

Mikroflóra bažantů z různých typů chovů ve vztahu k produkci biogenních aminů

Bc. Adriana Válková

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Adriana VÁLKOVÁ**
Osobní číslo: **T10535**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Mikroflóra bažantů z různých typů chovů ve vztahu k produkci biogenních aminů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizace mikroflóry bažantů a drůbeže
2. Vlastnosti a výskyt biogenních aminů
3. Mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou

II. Praktická část

1. Mikrobiologická analýza svaloviny bažantů z různých typů chovů
2. Dekarboxylázová aktivita vybraných bakterií izolovaných z bažantů
3. Vyhodnocení výsledků a formulace závěrů

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. SEDLÁČEK, Ivo. Taxonomie prokaryot. Vydání 1. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 80 -210 -4207 -9.
2. SIMEONOVÁ, Jana. a kol. Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů. Vydání 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1999. ISBN 80-7157-405-8.
3. GÖRNER, Fridrich; VALÍK, Ľubomír. Aplikovaná mikrobiológia potravín. Vydání 1. Bratislava: Malé centrum, 2004. ISBN 80-967064-9-7.
4. VELÍŠEK, Jan a kol. Chemie potravin, OSSIS, Tábor 1999
5. SILLA SANTOS, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. International Journal of Food Microbiology, 1996, 29, 213-231.

Vedoucí diplomové práce:

doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

6. ledna 2012

Termín odevzdání diplomové práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 15. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Miroslav Řiřera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Válková Adriana

Obor: Technologie, hygiena a
ekonomika výroby potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 6. května 2012



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá tvorbou biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů. Pro výzkum byly použity bažanti z volné přírody a z chovu ve voliérie. Izolace bakterií byla provedena z prsního a stehenního svalstva, jater a kůže. Produkce biogenních aminů byla zjišťována pomocí kultivační metody a iontově-výměnné chromatografie.

Teoretická část se zabývá charakteristikou mikroflóry bažantů a drůbeže, vlastnostmi a výskytem biogenních aminů a charakteristikou mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou.

Klíčová slova: mikroorganismy, bažant, biogenní aminy, iontově-výměnná chromatografie, kultivační metoda.

ABSTRACT

This thesis deals with production of biogenic amines by bacteria isolated from pheasants. To research the use of wild pheasants and breeding in the aviary. Isolation of bacteria was performed from the breast, thigh muscle, the liver and skin. Production of biogenic amines was investigated using cultivation methods and ion-exchange chromatography. Theoretic part deals with the characterization of microflora of poultry and pheasants, properties and occurrence of biogenic amines and characterization of microorganisms with decarboxylase activity.

Keywords: microorganisms, pheasant, biogenic amines, ion-exchange chromatography, cultivation method.

Děkuji vedoucí své diplomové práce doc. RNDr. Leoně Buňkové Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi pomohly vypracovat tuto diplomovou práci. Dále bych chtěla poděkovat doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D. a dalším pracovníkům laboratoře analýzy potravin v budově U3 při Ústavu technologie a mikrobiologie potravin, především Ing. Ludmile Zálešákové, za rady a pomoc při analýze produkce biogenních aminů a také Mgr. Magdě Doležalové PhD., Ing. Haně Miklíkové a Olze Haukové za rady a pomoc při práci v mikrobiologických laboratořích.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 MIKROFLÓRA DRŮBEŽE A BAŽANTŮ	12
1.1 MIKROFLÓRA JEDNOTLIVÝCH ČÁSTÍ DRŮBEŽE A BAŽANTŮ	13
1.2 VÝZNAMNÍ ZÁSTUPCI MIKROORGANISMŮ OSÍDLUJÍCÍCH DRŮBEŽ	16
1.2.1 <i>Salmonella</i>	16
1.2.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	17
1.2.3 <i>Campylobacter</i>	18
1.2.4 <i>Clostridium</i>	19
1.2.5 <i>Escherichia coli</i>	21
1.2.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
1.2.7 <i>Pseudomonas</i>	24
2 BIOGENNÍ AMINY	26
2.1 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH	27
2.2 MIKROORGANISMY PRODUKUJÍCÍ BIOGENNÍ AMINY	28
2.3 BIOLOGICKÉ ÚČINKY BIOGENNÍCH AMINŮ	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	31
3 CÍL PRÁCE	32
4 MATERIÁL A METODY	33
4.1 POPIS ANALYZOVANÝCH VZORKŮ	33
4.2 MATERIÁL	33
4.2.1 Kultivační půdy	33
4.2.2 Přístrojová technika	33
4.3 PŘÍPRAVA VZORKŮ	34
4.4 CHARAKTERIZACE IZOLOVANÝCH MIKROORGANISMŮ	34
4.4.1 Morfologie mikroorganismů	34
4.4.2 KOH test	35
4.4.3 Produkce katalasy	35
4.5 DEKARBOXYLÁZOVÁ AKTIVITA BAKTERÍ	35
4.5.1 Zjišťování produkce biogenních aminu kultivační metodou v dekarboxylačním médiu s pH indikátorem	36
4.5.2 Stanovení biogenních aminů iontově-výměnnou chromatografií	37
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	38
5.1 POČTY MIKROORGANISMŮ	38
5.2 CHARAKTERISTIKA IZOLOVANÝCH MIKROORGANISMŮ	41
5.2.1 Makroskopické a mikroskopické znaky bakterií izolovaných z jednotlivých částí těl bažantů	41

5.3	DEKARBOXYLÁZOVÁ AKTIVITA BAKTERIÍ - KVALITATIVNÍ STANOVENÍ KULTIVAČNÍ METODOU	43
5.4	DEKARBOXYLÁZOVÁ AKTIVITA BAKTERIÍ - KVANTITIVNÍ STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ IONTOVĚ-VÝMĚNNOU CHROMATOGRÁFIÍ.....	50
5.5	SROVNÁNÍ SKRÍNINGOVÉ KULTIVAČNÍ METODY A IONTOVĚ-VÝMĚNNÉ CHROMATOGRÁFIE	60
ZÁVĚR		63
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		64
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		71
SEZNAM OBRÁZKŮ		72
SEZNAM TABULEK		73
SEZNAM PŘÍLOH		74

ÚVOD

Biogenní aminy jsou toxické nízkomolekulární organické bazické sloučeniny vznikající v potravinách nejčastěji dekarboxylací aminokyselin působením bakteriálních dekarboxylačních enzymů. Základními podmínkami vzniku biogenních aminů v potravinách jsou přítomnost aminokyselin v potravine, přítomnost mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou a nastolení vhodných podmínek pro růst a množení mikroorganismů. Význam má nejen přítomnost volných aminokyselin, ale také přítomnost využitelných sacharidů. Dalšími faktory, které ovlivňují produkci biogenních aminů jsou pH, teplota, přítomnost soli, přístupnost kyslíku, doba zrání, doba skladování a hygienické podmínky.

Biogenní aminy, z nich nejznámější histamin, tyramin, putrescin a kadaverin, byly studovány zejména pro svou toxicitu. V současné době se však biogenní aminy dostávají do popředí zájmu i co se týče hygieny potravin, jelikož relativně vysoké hodnoty obsahu některých biogenních aminů mohou sloužit i jako indikátor zhoršení procesu či nedodržení předepsaného technologického postupu výroby.

Mezi mikroorganismy, které produkují biogenní aminy, patří bakterie rodu *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Micrococcus* a mnoho zástupců čeledi *Enterobacteriaceae*. Patří sem i zástupci startovacích kultur, používaných při výrobě fermentovaných potravin. I zástupci probiotických kultur patří mezi potencionální producenty biogenních aminů, které jsou v současnosti trendem při výrobě fermentovaných potravin pro dosažení pozitivního účinku na lidské zdraví.

Toxické dávky biogenních aminů je obtížné stanovit, závisí na individuálních rozdílech mezi lidmi a na přítomnosti různých biogenních aminů v potravě.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MIKROFLÓRA DRŮBEŽE A BAŽANTŮ

Maso je velmi komplikovaným biologickým a biochemickým systémem s rychlou dynamikou změn. Maso je surovinou neúdržnou, poměrně snadno a rychle podléhající mikrobiální proteolýze [1].

Za posledních 20 let spotřeba drůbežního masa u nás i ve světě poměrně rychle roste a to vede k intenzivnější živočišné výrobě, zvýšení počtu zemědělských podniků a počtu drůbeže. Je však třeba brát v úvahu specifické problémy této komodity, jako je kontaminace lidskými a zvířecími patogeny a rovněž sociální a ekologické problémy [2].

Drůbeží maso má takovou skladbu živin, která je optimální pro mikrobiální růst. Vodní aktivita se pohybuje v rozmezí 0,98 – 0,99 (v závislosti na stáří kusu a na skladovacích podmínkách). pH svaloviny se pohybuje mezi 5,7 až 6,7, s prodlužujícím se skladováním stoupá až na hodnotu 7,2. Svalovinu živých zvířat lze považovat za aerobní prostředí, přísun kyslíku zajišťuje krevní oběh. Po porážce pokračuje tkáň v dýchání, poté se nahromadí CO₂ a prostředí se stává anaerobním, výjimkou je několik milimetrů silná povrchová vrstva. Nepoškozená kůže, na které jsou zachyceny mikroorganismy, tvoří i po porážce bariéru bránící svalovinu před přímou mikrobiální kontaminací [1, 3, 4].

Drůbež se chová většinou ve velkochovech, porážka a zpracování probíhá ve speciálních závodech. Stres drůbeže během přepravy nepříznivě ovlivňuje imunitní systém, může docházet k poruchám funkce trávicího traktu a tím se může zvýšit vylučování patogenních bakterií. Dospělá drůbež může být kontaminována konzumací exkrementů, vzájemným stykem, prachem nebo aerosolem neseným větracím vzduchem, vodou nebo krmivem. Krmivo může být významným zdrojem patogenních mikroorganismů, včetně salmonel a mykotoxinů. Ve velkochovech se mohou vyskytovat také paraziti a hlodavci, kteří mohou být rovněž zdrojem nežádoucích mikroorganismů [2, 3, 4].

Mikroorganismy přítomné v drůbeži mohou být patogenní i nepatogenní, přičemž i nepatogenní mikroorganismy mohou způsobovat kažení potravin. Mezi významné patogeny patří zejména *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Yersinia enterocolitica* [5].

1.1 Mikroflóra jednotlivých částí drůbeže a bažantů

Živá drůbež obsahuje mnoho různých druhů mikroorganismů, na kůži, v peří, v zažívacím traktu, apod. Přítomnost mikroorganismů a jejich šíření závisí na podmínkách chovu, na dopravě zvířat, na způsobu zpracování masa ve výrobním procesu. Ke kontaminaci může také docházet z rukou pracovníků, z prostředí, ze strojů, apod. [7, 8].

Množství mikroorganismů je u zvěřiny podmíněno celou řadou faktorů, z nichž nejvýznamnější jsou zdravotní stav zvířat (bažantů), způsob usmrcení a zacházení se zvěřinou *post mortem*. U pernaté zvěře se po ulovení z důvodu porušení gastrointestinálního traktu nedoporučuje tzv. vyháčkování, což může vést ke znečištění tělní dutiny obsahem střeva. K zajištění prvotřídní zvěřiny se doporučuje co možná nejčasnější vyvržení, jehož součástí by mělo být i odstranění volete [9].

V první fázi jatečného zpracování je zdrojem kontaminace především peří. Při paření se dostávají mikroorganismy do pařící vody. Při teplotě vody 60 – 63 °C řada mikroorganismů po určité době hyne, např. bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*. Během strojového škulání dochází k přenosu mikroorganismů na další kusy. Studie prokázaly např. šíření salmonel při škulání peří strojem s gumovými prsty, kdy může docházet k značnému rozptýlení mikrobů. Uvnitř tohoto přístroje je teplé a vlhké prostředí, které podporuje jejich růst. Kritickým bodem výroby je i kuchání, při odstraňování vnitřností vzniká možnost kontaminace drůbeže, ale i náradí. Náradím a stroji se pak přenáší kontaminace na další opracovávané kusy. Během opracování drůbeže se zvyšuje počet mikroorganismů asi na dvojnásobek. Omýváním drůbeže se snižuje počet mikroorganismů [3, 4, 7].

V případě odlovu bažantů je zvíře usmrceno brokovou zbraní. Broky mohou porušit celistvost kůže a zvýšit tak riziko rozšíření mikroorganismů z kůže do svaloviny. Kromě kůže mohou také porušit integritu orgánů dýchací a trávicí soustavy a umožnit tak rozšíření mikroorganismů z těchto soustav, kde se přirozeně vyskytují, do příslušných tělních dutin a přiléhající svaloviny [10].

Na začátku technologického zpracování drůbeže, tedy usmrcení a vykuchání, kolísá počet bakterií v mase v rozmezí 10^3 až 10^4 CFU/cm². Složení mikroflóry, nacházející se v tomto stádiu zpracování drůbeže, je pestré a tvoří ho řada mikrobiálních rodů a druhů. Po usmrcení drůbeže převládají bakterie rodu *Pseudomonas* (20 – 25 %), zbytek tvoří další mikroorganismy. Složení mikroflóry na kůži drůbeže je na konci chladírenského uchování podstatně

změněné. Bakterie rodu *Pseudomonas* a *Alcaligenes* tvoří už 90 až 95 % a počet bakterií dosahuje hodnoty 10^7 až 10^8 CFU/cm² [11].

Chlazená drůbež má ideální podmínky pro růst mikroorganismů, nejčastěji se vyskytují zástupci čeledi *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Aeromonadaceae*, rodů *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* a bakterií mléčného kvašení. Na drůbeži se vyskytují bakterie *Staphylococcus aureus*, nacházející se v nosohltanu živých ptáků, odkud může dojít k přenosu na kůži a mezi peří. Dále byla zjištěna přítomnost bakterií čeledi *Campylobacteraceae* - *Arcobacter butzleri*, *Acrobacter cryaerophilus*, *Arcobacter skirrowii* a *Helicobacter pullorum*, z čeledi *Enterobacteriaceae* *Yersinia enterocolitica* [7, 12].

Na povrchu drůbeže se vyskytují také kvasinky rodů *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Cystofilobasidium* a *Debaryomyces* a další [13].

Kažení drůbeže se projevuje zápachem, společně s pH stoupá obsah čpavku. Příčinou je zejména pomnožení pseudomonád (hlavně *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. fragi*), zástupců *Moraxella* a *Acinetobacter*. Jedná se o silně proteolytické mikroorganismy, schopné i lipolytické aktivity. Senzorické změny jsou patrné, pokud počet těchto psychrotrofů dosahuje počtu $10^7 - 10^8$ CFU/g [4].

Počet mikroorganismů v terminální části střeva se u savců, ptáků a plazů pohybují v rozpětí $10^7 - 10^{12}$ CFU/g [14].

Mezi první bakterie, které kolonizují gastrointestinální trakt mláďat ptáků, patří zejména *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, dále bifidobakterie a zástupci rodů *Clostridium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*. Bakterie rodu *Clostridium* jsou běžně přítomné v trávicím traktu zdravé drůbeže. Jejich přemnožení a tvorba toxinu jsou příčinou vzniku klinického onemocnění nekrotická enteritida. Vyskytuje se např. u kura domácího, brojlerů, u krůt. Původce je *Clostridium perfringens* typu A – E [15, 16].

Během prvních dvou až čtyř dnů osídlí tenké a slepé střevo enterokoky a enterobakterie. V prvním týdnu života kuřete se v tenkém střevě vyskytují převážně laktobacily, slepé střevo je později kolonizováno hlavně anaerobními bakteriemi - zástupci rodu *Bacteroides* a bifidobakteriemi, fakultativně anaerobní bakterie se vyskytují méně. U dospělé drůbeže je největší množství střevních bakterií ve slepém střevě, kde se vyskytují hlavně klostridia, zástupci rodu *Bacteroides*, v menším počtu je zde zastoupení laktobacilů a enterokoků.

V tenkém střevě se vyskytují nejvíce laktobacily, enterokoky a enterobakterie. Ve střevech se vyskytuje v malém množství houby *Penicillium*, *Saccharomyces*, *Candida albicans* a *Aspergillus*. V buňkách střevní sliznice se mohou vyvíjet také parazité kokcidie [17, 18, 19, 20].

U bažantů ve věku od jednoho do 120 dnů se vyskytují ve dvanácterníku po dvou dnech života bifidobakterie, po pěti dnech v lačníku a po deseti dnech ve slepém střevě a konečnicku. Jeden den po vylíhnutí se objevují v různých částech střevního traktu laktobacily a klostridia. Mikroorganismy rodu *Bacteroides*, *Peptococcus* a další striktně anaerobní bakterie se objevují mezi pátým až desátým dnem života. Ve třiceti dnech věku bažanta tvoří dominantní mikroflóru dvanácterníku, lačníku, slepého střeva a konečnicku bifidobakterie, laktobacily a peptokoky. Ve slepém střevě a konečnicku se také nacházejí ještě bakterie rodu *Bacteroides* a ve dvanácterníku enterokoky. Mezi desátým a dvacátým dnem věku narůstají v různých částech střevního traktu počty bakterií *Escherichia coli* [10].

Tab. 1: Počty vybraných anaerobních mikroorganismů ve střevním obsahu jednotlivých částí střeva bažantů ve věku 120 dnů (log CFU/g) [10]

ČÁSTI STŘEVA	ANAEROBNÍ MIKROORGANISMY					AEROBNÍ MIKROORGANISMY	
	<i>Bacteroidaceae</i>	Bifidobakterie	Klostridia	Laktobacily	Peptokoky	<i>Escherichia</i>	<i>Enterococcus</i>
Dvanácterník	7,13	6,35	4,15	6,22		4,13	7,14
Lačník	6,87	6,32	4,11	6,39	2,45	4,18	5,62
Slepé střevo	7,15	7,76	3,86	6,89	7,2	4,11	4,34
Konečník	7,1	7,2	3,1	6,9	7,1	4,55	4,1

Svalovina bažantů obsahuje podstatně menší množství mikroorganismů než střeva. Na prsní svalovině bažantích kohoutů z farmového odchovu bylo zjištěno 3,54 log CFU/g psychrotrofních mikroorganismů, na stehenní svalovině 3,79 log CFU/g. V prsní svalovině farmově chovaných bažantích slepic byl počet psychrotrofních mikroorganismů 4,02 log CFU/g, ve stehenní svalovině 4,24 log CFU/g. Prsní svalovina bažantích kohoutů z odlovu obsahovala menší počet mikroorganismů 2,79 log CFU/g, stehenní svalovina 3,25 log CFU/g. Prsní svalovina bažantích slepic z odlovu obsahovala 2,60 log CFU/g, stehenní svalovina 3,22 log CFU/g psychrotrofních mikroorganismů. Tyto hodnoty byly zjištěny u neskladovaných bažantů [10].

1.2 Významní zástupci mikroorganismů osídlujících drůbež

1.2.1 *Salmonella*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Proteobacteria*

Třída: *Gammaproteobacteria*

Řád: *Enterobacteriales*

Čeleď: *Enterobacteriaceae*

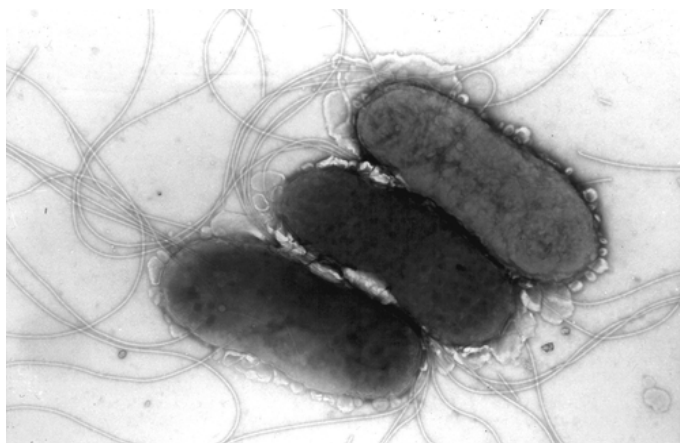
Rod: *Salmonella* [22]

Bakterie rodu *Salmonella* jsou rovné, gramnegativní, nesporulující tyčinky, většinou pohyblivé peritrichálními bičíky (obr. 1). Bakterie se mohou vyskytovat v řetízcích, ale také jednotlivě, nebo v párech. Jsou fakultativně anaerobní a chemoorganotrofní, mají respiratorní i fermentatorní typ metabolismu. Rostou při teplotě 6 – 50 °C, nejlépe při 37 °C. Salmonely přežívají zmrazení a chlazení, usmrčovány jsou působením teplot nad 66 °C. Některé sérotypy jsou značně termorezistentní (*S. Senftenberg*) [22, 23].

Salmonely jsou primárními střevními patogeny člověka, teplokrevných i studenokrevných živočichů. Nacházejí se v potravinách, ve vodě, v prostředí, v půdě. Ve vodě mohou za vhodných podmínek přežít měsíce i léta [22, 24].

Mezi nejčastější původce onemocnění se řadí *Salmonella* Enteritidis (*S. enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis). Může se šířit do vnitřních orgánů. K šíření infekce může dojít prostřednictvím kontaminovaného krmiva, vody nebo z různých zdrojů chovatelského prostředí. Druhý nejčastějším původcem gastroenteritid je *S. enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium. *S. Typhi*, je patogenní pouze pro člověka, k přenosu dochází prostřednictvím vody a potravin kontaminovaných lidskou stolicí [7, 22].

Některé sérotypy jsou úzce adaptovány na svého hostitele např. *S. Typhi* a *S. Paratyphi* na člověka, na dobytek *S. Dublin*, na prase *S. Choleraesuis*, na drůbež *S. Gallinarum*, ale mnohé sérotypy tuto vazbu na hostitele nemají, např. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* [24].

Obr. 1: *Salmonella* [25]

1.2.2 *Listeria monocytogenes*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Firmicutes*

Třída: *Bacilli*

Řád: *Bacillales*

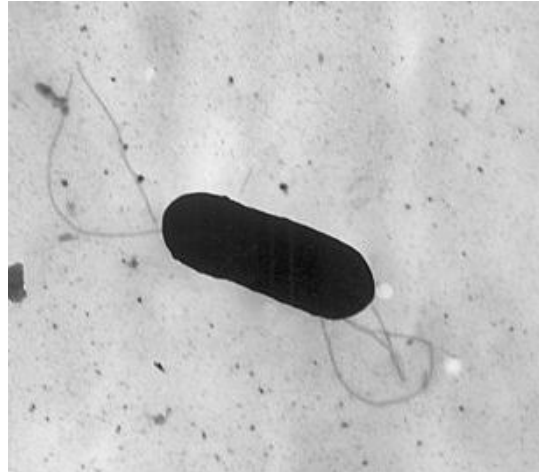
Čeleď: *Listeriaceae*

Rod: *Listeria* [22]

Listerie tvoří pravidelné krátké tyčky se zakulacenými konci, občas mají i kokovitý tvar (obr. 2). Vyskytují se jednotlivě nebo v krátkých řetízích. Listerie jsou široce rozšířené v prostředí, některé druhy jsou patogenní pro člověka i zvířata. *Listeria monocytogenes* je rozšířena u zvířat, ve volné přírodě, na rostlinách, bývá také izolována ze stočnického kalu, siláže, půdy, stolice zdravých zvířat i člověka a také z humánního i veterinárního klinického materiálu. Listerie jako patogenní mikroorganismy, které mohou přechodně osidlovat sliznice svých hostitelů, především v zažívacím traktu lidí a zvířat [22, 24].

Listeria monocytogenes způsobuje onemocnění zvané listerióza, které vzniká především po konzumaci nepasterovaných sýrů a mléčných výrobků, kontaminované zeleniny a při požití nesprávně připraveného jídla z masa. Projevuje se střevními a žaludečními potížemi, bolestmi hlavy, zvracením, průjmem, apod. Listerie pronikají v zažívacím traktu endocytózou do epiteliálních buněk tenkého střeva nebo jsou absorbovány buňkami imunitního systému. Jsou rychle fagocytovány mikrofágy a další rozvoj infekce je určován schopností listerií množit se v makrofágu [24, 26].

Je málo pravděpodobné, že malé množství bakterií v potravinách způsobí listeriózu, ale je známo, že požití potravin kontaminované více než 1000 bakteriemi *L. monocytogenes* způsobí onemocnění ohrožených skupin lidí, kterými jsou starší lidé, novorozenci, těhotné ženy, lidé se sníženou obranyschopností organismu atd. [26].



Obr. 2: *Listeria monocytogenes* [28]

L. monocytogenes je velmi odolná vůči zmrazování, sušení, dokáže se množit už při teplotách 3 – 4 °C a roste i při teplotách 45 – 50 °C. Pasterační proces však nepřezijí (72 °C po dobu 16 sekund) [26, 27].

1.2.3 *Campylobacter*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Proteobacteria*

Třída: *Epsilonproteobacteria*

Řád: *Campylobacterales*

Čeleď: *Campylobacteraceae*

Rod: *Campylobacter* [22]

Campylobacter jsou zakřivené gramnegativní tyčinky, někdy až spirálovitého tvaru (obr. 3) s několika závitů, velké 0,2 – 0,5 μm x 0,5 – 5 μm. Jsou pohyblivé pomocí polárních bičíků. Mají pozitivní katalasovou i oxidasovou reakci. Nejdůležitější druh *Campylobacter jejuni* lze rozpoznat od ostatních díky jeho schopnosti hydrolýzy hipurátu, rezistenci k celafalotinu a citlivosti k nalidixové kyselině [24, 29, 30].



Obr. 3: *Campylobacter jejuni* [31]

Campylobacter jsou velmi rozšířeny v přírodě, většina je adaptována na střevní trakt teplokrvných zvířat. *C. jejuni* se vyskytuje hlavně u drůbeže. *C. jejuni* vyvolává akutní střevní onemocnění po požití infikované potravy, jako jsou chladírenská kuřata, krůty a jiná drůbež, nepasterizované mléko, voda, nebo kontaktem s nakaženým zvířetem. Infekce často souvisí s tepelně špatně upravenou potravou. Při teplotě pod 37 °C se *C. jejuni* nemnoží, ale může přežívat ve vlhku i při 4 °C i několik týdnů [24, 30].

1.2.4 *Clostridium*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Firmicutes*

Třída: *Clostridia*

Řád: *Clostridiales*

Čeleď: *Clostridiaceae*

Rod: *Clostridium* [22]

Rod *Clostridium* zahrnuje tyčinky s oblými konci, tvořící odolné spory. Grampozitivně se barví především v počátečních stádiích růstu. Většina druhů roste za anaerobních podmínek, některé však vykazují různou širší tolerance ke kyslíku. Rostou v širokém teplotním rozmezí s optimem 37 °C [24, 30, 32].

Klostridia se běžně vyskytují v půdě, odpadech a produktech živočišného i rostlinného původu. Vyskytují se i jako saprofyty a komenzálové ve střevě zvířat a člověka [32].

Spory klostridií jsou značně odolné vůči nepříznivým podmínkám zevního prostředí, jako je teplota, záření, vyschnutí a různé chemické látky. Spory jsou přítomny v půdě, vodě, v prachu a mohou kontaminovat potraviny [30].

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens je sporotvorná grampozitivní bakterie, která se vyskytuje ubikvitně, např. ve střevě lidí a zvířat. Jedná se o nepohyblivé tyčky, silné přes 1 μm, krátké 2 – 4 μm nebo dlouhé - více než 10 μm. Někdy mohou být opouzdřené polysacharidovým pouzdrém. Spory přežívají v půdě nebo prachu po velmi dlouhou dobu a mohou snadno kontaminovat potraviny, zvláště maso. *C. perfringens* se běžně nachází v syrovém mase a drůbeži [24, 33, 34].

Otrava toxinem *C. perfringens* nastává pouze při silné kontaminaci potraviny. *C. perfringens* je producentem řady toxických enzymů a na základě spektra tvořených toxinů jsou jednotlivé kmeny rozděleny do pěti toxických typů, označovaných A – E. Typy A, B a D produkují do potravin termolabilní enterotoxin a jejich termorezistentní spory jsou schopné přežít var [24, 30].

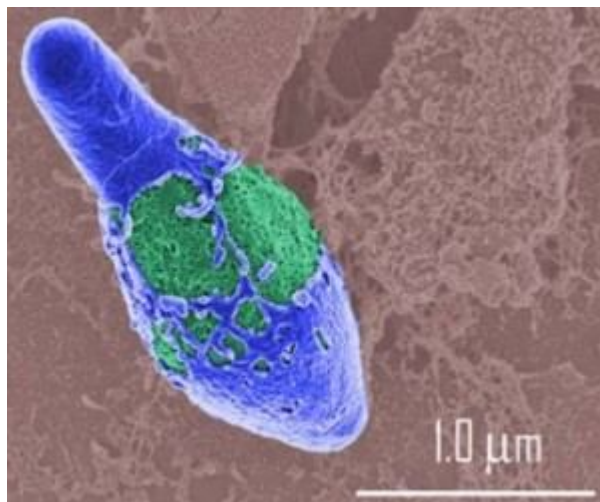
Clostridium botulinum

Clostridium botulinum zahrnuje heterogenní skupinu bakterií, společným znakem těchto bakterií je tvorba toxinu se shodným biologickým účinkem, ale různou antigenní strukturou, podle které se dělí na antigenní typy A – G. Všechny produkované toxiny mají vlastnosti neurotoxinů. Tvoří se ve tkáních uhynulých organismů a ve vhodných substrátech mimo tělo. Tento toxin (botulotoxin) je příčinou botulismu neboli otravy klobásovým jedem. Produkce botulotoxinu byla také prokázána u dalších druhů klostridií, a to u *Clostridium butyricum* (neurotoxin typu E) a *Clostridium baratii* (neurotoxin typu F). Pro člověka je toxický botulotoxin typu A, B a E, vzácně F a G. Typy C a D u člověka nepůsobí klinické příznaky, vyvolávají onemocnění u zvířat [30, 32].

Nejčastější formou botulismu je alimentární intoxikace botulotoxinem již vytvořeným v potravine, nejčastěji v domácích masových, rybích i zeleninových konzervách a v polo-konzervách včetně různých omáček [24].

Podle biochemické aktivity a dalších biologických vlastností rozdělujeme kmeny *Clostridium botulinum* do 4 skupin [30]:

1. skupina - obsahuje proteolytické kmeny, které tvoří botulotoxin typů A, B a F, hojně rozšířené v půdě, na rostlinách a ve střevním traktu savců [24, 30].
2. skupina – představuje sacharolytické kmeny, které produkují botulotoxin typů E, B a F, nejčastěji se vyskytují ve vodách a u vodních zvířat [24, 30].
3. skupina – kmeny produkují toxin typu C a D a *Clostridium novyi* typ A [24, 30].
4. skupina – obsahuje proteolytické *Clostridium*, produkující botulotoxin typu G a netoxické *Clostridium subterminale* [24, 30].



Obr. 4: *Clostridium botulinum* [21]

1.2.5 *Escherichia coli*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Proteobacteria*

Třída: *Gammaproteobacteria*

Řád: *Enterobacteriales*

Čeleď: *Enterobacteriaceae*

Rod: *Escherichia* [22]

Jedná se o gramnegativní fakultativně anaerobní rovné tyčky se zaoblenými konci, 2-3 μm dlouhé, 0,6 μm široké, někdy mohou být krátké - kokobacilární. Vyskytují se jednotlivě nebo ve dvojicích. Optimální teplota růstu *E. coli* je 37 °C. Tyto bakterie mohou přežít v prostředí bez kyslíku i s kyslíkem. *E. coli* žije jako komenzál v tlustém střevě člověka a teplokrevných živočichů. Fekálním znečištěním se dostává do vody, kde může přežít i něko-

lik týdnů. Slouží jako indikátor fekálního znečištění prostředí a pitné vody [22, 24, 35, 36, 37].

K přenosu *E. coli* dochází přímým kontaktem fekálně kontaminovanými rukama nebo nepřímo prostřednictvím kontaminovaných předmětů. Dále konzumací kontaminovaných potravin a vodou [38].

Vysoce infekční sérotyp je *E. coli* O157:H7. Příznaky infekce mohou být nevolnost, zvracení, žaludeční křeče, krvavý průjem, může dojít k selhání ledvin a dalších orgánů, k anémii, ke spontánnímu krvácení a dalším komplikacím [24, 37].

V zažívacím traktu se určité kmeny *E. coli* uplatňují jako patogeny různými mechanismy, podle kterých se skupiny kmenů *E. coli* označují jako [24]:

1. enteropatogenní (EPEC)
2. enterotoxigenní (ETEC)
3. enteroinvazivní (EIEC)
4. enterohemoragické (EHEC)

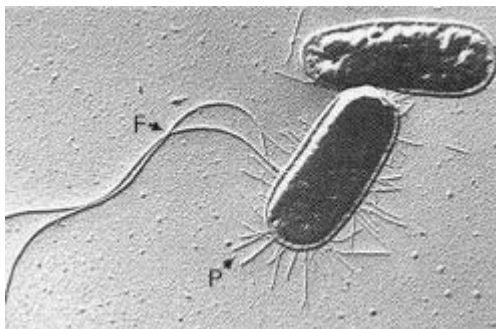
Enteropatogenní *E. coli* vyvolávají akutní průjmová onemocnění u novorozenců a kojenců. Bylo prokázáno, že schopnost vyvolat tyto průjmy je vázána pouze na některé sérotypy, které kolonizují tenké a tlusté střevo. U EPEC kmenů nebyla prokázána tvorba enterotoxinů. Infekce těmito kmeny je spojena s charakteristickými ultrastrukturálními změnami v epiteliálních buňkách tenkého střeva. Podstatou je úzká vazba bakterií *E. coli* s enterocyty [24, 38].

Enteroinvazivní *E. coli* mají podobný mechanismus patogenity jako shigely, tj. pronikají do buněk a v nich se množí. Nemoc probíhá pod obrazem bacilární dysenterie [24, 38].

Enterotoxigenní *E. coli* kolonizují tenké střevo pomocí kolonizačních faktorů, což jsou proteinové fimbrie, které jsou druhově specifické (např. pro člověka, selata, telata). ETEC kmeny vyvolávají akutní průjmová onemocnění u dětí i dospělých. Vyskytují se převážně v teplých oblastech (Mexiko, Bangladéš, Egypt), jsou nazývány jako cestovatelské průjmy [24, 38].

Enterohemoragické *E. coli* mají podobný mechanismus adherence jako EPEC, ale váží se převážně v tlustém střevě. Jsou producenty toxinu, který se označuje jako podobný shigelovému (shigalike toxin) nebo verotoxin. Izolují se ze sporadických nebo epidemických one-

mocnění hemoragickou kolitidou, u některých nemocných se vyvine hemolytickoureemický syndrom (HUS). Jde o mikroangiopatickou hemolytickou anemii s trombotizací, primárně jsou poškozeny endotelie, onemocnění je často smrtelné. Zdrojem infekce je většinou infikované hovězí maso [24, 38].



Obr. 5. *Escherichia coli* [39]

1.2.6 *Staphylococcus aureus*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Firmicutes*

Třída: *Bacilli*

Řád: *Bacillales*

Čeleď: *Staphylococcaceae*

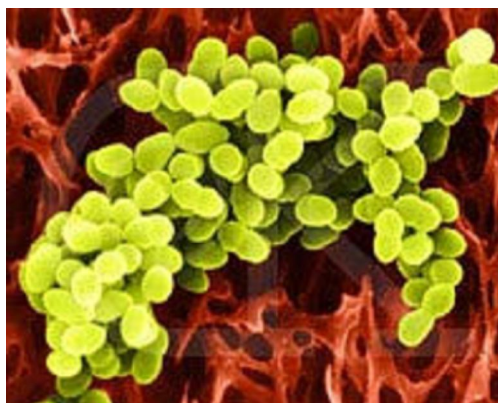
Rod: *Staphylococcus* [22]

Staphylococcus aureus je grampozitivní kok seskupený do hloučků. Jedná se o fakultativně anaerobní organismus. Přirozeně obývají kůži a sliznice lidí a zvířat a nevyvolává žádné potíže. Stačí však sebemenší porucha přirozené odolnosti a projeví se jako patogen, pronikne do tkání a vyvolá onemocnění od kožních afekcí po závažné záněty vnitřních orgánů. Řadí se mezi biochemicky neaktivnější bakterie, produkuje spoustu komplexních látek buněčné stěny, exoenzymů a toxinů, z nichž mnohé se uplatňují jako faktory virulence [24, 30, 40].

Stafylokoky patří mezi mikroby poměrně rezistentní k zevnímu prostředí, odolávají vyschnutí, i zahřívání na teploty kolem 60 °C [30].

Staphylococcus aureus produkuje v potravinách enterotoxiny bílkovinné povahy, které mohou způsobit až smrtelné otravy. Enterotoxin je tepelně stabilní protein, který zůstává aktivní i po varu po dobu 30 min. *St. aureus* se nejčastěji vyskytuje u masa, masných výrobků,

vaječných výrobcích, ryb, brambor, pečiva, cukrářských výrobcích, mléčných výrobcích, apod. Do potravin se *St. aureus* dostane při špatných hygienických podmínkách, např. z hnisajících ložisek na ruce lidí připravující příslušné potraviny, z kontaminovaných povrchů, nádob, apod. K otravě dochází většinou tehdy, je-li koncentrace buněk *St. aureus* v potravine řádu 10^5 až 10^7 g⁻¹. Původcem otravy však nejsou živé buňky, ale jimi vytvořené toxiny [40, 41, 42].



Obr. 6: *Staphylococcus aureus* [43]

1.2.7 *Pseudomonas*

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Proteobacteria*

Třída: *Gammaproteobacteria*

Řád: *Pseudomonadales*

Čeleď: *Pseudomonadaceae*

Rod: *Pseudomonas* [22]

Pseudomonas patří mezi gramnegativní, nefermentující, fakultativně anaerobní, tyčinkovité bakterie. Pohybují se jedním nebo několika polárními bičíky, pouze zřídka jsou nepohyblivé. Mají schopnost využívat nejrůznější organické sloučeniny jako zdroje energie a uhlíku a bez nároků na specifické růstové látky. Některé druhy jsou schopny využívat jednouhlíkaté sloučeniny (např. methanol) jako zdroje živin a energie [41, 44].

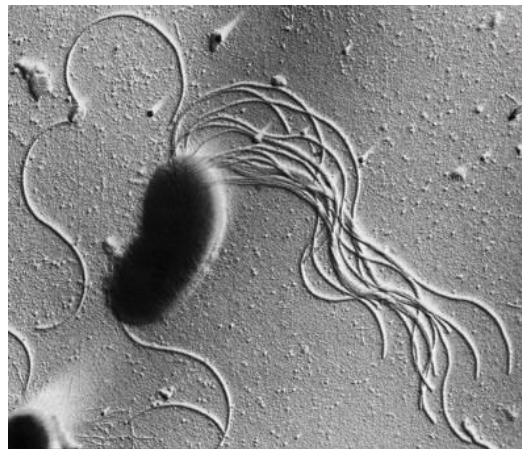
Spousta druhů tvoří fenazinová barviva žlutých, modrých, zelených nebo červených odstínů, která uvolňují do růstového prostředí a způsobují tím nežádoucí zbarvení potravin (např.

modrání nebo červení mléka). Některé druhy vyvolávají v potravinách cizí vůně nebo pachy (ovocný, rybí) nebo pachuti (např. mýdlovou, hořkou apod.) [41].

Mají silné proteolytické schopnosti, které jim umožňují rozklad bílkovinných potravin, a proto patří k nejpočetnějším mikroorganismům na povrchu masa a způsobují jeho kažení. Jejich lipolytické vlastnosti se uplatňují při kažení tuků [41].

Nejvýznamnější a nejčastěji izolovaný druh představuje *Pseudomonas aeruginosa*. Je výrazným patogenem. Vyskytuje se v přírodních i odpadních vodách, v půdě, na rostlinách, u volně žijících i domácích zvířat, v potravinách, zejména v mase. Často je přítomna v tlustém střevě jako normální flóra. Je relativně rezistentní k fyzikálním a chemickým vlivům, roste při 42 °C [30, 44].

Dalším poměrně často izolovaným druhem je *Pseudomonas fluorescens*. Jako patogen se uplatňuje pouze příležitostně. Vyskytuje se v půdě, vodě, v potravinách, některé kmeny jsou patogenní pro rostliny. Mezi další významné druhy patří *Pseudomonas putida* a *Pseudomonas stutzeri* [30, 44].



Obr.7: *Pseudomonas fluorescens* [45]

2 BIOGENNÍ AMINY

Biogenní aminy jsou skupinou alifatických, heterocyklických nebo aromatických bází odvozených od aminokyselin. Některé biogenní aminy mají samy významné biologické vlastnosti, protože jsou např. tkáňovými hormony (histamin), protoalkaloidy (hordenin, gramin) a stavebními látkami, které se účastní biosyntézy dalších hormonů živočichů (fenylethylamin), fytohormonů auxinů, alkaloidů a dalších sekundárních metabolitů rostlin. U histaminu, tyraminu a 2-fenyletylaminu jsou zjišťovány nepříznivé účinky, ovlivňují nervový systém, působí na krevní tlak, vyvolávají kožní projevy (tabulka 2). Polyaminy (spermidin, putrescin, kadaverin) jsou nezbytné pro dělení a růst buněk, pro udržení vysoké metabolické aktivity, pro funkci imunitního systému, atd. Podporují zároveň i růst nádorů, i když samy nejsou karcinogenní. [46, 47,48].

Tab.2: Biogenní aminy, jejich prekurzory, produkty transformace a biologický význam [54]

Biogenní amin	Původní aminokyselina	Další produkty aminokyselin a transformace aminu	Biologický význam
histamin	histidin		lokální tkáňový hormon, snižuje krevní tlak, vliv na sekreci žaludeční šťávy, účast při anafylaktickém šoku a alergických reakcích
kadaverin	lysin		stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk
putrescin	arginin via ornitin nebo citrulin	N-methylputrescin, polyaminy spermidin, spermin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk
agmatin	arginin	putrescin, N-methylputrescin, polyaminy spermidin, spermin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk
fenylethylamin	fenylalanin	tyramin, dopamin, adrenalin, noradrenalin	
tyramin	tyrosin	dopamin, epinefrin, norepinefrin, synefrin, hordenin	prekurzor dopaminu, lokální tkáňový hormon, zvyšuje krevní tlak, vliv na kontrakce hladkého svalstva
dopamin	DOPA	norepinefrin, epinefrin	mediátory sympatických nervů
tryptamin	tryptofan	serotonin, melatonin	lokální tkáňové a rostlinné hormony (katecholaminy), vliv na krevní tlak, peristaltiku střev, psychické funkce

Biogenní aminy vznikají z aminokyselin působením specifických enzymů ze skupiny dekarboxyláz nebo jako produkty enzymově katalyzované aminace. Vznikají také působením vysokých teplot. Jsou nežádoucími metabolity rozkladu bílkovin [50, 51].

Biogenní aminy jsou v nízkých koncentracích přirozenou složkou řady potravin jako běžné produkty metabolismu, jsou to tzv. endogenní biogenní aminy. Exogenní biogenní aminy vznikají v potravinách při kvasných procesech a jako důsledek mikrobiální kontaminace. V živočišných tkáních a rostlinných pletivech vykonávají řadu důležitých funkcí. K tvorbě biogenních aminů značně přispívá kulturní a kontaminující mikroflóra, protože některé mikroorganismy mají schopnost tvořit dekarboxylázové enzymy, které katalyzují dekarboxylaci volných aminokyselin v potravině za vzniku biogenních aminů [46, 50, 52, 53].

2.1 Výskyt biogenních aminů v potravinách

Biogenní aminy se vyskytují ve všech potravinách, které obsahují bílkoviny nebo volné aminokyseliny. Biogenní aminy se ve vyšším množství vyskytují ve fermentovaných potravinách, kde vznikají činností mikroorganismů (kysané zelí, fermentované masné výrobky, sýry, víno aj.). V mase, rybách a sýrech jsou hlavními biogenními aminy histamin, putrescin, tyramin a kadaverin. Při skladování masa dochází vlivem enzymové aktivity přítomné mikroflóry ke zvýšení obsahu biogenních aminů, a obsah některých z nich lze využít jako indikátor čerstvosti masa. Vaření má malý vliv na obsah biogenních aminů, dochází pouze k jejich částečnému vyluhování a rozkladu, vyšší úbytky jsou při pečení a smažení [54, 55].

Čerstvé a zpracované vepřové maso obsahuje velké množství adrenalinu, spermidinu a sperminu a nižší hladiny noradrenalinu, putrescinu, histaminu, kadaverinu a tyraminu. Velké množství kadaverinu přítomné v hovězím mase byly spojeny s velkou kontaminací enterobakteriemi. BA ve fermentovaných salámech mohou pocházet z kontaminované suroviny nebo kvašením. Ve vakuově baleném mase byla zjištěna tvorba tyraminu způsobená bakterií *Carnobacterium divergens*, tvorba putrescinu a kadaverinu byla způsobena enterobakteriemi nebo pseudomonádami [55, 56].

V čerstvém rybím mase je obsah biogenních aminů malý, obsah se zvyšuje při nevhodném skladování, při vyšších teplotách je přítomnou mikroflórou dekarboxylován hlavně histidin na histamin. Vznikají také ostatní biogenní aminy, jako je tyramin, kadaverin a putrescin. Optimální teplota tvorby histaminu je 5 – 38 °C a závisí hlavně na druhu kontaminující mik-

roflóry. Mezi mikroorganismy, které jsou schopny produkovat nebezpečné množství histaminu patří *Morganella morganii* a *Hafni alvei*, *Acromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., atd. Minoritním biogenním aminem bývá agmatin, který se v mase a mase ryb nachází běžně v množství 1 – 3 mg.kg⁻¹ [54, 57].

Výskyt biogenních aminů v mléce je nízký, ale v sýrech se obsah výrazně zvyšuje. Při zrání dochází k výrazné tvorbě biogenních aminů, ale příliš velké množství může být způsobené vlivem kontaminující mikroflóry v provozech s nedostatečnou hygienickou úrovní [54, 56, 57].

Biogenní aminy se jako přirozená součást vyskytují i v potravinách rostlinného původu. Hlavním biogenním aminem v ovoci a zelenině bývá tyramin. Citrusové plody mají hodně putrescinu, v banánech je jako hlavní biogenní amin tyramin, dále také fenylethylamin, histamin, dopamin, serotonin a norepinefrin. Listy špenátu obsahují histamin, dále N-methylhistamin, N-acetylhistamin a amidy histaminu s různými karboxylovými kyselinami. V mléčné fermentované zelenině (např. mrkev a červená řepa) byl nalezen kadaverin, histamin, putrescin, spermidin a tyramin. V pšenici se nacházejí amidy 2-hydroxyputrescinu s ferulovou a p-kumarovou kyselinou, které vznikají jako fytoalexiny při napadení rostliny [54, 58].

Odstranění již jednou vzniklých biogenních aminů z potraviny je velmi obtížné, snížení lze dosáhnout např. použitím diaminooxidasy, ale v praxi to není použitelné. K částečnému snížení obsahu aminů dochází v tepelně zpracovaných výrobcích jejich reakcí s rozkladnými produkty cukrů v Marillardově reakci. Nejvhodnějším způsobem je dodržování takových technologických postupů a hygienických podmínek při výrobě, které brání vzniku biogenních aminů [54].

2.2 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Jako producenti biogenních aminů bývají popisováni zástupci těchto bakterií: *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, rod *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* [12].

Přítomnost bakterií s dekarboxylázovou aktivitou může tedy ukazovat na přítomnost toxických produktů v potravinách. Ani chladírenské skladování nemusí zamezit vzniku biogen-

ních aminů, bylo zjištěno, že se obsah biogenních aminů zvyšuje i během skladování při teplotě 4 °C [12].

Enterobacteriaceae jsou považovány za mikroorganismy s vysokou dekarboxylázovou činností, zejména v produkci kadaverinu a putrescinu. Vysoký dekarboxylační účinek byl zaznamenán např. u *Enterobacter* a *Serratia*. *Enterobacteriaceae* produkují také značné množství histaminu, zejména *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Klebsiella oxytoca* a *Escherichia coli* [59].

Z čeledi *Micrococcaeae* byla pozorována dekarboxylace histidinu u rodů *Micrococcus* a *Staphylococcus*. Produkce histaminu byla pozorována u *St. xylosus*. *St. carnosus* a *St. pisci-fermentans* mají velkou dekarboxylační činnost aminokyselin, produkují 2-fenyletylamin, histidin, putrescin a kadaverin [59].

Bakterie mléčného kvašení nejsou považovány za toxické a patogenní, některé druhy však produkují BA, nejvýznamnější je tvorba tyraminu [59].

Na produkci BA se podílejí také kvasinky. U kvasinek rodu *Debaryomyces* a *Candida* izolovaných z fermentovaného masa byla zjištěna dekarboxylázová aktivita histidinu, která byla vyšší, než u bakterií mléčného kvašení a stafylokoků. Některé kmeny kvasinek byly schopné tvořit vysoké množství 2-fenylethylaminu a tyraminu [59].

Tab. 3: Významné mikroorganismy produkující biogenní aminy [54]

Potravina	Mikroorganismy	Produkovávané aminy
ryby	<i>Morganella morgani</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Clostridium perfringens</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, agmatin
sýry	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Propionibacterium</i> sp., <i>Bacillus macerans</i> ,	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, tryptamin
maso a masné výrobky	<i>Pediococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp.	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, fenylethylamin, tryptamin
fermentovaná zelenina	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus</i> sp.	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin
fermentované výrobky ze sóji	<i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>Trichosporon beigllii</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, tryptamin

2.3 Biologické účinky biogenních aminů

Biogenní aminy jsou pro organismus nepostradatelné, ale ve vysokých koncentracích se mohou projevovat jako psychoaktivní a vasoaktivní aminy. Psychoaktivní aminy působí jako přenašeči v centrálním nervovém systému, vasoaktivní aminy působí přímo nebo nepřímo na vaskulární systém [54].

Vysoké dávky biogenních aminů mohou způsobit dýchací potíže, žaludeční a střevní potíže, bušení srdce, hypotenzi (histamin) nebo hypertenzi (tyramin), migrény (fenylethylamin, tyramin). Hlavními enzymy, které biogenní aminy ve střevech odbourávají jsou monoaminoxidasa a diaminoxidasa. Spermidin a spermin jsou odbourávány enzymem polyaminoxidasou. Toxický účinek biogenních aminů je silně ovlivněn aktivitou těchto enzymů, která může být u jednotlivých jedinců různá a závislá na řadě faktorů, např. na přítomnosti inhibitorů (některá léčiva, alkohol). Při hodnocení toxického účinku je nutné zvažovat nejen přítomnost konkrétního biogenního aminu, ale i ostatních faktorů, jakými jsou množství spotřebované potraviny, přítomnost jiných toxických látek apod., proto je velmi obtížné stanovit hranici toxicity biogenních aminů [54, 59].

Polyamidy spermidin a spermin, jako vícefunkční kationty, plní řadu významných biologických funkcí. Účastní se proteosyntézy a biosyntézy nukleových kyselin, ovlivňují procesy v organismu, jako je regulace tělesné teploty, příjem výživy, zvýšení nebo snížení krevního tlaku. Zvýšený obsah potravních polyaminů je žádoucí pro hojení ran, popálenin, vývoj a obnovu střevní mukózy apod. [54, 56].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo studium tvorby biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantího masa. Bakterie byly izolovány z prsního svalstva, ze stehenního svalstva, z jater a kůže.

Pro dosažení cílů bylo potřeba:

- vypracovat rešerši týkající se charakterizace mikroflóry bažantů a drůbeže,
- popsat vlastnosti a výskyt biogenních aminů a zastoupení bakterií s dekarboxylázovou aktivitou.

Pro vypracování praktické části diplomové práce bylo nutné naplnit tyto dílčí cíle:

- izolace mikroorganismů z jednotlivých částí bažantů, stanovení jejich počtu a charakteristika bakterií,
- stanovit produkci biogenních aminů kultivační metodou a iontově výměnnou chromatografií,
- na základě získaných výsledků zformulovat závěr.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Popis analyzovaných vzorků

V experimentální části diplomové práce byly analyzovány vzorky vybraných částí těl bažantů, které byly získány od Ing. Roberta Gála, Ph.D. Jednalo se o bažanty, kteří byli chováni ve voliérách v bažantnici Svatobořice - Místřín (Jihomoravský kraj). Dále byli testováni bažanti žijící ve volné přírodě ve stejném regionu. Bažanti byli odloveni dne 6. 11. 2010 a skladováni ve visu venku při teplotě 8 ± 4 °C. První odběr vzorků masa byl proveden dne 9.11.2010, druhý odběr dne 18.11.2010 a třetí odběr dne 25.11.2010.

4.2 Materiál

4.2.1 Kultivační půdy

- Masopeptonový agar (MPA) a bujón (MPB) (HiMedia, Bombai, Indie)
- Plate Count Agar (PCA; HiMedia)
- Endo agar (HiMedia)
- MRS agar a bujón (Oxoid, Basingstoke, Velká Británie)
- M17 agar a bujón (Oxoid)

Příprava půdy: Dané množství půdy bylo dle doporučení výrobce naváženo a rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Sterilizace proběhla v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Připravené půdy byly rozlity do Petriho misek.

4.2.2 Přístrojová technika

- Autokláv H+P Varioklav (H+P Labortechnik AG, Německo)
- Termostat BT 120 (Laboratorní přístroje Praha, Česká republika)
- Laboratorní předvážky (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- Automatické mikropipety (Nichiryo, Japonsko)
- Běžné laboratorní sklo a další pomůcky

4.3 Příprava vzorků

Z jednotlivých částí těl bažanta bylo odebráno cca 5 g vzorku, smícháno s fyziologickým roztokem v poměru 1: 9 a homogenizováno ve stomacheru. Poté bylo dle potřeby provedeno desítkové ředění. Vzorky byly očkované roztěrem na Petriho misky s příslušnými půdami. V rámci práce byly stanoveny celkové počty fakultativně anaerobních mezofilních (CPM) a psychrotrofních mikroorganismů na půdě PCA, enterobakterií na Endo agaru a bakterií mléčného kvašení (BMK) na půdách MRS a M17. Misky byly kultivovány po dobu nezbytnou pro nárůst zjišťovaných mikroorganismů - CPM, BMK a enterobakterie při 30 °C a 37 °C po dobu 48 hodin, psychrotrofní mikroorganismy při teplotě 8 °C po dobu 7 – 10 dnů. Po uplynutí doby nezbytné pro růst testovaných skupin mikroorganismů byly kolonie spočítány a přepočteny na CFU/g.

4.4 Charakterizace izolovaných mikroorganismů

4.4.1 Morfologie mikroorganismů

Makroskopické znaky

Makroskopické znaky udávají informace o povaze mikroorganismů i čistotě kultury. Podle jejich vzhledu, pigmentace a konzistence lze orientačně rozdělit bakterie. Vzhled kolonií může být ovlivněn stářím kultury a kultivačními podmínkami [61].

Při posuzování vzhledu kolonií byly sledovány následující znaky:

- profil, tvar, okraje kolonií,
- velikost kolonií,
- produkce pigmentů,
- konzistence kolonií – hladká, slizovitá, moučnatá, kožovitá,

Mikroskopické znaky

Pomocí mikroskopickými metod lze zjistit tvar, velikost, uspořádání bakterií v preparátu. Podle těchto znaků lze orientačně mikroorganismy (bakterie) rozdělit do skupin [61].

Mikroskopické morfologické znaky byly hodnoceny pomocí objektivu s imerzním olejem u preparátů fixovaných teplem a barvených diagnostickým barvením podle Grama. Pozorová-

ní bylo zaměřeno především na typ buněčné stěny podle Grama, tvar buňky a charakteristická uspořádání buněk [61].

4.4.2 KOH test

KOH test doplňuje Gramovo barvení, je založen na účinku 3% roztoku KOH, jenž hydrolyzuje buněčnou stěnu gramnegativních bakterií. Grampozitivní bakterie účinkům 3% KOH odolávají. Lze jej rovněž použít k orientačnímu určení, zda se jedná o grampozitivní nebo gramnegativní bakterie [62].

Na podložní skličko byla nanесena kapka 3% roztoku KOH (Lach-Ner, Neratovice, ČR). Vyžíhanou a zchlazenou bakteriologickou kličkou bylo odebráno dostatečné množství kultury (1 kolonie) zkoumané bakterie a rozmícháno v nanесeném KOH. Po rozmíchání byla klička zvednuta od sklička. V případě, že zkoumaná bakteriální kultura je gramnegativní, se suspenze KOH s bakteriální kulturou stává viskosní, buňky se rozpouští a za kličkou se táhne vlákno uvolněného buněčného obsahu. V případě, že zkoumaná kultura je grampozitivní, nedochází k lysi bakteriálních buněk a suspenze bakterií a KOH zůstává tekutá a vlákno buněčného obsahu za kličkou se netvoří [49].

4.4.3 Produkce katalasy

Některé bakterie jsou schopny produkovat enzym katalasu, který rozkládá peroxid vodíku na vodu a molekulární kyslík. Katalasu tvoří především aerobní a fakultativně anaerobní bakterie [62].

Na podložní skličko byl nanесen 3% peroxid vodíku a do něj byla pomocí kličky rozetřena bakteriální kolonie narostená na Petriho misce. Pozitivní reakce se projevila uvolňováním bublinek kyslíku [62].

4.5 Dekarboxylázová aktivita bakterií

Při dekarboxylaci aminokyselin působením enzymů některých bakterií dochází ke vzniku CO₂ a příslušného aminu, čímž se zvýší pH půdy [68].

4.5.1 Zjišťování produkce biogenních aminu kultivační metodou v dekarboxylačním médiu s pH indikátorem

Produkce biogenních aminu byla sledována v dekarboxylačním médiu obsahujícím příslušnou aminokyselinu a pH indikátor (brokresol purpur) v mikrotitračních destičkách. Do každé jamky mikrotitrační destičky bylo napipetováno 150 μ l dekarboxylačního média obohaceného o příslušnou aminokyselinu v koncentraci 1 % (w/v) a 5 μ l 24 hodinové suspenze daného mikroorganismu kultivovaného v příslušném bujónu (MPB, MRS, M17). Štěpení aminokyselin je anaerobní proces, proto byly všechny jamky pro vytvoření anaerobního prostředí zakápnuty 1 kapkou parafinového oleje. Destičky byly vloženy do sáčku a kultivovány při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin. Pozitivní reakce se projevila změnou barvy média ze žluté na fialovou.

Složení dekarboxylačního média [68]

Hodnoty jednotlivých komponent jsou uvedeny v gramech na 100 ml média:

trypton (HiMedia)	0,5
kvasničný extrakt (HiMedia)	0,5
masový extrakt (HiMedia)	0,5
NaCl (Lach-Ner)	0,25
glukóza (Lach-Ner).....	0,05
Tween 80 (Sigma-Aldrich)	0,1
MgSO ₄ (Lach-Ner)	0,02
MnSO ₄ (Lach-Ner)	0,005
FeSO ₄ (Lach-Ner).....	0,004
citrát amonný (Lach-Ner).....	0,2
thiamin (Sigma-Aldrich)	0,001
K ₃ PO ₄ (Lach-Ner).....	0,2
CaCO ₃ (Lach-Ner)	0,01
pyridoxal-5-fosfát (Sigma-Aldrich).....	0,005
přílušná aminokyselina (Sigma-Aldrich)	1,0
bromkresol purpur (Sigma-Aldrich).....	0,006
pH	5,3

4.5.2 Stanovení biogenních aminů iontově-výměnnou chromatografií

Bujón pro růst zkoušených bakterií byl obohacen prekurzory sledovaných biogenních aminů aminokyselinami argininem, histidinem, lyzinem, ornitinem, a tyrozinem (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) v koncentraci 0,2 % (w/v). Dekarboxylační médium s aminokyselinami bylo v mikrozkuhavce po inkubaci centrifugováno (10000×30 min při 4 °C). Směs byla zfiltrována přes 0,45 μm filtr. 100 μl takto připravené směsi bylo automaticky nastříknuto do analyzátoru aminokyselin AAA400 (Ingos, Praha, Česká republika), jehož součástí je kolona (55 \times 3,7 mm) naplněná iontoměníčem Ostion LG ANG (Ingos, Praha, Česká republika). Detekce probíhala po postkolonové ninhydrinové derivatizaci spektrofotometrickým detektorem (570 nm). Biogenní aminy byly eluovány podle následujícího programu: pufr A po dobu 0 – 60 min, pufr B po dobu 60 – 86 min. Poté byla kolona obnovena 0,2 mol/l NaOH po dobu 15 minut a stabilizována po dalších 19 minut pufr A. Teplota kolony byla nastavena na 65 °C. Průtoková rychlost pufru byl 0,3 ml/min, ninhydrinového činidla 0,2 ml/min. Eluce probíhala při teplotě 65 °C (0 – 41 min a 111-120 min) a 45 °C (41 – 111 min). Každá směs byla analyzovaná minimálně duplicitně. Biogenní aminy (histamin, tyramin, putrescin, kadaverin) pro přípravu standardu byly získány ze Sigma-Aldrich.

Každý ze vzorků (pro jeden testovaný mikroorganismus) byl připraven 3x a byl nanesen na kolonu ve dvojitě opakování ($n = 6$).

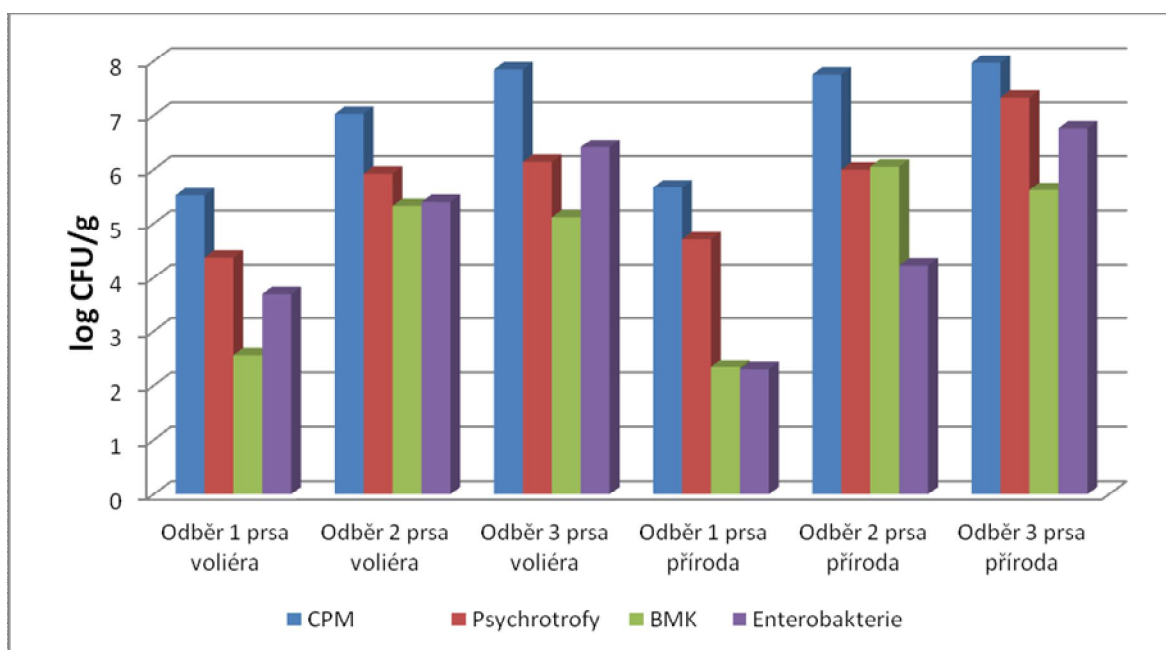
5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Počty mikroorganismů

U jednotlivých částí těl bažantů byly sledovány celkové počty mezofilních a psychrotrofních mikroorganismů, bakterie mléčného kvašení a enterobakterie.

Celkový počet mikroorganismů se u vzorků prsní svaloviny s postupem času zvyšoval. V případě vzorků bažantů chovaných ve voliére z původních $3,3 \cdot 10^5$ CFU/g až na $7 \cdot 10^7$ CFU/g po 19 denním skladování při venkovní teplotě (Obr. 8). U vzorků bažantů odchycených ve volné přírodě byl pozorován podobný trend postupného zvyšování CPM.

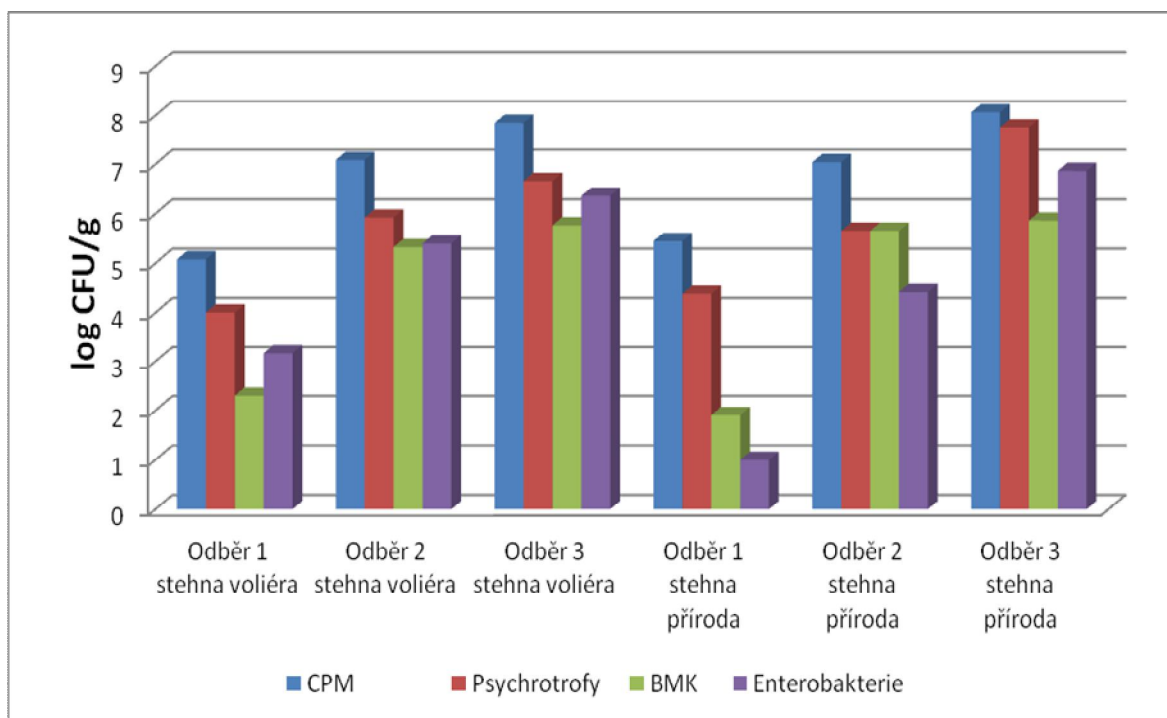
Obr. 8: Počty mikroorganismů ze vzorků prsního svalstva bažantů



Počty psychrotrofních bakterií u vzorků prsou bažantů z voliéry i z přírody opět postupně zvyšovaly (Obr. 8) z počátečních hodnot $2,3 \cdot 10^4$ CFU/g, respektive $5,0 \cdot 10^4$ CFU/g, na $1,4 \cdot 10^6$ CFU/g, respektive $2,2 \cdot 10^7$ CFU/g. K postupnému nárůstu počtu bakterií v průběhu skladování docházelo u prsní svaloviny bažantů i v případě enterobakterií, u kterých lze pozorovat největší nárůst počtu. Ke zvýšení počtu bakterií mléčného došlo mezi 1. a 2. odběrem, poté mezi 2. a 3. odběrem došlo k mírnému poklesu jejich počtu, a to jak u vzorků bažantů chovaných ve voliére, tak i u bažantů odlovených v přírodě.

Počty mikroorganismů se rovněž postupně zvyšovaly i u vzorků stehenního svalstva bažantů z obou typů chovu (Obr. 9). Celkový počet mikroorganismů se v případě stehenního svalu bažantů chovaných ve voliére pohyboval v rozmezí $1,2 \cdot 10^5 - 7,1 \cdot 10^7$ CFU/g, v případě bažantů odchycených z volné přírody v rozmezí $2,8 \cdot 10^5 - 1,2 \cdot 10^8$ CFU/g.

Obr. 9: Počty mikroorganismů ze vzorků stehenního svalstva bažantů



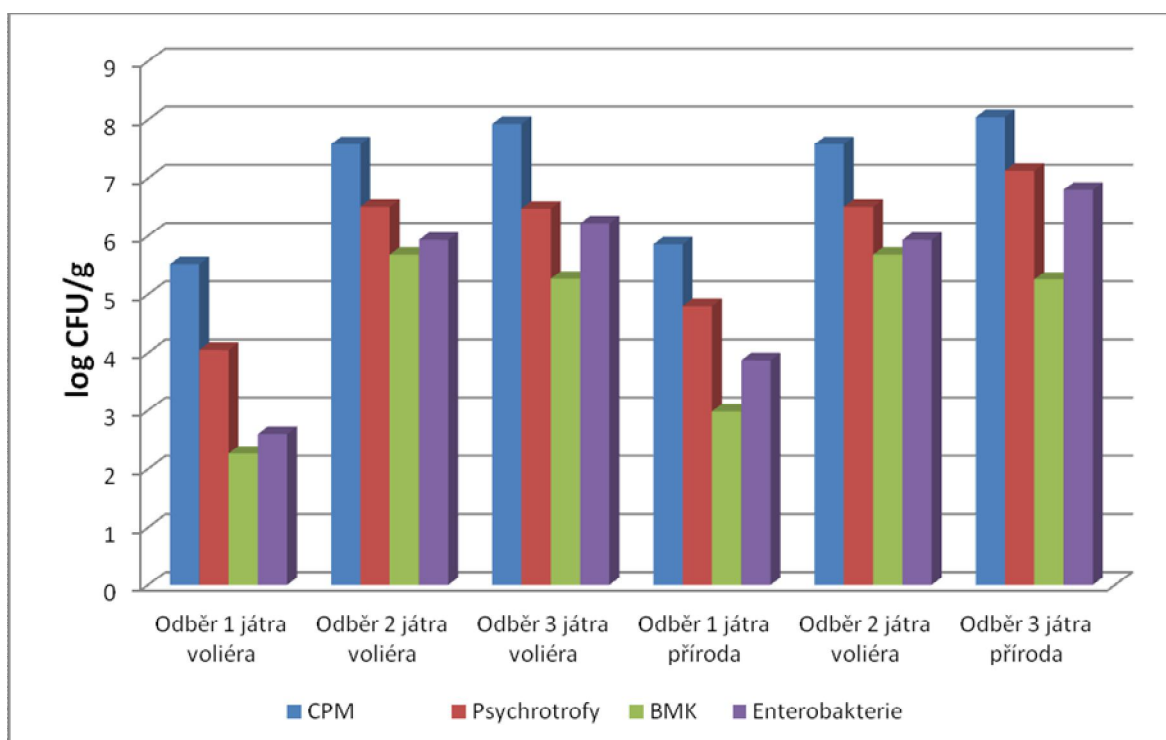
Jestliže srovnáme počty psychrotrofních bakterií u stehenní svaloviny bažantů chovaných ve voliére a odchycených ve volné přírodě, tak vyšší počty těchto mikroorganismů o cca 1 řád byly zjištěny u stehna volně odchycených bažantů (Obr. 9). U těchto vzorků bylo po 19 dnech skladování zjištěno $5,7 \cdot 10^7$ CFU/g oproti $4,6 \cdot 10^7$ CFU/g u bažantů z voliéry.

U bakterií mléčného kvašení byl rovněž zjištěn během 19 denního skladování bažantů při venkovní teplotě postupný nárůst počtu bakterií na prsní svalovině. Mezi 1. a 2. odběrem došlo k nárůstu BMK o cca 2 – 3 řády, mezi 2. a 3. odběrem už bylo zvýšení počtu BMK minimální. Největší vzestup počtu životaschopných buněk byl pozorován u enterobakterií na stehenním svalu u bažantů odchycených ve volné přírodě, kdy došlo během skladování ke zvýšení počtu z 10 CFU/g na $7,4 \cdot 10^6$ CFU/g (Obr. 9).

Výskyt stejných indikátorových skupin mikroorganismů byl rovněž sledován u jater bažantů z voliéry a volné přírody. U CPM došlo mezi 1. a 2. odběrem ke zvýšení počtu buněk o cca

2 řády, mezi 2. a 3. odběrem už byl pozorován jen malý nárůst (Obr. 10). Podobný trend byl pozorován i v případě psychrotrofních bakterií a enterobakterií. U bakterií mléčného kvašení došlo mezi prvními dvěma odběry k postupnému navýšení počtu životaschopných buněk, poté se však jejich počet mírně snížil (Obr. 10), podobně jako u BMK izolovaných z prsního svalu bažantů.

Obr.10: Počty mikroorganismů ze vzorků jater bažantů



Pro srovnání mikrobiálního osídlení byla u 2. odběru provedena i mikrobiologická analýza kůže bažantů odchycených ve volné přírodě. U tohoto vzorku se vyskytovalo nejvíce psychrotrofních bakterií ($2,1 \cdot 10^7$ CFU/g), CPM byl zhruba o jeden řád nižší. Počet BMK byl $5,3 \cdot 10^5$ CFU/g a počet enterobakterií $9,3 \cdot 10^4$ CFU/g.

U bažantího masa se v poměrně velkém množství vyskytovaly psychrotrofní bakterie, mezi které lze zařadit např. rody *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Aeromas*, *Flavobacterium*, některé enterobakterie, bakterie mléčného kvašení a další [6]. Tyto výsledky jsou v souladu s tím, že bažanti byli skladováni při venkovní teplotě, která se pohybovala kolem 6 °C [65]. Vyšší celkové počty mikroorganismů byly zjištěny u bažantů chovaných ve volné přírodě.

Množství mikroorganismů se zvyšovalo s prodlužující se dobou skladování bažantů. Mírně vyšší CPM byly zjištěny u částí těl bažantů z volné přírody. Nejvyšší CPM z jednotlivých

částí se nacházelo u stehenního svalstva bažanta z volné přírody skladovaného 19 dní při venkovní teplotě. Zvýšení počtu mikroorganismů bylo pravděpodobně způsobeno tím, že po usmrcení již nebyla těla bažantů sterilní a byla postupně kolonizována mikroorganismy z okolního prostředí. Část mikroorganismů může rovněž pocházet od osob, které s těly manipulovaly při usmrcení nebo poté při odběrech vzorků.

K poněkud odlišným výsledkům dospěl Gallas [10], který na prsní a stehenní svalovině bažantích kohoutů z farmového odchovu zjistil cca 10^3 CFU/g psychrotrofních mikroorganismů, což je zhruba o 1 řád méně než v této studii. Podle Gallase [10] prsní svalovina bažantích kohoutů z odlovu obsahovala menší počet mikroorganismů (cca 10^2 CFU/g) než od bažantů z farmového odchovu. V této studii nebyly zjištěny výraznější rozdíly v počtu mikroorganismů u bažantů z farmového odchovu a z odlovu z volné přírody.

5.2 Charakteristika izolovaných mikroorganismů

5.2.1 Makroskopické a mikroskopické znaky bakterií izolovaných z jednotlivých částí těl bažantů

Prsní sval

Bakterie izolované z prsní svaloviny bažanta skladovaného 3 dny při venkovní teplotě, tvořily nejčastěji kolonie velikosti 1 – 7 mm, barvy bílé, krémové, okrové až oranžové. Tvar byl nejčastěji okrouhlý, profil plochý, zvýšený, vypouklý. Dle mikroskopických pozorování byl tvar buňky ve většině případů tyčinkovitý nebo kokovitý. Buňky se vyskytovaly ve dvojicích a shlucích. Z hlediska reakce na Gramovo barvení a KOH test byly bakterie z větší poloviny gramnegativní. Více než polovina bakterií izolovaných z prsní svaloviny produkovalo enzym katalasu. Podrobný popis všech bakterií izolovaných z prsní svaloviny bažantů je uveden v příloze PI.

Bakterie izolované z bažanta, skladovaného 12 dnů při venkovní teplotě, tvořily kolonie velikosti 1 – 10 mm, barvy krémové, okrové až žluté, s okrouhlým tvarem, s profilem převážně plochým. Tvar buňky byl tyčinkovitý a kokovitý, buňky se zpravidla vyskytovaly ve shlucích. Mezi izolovanými bakteriemi převládaly gramnegativní bakterie převážně produkující enzym katalasu (viz příloha PI).

Izoláty z bakterií z prsní svaloviny bažanta skladovaného 19 dnů při venkovní teplotě, tvořily kolonie velikosti 2,5 – 4 mm, barvy slonové kosti, okrové až oranžové, s nejčastěji okrouhlým tvarem, s profilem převážně vypouklým. Tvar buňky tyčinkovitý a kokovitý, buňky se vyskytovaly ve shlucích nebo ve tvaru řetízků. Mezi izolovanými bakteriemi opět převládaly gramnegativní bakterie převážně produkující enzym katalasu (viz příloha PI).

Stehenní sval

Izolované bakterie z bažanta skladovaného 3 dny při venkovní teplotě, tvořily kolonie velikosti 1,5 – 6 mm, barvy bílé, krémové, žluté, tvar byl nejčastěji okrouhlý, profil zvýšený a vypouklý. Buňky byly tvaru tyčinek nebo koků, vyskytovaly se nejčastěji ve shlucích. Bakterie byly z větší poloviny gramnegativní a většina z nich produkovalo enzym katalasu. Podrobný popis všech bakterií izolovaných ze stehenního svalu bažantů je uveden v příloze PI

Bakterie izolované z bažanta skladovaného 12 dnů při venkovní teplotě tvořily kolonie velikosti 1 – 7 mm, barvy nejvíce smetanové a světle žluté, nejčastěji s okrouhlým tvarem, s profilem převážně plochým a vypouklým. Převažovaly buňky tvaru koků, které se často vyskytovaly ve shlucích nebo v řetízcích. Bakterie byly převážně grampozitivní a z poloviny produkovaly enzym katalasu (viz příloha PI).

Bakterie izolované z bažanta skladovaného 19 dnů při venkovní teplotě tvořily kolonie velikosti převážně 0,5 – 6 mm, barvy bílé, smetanové a béžové, s okrouhlým tvarem, s profilem převážně plochým. Tvar buněk byl zpravidla tyčinkovitý a kokovitý, buňky se vyskytovaly ve shlucích nebo tvořily řetízky. Mezi izolovanými bakteriemi převládaly grampozitivní bakterie, které zhruba z poloviny produkovaly enzym katalasu (viz příloha PI).

Játra

Bakterie izolované z jater bažanta, skladovaného 3 dny při venkovní teplotě tvořily kolonie velikosti 0,1 – 20 mm, barvy smetanové, krémové a žluté, s okrouhlým a zvlňným tvarem, s profilem převážně zvýšeným a vypouklým. Tvar buněk byl převážně kokovitý nebo krátké tyčinky, které se vyskytovaly jednotlivě i ve shlucích. Mezi izolovanými bakteriemi byly převážně grampozitivní bakterie, z nichž většina produkovala enzym katalasu. Podrobný popis všech bakterií izolovaných z jater bažantů je uveden v příloze PI.

Izoláty z jater bažantů skladovaných 12 dnů při venkovní teplotě tvořily kolonie velikosti 1 – 10 mm, barvy bílé, smetanové, oranžové, s nejčastěji okrouhlým tvarem, s profilem převážně plochým. Tvar buněk byl tyčinkovitý a kokovitý, buňky se vyskytovaly nejčastěji ve shlucích. Bakterie byly z větší poloviny grampozitivní a převážně produkovaly enzym katalasu (viz příloha PI).

Izolované bakterie z jater bažanta skladovaného při venkovní teplotě 19 dnů tvořily kolonie velikosti 1 – 5 mm, barvy bílé, smetanové, krémové, tvar okrouhlý, profil plochý, vypouklý, pupkovitý, knoflíkový. Buňky byly tvaru tyčinek nebo koků, vyskytovaly se jednotlivě nebo ve shlucích. Poměr mezi grampozitivními a gramnegativními bakteriemi byl zhruba stejný, více než polovina bakterií izolovaných z jater bažanta po 19 dnech produkovala enzym katalasu (viz příloha PI).

Kůže (příroda)

Bakterie izolované z kůže bažanta skladovaného 12 dnů při venkovní teplotě tvořily kolonie velikosti 3 – 6 mm, barva žlutá a oranžová, s tvarem okrouhlým a vroubkovaným, s profilem převážně zvýšeným. Tvar buněk byl nejčastěji kokovitý, buňky se vyskytovaly jednotlivě i ve shlucích. Bakterie byly hlavně grampozitivní a všechny produkovaly enzym katalasu (viz příloha PI).

5.3 Dekarboxylázová aktivita bakterií - kvalitativní stanovení kultivační metodou

Schopnost dekarboxylace aminokyselin izolovanými bakteriemi byla nejprve zjišťována skrínigovou kultivační metodou po 48 hodinové kultivaci bakterií v dekarboxylačním médiu. Dekarboxylační médium obsahovalo příslušnou aminokyselinu (arginin, histidin, lysin, ornitin a tyrosin) a pH indikátor (bromkresolový purpur). Pozitivní reakce se projevila v důsledku změny pH kultivačního média z kyselého na zásadité změnou zbarvení kultivačního média ze žlutého na fialové.

Tab. 4: Dekarboxylace aminokyselin bakteriemi izolovaných z bažantů skladovaných 3 dny

Číslo vzorku	Vzorek	ARG	HIS	LIS	ORN	TYR
1	prsa (voliéra)	-	-	+	-	-
2	prsa (voliéra)	-	-	+	+	-
3	prsa (voliéra)	-	-	-	-	-
4	prsa (voliéra)	-	-	-	-	-
5	prsa (voliéra)	+	-	-	-	-
6	prsa (voliéra)	+	-	+	+	+
7	prsa (voliéra)	+	-	-	-	-
8	prsa (voliéra)	+	-	-	-	+
9	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
10	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
11	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
12	stehno (voliéra)	-	-	+	-+	+
13	stehno (voliéra)	-	-	-	-	-
14	stehno (voliéra)	-	-	-	-	-
15	stehno (voliéra)	-	-	-	-	-
16	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-
17	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-
18	játra (voliéra)	-	-	-	-	-
19	játra (voliéra)	-	-	-	-	-
20	játra (voliéra)	-	-	-	-	-
21	játra (voliéra)	+	-	-	-	-
22	játra (voliéra)	+	+	+	+	+
23	játra (voliéra)	-	-	-	-	-
24	játra (voliéra)	-	-	-	-	-
25	játra (voliéra)	+	-	-	-	-
26	játra (voliéra)	+	-	-	-	+
27	játra (voliéra)	+	-	-	-	+
28	prsa (příroda)	-+	-	+	-+	+
29	prsa (příroda)	-+	-+	+	-+	+
30	prsa (příroda)	-+	-	+	-+	-+
31	prsa (příroda)	+	-	-	-+	-
32	prsa (příroda)	+	-	-+	+	+
33	prsa (příroda)	+	-	-	-	-
34	prsa (příroda)	+	-	-	-	+
35	prsa (příroda)	+	-	-	-	+
36	prsa (příroda)	+	-	-	-	+
37	stehno (příroda)	+	+	+	-+	+
38	stehno (příroda)	+	-	+	-+	+
39	stehno (příroda)	+	-	+	-	+
40	stehno (příroda)	-	-	+	-	-
41	stehno (příroda)	+	+	+	+	+

Pokračování Tab. 4

Číslo vzorku	Vzorek	ARG	HIS	LIS	ORN	TYR
42	stehno (příroda)	-	-	+	-	-
43	stehno (příroda)	+	-	-	-	+
44a	stehno (příroda)	+	-	-	-	+
44b	stehno (příroda)	+	-	-	-	- +
45	játra (příroda)	+	+	+	+	+
46	játra (příroda)	+	+	+	+	+
47	játra (příroda)	+	+	+	+	+
48	játra (příroda)	- +	-	-	-	-
49	játra (příroda)	+	+	+	+	+
50	játra (příroda)	- +	-	+	-	+
51	játra (příroda)	+	-	+	+	-
52	játra (příroda)	+	-	-	+	-
53a	játra (příroda)	+	-	- +	+	-
53b	játra (příroda)	+	-	-	+	-

+ pozitivní reakce (změna zbarvení kultivačního média na fialovou), - negativní reakce, +- slabě pozitivní reakce.

ARG - arginin, HIS - histidin, LYS - lysin, ORN - ornitin, TYR - tyrosin

Dekarboxylace argininu izolovanými bakteriemi z bažanta byla zjištěna u poměrně vysokého počtu izolovaných bakterií ze všech částí těl bažanta (tabulka 4). Naopak schopnost dekarboxylace histidinu byla u izolovaných bakterií nízká, byla pozorována pouze u jedné bakterie izolované z jater bažanta z voliéry, u dvou bakterií izolovaných ze stehna bažanta z přírody a u čtyř kmenů izolovaných z jater bažanta z přírody. Dekarboxylace lysinu byla v dekarboxylačním médiu zaznamenána u bakterií izolovaných ze všech částí těl bažanta, nejméně u izolátů z jater (voliéra) a nejvíce u bakterií izolovaných ze stehna (příroda) a jater (příroda). Dekarboxylace ornitinu byla skriningovou metodou zjištěna u bakterií izolovaných ze všech částí těla bažantů, avšak byla pozorována pouze u nízkého počtu izolátů. U bakterií izolovaných z jater bažantů z odchovu ve voliéře, u izolátů z prsního a stehenního svalu bažantů z volné přírody se dekarboxylace projevila pouze u jednoho vzorku. Schopnost dekarboxylovat aminokyselinu tyrosin se také projevila u bakterií izolovaných ze všech částí těl bažantů, nejméně však u izolátů z prsního svalstva a jater bažantů chovaných ve voliéře (tabulka 4).

Tab.5. Dekarboxylace aminokyselin bakteriemi izolovaných z bažantů skladovaných 12 dnů

Číslo vzorku	Vzorek	ARG	HIS	LIS	ORN	TYR
54	prsa (voliéra)	+	-	+	-+	+
55	prsa (voliéra)	+	-	+	-+	+
56	prsa (voliéra)	+	-	+	-+	+
57	prsa (voliéra)	+	-	+	-+	+
58	prsa (voliéra)	+	+	-	-+	-+
59	prsa (voliéra)	-	-	-	-	-
60	prsa (voliéra)	+	+	+	+	+
61	prsa (voliéra)	-	-	-	-	-
62	prsa (voliéra)	+	-	-	-	-+
63a	prsa (voliéra)	+	-	-	-	-+
63b	prsa (voliéra)	-	-	-	-	-
64	stehno (voliéra)	-	-	-	-+	-
65	stehno (voliéra)	+	-	+	-+	-+
66	stehno (voliéra)	+	-	+	+	-+
67	stehno (voliéra)	+	-	+	+	-+
68	stehno (voliéra)	-	-	-	-+	-
69	stehno (voliéra)	-	-	-	-+	-
70	stehno (voliéra)	-	-	-	-+	-
71	stehno (voliéra)	+	+	+	+	+
72	stehno (voliéra)	+	+	+	+	+
73	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
74a	stehno (voliéra)	+	-	-	+	-
74b	stehno (voliéra)	+	-	-	-	+
75a	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-
75b	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-+
76	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
77	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
78	játra (voliéra)	+	-	-+	+	-+
79	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
80	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
81	játra (voliéra)	+	-	-	-	+
82	játra (voliéra)	+	-	-	-	+
83	prsa (příroda)	-	-	-	+	+
84	prsa (příroda)	-	-	+	-+	-+
85	prsa (příroda)	-	-	+	-+	-+
86	prsa (příroda)	+	-	-	-+	-
87	prsa (příroda)	-	-	-	-	-
88	prsa (příroda)	+	-	-	-	-
89	prsa (příroda)	+	-	-	-	+
90	prsa (příroda)	+	-	+	+	-+
91	prsa (příroda)	+	-	-	-	+

Pokračování Tab. 5

Číslo vzorku	Vzorek	ARG	HIS	LIS	ORN	TYR
92	prsa (příroda)	-	-	-	-	-
93	stehno (příroda)	- +	-	+	+	+
94	stehno (příroda)	-	-	+	+	- +
95	stehno (příroda)	-	-	- +	+	- +
96	stehno (příroda)	+	-	-	- +	+
97	stehno (příroda)	- +	-	-	- +	- +
98	stehno (příroda)	-	-	-	- +	- +
99	stehno (příroda)	-	-	-	- +	- +
100	stehno (příroda)	-	-	-	-	-
101	stehno (příroda)	+	-	-	-	+
102a	stehno (příroda)	+	-	-	-	+
102b	stehno (příroda)	+	-	-	-	+
103	játra (příroda)	-	-	-	- +	- +
104	játra (příroda)	+	-	+	+	+
105	játra (příroda)	+	-	+	+	+
106	játra (příroda)	-	-	+	+	- +
107	játra (příroda)	+	-	+	+	- +
108	játra (příroda)	+	-	-	-	-
109	játra (příroda)	+	-	-	- +	- +
110	játra (příroda)	-	-	-	-	-
111	játra (příroda)	+	-	-	-	+
112	kůže (příroda)	+	-	- +	- +	-
113	kůže (příroda)	+	-	-	+	-
114	kůže (příroda)	+	-	-	+	- +
115	kůže (příroda)	-	-	-	-	-
116	kůže (příroda)	-	-	-	-	-
117	kůže (příroda)	+	-	-	-	+
118	kůže (příroda)	+	-	-	-	+
119	kůže (příroda)	+	-	-	-	-

+ pozitivní reakce (změna zbarvení kultivačního média na fialovou), - negativní reakce, +- slabě pozitivní reakce.

ARG - arginin, HIS - histidin, LYS - lysin, ORN - ornitin, TYR - tyrosin

Dekarboxylace argininu bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných po dobu 12 dnů se projevila u většiny izolátů bakterií z každé části těla bažantů z přírody i voliéry (tabulka 5). Dekarboxylace aminokyseliny histidinu byla opět pozorována u malého počtu izolovaných bakterií, projevila se pouze u dvou kmenů izolovaných z prsní svaloviny bažantů z voliéry a u dvou kmenů izolovaných ze stehenní svaloviny bažantů z voliéry. Schopnost dekarboxyla-

ce lysinu byla zjištěna u nízkého počtu bakterií izolovaných ze stehna a jater bažantů z volného odchyty v přírodě. Schopnost bakterií izolovaných z těl bažantů po 12 dnech skladování dekarboxylovat aminokyseliny ornitin a tyrosin byla pozorována zhruba u poloviny bakterií, u mnohých z nich však byla reakce slabá (tabulka 5).

Tab. 6. Dekarboxylace aminokyselin bakteriemi izolovaných z bažantů skladovaných 19 dnů

Číslo vzorku	Vzorek	ARG	HIS	LIS	ORN	TYR
120	prsa (voliéra)	- +	-	- +	-	- +
121	prsa (voliéra)	+	-	+	- +	- +
122	prsa (voliéra)	+	-	+	+	-
123	prsa (voliéra)	+	- +	+	+	+
124	prsa (voliéra)	-	-	+	+	-
125	prsa (voliéra)	+	-	+	+	-
126	prsa (voliéra)	+	-	+	+	- +
127	prsa (voliéra)	-	-	-	+	-
128	prsa (voliéra)	+	-	-	- +	-
129	prsa (voliéra)	+	-	-	-	+
130	prsa (voliéra)	-	-	-	-	-
131	prsa (voliéra)	+	-	-	-	+
132	prsa (voliéra)	+	-	-	-	-
133	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-
134	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
135	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
136	stehno (voliéra)	- +	-	+	+	- +
137	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-
138	stehno (voliéra)	+	-	+	+	+
139	stehno (voliéra)	+	-	+	- +	-
140	stehno (voliéra)	+	-	-	-	-
141	stehno (voliéra)	-	-	-	-	-
142	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
143	játra (voliéra)	-	-	+	+	+
144	játra (voliéra)	-	-	+	+	+
145	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
146	játra (voliéra)	+	-	+	-	-
147	játra (voliéra)	+	-	+	+	+
148	prsa (příroda)	+	+	+	+	+
149	prsa (příroda)	+	+	+	+	+
150	prsa (příroda)	+	-	+	+	+
151	prsa (příroda)	- +	- +	+	+	+
152	prsa (příroda)	- +	- +	+	+	+
153	prsa (příroda)	- +	- +	+	+	-

Pokračování Tab. 6

Číslo vzorku	Vzorek	ARG	HIS	LIS	ORN	TYR
154	prsa (příroda)	+	-	-	-	-
155	prsa (příroda)	+	-	-	-	-
156	prsa (příroda)	-	-	-	-	-
157	prsa (příroda)	+	-	-	-	-
158	stehno (příroda)	-	-	+	-	-
159	stehno (příroda)	+	- +	+	+	+
160	stehno (příroda)	+	+	+	+	+
161	stehno (příroda)	+	+	+	+	+
162	stehno (příroda)	+	+	+	+	+
163	stehno (příroda)	-	-	-	-	-
164	stehno (příroda)	-	-	-	-	-
165	stehno (příroda)	-	-	-	-	-
166	játra (příroda)	+	+	+	+	+
167	játra (příroda)	-	-	+	+	-
168	játra (příroda)	+	+	+	+	+
169	játra (příroda)	+	- +	+	+	+
170	játra (příroda)	+	- +	+	+	+
171	játra (příroda)	+	+	+	+	+
172	játra (příroda)	+	+	+	+	+

+ pozitivní reakce (změna zbarvení kultivačního média na fialovou), - negativní reakce, +- slabě pozitivní reakce.

ARG - arginin, HIS - histidin, LYS - lysin, ORN - ornitin, TYR - tyrosin

Schopnost dekarboxylace aminokyseliny argininu byla u bakterií izolovaných z těl bažantů po 19 dnech skladování opět vysoká, vyskytovala se u většiny izolovaných bakterií (tabulka 6). Dekarboxylace histidinu nebyla zjištěna u bakterií izolovaných z částí těl bažantů z umělého odchovu ve voliére, u izolátů z částí těl bažantů z volné přírody se naopak dekarboxylace histidinu projevila. Dekarboxylace aminokyseliny lysinu byla zjištěna u všech bakterií izolovaných z jater bažantů z přírody i odchovu ve voliére. Byla rovněž ve vysokém podílu zaznamenána i u bakterií izolovaných z ostatních částí těl. Schopnost dekarboxylovat aminokyseliny ornitin a tyrosin izolovanými bakteriemi z těl bažantů byla nejčastěji pozorována u kmenů izolovaných z jater bažantů odchycených z volné přírody i voliéry.

U této metody mohou vzniknout falešné pozitivní výsledky z důvodu tvorby jiných produktů s alkalickou reakcí než biogenních aminů. Další nevýhoda kultivační metody spočívá v neschopnosti zachytit malé množství produkovaných biogenních aminů.

5.4 Dekarboxylázová aktivita bakterií - kvantitativní stanovení biogenních aminů iontově-výměnnou chromatografií

Pomocí iontově-výměnné chromatografie byla po kultivaci bakterií provedena analýza produkce 8 biogenních aminů (histaminu, fenyletylaminu, tyraminu, putrescinu, kadaverinu, agmatinu, sperminu a spermidinu) v bujónu obohaceném o příslušné aminokyseliny.

U žádné bakterie izolované z těl bažantů nebyla metodou IEC zjištěna produkce fenyletylaminu, agmatinu, spermidinu a sperminu.

Tab. 7: Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných 3 dny

Číslo vzorku	Vzorek	Biogenní aminy ^a			
		HIS	TYR	PUT	CAD
1	prsa (voliéra)	ND*	ND	31,43 ± 0,47	43,02 ± 1,05
2	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	1,39 ± 0,05
3	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
4	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
5	prsa (voliéra)	ND	ND	3,93 ± 0,14	4,45 ± 0,01
6	prsa (voliéra)	ND	ND	47,49 ± 1,18	66,83 ± 0,52
7	prsa (voliéra)	ND	5,49 ± 0,24	ND	ND
8	prsa (voliéra)	ND	786,05 ± 11,94	ND	ND
9	stehno (voliéra)	1,36 ± 0,01	ND	37,75 ± 1,48	63,35 ± 0,93
10	stehno (voliéra)	1,36 ± 0,07	ND	42,41 ± 1,03	67,08 ± 2,05
11	stehno (voliéra)	1,67 ± 0,04	ND	49,43 ± 0,62	67,59 ± 2,48
12	stehno (voliéra)	ND	ND	3,97 ± 0,10	ND
13	stehno (voliéra)	ND	ND	ND	ND
14	stehno (voliéra)	ND	ND	ND	ND
15	stehno (voliéra)	ND	12,73 ± 0,33	ND	ND
16	stehno (voliéra)	ND	586,52 ± 19,12	ND	ND
17	stehno (voliéra)	ND	582,83 ± 28,24	ND	ND
18	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
19	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
20	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
21	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
22	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
23	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
24	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
25	játra (voliéra)	ND	ND	ND	ND
26	játra (voliéra)	ND	638,75 ± 12,78	ND	ND
27	játra (voliéra)	ND	719,81 ± 16,50	ND	ND
28	prsa (příroda)	ND	ND	35,69 ± 1,17	60,58 ± 2,92

Pokračování Tab. 7

Číslo vzorku	Vzorek Odběr 1	Biogenní aminy ^a			
		HIS	TYR	PUT	CAD
29	prsa (příroda)	ND*	ND	10,02 ± 0,21	3,17 ± 0,11
30	prsa (příroda)	ND	ND	7,73 ± 0,31	ND
31	prsa (příroda)	ND	ND	22,72 ± 0,42	ND
32	prsa (příroda)	ND	ND	27,94 ± 0,93	45,17 ± 0,36
33	prsa (příroda)	ND	ND	ND	ND
34	prsa (příroda)	ND	1295,36 ± 46,46	ND	ND
35	prsa (příroda)	ND	677,20 ± 26,24	ND	ND
36	prsa (příroda)	ND	533,64 ± 13,67	ND	ND
37	stehno (příroda)	ND	ND	91,60 ± 1,43	77,30 ± 3,58
38	stehno (příroda)	ND	ND	21,07 ± 0,83	35,55 ± 1,17
39	stehno (příroda)	ND	ND	198,91 ± 3,30	78,13 ± 2,03
40	stehno (příroda)	ND	ND	340,06 ± 2,48	11,73 ± 0,58
41	stehno (příroda)	ND	ND	6,58 ± 0,17	ND
42	stehno (příroda)	ND	816,98 ± 28,29	ND	ND
43	stehno (příroda)	ND	ND	ND	ND
44a	stehno (příroda)	ND	ND	ND	ND
45	játra (příroda)	ND	ND	8,35 ± 0,02	ND
46	játra (příroda)	ND	ND	8,94 ± 0,33	ND
47	játra (příroda)	1,55 ± 0,07	ND	9,95 ± 0,26	ND
48	játra (příroda)	ND	ND	2,11 ± 0,07	ND
49	játra (příroda)	3,13 ± 0,03	ND	1,32 ± 0,07	ND
50	játra (příroda)	ND	ND	ND	ND
51	játra (příroda)	ND	ND	ND	ND
52	játra (příroda)	ND	27,56 ± 0,97	ND	ND
53a	játra (příroda)	ND	608,98 ± 7,12	ND	ND

^a – produkce vyjádřená v mg/l jako průměr ± směrodatná odchylka (n =6)

* ND – biogenní aminy nedetekovány

HIS – histamin, TYR - tyramin, PUT - putrescin, CAD - kadaverin

Tab. 8: Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných 12 dní

Číslo vzorku	Vzorek	Biogenní aminy ^a			
		HIS	TYR	PUT	CAD
54	prsa (voliéra)	3,00 ± 0,07	ND*	189,08 ± 6,23	82,88 ± 2,50
55	prsa (voliéra)	2,56 ± 0,05	ND	219,65 ± 8,63	109,73 ± 2,64
56	prsa (voliéra)	2,58 ± 0,06	ND	183,15 ± 2,50	107,00 ± 4,56
57	prsa (voliéra)	ND	3,82 ± 0,02	3,84 ± 0,09	2,08 ± 0,03
58	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
59	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
60	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
61	prsa (voliéra)	ND	3,09 ± 0,10	ND	ND
62	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
63a	prsa (voliéra)	1,27 ± 0,05	4,64 ± 0,19	ND	ND
64	stehno (voliéra)	4,98 ± 0,19	ND	343,34 ± 15,48	76,02 ± 1,91
65	stehno (voliéra)	2,58 ± 0,09	ND	164,90 ± 6,28	88,00 ± 3,36
66	stehno (voliéra)	0,75 ± 0,01	2,56 ± 0,13	21,87 ± 0,25	29,76 ± 1,17
67	stehno (voliéra)	2,41 ± 0,11	ND	142,14 ± 2,92	70,34 ± 0,83
68	stehno (voliéra)	ND	ND	ND	ND
69	stehno (voliéra)	ND	ND	ND	ND
70	stehno (voliéra)	0,65 ± 0,00	7,55 ± 0,29	3,57 ± 0,07	ND
71	stehno (voliéra)	1,36 ± 0,04	ND	184,73 ± 0,30	100,30 ± 2,76
72	stehno (voliéra)	0,99 ± 0,03	47,44 ± 1,20	3,73 ± 0,12	2,74 ± 0,15
73	stehno (voliéra)	ND	662,34 ± 24,82	ND	ND
74a	stehno (voliéra)	ND	619,96 ± 3,27	ND	ND
74b	stehno (voliéra)	ND	710,46 ± 22,14	ND	ND
76	játra (voliéra)	2,39 ± 0,05	109,66 ± 3,88	236,30 ± 4,78	82,94 ± 2,70
77	játra (voliéra)	2,83 ± 0,06	35,04 ± 0,62	167,34 ± 4,16	100,71 ± 1,11
78	játra (voliéra)	2,14 ± 0,02	73,29 ± 1,89	9,03 ± 0,10	31,10 ± 1,42
79	játra (voliéra)	1,69 ± 0,07	13,01 ± 0,25	35,39 ± 1,42	43,85 ± 0,84
80	játra (voliéra)	2,95 ± 0,11	ND	200,99 ± 8,20	83,31 ± 3,00
81	játra (voliéra)	ND	637,94 ± 8,11	ND	ND
82	játra (voliéra)	ND	648,18 ± 17,66	ND	ND
83	prsa (příroda)	ND	ND	34,81 ± 0,61	18,61 ± 0,01
84	prsa (příroda)	ND	ND	30,16 ± 1,41	59,02 ± 2,81
85	prsa (příroda)	1,01 ± 0,04	1,30 ± 0,05	30,12 ± 1,17	51,99 ± 0,82
86	prsa (příroda)	1,86 ± 0,06	46,19 ± 1,70	34,41 ± 1,39	62,70 ± 2,67
87	prsa (příroda)	ND	ND	ND	ND
88	prsa (příroda)	ND	ND	ND	ND
89	prsa (příroda)	ND	260,79 ± 10,54	ND	ND
90	prsa (příroda)	ND	ND	25,95 ± 0,99	49,12 ± 2,44
91	prsa (příroda)	ND	717,06 ± 28,17	ND	ND
92	prsa (příroda)	2,59 ± 0,07	40,56 ± 2,00	ND	ND

Pokračování Tab. 8

Číslo vzorku	Vzorek Odběr 2	Biogenní aminy ^a			
		HIS	TYR	PUT	CAD
93	stehno (příroda)	ND*	ND	23,51 ± 1,05	54,92 ± 1,24
94	stehno (příroda)	ND	ND	24,29 ± 0,68	42,16 ± 1,90
95	stehno (příroda)	ND	ND	23,85 ± 0,98	43,70 ± 1,27
96	stehno (příroda)	ND	ND	348,71 ± 8,30	ND
97	stehno (příroda)	ND	ND	ND	ND
98	stehno (příroda)	ND	ND	22,65 ± 0,80	38,21 ± 1,46
99	stehno (příroda)	ND	4,41 ± 0,10	ND	ND
100	stehno (příroda)	ND	713,57 ± 32,35	ND	ND
101	stehno (příroda)	ND	736,28 ± 22,21	ND	ND
102a	stehno (příroda)	ND	769,15 ± 17,53	ND	ND
103	játra (příroda)	ND	ND	27,21 ± 0,87	47,83 ± 1,07
104	játra (příroda)	ND	ND	67,95 ± 0,47	61,37 ± 1,34
105	játra (příroda)	ND	ND	43,43 ± 1,29	18,29 ± 0,84
106	játra (příroda)	ND	ND	29,78 ± 0,39	22,82 ± 0,71
107	játra (příroda)	ND	63,96 ± 1,41	3,02 ± 0,09	3,57 ± 0,07
108	játra (příroda)	ND	55,15 ± 1,47	ND	ND
109	játra (příroda)	ND	92,20 ± 0,41	ND	ND
110	játra (příroda)	ND	8,75 ± 0,12	ND	ND
111	játra (příroda)	ND	662,47 ± 27,69	ND	ND
112	kůže (příroda)	ND	ND	17,49 ± 0,03	40,60 ± 1,75
113	kůže (příroda)	ND	ND	18,59 ± 0,62	51,36 ± 2,47
114	kůže (příroda)	ND	ND	ND	ND
115	kůže (příroda)	ND	ND	ND	ND
116	kůže (příroda)	ND	ND	ND	ND
117	kůže (příroda)	ND	ND	ND	ND
118	kůže (příroda)	ND	716,81 ± 16,94	ND	ND
119	kůže (příroda)	ND	783,49 ± 36,75	ND	ND

^a – produkce vyjádřená v mg/l jako průměr ± směrodatná odchylka (n =6)

* ND – biogenní aminy nedetekovány

HIS – histamin, TYR - tyramin, PUT - putrescin, CAD - kadaverin,

Tab. 9: Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných 19 dnů

Číslo vzorku	Vzorek	Biogenní aminy ^a			
	Odběr 3	HIS	TYR	PUT	CAD
120	prsa (voliéra)	ND*	ND	12,40 ± 0,23	22,18 ± 0,47
121	prsa (voliéra)	ND	ND	277,06 ± 7,17	732,18 ± 32,38
122	prsa (voliéra)	6,80 ± 0,17	ND	302,70 ± 8,73	164,50 ± 4,79
123	prsa (voliéra)	ND	ND	119,74 ± 1,46	53,14 ± 1,16
124	prsa (voliéra)	ND	ND	16,13 ± 0,37	23,75 ± 0,71
125	prsa (voliéra)	ND	173,46 ± 6,68	9,88 ± 0,16	2,47 ± 0,03
126	prsa (voliéra)	ND	37,23 ± 1,45	22,32 ± 0,78	8,13 ± 0,10
127	prsa (voliéra)	ND	54,12 ± 2,59	479,11 ± 4,86	34,01 ± 1,07
128	prsa (voliéra)	ND	51,72 ± 2,09	12,14 ± 0,26	9,09 ± 0,15
129	prsa (voliéra)	ND	860,27 ± 30,76	ND	ND
130	prsa (voliéra)	2,04 ± 0,09	3,39 ± 0,08	ND	ND
131	prsa (voliéra)	ND	618,31 ± 8,64	ND	ND
132	prsa (voliéra)	ND	ND	ND	ND
133	stehno (voliéra)	ND	146,61 ± 5,74	ND	ND
134	stehno (voliéra)	ND	4,12 ± 0,02	309,07 ± 9,20	821,60 ± 6,72
135	stehno (voliéra)	ND	ND	48,02 ± 1,42	35,00 ± 0,23
136	stehno (voliéra)	ND	ND	309,91 ± 2,15	773,79 ± 23,78
137	stehno (voliéra)	ND	370,16 ± 0,78	94,29 ± 3,82	36,61 ± 1,27
138	stehno (voliéra)	ND	ND	91,04 ± 0,96	438,59 ± 8,60
139	stehno (voliéra)	ND	ND	ND	ND
140	stehno (voliéra)	ND	3,66 ± 0,07	ND	ND
141	stehno (voliéra)	1,15 ± 0,03	3,42 ± 0,09	ND	ND
142	játra (voliéra)	6,07 ± 0,12	ND	327,51 ± 5,10	80,87 ± 1,32
143	játra (voliéra)	7,26 ± 0,09	0,82 ± 0,02	393,85 ± 16,64	78,18 ± 3,22
144	játra (voliéra)	ND	ND	395,18 ± 13,35	1047,95 ± 56,82
145	játra (voliéra)	ND	ND	391,73 ± 2,02	919,32 ± 13,43
146	játra (voliéra)	0,86 ± 0,01	2,00 ± 0,10	1,93 ± 0,08	ND
147	játra (voliéra)	1,58 ± 0,07	88,73 ± 4,23	ND	ND
148	prsa (příroda)	ND	ND	344,38 ± 17,66	41,86 ± 1,94
149	prsa (příroda)	1,96 ± 0,10	ND	356,27 ± 19,71	51,56 ± 0,21
150	prsa (příroda)	1,78 ± 0,06	ND	332,25 ± 9,41	51,87 ± 2,17
151	prsa (příroda)	2,00 ± 0,09	ND	373,01 ± 8,40	54,79 ± 1,43
152	prsa (příroda)	ND	338,40 ± 13,80	47,40 ± 1,85	ND
153	prsa (příroda)	ND	ND	318,74 ± 11,98	41,69 ± 1,01
154	prsa (příroda)	ND	418,40 ± 17,12	ND	ND
155	prsa (příroda)	ND	ND	ND	ND
156	prsa (příroda)	ND	ND	ND	ND
157	prsa (příroda)	ND	11,43 ± 0,08	ND	ND
158	stehno (příroda)	ND	ND	7,86 ± 0,35	18,17 ± 0,72

Pokračování Tab. 9

Číslo vzorku	Vzorek	Biogenní aminy ^a			
		HIS	TYR	PUT	CAD
159	stehno (příroda)	1,71 ± 0,07	ND*	413,55 ± 10,14	49,62 ± 2,24
160	stehno (příroda)	1,53 ± 0,06	ND	391,68 ± 10,18	52,13 ± 1,38
161	stehno (příroda)	ND	ND	333,01 ± 1,76	27,62 ± 0,38
162	stehno (příroda)	ND	ND	5,40 ± 0,06	38,39 ± 1,21
163	stehno (příroda)	ND	41,43 ± 1,82	ND	ND
164	stehno (příroda)	ND	3,52 ± 0,20	ND	ND
165	stehno (příroda)	ND	3,60 ± 0,09	ND	ND
166	játra (příroda)	ND	ND	329,13 ± 11,98	43,38 ± 1,58
167	játra (příroda)	ND	ND	8,23 ± 0,14	ND
168	játra (příroda)	ND	ND	468,61 ± 2,96	41,06 ± 1,37
169	játra (příroda)	ND	ND	431,52 ± 10,26	39,59 ± 1,38
170	játra (příroda)	1,92 ± 0,09	ND	317,63 ± 4,62	37,26 ± 1,33
171	játra (příroda)	ND	ND	148,18 ± 1,55	44,14 ± 0,76

^a – produkce vyjádřená v mg/l jako průměr ± směrodatná odchylka (n =6)

* ND – biogenní aminy nedetekovány

HIS – histamin, TYR - tyramin, PUT - putrescin, CAD - kadaverin

Produkce BA bakteriemi izolovanými z prsního svalstva bažantů

1. odběr (bažanti skladováni 3 dny při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných z prsního svalstva bažanta chovaného ve voliére byla detekována produkce tyraminu, kadaverinu a putrescinu (tabulka 7 – 9). Tvorba kadaverinu byla nejvyšší, u izolátu č. 6 bylo v bujónu po kultivaci detekováno 66,83 ± 0,52 mg/l kadaverinu. Dále byla detekována produkce putrescinu, nejvyšší hodnota byla rovněž zjištěna u izolátu č. 6 (47,49 ± 1,18 mg/l). U dvou izolátů byla zjištěna produkce tyraminu, u izolátu č. 8. byla naměřena vysoká hodnota vyprodukovaného tyraminu (786,05 ± 11,94 mg/l).

U bakterií izolovaných z prsního svalstva bažanta z volné přírody se u nejvíce izolátů projevila produkce putrescinu, avšak tento biogenní amin byl bakteriemi produkován v menším množství (tabulka 7 – 9). Nejvyšší produkce byla u této skupiny bakterií zjištěna u tyraminu (hodnoty v rozmezí 533,64 – 1295,36 mg/l). Tyto hodnoty jsou tedy ještě vyšší než u izolátů z prsního svalu z voliéry. Produkce kadaverinu byla zjištěna u třech izolátů s nejvyšším množstvím 60,58 ± 2,92 mg/l (izolát č. 28).

2. odběr (bažanti skladováni 12 dnů při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných z prsního svalstva bažantů chovaných ve voliére a po usmrcení skladovaných 12 dnů při venkovní teplotě byla detekována produkce 4 biogenních aminů – tyraminu, kadaverinu, putrescinu a také histaminu (tabulka 7 – 9). Produkce kadaverinu a putrescinu se zvýšila oproti izolátům z prvního odběru. Nejvyšší produkce BA byl zjištěna u izolátu č. 55, který produkoval kadaverin v množství $109,73 \pm 2,64$ mg/l a putrescin v množství $219,65 \pm 8,63$ mg/l. Produkce tyraminu a histaminu byla u těchto izolátů poměrně nízká (tabulka 7 – 9).

U bakterií izolovaných z prsního svalu bažantů odchycených ve volné přírodě byla rovněž metodou IEC zaznamenána produkce 4 BA (tyraminu, kadaverinu, putrescinu a histaminu; tabulka 7 – 9). Produkce tyraminu byla u těchto izolátů zjištěna ve vyšším poměru než při 1. odběru, avšak tyramin byl produkován v nižších koncentracích. Produkce kadaverinu a putrescinu ve vyšších koncentracích se projevila u většího počtu izolátů. Histamin byl detekován u třech izolátů. Pokud srovnáme produkci biogenních aminů u bakterií izolovaných z prsního svalu bažantů z voliéry a z přírody, byla u izolátů z bažantů z přírody zaznamenána nižší produkce histaminu, kadaverinu a putrescinu a vyšší tyraminu.

3. odběr (bažanti skladováni 19 dnů při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných z prsního svalstva bažantů chovaných ve voliére a po usmrcení skladovaných 19 dnů při venkovní teplotě byla produkce BA izolovanými bakteriemi zjištěna ve vyšší míře. Produkce putrescinu a kadaverinu byla detekována u většiny izolátů (cca tři čtvrtiny všech testovaných bakterií) a tyraminu u více než poloviny bakterií (tabulka 7 – 9). Nejvyšší detekovaná hodnota kadaverinu byla $732,18 \pm 32,38$ mg/l, putrescinu $479,11 \pm 4,86$ mg/l a tyraminu $860,27 \pm 30,76$ mg/l. Produkce histaminu byla u izolátu č. 122. zjištěna v množství $6,80 \pm 0,17$ mg/l.

U bakterií izolovaných z prsního svalu bažantů odchycených ve volné přírodě bylo oproti bakteriálním kmenům izolovaným při 2 odběru zjištěno zvýšené množství vyprodukovaného tyraminu a putrescinu (tabulka 7 – 9). Produkce histaminu a kadaverinu byla v podobných hodnotách jako u izolátů z předchozího odběru. Oproti bakteriím izolovaným z prsního svalu bažantů z umělého odchovu ve voliére byla u těchto bakterií produkce kadaverinu, putrescinu a tyraminu zjištěna u menšího podílu izolátů, avšak putrescin byl detekován ve vyšším množství.

Produkce BA bakteriemi izolovanými ze stehenního svalstva bažantů

1. odběr (bažanti skladováni 3 dny při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných ze stehenního svalstva bažantů odchytených ve voliére byla zjištěna produkce 4 biogenních aminů, histaminu, tyraminu, putrescinu a kadaverinu (tabulka 7 – 9). Nejvyšší produkce BA byla zjištěna v případě tyraminu, kdy u dvou izolátů (č. 16 a 17) byly detekovány hodnoty nad 500 mg/l. Naopak nízké hodnoty produkce byly zjištěny u histaminu, který byl produkován těmito bakteriemi v rozmezí 1,36 – 1,67 mg/l kultivačního média. Produkce putrescinu byla detekována u čtyř kmenů, nejvyšší hodnota činila $49,43 \pm 0,62$ mg/l, produkce kadaverinu se projevila u tří izolátů v množství nad 60 mg/l.

U bakterií izolovaných ze stehenního svalu bažantů z volné přírody nebyla zjištěna, na rozdíl od izolátů z bažantů z voliéry, produkce histaminu (tabulka 7 – 9). Produkce tyraminu byla zaznamenána pouze u jednoho izolátu, avšak ve vysokém množství ($816,98 \pm 28,29$ mg/l). Produkce putrescinu se projevila u více izolátů, i množství bylo vyšší. Kadaverin byl detekován zhruba u poloviny izolátů ze stehenního svalu bažantů z volné přírody.

2. odběr (bažanti skladováni 12 dnů při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných ze stehna bažantů z voliéry skladovaných 12 dnů po usmrcení se zjistila produkce 4 biogenních aminů – histaminu, tyraminu, putrescinu a kadaverinu u více než poloviny izolátů. Histidin byl detekován v hodnotách 0,65 – 4,98 mg/l, tyramin v rozmezí 2,56 – 710,46 mg/l, putrescin 3,57 – 343,34 mg/l a kadaverin 2,74 – 100,30 mg/l (tabulka 7 – 9).

U bakterií izolovaných ze stehenního svalu bažantů odchytených v přírodě a skladovaných 12 dnů po usmrcení nebyla produkce histaminu vůbec zaznamenána (tabulka 7 – 9). Produkce tyraminu byla u třech izolátů zjištěna ve vysokých hodnotách nad 700 mg/l, produkce putrescinu byla v rozmezí hodnot 22,65 – 348,71 mg/l a u kadaverinu v rozmezí 38,21 – 54,92 mg/l.

3. odběr (bažanti skladováni 19 dnů při venkovní teplotě)

Produkce histaminu u izolátů ze stehna bažantů z voliéry a skladovaných po usmrcení 19 dnů byla, na rozdíl od izolátů ze stehna z druhého odběru, detekována pouze u jednoho izolátu (tabulka 7 – 9). Produkce tyraminu, kadaverinu a putrescinu byla zjištěna, stejně jako u izolátů z předchozího odběru, u více jak poloviny izolátů. Tyramin byl detekován

v rozmezí hodnot 3,42 – 370,16 mg/l, putrescin v množství 48,02 – 309,91 mg/l a kadaverin v koncentracích 35,00 – 821,60 mg/l.

U bakterií izolovaných ze stehna bažantů odlovených ve volné přírodě a skladovaných po usmrcení 19 dnů byla zaznamenána produkce histaminu u dvou vzorků. Produkce tyraminu byla nižší než u izolátů z druhého odběru, putrescin a kadaverin byly detekovány v podobných koncentracích jako u izolátů z druhého odběru.

Produkce BA bakteriemi izolovanými z jater bažantů

1. odběr (bažanti skladováni 3 dny při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných z jater bažantů odchycených z voliéry byla zaznamenána pouze produkce tyraminu (tabulka 7 – 9), a to u dvou izolátů v koncentracích $638,75 \pm 12,78$ mg/l, respektive $719,81 \pm 16,50$ mg/l.

U bakterií izolovaných z jater bažantů z volné přírody byla také pozorována produkce tyraminu u dvou izolátů (tabulka 7 – 9). Bakterie izolované z jater dále produkovaly histamin (dva izoláty) a putrescin (více než polovina kmenů). Oba biogenní aminy však byly produkovány v nižším množství (1,32 – 9,95 mg/l).

2. odběr (bažanti skladováni 12 dnů při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných z jater bažantů z druhého odběru byla zjištěna vysoká produkce BA (tabulka 7 – 9). U pěti izolátů byla detekována produkce histaminu (1,69 – 2,95 mg/l), putrescinu (9,03 – 236,30 mg/l) a kadaverinu (31,10 – 100,71 mg/l). U sedmi izolátů byl detekován tyramin v rozmezí 13,01 – 648,18 mg/l.

U bakterií izolovaných z jater bažantů odchycených v přírodě a skladovaných 12 dnů po usmrcení se neprojevila produkce histaminu (tabulka 7 – 9). Oproti izolátům z jater při 1. odběru se zvýšila produkce tyraminu, který byl detekován u pěti izolátů. Byla rovněž zaznamenána produkce kadaverinu u pěti kmenů v rozmezí 3,57 – 61,37 mg/l. Produkce putrescinu byla detekována u více než poloviny izolátů, a to ve vyšších hodnotách než u izolátů získaných z 1 odběru (3,02 – 67,95 mg/l).

3. odběr (bažanti skladováni 19 dnů při venkovní teplotě)

U bakterií izolovaných z jater bažantů z voliéry a skladovaných 19 dnů po usmrcení byla zjištěna zvýšená produkce histaminu (0,86 – 7,26 mg/l), produkce tyraminu byla nižší (0,82 – 88,73). Množství produkovaného putrescinu a kadaverinu se zvýšilo (tabulka

7 – 9). Čtyři izoláty produkovaly putrescin v hodnotách nad 300 mg/l, u izolátu č. 144 bylo detekován kadaverin v množství $1047,95 \pm 56,82$ mg/l, u izolátu č. 145 v množství $919,32 \pm 13,43$ mg/l.

U bakterií izolovaných z jater bažantů odlovených v přírodě a skladovaných 19 dnů po usmrcení byla zjištěna produkce histaminu pouze u jednoho izolátu. Produkce tyraminu nebyla zaznamenána u žádného izolátu (tabulka 7 – 9). Produkce putrescinu byla u všech izolátů zjištěna ve vyšším množství ($8,23 - 468,61$ mg/l). Produkce kadaverinu byla u 5 izolátů detekována v hodnotách $37,26 - 44,14$ mg/l.

Produkce BA bakteriemi izolovanými z kůže bažanta

Produkce BA bakteriemi izolovanými z kůže bažanta odchyceného v přírodě a skladovaného 12 dnů po usmrcení byla nízká. Produkce histaminu nebyla zjištěna u žádného izolátu (tabulka 7 – 9). U dvou izolátů se projevila produkce tyraminu, kadaverinu a putrescinu. Pouze produkce tyraminu byla u 2 kmenů zaznamenána ve vyšším množství $716,81 \pm 16,94$ mg/l a $783,49 \pm 36,75$ mg/l.

Z výsledků kvantitativního stanovení produkce biogenních aminů vyplývá, že produkce biogenních aminů se zvyšovala u bakterií izolovaných z bažantů s delší dobou skladování. Co se týče srovnání produkce BA izolovanými bakteriemi z bažantů chovaných ve voliére a z volné přírody, tak v případě izolátů z prvního odběru byla produkce BA vyšší u kmenů izolovaných z bažanta z volné přírody. Produkce histaminu byl detekována jen u bakterií izolovaných ze stehna bažanta z voliéry. U bakterií izolovaných z druhého odběru byla produkce biogenních aminů (tyraminu, histaminu, putrescinu, kadaverinu) vyšší u kmenů izolovaných z bažanta chovaného ve voliére. U bakterií izolovaných při třetím odběru z prsou bažanta byla zaznamenána vyšší produkce BA u bakterií z bažanta z voliéry. U bakterií izolovaných ze stehenního svalu byla pozorována vyšší produkce histaminu a putrescinu u kmenů izolovaných z bažanta z volné přírody a produkce tyraminu a kadaverinu u izolátů z bažanta z voliéry. U bakterií izolovaných z jater byla detekována vyšší produkce BA u izolátů z jater bažanta z voliéry. Dá se tedy říci, že u bakterií izolovaných z bažantů při prvním odběru byla zjištěna celkově vyšší produkce BA u bakterií izolovaných z bažantů z volné přírody, při druhém a třetím odběru u izolátů z bažantů z voliéry.

Produkcí biogenních aminů bakteriemi izolovanými z povrchu drůbeže se zabývali Buňková a kol. [12]. Cílem studie bylo pomocí iontově iontově-výměnné chromatografie prověřit

bakterie izolované z povrchu chlazené drůbeže na produkci biogenních aminů: histaminu, tyraminu, putrescinu, kadaverinu, agmatinu, sperminu a spermidinu. Bylo testováno celkem 98 kmenů bakterií izolovaných z povrchu drůbeže. Z celkového počtu 98 testovaných izolátů byla *in vitro* zjištěna produkce alespoň 1 biogenního aminu u 49 izolátů, z toho 21 kmenů produkovalo 2 biogenní aminy, nejčastěji v kombinaci putrescin a kadaverin, a 4 kmeny 3 biogenní aminy (putrescin, kadaverin a agmatin). Žádný z testovaných kmenů neprodukoval histamin, spermin ani spermidin. Nejčastěji byly produkovány putrescin a kadaverin, a to zejména bakteriemi čeledi *Enterobacteriaceae*. Slabá produkce tyraminu byla *in vitro* zjištěna celkem u 4 izolátů z čeledi *Enterobacteriaceae*. Pircher et al. (2007) a Pons-Sánchez-Cascado et al. (2005) také zjistili pouze slabou produkci tyraminu u malého počtu z testovaných enterobakterií, respektive gramnegativních bakterií. Naproti tomu Geornaras et al. (1995) zjistili kultivační metodou produkci tyraminu u většiny z testovaných gramnegativních bakterií izolovaných z drůbeže. Kultivační metoda je však pro zjišťování produkce biogenních aminů méně vhodná, protože může docházet k falešně pozitivním reakcím.

5.5 Srovnání skriningové kultivační metody a iontově-výměnné chromatografie

Při srovnání výsledků dekarboxylace aminokyselin a produkce BA bakteriemi došlo k určitým odchylkám, ale přesto u mnohých izolovaných bakterií výsledky skriningové metody souhlasily s výsledky stanovení produkce biogenních aminů pomocí iontově-výměnné chromatografie.

Další odchylky byly zaznamenány u bakterií izolovaných při prvním odběru ze stehna bažantů odchycených v přírodě, kdy byla pomocí IEC detekována produkce tyraminu pouze u jednoho izolátu a kultivační metodou byla dekarboxylace tyraminu zjištěna u více kmenů. Produkce putrescinu byla pomocí IEC detekována u pěti vzorků, dekarboxylace ornitinu se pomocí kultivační metody projevila pouze u jednoho izolátu. U bakterií izolovaných z jater bažantů z přírody byla zaznamenána změna dekarboxylačního média obsahujícího aminokyselinu lysin u šesti izolátů, produkce kadaverinu však nebyla zjištěna u žádného izolátu. Dekarboxylace tyrosinu se v kultivačním médiu navíc projevila u jiných kmenů než byla zaznamenána produkce tyraminu.

U bakterií izolovaných při druhém odběru z prsní svaloviny bažantů chovaných ve voliére byla produkce histaminu pomocí metody IEC detekována u jiných kmenů, než u kterých byla pozorována dekarboxylace histidinu v kultivačním médiu. Putrescin byl stanoven ve vysokých koncentracích, na rozdíl od změny zbarvení dekarboxylačního média s ornitinem, kde se změna zbarvení kultivační půdy v důsledky její alkalizace neprojevila vůbec nebo pouze s nejasným výsledkem. U bakterií izolovaných ze stehna bažantů chovaných ve voliére došlo ke změně zbarvení kultivační půdy s histidinem pouze u dvou izolátů, zatímco produkce biogenního aminu histaminu byla pomocí IEC detekována u sedmi vzorků. U bakterií izolovaných z jater bažantů odchycených z voliéry byla produkce histaminu detekována u pěti kmenů, dekarboxylace histidinu pomocí kultivační půdy však nebyla zaznamenána u žádného kmene. U bakterií izolovaných z prsního svalstva bažantů odlovených v přírodě se viditelně neprojevila změna zbarvení kultivační půdy s pH indikátorem a aminokyselinou histidinem u žádného vzorku, produkce histaminu však byla detekována u tří bakteriálních kmenů.

U bakterií izolovaných z bažantů při třetím odběru z prsní svaloviny bažantů z voliéry se projevila změna zbarvení dekarboxylačního média s tyrosinem u tří kmenů, produkce tyraminu byla metodou IEC zjištěna u sedmi kmenů. U bakterií izolovaných ze stehenního svalu bažantů žijících v přírodě byla zaznamenána změna zbarvení kultivačního média obsahujícího aminokyselinu tyrosin u jiných bakteriálních kmenů, než byla detekována produkce tyraminu metodou IEC. U bakterií izolovaných z jater bažantů z přírody byla zjištěna produkce histaminu pomocí IEC pouze u jednoho kmene, změna zbarvení dekarboxylačního média s histidinem však byla pozorována u čtyř izolátů. Podobně produkce tyraminu nebyla metodou IEC zaznamenána u žádného izolátu, zatímco změna zbarvení kultivačního média s tyrosinem se projevila skoro u všech izolátů.

Falešně pozitivní výsledky u skriningové kultivační metody mohly být způsobeny v důsledku vzniku jiných alkalických sloučenin než biogenních aminů. Metabolickou činností bakterií mohou rovněž vznikat zásadité sloučeniny, příkladem takového produktu, který navíc souvisí s metabolismem dusíkatých látek, včetně proteinů, je např. amoniak [63, 67].

Falešně negativní výsledky mohly vzniknout vlivem fermentace sacharidů, čímž mohlo dojít ke snížení pH média i v přítomnosti zásaditých biogenních aminů. Další možnou příčinou falešně negativních výsledků může být nedostatečná produkce biogenních aminů, která ještě nepůsobila změnu zbarvení pH indikátoru v dekarboxylačním médiu. V našem případě byla

do dekarboxylačního média přidána příslušná aminokyselina v koncentraci 1% w/v, což je koncentrace, která zpravidla postačuje k vyvolání tvorby dekarboxylasových enzymů a tudíž i produkci BA. Nicméně u některých kmenů mohlo být toto množství aminokyseliny nedostatečné k produkci BA, protože množství vyprodukovaného BA rovněž závisí na koncentraci příslušné aminokyseliny v prostředí média [63, 67].

I přes určitá negativa lze tuto metodu ke zjišťování produkce BA využít, protože určitou výhodou této metody je, že je technicky a materiálně nenáročná oproti dalším metodám, které lze rovněž využít ke zjišťování produkce BA. Dále je možné tuto metodu zvolit tehdy, pokud je cílem právě „jen“ skríníng mikroorganismů s dekarboxylasovou aktivitou.

Další metodou, kterou lze použít ke zjišťování dekarboxylasové aktivity bakterií, je polymerázová řetězová reakce (PCR). Tuto metodu lze rovněž považovat za skríníngovou, i když množství falešně pozitivních/negativních reakcí bývá u této metody nižší. PCR je metoda prakticky stejně materiálně náročná jako chromatografické metody (zejména IEC nebo vysokoúčinná kapalinová chromatografie /HPLC/), které lze u bakterií rovněž využít k detekci biogenních aminů, avšak výhodnější v tom, že v kratším časovém úseku lze analyzovat více kmenů. Z tohoto důvodu jsou v poslední době vyvíjeny protokoly pro PCR, tak aby mohla být metoda využita k rychlé detekci bakterií produkujících biogenní aminy. Klasická PCR je specifická metoda, která poukáže na existenci genu pro příslušný enzym (např. tyrozindekarboxylasu, histidindekarboxylasu, apod.), tedy vypovídá o potenciálu kmene produkovat příslušný biogenní amin. Určitou nevýhodou u této metody lze však spatřovat v tom, že tato metoda nezodpoví otázku, zda je biogenní amin za daných podmínek skutečně produkován a v jakém množství. V poslední době se ke zjišťování přítomnosti genů pro dekarboxylasové enzymy začíná využívat i metody real-time PCR [63, 66, 67].

Pomocí chromatografických metod naopak dokážeme srovnat množství produkovaného biogenního aminu za různých podmínek růstu a různých vnějších faktorů. Nevýhodou však je skutečnost, že v případě nevhodných podmínek pro expresi genu, resp. aktivitu enzymu, nezjistíme těmito metodami, zda daný kmen má schopnost produkovat biogenní amin. Je tedy výhodné v praxi kombinovat obě specifické metody – PCR i chromatografické techniky [63, 66, 67].

ZÁVĚR

Bylo provedeno studium tvorby biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantího masa. Pro tento výzkum byly použity bažanti z volné přírody a z chovu ve voliéře. Izolace bakterií byla provedena z prsního a stehenního svalstva, z jater a kůže.

Na základě výsledků tohoto výzkumu lze konstatovat:

- Během 19 denního skladování bažantů při venkovní teplotě docházelo k postupnému nárůstu následujících indikátorových skupin mikroorganismů: celkového počtu fakultativně anaerobních mezofilních bakterií, psychrotrofních bakterií, bakterií mléčného kvašení i enterobakterií.
- Kultivační metodou byla zjištěna schopnost bakterií dekarboxylace aminokyselin argininu, histidinu, lysinu, ornitinu a tyrosinu. Nejmenší schopnost dekarboxylace byla pozorována u histidinu.
- Metodou iontově-výměnné chromatografie nebyla zjištěna produkce agmatinu, fenyletylaminu, spermidinu a sperminu.
- Izolované bakterie nejvíce produkovaly putrescin a kadaverin. Produkce tyraminu byla, vyšší u bakterií izolovaných z těl bažantů skladovaných delší dobu. Izolované bakterie nejméně produkovaly histamin.
- Produkce biogenních aminů byla celkově vyšší u bakterií izolovaných z těl bažantů skladovaných delší dobu.
- Při srovnání výsledků dekarboxylace aminokyselin kultivační metodou a produkce BA iontově-výměnnou chromatografií došlo k odchýlkám, které byly způsobeny falešně pozitivními i falešně negativními výsledky v případě kultivační metody.
- Pro studium tvorby BA bakteriemi je vhodnější a přesnější metoda iontově-výměnné chromatografie.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] INGR, Ivo. Máme jíst maso? Cszm.cz [online]. ©2008 [cit. 2012-04-30]. Dostupné z: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=1075>
- [2] DAVIES, Andrew a BOARD, Ron. *The Microbiology of Meat and Poultry*. London: Blackie Academic and Professional, 1998. ISBN 0 75140398 9.
- [3] ANONYM. *Potravinářská mikrobiologie III - Mikrobiologie vybraných potravin* [online]. UTB ve Zlíně, Technologická fakulta. [cit. 2011-09-15] dostupný z WWW: http://utbfiles.cepac.cz/moduly/M0010_potravinarska_mikrobiologie/distancni_text_III/M0010_potravinarska_mikrobiologie_distancni_text_iii.pdf
- [4] GROSSMANN, Miroslav, *Mikrobiologie v hygieně*. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 1999. ISBN 80-7231-037-2.
- [5] ŠAFAŘÍK, I. a M. ŠAFAŘÍKOVÁ. Imunomagnetické techniky pro detekci mikroorganismů v drůbežích produktech. *Veterinářství*. 2011, č.4, s. 199 – 202. ISSN 0506-8231.
- [6] ANONYM. *Potravinářská mikrobiologie I - Mikroorganizmy v potravinářství* [online]. UTB ve Zlíně, Technologická fakulta. [cit. 2011-09-15] dostupný z WWW: http://utbfiles.cepac.cz/moduly/M0010_potravinarska_mikrobiologie/distancni_text/M0010_potravinarska_mikrobiologie_distancni_text.pdf
- [7] MEAD, G. C. *Poultry Meat Processing and Quality*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2004. ISBN 1 85573 727 2.
- [8] ICMSF – INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. *Microorganisms in Foods 6*. 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. ISBN 0-306-48675-X.
- [9] WINKELMAYER, R., P.LEBERSORGER, H. F. ZEDKA, P. FOREJTEK, M. VODŇANSKÝ, V. VEČEREK, M. MALENA, J. NAGY a P. LAZAR. *Hygiena zvěřiny - příručka pro mysliveckou praxi*. Brno: Středoevropský institut ekologie zvěře, 2005. ISBN 80- 7305-523-6.
- [10] GALLAS, Leo. *Postmortální změny při skladování masa bažanta obecného*. Brno, 2009. Disertační práce. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa.

- [11] GÖRNER, Fridrich a L'ubomír VALÍK. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatinami*. Bratislava: Malé Centrum, 2004. ISBN 80-967064-9-7.
- [12] BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., KLČOVSKÁ, P., MRKVIČKA, V., DOLEŽALOVÁ, M., KRÁČMAR, S. Formation of biogenic amines by gram-negative bacteria isolated from poultry skin. *Food Chemistry* 121(1): 203-206. 2010
- [13] ISMAIL, S.A.S., T. DEAK, H.A. ABD EL-RAHMAN, M.A.M. YASSIEN a L.R. BEUCHAT. Presence and changes in populations of yeasts on raw and processed poultry products stored at refrigeration temperature. *International Journal Food Microbiol.* 2000, vol. 62, s. 113-121.
- [14] STEVENS, C. E. a I. D. HUME. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinaltract to production and conservation of nutrients. *Physiological Reviews*. 1998, vol. 78, no. 2, pp. 393 - 427.
- [15] JURÁNOVÁ, Růžena. Bakteriální a mykotické infekce drůbeže. *Fvl.vfu.cz* [online]. © 2012 [cit. 2011-10-24]. Dostupné z: http://fvl.vfu.cz/export/aviarni-medicina-LS-2007/Bakterialni_a_mykoticke_infekce_drubeze.pdf
- [16] McCracken, V. J. a R.G. LORENZ. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cellular Microbiology*, 2001, vol. 3, no. 1, pp. 1 - 11.
- [17] POSPÍŠILOVÁ D. a A.SOUBUSTOVÁ. Prevence nekrotické enteritidy a kokcidiózy u drůbeže. *Web.vetweb.cz* [online]. [cit. 2011-10-30]. Dostupné z: <http://web.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=4260>
- [18] ANONYM. Eimeria macusaniensis. *Alpaca.cz* [online]. © 2012 [cit. 2011-04-30]. Dostupné z: <http://www.alpaca.cz/e-mac.pdf>
- [19] BARNES, E.M., G.C. MEAD a N.M. GRIFFITH. The microbiology and sensory evaluation of pheasants hung at 5, 10 and 15 °C. *British Poultry Science*, 1973, vol. 14, no. 3, pp. 229 - 240.
- [20] MEAD, G. C., A.M. CHAMBERLAIN a E.D. BORLAND. Microbial changes leading to spoilage of hung pheasants, with special reference to clostridia. *Journal of Applied*

Bacteriology, 1973, vol. 36, no. 2, pp. 279 - 287.

[21] *Obrázek*. Clostridium botulinum [online] [cit. 2012-04-30]. Dostupný z:

<http://www.human-healths.com/clostridium-botulinum-2/clostridium-botulinum.php>

[22] SEDLÁČEK, Ivo. *Taxonomie prokaryot*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 80-210-4207-9.

[23] ROSICKÝ Bohumír, Wolf SIXL a spol. *Salmonelózy*. Praha: Scientia medica, 1994. ISBN 8085526239.

[24] BEDNÁŘ, Marek, V. FRAŇKOVÁ, J. SCHINDLER, A. SOUČEK a J. VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha : Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.

[25] *Obrázek*. Salmonella. [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z:

<https://news.liv.ac.uk/2012/02/02/viewpoint-salmonella-outbreak/>

[26] BARTOŠOVÁ, Lenka a Alena HANULÍKOVÁ. Listeria monocytogenes. *Szpi.gov.cz*

[online]. [cit. 2012-02-27]. Dostupné z:

<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1000167&docType=ART&nid=&chnum=1>

[27] ANONYM. Listeria monocytogenes. *Fda.gov* [online]. [cit. 2012-02-27]. Dostupné z:

<http://www.fda.gov/food/foodsafety/foodborneillness/foodborneillnessfoodbornepathogensnaturaltoxins/badbugbook/ucm070064.htm>

[28] *Obrázek*. Listeria monocytogenes. [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z:

http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Listeria_monocytogenes_PHIL_2287_lores.jpg

[29] ČÍŽEK, Alois. *Praktika z veterinární bakteriologie a mykologie*. Brno: Veterinární a farmaceutická universita Brno, Fakulta veterinárního lékařství, Ústav mikrobiologie a imunologie. 2009. ISBN 80-86895-05-X.

[30] VOTAVA, Miroslav a kol. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

[31] *Obrázek*. Campylobacter jejuni. [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z:

<http://www.flickr.com/photos/ajc1/1540486329/>

[32] VAŘEJKA, František, Oldřich MRÁZ a Jiří SMOLA. *Speciální veterinární mikrobiologie*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1989. ISBN 80-209-0042-X.

- [33] ANONYM. Clostridium perfringens. *Cdc.gov* [online]. [cit. 2012-02-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/clostridium-perfringens.html>
- [34] ANONYM. Clostridium Perfringens. *Torfaen.gov.uk* [online]. © 2012 [cit. 2012-02-26]. Dostupné z: <http://www.torfaen.gov.uk/EnvironmentAndPlanning/FoodHealthAndSafety/FoodHygieneAndSafety/Food%20Poisoning/Clostridium%20Perfringens.aspx>
- [35] ANONYM. Escherichia coli. *Biotox.cz* [online]. [cit. 2012-02-23]. Dostupné z: http://www.biotox.cz/toxikon/bakterie/bakterie/escherichia_coli.php
- [36] BAUDIŠOVÁ, Dana. Mikrobiální kontaminace povrchových vod a hlavní zdroje znečištění. *Heis.vuv.cz* [online]. [cit. 2012-02-05]. Dostupné z: http://heis.vuv.cz/data/spusteni/projekty/koupacivodyprof/dokumenty/prilohy/Koupaci_vody_seminar_Baudisova.pdf
- [37] DAVIS, Charles Patric. E. coli 0157:H7. *MedicineNet.com* [online]. [cit. 2012-02-25]. Dostupné z: http://www.medicinenet.com/e_coli__0157h7/article.htm
- [38] GÖPFERTO VÁ, D., D. JANO VSKÁ a J. ŠEDA. *Mikrobiologie, imunologie a epidemiologie pro střední zdravotnické školy*. Praha: TRITON, 1997. ISBN 80-85875-48-9.
- [39] *Obrázek*. E-coli. *2007.igem.org* [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z: http://2007.igem.org/wiki/index.php/Image:Escherichia_coli.jpg
- [40] BHUNIA, A. K. *Foodborne microbial pathogens*. United States of America: Springer Science + Business Media, LLC, 2008. ISBN: 978-0-387-74536-7.
- [41] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2.vyd. Praha: Victoria Publishing, 1995. ISBN 80-85605-71-6.
- [42] ANONYM. Staphylococcus aureus. *Fooddoctors.com* [online]. [cit. 2012-02-23]. Dostupné z: http://www.fooddoctors.com/FSF/S_aureus.pdf
- [43] *Obrázek*. Staphylococcus aureus. *Cedarcrest.edu* [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z: http://www2.cedarcrest.edu/academic/bio/hale/bioT_EID/lectures/staph.html
- [44] SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-3170-4.

- [45] *Obrázek*. Pseudomonas fluorescens. *Quorumtech.com* [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z: <http://www.quorumtech.com/image-gallery/low-angle-rotary-shadowing-images>
- [46] VELÍŠEK, Jan, *Chemie potravin 3*. Tábor: Osis, 1999. ISBN 8090239153.
- [47] SILLA SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, roč. 29, 1996. ISSN 0168-1605.
- [48] BARDÓZ, A., Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends Food Science a Technology*. 1995, vol. 6, pp.346.
- [49] ANONYM. Základní mikroskopické metody. *Uiozp.ft.utb.cz* [online] [cit. 2012-04-20]. Dostupný z: uiozp.ft.utb.cz/studmat/200891214319/Úloha2.doc
- [50] GATE2BIOTECH. Zástupci startovacích kultur mohou tvořit biogenní aminy. *Gate2biotech.cz* [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/zastupci-startovacich-kultur-mohou-tvorit-biogenni-aminy>
- [51] OTŘÍŠAL, Petr a Jan STÁVEK. Je nutné bát se biogenních aminů ve vínech? *Enolog.cz* [online] [cit. 2012-04-16]. Dostupný z: <http://www.enolog.cz/je-nutne-bat-se-biogennich-aminu-ve-vinech>
- [52] STRAKA, Ivan a Ladislav MALOTA. *Chemické vyšetření masa (klasické laboratorní metody)*. Tábor: Osis, 2006. ISBN 80-86659-09-7.
- [53] WILLAMS, John. Biogenně aktivní aminy. *Flairflow4.vscht.cz* [online] [cit. 2012-04-30]. Dostupné z: <http://flairflow4.vscht.cz/CG37.doc>
- [54] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. 3. vyd. Tábor: Osis, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [55] HALÁSZ, Anna, Á. BARÁTH, L. S. SAKARDI a W. HOLZAPFEL. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science & Technology*. 1994, vol. 5, pp. 42-49.
- [56] KAROVIČOVÁ, J. a Z. KOHAJDOVÁ. Biogenic Amines in Food Chemical Papers. *Chemicalpapers.com* [online]. [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: <http://www.chemicalpapers.com/papers/591a70.pdf>
- [57] MASSON, F., R. TALON, M.C. MONTEL. Histamine and tyramine production by bacteria from meat products. *International Journal of Food Mikrobiology*. 1996, vol. 32.. ISSN 0168-1605.

- [58] SARKADI L.S., W.H. HOLZAPFEL a A. HALASZ. Biogenic amine content and microbial contamination of leafy vegetables during storage at 5°C. *Journal of Food Biochemistry*. 1994, vol. 17. ISSN 0145-8884.
- [59] SUZZI, Giovanna a Fausto GARDINI. Biogenic amines in dry fermented sausages, International. *Journal of Food Microbiology*. 2003, vol. 88, pp. 41-54.
- [60] LORENCOVÁ, E., L. BUŇKOVÁ, D. MATOULKOVÁ, V. DRÁB, P. PLEVA, V. KUBÁŇ a F. BUŇKA. Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from dairy products and beer. *International Journal of Food Science and Technology*, 2012, přijato k publikaci.
- [61] CUPÁKOVÁ Š., M. DUŠKOVÁ a R. KARPÍŠKOVÁ. *Mikrobiologie potravin – praktická cvičení I*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta Veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka. 2008.
- [62] JANDOVÁ, B. a L. KOTOUČKOVÁ. *Praktikum z mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 1996. ISBN 80-210-1374-5.
- [63] BUŇKOVÁ, L., F. BUŇKA, V. DRÁB, M. HLOBILOVÁ a S. KRÁČMAR. Komparace různých metod detekce dekarboxylázové aktivity u bakterií mléčného kvašení. *Potravinářstvo*. 2010, roč. 4, s. 372-380. ISSN 1337-0960.
- [64] BUŇKOVÁ, Leona, Laboratoř z mikrobiologie potravin. [online]. UTB ve Zlíně, Technologická fakulta. [cit. 2011-09-15]. <http://utb-files.cepac.cz>
- [65] Český hydrometeorologický ústav – historická data. [online]. [cit. 04-03-2011]. Dostupné z WWW:
<http://portal.chmi.cz/portal/dt?action=content&provider=JSPTabContainer&menu=JSPTabContainer/P4_Historicka_data/P4_1_Pocasi/P4_1_4_Uzemni_teploty&nc=1&portal_lang=cs#PP_Uzemni_teploty>.
- [66] BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBILOVÁ, M., VAŇÁTKOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D., DRÁB, V. Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research and Technology*, 229(3): 533-538. 2009.

- [67] HLOBILOVÁ, M. *Srovnání metod pro detekci biogenních aminů u bakterií mléčného kvašení*. Zlín, 2008. 96 s. Diplomová práce na Technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati. Vedoucí práce Leona Buňková.
- [68] BOVER-CID, S., W. HOLZAPFEL. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology* 1999, vol.53, s. 33 – 41.
- [69] GEORNARAS, I., G. A. DYKES, von HOLY, A. Biogenic amine formation by poultry-associated spoilage and pathogenic bacteria. *In Letters in Applied Microbiology*, 1995, roč. 21, s. 164-166.
- [70] PIRCHER, A., F. BAUER, P. PAULSEN. Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses. *European Food Research and Technology*, 2007 roč. 226, , s. 225-231. ISSN 1438-2385.
- [71] PONS-SÁNCHEZ-CASCADO, S. et al. Influence of the freshness grade of raw fish on the formation of volatile and biogenic amines during the manufacture and storage of vinegar-marinated anchovies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, v. 53, p. 8586-8592.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>C. jejuni</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>St.</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>S.</i>	<i>Salmonella</i>
CPM	Celkový počet mikroorganismů
CFU	Kolonie tvořící jednotky
BA	Biogenní aminy
BMK	Bakterie mléčného kvašení
IEC	Iontově výměnná chromatografie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
PCR	Polymerázová řetězová reakce
MRS	deManův, Rogosův a Sharpův agar
PCA	Plate Count Agar

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. <i>Salmonella</i> [25].....	17
Obr. 2. <i>Listeria monocytogenes</i> [28].....	18
Obr. 3. <i>Campylobacter jejuni</i> [31].....	19
Obr. 4. <i>Clostridium botulinum</i> [60].....	21
Obr. 5. <i>Escherichia coli</i> [39].....	23
Obr. 6. <i>Staphylococcus aureus</i> [43].....	24
Obr. 7. <i>Pseudomonas fluorescens</i> [45].....	25
Obr. 8. Počty mikroorganismů ze vzorků prsního svalstva bažantů.....	38
Obr. 9. Počty mikroorganismů ze vzorků stehenního svalstva bažantů.....	39
Obr. 10. Počty mikroorganismů ze vzorků jater bažantů.....	40

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Počty vybraných anaerobních mikroorganismů ve střevním obsahu jednotlivých částí střeva bažantů ve věku 120 dnů (log CFU/g) [10].....	15
Tab. 2. Biogenní aminy, jejich prekurzory, produkty transformace a biologický význam [54].....	26
Tab. 3. Významné mikroorganismy produkující biogenní aminy [54].....	29
Tab. 4. Dekarboxylace aminokyselin bakteriemi izolovaných z bažantů skladovaných 3 dny.....	44
Tab. 5. Dekarboxylace aminokyselin bakteriemi izolovaných z bažantů skladovaných 12 dnů.....	46
Tab. 6. Dekarboxylace aminokyselin bakteriemi izolovaných z bažantů skladovaných 19 dnů.....	48
Tab. 7. Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných 3 dny.....	50
Tab. 8. Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných 12 dnů.....	52
Tab. 9. Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z bažantů skladovaných 19 dnů.....	54

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA I: Makroskopické a mikroskopické znaky bakterií izolovaných z jednotlivých částí těl bažanta

PŘÍLOHA P I: MAKROSKOPICKÉ A MIKROSKOPICKÉ ZNAKY BAKTERIÍ IZOLOVANÝCH Z JEDLOTLIVÝCH ČÁSTÍ TĚL BAŽANTŮ

Bažanti skladování 3 dny při venkovní teplotě										
Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
1	prsa (voliéra)	MPA	7 mm	krémová	okrouhlý	zvýšený	tyčinky	dvojice	-	+
2	prsa (voliéra)	MPA	3 mm	okrová	okrouhlý	plochý	tyčinky	dvojice	-	+
3	prsa (voliéra)	MPA	4 mm	oranžová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
4	prsa (voliéra)	MPA	4 mm	světle krémová	sektorový	pupkovitý	koky	shluky	-	+
5	prsa (voliéra)	MPA	3 mm	bílá	okrouhlý	zvýšený	tyčinky	dvojice	-	+
6	prsa (voliéra)	MPA	4 mm	světle šedá	zvlněný	plochý	tyčinky	dvojice	-	+
7	prsa (voliéra)	MRS	2 mm	bílá	okrouhlý	knoflíkový	koky	shluky	+	-
8	prsa (voliéra)	M 17	1 mm	slonová kost	okrouhlý	plochý	koky	shluky	+	-
9	stehno (voliéra)	MPA	3 mm	světle krémová	laločnatý	plochý	koky	shluky	-	+
10	stehno (voliéra)	MPA	2 mm	smetanová	sektorový	bradavičnatý	tyčinky	shluky	-	+
11	stehno (voliéra)	MPA	6 mm	světle žlutá	zvlněný	zvýšený	tyčinky	shluky	-	+
12	stehno (voliéra)	MPA	1,5 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	řetízky	-	+
13	stehno (voliéra)	MPA	3,5 mm	žlutá	okrouhlý	plochý	vlákna	shluky	+	+
14	stehno (voliéra)	MPA	6 mm	světle žlutá	okrouhlý	zvýšený	oválné	řetízky	-	+
15	stehno (voliéra)	MRS	1,8 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	nepravidelné shluky	+	-
16	stehno (voliéra)	MRS	1,5 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	řetízky	+	-
17	stehno (voliéra)	MRS	2 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	+	-
18	játra (voliéra)	MPA	2 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	shluky	-	+
19	játra (voliéra)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	zvýšený	koky	shluky	-	+
20	játra (voliéra)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
21	játra (voliéra)	MPA	3 mm	světle žlutá	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	+	+
22	játra (voliéra)	MPA	20 mm	smetanová	zvlněný	zvýšený	oválné	shluky/řetízky	+	+
23	játra (voliéra)	MPA	3 mm	žlutá	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky/řetízky	+	+
24	játra (voliéra)	MPA	2 mm	smetanová	okrouhlý	zvýšený	koky	řetízky	+	+
25	játra (voliéra)	M 17	2 mm	bílá	zvlněný	plochý	koky	jednotlivé, dvojice	+	-

Bažanti skladování 3 dny při venkovní teplotě

Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
26	játra (voliéra)	M 17	0,1 mm	běžová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
27	játra (voliéra)	M 17	0,2 mm	běžová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
28	prsa (příroda)	MPA	7 mm	smetanová	zvlněný	ploché	krátké tyčinky	jednotlivé	-	+
29	prsa (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	oválné	shluky	-	+
30	prsa (příroda)	MPA	3 mm	žlutá	okrouhlý	ploché	tyčinky	shluky	-	+
31	prsa (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	koky	řetízky	-	+
32	prsa (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	laločnatý	ploché	tyčinky	řetízky	-	+
33	prsa (příroda)	MPA	1,5 mm	světle žlutá	okrouhlý	bradavičnatý	koky	řetízky	-	+
34	prsa (příroda)	M 17	1 mm	bílá	okrouhlý	pupkovité	koky	shluky	+	-
35	prsa (příroda)	M 17	2 mm	bílá	okrouhlý	zvýšený	koky	jednotlivé	+	-
36	prsa (příroda)	M 17	2 mm	šedá	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	+	+
37	stehno (příroda)	MPA	5 mm	žlutá	sektorový	pupkovitý	krátké tyčinky	řetízky	-	+
38	stehno (příroda)	MPA	8 mm	bílá	zvlněný	ploché	tyčinky	řetízky	-	+
39	stehno (příroda)	MPA	5 mm	bílá	kulatý	ploché	koky	řetízky	-	+
40	stehno (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	koky	shluky	-	+
42	stehno (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	koky	shluky	-	+
43	stehno (příroda)	M 17	2 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	+
44a	stehno (příroda)	M 17	1 mm	oranžová	okrouhlý	zvýšený	koky	shluky	+	+
44b	stehno (příroda)	M 17	1 mm	nažloutlá	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	+
45	játra (příroda)	MPA	4 mm	okrová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	+
46	játra (příroda)	MPA	4 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	jednotlivé	+	-
47	játra (příroda)	MPA	3 mm	krémová	okrouhlý	ploché	koky	jednotlivé	+	+
48	játra (příroda)	MPA	2 mm	krémová	okrouhlý	ploché	koky	shluky	+	+
50	játra (příroda)	MPA	8 mm	bílá	okrouhlý	ploché	koky	řetízky	-	-
51	játra (příroda)	M 17	0,2 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	koky	shluky	-	+
52	játra (příroda)	M 17	3 mm	krémová	okrouhlý	ploché	koky	shluky	+	+
53a	játra (příroda)	M 17	4 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	+
53b	játra (příroda)	M 17	2 mm	běžová	okrouhlý	zvýšený	koky	shluky	+	+

Bažanti skladování 12 dní při venkovní teplotě

Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
54	prsa (voliéra)	MPA	10 mm	běžová	okrouhlý	plochý	tyčinky	nepravidelné shluky	+	+
55	prsa (voliéra)	MPA	6 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	koky	nepravidelné shluky	-	+
56	prsa (voliéra)	MPA	10 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	nepravidelné shluky	+	+
57	prsa (voliéra)	MPA	0,5 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	shluky	+	+
58	prsa (voliéra)	MPA	1 mm	žlutá	okrouhlý	plochý	tyčinky	nepravidelné shluky	-	+
59	prsa (voliéra)	MPA	3 mm	okrová	okrouhlý	plochý	koky	nepravidelné shluky	-	+
61	prsa (voliéra)	MPA	1 mm	bílá	okrouhlý	plochý	tyčinky	řetízky	-	-
62	prsa (voliéra)	M 17	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
63a	prsa (voliéra)	M 17	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	+
63b	prsa (voliéra)	MRS	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	-
64	stehno (voliéra)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	jednotlivé	-	+
65	stehno (voliéra)	MPA	7 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	jednotlivé	+	+
66	stehno (voliéra)	MPA	5 mm	žlutá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	+	-
67	stehno (voliéra)	MPA	7 mm	světle žlutá	s koncent. stavbou	plochý	koky	jednotlivé	+	+
68	stehno (voliéra)	MPA	0,5 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	jednotlivé	-	-
69	stehno (voliéra)	MPA	5 mm	oranžová	vroubkovaný	plochý	koky	krátké řetízky	+	+
70	stehno (voliéra)	MPA	1,5 mm	běžová	okrouhlý	plochý	koky	nepravidelné shluky	+	+
72	stehno (voliéra)	MPA	5 mm	světle žlutá	okrouhlý	plochý	koky	shluky	+	+
74a	stehno (voliéra)	MPA	3 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
74b	stehno (voliéra)	M 17	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	-
75a	stehno (voliéra)	MRS	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	-
75b	stehno (voliéra)	MRS	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	-
76	játra (voliéra)	MPA	8 mm	smetanová	zubatý	plochý	koky	krátké řetízky	+	+
77	játra (voliéra)	MPA	10 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	shluky	-	+
78	játra (voliéra)	MPA	2 mm	bílá	okrouhlý	plochý	koky	shluky	-	-
79	játra (voliéra)	MPA	7 mm	oranžová	okrouhlý	plochý	tyčinky	jednotlivé	+	+
80	játra (voliéra)	MPA	8 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	tyčinky	shluky	+	+
81	játra (voliéra)	M 17	1 - 2 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
82	játra (voliéra)	M 17	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	-

Bažanti skladováni 12 dní při venkovní teplotě

Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
83	prsa (příroda)	MPA	4 mm	běžová	okrouhlý	zvýšený	koky	jednotlivé	+	+
84	prsa (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	koky	jednotlivé	+	+
85	prsa (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	koky	jednotlivé	-	+
86	prsa (příroda)	MPA	4 mm	okrová	okrouhlý	plochý	koky	krátké řetízky	+	+
87	prsa (příroda)	MPA	0,5 mm	průsvitná	okrouhlý	plochý	tyčinky	jednotlivé	-	-
88	prsa (příroda)	MPA	1 mm	oranžová	okrouhlý	vypouklý	krátké tyčinky	shluky	+	+
89	prsa (příroda)	MPA	3 mm	bílá	okrouhlý	plochý	koky	jednotlivé	-	+
90	prsa (příroda)	MPA	4 mm	běžová	okrouhlý	plochý	koky	jednotlivé	+	+
91	prsa (příroda)	M 17	1 mm	krémová	okrouhlý	plochý	koky	shluky	-	-
92	prsa (příroda)	MRS	1 - 2 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	+	+
93	stehno (příroda)	MPA	0,5 mm	světle žlutá	zvlněný	vypouklý	koky	shluky	-	+
94	stehno (příroda)	MPA	0,6 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
95	stehno (příroda)	MPA	0,4 mm	krémová	okrouhlý	plochý	koky	shluky	+	+
96	stehno (příroda)	MPA	0,3 mm	krémová	okrouhlý	plochý	koky	shluky	+	-
97	stehno (příroda)	MPA	0,8 mm	okrová	zvlněný	plochý	koky	shluky	+	+
98	stehno (příroda)	MPA	0,5 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
100	stehno (příroda)	MRS	1 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	-
101	stehno (příroda)	M 17	2 - 3 mm	bílá	zvlněný	vypouklý	koky	řetízky	+	+
102a	stehno (příroda)	M 17	1 mm	krémová	zvlněný	vypouklý	koky	shluky	+	+
102b	stehno (příroda)	M 17	1 mm	krémová	okrouhlý	plochý	koky	shluky	+	+
103	játra (příroda)	MPA	5 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
104	játra (příroda)	MPA	3 - 5 mm	krémová	okrouhlý	knoflíkový	koky	řetízky	-	+
105	játra (příroda)	MPA	5 mm	smetanová	okrouhlý	plochý	koky	shluky	-	+
106	játra (příroda)	MPA	3 - 5 mm	krémová	zvlněný	vypouklý	koky	jednotlivé	+	+
107	játra (příroda)	MPA	5 mm	okrová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	+
108	játra (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	+	+
109	játra (příroda)	MPA	3 mm	okrová	laločnatý	plochý	koky	shluky	+	-
110	játra (příroda)	M 17	1 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	+
112	kůže (příroda)	MPA	4 mm	žlutá	okrouhlý	plochý	koky	jednotlivé	+	+

Bažanti skladováni 12 dní při venkovní teplotě

Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
113	kůže (příroda)	MPA	3 mm	žlutá	okrouhlý	zvýšený	koky	jednotlivé	+	+
114	kůže (příroda)	MPA	3 mm	světle žlutá	okrouhlý	zvýšený	koky	řetízky	+	+
115	kůže (příroda)	MPA	6 mm	oranžová	okrouhlý	zvýšený	tyčinky	shluky/řetízky	+	+
116	kůže (příroda)	MPA	3 mm	žlutá	vroubkovaný	zvýšený	koky	shluky	-	+

Bažanti skladováni 19 dní při venkovní teplotě

Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
120	prsa (voliéra)	MPA	3,5 mm	oranžová	okrouhlý	ploché	koky	jednotlivé	-	+
121	prsa (voliéra)	MPA	5,8 mm	slonová kost	okrouhlý	knoflíkový	tyčinky	nepravidelné shluky	-	+
122	prsa (voliéra)	MPA	3,5 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	nepravidelné shluky	-	+
123	prsa (voliéra)	MPA	3,5 mm	slonová kost	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	+
124	prsa (voliéra)	MPA	2,5 mm	oranžová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	nepravidelné shluky	-	-
125	prsa (voliéra)	MPA	4,8 mm	okrová	zahnuté	ploché	koky	řetízky	+	+
126	prsa (voliéra)	MPA	2,6 mm	okrová	laločnatý	ploché	koky	nepravidelné shluky	+	-
127	prsa (voliéra)	MPA	4 mm	slonová kost	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	+
128	prsa (voliéra)	MPA	3 mm	bílá	okrouhlý	ploché	tyčinky	shluky	+	-
133	stehno (voliéra)	MPA	3 mm	běžová	okrouhlý	ploché	tyčinky	řetízky	-	-
134	stehno (voliéra)	MPA	5 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	tyčinky	shluky	+	+
135	stehno (voliéra)	MPA	6 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	tyčinky	shluky	+	+
136	stehno (voliéra)	MPA	5 mm	světle žlutá	okrouhlý	ploché	koky	shluky	+	+
137	stehno (voliéra)	MPA	1 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	jednotlivé	+	-
138	stehno (voliéra)	MPA	7 mm	běžová	okrouhlý	ploché	koky	shluky	+	+
139	stehno (voliéra)	MPA	1 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky/řetízky	+	-
141	stehno (voliéra)	MRS	0,5 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	-
142	játra (voliéra)	MPA	5 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	tyčinky	shluky	+	+
143	játra (voliéra)	MPA	5 mm	smetanová	okrouhlý	ploché	tyčinky	řetízky	+	+

Bažanti skladováni 19 dní při venkovní teplotě

Číslo vzorku	Vzorek	Půda	Morfologie kolonií				Mikroskopický preparát		Další znaky	
			Velikost (průměr)	Barva	Tvar	Profil	Tvar buňky	Shluky / tvar	KOH test	Kataláza
144	játra (voliéra)	MPA	5 mm	krémová	okrouhlý	pupkovité	koky	jednotlivé	-	+
145	játra (voliéra)	MPA	2 mm	krémová	okrouhlý	knoflíkový	koky	jednotlivé	-	+
146	játra (voliéra)	MPA	1 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	-
147	játra (voliéra)	MPA	2 mm	průsvitná	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	+	-
148	prsa (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	jednotlivé	-	+
149	prsa (příroda)	MPA	6 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
150	prsa (příroda)	MPA	4 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
151	prsa (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	jednotlivé	-	+
152	prsa (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
153	prsa (příroda)	MPA	3 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	řetízky	-	+
155	prsa (příroda)	M 17	0,5 - 1 mm	bílá	zvlněný	vypouklý	koky	řetízky	+	-
156	prsa (příroda)	M 17	0,5 - 1 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	+
157	prsa (příroda)	M 17	0,3 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	-	-
158	stehno (příroda)	MPA	3 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	+	+
159	stehno (příroda)	MPA	5 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	+
160	stehno (příroda)	MPA	4 mm	krémová	okrouhlý	vypouklý	koky	řetízky	-	+
161	stehno (příroda)	MPA	9 mm	zelenkavá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	jednotlivé	+	+
162	stehno (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	knoflíkový	tyčinky	shluky	—	+
163	stehno (příroda)	MRS	1 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	-	-
164	stehno (příroda)	MRS	0,5 - 2 mm	bílá	okrouhlý	vypouklý	tyčinky	shluky	+	+
166	játra (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	zubatý	vypouklý	koky	jednotlivé	-	-
167	játra (příroda)	MPA	5 mm	běžová	okrouhlý	zvýšený	tyčinky	jednotlivé	+	-
168	játra (příroda)	MPA	4 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
169	játra (příroda)	MPA	6 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	diplokoky	-	-
170	játra (příroda)	MPA	3 mm	smetanová	okrouhlý	vypouklý	koky	shluky	+	-
171	játra (příroda)	MPA	6 mm	olivová	sektorový	knoflíkový	tyčinky	jednotlivé	+	-