

MATEŘSKÉ MLÉKO JAKO ZDROJ BAKTERIÍ S POTENCIÁLNĚ PROSPĚŠNÝMI TECHNOLOGICKÝMI, ČI PROBIOTICKÝMI VLASTNOSTMI

O. Bazalová¹, J. Cihlář¹, V. Dráb¹, Š. Horáčková², M. Kavková¹

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha – pracoviště Tábor

² Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Breast milk as a source of bacteria with potential beneficial technological or probiotic properties

Abstrakt

Mateřské mléko je považováno za optimální zdroj nutrientů, bioaktivních látek a také komensálních bakteriálních druhů. Ty jsou přínosné pro zdraví kojence mimo jiné i z důvodu prevence kolonizace střeva patogenními mikroorganismy. Některé z nich mohou najít využití v mlékárenském průmyslu pro své přínosné probiotické či technologické vlastnosti. V posledních letech se mnoho studií zabývalo mikrobiologickým složením mateřského mléka a bylo ukázáno, že je ovlivněno mnoha faktory. Cílem předložené práce bylo prostudovat dostupnou literaturu a na základě získaných informací izolovat a identifikovat bakteriální kmeny vyskytující se v mateřském mléce získaném od dobrovolných dárců z jihočeského kraje ČR. Ze souboru 13 mlék jsme izolovali a na základě homologie 16S rRNA identifikovali bakterie z čeledi *Actinomycetaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Staphylococcaceae* a *Streptococcaceae*. U některých izolátů jsme dále testovali jejich možné výhodné technologické či probiotické vlastnosti, především pak potenciální schopnost produkce exopolysacharidů (EPS), jejich antimikrobiální a antifungální účinky proti vybraným kontaminantům mléčných výrobků a rezistenci k běžně používaným antibiotikům. Pro testování schopnosti produkce EPS byly zvoleny dva přístupy. Klasický, kdy jsme pomocí živných půd obohacených rutheniovou červení sledovali zabarvení kolonie, a molekulárně-biologický, kdy jsme pomocí párů primerů amplifikující určité úseky genů zapojených do produkce EPS testovali, zda izolovaná genomová, či plazmidová DNA obsahují tyto úseky genů. Některé na EPS pozitivní izoláty také vykazovaly antimikrobiální aktivitu proti vybraným kontaminantům mléčných výrobků. Nejvyšší míru inhibice růstu kontaminantů vykazovaly izoláty *Lactiplantibacillus plantarum*, nejmenší pak *Bifidobacterium breve*. Většina vybraných izolátů

byla senzitivní ke klinicky významným antibiotikům. Na základě námi získaných předběžných výsledků je možné konstatovat, že některé získané izoláty z mateřského mléka vykazují slibný technologický a probiotický potenciál, nicméně je nutné ověřit jejich další funkční a technologické vlastnosti.

Klíčová slova: mikroorganismy, mateřské mléko, produkce exopolysacharidů, protektivní účinky, antibiotická rezistence

Abstract

Breast milk is considered an optimal source of nutrients, bioactive substances and also commensal bacterial species. These are beneficial for the health of the infant, among other things, due to the prevention of intestinal colonization by pathogenic microorganisms. Some of them may find use in the dairy industry for their beneficial probiotic or technological properties. In recent years, many studies have focused on the microbiological composition of breast milk and it has been shown to be influenced by many factors. The aim of the presented work was to summarize the information known so far and, based on it, to isolate and identify bacterial strains occurring in breast milk obtained from voluntary donors from the South Bohemian region of the Czech Republic. From a set of 13 milk samples, we isolated and, based on 16S rRNA homology, identified bacteria from the family *Actinomycetaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Staphylococcaceae* a *Streptococcaceae*. For some isolates, we further tested their possible favorable technological or probiotic properties, in particular the potential ability to produce exopolysaccharides (EPS), their antimicrobial and antifungal effects against selected dairy product contaminants and resistance to commonly used antibiotics. Two approaches were chosen to test the ability to produce EPS. Classical, where we used nutrient media enriched with ruthenium red to monitor colony coloration, and molecular-biological, where we used pairs of primers amplifying certain regions of genes involved in EPS production to test whether isolated genomic or plasmid DNA contains these gene regions. Some EPS-positive isolates also showed antimicrobial activity against selected dairy contaminants. Isolates of *Lactiplantibacillus plantarum* showed the highest rate of contaminant growth inhibition, while *Bifidobacterium breve* showed the lowest. Most of the selected isolates were sensitive to clinically relevant antibiotics. Based on the preliminary results obtained by us, it is possible to state that some isolates obtained from breast milk showed promising technological and probiotic potential, however, it is necessary to verify their other functional and technological properties.

Key words: microorganisms, breast milk, production of exopolysaccharides, protective effects, antibiotic resistance

Úvod

Mateřské mléko bylo dříve považováno za sterilní tekutinu, která slouží novorozenci především jako optimální zdroj nutrientů a bioaktivních látek. V posledních několika letech až desetiletích se celé vědecké týmy zaslíbily o to, že mateřské mléko již není považováno za sterilní tekutinu, ale bylo prokázáno, že novorozenci slouží také jako velmi důležitý zdroj různých bakteriálních druhů, kdy denně v mléce zkonzumuje až 8×10^5 bakteriálních buněk (Pannaraj a kol., 2017). Studie, kdy týmy izolovaly mikroorganismy pomocí různých agarových půd, v dnešní době vystřídaly studie zařazující nejmodernější metody molekulární biologie. Bylo prokázáno, že v mateřském mléce je 9–12 stěžejních bakteriálních rodů, které patří do čeledi *Pseudomonadaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Weeksellaceae*, *Comamonadaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Micrococcaceae* a *Enterococcaceae* (Hunt a kol., 2011; Jost a kol., 2013; Murphy a kol., 2017). Přesná kompozice bakteriálních druhů v mateřském mléce je ovlivněna faktory jako například způsobem porodu, fází laktace, pohlavím dítěte, příjmem antibiotik matkou těsně před porodem a v době kojení, hmotností matky, geografickou polohou a mnoha dalšími. (Lyons a kol., 2020). Vzhledem k metodologii v přípravě vzorků pro určení bakteriálních druhů v mateřském mléce pomocí metod molekulární biologie samozřejmě nemůžeme opomenout ani vliv způsobu izolace DNA či zvolené sekvenční techniky (Douglas a kol., 2020; Meyer a kol., 2019).

Získávání nových izolátů s prospěšnými účinky, ať už funkčními, technologickými či probiotickými, je pro inovace v oblasti potravinářství a mikrobiologie stěžejní. Celá řada prací studující mikroby v mateřském mléce proto stále využívá klasickou metodu izolace pomocí agarových půd a postupně kultivace jednotlivých bakteriálních kolonií. Izoláty jsou zpravidla identifikovány a jsou u nich charakterizovány jejich funkční a případné probiotické účinky. Některé obecné požadavky jsou definovány Světovou zdravotnickou organizací (WHO), kdy probiotický mikroorganismus musí být například schopen tolerovat podmínky trávicího traktu, adherovat k epiteliálnímu povrchu tlustého střeva nebo vykazovat antimikrobiální aktivitu. Kromě toho je také vyžadováno zaměřit se u nově izolovaných kmenů na bezpečnostní aspekty, které zahrnují stanovení přítomnosti, resp. nepřítomnosti genů rezistence vůči antibiotikům. V neposlední řadě se u nově získaných izolátů sledují technologické vlastnosti. Mezi ty patří mimo jiné i schopnost syntézy a produkce exopolysacharidů (EPS). Exopolysacharidy jsou považovány za biozahušťovadla a představují tak alternativu ke škrobu, želatině, nebo karagenanu. Tím, že ovlivňují viskoelastické vlastnosti, získávají potraviny zpravidla lepší texturu, chuť, nebo prodlouženou skladovatelnost (Tieking a kol., 2005). EPS jsou produkovány bakteriemi jako forma buněčné ochrany, neboť negativně

ovlivňují antimikrobiální aktivitu fágů, antibiotik a fagocytózu. Dále podporují adhezi k pevným povrchům, tvorbu biofilmu a omezují vysychání (Ruas-Madiedo a kol., 2008).

Bakterie mléčného kvašení (BMK) mají schopnost produkovat strukturně rozmanité EPS, které se liší velikostí, molekulární organizací a chemickým složením (Mozzi a kol., 2006). Jde o různé spektrum homopolysacharidů (HoPS) a heteropolysacharidů (HePS). Hlavními geny zapojenými do produkce HoPS jsou geny pro glukansacharázu (*gtf*) a levansacharázu (*lev*), nebo fruktansacharázu (*ftf*). Molekulární organizace genů zodpovědných za produkci HePS (*epsA*, *epsB*, *epsD*, *epsE* a *epsEFG*) je velice složitá a napříč různými druhy i kmeny může být různá (Ziedan a kol., 2017). Obecně platí, že pro termofilní BMK jsou geny EPS spíše chromozomální, zatímco pro mezofilní BMK jsou téměř všechny geny asociovány s plazmidy (Palomba a kol., 2012).

Cílem předložené práce bylo izolovat a identifikovat bakteriální druhy přítomné v získaných vzorcích mateřského mléka. Dále naším cílem bylo vytipovat izoláty s vhodnými technologickými a probiotickými vlastnostmi, především se schopností produkce EPS a možnou antimikrobiální a antifungální aktivitou proti vybraným kontaminantům mlékárenského prostředí, a v neposlední řadě testovat bezpečnost vytipovaných izolátů. Vzhledem k rozmanitosti v produkovaných EPS jsme se rozhodli využít nejen klasických metod stanovení produkce EPS pomocí barvených agarových půd s přidavkem sacharózy, ale také využít základních metod molekulární biologie.

Materiál a metodika

Vzorky mléka

Mateřská mléka byla získána od dobrovolných dárců z jihočeského kraje ČR. Před odběrem si matky desinfikovaly prsní dvorce a pomocí sterilních rukavic, případně sterilní odsávačky, odebraly do předem připravených sterilních nádob mléko, kdy první cca 3 ml byly odsáty mimo sterilní nádobu. Mléko bylo ihned zchlazeno na 4 °C a do druhého dne dopraveno do laboratoře, kde bylo ihned podrobeno mikrobiologickému rozboru. Celkem bylo získáno 13 mateřských mlék, laktační fáze nepřesáhla 5 měsíců (stáří potomků v době odběru bylo 4 × 2 měsíce, 4 × 3 měsíce, 4 × 4 měsíce a 1 × 5 měsíců) a pohlaví novorozeňat bylo 6× dívka a 7× chlapec. Ženy před odběrem nebyly podrobeny žádné speciální, ani námi kontrolované dietě a neužívaly antibiotika minimálně měsíc před porodem, ani v době laktace.

Izolace a identifikace izolátů

Pro izolaci nových kmenů z čeledi *Lactobacillaceae* byl použit MRS agar (de Man, Rogosa and Sharp; Merck, Darmstadt, Německo) o pH 5,7 s přidavkem cysteinu HCl a dále MRS-0 agar (Tryptone 10 g, Lab

lemco (Oxoid) 8 g, kvasniční extrakt 4 g, K_2HPO_4 2 g, Tween 80 1 ml, NH_4 citrát 2 g, octan sodný 5 g, $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0,2 g, $MnSO_4 \times 4H_2O$ 0,04 g, agar 12 g, destilovaná voda 900 ml, sterilace 121 °C, 15 min.) s přidavkem sacharózy o výsledné koncentraci 5 % (Penta, ČR, Katovice). Kultivace probíhala při 30 °C a 37 °C anaerobně po dobu 5, respektive 3 dnů. Pro izolaci nových bifidobakterií byl použit TOS propionate agar (Merck, Darmstadt, Německo) s přidavkem Mupirocinu (výsledná koncentrace 50 mg/l), kultivace probíhala při 37 °C anaerobně po dobu 5 dnů. Pro izolaci koků byl použit BHIR agar (BHI agar 47g (Himedia, Maharashtra, Indie), D(+) rafinose \times $5H_2O$ 5g (Sigma Aldrich, Burlington, USA), destilovaná voda doplnit na 1 L, sterilace 121 °C, 15 min) a Lee's agar (Himedia, Maharashtra, Indie), kultivace probíhala při 30 °C aerobně po dobu 3 dnů. Pro izolaci a přečištění byly získané izoláty klasifikovány na základě homologie získaných sekvencí 16S ribozomální RNA a sekvencí uložených v databázi NCBI pomocí porovnávacího nástroje BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). DNA z bakteriálních kultur byla extrahována pomocí DNeasy® UltraClean® Microbial Kit (Qiagen, Hilden, Německo) podle Quick-Start protokolu dodaného výrobcem. Gen 16S RNA byl amplifikován pomocí primerů fD1 (5' - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3') a rP2 (5' - ACGGCTACCTTGTACGACTT - 3'). Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla provedena v reakčním objemu 25 μ l (0,5 μ l obou primerů (10 μ M), 1 μ l templátu DNA, 12,5 μ l 2 \times PPP Taq MasterMix (TopBio, Vestec, ČR) a 10,5 μ l ddH₂O). Podmínky amplifikace byly následující: předehřívání na 95 °C (2 min), 35 cyklů: denaturace při 95 °C (30 s), nasedání primerů při 55 °C (30 s), prodlužování při 72 °C (5 min) a následná konečná extenze při 72 °C (8 min). Všechny produkty PCR byly ošetřeny 2 μ l ExoSAP-IT™ dle referenční příručky výrobce (ThermoFisher Scientific, Baltic UAB, Vilnius) a sekvenovány společností Eurofins Genomics Germany GmbH (Ebersberg, Německo) s použitím fD1 jako sekvenčního primeru.

Tab. 1 Primery použité pro amplifikaci EPS genů

region DNA *	primery	sekvence (5' → 3')	podmínky reakce
epsE,F,G	epsEFGfw	GAYGARYTNCNCARYTNWKAAYGT	94 °C, 300 s; 30x (94 °C, 30 s; 49 °C, 45 s; 72 °C, 60 s); 72 °C, 300 s
	epsEFGrev	TGCAGCYTCWGCCACATG	
epsD,E	epsD/Efw	TCATTTTATTCGTAACCTCAATTGAYGARYTNCC	94 °C, 300 s; 5x (94 °C, 30 s; 60 °C, 30 s; 72 °C, 60 s); 40x (95 °C, 30 s; 52 °C, 30 s; 72 °C, 60 s); 72 °C, 300 s
	epsD/Erev	AATATATTACGACCTSWNAYYTGCCA	
epsA	epsAfw	TAGTGACAACGGTTGTACTG	94 °C, 300 s; 35x (94 °C, 30 s; 40 °C, 30 s; 72 °C, 60 s); 72 °C, 300 s
	epsArev	GATCATTATGGACTGTAC	
epsB	epsBfw	CGTACGATTCGTACGACCAT	94 °C, 300 s; 35x (94 °C, 30 s; 46 °C, 30 s; 72 °C, 60 s); 72 °C, 300 s
	epsBrev	TGACCAGTGACACTTGAAGC	
Glukan-sacharáza	DegFor	GAYAAYWSIAAYCCIRYIGTIC	94 °C, 300 s; 35x (94 °C, 30 s; 42 °C, 45 s; 72 °C, 80 s); 72 °C, 300 s
	DegRev	ADRTCICCRTARTAIIVYKIG	
Fruktan-sacharáza	FTF2F	GAYRTYGGGAYWSNTGGC	94 °C, 300 s; 35x (94 °C, 30 s; 55 °C, 45 s; 72 °C, 80 s); 72 °C, 300 s
	FTF2R	GCWGANCCNGACCATTSTTG	
Levan-sacharáza	LevVfw	CTTGGTCATTAGAG	94 °C, 300 s; 35x (94 °C, 30 s; 42 °C, 45 s; 72 °C, 80 s); 72 °C, 300 s
	LevVrev	TCCTCCGCTTATTGATATGC	

* Modře jsou vyznačeny geny pro syntézu HePS, červeně pro syntézu HoPS.

Produkce EPS

Produkce EPS byla studována pomocí dvou přístupů. Klasického pomocí plotnové metody, kdy byl připraven agar s rutheniovou červení (1: kvasničný extrakt 10 g, sacharóza 20 g, agar 30 g, destilovaná voda na 1 L, sterilace 121 °C; 15 min; 2: sušené odstředěné mléko 200 g, destilovaná voda na 1 L, sterilace 110 °C, 30 min; 3: Rutheniová červeň 0,08 g, deionizovaná voda 10 ml, sterilace mikrofiltrací 0,2 μ m filtr; Část 1 a 2 je smíchána a na 100 ml vzniklé suspenze je přidán 1 ml sterilního roztoku 3), případně MRS agar s přidavkem 1 % mléka, 5 % sacharózy a roztoku rutheniové červeně. Na plotny s agarem bylo aplikováno 3 \times 10 μ l kultury jednotlivých izolátů, misky byly inkubovány anaerobně (izoláty identifikovány do čeledi *Lactobacillaceae* a *Bifidobacteriaceae*), případně aerobně (*Enterococcaceae*) ve 25 °C, 30 °C a 37 °C. Bylo pozorováno bílé zbarvení kolonií u pozitivních kmenů na produkci EPS. Jako další byl zvolen molekulárně-biologický přístup, kdy jsme pomocí primerů amplifikující určité úseky genů zapojených do produkce EPS testovali, zda bude u izolátů docházet k jejich amplifikaci. PCR reakce probíhala dle protokolu uvedeného v tabulce s primery (tab. 1). Jako templát byla použita celková genomická či plazmidová DNA. Genomická DNA byla izolována pomocí UltraClean® Mikrobiálního Kitu (Qiagen, Hilden, Německo) podle Quick-Start protokolu dodaného výrobcem. Plazmidová DNA byla izolována pomocí kitu GeneAll® Hybrid-Q™ Plasmid Rapidprep (GeneAll Biotechnology, Seoul, Korea) dle Standart protokolu udávaného výrobcem.

Antibiotická rezistence

Citlivost k 21 vybraným antibiotikům byla testována pomocí diskové difúzní metody. K otestování byla vybrána následující antibiotika: Amikacin (30 μ g, CLSI, EUCAST), Ampicilin (2 μ g, EUCAST), Amoxicillin (2 μ g, EUCAST), Cefadroxil (30 μ g, EUCAST), Ciprofloxacin (5 μ g, EUCAST), Clindamycin (5 μ g, EUCAST), Erythromycin (15 μ g, EUCAST), Gentamycin (30 μ g,

EUCAST), Chloramphenicol (30 µg, CLSI, EUCAST), Kanamycin (30 µg, CLSI), Levofloxacin (5 µg, CLSI, EUCAST), Metronidazole (5 µg), Mupirocin (200 µg, EUCAST), Nalidixová kyselina (30 µg, CLSI, EUCAST), Neomycin (30 µg), Novobioicin (30 µg), Oxacillin (1 µg, CLSI, EUCAST), Penicillin G (1 IU, EUCAST), Streptomycin (300 µg, EUCAST), Tetracyclin (30 µg, CLSI, EUCAST) a Vancomycin (5 µg, EUCAST). Na Petriho misky se ztuhlým agarem bylo rozetřeno 0,5 ml kultur po 18 hodinách kultivace. Po zaschnutí kultury byly na agar aplikovány antibiotické disky. Po 18–24 hodinách anaerobní či aerobní kultivace (dle mikrobu) při 37 °C byl změřen průměr jednotlivých zón v milimetrech. Pro vyhodnocení byla použita metodika podle Yerlikaya a kol. (2020), dle které značí velikost zón kmene rezistentní (< 6 mm; **0**), slabě senzitivní (7–10 mm; **1**), senzitivní (11–17 mm; **2**) a velmi senzitivní (> 17 mm; **3**).

Antimikrobiální a antifungální aktivita

Před stanovením antimikrobiální a antifungální aktivity byly studované izoláty kultivovány v 37 °C (MRS), či ve

Tab. 2 Antimikrobiální aktivita – indikátorové kmeny

AKRONYM	MO	PŮVOD	MEDIUM
1)	<i>Buttiauxella izardii</i>	sýr	BHI
2)	<i>Pantoea agglomerans</i>	sýr	BHI
3)	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	tvárokový dezert	TSBK
4)	<i>Pseudomonas mandelii</i>	tvárokový sýr	TSBK
5)	<i>Pseudomonas putida</i>	tvárokový sýr	BHI
6)	<i>K. oxytoca</i>	sýr	BHI
7)	<i>Pseudomonas moraviensis</i>	sýr	BHI
8)	<i>Morganella morganii</i>	sýr	TSBK
9)	<i>Lysinibacillus macroides</i>	sýr	GTK
10)	<i>Kluyveromyces lactis</i>	tvárokový dezert	MEA
11)	<i>Debaryomyces hansenii</i>	jogurt	MEA
12)	<i>Geotrichum candidum</i>	jogurt	MEA
13)	<i>Penicillium commune</i>	jogurt	MEA

Tab. 3 Izolované MO z mateřských mlék

ČELED	ROD	DRUH	VÝSKYT (počet mlék)	AKRONYM (používaný v pokusech)
Actinomycetaceae	Schaalia	<i>Schaalia odontolytica</i>	1	
Bifidobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	2	MM 1 - 2
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium kroppenstedtii</i>	1	
Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	3	MM 3 - 5
Lactobacillaceae	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	1	MM 6
		<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	3	MM 7 - 9
	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2	MM 10 - 11
Micrococcaceae	<i>Rothia</i>	<i>Rothia mucilaginoso</i>	1	
Propionibacteriaceae	<i>Cutibacterium</i>	<i>Cutibacterium acnes</i>	3	
		<i>Cutibacterium granulosum</i>	2	
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	
		<i>Staphylococcus warneri</i>	7	
Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	4	
		<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1	
		<i>Streptococcus peroris</i>	2	
		<i>Streptococcus salivarius</i>	8	

30 °C (M 17) po dobu 24 hodin. Následně byly 2x centrifugovány (6 000 RPM, 10 minut) a získané supernatanty byly použity v pokusu. Antimikrobiální a antifungální aktivita byla testována vůči 9 bakteriálním kontaminantům mléčných výrobků, 3 kvasinkám a 1 plísni (tab. 2). Indikátorové kmeny byly kultivovány v příslušném kultivačním tekutém mediu 24 hod. ve 30 °C (bakterie), 48 hod. ve 25 °C (kvasinky), či na pevném MEA agaru ve 25 °C po dobu 5 dnů (*Penicillium commune*). Ke stanovení antimikrobiální aktivity byla použita difuzní metoda, kdy 0,1 % indikátorového bakteriálního kmene bylo zalito příslušným agarem na Petriho misce. Miska byla na 4 h odložena do lednice, poté do ní byly pomocí sterilní skleněné trubičky vyhotoveny jamky o průměru 1 cm, do kterých bylo následně napipetováno 200 µl jednotlivého supernatantu. Míra inhibice růstu indikátorových kmenů byla vyhodnocena po 18 hod. růstu dle Moran a kol. (2016) stupnicí 1–5. **5** značí, že k inhibici nedošlo a růst indikátorového kmene je naopak podpořen, **4** značí, že růst kmene není ovlivněn a nedojde ani k potlačení, ani podpoření jeho růstu. **3** značí, že k inhibici růstu dojde, ale inhibiční zóna není čirá, je přítomno větší množství kolonií, **2** k inhibici dochází, v zóně je přítomno velmi malé množství kolonií a **1** k inhibici růstu příslušného indikátorového kmene dochází, zóna je kompletně čirá, bez kolonií. Antifungální aktivita byla testována difuzní metodou dle Kavková a kol. (2021). 1 % supernatantu bylo zalito MEA agarem, na který bylo po zatuhnutí nanášeno 10 µl čisté kvasinkové kultury o koncentraci 1×10^5 KTJ/ml, případně 5 µl *P. commune* naředěného ve fyziologickém roztoku na koncentraci 1×10^6 KTJ/ml. Jako kontrola byly použity agarové misky bez přidaných supernatantů. Po 2 dnech (kvasinky) či 5 dnech (plíseň) inkubace ve 25 °C byla měřena velikost narostlé kolonie a míra sporulace plísně. Celý pokus dosud nebyl zopakován, jedná se pouze o předběžná data.

Výsledky a diskuze

Ze vzorků mateřských mlék se nám podařilo získat celkem 259 izolátů, z nichž 80 bylo identifikováno na základě homologie 16S rRNA do 9 různých čeledí, 10 různých rodů a 16 různých druhů (tab. 3). Všechny z izolovaných kmenů jsou často izolovány z mateřského mléka. Většina izolovaných kmenů je v literatuře popisována spíše jako kontaminující mikroflóra mateřského mléka, některé patří

mezi komenzály kůže matky (*Corynebacterium kropenstedtii*, *Cutibacterium acnes*, *C. granulosum*, *Rothia mucilaginosa*, *Schaalia odontolytica*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*), některé kmeny jsou běžnými komenzály ústní dutiny novorozenců (*Streptococcus mitis*, *S. parasanguinis*, *S. peroris*, *S. salivarius*), kdy na kůži matky se nejspíše dostávají při kojení (Eidelman a Szilagyí 1979; Heikkilä a Saris, 2020; Kawamura a kol. 1998; Kónönen 2000; West a kol. 1979). Pro další pokusy bylo vybráno 11 izolátů, u kterých lze předpokládat, že budou mít některé vhodné technologické, či probiotické vlastnosti, a ty byly testovány.

Nejprve jsme pomocí agarů s přidavkem sacharózy, mléka a rutheniové červeně pozorovali zbarvení kolonií. V dřívějších studiích bylo ukázáno, že míra produkce EPS je mimo jiné ovlivněna teplotou prostředí, ve kterém je mikrob inkubován. Některé MO produkci EPS vykazovaly vyšší v suboptimální teplotě svého růstu, jiné naopak v optimální teplotě, u některých může v závislosti na teplotě dokonce dojít i ke ztrátě schopnosti produkce EPS (Gamar a kol. 1997, Kimmel a kol. 1998, Gotoh a kol., 2021). Proto jsme agary s aplikovanými izoláty inkubovali ve třech různých teplotách 25 °C, 30 °C a 37 °C (tab. 4). Z našich výsledků je patrné, že skutečná teplota produkci EPS u některých izolátů ovlivnila,

Tab. 4 Zbarvení kolonií na agaru

AKRONYM	agar + rutheniová červeně		
	25 °C	30 °C	37 °C
MM 1	+	+	+
MM 2	+	+	+
MM 3	+++	+++	+++
MM 4	-	-	+
MM 5	-	-	-
MM 6	+++	+++	+++
MM 7	++	+++	+++
MM 8	+	+	+
MM 9	+++	+++	+++
MM 10	neroste	+	-
MM 11	neroste	+	-

-- pouze růžové kolonie; + - některé kolonie bílé; ++ - více bílých, než růžových kolonií; +++ - všechny kolonie bílé

Tab. 5 Amplifikace částí genů pro syntézu EPS

AKRONYM	epsA		epsB		epsD/E		epsEFG		DEG		FTF		LEV	
	plazmid	g DNA	plazmid	g DNA	plazmid	g DNA	plazmid	g DNA	plazmid	g DNA	plazmid	g DNA	plazmid	g DNA
MM 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0
MM 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0
MM 3	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	+	0	+	+
MM 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MM 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MM 6	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0
MM 7	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+
MM 8	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	0	0
MM 9	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+
MM 10	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+
MM 11	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+

kdy u izolátu MM 4 (*E. faecalis*) došlo k produkci EPS pouze ve 37 °C, u MM10 a MM11 (oba *L. fermentum*) byla produkce EPS při této teplotě naopak potlačena. Dále jsme testovali, zda budeme schopni amplifikovat určité úseky genů zodpovědných za produkci EPS i přes jejich značnou mezidruhovou, a i vnitrodruhovou rozmanitost. Za pomoci degenerovaných primerů a námi zvolených podmínek PCR k amplifikaci některých částí genů skutečně došlo (tab. 5), především pokud byla jako templát použita plazmidová DNA. U některých došlo k amplifikaci za použití obou templátů, jak plazmidové, tak genomické DNA. U izolátu MM8 došlo k amplifikaci genu *epsD/E* pouze u gDNA a u izolátů MM7, MM10 a MM 11 došlo k amplifikaci genu *LEV* také pouze u gDNA. *DEG* a *epsA* geny se nám amplifikovat nepodařilo, je možné, že námi použité primery neobsáhly míru variability těchto genů, bylo by tedy vhodné pro tyto úseky navrhnout primery více specifické pro jednotlivé druhy MO. U izolátů MM4 a MM5 se nám nepodařilo amplifikovat žádné části genů. Je možné, že míra variability genů u těchto MO přesáhla degeneraci námi zvolených primerů, či podmínek PCR, ale také nemůžeme vyloučit skutečnou absenci těchto genů, jelikož i na agaru došlo k nárůstu některých bílých kolonií pouze u izolátu MM4, a to jen pokud byl inkubován v teplotě 37 °C, izoláty určené pro izolaci DNA však byly inkubovány pouze v teplotě 30 °C. Z našich výsledků můžeme usuzovat, že většina genů pro produkci EPS je nesena plazmidy, některé se nacházejí jak na plazmidech, tak v genomu a pouze malá část se nachází výhradně v genomu námi studovaných MO. Naše výsledky získané pomocí PCR korespondují s výsledky získanými pomocí agarových půd. Obě metody tedy mohou najít své využití, kdy metoda klasická je ekonomicky přijatelnější, avšak časově náročná, naopak metoda amplifikace genů je velice rychlá. Za pomoci těchto dvou metod jsme tedy určili, že nejvhodnější kandidáti se schopností produkovat EPS jsou *E. faecalis* MM3 a dále *L. pentosus* MM6 a *L. plantarum* MM7 a MM9. *B. breve* MM1 a MM2 a *L. fermentum* MM10 a MM11 také produkují EPS, nicméně v menší míře, naopak *E. faecalis* MM4 a MM5 pak velmi pravděpodobně EPS neprodukují, a tedy nedisponují

Tab. 6 Výsledky testování rezistence vůči vybraným antibiotikům

Akronym / ATB	MM 1	MM 2	MM 3	MM 4	MM 5	MM 6	MM 7	MM 8	MM 9	MM 10	MM 11
AMI	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0	0
AMP	2	2	3	2	2	2	3	3	2	2	2
AMX	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
CEF	1	1	3	3	2	2	2	3	2	1	1
CIP	1	1	3	3	2	0	0	0	1	0	0
CLI	0	0	3	3	1	1	2	1	3	2	2
ERY	0	0	2	3	2	2	2	3	0	2	2
GEN	1	1	2	2	2	0	1	1	2	0	0
CHL	2	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2
KAN	1	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0
LEV	1	1	3	3	2	0	2	2	2	0	0
MET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MUP	1	1	3	3	3	2	3	3	3	2	2
NK	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
NEO	0	0	2	2	1	0	0	0	1	0	0
NOV	2	2	3	3	2	2	2	2	2	1	1
OXC	0	0	0	0	0	1	0	2	2	1	1
PEN	1	1	2	2	2	2	2	3	2	2	2
STR	1	1	2	2	2	1	1	2	2	0	1
TET	1	1	3	3	2	1	2	2	2	1	1
VAN	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0

AMI – Amikacin, AMP – Ampicilin, AMX – Amoxicilin, CEF – Cefadroxil, CIP – Ciprofloxacín, CLI – Clindamycin, ERY – Erythromycin, GEN – Gentamycin, CHL – Chloramphenicol, KAN – Kanamycin, LEV – Levofloxacin, Met – Metronidazole, MUP – Mupirocin, NK – Nalidixová kyselina, NEO – Neomycin, NOV – Novobioicin, OXC – Oxacilin, PEN – Penicilin G, STR – Streptomycin, TET – Tetracyclin, VAN – Vancomycin;
0 – rezistentní, 1 – slabě senzitivní, 2 – senzitivní, 3 – velmi senzitivní

vhodnými technologickými vlastnostmi, které bychom v budoucnu mohli využít.

U všech 11 studovaných MO byla testována jejich bezpečnost, respektive byla testována antibiotická rezistence vůči vybraným antibiotikům. Z našich výsledků vyplývá, že námi studované izoláty jsou citlivé k většině vybraných antibiotik, výjimku tvoří pouze Metronidazole, ke kterému jsou všechny izoláty rezistentní (tab. 6). Celkově nejvíce rezistencí nesou kmeny *L. plantarum*, izoláty MM7, MM8 a MM9, které jsou rezistentní vůči Amikacinu, Ciprofloxacínu, Kanamycinu, Nalidixové kyselině a Vancomycinu, což odpovídá již známým faktům, na druhou stranu nebyla pozorována dříve popsaná rezistence vůči Streptomycinu (Klarin a kol., 2017). Izolát MM9 je dále rezistentní vůči Erythromycinu, izoláty MM 7 a MM8 navíc k Neomycinu a izolát MM7 k Oxacillinu, ke kterému jsou rezistentní i enterokoky MM3, MM4 a MM5. Podobně rezistentní byly i oba izoláty *L. fermentum* MM10 a MM11, které navíc nesou rezistenci vůči Levofloxacinu. Velice zajímavé bylo zjištění, že oba izolované *B. breve* MM1 a MM2 nesou rezistenci vůči Clindamycinu a Erythromycinu. Tento fenomén již byl pozorován u některých izolátů *B. breve*, u kterých pravděpodobně došlo k horizontálnímu přenosu genů pro tyto rezistence (Martinez a kol., 2018). Všechny námi studované izoláty jsou však senzitivní ke klinicky velmi důležitým a často používaným antibiotikům, lze je tedy označit za relativně bezpečné.

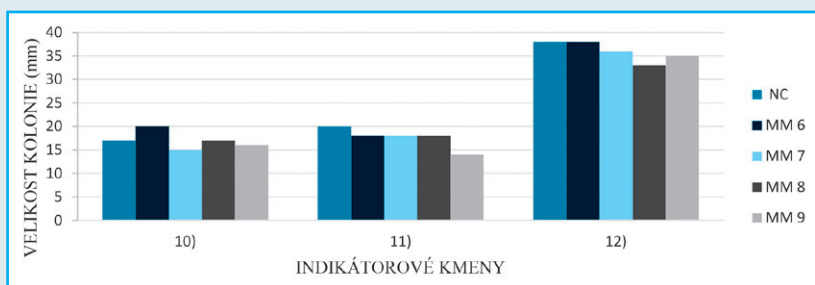
V neposlední řadě jsme testovali antimikrobiální a antifungální aktivitu některých vybraných izolátů.

Tab. 7 Výsledky antimikrobiální aktivity

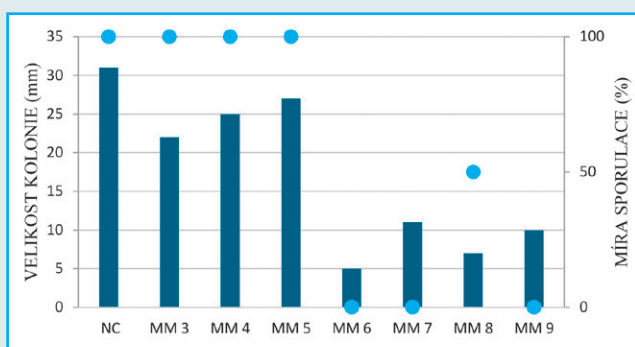
AKRONYMY	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)	9)
MM 1	3	4	4	4	4	4	4	4	2
MM 2	3	2	4	4	4	4	4	4	2
MM 3	4	4	3	3	3	4	2	4	1
MM 4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
MM 6	1	2	3	3	2	2	2	3	1
MM 7	2	2	1	2	2	1	2	1	1
MM 8	1	2	1	1	1	1	1	2	1
MM 9	2	2	2	1	2	1	2	2	1
MM 10	4	3	3	3	4	4	4	3	1
MM 11	4	3	4	2	4	4	4	4	2

1 – inhibice, zona čírá bez kolonií, 2 – inhibice, zona čírá s menším množstvím kolonií, 3 – inhibice, zona s větším množstvím kolonií, 4 – bez inhibice, růst není ovlivněn

Vzhledem k časové náročnosti dosud pokusy nebyly zopakovány, tedy jedná se pouze o předběžná data. Lze z nich předběžně shrnout, že především izoláty *L. pentosus* MM6 a *L. plantarum* MM7, MM8 a MM9 vykazují perspektivní antimikrobiální i antifungální aktivitu vůči vybraným indikátorovým kmenům. Ve svém růstu inhiboval izolát MM6 velmi silně či silně 6 z 9 bakterií a izoláty MM7, MM8 a MM9 pak všech 9 bakterií (tab. 7). Na růst kvasinek měly tyto izoláty menší vliv (obr. 1). Izoláty MM7 – MM9 slabě inhibovaly růst všech tří sledovaných kvasinek, přičemž největší inhibiční účinek jsme pozorovali u izolátu MM9, kdy velikost kolonie byla vždy menší, než u negativní kontroly (na obrázku značena jako NC). Naopak izolát MM6 dokonce i podpořil růst kvasinky 10) *K. lactis*, když velikost kolonie po přidání supernatantu



Obr. 1 Antifungální aktivita – kvasinky

Obr. 2 Antifungální aktivita vůči *P. commune*

do agaru byla dokonce větší, než bez přidaného supernatantu (NC). Slabě pak inhiboval růst 11) *D. hansenii* a neměl žádný vliv na růst 12) *G. candidum*. Antifungální aktivita byla dosud sledována pouze u enterokoků MM3 – MM5 a dále laktobacilů *L. pentosus* MM6 a *L. plantarum* MM7 – MM9 vůči plísni *Penicillium commune* (obr. 2). Všechny izoláty ovlivnily růst této plísně, enterokoky ovlivnily velikost kolonie, kdy velikost kolonie po 5 dnech růstu byla o 5–10 mm menší než velikost kolonie negativní kontroly (NC), tj. bez přidaného supernatantu. Laktobacily MM6, MM7 – MM9 pak ovlivnily nejen velikost kolonie, když velikost kolonie byla o 20–25 mm menší oproti kontrole, ale ovlivnily také míru sporulace plísně (obr. 2 – světle modré tečky), kdy u izolátů MM6, MM7 a MM9 byla sporulace naprosto potlačena a u izolátu MM8 byla snížena na 50 %. U izolátů MM3 – MM5 k ovlivnění sporulace nedošlo.

Závěr

Ze získaných vzorků mateřského mléka se nám podařilo izolovat a identifikovat 16 různých druhů bakterií. U některých izolátů jsme studovali technologicky významnou vlastnost produkce exopolysacharidů a také jejich bezpečnost pro jejich případné aplikace do mléčných výrobků, když jsme u nich sledovali senzitivitu k vybraným antibiotikům. U některých izolátů jsme také studovali probiotické vlastnosti, přesně jejich antimikrobiální a antifungální aktivitu, kdy dosud nejperspektivnější výsledky všech testů vykazují izoláty MM6 (*L. fermentum*) a MM7–MM 9 (*L. plantarum*). Pro aplikaci do výrobků bude potřeba sledovat jejich další funkční a probiotické vlastnosti, například adheřenci, auto-agregaci, antioxidační aktivitu, přežívání

v podmínkách trávicího traktu, odolnost proti mechanickému zpracování, životaschopnost v dané matici a v neposlední řadě též senziorické vlastnosti výrobku.

Poděkování

Tato práce mohla být uskutečněna díky finanční podpoře Národní agentury pro zemědělský výzkum (MZe ČR) při řešení projektu č. QK22010186 a za podpory MZE-RO1423.

Literatura

- DOUGLAS C.A., IVEY K.L., PAPANICOLAS L.E., BEST K.P., MUHLHAUSLER B.S., ROGERS G.B. (2020): DNA extraction approaches substantially influence the assessment of the human breast milk microbiome. *Sci. Rep.* 2020, 10, s. 1–10.
- EIDELMAN A.I., SZILAGYI G. (1979): Patterns of bacterial colonization of human milk. *Obstetrics and Gynecology* 53, s. 550–552.
- GAMAR L., BLONDEAU K. a SIMONET J. M. (1997): Physiological approach to extra-cellular polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83. *Journal of applied microbiology*, 83(3), s. 281–287. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1997.00228.x
- GOTOH Y., MARUO T., TANAKA K., OHASHI S., YOSHIDA K., SUZUKI T (2021): Loss of the intrinsic plasmid-encoded eps genes in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC grown at elevated temperature abolishes exopolysaccharide biosynthesis. *Food Science and Technology Research*, 27 (2), s. 241–248. DOI: 10.3136/fstr.27.241
- HEIKKILÄ M.P., SARIS P. (2020): Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J. Appl. Microbiol.* 2003, 95, s. 471–478.
- HUNT K. M. a kol. (2011): Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS ONE* 2011, 6, e21313. DOI: /doi.org/10.1371/journal.pone.0021313
- JOST, T., LACROIX, C., BRAEGGER, C., CHASSARD, C. (2013): Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches. *Br. J. Nutr.*, 110, s. 1253–1262. DOI: 10.1017/S0007114513000597
- KAVKOVÁ M., CIHLÁŘ J., DRÁB V., BAZALOVÁ O., DLOUHÁ Z. (2021): The Interactions among Isolates of *Lactiplantibacillus plantarum* and Dairy Yeast Contaminants: Towards Biocontrol Applications. *Fermentation* 2022, 8, s. 14. DOI: 10.3390/fermentation8010014
- KAWAMURA Y., HOU X.G., TODOME Y., SULTANA F., HIROSE K., SHU S.E., EZAKI T., OHKUNI H. (1998): *Streptococcus peroris* sp. nov. and *Streptococcus infantis* sp. nov., new members of the *Streptococcus mitis* group, isolated from human clinical specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48, s. 921–927.
- KHODAYAR-PARDO, P., MIRA-PASCUAL, L., COLLADO, M.C., MARTÍNEZ-COSTA, C. (2014): Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J. Perinatol.*, 34, s. 599–605. DOI: 10.1038/jp.2014.47
- KIMMEL S. A., ROBERTS R. F. a ZIEGLER G. R. (1998): Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RR grown in a semide-fined me-dium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, s. 659–664. DOI: 10.1128/AEM.64.2.659-664.1998
- KLARIN B., LARSSON A., MOLIN G., JEPSSON B. (2018): Susceptibility to antibiotics in isolates of *Lactobacillus plantarum* RAPD-type Lp299v, harvested from antibiotic treated, critically ill patients after administration of probiotics. *MicrobiologyOpen*. 8:e642. DOI: 10.1002/mbo3.642
- KÖNÖNEN E. (2000): Development of oral bacterial flora in young children. *Annals of Medicine* 32, s. 107–112.
- LYONS K. E., RYAN C. A., DEMPSEY E. M., ROSS R. P. A STANTON C. (2020): Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health. *Nutrients* 2020, s. 12, 1039; DOI:10.3390/nu12041039

- MARTÍNEZ N., LUQUE R., MILANI C., VENTURA M., BAÑUELOS O., MARGOLLESA A. (2018): A Gene Homologous to rRNA Methylase Genes Confers Erythromycin and Clindamycin Resistance in *Bifidobacterium breve*. *Applied and Environmental Microbiology*. Volume 84 Issue 10 e02888–17. DOI: 10.1128/AEM.02888-17
- MEYER K. M., PACE R. M., MOHAMMAD M., HAYMOND M., AAGAARD K.M. (2019): 941: Composition of the breast milk microbiome is influenced by the method of 16S-amplicon sequencing used. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2019, 220, S607–S608. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.11.965
- MORAN, J. C., CRANK, E. L., GHABBAN, H. A., & HORSBURGH, M. J. (2016): Deferred growth inhibition assay to quantify the effect of bacteria-derived antimicrobials on competition. *Journal of Visualized Experiments*, 115, s. 1–5. DOI: 10.3791/54437
- MOZZI F. a kol. (2006): Diversity of heteropolysaccharide-producing lactic acid bacterium strains and their biopolymers. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:4431–4435. DOI: 10.1128/AEM.02780-05
- MURPHY, K., CURLEY, D., O'CALLAGHAN, T. F., O'SHEA, C. A., DEMPSEY, E. M., O'TOOLE, P. W., ROSS, R. P., RYAN C. A., STANTON, C. (2017): The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: A pilot study. *Sci. Rep.*, 7, s. 1–10. DOI: 10.1038/srep40597
- PALOMBA S., CAVELLA S., TORRIERI E., PICCOLO A., MAZZEI P., BLAIOTTA G., VENTORINO V., PEPE O. (2012): Polyphasic screening, homopolysaccharide composition, and viscoelastic behavior of wheat Sourdough from a *Leuconostoc lactis* and *Lactobacillus curvatus* exopolysaccharide-producing starter culture. *Appl Environ Microbiol.* 78:2737–47. DOI: 10.1128/AEM.07302-11
- PANNARAJ P. S. a kol. (2017): Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome. *JAMAPediatrics*, E1–E8, DOI:10.1001/jamapediatrics.2017.0378
- RUAS-MADIEDO P., ABRAHAM A., MOZZI F., DE LOS REYES-GAVILÁN C. G. (2008): Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, s. 137–166 In Mayo B., López P., Pérez-Martínez G. (ed), *Molecular aspects of lactic acid bacteria for traditional and new applications*. Research Signpost, Kerala, India.
- TIEKING M., KADITZKY S., VALCHEVA R., KORAKLI M., VOGEL R. F., GÄNZLE M. G. (2005): Extracellular homopolysaccharides and oligosaccharides from intestinal lactobacilli. *J Appl Microbiol.* 2005;99(3):692–702. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02638.x.
- WEST P.A., HEWITT J.H., MURPHY O.M. (1979): The influence of methods of collection and storage on the bacteriology of human milk. *Journal of Applied Bacteriology* 46, s. 269–277.
- YERLIKAYA O., SAYGILI D., AKPINAR A. (2020): Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology*, 41, s. 418–425. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.03920>
- ZEIDAN A. A. a kol. (2017): Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. *FEMS Microbiol Rev.* 41:S168–S200. DOI: 10.1093/femsre/fux017

Korespondující autor: Mgr. Olga Bazalová, PhD.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.,

Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6,

e-mail: o.bazalova@vum-tabor.cz

Přijato do tisku: 29. 6. 2023

Lektorováno: 12. 7. 2023

ERRATUM

V závěru článku **“Zhodnocení výskytu reziduí pesticidů a polychlorovaných bifenyly v mléce přežvýkavců v České republice v letech 2006–2020”** (Climová a kol.) otištěného v časopise *Mlékařské listy* č. 198/2023 byla na straně 6 v Poděkování chyba v názvu projektu.

Správné znění je následující:

Príspevek byl zpracován s podporou Ministerstva zemědělství ČR (NAZV QK21010326) a Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 005/2022/Z).

“GO JE ZAJÍMAVÉHO VE VĚDECKÉ LITERATUŘE”

Mléko a mléčné výrobky jsou neustále centrem pozornosti výzkumu. Výběr z vědecké literatury pro toto číslo zahrnuje následující publikace:

PRODUKCE EXOPOLYSACHARIDŮ

Exopolysacharid získaný z bakterií mléčného kvašení: tvorba, imunomodulační schopnost, účinky na zdraví a vztah mezi strukturou a funkcí

Zhang, J. et al. (2023): Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharide: Formation, immunomodulatory ability, health effects, and structure-function relationship. *Microbiological Research*, 274: 127432.

Exopolysacharidy (EPS) syntetizované bakteriemi mléčného kysání (BMK) mají význam pro zdraví a využívají se jako složky potravin. Vzhledem k variabilitě genových klastrů BMK-EPS, zejména genů glykosyltransferáz, které určují složení monosacharidů, je struktura EPS velmi bohatá. EPS jsou syntetizovány extracelulární syntézou a po-