

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/4



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z7-4248
Naslov projekta	Ovrednotenje odpornosti proti protiglivnim učinkovinam pri oportunističnih patogenih kvasovkah med invazivno rastjo.
Vodja projekta	26541 Jure Zupan
Tip projekta	Z Podoktorski projekt
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	7 INTERDISCIPLINARNE RAZISKAVE
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.07 Druge naravoslovne vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V projektu smo proučevali virulentne faktorje oportunističnih kvasovk *Candida glabrata* in *Saccharomyces cerevisiae*. Ob konstantnem naraščanju števila prebivalstva, staranju prebivalstva, povečani uporabi protimikrobnih učinkovin širokega spektra, imunosupresorjev in kemoterapevtikov se namreč povečuje tudi število imunooslabljenih bolnikov ter posledično incidenca sistemskih infekcij z oportunističnimi patogeni. *C. glabrata* danes predstavlja drugo najbolj pogosto patogeno vrsto iz rodu *Candida* z enako visoko stopnjo umrljivosti, kot jo dosega najpogostejša patogena gliva, *Candida albicans*. Kvasovka *S. cerevisiae*, ki je zelo sorodna kvasovki *C. glabrata*, je bila v zadnjih dveh desetletjih prav tako pogosto vpletena v invazivne

infekcije pri imunooslajenih odraslih in novorojenčkih. Očitno je, da je novo znanje na tem področju potrebno, da bi bolje razumeli virulentne dejavnike kvasovk *C. glabrata* in *S. cerevisiae*, ki ločijo patogene od ne-patogenih sevov.

Cilj projekta je bil razumeti razliko med patogenimi in nepatogenimi sevi kvasovk *S. cerevisiae* in *C. glabrata*. Razliko smo preučevali na vseh nivojih virulentnih faktorjev, ki jih lahko kvasovke uporabijo pri okužbi človeka in sicer: adhezivnost, invazivnost, odpornost proti protiglivičnim učinkovinam ter uspevanje pri povišani telesni temperaturi (nad 37 °C). Iz kliničnih vzorcev je bilo izoliranih 76 sevov *S. cerevisiae* in 56 sevov kvasovke *C. glabrata*, ki smo jih karakterizirali glede na hidrofobnost celične površine, invazivnost ter odpornost proti protiglivičnim učinkovinam. V projektu smo realizirali idejo o združitvi kvantitativnega testa invazije v agar s standardno metodo določanja protiglivične občutljivosti M27-A2 inštituta CLSI. Razvita metoda omogoča določanje vseh naštetih virulentnih dejavnikov v enem testu, ki je hiter, enostaven in ponovljiv.

Iskali smo genetske markerje, ki bi se navezovali na katerega od virulentnih faktorjev in s katerim bi bilo možno hitro določiti potencialno virulenco kliničnih sevov. Za ta namen je bila izbrana metoda analize mikrosatelitnih zaporedij. Osredotočili smo se na mikrosatelite, ki na kromosomu ležijo blizu genov, ki so pomembni za ključne virulentne faktorje. V okviru teh zahtev smo izbrali 20 mikrosatelitov specifičnih za *S. cerevisiae* in 10 mikrosatelitov specifičnih za *C. glabrata*.

Pacienti s kvasno okužbo pogosto jemljejo tudi druga zdravila kot so imunosupresivi, antibiotiki ipd., zato pride do interakcij med učinkovinami, katerih učinek pa je zelo slabo poznan. V ta namen smo preučevali sinergistične ter antagonistične učinke zdravil na protiglivične učinkovine (flukonazol, itrakonazol in amfotericin B).

Okužbe s *Saccharomyces* so pogosto povezane s probiotikom *S. boulardii*, zato smo s testiranjem 8 pripravkov, ki se jih dobi v Evropi, skušali oceniti tveganje uporabe probiotičnih sevov *S. boulardii*. Določali smo že omenjene virulentne faktorje pri tem sevu ter poleg tega še preživelost pri nizkem pH.

ANG

In this project we studied virulence factors of opportunistic yeast *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. With the exponential growth of world population, population aging, increased use of broad spectrum antimicrobial therapy or prophylaxis, immunosuppressives, and chemotherapeutic drugs, there has been an increasing number of reports on systemic infections involving opportunistic pathogens. *C. glabrata* has become the second causative agent of human candidiasis and is associated with as high mortality rate as with *Candida albicans*. Its close relative, yeast *S. cerevisiae*, has been implicated in quite a number of invasive infections in immunocompromised adults and newborns in the past two decades. It is obvious that new knowledge is needed to better understand *C. glabrata* and *S. cerevisiae* virulence traits, which separate them from non-pathogenic strains.

The aim of the project was to understand the difference between pathogen and non-pathogen strains of yeast *C. glabrata* and *S. cerevisiae*. We examined this difference with regard to all virulence factors, which help yeast to survive in humans: adhesiveness, invasiveness, antimycotic resistance and growth at elevated body temperatures (above 37°C). We collected from clinical specimen 76 and 56 *S. cerevisiae* and *C. glabrata* strains, respectively. All strains were characterized for hydrophobicity of cell surface, invasiveness and antimycotic resistance. In this project we realized the idea about combining the quantitative agar invasion assay with standard antifungal susceptibility method M27-A2 from the CLSI institute. The resulted method allows for determination of all mentioned yeast virulence factors in one test, which is rapid, simple, and reproducible.

We searched for genetic markers, which would be correlated to one of the above-mentioned virulence factors and with which it could be possible to determine the virulence of random sample. For this purpose we chose the method of microsatellites analysis. We focused on microsatellites that lie close to the genes, which are important for key virulence factors. In the frames of this demands, we found 20 and 10 microsatellites specific for *S. cerevisiae* and *C. glabrata*, respectively.

Patients with yeast infections often take also other drugs like immunosuppressives, antibiotics etc., therefore those drugs interact with each other. Effects of these interactions are not known well. For this reason we studied synergistic and antagonistic effects of selected medical drugs to antimycotics (fluconazole, itraconazole and amphotericin B).

Saccharomyces infections are often related to probiotic *S. boulardii*, therefore we tested 8 *S. boulardii* food supplements available in Europe and tried to evaluate the risk of using them. We tested all above-mentioned virulence factors and in addition also the survival at low pH.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Projekt je vključeval 3 delovne sklope: DS1 – karakterizacija mikroorganizmov, ki bodo uporabljeni v projektu (*S. cerevisiae* in *C. glabrata*); DS2 – razvoj novega diagnostičnega testa za določanje virulentnih faktorjev kvasovk *C. glabrata* in *S. cerevisiae*; ter DS3 – študij virulentnih dejavnikov *C. glabrata* in *S. cerevisiae*.

Realizacija in opis raziskovanja

Delovni sklop 1 (Karakterizacija testnih mikroorganizmov)

Delovni sklop 1 je vseboval 5 nalog: zbiranje kliničnih sevov *S. cerevisiae* in *C. glabrata* (N1), določanje hidrofobnosti (N2), invazivnosti (N3) ter občutljivosti na antimikotike (N4) testnih sevov. Poleg tega smo iskali genetske markerje za identifikacijo virulentnih sevov z analizo mikrosatelitov v DNK.

V sodelovanju z Inštitutom za imunologijo in mikrobiologijo Medicinske fakultete, Univerze v Ljubljani je bilo izoliranih 76 sevov *S. cerevisiae* (večino sevov smo pridobili že tekom opravljanja doktorata Jureta Zupana) in 56 sevov kvasovke *C. glabrata*, katere smo identificirali z molekularnimi orodji identifikacije (PCR-RFLP regije ITS z restrikcijskimi encimi *CfoI*, *HinI* in *HaeIII*) ter deponirali v Zbirko industrijskih mikroorganizmov (ZIM) Biotehniške fakultete. S tem je bila naloga N1 izpolnjena.

Vsem sevom smo določili stopnjo hidrofobnosti celične površine, ki je pogosto povezana z adhezijo in tvorbo biofilmov patogenih mikroorganizmov na različnih podlagah, med drugimi na medicinskih pripomočkih kot so npr. katetri. Test je bil izveden po objavljenem protokolu (Rosenberg, 1984) s ksilenom, oktanom in heksadekanom, pri čemer je bil glede na rezultate izbran ksilen. Pri kvasovki *S. cerevisiae* je bila hidrofobnost v ksilenu izmerjena v povprečju 18%, najvišjo vrednostjo 86% in najnižjo 0%. Kvasovka *C. glabrata* je bila bolj hidrofobna v ksilenu, s povprečjem 30%, najvišjo vrednostjo 90% in najnižjo 0%. Test je pokazal, da so razlike med sevi izredno velike, kar kaže na to, da hidrofobnost ni karakteristika vrste ampak posameznega seva. To opažanje potrjuje hipotezo, da je bolj kot identifikacija vrste, pomembna karakterizacija seva. S tem je bila naloga N2 opravljena.

Vsem sevom smo s kvantitativnim testom invazije v agar (Zupan in Raspor, 2008) določili stopnjo invazivnosti. V zbirki kvasovk *S. cerevisiae* je bilo izmed kliničnih sevov 30% (12) invazivnih, med nekliničnimi pa je bilo invazivnih le 8% (3). V zbirki sevov *C. glabrata* (vsi klinični) je bilo le 7% (4) invazivnih sevov, kar je nepričakovano nizko. Rezultat kaže na to, da invazivnost v agar (v gojišče YNB) ni virulentni faktor kvasovk *C. glabrata*. S tem je bila naloga N3 izpolnjena.

Sevom *S. cerevisiae* in *C. glabrata* smo določili minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) za antimikotike flukonazol, itraconazol, amfotericin B in kaspofungin. Po kriterijih inštituta CLSI, je bila razporeditev sevov *S. cerevisiae* naslednja: proti amfotericinu B je bil 1 sev (2%) odporen, 18 (38%) občutljivih v odvisnosti od koncentracije in 28 občutljivih (60%); proti itraconazolu je bilo 33 sevov (46%) odpornih, 13 sevov (28%) občutljivih glede na koncentracijo in samo 1 sev (2%) občutljiv; proti flukonazolu so bili 4 sevi (9%) odporni, 4 (9%) v odvisnosti od koncentracije in 39 (83%) občutljivih; na kaspofungin je bilo 48 sevov (100%) občutljivih. Pri kvasovki *C. glabrata* je bila razporeditev naslednja: na amfotericin B je bilo 30 sevov (55%) občutljivih v odvisnosti od koncentracije in 25 (45%) občutljivih; proti itraconazolu je bilo 34 sevov (60%) odpornih, 21 sevov (37%) občutljivih v odvisnosti od koncentracije in le 2 seva (4%) občutljiva; proti

flukonazolu je bilo 8 sevov (14%) odpornih, 4 sevi (7%) občutljivih v odvisnosti od koncentracije in 45 (79%) občutljivih; na kaspofungin je bilo vseh 55 sevov občutljivih. Analiza je pokazala visok delež odpornih sevov *S. cerevisiae* in *C. glabrata* proti itraconazolu. Najbolj učinkovita sta bila amfotericin B in kaspofungin. S tem je bila naloga N4 opravljena.

Nobena od korelacij med kombinacijami izmerjenih karakteristik (hidrofobnost-rezistenca, hidrofobnost-invazivnost ter rezistenca-invazivnost) ni bila statistično značilna. Korelacijo smo skušali poiskati v genetskih markerjih – v mikrosatelitih v DNK. Iz spletnih genetskih baz genomov kvasovk smo pridobili zapis za genome 3 sevov *S. cerevisiae* (EC1118, S288c ter Sigma1278b) in genom kvasovke *C. glabrata* (CBS 138). Na podlagi razlik v mikrosatelitnih zaporedij in glede na bližino gena, ki je povezan s katerim od virulentnih faktorjev, smo s pomočjo programskega orodja WebSat izbrali 20 mikrosatelitov za *S. cerevisiae* in 10 mikrosatelitov za *C. glabrata* ter poiskali ustrezne oligonukleotidne začetnike. Iz izbranih kliničnih sevov smo izolirali DNK ter testirali izbrane mikrosatelite. S programskim orodjem Bionumerics (Applied Maths) smo rezultate analizirali in seve združevali glede na podobnost mikrosatelitnega odtisa. Pri *S. cerevisiae* je bilo možno z mikrosatelitom TTG, ki leži blizu gena za transkripcijski faktor PDR1, ločiti probiotični sev *S. boulardii* od ostalih sevov, medtem ko korelacije z virulentnimi faktorji nismo našli. Mikrosatelit TCA je pri kvasovki *C. glabrata* izoliral 2 seva, ki sta pri vzporednih testih adhezije na polistiren kazala zelo specifično obnašanje v primerjavi z ostalimi. Za razjasnitev specifičnosti bo potrebna nadaljnja raziskava. S tem smo nalogo N5 zaključili.

Delovni sklop 2 (Razvoj kvantitativnega testa za določanje minimalne koncentracije antimikotika za invazivno rast)

Cilj delovnega sklopa 2 je bil razviti test, ki bi selekcioniral seve *S. cerevisiae* in *C. glabrata* glede na njihove glavne virulentne faktorje: invazivnost, rast pri povišani temperaturi in odpornost proti protiglivičnim učinkovinam. Razvoj testa je temeljil na kvantitativnem testu invazije v agar (Zupan in Raspor, 2008), ki smo ga objavili pred kratkim in temelji na denzitometričnem merjenju biomase (invazivnih kolonij) pod agarno površino. Za namen avtomatizacije smo preiskovali mikrotitrne formate (24, 48 in 96 luknjic). V kolikor bi bila inokulacija ter priprava agarja robotizirana, bi bili takšni formati praktično in ekonomsko zanimivi. Za manualno pripravo pa so zamudni, neponovljivi in nezanesljivi, zato smo metodo postavili na mini Petrijevih ploščah (3,5 cm) po 3 ponovitve na ploščo (naloga 1, N1). Za gojišče, ki aktivira mehanizme invazivne rasti je bilo izbrano gojišče YNB z nizko vsebnostjo dušika (naloga 2, N2). V ohlajen agar smo vmešavali antimikotike (amfotericin B, flukonazol in itraconazol) ter izmerili minimalne koncentracije antimikotikov, ki še dovoljujejo invazivno rast invazivnih sevov, kar smo imenovali MICING (minimal inhibitory concentration for invasive growth). Rezultat testa je oblikovan v takoimenovani invaziogram, iz katerega je moč razbrati količino invazivne ter površinske biomase, relativno invazijo (delež invazivne biomase glede na celotno kolonijo) ter MICING. Meritve so bile opravljene na izbrani skupini 12 klinično pomembnih sevov *S. cerevisiae* in *C. glabrata* ter v relevantnem koncentracijskem rangi posameznega antimikotika. Invaziogrami so pokazali izjemno zanimiv trend realtivne invazije, ki je bil značilen za posamezni antimikotik in iz katerega je mogoče sklepati o mehanizmih odpornosti proti antimikotikom, kar se navezuje na nalogo N3 delovnega sklopa 3. MICING je bil večinoma višji od MIC-a, določenega s standardno metodo inštituta CLSI, še posebej pri amfotericinu B, kar nakazuje na to, da so pogoji inhibicije antimikotikov v trdnem matrisu drugačni od pogojev v raztopinah. Metoda je trenutno edina te vrste in ima potencial kot nov diagnostični pripomoček pri ugotavljanju virulence kliničnih sevov kvasovk. To leto je bila opisana v obliki znanstvenega članka, vendar v času pisanja tega poročila še neobjavljena. Naloge delovnega sklopa (N1-N3) so bile tako opravljene.

Delovni sklop 3 (Študij virulentnih dejavnikov kvasovk *C. glabrata* in *S. cerevisiae*)

Zadnji delovni sklop je bil razdeljen na 4 študije/naloge: N1 – sinergistični in antagonistični učinki medicinskih učinkovin; N2 – občutljivost kvasnih probiotikov na antimikotike; N3 – Mehanizmi odpornosti med invazivno rastjo; N4 – Adhezini celične stene.

Izredno produktivna je bila študija sinergističnih in antagonističnih učinkov pomembnih medicinskih učinkovin na glavne antimikotike (N1). Testirali smo antibiotik amoksisicilin trihidrat ter imunosupresive ciklosporin A, mikofenolat mofetil, metotreksat hidrat in takrolimus (FK506)

v relevantnem koncentracijskem rangi v vseh kombinacijah z antimikotiki amfotericin B, flukonazolom in itraconazolom pri 12 izbranih sevih *S. cerevisiae* in *C. glabrata*. Vsako od 180 kombinacij smo testirali na mikrotitrski ploščici s 96 jamicami v rangi relevantnih koncentracij medicinske učinkovine (2× dilucija navpično) ter antimikotika (2× dilucija vodoravno) v 3 ponovitvah. Rezultati so pokazali zanimive antagonistične kot tudi sinergistične učinke, ki so bili odvisni tudi od sevov. Podatki bodo koristni pri razumevanju učinka posameznih antimikotikov pri zdravljenju infekcij s kvasovkami *S. cerevisiae* in *C. glabrata* pri pacientih, ki v času okužbe že jemljejo imunosupresivna sredstva, kar je pri omenjeni skupini pacientov zelo pogosto. Objava rezultatov se načrtuje za konec leta 2014.

V drugi nalogi (N2) smo študirali občutljivost kvasnih probiotikov na antimikotike. Trenutno obstaja samo 1 komercialni kvasni probiotik in sicer *Saccharomyces boulardii*. V študijo je bil vključen zaradi številnih publikacij, kjer so dokazovali njegovo vpletenost v infekcije pri imunooslabljenih pacientih. Pridobili smo 5 evropskih komercialnih produktov s tem organizmom, ga izolirali iz kapsul ter testirali invazivnost (DS2 N3), modulatorne učinke medicinskih učinkovin (DS3,N1) občutljivost na antimikotike (DS3, N2), nizek pH ter visoko temperaturo. Sevi so imeli visoko preživelost pri nizkem in slabšo pri visokem pH, noben sev ni bil invaziven pri 37 in 39 °C in vsi sevi so bili občutljivi na vse testirane antimikotike (amfotericin B, flukonazol, itraconazol ter kaspofungin). Glede na izvedene teste *in vitro* probiotični sevi niso kazali pomembnejših virulentnih faktorjev. Za trdnjše dokaze bo potrebno teste izvesti tudi *in vivo*.

Naloga N3 je bila deloma izvedena v okviru naloge N3 delovnega sklopa DS2. Zaradi krčenja sredstev za materialne stroške je bilo žal potrebno načrtovane analize v tej nalogi ter v nalogi N4 prestaviti v bodoče plane.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Realizacija projekta je bila visoka, saj je bilo realiziranih 10 nalog od 12, kljub krčenju sredstev za materialne stroške, ki so bili razlog, da smo se odrekli eksperimentom z visokimi stroški kot so določanje ekspresije genov s PCR v realnem času in analiza proteinov celične stene SDS-PAGE. Bistveni raziskovalni cilji so bili uspešno izpolnjeni: ustvarili smo zbirko kliničnih sevov *S. cerevisiae* in *C. glabrata* (DS1, N1), določili hidrofobnost celične stene (DS1, N2), invazivnost (DS1, N3) in občutljivost proti protiglivičnim učinkovinam (DS1, N4) vsem sevom v zbirki ter poiskali nekaj potencialno uporabnih mikrosatelitov za detekcijo klinično zanimivih sevov (DS1, N5). Vpeljana je bila tudi nova metoda testiranja virulentnih faktorjev kliničnih sevov kvasovk (DS2, N1-3). Metoda je bila preizkušena s 3 planiranimi antimikotiki, deloma celo dodatno s kaspofunginom. Obsežno delo je bilo narejeno tudi s študijem sinergističnih in antagonističnih vplivov medicinskih učinkovin pri izbranih antimikotikih. Iz rezultatov opravljenega projekta bodo realizirani štirje znanstveni članki v revijah s faktorjem vpliva. Delo na tej tematiki se bo nadaljevalo tudi v prihodnje.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Drugih sprememb plana, poleg opisanih v zgornji točki, ni bilo.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	4241784	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Metodološki pristopi odkrivanja škodljive narave splošno neškodljive kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
		ANG	Methodological approaches for unraveling ill-natured moments of generally good-natured <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
			To vabljen predavanje, ki temelji na revijalnem članku v zborniku,

Opis	SLO	povzema problematiko virulentnih faktorjev pri kvasovki <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
	ANG	This invited lecture, which was based on the review article, summarizes the issues of virulent factors in the yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
Objavljeno v	Matica Srpska, Odeljenje za prirodne nauke = Matica Srpska, Department of Natural Sciences; Mycology, mycotoxicology and mycoses; Zbornik Matice srpske za prirodne nauke; 2013; Str. 379-396; Avtorji / Authors: Zupan Jure, Matos Tadeja, Cencič Avrelija, Raspor Peter	
Tipologija	1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljeni predavanja)	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	4337528	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Biotehnologija, varnost in diverziteta kvasovke <i>Saccharomyces</i>
		ANG	Biotechnology, biosafety and diversity of yeasts <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	Opis	SLO	V Budimpešti je bila v tem vabljenem predavanju predstavljena kvasovk <i>Saccharomyces</i> kot industrijski organizem in na drugi strani kot oportunistični patogen.
		ANG	This invited lecture in Budapest presented <i>Saccharomyces cerevisiae</i> as an industrial microorganism on one hand and as an opportunistic pathogen on the other hand.
	Šifra	B.04 Vabljeni predavanja	
	Objavljeno v	Faculty of Food Science, Corvinus University of Budapest; Book of proceedings; 2013; Str. 47-49; Avtorji / Authors: Raspor Peter, Avbelj Martina, Bizaj Etjen, Čadež Neža, Jamnik Polona, Kosel Janez, Kranjc Luka, Paš Maja, Zakrajšek Teja, Smole Možina Sonja, Zupan Jure	
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeni predavanja)	
2.	COBISS ID	4309624	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Kvantifikacija adhazije in invazije kvasovk
		ANG	Quantification of yeast adherence and invasion
	Opis	SLO	V tem vabljenem predavanju so bile predstavljene metode adhezije in invazije ter pomen teh virulentnih karakteristik pri kvasovki <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
		ANG	In this invited lecture, yeast adhesion and invasion methods were reviewed and the role of those virulent characteristics in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> were discussed.
	Šifra	B.04 Vabljeni predavanja	
	Objavljeno v	Balkan Society for Microbiology; Microbiologia Balkanica '2013; 2013; Str. 46, GAM35; Avtorji / Authors: Raspor Peter, Zupan Jure	
	Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeni predavanja)	
3.	COBISS ID	4147576	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Izzivi in uspehi na področju patogenih kvasovk
		ANG	Challenges and successes in the field of pathogenic yeasts
		S tem predavanjem se je Jure Zupan, vodja projekta, odzval na povabilo	

	Opis	SLO	prof. Rasporja na konferenci ob 20. obletnici Katedre za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil. Predavanje je pregled nad tematiko patogenih kvasovk.
		ANG	With this lecture, Jure Zupan, the proposed project leader, responded to the invitation of prof. Raspor at the conference dedicated to the 20th anniversary of the Chair of biotechnology, microbiology and food safety. The lecture reviews the topic of pathogen yeast.
	Šifra	B.03	Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Katedra za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil; Biotehnologija in mikrobiologija za znanje in napredek; 2012; Str. 413-422; Avtorji / Authors: Zupan Jure	
	Tipologija	1.09	Objavljeni strokovni prispevek na konferenci

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

Vodja projekta Jure Zupan je poleg tega projekta aktivno deloval tudi na sorodnih področjih in sicer na področju fermentacije kvasovk. Pri tem je bil zelo uspešen z objavo članka, ki po kazalcih uspešnosti sodi v kategorijo "izjemnih dosežkov" (A"):

ZUPAN, Jure, AVBELJ, Martina, BUTINAR, Bojan, KOSEL, Janez, ŠERGAN, Matej, RASPOR, Peter. Monitoring of quorum-sensing molecules during mini-fermentation studies in wine yeast. Journal of agricultural and food chemistry, ISSN 0021-8561, 2013, vol. 61, issue 10, str. 2496-2505, doi:10.1021/jf3051363. [COBISS.SI-ID 4215160]

Poleg tega je vodja projekta sodeloval pri članku s področja vinskih kvasovk:

ČADEŽ, Neža, ZUPAN, Jure, RASPOR, Peter. The effect of fungicides on yeast communities associated with grape berries. FEMS yeast research, ISSN 1567-1356. [Print ed.], 2010, issue 5, vol. 10, str. 619-630, doi: 10.1111/j.1567-1364.2010.00635.x. [COBISS.SI-ID 3768440]

Zaradi zanimivih rezultatov, ki so nastajali med izvajanjem projekta, je bilo vzporedno omogočeno izvesti en magisterij magistranta Matica Konjarja (Univerza v Ljubljani; zagovor bo jeseni 2014) in del doktorata Erasmus študentke Zorice Tomičić (Univerza v Novem Sadu; zagovor bo predvidoma konec leta 2014).

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Glivične infekcije so izredno razširjen problem pri ljudeh na splošno in še posebej pri starejši populaciji in pri otrocih. Problem izhaja iz dejstva, da poznamo izredno malo antimikotikov, saj so ti organizmi evkarionti in zato strukturno podobni človeškim celicam, kar pomeni, da zdravila v večini primerov škodujejo hkrati patogenu in tudi človeku. Poleg tega se mikroorganizmi kontinuirno prilagajajo antibiotikom na trgu in vzporedno razvijajo odpornost proti njim. Zaradi navedenih razlogov (primanjkovanje tarč za protiglivične učinkovine zaradi evkariontske sorodnosti gliv s človekom), je število protiglivičnih učinkovin izredno nizko (poznanih je samo približno 30 produktov) in močno zaostaja za ostalimi medicinskimi učinkovinami. Antimikotiki zato predstavljajo razvijajoče se področje, ki potrebuje zaledje raziskovalne sfere. Antimikotik flukonazol (Diflucan ali Trican), ki je glavna tema projekta in ga proizvaja eno od vodilnih farmacevtskih družb, Pfizer, kotira na 92. mestu najbolj prodajanih medicinskih učinkovin z letnim dohodkom od prodaje 125 milijonov dolarjev (vir: SDI/Verispan, VONA, za celotno leto 2008). Še precej večje dobičke prinašajo imunosupresivi, ki so vključeni v projekt zaradi njihovih domnevnih sinergističnih učinkov na občutljivost kvasovk na azole (takrolim in mikofenolat mofetil z 2000 milijoni dolarjev na leto). Poznavanje virulentnih faktorjev patogenih mikroorganizmov je zato ključno. Žal pa virulentni faktorji niso enako prisotni pri vseh sevih

iste vrste, zato je npr. identifikacija patogene kvasovke na nivoju vrste premalo za pravilno odločitev glede izbire zdravljenja. Novi tipi pristopov, kot je npr. metoda, ki je bila razvita v projektu, so za napredek v znanosti vedno dobrodošle. Metoda pri testnih sevih testira trenutno poznane virulentne faktorje kvasovk – rast pri povišani telesni temperaturi (nad 37 °C), invazivnost in odpornost proti antimikotikom in s tem izpostavi potencialno problematične seve. V publikacijah ne najdemo takega tipa testa. Iz rezultatov projekta je razvidno, da so razlike med sevi izredno velike, tako v hidrofobnosti celične stene, ki je pogosto vezana na adhezijo kot tudi v invazivnosti v trdno podlago ter v odpornosti proti antimikotikom. Glede na rezultate projekta načrtujemo objavo štirih znanstvenih člankov, s čimer bomo prispevali k razvoju tega področja. Metodološki članek, ki opisuje metodo za testiranje virulentnih faktorjev patogenih sevov, je že napisan in je v postopku priprave za objavo.

ANG

Fungal infections are extremely widespread problem for people in general and especially in elderly population and in children. The problem originates from the fact that we have very limited number of efficient antifungals, as these organisms are eukaryotes and are therefore structurally similar to human cells, which means that the drug impairs pathogen and human cell at the same time. In addition, microorganisms continuously adapt to antibiotics and develop resistance to them. Antifungals therefore represent an evolving area that needs a support of research community. Antifungal agent fluconazole (Diflucan or Trican), which is the main focus of the project, is produced by one of the leading pharmaceutical companies, Pfizer, and is listed on 92th place of the best-selling medical substances with annual income from the sale of \$ 125 billion (source: SDI / Verispan, VONA, for the whole of 2008). Even bigger profits bring immunosuppressives, which are involved in the project because of their putative synergistic effect on the sensitivity of yeast to azoles (tacrolimus and mycophenolate mofetil with 2,000 million dollars per year). Knowledge of virulence factors of pathogenic micro-organisms is therefore crucial. Unfortunately, however, virulence factors are not equally present in all strains of the same species, and therefore the identification of pathogenic yeast to the level of species is not enough for proper decision making during medical treatment. New types of approaches, such as the method, which was developed in the project, are therefore always welcome. The method evaluates currently known virulence factors of yeast in one assay – growth at elevated body temperature (above 37 °C), invasiveness and resistance to antimycotics – and in that way exposes potentially problematic strains. To our knowledge, there are no similar methods published so far. It is evident from the results of the project that the differences between the strains are extremely large, so in the hydrophobicity of the cell wall, which is directly correlated to the adhesion, as well as in the invasiveness and in the antimycotic resistance. Based on the results of the project, we plan to publish four scientific papers, which will contribute to the development of this area. Methodological article that describes a method for testing the virulence factors of pathogenic strains has been written already and is prepared for publication.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Pri projektu smo aktivno sodelovali z Inštitutom za imunologijo in mikrobiologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, ki je predstavljal izredno pomemben povezovalni člen med fakulteto, rutinsko mikrobiologijo in pacienti. To je še posebej pomembno, ker je takšnih povezav v Sloveniji premalo. Poleg tega so bili pri projektu uporabljeni antimikotiki ter medicinske učinkovine, ki se trenutno najbolj pogosto uporabljajo v Sloveniji pri tovrstnih primerih infekcij, medsebojni učinki pa niso poznani. Npr. kaspofungin se vedno več uporablja in nadomešča ostale antimikotike zaradi blagih učinkov na človeka in hkrati nizke minimalne inhibitorne koncentracije. Slednje so potrdili tudi rezultati projekta. Pri azolnih antimikotikih (flukonazol in itrakonazol) pa smo pokazali nekaj antagonističnih in sinergističnih učinkov, ko sta bila uporabljena skupaj z nekaterimi imunosupresivi. Ti podatki bodo izredno koristni za pripravo novih projektov, s katerimi lahko preselimo in vitro testiranje opaženih fenomenov v in vivo okolje in se približamo razumevanju mehanizmov, ki so krivi za razvoj odpornosti pri nekaterih sevih in posledično za neuspešno zdravljenje. Področje patogenih kvasovk je v Sloveniji slabo razvito, kljub dejstvu, da je uspešnih antimikotikov malo in da so dragi. Razvoj na tem področju je nujen in potrebuje močnejšo podporo, če ne v proizvodnji pa vsaj pri pridobivanju novih dognanj.

ANG

From the start of the project, we actively cooperated with the Institute of Immunology and Microbiology of the Faculty of Medicine of the University of Ljubljana, which represented an important link between the school, routine microbiology and patients. This is particularly important because there is a lack of such links in Slovenia. In addition, we used antifungal agents and medical agents that are currently most often used in Slovenia in such cases of infections, while the synergistic and antagonistic effects of those drugs are not known. Caspofungin is currently very successful drug and replaces other antifungals because of mild effects on humans and at the same time low minimum inhibitory concentration. The latter was also confirmed by the results of the project. In the case of azole antifungals (fluconazole and itraconazole) we showed some antagonistic and synergistic effects when the antimycotics were used together with certain immunosuppressives. This information will be extremely useful in future projects, in which we can translate in vitro testing of the observed phenomena into in vivo environment and come closer to the understanding of the mechanisms that are responsible for the development of resistance in some strains and consequently to treatment failure. The area of pathogenic yeasts in Slovenia is poorly developed despite the fact that there are limited number of successful antifungals and that they represent high cost. Development in this area is necessary and needs stronger support, if not in production at least in acquiring new knowledge.

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		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

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

	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33 Patent v Sloveniji		
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34 Svetovalna dejavnost		
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35 Drugo		
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

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	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☐	☐	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☐	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☐	☐	☐	☐	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	☐	☐	☐	☐	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☐	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☐	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☐	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☐	☐	☐	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	☐	☐	☐	☐	

G.02.11.	Nov investicijski zagon	☐	☐	☐	☐	
G.02.12.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	☐	☐	☐	☐	
G.03.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	☐	☐	☐	☐	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	☐	☐	☐	☐	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	☐	☐	☐	☐	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	☐	☐	☐	☐	
G.04.06.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete	☐	☐	☐	☐	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	☐	☐	☐	☐	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	☐	☐	☐	☐	
G.09.	Drugo: 	☐	☐	☐	☐	

Komentar

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	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 2013¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

S projektom direktno povezanih znanstvenih objav v času pisanja poročila še ni, a vendar smo v letu 2013 na sorodnem področju objavili članek, ki po kazalcih uspešnosti sodi v kategorijo "izjemnih dosežkov" (A"):

ZUPAN, Jure, AVBELJ, Martina, BUTINAR, Bojan, KOSEL, Janez, ŠERGAN, Matej, RASPOR, Peter. Monitoring of quorum-sensing molecules during mini-fermentation studies in wine yeast. Journal of agricultural and food chemistry, ISSN 0021-8561, 2013, vol. 61, issue 10, str. 2496-2505, doi:10.1021/jf3051363. [COBISS.SI-ID 4215160]

Metodološko obarvana študija temelji na detekciji medcelične komunikaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*. Takoimenovani quorum sensing je mehanizem preko katerega se pri povečanju gostote kvasnih celic uravnava mnogo pomembnih genov, med njimi tudi takih, ki jih povezujejo z invazivno rastjo, ki je bila tema tega projekta. V priponki prilagam slikovni povzetek članka ("graphical abstract").

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:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Jure Zupan

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	9.4.2014
-----------	----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/4

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

² 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](#)

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

⁴ 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](#)

⁵ 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](#)

⁶ 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](#)

⁷ 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](#)

⁸ 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](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ 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](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (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/2014 v1.03

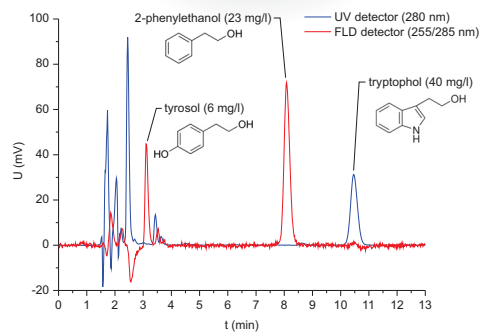
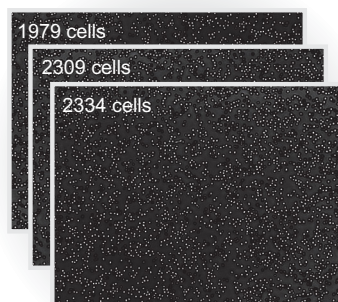
E8-20-95-AA-02-A4-D4-18-73-59-0F-05-38-4E-EA-5B-F6-1F-46-27

Priloga 1

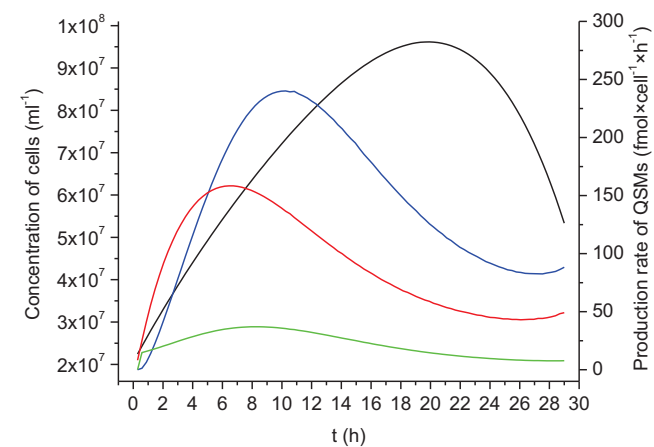


Mini-fermentations

Automatic counting of viable cells
by ImageJ software



Detection of quorum sensing
molecules by HPLC-FLD



Quorum sensing kinetics