

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO
FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

*Ústav ekologie a chorob zvířet, ryb a včel
Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat*



VII. KONFERENCE STUDENTSKÉ VĚDECKÉ A ODBORNÉ ČINNOSTI
z oblastí
"Veterinární hygiena, veterinární ekologie, bezpečnost a kvalita potravin"

Sborník příspěvků

21. listopadu 2014

POSLUCHÁRNA PAVILONU PROFESORA LENFELDA

FVHE VFU Brno



Fakulta veterinární hygieny a ekologie Veterinární a farmaceutické univerzity Brno pořádá v letošním roce 7. ročník Konference studentské vědecké a odborné činnosti. Konference je určena pro prezentaci výsledků vědecko-výzkumné a tvůrčí aktivity studentů bakalářských a magisterských studijních programů z oblastí "Veterinární hygiena, veterinární ekologie, bezpečnost a kvalita potravin".

Vědecká práce je neoddělitelnou součástí univerzitních činností a přináší prospěch jednotlivcům i instituci. Studenti, kteří se zapojují do vědecké práce, představují pro naši univerzitu perspektivu pro její budoucí rozvoj.

Cílem konference je motivační formou rozvíjet prezentační dovednosti studentů, schopnost obhájit svou hypotézu a komplexní dovednost komunikace, která je jedním z důležitých aspektů kvality terciárního vzdělávání. Společně se znalostmi a jejich uplatňováním, tvořením úsudku a schopností dalšího vzdělávání ovlivňuje profilaci, uplatnitelnost a tím i konkurenceschopnost budoucích absolventů.

Studenti mají možnost seznámit se s pracovišti fakulty, výzkumnými týmy a s úkoly, které řeší. Svoji prací přispívají k řešení drobných úkolů v laboratořích a postupně se vypracovávají k samostatné práci. Jejich postřehy a nápady přinášejí svěží vítr a slouží jako protiváha zkušených kolegů, kteří mají své zaběhlé postupy práce a nutí je tím zamyslet se a znovu prodiskutovat vzniklé problémy a metody. Pro ústavy představují možnost vychovat si budoucí studenty v doktorském studijním programu. Ústavy mají v doktorandech velký potenciál svého dalšího růstu, personální základnu pro pedagogické i vědecké pracovníky.

Dovolte mi, abych poděkovala všem, kteří k letošní studentské vědecké a odborné konferenci přispěli svým dílem, studentům, školitelům, učitelům i organizátorům. Všem přeji příjemně strávený konferenční den a mnoho úspěchů a inspirací v další vědecko-výzkumné práci.

doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.
děkanka FVHE VFU Brno

Pořadatelé konference:

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie VFU Brno
Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel
Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat

Organizační výbor:

prof. RNDr. Miroslava Beklová, CSc.
doc. MVDr. Eva Bártová, Ph.D.
Mgr. Barbora Havelková
Jiřina Nosková

Místo konání: Posluchárna pavilonu prof. Lenfelda
Ústav hygieny a technologie mléka FVHE VFU Brno
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno,
Palackého 1/3, Brno 612 42

Datum konání: 21. listopadu 2014

OBSAH

Bc. Kateřina Bártová:

Využití metody ELFA při průkazu bakterií *Salmonella* spp. v mléce5

Ondřej Chlumský:

Výskyt laktobacilů v potravinách živočišného původu6

Bc. Eva Jelínková:

Sezónní dynamika ergasilózy ryb ve vodárenských nádržích Hubenov a Koryčany7

Bc. Filip Junek:

Hematologické parametry pstruha duhového s klinickými projevy proliferativního onemocnění ledvin8

Bc. Iva Kladnická:

Stanovení enterokoků v syrovátce9

Michael Kobza:

Analýza mikroorganismů pomocí hmotnostní spektrometrie typu time of flight.....10

Šárka Košková:

Ptakotrudky Vietnamu11

Dana Kozáčková:

Stanovení účinku kovů na růstové parametry vybraných druhů rostlin12

Bc. Lucie Tomášková:

HPLC stanovení riboflavinu v různých druzích mléka.....13

Pavλίna Mahdalová:

Ekotoxikologické hodnocení sedimentů z vodní nádrže s biocentrem Vícemilice na základě kontaktních testů14

Diana Mandincová:

Posouzení účinnosti čištění odpadních vod pomocí biotestů.....15

Bc. Eliška Zichová:

Výběr fluorochromu pro průkaz lepku v modelových masných výrobcích16

Jana Žáková:

Charakteristika vankomycin rezistentních enterokoků z čistírny odpadních vod17

Informace o účastnících konference18

Rejstřík autorů19

VYUŽITÍ METODY ELFA PŘI PRŮKAZU BAKTERIÍ *SALMONELLA* SPP. V MLÉCE

Bc. Kateřina Bártová
Ústav hygieny a technologie mléka
katka_bartova@mybox.cz

Cílem práce bylo prokázat přítomnost bakterií rodu *Salmonella* ve vzorcích pasterovaného mléka s využitím metody ELFA a posoudit výhody imunofluorescenční metody oproti tradičním plotnovým metodám. Práce dále zhodnotila vliv skladovacích teplot, pH a především různých typů tepelného opracování daných legislativními předpisy na výskyt salmonel v mléce.

Bakterie rodu *Salmonella* patří mezi nejvýznamnější patogeny způsobující onemocnění z potravin. Zdrojem jsou především potraviny živočišného původu, mezi které patří také mléko. Imunofluorescenční metoda (ELFA) je založena na vysoce specifické vazebné reakci mezi antigenem a protilátkou. Substrát je štěpen pomocí enzymu na fluorescenční produkt. Vzniklé chemické změny jsou detekovány pomocí fotodiodového fluorimetru. K analýzám se využívá přístroj VIDAS[®] (bioMérieux, Francie). Pro potravinářskou mikrobiologii jsou vyvinuty VIDAS[®] kity pro průkaz přítomnosti salmonel.

Při použití skladovacích teplot (4, 8, 15 a 24 °C) po dobu tří dnů a snížení hodnoty pH (4,2 a 5,0) po dobu dvou dnů výskyt salmonel v mléce přetrval. Výsledky pokusů potvrdily význam tepelného ošetření mléka pro zajištění bezpečnosti potravin. Proces termizace (57 – 68°C, 15 s) byl pro inaktivaci salmonel nespolehlivý. Jako účinnější se ukázalo použití pasteračních teplot, kdy u šetrné pasterace (72 °C, 15 s) došlo k devitalizaci salmonel ve většině případů, přičemž nejúčinnější byla pasterace dlouhodobá (63 °C, 30 min). Metodu ELFA lze doporučit pro průkaz přítomnosti salmonel v potravinách pro její jednoduché použití a především rychlé získání výsledků.

Klíčová slova: *Salmonella* spp., metoda ELFA, miniVIDAS[®], mléko, termizace, pasterace, pH, bezpečnost potravin

VÝSKYT LAKTOBACILŮ V POTRAVINÁCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU

Ondřej Chlumský
Ústav hygieny a technologie mléka
ondra.chlumsky@centrum.cz

Cílem práce bylo sledovat četnost výskytu bakterií rodu *Lactobacillus* v masných a mléčných výrobcích.

Izoláty byly konfirmovány a identifikovány pomocí fenotypových (MRS agar, OXI-test, průkaz přítomnosti katalázy) a genotypových metod (rodově specifická polymerázová řetězová reakce - PCR).

Z analyzovaných vzorků (n=169) bylo vykultivováno 346 suspektních izolátů laktobacilů. Tedy 295 izolátů ze 148 mléčných výrobků a 51 izolátů z 21 masných výrobků. Přítomnost laktobacilů byla zjištěna jak v mléčných výrobcích (39%), tak i ve výrobcích masných (52%). Nejvyšší záchyt laktobacilů mléčných výrobků byl v kozím sýru (100%) a ovčím (100%), dále pak v kravském mléce (46%). U masných výrobků byla nejvyšší frekvence výskytu ve vepřové kýtě (67%). Nulový záchyt laktobacilů byl v ovčím mléce. Celkově u 100 izolátů (29%) se metodou PCR vytvořil ampikon o velikosti 250bp, typický pro rod *Lactobacillus*.

Klíčová slova: *Lactobacillus* spp., polymerázová řetězová reakce, mléčné výrobky, masné výrobky

SEZÓNÍ DYNAMIKA ERGASILÓZY RYB VE VODÁRENSKÝCH NÁDRŽÍCH HUBENOV A KORYČANY

Bc. Eva Jelínková
Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel
evickajelinkova@seznam.cz

Ergasilóza, jejímž původcem je členovec chlopek obecný (*Ergasilus sieboldi*), je velmi časté parazitární onemocnění různých druhů ryb. Intenzity infekce touto parazitózou jsou pravidelně sledovány v rámci ichtyologického monitoringu ve vodárenských nádržích (VN). Existuje zde totiž potenciální nebezpečí výrazného zhoršení zdravotního stavu napadených ryb či dokonce jejich úhynu, a to zejména v letních měsících při nižších koncentracích kyslíku ve vodě. Napadené ryby pak již nemohou dobře plnit svou funkci v účelové rybí obsádce, jejímž cílem je zlepšování kvality pitné vody. V průběhu sezóny dochází ke změnám abundance parazita, a to v závislosti na rozvoji zooplanktonu, jehož součástí jsou vývojová stádia parazita. Podle odborných studií abundance parazita vzrůstá obvykle na jaře a na podzim. Kvalitativní i kvantitativní složení zooplanktonu je ovlivňováno predaním tlakem rybí obsádky, kdy nižší predaním tlak způsobuje nárůst biomasy zooplanktonu a s tím související vyšší invaze parazita.

Cílem práce bylo vyhodnotit sezónní dynamiku ergasilózy ryb ve vodárenských nádržích Hubenov a Koryčany za rok 2014.

Vyšetření ryb je prováděno ve spolupráci s VFU Brno, Ústavem ekologie a chorob zvířete, ryb a včel. Reprezentativní vzorky obsádek daných nádrží zajišťuje Povodí Moravy s. p., pod jehož správu obě nádrže spadají. Odlovy jsou prováděny pomocí elektrického agregátu a tenatových sítí. Výsledky parazitologického vyšetření jsou vyhodnoceny pomocí epidemiologických charakteristik jako intenzita infekce, abundance a prevalence.

Celkem bylo v rámci 7 odlovů z každé nádrže odloveno 189 kusů ryb 10 - ti druhů. Odlovy probíhaly v pravidelných měsíčních intervalech od dubna do října 2014. Ve VN Hubenov byly nejvyšší hodnoty intenzity infekce a abundance zaznamenány v měsíci září, ve VN Koryčany v květnu. V obou VN dochází k poklesu těchto hodnot v červenci a srpnu. Prevalence se pohybovala v rozmezí 33,3 – 100 %. Nejvyšší intenzity infekce byly zaznamenány u bolena dravého (*Aspius aspius*) a štiky obecné (*Esox lucius*). Celkově dosahují epidemiologické charakteristiky vyšších hodnot ve VN Hubenov.

Lze konstatovat, že každá VN je jedinečným ekosystémem a nedochází zde ke stejnému sezónnímu vývoji ergasilózy. Rozdíly pravděpodobně souvisí s rozvojem zooplanktonu, na jehož formování má zásadní vliv rybí obsádka daných nádrží. Ve VN Hubenov početně převažují dravé druhy ryb, které potlačují ryby zooplanktonofágní, což vede k vyššímu výskytu ergasilózy. Ve VN Koryčany je situace poměrně stabilizovaná. Celkově lze říci, že oproti jiným parazitům ryb se *E. sieboldi* vyskytuje v poměrně vysokých intenzitách a jeho výskyt by se měl i nadále monitorovat.

Klíčová slova: ergasilóza, parazit, sezónní dynamika, vodárenská nádrž, intenzita infekce, abundance, prevalence

HEMATOLOGICKÉ PARAMETRY PSTRUHA DUHOVÉHO S KLINICKÝMI PROJEVY PROLIFERATIVNÍHO ONEMOCNĚNÍ LEDVIN

Bc. Filip Junek

Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel

junekfilip.jf@gmail.com

Hlavním cílem práce bylo získat a vyhodnotit základní hematologické ukazatele pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), porovnat tyto hodnoty a statisticky vyhodnotit. Vzorky pstruha duhového pocházely z intenzivního chovu v Pravíkově. Jako základní hematologické ukazatele, které byly sledovány, jsou: celkový počet leukocytů a erytrocytů, diferenciální počet leukocytů, obsah hemoglobinu, hematokritová hodnota. Patří sem i výpočtové hodnoty jako jsou: střední objem erytrocytů (MCV), hemoglobin erytrocytů (MCH) a střední barevná koncentrace (MCHC). Celkem bylo odebráno a vyšetřeno 30 vzorků krve. Prvních 20 vzorků, bylo odebráno z ryb s klinickým onemocněním PKD, dalších 10 vzorků bylo odebráno z klinicky zdravých ryb.

Při srovnání hodnot mezi oběma skupinami vzorků byl zjištěn statisticky vysoce významný rozdíl v celkovém počtu leukocytů a také v počtu erytrocytů. Vysoce významné rozdíly byly také zjištěny u hodnot hematokritu a hemoglobinu. U výpočtových hodnot byl zaznamenán statisticky významný rozdíl u hemoglobinu erytrocytů. U výpočtové hodnoty středního objemu erytrocytů byl zjištěn statisticky vysoce významný rozdíl. Mezi hodnotami střední barevné koncentrace nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. Mezi jednotlivými počty leukocytů byl zjištěn vysoce významný rozdíl u počtu lymfocytů a počtu segmentů. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u počtu myelocytů. U ostatních počtů, jako jsou počty monocytů, myeloblastů, myelocytů a tyček nebyl zjištěn žádný statistický rozdíl.

Krev pstruhů v obou skupinách vzorků vykazovala lymfocytární charakter, průměrná hodnota lymfocytů u pstruhů s PKD byla 91,70 %, u kontrolních ryb 94, 50 %. Hodnoty monocytů byly u nemocných ryb 3,50 %, u ryb zdravých 1,60 %. Myeloblasty a jejich hodnoty dosahovaly u ryb s PKD 1,0 % a u kontrolní skupiny 0,5 %. Zastoupení myelocytů u nemocných ryb bylo 0,13 %, u zdravých ryb pak 0,2 %. Zastoupení tyček bylo u infikovaných ryb 0,42 % a u ryb neinfikovaných 0,35 %. Zastoupení segmentů u ryb s PKD bylo 3, 22 % u ryb zdravých byla tato hodnota 2,40%. Hodnoty u nemocných ryb byly 0,02 %, zatímco u kontrolní skupiny byly tyto hodnoty 0,35 %. Průměrné počty erytrocytů byly u nemocných pstruhů $0,40 \pm 0,24 \text{ T.l}^{-1}$ zatímco u zdravých pstruhů byla tato hodnota $1,21 \pm 0,09 \text{ T.l}^{-1}$. Hodnoty hemoglobinu se pohybovaly u nemocných pstruhů v hodnotě $29,50 \pm 19,17 \text{ g.l}^{-1}$ u zdravých pstruhů byla tato hodnota $71,78 \pm 7,06 \text{ g.l}^{-1}$. Hodnota hematokritu byla u pstruhů s PKD $0,17 \pm 0,09 \text{ l.l}^{-1}$, zatímco kontrolní zdravé skupiny $0,37 \pm 0,02 \text{ l.l}^{-1}$. Z výpočtových hodnot byly hodnoty hemoglobinu u infikovaných pstruhů $76,44 \pm 27,20 \text{ pg}$, u kontrolní skupiny byly tyto hodnoty $59,48 \pm 7,53 \text{ pg}$. Hodnota středního objemu erytrocytů byla u ryb s PKD $440,31 \pm 135,48 \text{ fl}$, zatímco u zdravých ryb $304,21 \pm 22,35 \text{ fl}$. Hodnota střední barevné koncentrace byla u nemocných ryb $0,17 \pm 0,04 \text{ g.dcl}^{-1}$, u kontrolní zdravé skupiny pak $0,20 \pm 0,02 \text{ g.dcl}^{-1}$.

Klíčová slova: pstruh duhový, proliferativní onemocnění ledvin, recirkulační systém, buněčné elementy

STANOVENÍ ENTEROKOKŮ V SYROVÁTCE

Bc. Iva Kladnická
Ústav hygieny a technologie mléka
ivakladnicka@seznam.cz

Stanovení mikroorganismů má v potravinářství důležitou úlohu, protože jejich přítomnost rozhoduje o vlastnostech surovin a výrobků. Podle výskytu enterokoků u různých typů potravin lze stanovit hygieny výroby a zdravotní nezávadnost.

Cílem práce bylo stanovit enterokoky v syrovátkách, které vznikají jako vedlejší produkt při výrobě 45% sýru eidam. Stanovoval se jak rod, tak i druh enterokoků.

Vzorky syrovátek (n = 86) byly odebrány v několika fázích zpracování syrovátky a též z výrobníku, kde se posuzovalo jejich počáteční množství enterokoků. Enterokoky byly izolovány na Slanetz-Bartley a identifikovány metodou polymerázové řetězové reakce (PCR).

Stanovili jsme 97 % vzorků pozitivních na rod *Enterococcus* a 3 % negativních vzorků na enterokoky, které pocházely z počáteční fáze – výrobníku. Během zpracování došlo ke kontaminaci a byl zjišťován výskyt druhů *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus mundii* a *Enterococcus hirae*. Nejčastěji zastoupeným druhem byl *E. faecalis* (40 %), poté *E. casseliflavus* (13 %), *E. malodoratus* (6 %), *E. gallinarum* (1 %) a *E. faecium* (1 %). 37 % vzorků bylo identifikováno jako *Enterococcus* spp.

Klíčová slova: *Enterococcus* spp., syrovátka

ANALÝZA MIKROORGANISMŮ POMOCÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE TYPU TIME OF FLIGHT

Michael Kobza
VOŠ zdravotní Brno, Lipová
Ústav analytické chemie Akademie věd České republiky
michaelkobza@gmail.com

Dnešní doba vyžaduje rychlé a spolehlivé nástroje pro identifikaci mikroorganismů, protože tradiční metody zaberou spousty času a čteně dávají ne příliš přesné výsledky, které jsou mnohdy závislé na počtu jednotek parazita v dané hmotnostní jednotce.

Při optimálním zpracování vzorku k analýze, dokáže MALDI-TOF MS¹ rychlou a specifickou identifikaci na základě specifických fingerprintů (identifikujících „otisků“). Nutnost zrychlit analýzu mikroorganismů v medicínské i komplexní laboratorní praxi má pozitivní přínos pro rychlejší a více specifickou léčbu nebo rychlý zásah výkonných orgánů k odstranění kontaminovaného produktu z běžně dostupného obchodního trhu. Díky MALDI-TOF MS můžeme spolehlivě ukazovat a vyhodnocovat naměřená hmotnostní spektra mikroorganismů, ale stále se vyskytuje problém s rozlišením spekter taxonomicky příbuzných organismů.

V naší práci jsme se zaměřili především na možnosti identifikace kvasinek rodu *Candida* a bakterií rodu *Staphylococcus*. Byly testované různé způsoby přípravy vzorků s ohledem na jednoznačnou identifikaci analyzovaných mikroorganismů. Vzorky byly sbírkové kmeny poskytnuté Mikrobiologickým ústavem Lékařské fakulty Masarykovy univerzity při Fakultní nemocnici U sv. Anny v Brně.

Při studiu výsledných spekter v závislosti podmínek přípravy a úschovy vzorku pro zmíněnou analýzu, za uživatelského nastavení přístroje, jsme dokázali zjistit nové možnosti k analýze daných mikroorganismů a najít adresné fingerprinty pro daný mikroorganismus.

Klíčová slova: MRSA, MSSA, mikroorganismus, CIEF, IEF, MALDI

¹ *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass spectrometry. Jedná se o fyzikální analytickou metodu, při které se analyzovaný vzorek spojí s matricí, nanese k analýze na kovovou desku, která se vloží do přístroje k analýze. Laserem se vzorek převede do iontové podoby a na základě doby letu a velikosti částic m/Z vidíme naměřené hodnoty. Ve výsledku vidíme spektra pro peptidy a bílkoviny, ale tuto metodu lze použít i k analýze nízkomolekulárních látek nebo nukleových kyselin.*

PTAKOTRUDKY VIETNAMU

Šárka Košková

Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat
sarka.koskova@tiscali.cz

V letech 2008, 2010, 2011 a 2012 byly uskutečněny expedice do severního a jižního Vietnamu za účelem odchyty ptáků a sběru jejich ektoparazitů. Primárně byl výzkum zaměřen na sběr všenek, nicméně ptakotrudky jsou dalšími neméně významnými ektoparazity ptáků, které jsme získali.

Cílem této práce je charakterizovat přehled druhů ptakotrudek, které se vyskytují v těchto oblastech, a vytvořit seznam druhů ptáků, na nichž parazitují.

Odchyt ptáků proběhl na šesti lokalitách. V severním Vietnamu byl výzkum prováděn v národních parcích Ba Be (2008) a Cuc Phuong (2010). Další pokračování probíhalo opět v národních parcích, tentokrát jižního Vietnamu, Cat Tien, Binh Chau-Phuoc Buu (2011) a Lang Biang, Cat Loc (2012). Celkem se podařilo odchytit a vyšetřit 639 ptáků 4 řádů, z nichž 56 jedinců (9 %) 2 řádů bylo napadeno ptakotrudkami rodů *Ornithoica* a *Ornithomya*. Průměrná intenzita napadení byla 1,6.

Klíčová slova: ektoparazit, ptakotrudka, *Ornithoica*, *Ornithomya*, Vietnam, Coraciiformes, Passeriformes

STANOVENÍ ÚČINKU KOVŮ NA RŮSTOVÉ PARAMETRY VYBRANÝCH DRUHŮ ROSTLIN

Dana Kozáčková
Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel
Dana.Kozackova@seznam.cz

Půda patří společně s ovzduším a vodou mezi základní složky životního prostředí. Z hlediska produkce nezávadných krmiv a potravin je péče o zachování úrodné a hygienicky nezávadné půdy nezbytná. Ke snižování kvality půdy dochází zejména antropogenní činností, např. používáním chemikálií, čistírenských kalů, imisemi průmyslových a energetických podniků atd. V této souvislosti jsou v popředí zájmu výzkumu i praxe kovy, zejména z hlediska možnosti jejich vstupu do potravního řetězce. Cílem mé práce bylo vyhodnotit účinky tří kovů (kadmium $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ a CdCl_2 , zinek ZnCl_2 a měď $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a CuCl_2) na růstové parametry rostlin. Hodnocenými růstovými parametry byla klíčivost semen a délka kořene. Pro stanovení inhibičních/stimulačních účinků kovů na růst kořene jsem si vybrala hořčici bílou (*Sinapis alba*) a salát (*Lactuca sativa*).

Metodicky jsem postupovala podle Metodického pokynu odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů (Věstník MŽP č. 4/2007). Semena byla vystavena na dobu 72 hodin účinku různých koncentrací kovů (10 mg/l, 25 mg/l, 50 mg/l, 75 mg/l, 100 mg/l). Současně byla semena nasazena na dobu 72 hodin do média bez přítomnosti kovu – kontrola. Po 72 hodinách působení byl v jednotlivých koncentracích kovů i v kontrole stanoven počet vyklíčených semen a změřeny délky kořenů. Z naměřených hodnot byla pro každou koncentraci a kontrolu vypočtena průměrná délka kořene a stanovena koncentrace, která způsobila 50% inhibici růstu kořene ve srovnání s kontrolou (72hIC50).

Výsledky provedených testů ukázaly, že z obou testovaných rostlin citlivěji reaguje na přítomnost kovů salát. U všech sledovaných kovů byla pro salát stanovena 72hIC50. Na základě stanovení inhibičních účinků bylo nejvíce toxické kadmium (72hIC50 = 24,1 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$), dále měď (72hIC50 = 42,2 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) a nejméně se toxický efekt projevil u zinku (72hIC50 = 54,4 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$). U hořčice byla stanovena 72hIC50 pouze u mědi (51,2 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Kadmium v nejvyšší koncentraci 100 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (což je koncentrace limitní pro stanovení toxicity látek) vykazovalo ve srovnání s kontrolou inhibiční účinek jen 31% a zinek působil v nejvyšší koncentraci (100 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) ve srovnání s kontrolou dokonce stimulačně (- 4,6 %).

Klíčová slova: kovy, IC50, toxicita, *Lactuca sativa*, *Sinapis alba*

HPLC STANOVENÍ RIBOFLAVINU V RŮZNÝCH DRUZÍCH MLÉKA

Bc. Lucie Tomášková
Ústav hygieny a technologie mléka
Lucie.Tomaskowa@seznam.cz

Pojem vitaminy je obecný název pro organické sloučeniny, které jsou sice v malém množství, ale za to nezbytně nutné pro udržení normálního chodu metabolismu. Nelze však najít univerzální potravinu, jež by byla sama o sobě dostatečným zdrojem všech vitaminů. Mléko je velmi významnou součástí naší výživy, je první a po určité období dokonce výhradní potravou pro mláďata savců tedy i člověka. I v dospělosti je jeho zastoupení v potravě značné. Důvodem je jeho příznivé složení jak z hlediska obsahu makronutrientů tak i mikronutrientů. Přestože v mléce je obsah hydrofilních vitaminů, a tedy i riboflavinu poměrně malý, jsou právě vejce a mléko, vzhledem k jejich spotřebě, hlavními dodavateli tohoto vitamínu v běžné stravě.

Cílem mé práce bylo vypracovat metodu HPLC vhodnou pro stanovení riboflavinu v mléce, izolovat tento vitamin z matrice mléka, provést validaci této metody a pomocí ní zjistit obsahy riboflavinu v jednotlivých dostupných a běžně konzumovaných druzích mléka. Naměřené výsledky pak porovnat.

Riboflavin je žlutozelená fluoreskující látka a vyskytuje se i ve formě volné, převážně však existuje ve formě flavinmononukleotidu, flavinadenindinukleotidu a kovalentně vázaného riboflavinu. V mléce a vejcích ovšem převládá riboflavin volný. Byl tedy stanoven riboflavin volný pomocí iontové párové vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi s fluorescenční detekcí.

Byly stanoveny základní validační parametry této metody: linearita, mez detekce, opakovatelnost, mez stanovitelnosti, výtěžnost, robustnost, správnost a citlivost. Parametry systému byly zjišťovány na modelových směsích roztoků standardů, parametry postupu na reálných vzorcích s přidavkem standardu o známé koncentraci nebo bez něj. Získané hodnoty validačních parametrů vypovídaly o tom, že tato metoda je vhodná pro stanovení riboflavinu v různých druzích mléka a dostatečně citlivá pro koncentrace 0,002 – 100 mg.l⁻¹.

Vlastnímu HPLC stanovení předcházela izolace riboflavinu z analyzované matrice kyselou a enzymatickou extrakcí. Mléko je z hlediska stanovení riboflavinu poměrně jednoduchá matrice, nebylo třeba dalších před-separačních kroků při přípravě vzorku. Vypracovanou metodou byly analyzovány vzorky kravského syrového i tepelně opracovaného mléka, syrového kozího a ovčího mléka a také vzorky kravského a kozího kolostra.

Denní potřeba riboflavinu pro člověka se udává v rozmezí 1,2 až 1,8 mg. V kravském mléce bylo detekováno průměrně 1,3 mg riboflavinu na litr, v ovčím mléce 0,7 mg na litr, v kozím 0,6 mg na litr. V kolostrech se hodnoty riboflavinu pohybovaly okolo 3,5 mg na litr u kravského a 6 mg na litr u kozího. Získané hodnoty byly až na ovčí mléko shodné s dostupnými literárními zdroji. U ovčího mléka vyšly hodnoty výrazně nižší, než bylo očekáváno. Pravděpodobně díky chemickým a senzoričným změnám vzorků. Lze tedy konstatovat, že tato metoda je vhodná pro rutinní stanovení riboflavinu v matricích živočišného původu.

Klíčová slova: riboflavin, mikronutrient, vitamin, chromatografie, metoda, mléko, kolostrum

EKOTOXIKOLOGICKÉ HODNOCENÍ SEDIMENTŮ Z VODNÍ NÁDRŽE S BIOCENTREM VÍCEMILICE NA ZÁKLADĚ KONTAKTNÍCH TESTŮ

Pavína Mahdalová
Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel
h12297@vfu.cz

Vodní nádrže s biocentrem Vícemilice se nachází v Jihomoravském kraji, okrese Vyškov. Hlavním záměrem výstavby soustavy dvou nádrží byla revitalizace krajiny s primární funkcí krajinnotvornou a retenční. Nádrže jsou situovány v zemědělsky využívané oblasti nivy řeky Litavy. V souvislosti se zemědělskou činností v tomto území existuje nebezpečí kontaminace vodního ekosystému. Zejména pesticidy a těžké kovy mohou být vzhledem ke schopnosti akumulace v sedimentech nebezpečím pro vodní biocenózu.

Cílem práce bylo ekotoxikologické hodnocení sedimentů z této lokality, vzájemné porovnání několika odběrových míst, stejně jako porovnání stavu sedimentů v rámci různých ročních období.

K ekotoxikologickému hodnocení byly použity vzorky sedimentů odebrané ze tří odběrových míst (přítok, odtok, břeh horní nádrže) v období jaro, léto a podzim. Ekotoxicita sedimentů byla posuzována na základě Zkoušky inhibice reprodukce chvostoskoků *Folsomia candida*, která vychází z normy ČSN ISO 11267. Princip zkoušky je vystavení deseti jedinců *Folsomia candida* směsi zkoušeného vzorku s umělou půdou. Po 28 dnech se hodnotí vliv zkoušené směsi na reprodukci chvostoskoků.

Výsledky zkoušek ukázaly na rozdílnou kvalitu sedimentů nejen na jednotlivých odběrových místech, ale i v průběhu sledovaných období roku. Sedimenty z odběrového místa na odtoku nádrže (stanoviště 2) obsahovaly látky, které vyvolaly nejvyšší inhibici reprodukce chvostoskoků, přičemž vyšší inhibiční účinky se projevily na podzim, kdy hodnota EC50 činila 59 g.kg⁻¹ oproti jarnímu období, kdy vypočtená hodnota EC50 byla 279 g.kg⁻¹. Stejný závěr potvrdily i výsledky v neřaděném vzorku sedimentu (koncentrace 100%), kdy inhibice reprodukce na podzim dosáhla ve srovnání s kontrolním vzorkem hodnoty 88 % a na jaře 84 %. Z ekotoxikologického hlediska horší kvalita sedimentů v jarním a podzimním období se projevila i na zbývajících odběrových místech – v jarním období na přítoku (stanoviště 1) činila hodnota EC50 731 g.kg⁻¹ a stanovišti 3 (břeh horní nádrže 3) byla EC50 = 470 g.kg⁻¹. Přítomnost látek inhibujících reprodukci chvostoskoků potvrdily i zjištěné hodnoty inhibice v nejvyšší koncentraci sedimentu (100 %), kdy inhibice ve srovnání s kontrolou byla vyšší než 50 %, což je limitní hodnota pro potvrzení nebo vyloučení nebezpečné vlastnosti ekotoxicita. Z výsledků zkoušek lze usuzovat na lepší kvalitu sedimentů (nižší obsah látek vyvolávající inhibici reprodukce chvostoskoků) odebraných v letním období. Žádný ze vzorků sedimentů odebraných ze tří odběrových míst v letním období nevykázal inhibici reprodukce v míře, která by umožnila stanovit hodnotu EC50 a ani nejvyšší koncentrace sedimentu (100 %) nezpůsobila snížení reprodukce vyšší než 50 % v porovnání s kontrolou.

Klíčová slova: *Folsomia candida*, biocentrum, sedimenty, ekotoxikologie

POSOUZENÍ ÚČINNOSTI ČIŠTĚNÍ ODPADNÍCH VOD POMOCÍ BIOTESTŮ

Diana Mandincová

Ústav ekologie a chorob zvěře, ryb a včel

MandincovaD@seznam.cz

Voda, zejména povrchová a podzemní je surovinový zdroj nezbytný pro život. S růstem lidské populace a uspokojováním jejich potřeb se nejen zvyšuje spotřeba vody, ale je i produkováno stále větší množství odpadních vod. Tyto vody mají zpravidla změněnou jakost, a proto mohou výrazně ohrozit kvalitu povrchových a podzemních vod. Potřeba efektivní likvidace odpadních vod bez negativních dopadů na životní prostředí předpokládá jejich účinné čištění v čistírnách odpadních vod. Odpadní vody obsahují celou řadu kontaminantů, které stávající čistírenské technologie nemusí beze zbytku eliminovat, a do vodních recipientů se tak může vypouštět přečištěná voda, obsahující látky, které negativně ovlivňují vodní biocenózu. Cílem mé práce bylo posoudit účinek čištění odpadních vod na základě biotestů – stanovení účinku odpadní vody pro sladkovodní rostlinu – okřehek menší *Lemna minor* a stanovení toxicity odpadní vody pro bakterie *Vibrio fischeri*.

Biotesty byly prováděny dle ČSN EN ISO 20079 (75 7745) Jakost vod – Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) a ČSN EN ISO 11348-2 (75 7734) Jakost vod – Stanovení inhibičního účinku vzorků vod na světelnou emisi *Vibrio fischeri*. Účinnost čištění odpadních vod jsem sledovala na dvou čistírnách. Jedna je v místě bydliště, tím je obec Cizkrajov a druhá ČOV je ve Slavonicích. Čistírny jsem si vybrala proto, že obě jsou vhodným objektem zkoumání vzhledem k odtoku přečištěné vody do přírodního recipientu. Vzorky odpadní vody na přítoku do ČOV a na odtoku z ČOV jsem hodnotila v průběhu roku, a to na jaře (březen) a na podzim (říjen). Rostlinky *L. minor* jsem nechala růst po dobu 7 dní ve dvou neřaděných vzorcích odpadních vod. Jeden ze vzorků jsem obohatila definovaným množstvím živin, druhý vzorek jsem nechala bez obohacení. Toxicitu odpadních vod na vegetativní růst okřehku jsem posuzovala na základě konečné biomasy vyjádřené počtem lístků a na základě rychlosti růstu (μ). Vzorky odpadní vody pro bakteriální bioluminiscenční test byly obohaceny NaCl na výslednou koncentraci 2% NaCl. Množství emitovaného světla jsem měřila luminometrem LUMIStox 300 před a po přidání vzorku odpadní vody. Ze změny intenzity světla byl vypočítán toxický účinek testových odpadních vod.

Výsledky obou testů ukazují na vysokou účinnost čištění odpadních vod v obou ČOV. Voda na přítoku do ČOV obsahovala toxické látky v množství, které vyvolaly 100% inhibici růstu *L. minor*. V případě bakteriálního testu obsahovaly vzorky toxické látky, které způsobily 20% (EC20) a 50% (EC50) inhibici emise světla ve srovnání s kontrolou. Přečištěná voda na základě obou hodnocených parametrů v nárůstu biomasy *L. minor* (vyjádřené počtem lístků i rychlosti růstu) neobsahovala toxické látky v množství, které by způsobilo inhibici růstu ≥ 30 % ve srovnání s kontrolou. V bakteriálním testu přečištěná voda neobsahovala toxické látky, které by vyvolaly pokles emise světla a umožnily tak výpočet EC20 a EC50. Výsledky obou testů lze považovat za platné, protože byly splněny validační podmínky pro obě metody.

Klíčová slova: odpadní voda, ČOV, *Lemna minor*, toxicita, *Vibrio fischeri*

VÝBĚR FLUOROCHROMU PRO PRŮKAZ LEPKU V MODELOVÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH

Bc. Eliška Zichová

Ústav hygieny a technologie vegetabilních potravin

eliska.zichova@seznam.cz

Pšenice je potravinový alergen, který je ve většině zemí nejlevnější formou bílkoviny, často používanou při výrobě masných výrobků. Jako alergenní látka musí být pšenice (lepek), dle naší platné legislativy (Vyhláška 101/2007 Sb., v platném znění), na obalu výrobku řádně označena. Lepek zvyšuje úroveň bílkovin ve výrobku, váže vodu a tuky a má výborné texturní vlastnosti. Prospěšný je též obsah mastných kyselin - olejové a linolové, obsah vitaminů a fosforu. Použití je obvyklé u měkkých masných výrobků, u některých dalších výrobků je použití omezeno legislativou (Vyhláška 264/2003 Sb. a Vyhláška 169/2009 Sb., v platném znění).

Cílem teoretické části práce bylo shrnout informace týkající se pšenice, potravinových alergií a intolerance na lepek, využití pšenice v masných výrobcích, metod detekce pšenice a dále shrnutí informací o fluorescenční mikroskopii a použité imunofluorescenční metodě. Cílem experimentální části bylo ověření hypotézy: "Zda je vůbec možné kvalitativně detekovat pšeničnou bílkovinu v masných výrobcích pomocí fluorescenční mikroskopie?"

Pšeničná bílkovina byla detekována pomocí imunofluorescenční metody v modelových masných výrobcích, ale také ve vzorcích původem z tržní sítě. Modelové masné výrobky byly připraveny v 5 koncentracích vzestupně. Důvodem zakoupení výrobků z tržní sítě bylo další potvrzení funkčnosti metody. Výrobky byly pečlivě vybrány tak, aby obsahovaly pšenicí alespoň ve stopách. Připravené vzorky byly fixovány pomocí acetonu, dále byly aplikovány dvě protilátky, poté byly řezy obarveny pomocí fluorochromu Texas Red (s excitací při 510 nm a emisí při 615 nm) a zamontovány speciálním montovacím médiem. Po zpracování byly řezy vyšetřeny pod fluorescenčním mikroskopem (použita kostka I3). Lepek svítil zeleně oproti černému pozadí.

Kvalitativní detekce lepku se zdařila jak v modelových masných výrobcích, tak ve výrobcích zakoupených v tržní síti. U modelových masných výrobků byla fluorescence nejsilnější u nejvyšší koncentrace pšeničné bílkoviny přidané do vzorku. U výrobků zakoupených z tržní sítě byla detekce složitější, protože ne u všech se podařilo správné zpracování. Ne u všech zpracovaných vzorků se podařila přesná detekce, u většiny však ano. Proto můžeme říct, že nepřímá dvojitá metoda imunodetekčních technik je spolehlivá pro kvalitativní detekci pšeničné bílkoviny, jak v modelových masných výrobcích, tak pro detekci v masných výrobcích z tržní sítě.

Klíčová slova: lepek, potravinové alergie, masné výrobky, fluorescenční mikroskopie, imunofluorescenční metody.

CHARAKTERISTIKA VANKOMYCIN REZISTENTNÍCH ENTEROKOKŮ Z ČISTÍRNY ODPADNÍCH VOD

Jana Žáková

Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat

Janka.Zakova@seznam.cz

Enterokoky jsou bakterie, které tvoří přirozenou součást střevní mikroflóry lidí i zvířat. Jsou považovány za podmíněné patogeny, neboť zapříčiňují mnohá závažná onemocnění a infekce. Řadíme je mezi kmeny, které velmi ochotně přijímají i předávají rezistenci na antibiotika. Jednou z nejvýznamnějších rezistencí je rezistence ke glykopeptidům, zejména k vankomycinu. Čistírny odpadních vod patří mezi ideální prostředí pro vznik a šíření antibiotické rezistence, a to díky vhodnému pH, teplotě a přítomnosti dostatku živin. Vysoká hustota bakterií ulehčuje možnost vzájemných interakcí a horizontální šíření genů antibiotické rezistence. Rezistentní kmeny jsou následně selektované přítomnými antibiotiky a jejich metabolity.

Cílem práce bylo izolovat vankomycin rezistentní enterokoky (VRE) ze vzorků z Čistírny odpadních vod Modřice (ČOV), určit citlivost k vybraným antimikrobním látkám, detekovat geny antibiotické rezistence a stanovit epidemiologickou příbuznost získaných izolátů pomocí pulzní gelové elektroforézy (PFGE) a „multilocus sequence typing“ (MLST).

Od března do prosince 2012 bylo tampónem ponořeným do odtoku ČOV odebraných 37 vzorků. Vzorky byly kultivované na Slanetz-Bartley agaru s vankomycinem (32 mg/l) a inkubované při 37 °C 48 hodin. Suspektní kolonie byly druhově identifikovány pomocí MALDI TOF MS a sekvenací *sodA* genu.

VRE byly nalezeny v 32 (86 %) odběrech, z nichž bylo získáno 49 izolátů patřících do druhu *E. faecium* (44), *E. casseliflavus* (2), *E. gallinarum* (2) a *E. raffinosus* (1). U těchto izolátů byla testovaná MIC k vankomycinu a citlivost k vybraným 14 antimikrobním látkám pomocí diskové difúzní metody. U izolátů, které se jeví jako fenotypově rezistentní, byla testovaná přítomnost genů rezistence metodou PCR. Rezistence k vankomycinu byla u všech izolátů kódovaná genem *vanA*, rezistence k erythromycinu byla kódovaná genem *ermB*, ke gentamicinu geny *aac(6′)-Ie-aph(2′′)-Ia* a *aph(3′)-IIIa*, k tetracyklinu geny *tet(L)* a *tet(M)*. Geny virulence *hyl* a/nebo *esp* byly prokázány u 72 % izolátů. Na základě PFGE analýzy byl sestaven dendrogram, který prokázal totožnost a významnou příbuznost některých opakovaně se vyskytujících izolátů. MLST analýza prokázala sekvenční typy (ST) z klinicky významných klonálních komplexů **17** – ST17 (10 izolátů), ST555 (2); **18** – ST18 (9), ST262 (1), ST273 (3), ST275 (1); a **78** – ST78 (5), ST549 (2). Zbývající izoláty patřily do ST323 (3) a jeho nové „single locus varianty“ ST884 (7).

Získané výsledky prokazují, že klinicky významné enterokoky s *vanA* genem se ve výpusti z ČOV vyskytují téměř permanentně, což indikuje nedostatečnost čisticího procesu v odstraňování VRE a může znamenat riziko environmentální kontaminace.

Klíčová slova: antibiotická rezistence, glykopeptidy, ČOV, VRE

INFORMACE O ÚČASTNÍCÍCH KONFERENCE

AUTOR PŘÍSPĚVKU	E-MAIL	VEDOUcí PRÁCE
Bártová Kateřina, Bc.	katka_bartova@mybox.cz	MVDr. Lenka Necidová, Ph.D.
Chlumský Ondřej	ondra.chlumsky@centrum.cz	Mgr. Dušková Marta, Ph.D.
Jelínková Eva, Bc.	H13343@vfucz	doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.
Junek Filip, Bc.	junekfilip.jf@gmail.com	prof. MVDr. Stanislav Navrátil, CSc.
Kladnická Iva, Bc.	ivakladnicka@seznam.cz	Mgr. Marta Dušková, Ph.D.
Kobza Michael	michaelkobza@gmail.com	Ing. Jiří Šalplachta, Ph.D.
Košková Šárka	sarka.koskova@tiscali.cz	doc. RNDr. Oldřich Sychra, Ph.D.
Kozáčková Dana	Dana.Kozackova@seznam.cz	prof. RNDr. Miroslava Beklová, CSc.
Tomášková Lucie, Bc.	Lucie.Tomaskowa@seznam.cz	RNDr. Ivana Borkovcová, Ph.D.
Mahdalová Pavlína	H12297@vfucz	Mgr. Barbora Havelková
Mandincová Diana	Mandincovad@seznam.cz	prof. RNDr. Miroslava Beklová CSc.
Zichová Eliška, Bc.	eliska.zichova@seznam.cz	Mgr. Michaela Petrášová
Žáková Jana	janka.zakova@seznam.cz	Mgr. Veronika Oravcová

REJSTŘÍK AUTORŮ

B

Bártová Kateřina, Bc. **5**

CH

Chlumský Ondřej **6**

J

Jelínková Eva, Bc. **7**

Junek Filip, Bc. **8**

K

Kladnická Iva, Bc. **9**

Kobza Michael **10**

Košková Šárka **11**

Kozáčková Dana **12**

T

Tomášková Lucie, Bc. **13**

M

Mahdalová Pavlína **14**

Mandincová Diana **15**

Z

Zichová Eliška, Bc. **16**

Ž

Žáková Jana **17**