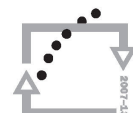




MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

ÚSTAV TECHNOLOGIE POTRAVIN

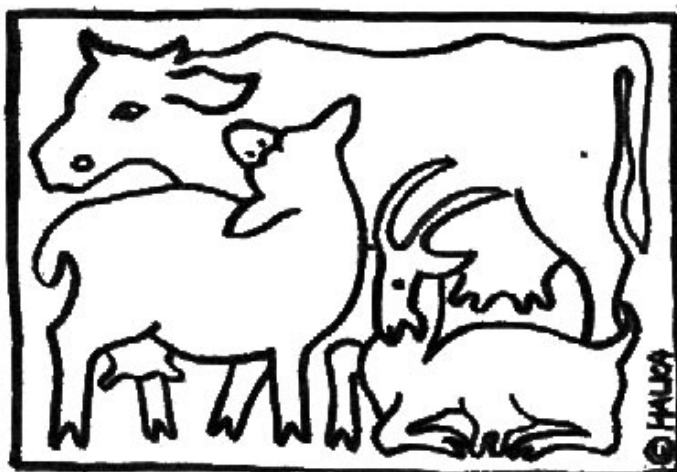
ÚSTAV CHOVU A ŠLECHTĚNÍ ZVÍŘAT

Mendelova
univerzita
v Brně

Agronomická
fakulta

FARMÁŘSKÁ VÝROBA SÝRŮ A KYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ VII.

Sborník referátů ze semináře s mezinárodní účastí.



20. 5. 2010

MENDELU, Zemědělská 1, Brno 613 00, Česká republika

Tato akce je spolufinancována z Evropského sociálního fondu a státním rozpočtem České republiky.

VÝSKYT MIKROORGANISMŮ S MOŽNOU DEKARBOXYLÁZOVOU AKTIVITOU U VZORKŮ MLÉKA A SÝRŮ

VYLETĚLOVÁ, M., MANGA, I., HANUŠ, O.

Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., Rapotín, Výzkumníků 267, 788 13 Vikýřovice

Biogenní aminy představují skupinu aminů, které mají významné fyziologické a farmakologické účinky (hormony, koenzym A, vitamíny, neurotransmitery, léčiva). Vznikají v buňkách dekarboxylací aminokyselin, na které se podílí řada různých enzymů nativního nebo bakteriálního původu a jsou specifické pro různé druhy mikroorganismů. Mezi bakterie, které se mohou vyskytnout v mléce a mléčných výrobcích a mohou produkovat dekarboxylázy a podílet se tak na jejich vzniku, patří např. druhy rodu *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Salmonella*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Enterococcus*.

V průběhu roku 2008 byly odebrány bazénové a individuální vzorky mléka z různých míst ČR (tab. 1). Vzorky kravského mléka pocházely z mléčných tanků konvenčních farem (n=199) a ekologických farem (n=4) a dále od individuálních dojnic (n=292). Dále byly odebrány vzorky kozího bazénového mléka (n=20), vzorky od koz (n=31), ovcí (n=81) a sýry vyrobené z kozího mléka (n=8). Pro izolaci vybraných bakteriálních druhů se postupovalo podle standardních operačních postupů nebo platných norem.

V roce 2008 bylo identifikováno celkem 74 druhů (tab. 1): *Bacillus cereus* (n=13), *B. licheniformis* (n=15), *Escherichia coli* (n=18), *E. hermannii* (n=1), *Serratia marcescens* (n=1), *Pseudomonas fluorescens* (n=16), *Ps. fragi* (n=6), *Ps. putida* (n=2), *Klebsiella pneumoniae* (n=1), *Klebsiella oxytoca* (n=1). Identifikované kmeny byly zaslány na MZLU v Brně a dále jsou uloženy ve sbírce Výzkumného ústavu pro chov skotu v uchovávacím médiu při -18°C a na příslušných bakteriologických půdách v lednici při 4°C pro následnou identifikaci genů kódujících tvorbu dekarboxyláz.

Významnou skupinu patogenních kmenů produkujících biogenní aminy reprezentují gram negativní kmeny *E. coli*. Samozřejmě, jejich výskyt v mléce a mléčných výrobcích by měl být minimální. Zde byla zavedena, optimalizována a validována metoda PCR pro rychlou identifikaci kmenů. Konfrontace s výsledky standardních mikrobiologických technik odhalila maximální spolehlivost a vysokou citlivost metody. Metoda je proto vhodným nástrojem pro spolehlivou identifikaci *E. coli*, nebo pro ověřování mikrobiální diagnostiky v případě získání nejednoznačných výsledků. Test je založen na detekci konzervativní sekvence shodné u obou genů pro glutamátdekarboxylázu (geny *gadA*, *gadB*), dle literárních pramenů je nositelem jmenovaných genů většina patogenních kmenů *E. coli* (Grant *et al.*, 2001). Aktivitou proteinu glutamátdekarboxylázy dochází k tvorbě biogenního aminu - kys. γ -aminomáselné (GABA). Test monitorující přítomnost glutamátdekarboxylázy je proto také nástrojem pro diagnostiku přítomnosti nežádoucí substance γ -aminomáselné kyseliny produkované gram negativními kmeny *E. coli* v prostředí prvovýroby mléka a v potravinářském průmyslu.

Pro gram pozitivní bakterie byl odzkoušen PCR test pro detekci histidin-dekarboxylázy, indukující tvorbu histaminu, a tyrosin-dekarboxylázy, indukující tvorbu tyraminu.. Pro přímou detekci genů byly použity kmeny *Enterococcus faecalis*. Naše první výsledky zatím nepotvrdily adekvátnost pro rutinní detekci příslušných genů u G+ bakterií.

Tabulka č. 1: Výsledky identifikace souboru vzorků v roce 2008

	Bazén dojnice ekofarma	Bazén dojnice konvenční	Bazén kozí mléko	Individ. krávy	Individ. ovce	Individ. kozy	Sýry- kozí mléko
Celkem vyšetřeno	4	199	20	292	81	31	8
<i>Bacillus cereus</i>	0	12					1
<i>Bacillus licheniformis</i>		15					
<i>Escherichia coli</i>	2			14	1	1	
<i>Escherichia hermanii</i>				1			
<i>Serratia marcescens</i>				1			
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		15					1
<i>Pseudomonas fragi</i>		6					
<i>Pseudomonas putida</i>		2					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					1		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1						

(Příspěvek vznikl za podpory projektů MSMT 2B08069 a CZ.1.07/2.3.00/09.0081)