

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiectul NARD-TUBITAK în anul 2024

"Detecting Minute Spoilage in Wine through a Handheld Device in the Field"

NARD Project No: 23.80013.5107.4TR

TÜBİTAK Project No: 122N921

Scopul proiectului este proiectarea și producerea unui dispozitiv portabil (VINO-LAMP) pentru detecția microorganismelor prin metoda LAMP (engl. – Loop-mediated isothermal amplification of DNA) în condiții de câmp. Pentru realizarea acestui scop, s-au trasat următoarele obiective:

1. Detecția prin metode de biologie moleculară (real-time PCR și LAMP-PCR) a microorganismelor care alterează vinul.
2. Crearea unei biblioteci ADN de control pozitiv.
3. Proiectarea și testarea primerilor qPCR și LAMP cu controlul pozitiv.

S-au analizat 25 de probe de must și vin produse din struguri colectați în 3 zone cu indicație geografică protejată (IGP) ale RM. S-a realizat detecția în probele biologice a următoarelor microorganisme: a bacteriilor lactice (Lactobacillus, Pediococcus, Oenococcus oeni), a bacteriilor acetice (A. aceti, A. pasteurianus), a levurilor sălbatice (Brettanomyces). Pentru detecția microorganismelor s-au utilizat metode microbiologice tradiționale și 2 tehnologii moleculare: Taqman – folosind kituri de detecție și SYBRGreen – pe baza primerilor proiectați prin metode bioinformatică. S-a creat o bibliotecă de control pozitiv ADN din vinurile contaminate cu microorganismele Brettanomyces, Acetobacter, Pediococcus, Oenococcus oeni și Lactobacillus

https://cercetari.utm.md/wp-content/uploads/sites/31/2024/08/Zgardan-TUBITAK-table-1_29_08_24.pdf

https://cercetari.utm.md/wp-content/uploads/sites/31/2024/08/Zgardan-TUBITAK-table-2_29_08_24.pdf

Cinci secvențe unice de ADN Brettanomyces bruxellensis au fost înregistrate în baza de date NCBI (National Center of Biotechnology Information) cu următoarele numere de accesare – BrettS2: PQ219467; BrettS4: PQ219468; BrettS10: PQ219469; BrettS12: PQ219470; BrettS13: PQ219471; BrettS2: PQ219467; BrettS4: PQ219468; BrettS10: PQ219469; BrettS12: PQ219470; BrettS13: PQ219471.



S-a determinat specificitatea, eficiența, limita de detecție (LOD) și limita de cuantificare (LOQ) a primerilor. Detecția controlul pozitiv al ADN-ului microorganismelor din cultură și din vin s-a realizat prin metoda real-time PCR și LAMP. Rezultatele au fost prezentate la trei conferințe internaționale și trei articole științifice.

Summary of the activity and obtained results in the NARD-TUBITAK project in 2024

"Detecting Minute Spoilage in Wine through a Handheld Device in the Field"

NARD Project No: 23.80013.5107.4TR

TÜBİTAK Project No: 122N921

The goal of the project is development and field testing of a handheld device (VINO-LAMP) that can detect wine pathogens directly at the site of production. In order to achieve the goal, the following objectives have been set:

1. Determining wine spoilage microorganisms.
2. Production of positive control libraries.
3. Designing qPCR and LAMP primers and testing them with positive controls.

Wines produced in a micro-winery from the grapes of different varieties collected from three PGI regions of Moldova, were studied for the presence and infection level of spoilage microorganisms: lactic acid bacteria (*Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Oenococcus oeni*), acetic acid bacteria (*A. aceti*, *A. pasteurianus*) and *Brettanomyces* wild yeast. A total of 25 samples of must and wine were analyzed using traditional microbiological and molecular methods. Two methods of molecular detection were used for result confirmation: commercial Taqman-based kit and home-designed primers for SybrGreen-based detection.

A positive control DNA library isolated from wine contaminated with wine spoilage microorganisms was obtained.

https://cercetari.utm.md/wp-content/uploads/sites/31/2024/08/Zgardan-TUBITAK-table-1_29_08_24.pdf

https://cercetari.utm.md/wp-content/uploads/sites/31/2024/08/Zgardan-TUBITAK-table-2_29_08_24.pdf

Several *Brettanomyces bruxellensis* isolates were identified in local wine samples by comparing the sequenced fragments with accessions stored in GenBank database. Five unique DNA sequences *B. bruxellensis* were submitted to NCBI (National Center of Biotechnology Information) database with the following accession numbers – BrettS2: PQ219467; BrettS4: PQ219468; BrettS10: PQ219469; BrettS12: PQ219470; BrettS13: PQ219471; BrettS2: PQ219467; BrettS4: PQ219468; BrettS10: PQ219469; BrettS12: PQ219470; BrettS13: PQ219471.

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information



Primer specificity, efficiency, LOD (Limit of Detection) and LOQ (Limit of Quantification) were tested. Detection of positive control DNA was carried out by the real-time PCR and LAMP methods. The results were presented in three international conferences and three research papers.

Conducătorul de proiect Dan ZGRADAN

Data: 10.12.2024