

## **Název projektu: Stanovení mykotoxinu ochratoxinu A pomocí ELISA testu**

### **Specifikace řešitelského týmu**

**Odpovědný řešitel:** Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D., katedra biologie, PřF UHK

**Student PřF UHK:** Jan Myšák (ID20073), P-SBN, 5. r., PřF UHK

### **Anotace:**

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity produkované širokou škálou mikroskopických vláknitých hub. Hlavním cílem tohoto projektu bylo zavést metodu měření Ochratoxinu A pomocí přístroje - detekční soupravy ELISA. Z analýz vzorků bylo získáno dostatek výsledků, použitelných pro zjištění citlivosti daného přístroje. Ve spolupráci se Zdravotním ústavem v Hradci Králové byly testy provedeny na vybraných vzorcích, kde byl ochratoxin A již prokázán metodou měření pomocí HPLC. Tímto způsobem je možné definovat citlivost použitých testovacích sad a získat důležitá data také pro publikační výstup tohoto projektu. Do projektu byl také zapojen student pátého ročníku magisterského studijního oboru „Systematická biologie a ekologie“.

**Celková částka přidělené dotace: 75 000,- Kč**

### **Stručný popis postupu při řešení projektu**

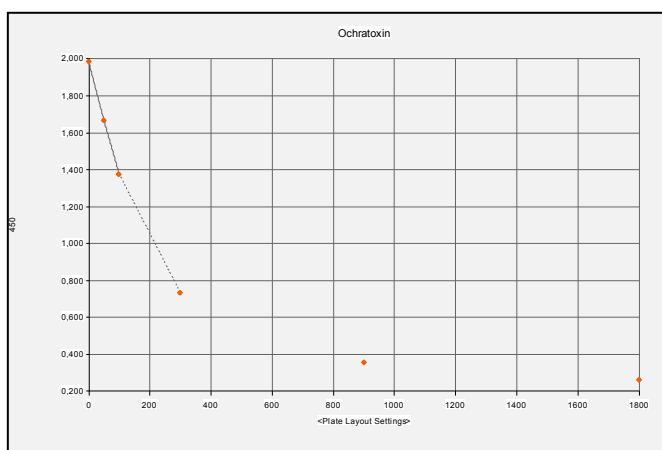
Při produkci ochratoxinů se uplatňují především vláknité houby *Aspergillus ochraceus* (v tropických a subtropických oblastech) a *Penicillium viridicatum* (v chladných oblastech), který produkuje nejtoxičtější mykotoxin této skupiny, ochratoxin A, který je nejvýznamnější zástupcem této skupiny. Přirozeně se vyskytuje v cereáliích a cereálních produktech, v zelených kávových bobech a hojně v silážích. Jde o termostabilní toxin, tudíž není destruován při tepelné úpravě krmiv a potravin. Vedle rostlinných produktů lze nalézt Ochratoxin A též v orgánech hospodářských zvířat. Stopové koncentrace byly prokázány v mase. Určitou výhodou z hlediska bezpečnosti potravin je, že se jen nepatrně kumuluje v živočišných tkáních, takže potraviny živočišného původu nepředstavují pro člověka vážné zdravotní riziko. Nejzávažnějším biologickým účinkem zaznamenaným u zvířat exponovaných ochratoxinem A je nefrotoxicita, genotoxicita a karcinogenita. U člověka je expozice spojována s balkánskou endemickou neuropatií a nádory ledvin. Při prováděném průzkumu byl zjištěn častý výskyt ochratoxinu A v krevní plasmě u 50 % testované populace.

Na našem pracovišti jsme nově vybaveni přístrojovou sadou ELISA test od firmy Bio-Tek, s možnostmi kvalitativního i kvantitativního stanovení mykotoxinu ochratoxinu A.

V rámci tohoto projektu byl stanoven mykotoxin Ochratoxin A u vzorků biologického charakteru. Byly vybrány různé vzorky potravin a také vzorky lidských sér. Vlastnímu stanovení mykotoxinu ochratoxinu A předchází několik na sebe navazujících kroků, na kterých se aktivně podílel také jmenovaný student. Jsou to - odběr a úprava vlastního vzorku, jejich extrakce, přečištění a vlastní identifikace a kvantifikace.

### Splnění cílů a přínos projektu

Hlavním cílem tohoto projektu bylo zavést tuto metodu měření ochratoxinu A u nového přístroje. Dále získat dostatek kvalitních testovacích sad a také množství naměřených výsledků pro stanovení citlivosti daného přístroje. Všechny zadané cíle projektu se podařilo splnit. Přístrojová sada ELISA test od firmy Bio-Tek byla úspěšně zprovozněna, při opakovaných měřeních byla také otestována promývačka a programové vybavení. Pro vlastní analýzy byly pořízeny kvalitní testovací sady, které mají podle dostupných údajů jednu z nejvyšších citlivostí. Ve spolupráci se Zdravotním ústavem v Hradci Králové byly získány výsledky u stejných vzorků také metodou měření pomocí kapalinové chromatografie. Shodných výsledků bylo získáno u více než 100 měřených vzorků.



Graf č. 1: Ukázka výsledků měření standardní látky pomocí sady ELISA test

### Splnění kontrolovatelných výsledků řešení

V současné době se připravuje publikační výstup, který vyhodnotí získané výsledky statisticky jako podklad pro publikaci s IF (spolupráce s doc. Malířem a doc. Dohnalem.) Předpokládaný publikační výstup bude v Analytical Letters (ISSN 0003-2719).

Dalším výsledkem projektu bylo využití části výsledků pro prezentaci ve společné publikaci na mezinárodní konferenci: 7th Conference of The World Mycotoxin Forum and the XIIIth IUPAC International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins in Rotterdam, the Netherlands, on 5-9 November 2012. Konference se za UHK zúčastnil doc. Malíř a uvedl zde příspěvek ve formě posteru a příspěvku do sborníku s názvem „The level of ochratoxin A in blood serum of pregnant women in the Czech Republic.“ Příspěvek je uveřejněn ve sborníku konference a podle příslibu organizátorů bude zajištěno, že příspěvky budou uplatnitelné v RIVu.

## Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka	Plán	Skutečnost
Stipendia	6000,-	3000,-
Odměny a DPP, DPČ	4000,-vč.pojištění	
Zákonné zdravotní a sociální pojištění		
<b>Celkem osobní náklady</b>	<b>10000,-</b>	<b>3000,-</b>
<b>Spotřeba materiálu celkem</b>	<b>64000,-</b>	<b>57368,-</b>
<b>Drobný hmotný a nehmotný majetek</b>	-	-
<b>Služby celkem</b>	<b>1000,-</b>	<b>14902,-</b>
<b>Cestovné celkem</b>	-	-
<b>Celkové náklady</b>	<b>75000,-</b>	<b>75270,-</b>

Celkové náklady projektu ve výši 75 000 Kč byly překročeny o 270 Kč. Překročení bylo způsobeno drobnými neočekávanými změnami v cenách spotřebního materiálu.

### Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka (např. vyšlo, přijato, v redakčním řízení apod.)
Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	3	2	
Z toho studenti	2	1	
Počet dizertačních prací	-	-	
Počet diplomových prací	-	-	
Zařazeno do kategorie excelence			
Jimp - výstup v impaktovaném časopisu	1		V přípravě
J – ostatní odborná periodika			
B – odborná kniha			
C – kapitola v odborné knize			
D – článek ve sborníku		1	Bude uznatelný v RIV – v jednání
F – užitečný vzor aj.			

## **Podrobný rozpočet výdajů projektu:**

### **1. osobní náklady: nevyplaceny**

Osobní náklady řešitele projektu nebyly vyplaceny, z důvodů odstoupení jedné studentky z práce na projektu a zrušení jednoho plánovaného stipendia.

### **2. stipendium student 3 000,- Kč**

Bc. Jan Myšák (ID20073), P-SBN 5. r., PřF UHK 3 000,- Kč

Průběžná práce na odběrech a zpracování vzorků, práce na separacích, podíl práce na vlastním měření ochratoxinu A. Bylo vyplaceno stipendium pouze jednomu studentu, který se pravidelně účastnil uvedené činnosti. Původně navržená druhá studentka se práce na projektu nezúčastnila z důvodů účasti na zahraniční stáži.

### **3. materiálové náklady 57368,- Kč**

Testovací sady ELISA test 32869,- Kč

Chemikálie, drobné pomůcky, ochranné pomůcky 24499,- Kč

Pro provedení testů je nutné pořídit nezbytné testovací sady ELISA test, dále chemikálie k separacím, drobné pomůcky apod.

### **4. další provozní náklady nebo výdaje a jejich stručné zdůvodnění nejsou**

### **5. náklady nebo výdaje na služby 14 902,- Kč**

Služby (čištění laboratorního oblečení apod.) 910,- Kč

Analýza Ochratoxinu A zadané v ZÚ HK 13 992,- Kč

### **6. doplňkové (režijní) náklady v souladu s příslušným řídicím aktem UHK nejsou**

### **7. cestovné a jeho stručné zdůvodnění nejsou**

### **Celkový výsledek rozpočtu projektu: 75 270,- Kč**

Celkové náklady projektu ve výši 75 000 Kč byly překročeny o 270 Kč. Překročení bylo způsobeno drobnými neočekávanými změnami v cenách spotřebního materiálu.

V průběhu řešení projektu byla podaná dne 25. 6. 2012. „Žádost o změnu rozpočtu projektu“. Žádost byla podána z toho důvodu, že během čerpání projektu se ukázaly některé skutečnosti, kvůli kterým bylo nutné některé položky přeřadit v rámci rozpočtu. 22. 11. 2012 byla podaná „Žádost o změnu rozpočtu projektu a složení řešitelského týmu“ z důvodu vyřazení jedné studentky z řešení projektu.

**Při porovnání vlastního vyúčtování s výsledovkou účetního programu Magion nebyly zjištěny rozdíly mezi jednotlivými položkami vlastního předloženého vyúčtování. Výsledná částka výsledovky vykazuje překročení nákladů přesně o 270,36 Kč.**

**Přílohy závěrečné zprávy:**

- výsledovka z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace (3 strany)
- dvě kopie žádosti o změnu rozpočtu.

V Hradci Králové dne 3. 1. 2013

Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D.

Katedra biologie PřF, UHK