

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Ing. Eva Kačíková, CSc.	Evidenčné číslo projektu: : APVV-27-9705
Názov projektu: Štúdium variability teplotnej rezistencie kmeňov <i>Enterobacter sakazakii</i> použitím molekulárno-biologických metód	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Výskumný ústav potravinársky v Bratislave
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	–

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	–
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	Krascenicsová, K. - Trnčíková, T. - Kačíková, E.: Detection and quantification of <i>Enterobacter sakazakii</i> by real-time 5'-nuclease polymerase chain reaction targeting the <i>palE</i> gene. <i>Food Analytical Methods</i> . 1. č. 2. 2008. s. 85-94. Oravcová, K. - Krascenicsová, K. - Kačíková, E.: Identification of thermotolerant <i>Enterobacter sakazakii</i> strains using multiplex real-time PCR. <i>Food Micro 2008, Abstract Book</i> . 21. 2008. 243. Trnčíková, T. - Krascenicsová, K. - Kačíková, E.: A method for the next-day detection of <i>Enterobacter sakazakii</i> in milk-powder based food products using real-time PCR. <i>Food Micro 2008. Abstract Book</i> . 21. 2008. 243. Gajdošová J., Kuniková K., Turcovský I., Kačíková E., Drahovská H. Study of thermal tolerance in <i>Cronobacter</i> strains. Poster on 34 th FEBS Congress, Prague, Czech Republic 4-9. 7. 2009. Abstract in <i>FEBS Journal V276. Supplement 1, page 103</i> . Turcovský, I., Kačíková, E.: Použitie Real-Time PCR na identifikáciu termotolerantných kmeňov <i>Cronobacter</i> sp. Seminár Aktuálne otázky stanovneia špecifickí DNA ako analytického cieľa. Zborník. ISBN: 978-80-89-88-84-3. s. 106.
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	- originálna real-time PCR detekčná metóda – aplikácia v kontrole potravín - biotypizačná metóda AFLP – odlíšenie druhov podľa novej taxonómie rodu <i>Cronobacter</i> - hodnotenie termorezistencie <i>Cronobacter</i> sp. – riziko prítomnosti v dojčenskej výžive

Charakteristika výsledkov

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

Cieľom projektu bolo štúdium teplotnej rezistencie *Cronobacter* sp. (*E. sakazakii*) z hľadiska hodnotenia variability teplotnej rezistencie *Cronobacter* sp. v korelácii s genetickými vlastnosťami. Celkový počet 103 kmeňov *Cronobacter* sa použilo na identifikáciu. Biochemická charakterizácia sa vykonala použitím API 20E doplnenej ďalšími skúškami, ktoré umožnili druhovú klasifikáciu a zadelenie analyzovaných kmeňov do 13 biotypov. Molekulárna identifikácia sa vykonala použitím rodovo-špecifickej PCR a sekvenovaním 16S rRNA. AFLP-genotypizáciou sa rozlíšilo 6 hlavných skupín na úrovni podobnosti 70 %. Rozdelenie kmeňov korelovalo jednoznačne s druhovou identifikáciou a biochemickými vlastnosťami. Na základe výsledkov inhibície viability pri 58 °C sa kmene *Cronobacter* rozdelili do 2 skupín. Jedenásť kmeňov sa vyhodnotilo ako termorezistentné so stanovenými D_{58} -hodnotami 102 až 214 s a korelovalo s pozitívnou PCR pre Thr-marker Mfla_1165. Niekoľko ďalších termorezistentných bakteriálnych kmeňov čeľade *Enterobacteriaceae* boli tiež pozitívne na Mfla_1165 marker. Vzájomná podobnosť medzi sekvenciami kmeňov *Cronobacter* a iných kmeňov *Enterobacteriaceae* bola 99-100% a nekorešpondovala s fylogenetickou príbuznosťou na základe AFLP-typizácie a 16S rRNA-sekvenovania. Tieto pozorovania by mohli naznačovať možný horizontálny transfer regiónu termorezistencie u *Cronobacter* sp. Kmene *Cronobacter* identifikované ako najtermorezistentnejšie sa použili na určenie termorezistencie pri teplotách od 50 °C do 58 °C a vypočítali sa D - a z -hodnoty. Na základe našich výsledkov a zohľadňujúc teplotu odporúčanú na rehydratáciu PIF, schopnosť prežívania kmeňov *Cronobacter* strains by mohla byť významný rizikový faktor v spojení s ich možnou prítomnosťou v uvedených výrobkoch určených hlavne pre novorodencov.

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

The target of the project was the study of thermal resistance of *Cronobacter* (*E. sakazakii*) from the aspect of evaluation of thermal resistance variability of *Cronobacter* strains in correlation to their genetic properties. A total of 103 *Cronobacter* strains were subjected to identification. Biochemical characterization was performed using API 20E complemented with additional tests facilitating species classification and differentiation of analysed strains to 13 biogroups. Molecular identification was performed using genus-specific PCR and 16S rRNA sequencing. AFLP genotyping facilitated discrimination of six main groups at 70 % similarity level. Strain grouping correlated clearly with species identification and biochemical properties. Based upon the results of the viability inhibition at 58 °C *Cronobacter* strains were separated into two groups. Eleven strains were assessed as thermotolerant with estimated D_{58} -values from 102 to more than 214 s and correlated with positive PCR for Thr-marker Mfla_1165. Several other termoresistant bacterial strains belonging to the *Enterobacteriaceae* were also positive to Mfla_1165 marker. The mutual similarity between sequences from *Cronobacter* strains and other *Enterobacteriaceae* strains were 99-100% and did not correspond with phylogeny based on AFLP-typing and 16S rRNA-sequencing. These observations should imply possible horizontal transfer of thermotolerance region in *Cronobacter* spp. *Cronobacter* strains identified as the most heat resistant were used to determine the heat resistance at 50 to 58 °C and D - and z -values were calculated. Based on our results and concerning the temperature recommended for PIF reconstitution, surviving ability of *Cronobacter* strains could be important risk factor related to their potential presence in PIF products intended mainly for neonates.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:

Dátum:

Podpis štatutárneho zástupcu:

Pečiatka: