



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Vliv ztekucování a vysoušení medů na jejich  
antimikrobiální aktivitu u bakterie *Staphylococcus aureus*

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

**Autor: Eva Fabíková**

**Vedoucí práce: Ing. Marian Hýbl**

České Budějovice 2023

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem *Vliv ztekucování a vysoušení medů na jejich antimikrobiální aktivitu u bakterie Staphylococcus aureus* jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2. 5. 2023

.....

Podpis

### **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu své práce, Ing. Mariánu Hýblovi, za cenné rady, věnovaný čas při konzultaci a práci v laboratoři. Také děkuji vedení Zdravotně sociální fakulty Jihočeské univerzity za umožněný přístup do laboratoře.

# **Vliv ztekucování a vysoušení medů na jejich antimikrobiální aktivitu u bakterie *Staphylococcus aureus***

## **Abstrakt**

Bakalářská práce se zabývá vlivem vysoušení a ztekucování medů na jejich antimikrobiální aktivitu u bakterie *Staphylococcus aureus*, tato bakterie byla zvolena jakožto modelový organismus G+ bakterií. Teoretická část se zabývá vznikem medu a jeho získávání z úlu. Také se zde popisují fyzikální vlastnosti, chemické složení a antimikrobiální aktivita medů. Dále se teoretická část zaměřuje na bakterii *S. aureus*, její morfologii a především diagnostiku. Praktická část zahrnuje porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních medů a jejich tepelně upravených alternativ. Dále se také stanovovala vlhkost a konduktometrie medu. Práce prokázala viditelnou sníženou antimikrobiální aktivitu u zahříváných medů, a to především u medů zahříváných v mikrovlnné troubě. Nejlepší způsob ztekucování medu, aniž by došlo ke ztrátě antimikrobiální aktivity, je zahřívání ve vodní lázni při 50 °C.

## **Klíčová slova**

Med; MIC; MBC; vlhkost medu; konduktometrie medu, *Staphylococcus aureus*

# **Impact of liquefaction and moisture reduction of honeys on their antimicrobial activity against bacterie *Staphylococcus aureus***

## **Abstract**

This work focuses on the effect of drying and liquefaction of honeys on their antimicrobial activity in *Staphylococcus aureus*, which was chosen as a model organism for G+ bacteria. The theoretical part focuses on the origin of honey and its extraction from the hive. It also describes the physical properties, chemical composition and antimicrobial activity of honeys. Next, the theoretical part focuses on the bacterium *S. aureus*, its morphology and especially its diagnosis. The practical part includes a comparison of the tested antimicrobial activity of native honeys and their heat-treated alternatives. Also, the moisture content and conductometry of the honey were determined. The work showed visibly reduced antimicrobial activity in heated honeys, especially in microwave heated honeys. The best way to liquefy honey without losing antimicrobial activity is heating in a water bath at 50 °C.

## **Key words**

Honey; MIC; MBC; honey moisture; honey conductometry, *Staphylococcus aureus*

# Obsah

Úvod.....	8
1 Literární přehled .....	9
1.1 Med .....	9
1.1.1 Typy a druhy medu.....	9
1.1.2 Vznik.....	9
1.1.3 Získávání medu.....	10
1.1.4 Skladování .....	10
1.1.5 Ztekuování .....	11
1.1.6 Plnění do spotřebitelského balení.....	11
1.1.7 Fyzikální vlastnosti medu .....	11
1.1.8 Chemické složení medu.....	12
1.1.8.1 Obsah vody.....	12
1.1.8.2 Sacharidy .....	12
1.1.8.3 Organické kyseliny.....	13
1.1.8.4 Bílkoviny .....	13
1.1.8.5 Polyfenolové sloučeniny .....	13
1.1.8.6 Vitamíny a minerální látky .....	13
1.1.9 Antimikrobiální vlastnosti medu .....	14
1.2 Staphylococcus aureus.....	15
1.2.1 Morfologie.....	15
1.2.2 Antigenní stavba.....	15
1.2.3 Patogenita .....	16
1.2.4 Faktory virulence.....	16
1.2.4.1 Povrchové faktory .....	16
1.2.4.2 Extracelulární faktory .....	17
1.2.5 Diagnostika .....	17
1.2.5.1 Mikroskopie.....	17
1.2.5.2 Kultivace .....	17
1.2.5.3 Fenotypové metody identifikace .....	18
2 Cíle práce.....	19
3 Metodika.....	20
3.1 Porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních a vysušených medů.....	20
3.1.1 Vybavení a pomůcky .....	20
3.1.2 Bakteriální inokulum .....	21

3.1.3	Příprava vzorků .....	21
3.1.4	Minimální inhibiční koncentrace (MIC) .....	21
3.1.5	Minimální baktericidní koncentrace (MBC) .....	22
3.2	Porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních medů a medů zahřátých ve vodní lázni na 50 °C .....	23
3.2.1	Vybavení a pomůcky .....	23
3.2.2	Příprava vzorků .....	24
3.3	Porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních medů a medů zahřátých v mikrovlnné troubě.....	24
3.3.1	Vybavení a pomůcky .....	24
3.3.2	Příprava medů .....	25
3.4	Stanovení vlhkosti medů.....	25
3.4.1	Vybavení a pomůcky .....	25
3.4.2	Princip .....	26
3.4.3	Postup .....	26
3.5	Stanovení měrné vodivosti (konduktometrie).....	28
3.5.1	Vybavení a pomůcky .....	28
3.5.2	Princip .....	28
3.5.3	Postup .....	28
4	Výsledky a vyhodnocení .....	30
4.1	Antimikrobiální aktivita .....	30
4.2	Vlhkost medu .....	31
4.3	Měrná elektrická vodivost (konduktivita) .....	32
4.4	Vyhodnocení .....	33
5	Diskuze .....	35
6	Závěr.....	38
	Seznam použitých zdrojů.....	39
	Seznam obrázků.....	45
	Seznam použitých tabulek .....	46
	Seznam použitých zkratk .....	47

## Úvod

Včelí med je nejznámějším a zároveň nejdůležitějším včelím produktem. Je to přírodní potravina vytvořená společenstvím včel ze sesbíraných rostlinných šťáv, k nimž přidávají výměšky svých vnitřních žláz. Med je již od středověku znám také díky svým léčivým vlastnostem. Med však není jednotvárným produktem, a to díky působení mnoha faktorů a díky odlišnosti prvotní suroviny (nektar, medovice). Vzhledem ke svému složení je med mikrobiálně velice stálý, přesto se v něm mohou vyskytovat různé druhy mikroorganismů. Kontaminace medu může nastat během jeho vzniku v úlu, při jeho zpracování včelami nebo také při jeho stáčení. Za normálních podmínek nemohou mikroorganismy v medu růst. Každý med má jedinečné složení a na stejné mikroorganismy může reagovat jiným způsobem. Manipulace s medy může ovlivnit antimikrobiální aktivitu medů.

Potenciálně negativní vliv manipulace bude ověřen pomocí testování inhibice na patogenní bakterii *Staphylococcus aureus*, která je modelovým organismem pro G+ bakterie.

*S. aureus* je jedna z nejrozšířenějších G+ bakterií po celém světě. V současné době je tento mikroorganismus jednou z hlavních příčin infekcí spojených s nemocniční péčí (nozokomiální infekce). Tyto infekce jsou velmi nákladné jak na čas spojený s léčbou, tak i na finanční prostředky k tomu použité, jelikož se čím dál častěji vyskytují kmeny prokazující antibiotickou rezistenci. K tomu přispívá také to, že se tento druh vyskytuje na kůži a sliznicích člověka.



# 1 Literární přehled

## 1.1 Med

Podle vyhlášky č. 76/2003 Sb. §7 je med definován jako *potravina přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (Apis mellifera), které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech.* (Vyhláška č. 76/2003 Sb. §7)

### 1.1.1 Typy a druhy medu

Vzhledem k původu se med dělí na tři typy: květový, medovicový (lesní) a smíšený. Květové medy se dle rostlinného původu dělí na medy: ze sadů, akátové, řepkové, lipové, pohankové, vřesové a vícekvěté (med z více druhů květů). Medovicové (lesní) medy se rozdělují na dva druhy, a to medy z jehličnatých a z listnatých stromů. Smíšené medy jsou medy, se zastoupením medů květových i medovicových, a to v různém poměru. (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

### 1.1.2 Vznik

Základní surovinou pro výrobu květového medu je nektar, který kvetoucí rostliny produkují jako atraktant pro opylující hmyz výměnou za opylení (Cramp, 2014). Obsah cukrů v nektaru může dosahovat až 50 %. Jedná se o směs sacharózy, glukózy a fruktózy (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022). Když včela nasaje nektar, tak ho uloží do medného váčku (tuhý kožovitý útvar před žaludkem včely). V úlu včely obsah váčku vyvrhnou přes sosák ven. Při ukládání do buňky je med polozralý (obsahuje asi 50 % vody). V dalších dnech se med v buňkách zahušťuje, dokud nedosáhne obsahu vody okolo 18 % (Cramp, 2014). Po ukončení tohoto procesu včelí dělnice uzavřou buňky plástve voskovým víčkem (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022). Květové medy vynikají lehkou stravitelností a díky zastoupení vyššího obsahu zrněk pylu mohou omezovat vznik pylových alergií. Vznikají převážně v jarních snůžkách (Švamberk, 2000).

Medovice je rostlinná šťáva vylučována polokřídlym hmyzem, hlavně tedy mšicemi a červci. Obsah cukrů v medovici může dosahovat až 90 % (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022). Z medovice vzniká hustý, tmavý med (Cramp, 2014). Medovicové medy

vynikají vyšším obsahem minerálních látek a antimikrobiálních látek. Vznikají převážně v letních snůžkách (Švamberk, 2000).

Med včelám slouží jako zdroj energie. Včely jej konzumují v úlu a také při sbírání nektaru, medovice, květového pylu či propolisu mimo úl. Slouží také k výrobě mateří kašičky (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

### ***1.1.3 Získávání medu***

Med se získává z pláství, jež včely už zčásti uzavřely. Víčka se odstraňují odvíčkovací vidličkou nebo studeným či vyhřívaným včelařským nožem. Strojní odvíčkovací zařízení se používají ve středních a velkých provozech. Ručním odvíčkováním se vyprodukuje menší množství směsi z víček a medu než při strojním odvíčkování. Při ručním odvíčkování se zpravidla nechá med z víček vykat. (Jiruš et al., 2022)

Plástve se odstředí v medometu a med se přelévá do nádob přes síta, která zachytí větší nečistoty. Drobné kousky vosku a vzduchové bubliny se z medu odstraňují při vyčeření. Med se přesune do stáčecích nádob, kde při pokojové teplotě (okolo 20 °C) zůstane přibližně tři dny. Díky tomu na dno nádoby klesnou nejtěžší nečistoty a ty lehčí i se vzduchovými bublinami vyplavou na povrch medu. Tento proces lze urychlit ohřátím stáčení nádoby. Po odebrání vrchní vrstvy se med rozlije do jednotlivých sklenic nebo soudků. (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

### ***1.1.4 Skladování***

Na kvalitu medu má vliv prostředí skladování (nádoby, teplota, doba). Med by měl být skladovaný při nižších teplotách (pro dlouhodobé skladování se doporučuje 10 °C) (Jiruš et al., 2022). Při skladování může med krystalizovat. Tento proces nastupuje rychleji u medů s větším obsahem glukózy. Rychlost tohoto procesu závisí také na obsahu vody a teplotě skladování. Rychleji krystalizují medy, které obsahují méně než 18 % vody a také medy skladované při teplotě 3-7 °C nebo 13-17 °C. Při teplotě nad 25 °C med pomalu kapalní. V medech, které obsahují víc než 20 % vody a jsou skladované v teplotě vyšší než 11 °C může dojít k růstu mikroorganismů a fermentaci produktu. (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

V ideálním případě by se měl med skladovat na chladném a tmavém místě. Lze jej však i skladovat při teplotách pod bodem mrazu, aby se zachovala jeho tekutá forma. Takto uchovaný med nezmrzne, jelikož ve zralém medu je nízká vlhkost (Conrad, 2015).

Za vhodných podmínek, tedy při teplotě kolem 10 °C a vlhkosti vzduchu kolem 60 % může být med uskladněný po dobu 3 let bez ztráty svým vlastností. (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

### ***1.1.5 Ztekuování***

Většina druhů medů časem krystalizuje, pokud je však potřeba medy ztekutit, musejí se šetrně zahřát. K ohřátí se využívá tepelný zdroj, nebo je možné ohřev zajistit tak, že se nádoba s medem umístí do prostředí s vyšší teplotou (běžně se využívá voda nebo vzduch) (Jiruš et al., 2022). Ztekuování se provádí ohřátím na 50 °C (Veselý, 2003).

### ***1.1.6 Plnění do spotřebitelského balení***

Med se plní do sklenic s různým objemem, které by měly být čisté a suché (Jiruš et al., 2022). Při balení do spotřebitelského balení se musí vždy zachovat kvalita medu. Na etiketě musí být uveden původ medu nebo výrobce, hmotnost obsahu a minimální trvanlivost (Veselý, 2003).

### ***1.1.7 Fyzikální vlastnosti medu***

Jednotlivé druhy medu se mezi sebou liší barvou, chutí, vůní, konzistencí, kyselostí, hustotou a rychlostí krystalizace (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

Květové medy jsou většinou světle žluté, občas mají tmavě žluté, hnědé nebo zlatohnědé zbarvení. Medovicové medy jsou obvykle tmavší nebo dokonce černé (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022). Barvu je potřeba hodnotit u tekutých medů, jelikož u zkrystalizovaných medů se barva zesvětlí (Veselý, 2003).

Chuť medu také závisí na jeho druhu. Může být ostrý (např. lipový, pohankový) nebo jemný, až mdlý (např. akátový, pampeliškový). Jeho vůně závisí na tom, z jakého druhu rostlin pochází nektar nebo medovice. Obecně platí, že čerstvé medy mají intenzivnější vůni. (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

Krystalizace medu záleží na chemickém složení. Rychle krystalizují medy, které obsahují více glukózy než fruktózy (např. řepkový), méně pak medy s vysokým obsahem fruktózy (např. akátový) (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

Zralý med má hustotu v rozmezí 1,38-1,45 g/ml, což znamená, že 1 l medu váží 1380-1450 g (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022). Viskozita medu je závislá na obsahu vody, teplotě a chemickém složení – čím vyšší je obsah vody a teplota, tím je tekutější (Veselý, 2003). Med je výrazně kyselé povahy, jeho pH se pohybuje mezi 3,2-4,5 (Solayman et. al., 2016).

Elektrická vodivost medu je velmi nízká a liší se v závislosti na jeho původu (květový, medovicový) (Pascual-Maté et al., 2018). Tato odlišnost je způsobena vyšším obsahem minerálních látek a dalších iontů v medovicových medech. Pro obchodní klasifikaci se jako hranice mezi květovými a medovicovými medy používá hodnota 80 mS/m, pokud je elektrická vodivost vyšší, jedná se o med medovicový, pokud nižší jedná se o med květový (Veselý, 2003).

### ***1.1.8 Chemické složení medu***

Chemické složení medu je různé a záleží na rodu a druhu rostliny, z níž včely sbírají nektar nebo medovici (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

#### ***1.1.8.1 Obsah vody***

Většinou se obsah vody v medu pohybuje mezi 15-20 %. Nevyzrálé medy mohou obsahovat více vody, čímž jsou více náchylné ke kvašení. Obsah vody je zásadním kritériem kvality medu. Evropská i Česká norma požaduje maximálně 20 % vody, což je pro kvalitu medu optimální. (Veselý, 2003).

#### ***1.1.8.2 Sacharidy***

V medu je nejvíc sacharidů (v průměru 77 %), přičemž v něm převažují jednoduché cukry. Průměrný obsah glukózy je 30 %, fruktózy 38 % a sacharózy 1,3 % (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

### ***1.1.8.3 Organické kyseliny***

Další důležitou skupinou sloučenin v medu jsou organické kyseliny, aminokyseliny a inhibitory (jedná se o látky rostlinného původu s antimikrobiálními účinky). Stárnutím medu, především porušováním teplem a světlem antiseptické účinky medu slábnou (Švamberg, 2000). Tato skupina organických sloučenin je zastoupena v průměru 0,6 % a má zásadní vliv na chuť medu. V medu bývá nejvíce zastoupena kyselina glukonová, jablečná a citrónová. (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

### ***1.1.8.4 Bílkoviny***

Obsah bílkovin v medu je v průměru 0,3 %. Většinou se jedná o jednoduché bílkoviny (albuminy, globuliny). Důležitou skupinou bílkovin jsou enzymy, které se dostávají do medu s výměškou včelích slinných žláz. K nejdůležitějším patří invertáza (štěpící sacharózu (Švamberg, 2000)), amyláza (štěpí složitější cukry (Švamberg, 2000)), glukozooxidáza a peptid lysozym (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

### ***1.1.8.5 Polyfenolové sloučeniny***

Med obsahuje také menší množství polyfenolických sloučenin (v průměru 120 µg/g), hlavně flavonoidy (rostlinná barviva s antibakteriálními účinky (Švamberg, 2000)) a fenolové kyseliny, které pocházejí z květového pylu (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022).

### ***1.1.8.6 Vitamíny a minerální látky***

V medu je také přítomna řada vitamínů (přibližně 30 µg/g) ze skupiny A, B komplex, C, D, H, K, E a P. Dále karoteny, melaniny a další barviva a minerální látky (Švamberg, 2000). Mezi minerální látky, které jsou v medu nejvíce zastoupeny patří: sodík, draslík, fosfor, hořčík, vápník, síra a chlor. Mezi stopové prvky se řadí: železo, jód, křemík, měď, fluór, zinek, mangan a mnoho dalších (Solayman et. al., 2016).

Složení	Průměrný obsah
Sacharidy:	77 %
• Glukóza	30 %
• Fruktóza	38 %
• Sacharóza	1,3 %
Organické kyseliny	0,6 %
Bílkoviny (enzymy)	0,3 %
Polyfenoly	120 µg/g
Vitamíny	30 µg/g
Minerální látky	0,3 %

Tabulka 1 Složení medu (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022)

### 1.1.9 Antimikrobiální vlastnosti medu

Studie uvádí, že med má inhibiční účinek na přibližně 60 druhů bakterií včetně aerobů a anaerobů, grampozitivních i gramnegativních bakteriích. Antimykotický účinek byl pozorován také vůči některým kvasinkám a u druhů rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Bylo zjištěno, že med vykazuje antibakteriální účinky i v situacích kdy klasická antibiotika nebyla účinná (Aurongzeb a Azim, 2011).

Hojivé vlastnosti medu spočívají v jeho antibakteriálních účincích, med také udržuje ránu vlhkou a jeho vysoká viskozita pomáhá vytvářet ochrannou bariéru, která zabraňuje infekci (Mandal a Mandal, 2011). Antimikrobiální aktivita většiny medů je způsobena enzymatickou produkcí peroxidu vodíku, který je produkován glukózooxidázou. Ta pochází ze žláz včel medonosných. V medu se vyskytuje také kataláza, která pochází z pylu. Hladina peroxidu vodíku v daném medu je určena relativními hladinami glukózooxidázy a katalázy. Čím vyšší je hladina glukózooxidázy, tím vyšší je hladina peroxidu a čím nižší je hladina katalázy, tím vyšší je hladina peroxidu. Rozdíly v antimikrobiální aktivitě mezi medy z různých květinových zdrojů mohou být částečně odrazem těchto rozdílů (Taormina et al., 2001).

Jiný druh medu, tzv. neperoxidový med (např. manuka med), však vykazuje významné antibakteriální účinky, i když je aktivita peroxidu vodíku blokována. Jeho mechanismus může souviset s nízkou hladinou pH medu a vysokým obsahem cukru (vysoká osmolarita), který dostatečně brání růstu mikrobů (Mandal a Mandal, 2011). Přítomnosti bakteriostatických a baktericidních faktorů (peroxid vodíku, antioxidanty,

lysozym, polyfenoly, methylglyoxal, včelí peptidy) a zvýšení uvolňování cytokinů patří také mezi protizánětlivé vlastnosti medu (Israili, 2014). Identifikace a charakterizace účinných látek tak může poskytnout cenné informace o kvalitě a možném terapeutickém potenciálu medů (Mandal a Mandal, 2011).

## **1.2 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* R. (zlatý stafylokok) je významný a častý oportunní patogen u lidí a jeden z nejdůležitějších patogenních druhů stafylokoků ve veterinární i lidské medicíně (Peton a Le Loir, 2014). který může způsobovat celou řadu infekcí. K poškození makroorganismu dochází buď přímým působením bakterie (v místě infekce) nebo prostřednictvím toxinů. Velkým problémem je rezistence některých kmenů (meticilin nebo vankomycin rezistentní *S. aureus* – MRSA nebo VRSA) a jejich rozšíření především ve zdravotnických zařízeních. *S. aureus* je však často součástí lidské bakteriální mikrobioty. (Hurych a Štícha, 2020)

### **1.2.1 *Morfologie***

*S. aureus* je kulovitá grampozitivní bakterie (kok), která se při mikroskopickém vyšetření vyskytuje v párech, krátkých řetízích nebo shlucích připomínajících hrozen. Některé kmeny jsou schopny produkovat vysoce tepelně stabilní proteinový toxin, který je schopen vyvolat onemocnění u člověka (Idrees et al., 2021). Jedná se o fakultativně anaerobní, kataláza pozitivní a oxidáza negativní bakterii (Votava, 2010). Jedná se o nesporující, nepohyblivou bakterii, která většinou netvoří pouzdro (Greenwood et al, 1999). Na rozdíl od většiny patogenů mohou růst i za přítomnosti 10 % NaCl, nevdají jim vyschnutí, dokáží odolávat desinfekčním prostředkům s obsahem fenolu a sloučenin těžkých kovů. Koncentrovaný etanol je nedokáže účinně zničit, spíše konzervovat (Votava, 2010).

### **1.2.2 *Antigenní stavba***

Buněčná stěna stafylokoků je tvořena peptidoglykanem, který je důležitý v patogenezi onemocnění (Horáček et al, 2000). Peptidoglykan (nebo také murein) podporuje uvolňování cytokinů z makrofágů, což vede k aktivaci komplementu a shlukování krevních destiček (Votava, 2003). Dále je buněčná stěna tvořena kyselinou

teichoovou, která svým působením navozuje tvorbu protilátek, a proteinem A, který je schopný se vázat na Fc fragment IgG (Horáček et al, 2000).

Důležitou složkou buněčné stěny jsou adheziny (Horáček et al, 2000). Ty se uplatňují při průniku stafylokoků do poškozené tkáně (Bednář et al, 1996).

### **1.2.3 Patogenita**

*S. aureus* se běžně vyskytuje na kůži i v nosní dutině velké části populace. Infekci může způsobit v případě, že dojde k poškození kůže či sliznice (Greenwood et al, 2012). Jedná se o jednoho z nejnebezpečnějších nozokomiálních patogenů, mohou způsobovat pooperační infekce, abscesy, endokarditidy a toxické syndromy u zvířat i lidí (Chang et al, 2013).

Toxiny produkují během množení a mohou vyvolat celou řadu onemocnění až septický šok. Kromě toxinů mohou produkovat superantigeny, které vedou až k toxickým otravám alimentární cestou (z potravin) (Gordon a Lowy, 2008).

### **1.2.4 Faktory virulence**

Virulence se definuje jako míra patogenity, patogenita je schopnost bakterie způsobit infekci (Schindler, 2014). Bakterie *S. aureus* má mnoho faktorů virulence, některé z nich se uplatňují například při překonávání obranyschopnosti jedince, či napadení a kolonizování tkáně (Greenwood et al, 2012). Tyto faktory se dělí do dvou skupin: povrchové a extracelulární (enzymy a toxiny) (Votava, 2003).

#### **1.2.4.1 Povrchové faktory**

Mezi povrchové faktory virulence patří peptidoglykan, kyselina teichoová, protein A a vázaná koaguláza, která se využívá při diagnostice (clumping faktor) (Horáček et al, 2000). Dále se na povrchu buněk vyskytují různé proteiny, které mohou vázat např. kolagen, elastin a jiné adhezivní molekuly, což umožňuje stafylokokům přilnout na různé druhy tkání (Beneš, 2009).



#### **1.2.4.2 Extracelulární faktory**

Do extracelulárních faktorů patří enzymy a toxiny. Mezi enzymy se řadí kataláza, nukleázy, proteázy, lipázy, hyaluronidázy, kolagenázy, penicilinázy a další enzymy (Votava, 2003). Právě díky enzymu penicilinázy (beta-laktamáza) může vznikat rezistence na antibiotika (Milijkovic-Selimovic et al, 2015).

*S. aureus* může produkovat také celou řadu extracelulárních toxinů, jako jsou cytolyziny (hemolyziny, Pantonův-Valentinův leukocidin), enterotoxiny, toxiny exfoliativní (ETA, ETB) a toxin syndromu toxického šoku (Votava, 2003).

#### **1.2.5 Diagnostika**

Laboratorní diagnostika je založena na mikroskopii a kultivaci. Podrobná identifikace je možná za pomoci biochemických testů nebo hmotnostní spektrometrií. Nezbytným krokem je stanovení citlivosti na antibiotika. Citlivost k protistafylokokovým antibiotikům se testuje pomocí diskové difúzní metody, popř. se stanovením MIC. Při podezření, že se na vzniku onemocnění podílel toxin, je vhodné bakteriální kmen dovyšetřit testy na produkci toxinu (např. aglutinace) nebo molekulárně biologickými metodami na přítomnost genu kódujícího příslušný toxin. (Hurych a Štícha, 2020)

##### **1.2.5.1 Mikroskopie**

Základním materiálem pro mikroskopické zobrazení je hnis, popřípadě likvor či kloubní tekutina. V mikroskopickém obrazu se *S. aureus* diagnostikuje na základě barvení preparátu dle Gramma (Votava, 2010). Jsou zde viditelné grampozitivní koky ve shlucích a četné leukocyty. Pokud se potvrdí mikroskopický nález stafylokoků, je nutné tuto informaci sdělit zadávajícímu lékaři telefonicky, jelikož se jedná o velmi cenný nález. Avšak pouhá mikroskopie stafylokoků není příliš spolehlivá, jelikož nelze úplně odlišit stafylokoky od ostatních G+ koků (Votava, 2003).

##### **1.2.5.2 Kultivace**

Pro kultivaci se často využívá krevní agar, popřípadě Mueller-Hinton agar (Thakare et al., 2017). K cílenému průkazu je vhodný krevní agar s 10% NaCl, který funguje jako selektivní půda pro záchyt stafylokoků s potlačením doprovodné G- flóry ve vzorku (Greenwood et al., 1999). Stafylokoky rostou obvykle v aerobním prostředí při teplotě

37 °C do 24 hodin (neselektivní půdy) nebo 48-72 hodin (selektivní půdy). Na neselektivních půdách roste *S. aureus* v koloniích o velikosti 1-3 mm, jsou neprůhledné, hladké, krémové konzistence či se zlatožlutým pigmentem (Votava, 2010).

### **1.2.5.3 Fenotypové metody identifikace**

Fenotypová analýza sleduje především morfologii mikrobiálních kolonií (např. velikost, barva, tvar), buněk (koky nebo tyčinky, barvitelnost dle Grama) a jejich metabolismus (Melter a Malmgren, 2014).

Biochemická identifikace je založena na sérii biochemických testů a srovnání jejich výsledků s výsledky známých druhů. Princip je založen na skutečnosti, že každý bakteriální druh produkuje jiné enzymy (např. oxidáza, kataláza, plazmakoaguláza). Tyto testy se provádí ve zkumavkách nebo v plastových nádobách o objemu několika mikrolitrů (mikrotest). Jako výsledek se považuje změna nebo tvorba určitého zbarvení půdy s přidaným barevným indikátorem (Schindler, 2014).

Screeningové testy se používají k předběžné identifikaci. Pro rozlišení stafylokoků a streptokoků se využívá tzv. katalázový test. Stafylokoky jsou kataláza-pozitivní, streptokoky jsou kataláza-negativní. Kataláza je enzym, který rozkládá peroxid vodíku na vodu a kyslík. Za pozitivní reakci se považuje uvolnění bublinek kyslíku po přidání peroxidu vodíku k testovanému mikroorganismu (Melter a Malmgren, 2014).

Dalším možným testem pro odlišení stafylokoků od jiných G+ koků je test na přítomnost koagulázy, jelikož *S. aureus* je koaguláza-pozitivní patogen (Hurych a Štícha, 2020). Koaguláza je přítomna na povrchu buňky a váže na sebe fibrinogen, který se mění na fibrin, čímž dochází ke shlukování buněk (Horáček et al, 2000).

Pro rychlou a snadnou identifikaci *S. aurea* slouží také latexová aglutinace. Test detekuje současně clumping faktor a protein A. Její princip je založen podobně jako test na přítomnost koagulázy a doporučuje se je provádět současně (Essers a Radebold, 1980).

## 2 Cíle práce

- 1) Zjistit, jaký vliv má manipulace a zpracování medů na jejich antimikrobiální aktivitu u bakterie *Staphylococcus aureus*.
- 2) Stanovit MIC a MBC u vybraných medů v závislosti na typu manipulace s nimi.

### Hypotéza

- Manipulace a zpracování medu snižuje antimikrobiální aktivitu medu vůči G<sup>+</sup> bakterii *S. aureus*.

### 3 Metodika

V metodické části budou popsány jednotlivé úkony pro porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních medů (N) a jejich tepelně upravených alternativách. Byly srovnány následující metody: vysušení (V), zahřátí ve vodní lázni při 50 °C (Z) a zahřátí v mikrovlnné troubě (M). Celkem se pracovalo s 6 vzorky, přičemž se porovnávaly hodnoty nativních medů s hodnotami jejich tepelně upravených alternativ. Dále se stanovila vlhkost a konduktometrie medů.

1–6	Označení použitý vzorků medů
N	Nativní med
V	Vysušený med
Z	Med zahřátý při 50 °C ve vodní lázni
M	Med zahřátý v mikrovlnné troubě

Tabulka 2 Popis použitých medů

#### 3.1 Porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních a vysušených medů

##### 3.1.1 Vybavení a pomůcky

- Mikrozkuřavky
- Mueller-Hinton agar (MHA)
- Mueller-Hinton bujon (MHB)
- *Staphylococcus aureus* CCM 4516 (Czech Collection of Microorganisms, Brno)
- Petriho misky
- Sterilní bakteriologická klička
- Hermeticky uzavíratelné plastické sáčky
- Zkuřavky na 20 ml (pro přípravu bakteriálního inokula)
- Vortex
- Denzitometr
- Analytické váhy
- Mikrotitrační destička (12x8)
- Pipety
- Multichannel pipeta

- Spektrofotometr
- Lihový fix
- Destilovaná voda
- Vzoroky medů

### 3.1.2 *Bakteriální inokulum*

Inokulum bylo připraveno z předpřipravené narostlé kultury *S. aureus*. Sterilní kličkou bylo odebráno malé množství kultury, které bylo přidáno do zkumavky se sterilní destilovanou vodou. Roztok byl změřen v denzitometru do výsledné hodnoty 0,5 McFarland.

### 3.1.3 *Příprava vzorků*

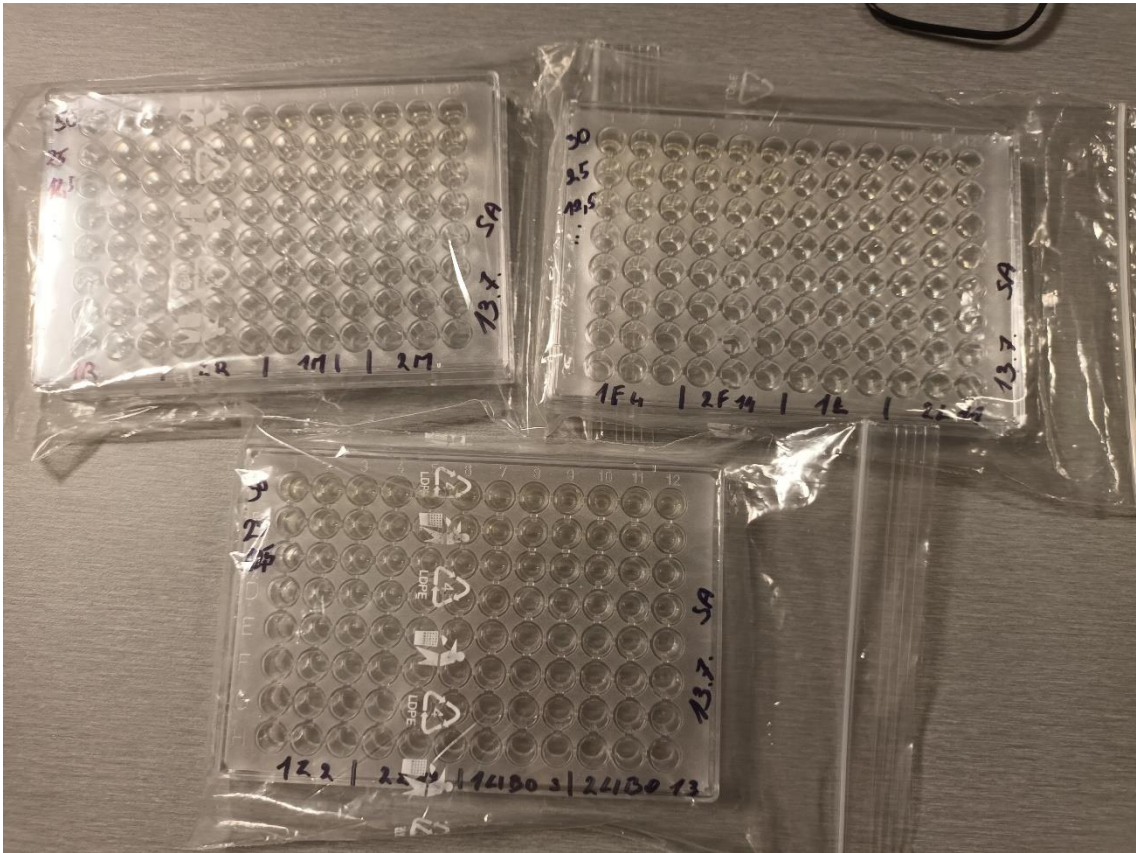
Na analytických vahách byl navážen 1 g vybraných medů s odchylkou  $\pm 0,001$  do připravených mikrozkušavek s objemem 2 ml. Poté bylo ve flowboxu doplněno do 2,0 ml tekuté médium (MHB). Po zvortexování následovalo pipetování do mikrotitračních destiček a stanovení MIC.

### 3.1.4 *Minimální inhibiční koncentrace (MIC)*

Minimální inhibiční koncentrace (MIC) je nejnižší koncentrace antibakteriální látky vyjádřené v mg/l ( $\mu\text{g/ml}$ ), která za přísně kontrolovaných podmínek zcela zabrání viditelnému růstu testovaného kmene mikroorganismu a také ukazuje míru rezistence na antimikrobiální látky. Nejčastější metoda stanovení MIC je ředící metoda (Kowalska-Krochmal a Dudek-Wicher, 2021). Ke stanovení hodnot MIC se u všech kvantitativních metod používalo Mueller-Hintonovo (MH) médium buď ve formě agaru (MHA), nebo bujónu (MHB).

Mikrotitrační destička je rozdělena na 12 sloupců a 8 řádků (popsaných A-H). Do řady A bylo napipetováno 200  $\mu\text{l}$  připraveného 50 % roztoku medu (w/v) v MHB po třech opakování (tzn. 4 vzorky medů na destičku). Do všech následujících řad (B-H) bylo napipetováno 100  $\mu\text{l}$  MHB. Následovalo rozředování. Multikanálovou pipetou bylo odebráno 100  $\mu\text{l}$  vzorku z řady A, které bylo přidáno do řady B. Z řady B se odebralo 100  $\mu\text{l}$ , které byly přidány do řady C. Takto se pokračovalo až po řadu F, řady G a H byly vynechány kvůli pozitivní (G) a negativní (H) kontrole. Dále bylo do všech jamek krom

řady H napipetováno 10  $\mu$ l předem připraveného inokula *S. aurea*. Takto zhotovené destičky byly spektrofotometricky změřeny a po 24 hodinách znovu přeměřeny. Z naměřených hodnot bylo vypočítáno inhibiční procento.

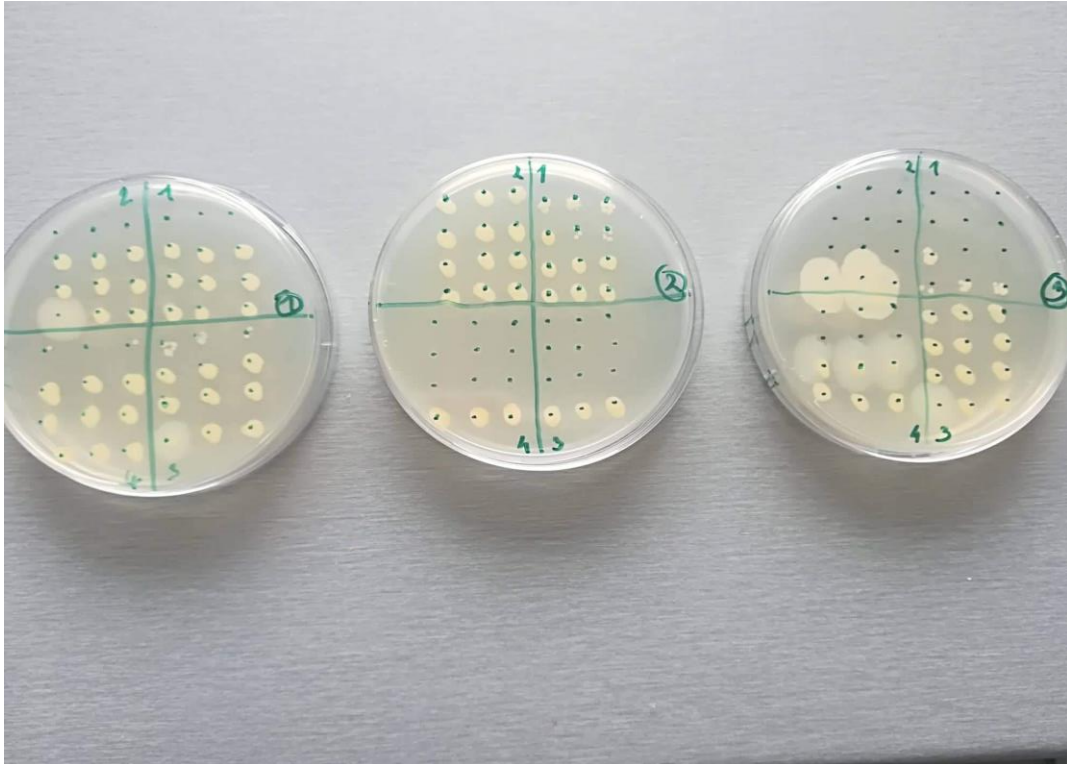


Obrázek 1 Zhotovené mikrotitrační destičky pro stanovení MIC

### 3.1.5 Minimální baktericidní koncentrace (MBC)

Minimální baktericidní koncentrace (MBC) je definována jako nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která je potřebná k usmrcení mikroorganismu (Parvekar et al., 2020).

Minimální baktericidní koncentrace byla stanovena po 24 hodinách od prvního měření. Sterilní inokulační kličkou se odebralo 10  $\mu$ l testovaného vzorku a přibližně 1  $\mu$ l se umístil na Mueller-Hinton agar (MHA) v Petriho misce tak, aby se zachovalo pořadí vzorků jako na destičce, každý vzorek po třech opakování.



Obrázek 2 Stanovení MBC na Petriho miskách

### 3.2 Porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních medů a medů zahřátých ve vodní lázni na 50 °C

#### 3.2.1 Vybavení a pomůcky

- Mikrozkušavky
- Mueller-Hinton agar (MHA)
- Mueller-Hinton bujon (MHB)
- *Staphylococcus aureus* CCM 4516 (Czech Collection of Microorganisms, Brno)
- Petriho misky
- Sterilní bakteriologická klička
- Hermeticky uzavíratelné plastické sáčky
- Zkušavky na 20 ml (pro přípravu bakteriálního inokula)
- Vortex
- Denzitometr
- Analytické váhy
- Mikrotitrační destička (12x8)

- Pipety
- Multichannel pipeta
- Spektrofotometr
- Lihový fix
- Destilovaná voda
- Vzorky medů
- Vodní lázeň nastavená na 50 °C

### **3.2.2 Příprava vzorků**

Na analytických vahách byl navážil 1 g vybraných medů s odchylkou  $\pm 0,001$  do připravených mikrozkušavek. Tímto způsobem byl navážen pouze stočený med (1), přičemž od každého medu dva vzorky. Polovina vzorků, tj. jedem vzorek od každého medu, byla vložena do vodní lázně a zahřívána do ztekucení při 50 °C. Poté bylo ve flowboxu doplněno do 2,0 ml tekuté médium (MHB). Po zvortexování následovalo pipetování do mikrotitračních destiček a stanovení MIC (stejně jako u minulého měření).

### **3.3 Porovnání testované antimikrobiální aktivity u nativních medů a medů zahřátých v mikrovlnné troubě**

#### **3.3.1 Vybavení a pomůcky**

- Mikrozkušavky
- Mueller-Hinton agar (MHA)
- Mueller-Hinton bujon (MHB)
- *Staphylococcus aureus* CCM 4516 (Czech Collection of Microorganisms, Brno)
- Petriho misky
- Sterilní bakteriologická klička
- Hermeticky uzavíratelné plastické sáčky
- Zkušavky na 20 ml (pro přípravu bakteriálního inokula)
- Vortex
- Denzitometr
- Analytické váhy



- Mikrotitrační destička (12x8)
- Pipety
- Multichannel pipeta
- Spektrofotometr
- Lihový fix
- Destilovaná voda
- Vzorky medů
- Mikrovlnná trouba

### **3.3.2 Příprava medů**

Na analytických vahách byl navážil 1 g vybraných medů s odchylkou  $\pm 0,001$  do připravených mikrozku mávek. Tímto způsobem byl navážen pouze stočený med (1), přičemž od každého medu dva vzorky. Polovina vzorků, tj. jedem vzorek od každého medu, byla vložena do mikrovlnné trouby a zahřívána do ztekucení. Poté bylo ve flowboxu doplněno do 2,0 ml tekuté médium (MHB). Po zvortexování následovalo pipetování do mikrotitračních destiček a stanovení MIC (stejně jako u minulých měření).

## **3.4 Stanovení vlhkosti medů**

### **3.4.1 Vybavení a pomůcky**

- Mikrozku mávky
- Termostat s nastavenou teplotou na 50 °C
- Skleněná tyčinka
- Refraktometr
- Lihový fix
- Destilovaná voda
- Vzorky medů

### 3.4.2 *Princip*

Ke stanovení vlhkosti medu se využívá refraktometrie, tedy měření indexu lomu světla a následné odečtení hodnot z tabulky standardů. S obsahem sušiny se zvyšuje hodnota indexu lomu. Tabulka standardů byla odvozena z grafu logaritmu indexu lomu, od kterého byla odečtena hodnota odpovídající obsahu vody. Pro stanovení vlhkosti bylo použito 12 vzorků medů, 6 nativních medů (N) a 6 vysušených medů (V).

### 3.4.3 *Postup*

- 1) Od každého medu bylo za pomoci skleněné tyčinky odebráno přiměřené množství medu do mikrozkuavek, které byly důkladně popsány.
- 2) Jednotlivé vzorky medů byly vloženy do termostatu, který byl nastaven na 50 °C, kde byly nechány do ztekucení.
- 3) Od každého vzorku medu byla skleněnou tyčinkou nanесena trocha medu na refraktometrické sklíčko, které bylo před tím očištěno destilovanou vodou a následně důkladně vysušeno.
- 4) Po asi 2 minutách byl výsledek odečten a zaznamenán. Zaznamenávala se také okolní teplota, pokud teplota okolní místnosti byla vyšší nebo nižší než 20 °C, musel být výsledek přepočítán a zaokrouhlen na 1 desetinné místo.

Přepočet indexu lomu dle teploty okolní místnosti:

- Pro teploty nad 20 °C: k indexu lomu bylo připočítáno 0,000023 pro 1 °C
- Pro teploty pod 20 °C: od indexu lomu bylo odečteno 0,00023 pro 1 °C

Obsah vody g/100 g	Index lomu 20 °C	Obsah vody g/100 g	Index lomu 20 °C
13,0	1,5044	19,2	1,4885
13,2	1,5038	19,4	1,4880
13,4	1,5033	19,6	1,4875
13,6	1,5028	19,8	1,4870
13,8	1,5023	20,0	1,4865
14,0	1,5018	20,2	1,4860
14,2	1,5012	20,4	1,4855
14,4	1,5007	20,6	1,4850
14,6	1,5002	20,8	1,4845
14,8	1,4997	21,0	1,4840
15,0	1,4992	21,2	1,4835
15,2	1,4987	21,4	1,4830
15,4	1,4982	21,6	1,4825
15,6	1,4976	21,8	1,4820
15,8	1,4971	22,0	1,4815
16,0	1,4966	22,2	1,4810
16,2	1,4961	22,4	1,4805
16,4	1,4956	22,6	1,4800
16,6	1,4951	22,8	1,4795
16,8	1,4946	23,0	1,4790
17,0	1,4940	23,2	1,4785
17,2	1,4935	23,4	1,4780
17,4	1,4930	23,6	1,4775
17,6	1,4925	23,8	1,4770
17,8	1,4920	24,0	1,4765
18,0	1,4915	24,2	1,4760
18,2	1,4910	24,4	1,4755
18,4	1,4905	24,6	1,4750
18,6	1,4900	24,8	1,4745
18,8	1,4895	25,0	1,4740
19,0	1,4890		

Tabulka 3 Vztah mezi obsahem vody v medu a indexem lomu (IHC, 2009)

### 3.5 Stanovení měrné vodivosti (konduktometrie)

#### 3.5.1 Vybavení a pomůcky

- Konduktometr
- Kádinky na 25 ml
- Analytické váhy
- Skleněná tyčinka
- Lihový fix
- Destilovaná voda
- Vzorky medů

#### 3.5.2 Princip

Jedná se o míru schopnosti roztoku vést elektřinu. Ke stanovení měrné vodivosti medu se využívá měrný elektrický odpor, jelikož je měrná vodivost jeho převrácenou hodnotu. Měří se konduktometrem a výsledek je vyjádřen v milisiemensech na centimetr ( $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

#### 3.5.3 Postup

- 1) Nejprve bylo třeba přepočítat získané hodnoty sušiny z refraktometrického měření, dle uvedeného vztahu:

Vzorový příklad navážky pro med, který obsahuje 81,4 % sušiny:

1 g medu ..... 0,814 g sušiny

2 g medu ..... x g sušiny

---

$$x = \underline{1,628 \text{ g}}$$

2 g medu ..... 1,628 g sušiny

x g medu ..... 2 g sušiny

---

$$x = \underline{2,457 \text{ g}}$$

Pozn. Měřený med obsahoval v 1 g 18,6 % vody a 81,4 % sušiny. Ve 2 g medu je obsaženo 1,628 g sušiny. Pro měření vodivosti bylo potřeba zjistit, kolik g medu je třeba navážít, aby obsah sušiny byl 2 g. Pro tento med činila navážka 2,157 g medu.

- 2) Po přepočtu bylo na analytických vahách naváženo od každého vzorku množství medu, odpovídající jednotlivým výsledkům.
- 3) K jednotlivým navážkám bylo odměrným válcem přidáno 5 ml destilované vody. Celý obsah kádinky se důkladně promíchal skleněnou tyčinkou.
- 4) Takto vzniklý roztok se následně konduktometricky změřil. Konduktometr se ponořil do kádinky se vzorkem, hodnota měrné vodivosti byla zaznamenána poté, co se ustálila hodnota na displeji.
- 5) Mezi jednotlivými měřeními byly měrné elektrody konduktometru vždy důkladně opláchnuty destilovanou vodou a dobře osušeny.
- 6) Pro správnost výsledných hodnot bylo také třeba změřit teplotu vzorku a následně přepočítat hodnoty získané konduktometrem.

Přepočet měrné vodivosti dle teploty vzorku:

- Pro teploty nad 20 °C: bylo odečteno 3,2 % pro 1 °C
  - Pro teploty pod 20 °C: bylo připočteno 3,2 % pro 1 °C
- 7) Výsledné hodnoty se zaokrouhlily na 1 desetinné místo.

## 4 Výsledky a vyhodnocení

### 4.1 Antimikrobiální aktivita

Testovaná antimikrobiální aktivita vůči bakterii *S. aureus* byla porovnána díky hodnotám MIC a MBC, které slouží jako ukazatele antimikrobiální aktivity. Jednotlivé hodnoty jsou rozděleny do tabulek dle manipulace s nimi. V první tabulce (tabulka 4) jsou zaznamenány hodnoty MIC a MBC u nativních medů (N). Z těchto hodnot jsme následně vycházeli při porovnávání vlivu jednotlivých tepelných úprav. V druhé tabulce (tabulka 5) jsou zaznamenány hodnoty MIC a MBC u vysušených medů (V). Na těchto hodnotách lze vidět mírné změny v antimikrobiálních aktivitách (označené červeně) oproti nativním medům (N). Tyto změny jsou však pouze nepatrné. Ve třetí tabulce (tabulka 6) jsou zaznamenány hodnoty MIC a MBC u medů zahřátých ve vodní lázni při 50 °C (Z). Tyto hodnoty taktéž vykazují mírné snížení antimikrobiální aktivity oproti nativním medům, avšak se opět nejedná o nijak výrazné změny. Nejvýraznější snížení antimikrobiální aktivity jsou patrné ve čtvrté tabulce (tabulka 7), kde jsou zaznamenány hodnoty MIC a MBC u medů zahříváných v mikrovlnné troubě (M). U těchto vzorků se hodnoty MIC a MBC nacházejí někde mezi 50-100 %, lze tedy říci, že došlo k významnému snížení antimikrobiální aktivity.

Tabulka 4 Hodnoty MIC a MBC u stočených medů (v %)

	1	2	3	4	5	6
<b>MIC</b>	50	50	6,25	50	25	6,25
<b>MBC</b>	50	50	12,5	50	25	12,5

Legenda: - zelená: výchozí hodnoty

Tabulka 5 Hodnoty MIC a MBC u vysušených medů (v %)

	1	2	3	4	5	6
<b>MIC</b>	50	50	12,5	50	50	12,5
<b>MBC</b>	50	50	12,5	>50	>50	12,5

Legenda: - zelená: stejné jako výchozí hodnoty (není změna)

- červená: změna oproti výchozím hodnotám

Tabulka 6 Hodnoty MIC a MBC u medů zahřátých při 50 °C (v %)

	1	2	3	4	5	6
<b>MIC</b>	50	50	6,25	50	25	12,5
<b>MBC</b>	>50	>50	12,5	50	>50	12,5

Legenda: - zelená: stejné jako výchozí hodnoty (není změna)

- červená: změna oproti výchozím hodnotám

Tabulka 7 Hodnoty MIC a MBC u medů zahřátých v mikrovlnné troubě (v %)

	1	2	3	4	5	6
<b>MIC</b>	50	50	50	50	50	50
<b>MBC</b>	>50	>50	>50	>50	>50	50

Legenda: - zelená: stejné jako výchozí hodnoty (není změna)

- červená: změna oproti výchozím hodnotám

#### 4.2 Vlhkost medu

Vlhkost vybraných vzorků nativních medů (N) se pohybovala v rozmezí 18,6-22,1 % (tabulka 8), průměrně byla vlhkost těchto medů 20,6 %. Vlhkost medů vysušených (V) se pohybovala v rozmezí 16,8-20,7 % (tabulka 9) a průměrná hodnota byla 19,0 %. Z těchto hodnot lze vypočítat pokles obsahu vody u vysušených medů v průměru o 1,6 %.

Tabulka 8 Hodnoty obsahu vody u nativních medů (v %)

	obsah vody [%]
1	18,6
2	22,1
3	21,0
4	22,0
5	19,0
6	20,9

Tabulka 9 Hodnoty obsahu vody u vysušených medů (v %)

	<b>obsah vody [%]</b>
<b>1</b>	16,8
<b>2</b>	20,7
<b>3</b>	20,1
<b>4</b>	19,0
<b>5</b>	18,0
<b>6</b>	19,4

#### 4.3 Měrná elektrická vodivost (konduktivita)

Měrná elektrická vodivost vybraných vzorků nativních medů (N) se pohybovala v rozmezí 18,1-49,0 mS/m (tabulka 10), průměrná hodnota byla 28,0 mS/m. Měrná elektrická vodivost vysušených medů (V) se pohybovala v rozmezí 18,2-48,7 mS/m (tabulka 11) a průměrná hodnota činila 30,0 mS/m. Z těchto hodnot lze vypočítat vliv vysoušení na zvýšení měrné elektrické vodivosti, pravděpodobně v důsledku nižšího obsahu vody a tím větší koncentrace pevných vodivých částic. Průměrně se měrná vodivost zvýšila o 2,0 mS/m.

Tabulka 10 Hodnoty měrné elektrické vodivosti u nativních medů (v mS/m)

	<b>konduktivita [mS/m]</b>
<b>1</b>	18,1
<b>2</b>	23,0
<b>3</b>	49,0
<b>4</b>	18,5
<b>5</b>	26,2
<b>6</b>	32,9

Tabulka 11 Hodnoty měrné elektrické vodivosti u vysušených medů (v mS/m)

	<b>konduktivita [mS/m]</b>
<b>1</b>	18,2
<b>2</b>	24,8
<b>3</b>	48,7
<b>4</b>	21,5
<b>5</b>	33,0
<b>6</b>	33,8



#### 4.4 Vyhodnocení

Vzorek č. 1 měl ze všech testovaných vzorků nejnižší hodnoty. Obsah vody byl v nativní formě 18,6 % a ve vysušené formě 16,8 %. Tento vzorek měl také nejnižší hodnoty měrné elektrické vodivosti – v nativní formě 18,1 % a ve vysušené formě 18,2 %. Antimikrobiální aktivita tohoto vzorku byla oproti ostatním testovaným taktéž nejnižší. Hodnoty MIC a MBC se v nativním stavu pohybovaly okolo 50 %, hodnoty MIC a MBC se po vysušení, zahřátí ve vodní lázni i zahřátí v mikrovlnné troubě pohybovaly okolo 50 % nebo více.

Vzorek č. 2 měl nejvyšší obsah vody ze všech vzorků a to 22,1 % v nativní formě a 20,7 % ve vysušené formě. Měrná elektrická vodivost byla v nativní formě 23,0 mS/m a ve vysušené formě 24,8 mS/m. Antimikrobiální aktivita u tohoto medu byla taktéž velmi nízká. hodnoty MIC a MBC v nativní formě se pohybovaly okolo 50 %. Hodnoty MIC a MBC se ve všech tepelných úpravách pohybovali okolo 50 % nebo více.

Vzorek č. 3 měl obsah vody 21,0 % v nativní formě a 20,1 % ve vysušené formě. Měrná elektrická vodivost byla nejvyšší ze všech měřených vzorků a to 49,0 mS/m v nativní formě a 48,7 mS/m ve vysušené formě. Antimikrobiální aktivita byla u tohoto medu jedna z nejvyšších. Hodnoty MIC se v nativní formě a u vzorků zahřátých ve vodní lázni při 50 °C pohybovaly okolo 6,25 %, hodnoty MBC okolo 12,5 %. Hodnoty MIC a MBC se ve vysušené formě pohybovaly okolo 12,5 %. Největší rozdíl v antimikrobiální aktivitě nastal při zahřívání v mikrovlnné troubě, tam se hodnoty MIC i MBC pohybovaly okolo 50 % a více.

Vzorek č. 4 měl obsah vody 22,0 % v nativní formě a 19,0 % ve vysušené formě. Měrná elektrická vodivost byla 18,5 mS/m v nativní formě, u vysušené formy se lehce zvýšila na 21,5 mS/m. Antimikrobiální aktivita tohoto vzorku byla také jedna z nižších. Hodnoty MIC a MBC se v nativní formě a u vzorků zahřátých ve vodní lázni při 50 °C pohybovaly okolo 50 %, hodnoty MIC a MBC se ve vysušené formě a u vzorků zahřátých v mikrovlnné troubě pohybovaly okolo 50 % nebo více.

Vzorek č. 5 měl obsah vody 19,0 % v nativní formě a 18,0 % ve vysušené formě. Měrná elektrická vodivost byla v nativní formě 26,2 mS/m, u vysušené formy se zvýšila na 33,0 mS/m. Antimikrobiální aktivita tohoto vzorku byla opět jedna z nižších. Hodnoty MIC a MBC se v nativní formě pohybovaly okolo 25 %. Hodnoty MIC a MBC u vzorků ve vysušené formě se pohybovaly okolo 50 % a víc. U vzorku zahřátých ve vodní lázni při 50 °C se hodnoty MIC pohybovaly okolo 25 %, avšak hodnoty MBC se pohybovaly

mezi 50-100 %. U vzorků medů zahřátých v mikrovlnné troubě se hodnoty MIC a MBC pohybovaly okolo 50 % a více.

Vzorek č. 6 měl obsah vody 20,9 % v nativní formě a 19,4 % ve vysušené formě. Měrná elektrická vodivost byla v nativní formě 32,9 mS/m a ve vysušené formě se lehce zvýšila na 33,8 mS/m. Antimikrobiální aktivita byla u tohoto medu jedna z vyšších. Hodnoty MIC se v nativní formě pohybovaly okolo 6,25 % a hodnoty MBC okolo 12,5 %. Hodnoty MIC a MBC se ve vysušené formě a u vzorků zahřátých ve vodní lázni při 50 °C pohybovaly okolo 12,5 %. Největší rozdíl v antimikrobiální aktivitě nastal při zahřívání v mikrovlnné troubě, tam se hodnoty MIC i MBC pohybovaly okolo 50 %.

## 5 Diskuze

Výsledky různých studií potvrdily, že med má antimikrobiální účinky proti širokému spektru bakterií, tyto poznatky jsou důležité především kvůli neustále narůstajícímu počtu rezistentních kmenů na antibiotickou léčbu. Antimikrobiální aktivita medu je způsobena několika faktory, především díky vysoké koncentraci cukrů, nízkým hodnotám pH, vysoké osmolalitě a důležitou roli hraje také tvorba peroxidu vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a včelího defensinu-1. Tyto faktory se však u každého medu liší (Valachová et al., 2016).

Tepelné ošetření medu za účelem jeho ztekucení je mezi výrobci medu a v medovém průmyslu běžným postupem. Vzhledem k technologickému pokroku v potravinářském průmyslu byly, kromě klasického zahřívání ve vodní lázni, zkoumány také alternativní postupy ztekucování, jako je ošetření mikrovlnami, ultrazvukem a infračerveným zářením (Subramanian et al., 2007).

Při stanovení antimikrobiální citlivosti je třeba rozhodnout, která metoda bude použita. Mezi nejčastěji používané metody patří: agarová difúze, disková difúze, bujónová difúze nebo varianty těchto metod. V poslední době se zvýšil zájem o testy na mikrotitračních destičkách, který jsme v této práci použili i my (Kuda et al., 2004). Použití 96jamkového mikrotitračního testovacího systému usnadňuje testování inhibice, jelikož tato metoda je méně časově náročná, levnější a také lze na jedné destičce testovat více vzorků.

V této práci jsme se zaměřovali na vliv tepelných úprav na antimikrobiální aktivitu na bakterii *S. aureus* jakožto modelového organismu pro G+ bakterie. Bylo provedeno testování vlivu vysušení medu po 12 hodinách, zahřívání ve vodní lázni při teplotě 50 °C do ztekucení a zahřívání v mikrovlnné troubě (250 W) do ztekucení. Následně se tyto hodnoty porovnály s hodnotami získanými z testování nativních vzorků medů. U třech vzorků z šesti se hodnoty MIC a MBC nativních medů pohybovaly okolo 50 %, jeden vzorek vykazoval hodnoty MIC a MBC okolo 25 %. Pouze dva z šesti vzorků měly hodnoty MIC okolo 6,25 % a MBC okolo 12,5 %. O něco vyšší hodnoty vykazovaly medy po vysušení a následně i vzorky medů zahřáté ve vodní lázni při 50 °C. Avšak tyto hodnoty se od nativních hodnot lišily pouze v zanedbatelné míře. Nejvýraznější snížení antimikrobiální aktivity bylo vyzorováno u vzorků medů zahřátých v mikrovlnné troubě.

Bucekova et al. (2018a) ve své studii prokázali, že tepelné zkapalnění při teplotách do 65 °C neovlivňuje celkovou antimikrobiální aktivitu medu vůči *S. aureus* a u některých případech došlo dokonce ke zvýšení antimikrobiálního potenciálu medu, což je v rozporu s našimi výsledky. V jiné studii se Bucekova et al. (2018b) zaměřili na vliv tepelného ohřevu v mikrovlnné troubě. V této studii pracovali s řepkovými medy, u kterých sledovali změnu antimikrobiálních vlastností opět na bakterii *S. aureus*, zaměřovali se především na dvě hlavní antibakteriální složky pocházející ze včel (defensis-1 a peroxid vodíku). Jejich výsledky ukázaly, že tepelné zahřívání v mikrovlnné troubě zcela zrušilo antibakteriální aktivitu medu, zatímco ošetření při 45 a 55 °C nemělo na antibakteriální aktivitu vzorků medů vliv. U vzorků medů zahřátých v mikrovlnné troubě byl pozorován pokles jak glukózooxidázové aktivity, tak produkce peroxidu vodíku a množství defensinu-1.

Vlivem zahřívání na antimikrobiální vlastnosti medu se ve své studii zabývali také Mat Ramlan et al (2021). Ti porovnávali dva druhy medu, malajský a australský. Celkově vyšetřovali 18 vzorků medu, které byly vystaveny tepelnému působení při teplotách 45, 55 a 65 °C po dobu jedné hodiny. Jejich výsledky však ukázaly snížení antimikrobiální aktivity u většiny vzorků medů z obou zemí. To by podle nich mohlo být způsobeno rozdílnými zdroji nektaru a zeměpisných poloh jednotlivých vzorků medů, jelikož mohou obsahovat organické kyseliny a enzymy citlivé na teplo.

Ahmed a Khiati (2016) se ve své práci zabývali zhodnocením vlivu tepelného zpracování na antibakteriální schopnosti saharského medu na bakterii *S. aureus*. Vzorky byly testovány při teplotách 25, 50, 75 a 100 °C po dobu 15, 30 a 60 minut. Z výsledků je patrné, že nezahřátý a tepelně ošetřený saharský med vykazoval inhibiční účinky vůči *S. aureus* s různou mírou inhibice růstu. Avšak u zahřívání při vyšších teplotách, tedy 75 a 100 °C k inhibici nedošlo.

Obsah vody je důležitým kritériem kvality, aby byla kvalita medu zachována a nedocházelo k nežádoucí fermentaci, měl by být obsah vody v medu optimálně okolo 18 %. Dle České národní legislativy by měl být maximální obsah vody 20 % (Vyhláška č. 76/2003 Sb.). Stanovení vlhkosti medu bylo s menšími úpravami provedeno metodikou vydanou IHC (2009). U námi naměřených vzorků přesahovalo zmíněných 20 % 6 vzorků z 12 (4 nativní, 2 vysušené). Dle výsledků bylo zjištěno, že u vysušených medů (V) klesl obsah vody o 1,6 %, ani to však nepomohlo, aby se oba výše zmíněné vzorky dostaly pod 20 %. U třech testovaných vzorků byl naměřen obsah vody větší než 21 %, u těchto medů se nedoporučuje delší skladování.

Měrná elektrická vodivost je u medů velmi nízká. Tato hodnota se liší u jednotlivých druhů medů na základě jejich původu, přičemž hraniční hodnotou je 80 mS/m. Květové medy by měli mít hodnotu konduktivity nejvýše 80 mS/m, medovicové medy by měly mít hodnotu více jak 80 mS/m (Vyhláška č. 76/2003 Sb.). Stanovení měrné elektrické vodivosti byla s několika málo úpravami provedeno podle IHC (2009). Změna byla provedena u přípravy vzorků medů. Podle IHC (2009) by měl být med s 20 % obsahem sušiny rozmíchán ve 100 ml, avšak my jsme získané hodnoty přepočítali pro 50 ml. Všechny námi měřené vzorky medů se se svými hodnotami pohybovaly do 80 mS/m (největší naměřená hodnota byla 49,0 mS/m), tudíž se nám potvrdilo, že se jedná o vzorky květových medů. Také byly vyzorovány zvýšené hodnoty u vysušených medů, oproti nativním medům, to by mohlo být pravděpodobně způsobeno důsledkem nižšího obsahu vody a tím větší koncentrací pevných vodivých částic.

Výsledky neodhalily žádnou souvislost mezi měrnou elektrickou vodivostí a obsahem vody v medech, měrná elektrická vodivost spíše souvisí se složením jednotlivých medů.

## 6 Závěr

Jak je již známo medy se od sebe v mnoha ohledech liší, především v závislosti na jejich složení a původu. Kvalita medu je taky ovlivněna jeho vznikem a manipulací při jeho získání, balení a skladování. V dnešní době je ve velké oblibě kupovat tekutý med nebo jej po krystalizaci ztekucovat. Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, jaký vliv má ztekucování a vysoušení medů na jejich antimikrobiální aktivitu na G+ bakterii *S. aureus*. Tato práce se zabývala několika tepelnými úpravami (vysoušením, zahříváním ve vodní lázni při 50 °C a zahříváním v mikrovlnné troubě). Bylo prokázáno, že tepelná úprava má viditelný vliv na snížení antimikrobiální aktivity medů, a to především zahříváním v mikrovlnné troubě. U tepelné úpravy vysoušením a zahříváním ve vodní lázni při 50 °C se antimikrobiální aktivita snížila pouze minimálně. Dalo by se tedy říci, že nejlepším způsobem ztekucování medu, aniž by došlo k výrazné ztrátě antimikrobiální aktivity, je zahřívání ve vodní lázni při 50 °C. Na základě měření vlhkosti a měrné vodivosti medu bylo také ověřeno, že všechny použité medy jsou květového původu.

## Seznam použitých zdrojů

- 1) AHMED, M., KHIATI, B., 2016. Colour Intensity, Polyphenol Content and Antibacterial Capacity of Unheated and Heat-Treated Sahara Honey. 7(6). DOI: 10.4172/2157-7110.1000589. ISSN 21577110. Dostupné z: <https://www.omicsonline.org/open-access/colour-intensity-polyphenol-content-and-antibacterial-capacity-of-unheated-and-heattreated-sahara-honey-2157-7110-1000589.php?aid=74353>
- 2) AURONGZEB, M., AZIM, M.K., 2011. Antimicrobial properties of natural honey. Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 44(3), 118-124. Dostupné z: [http://www.pjmb.org.pk/images/PJBMBArchive/2011/PJMBB\\_44\\_3\\_Sep\\_2011/08.pdf](http://www.pjmb.org.pk/images/PJBMBArchive/2011/PJMBB_44_3_Sep_2011/08.pdf)
- 3) BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ V., SCHINDLER J., VÁVRA J. a SOUČEK A. Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie. Praha: Triton, 1996. ISBN 80-2380-297-6.
- 4) BENEŠ, J., 2009. Infekční lékařství. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-644-1.
- 5) BUCEKOVA, M. et al., 2018a. Effect of thermal liquefying of crystallised honeys on their antibacterial activities. Food Chemistry. 269, 335-341. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.012. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618311531>
- 6) BUCEKOVA, M. et al., 2018b. Microwave processing of honey negatively affects honey antibacterial activity by inactivation of bee-derived glucose oxidase and defensin-1. Food Chemistry. 240, 1131-1136. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.08.054. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617313894>
- 7) CONRAD, R., 2015. Storage issues: Tanks, honey, supers... Where to put it all. Bee Culture: The Magazine of American Beekeeping. 2015. Dostupné z: <https://www.beeculture.com/storage-issues-tanks-honey-supers-where-to-put-it-all/>

- 8) CHANG, Y., LEE, J.-H., SHIN, H., HEU, S., RYU, S., 2013. Characterization and complete genome sequence analysis of Staphylococcus aureus bacteriophage SA12. *Virus Genes*. 47(2), 389-393. DOI: 10.1007/s11262-013-0938-7. ISSN 0920-8569. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11262-013-0938-7>
- 9) CRAMP, D., 2014. Včelařství. Rebo, s. 28-153. ISBN 978-80-255-0831-2.
- 10) ESSERS, L., RADEBOLD, K., 1980. Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus by a latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology*. 12(5), 641-643. DOI: 10.1128/jcm.12.5.641-643.1980. ISSN 0095-1137. Dostupné z: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.12.5.641-643.1980>
- 11) GORDON, R. J., LOWY, F. D., 2008. Pathogenesis of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 46(S5), S350-S359. DOI: 10.1086/533591. ISSN 1058-4838. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/533591>.
- 12) GREENWOOD, D., BARER, M., SLACK, R., IRVING, W., 2012. *Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections*. Elsevier. ISBN 978-0-7020-4089-4.
- 13) GREENWOOD, D., PEUTHERER, J., SLACK R., 1999. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Praha: Grada. ISBN 80-716-9365-0.
- 14) HOLDERNA-KEDZIA, E., KEDZIA, B., 2022. *Léčba medem*. Bookmedia, s. 18-32. ISBN 978-80-7639-139-0.
- 15) HORÁČEK, J., 2000. *Základy lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0006-4.
- 16) HURYCH, J., ŠTÍCHA, R., 2020. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. Praha: Triton, s. 76-81. ISBN 978-80-7553-844-4.
- 17) IDREES, M., SAWANT, S., KARODIA, N., RAHMAN, A., 2021. Staphylococcus aureus Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public*



- Health. 18(14). DOI: 10.3390/ijerph18147602. ISSN 1660-4601. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/14/7602>
- 18) IHC, 2009. Harmonised methods of the International Honey Commission. Dostupné z: <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- 19) ISRAILI, Z.H., 2014. Antimicrobial Properties of Honey. American Journal of Therapeutics. 21(4), 304-323. DOI: 10.1097/MJT.0b013e318293b09b. ISSN 1075-2765. Dostupné z: <https://journals.lww.com/00045391-201407000-00013>
- 20) JIRUŠ, K., PRÝMAS, L., TEXL, P., 2022. Včelařství: svazek 4. Pracovní společnost nástavkových včelařů CZ, s. 9-41. ISBN 978-80-907079-5-5.
- 21) KUDA, T., SHIMIZU, K., YANO, T., 2004. Comparison of rapid and simple colorimetric microplate assays as an index of bacterial count. Food Control. 15(6), 421-425. DOI: 10.1016/S0956-7135(03)00116-6. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713503001166>
- 22) KOWALSKA-KROCHMAL, B., DUDEK-WICHER, R., 2021. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. Pathogens. 10(2). DOI: 10.3390/pathogens10020165. ISSN 2076-0817. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/2/165>
- 23) MANDAL, M.D., MANDAL, S., 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 1(2), 154-160. DOI: 10.1016/S2221-1691(11)60016-6. ISSN 22211691. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221169111600166>
- 24) MAT RAMLAN, N.A.F., MD ZIN, A.S., SAFARI, N.F., CHAN, K.W., ZAWAWI, N., 2021. Application of Heating on the Antioxidant and Antibacterial Properties of Malaysian and Australian Stingless Bee Honey. Antibiotics. 10(11). DOI: 10.3390/antibiotics10111365. ISSN 2079-6382. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/11/1365>
- 25) MELTER, O., MALMGREN, A., 2014. Principy a praktika lékařské mikrobiologie. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-2414-3.

- 26) MILJKOVIĆ-SELIMOVIĆ, B., DINIĆ, M., ORLOVIĆ, J., BABIĆ, T., 2015. Staphylococcus aureus: Immunopathogenesis and Human Immunity. Acta Facultatis Medicae Naissensis. 32(4), 243-257. DOI: 10.1515/afmnai-2015-0025. ISSN 2217-2521. Dostupné z: <http://archive.sciendo.com/AFMNAI/afmnai.2015.32.issue-4/afmnai-2015-0025/afmnai-2015-0025.pdf>
- 27) OSÉS, S.M. et al., 2016. Comparison of methods to determine antibacterial activity of honeys against Staphylococcus aureus. NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences. 78(1), 29-33. DOI: 10.1016/j.njas.2015.12.005. ISSN 1573-5214. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1016/j.njas.2015.12.005>
- 28) PARVEKAR, P., PALASKAR, J., METGUD, S., MARIA, R., DUTTA, S., 2020. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against Staphylococcus aureus. Biomaterial Investigations in Dentistry. 7(1), 105-109. DOI: 10.1080/26415275.2020.1796674. ISSN 2641-5275. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/26415275.2020.1796674>
- 29) PASCUAL-MATÉ, A., OSÉS, S.M., FERNÁNDEZ-MUIÑO, M.A., SANCHO, M.T., 2018. Methods of analysis of honey. Journal of Apicultural Research. 57(1), 38-74. DOI: 10.1080/00218839.2017.1411178. ISSN 0021-8839. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2017.1411178>
- 30) PETON, V., LE LOIR, Y., 2014. Staphylococcus aureus in veterinary medicine. Infection, Genetics and Evolution. 21, 602-615. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.08.011. ISSN 15671348. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134813003079>
- 31) SCHINDLER, J., 2014. Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, s. 34. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.
- 32) SOLAYMAN, M. et al., 2016. Physicochemical Properties, Minerals, Trace Elements, and Heavy Metals in Honey of Different Origins: A Comprehensive Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 15(1), 219-

233. DOI: 10.1111/1541-4337.12182. ISSN 15414337. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12182>
- 33) SUBRAMANIAN, R., UMESH HEBBAR, H., RASTOGI, N.K., 2007. Processing of Honey: A Review. *International Journal of Food Properties*. 10(1), 127-143. DOI: 10.1080/10942910600981708. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10942910600981708>
- 34) ŠVAMBERK, V., 2000. Tajemný svět včel. Víkend, s. 35-46. ISBN 8072221205.
- 35) TAORMINA, P.J., NIEMIRA, B.A., BEUCHAT, L.R., 2001. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*. 69(3), 217-225. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00505-0. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160501005050>
- 36) THAKARE, R. et al., 2017. Repurposing Ivacaftor for treatment of *Staphylococcus aureus* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 50(3), 389-392. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.020. ISSN 09248579. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857917302492>
- 37) VALACHOVÁ, I., BUČEKOVÁ, M., MAJTÁN, J., 2016. Quantification of bee-derived peptide defensin-1 in honey by competitive enzyme-linked immunosorbent assay, a new approach in honey quality control. *Czech Journal of Food Sciences*. 34(3), 233-243. DOI: 10.17221/422/2015-CJFS. ISSN 12121800. Dostupné z: <http://cjfs.agriculturejournals.cz/doi/10.17221/422/2015-CJFS.html>
- 38) VESELÝ, V., 2003. Včelařství. Praha: Brázda, 231-238. ISBN 80-209-0320-8.
- 39) Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládou a čokoládové bonbony, ve znění pozdějších předpisů. 2003. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76#oddil2>
- 40) VOTAVA, M., 2003. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun. ISBN 80-902-8966-5.

41) VOTAVA, M., 2010. Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody. Brno: Neptun. ISBN 978-808-6850-047.

## **Seznam obrázků**

Obrázek 1 Zhotovené mikrotitrační destičky pro stanovení MIC .....	22
Obrázek 2 Stanovení MBC na Petriho miskách .....	23

## Seznam použitých tabulek

Tabulka 1 Složení medu (Holderna-Kedzia a Kedzia, 2022) .....	14
Tabulka 2 Popis použitých medů .....	20
Tabulka 3 Vztah mezi obsahem vody v medu a indexem lomu (IHC, 2009) .....	27
Tabulka 4 Hodnoty MIC a MBC u stočených medů (v %) .....	30
Tabulka 5 Hodnoty MIC a MBC u vysušených medů (v %) .....	30
Tabulka 6 Hodnoty MIC a MBC u medů zahřátých při 50 °C (v %) .....	31
Tabulka 7 Hodnoty MIC a MBC u medů zahřátých v mikrovlnné troubě (v %) .....	31
Tabulka 8 Hodnoty obsahu vody u nativních medů (v %) .....	31
Tabulka 9 Hodnoty obsahu vody u vysušených medů (v %) .....	32
Tabulka 10 Hodnoty měrné elektrické vodivosti u nativních medů (v mS/m) .....	32
Tabulka 11 Hodnoty měrné elektrické vodivosti u vysušených medů (v mS/m) .....	32

## Seznam použitých zkratek

CCM = Czech Collection of Microorganisms

č. = číslo

EU = Evropská unie

MBC = minimální baktericidní koncentrace

MHA = Mueller-Hinton agar

MHB = Mueller-Hinton bujon

MIC = minimální inhibiční koncentrace

MRSA = meticilin vankomycin rezistentní *S. aureus*

např. = například

popř. = popřípadě

Sb. = sbírky

tj. = to jest

tzn. = to znamená

VRSA = vankomycin rezistentní *S. aureus*

w/v = hmotnost/objem