

## OPONENTSKÝ POSUDOK

na dizertačnú prácu „Charakteristika vybraných kmeňov „*Streptococcus salivarius*  
subsp. *thermophilus*“

Autorka: Ing. Zuzana Vaňátková

*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* môže byť považovaný za druhý po *Lactococcus lactis* najdôležitejší druh priemyselne využívaných baktérií mliečneho kvasenia. *S. thermophilus* je jedinou baktériou mliečneho kvasenia vykazujúci výraznú ureázovú aktivitu. Pre mliekarenský priemysel je taktiež významná schopnosť *S. thermophilus* produkovať extracelulárne polysacharidy. Bakteriocíny kmeňov *S. thermophilus*, známe ako thermophilíny sú tepelne stabilné a sú, na rozdiel od níziny aktívne počas širokého rozpätia pH hodnôt. Z dôvodu rýchlejšej a presnejšej charakteristiky baktérií sa v súčasnosti dostávajú do popredia genotypické techniky. Súčasné poznatky upozorňujú na selektívny tlak antibiotík na baktérie mliečneho kvasenia širokým využívaním týchto látok. Daný tlak by mohol prispieť k šíreniu rezistencie štartovacích kultúr používaných pri výrobe mliečnych výrobkov. Baktérie mliečneho kvasenia majú totiž potenciál slúžiť ako hostitelia antibioticky rezistentných génov s rizikom prenosu medzi mnohými baktériami mliečneho kvasenia a patogénnymi baktériami.

Predložená dizertačná práca je svojou kompozíciou vhodnou kombináciou literárnej kompilácie, ale predovšetkým uskutočnených experimentov a vlastných názorov.

Pri štúdiu a spracovaní literatúry autorka svoju pozornosť zamerala na charakteristiku *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, heteropolysacharidy *S. thermophilus* a aplikáciu exopolysacharidou, proteolitický systém a biogénny amíny. Ďalej svoju pozornosť autorka venovala rezistencii na antibiotiká a bakteriocíny. V závere prehľadu literatúry autorka charakterizuje metódy molekulárnej biológie. Táto kapitola je stručnou ale výstižnou kompiláciou vedeckých poznatkov a tvorí 40 % za ostatných 5 rokov.

Cieľ doktorandskej práce v koncíznej forme definuje determinovaný vedecký problém v štyroch hlavných cieľoch v závislosti od vybraných vlastností *S. thermophilus*. Hlavnými cieľmi práce bolo posúdenie fyziologických vlastností kmeňov *S. thermophilus* z hľadiska technológie a bezpečnosti potravín. Ďalej bolo cieľom práce určiť významné vlastnosti kmeňov *S. thermophilus* pre výrobu fermentovaných mliečnych výrobkov, stanoviť dôležité vlastnosti

ovplyvňujúce bezpečnosť potravín, zistiť antibakteriálnu aktivitu kmeňov a overiť využiteľnosť metód molekulárnej biológie v diagnostike *S. thermophilus*.

Metodika dizertačnej práce podrobne opisuje použité mikroorganizmy, kultiváciu použitých mikroorganizmov, kultivačné metódy, stanovenie aminokyselín a biogénnych amínov iontovou výmennou chromatografiou, metódy molekulárnej biológie a štatistické vyhodnotenie výsledkov.

Kapitola Výsledky a diskusia je spracovaná na 38 stranách, čo predstavuje 32 % rozsahu z celkovej práce.

Autorka spracovala výsledky práce, pričom vyhodnocuje vybrané technologické vlastnosti ako acidifikačnú aktivitu a produkciu exopolysacharidov, vybrané vlastnosti *S. thermophilus* ako stanovenie aminokyselín, biogénnych amínov a testovanie antibiotickej rezistencie, inhibičné účinky kmeňov *S. thermophilus* ako sú Spot test, Deferred metóda, jamková difúzna metóda, modelový systém UHT mliek, metóda s BCP agarom a molekulárnu diagnostiku *S. thermophilus* ako sú PCR, RAPD analýza, SDS-PAGE analýza, PCR detekcia eps a tdc génu a thermophilinu 13. V kapitole diskusia autorka vhodne porovnáva dosiahnuté výsledky s výsledkami iných autorov.

V závere sú zhrnuté vlastné výsledky v konfrontácii s vytýčenými cieľmi. Na základe analýzy výsledkov riešenia autorka explicitne zistila, že všetky študované kmene *S. thermophilus* sú vhodné k výrobe fermentovaných mliečnych výrobkov. Ďalej autorka zistila, že metabolizmus močoviny nemá žiadny vplyv na acidifikačnú aktivitu daných kmeňov. Z hľadiska technologicko významnej produkcie exopolysacharidov možno konštatovať, že dané kmene môžu prispieť ku zlepšeniu textúry a reologických vlastností fermentovaných mliečnych výrobkov. Pri štúdiu antibakteriálneho pôsobenia daných kmeňov bola metódou PCR preukázaná prítomnosť génu pre thermophilin 13 u 8 z 12 testovaných kmeňov. Ďalej autorka konštatuje, že pomocou streptokokov možno kontrolovať výskyt a množenie bacilov a listérií vo fermentovaných mliečnych výrobkoch a to predovšetkým vďaka ich produkcii kyseliny mliečnej a zrejme aj thermophilinu. Autorka overila vhodnosť molekulárno biologických metód na identifikáciu a typizáciu a diverzifikáciu študovaných kmeňov.

V závere práce autorka uviedla syntézu vlastných výsledkov pretvorených do teórie s možnosťou ich uplatnenia v praxi.

## Záver

Predložená doktorandská práca spĺňa vecné a formálne kritériá pre tento druh práce. Je spracovaná na dobrej kvalitatívnej úrovni. K práci mám len nasledovné pripomienky a otázky, ktoré sú len formálneho charakteru a neznižujú celkovú úroveň práce. Chyby práce sú vyznačené priamo v texte práce. V obsahu nie sú názvy mikroorganizmov kurzívou. V práci mi chýba kapitola Úvod. Percentá, sekundy a gramy by mal byť za číslom po medzere. V názve tabuliek a obrázkov sa nedávajú na konci bodky. Priemery inhibičných zón sú uvedené v mm a cm, malo by to byť jednotné. Na str. 11 a 15 sa opakujú citácie. V závere mi chýba zhrnutie antimikrobiálnej rezistencie. Prečo sa na testovanie citlivosti na antibiotiká použila denzita 2 McF? Prečo sa na testovanie antimikrobiálnej rezistenice použil agar M17? Podľa CSLI, BSAC sa používa Muller Hinton agar alebo ISO-SENSITEST agar. Prečo ste na vyhodnotenie výsledkov použili BSAC, keď podľa najnovších výsledkov sa vyhodnocuje rezistencia podľa CSLI alebo EUCAST?

Práca je prínosom nových poznatkov pri ďalšom skúmaní súvislostí metabolizmu aminokyselín s tvorbou biogénnych amínov, navrhnutím stanovovania týchto látok chromatografickou metódou, využitie kombinácie metódou PCR s kultivačnou alebo chromatografickou. Na záver práca uvádza, že z hľadiska bezpečnosti a technológie potravín bol vytipovaný kmeň CCDM 69 ako najvhodnejší k výrobe fermentovaných mliečnych výrobkov.

Na základe uvedeného **odporúčam** predloženú doktorandskú prácu „Charakteristika vybraných kmeňov „*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*“ obhajovať pred komisiou a po úspešnej obhajobe **udelit'** Ing. Zuzane Vaňátkovej **vedecko-akademický titul philosophiae doctor „PhD“**.

V Nitre 25. 5. 2010

doc. Ing. Miroslava Kačániová, PhD.  
Katedra mikrobiológie, FBP, SPU v Nitre