

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/245



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

## A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

## 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J3-4298	
<b>Naslov projekta</b>	Vloga okolja in gostitelja pri pojavu in razvoju okužbe s Clostridium difficile	
<b>Vodja projekta</b>	12278 Maja Rupnik	
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt	
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	7560	
<b>Cenovni razred</b>	C	
<b>Trajanje projekta</b>	07.2011 - 06.2014	
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	3334 NACIONALNI LABORATORIJ ZA ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO	
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	105 Nacionalni inštitut za biologijo 312 Univerzitetni klinični center Ljubljana 334 Univerzitetni klinični center Maribor 377 Zavod za zdravstveno varstvo Maribor 406 Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta 1027 Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije 3333 NACIONALNI INŠTITUT ZA JAVNO ZDRAVJE	
<b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>	3 MEDICINA 3.01 Mikrobiologija in imunologija	
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	07. Zdravje	
<b>Raziskovalno področje po šifrantu FOS</b>	3 Medicinske vede 3.05 Druge medicinske vede	

## B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta<sup>1</sup>

SLO

Clostridium difficile je eden izmed pogostejših in pomembnejših povzročiteljev črevesnih okužb v razvitih državah. Simptomi obsegajo spekter od blage driske do kolitisa in pseudomembranoznega kolitisa.

V tem projektu smo proučevali dejavnike okolja in dejavnike gostitelja, ki lahko

prispevajo k širjenju bakterije in razvoju bolezni. Pri dejavnih gostitelja sta pomembna predvsem porušeno ravnotežje v črevesni mikrobioti, ki je potrebno za razvoj bolezni, ter delovanje gostiteljevega imunskega sistema, vendar je vloga tega do sedaj le slabo pojasnjena. Po drugi strani pa je okolje pomembno kot možen vir okužbe s sporami *C. difficile*.

Cilji projekti so bili: 1) optimizacija gojitvenih in molekularnih pristopov za detekcijo bakterije *C. difficile*, 2) ugotoviti ujemanje genotipov bakterije *C. difficile* in specifično pojavljanje pri ljudeh, živalih ter v okolju, 3) razvoj nevretenčarskega modela (*Porcellio scaber*) za primerjavo bakterijskega fitnessa različnih genotipov, 4) analiza vloge črevesne mikrobiote pri ljudeh in živalih v povezavi z okužbo s *C. difficile*, in 5) študij imunskega odziva (makrofagi, protitelesni odziv).

Projektni konzorcij je bil sestavljen iz šestih skupin s komplementarnimi znanji: Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, NLZOH (M. Rupnik, vodja projekta; ekspertiza na področju bakterije *C. difficile*); Nacionalni inštitut za biologijo (vodja Maja Ravnikar; ekspertiza na področju razvoja detekcije patogenih mikroorganizmov); Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ, vodja Maja Sočan; ekspertiza na področju spremljanja podatkov o nalezljivih boleznih v Sloveniji); Veterinarska fakulteta UL (vodja Matjaž Ocepek; ekspertiza na področju veterinarske mikrobiologije in zoonoz); dva Klinična centra (UKC Ljubljana, vodja Tatjana Lejko Zupanc in UKC Maribor, vodja Božena Kotnik Kevorkijan; ekspertiza na področju infekcijskih bolezni in nadzora bolnišničnih okužb).

ANG

*Clostridium difficile* is one of the leading pathogens of intestinal infections in the developed countries. The symptoms range from mild diarrhoea to colitis and pseudomembranous colitis.

This project was focused on two aspects which could contribute to the spread and development of the disease: the host and the environment. On the host side the disease is typically associated with disturbed gut microbiota. The host immune status also plays a role which is less well understood. Environment, on the other side, is important as a potential source of infection with *C. difficile* spores.

The aims of the project were: 1) to optimize cultivable and molecular methods for *C. difficile* detection, 2) determine overlapping and reservoir specific *C. difficile* genotypes in humans, animals, food and environment, 3) development of nonvertebrate animal model (*Porcellio scaber*) for comparison of bacterial fitness of different genotypes, 4) study the role of gut microbiota in humans and animals in association with *C. difficile* infection and 5) study the innate and humoral immune response to *C. difficile*.

The project consortium was composed of six groups: National laboratory for health, environment and food (NLZOH; M. Rupnik, project PI) with expertise on *C. difficile* biology, National institute of biology (expertise in development of molecular detection methods), National institute of public health (NIJZ; expertise epidemiology and surveillance), Veterinary faculty, university of Ljubljana (expertise in animal microbiology and zoonoses), two largest Slovenian Clinical Centre (Ljubljana and Maribor; expertise in infectious diseases and nosocomial infections).

### 3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>2</sup>

**Delovni sklop 1 Vloga okolja – ugotavljanje razporeditve genotipov *C. difficile* izoliranih pri ljudeh, živalih, hrani ter v okolju**

**Naloga 1. Optimizacija metod izolacije DNA iz različnih matriksov/ Naloga 2. Optimizacija novih gojitvenih metod za *C. difficile***

Preizkušene so bile različne metode izolacije DNA iz matriksov in čistih kultur ter različni načini gojitve bakterije *C. difficile* (bogovitve, kombinacije metod za selekcijo spor). Metode so bila nato uporabljene v preostalih nalogah.

**Naloga 3. Izolacija *C. difficile* iz živali in iz okolja povezanega z živalmi**

Predvideno je bilo vzorčenje domačih živali, ki živijo v tesnem stiku z lastniki kot so psi in mačke ter vzorčenje živali in okolja povezanega z živalmi na desetih manjših družinskih kmetijah, kjer je prav tako tesen kontakt med družinskimi člani in živalmi na kmetiji. Zaradi majhnega odstotka pozitivnih psov in mačk so se raziskave v tem sklopu nato usmerile v manjše kmetije. V raziskavi, ki je bila tudi del izobraževanja mlade raziskovalke, je bilo na 20 družinskih kmetijah (reja krav molznic) skupno izoliranih 102 seva *C. difficile* iz teličkov (n=101) in samo ene krave ter 61 sevov pri drugih živalih in iz okolja (stelja, gnoj, napajalnik, zemlja). Sevi teličkov in krave so bili uvrščeni v 16 PCR ribotipov (prevladoval je 033) in 4 toksinotipe. Sevi iz drugih živali in okolja pa v 19 ribotipov in 6 toksinotipov. Rezultati so bili predstavljeni na kongresu, članek je v pripravi. BANDELJ, Petra, HARMANUS, Celine, RUPNIK, Maja, OCEPEK, Matjaž, VENGUŠT, Modest. Epidemiologija bakterije *Clostridium difficile* ribotipa 033 na družinskih kmetijah krav molznic v Sloveniji. V: 6. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva, Bled, Slovenija. [COBISS.SI-ID [3880570](#)]

**Naloga 4. Izolacija *C. difficile* pri ljudeh v bolnišnicah**

Znotraj tega podsklopa so bili povabljeni k sodelovanju vsi mikrobiološki laboratoriji, ki izvajajo diagnostiko bakterije *C. difficile*, in so posredovali vse *C. difficile* seve v zimskem dvomesečnem obdobju ter poletnem dvomesečnem obdobju. V zimskem obdobju smo prejeli 149, v poletnem pa 106 sevov. Seve smo sicer uvrstili v več kot 35 ribotipov, vendar je bilo več kot polovica sevov (57,7 %) v samo dveh ribotipih, 027 in 014/020. Ribotip 027 (najbolj znan tip s povišano virulenco) v Sloveniji do leta 2010 ni bil zaznan, v tej študiji pa je prevladoval samo v eni regiji. Rezultati kažejo, da je okužba s *C. difficile* najmanj pogosta v obalno primorski regiji (KP in NG), stabilna v osrednji Sloveniji (LJ, KR, NM), izbruhi s tipom 027 pa so verjetni v severovzhodni Sloveniji (MB, MS, CE).

Rezultati zimskega obdobja so bili objavljeni (gl. znanstveni dosežek št. 2). Članek s celotnimi rezultati za mednarodno revijo je v pripravi.

Rezultati o obvladovanju izbruha s tipom 027 pa so bili predstavljeni na kongresih:

KOTNIK-KEVORKIJAN, Božena, SALETINGER, Rajko, OREŠIČ, Nadja, RUPNIK, Maja. Clinical characteristics of *Clostridium difficile* 027 infections during the outbreak. V: 8th International Healthcare Infection Society (HIS) Conference and Federation of Infection Societies (FIS) Annual Conference, 19-21 November 2012, Liverpool. *Abstract supplement*. Liverpool: Healthcare Infection Society, 2012, poster 97. [COBISS.SI-ID [4586047](#)]

KOTNIK-KEVORKIJAN, Božena, KLASINC, Marija, SALETINGER, Rajko, OREŠIČ, Nadja, RUPNIK, Maja. Managing the outbreak of *Clostridium difficile*. V: 8th International Healthcare Infection Society (HIS) Conference and Federation of Infection Societies (FIS) Annual Conference, 19-21 November 2012, Liverpool. *Abstract supplement*. Liverpool: Healthcare Infection Society, 2012, poster 213. [COBISS.SI-ID [4585791](#)]

Prav tako so tri članice konzorcija pridobile sredstva in sodelovale pri načrtovanju in izvedbi študije HANCDIS o prisotnosti *C. difficile* v slovenskih bolnišnicah (gl. drugi dosežki). Članek z rezultati te študije je v pripravi.

**Naloga 5. Izolacija *C. difficile* pri ljudeh izven bolnišnic**

Ta delovna naloga je bila izvedena samo deloma. Zaradi težav pri pridobivanju vzorcev iz ambulant osnovnega zdravstvenega varstva, smo se omejili na populacijo oskrbovancev domov za starejše občane. Pregledano je bilo skupno 90 vzorcev iz treh DSO iz okolice Ljubljane. Skupno je bilo pozitivnih samo 6 vzorcev, večina sevov pa je bila netoksinogenih.

Rezultati so bili predstavljeni na kongresu. BISTAN, Mirjana, ŠKRABAN, Jure, SOČAN, Maja, GRILC, Eva, RUPNIK, Maja. Detection of *Clostridium difficile* and microbiota composition in elderly home residents from Slovenia. V: *Anaerobe 2014 : program & abstract book*. Los Angeles: Anaerobe Society of the Americas, cop. 2014, str. 203. [COBISS.SI-ID [79116545](#)]. Članek, ki bo obsegal tudi analizo črevesne mikrobiote, je v pripravi.

**Naloga 6. Izolacija bakterije *C. difficile* iz hrane in okolja**

Tudi pri tej nalogi je prišlo do manjših sprememb (razlaga – gl. točko 5). Vzorci hrane so bili analizirani le v manjšem obsegu, rezultati pa predstavljeni na kongresu: MESARIČ, Simon, ZIDARIČ, Valerija, JANEŽIČ, Sandra, RUPNIK, Maja. *Clostridium difficile* na solatah in kokošjih jajcih v Sloveniji. V: 6. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva, 24.-26. september 2014, Bled, Slovenija. KUŠAR, Darja (ur.), OCEPEK, Matjaž (ur.). *Knjiga povzetkov : kongres SMD 2014*. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2014, str. 156. [http://smd-kongres.si/SMD\\_zbornik\\_NET.pdf](http://smd-kongres.si/SMD_zbornik_NET.pdf). [COBISS.SI-ID [512441144](#)].

Obsežne pa so bile analize *C. difficile* v okolju, kjer smo primerjali prisotnost in tipe sevov v prsti in v lužeh oz. poplavni vodi v treh okoljih ruralnem, mestnem in na področju UKC Maribor. Skupno je bilo izoliranih 119 sevov iz vode in 265 iz prsti. Sevi so bili uvrščeni v 30 PCR ribotipov in 6 toksinotipov, od tega sta bila dva toksinotipa

nova. Članek Mojca Potočnik, Valerija Zidarič, Božena Kotnik Kevorkijan, Maja Rupnik, Sandra Janežič, Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from puddles and soil samples from rural, urban and hospital environment je pripravljen za objavo. Rezultati pa so bili tudi predstavljeni na kongresu . POTOČNIK, Mojca, ZIDARIČ, Valerija, JANEŽIČ, Sandra, RUPNIK, Maja. *Clostridium difficile* v okoljskih vzorcih poplavlne vode in prsti. V: 6. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva, 24.-26. september 2014, Bled, Slovenija. KUŠAR, Darja (ur.), OCEPEK, Matjaž (ur.). *Knjiga povzetkov : kongres SMD 2014*. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2014, str. 94. [http://smd-kongres.si/SMD\\_zbornik\\_NET.pdf](http://smd-kongres.si/SMD_zbornik_NET.pdf). [COBISS.SI-ID [512440376](#)]

#### **Naloga 7. Karakterizacija izoliranih sevov – molekularna tipizacija, določanje citotoksičnosti in toksinskih genov in določanje antibiotične rezistence**

Karakterizacija je bila vključena v vse ostale naloge, gl. znanstveni dosežek 5 in poster ZIDARIČ, Valerija, RUPNIK, Maja. Odpornost proti antibiotikom različnih PCR ribotipov bakterije *Clostridium difficile*. V: 6. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva, 24.-26. september 2014, Bled, Slovenija. KUŠAR, Darja (ur.), OCEPEK, Matjaž (ur.). *Knjiga povzetkov : kongres SMD 2014*. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2014, str. 101. [http://smd-kongres.si/SMD\\_zbornik\\_NET.pdf](http://smd-kongres.si/SMD_zbornik_NET.pdf). [COBISS.SI-ID [512440632](#)]

#### **Delovni sklop 2. Vloga okolja – dejavniki, ki vplivajo na izboljšano preživetje v okolju**

V tem sklopu je bil predviden razvoj in vitro nevretenčarskega modela (*Porcellio scaber*) za primerjavo prevlade enega seva. Izvedeni so bili poskusi z gojitvenimi in molekularnimi detekcijami različnih genotipov *C. difficile* v gostiteljskem organizmu *P. scaber*. Rezultati so pokazali, da je anaerobioza v preprostem črevesu tega nevretenčarja očitno premajhna in ne omogoča dobre kolonizacije z vegetativnimi celicami *C. difficile*. ZIDARIČ, Valerija, ZEMLIČ, Mateja, RUPNIK, Maja, DROBNE, Damjana. Use of nonvertebrate animal model *Porcellio scaber* for *Clostridium difficile* fitness studies. V: 12th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology, 9-13 June 2013, Ljubljana, Slovenia. MANDIČ-MULEC, Ines (ur.). *Networking and plasticity of microbial communities : the secret to success. BAGECO 12*. Jena: Conventus Congressmanagement & Marketing, 2013, str. 78, P58. [COBISS.SI-ID [512356408](#)]

#### **Delovni sklop 3 Vloga gostitelja – vloga črevesne mikrobiote**

##### **Naloga 1. Optimizacija DHPLC metode za analizo arhejske in glivne črevesne mikrobiote/ Naloga 2. Ugotavljanje sprememb črevesne mikrobiote pri človeku/ Naloga 3. Primerjava razvoja kompleksnosti mikrobiote pri različno starih živalih**

Rezultati teh treh nalog so podani v člankih navedenih pod znanstveni dosežek 3 in 4. Dodatno smo v tem sklopu pričeli z uporabo sekveniranja pomnoženih markerskih genov, kar je sicer dražja vendar natančnejša metoda kot DHPLC. Analiza bakterijske mikrobiote je bila tako narejena na vzorcih iz DSO rezultati pa predstavljeni na kongresu (glej DS 1/Naloga 5).

##### **Naloga 3. In vitro poskusi inhibicije**

Načrtovano je bilo spremljanje vpliva izbranih črevesnih bakterij na rast in produkcijo toksinov bakterije *C. difficile*. Naloga je izvedena v manjšem obsegu. Spremljali smo samo inhibicijo rasti nekaterih izbranih sevov *C. difficile* v kombinaciji s celokupno fekalno mikrobioto. Razlik ali inhibicije rasti v teh poskusih nismo zaznali.

##### **Delovni sklop 4 Vloga gostitelja – interakcija bakterije *C. difficile* z makrofagi**

##### **Delovni sklop 5 Vloga gostitelja – imunski odziv na antigene vegetativnih celic in spor**

Del projekta, ki se je nanašal na interakcije z imunskim sistemom ni bil izveden, glej razlago pod točko 5.

#### **4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>**

Program dela je bil z nekaterimi odstopanji (razlaga pod točko 5) v celoti izveden. Čeprav nekatere od nalog niso bile izvedene, so bile druge toliko obsežnejše. Rezultati so bili že objavljeni v člankih, drugih so še v pripravi. Zato smatramo, da je bila stopnja realizacije zelo dobra v večini postavljenih ciljev:

- 1) optimizacija gojitvenih in molekularnih pristopov za detekcijo bakterije *C. difficile*. Optimizirani so bili novi pristopi detekcije, ki so omogočali boljšo in natančnejšo izolacijo sevov iz različnih okolij.
- 2) ugotoviti ujemanje genotipov bakterije *C. difficile* in specifično pojavljanje pri

ljudeh, živalih ter v okolju. Kot prvi smo objavili obsežno primerjavo prektivanja genotipov pri ljudeh, živalih in v okolju . Prav tako je bila narejena obsežna raziskava *C. difficile* v bolnišnicah v Sloveniji, ki je prvič podala pregled pogostnosti okužbe in prisotne genotipe ter prvič opisala razširjenost tipa s povečano virulenco (027) pri nas. Prav tako smo opisali prisotnost *C. difficile* na manjših farmah.

3) razvoj nevretenčarskega modela (*Porcellio scaber*) za primerjavo bakterijskega fitnessa različnih genotipov. Preprost in cenovno učinkovit živalski model za študij bakterijskega fitnessa *C. difficile* trenutno ni na voljo. Kljub obsežnim načinom izvedbe in optimizacij smo v tem delu ugotovili, da *P. scaber* ni primeren za študije *C. difficile*.

4) analiza vloge črevesne mikrobiote pri ljudeh in živalih v povezavi z okužbo s *C. difficile*. Uporabili smo dva pristopa za študij črevesne mikrobiote, DHPLC in metode sekveniranja na platformi MiSeq. Prvič smo opisali pomen vzorcev v sestavi črevesne mikrobiote v povezavi s kolonizacijo s *C. difficile* in ne samo pomen razlik v prisotnosti/odsotnosti na nivoju posamezne skupine. Prvi smo tudi objavili razlike v črevesni mikrobioti v povezavi s *C. difficile* pri živalih.

#### 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>4</sup>

Med potekom projekta je prišlo do nekaterih manjših sprememb pri sestavi projektne skupine, večinoma zaradi upokojitev ali porodniških dopustov.

Prav tako je v času projekta prišlo do zmanjševanja obsega financiranja. Zaradi tega smo se pri izvedbi usmerili predvsem v sklope, kjer smo pričakovali najboljše rezultate. Velik del analiz, ki so vključevale vzorce z zelo nizkim znanim odstotkom *C. difficile* (hrana, živali - mačke, psi), tako ni bil izveden, kar smo navedli tudi v letnih poročilih. Prav tako so v začetku izvedbe projekta druge skupine iz tujine objavile tudi članke o interakciji *C. difficile* z makrofagi. Zaradi teh objav je bila možnost objave naših pričakovanih rezultatov v dobrih revijah precej manjša. Iz tega razloga smo namesto študij na področju interakcij z imunskim sistemom intenzivirali analize črevesne mikrobiote. Pri teh smo dodatno uvedli še cenovno zahtevno analizo s sekveniranjem.

#### 6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	3521658 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Clostridium difficile genotipi pogosti pri ljudeh, živalih in v okolju
	ANG	Clostridium difficile genotypes prevalent among human, animals and environmental isolates
Opis	SLO	Ribotip 078 je v literaturi opisan kot tisti, ki ga najpogosteje najdemo tako pri ljudeh kot pri živalih. V tem članku, ki predstavlja prvo raziskavo, v katero je vključeno veliko število sevov iz treh različnih rezervoarjev, pa smo pokazali, da med živalmi in ljudmi poteka prenos številnih drugih ribotipov <i>C. difficile</i> .
	ANG	Ribotype 078 is in publications described as a main group that is present in humans as well as animals. In this paper, that represent the first published study on a large number of strains from three different reservoirs, we have shown that type 078 can be absent in some countries and that several other ribotypes are transmitted between humans and animals.
Objavljeno v	BioMed Central; BMC microbiology; 2012; Vol. 12, art. no. 48; str. 1-10; Impact Factor: 3.104; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact	

		Factor: 3.384; WoS: QU; Avtorji / Authors: Janežič Sandra, Ocepek Matjaž, Zidarič Valerija, Rupnik Maja
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	31093721 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Prisotnost različnih genotipov bakterije Clostridium difficile pri hospitaliziranih bolnikih v Sloveniji med dvomesečnim zimskim obdobjem</p> <p><i>ANG</i> Diversity of C. difficile PCR ribotypes isolated from hospitalised patients in Slovenia during two winter months period</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> Zbrali in ribotipizirali smo seve bakterije C. difficile, osamljene v vseh osmih laboratorijih, ki v Sloveniji izvajajo diagnostiko bakterije C. difficile. Prav tako smo zbrali podatke o skupnem številu opravljenih preiskav na C. difficile, ter demografske podatke (starost in spol bolnikov).  <b>REZULTATI.</b> V dvomesečnem zimskem obdobju je bilo v Sloveniji skupno testiranih 860 vzorcev, od teh je bilo pozitivnih 154 (17,9%) vzorcev pri 125 pacientih. Odstotek pozitivnih vzorcev v posameznem laboratoriju se je gibal od 13,3 do 43,2 %. Dva izmed osmih laboratorijev (oba iz primorsko-obalne regije) v času študije nista imela pozitivnih vzorcev. Tipiziranih je bilo 149 sevov. Uvrstili smo jih v 35 ribotipov, vendar je bilo več kot polovica sevov (57,7 %) v samo dveh ribotipih, 027 in 014/020. Ribotip 027 v Sloveniji do leta 2010 ni bil zaznan, v tej študiji je bil najpogostejši ribotip, prevladoval pa je v severovzhodni regiji.  <b>ZAKLJUČKI.</b> Raznolikost sevov C. difficile v Sloveniji je velika. Prevladovanje ribotipa 027 in visok odstotek pozitivnih vzorcev v nekaterih regijah kažejo na možnost prisotnih izbruhov.</p> <p><i>ANG</i> All eight microbiological diagnostic laboratories providing C. difficile diagnostics in Slovenia have participated. Isolates from two month- winter period were collected and ribotyped. The following data were also collected from the laboratories: number of all tested samples, number of all positive samples, and patient age and gender. Results: In a two-month period, altogether 860 samples were tested for C. difficile in all participating laboratories. Of those, 154 (17.9 %) samples from 125 patients were positive. The percentage of positive samples in different laboratories ranged from 13.3 to 43.2%. Two out of eight laboratories did not have positive samples. C. difficile strains (n= 149) were grouped into 35 ribotypes. However, 57.7% of all strains belonged only to two PC Ribotypes (027 and 014/020). PCR ribotype 027 was not present in Slovenia until 2010, but was in this study the most prevalent PCR ribotype and present mainly in the northeast region. Conclusions: There is a substantial diversity of C. difficile ribotypes in Slovenia. A high prevalence of ribotype 027 and a high percentage of positive samples in some laboratories indicate the presence of C. difficile outbreaks.</p>
	Objavljeno v	[Slovensko zdravniško društvo]; Zdravniški vestnik; 2013; Letn. 82, št. 11; str. 739-745; Avtorji / Authors: Rupnik Maja, Beigot Glaser Sara, Andlovic Alenka, Berce Ingrid, Žohar Čretnik Tjaša, Drinovec Bojan, Harlander Tatjana, Orešič Nadja, Ravnik Mateja, Štrumbelj Iztok
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	16731158 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<p><i>SLO</i> Vzorci mikroorganizmov v črevesni mikrobioti povezani s prisotnostjo različnih ribotipov bakterije Clostridium difficile</p> <p><i>ANG</i> Gut microbiota patterns associated with colonization of different clostridium difficile ribotypes</p>
		V tem članku je prvič opisan pomen kombinacij črevesnih mikroorganizmov, ki so prisotni/odsotni, in povezavo teh vzorcev s kolonizacijo bakterije C. difficile. Prav tako prvič je opisano, da so določeni

	Opis	SLO	C. difficile ribotipi (027) povezani z bolj porušeno mikrobioto kot drugi. Analizirali smo 208 fekalnih vzorcev zdravih prostovoljcev in vzorcev, poslanih na testiranje za C. difficile. Z DHPLC metodo smo ugotavljali prisotnost pogostejših skupin bakterijske, glivne in arhejske mikrobiote. Vrsta Bifidobacterium longum je bila najpomembneje povezana z C. difficile negativnimi vzorci.
		ANG	This publication for the first time describes that not only presence or absence of the single gut microorganism is important, but that certain patterns composed of presence/absence of several gut microorganisms are correlated with C. difficile colonization. Also for the first time we describe that certain ribotypes (027) are associated with more disturbed gut microbiota. In this study we have analysed bacterial, fungal and archaeal microbiota by denaturing high pressure liquid chromatography (DHPLC) and with machine learning methods in 208 faecal samples from healthy volunteers and in routine samples with requested C. difficile testing. Bifidobacterium longum was the single most important species associated with C. difficile negative samples.
	Objavljeno v		Public Library of Science; PloS one; 2013; Vol. 8, iss. 2; str. e58005-1-e58005-13; Impact Factor: 3.534; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.663; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Škraban Jure, Džeroski Sašo, Ženko Bernard, Mongus Domen, Gangl Simon, Rupnik Maja
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	16908054	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Spremembe v črevesni mikrobioti povezane s kolonizacijo s C. difficile pri perutnini
		ANG	Changes of poultry faecal microbiota associated with Clostridium difficile colonisation
	Opis	SLO	Z metodo DHPLC in metodami naprednega učenja (WEKA J48) smo primerjali bakterijsko, glivno in arhejsko mikrobioto pri živalih različne starosti in glede na različni status kolonizacije s C. difficile. Analizirali smo 143 fekalnih vzorcev nabranih v različnih časovnih intervalih na eni perutninski fermi. Prisotnost Acidaminococcus intestini je značilno povezana z odsotnostjo C. difficile, prav tako pa smo opisali nekatere vzorce črevesne mikrobiote povezane s kolonizacijo s C. difficile. Raznolikost v črevesni mikrobioti je bila povezana s starostjo živali, ne pa s kolonizacijo s C. difficile.
		ANG	Bacterial, fungal and archaeal microbiota was analysed in 143 chicken faecal samples from a single poultry farm. After DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography) 15 bacterial groups, 10 fungal groups and a single archaeal species were differentiated. Acidaminococcus intestini, described here for the first time as a part of poultry faecal microbiota, was significantly more likely present in C. difficile negative samples, while presence/absence of some other microorganisms (Enterococcus cecorum, Lactobacillus galinarum, Moniliella sp. and Trichosporon asahii) was close to significance. Differences in microbiota diversity depend on animal age, but not on the presence of C. difficile. With machine learning (WEKA J48) we have defined specific combinations of microbial groups predictive for C. difficile colonisation.
	Objavljeno v		Elsevier; Veterinary Microbiology; 2013; Vol. 165, iss. 3/4; str. 416-424; Impact Factor: 2.726; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.019; A': 1; WoS: QU, ZC; Avtorji / Authors: Škraban Jure, Džeroski Sašo, Ženko Bernard, Tušar Livija, Rupnik Maja
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

5.	COBISS ID		3710586	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Občutljivost na antibiotike pri sevih <i>C. difficile</i> izoliranih iz ljudi in živali	
		ANG	Antimicrobial susceptibility of animal and human isolates of <i>Clostridium difficile</i> by broth microdilution	
	Opis	SLO	V članku, kjer so soavtroji projektne skupine iz treh RO (NLZOH, UKC LJ, VF) je bila z mikrodilucijsko metodo določena odpornost na zbrane antibiotike pri sevih izoliranih iz ljudi (n=94) in živali (n=96). Vsi sevi so bili občutljivi na metronidazol in vankomicin, ki se uporabljata za zdravljenje okužb s <i>C. difficile</i> . Rezistenca na tetraciklin, eritromicin, klindamicin in moksifloksacin je bila pri humanih sevih 9.4 %, 18.1 %, 41.9 %, 11.7 % in pri živalskih 19.6 %, 8.3 %, 38.5 %, 4.2 %.	
		ANG	A total of 190 human (n=94) and animal isolates (n=96) of <i>Clostridium difficile</i> of different PCR ribotypes were screened for susceptibility to 30 antimicrobials using broth microdilution. All strains were susceptible to metronidazole and vancomycin. Resistance to tetracycline, erythromycin, clindamycin and moxifloxacin was found in 9.4 %, 18.1 %, 41.9 %, 11.7 % of human and 19.6 %, 8.3 %, 38.5 %, 4.2 % of animal isolates, respectively.	
	Objavljeno v		Livingstone; Society for General Microbiology; Journal of medical microbiology; 2013; Vol. 62, no. 9; str. 1478-1485; Impact Factor: 2.266; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.334; WoS: QU; Avtorji / Authors: Pirš Tina, Avberšek Jana, Zdovc Irena, Krt Branko, Andlovic Alenka, Lejko-Zupanc Tatjana, Rupnik Maja, Ocepek Matjaž	
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek		

### 7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

Družbeno-ekonomski dosežek				
1.	COBISS ID		16762134	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Ribotipi 027, 078 in drugi: kaj številke res pomenijo	
		ANG	027, 078, and others: going beyond the numbers (and away from the hypervirulence)	
	Opis	SLO	V tem vabljenem kratkem prispevku avtorja opisujeta pretirano uporabo termina 'hipervirulenca' in pretirano fokusiranje na samo nekatere bolj znane ribotipe <i>C. difficile</i> . Izbruhe in težji potek bolezni lahko namreč povzročajo številni različni genotipi, njihova pojavnost pa se med geografskimi regijami razlikuje.	
		ANG	In this invited short paper authors describe the drawbacks of overuse of 'hypervirulence' and focusing on only some of PCR ribotypes. Outbreaks and severe cases can be associated with many different ribotypes and their distribution is geographically diverse.	
	Šifra		F.01 Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
Objavljeno v		Clinical infectious diseases; 2012; Vol. 55, iss. 12; str. 1669-1672; Impact Factor: 9.374; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.017; A": 1; A': 1; WoS: NI, NN, QU; Avtorji / Authors: Barbut Frédéric, Rupnik Maja		
Tipologija		1.03 Kratki znanstveni prispevek		
2.	COBISS ID		3606650	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Zoonotski potencial bakterije <i>Clostridium difficile</i>	



		ANG	Zoonotic potential of Clostridium difficile
Opis	SLO		V tem vabljenem predavanju na domači strokovni konferenci so avtorji iz dveh RO, ki sodelujejo pri projektu, predstavili današnje razumevanje možnosti in pomena prenosov bakterije C. difficile iz živalskega rezervoarja na ljudi, ter podali pregled slovenskih raziskav na to temo.
	ANG		In this invited lecture at the national meeting the authors (members of the project group from two different institutions) have described current understanding of C. difficile transmissions between humans and animals and its importance. Additionally, the overview of research in Slovenia on this topic was given.
Šifra	B.04 Vabljeno predavanje		
Objavljeno v	Medicinski razgledi; Zoonoze; Medicinski razgledi, Supplement; 2012; Letn. 51, supl. 6; str. 213-218; Avtorji / Authors: Rupnik Maja, Zidarič Valerija, Ocepek Matjaž, Janežič Sandra		
Tipologija	1.07 Objavljeni strokovni prispevek na konferenci (vabljeno predavanje)		
3.	COBISS ID	4849471	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Clostridium difficile in okužbe, povezane z zdravstvom, v Sloveniji	
	ANG	Healthcare-associated infections with Clostridium difficile in Slovenia	
Opis	SLO	Vse štiri soavtorice so članice projektne skupine iz štirih različnih RO. V tem prispevku, ki je bil kot vabljeno predavanje predstavljen na nacionalnem strokovnem srečanju Baničevi dnevi (tema: Okužbe v zdravstvu), so podale rezultate o stanju okužb z bakterijo C. difficile v Sloveniji. V okviru tega dela je bilo predstavljeno več študij, ki so del tega projekta (npr. DS 1.4, 1.5, 1.6)	
	ANG	All four co-authors on this paper are members of project consortium from four different research organizations. This is a published invited lecture at national meeting Banicevi dnevi (topic: Health care associated infections) and has covered results on several studies included in this project.	
Šifra	B.04 Vabljeno predavanje		
Objavljeno v	Medicinski razgledi; Okužbe, povezane z zdravstvom; Medicinski razgledi, Supplement; 2013; Letn. 52, supl. 6; str. 259-264; Avtorji / Authors: Rupnik Maja, Sočan Maja, Kotnik-Kevorkijan Božena, Lejko-Zupanc Tatjana, Ribič Helena		
Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci		
4.	COBISS ID	16908566	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Pomen, pogostnost in nadzor okužb z bakterijo Clostridium difficile, 18. april 2013, dvorana Elegans, Hotel Kokra, Brdo pri Kranju	
	ANG	Importance, prevalence and control of C. difficile infections. (National educational meeting)	
Opis	SLO	Da bi izboljšali informiranost stokovne javnosti o okužbah s C. difficile v Sloveniji, je več članic projektne skupine organiziralo enodnevno srečanje (Rupnik, Kotnik-Kevorkijan, Lejko Zupanc - članice organizacijskega odbora in predavateljice; Janežič, Beigot, Zidarič - administrativno vodenje srečanja). Na tem prvem nacionalnem srečanju je bilo 70 udeležencev iz bolnišnic, zdravstvenih domov, diagnostičnih laboratorijev ter državne uprave.	
	ANG	To raise the awareness of CDI in Slovenia have several members of project consortium organized educational national meeting (Rupnik, Kotnik-Kevorkijan, Lejko Zupanc - members of Organizing Committee and speakers; Janežič, Beigot, Zidarič - meeting administration and secretariat). There were 70 participants from hospitals, general practices,	

		and diagnostic laboratories.
	Šifra	F.03 Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja
	Objavljeno v	Zavod za zdravstveno varstvo; 2013; 15 str.; Avtorji / Authors: Janežič Sandra, Rupnik Maja
	Tipologija	2.25 Druge monografije in druga zaključena dela
5.	COBISS ID	512133688 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Uporaba modificirane metode za PCR ribotipizacijo za direktno določanje ribotipov v vzorcih blata
		<i>ANG</i> Use of modified PCR ribotyping for direct detection of <i>Clostridium difficile</i> ribotypes in stool samples
	Opis	<i>SLO</i> PCR ribotipizacija je bila modificirana z uvedbo novih začetnih oligonukleotidov. Z novo metodo je bilo možno določiti ribotip direktno v vzorcu blata v 84,8% primerov. Metoda omogoča določanje ribotipov v nekaj urah, kar je za 48 ur hitreje kot dosedanje metode.
		<i>ANG</i> PCR ribotyping was modified to allow direct detection of <i>Clostridium difficile</i> from stool samples. Direct PCR ribotyping was possible in 86 out of 99 <i>C. difficile</i> -positive stool samples, and in 84 cases (84.8%), the ribotype determined directly from the stool sample was identical to the ribotype of the strain isolated from the same stool sample.
	Šifra	F.22 Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov
	Objavljeno v	American Society for Microbiology.; Journal of clinical microbiology; 2011; Vol. 49, no. 8; str. 3024-3025; Impact Factor: 4.153; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.321; A': 1; WoS: QU; Avtorji / Authors: Janežič Sandra, Štrumbelj Iztok, Rupnik Maja
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>Z</sup>

### Nagrade

M. Rupnik - Zoisovo priznanje za pomembne znanstvene dosežke v mikrobiologiji

### Daljši obiski tujih uveljavljenih raziskovalcev

prof Tom Riley, University of Western Australia, Perth, Avstralija, na obisku na NLZOH (laboratorij M. Rupnik); marec-junij 2014

### Delovanje v strokovnih združenjih

S. Janežič - tajnik Slovenskega mikrobiološkega društva (SMD) od 9/2014

M. Rupnik - članica UO SMD (2012-2014);

### Članstvo v uredniških odborih

M. Rupnik - član uredniškega odbora pri mednarodni reviji Anaerobe (Elsevier)

### Vabljen predavanja

RUPNIK M. 6th European Spores Conference, April 9-11, 2014. [London], COBISS.SI-ID 79089665

RUPNIK M. 6. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva, Bled, Slovenija. COBISS.SI-ID 3209807

RUPNIK M. 5th Congress of Macedonian Microbiologists, Ohrid, COBISS.SI-ID 79089921

### Soavtorstvo pri večjih evropskih študijah in objavah

Bauer et al., Lancet, 2011 (izbrano kot Izjemni dosežek v letu 2011)

Davies et al., Lancet Infect. Dis, 2014

Vključenost študentov (M. Rupnik, M. Ocepek)  
zaključeni doktorati (S. Janežič, J. Škraban, P. Bandelj, T. Pirš, J. Avberšek), diplome in bolonjski magisteriji (T. Rikanovič, M. Potočnik), izvedba srednješolskih raziskovalnih nalog.

Organizacija kongresov in srečanj (več članov projektne skupine)  
Infektološki simpozij, Bedjaničev simpozij, 5th SE Conference on Chemotherapy and Infection, 5. in 6. kongres SMD;  
Organizacija kongresa International Clostridium difficile Symposium (ICDS) je bila izbrana kot Izjemni dosežek za leto 2012.

Popularizacija raziskovanja/objave v časopisih in revijah  
RUPNIK, M., KOTNIK KEVORKIJAN B., LEJKO ZUPNAC T. (intervjuvanec). V: JUŽNIČ SOTLAR M. Bolnišnične okužbe : klostridijska driska. [Zagorje ob Savi]: Studio Moderna storitve, 2013, str. 6-9. [COBISS.SI-ID 16909334]  
RUPNIK, Maja (intervjuvanec). Usodna bakterija. Jana, ISSN 0350-9125, 10. sep. 2013, letn. 41, št. 37, str. 5-6. [COBISS.SI-ID 79086081]

## 9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>9</sup>

SLO

Bolniki z razvito okužbo s *C. difficile*, asimptomatski klicenosci, živali in okolje so lahko potencialni vir okužbe s sporami *C. difficile*. Ujemanje genotipov, ki prevladujejo v teh rezervoarjih pa pokaže na pomen vsakega od njih. V tem projektu smo prvič sploh opisali obsežno, dobro karakterizirano zbirko sevov izoliranih pri ljudeh, živalih in iz okolja ter tako na primeru Slovenije opisali 1) da so nekateri ribotipi splošno razširjeni v vseh treh rezervoarjih (npr. 014/020) ter 2) da so trenutno živali pomembnejši vir okužbe kot okolje.

Najpomembnejši rezultat dela raziskav, ki se je nanašal na dejavnike gostitelja, je povezan s spremembami v črevesni mikrobioti. Objavili smo analizo sprememb črevesne mikrobiote v povezavi z bakterijo *C. difficile* pri perutnini, kar je bila prva objava o mikrobioti in *C. difficile* pri živalih. Pri analizi črevesne mikrobiote pri ljudeh je naša študija ena redkih, ki vključuje razen bakterijske tudi analizo glivne in arhejske populacije. Prav tako smo prvič opisali uporabo metod strojnega učenja za analizo podatkov in pomen vzorcev sestave mikrobiote in ne le prisotnost ali odsotnost posamezne skupine.

ANG

Patients with *C. difficile* infection, asymptomatic carriers, animals and environment are potential sources of infection with *C. difficile* spores. Overlap of PCR ribotypes prevalent in these reservoirs can suggest their potential importance. Within this project we described analysis of a large collection of *C. difficile* strains isolated from humans, animals and environment in Slovenia, which was the first such comparison described for any country. Results have shown that 1) some PCR ribotypes are distributed (or prevalent) in many environments and hosts (e.g. 014/020) and 2) currently animals are more important potential source for infection than environment (water, soil).

The main results about host factors describe the role of gut microbiota in association with *C. difficile*. Our study on changes in gut microbiota in *C. difficile* colonized poultry was the first report on this subject in animals. The study on gut microbiota in humans was the first to describe the association of microbiota signatures (patterns of microbial groups) and not just presence or absence on the level of individual groups. Additional value of both studies is also description of fungal and archaeal microbiota in addition to bacterial populations.

### 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

V okviru projekta smo prvič ugotovili stanje na področju okužb s *C. difficile* v študiji, ki je vključevala vse laboratorije, ki izvajajo diagnostiko za *C. difficile*. Pridobljeni podatki so pomembni tako za primerjavo s številom javljenih primerov v okviru obveznega javljanja povzročiteljev črevesnih okužb kot tudi za poznavanje prisotnih genotipov in njihove geografske razporeditve.

Projekt je okreplil sodelovanje vseh pomembnih deležnikov, ki sodelujejo pri spremljanju in obvladovanju okužb s *C. difficile*.

V delo so bili vključeni tako doktorandi, kot univerzitetni diplomanti in srednješolci.

Organizirana so bila nacionalna izobraževalna srečanja na temo projekta. Prav tako so bili rezultati predstavljeni širši javnosti v televizijskih oddajah (npr. Preverjeno) in v dnevnem in tedenskem tisku (Jana, Zdravje).

Rezultati so bili in bodo objavljeni v kvalitetnih revijah in nekateri med njimi so bili v dveh letih že dobro citirani (Janežič et al, 2012, BMC Micro; št. citatov (TC): 34, čistih citatov (CI): 24), kar prispeva k prepoznavnosti slovenske znanosti.

ANG

The results of this project have for the first time described epidemiological situation of *C. difficile* infections in Slovenia, as the strains were collected for four month period from all routine laboratories performing *C. difficile* testing. This information will serve as a baseline for further comparisons and for evaluation of CDI reporting to National institute of Public Health. The project has strengthened the collaboration between groups and institutions important in surveillance, control and research of *C. difficile* in Slovenia.

PhD student, graduate students and college students were participating in the research which contributed to their education. Also a national educational meeting on *C. difficile* was organized and the topic was included in all major national meetings on microbiology and infectious diseases.

The public was informed and educated about the results through participation of project members in different TV shows and publications in daily and weekly newspapers

Results were published in international journals and some of them were already well cited (Janežič et al, 2012, BMC Micro; citations (TC): 34, without autocitations (CI): 24).

#### 10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

**Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj		
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih</b>	

	<b>procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value=""/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value=""/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

**11.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!**

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visokošolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	



<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>					
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>					
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>					
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>					

**Komentar**

--

**12.Pomen raziskovanja za sofinancerje<sup>11</sup>**

	Sofinancer			
1.	Naziv			
	Naslov			
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR	
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%	
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja			Šifra
		1.		
	2.			
	3.			

	4.		
	5.		
Komentar			
Ocena			

### 13. Izjemni dosežek v letu 2014<sup>12</sup>

#### 13.1. Izjemni znanstveni dosežek

#### 13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

## C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

#### Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba  
raziskovalne organizacije:*

in

*vodja raziskovalnega projekta:*

NACIONALNI LABORATORIJ ZA  
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO

Maja Rupnik

**ŽIG**

Kraj in datum:

Maribor

16.3.2015

**Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/245**

<sup>1</sup> Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>4</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>8</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2015 v1.00a

53-7E-6D-21-28-76-BE-51-D1-F2-88-4A-86-42-96-4D-FA-34-92-14