

Tab. 5 Základní parametry ultrafiltračních permeátů

Surovina	Popel v sušině [% ODB]	$\kappa_{25^{\circ}\text{C}}$ [mS.cm ⁻¹]	J [g.m ⁻² .h ⁻¹]	C_F [kg.m ⁻² .h ⁻¹]	A_F [Wh.kg _F ⁻¹]	m_w [kg.kg _F ⁻¹]	m_{HNO_3} [g.kg _F ⁻¹]
UF perm. SW	4,0	1,84	135,06	65,39	0,78	0,25	0,19
	2,5	1,03	120,02	47,31	1,04	0,25	0,26
	1,0	0,23	91,80	31,45	1,28	0,25	0,31
UF perm. AW	4,0	2,69	104,67	22,24	2,53	0,50	0,27
	2,5	1,74	99,38	18,05	3,18	0,50	0,32
	1,0	0,79	89,50	14,17	4,02	0,50	0,41
UF perm. AWT	4,0	2,70	103,71	22,35	2,46	0,51	0,25
	2,5	1,63	93,55	17,02	3,21	0,51	0,25
	1,0	0,56	70,11	10,87	4,49	0,54	0,26

centra za finanční podpory Ministerstva zemědělství ČR v rámci projektu "Nové technologické postupy s využitím membránových procesů poskytující nové potravinářské produkty se zlepšenými nutričními a uživatelskými vlastnostmi", program KUS č. QJ 1510341.

Literatura

- ATRA R., VATAI G., BEKASSY-MOLNAR E., BALINT A. (2005): Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. Ve: *Journal of food engineering*, 67, s. 325-332.
- BOER R. de (2014): *From Milk By-Products to Milk Ingredients*. Chichester, Wiley Blackwell, 286 s. ISBN 978-0-470-67222-8.
- BEUCLER J., DRAKE M., FOEGEDING E. A. (2005): Design of a beverage from whey permeate. Ve: *Journal of food science*, 70, s. 277-285.
- CUARTAS-URIBE B., ALCAINA-MIRANDA M. I., SORIANO-COSTA E., MENDOZA-ROCA J. A., IBORRA-CLAR M. I., LORA-GARCÍA J. (2009): A study of the separation of lactose from whey ultrafiltration permeate using nanofiltration. Ve: *Desalination*, 241, s. 244-255.
- GUIMARAES P. M. R., TEIXEIRA J. A., DOMINGUES L. (2010): Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeast as part of integrated solution for the valorisation of cheese whey. Ve: *Biotechnology advances*, 28, s. 375-384.
- HOBMAN P.G. (1992): Ultrafiltration and Manufacture of Whey Protein Concentrates. Ve: ZADOW J.G (edit): *Whey and lactose processing* (pp.195-230). London UK, Elsevier Applied Science
- IBACH A., KIND M. (2007): Crystallization kinetics of amorphous lactose, whey-permeate and whey powders. Ve: *Carbohydrate research*, 342, s. 1357-1365.
- MEGA a.s. (2014): *Produkty* (on line). Staženo 29.6.2017. Dostupné z: <http://www.ralex.eu/Membrany/Portfolio.aspx?id=3>.
- MIKULÁŠEK P. (edit) a kol. (2013): *Tlakové membránové procesy*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-862-7.
- MULDER M. (1996): *Basic Principles of Membrane Technology 2nd ed.* Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. ISBN 978-0792342489
- NOVÁK L. (edit) a kol. (2014): *Elektromembránové procesy*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-865-8.
- SUÁREZ E., LOBO A., ALVAREZ S., RIERA F. A., ÁLVAREZ A. (2009): Demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by means of nanofiltration. Ve: *Desalination*, 241, s.272-280.

Korespondenční autor:

Ing. Jiří Ečer

MemBrain s.r.o., Stráž pod Ralskem

jiri.ecer@membrain.cz

Přijato do tisku: 11. 9. 2017

Lektorováno: 22. 9. 2017

REZISTENCE STARTOVACÍCH KULTUR K ANTIMIKROBIKŮM

Mgr. Marta Dušková, Ph.D.^{1,2},

Mgr. Monika Morávková, Ph.D.¹, Ing. Hana Vlková¹,

Mgr. Marie Zobaníková, Ph.D.¹,

Doc. MVDr. Renáta Karpíšková, Ph.D.¹

¹ Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

² Ústav hygieny a technologie mléka, FVHE, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Resistance of starter cultures to antimicrobials

Abstrakt

Cílem této práce bylo stanovení rezistence startovacích kultur ze Sbírký čistých mlékařských kultur Laktoflora® k antimikrobiálním látkám. Minimální inhibiční koncentrace k ampicilinu, gentamicinu, chloramfenikolu, streptomycinu, tetracyklinu, erytromycinu, kanamycinu, klindamycinu a vankomycinu byly u 28 testovaných kmenů bakterií stanoveny mikrodiluční metodou. Na základě breakpointů (bod zlomu) definovaných EFSA byla u kmenů stanovena citlivost/rezistence k jednotlivým antimikrobiálním látkám. U 23 kmenů (82,1 %) byla rezistence alespoň k jedné látce, 3 kmeny (10,7 %) byly multi-rezistentní (rezistentní minimálně ke třem skupinám antimikrobiálních látek). U 6 rezistentních kmenů bylo metodou celogenomového sekvenování (WGS) zjištěno, že geny kódující rezistenci nejsou lokalizovány na mobilních genetických elementech, což umožňuje bezpečné použití těchto kmenů pro výrobu potravin či krmiv.

Klíčová slova: bakterie mléčného kvašení, antibiotická rezistence, mikrodiluční metoda, minimální inhibiční koncentrace (MIC)

Abstract

The aim of this study was to monitor the resistance of starter cultures from Culture Collection of Dairy Microorganisms Laktoflora® to chosen antimicrobials. Minimal inhibitory concentration of ampicillin, gentamicin, chloramphenicol, streptomycin, tetracycline, erythromycin, kanamycin, clindamycin and vancomycin were determined by microdilution method. On the basis of breakpoints (breakpoint) defined by EFSA, the sensitivity/resistance to individual antimicrobials was determined. In 23 strains (82.1 %) resistance to at least one substance was determined, 3 strains (10.7 %) were multi-resistant (resistant to at least three groups of antimicrobials). In 6 resistant strains, whole genome sequencing (WGS) revealed that genes encoding resistance are not localized on mobile genetic elements, which allows safe use of these strains for food or feed production.

micin, chloramphenicol, streptomycin, tetracycline, erythromycin, kanamycin, clindamycin, and vancomycin were established in 28 tested bacterial strains by microdilution method. Strain's sensitivity/resistance to antimicrobials was determined based on the breakpoints defined by the EFSA. Twenty three strains (82.1%) were resistant to at least one antimicrobial agent, three strains (10.7%) were multiresistant (resistant to at least 3 group of antimicrobial substances). In 6 resistant strains, WGS (whole genome sequencing) analysis revealed that genes encoding resistance were not localized on the mobile genetic elements and they allow safe use for food or feed production.

Keywords: lactic acid bacteria, antibiotic resistance, microdilution method, minimal inhibitory concentration (MIC)

Úvod

Vývoj rezistence bakterií vůči antimikrobiálním látkám je stále větším problémem lidského zdraví. Ovlivňuje nejen humánní a veterinární medicínu, ale dotýká se také oblasti výroby potravin (Ammor a kol., 2008). Potravinový řetězec je považován za jednu z možných cest šíření antibiotické rezistence (Mathur a Singh, 2005; Nawaz a kol., 2011).

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou nedílnou součástí startovacích kultur pro výrobu kysaných mléčných výrobků. Ve vysokých počtech vstupují do gastrointestinálního traktu lidí, kde ovlivňují střevní mikrobiom a dochází k vzájemným interakcím (Mathur a Singh, 2005). BMK mohou sloužit jako rezervoár genů antibiotické rezistence a přenášet je na bakterie stejného, nebo odlišného druhu či rodu a tím šířit rezistenci případně i na patogenní mikroorganismy (Devirgiliis, Zinno a Perozzi, 2013; Nawaz a kol., 2011).

Jednou z možností, jak omezit šíření antibiotické rezistence potravinami, je testování BMK, využívaných k výrobě potravin, na citlivost k vybraným antibiotikům. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) doporučuje, aby bakteriální kmeny nesoucí přenosné geny antibiotické rezistence, nebyly používány v krmivech, k přípravě fermentovaných výrobků a jako probiotika. V roce 2012 aktualizoval EFSA-FEEDAP Panel kritéria pro hodnocení rezistence k antimikrobiálním látkám u bakterií mléčného kvašení. Stanovené mikrobiologické (epidemiologické) breakpointy (hraniční hodnoty) slouží ke snazšímu odlišení rezistentních kmenů od kmenů k antimikrobiálním látkám citlivých (EFSA, 2012).

Rozlišujeme dva typy rezistence, přirozenou (primární) a získanou (sekundární). U primární rezistence je odolnost bakterie k antimikrobiální látce nedílnou, geneticky podmíněnou, součástí bakteriálního druhu. Získaná rezistence může být způsobena buď mutací chromozomálně vázaných genů, nebo získáním exogenních genů od jiných bakterií. A právě mobilní genetické elementy umožňující horizontální přenos genů rezistence mezi mikroorganismy jsou pro šíření rezistence největším rizikem (EFSA, 2012; Mathur a Singh, 2005; Nawaz a kol., 2011). Z těchto důvodů má

sledování rezistence a její genetické podstaty u bakterií mléčného kvašení velký význam.

Cíl práce

Cílem této práce bylo stanovení rezistence u startovacích kultur ze Sbírký čistých mlékařských kultur Laktoflora® k antimikrobikům pomocí mikrodiluční metody.

Materiál a metodika

Použité kmeny

Na testování byly použity kmeny startovacích kultur pocházející ze Sbírký čistých mlékařských kultur Laktoflora® (CCDM - Culture Collection of Dairy Microorganisms). Celkem bylo otestováno 28 kmenů. Jejich přehled je uveden v Tabulce 1. Jako kontrolní kmeny kvality pro analýzu minimálních inhibičních koncentrací byly testovány *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* LMG 6890, *Lactobacillus paracasei* LMG 12586, *Lactobacillus plantarum* LMG 6907 a *Bifidobacterium longum* LMG 13197 získané z belgické sbírky mikroorganismů (Ghent; LMG).

Testování rezistence mikrodiluční metodou

Testování a hodnocení rezistence/citlivosti k antibiotikům bylo u bakteriálních kultur provedeno mikrodiluční metodou, založeno na stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC; $\mu\text{g/ml}$) dle certifikované metodiky vypracované na Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně. Příprava certifikované metodiky vycházela z mezinárodních metodik Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013), ISO 10932:2010 a z doporučení EFSA (2012).

Na základě požadavků růstu byly kultury testovány na dvou mikrotitračních destičkách, které měly stejné spektrum a koncentrace antibiotik a lišily se pouze použitým

Tab. 1 Druhové zastoupení testovaných kmenů a přehled kmenů rezistentních alespoň k jedné antimikrobiální látce

Bakteriální kmen	Počet testovaných kmenů	Počet rezistentních kmenů
<i>Bacillus coagulans</i>	1	1
<i>Bifidobacterium animalis</i>	1	1
<i>Enterococcus faecium</i>	1	0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1	1
<i>Lactobacillus animalis</i>	1	1
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	2	2
<i>Lactobacillus fermentum</i>	1	1
<i>Lactobacillus helveticus</i>	9	6
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1	1
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	2	2
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	1	0
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	3	3
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>freudenreichii</i>	2	2
<i>Streptococcus thermophilus</i>	2	2

kultivačním médiem. Pro koky byly použity destičky s IST médiem (ISO - Sensitest broth; Oxoid, Anglie) s přidavkem 10% laktózy a pro ostatní bakterie byly použity destičky s LSM médiem (90% ISO - Sensitest broth + 10% MRS broth; Oxoid, Anglie) s přidavkem cysteinu (0,3 g cysteinu na litr média; Sigma-Aldrich, Německo). Cílem bylo, nastavení podmínek (aerobní/anaerobní růst a teplota) tak, aby odečet MIC bylo možné provést do 24 nebo maximálně 48 h. Panel vybraných antibiotik zahrnoval: AMP (ampicilin); STR (streptomycin); TET (tetracyklin); ERY (erytromycin); CLI (klindamycin); VAN (vankomycin); CMP (chlorampfenikol); KAN (kanamycin); GEN (gentamicin).

Do mikrotitračních jamek bylo naneseno 5 µl suspenze o denzitě inokula 0,7-1,5 °McFarlanda v 0,85% NaCl (enterokoky 0,7 °McFarlanda, laktokoky a streptokoky 1,5 °McFarlanda, laktobacily a ostatní kultury 1,2-1,3 °McFarlanda), následně byly mikrotitrační destičky inkubovány za anaerobních nebo aerobních (případně pod 5 % CO₂) podmínek v termostatu při 30 °C, případně 37 °C po dobu 24, max. 48 h, poté byl proveden odečet MIC. Jako MIC je označena nejnižší odečtená koncentrace antimikrobiální látky, která inhibuje růst. Výsledky (citlivý/rezistentní) byly hodnoceny na základě doporučení EFSA (2012). V testování byla zahrnuta i kontrola růstu (médiu bez antibiotika inokulované testovaným kmenem) a negativní kontrola (médiu bez antibiotika a bez inokulace testovaným kmenem).

Analyza rezistentních kmenů celogenomovým sekvenováním

U šesti rezistentních kmenů (viz Tabulka 2) bylo provedeno celogenomové sekvenování (WGS, whole genome sequencing) pro sledování mobilních genetických elemen-

tů nesoucích geny rezistence. DNA byla izolována metodou s CTAB/NaCl (N-acetyl-N,N,N-trimethylamoniumbromid) a chloroform/isoamylalkoholem. Celogenomové sekvence byly vyhodnoceny programem ResFinder 2.1 (Zankari a kol., 2012). Testování bylo prováděno v základním nastavení - minimální míra shody 90 %, minimální shoda v délce 60 %.

Výsledky a diskuze

Na základě breakpointů (hraničních hodnot) definovaných EFSA (2012) byla u analyzovaných kmenů stanovena citlivost/rezistence k jednotlivým antimikrobiálním látkám. Stejná kritéria pro hodnocení senzitivity mikroorganismů k antimikrobikům použili také Georgieva a kol. (2015), Guo a kol. (2017), Nawaz a kol. (2011) a Zhou a kol. (2012). Výsledky testování antimikrobiálních rezistencí jsou uvedeny v Tabulce 1 a 2. Z 28 testovaných kmenů pouze 6 kmenů bylo citlivých ke všem sledovaným antibiotikům (21,4 %). Nejčastěji byla detekovaná rezistence k aminoglykosidům. Dvacet čtyři kmenů (85,7 %) bylo rezistentních alespoň k jednomu aminoglykosidovému antibiotiku (streptomycinu, kanamycinu nebo gentamicinu). Zvýšená rezistence na aminoglykosidová antibiotika byla u BMK popsána i v řadě jiných studií (Guo a kol., 2017; Nawaz a kol., 2011; Zhou a kol., 2012). Zhou a kol. (2012) pozorovali nejčastěji rezistenci ke kanamycinu. Tato rezistence byla potvrzena u všech testovaných kmenů *Streptococcus thermophilus* a *Lbc. bulgaricus*. Guo a kol. (2017) detekovali rezistenci ke kanamycinu u 5/11 *Lbc. casei*, 1/11 *Lbc. plantarum* a 8/11 *Lbc. helveticus*. MIC dosahovaly hodnot 64 µg/ml. Rezistenci ke streptomycinu detekovali pouze u jednoho kmene *Lbc. plantarum* a u dvou kmenů *Lbc. helveticus*. Stejně tak Nawaz a kol. (2011) potvrdili rezistenci ke kanamycinu u všech sledovaných kmenů, kdy hodnoty MIC přesahovaly 256 µg/ml, v těžce studii bylo ke gentamicinu rezistentních 65 % kmenů a ke streptomycinu 7 % kmenů BMK izolovaných z mléčných výrobků a fermentované zeleniny. V naší studii z aminoglykosidových antibiotik byla též nejčastěji pozorována rezistence ke kanamycinu, a to u 67,8 % kmenů. Hodnoty MIC u rezistentních kmenů dosahovaly hodnot až 2050 µg/ml u *Lbc. animalis* a *Propionibacterium* spp. U *Lbc. helveticus* byla rezistence ke kanamycinu prokázána u 75,0 % studovaných kmenů, kdy hodnoty MIC dosahovaly maximálně 128 µg/ml. Rezistence ke streptomycinu byla potvrzena u 35,7 % sledovaných

Tab. 2 Rezistentní kmene stanovené na základě EFSA breakpointů a jejich fenotypy rezistence

Druh	Kmen ^I	Fenotyp rezistence ^{II, III}
<i>Bacillus coagulans</i>	CCDM 237	STR
<i>Bifidobacterium animalis</i>	CCDM 94	GEN, TET
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	CCDM 151	KAN
<i>Lactobacillus animalis</i>	CCDM 663* ^{WGS}	AMP, GEN, KAN, STR, TET, VAN
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	CCDM 66	KAN
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	CCDM 767 WGS	KAN, STR
<i>Lactobacillus fermentum</i>	CCDM 154	GEN, KAN
<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 92; CCDM 98; CCDM 125 ^{WGS}	KAN
<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 121; CCDM 122; CCDM 153	AMP, KAN
<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 182 ^{WGS}	GEN, KAN, TET
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CCDM 150; CCDM 821	GEN, KAN, STR
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	CCDM 74; CCDM 416	STR
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	CCDM 731	GEN, STR
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	CCDM 160* ^{WGS}	AMP, ERY, GEN, KAN, STR
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	CCDM 164* ^{WGS}	CLI, ERY, GEN, KAN, STR, TET
<i>Streptococcus thermophilus</i>	CCDM 129; CCDM 144	KAN

^I CCDM - Sběrka čistých mlékařských kultur Laktoflora® (Culture Collection of Dairy Microorganisms)

^{II} AMP - ampicilin; STR - streptomycin; TET - tetracyklin; ERY - erytromycin; CLI - klindamycin; VAN - vankomycin; KAN - kanamycin; GEN - gentamicin

^{III} tučně - antibiotika náležející do skupiny aminoglykosidů

* - multirezistentní kmen (rezistentní ke třem a více skupinám antimikrobiálních látek)

^{WGS} - u kmene provedeno celogenomové sekvenování

kmenů a rezistence ke gentamicinu byla zjištěna u 32,1 % kmenů.

Rezistence k tetracyklinu a erytromycinu patří mezi nejvíce sledované a u BMK často rozšířené. Oba typy rezistence jsou často prokázány v souvislosti s horizontálně přenosnými geny *erm* a *tet* (Devirgiliis a kol., 2013; Nawaz a kol., 2011). Nawaz a kol. (2011) potvrdili přenos genů *erm*(B) a *tet*(M) z *Lbc. fermentum*, *Lbc. salivarius*, *Lbc. plantarum* a *Lbc. brevis* na *Enterococcus faecalis*. Rezistence k tetracyklinu a erytromycinu byla prokázána i v této studii, u 14,3 % kmenů k tetracyklinu (*Lbc. plantarum*; *Lbc. animalis*; *Bifidobacterium animalis*; *Propionibacterium* spp.) a 7,1 % kmenů k erytromycinu (*Propionibacterium* spp.). Podobných výsledků bylo dosaženo v práci Nawaz a kol. (2011), kdy rezistence k tetracyklinům byla detekována u 17,0 % kmenů a rezistence k erytromycinu u 11,0 % kmenů. Avšak existují i studie, kdy výskyt rezistence k tetracyklinu a erytromycinu byl velmi nízký. Například Guo a kol. (2017) uvádí, že z 33 vyšetřených kmenů *Lactobacillus* spp. byly pouze dva rezistentní k tetracyklinu a žádný z těchto kmenů nevykazoval rezistenci k erytromycinu.

Přestože většina studií uvádí citlivost BMK k ampicilinu (Georgieva a kol., 2015; Guo a kol., 2017; Nawaz a kol., 2011), v naší studii byla prokázána rezistence na ampicilin u 17,9 % kmenů (*Lbc. helveticus*; *Lbc. animalis*; *Propionibacterium* spp.). Dále byla rezistence prokázána ke klindamycinu a vankomycinu, a to vždy pouze u jednoho kmene (*Propionibacterium* spp. a *Lbc. animalis*).

V případě potvrzení antibiotické rezistence u testovaného kmene je potřeba rozlišovat, zda se jedná o rezistenci přirozenou nebo získanou. Kmeny, které jsou přirozeně rezistentní, nepředstavují riziko přenosu této rezistence na ostatní druhy, a proto mohou být použity pro výrobu potravinových produktů. Stejně tak, kmeny nesoucí rezistenci, u které je potvrzeno, že se jedná o chromozomální mutaci, mají nízký potenciál šíření této rezistence a mohou být používány pro výrobu potravinových produktů. Avšak kmeny, které získají antibiotickou rezistenci prostřednictvím horizontálního přenosu genu, jsou považovány za potenciálně rizikové, a tudíž musí být vyloučeny z možného použití jako probiotické nebo startovací kultury. Stejná kritéria, zákaz používání daného kmene při výrobě potravin a krmiv, platí i pro rezistenci, u které není potvrzená genetická podstata rezistence (EFSA, 2012).

U šesti kmenů, analyzovaných metodou WGS, nebyly detekovány geny kódující rezistenci k antimikrobikům na mobilních genetických elementech a mohou být použity např. k výrobě mléčných výrobků.

Závěr

Při testování citlivosti k antimikrobiálním látkám mikrodiluční metodou byly u startovacích kultur detekovány rezistentní, dokonce i multirezistentní kmeny. Při celogenomové analýze těchto kmenů však bylo zjištěno, že geny kódující rezistenci nejsou lokalizovány na

mobilních genetických elementech, což umožňuje použití těchto kmenů pro výrobu potravin či krmiv. Sledování profilu antibiotické rezistence a její genetické podstaty je u startovacích a doplňkových kultur velmi důležité pro omezení možného šíření rezistence potravinami a zvýšení ochrany zdraví spotřebitelů.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu Ministerstva zemědělství NAZV KUS QJ 1510338 a Ministerstva školství LO1218.

Reference

- AMMOR, M. S., FLÓREZ A. B., VAN HOEK A. H. A. M., LOS REYES-GAVILAN, C. G., AARTS, H. M. J., MARGOLLES, A., MAYO, B. (2008): Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 14, (1-3), s. 6-15.
- CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (2013): CLSI VET01-A4., 33, (7).
- DEVIRGILIIS C., ZINNO P., PEROZZI G. (2013): Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. *Front Microbiol*, 4, s. 301.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (2012): Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10, (6), s. 2740.
- GEORGIEVA R., YOICHEVA L., TSEROVSKA L., ZHELEZOVA G., STEFANOVA N., ATANASOVA A., DANGULEVA A., IVANOVA G., KARAPETKOV N., RUMYAN N., KARAIVANOVA E. (2015): Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. intended for use as starter and probiotic cultures. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 29, (1), s. 84-91.
- GUO H., PAN L., LI L., LU J., KWOK L., MENGHE B., ZHANG H., ZHANG W. (2017): Characterization of Antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products. *J Food Sci*, 82, (3), s. 724-730.
- ISO 10932 (2010): Milk and milk products - Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics applicable to bifidobacteria and non - enterococcal lactic acid bacteria (LAB).
- MATHUR, S., SINGH, R. (2005): Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. *Int J Food Microbiol*, 105, (3), s. 281-295.
- NAWAZ M., WANG J. A., ZHOU A. P., MA C. F., WU X. K., MOORE J. E., MILLAR B. C., XU J. R. (2011): Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Curr Microbiol*, 62, (3), s. 1081-1089.
- ZANKARI E., HASMAN H., COSENTINO S., VESTERGAARD M., RASMUSSEN S., LUND O., AERESTRUP F. M., LARSEN M. V. (2012): Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother*, 67, (11), s. 2640-2644.
- ZHOU N., ZHANG J. X., FAN M. T., WANG J., GUO G., WEI X. Y. (2012): Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Chinese yogurts. *J Dairy Sci*, 95, (9), s. 4775-4783.

Kontaktní adresa: Mgr. Marta Dušková, Ph.D.,
Ústav hygieny a technologie mléka, FVHE, Veterinární
a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1,
612 42 Brno, e-mail: duskovam@vfu.cz.

Přijato do tisku: 11. 9. 2017

Lektorováno: 29. 9. 2017