

- NIEMI, R. E., HOVINEN, M., RAJALA-SCHULTZ, P. J. (2022): Selective dry cow therapy effect on milk yield and somatic cell count: A retrospective cohort study. *Journal of Dairy Science*, 105, 1387–1401. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20918>
- RAUBERTAS, J. K., SHOOK, G. E. (1982): Relationship between lactation measures of SCC and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 65, s. 419–425.
- RENEAU, J. K., APPLEMAN, R. D., STEURNAGEL, G. R., MUDGE, J. W. (1983, 1988): *Somatic cell count. An effective tool in controlling mastitis*. Agricultural Extension Service, University of Minnesota, AG-FO-0447.
- RENEAU, J. K. (1986): Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science*, 69, s. 1708–1720.
- SHOOK, G. E. (1982): *Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability*. National Mastitis Council, Louisville, Kentucky, s. 1–17.
- SYRŮČEK, J., LIPOVSKÝ, D., SLÁDEK, M. et al. (2024): *Chov skotu v České republice*. Ročenka 2023. ČMSCH a.s. Praha, s. 43.
- THE LANCET (2022): Antimicrobial resistance: time to repurpose the Global Fund. *Lancet*, www.thelancet.com, 399, January 22, s. 335. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00091-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00091-5)
- TIKOFSKY, L. (2020): The Dry Cow May Be the Missing Piece to Your Mastitis Management Puzzle. *Hoards Dairyman*. <https://hoards.com/blog-28841-the-dry-cow-may-be-the-missing-piece-to-your-mastitis-management-puzzle.html>
- WIGGANS, G. R., SHOOK, G. E. (1987): A lactation measure of somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 70, s. 2666–2672.

Korespondující autor: prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

Přijato do tisku: 11. 11. 2024

Lektorováno: 2. 12. 2024

STANOVENÍ SCHOPNOSTI TVORBY BIOMASY U EPS-PRODUKUJÍCÍCH KMENŮ PO SELENIZACI POMOCÍ KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIE

Gabriela Krausová¹, Iva Mrvíková^{1,3}, Václav Peroutka²,
Irena Němečková¹, Ivana Hyršlová^{1,3}, Antonín Kaňá²

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

³ Česká zemědělská univerzita v Praze

Determination of biomass formation ability in EPS-producing strains after selenization using confocal microscopy

Abstrakt

Předložená studie zkoumá vliv selenizace na schopnost tvorby biomasy u bakteriálních kmenů produkujících exopolysacharidy (EPS), pomocí konfokální mikroskopie. Testováno bylo pět bakteriálních kmenů (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 72, *Enterococcus faecium* CCDM 922A, *Streptococcus thermophilus* CCDM 144 a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

CCDM 767), včetně probiotického kmene *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®], které byly kultivovány v médiu s různými koncentracemi seleničitanu sodného (10, 30 a 50 mg/l). Schopnost tvorby biomasy selenizovaných kmenů byla porovnávána s neselenizovanými kmeny. Po sedmi dnech kultivace byla vyhodnocena tloušťka vzniklé komplexní biomasy (4,8–14 μm) pomocí konfokální mikroskopie. Výsledky naznačují rozdílný vliv koncentrace seleničitanu na schopnost tvorby biomasy testovaných kmenů. Statisticky významný vliv selenizace byl prokázán pouze u kmene BB-12[®] ($p < 0,05$), avšak nebyla zjištěna přímá závislost mezi koncentrací seleničitanu sodného a tloušťkou vytvořené biomasy. Ačkoli se jedná o pilotní studii, získané výsledky přispívají k rozšíření dosavadních poznatků o vlivu selenizace na schopnost vybraných kmenů formovat biomasu, což je málo prozkoumaná oblast.

Klíčová slova: konfokální mikroskopie, biomasa, selenizace, exopolysacharidy, bakterie mléčného kvašení, BB-12[®]

Abstract

The presented study investigates the effect of selenization on the biomass formation ability of exopolysaccharide (EPS)-producing bacterial strains using confocal microscopy. Five bacterial strains were tested: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 72, *Enterococcus faecium* CCDM 922A, *Streptococcus thermophilus* CCDM 144, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 767, and the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®]. These strains were cultivated in a medium containing varying concentrations of sodium selenite (10, 30, and 50 mg/L). The biomass formation ability of the selenized strains was compared to that of non-selenized strains. After seven days of cultivation, the thickness of the formed complex biomass (ranging from 4.8 to 14 μm) was evaluated using confocal microscopy. The results indicate that the concentration of sodium selenite had varying effects on biomass formation among the tested strains. A statistically significant effect of selenization was observed only in the BB-12[®] strain ($p < 0.05$). However, no direct correlation was found between the sodium selenite concentration and the thickness of the formed biomass. Although this is a pilot study, the findings contribute to expanding existing knowledge about the impact of selenization on the ability of selected strains to form biomass, an area that remains underexplored.

Keywords: confocal microscopy, biomass, selenization, exopolysaccharides, lactic acid bacteria, BB-12[®]

Úvod

Konfokální laserová skenovací mikroskopie (CLSM) je fluorescenční mikroskopie s vysokým rozlišením, která umožňuje neinvazivní snímání vzorků v reálném čase. V základním uspořádání poskytuje fluorescenční vizualizaci

zaci buněk a buněčných struktur pomocí optických řezů o tloušťce 0,5–1,5 μm, což umožňuje následnou 3D rekonstrukci vzorků. CLSM je cenným nástrojem pro sledování schopnosti bakterií přilnout k povrchu, a následně tvorby biofilmu.

Adherence mikroorganismů je složitý proces, který závisí na mnoha faktorech, včetně přítomnosti exopolysacharidů (EPS), S-vrstvových proteinů a lipoteichoové kyseliny (Pan et al., 2017). Vlastnosti jako autoagregace, koagregace a hydrofobicita povrchu poskytují mikroorganismům výhodu při kolonizaci střevního traktu a při jejich interakci s hostitelskými tkáněmi (Pan et al., 2017). Schopnost probiotických bakterií přilnout k hlenu střevního epitelu je klíčovým kritériem při výběru probiotik. Tato vlastnost zvyšuje jejich šanci na přežití v gastrointestinálním traktu a podporuje jejich pozitivní účinky na zdraví (Okochi et al., 2017; Garcia-Cayuela et al., 2014). Ačkoli samotná schopnost adherence nezaručuje zdravotní přínosy, může hrát významnou ochrannou roli proti patogenním bakteriím. Prospěšné bakterie soutěží s patogeny o vazebná místa na buňkách hostitele, čímž omezují jejich schopnost kolonizovat střevní epitel a způsobovat infekce (Monteagudo-Mera et al., 2019).

Některé bakterie mléčného kvašení (BMK) mají schopnost produkovat exopolysacharidy (EPS), což jsou polymery s vysokou molekulární hmotností vznikající jako produkty bakteriálního metabolismu. EPS zlepšují texturu mléčných výrobků, zejména jejich viskozitu (Guo et al., 2013), a mohou pozitivně ovlivnit trávení díky delšímu setrvání v trávicím traktu, což podporuje kolonizaci sliznic prospěšnými mikroorganismy (Korakli et al., 2003). V této studii byly testované kmeny BMK identifikovány jako producenti EPS, jejichž produkce byla potvrzena na genetické úrovni, a také fenotypově, zvýšenou viskozitou fermentovaných produktů.

Selen je esenciální stopový prvek s významnými antioxidačními účinky, který chrání buňky před oxidačním stresem a podporuje správnou funkci štítné žlázy. Je součástí selenoaminokyselin a selenoproteinů, jako je např. glutathion peroxidáza, thioredoxin reduktáza a další (Rayman M.P., 2000; Pescuma et al. 2017). Některé BMK, bifidobakterie a kvasinky jsou schopny vázat a biotransformovat selen z prostředí na jeho méně toxické organické formy, jako jsou selenocystein, selenomethionin a methylselenocystein (Zhang et al., 2009). Tímto způsobem je možné vyvinout BMK nebo kvasinky obohacené o selen, což může vést k zvýšení zdravotních přínosů a nutriční hodnoty potravin obsahujících tyto prospěšné mikroorganismy. Příznivé účinky selenem obohacených mikroorganismů byly prokázány v několika *in vitro* a *in vivo* studiích, kde vykazovaly antioxidační, antimutagenní, antimikrobiální, antikarcinogenní a protizánětlivé vlastnosti (Shakibaie et al., 2010; Pophaly et al., 2014; Yang et al., 2018; Krausova et al., 2020).

Přestože selenem obohacené kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* jsou již v Evropské unii povoleny pro použití v potravinách a doplňcích stravy (Směrnice Komise

2006/129/ES), selenem obohacené BMK dosud schváleny nejsou. K jejich legislativnímu uznání je nutné získat další informace o jejich bezpečnosti, funkčnosti a specifických vlastnostech.

Tato studie se zaměřuje na analýzu vlivu selenizace na schopnost tvorby biomasy u EPS-produkujících bakteriálních kmenů pomocí mikroskopických technik. Selenizace může významně ovlivnit fyziologické vlastnosti mikroorganismů, včetně jejich schopnosti tvořit biomasu, což je klíčové pro pochopení mechanismů jejich přežití a interakce s prostředím. Cílem studie je proto prohloubit poznatky o vlivu selenizace na tyto schopnosti vybraných kmenů a přinést nové informace o selenizovaných BMK a bifidobakteriích, které mohou přispět k jejich budoucím aplikačním využitím.

Materiál a Metodika

Bakteriální kmeny

Pro sledování vlivu selenizace bakterií na jejich schopnost tvořit biomasu bylo vybráno pět kmenů s prokázanou produkcí exopolysacharidů (EPS), včetně komerčního probiotického kmene *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® (Ch. Hansen Czech Republic s.r.o., Starovice, ČR). Ostatní kmeny (*Streptococcus thermophilus* CCDM 144, *Enterococcus faecium* CCDM 922A, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 72 a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 767) pocházely ze Sbírký mlékařských mikroorganismů Laktoflora® (Tábor, ČR). Testované kmeny byly kultivovány v médiích M17 podle Terzaghi pro kmeny CCDM 144, CCDM 922A a CCDM 72, dále MRS pH 5,4 pro kmen CCDM 767 a MRS pH 6,2 s přísadkou 0,01% L-cystein hydrochloridu (Merck, Darmstadt, Německo) pro kmen BB-12®. Kultivace probíhala při teplotě 37 °C (30 °C pro CCDM 72) po dobu 24 hod., anaerobně (CCDM 767 a BB-12®), resp. aerobně u ostatních kmenů.

Selenizace a příprava vzorků pro analýzu.

Selenizované kmeny byly připraveny dle metody uvedené v publikacích Hyrslova et al. (2022) a Mrvíková et al. (2024). Pro testování schopnosti tvořit biomasu byla použita modifikovaná metodika dle Gkana et al. (2017). Pro testování bylo dle předchozích poznatků použito 10, 30 a 50 mg/l seleničitanu sodného (Na₂SeO₃, Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA). Selenizované bakteriální kmeny, kultivované v přítomnosti vybraných koncentrací seleničitanu, byly po ukončení inkubace odstředěny (10 minut, 3000 rpm), třikrát promyty fosfátovým pufrům (PBS) a naředěny na optickou denzitu (OD) 0,5 (Tecan Infinite M200, Tecan Group, Männedorf, Švýcarsko). K 5 ml připravené bakteriální suspenze byl přidán fluorescein (fluorescein-5-isothiocyanate, FITC) na finální koncentraci 25 μg/ml FITC. Po 30 minutách inkubace ve tmě byly vzorky opět odstředěny, promyty PBS a znovu naředěny na objem 5 ml. Následně bylo 100 μl připravené suspenze napipetováno na 24-jamkovou mik-

rotitrační destičku se skleněným dnem (Cellvis, P24-1.5H-N, VWR, USA) a doplněno 900 μl PBS. Vzorky byly inkubovány při teplotě 15 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 3 hodin za aerobních nebo anaerobních podmínek (v závislosti na testovaném kmenu). Po inkubaci byly vzorky opatrně promyty PBS, a poté byl přidán 1 ml standardního média: M17 pro koky, MRS pro BB-12[®] a CCDM 767. Následná kultivace probíhala dle optimálních růstových podmínek viz. výše. Médium bylo měněno každých 48 hodin. Sedmý den experimentu byly kmeny promyty a znovu obarveny fluoresceinem z důvodu zajištění komplexního obarvení všech bakteriálních buněk. Po 30 minutách inkubace ve tmě bylo médium s fluoresceinem odstraněno bez dalšího promývání PBS a takto připravené destičky byly následně použity na mikroskopování.

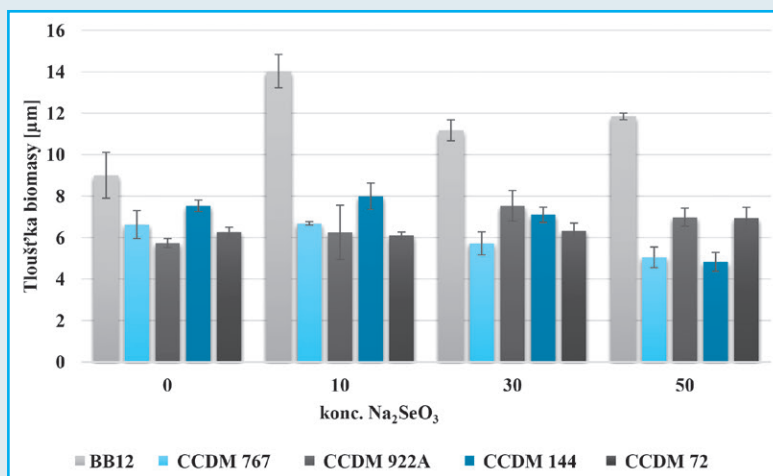
Konfokální mikroskopie

Pozorování byla realizována pomocí konfokálního laserového skenovacího mikroskopu (CLSM) s excitačním filtrem 450–490 nm a emisním filtrem 520 nm na přístroji Olympus FV1000 (Olympus, ČR) ve Středisku cytometrie a mikroskopie Mikrobiologického ústavu AV ČR. Získané snímky ve formátu .oib (Olympus Image Binary file) byly následně zpracovány a analyzovány pomocí softwarů IMARIS a OLYMPUS FLUOVIEW Viewer (Olympus, verze 4.2.b, ČR) na pracovišti Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT Praha. Po normalizovaném zvýraznění oblasti zájmu (ROI) v řezech komplexní biomasy byla u každé z trojice biologických replik provedena měření tloušťky narostlé vrstvy biomasy ve čtyřech technických replikách. Naměřené hodnoty byly podrobeny statistickému zpracování. Pro vyhodnocení dat byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) s následným Tukey-HSD post hoc testem. Statisticky významné rozdíly byly stanoveny na hladině významnosti $p < 0,05$.

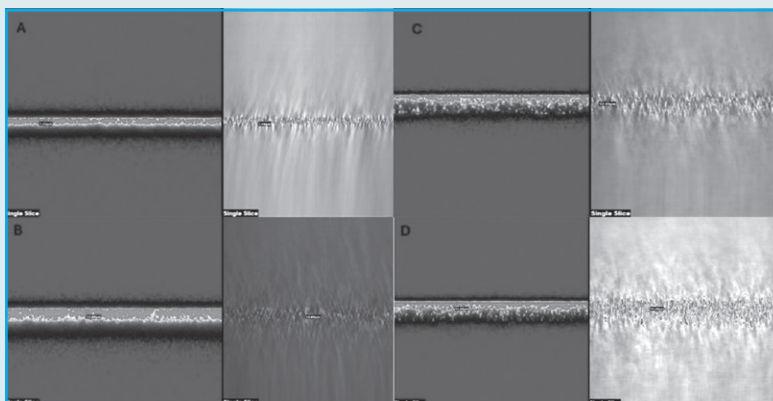
Výsledky a diskuse

Adherence je klíčovým krokem pro vznik biofilmu – komplexní struktury, která mikroorganismům poskytuje ochranu a zvyšuje jejich šanci na přežití v nepříznivých podmínkách. Tato práce se zaměřila na studium vlivu selenizace na schopnost tvorby biomasy u EPS-produkujících bakteriálních kmenů pomocí konfokální mikroskopie. Selenizace výrazně ovlivňuje fyziologii mikroorganismů, zejména jejich schopnost adheze, což je klíčové pro pochopení mechanismů jejich přežití a interakcí s okolním prostředím.

Schopnost tvorby biomasy byla hodnocena měřením tloušťky komplexní biomasy na základě analýzy snímků



Graf 1 Porovnání závislost tloušťky biomasy (μm) testovaných kmenů na koncentraci Na_2SeO_3 v médiu



Obr. 1 Mikroskopické snímky komplexní biomasy kmene *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®], koncentrace seleničitanu sodného v médiu a) 0 mg/l, b) 10 mg/l, c) 30 mg/l a d) 50 mg/l

z konfokální mikroskopie. Mezi jednotlivými kmeny byly zaznamenány rozdíly v schopnostech tvořit biomasu, což poukazuje na kmenovou specifitu. Všechny testované kmeny vykazovaly dobrou schopnost tvořit biomasu za *in vitro* podmínek, přičemž tloušťka biomasy se pohybovala v rozmezí 4,8 μm až 14,0 μm (Graf 1). Nejsilnější vrstva komplexní biomasy byla stanovena u probiotického kmene *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®] po selenizaci 10 mg/l seleničitanu sodného, zatímco nejtenčí vrstva byla zaznamenána u kmene *Enterococcus faecium* CCDM 922A po selenizaci 50 mg/l. Výsledky naznačují rozdílný vliv koncentrace seleničitanu na schopnost produkce biomasy testovaných kmenů. Statisticky významný vliv selenizace byl prokázán pouze u kmene BB-12[®] ($p < 0,05$), avšak nebyla zjištěna přímá závislost mezi koncentrací seleničitanu sodného a tloušťkou vytvořené biomasy (Obr. 1).

Získané výsledky nebylo možné porovnat s obdobnými studiemi, protože v dostupné literatuře chybí data týkající se vlivu selenizace na adhezi a schopnost formovat biomasu. Podle našich znalostí se jedná o jednu z prvních studií, která tento aspekt zkoumá. Nicméně, v jedné z našich předchozích studií (Krausova et al., 2020) byl sledován vliv selenizace na hydrofobicitu povrchu buněk,

což je jedna z důležitých charakteristik, která má vliv na celkovou adhezní schopnost. Ve zmiňované studii testované kmeny CCDM 922A a CCDM 144 vykázaly po selenizaci vyšší hodnoty hydrofobicity než jejich neselenizované mateřské kmeny. U kmene CCDM 144 se původní hydrofobicita (7,97 %) více než zdvojnásobila (na 17,02 %), zatímco u CCDM 922A došlo k ještě výraznějšímu nárůstu, a to z 2,13 % na 17,26 %. Selenizace tedy výrazně zvýšila hydrofobicitu těchto kmenů, navíc zlepšila také jejich antioxidační vlastnosti. Korelace mezi adhezní a hydrofobicitou byla zkoumána v řadě studií, často s protichůdnými výsledky, protože vlastnosti buněčné adherence jsou ovlivňovány různými faktory, jako je složení kultivačního média, teplota nebo pH (Garcia-Cayuela et al., 2014; Hernandez-Hernandez et al., 2012; Kos et al., 2003). Další významnou vlastností ovlivňující celkovou adhezi je agregace. Autoagregace se považuje za první krok adhezního procesu, při kterém bakterie fyzicky interagují mezi sebou (auto-agregují) a následně se usazují (Sorroche et al., 2012). Autoagregace může také hrát antagonistickou roli vůči potenciálním patogenním mikroorganismům ve smyslu bránění jejich přichycení k povrchům (Saito et al., 2019). Se schopností adherence je úzce spojena i schopnost některých kmenů produkovat EPS. Jedná se o polysacharidy vylučované bakteriemi do jejich okolí. Tyto látky tvoří základ biofilmů, což jsou struktury, které bakterie vytvářejí k ochraně před nepříznivými podmínkami, a hrají klíčovou roli v adhezi mikroorganismů k povrchům. EPS mohou také přispívat k interakcím s hostitelem, chránit před imunitní reakcí a zvyšovat odolnost mikroorganismů vůči stresu, jako je sucho, vysoké teploty nebo přítomnost antibiotik. EPS mají významné využití v biotechnologii, farmacii a potravinářství. Produkce EPS může být zejména spojena s hydrofobicitou a vlastnostmi buněčného povrchu, protože část EPS může být uvolněna do prostředí, zatímco kapsulární EPS zůstává vázán na buněčnou stěnu mikroorganismů, což může ovlivnit vlastnosti buněčného povrchu (Nachtigall a kol., 2019). Složky buněčné stěny a polysacharidy spojené s bakteriální buněčnou stěnou a EPS hrají kromě schopnosti vázat ionty kovů také zásadní roli při určování vlastností bakteriálního povrchu (Ruas-Madiedo a kol., 2002). Domnívali jsme se, že podobné účinky na buněčný povrch by se vyskytly také u bakterií obohacených selenem. Kmeny se schopností biotransformovat anorganické sloučeniny selenu na organické formy začleňují selen do proteinů, aminokyselin, intracelulárních nebo extracelulárních nanočástic, nebo potenciálně do bakteriálního EPS (Palomo-Siguero a kol., 2016). Pro komplexní posouzení vlivu obohacení selenem na vlastnosti buněčného povrchu budou nezbytné další analýzy a využití metod, které umožní lepší charakterizaci a pochopení celkové schopnosti adherence, jako např. autoagregace, koagregace nebo schopnosti přilnout k tkáňovým modelům střevního epitelu.

Závěr

Předložená studie zkoumala vliv selenizace na schopnost produkce biomasy u EPS-produkujících bakteriálních kmenů, a to za použití konfokální mikroskopie. Výsledky ukázaly, že vliv selenizace na schopnost tvorby biomasy je kmenově specifický. Pozitivní efekt selenizace na tuto schopnost u testovaných kmenů byl pozorován u probiotického kmene *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12[®], nejvíce při koncentraci 10 mg/l seleničitanu sodného, zatímco u jiných kmenů tento efekt nebyl prokázán. Získané výsledky naznačují, že vliv selenizace bakterií na schopnost tvorby biomasy závisí na specifických vlastnostech kmene a na použité koncentraci seleničitanu. Pro potvrzení a rozšíření těchto zjištění bude nezbytné provést další experimenty zahrnující metody jako autoagregaci, koagregaci či testy adherence na modelu střevní sliznice. Klíčové bude také vyřešení metodologických výzev, včetně výběru vhodných barvicích technik pro odlišení eukaryotních a prokaryotních buněk.

Poděkování

Příspěvek vznikl za podpory projektu MZe NAZV QK22010186 a Institucionální podpory MZe-RO1424. Poděkování patří také dr. J. Svobodovi ze Střediska cytometrie a mikroskopie Mikrobiologického ústavu AV ČR v Praze za analýzy vzorků pomocí konfokálního mikroskopu.

Seznam literatury

- GARCÍA-CAYUELA T., KORANY A.M., BUSTOS I., de CADINANOS L.P.G., REQUENA T., PELÁEZ C., MARTÍNEZ-CUESTA M.C. (2014): Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype. *Food Res. Int.*, 57, s. 44–50.
- GKANA E.N., DOULGERAKI A.I., CHORIANOPOULOS N.G., NYCHAS G.J.E. (2017): Anti-adhesion and anti-biofilm potential of organosilane nanoparticles against foodborne pathogens. *Front. Microbiol.* 8:1295.
- GUO Y., PAN D., LI H., SUN Y., ZENG X., YAN B. (2013): Antioxidant and immunomodulatory activity of selenium exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Food Chem.*, 138, s. 84–89.
- HADDAJI N., MAHDHI A.K., KRIFI B., ISMAIL M.B., BAKHROUF A. (2015): Change in cell surface properties of *Lactobacillus casei* under heat shock treatment. *FEMS Microbiol. Lett.*, 362.
- HERNANDEZ-HERNANDEZ O., MUTHAIYAN A., MORENO F.J., MONTILLA A., SANZ M.L., RICKE S.C. (2012): Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. *Food Microbiol.*, 30, s. 355–361.
- HYRSLOVA, I., KANA, A., NESPOROVA, V., MRVIKOVA, I., DOULGERAKI, A. I., LAMPOVA, B., KRAUSOVA, G. (2024): *In vitro* digestion and characterization of selenized *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia fermentans* and probiotic *Saccharomyces boulardii*. *J Trace Elem Med Biol*, 83, 127402.
- CHAFFANEL F., CHARRON-BOURGOIN F., SOLIGOT C., KÉBOUCHI M., BERTIN S., PAYOT S., LE ROUX Y., LEBLOND-BOURGET N. (2018): Surface proteins involved in the adhesion of *Streptococcus salivarius* to human intestinal epithelial cells. *Appl. Microbiol. Cell Physiol.*, 102, s. 2851–2865.
- KORAKLI, M., PAVLOVIC M., GANZLE M.G., VOGEL R.F. (2003): Exopolysaccharide and ketose production by *Lactobacillus sanfranciscensis* LTH 2590. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, s. 2073–2079.
- KOS B., SUSKOVIC J., VUKOVIC S., SIMPRAGA M., FRECE J., MATOSIC S. (2003): Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J. Appl. Microbiol.*, 94, s. 981–987.

- KRAUSOVA G., HYRSLOVA I., HYNSTOVA I. (2019): *In vitro* evaluation of adhesion capacity, hydrophobicity, and auto-aggregation of newly isolated potential probiotic strains. *Fermentation*, 5, 100, doi: 10.3390/fermentation5040100.
- KRAUSOVA G., KANA A., HYRSLOVA I., MRVIKOVA I., KAVKOVA M. (2020): Development of selenized lactic acid bacteria and their selenium bioaccumulation capacity. *Fermentation*, 6, 91, doi: 10.3390/fermentation6030091.
- MONTEAGUDO-MERA A., RASTALL R.A., GIBSON G.R., CHARALAMPOPOULOS D., CHATZIFRAGKOU A. (2019): Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 103, s. 6463–6472.
- MRVIKOVA I., HYRSLOVA I., KANA A., KANTOROVA V., LAMPOVA B., DOSKOCIL I., KRAUSOVA G. (2024): Selenium enriched bifidobacteria and lactobacilli as potential dietary supplements. *World J Microbiol Biotechnol*, 40(5), 145.
- NACHTIGALL C., WEBER C., ROTHENBURGER S., JAROS D., ROHM H. (2019): Test parameters and cell chain length of *Streptococcus thermophilus* affect the microbial adhesion to hydrocarbon assay: A methodical approach. *FEMS Microbiol. Lett.*, 366, fnz150.
- OKOCHI M., SUGITA T., ASAI Y., TANAKA M., HONDA H. (2017): Screening of peptides associated with adhesion and aggregation of *Lactobacillus rhamnosus* GG *in vitro*. *Eng. J.*, 128, s. 178–185.
- PALOMO-SIGUERO M., GUTIERREZ A.M., PEREZ-CONDE C., MADRID Y. (2016): Effect of selenite and selenium nanoparticles on lactic bacteria: A multi-analytical study. *Microchem. J.*, 126, s. 488–495.
- PAN M., KUMAREE K.K., SHAH N.P. (2017): Physiological changes of surface membrane in *Lactobacillus* with prebiotics. *J. Food Sci.*, 82, s. 744–750.
- PESCUMA M., GOMEZ-GOMEZ B., PEREZ-CORONA T., FONT G., MADRID Y., MOZZI F. (2017): Food prospects of selenium enriched *Lactobacillus acidophilus* CRL 636 and *Lactobacillus reuteri* CRL 1101. *J. Funct. Foods*, 35, s. 466–473.
- POPHALY S.D., POONAM, SINGH P., KUMAR H., TOMAR S.K., SINGH R. (2014): Selenium enrichment of lactic acid bacteria and bifidobacteria: A functional food perspective. *Trends Food Sci. Technol.*, 39, s. 135–145.
- RAYMAN M.P. (2000): The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356, s. 233–241.
- RUAS-MADIEDO P., HUGENHOLTZ J., ZOON P. (2002): Overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, 12, s. 163–171.
- SAITO K., TOMITA S., NAKAMURA T. (2019): Aggregation of *Lactobacillus brevis* associated with decrease in pH by glucose fermentation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 83, s. 1523–1529.
- Směrnice Komise 2006/129/ES ze dne 8. prosince 2006, kterou se mění a opravuje směrnice 96/77/ES, kterou se stanoví specifická kritéria pro čistotu potravinářských přídatných látek jiných než barviva a náhradní sladidla, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32006L0129>
- SHAKIBAIE M., KHORRAMIZADEH M.R., FARAMARZI M.A., SABZEVARI O., SHAHVERDI A.R. (2010): Biosynthesis and recovery of selenium nanoparticles and the effects on matrix metalloproteinase-2 expression. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 56, s. 7–15.
- SORROCHE F.G., SPESIA, M.B., ZORREGUIETA A., GIORDANO W. (2012): A positive correlation between bacterial autoaggregation and biofilm formation in native *Sinorhizobium meliloti* isolates from Argentina. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, s. 4092–4101.
- YANG J., WANG J., YANG K., LIU M., QI Y., ZHANG T., FAN M., WEI X. (2018): Antibacterial activity of selenium-enriched lactic acid bacteria against common food-borne pathogens *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, 101, s. 1930–1942.
- ZHANG B., ZHOU K., ZHANG J., CHEN Q., LIU G., SHANG N., QIN W., LI P., LIN F. (2009): Accumulation and species distribution of selenium in Se-enriched bacterial cells of the *Bifidobacterium animalis* 01. *Food Chem.*, 115, s. 727–734.

Korespondující autor: MVDr. Gabriela Krausová, Ph.D.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.,
Ke dvoru 12a, 160 00 Praha 6,
e-mail: krausova@milcom-as.cz

Přijato do tisku: 1. 11. 2024
Lektorováno: 6. 12. 2024

“CO JE ZAJÍMAVÉHO VE VĚDECKÉ LITERATUŘE”

Další výběr z vědecké literatury pro toto číslo zahrnuje následující publikaci:

Růst methicilin-rezistentního *Staphylococcus aureus* při výrobě měkkých sýrů ze syrového mléka a inhibiční účinek startovací kultury

Wormann, M.E., Pech, J., Reich, F., Tenhagen, B.-A., Ichmann-Schauer, H., Lienen, T. (2024): Growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during raw milk soft cheese-production and the inhibitory effect of starter culture. *Food Microbiology*, 119, s. 104451.

Konzumace syrového mléka nebo výrobků z něho může být potenciálním rizikovým faktorem přenosu methicilin-rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proto jsme studovali růst MRSA během výroby měkkých sýrů ze syrového mléka. Navíc jsme zkoumali inhibiční účinek čtyř startovacích kultur (*Lactococcus lactis*, *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*) na růst MRSA v bodovém agarovém testu a v kokultivaci syrového mléka podle teplotního profilu výroby sýra. V počátečních fázích výroby sýra ze syrového mléka se počty MRSA zvýšily o 2 logaritmické jednotky. Ve fázi zrání počty MRSA poklesly jenom mírně a zůstaly vysoké až do konce skladování. Srovnatelné počty MRSA byly zjištěny v kůře i v jádru sýrů a byly pozorovány specifické rozdíly mezi kmeny. V bodovém agarovém testu ukázaly všechny čtyři kultury silnou nebo střední inhibiční růstu MRSA. Oproti tomu v syrovém mléce silně inhiboval MRSA pouze *Lactococcus lactis*, zatímco všechny ostatní kultury měly na růst MRSA jen malý inhibiční účinek. Naše výsledky naznačují, že MRSA sledují podobný růstový vzor, jaký byl popsán u jiných *S. aureus* během výroby měkkých sýrů ze syrového mléka, a ilustrují potenciální použití vhodných startovacích kultur při výrobě sýrů ze syrového mléka.