný | 5 |

Finální pH (při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) $7,4\pm 0,2$.

***Lactobacillus* MRS Broth (MRS Broth)** (HiMedia, Bombai, Indie)

Pro kultivaci druhů rodu *Lactobacillus* a mléčných tyčinek.

Složení (g/l):

• Proteosový pepton	10
• Hovězí extrakt	10
• Kvasničný extrakt	5
• Dextróza (glukóza)	20
• Polysorbát 80 (Tween 80)	1
• Citran amonný	2
• Octan sodný	5
• Síran hořečnatý	0,1
• Síran manganatý	0,05
• Hydrogenfosforečnan (di)draselný	2

Finální pH (při 25 °C) 6,5±0,2

M17 agar, (Merck KGaA, Darmstadt, Německo)

Pro kultivaci mléčných koků.

Složení (g/l):

• Enzymatický hydrolyzát kaseinu	2,5
• Masový pepton	2,5
• Sojový pepton	5
• Kvasničný extrakt	2,5
• Hovězí extrakt	5
• Laktóza	5
• Kys. askorbová	0,5
• Síran hořečnatý	0,25
• β-glycerofosforečnan (di)sodný	19

Finální pH (při 25 °C) $6,9 \pm 0,2$.

PCA (Plate Count Agar) (HiMedia, Bombai, Indie)

Běžně slouží ke stanovení celkového počtu mikroorganismů.

Složení (g/l):

- | | |
|----------------------------------|-----|
| • Enzymatický hydrolyzát kaseinu | 5 |
| • Kvasničný extrakt | 2,5 |
| • Glukóza | 1 |
| • Agar | 15 |

Finální pH (při 25 °C) $7 \pm 0,2$.

BHI („Brain heart infusion agar“) (Merck KGaA, Darmstadt, Německo)

Pro kultivaci mikroorganismů náročných na výživu.

Složení (g/l):

- | | |
|--|------|
| • Živná směs (extrakty z mozku, srdce a peptonu) | 27,5 |
| • D (+) glukóza | 2 |
| • Chlorid sodný | 5 |
| • Hydrogenfosforečnan disodný | 2,5 |

Finální pH (při 25 °C) $7,4 \pm 0,2$.

Kultivační bujóny byly připravovány podle pokynů výrobce uvedených na obalu. Stanovené množství kultivačního média bylo naváženo na laboratorních vahách do reagenční lahve a následně doplněno požadované množství destilované vody. Suspenze byly následně důkladně homogenizovány a poté pomocí dávkovače bylo určité množství dávkováno do zkumavek, které se následně opatřily víčky a byly sterilizovány pomocí autoklávu.

Příprava pevných kultivačních půd probíhala obdobně, akorát k navážce kultivačního média bylo přidáno ještě určité množství Agarů typ I, aby výsledná koncentrace byla 1,5%. K navážce bylo přidáno odpovídající množství destilované vody a vzniklá suspenze byla homogenizována, uzavřena víčkem a umístěna do autoklávu ke sterilizaci. Po sterilizování se nechala lahev lehce vychladnout, aniž by docházelo k tuhnutí a poté bylo kultivační

médium rozlíváno do připravených sterilních Petriho misek v biohazard boxu. Po utužení média v Petriho miskách byly přemístěny do chladicího boxu, kde byly skladovány až do doby jejich použití.

7.4 Použité bakteriální kmeny

V praktické části byly použity bakteriální kmeny izolované v rámci bakalářské práce Bc. Radka Novotného (Novotný, 2023). Kmeny bakterií byly izolovány z různých druhů mléčných výrobků a následně byly uchovávány v hlubokomrazicím boxu ve zkumavkách obsahující kultivační médium s glycerolem při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

V počátku práce byly vybrány pouze ty kmeny, které dle výzkumu R. Novotného vykazovaly inhibiční účinnost alespoň proti jednomu z pěti testovaných indikátorových mikroorganismů (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*). Tyto kmeny (celkem 133 izolátů) byly dále testovány agar spot testem (kap. 8.2) vůči třem indikátorovým mikroorganismům (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*). Z výsledků spot agar testu byly následně vybrány izoláty vykazující největší antimikrobiální aktivitu vůči všem osmi indikátorovým mikroorganismům. Tyto vybrané kmeny byly následně podrobeny genotypizaci (kap. 8.4). Celkově 30 vybraných kmenů na genotypizaci je uvedeno v Tabulce 2.

Tabulka 2: Seznam a charakteristika vybraných bakteriálních kmenů na genotypizaci

Nové číslo izolátu	Původní číslo izolátu	Identifikovaný kmen	Původ
1	44	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	sýr Krolewski
2	45	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	sýr Krolewski
3	70	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
4	71	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
5	75	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
6	76	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
7	79	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
8	80	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
9	81	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
10	84	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
11	85	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
12	86	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
13	89	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
14	91	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
15	93	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland

Tabulka 2 (pokračování): Seznam a charakteristika vybraných bakteriálních kmenů na genotypizaci

Nové číslo izolátu	Původní číslo izolátu	Identifikovaný kmen	Původ
16	100	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
17	101	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Sýr Madeland
18	120	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Parmazán
19	135	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Parmazán
20	125	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	Parmazán
21	131	<i>Lactobacillus</i> sp.	Parmazán
22	106	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Parmazán
23	109	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Parmazán
24	119	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Parmazán
25	126	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Parmazán
26	9	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Bílý jogurt
27	10	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Bílý jogurt
28	16	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Bílý jogurt
29	19	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Bílý jogurt
30	94	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Balkánský sýr

8 METODIKA

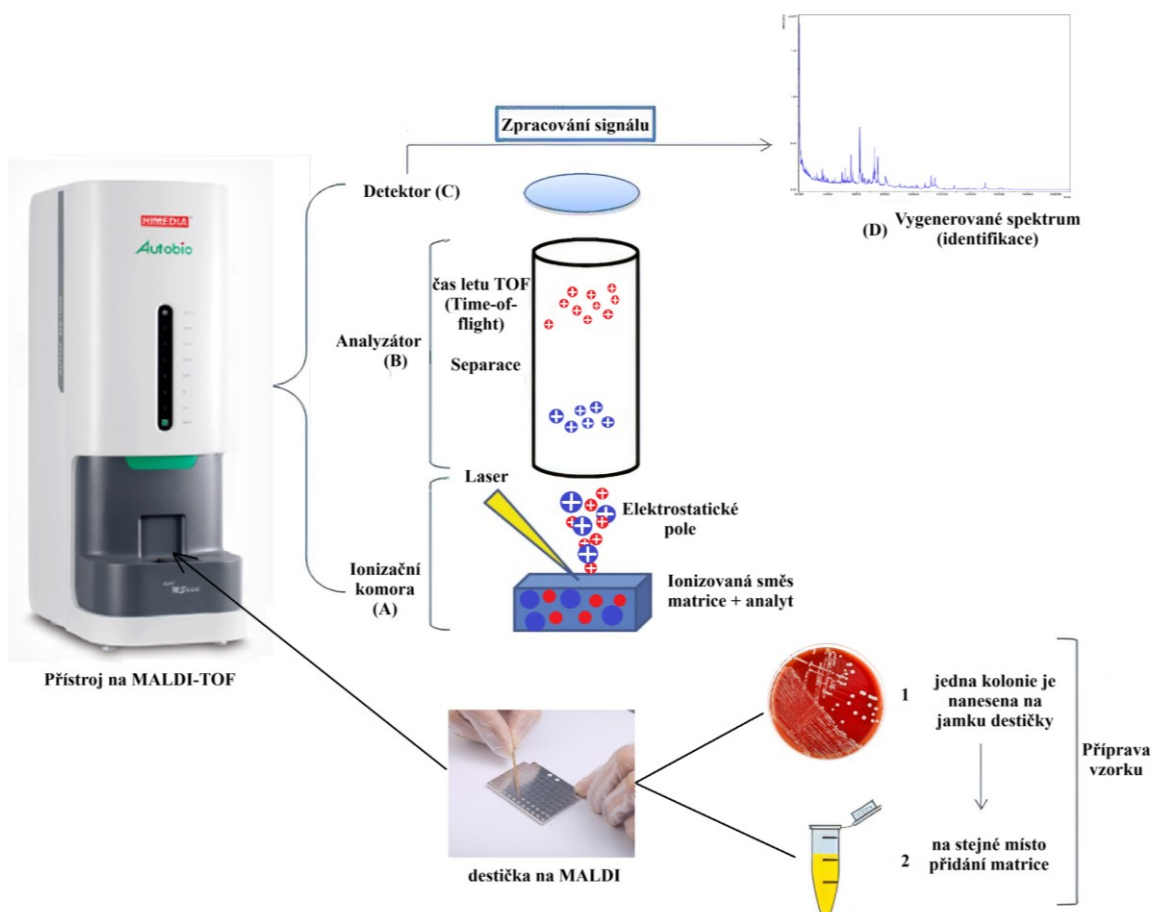
8.1 Obnova a kontrola bakteriálních kmenů

Vzorky poskytnuté k analýze, které byly izolovány a částečně charakterizovány v práci R. Novotného (2023), byly skladovány při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ v hlubokomrazicím boxu. Pro jejich reaktivaci byly nejprve rozmrazeny a následně bylo 100 μl bakteriální suspenze přeneseno do připraveného masopeptonového bujonu (Nutrient broth). Kultivace probíhala po dobu 48 hodin při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokud nedošlo k zřetelnému nárůstu biomasy. Poté byla suspenze sterilní bakteriologickou kličkou přenesena na vhodnou kultivační půdu specifickou pro daný organismus, jak uvádí práce R. Novotného (MRS, M17 nebo PCA agar). Inokulované Petriho misky byly opět inkubovány po dobu 48 hodin při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po uplynutí kultivační doby byla vizuálně hodnocena schopnost růstu a čistota jednotlivých kultur.

8.1.1 Identifikace izolátů pomocí MALDI-TOF

Hmotnostní spektrometrie typu MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry) je založena na vychylování iontů v elektrickém nebo magnetickém poli, přičemž trajektorie iontů závisí na jejich hmotnosti a náboji. Celý proces (viz Obrázek 4) lze rozdělit do tří hlavních kroků: ionizace, analýza a detekce. Nejprve se vzorek připraví na destičce MALDI, kde je smíchán s matricí (1 – jedna kolonie je nanесena na jamku destičky, 2 – přidána matrice). Následně je vzorek analyzován v přístroji MALDI-TOF, kde v ionizační komoře (A) je vysílán laserový paprsek na směs vzorku a matrice, čímž vznikají ionty v plynné fázi. Tyto ionty jsou poté urychleny elektrickým polem a směřovány do analyzátoru (B), který je odděluje podle poměru hmotnosti k náboji (m/z) na základě doby jejich letu (Time-Of-Flight, TOF). Menší molekuly dopadnou na detektor dříve než větší, přičemž ionty se stejným poměrem m/z jsou dále rozlišeny pomocí iontového zrcadla. Detektor (C) pak přijatý iontový proud převádí na elektrický signál, který je zesílen, digitalizován a zpracován do podoby hmotnostního spektra (D), jež slouží k identifikaci vzorku (Lo et al., 2017). Principem identifikace mikroorganismů je srovnání proteinového spektra konkrétního izolátu se spektry referenčních kmenů, které jsou k dispozici v databázi MALDI Biotyper (Bursová et al., 2014).

Izoláty, které se v práci R. Novotného (2023) nepodařilo identifikovat, byly podrobeny znovu identifikaci pomocí MALDI-TOF. Celkově 32 izolátů, které se podařilo dostatečně kultivovat, bylo posláno k dodatečné identifikaci.



Obrázek 4: Princip MS MALDI-TOF

Příprava vzorků:

Zmražené vybrané izoláty byly naočkovány do bujónu BHI a vloženy do termostatu ke kultivaci při teplotě 37 °C po dobu 35 hodin. Po kultivaci byla suspenze důkladně promíchána a přenesena křížovým roztěrem na Petriho misky s BHI agarem. Misky byly opět umístěny do termostatu a inkubovány za stejných podmínek jako v bujónu. Pro přípravu vzorků bylo do Eppendorfovy zkumavky přidáno 300 µl destilované vody, do které bylo sterilní kličkou přeneseno takové množství biomasy, aby vznikl lehký zákal. Poté bylo přidáno 900 µl 96% etanolu a směs byla promíchána. Takto připravené vzorky byly uchovány v kryokrabičkách v mrazicím boxu při –18 °C až do doby převozu na analýzu hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF v laboratoři AgroBioTech v Nitře.

8.2 Agar spot test

Screening antimikrobiální aktivity v podobě agar spot testu byl rozšířen o další tři indikátorové mikroorganismy: *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella aerogenes* a *Pseudomonas aeruginosa*. Celkem bylo testováno vybraných 133 izolátů. Postup testu byl sestaven na základě odborných publikací autorů (Fijan, 2016) a (Choeisoongneen et al., 2020) s určitými modifikacemi.

Postup:

Izolované kmeny byly nejprve předkultivovány v 5 ml živného bujónu při 37 °C po dobu 48 hodin. Z těchto narostlých kultur byly následně nadávkovány 2 µl na povrch pevného média 1,2% MRS. Na jednu Petriho misku bylo pipetováno celkem 7 spotů (ve vzoru 3-4-3), případně 4 spoty (ve vzoru 2-2), pokud bylo při předchozím testování zjištěno, že inhibiční zóny jednotlivých spotů vzájemně interagují. Po nanesení spotů byly misky uzavřeny a ponechány v biohazard boxu po dobu 10 minut, aby se kultura absorbovala do média a následně inkubovány v termostatu při 37 °C po dobu 35 hodin.

Po inkubaci byla provedena inaktivace buněk pomocí UV záření po dobu 30 minut. Petriho misky byly bez víka umístěny do biohazard boxu a bylo spuštěno UV záření. Po uplynutí expoziční doby byly misky uzavřeny.

Indikátorové mikroorganismy byly předem kultivovány z křížových roztěrů v 5 ml BHI bujónu při 37 °C po dobu 18 hodin. Pro zaočkování indikátorových mikroorganismů byl připraven 0,8% BHI agar, který byl po přípravě zchlazen pod tekoucí vodou na teplotu zajišťující přežití indikátorových mikroorganismů (přibližně 45–50 °C). Následně byl zaočkován agar důkladně promíchán a 8 ml bylo rovnoměrně rozlito na misky obsahující spoty. Po ztuhnutí soft agaru byly misky inkubovány při 37 °C po dobu 24 hodin.

Po ukončení inkubace byly druhý den vyhodnoceny inhibiční zóny v okolí jednotlivých spotů. Za pozitivní výsledek byla považována čirá inhibiční zóna o průměru nejméně 1–2 mm. Velikost inhibičních zón byla změřena pravítkem a zaznamenána v milimetrech.

8.3 Izolace a purifikace bakteriální DNA

Vybraných třicet bakteriálních kmenů bylo přeneseno z kryokonzervovaných kultur (–80 °C) do MRS bujónu a byly kultivovány 48 h při 37 °C. Po dostatečné multiplikaci bakterií byla suspenze využita k izolaci DNA pomocí komerční sady DNeasy® Blood & Tissue Kit (250).

Izolace a purifikace bakteriální DNA probíhala dle protokolu dodaného výrobcem. Nejprve bylo 2 ml bakteriální suspenze přeneseno do mikrozkušavek typu Eppendorf a centrifugováno při 14 000 rpm po dobu 2 minut. Po odstranění supernatantu byla bakteriální peleta resuspendována v 200 µl PBS pufru a přidáno 20 µl proteinázy K. Následně bylo přidáno 200 µl pufru AL a směs byla důkladně vortexována. Poté byly vzorky inkubovány při 56 °C po dobu 10 minut. Po inkubaci bylo ke směsi přidáno 200 µl 96% ethanolu a znovu promícháno vortexováním. Vzniklá suspenze byla převedena do filtračních kolonek a centrifugována při 8000 rpm po dobu 1 minuty. Kolonka byla přemístěna do nové sběrné zkumavky, do níž bylo následně přidáno 500 µl pufru AW1 a opět centrifugováno při 8000 rpm po dobu 1 minuty. Tento krok byl zopakován tentokrát s přidáním 500 µl pufru AW2, přičemž centrifugace probíhala při 14 000 rpm po dobu 3 minut. Poté byla provedena kontrolní centrifugace na prázdno za stejných podmínek. Následně byla kolonka přenesena do čisté mikrocetrifugační zkumavky, kde bylo aplikováno 50 µl přehřátého pufru AE (60 °C) a vzorek inkubován při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Konečná eluce DNA byla provedena centrifugací při 14 500 rpm po dobu 1 minuty.

Čistota a koncentrace izolované DNA byly stanoveny spektrofotometricky pomocí přístroje Infinite®M200 (Tecan) při vlnové délce 260 nm, přičemž hodnoty v rozmezí 1,8–2,0 indikují čistou DNA a koncentrace byla vyjádřena v ng/µl. Pro měření byla použita destička Nano Quant, kdy bylo do 12 jamek destičky napipetováno 2 µl blanku (pufr AE) pro kalibraci absorbance. Poté byla destička vyčištěna ethanolem a následně byly analyzovány 2 µl vzorky DNA.

8.4 Molekulární typizace bakteriocinů metodou PCR

Metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) byla použita pro amplifikaci hledaného úseku DNA kódujícího bakteriocin. Pro molekulární typizaci bakteriocinů byly navrženy primery podle autorů uvedených v Tabulce 3, kde jsou zároveň vypsány sekvence daných primerů, velikost výsledného amplikonu (bp) a teploty žíhání (annealingu) jednotlivých primerů. Podmínky amplifikace vycházejí buď přímo z uvedených studií nebo byly vypočteny pomocí online programu „Tm Calculator (Thermo Fsiher Scientific)“ v případech, kdy ve studiích nebyly specifikovány. Samotná PCR reakce poté probíhala v reakčním objemu 25 µl a celé složení reakční směsi je uvedeno v Tabulce 4. Všechny testy PCR zahrnovaly i negativní kontrolu se stejným složením směsi, akorát bez templátové DNA. Směsi pro PCR

byly připravovány v PCR boxu, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku cizorodou DNA. PCR reakce poté byla provedena v termocykleru Aeris™ nebo BIO-RAD (C1000 Touch™).

Tabulka 3: Primery a jejich podmínky amplifikace

Gen	Primer (5'-3') F a R	Velikost amplikonu [bp]	T [°C] žihání	Zdroj
<i>mesY</i>	AGTCTGTGGAAGCATATCAGCA	172	62	(Macwana a Muriana, 2012)
	TACCAAAATCCATTTCCACCAT			
<i>mesB</i>	AAACAAATTTCAAAATCCTTTCAGA	150	62	
	ATTTGTGGTTCTTGATCTTTGC			
<i>lcck</i>	TGAACTGACTGCAATCACTGGT	100	62	
	AAGAGTGCATATGTCCCTTGGT			
<i>B-Tall</i> <i>a</i>	GTAACGGAGTTCATTGCACAAA	103	62	
	TACCAGAAACCATTTCCACCAT			
<i>lcnS</i>	CTTTGGATGCCTTTCGATACTC	144	62	
	GCTACATGAGGTCGACTTTTCC			
<i>lcnA</i>	GAACATGAAACCTACGGAAAGC	165	62	
	CCACCATTTGCTAAACGATGTA			
<i>acdT</i>	AAAGAATTAGCATTAATTTCTGGGG	100	62	
	CGTCAGTATAACGAAGGCTTTCCC			
<i>acdA</i>	GAATTAGCATTAATTTCTGGGGG	199	62	
	AATGAAATGTCTTGCCAAAAGC			
<i>enlA</i>	GGACAACAATTCGGGAACACT	1008	55	(Veljovic et al., 2013)
	GCCAAGTAAAGGTAGAATAAA			
<i>lacA</i>	ATGATAAGTAAAGAAGTGGGC	216	56	(Yu et al., 2020)
	TTAGGCTGGGTGAATGTAATTAGTG			
<i>lacB</i>	ATGTCTTATAATTATCGCCAGCTCG	234	56	
	TTGCATCCCATCTCCTAAGC			
<i>α-peptide</i>	AACAATTGGTGGTGGCATGT	111	58	(Macwana a Muriana, 2012)
	TATCCAAGACGTCCCTTTTTGT			
<i>β-peptide</i>	GAAAAATTTGCCAATATCTCGA	150	58	(Yu et al., 2020)
	ACCATTAATTGGTGAATGGTGA			
<i>cbnBM1</i>	GAGTGTATGTACATGAAAAG	220	47	(Herbin et al., 1997)
	TATCATAACTAGATACCTCT			
<i>cbnA</i>	TTTGGCATGATAGAATGTTC	401	47	
	GAGACTATTGAAAGGCAGTA			
<i>bacSJ2-8</i>	ACTACCCCAGCCATCTCCAA	90	55	(Epishkina et al., 2022)
	TGGAGAGACAAGAGGGGTCA			
<i>hlyJ</i>	TCAAACAAACCAAAGTGACC	440	55	
	CAAGTTGGTGCAGTAAATGGTG			

Tabulka 3 (pokračování): Primery a jejich podmínky amplifikace

Gen	Primer (5'-3') F a R	Velikost amplikonu [bp]	T [°C] žíhání	Zdroj
<i>leuC</i>	AAAT CTTGCATACCCTGTCTCC	490	55	(Chen et al., 2018)
	AGCACAACAATCACGGGTTCA			
<i>leuQ</i>	CTAGCAGGTATGAAAGGA	201	50*	(Sawa et al., 2010)
	TGCAGTTTAGTGCCAACGTT			
<i>leuN</i>	TGGGTGAAGGGAATTTATCA	217	53*	
	CAATGAACAAATATGGTTAACTATC			

* Teplota annealingu vypočítaná pomocí Tm Calculator

Tabulka 4: Složení reakční směsi pro PCR

Komponenty	Objem [μl]	Koncentrace
VWR Red Taq DNA Polymerase Master Mix*	12,5	1x koncentrovaný
Forward primer	0,5	10x zředěný
Reverse primer	0,5	10x zředěný
Templátová DNA	1	-
Sterilní voda pro PCR	10,5	-
Celkem	25	-

*Složení Master Mixu: chlorid hořečnatý, Taq polymeráza, deoxynukleotidy (dNTP), inertní červené barvivo a stabilizátor

8.5 Elektroforéza

K analýze produktů PCR byla použita elektroforéza v agarózovém gelu. Gel byl připraven smícháním 3 g agarózy s 200 ml 1× TAE pufru (Tris-acetátový pufr), čímž vznikl 1,5% agarózový gel. Směs byla zahřívána v mikrovlnné troubě po dobu 3–5 minut, dokud se agaróza zcela nerozpustila a poté byla ponechána k částečnému zchladnutí při laboratorní teplotě. Následně bylo do směsi přidáno barvivo GelRed Nucleic Acid Stain pro vizualizaci DNA. Připravený gel byl nalit do utěsněné formy s hřebínky a ponechán ztuhnout při laboratorní teplotě.

Po ztuhnutí gelu byly hřebínky a těsnění opatrně odstraněny a gel byl ponořen do elektroforetické vany naplněné 1× TAE puftrem. Do vytvořených jamek bylo pipetováno 4 μl molekulárního standardu (100 bp DNA Ladder) a 4 μl PCR produktu. Elektroforéza probíhala při konstantním napětí 120 V po dobu 50 minut. Po ukončení separace byl gel vyjmut z vany, přenesen na transluminátor a vizualizován pod UV světlem. Výsledky byly

zdokumentovány a analyzovány pomocí fotodokumentačního systému GeneSnap, přičemž velikost ampliconů byla určena porovnáním s molekulárním standardem.

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

9.1 Identifikace pomocí MALDI-TOF MS

Z celkového počtu 32 analyzovaných izolátů bylo pomocí metody MALDI-TOF MS úspěšně identifikováno 20 kmenů, zatímco u 12 vzorků se identifikace nezdařila. Mezi úspěšně identifikovanými izoláty byly druhy *Latilactobacillus curvatus*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus zeae*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* a *Lactiplantibacillus plantarum*. Přehled identifikovaných kmenů je uveden v Tabulce 5.

Neúspěšná identifikace u části vzorků mohla být způsobena nedostatečnou koncentrací mikroorganismu ve vzorku, nevhodnou přípravou (např. slabá krystalizace matrice), případně absencí odpovídajících referenčních spekter v databázi pro dané druhy.

Tabulka 5: Výsledky MALDI-TOF

Potravina	Izolát	Identifikace MALDI-TOF	Skóre
Sýr Gouda	32	<i>Latilactobacillus curvatus</i>	1,77
Sýr Gouda	34	<i>Latilactobacillus curvatus</i>	1,96
Sýr Gouda	60	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	2,2
Sýr Gouda	61	<i>Latilactobacillus curvatus</i>	1,96
Sýr Madeland	90	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	2,26
Sýr Madeland	95	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	2,3
Parmazán	105	<i>Lacticaseibacillus zeae</i>	2,01
Parmazán	107	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	2,04
Parmazán	112	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	2,06
Parmazán	113	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	1,71
Parmazán	114	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	1,8
Parmazán	117	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	2,07
Parmazán	122	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	2,08
Parmazán	124	<i>Lacticaseibacillus zeae</i>	2,14
Parmazán	128	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	2,01
Parmazán	130	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	2,05
Parmazán	132	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	1,98
Parmazán	133	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	1,99
Balkánský sýr	139	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	1,71
Sýr Krolevski	151	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1,78

9.2 Agar spot test

Pro komplexnější hodnocení antimikrobiálního spektra izolátů byl agar spot test doplněn, kromě výše zmíněných indikátorových mikroorganismů v kap. 9.1, o testování proti třem dalším: *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella aerogenes* a *Pseudomonas aeruginosa*. Tyto indikátorové mikroorganismy byly zařazeny z důvodu jejich klinické významnosti a potenciálním rizikům.

Pseudomonas aeruginosa je jeden z nejběžnějších potravinových patogenů, který může způsobit závažné akutní a chronické život ohrožující infekce. Hojně se může vyskytovat ve vodě, mléce, mase, ovoci nebo zelenině. Zároveň se jedná o typického producenta biofilmů, které ztěžují jeho odstranění z povrchů i samotných potravin (Li et al., 2023b). Zároveň *P. aeruginosa* představuje kritický klinický patogen, který je schopen rychlých mutací a adaptací vedoucích k získání rezistence na široké spektrum antibiotik. Některé kmeny vykazují multirezistenci, včetně rezistence vůči karbapenemům, polymyxinu B, aminoglykosidům, cefalosporinům a fluorochinolonům. Světová zdravotnická organizace (WHO) proto zařadila *P. aeruginosa* do tzv. „kritické“ skupiny patogenů, pro které je nezbytný urgentní vývoj nových antimikrobiálních látek určených k léčbě v klinické praxi (Qin et al., 2022; Kalaiarasan et al., 2024).

Rod *Klebsiella* není obecně považován za hlavní potravinový patogen (Gelbíčová et al., 2021), ale jedná se o oportunní organismy. U zdravého člověka je riziko infekce poměrně nízké, ale u člověka s oslabeným imunitním systémem může vyvolat infekci (Holland, 2017). *Klebsiella oxytoca* je spojena s nozokomiálními infekcemi močových a dýchacích cest (Gundogan, 2014). Studie Singh et al. (2016) navíc identifikovala *K. oxytoca* jako potenciálně nově vznikající patogen, který vykazuje multirezistenci vůči běžně používaným antibiotikům. V rámci této studie byly zaznamenány rezistence vůči imipenemu, meropenemu, gentamicinu, amikacinu, ceftriaxonu, ciprofloxacinu a aztreonamu. Na rostoucí hrozbu spojenou s *K. oxytoca* reflektuje i komplexní studie Yang et al. (2022), která se zabývá taxonomií, antimikrobiální rezistencí, virulencí a s tím spojené determinující geny. Podobně i *Klebsiella aerogenes* je považována za nově vznikající patogen, přičemž některé kmeny jsou spojovány s výskytem rezistence vůči karbapenemům (Morgado et al., 2024). Kromě svého klinického významu se zástupci tohoto druhu mohou vyskytovat také v prostředí potravinářské výroby, kde představují potenciální hygienické riziko. Některé kmeny totiž vykazují schopnost produkovat biogenní aminy. Například kmen *K. aerogenes*

TI24 izolovaný z fermentovaného rybího produktu byl schopen intenzivní produkce histaminu (Rachmawati et al., 2022).

V rámci této práce bylo celkem 133 izolátů testováno proti těmto třem nově zařazeným indikátorovým mikroorganismům ve dvou opakováních. Za pozitivní výsledek byla považována inhibiční zóna minimálně 1 mm od okraje spotu, jehož průměr byl přibližně 5 mm. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměrné hodnoty celkových inhibičních zón, zahrnující i průměr spotu.

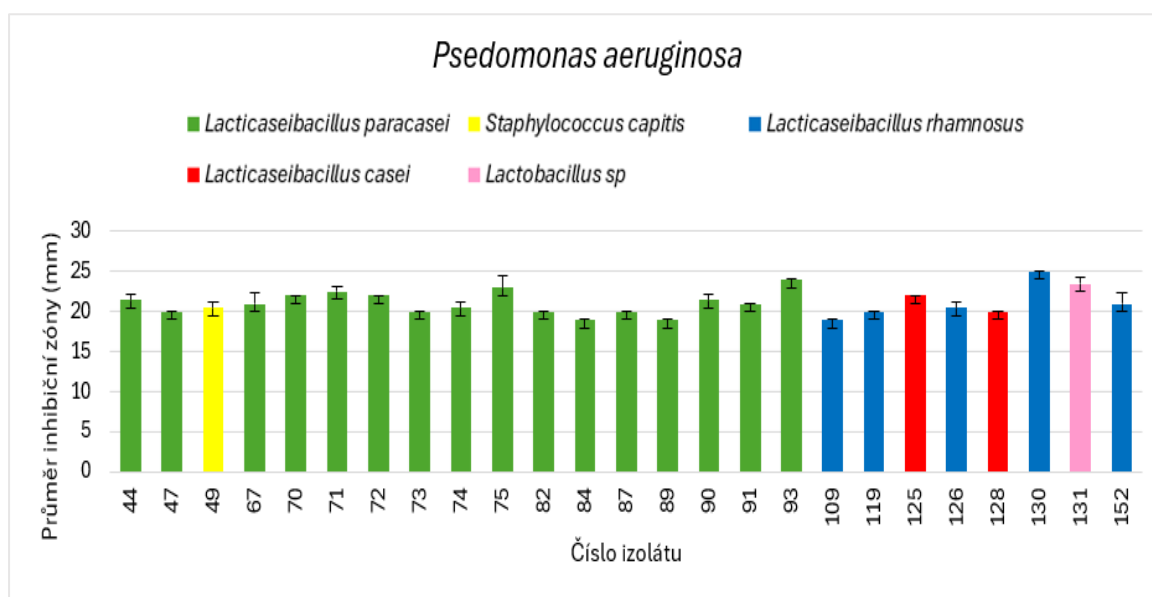
Na základě naměřených dat byly vytvořeny grafy, které znázorňují vybraných 25 izolátů s největší antimikrobiální aktivitou vůči jednotlivým indikátorovým mikroorganismům – *Pseudomonas aeruginosa* (Obrázek 5), *Klebsiella oxytoca* (Obrázek 6), *Klebsiella aerogenes* (Obrázek 7).

V případě *Pseudomonas aeruginosa* celkem 79 ze 133 izolátů (59 %) vykazovalo antimikrobiální aktivitu, přičemž nejvíce byly zastoupeny kmeny *Lac. paracasei*, *Lac. rhamnosus* a *Lac. casei*. Největší průměr inhibiční zóny byl zaznamenán u izolátu č. 130 (*Lac. rhamnosus*), kdy průměr inhibiční zóny dosahoval průměru 25 mm a u izolátu č. 93 (*Lac. paracasei*), kdy průměr zóny činil 24 mm. Podobně i ve studii Girma et al. (2021) prokázaly kmeny *Lac. rhamnosus* a *Lac. paracasei* širokospektrální antimikrobiální účinek, včetně výrazné aktivity proti *P. aeruginosa*. Antimikrobiální potenciál různých kmenů bakterií mléčného kvašení vůči multirezistentním kmenům *P. aeruginosa* byl potvrzen také ve studii Jamalifar et al. (2011). Autoři zjistili citlivost *P. aeruginosa* vůči několika kmenům BMK, konkrétně *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Limosilactobacillus reuteri* a *Lactobacillus gasseri*,

Naproti tomu izoláty identifikované jako *Lim. fermentum* v této práci nevykazovaly žádnou nebo jen velmi slabou antimikrobiální aktivitu proti *P. aeruginosa*. Nicméně bylo popsáno několik případů, kdy byla prokázána významná antimikrobiální aktivita *Lim. fermentum* proti *P. aeruginosa*. Například Shokri et al. (2018) prokázaly u kmene *Lim. fermentum* silné antibakteriální i antibiofilmové účinky proti 80 testovaným kmenům *P. aeruginosa*. Zajímavostí této studie bylo zjištění, že mechanismus inhibice nebyl založen na produkci bakteriocinů, ale souvisel s produkcí tří organických kyselin – kyseliny mléčné, octové a mravenčí. Podobně ve studii Nandi a Mandal (2025) studovali antibakteriální účinky izolátu *Lim. fermentum* 406B izolovaného z tvarohu. Tento kmen prokázal aktivitu

nejen proti *P. aeruginosa*, ale i dalším grampozitivním a gramnegativním patogenním bakteriím.

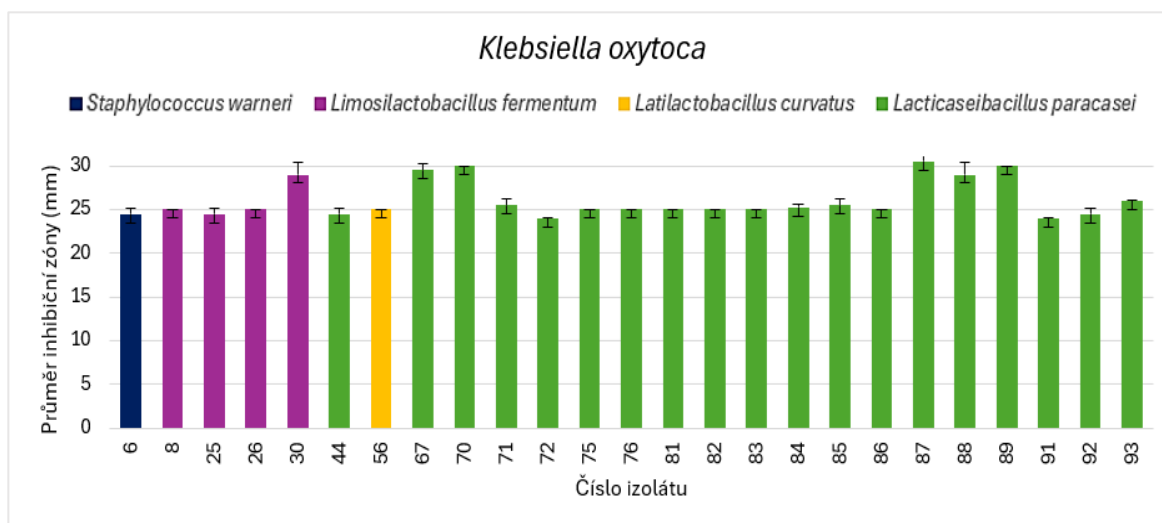
Výběr 25 izolátů s největší inhibiční aktivitou (Obrázek 5) zahrnoval i izolát č. 49 (*Staphylococcus capitis*), u něhož byla zaznamenána inhibiční zóna o velikosti 19,5 mm. Je však nutné poznamenat, že se jedná o kmen (stejně jako kmeny *S. warneri* a *S. epidermidis*), který se dostal s vysokou pravděpodobností do vzorku v důsledku kontaminace. Tato kontaminace mohla vzniknout v důsledku lidské chyby při mikrobiologickém rozboru, jak již bylo podotknuto v práci R. Novotného (2023), odkud tyto izoláty pocházejí.



Obrázek 5: Průměry inhibičních zón u vybraných 25 izolátů vůči *Pseudomonas aeruginosa*

Antimikrobiální aktivita vůči testovanému kmeni *Klebsiella oxytoca* byla nejvýraznější, kdy z celkového počtu 133 izolátů prokázalo aktivitu 115 izolátů (86 %). *K. oxytoca* vykazovala citlivost vůči všem izolátům identifikovaným jako *Lim. fermentum* a s jednou výjimkou i proti všem izolátům *Lac. paracasei*. U izolátů *Lim. fermentum* dosahovaly velikosti inhibičních zón až 29 mm. U izolátů *Lac. paracasei* se velikosti inhibičních zón pohybovaly v rozmezí od 14 do 30,5 mm, přičemž nejvyšší hodnota byla zaznamenána u izolátu č. 87 (*Lac. paracasei*). Mezi 25 vybraných izolátů s největší antimikrobiální aktivitou vůči *K. oxytoca* (Obrázek 6) se umístil i izolát č. 56, identifikovaný jako *Latilactobacillus curvatus*, s inhibiční zónou 25 mm, který v případech proti *P. aeruginosa* ani *K. aerogenes* nedosahoval takové míry inhibice.

Podobné výsledky byly zaznamenány i ve studii Muruzović et al. (2018), která byla zaměřena na hodnocení antagonistického potenciálu BMK izolovaných ze sýra z jihovýchodního Srbska. Autoři zde testovali izolované kmeny vůči pěti indikátorovým mikroorganismům, včetně *K. oxytoca*. Inhibiční aktivitu proti tomuto klinicky významnému mikroorganismu prokázaly izoláty identifikované jako *Lac. paracasei* subsp. *paracasei* a *Lim. fermentum*, což je v souladu i s výsledky této práce.

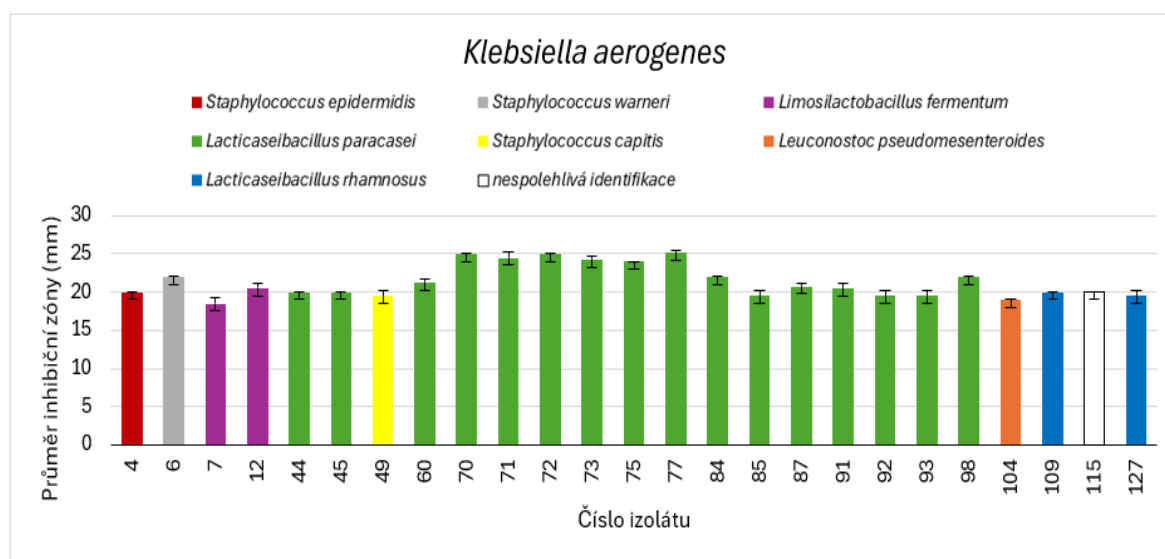


Obrázek 6: Průměry inhibičních zón u vybraných 25 izolátů vůči *Klebsiella oxytoca*

Z výsledků testování antimikrobiální aktivity vůči indikátorovému mikroorganismu *Klebsiella aerogenes* vyplývá, že inhibiční účinek prokázalo celkem 94 izolátů (71 %). Nejčastěji byly zastoupeny kmeny identifikované jako *Lactocaseibacillus paracasei*, *Limosilactobacillus fermentum* a *Lactocaseibacillus rhamnosus*. Nejvyšší hodnoty průměrných inhibičních zón (až 25 mm) byly zaznamenány u izolátů *Lac. paracasei*, konkrétně izolát č. 70, 72 a 77.

Na rozdíl od předchozích grafů (Obrázek 5 a 6), které zobrazují 25 izolátů s nejvyšší antimikrobiální aktivitou vůči ostatním indikátorovým mikroorganismům, se v případě *K. aerogenes* mezi vybrané účinné izoláty zařadil kromě několika stafylokokových kmenů také jeden zástupce rodu *Leuconostoc pseudomesenteroides* a jeden izolát s nespolehlivou identifikací.

V rámci studie Haryani et al. (2023) byl proveden screening antimikrobiální aktivity BMK izolovaných z fermentovaných potravin v Malajsii. Autoři testovali několik kmenů *Lac. rhamnosus*, *Lac. paracasei*, *Lac. casei*, *Lcp. plantarum*, *Lim. fermentum*, *Lactobacillus* sp. a zástupce rodu *Enterococcus* (*E. faecalis*, *E. faecium* a *E. durans*). Z celkového počtu 55 testovaných izolátů vykazoval inhibiční účinek proti *Klebsiella aerogenes* pouze jeden kmen *Lim. fermentum* a jeden kmen *E. faecalis*. Oproti tomu ve studii Behbahani et al. (2024) kmen *Lac. paracasei* B31-2 prokázal širokospektrální antimikrobiální aktivitu vůči šesti indikátorovým mikroorganismům, včetně *K. aerogenes*. Tato širokospektrální antimikrobiální aktivita *Lac. paracasei* je pozorována i v rámci této práce.



Obrázek 7 Průměry inhibičních zón u vybraných 25 izolátů vůči *Klebsiella aerogenes*

Výsledky agar spot testu potvrdily antimikrobiální aktivitu izolovaných bakterií mléčného kvašení (BMK) vůči indikátorovým mikroorganismům *P. aeruginosa*, *K. oxytoca* a *K. aerogenes*. Nejvýraznější inhibiční účinek byl zaznamenán u kmenů identifikovaných jako *Lac. paracasei*, které tvořily většinu mezi 25 nejúčinnějšími izoláty napříč všemi testovanými mikroorganismy. Tyto izoláty prokázaly opakovaně výrazný antimikrobiální potenciál, což podtrhuje jejich možnou využitelnost jako bioprotektivních kultur.

Ačkoli rod *Klebsiella* nebyl dlouhodobě vnímán jako významný cílový mikroorganismus při hodnocení antimikrobiálních účinků BMK, výsledky této práce naznačují, že právě *K. oxytoca* a *K. aerogenes* mohou být vůči metabolitům některých izolátů BMK velmi citlivé. Tento poznatek je obzvláště cenný vzhledem k omezenému počtu dostupných studií, které se zabývají inhibicí těchto bakterií.

Na základě výsledků antimikrobiální aktivity testované v této práci proti indikátorovým mikroorganismům *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* a *Klebsiella aerogenes*, a dále s využitím dat z bakalářské práce Novotného (2023), která hodnotila aktivitu vůči *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella Typhimurium* a *Enterococcus faecalis*, bylo vybráno 30 kmenů vykazující největší antimikrobiální aktivitu vůči všem osmi indikátorovým mikroorganismům. Následně tyto kmeny byly podrobeny molekulární typizaci bakteriocinů. Kmeny s nespolehlivou identifikací a kmeny rodu *Staphylococcus* byly předem vyloučeny z důvodu jejich nerelevantnosti, jelikož kmeny stafylokoků pravděpodobně pocházely z kontaminace během experimentu a nespolehlivá identifikace by znemožňovala spolehlivé přiřazení produkce bakteriocinů.

Souhrnná tabulka obsahující vybraných 30 izolátů včetně velikostí inhibičních zón pro všech osm indikátorových mikroorganismů je uvedena v Příloze I.

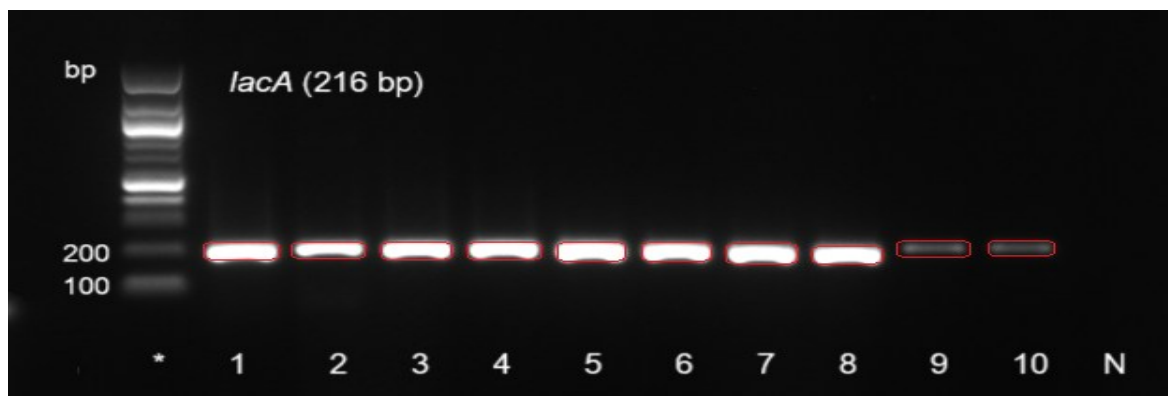
9.3 Molekulární typizace bakteriocinů

Vybraných 30 izolátů zahrnujících zástupce rodů *Lacticaseibacillus*, *Limosilactobacillus* a *Leuconostoc* bylo podrobena molekulární typizaci zaměřené na detekci genů kódujících bakteriociny pomocí metody PCR. Tyto kmeny byly zvoleny na základě své výrazné antimikrobiální aktivity vůči osmi indikátorovým mikroorganismům.

Primery použité v této analýze byly navrženy na základě literární rešerše a dostupných databázových sekvencí. Jejich specifikace, včetně sekvencí a očekávané délky amplifikovaných fragmentů, jsou uvedeny v kapitole 8.4, v Tabulce 3.

9.3.1 Detekce příslušných genů u zástupců z rodu *Lacticaseibacillus* a *Lactobacillus*

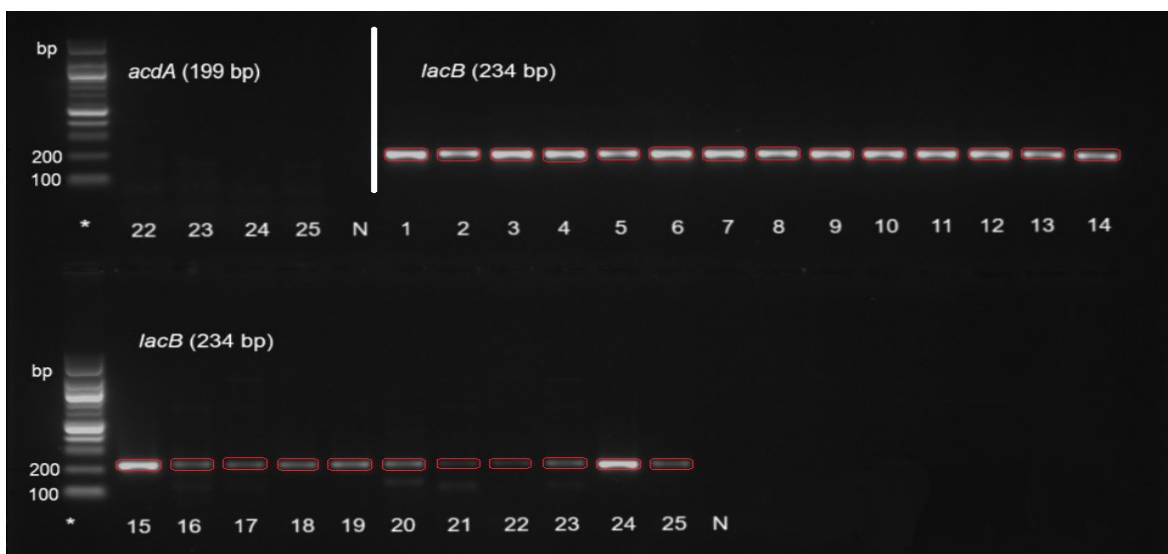
U kmenů *Lacticaseibacillus* byl proveden screening na následující geny: α -peptide, β -peptide, *lacA*, *lacB*, *acdA*, *acdT*, *cbnA*, *cbnBM1* a *bacSJ2-8*. Souhrnné výsledky detekce těchto genů u zkoumaných kmenů jsou uvedeny v Tabulce 6. Mezi prvními testovanými geny kódující bakteriocin laktocin 705 u kmenů *Lacticaseibacillus paracasei* (izolát č. 1–č. 19), kmene *Lac. casei* (izolát č. 20), kmenů *Lac. rhamnosus* (izolát č. 22–č. 25) a kmene z rodu *Lactobacillus* (izolát č. 21) byly α -peptide a β -peptide. Laktocin 705 je bakteriocin třídy IIb, produkováný zejména kmenem *Lac. casei* CRL705 je znám svou antilisterální aktivitou, kdy byla prokázána schopnost inhibovat růst *Listeria monocytogenes* v mletém mase (Garneau et al., 2002; Cuzzo et al., 2003). Přítomnost těchto genů se však u zkoumaných izolátů nepodařilo potvrdit. Naopak u všech sledovaných izolátů z rodu *Lacticaseibacillus* a *Lactobacillus* se podařilo detekovat gen *lacB* kódující laktocin B (Obr. 10) a také u 20 z 25 izolátů gen *lacA* kódující laktocin A (Obr. 8 a 9). Ve studii Yu et al. (2020), z které byly převzaty sekvence primerů, byly tyto geny izolovány rovněž z kmene rodu *Lacticaseibacillus*, konkrétně z *Lac. casei*. Produkce laktocinu B byla potvrzena i u *Lactobacillus acidophilus* autory Barefoot a Klaenhammer (1983). U dvou kmenů *Lacticaseibacillus paracasei* (izolát č. 1 a č. 16) se podařilo dále prokázat přítomnost genu *acdA* o délce 199 bp kódující acidocin A (Obr. 9). Izoláty byly testovány i na gen *acdT*, kódující acidocin 8912, ten se však v této práci nepodařilo prokázat. Oba bakteriociny se řadí do skupiny IIa a jejich producentem bývají nejčastěji kmeny *Lactobacillus acidophilus* (Kanatani et al., 1995; Antoshina et al., 2022). Avšak ve studii prováděné Chen et al. (2024) byly u dvou kmenů *Lac. paracasei* nalezeny geny *acdA* i *acdT*.



Obrázek 8: PCR detekce genů *lacA* u izolátů rodu *Lacticaseibacillus* (č. 1-10); * = marker, N = negativní kontrola



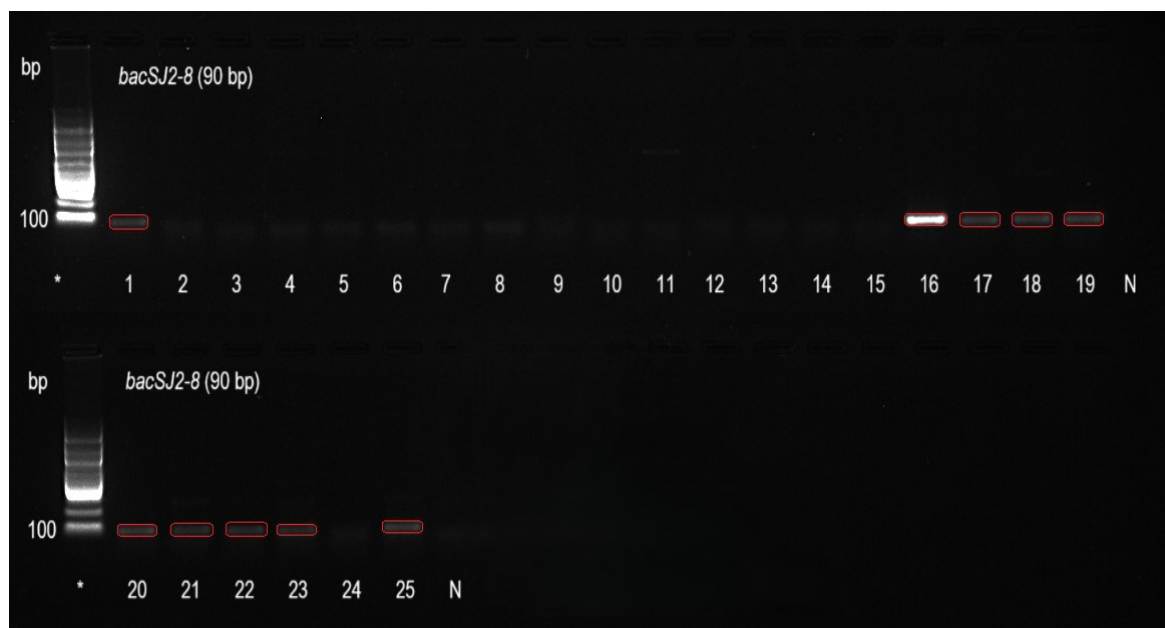
Obrázek 9: PCR detekce genů *lacA* (pokračování) a *acdA* u izolátů rodu *Lacticaseibacillus* + *Lactobacillus* sp.; * = marker, N = negativní kontrola



Obrázek 10: PCR detekce genů *acdA* (pokračování) a *lacB* u izolátů rodu *Lacticaseibacillus* + *Lactobacillus* sp.; * = marker, N = negativní kontrola

Výsledky detekce pro gen *bacSJ2-8* jsou vyobrazeny na Obrázku 11. U deseti z celkem 25 testovaných izolátů byl tento gen detekován, přičemž pozitivní nálezy byly zaznamenány u kmenů *Lac. paracasei* (izoláty č. 1, 16, 17, 18, 19), *Lac. casei* (izolát č. 20), *Lac. rhamnosus* (izoláty č. 22, 23, 25) a také u izolátu *Lactobacillus* sp. (izolát č. 21). Podle údajů z literatury je bakteriocin BacSJ řazen do třídy IId a je produkováný *Lac. paracasei* subsp. *paracasei*. Je kódován genem *bacSJ2-8* na plazmidu pSJ2-8 spolu s geny *bacSJ2-8i*, *abcT* a *acc*, které kódují imunitní protein, ABC transportér a přídatný protein (Kojic et al., 2010). BacSJ je nízkomolekulární tepelně stabilní bakteriocin s aktivitou v širokém rozsahu pH (2–11). Jeho antimikrobiální spektrum je poměrně úzké a zaměřuje se především na blízkce příbuzné druhy (Lozo et al., 2007; Tymoszezewska et al., 2020).

Ve studii Tolinacki et al. (2012) bylo u 52 izolátů *Lac. casei/paracasei* zkoumán výskyt genů kódujících bakteriocin BacSJ (genový klastr *bacSJ2-8/bacSJ2-8i*), ABC-transportér (*abcT*) a přídatný protein (*acc*). Bylo zjištěno, že shluk genů *bacSJ2-8/bacSJ2-8i* byl přítomen u 49 z 52 testovaných kmenů. Dále pak ve studii Epishkina et al. (2022) byl proveden screening kmenů BMK na geny bakteriocinů, přičemž gen *bacSJ2-8* byl detekován u kmene *Latilactobacillus graminis* B-11233. Tento nález spolu s výsledky této diplomové práce, naznačuje, že gen *bacSJ2-8*, tradičně spojovaný s druhem *Lac. paracasei*, může být rozšířen nejen mezi druhy, ale i rody.



Obrázek 11: PCR detekce genu *bacSJ2-8* u izolátů rodu *Lacticaseibacillus* + *Lactobacillus* sp.; * = marker, N = negativní kontrola

Tabulka 6: Výsledky detekce genů kódujících příslušné bakteriociny u testovaných kmenů z rodu *Lacticaseibacillus* a kmene z rodu *Lactobacillus*

Číslo izolátu	Identifikace MO	Testované geny bakteriocinů								
		<i>α-peptide</i>	<i>β-peptide</i>	<i>lacA</i>	<i>lacB</i>	<i>acdA</i>	<i>acdT</i>	<i>cbnA</i>	<i>cbnBM1</i>	<i>bacSJ2-8</i>
1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	+	–	–	–	+
2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
3	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
5	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
6	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
7	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
8	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
9	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
10	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
11	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
12	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
13	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
14	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
15	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
16	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	+	–	–	–	+
17	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	–	+	–	–	–	–	+
18	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	–	+	–	–	–	–	+
19	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	+
20	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	+
21	<i>Lactobacillus</i> sp.	–	–	–	+	–	–	–	–	+
22	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	+
23	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	–	–	–	+	–	–	–	–	+
24	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–
25	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	–	–	–	+	–	–	–	–	+

V rámci molekulární typizace bakteriocinů u zkoumaných kmenů z rodu *Lacticaseibacillus* a izolátu z rodu *Lactobacillus* byli v této práci dále zkoumány geny *cbnA* (kódující karnobakteriocin A) a gen *cbnBM1* (kódující karnobakteriocin BM1). Karnobakteriociny jsou typicky přítomny u rodu *Carnobacterium*. Ačkoli tyto geny nejsou běžně spojovány s rodem *Lacticaseibacillus*, výsledky několika studií (Rodrigo-Torres et al., 2022; Torres-Miranda et al., 2022; Moiseenko et al., 2023) potvrzují přítomnost bakteriocinů typu karnocin CP52 zejména u druhu *Lacticaseibacillus paracasei*, ale také u druhu *Lacticaseibacillus rhamnosus* (Wonglapsuwan et al., 2024). Na základě těchto poznatků bylo předpokládáno, že vybrané kmeny rodu *Lacticaseibacillus* mohou být rovněž

potenciálními producenty karnobakteriocinů, a to buď v důsledku horizontálního přenosu genetické informace, nebo díky přítomnosti homologních oblastí ve svých genomech. Přesto se v rámci této diplomové práce přítomnost genů *cbnA* a *cbnBMI* u testovaných izolátů nepodařilo prokázat.

Ze získaných výsledků je patrné, že všech 25 zkoumaných kmenů neslo alespoň dva geny pro produkci bakteriocinů, přičemž nejčastěji byly detekovány geny *lacA* a *lacB*. U dvou kmenů *Lac. paracasei* (izolát č. 1 a 16) z 19 testovaných byla zjištěna dokonce přítomnost 4 genů (*lacA*, *lacB*, *acdA* a *bacSJ2-8*) kódujících příslušné bakteriociny a u 3 izolátů č. 19, 20 a 22 (*Lac. paracasei*, *Lac. casei* a *Lac. rhamnosus*) byla prokázána přítomnost tří genů: *lacA*, *lacB* a *bacSJ2-8*. Přestože byla u všech 25 testovaných kmenů detekována přítomnost alespoň dvou genů kódujících bakteriociny, nebyla neprokázána jednoznačná souvislost mezi počtem těchto genů a velikostí inhibičních zón pozorovaných při testování antimikrobiální aktivity. Tato skutečnost naznačuje, že samotná přítomnost genů v genomu izolátu ještě nemusí nutně znamenat jejich expresi či funkční aktivitu. Produkce bakteriocinů může být ovlivněna řadou regulačních faktorů, jako je fáze růstu, složení média, pH nebo dostupnost živin (Pujato et al., 2024). Navíc některé bakteriociny nemusí působit synergicky, nebo se jejich účinek nemusí plně projevit za použitých experimentálních podmínek.

Produkce více než jednoho typu bakteriocinu u bakterií mléčného kvašení není nijak výjimečným jevem. Naopak, řada studií potvrzuje, že různé druhy BMK jsou schopny simultánně syntetizovat několik různých bakteriocinů, což může posilovat jejich antimikrobiální účinnost a poskytovat výhodu v konkurenčním mikrobiálním prostředí (O'Shea et al., 2011; Garcia-Gutierrez et al., 2020; Perez et al., 2022). Například studie Moiseenko et al. (2023) pomocí nástroje BAGEL4 odhalila až pět bakteriocinových genových klastrů v genomech kmenů *Lacticaseibacillus paracasei*. Podobně Chen et al. (2023) identifikovali sedm typů bakteriocinových klastrů u pěti kmenů *Lac. paracasei*, přičemž každý kmen nesl minimálně tři klastry. Také v práci Hammi (2016) byl popsán multiproducentní kmen *Lac. paracasei* GRU3, který produkoval čtyři různé bakteriociny – bakteriocin BacSJ, pediocin PA-1, enterocin AS-48 a enterocin B.

Kmeny *Lacticaseibacillus paracasei* přitahují značnou pozornost jako perspektivní producenti bakteriocinů, což potvrzují výsledky bioinformatických analýz i experimentálních studií. Pomocí nástroje BAGEL4 bylo ve studii Ghosh et al. (2019) predikováno 191 potenciálních bakteriocinových sekvencí v genomech 75 kmenů

Lac. paracasei, zahrnujících bakteriociny jako enterolysin A, LSEI_2386, LSEI_2163, termofilin A a karnocin CP52. V literatuře je zároveň popsáno velké množství studií zaměřených na produkci a charakterizaci bakteriocinů právě z řad *Lac. paracasei*. U kmenů *Lac. paracasei* byly popsány bakteriociny jako parakaseicin A (Bendjeddou et al., 2012), paracin C (Pei et al., 2013), bakteriocin F1 (Miao et al., 2014) paracin 1.7 (Ge et al., 2016), či bakteriociny označované podle produkčního kmene, jako BacUB9 (Tolinacki et al., 2010) nebo bakteriocin ZFM54 (Ye et al., 2021). Podobně u příbuzných druhů *Lac. rhamnosus* byly identifikovány bakteriociny, například laktocin 160 (Dover et al., 2007), bakteriocin GP1 (Sarika et al., 2010) nebo rhamnocin 519 (Jeong a Moon, 2015). U kmenu *Lac. casei* pak např. kaseicin 80 (Müller a Radler, 1993).

9.3.2 Detekce příslušných genů u zástupců z rodu *Limosilactobacillus*

Rod *Limosilactobacillus* byl v rámci genotypizace zastoupen čtyřmi izoláty identifikovanými jako *Limosilactobacillus fermentum*. Molekulární analýza byla zaměřená především na detekci genů *enlA* (kódující enterolysin A) a *hlyJ* (kódující helveticin J). Výsledky PCR analýzy těchto genů shrnuje Tabulka 7, z níž vyplývá, že žádný z testovaných izolátů (č. 26–29) nevykazoval přítomnost cílených genů. To může naznačovat, že případná antimikrobiální aktivita těchto kmenů je zprostředkována bakteriociny, jejichž geny nebyly v této práci zjišťovány nebo jinými metabolity, jakými jsou např. organické kyseliny, alkaloidy nebo peptidy (Lian et al., 2024).

Tabulka 7: Výsledky pro detekci genů kódujících bakteriociny pro kmeny *Limosilactobacillus fermentum*

Číslo izolátu	Identifikace MO	Testované geny bakteriocinů	
		<i>enlA</i>	<i>hlyJ</i>
26	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	—	—
27	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	—	—
28	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	—	—
29	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	—	—

Ačkoli se v rámci této diplomové práce nepodařilo prokázat přítomnost genů *enlA* ani *hlyJ*, existují důkazy o výskytu příslušných bakteriocinů u jiných kmenů *Lim. fermentum*. Například ve studii Abdulkarim et al. (2020) byl pomocí bioinformatického nástroje BAGEL v genomu kmene *Lim. fermentum* 3872 detekován bakteriocin enterolysin A, řazený do třídy IIIa. Ve studii Dos Santos et al. (2021) zaměřené na kompletní genomovou analýzu izolátu *Lim. fermentum* ATCC 23271 byla identifikována sekvence vykazující 48% podobnost

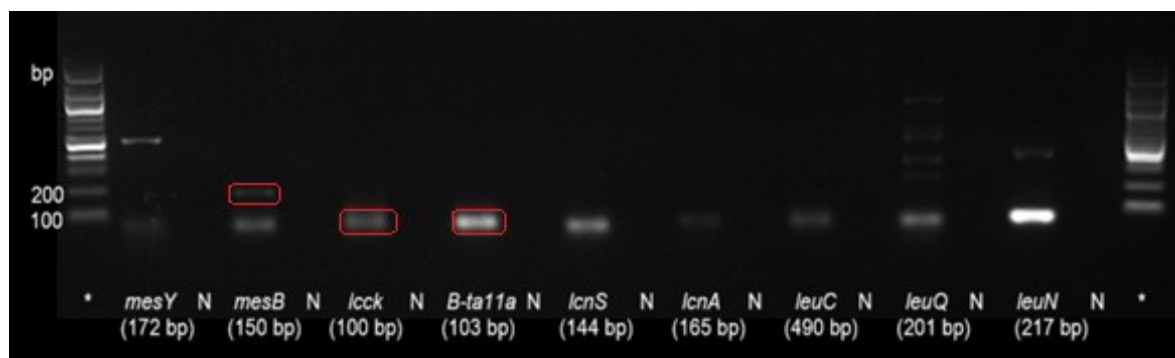
s enterolysinem A. Nelytický bakteriocin třídy IIIb, helveticin J, byl následně detekován u kmene *Lim. fermentum* B-8724 ve studii Epishkina et al. (2022).

Bakteriocinogenní kmeny *Lim. fermentum* se vyskytují vzácně a jejich schopnost produkovat bakteriociny zůstává dosud nedostatečně prozkoumaná. Studie Wayah a Philip (2018) se zaměřila na rozšíření poznatků o biokonzervačním potenciálu tohoto druhu. Autoři ve své studii charakterizovali nový, širokospektrální bakteriocin nazvaný fermencin SA715 izolovaný z *Lim. fermentum* GA715 původem z koziho mléka. Po purifikaci bakteriocinu byl připraven bakteriocinový přípravek SA715, jehož konzervační účinnost byla ověřena na čerstvých banánech. Výsledky ukázaly, že fermencin SA715 dokázal prodloužit jejich trvanlivost na dvojnásobek doby a současně zlepšit jejich mikrobiologickou bezpečnost.

Mimo potravinářský průmysl bakteriociny *Lim. fermentum* našly využití i v klinických aplikacích (Naghmouchi et al., 2020). Například u kmene *Lim. fermentum* 3872, izolovaného z mateřského mléka, byl identifikován nový termolabilní bakteriolysin třídy III (BLF3872), u něhož byla prokázána silná antimikrobiální aktivita proti kmenům *Staphylococcus aureus* rezistentním na antibiotika, včetně těch způsobujících mastitidu (Abramov et al., 2023).

9.3.3 Detekce příslušných genů u zástupců z rodu *Leuconostoc*

Leuconostoc pseudomesenteroides (izolát č. 30) byl v rámci molekulární typizace bakteriocinů podroben detekci na přítomnost genů *mesY*, *mesB*, *lcck*, *B-ta11a*, *lcnS*, *lcnA*, *leuC*, *leuQ* a *leuN*. Výsledky amplifikace jsou znázorněny na Obrázku 12 a shrnuty v Tabulce 8. Pozitivní amplifikace byla zaznamenána u genů *mesB*, *lcck* a *B-ta11a*, zatímco ostatní cílené geny nebyly detekovány.



Obrázek 12: PCR detekce genu *mesY*, *mesB*, *lcck*, *B-Talla*, *lcnS*, *lcnA*, *leuC*, *leuQ* a *leuN* u izolátu *Leuconostoc pseudomesenteroides*; * = marker, N = negativní kontrola

Tabulka 8: Výsledky pro detekci genů kódujících bakteriociny pro rod *Leuconostoc*

Číslo izolátu	Identifikace MO	Testované geny bakteriocinů								
		<i>mesY</i>	<i>mesB</i>	<i>lckk</i>	<i>B-ta11a</i>	<i>lcnS</i>	<i>lcnA</i>	<i>leuC</i>	<i>leuQ</i>	<i>leuN</i>
30	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	–	+	+	+	–	–	–	–	–

Vzhledem k tomu, že *Leuconostoc pseudomesenteroides* byl dříve taxonomicky klasifikován jako poddruh *Leuconostoc mesenteroides* (Farrow et al., 1989), vycházela tato analýza z předpokladu, že bakteriociny produkované *Lcn. mesenteroides*, jako například mesentericin Y105, by mohly být syntetizovány také kmeny *Lcn. pseudomesenteroides*. Stejně tak bylo uvažováno, že *Lcn. pseudomesenteroides* může obsahovat obdobné genetické determinanty příbuzných druhů jako *Lcn. carnosum*, u nějž se vyskytuje bakteriocin B-Ta11a nebo *Lcn. paramesenteroides* produkující leukonocin S (Baker et al., 1996; Tönz et al., 2024).

Právě gen *mesY* kódující bakteriocin mesentericin Y105 a *mesB* mesentericin B105 třídy IIa, je produkovaný *Leuconostoc mesenteroides* Y105 (Hécharde, 1999; Morisset et al., 2004). Ve studii Hécharde (1999) navíc popsali, že strukturní gen, *mesB* byl nalezen na plazmidu pHY30, vedle shluků genů *mesY*. V rámci této práce byla úspěšně detekována pouze přítomnost genu *mesB*, zatímco gen *mesY* detekován nebyl. Tato skutečnost může být důsledkem rozdílné lokalizace daného genu.

Úvahu, že *Lcn. pseudomesenteroides* může sdílet některé bakteriocinové geny s příbuznými druhy, částečně podpořil nález genu *B-ta11a*, který kóduje bakteriocin B-Ta11a běžně produkovaný druhem *Leuconostoc carnosum* (Felix et al., 1994; Hastings et al., 1994). Tento gen byl v rámci provedené analýzy detekován u kmene *Lcn. pseudomesenteroides*, což naznačuje možnost horizontálního přenosu genetické informace nebo zachování evolučně příbuzných sekvencí mezi těmito druhy.

Leukocin A, jehož kódující gen (*lcnA*) se v této práci nepodařilo prokázat, popsali autoři ve studii Hastings et al. (1991) produkovaný bakterií *Leuconostoc gelidium*. Avšak výskyt bakteriocinu třídy IIa leukocinu A byl popsán i ve studii Sawa et. al (2010) u kmene *Lcn. pseudomesenteroides*.

Produkce bakteriocinu leukonocinu S (gen *lcnS*) byla zjištěna u kmene *Leuconostoc paramesenteroides* autory Lewus et al. (1992) a později také Baker et al. (1996). Přestože je tento druh blízce příbuzný s *Lcn. pseudomesenteroides*, přítomnost genu *lcnS* se u analyzovaného kmene *Lcn. pseudomesenteroides* nepodařilo v rámci této práce prokázat.

Bakteriocinová sekvence genu *lcck*, která byla v rámci této práce pozitivně amplifikována, byla čerpána ze studie Macwana a Muriana (2012). Tento gen je odpovědný za produkci leukocinu K. Ve studii Choi a Cheol (1997) u *Leuconostoc* sp. (kmen LAB145-3A), izolovaného z kimchi, byl detekován bakteriocin vykazující aktivitu proti *L. monocytogenes*, *E. faecalis* a *E. faecium*, který byl pojmenován jako leukocin K. Podobně ve studii Shi et al. (2016) byl tento bakteriocin popsán u kmene *Lcn. mesenteroides*, kdy vykazoval antagonistickou aktivitu proti *L. monocytogenes* a autoři naznačují jeho potenciál při konzervaci mléka. Produkce leukocinu K byla popsána i ve studii autorů Barbieri et al. (2025) u jiného rodu, a to u *Lactiplantibacillus paraplantarum*.

Fimland et al. (2002) popsali kompletní aminokyselinovou sekvenci leukocinu C (*leuC*), z třídy IIa produkovaného kmenem *Lcn. mesenteroides*. Později poté ve studii prováděné Chen et al. (2018) bylo zjištěno, že kmen *Lcn. pseudomesenteroides* 607, izolovaný z plodů ovoce kaki, má vysokou inhibiční aktivitu proti *L. monocytogenes* a několika dalším grampozitivním bakteriím. Pomocí analýzy BLAST byl identifikován bakteriocin podobný leukocinu C z *Lcn. mesenteroides*, který se od něj lišil pouze jedinou aminokyselinou. Tento nově popsáný bakteriocin byl označen jako leukocin C-607.

Nové bakteriociny produkované kmenem *Lcn. pseudomesenteroides* QU 15 byly charakterizovány ve studii autorů Sawa et al. (2010) a to konkrétně leukocin Q (*leuQ*) a leukocin N (*leuN*), které byly zařazeny do třídy IIId. Přítomnost těchto genů však v této práci nebyla prokázána.

ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na hodnocení bakteriocinového potenciálu vybraných izolátů bakterií mléčného kvašení (BMK) pocházejících z potravinových matric. Cílem bylo zhodnotit jejich schopnost produkovat antimikrobiální látky a identifikovat přítomnost genů kódujících známé bakteriociny. Práce byla rozdělena do dvou hlavních částí – testování antimikrobiální aktivity pomocí agar spot testu a molekulární detekce bakteriocinových genů pomocí PCR.

Antimikrobiální aktivita byla testována vůči třem indikátorovým mikroorganismům, a to *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella aerogenes* a *Pseudomonas aeruginosa*, které představují z hlediska bezpečnosti potravin potenciální riziko. Nejvyšší inhibiční účinek vykazovaly izoláty proti *K. oxytoca* (86 % aktivních izolátů), dále proti *K. aerogenes* (71 %) a *P. aeruginosa* (59 %). Celkem 62 izolátů vykazovalo aktivitu vůči všem třem testovaným indikátorům. Vzhledem k rostoucímu významu rodu *Klebsiella* jako potravinového kontaminantu a k omezenému počtu studií zkoumajících antagonismus BMK vůči těmto mikroorganismům přináší tato práce cenný poznatek o jejich potenciálu jako bioprotektivních kultur.

Vybrané izoláty patřící do rodů *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Limosilactobacillus* a *Leuconostoc* byly podrobeny molekulární analýze pro detekci genů kódujících známé bakteriociny. Každý ze zkoumaných izolátů nesl minimálně dva z testovaných bakteriocinových genů. Navíc u dvou kmenů *Lac. paracasei* (č. 1 a 16) byly detekovány dokonce čtyři geny kódující bakteriociny: laktocin A (*lacA*), laktocin B (*lacB*), acidocin A (*acdA*) a bakteriocin BacSJ (*bacSJ2-8*). U izolátů *Lacticaseibacillus* byly nejčastěji detekovány geny *lacA* (u 20 z 25) a *lacB* (u všech 25). Gen *bacSJ2-8* byl přítomen u 10 izolátů napříč druhy *Lac. paracasei*, *Lac. casei*, *Lac. rhamnosus* a *Lactobacillus* sp. Gen *acdA* byl prokázán u dvou kmenů *Lac. paracasei* (izolát č. 1 a 16). U kmenu *Leuconostoc pseudomesenteroides* byly detekovány geny *mesB*, *lccA* a *B-tal1a*. Tyto geny dosud nebyly podle dostupné literatury u tohoto druhu zjištěny a jejich přítomnost tak významně přispívá k rozšíření poznatků o genetické rozmanitosti bakteriocinů v rámci rodu *Leuconostoc*. Naopak u *Limosilactobacillus fermentum* nebyly detekovány geny *enlA* ani *helvJ*, což naznačuje, že jejich antimikrobiální aktivita může být zprostředkována jinými bakteriociny, jejichž geny nebyly v této práci zjišťovány nebo zcela odlišnými metabolity např. organické kyseliny, alkaloidy a peptidy.

Získané výsledky ukazují na značný biokonzervační potenciál vybraných izolátů BMK, zejména s ohledem na jejich široké spektrum antimikrobiální aktivity. Tyto kmeny se tak jeví jako perspektivní kandidáti pro použití jako ochranné kultury v potravinářství, například v mléčných nebo fermentovaných produktech.

Budoucí výzkum by mohl být zaměřen na: celogenomovou sekvenaci, pro predikci dalších bakteriocinových sekvencí; purifikaci a detailní charakterizaci bakteriocinů včetně stanovení jejich proteinové struktury; vliv kultivačních podmínek (např. pH, teploty či složení média) na produkci bakteriocinů a jejich optimalizace. V neposlední řadě také testování těchto kmenů v reálných potravinářských matricích, aby byla potvrzena jejich praktická využitelnost.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABDULKARIM, I. H.; MOHAMMED, S. S. D. a ORUKOTAN, A. A., 2020. Gene Identification for Bacteriocin Production by Lactic Acid Bacteria Isolated from Selected Fermented Foods. Online. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. Roč. 3, č. 4 s. 1-12. ISSN 2582-3698. Dostupné z: <https://doi.org/10.9734/ajbgmb/2020/v3i430090>. [cit. 2025-04-17].

ABRAMOV, Vyacheslav M.; KOSAREV, Igor V.; MACHULIN, Andrey V.; PRIPUTNEVICH, Tatiana V.; DERYUSHEVA, Evgenia I. et al., 2023. *Limosilactobacillus fermentum* 3872 That Produces Class III Bacteriocin Forms Co-Aggregates with the Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains and Induces Their Lethal Damage. Online. *Antibiotics*. Roč. 12, č. 3. ISSN 2079-6382. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030471>. [cit. 2025-04-19].

AHMAD, Varish; KHAN, Mohd Sajid; JAMAL, Qazi Mohammad Sajid; ALZOHAIKY, Mohammad A.; AL KARAAWI, Mohammad A. et al., 2017. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. Online. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Roč. 49, č. 1, s. 1-11. ISSN 09248579. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.08.016>. [cit. 2025-04-01].

AHMED, Zaheer; WANG, Yanping; CHENG, Qiaoling a IMRAN, M., 2010. *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, from production to their application: An overview. Online. *African Journal of Biotechnology*. Roč. 9, č. 20, s. 2843-2850. ISSN 1684-5315. Dostupné z: <https://doi.org/10.5897/AJB09.013>. [cit. 2025-03-27].

AL-OMARI, A. W.; MATTER, I. R. a ALMOLA, A. H., 2022. An Overview of Bacteriocins. Online. *Samarra Journal of Pure and Applied Science*. Roč. 4, č. 2, s. 58-72. ISSN 2663-7405. Dostupné z: <https://doi.org/10.54153/sjpas.2022.v4i2.369>. [cit. 2025-02-18].

ALESSANDRINI, Giuseppe; MERCURI, Santo; MARTELLA, Alessandro; FERRARA, Francesca; SIMONETTI, Vito et al., 2023. Topical application of bacteriocins from *Bacillus subtilis* promotes *Staphylococcus aureus* decolonization in acneic skin and improves the clinical appearance of mild-to-moderate acne. Online. *Advances in Dermatology and Allergology*. Roč. 40, č. 1, s. 115-118. ISSN 1642-395X. Dostupné z: <https://doi.org/10.5114/ada.2022.124108>. [cit. 2025-04-06].

ALJOHANI, Aeshah Basheer; AL-HEJIN, Ahmed Mahmoud a SHORI, Amal Bakr, 2023. Bacteriocins as promising antimicrobial peptides, definition, classification, and their potential applications in cheeses. Online. *Food Science and Technology*. Roč. 43. ISSN 1678-457X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/fst.118021>. [cit. 2025-03-04].

ALMEIDA-SANTOS, Ana C.; NOVAIS, Carla; PEIXE, Luísa a FREITAS, Ana R., 2021. Enterococcus spp. as a Producer and Target of Bacteriocins: A Double-Edged Sword in the Antimicrobial Resistance Crisis Context. Online. *Antibiotics*. Roč. 10, č. 10. ISSN 2079-6382. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10101215>. [cit. 2025-03-26].

ANTOSHINA, Daria V.; BALANDIN, Sergey V.; BOGDANOV, Ivan V.; VERSHININA, Maria A.; SHEREMETEVA, Elvira V. et al., 2022. Antimicrobial Activity and Immunomodulatory Properties of Acidocin A, the Pediocin-like Bacteriocin with the Non-Canonical Structure. Online. *Membranes*. Roč. 12, č. 12. ISSN 2077-0375. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/membranes12121253>. [cit. 2025-04-17].

BAHRAMI, Sara; ANDISHMAND, Hashem; PILEVAR, Zahra; HASHEMPOUR-BALTORK, Fataneh; TORBATI, Mohammadali et al., 2024. Innovative perspectives on bacteriocins: advances in classification, synthesis, mode of action, and food industry applications. Online. *Journal of Applied Microbiology*. Roč. 135, č. 11. ISSN 1365-2672. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae274>. [cit. 2025-02-22].

BAKER, Robert C.; WINKOWSKI, Karen a MONTVILLE, Thomas J., 1996. PH-Controlled fermentors to increase production of leuconocin S by *Leuconostoc paramesenteroides*. Online. *Process Biochemistry*. Roč. 31, č. 3, s. 225-228. ISSN 13595113. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(95\)00048-8](https://doi.org/10.1016/0032-9592(95)00048-8). [cit. 2025-04-21].

BANERJEE, Samanwita; KANAUIA, Anil; MALIK, Suruchi a SHARMA, Surbhi, 2022. Bacteriocins: Potential usages and mechanism of action. Online. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*. Roč. 09, č. 08, s. 7897-7906. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/366216970_bacteriocins_potential_usage_and_mechanism_of_action#fullTextFileContent. [cit. 2025-02-26].

BANGAR, Sneha Punia; CHAUDHARY, Vandana; THAKUR, Neha; KAJLA, Priyanka; KUMAR, Manoj et al., 2021. Natural Antimicrobials as Additives for Edible Food Packaging Applications: A Review. Online. *Foods*. Roč. 10, č. 10. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods10102282>. [cit. 2025-04-09].

BARBIERI, Federica; TABANELLI, Giulia; COMAS-BASTÉ, Oriol; LATORRE-MORATALLA, Mariluz; ANGELUCCI, Chiara et al., 2025. Improvement of the safety of artisanal Spanish fermented sausages: Spotlight on the role of bacteriocinogenic *Lactiplantibacillus paraplantarum* against a *Companilactobacillus alimentarius* histaminogenic strain. Online. *Food Control*. Roč. 168. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110962>. [cit. 2025-05-01].

BAREFOOT, S F a KLAENHAMMER, T R, 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. Online. *Applied and Environmental Microbiology*. Roč. 45, č. 6, s. 1808-1815. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/aem.45.6.1808-1815.1983>. [cit. 2025-05-01].

BEHBAHANI, Behrooz Alizadeh; JOOYANDEH, Hossein; TAKI, Morteza a FALAH, Fereshteh, 2024. Evaluation of the probiotic, anti-bacterial, anti-biofilm, and safety properties of *Lactocaseibacillus paracasei* B31-2. Online. *LWT*. Roč. 207. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116676>. [cit. 2025-04-15].

BENDJEDDOU, Kamel; FONS, Michel; STROCKER, Pierre a SADOUN, Djamilia, 2012. Characterization and purification of a bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BMK2005, an intestinal isolate active against multidrug-resistant pathogens. Online. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Roč. 28, č. 4, s. 1543-1552. ISSN 0959-3993. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0958-1>. [cit. 2025-04-19].

BISHT, Vishakha; DAS, Biki; HUSSAIN, Ajmal; KUMAR, Vinod a NAVANI, Naveen Kumar, 2024. Understanding of probiotic origin antimicrobial peptides: a sustainable approach ensuring food safety. Online. *Npj Science of Food*. Roč. 8, č. 1. ISSN 2396-8370. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41538-024-00304-8>. [cit. 2025-03-31].

BURSOVÁ, Šárka; DUŠKOVÁ, Marta; NECIDOVÁ, Lenka; KARPÍŠKOVÁ, Renata a MYŠKOVÁ, Petra, 2014. *Mikrobiologické laboratorní metody*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-676-6.

CAILLIEZ-GRIMAL, C.; AFZAL, M.I. a REVOL-JUNELLES, A.-M., 2014. *Carnobacterium*. Online. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, s. 379-383. ISBN 9780123847331. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00381-5>. [cit. 2025-03-25].

CAPURSO, Lucio, 2019. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG. Online. *Journal of Clinical Gastroenterology*. Roč. 53, č. 1, s. 1-41. ISSN 0192-0790. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001170>. [cit. 2025-04-29].

CUOZZO, Sergio A.; CASTELLANO, Patricia; SESMA, Fernando J.M.; VIGNOLO, Graciela M. a RAYA, Raul R., 2003. Differential Roles of the Two-Component Peptides of Lactocin 705 in Antimicrobial Activity. Online. *Current Microbiology*. Roč. 46, č. 3, s. 180-183. ISSN 0343-8651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00284-002-3844-0>. [cit. 2025-04-17].

DABA, Ghoson M.; ELNAHAS, Marwa O. a ELKHATEEB, Waill A., 2022. Beyond biopreservatives, bacteriocins biotechnological applications: History, current status, and promising potentials. Online. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Roč. 39. ISSN 18788181. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102248>. [cit. 2025-02-12].

DARBANDI, Atieh; ASADI, Arezoo; MAHDIZADE ARI, Marzieh; OHADI, Elnaz; TALEBI, Malihe et al., 2022. Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. Online. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. Roč. 36, č. 1. ISSN 0887-8013. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcla.24093>. [cit. 2024-11-25].

DEMIRGÜL, Furkan; KAYA, Halil İbrahim; UCAR, Redife Aslıhan; MITAF, Naciye Afranur a ŞİMŞEK, Ömer, 2025. Expanding Layers of Bacteriocin Applications: From Food Preservation to Human Health Interventions. Online. *Fermentation*. Roč. 11, č. 3. ISSN 2311-5637. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/fermentation11030142>. [cit. 2025-03-16].

DOS SANTOS, Camilla I.; CAMPOS, Carmem D. L.; NUNES-NETO, Wallace R.; DO CARMO, Monique S.; NOGUEIRA, Flávio A. B. et al., 2021. Genomic Analysis of *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 23271, a Potential Probiotic Strain with Anti-*Candida* Activity. Online. *Journal of Fungi*. Roč. 7, č. 10. ISSN 2309-608X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jof7100794>. [cit. 2025-04-20].

DOVER, Sara E.; AROUTCHEVA, Alla A.; FARO, S. a CHIKINDAS, Michael L., 2007. Safety Study of an Antimicrobial Peptide Lactocin 160, Produced by the Vaginal *Lactobacillus rhamnosus*. Online. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. Roč. 2007, s. 1-6. ISSN 1064-7449. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2007/78248>. [cit. 2025-04-19].

EPISHKINA, Julia M.; ROMANOVA, Maria V.; CHALENKO, Marina A.; KHROMOVA, Natalya Yu.; KARETKIN, Boris A. et al., 2022. Evaluation of Rye Bran Enzymatic

Hydrolysate Effect on Gene Expression and Bacteriocinogenic Activity of Lactic Acid Bacteria. Online. *Fermentation*. Roč. 8, č. 12. ISSN 2311-5637. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/fermentation8120752>. [cit. 2025-03-19].

FARROW, J. A. E.; FACKLAM, R. R. a COLLINS, M. D., 1989. Nucleic Acid Homologies of Some Vancomycin-Resistant *Leuconostocs* and Description of *Leuconostoc citreum* sp. nov. and *Leuconostoc pseudomesenteroides* sp. nov. Online. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Roč. 39, č. 3, s. 279-283. ISSN 0020-7713. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/00207713-39-3-279>. [cit. 2025-04-20].

FELIX, Joseline V.; PAPATHANASOPOULOS, Maria A.; SMITH, Arlene A.; VON HOLY, Alexander a HASTINGS, John W., 1994. Characterization of leucocin B-Ta11a: A bacteriocin from *Leuconostoc carnosum* Ta11a isolated from meat. Online. *Current Microbiology*. Roč. 29, č. 4, s. 207-212. ISSN 0343-8651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01570155>. [cit. 2025-05-02].

FERNANDES, Abigail a JOBBY, Renitta, 2022. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. Online. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Roč. 194, č. 10, s. 4377-4399. ISSN 0273-2289. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>. [cit. 2025-04-01].

FIELD, Des; FERNANDEZ DE ULLIVARRI, Miguel; ROSS, R Paul a HILL, Colin, 2023. After a century of nisin research - where are we now? Online. *FEMS Microbiology Reviews*. Roč. 47, č. 3. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad023>. [cit. 2025-03-27].

FIJAN, Sabina, 2016. Antimicrobial Effect of Probiotics against Common Pathogens. Online. In: RAO, Venketeshwer a RAO, Leticia G. (ed.). *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. InTech. ISBN 978-953-51-2475-7. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/63141>. [cit. 2025-04-08].

FIMLAND, Gunnar; SLETTEN, Knut a NISSEN-MEYER, Jon, 2002. The complete amino acid sequence of the pediocin-like antimicrobial peptide leucocin C. Online. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Roč. 295, č. 4, s. 826-827. ISSN 0006291X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00769-6](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00769-6). [cit. 2025-05-02].

GABRIELSEN, Christina; BREDE, Dag A.; NES, Ingolf F.; DIEP, Dzung B. a MÜLLER, V., 2014. Circular Bacteriocins: Biosynthesis and Mode of Action. Online. *Applied and*

Environmental Microbiology. Roč. 80, č. 22, s. 6854-6862. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.02284-14>. [cit. 2025-04-12].

GARCÍA-ANAYA, Mayra C.; SEPÚLVEDA, David R. a ACOSTA-MUÑIZ, Carlos H., 2025. Contributing factors to the migration of antimicrobials in active packaging films. Online. *Food Research International*. Roč. 200. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115514>. [cit. 2025-03-29].

GARCIA-GUTIERREZ, Enriqueta; O'CONNOR, Paula M.; COLQUHOUN, Ian J.; VIOR, Natalia M.; RODRÍGUEZ, Juan Miguel et al., 2020. Production of multiple bacteriocins, including the novel bacteriocin gassericin M, by *Lactobacillus gasseri* LM19, a strain isolated from human milk. Online. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Roč. 104, č. 9, s. 3869-3884. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10493-3>. [cit. 2025-04-19].

GARNEAU, Sylvie; MARTIN, Nathaniel I a VEDERAS, John C, 2002. Two-peptide bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Online. *Biochimie*. Roč. 84, č. 5-6, s. 577-592. ISSN 03009084. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01414-1](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01414-1). [cit. 2025-04-17].

GE, Jingping; SUN, Yanyang; XIN, Xing; WANG, Ying a PING, Wenxiang, 2016. Purification and Partial Characterization of a Novel Bacteriocin Synthesized by *Lactobacillus paracasei* HD1-7 Isolated from Chinese Sauerkraut Juice. Online. *Scientific Reports*. Roč. 6, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/srep19366>. [cit. 2025-04-19].

GELBÍČOVÁ, Tereza; KOŘENÁ, Kristýna; POSPÍŠILOVÁ-HLUCHÁŇOVÁ, Lucie; STRAKOVÁ, Nicol a KARPÍŠKOVÁ, Renáta, 2021. Dissemination and characteristics of *Klebsiella* spp. at the processed cheese plant. Online. *Czech Journal of Food Sciences*. Roč. 39, č. 2, s. 113-121. ISSN 12121800. Dostupné z: <https://doi.org/10.17221/232/2020-CJFS>. [cit. 2025-04-10].

GHOSH, Samrat; SARANGI, Aditya Narayan; MUKHERJEE, Mayuri; BHOWMICK, Swati a TRIPATHY, Sucheta, 2019. Reanalysis of *Lactobacillus paracasei* Lbs2 Strain and Large-Scale Comparative Genomics Places Many Strains into Their Correct Taxonomic Position. Online. *Microorganisms*. Roč. 7, č. 11. ISSN 2076-2607. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110487>. [cit. 2025-04-17].

GIRMA, Abayeneh; AEMIRO, Aleka a DI CERBO, Alessandro, 2021. Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Ethiopian Traditional Dairy Products against Food Spoilage and Pathogenic Bacterial Strains. Online. *Journal of Food Quality*. Roč. 2021, s. 1-10. ISSN 1745-4557. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2021/9978561>. [cit. 2025-04-14].

GRADISTEANU PIRCALABIORU, Gratiela; POPA, Laura Ioana; MARUTESCU, Luminita; GHEORGHE, Irina; POPA, Marcela et al., 2021. Bacteriocins in the Era of Antibiotic Resistance: Rising to the Challenge. Online. *Pharmaceutics*. Roč. 13, č. 2. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020196>. [cit. 2025-02-20].

GUNDOGAN, N., 2014. Klebsiella. Online. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, s. 383-388. ISBN 9780123847331. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00172-5>. [cit. 2025-04-10].

HARYANI, Yuli; HALID, Nadrah Abd; GUAT, Goh Sur; NOR-KHAIZURA, M A R; HATTA, Asyraf et al., 2023. Characterization, molecular identification, and antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from selected fermented foods and beverages in Malaysia. Online. *FEMS Microbiology Letters*. Roč. 370. ISSN 1574-6968. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnad023>. [cit. 2025-04-15].

HASSAN, Mahreen Ul; NAYAB, Hina; REHMAN, Tayyab Ur; WILLIAMSON, Mike P.; HAQ, Khayam Ul et al., 2020. Characterisation of Bacteriocins Produced by *Lactobacillus* spp. Isolated from the Traditional Pakistani Yoghurt and Their Antimicrobial Activity against Common Foodborne Pathogens. Online. *BioMed Research International*. Roč. 2020, č. 1. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2020/8281623>. [cit. 2025-04-09].

HÉCHARD, Yann, 1999. Characterization of the *mesB* Gene and Expression of Bacteriocins by *Leuconostoc mesenteroides* Y105. Online. *Current Microbiology*. Roč. 39, č. 5, s. 265-269. ISSN 0343-8651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s002849900457>. [cit. 2025-04-21].

HERBIN, Sabine; MATHIEU, Florence; BRULÉ, Fabienne; BRANLANT, Christiane; LEFEBVRE, Gérard et al., 1997. Characteristics and Genetic Determinants of Bacteriocin Activities Produced by *Carnobacterium piscicola* CP5 Isolated from Cheese. Online. *Current Microbiology*. Roč. 35, č. 6, s. 319-326. ISSN 0343-8651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s002849900262>. [cit. 2025-03-19].

HOLLAND, Kimberly, 2017. What Is Klebsiella Oxytoca? Online. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/klebsiella-oxytoca>. [cit. 2025-04-10].

HOLLAND, R.; CROW, V. a CURRY, B., 2011. Lactic Acid Bacteria | *Pediococcus* spp. Online. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, s. 149-152. ISBN 9780123744074. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00269-7>. [cit. 2025-03-26].

HOLO, H; NILSSEN, O a NES, I F, 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: isolation and characterization of the protein and its gene. Online. *Journal of Bacteriology*. Roč. 173, č. 12, s. 3879-3887. ISSN 0021-9193. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/jb.173.12.3879-3887.1991>. [cit. 2025-03-27].

HOURIGAN, David; MICELI DE FARIAS, Felipe; O'CONNOR, Paula M.; HILL, Colin; ROSS, R. Paul et al., 2024. Discovery and synthesis of leaderless bacteriocins from the Actinomycetota. Online. *Journal of Bacteriology*. Roč. 206, č. 11, s. e00298-24. ISSN 0021-9193. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/jb.00298-24>. [cit. 2025-04-12].

CHAN, Ka Teng; SONG, Xin; SHEN, Leyao; LIU, Nian; ZHOU, Xuedong et al., 2023. Nisin and its application in oral diseases. Online. *Journal of Functional Foods*. Roč. 105. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105559>. [cit. 2025-02-12].

CHAUDHARY, Arati; PRAJAPATI, Nidhi; PRAJAPATI, Ansh; SINGH, Sachidanand; JOSHI, Madhvi et al., 2024. Postbiotic emissaries *Enterococcus* species: a comprehensive review on the bioprospecting and production of bioactive compounds by *Enterococcus* species. Online. *International Journal of Food Science and Technology*. Roč. 59, č. 10, s. 6769-6782. ISSN 0950-5423. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ijfs.17431>. [cit. 2025-03-26].

CHEN, Yi-sheng; WU, Hui-chung; KUO, Cheng-yu; CHEN, Yu-wei; HO, Sin et al., 2018. Leucocin C-607, a Novel Bacteriocin from the Multiple-Bacteriocin-Producing *Leuconostoc pseudomesenteroides* 607 Isolated from Persimmon. Online. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Roč. 10, č. 2, s. 148-156. ISSN 1867-1306. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9359-6>. [cit. 2025-03-19].

CHEN, Zhuo; JIANG, Xiuqi; LI, Lin; LIU, Dengyi; ZHAO, Fan et al., 2024. Bacteriocinogenic *Lactocaseibacillus paracasei* strains from Inner Mongolian fermented milk efficiently control pathogenic bacteria in model cheddar-like cheese. Online. *Food Bioscience*. Roč. 57. ISSN 22124292. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103516>. [cit. 2025-04-17].

CHERUVARI, Athira a KAMMARA, Rajagopal, 2025. Bacteriocins future perspectives: Substitutes to antibiotics. Online. *Food Control*. Roč. 168. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110834>. [cit. 2025-02-18].

CHOEISOONGNEEN, Thiwanya; SIVAMARUTHI, Bhagavathi Sundaram; SIRILUN, Sasithorn; PEERAJAN, Sartjin; CHOSET, Yvan et al., 2020. Screening and identification of bacteriocin-like inhibitory substances producing lactic acid bacteria from fermented products. Online. *Food Science and Technology*. Roč. 40, č. 3, s. 571-579. ISSN 1678-457X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/fst.13219>. [cit. 2025-04-10].

JAIN, Priyanshi M.; NELLIKA, Anagha a KAMMARA, Rajagopal, 2024. Understanding bacteriocin heterologous expression: A review. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. Roč. 277. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133916>. [cit. 2025-02-18].

JAMALIFAR, H; RAHIMI, Hamid Reza; SAMADI, Nasrin; SHAHVERDI, Ahmad Reza; SHARIFIAN, Z et al., 2011. Antimicrobial activity of different *Lactobacillus* species against multi-drug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Online. *Iranian Journal of Microbiology*. Roč. 3, č. 1. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/221844980_Antimicrobial_activity_of_different_Lactobacillus_species_against_multidrug_resistant_clinical_isolates_of_Pseudomonas_aeruginosa. [cit. 2025-04-15].

JEONG, Ye-Jin a MOON, Gi-Seong, 2015. Antilisterial Bacteriocin from *Lactobacillus rhamnosus* CJNU 0519 Presenting a Narrow Antimicrobial Spectrum. Online. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. Roč. 35, č. 1, s. 137-142. ISSN 1225-8563. Dostupné z: <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.1.137>. [cit. 2025-04-17].

JUTURU, Veeresh a WU, Jin Chuan, 2018. Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. Online. *Biotechnology Advances*. Roč. 36, č. 8, s. 2187-2200. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.10.007>. [cit. 2024-11-21].

KALAIARASAN, Ellappan; ALEX, Anoop; NARASIMHA, Harish Belgode a SEHGAL, Rakesh, 2024. Characterization of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Virulence Determinants in Colistin- and Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Online. *Microbiology Research*. Roč. 15, č. 3, s. 1814-1825. ISSN 2036-7481. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microbiolres15030121>. [cit. 2025-04-14].

KANATANI, K; OSHIMURA, M a SANO, K, 1995. Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. Online. *Applied and Environmental Microbiology*. Roč. 61, č. 3, s. 1061-1067. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/aem.61.3.1061-1067.1995>. [cit. 2025-04-17].

KARNWAL, Arun a MALIK, Tabarak, 2024. Exploring the untapped potential of naturally occurring antimicrobial compounds: novel advancements in food preservation for enhanced safety and sustainability. Online. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, Roč. 8. ISSN 2571-581X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1307210>. [cit. 2025-03-26].

KOJIC, Milan; LOZO, Jelena; JOVCIC, Branko; STRAHINIC, Ivana; FIRA, Djordje et al., 2010. Construction of a new shuttle vector and its use for cloning and expression of two plasmid-encoded bacteriocins from *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2–8. Online. *International Journal of Food Microbiology*. Roč. 140, č. 2-3, s. 117-124. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.010>. [cit. 2025-04-18].

KUMARIYA, Rashmi; GARSA, Anita Kumari; RAJPUT, Y.S.; SOOD, S.K.; AKHTAR, Nadeem et al., 2019. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. Online. *Microbial Pathogenesis*. Roč. 128, s. 171-177. ISSN 08824010. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>. [cit. 2025-03-16].

LAHIRI, Dibyajit; NAG, Moupriya; DUTTA, Bandita; SARKAR, Tanmay; PATI, Siddhartha et al., 2022. Bacteriocin: A natural approach for food safety and food security. Online. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Roč. 10. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1005918>. [cit. 2025-02-12].

LEWUS, Catherine B.; SUN, Stephen a MONTVILLE, Thomas J., 1992. Production of an Amylase-Sensitive Bacteriocin by an Atypical *Leuconostoc paramesenteroides* Strain. Online. *Applied and Environmental Microbiology*. Roč. 58, č. 1, s. 143-149. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/aem.58.1.143-149.1992>. [cit. 2025-05-02].

LI, Long-Qing; CHEN, Xu; ZHU, Jie; ZHANG, Shuyan; CHEN, Si-Qian et al., 2023a. Advances and challenges in interaction between heteroglycans and *Bifidobacterium*: Utilization strategies, intestinal health and future perspectives. Online. *Trends in Food Science & Technology*. Roč. 134, s. 112-122. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.02.018>. [cit. 2025-03-28].

LI, Xuejie; GU, Nixuan; HUANG, Teng Yi; ZHONG, Feifeng a PENG, Gongyong, 2023b. *Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. Online. *Frontiers in Microbiology*. Roč. 13. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1114199>. [cit. 2025-04-10].

LIAN, Yinyin; LUO, Siyang; SONG, Jiajia; ELLOUZE, Ines; YANG, Yang et al., 2024. Antimicrobial mechanism of *Limosilactobacillus fermentum* SHY10 metabolites against pickle film-producing strain by metabolomic and transcriptomic analysis. Online. *Food Bioscience*. Roč. 57. ISSN 22124292. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103561>. [cit. 2025-05-05].

LIANG, Qingping; LIU, Zhemin; LIANG, Ziyu; FU, Xiaodan; LI, Dongyu et al., 2025a. Current challenges and development strategies of bacteriocins produced by lactic acid bacteria applied in the food industry. Online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Roč. 24, č. 1. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70038>. [cit. 2025-02-26].

LIANG, Qingping; ZHOU, Wei; PENG, Siyuan; LIANG, Ziyu; LIU, Zhemin et al., 2025b. Current status and potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria applied in the food industry. Online. *Current Research in Food Science*. Roč. 10. ISSN 26659271. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2025.100997>. [cit. 2025-03-31].

LIU, Guorong; LI, Xue; HAO, Xu; WANG, Chengtao a SUN, Baoguo, 2019. Effects of Bioactive Packaging Films Incorporated with Bifidocin A on Microbial Reduction and Quality Parameters of Chill-Stored Spanish Mackerel (*Scomberomorus niphonius*) Fillets. Online. *Journal of Food Quality*. Roč. 2019, s. 1-10. ISSN 0146-9428. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2019/7108382>. [cit. 2025-04-09].

LIMA, Emília Maria França; SOUTELINO, Maria Eduarda Marques; SILVA, Adriana Cristina de Oliveira; PINTO, Uelinton Manoel; TODOROV, Svetoslav Dimitrov et al., 2025. Current Updates on *Limosilactobacillus reuteri*: Brief History, Health Benefits, Antimicrobial Properties, and Challenging Applications in Dairy Products. Online. *Dairy*. Roč. 6, č. 2. ISSN 2624-862X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/dairy6020011>. [cit. 2025-04-29].

LIU, Guorong; REN, Li; SONG, Zhenqin; WANG, Chengtao a SUN, Baoguo, 2015. Purification and characteristics of bifidocin A, a novel bacteriocin produced by

Bifidobacterium animals BB04 from centenarians' intestine. Online. *Food Control*. Roč. 50, s. 889-895. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.049>. [cit. 2025-03-28].

LO, Cheikh Ibrahima; SAMB-BA, Bissoume; FALL, Becaye a FLAUDROPS, Christophe, 2017. Value of matrix assisted laser desorption ionizationtime of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry in clinical microbiology and infectious diseases in Africa and tropical areas. Online. *African Journal of Microbiology Research*. Roč. 11, č. 35, s. 1360-1370. Dostupné z: <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8181>. [cit. 2025-03-31].

LOZO, Jelena; JOVCIC, Branko; KOJIC, Milan; DALGALARRONDO, Michèle; CHOBERT, Jean-Marc et al., 2007. Molecular Characterization of a Novel Bacteriocin and an Unusually Large Aggregation Factor of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8, a Natural Isolate from Homemade Cheese. Online. *Current Microbiology*. Roč. 55, č. 3, s. 266-271. ISSN 0343-8651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00284-007-0159-1>. [cit. 2025-04-18].

LUND, David; PARRAS-MOLTÓ, Marcos; INDA-DÍAZ, Juan S.; EBMEYER, Stefan; LARSSON, D. G. Joakim et al., 2025. Genetic compatibility and ecological connectivity drive the dissemination of antibiotic resistance genes. Online. *Nature Communications*. Roč. 16, č. 1. ISSN 2041-1723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41467-025-57825-3>. [cit. 2025-03-25].

MA, Donghui; JIANG, Yue; AHMED, Saeed; QIN, Wen a LIU, Yaowen, 2019. Physical and antimicrobial properties of edible films containing *Lactococcus lactis*. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. Roč. 141, s. 378-386. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.006>. [cit. 2025-03-29].

MACWANA, Sunita J. a MURIANA, Peter M., 2012. A 'bacteriocin PCR array' for identification of bacteriocin-related structural genes in lactic acid bacteria. Online. *Journal of Microbiological Methods*. Roč. 88, č. 2, s. 197-204. ISSN 01677012. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.11.008>. [cit. 2025-03-19].

MATHIESEN, Geir; HUEHNE, Kathrin; KROECKEL, Lothar; AXELSSON, Lars a EIJSINK, Vincent G. H., 2005. Characterization of a New Bacteriocin Operon in *Sakacin P*-Producing *Lactobacillus sakei*, Showing Strong Translational Coupling between the Bacteriocin and Immunity Genes. Online. *Applied and Environmental Microbiology*. Roč.

71, č. 7, s. 3565-3574. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.3565-3574.2005>. [cit. 2025-04-29].

MARTINEZ, Fabio Andres Castillo; BALCIUNAS, Eduardo Marcos; CONVERTI, Attilio; COTTER, Paul D. a DE SOUZA OLIVEIRA, Ricardo Pinheiro, 2013. Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review. Online. *Biotechnology Advances*. Roč. 31, č. 4, s. 482-488. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.010>. [cit. 2025-03-27].

MAURÍCIO, Elisabete; ROSADO, Catarina; DUARTE, Maria; VERISSIMO, Joana; BOM, Sara et al., 2017. Efficiency of Nisin as Preservative in Cosmetics and Topical Products. Online. *Cosmetics*. Roč. 4, č. 4. ISSN 2079-9284. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cosmetics4040041>. [cit. 2025-04-06].

MCAULIFFE, Olivia, 2017. Genetics of Lactic Acid Bacteria. Online. In: *Cheese*. Elsevier, s. 227-247. ISBN 9780124170124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00009-0>. [cit. 2025-03-27].

MEHENKTAŞ, Cesur, 2022. Bakteriyosinler: Sınıflandırılmaları, Etki Mekanizmaları ve Gıda Muhafazasında Kullanımları. Online. *Akademik Gıda*. Roč. 20, č. 2, s. 194-198. ISSN 1304-7582. Dostupné z: <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.1149889>. [cit. 2025-03-29].

MEKALA, Pooja Narayan a ANSARI, Rukhsar Mohammad Hashnath, 2023. Biotechnological potential of lactic acid bacteria derived bacteriocins in sustainable food preservation. Online. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. Roč. 14, č. 3, s. 024-035. ISSN 25825542. Dostupné z: <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2023.14.3.0245>. [cit. 2025-03-11].

MESSAOUDI, S.; MANAI, M.; KERGOURLAY, G.; PRÉVOST, H.; CONNIL, N. et al., 2013. *Lactobacillus salivarius*: Bacteriocin and probiotic activity. Online. *Food Microbiology*. Roč. 36, č. 2, s. 296-304. ISSN 07400020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.05.010>. [cit. 2025-03-27].

MIAO, Jianyin; GUO, Haoxian; OU, Yangwen; LIU, Guo; FANG, Xiang et al., 2014. Purification and characterization of bacteriocin F1, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* FX-6 from Tibetan kefir, a traditional fermented milk from Tibet, China. Online. *Food Control*. Roč. 42, s. 48-53. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.041>. [cit. 2025-04-19].

MOISEENKO, Konstantin V.; BEGUNOVA, Anna V.; SAVINOVA, Olga S.; GLAZUNOVA, Olga A.; ROZHKOVA, Irina V. et al., 2023. Biochemical and Genomic Characterization of Two New Strains of *Lactobacillus paracasei* Isolated from the Traditional Corn-Based Beverage of South Africa, Mahewu, and Their Comparison with Strains Isolated from Kefir Grains. Online. *Foods*. Roč. 12, č. 1. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12010223>. [cit. 2025-04-17].

MORANDI, Stefano; SILVETTI, Tiziana; BONAZZA, Francesca; SICILIANO, Rosa Anna; MAZZEO, Maria Fiorella et al., 2025. Effect of cheese-making and ripening processes on the anti-*Clostridium* activity of *Lactococcus* strains. Online. *Food Research International*. Roč. 209. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116239>. [cit. 2025-03-30].

MORETTI DE ALMEIDA, Gabriel; NÓBREGA MENDONÇA, Carlos Miguel; CONVERTI, Attilio a PINHEIRO DE SOUZA OLIVEIRA, Ricardo, 2020. Kinetic and thermodynamic parameters of nisin thermoinactivation. Online. *Journal of Food Engineering*. Roč. 280. ISSN 02608774. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.109986>. [cit. 2025-04-06].

MORGADO, Sergio; FONSECA, Érica; FREITAS, Fernanda; CALDART, Raquel a VICENTE, Ana Carolina, 2024. In-depth analysis of *Klebsiella aerogenes* resistome, virulome and plasmidome worldwide. Online. *Scientific Reports*. Roč. 14, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57245-1>. [cit. 2025-04-14].

MORISSET, Dany; BERJEAUD, Jean-Marc; MARION, Didier; LACOMBE, Christian a FRÈRE, Jacques, 2004. Mutational Analysis of Mesentericin Y105, an Anti-*Listeria* Bacteriocin, for Determination of Impact on Bactericidal Activity, In Vitro Secondary Structure, and Membrane Interaction. Online. *Applied and Environmental Microbiology*. Roč. 70, č. 8, s. 4672-4680. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.8.4672-4680.2004>. [cit. 2025-04-20].

MÜLLER, E. a RADLER, F., 1993. Caseicin, a bacteriocin from *Lactobacillus casei*. Online. *Folia Microbiologica*. Roč. 38, č. 6, s. 441-446. ISSN 0015-5632. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02814392>. [cit. 2025-04-19].

MURUZOVIĆ, Mirjana Ž.; MLADENOVIĆ, Katarina G.; ŽUGIĆ-PETROVIĆ, Tanja D. a ČOMIĆ, Ljiljana R., 2018. Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditionally made Serbian Cheese and evaluation of their antagonistic potential against

Enterobacteriaceae. Online. *Journal of Food Processing and Preservation*. Roč. 42, č. 4. ISSN 01458892. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13577>. [cit. 2025-04-15].

NAGHMOUCHI, Karim; BELGUESMIA, Yanath; BENDALI, Farida; SPANO, Giuseppe; SEAL, Bruce S. et al., 2020. Lactobacillus fermentum: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Roč. 60, č. 20, s. 3387-3399. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688250>. [cit. 2025-04-20].

NANDI, Suchhanda a MANDAL, Shyamapada, 2025. Insights into the antibacterial activity of Limosilactobacillus fermentum curd isolate against gram-positive and gram-negative pathogenic bacteria. Online. *Pharmacological Research - Reports*. Roč. 3. ISSN 29502004. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.prerep.2025.100034>. [cit. 2025-04-14].

NEGASH, Abebe Worku; TSEHAI, Berhanu Andualem a FALKINHAM, Joseph, 2020. Current Applications of Bacteriocin. Online. *International Journal of Microbiology*. Roč. 2020, s. 1-7. ISSN 1687-9198. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2020/4374891>. [cit. 2025-03-04].

NES, Ingolf F.; DIEP, Dzung B. a HOLO, Helge, 2007. Bacteriocin Diversity in Streptococcus and Enterococcus. Online. *Journal of Bacteriology*. Roč. 189, č. 4, s. 1189-1198. ISSN 0021-9193. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/JB.01254-06>. [cit. 2025-03-26].

NISSEN-MEYER, Jon; OPPEGÅRD, Camilla; ROGNE, Per; HAUGEN, Helen Sophie a KRISTIANSEN, Per Eugen, 2010. Structure and Mode-of-Action of the Two-Peptide (Class-IIb) Bacteriocins. Online. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Roč. 2, č. 1, s. 52-60. ISSN 1867-1306. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12602-009-9021-z>. [cit. 2025-04-12].

NOVOTNÝ, Radek, 2023. *Schopnost produkce bakteriocinů u bakterií izolovaných z potravin*. Bakalářská práce, vedoucí Purevdorj, Khatantuul. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav inženýrství ochrany životního prostředí. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/53906>.

OLAJIDE, Atinuke M. a LAPOINTE, Gisèle, 2022. Microorganisms Associated with Raw Milk. Online. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, s. 319-328. ISBN 9780128187678. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00023-4>. [cit. 2025-03-27].

O'SHEA, Eileen F.; O'CONNOR, Paula M.; RAFTIS, Emma J.; O'TOOLE, Paul W.; STANTON, Catherine et al., 2011. Production of Multiple Bacteriocins from a Single Locus by Gastrointestinal Strains of *Lactobacillus salivarius*. Online. *Journal of Bacteriology*. Roč. 193, č. 24, s. 6973-6982. ISSN 0021-9193. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/JB.06221-11>. [cit. 2025-04-19].

PATTANAYAIYING, Rinrada; SANE, Amporn; PHOTJANATAREE, Penchom a CUTTER, Catherine N., 2019. Thermoplastic starch/polybutylene adipate terephthalate film coated with gelatin containing nisin Z and lauric arginate for control of foodborne pathogens associated with chilled and frozen seafood. Online. *International Journal of Food Microbiology*. Roč. 290, s. 59-67. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.015>. [cit. 2025-04-09].

PATTON, Gregory C a VAN DER DONK, Wilfred A, 2005. New developments in lantibiotic biosynthesis and mode of action. Online. *Current Opinion in Microbiology*. Roč. 8, č. 5, s. 543-551. ISSN 13695274. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.08.008>. [cit. 2025-04-01].

PEI, Jinjin; YUAN, Yahong a YUE, Tianli, 2013. Primary characterization of bacteriocin paracin C – A novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei*. Online. *Food Control*. Roč. 34, č. 1, s. 168-176. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.040>. [cit. 2025-04-10].

PEREZ, Rodney H.; ZENDO, Takeshi a SONOMOTO, Kenji, 2018. Circular and Leaderless Bacteriocins: Biosynthesis, Mode of Action, Applications, and Prospects. Online. *Frontiers in Microbiology*. Roč. 9. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02085>. [cit. 2025-04-12].

PEREZ, Rodney Honrada; ZENDO, Takeshi a SONOMOTO, Kenji, 2022. Multiple bacteriocin production in lactic acid bacteria. Online. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Roč. 134, č. 4, s. 277-287. ISSN 13891723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.07.007>. [cit. 2025-04-19].

PUJATO, Silvina Alicia; MERCANTI, Diego Javier; BRIGGILER MARCÓ, Mariángel; CAPRA, María Luján; QUIBERONI, Andrea et al., 2024. Bacteriocins from lactic acid bacteria: strategies for the bioprotection of dairy foods. Online. *Frontiers in Food Science and Technology*. Roč. 4. ISSN 2674-1121. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/frfst.2024.1439891>. [cit. 2025-04-30].

PUTRI, Dhea Alya; LEI, Jiang; ROSSIANA, Nia; SYAPUTRI, Yolani a CALLAWAY, Todd R., 2024. Biopreservation of Food Using Bacteriocins From Lactic Acid Bacteria: Classification, Mechanisms, and Commercial Applications. Online. *International Journal of Microbiology*. Roč. 2024, č. 1. ISSN 1687-918X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/ijm/8723968>. [cit. 2025-02-18].

QIN, Shugang; XIAO, Wen; ZHOU, Chuanmin; PU, Qinqin; DENG, Xin et al., 2022. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. Online. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Roč. 7, č. 1. ISSN 2059-3635. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>. [cit. 2025-04-14].

RACHMAWATI, Novalia; POWELL, Shane M.; TRIWIBOWO, Radestyia; NICHOLS, David S.; ROSS, Tom et al., 2022. Modelling growth and histamine formation of *Klebsiella aerogenes* TI24 isolated from Indonesian pindang. Online. *International Journal of Food Microbiology*. Roč. 362. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109459>. [cit. 2025-04-10].

REN, Shiyang; YUAN, Xiaoqing; LIU, Fei; FANG, Fang; IQBAL, Hafiz M. N. et al., 2022. Bacteriocin from *Lactocaseibacillus rhamnosus* sp. A5: Isolation, Purification, Characterization, and Antibacterial Evaluation for Sustainable Food Processing. Online. *Sustainability*. Roč. 14, č. 15. ISSN 2071-1050. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/su14159571>. [cit. 2025-04-29].

REUBEN, Rine Christopher a TORRES, Carmen, 2024. Bacteriocins: potentials and prospects in health and agrifood systems. Online. *Archives of Microbiology*. Roč. 206, č. 5. ISSN 0302-8933. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00203-024-03948-y>. [cit. 2025-02-18].

RODRIGO-TORRES, Lidia; MARÍA LANDETE, José; HUEDO, Pol; PEIROTÉN, Ángela; LANGA, Susana et al., 2022. Complete genome sequences of *Lactocaseibacillus paracasei* INIA P272 (CECT 8315) and *Lactocaseibacillus rhamnosus* INIA P344 (CECT 8316) isolated from breast-fed infants reveal probiotic determinants. Online. *Gene*. Roč. 840. ISSN 03781119. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146743>. [cit. 2025-04-12].

SALINI, Francesco; VERMEULEN, Ross; DU PREEZ VAN STADEN, Anton; COMI, Giuseppe; IACUMIN, Lucilla et al., 2024. Expression of Caseicin from *Lactocaseibacillus casei* and *Lactocaseibacillus zeae* Provides Insight into Antilisterial Class IIa Bacteriocins.

Online. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. ISSN 1867-1306. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10341-0>. [cit. 2025-04-09].

SARIKA, A. R.; LIPTON, A. P. a AISHWARYA, M. S., 2010. Bacteriocin Production by a New Isolate of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 under Different Culture Conditions. Online. *Advance Journal of Food Science and Technology*. Roč. 2, č. 5, s. 291-297. ISSN 2042-4876. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/49582920_Bacteriocin_Production_by_a_New_Isolate_of_Lactobacillus_rhamnosus_GP1_under_Different_Culture_Conditions. [cit. 2025-04-19].

SAWA, N.; OKAMURA, K.; ZENDO, T.; HIMENO, K.; NAKAYAMA, J. et al., 2010. Identification and characterization of novel multiple bacteriocins produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* QU 15. Online. *Journal of Applied Microbiology*. Roč. 109, č. 1, s. 282-291. ISSN 1364-5072. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04653.x>. [cit. 2025-03-19].

SHARMA, Basista Rabina; HALAMI, Prakash M. a TAMANG, Jyoti Prakash, 2022. Novel pathways in bacteriocin synthesis by lactic acid bacteria with special reference to ethnic fermented foods. Online. *Food Science and Biotechnology*. Roč. 31, č. 1, s. 1-16. ISSN 1226-7708. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00986-w>. [cit. 2025-03-12].

SHI, Feng; WANG, Yanwei; LI, Yongfu a WANG, Xiaoyuan, 2016. Mode of action of leucocin K7 produced by *Leuconostoc mesenteroides* K7 against *Listeria monocytogenes* and its potential in milk preservation. Online. *Biotechnology Letters*. Roč. 38, č. 9, s. 1551-1557. ISSN 0141-5492. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2127-y>. [cit. 2025-04-21].

SHOKRI, Dariush; KHORASGANI, Mohammad Rabbani; MOHKAM, Milad; FATEMI, Seyed Masih; GHASEMI, Younes et al., 2018. The Inhibition Effect of *Lactobacilli* Against Growth and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. Online. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Roč. 10, č. 1, s. 34-42. ISSN 1867-1306. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9267-9>. [cit. 2025-04-14].

SIMONS, Alexis; ALHANOUT, Kamel a DUVAL, Raphaël E., 2020. Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. Online. *Microorganisms*. Roč. 8, č. 5. ISSN 2076-2607. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>. [cit. 2025-02-22].

SINGH, Bharmjeet; KUMAR, Nishant; YADAV, Aman; ROHAN a BHANDARI, Kriti, 2025. Harnessing the Power of Bacteriocins: A Comprehensive Review on Sources, Mechanisms, and Applications in Food Preservation and Safety. Online. *Current Microbiology*. Roč. 82, č. 4. ISSN 0343-8651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00284-025-04155-8>. [cit. 2025-03-30].

SINGH, Jahnvi Kumari; DEVI, Palanisamy Bruntha; REDDY, G. Bhanuprakash; JAISWAL, Amit K.; KAVITAKE, Digambar et al., 2024. Biosynthesis, classification, properties, and applications of Weissella bacteriocins. Online. *Frontiers in Microbiology*. Roč. 15. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1406904>. [cit. 2025-03-03].

SINGH, Lavan; CARIAPPA, M.P. a KAUR, Mandeep, 2016. Klebsiella oxytoca: An emerging pathogen? Online. *Medical Journal Armed Forces India*. Roč. 72, s. S59-S61. ISSN 03771237. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2016.05.002>. [cit. 2025-04-14].

SOLIS-BALANDRA, Miguel Angel a SANCHEZ-SALAS, Jose Luis, 2024. Classification and Multi-Functional Use of Bacteriocins in Health, Biotechnology, and Food Industry. Online. *Antibiotics*. Roč. 13, č. 7. ISSN 2079-6382. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070666>. [cit. 2025-03-03].

SOLTANI, Samira; HAMMAMI, Riadh; COTTER, Paul D; REBUFFAT, Sylvie; SAID, Laila Ben et al., 2020. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. Online. *FEMS Microbiology Reviews*. Roč. 45, č. 1. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa039>. [cit. 2025-02-26].

TAYLOR, T. M., 2015. *Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Cambridge, England: Woodhead Publishing. ISBN 978-1-78242-042-2. Dostupné také z: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/natl-ebooks/detail.action?docID=1849108>.

THAPAR, Parul a SALOOJA, Mohinder Kumar, 2023. Bacteriocins: Applications in Food Preservation and Therapeutics. Online. In: LARANJO, Marta (ed.). *Lactobacillus - A Multifunctional Genus*. IntechOpen. ISBN 978-1-80355-444-0. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/intechopen.106871>. [cit. 2025-02-12].

TODOROV, Svetoslav D., 2009. Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* production, genetic organization and mode of action: produção, organização genética e modo de ação.

Online. *Brazilian Journal of Microbiology*. Roč. 40, č. 2, s. 209-221. ISSN 1517-8382. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000200001>. [cit. 2025-04-10].

TOLINACKI, Maja; KOJIC, M.; LOZO, Jelena; TERZIC-VIDOJEVIC, Amarela; TOPISIROVIC, L. et al., 2010. Characterization of the bacteriocin-producing strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGUB9. Online. *Archives of Biological Sciences*. Roč. 62, č. 4, s. 889-899. ISSN 0354-4664. Dostupné z: <https://doi.org/10.2298/ABS1004889T>. [cit. 2025-04-10].

TOLINACKI, Maja; LOZO, Jelena; VELJOVIC, Katarina; KOJIC, Milan; FIRA, Djordje et al., 2012. Examination of antimicrobial potential in natural isolates of *Lactobacillus casei/paracasei* group. Online. *Genetika*. Roč. 44, č. 3, s. 661-677. ISSN 0534-0012. Dostupné z: <https://doi.org/10.2298/GENSR1203661T>. [cit. 2025-04-28].

TÖNZ, Andrea; FREIMÜLLER LEISCHTFELD, Susette; STEVENS, Marc J. A.; GLINSKI-HÄFELI, Deborah; LADNER, Valentin et al., 2024. Growth Control of *Listeria monocytogenes* in Raw Sausage via Bacteriocin-Producing *Leuconostoc carnosum* DH25. Online. *Foods*. Roč. 13, č. 2. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods13020298>. [cit. 2025-04-21].

TORRES-MIRANDA, Alexis; MELIS-ARCOS, Felipe a GARRIDO, Daniel, 2022. Characterization and Identification of Probiotic Features in *Lactobacillus Paracasei* Using a Comparative Genomic Analysis Approach. Online. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Roč. 14, č. 6, s. 1211-1224. ISSN 1867-1306. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09999-1>. [cit. 2025-04-18].

TYMOSZEWSKA, Aleksandra; WALCZAK, Piotr a ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK, Tamara, 2020. BacSJ—Another Bacteriocin with Distinct Spectrum of Activity that Targets Man-PTS. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. Roč. 21, č. 21. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21217860>. [cit. 2025-03-19].

VAN REENEN, Carol A. a DICKS, Leon M. T., 2011. Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. Online. *Archives of Microbiology*. Roč. 193, č. 3, s. 157-168. ISSN 0302-8933. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00203-010-0668-3>. [cit. 2025-04-18].

VELJOVIC, Katarina; TERZIC-VIDOJEVIC, Amarela; TOLINACKI, Maja; KOJIC, Milan a TOPISIROVIC, Ljubisa, 2013. Molecular analysis of enterolysin a and entL gene cluster from natural isolate *Enterococcus faecalis* BGPT1-10P. Online. *Genetika*. Roč. 45, č. 2, s.

479-492. ISSN 0534-0012. Dostupné z: <https://doi.org/10.2298/GENSR1302479V>. [cit. 2025-03-19].

VERMA, A.K.; BANERJEE, R.; DWIVEDI, H.P. a JUNEJA, V.K., 2014. BACTERIOCINS | Potential in Food Preservation. Online. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Second Edition. Elsevier, s. 180-186. ISBN 9780123847331. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00029-X>. [cit. 2024-11-28].

WAYAH, Samson Baranzan a PHILIP, Koshy, 2018. Characterization, yield optimization, scale up and biopreservative potential of fermencin SA715, a novel bacteriocin from *Lactobacillus fermentum* GA715 of goat milk origin. Online. *Microbial Cell Factories*. Roč. 17, č. 1. ISSN 1475-2859. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0972-1>. [cit. 2025-04-20].

WONGLAPSUWAN, Monwadee; PAHUMUNTO, Nuntiya; TEANPAISAN, Rawee a SURACHAT, Komwit, 2024. Unlocking the genetic potential of *Lacticaseibacillus rhamnosus* strains: Medical applications of a promising probiotic for human and animal health. Online. *Heliyon*. Roč. 10, č. 8. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29499>. [cit. 2025-04-29].

WOUDSTRA, Cedric; SØRENSEN, Anders Nørgaard; SØRENSEN, Martine C. Holst a BRØNDSTED, Lone, 2024. Strategies for developing phages into novel antimicrobial tailocins. Online. *Trends in Microbiology*. Roč. 32, č. 10, s. 996-1006. ISSN 0966842X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2024.03.003>. [cit. 2025-03-11].

XIRAPHI, Nia; GEORGALAKI, Marina; DRIESSCHE, Gonzalez Van; DEVREESE, Bart; BEEUMEN, Jozef Van et al., 2006. Purification and characterization of curvaticin L442, a bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* L442. Online. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2006-4-24, Roč. 89, č. 1, s. 19-26. ISSN 0003-6072. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9004-3>. [cit. 2025-04-29].

XIRAPHI, N.; GEORGALAKI, M.; RANTSIOU, K.; COCOLIN, L.; TSAKALIDOU, E. et al., 2008. Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* E131. Online. *Meat Science*. Roč. 80, č. 2, s. 194-203. ISSN 03091740. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.11.020>. [cit. 2025-03-26].

XUE, Xiaoge; GAO, Yunfeng; LIU, Fei; DU, Peng; LI, Chun et al., 2024. Purification, characterization, and identification of a novel bacteriocin produced by *Lacticaseibacillus casei* KLS1, and its antimicrobial mechanism against *Staphylococcus aureus*. Online. *LWT*.

Roč. 200. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116207>. [cit. 2025-04-09].

YAGHOUBI, Atieh; KHAZAEI, Majid; JALILI, Saba; HASANIAN, Seyed Mahdi; AVAN, Amir et al., 2020. Bacteria as a double-action sword in cancer. Online. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. Roč. 1874, č. 1. ISSN 0304419X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188388>. [cit. 2025-03-05].

YANG, Jing; LONG, Haiyan; HU, Ya; FENG, Yu; MCNALLY, Alan et al., 2022. Klebsiella oxytoca Complex: Update on Taxonomy, Antimicrobial Resistance, and Virulence. Online. *Clinical Microbiology Reviews*. Roč. 35, č. 1, s. e00006-21. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-21>. [cit. 2025-04-15].

YE, Pengxin; WANG, Jiawen; LIU, Manman; LI, Ping a GU, Qing, 2021. Purification and characterization of a novel bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* ZFM54. Online. *LWT*. Roč. 143. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111125>. [cit. 2025-04-19].

YE, Zhongdu; SHENTU, Huifei; ZHOU, Qingqing; WU, Danli; LI, Ping et al., 2024. A novel bacteriocin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, purified from *Lactiplantibacillus plantarum* ZFM9. Online. *Food Chemistry*. Roč. 451. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139344>. [cit. 2025-04-18].

YI, Yanglei; LI, Ping; ZHAO, Fan; ZHANG, Tingting; SHAN, Yuanyuan et al., 2022. Current status and potentiality of class II bacteriocins from lactic acid bacteria: structure, mode of action and applications in the food industry. Online. *Trends in Food Science & Technology*. Roč. 120, s. 387-401. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.018>. [cit. 2025-04-12].

YU, Wei; GUO, Jinqi; LIU, Yuanyuan; XUE, Xiaoge; WANG, Xiangru et al., 2023. Potential Impact of Combined Inhibition by Bacteriocins and Chemical Substances of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria: A Review. Online. *Foods*. Roč. 12, č. 16. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12163128>. [cit. 2025-03-04].

YU, Wei; MA, Jiage; CHEN, Xiaoqian; TAN, Ying; CHEN, Pin et al., 2020. Expression and purification of recombinant *Lactobacillus casei* bacteriocin and analysis of its antibacterial activity. Online. *CyTA - Journal of Food*. Roč. 18, č. 1, s. 301-308. ISSN 1947-6337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1749134>. [cit. 2025-03-19].

ZACHAROF, M.P. a LOVITT, R.W., 2012. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. Online. *APCBEE Procedia*. Roč. 2, s. 50-56. ISSN 22126708. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.010>. [cit. 2025-03-25].

ZHANG, Tingting; ZHANG, Yu; LI, Lin; JIANG, Xiuqi; CHEN, Zhuo et al., 2022. Biosynthesis and Production of Class II Bacteriocins of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. Online. *Fermentation*. Roč. 8, č. 5. ISSN 2311-5637. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/fermentation8050217>. [cit. 2025-03-24].

ZIMINA, Maria; BABICH, Olga; PROSEKOV, Alexander; SUKHIKH, Stanislav; IVANOVA, Svetlana et al., 2020. Overview of Global Trends in Classification, Methods of Preparation and Application of Bacteriocins. Online. *Antibiotics*. Roč. 9, č. 9. ISSN 2079-6382. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090553>. [cit. 2025-03-05].

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schématický diagram biosyntézy bakteriocinů třídy IIa; upraveno dle Zhang et. al (2022)	26
Obrázek 2: Mechanismy účinku bakteriocinů; upraveno dle Ahmad et al. (2017)	30
Obrázek 3: Proces schvalování bakteriocinů; upraveno dle Liang et al. (2025a).....	38
Obrázek 4: Princip MS MALDI-TOF.....	51
Obrázek 5: Průměry inhibičních zón u vybraných 25 izolátů vůči <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
Obrázek 6: Průměry inhibičních zón u vybraných 25 izolátů vůči <i>Klebsiella oxytoca</i>	61
Obrázek 7 Průměry inhibičních zón u vybraných 25 izolátů vůči <i>Klebsiella aerogenes</i>	62
Obrázek 8: PCR detekce genů <i>lacA</i> u izolátů rodu <i>Lacticaseibacillus</i> (č. 1-10); * = marker, N = negativní kontrola	65
Obrázek 9: PCR detekce genů <i>lacA</i> (pokračování) a <i>acdA</i> u izolátů rodu <i>Lacticaseibacillus</i> + <i>Lactobacillus</i> sp.; * = marker, N = negativní kontrola	65
Obrázek 10: PCR detekce genů <i>acdA</i> (pokračování) a <i>lacB</i> u izolátů rodu <i>Lacticaseibacillus</i> + <i>Lactobacillus</i> sp.; * = marker, N = negativní kontrola	65
Obrázek 11: PCR detekce genu <i>bacSJ2-8</i> u izolátů rodu <i>Lacticaseibacillus</i> + <i>Lactobacillus</i> sp.; * = marker, N = negativní kontrola	66
Obrázek 12: PCR detekce genu <i>mesY</i> , <i>mesB</i> , <i>lcck</i> , <i>B-Talla</i> , <i>lcnS</i> , <i>lcnA</i> , <i>leuC</i> , <i>leuQ</i> a <i>leuN</i> u izolátu <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> ; * = marker, N = negativní kontrola	70

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Srovnání bakteriocinů a antibiotik; upraveno dle Putri et al. (2024).....	18
Tabulka 2: Seznam a charakteristika vybraných bakteriálních kmenů na genotypizaci	48
Tabulka 3: Primery a jejich podmínky amplifikace.....	54
Tabulka 4: Složení reakční směsi pro PCR	55
Tabulka 5: Výsledky MALDI-TOF	57
Tabulka 6: Výsledky detekce genů kódujících příslušné bakteriociny u testovaných kmenů z rodu <i>Lacticaseibacillus</i> a kmene z rodu <i>Lactobacillus</i>	67
Tabulka 7: Výsledky pro detekci genů kódujících bakteriociny pro kmeny <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	69
Tabulka 8: Výsledky pro detekci genů kódujících bakteriociny pro rod <i>Leuconostoc</i>	71

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ABC	ATP-binding cassette
ATP	Adenosintrifosfát
BHI	Brain Heart Infusion
BMK	Bakterie mléčného kvašení
bp	Base pair (pár bazí)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EFSA	European Food Safety Authority
FDA	Food and Drug Administration
G ⁻	Gramnegativní
GRAS	Generally Recognized as Safe
HPK	Histidinová proteinkináza
kbp	Kilobase pair
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight
Man-PTS	Mannózový fosfotransferázový systém
MO	Mikroorganismus
MRS	deMan, Rogosa and Sharpe
NaCl	Chlorid sodný
PCA	Plate Count Agar
PCR	Polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce)
QPS	Qualified Presumption of Safety
RNA	Ribonukleová kyselina
rpm	Revolutions per minute (otáčky za minutu)
RR	Regulační protein
sp	Species (druh; jednotné číslo)
spp	Species (druh; množné číslo)

subsp	subspecies (poddruh)
TAE	Tris-acetát-EDTA
UV	Ultraviolet (ultrafialové záření)
WHO	World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Výsledky inhibičního působení vybraných 30 izolátů vůči osmi testovaným indikátorovým mikroorganismům

PŘÍLOHA P I: VÝSLEDKY INHIBIČNÍHO PŮSOBENÍ VYBRANÝCH 30 IZOLÁTŮ VŮČI OSMI TESTOVANÝCH INDIKÁTOROVÝCH MIKROORGANISMŮ

Tabulka 1a: Antimikrobiální aktivita vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení

Původní číslo izolátu	Průměry inhibičních zón ± SD [mm]								Identifikace MO
	Indikátorové mikroorganismy*								
	ST	EC	SA	EF	BC	KA	KO	PA	
9	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,1	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	17,5 ± 0,7	20,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
10	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,7	15,0 ± 0,0	20,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
16	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,2	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,5 ± 0,7	15,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
19	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,8	8,0 ± 0,2	12,5 ± 0,7	14,8 ± 0,4	7,0 ± 0,0	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
44	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,12	20,0 ± 0,0	24,5 ± 0,7	21,5 ± 0,7	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
45	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,12	8,0 ± 0,6	20,0 ± 0,0	23,5 ± 0,7	18,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
70	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,16	25,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0	22,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
71	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,16	8,0 ± 0,10	24,5 ± 0,7	25,5 ± 0,7	22,5 ± 0,7	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
75	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,17	24,0 ± 0,0	25,0 ± 0,0	23,0 ± 1,4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
76	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,17	8,0 ± 0,11	7,5 ± 0,7	25,0 ± 0,0	11,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
79	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,12	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	23,0 ± 0,0	16,5 ± 0,7	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
80	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,18	10,0 ± 0,0	24,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
81	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,18	8,0 ± 0,12	14,5 ± 0,7	25,0 ± 0,0	17,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
84	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,13	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	22,0 ± 0,0	25,3 ± 0,4	19,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
85	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,19	19,5 ± 0,7	25,5 ± 0,7	14,5 ± 0,7	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
86	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,19	8,0 ± 0,13	18,0 ± 0,0	25,0 ± 0,0	15,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
89	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,14	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0	19,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
91	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,20	8,0 ± 0,14	20,5 ± 0,7	24,0 ± 0,0	21,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
93	6,0 ± 0,15	8,3 ± 0,21	13,0 ± 0,15	7,7 ± 0,21	7,0 ± 0,15	19,5 ± 0,7	26,0 ± 0,0	24,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
94	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,15	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	11,8 ± 0,4	23,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>

Tabulka 1b: Antimikrobiální aktivita vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení

Původní číslo izolátu	Průměry inhibičních zón ± SD [mm]								Identifikace MO
	Indikátorové mikroorganismy								
	ST	EC	SA	EF	BC	KA	KO	PA	
100	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,22	17,0 ± 0,0	16,0 ± 1,4	15,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
101	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,22	8,0 ± 0,16	17,5 ± 0,7	20,5 ± 0,7	17,0 ± 1,4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
106	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,23	8,0 ± 0,17	15,5 ± 0,7	18,0 ± 0,0	14,5 ± 0,7	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
109	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,18	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	20,0 ± 0,0	19,5 ± 0,7	19,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
119	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,20	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	15,0 ± 0,0	20,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
120	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,26	15,5 ± 0,7	16,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
125	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,27	9,5 ± 0,7	16,5 ± 0,7	22,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
126	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,27	8,0 ± 0,21	15,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	20,5 ± 0,7	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
131	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	7,7 ± 0,28	8,0 ± 0,22	14,5 ± 0,7	17,5 ± 0,7	23,5 ± 0,7	<i>Lactobacillus</i> sp.
135	6,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,3 ± 0,29	15,0 ± 0,0	15,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>

*Indikátorové mikroorganismy:

- ST = *Salmonella* Typhimurium
- EC = *Escherichia coli*
- SA = *Staphylococcus aureus*
- EF = *Enterococcus faecalis*
- BC = *Bacillus cereus*
- KA = *Klebsiella aerogenes*
- KO = *Klebsiella oxytoca*
- PA = *Pseudomonas aeruginosa*