

## Formulár ZK - Záverečná karta projektu

<b>Riešiteľ:</b> Doc.RNDr. V.Majtán, CSc., mim.prof.	<b>Evidenčné číslo projektu:</b> APVT 21-052602
<b>Názov projektu:</b> Štúdium variability klinických izolátov salmonel v SR.	

<b>Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:</b>	Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava
	Katedra molekulárnej biológie PRIF-UK, Bratislava
	Ústav molekulárnej biológie, SAV, Bratislava
<b>Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):</b>	

<b>Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:</b>	
<b>Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované):</b>  <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>Majtán, V.</u>, Majtán, T., Majtán, J., Szaboová, M., Majtánová, L.: Salmonella enterica Serovar Kentucky: Antimicrobial resistance and molecular analysis of clinical isolates from the Slovak Republic. Jpn. J. Infect Dis., 59, 358-362,2006.</li> <li>2. Drahovská H., Mikasová E., Szemes T., Ficek A., Sásik M., Majtán V., Turňa J. Variability in occurrence of multiple prophage genes in <i>Salmonella</i> Typhimurium strains isolated in Slovak Republic. FEMS Microbiol. Letters 270, 237-244,2007</li> <li>3. Majtánová, L., Majtán, T., <u>Majtán, V.</u>: Molecular characterization of Class 1 Integrons in Clinical strains of Salmonella Typhimurium isolated in Slovakia. Polish J Microbiology, 56, 19-23, 2007.</li> <li>4. Majtánová, L., <u>Majtán, V.</u>: Molecular characterization of the multidrug-resistant phage types Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104, DT20 and DT120 strains in the Slovakia. Microbiol Res 2007, doi:10.1016/j.micres.2006.11.010.</li> <li>5. Majtán, T., Majtánová, L., Timko, J., Majtán, V.: Oligonucleotide microarray for molecular characterization and genotyping of Salmonella spp. strains. J Antimicrob. Chemother. Zadané do tlače 2007.</li> </ol>
<b>V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:</b>	Získané výsledky fenotypovej a genotypovej variability dominantných sérovarov salmonel v SR umožňujú získať informáciu o spôsobe šírenia v prostredí a prispievajú k skvalitneniu protiepidemických opatrení pri prevencii salmonelóz.

**Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas ku zverejneniu údajov v nej uvedených.**

**Podpis riešiteľa:** .....

**Dátum:** ..20.07.2007

# Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVT 21-052602

## Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Hlavným cieľom projektu bolo využitím molekulárno-biologických a fenotypových typizačných metód získať nové údaje o virulencných vlastnostiach klinických izolátov dominantných sérovarov salmonel a sledovaním ich variability prispieť k objasneniu epidemiologických súvislostí medzi kmeňmi. Identifikovali sme fágotypy kmeňov *S. Enteritidis*, kde dominoval fágotyp PT8 a *S. Typhimurium*, s najčastejším fágotypom DT104. Zistili sme významnú rezistenciu a multirezistenciu voči antibiotikám kmeňov *S. Typhimurium*, na rozdiel od kmeňov *S. Enteritidis*. Multirezistenciou sa vyznačovali aj kmene *S. Kentucky*. PCR analýzou sme detekovali u rezistentných kmeňov integróny triedy 1 s rôznou veľkosťou amplikónov, obsahujúcich kazety génov rezistencie na antibiotiká. Jeden izolát *S. Kentucky* produkoval ESBL a 3 izoláty *S. Typhimurium* produkovali plazmidom-sprostredkovanú AmpC  $\beta$ -laktamázu. U študovaných sérovarov salmonel sme zistili variabilitu hydrofóbnosti ich bunkového povrchu, motility ako aj v schopnosti produkcie biofilmu, ale všetky obsahovali gén *stn* kódujúci produkciu enterotoxínu. U kmeňov sme identifikovali ich plazmidový profil so zameraním na prítomnosť sérovar-spezifického plazmidu virulencie. Dendrogramy z výsledkov pulznej gélovej elektroforézy (PFGE) ukázali, že na území SR sa nachádzajú rôzne klony *S. Typhimurium*. Menšia genetická diverzita sa pozorovala u kmeňov *S. Enteritidis* a *S. Kentucky*. Kmene *S. Typhimurium* a *S. Enteritidis* sme typizovali okrem PFGE aj metódami AFLP a MLVA, ktoré umožňujú zisťovať variabilitu na úrovni celého genómu. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že obe sú vhodné na diskrimináciu kmeňov pri epidemiologických štúdiách tam, kde PFGE nie je dostatočne diskriminačná. Zároveň sme zistili veľkú variabilitu profágových génov u kmeňov salmonel, čo umožňuje tiež sledovať evolúciu nových kmeňov sprostredkovanú horizontálnym prenosom génov. Navrhli sme 66 selektívnych oligonukletidových prôb na sledovanie faktorov virulencie kódovaných na ostrovoch patogenity (SPI) ako aj distribúciu génov rezistencie na antibiotiká. Oligonukletidová microarray odhalila konzervovaný charakter faktorov virulencie v SPI u študovaných sérovarov salmonel, významnú variabilitu v profágových sekvenciách a prítomnosť viacerých rôznych génov rezistencie. Tento „salmonella-specific resisto-pathochip“ sa ukázal použiteľný nástroj pre monitorovanie génov virulencie a rezistencie súčasne, ich rozšírenia ako aj bázou pre následné určenie epidemiologických súvislostí medzi kmeňmi.

## Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

The main aim of the project was to ascertain by the molecular-biological and phenotype methods new data about the virulence properties of the clinical isolates of predominant salmonella serovars and by following their variability to contribute to clarify of the epidemiological linkage among the strains. We identified the phage types of *S. Enteritidis* strains with dominant of the phage type PT8 and *S. Typhimurium* with the most frequent DT104 phage type. We ascertained the significant resistance and multidrug resistance to antibiotics of *S. Typhimurium* in contrast to *S. Enteritidis* strains. Multidrug resistance was marked also in *S. Kentucky* strains. By PCR analysis in the resistant strains the class 1 integrons with different amplicon sizes, possessed the resistance gene cassettes were found. One *S. Kentucky* isolate produced ESBL and three *S. Typhimurium* isolates produced a plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase. In studied salmonella serovars we found the variability of the hydrophobicity, motility as well as the production of biofilm, however, the all strains contained *stn* gene, encoded the enterotoxin production. The plasmid profile with a view to serovar-specific virulence plasmid, was identified. The PFGE dendrograms showed that the various *S. Typhimurium* clones are occur in the SR. The minor genetic diversity of *S. Enteritidis* and *S. Kentucky* strains was observed. The *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* strains were typed also by AFLP and MLVA methods, which enable to ascertain the variability of the total genome. Based on the results obtained, it is possible to state that both these methods are suitable for the discrimination of strains for the epidemiological studies, where PFGE is not successful. Simultaneously, great variability of prophage genes in salmonella strains was found. This enables to follow the evolution of new strains mediated by the horizontal gene transfer. For following the virulence factors encoded in the pathogenicity islands (SPI) as well as the distribution of antibiotic resistance genes, 66 selective oligonucleotide probes were proposed. Oligonucleotide microarray revealed the conserved character of virulence factors in the SPI, significant variability of the prophage sequences and the presence of more different resistance genes. This „salmonella-specific resisto-pathochip“ is an utilizable tool for the monitoring of resistance and virulence genes simultaneously, their spreading as well as it is the basis for determination of the epidemiological linkages among the strains.

Podpis riešiteľa: .....