



Knjiga povzetkov

Kongres SMD 2017

20. – 22. september 2017
Bled, Slovenija

7. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva

PROGRAM KONGRESA

SREDA 20.9.2017

| | | |
|-------------|------------|--|
| 09:00 | | Registracija |
| 11:00-11:15 | | Otvoritev kongresa |
| 11:15-12:00 | | Plenarno predavanje |
| | PPR | Rupnik OD KLOSTRIDIJA DO MIKROBIOTE Z NGS |
| 12:00-13:00 | | Odmor za kavo in prigrizek ter ogled plakatov |

| | | | |
|--------------------|-------------|--------------------------|---|
| 13:00-15:40 | | Mikrob in zdravje | <i>Smole Možina Ocepek</i> |
| 13:00-13:30 | VPr1 | Zdovc | <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> |
| 13:30-13:50 | VPr2 | Zelenik | SPREMLJANJE MIKROBIOLOŠKE VARNOSTI ŽIVIL |
| 13:50-14:10 | VPr3 | Šoba | PARAZITI – GROŽNJA ALI PRILOŽNOST? |
| 14:10-14:25 | Pr1 | Cerar | GENOTIPIZACIJA IZOLATOV <i>BORRELIA GARINII</i> |
| 14:25-14:40 | Pr2 | Velikonja | ČREVESNA MIKROBIOTA-METABOLIČNI SINDROM-JEČMEN |
| 14:40-14:55 | Pr3 | Golob | VLOGA ŽIVALI PRI OKUŽBAH LJUDI Z LA-MRSA |
| 14:55-15:10 | Pr4 | Bogovič Matijašič | MLEČNOKISLINSKE BAKTERIJE-ANTIBIOTIKI-ODPORNOST |
| 15:10-15:25 | Pr5 | Šimunovič | <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> -RASTL. IZVLEČKI-MODULACIJA |
| 15:25-15:40 | | Heinicke | POSTOPKI STERILIZACIJE (sponzor Lotrič) |
| 15:40-16:30 | | | Odmor za kavo in ogled plakatov |

| | | | |
|--------------------|-------------|----------------------------------|--|
| 16:30-18:35 | | Molekulska mikrobiologija | <i>Vodovnik Dogša</i> |
| 16:30-17:00 | VPr4 | Dermastia | FITOPLAZME |
| 17:00-17:20 | VPr5 | Butala | GENETSKA STIKALA, KI URAVNAVAJO PREPIS GENOV SOS |
| 17:20-17:35 | Pr6 | Gostinčar | ČRNA KVASOVKA <i>AUREOBASIDIUM PULLULANS</i> |
| 17:35-17:50 | Pr7 | Špacapan | <i>BACILLUS SUBTILIS</i> -BIOFILMI-ZUNAJCELICNE PROTEAZE |
| 17:50-18:05 | Pr8 | Mahnich | KRONIČNA VNETHA ČREVESNA BOLEZEN-MIKROBIOTA |
| 18:05-18:20 | Pr9 | Valinger Sluga | <i>MYCOPLASMA CYNOS</i> -CITOKINI V CELIČNI KULTURI DH82 |
| 18:20-18:35 | Pr10 | Dreo | DIGITALNA PCR |
| 19:30 | | | Svečana otvoritev kongresa |

ČETRTEK 21.9.2017

| | | | |
|-------------------|-------------|-------------------------|---|
| 8:30-10:35 | | Mikrob in okolje | <i>Mandič Mulec Accetto</i> |
| 8:30-9:00 | VPr6 | Gunde Cimerman | »ČRNO CVETENJE« GRENLANDSKE LEDENE PLOŠČE-GLIVE? |
| 9:00-9:20 | VPr7 | Štefanič | SORODSTVENA DISKRIMINACIJA <i>BACILLUS SUBTILIS</i> |
| 9:20-9:35 | Pr11 | Mori | PROCESI RAZGRADNJE NA POPLAVNI RAVNICI REKE SOČE |
| 9:35-9:50 | Pr12 | Čadež | NARAVNO PRISOTNA MIKROBIOTA JABOLČNEGA VINA |
| 9:50-10:05 | Pr13 | Dogša | MEHANSKE MEDCELICNE POVEZAVE PRI BAKTERIJAH |
| 10:05-10:20 | Pr14 | Bolješič | SOCIALNE INTERAKCIJE IN TERITORIALNOST <i>B. SUBTILIS</i> |
| 10:20-10:35 | Pr15 | Zupančič | IZ POMIVALNEGA STROJA V KUHINJO - PA TUDI NAZAJ |
| 10:35-11:30 | | | Odmor za kavo in ogled plakatov |

| | | | |
|--------------------|-------------|------------------------------|---|
| 11:30-13:20 | | Mikrob in tehnologije | <i>Čepeljnik Stražar</i> |
| 11:30-12:00 | VPr8 | Petkovič | BIOSINTEZNI INŽENIRING KOT KOMPLEMENTARNI PRISTOP |
| 12:00-12:20 | VPr9 | Peterka | PROIZVODNJA VELIKIH BIOLOŠKIH MOLEKUL |
| 12:20-12:35 | Pr16 | Vidmar | IZBOLJŠANJE PROIZVODNJE METANA |
| 12:35-12:50 | Pr17 | Baš | BIOFILMI-DELOVANJE PROTIMIKROBNIH SREDSTEV |
| 12:50-13:05 | Pr18 | Filipič | NOVE NE-KEMIČNE METODE ZA ELIMINACIJO VIRUSOV |
| 13:05-13:20 | Pr19 | Butinar | KVASOVKE-BIOFUNGICIDI V VINOGRADNIŠTVU |
| 13:20-14:30 | | | Kosilo |

| | | | |
|--------------------|--|---------------------------|--|
| 14:30-16:15 | | Doktorsko popoldne | <i>Raspor</i> |
| 16:15-16:45 | | Sikora | ANTIBIOTICS (zlato sponzor DIAHEM) |
| 16:45-17:00 | | Goldenberg | NGS IN MICROBIOLOGY (srebrni sponzor KEMOMED) |
| 17:00-17:15 | | Allibardi | LBM AND FLOQSWAB™ (srebrni sponzor MIKRO+POLO) |
| 17:15-18:30 | | | Odmor za kavo in ogled plakatov |

19:30 Svečana večerja s podelitvijo priznanj SMD

PETEK (Friday) 22.9.2017

International Virology Day

| | | | |
|-------------------|--------------|-------------------------|--|
| 8:30-10:20 | | Medical Virology | <i>Steyer Jurak</i> |
| 8:30-9:00 | VPr10 | Poljak | MOLECULAR TESTS FOR DIAGNOSIS OF HPV |
| 9:00-9:20 | VPr11 | Korva | EBOLA VIRUS DISEASE: LESSONS LEARNED |
| 9:20-9:35 | Pr20 | Vilibić-Čavlek | EMERGING MOSQUITO-BORNE VIRAL INFECTIONS |
| 9:35-9:50 | Pr21 | Prosenč Trilar | VIROLOGICAL SURVEILLANCE OF INFLUENZA LIKE ILLNESS |
| 9:50-10:05 | Pr22 | Zubkovič | HERPES SIMPLEX VIRUS 1 INFECTION AND HOST miRNAs |
| 10:05-10:20 | Pr23 | Ivančić Jelečki | MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MEASLES VIRUS-CROATIA |
| 10:20-11:00 | | | Coffee break and poster session |

| | | | |
|--------------------|--------------|---|--|
| 11:00-13:10 | | Veterinary and Industrial Virology | <i>Barlič Maganja Zorman Rojs</i> |
| 11:00-11:30 | VPr12 | Smrekar | BACTRIOPHAGE THERAPY TOWARDS APPROVED MEDICINE |
| 11:30-12:00 | VPr13 | Savič | NOVEL HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA A (H5N5) VIRUS |
| 12:00-12:20 | VPr14 | Kogovšek | VIRAL VECTORS FOR VACCINES |
| 12:20-12:40 | VPr15 | Kuhar | NGS TECHNOLOGY IN VETERINARY VIROLOGY |
| 12:40-12:55 | Pr24 | Accetto | LYTIC MYOVIRIDAE AND BACTERIAL EVOLUTION |
| 12:55-13:10 | Pr25 | Toplak | MOST DANGEROUS VIRUS DISEASES OF ANIMALS IN EUROPE |
| 13:10-14:10 | | | Lunch |
| 14:10-15:10 | | | Poster session and coffee break |

| | | | |
|--------------------|--------------|-----------------------|--|
| 15:10-16:55 | | Plant Virology | <i>Ravnikač Škorič</i> |
| 15:10-15:40 | VPr16 | Šeruga Mušič | EFFECTORS AND VIRULENCE FACTORS OF PHYTOPLASMAS |
| 15:40-15:55 | Pr26 | Pecman | NGS FOR PLANT VIRUSES AND VIROIDS |
| 15:55-16:10 | Pr27 | Viršček Marn | HIGH VARIABILITY OF APPLE CHOROTIC LEAF SPOT VIRUS |
| 16:10-16:55 | ZPr | Gruden | REGULATORY NETWORKS IN POTATO IMMUNE SIGNALING |
| 16:55 | | | Closing |



Knjiga povzetkov

Kongres SMD 2017

20. – 22. september 2017
Bled, Slovenija

7. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva

Tematski sklopi

Mikrob in zdravje

MEDICINSKA, VETERINARSKA, ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA
IN MIKROBIOLOGIJA RASTLINSKIH PATOGENOV

Molekulska mikrobiologija

FIZIOLOGIJA, GENETIKA, GENOMIKA IN PROTEOMIKA

Mikrob in okolje

EKOLOGIJA, EVOLUCIJA, POPULACIJSKA STRUKTURA IN SISTEMATIKA

Mikrob in tehnologije

INDUSTRIJA

Doktorsko popoldne

Medical Virology

Veterinary and Industrial Virology

Plant Virology

7. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva
20. – 22. september 2017, Bled, Slovenija
Knjiga povzetkov

Urednice:

Maša Vodovnik, Darja Kušar, Romana Marinšek Logar

Izdajatelj:

Slovensko mikrobiološko društvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, 2017

Oblikovanje in priprava za tisk:

ID14, Igor Logar s.p., Domžale

Tisk:

Tiskarna Print Point d.o.o., Ljubljana

Naklada:

200 izvodov

Bled, 2017

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

579(082)

SLOVENSKO mikrobiološko društvo. Kongres (7 ; 2017 ; Bled)
Knjiga povzetkov / 7. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva, 20.-22. september 2017,
Bled, Slovenija ; [urednice Maša Vodovnik, Darja Kušar, Romana Marinšek Logar]. - Ljubljana :
Slovensko mikrobiološko društvo, 2017

ISBN 978-961-90346-6-8

1. Vodovnik, Maša

291719424

KAZALO VSEBINE

| | |
|------------------------------------|-----|
| Pozdravni nagovor | 2 |
| Organizacija kongresa | 3 |
| Sponsorji kongresa | 4 |
| Program kongresa | 7 |
| | |
| Seznami | |
| <hr/> | |
| Seznam vabljenih predavanj (VPr) | 12 |
| Seznam predavanj (Pr) | 14 |
| Seznam posterjev (Po) | 17 |
| | |
| Povzetki | |
| <hr/> | |
| Povzetki vabljenih predavanj (VPr) | 25 |
| Povzetki predavanj (Pr) | 45 |
| Povzetki posterjev (Po) | 73 |
| | |
| Kazalo avtorjev | 165 |

POZDRAVNI NAGOVOR

Z velikim veseljem vas pozdravljam na 7. kongresu Slovenskega mikrobiološkega društva (SMD) ki je za vse nas priložnost, da predstavimo svoje delo ter utrdimo našo povezanost v stroki in prijateljstvu. Za tridnevno srečanje smo izbrali predavatelje, ki bodo predstavili nova odkritja na številnih področjih mikrobiologije. Lepo vabljeni tudi k ogledu vseh zanimivih plakatov, ki zaradi omejenosti časa ne morejo biti predstavljeni kot predavanje, vendar so za njimi prav tako skrite dobre ideje in trdo delo.

Področja smo razdelili v naslednje tematske sklope: mikrob in zdravje, molekulska mikrobiologija, mikrob in okolje, mikrob in tehnologije, medicinska virologija (*Medical Virology*), veterinarska in industrijska virologija (*Veterinary and Industrial Virology*) ter rastlinska virologija (*Plant Virology*). Zadnji dan srečanja je posvečen virologiji in bo potekal v sodelovanju s Hrvaškim mikrobiološkim društvom, ki ga prisrčno pozdravljam med nami. Na tokratnem kongresu bodo predstavili svoja doktorska dela tudi izbrani doktorandi, ki so svoje doktorske teze zagovarjali v obdobju med 6. in 7. kongresom SMD.

Prepričana sem, da bo na kongresu vsak od vas lahko našel nekaj, kar ga zanima in čemur posveča svoj čas. Predanost stroki, ki je zelo raznolika, bo gotovo vodila do zanimivih razprav in morda nepričakovanih zaključkov. Napredek stroke je v veliki meri odvisen tudi od našega sodelovanja, zato nam vsem skupaj želim, da začutimo pravo pripadnost društvu in mikrobiologiji.

Dobrodošli!

Romana Marinšek Logar
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

ORGANIZACIJA KONGRESA



SLOVENSKO MIKROBIOLOŠKO DRUŠTVO
<http://www.smd.si/>

Vodja organizacijskega / programskega odbora

Romana Marinšek Logar
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

Organizacijski / programski odbor

Tomaž Accetto
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

Darja Barlič Maganja
Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju

Tadej Čepeljnik
Lek d.d., Novartisove tehnične operacije, Biofarmacevtika Mengeš

Iztok Dogša
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

Darja Kušar
Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta

Ines Mandič Mulec
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

Romana Marinšek Logar
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

Matjaž Ocepek
Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta

Peter Raspor
SMD, FEMS, ICY, ICFMH

Maja Ravnikar
Nacionalni inštitut za biologijo

Maja Rupnik
Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano
Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta

Andrej Steyer
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Marjetka Stražar
Centralna čistilna naprava Domžale Kamnik

Maša Vodovnik
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

SPONZORJI KONGRESA

Hvala vsem, ki so prispevali k uspehu kongresa SMD 2017:



DIAHEM
info.si@diahem.com
ZLATI SPONZOR



KEMOMED
<http://www.kemomed.si>
srebrni sponzor



connecting ideas

AXONLAB
<http://www.axonlab.com>
srebrni sponzor



MIKRO+POLO
<http://www.mikro-polo.si>
srebrni sponzor



KRKA
<https://www.krka.biz>



JAVNO PODJETJE
CENTRALNA ČISTILNA NAPRAVA
DOMŽALE-KAMNIK d.o.o.

**JP CENTRALNA ČISTILNA NAPRAVA
DOMŽALE-KAMNIK**
<http://www.ccn-domzale.si>



MEDIAS International
<http://www.medias-int.si>



MERCK
<http://www.merckgroup.com>



KAMBIČ laboratorijska oprema
<http://www.kambic.com>



ANTON PAAR GmbH
<http://www.anton-paar.com>



sciNOTE
<https://scinote.net>



MEDILINE
<http://www.mediline.si>



LABORMED
<http://www.labormed.si>



VWR International
<https://si.vwr.com>



BioSISTEMIKA
<https://biosistemika.com>



BIOMEDICA
<http://www.biomedis-mb.si>



MAJBERT
info@majbert.com



IskraPIO
<http://www.iskra-pio.si>



COBIK
<http://www.cobik.si>



BioSPECTRA
matilda@biospectra.si

eppendorf

EPPENDORF

<http://www.eppendorf.com/see>

NOACK

GROUP OF COMPANIES

NOACK

<http://www.noackgroup.com>

 **Sanolabor**

SANOLABOR

<http://www.sanolabor.si>

Genialis

GENIALIS

<http://www.genialis.com>

 **KEMOFARMACIJA** | 70^{LET}

KEMOFARMACIJA

<http://www.kemofarmacija.si>

DOMEL[®]

DOMEL

<http://www.domel.com/sl>

 **Omega** d.o.o.

OMEGA

<http://www.omega.si>

 **ZEISS**

ZEISS

<https://www.zeiss.si>

 **Labena**

LABENA

<http://www.labena.si>

LOTRIČ METROLOGY

LOTRIČ Meroslovje

<http://www.lotric.si>

 **CHEMASS**
MERILNI SISTEMI

CHEMASS

<http://www.chemass.si>

 **LAŠKO** *Union*
1825 1864
PART OF THE HEINEKEN COMPANY

PIVOVARNA LAŠKO

<http://www.pivo-lasko.si>

bia
TRUSTED LAB
PARTNER

BIA

<http://www.bia.si>

PROGRAM KONGRESA

SREDA

20.9.2017

| | | |
|-------------|-----|---|
| 09:00 | | Registracija |
| 11:00-11:15 | | Otvoritev kongresa |
| 11:15-12:00 | PPr | Plenarno predavanje Maja Rupnik (NLZOH, MF Maribor) OD KLOSTRIDIJA DO MIKROBIOTE S SEKVENCIRANJEM NASLEDNJE GENERACIJE |
| 12:00-13:00 | | Odmor za kavo in prigrizek ter ogled plakatov |

13:00-15:40

Mikrob in zdravje

MEDICINSKA, VETERINARSKA, ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA IN MIKROBIOLOGIJA RASTLINSKIH PATOGENOV

Sonja Smole Možina, Matjaž Ocepek

| | | |
|-------------|------|---|
| 13:00-13:30 | VPr1 | Irena Zdovc (VF) , Majda Golob, Darja Kušar, Mateja Pate, Bojan Papič, Maja Kavalič, Marija Trkov, Matjaž Ocepek LISTERIA MONOCYTOGENES – BAKTERIJA Z MNOGIMI OBRAZI |
| 13:30-13:50 | VPr2 | Katja Zelenik (NLZOH) , Marija Lušicky, Tatjana Rupel, Sandra Janežič, Maja Kokalj SPREMLJANJE MIKROBIOLOŠKE VARNOSTI ŽIVIL |
| 13:50-14:10 | VPr3 | Barbara Šoba (IMI) PARAZITI – GROŽNJA ALI PRILOŽNOST? |
| 14:10-14:25 | Pr1 | Tjaša Cerar (IMI) , Vesna Cvitkovič-Špik, Meta Kodre, Katarina Benulič, Katarina Ogrinc, Daša Stupica, Stanka Lotrič-Furlan, Franc Strle, Eva Ružič-Šabljič GENOTIPIZACIJA IZOLATOV BORRELIA GARINII IZOLIRANIH IZ LIKVORJA, KRVI, KOŽE IN KLOPOV |
| 14:25-14:40 | Pr2 | Ana Velikonja (Mlinotest) , Luka Lipoglavšek, Rok Orel, Gorazd Avguštin SPREMEMBE V SESTAVI ČREVESNE MIKROBIOTE PRI PACIENTIH Z METABOLIČNIM SINDROMOM PO PREHRANSKI INTERVENCIJI Z JEČMENOVIMI BETA GLUKANI |
| 14:40-14:55 | Pr3 | Majda Golob (VF) , Irena Grmek Košnik, Urška Dermota, Maja Rupnik, Mateja Pate, Jana Avberšek, Darja Kušar, Urška Zajc, Matjaž Ocepek, Irena Zdovc VLOGA ŽIVALI PRI OKUŽBAH LJUDI Z LA-MRSA |
| 14:55-15:10 | Pr4 | Bojana Bogovič Matijašič (BF) , Petra Mohar Lorbeg ODPORNOST PROTI ANTIBIOTIKOM PRI MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJAH V PREHRANSKI VERIGI |
| 15:10-15:25 | Pr5 | Katarina Šimunovič (BF) , Andreja Jurhar, Anja Klančnik, Gaja Pretnar, Ivana Turek, Franz Bucar, Sonja Smole Možina PROTIMIKROBNO IN MODULATORNO DELOVANJE IZVLEČKOV RASTLINE PEUCEDANUM OSTRUTHIUM NA BAKTERIJE CAMPYLOBACTER JEJUNI |

15:25-15:40 **Burkhard Heinicke (SHP Steriltechnik)**
POSTOPKI STERILIZACIJE (sponzor LOTRIČ)

15:40-16:30 Odmor za kavo in ogled plakatov

16:30-18:35

Molekulska mikrobiologija

FIZIOLOGIJA, GENETIKA, GENOMIKA IN PROTEOMIKA
Maša Vodovnik, Iztok Dogša

16:30-17:00 | **VPPr4**

Marina Dermastia (NIB)

FITOPLAZME – ŠE VEDNO TEMNA STRAN BOŽIČNIH DEKORACIJ

17:00-17:20 | **VPPr5**

Matej Butala (BF)

GENETSKA STIKALA, KI URAVNAVAJO PREPIS GENOV SOS, KATERIH PRODUKTI SO »LETALNI« ZA BAKTERIJO

17:20-17:35 | **Pr6**

Cene Gostinčar (BF), Martina Turk, Janja Zajc, Nina Gunde-Cimerman
ČRNA KVASOVKA *AUREOBASIDIUM PULLULANS* IN NJENA GENOMSKA RAZNOLIKOST

17:35-17:50 | **Pr7**

Mihael Špacapan (BF), Tjaša Danevčič, Ines Mandič-Mulec

NEGATIVNA POVRATNA ZANKA PRI URAVNAVANJU PROIZVODNJE ZUNAJCELIČNIH PROTEAZ S SIGNALNIMI PEPTIDI V PLAVAJOČIH BIOFILMIH BAKTERIJE *BACILLUS SUBTILIS*

17:50-18:05 | **Pr8**

Aleksander Mahnič (NLZOH), Špela Pintar, Pavel Skok, Aleksander Kocuvan, Maja Rupnik

BAKTERIJSKA TER GLIVNA ČREVESNA MIKROBIOTA PRI HOSPITALIZIRANIH BOLNIKI S KRONIČNO VNETHO ČREVESNO BOLEZNIJO

18:05-18:20 | **Pr9**

Matija Valinger Sluga (BF), Ivanka Cizelj, Irena Oven, Dušan Benčina, Mojca Narat

VPLIV BAKTERIJE *MYCOPLASMA CYNOS* NA IZRAŽANJE CITOKINOV V CELIČNI KULTURI DH82

18:20-18:35 | **Pr10**

Tanja Dreo (NIB), Manca Pirc, Maja Ravnikar

DIGITALNA PCR KOT REFERENČNA METODA ZA PRIPRAVO INTERNIH KONTROL IN OSNOVA TESTOV USPOSOBLJENOSTI LABORATORIJEV

19:30

Svečana otvoritev kongresa

ČETRTEK

21.9.2017

8:30-10:35

Mikrob in okolje

EKOLOGIJA, EVOLUCIJA, POPULACIJSKA STRUKTURA IN SISTEMATIKA
Ines Mandič Mulec, Tomaž Accetto

8:30-9:00 | **VPPr6**

L. Perini, J. C. Frisvad, P. Zalar, C. Gostinčar, A. Anesio,

Nina Gunde Cimerman (BF)

»ČRNO CVETENJE« GRENLANDSKE LEDENE PLOŠČE – KAJ PA GLIVE?

9:00-9:20 | **VPPr7**

Polonca Štefanič (BF), Barbara Kraigher, Rok Kostanjšek, Ines Mandič Mulec

SORODSTVENA DISKRIMINACIJA BAKTERIJ *BACILLUS SUBTILIS*

| | | |
|-------------|------|--|
| 9:20-9:35 | Pr11 | Nataša Mori (NIB) , Pascal Bodmer, Anton Brancelj, Christopher T. Robinson, Michael Doering ČASOVNO-PROSTORSKA DINAMIKA PROCESOV RAZGRADNJE NA POPLAVNI RAVNICI REKE SOČE OCENJENA Z MERITVAMI AKTIVNOSTI MIKROBNIH ZDRUŽB |
| 9:35-9:50 | Pr12 | Neža Čadež (BF) , Neža Mandl, Viktorija Jovanova, Urška Vrhovnik, Tjaša Jug, Mojca Ogrizovič, Uroš Petrovič, Tatjana Košmerl VLOGA NARAVNO PRISOTNE MIKROBIOTE JABOLČNEGA VINA SEVERNE SLOVENIJE |
| 9:50-10:05 | Pr13 | Iztok Dogša (BF) , Simon Sretenovič, Biljana Stojkovič, Rok Kostanjšek, Igor Poberaj, David Stopar MEHANSKE MEDCELIČNE POVEZAVE V RAZREDČENIH BAKTERIJSKIH KULTURAH |
| 10:05-10:20 | Pr14 | Barbara Jerič Kokelj, Maja Bolješič (BF) , Tjaša Stošicki, Iztok Dogša, Barbara Kraigher, Ines Mandić Mulec VPLIV SORODNOSTI NA SOCIALNE INTERAKCIJE IN TERITORIALNOST SEVOV BACILLUS SUBTILIS V BIOFILMIH |
| 10:20-10:35 | Pr15 | Jerneja Zupančič (BF) , Monika Novak Babič, Polona Zalar, Nina Gunde-Cimerman IZ POMIVALNEGA STROJA V KUHINJO - PA TUDI NAZAJ |
| 10:35-11:30 | | Odmor za kavo in ogled plakatov |

11:30-13:20

Mikrob in tehnologije

INDUSTRIJA

Tadej Čepeljnik, Marjetka Stražar

| | | |
|-------------|------|---|
| 11:30-12:00 | VPr8 | Hrvoje Petković (BF) BIOSINTEZNI INŽENIRING KOT KOMPLEMENTARNI PRISTOP PRI RAZVOJU NOVIH FKBP12-VEZAVNIH UČINKOVIN IN RAZVOJU INDUSTRIJSKIH BIOPROCESOV |
| 12:00-12:20 | VPr9 | Matjaž Peterka (COBIK) , Dominik Nabergoj, Nika Janež, Saša Haberl Meglič, Damijan Miklavčič, Aleš Podgornik KONTINUIRANA PROIZVODNJA VELIKIH BIOLOŠKIH MOLEKUL JE UČINKOVITA, VENDAR TEHNOLOŠKO ZAHTEVNA |
| 12:20-12:35 | Pr16 | Beti Vidmar (BF) , Romana Marinšek Logar, Nadja Gorinšek, Lijana Fanelj IZBOLJŠANJE PROIZVODNJE METANA IZ MIKROALGNE MEŠANICE Z RAZLIČNIMI POSTOPKI PREDOBDELAVE IN BIOAUGMENTACIJE V MEZOFILNEM TER TERMOFILNEM PROCESU |
| 12:35-12:50 | Pr17 | Sara Baš (BF) , Mateja Kramer, David Stopar VPLIV POKRITOSTI POVRŠINE Z BIOFILMI NA UČINKOVITOST DELOVANJA PROTIMIKROBNIH SREDSTEV |
| 12:50-13:05 | Pr18 | Arijana Filipič (NIB) , Ion Gutierrez Aguirre, David Dobnik, Nataša Mehle, Gregor Primc, Miran Mozetič, Janez Kosel, Matevž Dular, Maja Ravnikar, Jana Žel NOVE NE-KEMIČNE METODE ZA ELIMINACIJO VIRUSOV |
| 13:05-13:20 | Pr19 | Melita Sternad Lemut, Adesida Rowland, Ajda Lemut, Urban Česnik, Lorena Butinar (UNG) PROUČEVANJE POTENCIALA BIOTSKE RAZNOVRSTNOSTI KVASOVK ZA RAZVOJ ALTERNATIVNIH BIOFUNGICIDOV V VINOGRADNIŠTVU |
| 13:20-14:30 | | Kosilo |

14:30-16:15

Doktorsko popoldne

8 PREDSTAVITEV DOKTORSKIH NALOG
Peter Raspor

16:15-16:45

predavanje po izboru DIAHEM (zlati sponzor)

Przemysław Sikora

MICROBIOLOGY - HOW DEEP WE ARE ADDICTED TO ANTIBIOTICS

16:45-17:00

predavanje po izboru KEMOMED (srebrni sponzor)

Oliver Goldenberg (Illumina)

THE USE OF NGS IN MICROBIOLOGY

17:00-17:15

predavanje po izboru MIKRO+POLO (srebrni sponzor)

Sonia Allibardi (Copan)

TRANSFORMING DIAGNOSTICS WITH INNOVATIVE SOLUTIONS IN
PRE-ANALYTICAL PROCESS: LIQUID BASED MICROBIOLOGY (LBM) AND
FLOQSWAB™

17:15-18:30

Odmor za kavo in ogled plakatov

19:30

Svečana večerja s podelitvijo priznanj SMD

PETEK (Friday)

22.9.2017

International Virology Day

8:30-10:20

Medical Virology

Andrej Steyer, Igor Jurak

8:30-9:00

| VPr10

Mario Poljak (IMI)

MOLECULAR TESTS FOR DIAGNOSIS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES (HPV)

9:00-9:20

| VPr11

Miša Korva (IMI), Tatjana Avšič Županc

EBOLA VIRUS DISEASE: LESSONS LEARNED FROM WEST AFRICA OUTBREAK

9:20-9:35

| Pr20

Tatjana Vilibić-Čavlek (HZJZ), Irena Tabain, Vladimir Savić,

Ljiljana Betica-Radić, Nenad Pandak, Božana Miklaušić,

Andrea Babić-Erceg, Ljubo Barbić, Boris Lukšić, Svjetlana Karabuva,

Vladimir Stevanović, Pavle Jeličić, Nataša Bauk, Bernard Kaić

EMERGING MOSQUITO-BORNE VIRAL INFECTIONS IN CROATIAN TRAVELERS

9:35-9:50

| Pr21

Katarina Prošenc Trilar (NLZOH), Nataša Berginc

VIROLOGICAL SURVEILLANCE OF INFLUENZA LIKE ILLNESS IN SLOVENIA

9:50-10:05

| Pr22

Andreja Zubković (UNIRI), Maja Badurina, Ivana Ratkaj,

Michael Hackenberg, Igor Jurak

A SUBSET OF HOST miRNAs IS UPREGULATED DURING HERPES SIMPLEX VIRUS
1 INFECTION

10:05-10:20

| Pr23

Jelena Ivančić Jelečki (CERVirVac), Dubravko Forčić, Maja Šantak,

Tatjana Vilibić-Čavlek, Bernard Kaić, Sunčanica Ljubin Sternak,

Goran Tešović

15 YEARS OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MEASLES VIRUS IN CROATIA

10:20-11:00

Coffee break and poster session

11:00-13:10

Veterinary and Industrial Virology

Darja Barlič Maganja, Olga Zorman Rojs

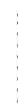
- 11:00-11:30 | **VPr12** **Frenk Smrekar (Jafra)**
BACTRIOPHAGE THERAPY ON THE LONG PATH TOWARDS BECOMING APPROVED MEDICINE
- 11:30-12:00 | **VPr13** **Vladimir Savič (VI, Hr)**
EMERGENCE OF A NOVEL HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA A (H5N5) REASSORTANT VIRUS IN WILD BIRDS AND POULTRY, 2016-2017
- 12:00-12:20 | **VPr14** **Polona Kogovšek (NIB), David Dobnik, Magda Tušek Žnidarič, Denis Kutnjak, Maja Ravnikar**
CHARACTERISATION AND QUANTIFICATION OF VIRAL VECTORS FOR VACCINES
- 12:20-12:40 | **VPr15** **Urška Kuhar (VF), Uroš Krapež, Brigita Slavec, Urška Jamnikar-Ciglencečki, Ivan Toplak**
UTILITY OF NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) TECHNOLOGY IN VETERINARY VIROLOGY
- 12:40-12:55 | **Pr24** **Tomaž Accetto (BF), Nika Janež**
COMMON FEATURES IN LYTIC MYOVIRIDAE AND BACTERIAL EVOLUTION
- 12:55-13:10 | **Pr25** **Ivan Toplak (VF)**
INCREASING THE RISK FOR THE INCURSION OF MOST DANGEROUS VIRUS DISEASES OF ANIMALS IN EUROPE
- 13:10-14:10 Lunch
- 14:10-15:10 Poster session and coffee break

15:10-16:55

Plant Virology

Maja Ravnikar, Dijana Škorič

- 15:10-15:40 | **VPr16** **Martina Šeruga Mušič (PMF, Hr)**
EFFECTORS AND VIRULENCE FACTORS OF PHYTOPLASMAS – SECRETS OF THE PHYTOPLASMA GENOME: FROM VIRULENCE FACTORS TO HOST ADAPTATION
- 15:40-15:55 | **Pr26** **Anja Pecman (NIB), Denis Kutnjak, Ion Gutierrez Aguirre, Ian Adams, Adrian Fox, Neil Boonham, Maja Ravnikar**
NEXT GENERATION SEQUENCING FOR DETECTION AND DISCOVERY OF PLANT VIRUSES AND VIROIDS: COMPARISON OF TWO APPROACHES
- 15:55-16:10 | **Pr27** **Mojca Viršček Marn (KIS), Irena Mavrič Pleško**
HIGH MOLECULAR VARIABILITY OF APPLE CHOROTIC LEAF SPOT VIRUS IN APPLES
- 16:10-16:55 | **ZPr** **Kristina Gruden (NIB) – closing lecture**
EXPLORING REGULATORY NETWORKS IN POTATO IMMUNE SIGNALING
- 16:55 Closing



SEZNAM VABLJENIH PREDAVANJ (VPr)

PLENARNO PREDAVANJE

OD KLOSTRIDIJA DO MIKROBIOTE S SEKVENCIRANJEM NASLEDNJE GENERACIJE PPr
Maja Rupnik

VABLJENA PREDAVANJA

Mikrob in zdravje

MEDICINSKA, VETERINARSKA, ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA IN MIKROBIOLOGIJA RASTLINSKIH PATOGENOV

VPr1

LISTERIA MONOCYTOGENES – BAKTERIJA Z MNOGIMI OBRAZI
Irena Zdovc, Majda Golob, Darja Kušar, Mateja Pate, Bojan Papić, Maja Kavalič, Marija Trkov, Matjaž Ocepek

VPr2

SPREMLJANJE MIKROBIOLOŠKE VARNOSTI ŽIVIL
Katja Zelenik, Marija Lušicky, Tatjana Rupel, Sandra Janežič, Maja Kokalj

VPr3

PARAZITI – GROŽNJA ALI PRILOŽNOST?
Barbara Šoba

Molekulska mikrobiologija

FIZIOLOGIJA, GENETIKA, GENOMIKA IN PROTEOMIKA

VPr4

FITOPLAZME – ŠE VEDNO TEMNA STRAN BOŽIČNIH DEKORACIJ
Marina Dermastia

VPr5

GENETSKA STIKALA, KI URAVNAVAJO PREPIS GENOV SOS, KATERIH PRODUKTI SO »LETALNI« ZA BAKTERIJO
Matej Butala

Mikrob in okolje

EKOLOGIJA, EVOLUCIJA, POPULACIJSKA STRUKTURA IN SISTEMATIKA

VPr6

»ČRNO CVETENJE« GRENLANDSKE LEDENE PLOŠČE – KAJ PA GLIVE?
L. Perini, J. C. Frisvad, P. Zalar, C. Gostinčar, A. Anesio, Nina Gunde Cimerman

VPr7

SORODSTVENA DISKRIMINACIJA BAKTERIJ *BACILLUS SUBTILIS*
Polonca Štefanič, Barbara Kraigher, Rok Kostanjšek, Ines Mandić Mulec

VPr8

BIOSINTEZNI INŽENIRING KOT KOMPLEMENTARNI PRISTOP PRI RAZVOJU NOVIH FKBP12-VEZAVNIH UČINKOVIN IN RAZVOJU INDUSTRIJSKIH BIOPROCESOV
Hrvoje Petković

VPr9

KONTINUIRANA PROIZVODNJA VELIKIH BIOLOŠKIH MOLEKUL JE UČINKOVITA, VENDAR TEHNOLOŠKO ZAHTEVNA
Matjaž Peterka, Dominik Nabergoj, Nika Janež, Saša Haberl Meglič, Damijan Miklavčič, Aleš Podgornik

Medical Virology

VPr10

MOLECULAR TESTS FOR DIAGNOSIS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES (HPV)
Mario Poljak

VPr11

EBOLA VIRUS DISEASE: LESSONS LEARNED FROM WEST AFRICA OUTBREAK
Miša Korva, Tatjana Avšič Županc

Veterinary and Industrial Virology

VPr12

BACTRIOPHAGE THERAPY ON THE LONG PATH TOWARDS BECOMING APPROVED MEDICINE
Frenk Smrekar

VPr13

EMERGENCE OF A NOVEL HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA A(H5N5) REASSORTANT VIRUS IN WILD BIRDS AND POULTRY, 2016-2017
Vladimir Savić

VPr14

CHARACTERISATION AND QUANTIFICATION OF VIRAL VECTORS FOR VACCINES
Polona Kogovšek, David Dobnik, Magda Tušek Žnidarič, Denis Kutnjak, Maja Ravnikar

VPr15

UTILITY OF NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) TECHNOLOGY IN VETERINARY VIROLOGY
Urška Kuhar, Uroš Krapež, Brigita Slavec, Urška Jamnikar-Ciglenečki, Ivan Toplak

Plant Virology

VPr16

EFFECTORS AND VIRULENCE FACTORS OF PHYTOPLASMAS – SECRETS OF THE PHYTOPLASMA GENOME: FROM VIRULENCE FACTORS TO HOST ADAPTATION
Martina Šeruga Mušič

CLOSING LECTURE

ZPr

EXPLORING REGULATORY NETWORKS IN POTATO IMMUNE SIGNALING
Kristina Gruden



SEZNAM PREDAVANJ (Pr)

Mikrob in zdravje

MEDICINSKA, VETERINARSKA, ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA IN MIKROBIOLOGIJA RASTLINSKIH PATOGENOV

Pr1

GENOTIPIZACIJA IZOLATOV *BORRELIA GARINII* IZOLIRANIH IZ LIKVORJA, KRVI, KOŽE IN KLOPOV
Tjaša Cerar, Vesna Cvitkovič-Špik, Meta Kodre, Katarina Benulič, Katarina Ogrinc, Daša Stupica, Stanka Lotrič-Furlan, Franc Strle, Eva Ružič-Sabljič

Pr2

SPREMEMBE V SESTAVI ČREVESNE MIKROBIOTE PRI PACIENTIH Z METABOLIČNIM SINDROMOM PO PREHRANSKI INTERVENCIJI Z JEČMENOVIMI BETA GLUKAN
Ana Velikonja, Luka Lipoglavšek, Rok Orel, Gorazd Avguštin

Pr3

VLOGA ŽIVALI PRI OKUŽBAH LJUDI Z LA-MRSA
Majda Golob, Irena Grmek Košnik, Urška Dermota, Maja Rupnik, Mateja Pate, Jana Avberšek, Darja Kušar, Urška Zajc, Matjaž Ocepek, Irena Zdovc

Pr4

ODPORNOST PROTI ANTIBIOTIKOM PRI MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJAH V PREHRANSKI VERIGI
Bojana Bogovič Matijašič, Petra Mohar Lorbeg

Pr5

PROTIMIKROBNO IN MODULATORNO DELOVANJE IZVLEČKOV RASTLINE *PEUCEDANUM OSTRUTHIUM* NA BAKTERIJE *CAMPYLOBACTER JEJUNI*
Katarina Šimunovič, Andreja Jurhar, Anja Klančnik, Gaja Pretnar, Ivana Turek, Franz Bucar, Sonja Smole Možina

Molekulska mikrobiologija

FIZIOLOGIJA, GENETIKA, GENOMIKA IN PROTEOMIKA

Pr6

ČRNA KVASOVKA *AUREOBASIDIUM PULLULANS* IN NJENA GENOMSKA RAZNOLIKOST
Cene Gostinčar, Martina Turk, Janja Zajc, Nina Gunde-Cimerman

Pr7

NEGATIVNA POVRATNA ZANKA PRI URAVNAVANJU PROIZVODNJE ZUNAJCELIČNIH PROTEAZ S SIGNALNIMI PEPTIDI V PLAGAJOČIH BIOFILMIH BAKTERIJE *BACILLUS SUBTILIS*
Mihael Špacapan, Tjaša Danevčič, Ines Mandić-Mulec

Pr8

BAKTERIJSKA TER GLIVNA ČREVESNA MIKROBIOTA PRI HOSPITALIZIRANIH BOLNIKI S KRONIČNO VNETHO ČREVESNO BOLEZNIJO
Aleksander Mahnič, Špela Pintar, Pavel Skok, Aleksander Kocuvan, Maja Rupnik

VPLIV BAKTERIJE *MYCOPLASMA CYNOS* NA IZRAŽANJE CITOKINOV V CELIČNI KULTURI DH82
Matija Valinger Sluga, Ivanka Cizelj, Irena Oven, Dušan Benčina†, Mojca Narat **Pr9**

DIGITALNA PCR KOT REFERENČNA METODA ZA PRIPRAVO INTERNIH KONTROL IN OSNOVA TESTOV
USPOSOBLJENOSTI LABORATORIJEV
Tanja Dreo, Manca Pirc, Maja Ravnikar **Pr10**

Mikrob in okolje

EKOLOGIJA, EVOLUCIJA, POPULACIJSKA STRUKTURA IN SISTEMATIKA

ČASOVNO-PROSTORSKA DINAMIKA PROCESOV RAZGRADNJE NA POPLAVNI RAVNICI REKE SOČE
OCENJENA Z MERITVAMI AKTIVNOSTI MIKROBNIH ZDRUŽB
Nataša Mori, Pascal Bodmer, Anton Brancelj, Christopher T. Robinson, Michael Doering **Pr11**

VLOGA NARAVNO PRISOTNE MIKROBIOTE JABOLČNEGA VINA SEVERNE SLOVENIJE
Neža Čadež, Neža Mandl, Viktorija Jovanova, Urška Vrhovnik, Tjaša Jug, Mojca Ogrizović, Uroš Petrovič,
Tatjana Košmerl **Pr12**

MEHANSKE MEDCELIČNE POVEZAVE V RAZREDČENIH BAKTERIJSKIH KULTURAH
Iztok Dogša, Simon Sretenovič, Biljana Stojković, Rok Kostanjšek, Igor Poberaj, David Stopar **Pr13**

VPLIV SORODNOSTI NA SOCIALNE INTERAKCIJE IN TERITORIALNOST SEVOV *BACILLUS SUBTILIS* V
BIOFILMIH
Barbara Jerič Kokelj, **Maja Bolješič**, Tjaša Stošicki, Iztok Dogša, Barbara Kraigher, Ines Mandić Mulec **Pr14**

IZ POMIVALNEGA STROJA V KUHINJO - PA TUDI NAZAJ
Jerneja Zupančič, Monika Novak Babič, Polona Zalar, Nina Gunde-Cimerman **Pr15**

Mikrob in tehnologije
INDUSTRIJA

IZBOLJŠANJE PROIZVODNJE METANA IZ MIKROALGNE MEŠANICE Z RAZLIČNIMI POSTOPKI
PREDOBDELAVE IN BIOAUGMENTACIJE V MEZOFILNEM TER TERMOFILNEM PROCESU
Beti Vidmar, Romana Marinšek Logar, Nadja Gorinšek, Lijana Fanel **Pr16**

VPLIV POKRITOSTI POVRŠINE Z BIOFILMI NA UČINKOVITOST DELOVANJA PROTIMIKROBNIH SREDSTEV
Sara Baš, Mateja Kramer, David Stopar **Pr17**

NOVE NE-KEMIČNE METODE ZA ELIMINACIJO VIRUSOV
Arijana Filipič, Ion Gutierrez Aguirre, David Dobnik, Nataša Mehle, Gregor Primc, Miran Mozetič, Janez Kosel,
Matevž Dular, Maja Ravnikar, Jana Žel **Pr18**

PROUČEVANJE POTENCIALA BIOTSKE RAZNOVRSTNOSTI KVASOVK ZA RAZVOJ ALTERNATIVNIH
BIOFUNGICIDOV V VINOGRADNIŠTVU
Melita Sternad Lemut, Adesida Rowland, Ajda Lemut, Urban Česnik, **Lorena Butinar** **Pr19**

MICROBIOLOGY - HOW DEEP WE ARE ADDICTED TO ANTIBIOTICS

Przemysław Sikora

sponzorsko predavanje DIAHEM

THE USE OF NGS IN MICROBIOLOGY

Oliver Goldenberg (Illumina)

sponzorsko predavanje KEMOMED

TRANSFORMING DIAGNOSTICS WITH INNOVATIVE SOLUTIONS
IN PRE-ANALYTICAL PROCESS: LIQUID BASED MICROBIOLOGY (LBM)

sponzorsko predavanje MIKRO+POLO

Medical Virology

EMERGING MOSQUITO-BORNE VIRAL INFECTIONS IN CROATIAN TRAVELERS

Tatjana Vilibić-Čavlek, Irena Tabain, Vladimir Savić, Ljiljana Betica-Radić, Nenad Pandak, Božana Miklaušić, Andrea Babić-Erceg, Ljubo Barbić, Boris Lukšić, Svjetlana Karabuva, Vladimir Stevanović, Pavle Jeličić, Nataša Bauk, Bernard Kaić

Pr20

VIROLOGICAL SURVEILLANCE OF INFLUENZA LIKE ILLNESS IN SLOVENIA

Katarina Prosenc Trilar, Nataša Berginc

Pr21

A SUBSET OF HOST miRNAs IS UPREGULATED DURING HERPES SIMPLEX VIRUS 1 INFECTION

Andreja Zubković, Maja Badurina, Ivana Ratkaj, Michael Hackenberg, Igor Jurak

Pr22

15 YEARS OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MEASLES VIRUS IN CROATIA

Jelena Ivančić Jelečki, Dubravko Forčić, Maja Šantak, Tatjana Vilibić-Čavlek, Bernard Kaić, Sunčаница Ljubin Sternak, Goran Tešović

Pr23

Veterinary and Industrial Virology

COMMON FEATURES IN LYTIC MYOVIRIDAE AND BACTERIAL EVOLUTION

Tomaž Accetto, Nika Janež

Pr24

INCREASING THE RISK FOR THE INCURSION OF MOST DANGEROUS VIRUS DISEASES
OF ANIMALS IN EUROPE

Ivan Toplak

Pr25

Plant Virology

NEXT GENERATION SEQUENCING FOR DETECTION AND DISCOVERY OF PLANT VIRUSES AND VIROIDS:
COMPARISON OF TWO APPROACHES

Anja Pecman, Denis Kutnjak, Ion Gutierrez Aguirre, Ian Adams, Adrian Fox, Neil Boonham, Maja Ravnikar

Pr26

HIGH MOLECULAR VARIABILITY OF APPLE CHOROTIC LEAF SPOT VIRUS IN APPLES

Mojca Viršček Marn, Irena Mavrič Pleško

Pr27

SEZNAM POSTERJEV (Po)

Mikrob in zdravje

MEDICINSKA, VETERINARSKA, ŽIVILSKA MIKROBIOLOGIJA IN MIKROBIOLOGIJA RASTLINSKIH PATOGENOV

- Po1**
EPIDEMIOLOGIJA INVAZIVNIH PNEVMOKOKNIH OKUŽB V OSREDNJI SLOVENIJI
Vesna Cvitković Špik, Bojana Beović, Marko Pokorn, Ana Drole Torkar, Darja Vidmar, Lea Papst, Rok Kogoj, Katja Seme, Manica Mueller Premru
- Po2**
DIAGNOSTIKA HUDE GNILOBE ČEBELJE ZALEGE V SLOVENIJI
Alenka Žugelj, Majda Golob, Marjeta Jarc, Vida Lešnik, Maja Lepen, Irena Zdovc
- Po3**
VPLIV MIKROBIOTE KEFIRJA NA RAST POTENCIALNO PATOGENIH BAKTERIJ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* TER GLIVE *CANDIDA ALBICANS* V MLEKU
Sabina Fijan, Mateja Trunk, Sabina Novak
- Po4**
ODPORNOST PROTI ANTIBIOTIKOM IN β -LAKTAMAZE PRI PO GRAMU-NEGATIVNIH SEVIH, OSAMLJENIH IZ VODE IN POVRŠIN BAZENSKIH KOMPLEKSOV
Karmen Godič Torkar, Mirjana Dražetič
- Po5**
LA-MRSA PRI PRAŠIČIH: DVE FARMI POD DROBNOGLEDOM
Majda Golob, Darja Kušar, Urška Zajc, Jana Avberšek, Mateja Pate, Matjaž Ocepek, Irena Zdovc
- Po6**
IZBOLJŠANJE MIKROBIOLOŠKE OBSTOJNOSTI KRUGA Z DODATKOM ROŽIČEVE MOKE IN MELASE
Ana Griz, Jana Zahorec, Meta Sterniša, Alenka Levart, Zita Šereš, Dragana Šoronja Simovič, Sonja Smole Možina
- Po7**
ALGORITEM DIAGNOSTIKE VIRUSNIH BOLEZNI RIB
Peter Hostnik, Urška Kuhar, Nina Sluga, Aleksandra Grilc Fajfar, Ivan Toplak, Danijela Rihtarič, Diana Žele
- Po8**
PASJE ŠAPE IN OBUVALA KOT POTENCIALNI VIRI KONTAMINACIJE DOMAČEGA OKOLJA S SPORAMI BAKTERIJE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*
Sandra Janežič, Sabina Mlakar, Aleksander Kocuvan, Maja Rupnik
- Po9**
SESTAVA ČREVESNE MIKROBIOTE V *IN VITRO* MODELU VPLIVA NA RAST TER PRODUKCIJO TOKSINA B PRI BAKTERIJI *C. DIFFICILE*
Aleksander Mahnič, Nataša Poklar Ulrih, Jennifer Auchtung, Robert A. Britton, Maja Rupnik
- Po10**
KROMOSOMSKA IN PLAZMIDNA RAZNOLIKOST SEVOV *BACILLUS CEREUS*, OSAMLJENIH IZ ŽIVIL, VODE IN KLINIČNIH VZORCEV
Nežka Loboda, Tjaša Cerar Kišek, **Karmen Godič Torkar**

- Po11**
 MIKOBakterije pri akvarijskih ribah: kakšno je zavedanje o njihovem zoonotskem potencialu?
*Mateja Pate, Andrej Ovca, Vlasta Jenčič, Manca Žolnir-Dovč, **Matjaž Ocepek***
- Po12**
 Ovrednotenje uporabe multipleks PCR v realnem času za dokazovanje gastroenteričnih virusov v nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano
***Darja Duh**, Nika Volmajer, Barbara Blažič, Andrej Golle, Živa Petrovič*
- Po13**
 KO redka bolezen ponovno izbruhne: vranični prisad pri govedu leta 2015
*Jana Avberšek, Mateja Pate, Jasna Mičunovič, Tina Pirš, Darja Kušar, Urška Zajc, Vasilij Cociancich, Tomislav Paller, Sanja Duvnjak, Silvio Špičić, Igor Gruntar, Majda Golob, Irena Zdovc, **Matjaž Ocepek***
- Po14**
 Dinamika izločanja bakterije *Clostridium difficile* pri prašičih
***Jana Avberšek**, Urška Zajc, Maja Kavalič, Tina Pirš, Matjaž Ocepek*
- Po15**
 Protibakterijska aktivnost zobne paste s propolisom v pogojih *in vitro*
***Bratko Filipič**, Lidija Gradišnik, Klemen Rihar, Adriana Pereyra, Jana Potokar, Domen Jaklič, Rok Kopinč, Hrvoje Mazija*
- Po16**
Brucella suis pri divjih prašičih v Sloveniji
***Brane Krt**, Maja Kavalič, Matjaž Ocepek, Igor Gruntar, Diana Žele, Gorazd Vengušt, Jana Avberšek*
- Po17**
 Genetska analiza izolatov iz sklopa *Mycobacterium abscessus* nacionalne zbirke netuberkulozних mikobakterij klinike Golnik
***Sara Truden**, Manca Žolnir-Dovč, Marjanca Starčič Erjavec*
- Po18**
 Biomimetični *in vitro* model prašičjega urotelija za študij patogeneze humanih uropatogenih bakterij *Escherichia coli*
***Luka Predojevič**, Darja Žgur-Bertok, Darja Keše, Mateja Erdani Kreft, Marjanca Starčič Erjavec*
- Po19**
 Virus hepatitisa E – pregled stanja v slovenskih klavnica
***Petra Raspor Lainšček**, Ivan Toplak, Andrej Kirbiš*
- Po20**
 Tipizacija na osnovi zaporedij več lokusov za spremljanje epidemiologije glive *Pneumocystis jirovecii* pri bolnikih s pnevmocistično pljučnico
***Erika Robič**, Miha Skvarč, Darja Keše, Barbara Šoba Šparl*
- Po21**
 Protimikrobno delovanje terpenov in kumarinov iz kraškega šetraja in jaščarice proti bakteriji *Campylobacter jejuni*
***Katarina Šimunovič**, Anja Klančnik, Andreja Jurhar, Sandra Zajkoska, Kaja Erzar, Gaja Pretnar, Ivana Turek, Franz Bucar, Sonja Smole Možina*
- Po22**
 Vpliv bakterije *Clostridium difficile* na strukturo in metabolni profil črevesne mikrobiote otrok
***Sabina Horvat**, Maja Rupnik, Damjan Makuc, Klemen Pečnik, Janez Plavec*
- Po23**
 Kolonizacijska rezistenca proti *Clostridium difficile* pred in po antibiotični terapiji
***Sabina Žalig**, Maja Rupnik*

| | |
|--|------|
| ANTIMIKOTIKOM PRISOTNOST PATOGENE GLIVE <i>HISTOPLASMA CAPSULATUM</i> V JAMAH IN TRENUTNO STANJE HISTOPLAZMOZE V SLOVENIJI Sanja Stopinšek , Saša Simčič, Tadeja Kotar, Romina Kofol, Janez Mulec | Po24 |
| PRISOTNOST BAKTERIJE <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> V ŽIVILIH V SLOVENIJI Valerija Tkalec , Tanja Rikanović, Simon Mesarič, Tamara Simonič, Barbara Skok, Sandra Janežič, Maja Rupnik | Po25 |
| PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI BAKTERIOFAGOV NA <i>IN VITRO</i> MODELU CELIČNE LINIJE CACO-2 Eva Zaletel, Jasmina Tušar, Nika Janež, Primož Šket, Janez Plavec, Mojca Narat, Matjaž Peterka | Po26 |
| UČINKOVITOST BIOCIDNEGA SREDSTA TRIALKOKSISILANA NA RAZLIČNIH POVRŠINAH IN NJEGOV VPLIV NA RAZLIČNE BAKTERIJSKE VRSTE Anamarija Zore , Karmen Godič Torkar, Brigita Tomšič, Almina Redžepagić, Dani Burnik | Po27 |
| PROTIMIKROBNO IN PROTIADHEZIVNO DELOVANJE IZVLEČKOV KRAŠKEGA ŠETRAJA (<i>SATUREJA MONTANA</i>) TER NAVADNEGA BRINA (<i>JUNIPERUS COMMUNIS</i>) Katarina Šimunović, Kaja Erzar, Anja Klančnik , Špela Zorko, Franz Bucar, Sonja Smole Možina | Po28 |
| AMNIJSKA MEMBRANA NE DELUJE PROTIMIKROBNO NA UROPATOGENE BAKTERIJE <i>ESCHERICHIA COLI</i> Taja Železnik , Marjanca Starčič Erjavec, Mateja Erdani Kreft | Po29 |
| <u>Molekulska mikrobiologija</u> | |
| FIZIOLOGIJA, GENETIKA, GENOMIKA IN PROTEOMIKA | |
| DIGITALIZACIJA IN AVTOMATIZACIJA RAZISKOVALNEGA OKOLJA IN LABORATORIJSKIH PROCESOV Jana Erjavec , Klemen Zupančič, Matjaž Hren | Po30 |
| PROTEIN ClbS BAKTERIJE <i>ESCHERICHIA COLI</i> JE DNA VEZAVNI PROTEIN Katja Molan , Zdravko Podlesek, Erik Rihtar, Darja Žgur Bertok | Po31 |
| IDENTIFIKACIJA NOVIH VRST HELIKOBAKTROV PRI LISICAH: PRIMERJAVA FILOGENIJE NA OSNOVI IZBRANIH GENOV IN OSREDNJEGA GENOMA Bojan Papić , Igor Gruntar, Matjaž Ocepek, Mateja Pate, Urška Zajc, Darja Kušar | Po32 |
| MULTIDISIPLINARNA ŠTUDIJA »POZABLJENEGA« VISKIJA Nataša Toplak , Anja Verenovski, Marko Mitar, Miha Kovač, Simon Koren | Po33 |
| ABSOLUTNA KVANTIFIKACIJA STANDARDA Z DIGITALNIM PCR (dPCR) Nataša Toplak , Anja Klančnik, Gaja Pretnar, Špela Zorko, Minka Kovač, Barbara Jeršek, Sonja Smole Možina | Po34 |
| GLICEROLNI METABOLIZEM PRI <i>AUREOBASIDIUM PULLULANS</i> IN <i>AUREOBASIDIUM SUBGLACIALE</i> Martina Turk , Inge Sotlar, Nina Gunde-Cimerman, Cene Gostinčar | Po35 |



- Po36**
ZMOŽNOST RAZGRADNJE RASTLINSKIH POLISAHARIDOV IN GEOGRAFSKA RAZPROSTRANJENOST VAMPNIH IN ČREVESNIH VRST BAKTERIJ RODU *PREVOTELLA*
Tomaž Accetto, Gorazd Avguštin
- Po37**
GLAVNI POVZROČITELJ BOLEZNI MEHKIH GNILOB ORHIDEJ PREDSTAVLJA POTENCIALNA NOVA VRSTA IZ RODU *DICKEYA*
Špela Alič, Tina Naglič, Magda Tušek Žnidarič, Frédérique Van Gijsegem, Jacques Pédrón, Matjaž Peterka, Maja Ravnikar, Tanja Dreo
- Po38**
VPLIV SORODSTVENE DISKRIMINACIJE NA HORIZONTALNI PRENOS GENOV PRI BAKTERIJI *BACILLUS SUBTILIS*
Katarina Belcijan, Ines Mandić Mulec, Polonca Štefanič
- Po39**
INTERAKCIJA SEVA *BACILLUS SUBTILIS* PS-216 Z MUTANTI *CAMPYLOBACTER JEJUNI* NCTC 11168
Andi Erega, Katarina Šimunović, Anja Klančnik, Polonca Štefanič, Ines Mandić Mulec, Sonja Smole Možina
- Po40**
INFektivnost RASTLINSKIH VIRUSOV V VZORCIH VTOKA V ČISTILNO NAPRAVO
Katarina Bačnik, Anja Pecman, Ion Gutiérrez-Aguirre, Nataša Mehle, Denis Kutnjak, Maja Ravnikar
- Po41**
SORODSTVENA DISKRIMINACIJA IN PROSTORSKO IZKLUČEVANJE PRI BAKTERIJI *BACILLUS SUBTILIS*
Barbara Kraigher, Polonca Štefanič, Martina Štampar, Rebeka Grabar, Ana Cerovečki, Monika Butolen, Ines Mandić Mulec
- Po42**
INTERAKCIJA BAKTERIJ *CAMPYLOBACTER JEJUNI* IN *BACILLUS SUBTILIS*
Katarina Krapež, Erika Logar, Katarina Šimunović, Anja Klančnik, Polonca Štefanič, Ines Mandić Mulec, Sonja Smole Možina
- Po43**
MASOVEN POJAV ŽELEZOVIH BAKTERIJ V KRAŠKI JAMI Z OSTALINAMI UBOJNIH SREDSTEV
Janez Mulec, Adrijan Košir
- Po44**
ENDOFITNE GLIVE LESNATIH RASTLIN - SPEČI ZMAJI?
Barbara Piškur, Draginja Pavlic-Zupanc, Dušan Jurc
- Po45**
NAPOVED SUBSTRATNE SPECIFIČNOSTI IN PILOV TIPA IV PRI BAKTERIJAH PREBAVIL
Vita Rozman, Maša Vodovnik, Tomaž Accetto
- Po46**
MIKROBIOLOŠKO PRESKUŠANJE KOZMETIČNIH PROIZVODOV
Tatjana Rupel, Katja Kastelic, Darja Dovečar
- Po47**
KULTIVABILNA BAKTERIJSKA MIKROBIOTA IZ SAPIŠČ PROSTOŽIVEČIH PTIC, UJETIH V SLOVENIJI
Jure Škraban, Tjaša Matjašič, Polona Ber, Franc Janžekovič, Gottfried Wilharm, Nikos C. Kyrpides, William B. Whitman, Janja Trček

| | |
|--|-------------|
| BIOTSKA RAZNOVRSTNOST KVASOVK POVEZANIH S PROIZVODNJO JABOLČNEGA VINA <i>Eivind Vangdal, Melita Sternad Lemut, Branka Mozetič Vodopivec, Lorena Butinar</i> | Po48 |
| IZOLACIJA IN IDENTIFIKACIJA AVTOHTONIH VINSKIH KVASOVK Polona Zabukovec, Franc Čuš | Po49 |
| TAKSONOMIJA GLIVE <i>HORTAEA WERNECKII</i> S PODVOJENIM GENOMOM Polona Zalar, Jerneja Zupančič, Cene Gostinčar, Janja Zajc, Nina Gunde-Cimerman | Po50 |
| ARKTIČNE GLIVE V DOMAČEM HLADILNIKU Jerneja Zupančič, Mojca Matul, Polona Zalar, Nina Gunde-Cimerman | Po51 |
| <u>Mikrob in tehnologije</u> INDUSTRIJA | |
| OCETNOKISLINSKE BAKTERIJE IN ZUNAJCELIČNI POLISAHARIDI <i>Jure Škraban, Nina Jančič, Mateja Polc, Lijana Fanedl, Ilse Cleenwerck, Peter Vandamme, Janja Trček</i> | Po52 |
| MORSKA SEVA <i>CELLULOPHAGA LYTICA</i> KP1 IN <i>POLARIBACTER</i> SP. VR6 KOT VIR BIOTEHNOLOŠKO ZANIMIVIH ENCIMOV <i>Andrej Pavel Kozak, Darja Kušar, Bojan Papić, Tomaž Accetto</i> | Po53 |
| HETEROLOGNA PRODUKCIJA AKTIVNEGA PERNIZINA V BAKTERIJI <i>STREPTOMYCES RIMOSUS</i> <i>Andres Felipe Carrillo Rincon, Vasilka Magdevska, Luka Kranjc, Marko Šnajder, Miha Bahun, Maja Paš, Hrvoje Petković, Nataša Poklar Ulrih</i> | Po54 |
| UGOTAVLJANJE UČINKOVITOSTI MIKROBIOLOŠKEGA ODSTRANJEVANJA FOSFORJA IZ ODPADNE VODE V ZAGONSKI FAZI SBR BIOREAKTORJA <i>Nejc Košir, Maša Vodovnik, Romana Marinšek Logar, Marjetka Levstek, Marjetka Stražar</i> | Po55 |
| PRODUKCIJA HETEROLOGNIH EKTRACELULARNIH PROTEINOV Z <i>STREPOMYCES RIMOSUS</i> , PRODUCENTKO OKSITETRACIKLINSKEGA ANTIBIOTIKA <i>Andrés Felipe Carrillo Rincón, Vasilka Magdevska, Lucija Slemc, Štefan Fujs, Rolf Müller, Hrvoje Petković</i> | Po56 |
| KAVITACIJA – TEHNOLOGIJA OBLVADOVANJA MIKROBIOLOŠKIH DEJAVNIKOV TUDI V PAPIRNI INDUSTRIJI? Matej Šuštaršič, Martin Petkovšek | Po57 |
| PRODUKCIJA LIGNOCELULOLITIČNIH ENCIMOV NA TRDNEM ODPADKU IZ PAPIRNE INDUSTRIJE – POGLED V SEKRETOM <i>P. OSTREATUS</i> Maša Vodovnik, Katja Vrabec, Patrick Hellwig, Mija Sežun, Andrej Gregori, Udo Reichl, Dirk Benndorf | Po58 |

Doktorsko popoldne

- Po59**
MOLEKULARNE METODE ZA SPREMLJANJE KONTAMINACIJE BOLNIŠNIČNIH TEKSTILIJ
Urška Rozman
- Po60**
SOCIALNE INTERAKCIJE BAKTERIJE *BACILLUS SUBTILIS*
Anna Dragoš, Polonca Štefanič, Izток Dogša, Tjaša Danevčič, Mihael Špacapan, Ákos T. Kovács,
Ines Mandić-Mulec
- Po61**
PREPREČEVANJE FILMOTVORNOSTI BAKTERIJ *CAMPYLOBACTER JEJUNI* NA ABIOTSКИH
POVRŠINAH TER ADHEZIVNOSTI IN INVAZIVNOSTI NA MODELU CELIČNIH LINIJ
Katja Bezek
- Po62**
MOLEKULARNA TIPIZACIJA BAKTERIJ IZ SKLOPA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*
Urška Bidovec-Stojkovič
- Po63**
OPTIMIZACIJA PROIZVODNJE BIOPLINA IZ LIGNOCELULOZNEGA SUBSTRATA Z GRANULIRANO
ANAEROBNO BIOMASO IZ UASB BIOREAKTORJA
Maša Čater
- Po64**
ODKRIVANJE IN ŠTUDIJ RAZNOLIKOSTI VIRUSOV S SEKVENCIRANJEM NASLEDNJE GENERACIJE
Denis Kutnjak
- Po65**
MOLEKULARNA OPREDELITEV VIRULENČNIH DEJAVNIKOV IN GENOTIPOV PROTI METICILINU
ODPORNE BAKTERIJE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DOMAČEGA OKOLJA NA PODROČJU SLOVENIJE
Urška Dermota
- Po66**
MOLEKULARNA OPREDELITEV IN KLINIČNI POMEN NOVEGA ČLOVEŠKEGA
PAPILOMAVIRUSA HPV-179 IN SORODNIH GENOTIPOV
Lea Hošnjak
- Po67**
FILOGENIJA IN EKOFIZIOLOGIJA GLIV KSEROFILNEGA RODU *WALLEMIA*
Sašo Jančič, Nina Gunde-Cimerman
- Po68**
SVETOVNA GENOMSKA RAZNOLIKOST ČLOVEŠKIH PAPILOMAVIRUSOV HPV-6 IN HPV-11
Mateja Jelen
- Po69**
UČINEK MEDSEBOJNEGA VPLIVA OGORČICE *MELOIDOGYNE ETHIOPICA* IN BAKTERIJE
AGROBACTERIUM TUMEFACIENS NA GOSTITELJSKE RASTLINE
Janja Lamovšek, Gregor Urek
- Po70**
POGOSTNOST KOLONIZACIJE Z BAKTERIJO *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*
IN MOŽNOSTI ZA IZBOLJŠANJE DIAGNOSTIKE PNEVMOKOKNIH OKUŽB DIHAL
Dane Lužnik
- Po71**
ODPORNOST PROTI METICILINU, VIRULENTNI DEJAVNIKI IN GENETSKA RAZNOLIKOST
IZOLATOV *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, OSAMLJENIH PRI BOLNIKIХ Z OKUŽBO MEHKIH TKIV IN KOŽE
Nataša Švent-Kučina, Dragica Maja Smrke, Katja Seme

| | |
|---|-------------|
| GENETSKA OPREDELITEV IN TKIVNI TROPIZEM KANDIDATNIH IZOLATOV ZA NOVE GENOTIPE ČLOVEŠKIH PAPILOMAVIRUSOV V SLOVENIJI Anja Oštrbenk | Po72 |
| FENOTIPSKA IN GENOTIPSKA OPREDELITEV BAKTERIJE IZ RODU <i>LEPTOSPIRA</i> IN OCENA IZBRANIH METOD ZA MIKROBIOLOŠKO DIAGNOSTIKO LEPTOSPIROZE Daša Podgoršek | Po73 |
| PRIROJENA IN PRIDOB�JENA OKUŽBA S HUMANIM VIRUSOM CITOMEGALIJE V SLOVENIJI Katarina Rednak Paradiž, Mario Poljak, Darja Paro-Panjan | Po74 |
| ADHEZIVNOST BAKTERIJE <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> K49/4 V CELIČNIH LINIJAH ČREVESNIH EPITELNIH CELIC IN PROTIADHEZIJSKA UČINKOVITOST IZBRANIH RASTLINSKIH IZVLEČKOV Maja Šikić Pogačar | Po75 |
| <i>International Virology Day</i> | |
| DIVERSITY AND EVOLUTION OF PNEUMOVIRUSES CIRCULATING IN CROATIA M. Jagušić, A. Slovic, J. Ivančić-Jelečki, D. Forčić, S. Ljubin Sternak, G. Mlinarić-Galinović, <i>Tatjana Vilibić-Čavlek, Irena Tabain</i> | Po76 |
| REVEALING THE PROMOTER OF AN HSV-1 miRNA – WORK IN PROGRESS Ana Mihatović, Marina Matešić, Igor Jurak | Po77 |
| INVESTIGATING THE ROLES OF microRNAs IN HERPES SIMPLEX VIRUS 1 LATENCY USING AN <i>IN VITRO</i> MODEL Maja Badurina, Henrik Paavilainen, Riikka Arffman, Igor Jurak, Veijo Hukkanen | Po78 |
| EFFICIENT PHOTODYNAMIC INHIBITION OF HSV-1 REPLICATION USING A NOVEL CATIONIC AMPHIPHILIC PORPHYRIN Maja Cokarić Brdovčak, Lara Djaković, Ivana Bertović, Klaudia Knežević, Antonija Jurak Begonja, <i>Nela Malatesti, Igor Jurak</i> | Po79 |
| PROTEIN INTERACTIONS INVOLVED IN THE RELATION OF POTATO VIRUS Y WITH POTATO PLANT Ion Gutierrez Aguirre, Anna Coll, Kristina Gruden, Andreja Šink, Marjetka Podobnik, Gregor Anderluh, <i>Špela Tomaž, Aleksandra Usenik, Ajda Taler-Verčič, Dušan Turk, Maja Ravnikar</i> | Po80 |
| GENERATING HUMAN GUT VIROME: THE INFLUENCE OF VIRAL NUCLEIC ACID PREPARATION Nika Janež, Sandra Janežič, Aleksander Mahnič, Tomaž Curk, Maja Rupnik, Matjaž Peterka | Po81 |
| SEROPREVALENCE OF HEPATITIS E IN DIFFERENT POPULATION GROUPS IN CROATIA Pavle Jeličić, Tatjana Vilibić-Čavlek, Maja Vilibić, Lorena Jemeršić, Branko Kolarić, Jasmina Kučinar, <i>Ljubo Barbić, Vladimir Stevanović, Nataša Janev-Holcer, Irena Tabain, Vlatka Brumen, Ivka Djaković,</i> <i>Alef Prohić, Vesna Košec, Bernard Kaić</i> | Po82 |
| DETECTION OF PLANT VIRUSES BY NEXT GENERATION SEQUENCING Nataša Mehle, Denis Kutnjak, Anja Pecman, Maja Ravnikar | Po83 |



- Po84**
 NOVEL BAT MAMMALIAN ORTHOREOVIRUS VARIANTS - EMERGING HUMAN PATHOGENS
Tina Naglič, *Danijela Rihtarič, Peter Hostnik, Nataša Toplak, Simon Koren, Mateja Poljšak Prijatelj, Andrej Steyer*
- Po85**
 MEASURING INNATE IMMUNE RESPONSE IN EPITHELIAL CELLS AFTER ADENOVIRUS INFECTION
Davor Nestić, *Alen Kovačević, Jolien van den Bosch, Jelena Knežević, Jerome Custers, Andreja Ambriović-Ristov, Dragomira Majhen*
- Po86**
 CHARACTERIZATION OF VACCINE-VIRUS-ASSOCIATED RABIES IN STONE MARTEN
Danijela Rihtarič, *Urška Kuhar, Jože Grom, Peter Hostnik, Ivan Toplak*
- Po87**
 MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF ROTAVIRUSES IN SLOVENIA
Andrej Steyer, *Martin Sagadin, Aneja Tahirovič, Marko Kolenc, Tina Naglič, Mateja Poljšak-Prijatelj*
- Po88**
 DETERMINATION OF THE FIRST COMPLETE GENOME OF PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS Meo19/2011 ISOLATED IN SLOVENIA
Ivan Toplak, *Marina Štukelj, Danijela Rihtarič, Urška Kuhar*
- Po89**
 ISOLATION OF A CYTOPATHIC STRAINS OF ENTEROVIRUSES FROM SAMPLES OF PIGS FECES
Ivan Toplak, *Peter Hostnik, Danijela Rihtarič, Urška Kuhar*
- Po90**
 VODOTOPNI PROPOLIS (GREIT120) IN ČLOVEŠKI INTERFERON- α (HuIFN- α N3) KAŽETA PROTI-INFLUENČNO AKTIVNOST V POGOJIH *IN VITRO*
Bratko Filipič, *Lidija Gradišnik, Adriana Pereyra, Klemen Rihar, Hrvoje Mazija, Fabio Galeotti, Nicola Volpi, Alfredo Fachini*
- Po91**
 VPLIV POLISAHARIDOV NA SESTAVO DOLGOVERIŽNIH MAŠČOBNIH KISLIN *PREVOTELLA BRYANTII* TF1-3
Maša Zorec, *Tomaž Accetto*

POVZETKI VABLJENIH PREDAVANJ (VPr)



OD KLOSTRIDIJA DO MIKROBIOTE S SEKVENCIRANJEM NASLEDNJE GENERACIJE

Maja Rupnik^{1,2}

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano Maribor, Prvomajska 1, 2000 Maribor;

²Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor
maja.rupnik@nlzoh.si

Clostridium difficile je pomembna patogeni bakterija, ki povzroča črevesne okužbe in je tipično povezana s porušeno črevesno mikrobioto. Oba, tako *C. difficile* kot črevesna mikrobiota, sta osrednji temi raziskovalnega dela naše skupine.

Velik del naših raziskav je povezan z variantnimi sevi bakterije *C. difficile*. Postavili smo mednarodno uveljavljeno shemo toksinotipizacije, kjer so toksinotipi definirani kot skupine sevov s spremenjeno regijo z zapisom za toksina A in B. Z analizo celotnih genomov smo pokazali, da so variantni sevi razporejeni v vseh filogenetskih skupinah znotraj vrste. Prav tako smo ugotovili značilne vzorce razporeditve točkovnih mutacij (SNP) v genu za toksin B. Skupaj z našim odkritjem divergentne linije sevov *C. difficile*, ki imajo močno spremenjene toksinske gene, to odpira nov pogled na evolucijo velikih klostrijskih toksinov.

Pričetki naših analiz s *C. difficile* povezanih sprememb v črevesni mikrobioti segajo v čas pred širšo dostopnostjo sekvenciranja naslednje generacije (NGS). Z uporabo metode DHPLC in analize s strojnimi učenjem smo ugotavljali vzorce povezane s kolonizacijo s *C. difficile* tako pri ljudeh kot pri živalih. Kasneje smo prešli na analizo bakterijske in glivne ter deloma virusne črevesne mikrobiote s pristopi NGS. V aktualnih raziskavah črevesne mikrobiote se ukvarjamo z analizo skupine zdravih prostovoljcev, vplivom različno moduliranih mikrobiot (kronična vnetna črevesna bolezen, KVČB, polifenoli, antibiotiki) na kolonizacijo s *C. difficile* in z interakcijami *C. difficile* s črevesno mikrobioto.

Razvite metode analize genomov in kompleksnih mikrobni združb uporabljamo tudi pri drugih študijah kot so vpliv diete na modelu mišk, kolonizacija kroničnih ran, okužba sklepnih protez, študij prenosov bakterij v različnih kliničnih primerih in primerjava med sevi iz različnih rezervoarjev.

Ključne besede: *Clostridium difficile*; črevesna mikrobiota; primerjalna genomika

LISTERIA MONOCYTOGENES – BAKTERIJA Z MNOGIMI OBRAZI

Irena Zdovc¹, Majda Golob¹, Darja Kušar¹, Mateja Pate¹, Bojan Papić¹,
Maja Kavalič¹, Marija Trkov², Matjaž Očepek¹

¹Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo,
Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana;

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (NLZOH), 1000 Ljubljana
irena.zdovc@vf.uni-lj.si

Listeria monocytogenes (LM) je ubikvitarna bakterija, ki jo pogosteje najdemo v okolju, kjer je povečana koncentracija organskega materiala. Njena posebnost je izjemna sposobnost razmnoževanja v različnih pogojih okolja, kjer se dobro prilagaja na temperaturne, kemijske in druge ekstremne razmere. Hkrati pa je pomembna patogena bakterija, ki povzroča različne klinične oblike listerioze pri številnih vrstah živali in človeku.

V našem delu prikazujemo primernost različnih diagnostičnih pristopov ob izbranih izbruhih listerioze pri živalih. Ukrepi za neposredno varovanje zdravja živali morajo vedno vključevati tudi preventivne ukrepe za preprečevanje bolezni pri ljudeh. Ob pojavu ali sumu bolezni je potrebno usklajeno delovanje medicinske, veterinarske in živilske stroke, kar vključuje predvsem poenotenje diagnostičnih metod in skupne baze podatkov za vse izolate, ne glede na vrsto vzorca. Metode za izolacijo LM iz živil in okolja so dokaj usklajene in predpisane z mednarodnimi standardi, za klinične vzorce pa veljajo le priporočila, ki se ustrezno modificirajo glede na klinično obliko listerioze ter vrsto in kvaliteto poslanih vzorcev. Za uspešno ugotavljanje vira okužbe in preventivno ravnanje je bistvenega pomena uporaba primerljivih oz. enakih tipizacijskih metod. Serološka metoda na podlagi dokazovanja somatskih in flagelarnih antigenov je praktično opuščena in jo je nadomestila molekularna serotipizacija na osnovi PCR, vendar se tudi slednja uporablja le redko. Trenutno se kot zlati standard uporablja metoda PFGE, na osnovi katere so v državah EU pripravljene najpomembnejše baze podatkov za LM. Metoda se pogosto uporablja za tipizacijo izolatov znotraj posameznih izbruhov, vendar je njena moč razlikovanja lahko prešibka za dokončno razjasnitev širjenja okužbe. V zadnjem času se zato kot metoda, ki omogoča najgloblji vpogled v proučevane organizme, vključno z njihovimi potmi širjenja, uveljavlja sekvenciranje naslednje generacije (NGS). Na podlagi zaporedij celotnih genomov lahko razjasnimo nakazane ali spregledane epidemiološke povezave med izolati, vendar je za ta namen zaželeno tipizirati tudi ozko sorodne izolate, ki ne pripadajo domnevemu izbruhu.

Ključne besede: tipizacija; izbruh; *Listeria monocytogenes*

SPREMLJANJE MIKROBIOLOŠKE VARNOSTI ŽIVIL

Katja Zelenik¹, Marija Lušicky¹, Tatjana Rupel¹, Sandra Janežič¹, Maja Kokalj²

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor;

²Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Dunajska 22, 1000 Ljubljana
katja.zelenik@nlzoh.si

Bolezni, ki se prenašajo s hrano ne vplivajo samo na zdravje ljudi, pač pa imajo tudi ekonomske posledice tako na posameznika, družino, družbo in gospodarstvo. V Sloveniji je bilo v letu 2015 prijavljenih 29.160 primerov črevesnih nalezljivih bolezni, kar je za 40 % več kot v letu 2014 in 30 % več od petletnega povprečja.¹

Zagotavljanje varne hrane in učinkovit notranji trg je osrednji cilj Evropske komisije. Temelj Evropske zakonodaje predstavlja Uredba (ES) št. 178/2002 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 28. januarja 2002 o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane. Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) zagotavlja znanstveno svetovanje in znanstveno in tehnično podporo zakonodaji in politikam skupnosti na področjih, ki imajo neposredni ali posredni vpliv na varnost živil in krme.

V okviru uradnega nadzora je Nacionalni laboratorij za zdravje okolje in hrano v letu 2016 opravil mikrobiološka preskušanja 361 vzorcev živil neživalskega izvora in preiskave delovnih površin in opreme pri 70 nosilcih živilske dejavnosti na prisotnost bakterij *Listeria monocytogenes*.

Rezultati preiskav so pokazali, da je bilo 356 vzorcev (98,6 %) živil po določitvi 14. člena Uredbe (ES) št. 178/2002 ocenjenih kot varni. Podobne rezultate mikrobiološkega testiranja spremljamo že od leta 2012, in sicer okoli 1 % pregledanih živil je takih, ki bi lahko zaradi bioloških onesnaževal škodljivo vplivali na zdravje ljudi.

Za zagotavljanje varnih živil je potreben celovit interdisciplinaren pristop z usklajenimi ukrepi in ustreznim nadzorom od »vil do vilic«. Samo mikrobiološka testiranja niso dovolj, vendar so ti rezultati referenčne točke za pomoč nosilcem živilske dejavnosti in pristojnim organom pri njihovih dejavnostih za upravljanje in spremljanje varnosti živil.

Ključne besede: varnost, živila; mikrobiološki nadzor

¹Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v Sloveniji v letu 2015, Nacionalni inštitut za javno zdravje, 2016)

PARAZITI – GROŽNJA ALI PRILOŽNOST?

Barbara Šoba Šparl

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana
barbara.soba@mf.uni-lj.si

V času svojega obstoja na Zemlji smo ljudje postali gostitelji številnim parazitom. Človeka zajeda okrog 300 vrst črvov in preko 70 vrst praživali. Mnogi od teh parazitov pri človeku parazitirajo redko, ljudje smo lahko zanje le naključni gostitelji. Okrog 90 vrst parazitov pa je pri človeku precej pogostih povzročiteljev okužb. Nekateri od teh povzročajo najpomembnejše nalezljive bolezni.

V zadnjih nekaj letih se medicinska parazitologija srečuje s številnimi spremembami – od porajanja nekaterih parazitov na geografskih področjih, za katera nekoč niso bile značilne, do odkrivanja novih za človeka patogenih parazitov. V diagnostiko parazitskih okužb se uvajajo nove, moderne diagnostične tehnike, ki omogočajo natančno prepoznavanje parazitov ne samo pri človeku, temveč tudi pri živalih in v okolju, kar je še posebej pomembno za uresničevanje koncepta Eno zdravje. Z njimi smo nadgradili diagnostiko humanih parazitov tudi v Laboratoriju za parazitologijo Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Univerze v Ljubljani ter zastavili več epidemioloških raziskav, s katerimi smo dobili vpogled v načine širjenja nekaterih parazitov v Sloveniji.

Medicinska parazitologija postaja v zadnjem času zanimiva tudi zaradi nedavnih domnev, da lahko okužba človeka z nekaterimi paraziti, predvsem črvi, ščiti pred ali celo zdravi nekatere vnetne bolezni. Predstavljajo paraziti za človeka torej grožnjo ali pa mu ponujajo priložnost za izboljšanje zdravja?

Ključne besede: parazit; parazitoza; diagnostika; zdravje

FITOPLAZME – ŠE VEDNO TEMNA STRAN BOŽIČNIH DEKORACIJ

Marina Dermastia

Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana
marina.dermastia@nib.si

Čeprav nam božične zvezde (*Euphorbia pulcherrima*) že 100 let pomagajo ustvarjati praznično vzdušje, pa smo njihovo skrivnost, zakaj se tako razlikujejo od razpotegnjenih grmastih in ne bujno cvetočih srednjeameriških sorodnikov, razvozlali šele v poznih devetdesetih letih prejšnjega stoletja. Takrat smo ugotovili, da so nizke in gosto cvetoče božične zvezde okužene z najmanjšimi znanimi bakterijami – fitoplazmami. Te v resnici le redko povzročajo nam všečne spremembe, saj so povzročiteljice hudih rastlinskih bolezni na številnih kmetijsko pomembnih rastlinah, vključno z vinsko trto. V naših raziskavah vinske trte, okužene s fitoplazemsko povzročiteljico karantenske bolezni zlate trsne rumenice, smo proučili izražanje številnih genov, vključenih v poti primarnega in sekundarnega metabolizma. Izvedli smo tudi do sedaj prvo metabolomsko raziskavo s fitoplazmami okuženih trt. Za potrebe raziskave smo pripravili novo eksperimentalno platformo za testiranje ključnih encimov primarnega metabolizma ogljikovih hidratov. Rezultati raziskave podpirajo model, da okužba s fitoplazmo preprečuje prenos sladkorjev, ki nastajajo med fotosintezo v listih do drugih delov rastline z blokado floemskega transporta. Zaradi kopičenja sladkorjev v listih, pride do povratnega zavrtja fotosinteze, kar povzroči, da listi postanejo ponor in ne izvor fotoasimilatov. Hkrati s spremembami v primarnem metabolizmu ogljikovih hidratov, se v listih inducirajo tudi geni in metaboliti sekundarnega metabolizma, značilni za ponorna tkiva. Rezultati naših raziskav dajejo odgovore na vprašanje, katere snovi bi fitoplazme lahko sprejele od svojega gostitelja in uporabile za svojo rast in razvoj. Sočasno s tem odpirajo številna nova vprašanja fitoplazemske patogeneze, predvsem kako lahko fitoplazme te snovi v resnici uporabijo. Naše študije kažejo na različne ravni prostorske in časovne dinamike fizioloških odgovorov, ki jih moramo nujno integrirati v večdimenzionalni pristop proučevanja na ravni celic in tkiv z različnimi molekulskimi označevalci.

Ključne besede: fitoplazme; vinska trta; zlata trsna rumenica; metabolom; transkriptom

GENETSKA STIKALA, KI URAVNAVAJO PREPIS GENOV SOS, KATERIH PRODUKTI SO »LETALNI« ZA BAKTERIJO

Matej Butala

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana
matej.butala@bf.uni-lj.si

Bakterije se odzovejo na poškodbe DNA s sprožitvijo odziva SOS. V odzivu se prepíšejo geni, katerih produkti omogočijo popravilo DNA. Odziv je uravnavan z globalnim transkripcijskim faktorjem LexA, ki utiša prepis genov SOS. Vse bolj je očitno, da kontrola LexA ni omejena na osnovni regulon SOS, ampak so v regulon vključeni številni drugi geni, katerih produkti niso direktno udeleženi v DNA popravljalnih mehanizmih. V nekaterih primerih LexA uravnava funkcije, ki so lahko škodljive za gostiteljsko bakterijo, kot je kontrola sinteze bakteriocinov ali lizogenega-litičnega cikla bakteriofaga. Posledično je tekom normalne rasti bakterije nujno popolno utišanje prepisa teh "letalnih" SOS genov, da se prepis sproži le v primernem trenutku. Ugotovili smo, da je prepis teh genov poleg LexA uravnavan še z dodatnim faktorjem transkripcije. Tako dodatni globalni transkripcijski faktorji bakterije *Escherichia coli* uravnava aktivacijo promotorjev za prepis genov za bakteriocine, kolicine. V primeru bakteriofaga GIL01 bakterije *Bacillus thuringiensis* majhni proteini tega bakterijskega virusa začasno odklopijo "letalne" funkcije bakteriofaga, da je prvotno omogočen proces popravila DNA. Predstavil bom molekularne mehanizme uravnave teh genov, katerih produkti imajo vlogo pri programirani celični smrti.

Ključne besede: prepis genov; protein LexA; mobilni genetski elementi

»ČRNO CVETENJE« GRENLANDSKE LEDENE PLOŠČE – KAJ PA GLIVE?

L. Perini¹, J. C. Frisvad², P. Zalar¹, C. Gostinčar¹, A. Anesio³, N. Gunde-Cimerman¹

¹Biotehniška fakulteta, Odd. Biologija, Večna pot 111, 1000 Ljubljana,;

²Dept. of Microbial Ecology and Chemistry, Fungal Chemodiversity, Technical University of Denmark, Søtofts Plads, Building 221, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark;

³Bristol Glaciology Centre, School of Geographical Sciences, University of Bristol, BS8 1SS, Bristol, UK
nina.gunde-cimerman@bf.uni-lj.si

Grenlandska ledena plošča je druga največja ledena plošča na svetu (takoj za antarktično ledeno ploščo). Sestavlja jo približno 1.7 milijona kvadratnih kilometrov ledu, ki se skupaj s celotno Arktiko, vedno hitreje tali. Dosedanje raziskave kažejo, da je en od glavnih razlogov za pospešeno taljenje zmanjšan odboj sončne svetlobe oz. zmanjšan albedo, na račun temne obarvanosti ledu. Temen led, ki pokriva že več kot 30% Grenlandije, vpija več sončnega sevanja, kar izrazito pospešuje taljenje. Mikrobiologi in glaciologi ugotavljajo, da temnenje ledu povzroča več dejavnikov. Glavni razlog je cvetenje črno obarvanih snežnih in ledeniških alg, poleg tega pa še prisotne bakterije, prah in temni ogljik. Trenutno vemo zelo malo o bakterijah in algah, ki živijo na površju ledenih plošč in ledenikov, in še toliko manj o saprofitskih glivah, ki morda pripomorejo k nadzoru rasti ledeniških alg in bakterij. Poleti 2016 in 2017 smo tarčno vzorčili glivno združbo na površju grenlandskega črnega ledu. Osamili smo tri različne nitaste glive. Med njimi absolutno prevladuje gliva rodu *Penicillium* iz sekcije *Brevicompacta*, ki je na osnovi dosedanjih analiz najbolj podobna vrstama *P. bialowiezense* in *P. biourgeianum*. Ta nova psihrotolerantna vrsta se razlikuje od doslej znanih v zapisu treh doslej analiziranih filogenetskih markerjev (ITS, beta tubulin in RPB2), v vzorcu sporulacije in v naboru sekundarnih metabolitov, ki jih sintetizira. Analizirani profil sekundarnih metabolitov je razkril, da večina sevov te vrste sintetizira protibakterijsko, protivirusno in protiglivo mikofenolno kislino, antibiotik ksantopocin, raistriktične fenole, asperfenamat, kvinolaktacine, in fitotoksične in potencialno protialgne brevione. Vseh 39 pregledanih sevov je omenjene sekundarne metabolite proizvajalo zelo konsistentno. Vsi sevi so proizvajali več različnih derivatov mikofenolne kisline, vključno z mikokromensko kislino, diol laktonom mikofenolne kisline in etilmikofenolatom. Nova vrsta je izgleda specifično povezana z ledeniški algami in morda igra vlogo ali pri njihovem biološkem nadzoru in razgradnji, ali pa morda pri njihovi zaščiti in razširjanju.

Ključne besede: črni grenlandski led; ledeniške alge; snežne alge; *Penicillium* spp.; sekundarni metaboliti; psihrotrofija

SORODSTVENA DISKRIMINACIJA BAKTERIJ *B. SUBTILIS*

Polonca Štefanič¹, Barbara Kraigher¹, Rok Kostanjšek², Ines Mandić Mulec¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana
polonca.stefanic@bf.uni-lj.si

Kljub temu, da bakterije nimajo kognitivnih sposobnosti višje razvitih organizmov, so sposobne razlikovati bolj ali manj sorodne mikroorganizme skozi proces, ki se imenuje sorodstvena diskriminacija. Nedavno smo pokazali, da so sevi *B. subtilis*, ki smo jih izolirali iz mikroskale tal sposobni sorodstvene diskriminacije med rojenjem na poltrdnem gojišču in določili sorodstvene skupine znotraj omenjene zbirke naravnih izolatov tal. Roji visokosorodnih sevov (kin) so se na poltrdnem gojišču združevali, medtem ko se je med manj sorodnimi roji (non-kin) na gojišču tvorila z očesom vidna linija, v kateri so bile prisotne mrtve celice. To nakazuje na močne antagonistične interakcije znotraj vrste *B. subtilis*, zato smo želeli preveriti hipotezo, da imajo te interakcije vlogo pri kompeticiji, preživetju in evoluciji (horizontalni genski prenos) te vrste. Da bi preizkusili hipotezo, smo 1) ko-inokulirali kin in non-kin seve na korenino rastline *Arabidopsis thaliana* in merili kompeticijo 2) opazovali mešane kin in non-kin roje s pomočjo fluorescentne lupe 3) opazovali roje in linijo s pomočjo elektronske mikroskopije 4) testirali, ali prihaja do povišanega prenosa DNA na liniji med non-kin sevi, v primerjavi s prenosom DNA med kin sevi na stiku rojev. Rezultati so pokazali, da sta bila v kokulturi kin sevov na korenini prisotna oba seva, medtem ko je pri ko-inokulaciji non-kin sevov eden od sevov prevladal v biofilmu. Podobno smo opazili s pomočjo fluorescentne lupe, kjer so bili kin roji sestavljeni iz obeh sevov, medtem ko je v mešanici dveh non-kin rojev na poltrdnem gojišču prevladal eden in prerastel celo površino plošče. Elektronska mikroskopija je pokazala poškodovane celice na liniji med dvema non-kin sevoma, medtem ko so bile celice v rojih nepoškodovane in intaktne. Na liniji smo izmerili povečano stopnjo transformacije, kar pomeni, da je bila izmenjava DNA bolj pogosta med non-kin sevi kot med kin sevi. Višja stopnja sprejema DNA na liniji bi lahko bila posledica razvoja kompetence zaradi antagonističnih reakcij. S fluorescentno mikroskopijo smo pokazali, da je na liniji med non-kin sevi večji delež *comGA* induciranih celic, kot na stičišču dveh kin sevov. Ta odkritja odkrivajo interakcije visoko sorodnih bakterij *B. subtilis*, njihovo socialnost in tudi posledice takih interakcij na preživetje, in evolucijo te vrste.



BIOSINTEZNI INŽENIRING KOT KOMPLEMENTARNI PRISTOP PRI RAZVOJU NOVIH FKBP12-VEZAVNIH UČINKOVIN IN RAZVOJU INDUSTRIJSKIH BIOPROCESOV

Hrvoje Petković

Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000, Ljubljana
hrvoje.petkovic@bf.uni-lj.si

Naravni produkti so bili v preteklosti osnova za razvoj okoli 50% vseh biološko aktivnih učinkovin, ki jih danes uporabljamo v praksi. Ob veliki podpori visokozmogljivih pristopov sekvenciranja DNA, in močni podpori bioinformatičnih orodij lahko danes v relativno kratkem času in ob sprejemljivih stroških identificiramo genske skupine, ki katalizirajo biosintezo ciljnih učinkovin. V naslednjem koraku lahko s pomočjo pristopov biosinteznega in metabolnega inženirstva razvijamo nove, strukturno podobne učinkovine. Te lahko v nadaljevanju še spreminjamo z drugimi pristopi, kot so npr. kemobiosinteza, biotransformacije, in polysintezni pristopi, in tako optimiziramo farmakološke lastnosti. Prav te pristope smo uspešno uporabili v razvoju novih ciklofilin FKBP12-vezavnih naravnih produktov, kot sta pomembna protirakasta učinkovina rapamicin in imunosupresor FK506 (takrolimus), ki jih proizvajajo nekatere bakterije rodu *Streptomyces*. Imunofilin FKBP12-vezavne učinkovine so v zadnjem desetletju postale predmet izjemno intenzivnih raziskav, saj kažejo zelo zanimive aktivnosti za zdravljenje rakastih obolenj, kot tudi kardiovaskularnih, avtoimunskih in nevrodegenerativnih obolenj. Potreba po razvoju novih analogov FKBP12-vezavnih učinkovin je zato zelo velika. FKBP12-vezavne učinkovine FK506 in rapamicin kot tudi njihovi polysintezni derivati se danes že uporabljajo pri zdravljenju rakastih obolenj in kot zaviralci imunskega sistema, za preprečevanje zavračanja presajenih organov. Rapamicin se danes uporablja tudi v opornicah žil ("stenti"), kjer preprečuje ponovno zoženje žil. Gene za biosintezo teh učinkovin smo v veliki meri že identificirali. Kompleksne encimske sisteme, ki so vpleteni v njihovo biosintezo intenzivno študiramo. Z uporabo pristopov biosinteznega inženirstva in kemobiosinteze smo pripravili analoge rapamicina in FK506. Po drugi strani pa smo s pomočjo bioinformatičnih metod in omiskih pristopov in s pomočjo pristopov metabolnega inženirstva razvili napredne biosintezne procese za njihovo proizvodnjo.

Ključne besede: biosintezno in metabolno inženirstvo; kemobiosinteza; *Streptomyces*; rapamicin; FK506

KONTINUIRANA PROIZVODNJA VELIKIH BIOLOŠKIH MOLEKUL JE UČINKOVITA, VENDAR TEHNOLOŠKO ZAHTEVNA

Matjaž Peterka¹, Dominik Nabergoj¹, Nika Janež¹, Saša Haberl Meglič²,
Damijan Miklavčič², Aleš Podgornik^{1,3}

¹Center odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo, Tovarniška cesta 26, Ajdovščina;

²Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko, Tržaška 25, Ljubljana;

³Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Večna pot 113, Ljubljana
matjaz.peterka@cobik.si

Ponovljiva proizvodnja velikih bioloških molekul in delcev kot so proteini, DNA in virusi je iz operativnega in tehničnega vidika izjemno zahtevna in mogoča samo v tehnološko dovršenih procesih. Biološka proizvodnja tradicionalno poteka v šaržnih sistemih, kjer se vsak proizvodni korak začne in konča neodvisno od predhodnega ali naslednjega proizvodnega koraka. Šaržna proizvodnja je uveljavljena v industriji in sprejeta s strani regulatornih teles, vendar pa zahteva proizvodne kapacitete velikih volumnov in ima omejeno fleksibilnost. Zaradi povečevanja produktivnosti procesov, zniževanja stroškov, fleksibilnosti in predvsem zaradi tehnološkega napredka, je šaržna proizvodnja pridobila resnega tekmeca v konceptu kontinuirane proizvodnje. Prednosti kontinuiranih proizvodnih sistemov so zaradi manjših volumnov in boljšega izkoristka substratov višja produktivnost in nižji stroški, enostavnejši prenos na večji proizvodni nivo ter večja robustnost in fleksibilnost. Prehod iz šaržne na kontinuirano proizvodnjo temelji na uvajanju novih proizvodnih tehnologij, materialov in predvsem na novih načinih spremljanja in vodenja procesov (PAT-procesno analitska tehnologija). Nosilna strategija PAT je postavitve ustreznih senzorjev za merjenje kritičnih lastnosti kvalitete (CQA) ter kritičnih procesnih parametrov (CPPa) vzdolž celotnega proizvodnega procesa. Senzorje je mogoče postaviti v "on-line" ali "off-line" načinu, kjer je prva možnost sicer bolj učinkovita, ampak je stopnja trenutne tehnologije v večini primerov še ne dosega. Čeprav so trenutno na voljo samo delne rešitve, bo kontinuirna biotehnološka proizvodnja z novimi tehnologijami, PAT podporo, ustrezno podatkovno analizo in procesnim vodenjem revolucionirala proizvodnjo velikih bioloških molekul.

V prispevku bomo podrobneje predstavili značilnosti šaržne in kontinuirane proizvodnje ter smeri razvoja proizvodnih in procesno analitskih tehnologij. Na primeru elektroekstrakcije bomo dokazali, da lahko nove tehnologije zmanjšajo število potrebnih korakov, znižajo stroške in tako pomembno vplivajo na uvedbo kontinuirane proizvodnje. Predstavili bomo kontinuirano proizvodnjo bakteriofagov in inovativne metode za spremljanje šaržnih in kontinuiranih procesov.

Ključne besede: kontinuirana proizvodnja; proteini; virusi; bakteriofagi; PAT

MOLECULAR TESTS FOR DIAGNOSIS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES (HPV)

Mario Poljak

Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana
mario.poljak@mf.uni-lj.si

Human papillomaviruses (HPV) are a large and diverse group of small, circular, double-stranded DNA viruses, etiologically linked to the development of various benign and malignant lesions of the skin and mucosa. Cervical cancer is the most important human cancer etiologically linked to infection with certain HPV genotypes, with an estimated 530,000 new cases and 275,000 deaths annually. Cervical cancer screening based on cytology has drastically reduced the incidence of and mortality from cervical cancer, but only in countries able to maintain high-quality cytology and broad coverage screening. Two revolutionary technical advances have recently opened new prospects for the prevention of cervical cancer: HPV DNA testing as a secondary prevention tool and prophylactic HPV vaccination as a primary prevention tool. Thus, testing for 13-14 high-risk HPV genotypes is an invaluable part of clinical guidelines for cervical carcinoma screening, management and treatment. Testing for high-risk HPVs has four main clinical applications: triage of women with borderline cytology, follow-up of women with abnormal screening cytology results who are negative at initial colposcopy/biopsy, prediction of the outcome after treatment of cervical precancerous lesion, and primary screening of women aged 30 years and more in combination with Pap smear.

As of June 2017, at least 210 distinct commercial tests for detection of alpha HPVs and at least 150 variants of the original tests are available at the global market. Unfortunately, only a subset of commercial HPV tests has documented clinical performance for agreed indications for HPV testing in current clinical practice. For more than half of HPV tests on the global market, no single publication in peer-reviewed literature can be identified. In contrast to commercial kits for “classical” molecular microbiology targets, the great majority of HPV tests currently on the market does not contain sample extraction part and number of them don’t even mention recommended nucleic acid extraction methodology in their manufacturer’s instructions. Only a minority of HPV tests on the market have internal controls.

Keywords: human papillomaviruses; cervical cancer; screening

EBOLA VIRUS DISEASE: LESSONS LEARNED FROM WEST AFRICA OUTBREAK

Miša Korva^{1,2}, Tatjana Avšič Županc^{1,2}

¹Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Ljubljana, Slovenia;

²The European Mobile Laboratory Consortium, Bernhard-Nocht-Institute for Tropical Medicine,
Hamburg, Germany
misa.korva@mf.uni-lj.si

The Ebola virus has claimed the lives of over 11,000 people during the epidemic in West Africa. The origin of the virus was a zoonotic transmission from a bat to a two year-old boy in December 2013. From this index case the virus was spread by human-to-human contact throughout Guinea, Sierra Leone and Liberia. The infection is transmitted by direct contact with the blood or body fluids of infected people. It is one of the world's most virulent diseases, but it can be controlled through the strict use of protective measures. To stop the outbreak, a fast and reliable diagnosis was needed for which a sophisticated molecular diagnostics is often required in a very rural places. In March 2014, GOARN asked for assistance from the European Mobile Laboratory in establishing a molecular field laboratory in the heart of forestry Guinea, Guéckédou. The concept of a modular and deployable EMLab showed to be a very fast way to establish diagnostic capacity in the country and also very flexible, since additional units, like serology or sequencing were added upon request or necessity. Based on its diagnostic activities in the field, EMLab implemented a research program on virus evolution, immunology and pathophysiology of EVD, virus diagnostics, persistence, co-infections, and outcome determinants and supported vaccine and drug trials in the field. We traced the genetic evolution of EBOV with deep sequencing of patient samples, which confirm that the EBOV from Guinea moved into Sierra Leone, most likely in April or early May. The viruses of the Guinea/Sierra Leone lineage mixed around June/July 2014. Viral sequences covering August, September and October 2014 indicate that this lineage evolved independently within Guinea. Above that, we have identified a unique immune signature in EVD fatalities. In fatal infection, a high proportion of CD4+ and CD8+ cells expressed the inhibitory molecules CTLA-4 and PD-1, correlating with high virus load. By contrast, individuals who survived the infection showed lower expression of these inhibitory molecules, suggesting that dysregulation of the T cell response is a key component of EVD pathophysiology.

Keywords: Ebola virus; West Africa; Outbreak



BACTRIOPHAGE THERAPY ON THE LONG PATH TOWARDS BECOMING APPROVED MEDICINE

Frenk Smrekar

JAFRAL, Jamnikarjeva 16, 1000 Ljubljana
frenk.smrekar@jafral.com

One of the biggest challenges for modern medicine is emerging resistance of pathogenic bacteria to many currently available antimicrobial medicines. To avoid pessimistic scenarios of “post-antibiotic” era, development of alternative products should be one of the highest priorities of health community according to WHO.

Search for alternatives to current antimicrobial medicines put to spotlight bacteriophages (phages) and bacteriophage therapy. Even though their discovery and antimicrobial activities are known already for almost a century, phage products are for such purposes currently used only in former Soviet Union countries. Yet they have a long way to become approved medicine in Western world. Namely, standard path for medicine to be approved by regulatory agencies is long and expensive process ranging from development/pre-clinical stage, clinical phases to commercialization of a product. To add to that, phages are not known to EMEA/FDA regulatory frameworks as they are new types of antimicrobial agents. Moreover, their functioning is also unique compared to majority of approved medicines, since phages are live viruses that multiplies within body, which adds complexity to drug development.

This talk covers some of the hurdles and challenges faced during development of product used for phage therapy.

Keywords: antibiotic resistance; phage therapy; product development

EMERGENCE OF A NOVEL HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA A(H5N5) REASSORTANT VIRUS IN WILD BIRDS AND POULTRY, 2016-2017

Vladimir Savić

Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia
v_savic@veinst.hr

Influenza A viruses infect birds and mammals, including humans. They are generally host-specific, although some of them can cross species barrier. Highly pathogenic avian influenza (HPAI) viruses cause mortality as high as 100% in susceptible poultry species, but they also pose a threat for humans, particularly H5N1 viruses of A/goose/Guangdong/96-like (GD/96) lineage. The emergence of HPAI viruses in migratory birds is of concern because of the potential for a long distance virus spread during migration. In late 2016 and early 2017, GD/96 clade 2.3.4.4 H5N5 virus was detected in wild birds and domestic poultry in Croatia, concurrently with numerous detections of H5N8 virus of the same clade. This was of a particular concern, since clade 2.3.4.4 H5N5 viruses from China (2008-2010) bind to human-type receptors.

Sequencing of the full genome of the H5N8 index case isolate and of all three H5N5 isolates has shown that the H5N5 is a fully novel reassortant virus most likely emerged as a result of complex reassortment process in Asia from HPAI H5N8 viruses after the later viruses have become established in wild bird population. Concurrent findings of both, H5N5 and H5N8 viruses, at the same locations in Croatia indicate that the H5N5 reassortant virus was introduced from Asia as a subpopulation of H5N8 viruses by the same wild bird flyways. Although the novel H5N5 reassortant virus possesses haemagglutinin of the GD/96 lineage, the virus genome has typical avian virus traits. Apart from mutations T215A in M1 protein and P42S in NS1 protein which are associated to increased virulence in mice, none of the mutations related to increased affinity to human-type (α -2,6) receptors and mammalian host adaptation were found. Nevertheless, the virus poses a serious threat to the poultry industry since high pathogenicity for gallinaceous birds was confirmed by high intravenous pathogenicity index (2.87).

Keywords: influenza; HPAI; H5N5; reassortant; full genome sequence



CHARACTERISATION AND QUANTIFICATION OF VIRAL VECTORS FOR VACCINES

Polona Kogovšek, David Dobnik, Magda Tušek Žnidarič, Denis Kutnjak, Maja Ravnikar

National Institute of Biology, Department of Biotechnology and Systems Biology,
Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenia
polona.kogovsek@nib.si

Gene-based vaccines, virus-like particles, plant-derived vaccines and bacteriophages represent promising approaches to creating safer, more potent vaccines. Viral vectors like adenoviruses, adeno-associated viruses or retroviruses are the vehicles for delivering genetic material and are known to improve efficacy and safety, reduce administration dose, and enable large-scale manufacturing. One of the crucial steps in manufacturing clinical grade biomolecules is the quantification of target biomolecule during growth, harvest, purification, and release in process development and final production. Our expertise is in development, validation and application of molecular methods, such as quantitative PCR (qPCR) and digital droplet PCR (ddPCR), which enable relative and absolute quantification, respectively, of DNA or RNA viruses and other targets. We use qPCR/ddPCR, due to its capability to detect nucleic acids in traces, for detection and quantification of various targets, from microbe nucleic acids, to host DNA. We coupled qPCR/ddPCR with high throughput DNA extraction system, which offers fast and accurate quantification of residual DNA. We have shown that ddPCR is less sensitive to impurities originating from sample matrixes than other PCR based methods, therefore ddPCR is the method of choice for direct virus quantification in upstream and downstream process development samples. ddPCR was shown to be accurate, robust and repeatable in validated assays ($CV \leq 10\%$). Next generation sequencing (NGS) technology, e.g. MinION, allows whole virus genome sequencing and can be used for exploring of uniformity of virus/vector sequence. To complement results of molecular methods, we use transmission electron microscopy (TEM) for direct observation and quantification of virus particles (in relation to latex beads). In addition, viral structure, presence of full and empty/damaged/broken capsids and presence of impurities in the sample is evaluated in various intermediate samples. Different key aspects from the virus vector characterisation and quantification will be addressed in the presentation.

Keywords: viral vectors; absolute quantification; electron microscopy

UTILITY OF NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) TECHNOLOGY IN VETERINARY VIROLOGY

Urška Kuhar, Uroš Krapež, Brigita Slavec, Urška Jamnikar-Ciglencečki, Ivan Toplak

University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenia
urska.kuhar@vf.uni-lj.si

Next generation sequencing (NGS) technology, also known as massive parallel sequencing, is becoming an increasingly important tool in virology laboratories worldwide and is a state-of-the-art method for pathogen detection, pathogen characterization and epidemiological surveillance. Furthermore, NGS enables direct detection of unknown pathogens and simultaneous detection of multiple pathogens in clinical samples.

The NGS technology (Ion Torrent) has been used on Veterinary faculty since 2015. Different sample preparation, nucleic acid extraction and library construction procedures were tested. Sequenced reads were analyzed with *de novo* assembly and with reference mapping using Newbler, SPAdes and Geneious. The BLASTN and BLASTX were used to compare the assembled contigs or reads with the sequences deposited in NCBI GenBank.

Clinical samples from different animal species, as well as virus isolates from cell cultures were tested with the NGS. Complete genomes of different RNA and DNA viruses were successfully sequenced. Fecal samples from roe deer were used for complete genome sequencing of rotaviruses with zoonotic potential. Complete enteric coronavirus genome was determined in rectal swab from ferret with diarrhea, as well as complete genome of coronavirus from ferret with clinical signs of systemic disease. In cloacal swab from quail, the complete genome of a new coronavirus was determined, which is thought to be the cause of high mortality in the flock. Complete genomes of several virus isolates were determined, including bovine viral diarrhea virus, classical swine fever virus, porcine epidemic diarrhea virus, rabies virus, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, sapelovirus, enterovirus and lumpy skin disease virus. NGS was also successfully used for fast and reliable complete genome sequencing in avian influenza outbreak, where complete genomes of several viruses from 6 locations, isolated in chicken embryos were determined.

Keywords: next generation sequencing; NGS; virus

SECRETS OF THE PHYTOPLASMA GENOME: FROM VIRULENCE FACTORS TO HOST ADAPTATION

Martina Šeruga Musić

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Zagreb, Croatia
martina@biol.pmf.hr

Plant diseases showing virus-like symptoms, but of unknown etiology, were intriguing scientists worldwide for a long time. Only 50 years ago, by examining electron micrographs of phloem sections from diseased plants, the mystery has been solved when mycoplasma-like organisms were discovered as the etiological agents. Afterwards, they were named phytoplasmas and assigned to the genus '*Candidatus Phytoplasma*' within the class Mollicutes. Nevertheless, these peculiar bacteria share many common features with plant viruses regarding their life-style, host range, transmission and pathogenicity strategies. In nature, phytoplasmas are transmitted and hosted by phloem-feeding insects. Their genomes are small and reduced, but repeat-rich, lacking many metabolic genes as a consequence of their life in a nutrient rich environment and the host-dependent life cycles. In spite of the fact that phytoplasma cultivation is still challenging, the development and improvement of sequencing technologies enabled successful sequencing and assembly of five complete phytoplasma genomes and several genome drafts. The comparative genome analyses have revealed many unique features as well as the presence of effector/virulence factor genes; however, some of their survival strategies and mechanisms of adaptation to parasitism need to be further elucidated. One of the potential mechanisms important for phytoplasma evolution and genome plasticity is the presence of repeats termed potential mobile units (PMUs) that have characteristics of replicative transposones. So far, several phytoplasma effectors have been well characterized: TENGU, a unique virulence factor from '*Ca. P. asteris*' strain OY-M; SAP-11 and SAP-54 from '*Ca. P. asteris*' strain AYWB, and SAP-11 from '*Ca. P. mali*'. It was discovered that those small molecules interfere with the plant developmental processes and defense responses by inhibiting auxin-related pathways and destabilizing different transcription factors. Nevertheless, these findings suggest that future studies are needed to elucidate the function of many other putative effectors as well as their interactions with phytoplasma hosts.

Keywords: effector; pathogenicity; phytopathogens

EXPLORING REGULATORY NETWORKS IN POTATO IMMUNE SIGNALING

Kristina Gruden

Department of Biotechnology and Systems Biology, National Institute of Biology, Ljubljana, Slovenia
kristina.gruden@nib.si

Infection of a plant by a pathogen initiates a complex interaction between both players involved, leading to changes in the complex signalling network, which result in gene activity changes and reprogramming of the cell metabolism. A systems biology approach was adopted to understand the mechanisms and dynamics involved in potato plant defense following the infection with potato virus Y (PVY).

A qualitative model of potato plant defence signalling network (PDS) was constructed describing the biosynthesis and signal transduction pathways for three crucial phytohormones involved in plant defence: salicylic acid (SA), jasmonic acid (JA) and ethylene (ET). The prior knowledge from literature was expanded with information on the viral and plant component interactions, protein-protein interactions and protein-DNA interactions in plant *Arabidopsis* and translated to potato. Additionally, potato smallRNA regulatory network and gene regulatory networks were constructed from experimental data and overlaid with prior knowledge network.

The resulting robust qualitative model offers new insights into the plant-virus interaction by expanding the knowledge on critical properties of plant defence signalling, thus producing novel hypotheses to be tested in the wet lab. Examples of two tested hypothesis will be given.

Keywords: system biology, potato, potato virus Y, modelling



POVZETKI PREDAVANJ (VPr)



GENOTIPIZACIJA IZOLATOV *BORRELIA GARINII* IZOLIRANIH IZ LIKVORJA, KRVI, KOŽE IN KLOPOV

Tjaša Cerar¹, Vesna Cvitković-Špik¹, Meta Kodre¹, Katarina Benulič¹, Katarina Ogrinc²,
Daša Stupica², Stanka Lotrič-Furlan², Franc Strle², Eva Ružič-Sabljič¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta,
Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana;
²Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana
tjasa.cerar@mf.uni-lj.si

Bakterijo *Borrelia garinii* v Evropi najpogosteje povezujemo z okužbami centralnega živčnega sistema. Za opredelitev borelijskih sevov so na voljo številne molekularne metode; z metodo polimorfizma dolžin restrikcijskih fragmentov (*MluI*-RFLP) uvrščamo izolate *B. garinii* v 7 podtipov, Mlg1 – Mlg7. V tem delu smo na slovenskih izolatih *B. garinii* ocenili razlikovalno moč tipizacije na osnovi multilokusnih zaporedij (*angl.* multilocus sequence typing, MLST) in rezultate primerjali z metodo *MluI*-RFLP.

Vključili smo 44 izolatov *B. garinii*, od katerih jih je bilo 27 izoliranih iz likvorja, 5 iz vzorcev kože, 2 iz vzorcev krvi in 10 iz klopov. Vse izolate smo tipizirali z metodama *MluI*-RFLP in MLST, predhodno opisane v raziskavah Ružič-Sabljič in sod. in Margos in sod. Novi aleli in sekvenčni tipi (*angl.* sequence type, ST) so bili dodani v podatkovno bazo MLST (<http://pubmlst.org/borrelia>), ki jo ureja Univerza v Oxfordu, VB.

Z metodo *MluI*-RFLP smo večino izolatov (40/44; 90,9 %) opredelili kot *B. garinii* Mlg2, 2/44 (4,5 %) kot *B. garinii* Mlg4, 1/44 (2,3 %) kot *B. garinii* Mlg3 in 1/44 (2,3 %) kot *B. garinii* Mlg1. Z analizo MLST smo določili 12 različnih ST; najpogostejši je bil ST86 (15/42; 28,6 %), kamor so se uvrščali izolati iz likvorja, klopov in krvi. V ST85, ki je značilen za *B. bavariensis*, smo uvrstili 11 izolatov, izoliranih večinoma iz likvorja. Pri treh izolati iz klopov, uvrščenih v *B. garinii* Mlg2, smo z MLST pri dveh dobili mešane sekvence, kar nakazuje na mešano borelijsko okužbo, pri enem izmed izolatov pa smo določili nov ST.

MLST ima v primerjavi z *MluI*-RFLP boljšo razlikovalno moč znotraj vrste in jo lahko uporabljamo za oceno strukture borelijske populacije. Kar je še bolj pomembno, metoda omogoča opredelitev *B. bavariensis*. Šestindvajsetim odstotkom slovenskih izolatov, ki so bili z *MluI*-RFLP opredeljeni kot *B. garinii*, smo določili ST značilen za *B. bavariensis*.

Ključne besede: *Borrelia garinii*; *MluI*-RFLP; MLST

SPREMEMBE V SESTAVI ČREVESNE MIKROBIOTE PRI PACIENTIH Z METABOLIČNIM SINDROMOM PO PREHRANSKI INTERVENCIJI Z JEČMENOVIMI BETA GLUKANI

Ana Velikonja¹, Luka Lipoglavšek², Rok Orel³, Gorazd Avguštin²

¹Mlinotest d.d., Tovarniška cesta 14, 5270 Ajdovščina, Slovenija;

²Biotehniška fakulteta, Oddelke za zootehniko, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenija;

³Univerzitetni klinični center Ljubljana, Univerzitetna Pediatrična klinika,

Oddelek za gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano, Bohoričeva 20, 1000 Ljubljana, Slovenija
ana.velikonja@mliinotest.si

Metabolični sindrom (MS) je kompleksna, z življenjskim stilom pogojena bolezen ki se izraža v obliki metabolnih nepravilnosti, med katere sodijo abdominalna debelost, dislipidemija, hiperglikemija in hipertenzija. Vrsta raziskav opisuje povezave med črevesno mikrobioto in metabolnimi nepravilnostmi oz. prispevek mikrobiote k razvoju debelosti zaradi povečanega energetskega izplena. Priča smo vedno večji želji po odkritju diete, ki bi lahko uravnavala sestavo črevesne mikrobiote in posledično izboljšala individualne parametre, ki so povezani z metabolnimi nepravilnostmi. Namen naše študije je bil ugotoviti, ali lahko uživanje ječmenovih beta glukanoov pozitivno spremeni sestavo črevesne mikrobiote in z MS povezanih metabolnih nepravilnosti. Ječmenovi beta glukani so endospermški polisaharidi, ki izboljšajo tako lipidni kot glukozni metabolizem (znanstvena trditev EFSA). Učinki ječmenovih beta glukanoov na črevesno mikrobioto pa so v kliničnih raziskavah le slabo preučeni.

Izvedli smo dvojno slepo, placebo kontrolirano in randomizirano klinično študijo, v katero je bilo vključenih 43 prostovoljcev z diagnozo MS. Telesna masa se je med študijo znižala tako v poskusni kot kontrolni skupini. V poskusni skupini, ki je uživala 6 g ječmenovih beta glukanoov dnevno v obdobju 4 tednov, se je znižal skupni holesterol. S sekvenciranjem variabilnih regij 3 in 4 ribosomskih 16S rRNA smo pokazali spremembe v sestavi črevesne mikrobiote. Po intervenciji z beta glukani smo opazili značilen padec v številu sekvenc bakterij iz redu *Coriobacteriales*, iz vrst *Collinsella aerofaciens* in *Assacharobacter celatus*, ter iz nevrščene skupine iz redu *Clostridiales*. Opazili smo tudi povečanje števila sekvenc iz vrste *Agathobacter rectalis* (včasih *Eubacterium rectale*, fam. *Lachnospiraceae*). Pri poskusni skupini smo opazili tudi značilno znižanje mikrobne pestrosti (*diverzitete*) in bogatosti (*richness*). Preučili smo tudi razlike v spremembah sestave črevesne mikrobiote v skupini preiskovancev, pri katerih se je nivo holesterola značilno znižal (holesterol odzivna skupina). V večjem številu so bile prisotne sekvence bakterij, ki sodijo med "dobre" bakterije, npr. *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium fecale* in *Akkermansia muciphila*, kar kaže, da je z dieto sproženi metabolni odgovor verjetno odvisen od specifične sestave črevesne mikrobiote.

Ključne besede: metabolični sindrom; črevesna mikrobiota; ječmenovi beta glukani; NGS; 16S rRNA

VLOGA ŽIVALI PRI OKUŽBAH LJUDI Z LA-MRSA

Majda Golob¹, Irena Grmek Košnik², Urška Dermota², Maja Rupnik², Mateja Pate¹,
Jana Avberšek¹, Darja Kušar¹, Urška Zajc¹, Matjaž Očepek¹ in Irena Zdovc¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva ulica 60, 1000 Ljubljana;

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,

Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

majda.golob@vf.uni-lj.si

Okužbe ljudi s proti meticilinu odporno bakterijo *Staphylococcus aureus* (MRSA) sodijo med najpogostejše bolnišnične okužbe, hkrati pa se vse bolj širijo tudi v okolje izven bolnišnic. V zadnjih letih velik problem predstavljajo okužbe ljudi z MRSA, ki se pojavlja pri rejnih živalih (livestock-associated oz. LA-MRSA). Pomemben dejavnik tveganja za okužbo z LA-MRSA je neposreden ali posreden stik z živalmi, predvsem s prašiči. Rejne živali so z LA-MRSA večinoma kolonizirane in le redko obolijo. V Sloveniji opažamo porast koloniziranih ljudi s sevi MRSA, odpornimi proti tetraciklinu, ki je indikatorski antibiotik za LA-MRSA.

Na različnih koncih Slovenije, predvsem v severovzhodnem delu, smo odvzeli vzorce na 16 kmetijah, na katerih je bil vsaj eden izmed članov gospodinjstva nedavno koloniziran ali hospitaliziran zaradi okužbe z LA-MRSA. Po epidemiološkem poizvedovanju z anketiranjem smo zbrali vzorce vseh članov gospodinjstva in vseh živali na posestvu. Ljudem smo odvzeli nadzorne kužnine (bris žrela, nosu, kože ali rane), pri živalih pa nosne brise ter skupne vzorce okolja. Z mikrodilucijsko metodo smo pri pridobljenih izolatih ugotavljali vzorce odpornosti proti protimikrobnim zdravilom in vse izolate tipizirali na osnovi stafilokoknega proteina A (tipizacija *spa*). Vsi izolati LA-MRSA pri ljudeh so bili odporni proti cefoksitinu, penicilinu in tetraciklinu, nekateri pa tudi proti ciprofloksacinu in klindamicinu. Pri živalih so se pojavljali različni rezistotipi, poleg cefoksitina, penicilina in tetraciklina so bili izolati odporni tudi proti nekaterim drugim antibiotikom, nismo pa ugotovili odpornosti proti ciprofloksacinu. Pri ljudeh smo v večini primerov izolirali tipa *spa* t011 in t034, poleg teh pa še t1451, t10765 in t1344. Prisotnost LA-MRSA pri živalih smo potrdili pri prašičih na petih kmetijah, kjer smo vsem izolatom določili tip *spa* t011.

Predvidevamo, da so prašiči verjeten vir okužbe ljudi, vendar lahko sklepamo tudi, da se sevi LA-MRSA že širijo znotraj populacije ljudi. LA-MRSA smo namreč izolirali pri ljudeh na kmetijah, kjer so bili tako vzorci iz živali kakor tudi hlevski vzorci prahu negativni.

Ključne besede: LA-MRSA; okužbe ljudi; prašiči

ODPORNOST PROTI ANTIBIOTIKOM PRI MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJAH V PREHRANSKI VERIGI

Bojana Bogovič Matijašič, Petra Mohar Lorbeg

Biotehniška fakulteta, Groblje 3, 1230 Domžale
bojana.bogovic@bf.uni-lj.si

Intenzivna uporaba antibiotikov v medicini in veterini botruje naraščajoči pojavnosti rezistence proti antibiotikom (AR). Znano je, da se v določenih okoljskih razmerah geni za rezistenco proti antibiotikom (ARG) lahko horizontalno prenašajo med bakterijami različnih vrst. V zadnjem času posebno pozornost raziskovalci posvečajo tudi dejstvu, da lahko tudi komenzalne bakterije iz hrane predstavljajo rezervoar ARG. Mlečnokislinske bakterije (MKB) pridejo v prehransko verigo preko starterskih kultur za proizvodnjo hrane, probiotikov za ljudi in krmnih dodatkov. Koncept "Qualified presumption of safety" (EFSA), ki zajema kriterije za varnost bakterij, namerno dodanih v prehransko verigo, vključuje tudi zahtevo po odsotnosti ARG za klinično pomembne antibiotike. Probiotične kulture so veliko bolj pod drobnogledom glede varnosti, vključno z odpornostjo proti antibiotikom, kot ostale starterske kulture v živilski industriji. Dejansko pa po vsej verjetnosti s prehrano dnevno vnašamo v telo veliko večjo količino bakterij iz različnih starterskih kultur oziroma njihov genski material, kakor pa probiotičnih bakterij. V prispevku so predstavljeni izsledki lastnih raziskav in rezultati drugih raziskovalcev o razširjenosti ARG v živilih, proizvedenih z uporabo starterskih kultur (sir, fermentirani mlečni izdelki, fermentirana zelenjava) in humanih kliničnih vzorcih (mleko, kolostrum, črevesna sluznica, blato). Predstavljeni so tudi sodobni pristopi za raziskovanje AR in prenašanja AR po prehranski verigi, ki temeljijo na primerjalnih genomskih analizah, metagenomskih analizah bakterijskih združb in proučevanju rezistomov.

Ključne besede: odpornost proti antibiotikom; mlečnokislinske bakterije; starterske kulture; probiotiki



PROTIMIKROBNO IN MODULATORNO DELOVANJE IZVLEČKOV RASTLINE *PEUCEDANUM OSTRUTHIUM* NA BAKTERIJE *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Katarina Šimunović¹, Andreja Jurhar¹, Anja Klančnik¹, Gaja Pretnar¹,
Ivana Turek², Franz Bucar², Sonja Smole Možina¹

¹Oddelek za Živilstvo, Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, Ljubljana;

²Oddelek za farmakognozijo, Institut za farmacevtske znanosti, Karl-Franzens Universität,
Universitätsplatz 4, 8010 Gradec, Avstrija
katarina.simunovic@bf.uni-lj.si

Bakterije rodu *Campylobacter* povzročajo kampilobakteriozo, najpogostejšo humano črevesno okužbo v Evropi. Najpogostejši vzrok je uživanje nezadostno toplotno obdelanega mesa, predvsem perutnine. Zaradi prilagoditve *C. jejuni* na stresne razmere in razvoja odpornosti proti antibiotikom raziskave usmerjamo v študij protimikrobnih snovi naravnega izvora. Vključili smo zdravilne rastline, tradicionalno uporabne proti črevesnim okužbam, z bogatim etnobotaničnim izročilom v mediteranskem, kraškem in alpskem področju. V tej raziskavi predstavljamo mehanizem protimikrobnega in modulatornega delovanja izvlečkov korenike jaščarice (*Peucedanum ostruthium*) na modelnem organizmu *C. jejuni*.

Z metodo mikodilucije v bujonu smo protimikrobno delovanje ovrednotili preko minimalne inhibitorne koncentracije (MIK). Rezultati so pokazali, da je MIK etanolnega in heksanskega izvlečka ter eteričnega olja 500 mg/L. Z namenom ugotavljanja mehanizma delovanja in pomena aktivnih izlivnih črpalk pri odpornosti *C. jejuni* na izvlečke smo MIK določali tudi pri mutantih z okvarjenimi geni izlivnih črpalk CmeABC, CmeDEF, CmeGH in Cj1687. Ugotovili smo, da k protimikrobnemu delovanju najbolj prispeva črpalka CmeABC. Mutacija v *cmeR*, zaviralcu črpalke CmeABC, privede do večjega izražanja gena *cmeB* in tem večje odpornosti proti protimikrobnim sredstvom. Vrednosti MIK so v tem primeru višji: etanolnega in heksanskega izvlečka 1500 mg/L in eteričnega olja 1000 mg/L. Delecija v genu *cmeB* prepreči delovanje črpalke, zato so vrednosti MIK nižje in sicer 31,25 mg/L za etanolni, 15,625 mg/L za heksanski izvleček ter 250 mg/L za eterično olje. S spremljanjem kopičenja etidijevega bromida v celici smo ugotovili, da izvlečki delujejo kot zaviralci izlivnih črpalk. Rezultati spremljanja integritete celične membrane pa so nakazali, da vsi izvlečki v sub-inhibitornih koncentracijah povečajo prepustnost membrane. Nadaljnje testiranje modulatornega delovanja izvlečkov v kombinaciji z antibiotikoma ciprofloksacin in eritromicin, razkužilom triklosan ter etidijevim bromidom je potrdilo modulatorno delovanje vseh treh izvlečkov pri koncentraciji 31,25 mg/L. Izvlečki rastline *P. ostruthium* imajo dobro protimikrobno delovanje, mehanizem le tega pa je inhibicija delovanja izlivnih črpalk in povečanje prepustnosti celične stene, kar prispeva tudi k njihovem odpornostno-modulatornem delovanju.

Ključne besede: *Peucedanum ostruthium*; *Campylobacter jejuni*; mehanizem protimikrobnega delovanja in modulacije odpornosti

ČRNA KVASOVKA *AUREOBASIDIUM PULLULANS* IN NJENA GENOMSKA RAZNOLIKOST

Cene Gostinčar, Martina Turk, Janja Zajc, Nina Gunde-Cimerman

Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija
cene.gostincar@bf.uni-lj.si

Črna kvasovka *Aureobasidium pullulans* je pomembna zaradi svoje splošne razširjenosti, poliekstremotolerantne fiziologije in znatnega biotehnološkega potenciala. Njen najbolj znan habitat je površina rastlin, pogosto pa jo najdemo tudi v notranjosti stavb in v hrani, v ledeniškem ledu, v koncentrirani morski vodi (na morski obali, v solinah) in v številnih drugih, neredko nenavadnih habitatih. Uporabljamo jo za pridelavo polisaharida pululana in protimikrobnega aureobasidina A, komercialno pa je kvasovka v prodaji tudi za uporabo v kmetijstvu, kjer kot sredstvo za biološko kontrolo lahko omeji škodo, ki jo povzročajo različni rastlinski škodljivci (tako bakterijski, kot tudi glivni). V letu 2014 smo objavili *de novo* določeno genomsko zaporedje *A. pullulans* in treh sorodnih vrst ter razkrili veliko raznolikost številnih družin proteinov, ki odražajo prehransko raznolikost teh črnih kvasovk in njihovo odlično toleranco na stres. V nadaljevanju te raziskave določamo genomsko zaporedje več desetih sevov *A. pullulans*, ki jih hranimo v zbirki mikroorganizmov Ex. S pomočjo pridobljenih podatkov bomo poiskali povezave med genomskimi značilnostmi in izjemno prilagodljivostjo te vrste na različne okoljske razmere. Obenem bomo raziskali vzroke za učinkovitost kvasovke *A. pullulans* pri zatiranju ekonomsko pomembnih škodljivcev v kmetijstvu in izboljšali možnosti za njeno biotehnološko izkoriščanje.

Ključne besede: primerjalna genomika; *Aureobasidium pullulans*; črna kvasovka; glive; stres

Gostinčar, Cene; Ohm, Robin A; Kogej, Tina; Sonjak, Silva; Turk, Martina; Zajc, Janja; Zalar, Polona; Grube, Martin; Sun, Hui; Han, James; Sharma, Aditi; Chiniqy, Jennifer; Ngan, Chew Yee; Lipzen, Anna; Barry, Kerrie; Grigoriev, Igor V; Gunde-Cimerman, Nina (2014). Genome sequencing of four *Aureobasidium pullulans* varieties: biotechnological potential, stress tolerance, and description of new species. BMC Genomics. 15 (1): 549. doi:10.1186/1471-2164-15-549. PMID 24984952.

NEGATIVNA POVRATNA ZANKA PRI URAVNAVANJU PROIZVODNJE ZUNAJCELIČNIH PROTEAZ S SIGNALNIMI PEPTIDI V PLAVAJOČIH BIOFILMIH BAKTERIJE *BACILLUS SUBTILIS*

Mihael Špacapan, Tjaša Danevčič, Ines Mandić-Mulec

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Katedra za Mikrobiologijo,
Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenija
mihael.spacapan@bf.uni-lj.si

Bakterije *Bacillus subtilis* najpogosteje najdemo v skupnostih oz. biofilmih. Bakterija proizvaja signalni peptid ComX sorazmerno z velikostjo skupnosti. Z zaznavanjem ComX uravnava kompetenco in proizvodnjo surfaktina. Analogni sistemi ostalih bakterijskih vrst uravnava proizvodnjo skupnih dobrin. Skupne dobrine koristijo celotni skupnosti in ne le posamezniku, ki dobrine proizvaja. Namen dela je razjasniti vlogo ComX pri proizvodnji zunajceličnih proteaz, zato smo postavili naslednji znanstveni hipotezi:

- Ker so zunajcelične proteaze skupne dobrine, bo ComX povečal proizvodnjo proteaz.
- Povečana količina proteaz bo ustvarila negativno povratno zanko, saj bodo proteaze razgrajevale signalni peptid ComX.

Proteolitsko aktivnost smo določili s kazein želatinskimi agarskimi ploščami. Prepisovanje gena za zunajcelične proteaze smo določili z merjenjem fluorescence sevov, ki so imeli gen za fluorescenčni protein pod uravnavo promotorja gena *aprE*. Razpad ComX v izrabljenem gojišču po času smo določili z merjenjem fluorescence seva, ki je imel gen za fluorescenčni protein pod uravnavo promotorja gena za surfaktin sintazo.

Pokazali smo, da so z okvarjenim sistemom za zaznavanje celične gostote prepisovanje gena za zunajcelično proteazo *aprE*, proteolitska aktivnost izrabljenega gojišča in razpad ComX v izrabljenem gojišču majhni. Če takšnemu izrabljenemu gojišču dodamo proteaze, se razpad ComX poveča. Z etilendiaminotetraocetno kislino (EDTA) smo zmanjšali proteolitsko aktivnost gojišč bakterije divjega tipa in obenem tudi razpad ComX. Dodatek EDTA plavajočim biofilmom bakterij divjega tipa poveča prepisovanje gena *aprE*.

Rezultati so skladni s hipotezami in tako potrjujejo ključno vlogo ComX pri proizvodnji zunajceličnih proteaz v plavajočih biofilmih bakterije *Bacillus subtilis*. Obenem potrjujejo, da proteaze razgrajujejo ComX. Takšna negativna povratna zanka, bi lahko bila prisotna pri vseh po Gramu pozitivnih bakterijah, tudi patogenih, ki imajo signalne peptide. Zanka bi lahko botrovala h gospodarnosti pri proizvodnji javnih dobrin. Poznavanje sistema lahko izboljša proizvodnjo proteaz v industriji.

Ključne besede: medcelična komunikacija; zunajcelične proteaze; biofilmi

BAKTERIJSKA TER GLIVNA ČREVESNA MIKROBIOTA PRI HOSPITALIZIRANIH BOLNIKI S KRONIČNO VNETNO ČREVESNO BOLEZNIJO

Aleksander Mahnič¹, Špela Pintar², Pavel Skok^{2,3}, Aleksander Kocuvan²,
Maja Rupnik^{1,2}

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska 1, 2000 Maribor;

²Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor;

³Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor
aleksander.mahnic@nlzoh.si

Chronova bolezen ter ulcerativni kolitis sta najpogostejši obliki kroničnih vnetnih črevesnih bolezni (KVČB). Patogeneza KVČB še ni popolnoma jasna, na podlagi dosedanjih študij pa predvidevamo, da gre za kompleksno kombinacijo nepravilnega imunskega odziva na črevesno mikrobioto pri genetsko podvrženih posameznikih, pri čemer na zagone bolezni v veliki meri vplivajo zunanji dejavniki. Medtem ko je o spremembah v bakterijski združbi pri bolnikih s KVČB že precej znanega, so spremembe drugih skupin mikroorganizmov manj poznane. Cilj študije je bila analiza tako bakterijske kot glivne združbe pri KVČB bolnikih hospitaliziranih na Oddelku za gastroenterologijo (UKC Maribor) ter primerjava s preostalimi hospitaliziranimi bolniki na istem oddelku ter s skupino zdravih prostovoljcev.

V študijo je bilo vključenih 123 hospitaliziranih bolnikov (Chronova bolezen (n=16), ulcerativni kolitis (n=25) ter bolniki, hospitalizirani zaradi drugih vzrokov (n=82)) ter 157 zdravih prostovoljcev. Sestavo mikrobne združbe smo določili s sekvenciranjem V3-V4 variabilne regije gena za 16S rRNA pri bakterijah ter ITS2 medgenske regije pri glivah (MiSeq, Illumina). V primeru bakterijske združbe smo skupno pridobili 10.752.793 sekvenc, ki so bile razvrščene v 37.682 operacijskih taksonomskih enot (OTU), v povprečju 389 (± 193) na vzorec. V primeru glivne združbe smo skupno pridobili 5.626.127 sekvenc, ki so bile razvrščene v 2.337 OTUjev, v povprečju 17 (± 10) na vzorec.

Z modelom logistične regresije smo ovrednotili vpliv mikrobne diverzitete, posameznih OTUjev ter enterotipov pri ločevanju med primerjanimi skupinami vzorcev. V primerjavi z glivno združbo bakterijska bolje ločuje tako med različnimi bolezenskimi stanji kot ostalimi meta-podatki. Večinoma imajo najboljšo napovedno moč posamezni OTUji, v določenih primerih pa je razdelitev skupin v enterotipe ponudila dodatne informacije. Shannon indeks mikrobne diverzitete značilno razlikuje samo med hospitaliziranimi bolniki s KVČB ter zdravimi prostovoljci, medtem ko pri ločevanju KVČB bolnikov od ostalih hospitaliziranih bolnikov ter ločevanju med oblikama KVČB ni imel vpliva.

Ključne besede: Kronične vnetne črevesne bolezni; črevesna mikrobiota; metataksonom

VPLIV BAKTERIJE *MYCOPLASMA CYNOS* NA IZRAŽANJE CITOKINOV V CELIČNI KULTURI DH82

Matija Valinger Sluga, Ivanka Cizelj, Irena Oven, Dušan Benčina†, Mojca Narat

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale
matija.valinger@gmail.com

Bakterije iz rodu *Mycoplasma* spadajo med najmanjše in najpreprostejše organizme. Imajo relativno majhen krožni genom, kar ima za posledico zmanjšanje biosintetskih sposobnosti in pojasnjuje odvisnost mikoplazem od gostitelja. Mikoplazme naseljujejo površino sluznic dihalnih organov, urogenitalnega trakta, oči, prebavil, mlečne žleze in sklepov vretenčarjev. Odsotnost celične stene omogoča neposredni stik med membranskimi proteini mikoplazem in gostiteljsko celico, kar lahko pripelje do zlitja z gostiteljsko celico ali vstopa mikoplazme v celico. Za patogene vrste mikoplazem je značilno, da v večini primerov povzročajo kronične oblike bolezni z visoko stopnjo obolevnosti in nizko umrljivostjo. Pri psih je med najbolj pogosto izoliranimi mikoplazmami *Mycoplasma cynos*, ki povzroča poškodbe dihalnega epitelijskega tkiva in kopičenje nevtrofilcev in makrofagov v pljučnih mešičkih.

V naši raziskavi smo preverili vpliv *M. cynos* v pogojih *in vitro* na trajno kulturo pasjih celic DH82. Spremljali smo izražanje genov za citokine IL-1 β , IL-6, IL-8 in za transkripcijski dejavnik NF- κ B1. Z metodo PCR v realnem času smo sledili nivo izražanja genov v različnih časovnih točkah po okužbi celic z mikoplazmo.

Okužba celic DH82 z *M. cynos* je v 24 urah zmanjšala viabilnost celic za 13% in v 48 urah za 30%. *M. cynos* je povzročila tudi morfološke spremembe celic. V 24 urah po okužbi smo v citoplazmi opazili številne vakuole in 48 ur po okužbi še lizo posameznih celic. Analiza sprememb v izražanju genov je pokazala, da se okužba odraža v postopnem zviševanju izražanja gena IL1 β . Pri genu IL6 smo zaznali takojšnji porast in nato postopno zniževanje izražanja. Izražanje gena IL8 se je postopno zviševalo in pri 48 urah padlo. Presenetljivo je, da smo zaznali le minimalne spremembe v izražanju gena NF- κ B1, ki je vpleten v uravnavanje izražanja genov za citokine, ki so bili v naši raziskavi povišano izraženi.

M. cynos je relativno slabo preučena bakterija, zato je kljub dokazanim bolezenskim zapletom v klinični obravnavi pogosto spregledana. Pridobljeni rezultati dajejo delen vpogled v potek okužbe gostiteljskih celic z *M. cynos*. Relativno nizek nivo izražanja citokinov sovпада s kroničnim potekom bolezni, ki je značilen za okužbe z mikoplazmami.

Ključne besede: *M. cynos*; citokini; celična linija DH82

DIGITALNA PCR KOT REFERENČNA METODA ZA PRIPRAVO INTERNIH KONTROL IN OSNOVA TESTOV USPOSABLJENOSTI LABORATORIJEV

Tanja Dreo, Manca Pirc, Maja Ravnikar

Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelke za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana, Slovenija
tanja.dreo@nib.si

Laboratorijska diagnostika je sestavni del obvladovanja bolezni ljudi, živali in rastlin. Molekularne metode predstavljajo pomemben del ali celo edini zanesljivi način zaznavanja škodljivih organizmov. Glavna izziva s katerima se srečujemo na področju diagnostike povzročiteljev bolezni rastlin sta (i) pomanjkanje certificiranih (ali drugih) referenčnih materialov z določenimi koncentracijami tarčnih organizmov ter (ii) širok nabor matrik, ki jih analiziramo. Za določanje karantenske bakterije *Xylella fastidiosa* tako redno analiziramo več kot 40 različnih rodov gostiteljskih rastlin. Za zagotavljanje zanesljivosti testiranja je v takšnih primerih nujna priprava natančno karakteriziranih kontrolnih materialov in poenotenje diagnostičnih pristopov. To nam omogoča digitalna PCR, varianta PCR v realnem času, ki sloni na razdelitvi reakcije na večje število manjših reakcij in omogoča absolutno kvantifikacijo tarčnih nukleinskih kislin. S pomočjo digitalne PCR lahko natančno določimo število kopij tarčne DNA v vzorcih ne glede na to ali gre za škodljivi organizem, ki ga lahko gojimo na gojiščih ali za organizem ali virus, ki ga lahko vzdržujemo le v gostiteljskih rastlinah. Kontrolne material uporabljamo za redno preverjanje postopkov in kot testne vzorce v mednarodnih testih preverjanja usposobljenosti. V zadnjih letih smo tako v skladu z mednarodnimi standardi organizirali teste preverjanja usposobljenosti za karantenske bakterije *Erwinia amylovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Xylella fastidiosa*, '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' ter fitoplazme vinske trte. V testih, ki so najobširnejši takšni testi na voljo na področju varstva rastlin, je do sedaj sodelovalo več kot 30 držav s 3 različnih celin. V prispevku bomo predstavili prednosti digitalne PCR kot referenčne metode in metode za analizo zahtevnejših, kritičnih vzorcev.

Ključne besede: digitalna PCR; kontrolni materiali; referenčne metode

ČASOVNO-PROSTORSKA DINAMIKA PROCESOV RAZGRADNJE NA POPLAVNI RAVNICI REKE SOČE OCENJENA Z MERITVAMI AKTIVNOSTI MIKROBNIH ZDRUŽB

Nataša Mori¹, Pascal Bodmer², Anton Brancelj^{1,3}, Christopher T. Robinson^{2,4},
Michael Doering^{2,5}

¹Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²EAWAG, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology,
Ueberlandstrasse 133, 8600 Dübendorf;

³Univerza v Novi Gorici, Vipavska 13, 5000 Nova Gorica;

⁴ETH Zürich, Institute of Integrative Biology, Universitätstrasse 16, 8092 Zürich;

⁵Institute of Natural Resources Sciences, ZHAW, Zürich University of Applied Sciences,
Grüental, 8820 Wädenswil
natasa.mori@nib.si

Poplavne ravnice so kompleksen mozaik različnih habitatov, od trajno omočenih vodnih habitatov, do redno ali občasno poplavljenih kopenskih območij, kjer potekajo raznoliki procesi produkcije in razgradnje. Meritve aktivnosti mikrobnih zunajceličnih encimov v tleh in sedimentih lahko podajo pomembne informacije o intenziteti in vrstah procesov, ki potekajo na teh ekološko pomembnih območjih. V prispevku predstavljamo delne rezultate celovite ekosistemske raziskave na poplavni ravnici reke Soče pri Bovcu, kjer smo, med drugim, s pomočjo merjenja aktivnosti zunajceličnih encimov v tleh in sedimentih preučili časovno in prostorsko dinamiko mikrobnih procesov. Na poplavni ravnici smo si izbrali 5 različnih habitatov (trajno omočena rečna struga, občasno poplavljen prodišča, rečni otoki, poplavni gozd, travniki). Vzorčili smo leta 2010, v treh sezonah (pomlad, poletje, jesen). Vsakemu vzorcu smo določili strukturo, vsebnost vode in organskega ogljika ter izmerili aktivnost osmih zunajceličnih encimov, ki so ključni pri pretvorbah ogljikovih, dušikovih in fosforjevih spojin. Aktivnost encimov smo merili tako, da smo homogeniziranim vzorcem dodali z metilumbeliferonon (MUF) označene substrate ter s čitalcem mikrotitrskih plošč (Tecan Infinite® 200) merili fluorescenco. Izmerjene aktivnosti smo izrazili v enoti $\text{nmol substrata h}^{-1} \text{g}_{\text{suha teža}}^{-1}$. Rezultati meritev so pokazali največje aktivnosti večine encimov v vzorcih z rečnih otokov, ki so poraščeni z drevesno in grmovno vegetacijo, imajo fino zrnata, vlažna in bogata tla z organskim ogljikom in so pogosto poplavljeni. Esteraze so bili encimi, ki so bili najbolj aktivni v vseh vzorcih iz vseh preučevanih habitatov. Fosfataze, β -glukozidaze in leucin-aminopeptidaze so bile izrazito bolj aktivne v vzorcih iz pretežno kopenskih habitatov (travniki, poplavni gozd, rečni otoki). Ugotovili smo, da strukturne značilnosti posameznih habitatov, kot je vegetacijski pokrov, struktura tal oziroma sedimentov, vsebnost vode, organskega materiala in hranil določajo vrsto in intenziteto mikrobnih procesov.

Ključne besede: zunajcelični encimi; razgradnja; poplavne ravnice

VLOGA NARAVNO PRISOTNE MIKROBIOTE JABOLČNEGA VINA SEVERNE SLOVENIJE

Neža Čadež¹, Neža Mandl¹, Viktorija Jovanova¹, Urška Vrhovnik¹, Tjaša Jug²,
Mojca Ogrizovič³, Uroš Petrovič^{1,3}, Tatjana Košmerl¹

¹Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana;

²Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Pri hrastu 18, 5000 Nova Gorica;

³Institut "Jožef Stefan", Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana

neza.cadez@bf.uni-lj.si

Tradicionalni fermentirani izdelki ponovno pridobivajo na nekdanjem pomenu, čeprav je danes njihova priljubljenost podkovaná z drugačnim razlogom kot nekdanj. Poleg zdravstvenih trditev, potrošnika privlači njihova kompleksnost okusov, ki je rezultat mikrobnega metabolizma. Pomisleki glede prehranske varnosti naravnih fermentiranih proizvodov so pomembni dejavniki za njihovo omejeno uporabo. Tradicionalno, naravno fermentirano jabolčno vino pridelujejo iz starih sort jablan z uporabo lesene predelovalne opreme na razpršenih gorskih kmetijah Koroške regije. Z uporabo različnih izolacijskih gojišč smo iz enajstih vzorcev jabolčnih vin, nastalih s spontano fermentacijo, izolirali bakterije in kvasovke ter določili njihove relativne številčnosti. Skupno smo iz jabolčnih vin identificirali 814 izolatov enaintridesetih vrst bakterij in kvasovk in določili njihov vpliv na kakovost vin glede na standardne kemijske parametre, prisotnost hlapnih fenolov in biogenih aminov. Kemijske razlike med jabolčnimi vini so bile predvsem posledica prisotnosti različnih mikrobnih združb, in ne posameznih vrst ali njihove relativne številčnosti. V kakovostnih končnih proizvodih je prevladovala *Kregervanrija fluxuum*, vrsta ki jo sicer večinoma izoliramo iz drevesnih sokov, zato smo preučili njeno vlogo v mešanih fermentacijah jabolčnega vina. Izmed vrst rodu *Saccharomyces*, so bile v jabolčnih vini prisotni genetsko in fenotipsko raznoliki sevi vrste *S. uvarum* in *S. kudriazevii*, vrsti ki v hladnih okoljih na koncu fermentacije prevzamejo glavno vlogo skupaj z vrsto *Dekkera anomala* in/ali *D. bruxellensis*. Predstavili bomo tudi korelacijo med genotipom določenim na podlagi mikrosatelitov in wgSNP ter fenotipom, ki je posledica udomačitve.

MEHANSKE MEDCELIČNE POVEZAVE V RAZREDČENIH BAKTERIJSKIH KULTURAH

Iztok Dogša¹, Simon Sretenovič¹, Biljana Stojković², Rok Kostanjšek¹,
Igor Poberaj^{3,4}, David Stopar¹

¹Biotehniška fakulteta, Katedra za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;
²Medicinska fakulteta Medical Faculty, Inštitut za biofiziko, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana;
³Fakulteta za matematiko in fiziko, Jadranska ulica 19, 1000 Ljubljana;
⁴Aresis Ltd., Ulica Franca Mlakarja 1a, 1000 Ljubljana
iztok.dogsa@bf.uni-lj.si

Zreli biofilmski pelikli *Bacillus subtilis* sodijo med dobro preučene bakterijske biofilme. Celice v biofilmu povezujejo zunajcelične polimerne snovi (EPS), ki dajejo biofilmu močan viskoelastični značaj. Po drugi strani se na področju mikrobiologije predpostavlja, da bakterije v razredčenih bakterijskih kulturah niso mehansko povezane, saj v zgodnji eksponentni fazi zunajcelična polimerna mreža še ni razvita. Cilj naše raziskave je bil ugotoviti ali ta domneva dejansko drži. Hipoteza je bila, da se prehod med planktonsko fazo in fazo rasti, kjer so celice medsebojno mehansko povezane, zgodi zgodaj v eksponentni fazi rasti. Predvidevali smo, da zaradi zelo krhkih, skoraj nevidnih povezav takega pojava še niso odkrili.

B. subtilis smo gojili v gojišču bogatem s saharozo. Mehansko sklopitev med celicami v zgodnji eksponentni fazi rasti smo določali z optično pinceto. To je izredno občutljiva metoda, ki lahko zazna že zelo šibke medcelične povezave. Testirali smo tudi mutanto seva *B. subtilis*, ki ne more sintetizirati polisaharida Eps(A-O) ter ovrednotili izražanje dotičnih genov s pomočjo kvantitativne fluorescenčne mikroskopije. Zunajcelični matriks smo opazovali s SEM in TEM. Rezultati pridobljeni z optično pinceto kažejo, da obstaja medcelična mehanska sklopitev že v zgodnjih rastnih fazah. Efektivna razdalja mehanske povezave je bila med 25 in 40 μm ter je s časom naraščala. Zunajcelični matriks iz zgodnje eksponentne faze rasti kaže viskoelastične lastnosti, kar je sicer tipično za polimerne mreže v biofilmih. Opažena mreža se je pojavila precej pred znatnim izražanjem glavnega *eps* operona pri *B. subtilis* in skladno s tem *eps* mutanta ni imela velikega vpliva na mehansko sklopitev celic. SEM in TEM mikroskopiji sta potrdili prisotnost zunajceličnega materiala v razredčenih bakterijskih kulturah.

Naša raziskava je pokazala, da v stresanih bakterijskih kulturah obstajajo mehanske medcelične povezave že v zelo zgodnji rastni fazi, kjer se je do zdaj domnevalo, da se bakterijske celice nahajajo zgolj v planktonski obliki. Omenjeno odkritje bo pomembno vplivalo na razumevanje mikrobioloških dogajanj v razredčenih bakterijskih kulturah.

Ključne besede: biofilmi; optična pinceta; *B. subtilis*

VPLIV SORODNOSTI NA SOCIALNE INTERAKCIJE IN TERITORIALNOST SEVOV *BACILLUS SUBTILIS* V BIOFILMIH

Barbara Jerič Kokelj, Maja Bolješić, Tjaša Stošicki, Iztok Dogša,
Barbara Kraigher, Ines Mandić Mulec

Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, 1000 Ljubljana
ines.mandicmulec@bf.uni-lj.si

V naravnih okoljih so mikroorganizmi obkroženi s sevi in vrstami, s katerimi tekmujejo za omejene vire hranil in prostor. Zelo slabo poznamo mehanizme, ki pripeljejo do sobivanja sorodnikov oziroma prevlade enega seva nad drugim. Med potencialnimi mehanizmi, ki lahko vplivajo na sobivanje in socialne odnose sevov, je lahko tudi sorodstvena diskriminacija (SD). SD je diferencialno vedenje bakterij iste vrste do genetsko enakih ali visoko sorodnih populacij v primerjavi s tistimi, ki so manj sorodne. Glede na teorijo sorodstvene selekcije bi naj slednji pokazali višjo stopnjo negativnih socialnih interakcij v primerjavi z visoko sorodnimi in klonalnimi populacijami.

Raziskovali smo kompetitivne interakcije v biofilmu med sevi *Bacillus subtilis*, izoliranimi iz talnega mikrookolja s poznano stopnjo sorodnosti. Raziskava je zahtevala pripravo rekombinantnih sevov s fluorescenčnimi označevalci in vstavljenimi geni za odpornost na antibiotike, kar nam je omogočilo, da smo lahko ovrednotili število celic in prostorsko razporejenost sevov v biofilmih, sestavljenih iz dveh enakih (self) oz. bolj (kin) ali manj (non-kin) sorodnih sevov *B. subtilis*. Ugotovili smo, da biofilmi, sestavljeni iz bolj ali manj sorodnih sevov, enako izkoristijo nosilnost okolja, saj so imeli tudi mešani biofilmi primerljivo maksimalno število celic ob končni točki gojenja. S konfokalno mikroskopijo smo pokazali, da se mešanje med celicami povečuje s sorodnostjo in da bolj sorodni tvorijo manjše skupke v primerjavi z manj sorodnimi sevi, ki kažejo izrazito segregacijo v ločene zaplate v biofilmu. Poleg tega so bile razlike v fitnesu dveh sevov izrazitejše v biofilmih iz dveh manj sorodnih sevov v primerjavi s tistimi, ki so bili sestavljeni iz visoko sorodnih sevov, kar kaže na intenzivnejšo kompeticijo in večjo verjetnost za prevlado enega. Tako smo prvič pokazali, da sorodstvena diskriminacija pomembno vpliva na teritorialnost in fitnes sevov v biofilmih.

Ključne besede: sorodstvena diskriminacija bakterij; biofilmi *Bacillus subtilis*; kompeticija

IZ POMIVALNEGA STROJA V KUHINJO – PA TUDI NAZAJ?

Jerneja Zupančič, Monika Novak Babič, Polona Zalar, Nina Gunde-Cimerman

Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

jerneja.zupancic@bf.uni-lj.si

monika.novakbabic@bf.uni-lj.si

polona.zalar@bf.uni-lj.si

nina.gunde-cimerman@bf.uni-lj.si

V vsakem gospodinjstvu priprava in poraba hrane povzročata nastajanje umazane posode, ki jo očistimo ročno ali jo operemo v pomivalnem stroju. Čeprav so pomivalni stroji razširjeni po celem svetu in so geografsko oddaljeni, so pogoji v pomivalnih strojih podobni. Veljajo za skrajno neugodne za preživetje večine mikroorganizmov. Raziskave zadnjih let so pokazale, da so se na to ekstremno okolje, kjer prihaja do selekcije in obogatitve na stres tolerantnih mikroorganizmov, dobro prilagodile oportuno patogene črne kvasovke iz rodu *Exophiala*. Še posebej je problematična vrsta *Exophiala dermatitidis*, ki lahko povzroča okužbe možganov pri imunsko oslabljenih osebah, poznana je kot glavni povzročitelj razširjenih nevtropnih okužb, večinoma v vzhodni Aziji. Povzroča tudi podkožne okužbe ter je tretja najbolj pogosta gliva izolirana iz sputuma bolnikov s cistično fibrozo. Sposobna je razgrajevati aromatske ogljikovodike, uspešno kljubuje visokim temperaturam, hitrim spremembam pH, prisotnosti soli in detergentov. Do neke mere te poliekstremofilne lastnosti pojasnjujejo njeno prevlado v pomivalnih strojih po svetu ter tudi relativno pogostost pojavljanja v kopalnicah, savnah in parnih kopelih. Glede na to, da v strojih prihaja do obogatitve te vrste in tudi drugih oportuno patogenih gliv je pomembno vedeti ali se te glive iz zaprtega sistema pomivalnih strojev sproščajo tudi v domače kuhinjsko okolje. Sestava glivne združbe se razlikuje med kuhinjami, ki imajo pomivalne stroje in kuhinjami, ki pomivalnih strojev nimajo. V kuhinjah s pomivalnimi stroji so na kuhinjskih površinah v večji meri prisotne črne kvasovke rodu *Exophiala*, dočim v kuhinjah, ki pomivalnih strojev nimajo, pa prevladuje bela kvasovka vrste *Candida parapsilosis*. Črne kvasovke so predvsem razširjene na odcejalnikih posode, kuhinjskih odtokih, kuhinjskem koritu, tesnilih na odtokih ter kuhinjskih pultih. *C. parapsilosis*, ki je splošno razširjena v človekovih bivališčih, je tudi porajajoči oportunistični patogen, ki kolonizira človeške dlani. Njena patogeneza je v večini povezana s poškodbo povrhnjice. Na kuhinjskih površinah jo najdemo predvsem v kuhinjskem odtoku in na koritu, odcejalniku posode ter na kuhinjskem pultu.

Ključne besede: pomivalni stroji; kuhinje; ekstremofilne glive

IZBOLJŠANJE PROIZVODNJE METANA IZ MIKROALGNE MEŠANICE Z RAZLIČNIMI POSTOPKI PREDOBDELAVE IN BIOAUGMENTACIJE V MEZOFILNEM TER TERMOFILNEM PROCESU

Beti Vidmar, Romana Marinšek Logar, Nadja Gorinšek, Lijana Fanedl

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko,
Katedra za mikrobiologijo in mikrobno biotehnologijo, Groblje 3, 1230 Domžale
lijana.fanedl@bf.uni-lj.si

Iskanje novih obnovljivih virov energije je vse bolj aktualno področje, na katerem ima velik potencial odpadna biomasa. V zadnjem času se pozornost preusmerja tudi na druge vire, na primer mikroalge, ki so lahko odlični substrati za proizvodnjo bioplina, vendar je učinkovitost proizvodnje bioplina pogosto omejena zaradi njihovih težko razgradljivih celičnih sten. Razgradnjo celičnih sten lahko pospešimo z različnimi postopki predobdelav mikroalgne biomase ali z bioaugmentacijo.

V tem delu smo kot substrat za proizvodnjo bioplina preizkusili v anaerobnem digestatu namnoženo mikroalžno mešanico. Za pospešitev začetne stopnje razgradnje mikroalg smo uporabili termični in biološki način predobdelave s hidrolitskimi bakterijami *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* Mz5^T ali *Clostridium thermocellum* ter bioaugmentacijo s celulolitično bakterijo *C. thermocellum* v termofilnem območju.

Pri termični predobdelavi smo mikroalge inkubirali 3 ure pri 90 °C. Pri biološkem načinu predobdelave smo v prvem poskusu mikroalge inkubirali s ksilanolitično bakterijo *P. xylanivorans* Mz5^T. Preizkusili smo tudi kombinirano termično in biološko predobdelavo, kjer smo mikroalge po termični obdelavi inkubirali s *P. xylanivorans* Mz5^T. Proizvodnjo bioplina iz tako predobdelanih mikroalg smo preverili s testom biometanskega potenciala v mezofilnih in v termofilnih pogojih. Za učinkovitejši postopek se je izkazala termična predobdelava mikroalg v mezofilnem procesu, ki je povečala proizvodnjo metana za 21 %. Biološka predobdelava mikroalg je samo v termofilnem bioplinskem procesu povečala proizvodnjo metana za 13 %. Termično-biološka predobdelava mikroalg je v termofilnem procesu povečala proizvodnjo metana do največ 12 %, v mezofilnem pa za 6 %.

V drugem poskusu smo za pospešitev hidrolize mikroalg uporabili biološki način predobdelave in bioaugmentacijo s celulolitično termofilno bakterijo *C. thermocellum*. V primeru bioaugmentacije smo testnim mešanici z mikroalgami dodali *C. thermocellum* enkrat (10%, v/v) in v treh zaporednih odmerkih na dan 0, 3 in 6. Biološka predobdelava mikroalg v tem poskusu ni imela vpliva na proizvodnjo metana. Bioaugmentacija s *C. thermocellum* je povečala proizvodnjo metana za 20 %, pri čemer je trikratno zaporedno dodajanje bakterije najbolj pospešilo proizvodnjo metana (za 52 %) v primerjavi z neobdelanimi mikroalgami.

Rezultati kažejo, da je bioaugmentacija s *C. thermocellum* izboljšala proizvodnjo metana in predstavlja poleg termične predobdelave mikroalg v mezofilnem procesu zelo učinkovit način pospešitve razgradnje celičnih sten mikroalg.

Ključne besede: mikroalge; bioplin; *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* Mz5^T; *Clostridium thermocellum*

VPLIV POKRITOSTI POVRŠINE Z BIOFILMI NA UČINKOVITOST DELOVANJA PROTIMIKROBNIH SREDSTEV

Sara Baš¹, Mateja Kramer², David Stopar¹

¹Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²Lek d. d., Verovškova ulica 57, 1526 Ljubljana

sara.bas@bf.uni-lj.si

Biofilmi pogosto povzročajo velike probleme v industriji. Pokritost površine z biofilmi kot faktor, ki vpliva na učinkovitost delovanja protimikrobnih sredstev ni dobro poznana. Pri raziskovanju smo se osredotočili na gojenje biofilmov bakterije *E. coli* v različnih gojiščih (različni viri ogljika, minimalno/bogato gojišče) in na različnih površinah (steklo, pleksi, agar). Pripravili smo sistem za gojenje biofilmov, ki omogoča nastanek vertikalnega gradienta pokritosti površine z biofilmi in testiranje učinkovitosti delovanja protimikrobnih sredstev v odvisnosti od pokritosti površine z biofilmi. Rezultati so pokazali, da je učinkovitost delovanja protimikrobnih sredstev obratno sorazmerna s pokritostjo površine z biofilmi. Učinkovitost izbranih protimikrobnih sredstev je bila odvisna od vira ogljika in površine, na kateri je rasel biofilm. Če so bile na površino pritrjene posamezne celice, je bila učinkovitost delovanja protimikrobnih sredstev primerljiva učinkovitosti v planktonski obliki. V biofilmih z večjo pokritostjo površine so protimikrobna sredstva slabo učinkovala. S časom tretiranja se je učinkovitost povečala, vendar je ostala nezadovoljiva. Kombiniran učinek oksidativnega protimikrobnega sredstva in površinsko aktivne snovi izboljša učinkovanje protimikrobnega sredstva. Na učinkovitost delovanja protimikrobnih sredstev vpliva viskoelastičnost biofilma. V bolj viskoelastičnih biofilmih je bila učinkovitost delovanja izbranega protimikrobnega sredstva manjša. Rezultati kažejo, da pokritost površine signifikantno anti-korelira z učinkovitostjo delovanja protimikrobnega sredstva.

Ključne besede: biofilmi; *Escherichia coli*; protimikrobna sredstva

NOVE NE-KEMIČNE METODE ZA ELIMINACIJO VIRUSOV

Arijana Filipić¹, Ion Gutierrez Aguirre¹, David Dobnik¹, Nataša Mehle¹, Gregor Primc²,
Miran Mozetič², Janez Kosel³, Matevž Dular³, Maja Ravnikar¹, Jana Žel¹

¹Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²Institut "Jožef Stefan", Jamova 39, 1000 Ljubljana;

³Fakulteta za strojništvo, Aškerčeva cesta 6, 1000 Ljubljana
arijana.filipic@nib.si

Virusi so lahko prisotni v različnih vodah s katerimi se tudi prenašajo ter pri stiku z gostiteljem (človek, žival, rastlina) povzročajo okužbe. Zaradi konstantnega stika človeka z vodo in namakanja kmetijsko pomembnih rastlin je izjemno pomemben razvoj novih metod, ki učinkovito, ekonomično in na okolju prijazen način eliminirajo viruse v vodah. V naših študijah smo preučevali delovanje dveh ne-kemičnih tehnik za eliminacijo virusov.

V prvem sklopu smo želeli preveriti vpliv hidrodinamske kavitacije na infektivnost surogata norovirusa, bakteriofaga MS2. Za potrebe študije smo naredili dva kavitacijska reaktorja različnih volumnov - 3mL in 1L. Oba reaktorja sta producirala učinkovito hidrodinamsko kavitacijo in sta pri visokih in nizkih začetnih virusnih titrih zmanjšala živost MS2 za > 4 logaritme (po US-EPA je to zadovoljiva vrednost za čistilce vod). To je prvi dokaz uspešne inaktivacije virusov v vodah z hidrodinamsko kavitacijo. Razviti 3mL reaktor bo omogočil preučevanje vpliva kavitacije tudi na druge viruse iz vod, katerih namnoževanje je, za razliko od MS2, zelo težavno.

V drugem sklopu smo za inaktivacijo virusa Y krompirja uporabili hladno atmosfersko plazmo (HAP). Vzorce 10 ml vodne raztopine s hranilnimi elementi in z dodanim virusom smo za različna časovna obdobja izpostavili delovanju HAP. Z molekularnimi testi smo v vzorcih po krajših obdelavah s HAP še zaznali virusno RNA, medtem ko le-te nismo zaznali v vzorcih po triurni obdelavi s HAP. V testnih rastlinah, ki smo jih mehansko okužili z vzorci po obdelavi s HAP, pa se tudi pri krajših časih obdelave virus ni namnožil. S tem smo pokazali da s HAP lahko uspešno inaktiviramo virus Y krompirja v vodah.

Ključne besede: virusi; hidrodinamska kavitacija; hladna atmosferska plazma

PROUČEVANJE POTENCIALA BIOTSKE RAZNOVRSTNOSTI KVASOVK ZA RAZVOJ ALTERNATIVNIH BIOFUNGICIDOV V VINOGRADNIŠTVU

Melita Sternad Lemut¹, Adesida Rowland¹, Ajda Lemut², Urban Česnik¹,
Lorena Butinar¹

¹Univerza v Novi Gorici, Center za raziskave vina, Vipavska 13, 5000 Nova Gorica;

²Srednja šola Venon Ajdovščina, Cesta 5. maja 12, 5270 Ajdovščina

lorena.butinar@ung.si

Kljub naraščajoči skrbi glede zdravja ljudi in onesnaževanja okolja na račun množične uporabe sintetičnih fungicidov, se le-ti še vedno prednostno uporabljajo za zaščito rastlin pred glivičnimi obolenji. Vendar se hkrati vedno več raziskav usmerja v iskanje možnih alternativ v obliki uporabe bioloških kontrolnih agensov. Čeprav obstajajo poročila o biokontrolni aktivnosti kvasovk, jih je v ta namen zelo malo komercializiranih. Ker pa kvasovke predstavljajo pomemben del mikroflore grozdja in tekmujejo z ostalimi mikroorganizmi, tudi patogenimi, za hranila in prostor, smo se v okviru naše raziskave odločili preučiti potencial avtohtone vinske kvasovke kot "zelene" alternative v boju proti fitopatogenom kot je *Botrytis cinerea* v vinogradništvu. S tem namenom smo testirali biokontrolno aktivnost različnih sevov/ vrst avtohtonih vinskih kvasovk, ki so bile izolirane iz vinogradniškega okolja v Sloveniji in čezmejni Italiji. Kvasovke smo testirali na prisotnost sideroforov, hidrolitičnih encimov (hitinaz, β -glukozidaz in β -glukanaz) in občutljivost na fungicide (baker, iprodion, ciprodinil + fludioksonil kombinacijo). Izvedli smo tudi teste inhibicije rasti fitopatogene glive ob prisotnosti antagonistične kvasovke. S testom dvojnih petrijevok smo preverili inhibicijo kalitve konidijev glive zaradi tvorbe protiglavnih hlapnih organskih spojin (HOS) s strani antagonistične kvasovke. Pri mnogih vinskih kvasovkah smo potrdili prisotnost hidrolitičnih encimov in sicer predvsem pri sevih vrste *Hanseniaspora uvarum* in *Metschnikowia pulcherrima* ter nekaterih sevih iz rodu *Pichia*. Z uporabo gojišča na osnovi naravnega razredčena grozdnega soka v testu dvojnih petrijevok smo ugotovili, da so bile kvasovke vrst *Debaryomyces hansenii*, *Lachancea thermotolerans*, *P. kudriavzevii*, *Saccharomyces kudriavzevii*, *S. cerevisiae* in *Torulaspota delbrueckii* sposobne inhibirati kalitev konidijev glive na račun tvorbe HOS. Nobena od testiranih kvasovk ni tvorila sideroforov. Ker so bile obravnavane kvasovke v splošnem odporne tudi na testirane koncentracije fungicidov, bi jih kot potencialne biofungicide lahko uporabljali v kombinaciji s kemičnimi fungicidi in preverjenimi trajnostno naravnanimi vinogradniškimi tehnikami in sicer pri strategijah zaščite rastlin z zmanjšanim vnosom fitofarmaceutskih sredstev.

Ključne besede: kvasovke; biokontrola; vinogradništvo

EMERGING MOSQUITO-BORNE VIRAL INFECTIONS IN CROATIAN TRAVELERS

Tatjana Vilibić-Čavlek^{1,2*}, Irena Tabain¹, Vladimir Savić³, Ljiljana Betica-Radić⁴,
Nenad Pandak⁵, Božana Miklaušić⁵, Andrea Babić-Erceg¹, Ljubo Barbić⁶, Boris Lukšić⁷,
Svjetlana Karabuva⁷, Vladimir Stevanović⁶, Pavle Jeličić¹, Nataša Bauk¹, Bernard Kaić¹

¹Croatian National Institute of Public Health, Zagreb, Croatia;

²School of Medicine University of Zagreb, Zagreb, Croatia;

³Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia;

⁴General Hospital Dubrovnik, Dubrovnik, Croatia;

⁵General Hospital "Dr Josip Benčević", Slavonski Brod, Croatia;

⁶Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Zagreb, Croatia;

⁷Clinical Hospital Centre Split, Split, Croatia

tatjana.vilibic-cavlek@hzjz.hr

In recent decades, the number of both imported and autochthonous emerging viral diseases has increased in European countries. We analyzed the frequency of mosquito-borne arboviral infections in Croatian travelers returning from endemic areas. From January 2016 to June 2017, a total of 78 persons with a travel history were tested for the presence of antibodies to the most common mosquito-borne viruses: dengue (DENV), chikungunya (CHIKV), Zika (ZIKV), West Nile (WNV) and Usutu virus (USUV). Serological tests were performed using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay and/or indirect immunofluorescence assay (Euroimmun, Lübeck, Germany). In the tested group, there were 44 (56.4%) males and 34 (43.6%) females. The most common travel destinations were South America (Brazil), Central America (Mexico, Cuba, Costa Rica) and Southeast Asia (Thailand). The reason of travel was tourism (58/74.3%), participation at the Olympics/Paraolympics Rio 2016 (13/16.7%) and business (7/9.0%). The mean duration of travel was 28.3 (range 7-90) days. Forty (51.3%) participants reported regular or occasional repellents use and 42 (53.8%) reported mosquito bites. The main clinical symptoms among 24 patients with clinically manifest disease were fever (24/100%), myalgia (10/41.6%), arthralgia (10/41.6%), rash (7/29.2%), and conjunctivitis (3/12.5%). Fifty-four asymptomatic persons were tested because of pregnancy, planning pregnancy or medically assisted reproduction. Recent arboviral infection was documented by detection of IgM and IgG antibodies in six patients. ZIKV infection was detected in three patients (imported from Brazil, Mexico and Maldivi), CHIKV infection in one patient (imported from Costa Rica) and DENV infection in two patients (imported from Maldivi and India). Since *Ae. albopictus* is present in Croatia, imported emerging arboviral infections may have important public health consequences. Public health measures should be regularly performed, particularly in areas with established *Ae. albopictus* population.

Keywords: emerging arboviruses; travelers; Croatia

VIROLOGICAL SURVEILLANCE OF INFLUENZA LIKE ILLNESS IN SLOVENIA

Katarina Prosenc Trilar, Nataša Berginc

National Laboratory for Health Environment and Food Slovenia, Centre for Medical Microbiology,
Laboratory for Public Health Virology
katarina.prosenc@nlzoh.si

Influenza contributes significantly to morbidity and mortality during the winter season. It is associated with increased general practice consultation rate, hospital admissions and excess death. Information about when and what type, subtype and strain of influenza circulates is crucial for public health measures: closure of hospitals and care institutions for visitors, preparedness for enhanced workload and space needs in health institutions, pharmaceutical interventions, different strains detection.

In Slovenia in season 1999/2000 the influenza surveillance system was established. It consists of three segments: 50 general practitioners that collect respiratory specimens from influenza like illness (ILI) patients and 2 general hospitals collecting ILI specimens, all tested in National Influenza Centre (NIC). Third segment are data from 7 laboratories testing specimens from other hospitals in the country and report data to NIC. Influenza detections are done by RT-rt-PCR. Genetic and antigenic characterisations are performed in NIC by sequencing and virus isolation-hemagglutination inhibition.

Number of tested respiratory specimens rose from less than 100 to 4051 in the pandemic season (2008/09) in NIC, with current average around 3000/season. It was established that influenza season begins when weekly positivity rate reach 10% in specimens from primary care physician, and 15% in specimens from hospitals. The start and duration of season differs from European countries in one third of the seasons. Regarding shares of circulating types (A and B) and subtypes (H1N1pdm09, H3N2, Victoria, Yamagata) of influenza in Slovenia, important differences were observed in half of the seasons in comparison with European average. Detected strains of influenza were similar to viruses found in other European countries.

For Slovenia no significant deviation from European countries would be expected in circulation of influenza viruses, but our analyses show that differences in shares of circulating influenza viruses are substantial and not exceptional. This fact supports the need for a good surveillance on the local level to be able to conduct appropriate measures.

Keywords: influenza; surveillance; Slovenia

A SUBSET OF HOST miRNAs IS UPREGULATED DURING HERPES SIMPLEX VIRUS 1 INFECTION

Andreja Zubković¹, Maja Badurina¹, Ivana Ratkaj¹, Michael Hackenberg², Igor Jurak¹

¹Department of Biotechnology, University of Rijeka;

²Genetics Department & Biotechnology Institute, Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada
azubkovic@uniri.hr

Many viruses alter the expression of specific host microRNAs (miRNAs) to facilitate their replication or establish and maintain latency. Herpes simplex virus 1 (HSV-1) encodes a large number of miRNAs and it has been shown to impact host miRNA expression during productive infection. We sequenced small-RNAs from the productively infected HFFs at different times after infection and observed changes in expression levels for many miRNAs, however levels of only a few were changed for more than 3x; and among these were three miRNAs expressed from a single cluster, miR-183/96/182. In addition, we analysed the expression levels of eight cellular miRNAs, previously reported deregulated in HSV-1 infection or found in our screen, in three cell lines (human embryonic kidney cells HEK293, neuroblastoma cells SH-SY5Y, human fibroblasts WI38) and two primary cells (human foreskin fibroblasts HFFs and mouse bone marrow derived macrophages BMDM) at different time points after infection. Surprisingly, we only detected a significant change of miR-182, miR-96 and miR-183 in fibroblasts (WI38 and HFFs; ~10x). Our preliminary results show that the upregulated cellular miRNAs, as well as HSV-1 expressed miRNAs, are loaded successfully onto RISC complex, which might indicate their function. Indeed, we observed decreased protein levels for several predicted targets of miR-182, miR-96 and miR-183, among which is forkhead box O1 (FOXO1), which coincides with the increased expression of these miRNA. However, using CripR/Cas9 technology we were able to show that members of the FoxO protein family are required for the efficient virus replication.

Keywords: HSV-1; host microRNA; microRNA targets



15 YEARS OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MEASLES VIRUS IN CROATIA

Jelena Ivančić Jelečki^{1,2}, Dubravko Forčić^{1,2}, Maja Šantak^{1,2}, Tatjana Vilibić-Čavlek^{3,4},
Bernard Kaić³, Sunčanica Ljubin Sternak^{4,5}, Goran Tešović⁶

¹University of Zagreb, Centre for Research and Knowledge Transfer in Biotechnology,
Rockefellerova 10, 10000 Zagreb, Croatia;

²Center of Excellence for Viral Immunology and Vaccines, CERVirVac;

³Croatian National Institute of Public Health, Rockefellerova 12, 10000 Zagreb, Croatia;

⁴School of Medicine University of Zagreb, Šalata 3, 10000 Zagreb, Croatia;

⁵”Andrija Štampar” Teaching Institute of Public Health, Mirogojska 16, 10000 Zagreb, Croatia;

⁶University Hospital for Infectious Diseases “Dr. Fran Mihaljević”, Mirogojska 8, 10000 Zagreb, Croatia
jivancic@unizg.hr

Measles is a highly contagious systemic viral disease transmitted by respiratory secretions. It is characterized by fever, coryza, cough and conjunctivitis, followed by a generalized maculopapular rash and transient immune deficiency. Complications of measles infection related to respiratory tract and central nervous system occur relatively frequently. One of the most serious consequences of measles infection is the onset of invariably fatal subacute sclerosing panencephalitis (SSPE), which develops years after recovery from primary illness. Among the vaccine-preventable diseases, measles is one of the most common causes of death in children under the age of 5.

In Croatia, measles vaccination was introduced in the national childhood vaccination schedule in 1968 and was replaced by the combined measles, mumps and rubella (MMR) vaccine in 1976. Vaccine coverage rates for the first MMR dose are more than 94% since 2004. In the last two decades, usually less than 10 measles cases have been reported annually, with the exception of three import-related outbreaks (2003-2004, 2008 and 2014-2015).

Genetic characterization of wild type and SSPE strains detected in Croatia is being performed since 2003. In-house RT-PCR methods for amplification and sequencing of complete measles genomes have been established; genotyping based on N450 (450 nucleotides encoding for the last 150 amino acids of the N protein) is performed. In the period 2003-2017, 6 wild type and 3 SSPE strains have been detected, isolated and sequenced. Similar to contemporaneous epidemiological data from other European countries, strains detected in Croatia belong to genotypes D4, B3 and D8. Genetic characterization of the genuine Edmonston-Zagreb vaccine was also done.

Sequencing of longer genomic regions lead to identification of different deviations from canonical measles virus genomic organisation, observed in few Croatian strains. Various indels, with or without the change of total genome length were detected, demonstrating evolutionary changes in viral genome properties.

Keywords: measles virus; molecular epidemiology; genetic characterization

COMMON FEATURES IN LYTIC MYOVIRIDAE AND BACTERIAL EVOLUTION

Tomaž Accetto¹, Nika Janež²

¹University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Animal science department, Groblje 3, 1230 Domžale;

²Centre of Excellence for Biosensors, Instrumentation and Process Control,

Centre for Biotechnology, Tovarniška 26, 5270 Ajdovščina

tomaz.accetto@bf.uni-lj.si

Lateral gene transfer is known to be rampant in bacteriophages resulting in mosaic genomes commonly seen in the temperate representatives. Despite this, clustering of the bacteriophage genomes is frequently seen when using the dot plot whole genome comparison approaches. These are, however, qualitative and there is no widespread agreement as to what the cut-off should be when delineating groups. Here we introduce the average nucleotide identity of shared DNA (ANI), a measure widely accepted in bacterial taxonomy, as a quantitative parameter grouping together closely related *Myoviridae* phages. We observe the discontinuity of ANI values centered at around 85-92 % reminiscent of the one seen in *Bacteria*. ANI and the share of similar DNA are correlated; closely related phage groups (ANI around 95 %) possess more than 80 % of the common DNA. This suggests prominent vertical component in evolution of these bacteriophages. Based on ANI, 191 bacteriophages of the *Enterobacterales* were divided into groups and the clonal frame analysis of core genome was performed for the more populous groups. The findings indicated that the majority of the shared DNA is clonal, yet the recombination, a force capable of homogenizing the closely related bacteriophages, is present. The intra gene recombination was also confirmed by the pairwise homoplasmy index test. The phylogenies of different core genes are generally incongruent among strains of one bacterial species and congruent among different species; that is they are seldom exchanged among different species. We evaluate this using the congruence among distance matrices (CADM) method and show that indeed the core gene phylogenies differ for representatives of closely related groups defined by ANI while they become more congruent when bacteriophages from other groups are added to analysis. The evidence we present suggests that the lytic bacteriophages may evolve in fundamentally different way when compared to their temperate relatives.

Keywords: lytic bacteriophages; bacteriophage evolution



INCREASING THE RISK FOR THE INCURSION OF MOST DANGEROUS VIRUS DISEASES OF ANIMALS IN EUROPE

Ivan Toplak

University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Fourteen of the 15 most dangerous diseases of animals from the former list A have viral etiology. They can quickly spread to a large number of countries, have great economic impact on animal production and can not be eradicated only by using vaccination. In the case of outbreak in the country, the high costs are related to the implementation of measures to prevent further spread, control of disease, sampling and laboratory testing, animal killing and vaccination. The greatest economic losses are because of animal movement restrictions, the ban on international trade and indirectly due to its influence on agriculture sector. For this reason, the primary objective of the EU Member States is early detection of the first cases of disease and the eradication of the disease as quickly as possible.

A decade ago, a number of most dangerous viral diseases were known to be exotic, present only in Africa or Asia, but this perception has changed dramatically in recent years. Certain most dangerous viral diseases are already present in Europe, some other represent a serious threat to be brought into the naïve population of domestic and wild animals of Central Europe in near future and pose a serious threat to the animal breeding economy. Foot and mouth disease is endemic in Turkey and Asia, and there is a constant risk of introduction because European animals are not vaccinated. African swine fever entered into Georgia in 2007 and spread rapidly throughout 2012 to the North and Eastern Europe (Russia, Lithuania, Latvia, Poland, Estonia, Ukraine and Moldova). There is a high probability for further spread of this virus by wild boar pigs towards the western part of Europe. The lumpy skin disease was transmitted from Turkey to Greece in 2015 and then into six new Balkan countries in 2016. The control and eradication of this disease will be very difficult due to the emergence of endemic infected areas. The emergence of bluetongue outbreaks since 2008 in Europe is closely linked to climate change and the spread of vectors, biting midges of the genus *Culicoides*. Despite available vaccines, the control of this disease is difficult, as there are several different bluetongue virus serotypes now circulating in Europe. The outbreaks of avian influenza coincide with movements of migratory birds, and occasionally different strains produce high losses to poultry farms, but some strains can represent also a serious threat for human health. In recent years, *Peste des petits ruminants* virus has rapidly spread to all countries of North Africa and threatens to enter the European sheep and goat population shortly.

The links between global trade, migration, crisis areas, climate change and the spread of certain especial dangerous contagious diseases will be presented. Although European legislation is being drafted and implemented we can expect some changes in the future.

Keywords: most dangerous viral diseases; transmission; epidemiology

NEXT GENERATION SEQUENCING FOR DETECTION AND DISCOVERY OF PLANT VIRUSES AND VIROIDS: COMPARISON OF TWO APPROACHES

Anja Pecman^{1,2}, Denis Kutnjak¹, Ion Gutierrez Aguirre¹, Ian Adams³, Adrian Fox³,
Neil Boonham^{3,4}, Maja Ravnkar¹

¹National Institute of Biology, Department of Biotechnology and Systems Biology,
Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenia;

²Jožef Stefan International Postgraduate School, Jamova 39, 1000 Ljubljana, Slovenia;

³Fera, Sand Hutton, York, UK, 4 IAFRI, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, NE1 7RU, UK
anja.pecman@nib.si

Next generation sequencing (NGS) technologies have rapidly been established as virus detection and discovery methods in laboratories worldwide. Different laboratories use different sequencing platforms and sample preparation approaches. In this research we are presenting the comparison of two RNA inputs (sequencing of small RNA (sRNA) and sequencing of ribosomal RNA (rRNA) depleted total RNA) for detection and identification of several plant viruses, which differ in genome organization, and viroids from both known families, using Illumina sequencing. Those two approaches were chosen, as they seem to be the most generically applicable to viruses with different genome types and replication strategies. The results showed that both approaches can be used for detection and identification of a wide array of known plant viruses/viroids in the tested samples. In general, the detection efficiency was dependent on the viral genome organization and the amount of viral reads in the data. Small RNA sequencing performed better for detection of viroids and viruses with no RNA replicative intermediates (single stranded DNA viruses), however sequencing of rRNA depleted total RNA generally performed better for detection of viruses with single stranded RNA genome organization. Furthermore, a putative new *Cytorhabdovirus*, discovered in this study was only detected by analysing the data generated from rRNA depleted total RNA and not by sRNA dataset, due to the low number and short length of small RNA reads. The obtained results will significantly contribute to the optimization of the NGS technologies for detection of known and identification of new viruses.

Keywords: next generation sequencing; detection; plant viruses/viroids

HIGH MOLECULAR VARIABILITY OF APPLE CHOROTIC LEAF SPOT VIRUS IN APPLES

Mojca Viršček Marn, Irena Mavrič Pleško

Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana
mojcavm@kis.si

Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV) is one of the most widespread viruses of apple. ACLSV infections of pome fruits are frequently latent, but can cause severe yield losses. During a three year survey, 123 trees of different apple varieties and age from 15 locations in Slovenia were sampled and tested for the presence of ACLSV using serological and molecular methods. The presence of this virus was confirmed in 51 samples. Amplicons of 13 samples were directly sequenced. Additionally, 8 PCR products were cloned and sequenced. Sequence identities were calculated using sequence identity matrix algorithm for sequences aligned in BioEdit version 7.2.5. High variability was observed among 459 nucleotides long partial coat protein gene sequences from Slovenia. The lowest identity among Slovenian sequences obtained by direct sequencing was 83%. Even lower identities were found among clones from the same sample collected from the single trees of variety Jonafree (81,3%), Ariwa (82,1%), Goldstar (82,3%) and one of the undetermined variety (81,9%). Clones from the remaining four amplicons had higher sequence identities (88,8%, 92,8%, 98% and 99,1%). Much lower sequence identities were found when all the sequences of the same part of genome available in NCBI GenBank were analysed. The lowest identity for all sequences from apples was 77.7%, and for sequences from all host 62,5%. Our results confirm the high level of ACLSV variability observed before and show for the first time that several very distinct sequences can be found in the same tree. The last fact is very interesting since ACLSV has no known vectors and is not transmitted by pollen or seed therefore the repeating infections of the same tree are probably rather rare. Multiple infections are most probably the consequence of mutations accumulated during long-term vegetative propagation of apple.

Keywords: Apple chlorotic leaf spot virus; variability; sequence

POVZETKI POSTERJEV (Po)



EPIDEMIOLOGIJA INVAZIVNIH PNEVMOKOKNIH OKUŽB V OSREDNJI SLOVENIJI

Vesna Cvitković Špik¹, Bojana Beović², Marko Pokorn², Ana Drole Torkar²,
Darja Vidmar², Lea Papst², Rok Kogoj¹, Katja Seme¹, Manica Mueller Premru¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana;

²Univerzitetna klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2,
1000 Ljubljana
vesna.cvitkovic-spik@mf.uni-lj.si

Streptococcus pneumoniae je eden izmed najpogostejših povzročiteljev v domačem okolju pridobljene pljučnice in invazivnih pnevmokoknih bolezni (IPB). Raziskali smo epidemiologijo IPB v osrednji Sloveniji pri bolnikih z dokazano IPB s klasičnimi in molekularnimi metodami.

V raziskavo je bilo v obdobju med januarjem 2011 in majem 2012 prospektivno vključeno skupno 510 bolnikov (325 otrok in 185 odraslih) s sumom na IPB. Vsem je bila odvzeta kri za hemokulture in istočasno tudi kri za testiranje z rt-PCR ter bris nosnožrelnega prostora (NF). IPB smo dokazali pri 134 (26,3 %) od 510 bolnikov; s pozitivno hemokulturo pri 26 (5,1 %) bolnikih in z našim originalno modificiranim testom rt-PCR za dokazovanje *lytA* gena v krvi pri 125 (24,5 %) bolnikih. Izolate pnevmokokov smo serotipizirali s hkratnim PCR in genotipizirali z metodama rep-PCR in MLST pri 94 od 134 (70,1 %) bolnikov z IPB. Pri 24 bolnikih s pozitivno hemokulturo smo analizirali izolate pnevmokokov iz hemokultur (pri 14 od teh tudi izolate iz brisov NF) in, pri 70 bolnikih z negativno hemokulturo in s pozitivnim rt-PCR v krvi, samo izolate iz brisov NF.

Z metodo hkratni PCR smo uspešno nadomestili dražjo serotipizacijo z Neufeld-Quellungovo reakcijo. Pri otrocih so prevladovali serotipi 14, 9V, 7F, 3, 1, pri odraslih pa serotipi 3, 14, 9V, 4, 7F. Z rep-PCR smo določili prevladujoče genotipe in le te opredelili z MLST: ST162, ST9, ST15, ST191. Od 14 pregledanih bolnikov so vsi razen 2 otrok imeli v krvi isti genotip kot v nosnožrelnem prostoru.

Serotipizacija izolatov pnevmokokov pri bolnikih z IPB je pokazala, da le ti pripadajo serotipom, ki so znani kot najpogostejši povzročitelji IPB in so vključeni v konjugirano 13-valentno pnevmokokno cepivo. Z rep-PCR in MLST smo opredelili prevladujoče klone izolatov pnevmokokov pri bolnikih z IPB in ugotovili, da nekateri med njimi spadajo med svetovno najbolj razširjene invazivne klone.

Ključne besede: *Streptococcus pneumoniae*; dokazovanje v krvi z rt-PCR; serotipi

DIAGNOSTIKA HUDE GNILOBE ČEBELJE ZALEGE V SLOVENIJI

Alenka Žugelj¹, Majda Golob², Marjeta Jarc¹, Vida Lešnik¹, Maja Lepen¹, Irena Zdovc²

¹Nacionalni veterinarski inštitut Enota Maribor – Ptuj, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Šentiljska cesta 109, 2000 Maribor;

²Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Gerbičeva ulica 60, 1000 Ljubljana
alenka.zugelj@vf.uni-lj.si

Huda gniloba čebelje zalege je najpomembnejša bakterijska bolezen čebel. Povzročajo jo po Gramu pozitivna, sporogena bakterija *Paenibacillus larvae* (*P. larvae*). Bolezen je zelo nalezljiva. Širi se z odpornimi spori, ki predstavljajo vir okužbe. V veliko državah, tudi v Sloveniji, je bolezen potrebno prijaviti po zakonu. Zatiranje vključuje neškodljivo uničenje obolelih čebeljih družin, starih kontaminiranih panjev in čebelarne opreme, ki je ni mogoče razkužiti. Okužba že stoletja ostaja nerešljiv problem v čebelarstvu po vsem svetu.

Diagnostika hude gnilobe v Sloveniji še vedno temelji na klasični bakteriološki izolaciji povzročitelja. Sum na bolezen se postavi na podlagi značilnih kliničnih znakov, kot so presledkasta zalega, temni, vdrti, preluknjani pokrovci in vlecljiva masa v satnih celicah. Povzročitelja dokazujemo v ostankih spremenjene zalege, v medu in tudi v ostalih čebeljih proizvodih. Z mikroskopsko preiskavo v vzorcu spremenjene zalege ugotavljamo prisotnost spor in po Gramu pozitivnih bacilov. Z bakteriološko preiskavo brisov okužene zalege povzročitelja boleznij največkrat izoliramo v čisti kulturi. V medu ugotavljamo prisotnost spor povzročitelja. Kolonije *P. larvae* se najpogosteje pojavljajo v dveh različnih morfotipih. Oblika kolonij naj bi bila značilna za posamezen genotip povzročitelja. V literaturi so opisani 4 biološko pomembni genotipi *P. larvae*, ERIC I, II, III in IV. Sivkaste hrapave kolonije z neravnimi robovi so značilne za *P. larvae* genotip ERIC I, gladke pigmentirane kolonije so značilne za genotip ERIC II. V Sloveniji prevalenca genotipov ERIC še ni poznana. Bolezen se samo diagnosticira. Potrjevanje povzročitelja s Plagemanovim testom se opušta. Bakterijske izolate potrjujemo z metodo masne spektrometrije (MALDI TOF), ki zelo zanesljivo identificira *P. larvae*.

Trenutno se v Sloveniji uvajajo molekularne metode ugotavljanja in tipizacije *P. larvae*, ki nam bodo dale pomembne epizootiološke in epidemiološke podatke v zvezi s samim povzročiteljem in širjenjem hude gnilobe čebelje zalege.

Ključne besede: huda gniloba čebelje zalege; *Paenibacillus larvae*; diagnostika

VPLIV MIKROBIOTE KEFIRJA NA RAST POTENCIALNO PATOGENIH BAKTERIJ STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN KLEBSIELLA PNEUMONIAE TER GLIVE CANDIDA ALBICANS V MLEKU

Sabina Fijan, Mateja Trunk, Sabina Novak

Fakulteta za zdravstvene vede, Univerza v Mariboru, Žitna ulica 15, 2000 Maribor

sabina.fijan@um.si

Po definiciji FAO/WHO so probiotiki živi mikroorganizmi, ki zaužiti v zadostnem številu dokazano pozitivno učinkujejo na zdravje gostitelja. Mikrobiota kefirja predstavlja pomembno zakladnico potencialnih probiotikov, ki imajo dokazano protimikrobno delovanje proti patogenim mikroorganizmom. Kefirjevo mikrobioto sestavlja simbioza mlečnokislinskih bakterij (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. brevis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus* itd.), kvasovk (*Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir* itd.) in oacetnokislinskih bakterij (*Acetobacter* spp.).

V raziskavi smo ugotavljali vpliv mikrobiote kefirja na izbrane potencialno patogene mikroorganizme (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* in *Candida albicans*). Za vsak eksperiment smo pripravili po dva vzorca 20 mL mleka in 1 mL (med 107 in 109 cfu/mL) suspenzije izbranega potencialno patogenega mikroorganizma. V en vzorec smo še dodali 1 g of kefirjevih zrn. Vse vzorce smo nato inkubirali 48 ur pri sobni temperaturi.

Za bakterijo *Staphylococcus aureus* smo zabeležili inhibicijo rasti za kar 5.64 logaritemskih stopenj že v samem mleku, medtem ko je bila inhibicija rasti v mleku bakterije *Klebsiella pneumoniae* in glive *Candida albicans* le za 0.40 oziroma 0.15 logaritemskih stopenj. Po drugi strani pa je bila dosežena večja inhibicija rasti izbranih patogenov v mleku skupaj s kefirjevo mikrobioto. Najvišjo inhibicijo za kar 10.43 logaritemskih stopenj smo zabeležili pri bakteriji *Staphylococcus aureus* po inkubaciji v mleku s kefirjevo mikrobioto. Rast glive *Candida albicans* in bakterije *Klebsiella pneumoniae* v prisotnosti kefirjeve mikrobiote pa se je zmanjšala za 2.57 oziroma 1.80 logaritemskih stopenj.

Čeprav probiotiki ponavadi ne povzročijo trajnih sprememb črevesne mikrobiote, jenjihovo uživanje pomembno pri akutnem neravnovesju, kot na primer po jemanju antibiotikov, saj suportirajo stalno črevesno mikrobioto pri ponovni vzpostavitvi uravnovešene črevesne mikrobiote. Poleg tega pa probiotiki sodelujejo tudi pri presnavljanju zaužite hrane in podpirajo delovanje imunskega sistema.

Ključne besede: kefir; probiotiki; patogeni

ODPORNOST PROTI ANTIBIOTIKOM IN β -LAKTAMAZE PRI PO GRAMU-NEGATIVNIH SEVIH, OSAMLJENIH IZ VODE IN POVRŠIN BAZENSKIH KOMPLEKSOV

Karmen Godič Torkar¹, Mirjana Dražetič²

¹Zdravstvena fakulteta v Ljubljani, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, SI-1000 Ljubljana;

²Ministrstvo za zdravje RS, Zdravstveni inšpektorat Republike Slovenije,

Defranceschijeva 1a, SI-8000 Novo mesto

karmen.torkar@zf.uni-lj.si

Bakterije imajo izjemno sposobnost prilagajanja okolju tudi z vidika razvoja različnih mehanizmov odpornosti proti antimikrobnim sredstvom.

Pri po Gramu negativnih bakterijskih sevih iz bazenske vode in površin na bazenskih ploščadih v termalnih kopališčih, smo ugotavljali odpornost proti antibiotikom ter sposobnost tvorbe laktamaz β širokega spektra (ES β L) in nekaterih karbapenemaz. Osamljeni bakterijski sevi, ki so večinoma pripadali rodovom *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Yersinia* spp., *Acinetobacter* spp., so bili najpogosteje odporni proti tikarcilinu s klavulansko kislino (v 52,3 %) in ceftazidimu (19,3 %), občutljivi pa za ciprofloksacin. Z metodo kombiniranih diskov smo ES β L in karbapenemaze ugotovili pri 9 (10,2%) in 17 (19,3%) od 88 sevov. Sekvence za izbrane bla_{CTX-M} smo ugotovili pri 21,6 % sevov, večinoma iz skupin bla_{CTX-M9} in $bla_{CTX-M25}$, nekatera zaporedja za karbapenemaze pa pri 15 (17,0%) sevih. Odporne bakterije se vse pogosteje pojavljajo ne le v zdravstvenih ustanovah, ampak tudi v drugih javnih in celo v naravnih okoljih.

Ključne besede: kopališče; po Gramu negativne bakterije; odpornost

LA-MRSA PRI PRAŠIČIH: DVE FARMI POD DROBNOGLEDOM

Majda Golob, Darja Kušar, Urška Zajc, Jana Avberšek, Mateja Pate,
Matjaž Ocepek, Irena Zdovc

Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva ulica 60, 1000 Ljubljana
majda.golob@vf.uni-lj.si

Še nedavno tradicionalno bolnišnične okužbe, povzročene s proti meticilinu odpornimi bakterijami *Staphylococcus aureus* (MRSA), se vse bolj širijo tudi v okolje izven bolnišnic. V zadnjem desetletju velik problem predstavlja klonalni kompleks ST398, ki se je pojavil pri rejnih živalih, predvsem prašičih, in povzroča okužbe ljudi, t.i. LA-MRSA (livestock-associated MRSA).

Na dveh prašičjih farmah s potrjeno prisotnostjo LA-MRSA smo v obdobju enega leta odvzeli nosne brise prašičev različnih kategorij in vzorce prahu (n=350). Najprej smo na prisotnost LA-MRSA pregledali breje svinje nekaj dni pred porodom. Na večji farmi smo v določenih časovnih intervalih celo leto jemali vzorce desetim, na manjši farmi pa petim svinjam. Po pravitvi smo odvzeli še skupinske vzorce pujskov v različnih časovnih razmikih, glede na kategorijo živali (sesni pujski, tekači, pitanci). Na eni farmi smo tako v enem letu opravili 12 vzorčenj.

Vse izolate (n=215) smo testirali z mikrodilucijsko metodo za določanje minimalne inhibitorne koncentracije glede občutljivosti za različne skupine protimikrobnih zdravil. Večino izolatov smo tudi tipizirali na osnovi stafilokoknega proteina A (tipizacija *spa*).

Ugotovili smo, da se pri izolatih z obeh farm pojavljajo različni rezistotipi. Večina vseh sevov je bila odporna proti, tetraciklinu, penicilinu in cefoksitinu, na večji farmi pa tudi proti klindamicinu in trimetoprimu. Vsi izolati so bili dobro občutljivi za rezervne antibiotike, ki se uporabljajo predvsem za zdravljenje okužb ljudi (vankomicin, linezolid, mupirocin). Pri izolatih iz večje farme smo ugotovili štiri različne tipe *spa* (t034, t571, t898 in t1250), vsi izolati z manjše farme pa so pripadali tipu *spa* t1451.

Rezultati nakazujejo, da na večji farmi prihaja do uvoza živali iz različnih vzrejališč z različnimi tipi MRSA, ki se nato lahko širijo znotraj farme, kar pa ne velja za manjšo farmo, kjer so vsi izolati pripadali istemu tipu *spa*. Pomembno pa je, da se v obeh primerih zavedamo možnosti okužbe ljudi preko prašičev, predvsem tistih, ki poklicno prihajajo v stik z njimi.

Ključne besede: LA-MRSA; prašiči; tipizacija

IZBOLJŠANJE MIKROBIOLOŠKE OBSTOJNOSTI KRUHA Z DODATKOM ROŽIČEVE MOKE IN MELASE

Ana Griz¹, Jana Zahorec², Meta Sterniša¹, Alenka Levart¹, Zita Šereš²,
Dragana Šoronja Simović², Sonja Smole Možina¹

¹Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, 1000 Ljubljana, Slovenija;

²Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija
sonja.smole@bf.uni-lj.si

Kruh je eno od osnovnih živil. Kljub nepogrešljivi vlogi v vsakodnevni prehrani in številnim raziskavam ostaja odprt problem kratkotrajna obstojnost tega živila, še posebej kruha brez kemijskih dodatkov. Plesnivost kruha povzroča velike ekonomske izgube v pekarski industriji in je vzrok večjih zavržkov kruha v gospodinjstvih. Plesni predstavljajo tudi zdravstveno tveganje za rizične skupine, dodaten negativen vpliv na zdravje ima potencialna sinteza mikotoksinov.

Preizkusili smo 15 receptur kruha, kjer smo del pšenične moke nadomestili z rožičevo moko (7-15%) in dodali melaso (3-6%) in vlakna sladkorne pese (5-10%) ali kombinacije teh surovin ter tako pripravljene vzorce kruha tehnološko in senzorično ovrednotili. Na osnovi teh rezultatov smo izbrali sedem najustrežnejših receptur, kjer smo poleg mikrobiološke slike sestavin in svežega izdelka spremljali mikrobiološko obstojnost rezin kruha in zaviranje radialne rasti dveh mikotoksigenih plesni – *Aspergillus flavus* in *Penicillium verrucosum* po obremenitvenem testu. Določili smo tudi intrinzične parametre kruha – pH, aktivnost vode, vsebnost polifenolnih spojin in antioksidativni potencial. Rezultate smo statistično analizirali z analizo variance. Dodatek rožičeve moke in melase, še posebej pa njuna kombinacija, je podaljšala mikrobiološko obstojnost kruha. Skladno s tem so ti vzorci tudi zavirali radialno rast plesni glede na kontrolne vzorce. Vzorci kruha z vlakni sladkorne pese so bili slabše obstojni in so pospeševali radialno rast plesni. Dodatek rožičeve moke je najbolj povečal vsebnost polifenolnih spojin in antioksidativni potencial vzorcev kruha, kar dodatno prispeva k želenim funkcionalnim lastnostim izdelka. Večina dodatkov je znižala vrednost pH kruha in povečala aktivnost vode v vzorcih, vendar pri tem izstopajo vlakna sladkorne pese, ki izrazito povečajo aktivnost vode in ustvarjajo ugodno okolje za rast plesni. Dodatek rožičeve moke in melase ohranja mikrobiološko kakovost in podaljšano obstojnost kruha z zaviranjem rasti plesni na kruhu, kar dopolnjuje njuno vlogo zanimivih naravnih funkcionalnih dodatkov v živilstvu.

Ključne besede: inhibicija plesni; mikrobiološka obstojnost kruha; naravni protimikrobni dodatki

ALGORITEM DIAGNOSTIKE VIRUSNIH BOLEZNI RIB

Peter Hostnik, Urška Kuhar, Nina Sluga, Aleksandra Grilc Fajfar, Ivan Toplak,
Danijela Rihtarič, Diana Žele

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
peter.hostnik@vf.uni-lj.si

Virusne bolezni rib so eden od najpomembnejših dejavnikov, ki bistveno vplivajo na ekonomiko posamezne ribogojnice. Med ekonomsko pomembne virusne bolezni rib uvrščamo Virusno hemoragično septikemijo (VHS) postrvi in Infekciозno hematopoetsko nekrozo (IHN) postrvi. Oba virusa sta uvrščena v družino *Rhabdoviridae*. Ostali virusi, ki so tudi patogeni za sladkovodne ribe, pa so uvrščeni v rodove *Birnaviridae*, *Iridoviridae* in *Herpesviridae*. V skladu s programom Uprave za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin so ribogojnice, ki so usmerjene v prodajo živih rib ali iker, pod rednim veterinarskim nadzorom. V teh ribogojnicah se opravi klinični pregled in odvzem vzorcev za virološke preiskave.

V preiskave smo iz ribogojnice A, v kateri so opazili povišan pogin rib, sprejeli tri vzorce rib. V vsakem vzorcu so bili združeni vzorci organov tridesetih rib. Vzorce organov smo homogenizirali in centrifugirali ter supernatant nasadili na celično kulturo EPC (Epithelioma papulosum cyprini). V vzorcu št. 1 smo 8. dan po inokulaciji opazili citopatski efekt (CPE). Virusni izolat smo testirali z metodo RT-qPCR, za dokaz genoma virusa IHN in VHS. Rezultat testa RT-qPCR je bil negativen. Nadaljevali smo z determinacijo izolata iz celične kulture. Uporabili smo metodo sekvenciranja naslednje generacije (NGS) na aparaturi Ion Torrent. Analiza sekvenc je pokazala, da izolat s celične kulture pripada virus IHN. Pravilnost rezultata smo preverili s ponovnim nasajanjem originalnega vzorca hranjenega na -70 °C na celično kulturo. Zopet je prišlo do pojava CPE. Nato smo opravili še imunoperoxidazni test. Za identifikacijo virusa smo uporabili monoklonalna protitelesa proti nukleoproteinu virusa IHN (Bio-x, Danska) s katerimi smo izolat opredelili kot virus IHN. Analiza genoma izolata IHN je pokazala, da ima obravnavani virus IHN na tistem mestu, kamor se pripenja sonda RT-qPCR testa, in sicer na genu za glikoprotein G, nukleotidno zamenjavo (A/C), kar je bil tudi razlog, da je bil rezultat testa negativen.

Opisana izkušnja nam narekuje dodatno previdnost pri oblikovanju algoritma diagnostike virusnih bolezni rib in zahteva uporabo več metod pri dokončni determinaciji povzročiteljev bolezni rib.

Ključne besede: ribe; IHN; RT-qPCR; NGS

PASJE ŠAPE IN OBUVALA KOT POTENCIALNI VIRI KONTAMINACIJE DOMAČEGA OKOLJA S SPORAMI BAKTERIJE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Sandra Janežič^{1,2}, Sabina Mlakar¹, Aleksander Kocuvan², Maja Rupnik^{1,2}

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska 1, 2000 Maribor, Slovenija;

²Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Taborska ulica 8, 2000 Maribor, Slovenija
sandra.janezic@nlzoh.si

Clostridium difficile, anaerobna, sporogena, po Gramu pozitivna bakterija, je trenutno med najpogostejšimi povzročitelji bolnišničnih črevesnih okužb po vsem svetu. Spoznanje, da *C. difficile* lahko povzroča okužbe tudi v domačem okolju, je povzročilo premik raziskovanja tudi na področje odkrivanja novih rezervoarjev in razumevanja prenosov bakterije v izvenbolnišničnem okolju.

Namen tega dela je bil določiti pogostnost in genotipe bakterije *C. difficile* na blazinicah pasjih šap in podplatih obuval lastnikov psov ter za izbrane izolate določiti sorodnost z analizo genomske zaporedij.

Vzorčili smo 20 gospodinjstev iz ruralnih in urbanih območij. V vsakem gospodinjstvu smo z gobicami Polywipe™ pobrisali podplate čevljev in hišnih copat ter blazinice pasjih šap. Gobice smo najprej inkubirali v bogatitvenem selektivnem gojišču. Kulturo v tekočem gojišču smo nato izpostavili etanolnemu šoku in *C. difficile* izolirali na selektivnem gojišču chromID™ *C. difficile*. Vse izolate smo okarakterizirali s PCR-ribotipizacijo in toksinotipizacijo. Primerjava genomske zaporedij trenutno predstavlja najbolj diskriminatorno tipizacijsko metodo zato smo izbranim izolatom določili tudi zaporedja genomov na aparaturi MiSeq (Illumina).

Spore *C. difficile* smo dokazali v 31 od 90 (34,4 %) vzorcev, nabranih v 14 od 20 gospodinjstev (70 %). Pozitivnih je bilo 17/42 (40,5 %) čevljev, 8/23 (34,8 %) copat in 6/25 (24,0 %) pasjih tačk. Več kot polovica toksigenih izolatov je pripadala PCR-ribotipu 014/020, ki je eden od prevladujočih tipov v človeški populaciji. V treh gospodinjstvih smo na podplatih obuval in pasjih šapah našli izolate, ki so pripadali istemu PCR-ribotipu (toksigeni tip 014/020 ali netoksigeni tip 010). Tem izolatom smo določili genomska zaporedja in njihovo genetsko sorodnost ugotavljali z analizo polimorfizma posameznih nukleotidov (SNP-analizo). V dveh gospodinjstvih smo našli identične ali skoraj identične (0 do 1 SNP razlike) izolate. V tretjem gospodinjstvu pa so se sevi istega PCR-ribotipa močno razlikovali (>29 SNP).

Naši rezultati kažejo, da podplati obuval in blazinice pasjih šap predstavljajo potencialni vir kontaminacije domačega okolja.

Ključne besede: *C. difficile*; rezervoarji; NGS

SESTAVA ČREVESNE MIKROBIOTE V *IN VITRO* MODELU VPLIVA NA RAST TER PRODUKCIJO TOKSINA B PRI BAKTERIJI *C. DIFFICILE*

Aleksander Mahnič¹, Nataša Poklar Ulrich², Jennifer Auchtung³, Robert A. Britton³,
Maja Rupnik^{1,4}

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska 1, 2000 Maribor;

²Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva ulica 101, 1000 Ljubljana;

³Baylor College of Medicine, 1 Baylor Plaza, Houston, TX 77030, ZDA;

⁴Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor
aleksander.mahnic@nlzoh.si

Bakterija *Clostridium difficile* je oportunistični patogen, ki povzroča črevesne okužbe pri posameznikih s porušeno črevesno mikrobioto. Čeprav je o interakcijah med črevesno mikrobioto in bakterijo *C. difficile* že precej znanega, še vedno ostajajo odprta vprašanja kot so dejavniki tveganja za ponovitev okužbe ter neuspešno terapijo s fekalno transplantacijo. V študiji predstavljamo vzorce v bakterijski združbi, ki korelirajo z rastjo bakterije *C. difficile* ter produkcijo toksina B po modulaciji črevesne mikrobne združbe v *in vitro* modelu.

V sistemu pretočnih mini-bioreaktorjev (MBRA) smo črevesno mikrobioto izpostavili antibiotiku klindamicinu in/ali polifenolnim ekstraktom borovnic ter granatnega jabolka. Po modulaciji smo bioreaktorje inokulirali z vegetativnimi celicami bakterije *C. difficile* (ribotip 027). Nato smo 7 dni periodično spremljali rast bakterije *C. difficile* (gojenje na selektivnih ploščah), produkcijo toksina B (test citotoksičnosti na Vero celični liniji) ter strukturo mikrobne združbe (16S metagenomika). 16S metagenome smo določili s sekvenciranjem V3-V4 variabilne regije gena za 16S rRNA (MiSeq, Illumina).

V vsakem izmed različic se je razvila unikatna mikrobna združba, pri čemer se je antibiotik izkazal kot najpomembnejši dejavnik modulacije ($p < 0.0001$). Rast bakterije *C. difficile* je uspešno zavirala izključno kontrolna mikrobna združba, medtem ko je tako v primeru modulacije z antibiotikom kot tudi polifenolnimi ekstrakti mikrobna združba izgubila sposobnost zavirati kolonizacijo z bakterijo *C. difficile*. Produkcija toksina je bila značilno povišana v primeru dodanega antibiotika z izjemo združbe predhodno izpostavljene klindamicinu/granatno jabolko 400 mg/L, kjer je bila količina toksina pod mejo detekcije. Produkcija toksina je bila večja v mikrobnih združbah z nizko mikrobno raznolikost, medtem ko med rastjo bakterije *C. difficile* in mikrobno raznolikostjo ni bilo korelacije. V obeh primerih smo pokazali porast v relativni zastopanosti rodu *Eubacterium* ter upad rodu *Alistipes*.

Ključne besede: *Clostridium difficile*; črevesna mikrobiota; *in vitro* model

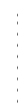
KROMOSOMSKA IN PLAZMIDNA RAZNOLIKOST SEVOV *BACILLUS CEREUS*, OSAMLJENIH IZ ŽIVIL, VODE IN KLINIČNIH VZORCEV

Nežka Loboda¹, Tjaša Cerar Kišek², Karmen Godič Torkar¹

¹Zdravstvena fakulteta v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, SI-1000 Ljubljana;
²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, SI-1000 Ljubljana
karmen.torkar@zf.uni-lj.si

Bakterija *Bacillus cereus* je zaradi svoje sporotvorne narave pogost saprofit v okolju. Zaradi tvorbe različnih enterotoksinov povzroča alimentarne infekcije in intoksikacije, pri imunsko oslabljenih osebah pa tudi druge okužbe, lahko tudi te, povezane z zdravstvom. Za to vrsto so značilni daljši plazmidi, kjer so kodirani nekateri virulentni dejavniki. Z gelsko elektroforezo v utripajočem električnem polju (PFGE) in restrikcijskim encimom S1 smo ugotavljali prisotnost krožnih plazmidov, z uporabo *SmaI* pa raznolikost celokupne DNK 66 bakterijskih sevov *B. cereus*, osamljenih iz živil, vode in kliničnih vzorcev. Podobnost med sevi je bila po dendrogramu med 10 do 70 %. Združili smo jih v 13 pulzotipov z najmanj 40 % podobnostjo, 14. pulzotip pa se je od ostalih razlikoval skoraj 90 %. Sevi iz kliničnih vzorcev so bili uvrščeni v 11, sevi iz živil v 10 in sevi iz vode v 6 različnih pulzotipov, pri čemer podobnosti glede na njihov izvor ne moremo potrditi. Krožne plazmide, ki so bili obdelani z restrikcijskim encimom S1, smo zaznali v 25 (39,4 %) sevih. Njihova dolžina je segala od 50 do 200 kb. 25 (37,9 %) sevov je imelo velike plazmide, od tega je 11 (16,6 %) imelo več kot enega. Plazmidi so bili pogostejši pri sevih, pridobljenih iz živil in ne pri tistih iz kužnin.

Ključne besede: *Bacillus cereus*; plazmidi; PFGE



MIKOBakterIJE PRI AKVARIJSKIH RIBAH: KAKŠNO JE ZAVEDANJE O NJIHOVEM ZONOTSKEM POTENCIALU?

Mateja Pate¹, Andrej Ovca², Vlasta Jenčič¹, Manca Žolnir-Dovč³, Matjaž Ocepek¹

¹Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana;

²Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana;

³Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik
mateja.pate@vf.uni-lj.si

Rezultati naših preteklih raziskav kažejo, da so pri večini akvarijskih ribic v Sloveniji prisotne za ljudi potencialno patogene vrste mikobakterij. Zato je bil namen tega dela z vprašalnikom dobiti vpogled v raven ozaveščenosti ljubiteljskih akvaristov (LA) in prodajalcev v trgovinah z akvarističnim programom (PT) glede zdravstvenega tveganja, ki ga predstavlja rokovanje z akvarijskimi ribami.

V raziskavi je sodelovalo 198 oseb, med njimi 76 % LA in 24 % PT. S trditvijo, da akvarijske ribe lahko zbolijo, so se strinjali skoraj vsi sodelujoči (96,4 %). Približno tretjina vprašanih je pritrnila navedbi, da akvarijske ribe lahko zbolijo za tuberkulozo, a le četrtnina se je strinjala s trditvijo, da je ribja tuberkuloza zoonoza. Pri tem so se PT bolj zavedali zoonotske narave te bolezni kot LA. Le desetina vprašanih je navedla, da pozna klinične znake ribje tuberkuloze (opazna je bila statistično značilna razlika med PT in LA - zavedanje slednjih je bilo nižje). Za granulom akvaristov je že slišalo le 3 % sodelujočih. Glede na prepričanje, izraženo s strani 75 % anketirancev, da je voda v akvariju lahko vir mikrobov, škodljivih za zdravje ljudi, je splošna praksa rokovanja z akvarijskimi ribami, o kateri poročajo, presenetljiva. 75 % si jih pri čiščenju akvarija ali rokovanju z ribami namreč nikoli ne nadene voodopornih rokavic, 67 % pa nikoli ne razkuži akvarija, pri čemer dve tretjini sodelujočih poročata o rednem čiščenju akvarija po menjavi vode. Odpadno vodo iz akvarija večina zlije v odtok (83 %) oz. uporabi za zalivanje rastlin. Poginule ribe v večini primerov pri LA končajo v straniščni školjki (52 %) ali smeteh (35 %), medtem ko jih PT praviloma zamrznejo in predajo veterinarski higienski službi.

V prihodnje bo glede vloge mikobakterij pri okužbah, povezanih z akvarijskimi ribami, potrebno več pozornosti nameniti ozaveščanju predvsem LA, ne smemo pa zanemariti tudi usposabljanja PT.

Ključne besede: zoonoze; mikobakterije; akvarijske ribe

OVREDNOTENJE UPORABE MULTIPLEKS PCR V REALNEM ČASU ZA DOKAZOVANJE GASTROENTERITIČNIH VIRUSOV V NACIONALNEM LABORATORIJU ZA ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO

Darja Duh, Nika Volmajer, Barbara Blažič, Andrej Golle, Živa Petrovič

Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Nacionalni Laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor
darja.duh@nlzoh.si

Klinične smernice za obravnavo bolnikov z akutnim gastroenteritisom (AGE) navajajo, da mikrobiološke preiskave v večini niso potrebne. Izjema so kronično pojavljanje, krvava driska ali podaljšano trajanje simptomov. Cena in čas preiskave sta zato dejavnika, ki znatno vplivata na odločanje o mikrobiološkem testiranju bolnikov z AGE. Leta 2015 smo na Oddelku za medicinsko mikrobiologijo Maribor zamenjali encimsko-immunske teste (EIA) za dokazovanje rotavirusov, astrovirusov in črevesnih adenovirusov z molekularno biološko metodo multipleks PCR v realnem času.

V prispevku smo ovrednotili uporabo multipleks PCR v realnem času za dokazovanje gastroenteritičnih virusov v Laboratoriju za klinično molekularno diagnostiko. V obdobju od septembra 2015 do februarja 2017 smo testirali 3316 kužnin blata in/ali izbruhanine na prisotnost norovirusov GG I in II; rotavirusov, astrovirusov in adenovirusov tipa 40 in 41. V letu in pol pred tem (september 2013 do februar 2015) smo z EIA testirali podobno število kužnin blata in sicer 3528. Z EIA smo viruse dokazali v 13,7 %, s PCR v 27,4 %. Posamezne vrste virusov smo z obema metodama dokazali v različnih odstotkih. S PCR smo v 8,1% potrdili prisotnost rotavirusov, v 1,7 % prisotnost astrovirusov in v 1,3 % prisotnost adenovirusov. Z EIA smo dokazali višji odstotek rotavirusov in astrovirusov (10,1 % in 2,9 %). Vzrok je najverjetneje nespecifičnost EIA, ki je opisana v svetovni literaturi. Za dokazovanje norovirusov smo že leta 2013 uporabljali PCR v realnem času, ki smo ga izvajali le na izrecno zahtevo naročnika ob EIA testu. V primeru, da smo izvedli obe metodi, je bila vrednost izvida skupaj 80,8 točk. Vrednost multipleks PCR v realnem času je 38 točk. Po preračunu točk smo ugotovili, da so naročniki v letu in pol za EIA/PCR testiranje odšteli 306.334,8 eur, za multipleks PCR 252.016 eur. Nazadnje smo preverili koliko časa smo potrebovali za končni izvid. Ob uporabi EIA smo izvide izdali najpogosteje 2 do 3 dni (74,7 %) po sprejemu kužnine v laboratorij, ob uporabi multipleks PCR smo večino izvidov izdali še isti ali naslednji dan (76,4 %).

Iz analize uporabe bolj specifične in občutljive multipleks PCR metode lahko povzamemo, da smo v letu dni in pol bistveno izboljšali pomembna dejavnika za izbiro testiranja v primeru AGE, t.j. čas in ceno testa.

Ključne besede: multipleks PCR v realnem času; gastroenteritični virusi; mikrobiološke preiskave

KO REDKA BOLEZEN PONOVO IZBRUHNE: VRANIČNI PRISAD PRI GOVEDU LETA 2015

Jana Avberšek¹, Mateja Pate¹, Jasna Mičunovič¹, Tina Pirš¹, Darja Kušar¹, Urška Zajc¹,
Vasilij Cociancich², Tomislav Paller², Sanja Duvnjak³, Silvio Špičić³, Igor Gruntar¹,
Majda Golob¹, Irena Zdovc¹, Matjaž Ocepek¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva ul. 60, 1000 Ljubljana; ²Nacionalni veterinarski inštitut, Enota Ljubljana, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva ul. 60, 1000 Ljubljana; ³Hrvatski veterinarski inštitut, Savska c. 143, 10000 Zagreb
matjaz.ocepek@vf.uni-lj.si

Bakterija *Bacillus anthracis* je povzročiteljica vraničnega prisada oz. antraksa pri živalih in ljudeh. Spore bakterije lahko preživijo v okolju več deset let; ker se zlahka širijo z aerosolom, so jih v preteklosti že uporabili kot bioteroristično orožje. V Sloveniji so izbruhi bolezn pri živalih sicer redki, vendar nas opisani primer opozarja, da bolezn ne smemo zapostaviti.

Avgusta in v začetku septembra 2015 je na pašniku v občini Vrhnika poginilo 12 telic iz štirih gospodarstev. Pri živalih je bil na podlagi pato-anatomskih sprememb postavljen sum na vranični prisad. V laboratoriju smo s klasičnimi in molekularnimi metodami preiskali vzorce tkiv sedmih telic. V vseh sedmih primerih je bila z metodo PCR v realnem času v tkivih dokazana prisotnost DNA bakterije *B. anthracis*, medtem ko je bila gojiščna preiskava vzorcev vranice pozitivna v treh primerih. Identiteto teh treh izolatov smo potrdili z metodo PCR v realnem času (ugotavljanje genov *cap* in *pag*), z metodo MLVA na podlagi osmih lokusov pa smo jih tudi tipizirali. Pri vseh izolatih smo ugotovili enak genotip, ki se razlikuje od genotipov drugih živalskih izolatov *B. anthracis* v nacionalni zbirki.

Takoj po potrditvi bolezn pri govedu so na pašniku uvedli ukrepe za preprečevanje širjenja bolezn in določili novo območje vraničnega prisada (t.i. antraksov distrikt), na katerem bo v naslednjih 50 letih od pojava izbruha obvezno preventivno cepljenje goveda in drobnice. Ker je bolezen zoonoza, so vsi ljudje, ki so bili v stiku s poginulimi živalmi, prejeli preventivno antibiotično terapijo. Zadnji potrjeni primer vraničnega prisada pri ljudeh v Sloveniji je bil leta 1983, kar je zagotovo plod dobrega sodelovanja veterinarske in medicinske stroke.

Ključne besede: *Bacillus anthracis*; vranični prisad; govedo

DINAMIKA IZLOČANJA BAKTERIJE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* PRI PRAŠIČIH

Jana Avberšek, Urška Zajc, Maja Kavalič, Tina Pirš, Matjaž Ocepek

Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
jana.avbersek@vf.uni-lj.si

Bakterija *Clostridium difficile* je pri različnih živalskih vrstah prisotna kot komenzal ali pa povzroča drisko in enterokolitis predvsem v neonatalnem obdobju. V raziskavi smo želeli ugotoviti dinamiko izločanja in število *C. difficile* pri prašičih na večji slovenski farmi. Vzorčili smo svinje (n=10) pred porodom, takoj po porodu, 25, 65 in 130 dni po porodu in pred naslednjim porodom. Sesne pujske istih svinj smo vzorčili štirikrat pri starostih 0-26 dni, nato pa smo istim živalim sledili do starosti 170 dni. Iz vzorcev blata oz. rektalnih brisov smo izolirali DNA in nato kvantificirali *C. difficile* z metodo PCR v realnem času. Vse vzorce smo preiskali z bakteriološko preiskavo na *C. difficile* selektivnih gojiščih. Dodatno smo vzorčili prah v različnih prostorih farme.

Pri svinjah smo dokazali do 10^4 *C. difficile*/g fecesa, vendar so bile nekatere svinje negativne oziroma je bilo število *C. difficile* pod mejo kvantifikacije (LOQ). Razlik pred porodom in po porodu nismo dokazali. Ne glede na status svinje, so bili vsi sesni pujski pozitivni pri vseh vzorčenjih. Število *C. difficile* je bilo najvišje pri najmlajših pujskih (10^6 - 10^8 /g fecesa), nato je padalo do 10^3 . Pri starosti 21-26 dni je bilo število *C. difficile* približno enako kot pri svinji. Tekachi, pitanci in svinje po odstavitvi pujskov so bili negativni oziroma je bilo število *C. difficile* pod LOQ (bakteriološka preiskava je bila negativna na *C. difficile*). Pri svinjah smo ponovno dokazali nizko število *C. difficile* pred naslednjim porodom, ko začnejo dobivati drugačno prehrano. Prah, kot pokazatelj kontaminiranosti okolja s *C. difficile*, je bil pri vseh vzorčenjih pozitiven.

V farmskem okolju je *C. difficile* prisoten povsod in predstavlja vir bakterij za kolonizacijo sesnih pujskov, kjer se verjetno zaradi sestave mikrobiote in tipa prehrane, klostridiji namnožijo. Kolonizacija s *C. difficile* se nato pri sesnih pujskih s starostjo živali znižuje. Rezultati nakazujejo, da kolonizacija svinje ob porodu nima vpliva na število *C. difficile* pri sesnih pujskih.

Ključne besede: *Clostridium difficile*; prašiči; kvantifikacija

PROTIBAKTERIJSKA AKTIVNOST ZOBNE PASTE S PROPOLISOM V POGOJIH IN VITRO

Bratko Filipič¹, Lidija Gradišnik², Klemen Rihar³, Adriana Pereyra⁴, Jana Potokar⁴, Domen Jaklič⁴, Rok Kopinč⁴, Hrvoje Mazija¹

¹HIETO, Koledinečka 3, 10040 Zagreb, Hrvaška;

²Inštitut za Biomedicinske Raziskave, Medicinska Fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska 8, 2000 Maribor, Slovenija;

³Chengdujska 4, 1000 Ljubljana, Slovenija;

⁴MEDEX d.o.o., Linhartova 049a, 1000 Ljubljana, Slovenija
bratko.filipic@gmail.com

V tej študiji smo ovrednotili antibakterijsko aktivnost zobne paste s propolisom, ki se uporablja za zdravljenje zob in kot zdravilo za endodontsko zdravljenje.

Zobno pasto s Propolisom smo pripravili z uporabo izvlečka Propolisa, ki smo ga predhodno opisali. Zobno kremo s Kalcijevim hidroksidom smo uporabili kot kontrolo, kot tudi dve komercialni in dve medicinski zobni pasti. Bakterije, na katere deluje zobna pasta s Propolisom so bile: *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* in kvasovka *Candida albicans*. Inhibicijo rasti bakterij / kvasovk smo ovrednotili z barvanjem z resazurinom. Inhibicija rasti bakterij / kvasovk je vidna v spremembi barve resazurina iz modre v roza. MIK (Minimalna Inhibitorna Koncentracija), smo določili, kot največjo razredčitev pri kateri ne pride ali pride do minimalne spremembe barve. Na primer, v 7. luknjici se je spremenila barva iz rožnate v modro. Zato, sprememba barve v 7. luknjici pri razredčitvi 1:64 pomeni MIK = $1 \times 10/64 = 0.156$ mg/mL. MIK vrednosti zobne paste z propolisom so bile proti: *S. aureus*: 0.031 mg/mL (0.326 mg/mL medicinske zobne paste, 0.187 mg/mL komercialne zobne paste); *Micrococcus luteus*: 0.003 mg/mL (0.140 mg/mL medicinske zobne paste, 0.046 mg/mL komercialne zobne paste); *Streptococcus mutans*: 0.015 mg/mL (0.140 mg/mL medicinske zobne paste, 0.019 mg/mL komercialne zobne paste); *E. coli*: 0.015 mg/mL (0.375 mg/mL medicinske zobne paste, 0.062 mg/mL komercialne zobne paste); *Pseudomonas aeruginosa*: 0.062 mg/mL (0.281 mg/mL medicinske zobne paste, 0.046 mg/mL komercialne zobne paste) in kvasovki *Candida albicans*: 0.015 mg/mL (0.140 mg/mL medicinske zobne paste, 0.281 mg/mL komercialne zobne paste). Primerjava MIK vrednosti med zobno pasto s Propolisom z medicinskima zobnima pastama, pokaže večjo učinkovitosti zobne paste s Propolisom in to od 4.53 do 25.0-krat. Za *St. aureus*, je bila ta 10.51-krat; za *St. mutans* 9.33-krat; za *E. coli* za 25.0-krat; za *Pseudomonas aeruginosa* 4.53-krat in kvasnico *Candida albicans* 9.33-krat. V primerjavi s komercialnima zobnima pastama, je bila zobna pasta s Propolisom boljša in to od: 0.74 do 18.73-krat. Za *St. aureus*, je bila 6.03-krat, za *St. mutans* 1.26-krat, za *E. coli* 4.13-krat; za *Pseudomonas aeruginosa* 0.74-krat in kvasnico *Candida albicans* 18.73-krat.

Ključne besede: Propolis; zobna pasta s Propolisom; protibakterijska aktivnost; aktivnost proti kvasnici *Candida albicans*

BRUCELLA SUIIS PRI DIVJIH PRAŠIČIH V SLOVENIJI

Brane Krt¹, Maja Kavalič¹, Matjaž Ocepek¹, Igor Gruntar¹, Diana Žele²,
Gorazd Vengušt², Jana Avberšek¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo;

²Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana

brane.krt@vf.uni-lj.si

V Sloveniji že več desetletij ni bila ugotovljena bruceloza pri domačih prašičih. Občasno je bila *Brucella suis* izolirana pri poljskih zajcih (zadnji primer je bil zabeležen leta 2005), pri divjih prašičih pa še nikoli.

V letu 2016 smo s presejalno serološko metodo rose bengal med 209 vzorci krvi divjih prašičev našli 23 (11 %) pozitivnih. 19 (9 %) med njimi je bilo pozitivnih tudi v potrditveni metodi RVK (reakcija vezanja komplementa), dva manj (8,1 %) pa v indirektni in kompetitivni metodi ELISA. Bakteriološka preiskava bezgavk serološko pozitivnih živali je bila negativna. Z metodo PCR v realnem času smo brucele dokazali v 3 (1,4 %) vzorcih bezgavk. V prvih petih mesecih leta 2017 smo med 78 vzorci krvi s presejalno in potrditvenimi serološkimi metodami našli kar 17 (21,8 %) pozitivnih. Bakteriološko preiskavo serološko pozitivnih živali smo spremenili tako, da smo na gojišče inokulirali večjo količino materiala, ki smo ga hkrati sadili tudi na brucela bujon. Tako smo iz mandibularnih in mezenterialnih bezgavk 6 živali izolirali *B. suis*. Pri petih vzorcih je bila pozitivna tudi molekularna preiskava bezgavk. Za determinacijo izolatov smo uporabili klasične metode, kot so barvanje po Gramu, biokemijski testi (oksidaza, ureaza, indol, H₂S) in hitra aglutinacija s poliklonskim in monospecifičnimi serummi (A, M in R). Prve tri izolate smo potrdili še z metodo MALDI-TOF. Tudi z molekularnimi metodami smo potrdili, da gre pri vseh 6 izolatih za *B. suis*.

Nadaljnje raziskave bodo pokazale, kakšna je seroprevalenca bruceloze pri divjih prašičih v Sloveniji in kakšna kombinacija metod je najboljša za učinkovito dokazovanje brucel.

Ključne besede: bruceloza; divji prašiči

GENETSKA ANALIZA IZOLATOV IZ SKLOPA *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS* NACIONALNE ZBIRKE NETUBERKULOZNIH MIKOBAKTERIJ KLINIKE GOLNIK

Sara Truden¹, Manca Žolnir-Dovč¹, Marjanca Starčič Erjavec²

¹Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik;

²Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

sara.truden@klinika-golnik.si

Netuberkulozne mikobakterije (NTM) uvrščamo v rod *Mycobacterium*, z več kot 175 poznanimi bakterijskimi vrstami. Najpogosteje povzročajo okužbe pljuč, kože in mehkih tkiv, za katere so predvsem odgovorne bakterije iz sklopa *M. avium*, *M. abscessus*, *M. xenopi*, *M. kansasii*. Okužbe z bakterijami iz sklopa *M. abscessus* so danes v porastu, predvsem pri populaciji bolnikov s cistično fibrozo (CF). Sklop sestavljajo 3 podvrste: *M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *bolletii*, *M. abscessus* subsp. *massiliense*. Za zdravljenje okužb z bakterijami iz sklopa *M. abscessus* je ključna identifikacija podvrste in detekcija mutacij v genih *erm(41)* in *rrl*, ki posredujeta odpornost izolatov proti makrolidom. Ti so terapija izbora pri bolnikih s CF.

Analizirali smo 38 slovenskih izolatov iz sklopa *M. abscessus* izoliranih iz kužnin bolnikov v obdobju med januarjem 2000 in decembrom 2016 (Nacionalna zbirka NTM, Klinika Golnik). Izolate smo identificirali z diagnostičnim kompletom GenoType NTM-DR (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany).

Med izolati iz sklopa *M. abscessus* prevladuje *M. abscessus* subsp. *abscessus* (n=28), med tem ko sta *M. abscessus* subsp. *bolletii* (n=6) in *M. abscessus* subsp. *massiliense* (n=4) redko izolirana. Vsi izolati *M. abscessus* subsp. *bolletii* in 25 izolatov *M. abscessus* subsp. *abscessus* je imelo prisotno mutacijo v genu *erm(41)*. Vsi izolati *M. abscessus* subsp. *massiliense* (n=4) imajo mutacijo v genu *erm(41)*, a je gen nefunkcionalen in kljub mutaciji, izolati niso zmožni razviti inducibilne odpornosti proti makrolidom. Noben od slovenskih izolatov iz sklopa *M. abscessus* nima mutacije v genu *rrl*.

Med slovenskimi izolati bakterij iz sklopa *M. abscessus* prevladuje *M. abscessus* subsp. *abscessus*, ki je najpogosteje izolirana podvrsta tudi v drugih evropskih državah. Med našimi izolati prevladuje inducibilna odpornost proti makrolidom, saj je mutacija v genu *erm(41)* prisotna pri 31 od skupno 38 izolatov, kar je še posebej pomemben podatek, ko se obravnava okužbo z bakterijami iz sklopa *M. abscessus* pri bolnikih s CF.

Ključne besede: netuberkulozne mikobakterije; *M. abscessus*; makrolidi

BIOMIMETIČNI IN VITRO MODEL PRAŠIČJEGA UROTELIIJA ZA ŠTUDIJ PATOGENEZE HUMANIH UROPATOGENIH BAKTERIJ *ESCHERICHIA COLI*

Luka Predojević¹, Darja Žgur-Bertok¹, Darja Keše², Mateja Erdani Kreft³,
Marjanca Starčič Erjavec¹

¹Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana;

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana;

³Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana.
lukapredojevic@yahoo.com

Bakterija *Escherichia coli* (*E. coli*) je del normalne črevesne mikrobiote, a obstajajo sevi, ki lahko povzročijo različne okužbe. Pogosto (~80 %) jo izoliramo kot povzročiteljico okužb sečil. Te seve označimo kot uropatogene *E. coli* (UPEC). V študijah uropatogeneze humanih sevov UPEC je bilo do sedaj vzpostavljenih več modelov, ki pa imajo kljub svoji uporabnosti, tudi svoje pomanjkljivosti. Za preučevanje patogeneze potrebujemo namreč modelne sisteme, ki so podobni razmeram *in vivo*, a vendar cenovno dostopni in preprosti. V naši raziskavi smo v ta namen želeli vzpostaviti nov biomimetični *in vitro* model prašičjega urotelija.

Za vzpostavitev novega modela smo uporabili celično kulturo normalnih urotelijskih celic sečnega mehurja zdravih prašičev. Primernost opisanih celičnih kultur za študij humanih UPEC smo preverjali s petimi različnimi sevi *E. coli*: dva seva UPEC (J96 in 536), en komenzalni sev *E. coli* SE15, izoliran iz iztrebka zdravega človeka, ter dva laboratorijska seva *E. coli*, sev MG1655, ki je podoben komenzalnemu naravnemu sevu *E. coli*, in sev DH5alfa, ki je tipičen laboratorijski sev *E. coli*. Uporabljali smo naslednje metode: gojenje celičnih in bakterijskih kultur, priprava suspenzij bakterijskih sevov, teste patogenosti z ugotavljanjem smrtnosti/preživetja evkariontskih celic s pomočjo barvanja s tripanjskim modrilom. Vpliv izbranih sevov na normalne urotelijske celice smo preverjali po 3-urni inkubaciji evkariontskih celic z izbranimi bakterijskimi sevi. Iz dobljenih rezultatov, odstotkov preživetja urotelijskih celic, smo izračunali povprečen odstotek preživetja in standardno napako. Rezultati so naslednji: najmanjše preživetje urotelijskih celic je bilo, ko so bile izpostavljene UPEC, in sicer J96 (59±3 %) in 536 (74±8 %), nekoliko boljše, ko so bile izpostavljene komenzalnemu sevu SE15 (85±4 %). Največje preživetje normalnih urotelijskih celic pa je bilo, ko so bile izpostavljene laboratorijskima sevoma MG1655 (90±1 %) in DH5alfa (90±4 %). Dobljeni rezultati tako nakazujejo, da bi biomimetični *in vitro* model prašičjega urotelija lahko uporabili za študij patogeneze humanih UPEC.

Ključne besede: *E. coli*; uropatogene bakterije; prašičji urotelij

VIRUS HEPATITISA E – PREGLED STANJA V SLOVENSКИH KLAVNICAH

Petra Raspor Lainšček¹, Ivan Toplak², Andrej Kirbiš¹

¹Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana;

²Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
petra.rasporlainscek@vf.uni-lj.si

Hepatitis E je virusna zoonoza, ki se prenaša na človeka z uživanjem termično nezadostno obdelanega mesa in mesnih izdelkov. Glavni rezervoar so domači in divji prašiči, pri katerih je bolezen klinično nezaznavna, zato virus hepatitisa E (HEV) predstavlja tveganje za zdravje ljudi. Prva kompleksna študija v Sloveniji je zajela preko 2.000 vzorcev v populaciji klinično zdravih prašičev, ki vstopajo na klavno linijo. Posebna pozornost je zaradi narave poteka bolezni namenjena odojkom. Vzorčenje je potekalo v treh večjih slovenskih klavnicah. Naključno smo izbrali 322 klinično zdravih odojkov ter jim odvzeli vzorce blata, jeter in žolča. Iz vzorcev smo izolirali virusno RNA s pomočjo QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Nemčija). Za detekcijo štirih genotipov HEV smo uporabili že objavljen protokol metode RT-PCR v realnem času.

Rezultati so pokazali prisotnost virusne RNA pri 46 vzorcih blata (14,3%), 39 vzorcih jeter (12,1%) in 43 vzorcih žolča (13,6%). Primerjava naših rezultatov z rezultati študij nekaterih drugih držav (Italija, Nizozemska, Portugalska) je pokazala velike razlike. Odstotki pozitivnih vzorcev v teh državah so mnogo višji kot pri nas (npr. 70% pozitivnih vzorcev blata). Izmed 322 živali, katerim smo odvzeli tri različne vrste vzorcev, je bil pri 56 (17%) živalih vsaj eden od treh vzorcev pozitiven, kar nakazuje, da je za nedvoumno potrditev prisotnosti HEV potrebno analizirati več različnih vrst vzorcev pri posamezni živali. 10 farm od skupno 26 iz katerih so bili odojki pripeljani v klavnice, je bilo pozitivnih na HEV.

Podatki pridobljeni z vzorčenjem so razkrili, da je okužb s HEV pri prašičih ob zakolu v klavnici manj, kot smo pričakovali glede na podatke drugih držav, vendar naši rezultati pomembno prispevajo k razjasnitvi nevarnosti prisotnosti HEV na liniji klanja. Zato je potrebno potrošnike poučiti o nevarnostih okužbe s HEV ter o pravilni toplotni obdelavi svinjskega mesa in mesnih izdelkov.

Ključne besede: virus hepatitisa E; prašiči; zoonoza

TIPIZACIJA NA OSNOVI ZAPOREDIJ VEČ LOKUSOV ZA SPREMLJANJE EPIDEMIOLOGIJE GLIVE *PNEUMOCYSTIS JIROVECI* PRI BOLNIKIH S PNEVMOCISTIČNO PLJUČNICO

Erika Robič, Miha Skvarč, Darja Keše, Barbara Šoba Šparl

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana
erikarobic@gmail.com

Gliva *Pneumocystis jirovecii* je oportunistični patogen, ki pri imunokompromitiranih bolnikih povzroča pnevmocistično pljučnico (PCP). Zdravi ljudje so lahko z glivo kolonizirani, vendar pri njih ne povzroča bolezni. Edini gostitelj glive je človek, med ljudmi se širi kapljično. Do izbruhov bolezni lahko prihaja v bolnišničnem okolju, kjer je pomemben rezervoar okužbe bolnišnično osebje. Vir so lahko tudi zdravi družinski člani imunokompromitiranih bolnikov. Za razumevanje epidemioloških značilnosti glive se v današnjem času uporabljajo genotipizacijske metode, predvsem tipizacija na osnovi zaporedij več lokusov (MLST).

V naši raziskavi smo ugotavljali genetsko pestrost *P. jirovecii*, izolirane iz kužnin bolnikov s PCP, in sicer s tipizacijo na osnovi petih lokusov njenega genoma: DHPS, β -tubulin, mt26S rRNA, CYB in SOD. Gen za DHPS se pri epidemioloških raziskavah uporablja tudi za ugotavljanje odpornosti glive proti trimetoprim/sulfametoksazolu. V raziskavo smo vključili 73 respiratornih vzorcev 53 bolnikov s PCP, ki smo jih v Laboratorij za parazitologijo Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo prejeli od januarja 2012 do decembra 2014. Glivo smo uspešno genotipizirali iz 40 vzorcev 32 bolnikov. Ugotovili smo 15 različnih sekvenčnih tipov *P. jirovecii*, ki se razvrščajo v 7 genotipskih skupin. Na podlagi genotipizacije in dostopnih epidemioloških podatkov o bolnikih, ki so bili vključeni v raziskavo, predvidevamo, da v letih od 2012 do 2014 na oddelkih Onkološkega inštituta Ljubljana in klinikah Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana ni bilo izbruhov PCP, vendar pa ne moremo izključiti možnosti nekaj posameznih prenosov med bolniki. Za razjasnitev le-teh bi potrebovali dodatne epidemiološke podatke o bolnikih. S sekvenčno analizo lokusa DHPS nismo ugotovili mutacij, ki bi nakazovale na odpornost glive proti kemoterapevtiku.

Ključne besede: genotipizacija; *Pneumocystis jirovecii*; pnevmocistična pljučnica

PROTIMIKROBNO DELOVANJE TERPENOV IN KUMARINOV IZ KRAŠKEGA ŠETRAJA IN JAŠČARICE PROTI BAKTERIJI *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Katarina Šimunović¹, Anja Klančnik¹, Andreja Jurhar¹, Sandra Zajkoska¹, Kaja Erzar¹, Gaja Pretnar¹, Ivana Turek², Franz Bucar², Sonja Smole Možina¹

¹Oddelek za Živilstvo, Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, Ljubljana;

²Oddelek za farmakognozijo, Institut za farmacevtske znanosti, Karl-Franzens Universität, Universitätsplatz 4, 8010 Gradec, Avstrija
katarina.simunovic@bf.uni-lj.si

Kraški šetraj (*Satureja montana*) in jaščarica (*Peucedanum ostruthium*) sta tradicionalni rastlini za zdravljenje črevesnih okužb. Njihovi pripravki omilijo napihnenost in drisko ter delujejo protibakterijsko in protiglivno. Protimikrobno delovanje izvlečkov jaščarice in kraškega šetraja smo testirali na modelu črevesne patogene bakterije *Campylobacter jejuni*. Izvlečke rastlin smo pridobili s soxhlet ekstrakcijo ob uporabi etanola in heksana, s tekočinsko kromatografijo pa frakcije etanolnega (E0-E7) in heksanskega (H1-H6) izvlečka. Eterično olje smo pridobili s hidrodestilacijo. Sestavo izvlečkov smo določili z novjšimi analitskimi tehnikami in ugotovili, da je etanolni izvleček kraškega šetraja sestavljen iz različnih polifenolnih spojin, v največjem deležu iz karvakrola, *p*-cimena, γ -terpinena, timokinona in timola. V obeh izvlečkih jaščarice prevladujejo kumarini, kot je ostrutin, eterično olje pa vsebuje več kot 60 različnih polifenolnih spojin, npr. γ -terpinen in α -terpinen. Vsem pripravkom smo določili minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) z metodo mikrodilucije. Protimikrobno delovanje smo testirali na referenčnem sevu *C. jejuni* ter klavniških sevih, izoliranih iz slovenskih klavnic. Etanolni izvleček kraškega šetraja in čiste spojine, prisotne v izvlečku (karvakrol, timol, timokinon in *p*-cimen) so pokazali dobro protimikrobno delovanje proti vsem sevom *C. jejuni*. Delovanje izvlečkov korenike jaščarice je nekoliko slabše, vendar nekaj frakcij izstopa s povečano protimikrobno aktivnostjo (H4, H6, E0, E4, E7), prav tako čista spojina ostrutin. Ker so nas zanimale celične tarče protimikrobnega delovanja izvlečkov, smo njihov vpliv testirali na (i) delovanje izlivnih črpalk z metodo kopičenja etidijevega bromida in (ii) nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS) znotraj celic z reagentom 2,7-diklorofluorescein. Vsi izvlečki in nekaj frakcij zavirajo delovanje izlivnih črpalk in vsi, z izjemo etanolnega izvlečka jaščarice, povečujejo raven ROS znotraj celic.

Kraški šetraj in jaščarica sta bogata vira bioaktivnih učinkovin, njihov mehanizem delovanja pa je usmerjen na modulacijo izlivnih črpalk in nastanek ROS. Raziskava nakazuje potencialno uporabnost pripravkov za omejevanje okužb s *C. jejuni*.

Ključne besede: *Campylobacter jejuni*; *Satureja montana*; *Peucedanum ostruthium*

VPLIV BAKTERIJE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* NA STRUKTURO IN METABOLNI PROFIL ČREVESNE MIKROBIOTE OTROK

Sabina Horvat¹, Maja Rupnik^{1,2}, Damjan Makuc³, Klemen Pečnik³, Janez Plavec³

¹Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Taborska 8, Maribor;

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (NLZOH), Prvomajska 1, Maribor;

³Kemijski inštitut, Hajdrihova 19, Ljubljana

sabina.zalig1@um.si

Kadar je črevesna mikrobiota v stanju neravnovesja je spremenjen tudi njen metabolni profil, kar lahko vpliva na rast črevesnih bakterij in posledično zmanjša kolonizacijsko rezistenco proti črevesnim patogenom. Okužba s *Clostridium difficile* (OCD) je zelo značilno povezana s porušeno črevesno mikrobioto, kar je običajno posledica zdravljenja z antibiotiki. Okužba je lahko asimptomatska, ali pa se kaže kot lažja driska, kolitis ali pseudomembranozni kolitis, ki lahko privede do perforacije črevesa. Medtem ko je pri odraslih posameznikih asimptomatska kolonizacija s *C. difficile* redka pa so otroci mlajši od 2 let zelo pogosto asimptomatski nosilci *C. difficile*.

V naši raziskavi smo v in vitro modelu proučevali interakcije med *C. difficile* in fekalno mikrobioto otrok. Za pripravo fekalne mešanice smo združili vzorce blata štirih zdravih otrok, mlajših od 2 let. Prekonočno kulturo fekalne mešanice smo gojili v izrabljenem gojišču šestih sevov *C. difficile* iz ribotipov 027 (n=2), 176 (n=2) in 078 (n=2). Sočasno smo fekalno mešanico gojili še v prisotnosti vegetativnih celic *C. difficile* ($\approx 2 \times 10^6$ CFU/ml). Po treh dneh inkubacije smo z metodo štetja na ploščah določali celokupno število celic in delež spor *C. difficile*, analizirali sestavo bakterijske združbe s sekvenciranjem na platformi Illumina MiSeq in določali metabolne spektre z NMR spektroskopijo.

Vsi testirani sevi so se uspešno obdržali v ko-kulturah z otroško črevesno mikrobioto, delež spor je bil 57%. Značilne spremembe v strukturi bakterijske združbe ali v metabolnih profilih smo zaznali samo v primeru nekaterih sevov *C. difficile*.

Ključne besede: *Clostridium difficile*; črevesna mikrobiota; otroci; metabolni profil

KOLONIZACIJSKA REZISTENCA PROTI *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* PRED IN PO ANTIBIOTIČNI TERAPIJI

Sabina Žalig¹, Maja Rupnik^{1,2}

¹Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Taborska 8, Maribor;
²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (NLZOH), Prvomajska 1, Maribor
sabina.zalig1@um.si

Bakterija *Clostridium difficile* lahko kolonizira črevo le, če je črevesna mikrobiota v stanju neravnovesja, zato se bolezen pogosto pojavi po zdravljenju z antibiotiki. Da je intaktna črevesna mikrobiota ključna za zagotavljanje kolonizacijske rezistence dokazuje tudi visoka stopnja učinkovitosti fekalne transplantacije pri zdravljenju okužb s *C. difficile*.

V naši raziskavi smo proučevali interakcije med *C. difficile* in fekalno mikrobioto, pridobljeno pred in po antibiotični terapiji. V raziskavi so sodelovale tri prostovoljke, ki so prejemale 3-tedensko antibiotično profilakso, sestavljeno iz rifampicina (1 x 600 mg/dan) in doksiciklina (2 x 100 mg/dan). Vzoredno z antibiotiki so prostovoljke uživale še probiotik OMNiBiOTiC® 10 AAD. Vzorec fecesa so darovale dvakrat, tj. pred ali vsaj tri mesece po koncu terapije (intaktna mikrobiota) in tri dni po končani terapiji (porušena mikrobiota). V *in vitro* modelu smo preverjali vpliv izrabljenega gojišča in vegetativnih celic šestih sevov *C. difficile* na intaktno in porušeno mikrobioto. (Ko)kulture smo gojili 3 dni v anaerobni komori. V odvzetih vzorcih smo z metodo štetja na ploščah določali število *C. difficile* ter analizirali sestavo bakterijske združbe s sekvenciranjem na platformi Illumina MiSeq.

Vsi sevi *C. difficile* so se uspešno obdržali tako v porušeni, kot tudi intaktni mikrobioti, vendar pa je presenetljivo bilo celokupno število *C. difficile* signifikantno večje v kulkuri z intaktno mikrobioto ($p = 0,002$). V vzorcih z intaktno mikrobioto smo zaznali tudi signifikantno nižjo bakterijsko pestrost kot v vzorcih s porušeno mikrobioto ($p < 0,05$), kjer smo zaznali značilno več predstavnikov iz družin *Lachnospiraceae* in *Ruminococcaceae* ($p < 0,05$).

Rezultati so v nasprotju z drugimi študijami, ki so pri pacientih okuženih s *C. difficile* pokazale značilno nižjo diverziteteto kot pri zdravih prostovoljcih. Po drugi strani pa so rezultati v skladu s publikacijami, ki zagovarjajo pozitiven učinek vzoredne probiotične terapije k antibiotični terapiji za preprečevanje okužb s *C. difficile*. Čeprav v vzorcih odvzetih tri dni po antibiotični terapiji nismo zaznali značilno več predstavnikov iz probiotičnega pripravka, pa so ti vzorci vsebovali značilno več producentov butirata, ki so ključni igralci pri vzpostavljanju kolonizacijske rezistence proti *C. difficile*.

Ključne besede: črevesna mikrobiota; antibiotična terapija; *Clostridium difficile*

PRISOTNOST PATOGENE GLIVE *HISTOPLASMA CAPSULATUM* V JAMAH IN TRENUTNO STANJE HISTOPLAZMOZE V SLOVENIJI

Sanja Stopinšek¹, Saša Simčič¹, Tadeja Kotar², Romina Kofol¹, Janez Mulec³

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana;

²Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Japljeva 2, 1000 Ljubljana;

³Inštitut za raziskovanje krasa, Znanstvenoraziskovalni center SAZU, Titov trg 2, 6230 Postojna
sanja.stopinsek@mf.uni-lj.si

Histoplazmoza je pljučna bolezen, ki ima lahko za bolnike usodne posledice. V zadnjih letih je na voljo vse več poročil o prisotnosti glive *Histoplasma capsulatum* v nekaterih evropskih državah. Komerčni testni komplet ALPHA *Histoplasma* antigen EIA smo testirali kot možni alternativni pristop za odkrivanje histoplazme v okoljskih vzorcih. Prisotnost antigena histoplazme v vzorcih netopirskega gvana iz slovenskih jam ni bila potrjena z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) s specifičnimi oligonukleotidnimi začetniki za histoplazmiska antigena H in M. Jamarji so še posebej ranljiva populacija, če pridejo v stik z gvanom netopirjev v tropskih in subtropskih jamah. V skupini štirinajstih zdravih jamarjev, ki niso kazali kliničnih znakov ali simptomov histoplazmoze, ampak so pogosti obiskovalci jam, tudi na endemičnih področjih s histoplazmo, sta bila dva pozitivna na prisotnost antigena histoplazme v urinu. Specifični PCR pa je bil pri teh jamarjih negativen, tako v urinu kot serumu. V Sloveniji je bilo potrjenih pet primerov akutne pljučne histoplazmoze pri bolnikih, ki so se vrnil iz Severne in Južne Amerike po obisku tveganih lokacij, kot so jame z gvanom netopirjev, oziroma lokacije z visoko koncentracijo prahu v zraku. Zaenkrat ni dokazana avtohtona histoplazmoza med jamarji, ki obiskujejo jame v Sloveniji oziroma, da je gvano netopirjev vir *H. capsulatum*. Dejansko stanje primerov histoplazmoze med popotniki in jamarji je zaradi slabe dokumentiranosti verjetno podcenjeno. Ključnega pomena pri preventivi je pravilna uporaba ustrezne zaščitne opreme v endemskih področjih s histoplazmo ter širjenje informacij o tem patogenem mikrobu, zlasti pri ranljivih populacijah. Diferencialna diagnostika vročinskih respiratornih obolenj pri bolnikih, ki se vračajo iz endemskih področij, bi morala vključevati rutinsko obravnavo na morebitno okužbo s *H. capsulatum*.

Ključne besede: histoplazmoza; gvano netopirjev; jame

PRISOTNOST BAKTERIJE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* V ŽIVILIH V SLOVENIJI

Valerija Tkalec¹, Tanja Rikanovič¹, Simon Mesarič¹, Tamara Simonič¹, Barbara Skok¹,
Sandra Janežič^{1,2}, Maja Rupnik^{1,2}

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano Maribor, Prvomajska 1, 2000 Maribor;

²Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor

valerija.tkalec@nlzoh.si

Bakterija *Clostridium difficile* je eden najpogostejših povzročiteljev bolnišničnih črevesnih okužb, narašča pa število izvenbolnišničnih okužb. Predvsem obširni izbruhi v domačem okolju so bili povezani (a ne dokazano) s hrano, kot možnim virom. V Evropi so bakterijo v nizkem deležu (do 4,7 %) dokazali v mesu in mesnih izdelkih, njena prisotnost v zelenjavi in ostalih živilih pa je trenutno še relativno slabo dokumentirana.

V tem prispevku predstavljamo prisotnost spor *C. difficile* v živilih iz slovenskega trga v letih 2008 do 2017. Skupno smo pregledali 383 vzorcev, in sicer presno zelenjavo (n=205), presno meso in mesne izdelke (n=84), jajca (n=92) ter mleko (n=2). Bakterijo *C. difficile* smo dokazovali z bogatitvijo v selektivnem tekočem gojišču (CDA(LT) ali BHIS(T) s *C. difficile* selektivnim suplementom (Oxoid)). Bogatitveno kulturo smo nato tretirali z etanolom in *C. difficile* osamili na kromogenih selektivnih gojiščih (chromID™ *C. difficile*; BioMerieux). Izolate smo karakterizirali s PCR ribotipizacijo.

Bakterijo smo osamili iz 27 (13,2 %) vzorcev zelenjave, najpogosteje krompirja (n=22). Od vseh 92 testiranih jajc je bilo pozitivno le eno (1,0 %). Bakterije v mesu in mesnih izdelkih ter v mleku nismo zaznali. Izolate smo uvrstili v 17 različnih PCR ribotipov. Najpogostejši PCR ribotip je predstavljal ribotip 014/020, ki smo ga določili v kar polovici vzorcev. Slednji v Sloveniji prevladuje tudi pri ljudeh in je eden najpogostejših PCR ribotipov pri živalih. Pogosto smo določili še PCR ribotipe 053, 126 in 150, ostali so se večinoma pojavili le v enem vzorcu. Naši rezultati v skladu z ostalimi objavami kažejo, da je v Sloveniji prisotnost bakterije *C. difficile* v hrani načeloma nizka, vendar pa jo lahko pogosteje osamimo iz gomoljaste zelenjave.

Ključne besede: *Clostridium difficile*; hrana; PCR ribotip

PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI BAKTERIOFAGOV NA IN VITRO MODELU CELIČNE LINIJE CACO-2

Eva Zaletel¹, Jasmina Tušar¹, Nika Janež¹, Primož Šket³, Janez Plavec³,
Mojca Narat², Matjaž Peterka¹

¹CO BIK-Center za biotehnologijo, Tovarniška cesta 26, 5270 Ajdovščina;

²Biotehniška fakulteta, Groblje 3, 1230 Domžale;

³Kemijski inštitut, Hajdrihova 19, 1000 Ljubljana
matjaz.peterka@cobik.si

Bakteriofagna terapija je eden od najbolj preverjenih alternativnih pristopov za zdravljenje bakterijskih okužb ter je v nekaterih državah že desetletja v rutinski uporabi. Zaradi povečane odpornosti na antibiotike se je zanimanje za bakteriofagno terapijo razširilo. Testiranja v kombinaciji s prej objavljenimi rezultati nakazujejo visok potencial bakteriofagne terapije za zdravljenje bakterijskih okužb ter za preprečevanje bakterijskih kontaminacij. Znanje o biologiji, genetiki in antibakterijski učinkovitosti bakteriofagov je precejšnje, manjka pa vedenja o njihovem obnašanju v kompleksnih in dinamičnih združbah z bakterijskimi gostitelji. Za pridobitev zanesljivih podatkov, ki bi dokazovali varnost in učinkovitost bakteriofagov so potrebni eksperimenti na molekulskem nivoju in sodobno zasnovane klinične študije. Kot prvi korak na poti k kliničnim testiranjem smo razvili model humane celične kulture za ugotavljanje učinkovitosti bakteriofagov proti nekaterim bakterijam.

Celice Caco-2 smo okužili s sevom *Campylobacter jejuni* LBA65 ter ugotavljali kinetiko adhezije in invazije ob dodatku bakteriofaga PC5, kjer nismo zaznali vpliva glede na kontrolo (brez PC5). V drugem delu študije smo celice Caco-2 okužili s sevom *C. jejuni* LBA65 in ugotavljali vpliv dodanega bakteriofaga PC5 na skupno število bakterij. V prvih 24 h se je koncentracija bakterij znižala za 3 log CFU/ml, v naslednjih 24 h pa se je koncentracija bakterij zvišala do nivoja kontrole. Da bi dosegli popolno lizo bakterij smo bakteriofag PC5 dodali večkrat in v različnih časovnih intervalih, v kombinaciji z drugimi bakteriofagi ter antibiotikom eritromicinom. V vseh primerih smo po 24 urni koinkubaciji zaznali odporne bakterije. Glede na to, da bakteriofag PC5 za infekcijo gostitelja LBA65 potrebuje bakterijsko kapsulo, ki jo lahko analiziramo z metodo celičnega NMR (ang. whole cell NMR), lahko na podlagi razlik v spektrih ¹H, ¹³C, ³¹P med LBA65 kontrolo (brez PC5) in LBA65, ki je bil izpostavljen PC5 48 h, sklepamo, da je prišlo do sprememb na površinskih strukturah *C. jejuni* LBA65, ki so potrebne za uspešno infekcijo PC5. Hkrati smo z veznimi testi ugotovili porast prostih bakteriofagov, kar prav tako nakazuje na pojav sprememb na površinskih strukturah.

Ključne besede: Caco-2; *Campylobacter jejuni*; bakteriofagi

UČINKOVITOST BIOCIDNEGA SREDSTA TRIALKOKSISILANA NA RAZLIČNIH POVRŠINAH IN NJEGOV VPLIV NA RAZLIČNE BAKTERIJSKE VRSTE

Anamarija Zore¹, Karmen Godič Torkar¹, Brigita Tomšič², Almina Redžepagić³, Dani Burnik⁴

¹Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, Ljubljana;

²Naravoslovnotehniška fakulteta, Aškerčeva 12, Ljubljana;

³Dom starejših občanov Fužine, Nove Fužine 40, Ljubljana;

⁴Izinova d.o.o., Rikljeva 11, 4260 Bled

anamarija.zore@zf.uni-lj.si

Na tržišče prihajajo nova biocidna sredstva, ki naj bi preprečevala oprijemanje bakterij na različne površine, celo na tekstil. Tako naj bi preprečevala širjenje patogenih mikroorganizmov preko predmetov in površin. Obenem naj bi omogočala lažje čiščenje in manjšo uporabo detergentov.

V raziskavi smo preizkusili učinkovitost enega od biocidnih sredstev, ki deluje na osnovi trialkoksisilana s funkcionalno amonijevo skupino, ki je aktivna komponenta sredstva. Raziskavo smo izvedli na različnih površinah (kuhinjske površine, površine bolniških sob, tekstilne površine) v Domu starejših občanov Ljubljana Fužine. Učinkovitost smo preverjali za bakterijske rodove: *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, pri rodu *Bacillus* pa smo iskali *B. cereus*. Na površinah v kuhinji in v bolniških sobah smo najprej odvzeli brise za izolacijo mikroorganizmov za kar smo uporabili selektivna kromogena gojišča. Nato smo površine temeljito očistili in z zamegljevalnikom napršili biocidno sredstvo, pri čemer smo pred tem del površin zaščitili s folijo, ki je preprečila nanašanje biocidnega sredstva (kontrolne površine). Nato smo čez mesec dni ponovno odvzeli brise na površinah na katerih smo napršili biocidno sredstvo in na kontrolnih površinah. Površine smo vzorčili trikrat v mesečnih presledkih.

Razprševanje biocidnega sredstva je na kuhinjskih površinah statistično pomembno zmanjšalo skupno koncentracijo kolonijskih enot (KE) na šestih od sedmih površin. Pomembno se je zmanjšala koncentracija vrste *Bacillus cereus*, rodu *Pseudomonas* pa sploh nismo več našli pri nobenem od nadaljnjih vzorčenj. Biocidno sredstvo ni zmanjšalo koncentracij bakterij rodu *Staphylococcus* (*S.*); nekoliko se je zmanjšala le koncentracija *S. epidermidis*. Koncentracija *E. coli* je bila majhna že pri osnovnem vzorčenju in je biocidno sredstvo ni zmanjšalo pomembno. Enterobakterije so se tudi po razpršitvi biocidnega sredstva pojavljale brez pravila. Sklepamo, da biocidno sredstvo ni imelo učinka na enterobakterije ali pa jih je na površine preneslo osebe z rokami ali z živili. Biocidno sredstvo je pomembno zmanjšalo koncentracijo KE gliv.

Ključne besede: trialkoksisilan; protimikrobna aktivnost; dom starejših občanov

PROTIMIKROBNO IN PROTIADHEZIVNO DELOVANJE IZVLEČKOV KRAŠKEGA ŠETRAJA (*SATUREJA MONTANA*) TER NAVADNEGA BRINA (*JUNIPERUS COMMUNIS*)

Katarina Šimunović¹, Kaja Erzar¹, Anja Klančnik¹, Špela Zorko¹, Franz Bucar²,
Sonja Smole Možina¹

¹Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija;

²Oddelek za farmakognozijo, Institut za farmacevtske znanosti, Karl-Franzens Universität,
Universitätsplatz 4, 8010 Gradec, Avstrija
anja.klancnik@bf.uni-lj.si

Bakterije *Campylobacter jejuni* so ene izmed vodilnih povzročiteljev gastroenteritisa v svetu. Pogosta odpornost teh bakterij proti protimikrobnim snovem, vključno z antibiotiki je vzrok njihove razširjenosti in pogostih okužb s hrano, kar povečuje stroške javnega zdravstva. Nove strategije nadzora *C. jejuni* v živilsko predelovalni industriji ter zaščite pred okužbami vključujejo naravne bioaktivne snovi. Za učinkovit nadzor pa je potrebno poznati način delovanja bioaktivnih pripravkov, tako na planktonske kot odpornejše biofilmske celice. Preiskali smo mehanizem delovanja izvlečkov iz zeli kraškega šetraja (*Satureja montana*) in jagod navadnega brina (*Juniperus communis*), tradicionalno poznanih pripravkov območja Alp in Krasa za lajšanje prebavnih težav. Raziskali smo mehanizem protimikrobnega delovanja različnih pripravkov obeh rastlin, vključno z eteričnim oljem brina in izvlečkom iz odpadnega materiala po proizvodnji brinjevca in eteričnega olja brina. Raziskali smo tudi vpliv pripravkov na adhezijo in tvorbo biofilma *C. jejuni*.

Ob dodatku sub-inhibitornih koncentracij izvlečkov smo preko spremljanja akumulacije etidijevega bromida v celicah z merjenjem fluorescence določili vpliv učinkovin na inhibicijo delovanja bakterijskih izlivnih črpalk in z reagentom LIVE/DEAD BacLight njihov vpliv na prepustnost celične membrane. Ugotovili smo, da izvlečki kraškega šetraja in navadnega brina zmanjšajo prepustnost membrane in inhibirajo delovanje izlivnih črpalk. Izvleček iz odpadnega materiala po destilaciji je inhibiral rast bakterij, a ni vplival na akumulacijo barvila v celicah. Ker adhezija bakterij na površino predstavlja prvo fazo pri tvorbi odporne strukture biofilma, smo ovrednotili tudi vpliv izvlečkov na adhezijo *C. jejuni* na modelno površino polistirena in tvorbo biofilma v tekočem gojišču. Različni pripravki navadnega brina, vključno z izvlečkom iz odpadnega materiala imajo odlično protiadhezivno delovanje v koncentracijah, ki še ne vplivajo na rast bakterij. Prav tako zavirajo tvorbo biofilma, česar nismo zaznali pri izvlečku kraškega šetraja. Različni pripravki glede na koncentracijo sestavin modulirajo delovanje izlivnih črpalk in/ali inhibirajo adhezivne lastnosti bakterij. To omogoča njihovo širšo aplikacijo za omejevanje problema odpornosti bakterij *Campylobacter*.

Ključne besede: izvlečki rastlin; mehanizem delovanja; *Campylobacter jejuni*

AMNIJSKA MEMBRANA NE DELUJE PROTIMIKROBNO NA UROPATOGENE BAKTERIJE *ESCHERICHIA COLI*

Taja Železnik¹, Marjanca Starčič Erjavec², Mateja Erdani Kreft¹

¹Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana;

²Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana
mateja.erdani@mf.uni-lj.si

Zaradi zaskrbljujočega porasta odpornosti bakterij proti antibiotikom je iskanje alternativnih pristopov za zdravljenje bakterijskih okužb nujno. Amnijska membrana (AM) je notranja plast posteljice, ki zagotavlja podporo in zaščito zarodku/plodu. AM ima številne lastnosti, zaradi katerih je primerna za uporabo v regenerativni medicini, kot so npr. spodbujanje epitelizacije, protivnetno delovanje, zaviranje brazgotinjenja, angiogeno ter protiangiogeno delovanje, določene raziskave pa poročajo tudi, da amnijska membrana deluje protimikrobno. Namen naše raziskave je bil proučiti protimikrobno delovanje AM proti uropatogenim bakterijam *Escherichia coli* (UPEC). Protimikrobno aktivnost AM smo proučevali z difuzijsko metodo i) s koščkom AM v mehkem agarju, ii) s koščkom AM na trdnem agarju in iii) s homogenatom iz AM. V poskusih smo uporabili i) krioshranjevano AM (kAM) in ii) svežo AM (svAM), slednji tekom priprave in shranjevanja nista prišli v stik z antibiotiki ali antimikotiki, ter iii) krioshranjevano AM, pripravljeno po standardnem postopku za uporabo AM v oftalmologiji, ki je bila tekom priprave sprana z antibiotiki in antimikotikom ter krioshranjena v mediju z antibiotikom gentamicinom (kAM+atb). Ugotovili smo, da kAM in svAM ne zavirata rasti UPEC, medtem ko kAM+atb njihovo rast zavira. Da bi preverili, če njihovo rast zavira gentamicin ali protimikrobna učinkovina v AM, smo pripravili mutante kliničnih sevov UPEC, odporne proti gentamicinu. Dokazali smo, da kAM+atb ne zavira rasti proti gentamicinu odpornih mutant sevov UPEC, s čimer smo potrdili, da sama AM ne deluje protimikrobno, temveč da je protimikrobna aktivnost kAM+atb zgolj posledica prisotnosti gentamicina v mediju za krioshranjevanje. Tudi dolgotrajno spiranje kAM+atb s fosfatnim pufrom ni izničilo protimikrobne aktivnosti kAM+atb na UPEC, s čimer smo dokazali, da ima AM veliko sposobnost retencije antibiotika. Menimo, da bi bila AM zaradi te lastnosti primerna za uporabo v kliniki, in sicer kot nosilec za tarčno dostavo zdravilnih učinkovin in topično aplikacijo.

Ključne besede: amnijska membrana; uropatogene bakterije; protimikrobno delovanje

DIGITALIZACIJA IN AVTOMATIZACIJA RAZISKOVALNEGA OKOLJA IN LABORATORIJSKIH PROCESOV

Jana Erjavec, Klemen Zupančič, Matjaž Hren

BioSistemika d.o.o, Koprška ulica 98, 1000 Ljubljana
jerjavec@biosistemika.com

Danes laboratoriji izgledajo precej drugače kot so v času Alberta Einsteina ali Marie S. Curie. Količina znanstvenih podatkov raste in se podvoji vsaka tri leta. Kar 17 % podatkov se vsako leto izgubi, ker ti niso urejeni na sistematičen način. To je tudi eden od razlogov, da kar 54 % vseh raziskav ni ponovljivih. Zato je nujno, da raziskovalci začnejo uporabljati orodja, ki so že na voljo in si svoje delo organizirajo na tak način, da bo zagotovljena sledljivost in ponovljivost rezultatov. S tem se bo dalo podatke tudi večkrat uporabiti in izvajati obsežne primerjalne študije.

Tekom predavanja bomo spoznali dobre prakse in orodja, ki jih lahko vsak raziskovalec uporablja pri svojem delu. Večinoma so orodja brezplačna, nekatera celo že uporabljamo v našem zasebnem življenju. Prav tako se bomo pogovarjali o pomembnosti anotiranja podatkov, primerjali bomo papirnate laboratorijske dnevnik in elektronske dnevnik ter poudarili varnost podatkov. Pogledali bomo tudi v prihodnosti in sicer, kdaj lahko pričakujemo Internet Stvari (ang. Internet of Things”) v raziskovalnem okolju.

Ključne besede: digitalna orodja; elektronski laboratorijski dnevnik; avtomatizacija



PROTEIN ClbS BAKTERIJE *ESCHERICHIA COLI* JE DNA VEZAVNI PROTEIN

Katja Molan, Zdravko Podlesek, Erik Rihtar, Darja Žgur Bertok

Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, 1000 Ljubljana
katja.molan@bf.uni-lj.si

Črevesna mikrobiota ima pomembno vlogo za razvoj in zdravje človeka. Pomemben predstavnik je tudi bakterija *Escherichia coli* (*E. coli*). Patogeni mikroorganizmi se običajno ločijo od normalne mikrobiote. Izzovejo posebne odzive gostiteljske celice, kar prispeva k preživetju in razmnoževanju patogena. Gen *clbS* je del otoka patogenosti *pks*. Na otoku so genski zapisi za sintezo kolibaktina - genotoksin, ki povzroča dvojne prelome DNA in spodbuja nastanek kolorektalnega raka. *pks* je prisoten pri sevih *E. coli* iz filogenetske skupine B2 in tudi pri nekaterih drugih bakterijskih vrstah. Pri *E. coli* iz filogenetske skupine B2 je v visokem odstotku prisoten tudi otok patogenosti *PAI_{usp}*. *PAI_{usp}* zapisuje genotoksin *Usp*, ki tako kot kolibaktin povzroča prelome DNA. Prevalenca izolatov *E. coli* iz filogenetske skupine B2 z leti narašča. Prisotni otoki patogenosti in genotoksini bakteriji povečajo virulenco. Producent genotoksina se mora zaščititi pred delovanjem lastnega toksina. Pokazali smo da protein *Imu2*, katerega genski zapis je del otoka *PAI_{usp}*, zaščiti producenta pred genotoksinom *Usp*. Mehanizem zaščite še ni povsem pojasnjen. Rezultati nakazujejo, da se *Imu2* verjetno nespecifično veže na DNA. Glede na objavo Bossuet-Greif in sodelavcev v kateri so pokazali avtotoksičen fenotip seva z okvarjenim genom *clbS*, se je porodilo vprašanje ali protein *ClbS* nudi zaščito tudi pred genotoksinom *Usp*. Pokazali smo, da prisotnost gena *clbS* prepreči inhibicijo rasti seva *E. coli* genotipa *usp⁺ imu1-3⁻*. To nakazuje na širšo zaščitno funkcijo proteina *ClbS*, tudi proti genotoksinu *Usp*. Z metodo EMSA smo pokazali, da protein *ClbS* zaščiti DNA pred degradacijo s kolicinom E7 in pred *Usp*. Verjetno pri interakciji proteina *ClbS* z DNA, tako kot pri *Imu2*, pride do nespecifične vezave proteina z DNA.

Ključne besede: *E. coli*; genotoksini; zaščita producenta

IDENTIFIKACIJA NOVIH VRST HELIKOBAKTROV PRI LISICAH: PRIMERJAVA FILOGENIJE NA OSNOVI IZBRANIH GENOV IN OSREDNJEGA GENOMA

Bojan Papić, Igor Gruntar, Matjaž Ocepek, Mateja Pate, Urška Zajc, Darja Kušar

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo,
Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
bojan.papic@vf.uni-lj.si

Želodčni helikobaktri naseljujejo želodčno sluznico tudi pri mesojedih. Zaradi težavne izolacije in kulture so jih do sedaj uspešno osamili le iz nekaterih živalskih vrst, kot so psi, mačke in zveri v ujetništvu. Izolacija teh mikroorganizmov iz divje živečih mesojedov je zaradi specifičnega ravnanja z vzorcem še posebej zahtevna. V okviru našega dela smo iz vzorcev želodčne sluznice navadnih lisic (*Vulpes vulpes*), odstreljenih v okolici Ljubljane, uspešno pridobili sedem bakterijskih izolatov. Z metodo PCR smo ugotovili, da vsi izolati pripadajo rodu *Helicobacter* in s tem, vsaj po naših podatkih, potrdili prvo uspešno osamitev helikobaktrov iz lisic. Zaporedja celotnih genomov izolatov smo določili s sekvenciranjem naslednje generacije (ang. *next-generation sequencing*, NGS) na platformi Ion Torrent PGM. Izolatom smo opredelili filogenijo na osnovi (i) zaporedij izbranih posameznih genov (nukleotidna zaporedja 16S rDNA, 23S rDNA, *hsp60* in *gyrA*) in njihovih produktov (aminokislinska zaporedja GyrA in Hsp60) ter (ii) konkateneranih nukleotidnih in aminokislinskih zaporedij genov osrednjega genoma (ang. *core genome*). Za poravnavo zaporedij in njihovo filogenetsko analizo smo uporabili programe ClustalW, EDGAR in MEGA. Naši rezultati kažejo, da je protein GyrA najboljši filogenetski marker, ki daje precej skladno filogenijo z osrednjim genomom, medtem ko so ostali markerji (vključno z genom 16S rDNA) manj primerni za ugotavljanje filogenije helikobaktrov. Na podlagi filogenetskega drevesa GyrA, vrednosti *average nucleotide identity* (ANI) in *digital DNA-DNA hybridization* (DDH) ter filogenije osrednjega genoma smo ugotovili prisotnost vrst *Helicobacter felis* in *Helicobacter baculiformis*, dva para izolatov pa sta pripadala dvema novima vrstama, ki sta se uvrščali v skupino želodčnih helikobaktrov. Dve novi kandidatni vrsti dopolnjujeta 36 uradno sprejetih in šest kandidatnih vrst helikobaktrov. Za mnoge izmed njih zaporedja izbranih filogenetskih markerjev in/ali celotnih genomov niso dostopna. Zaradi pomanjkljive filogenetske opredelitve rodu *Helicobacter* je potrebno sekvenciranje večjega števila izolatov.

Ključne besede: *Helicobacter*; filogenija; NGS

MULTIDISIPLINARNA ŠTUDIJA »POZABLJENEGA« VISKIJA

Nataša Toplak, Anja Verenovski, Marko Mitar, Miha Kovač, Simon Koren

Omega d.o.o., Dolinškova 8, 1000 Ljubljana, Slovenia

natasa.topak@omega.si

V kategoriji žganih alkoholnih pijač med najbolj priljubljene pijače na svetu spada viski. Postopek pridobivanja viskija je sestavljen iz več korakov, ki se delno razlikujejo glede na državo pridelave. Prvi korak je fermentacija slada različnih žit, najpogosteje ječmena, pri čemer nastane alkohol. Sledi destilacija in staranje v hrastovih sodih ter končna filtracija. Pred končno uporabo in stekleničenjem destilat razredčijo na končno koncentracijo alkohola približno 40 % .

Raziskovalni izziv za naš laboratorij je predstavljal pozabljen odprt viski, v katerem smo opazili obilno motno usedlino. Zaradi predznanja o pridelavi in sestavi viskija smo izhajali iz stališča, da ni primerno gojišče za mikroorganizme. V raziskavi smo uporabili multidisciplinaren pristop, v katerem smo z uporabo osnovnih kemijskih in mikrobioloških metod, pa tudi z najsodobnejšo molekularno biološko analizo, skušali odgovoriti na vprašanje, kaj se je zgodilo z viskijem tekom let.

Z meritvijo pH smo ugotovili, da se le-ta tekom let ni spremenil, medtem ko smo z metodo FTIR dokazali, da se je koncentracija alkohola v viskiju znižala. Spektrofotometrična analiza je potrdila motnost vzorca. Z viskijem so bila inokulirana različna mikrobiološka gojišča in pripravljeno barvanje po Gramu. Iz usedline v viskiju je bila izolirana DNK in s pomočjo PCR pomnožen del gena 16S rRNA bakterij in podenote D2 gena LSU, ki kodira del rRNA pri glivah. Kot zadnja tehnika je bila uporabljena tehnologija Ion Torrent za analizo metagnomskih skupnosti bakterij in gliv. Sekvenirali smo zaporedje sedem hipervariabilnih regij gena 16S rRNA in podenote D2 LSU. Določili smo 67 različnih bakterijskih družin in 6 glivnih družin, sestava združb pa kaže na verjetno kontaminacijo viskija po oralni poti.

V naši raziskavi smo prikazali uspešno povezovanje in prepletanje različnih vej bioloških in kemijskih znanosti ter hitro, zanesljivo, občutljivo in cenovno ugodno identifikacijo mikroorganizmov v skupnosti z naslednjo generacijo sekveniranja. Pri tem smo potrdili veliko uporabnost te tehnike za analizo zahtevnih vzorcev mikrobnih skupnosti, ki jih ni mogoče gojiti na klasičnih gojiščih.

Ključne besede: viski; metagenomika; ion torrent

ABSOLUTNA KVANTIFIKACIJA STANDARDA Z DIGITALNIM PCR (dPCR)

Nataša Toplak¹, Anja Klančnik², Gaja Pretnar², Špela Zorko², Minka Kovač¹,
Barbara Jeršek², Sonja Smole Možina²

¹Omega d.o.o., Dolinškova 8, 1000 Ljubljana;

²Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana
natasa.toplak@omega.si

Digitalni PCR (dPCR) je najnovejša generacija verižne reakcije s polimerazo (PCR). Metoda se uporablja za določanje absolutnega števila tarčnih kopij DNA v vzorcu ali za iskanje redkih tarč znotraj preiskovanega vzorca. Pri tem je kvantifikacija DNA mogoča brez uporabe standardov. Predvsem zaradi izjemne občutljivosti in specifičnosti se dPCR uporablja za pripravo standardov preiskovanih vzorcev, ki se lahko kasneje uporabijo za pripravo standardnih krivulj za absolutno kvantifikacijo iskanih tarčnih molekul z metodo kvantitativnega PCR (qPCR).

V pričujočem delu smo najprej z metodo dPCR natančno kvantificirali število kopij DNA bakterij vrste *Campylobacter jejuni* v vzorcu. Le-ta je nato služil za pripravo standardnih krivulj z metodo qPCR ter s tem nadaljnjo kvantifikacije vzorcev, pridobljenih iz različnih eksperimentov z bakterijami *C. jejuni*.

Za natančno kvantifikacijo števila kopij DNA smo najprej izolirali DNA bakterij *C. jejuni* ter pripravili tri redčitve izvornega vzorca. Vsako izmed redčitev smo pripravili skupaj z komponentami za dPCR, oligonukleotidnimi začetniki in hidrolizirajočo sondo za *C. jejuni* specifičen gen *ccoN* (Toplak in sod., 2012); ter nanegli na polprevodni nanofluidni čip z 20000 reakcijskimi mesti. Po končanem pomnoževanju smo izmerili fluorescenco in podatke analizirali v programu v oblaku. Preko te analize smo določili 78×10^7 število kopij DNA v 1 μ l osnovnega vzorca. Nato smo s tem določenim številom kopij DNA pripravili standardno krivuljo z metodo qPCR. Učinkovitost pomnoževanja je bila >90%, korelacijski koeficient 0,99 in linearno območje detekcije med $7,12 \times 10^6$ ter $7,12 \times 10^1$ kopij, najnižja meja detekcije je bila pri 7 ± 5 kopij DNA.

S preliminarno študijo smo prikazali uporabnost metode dPCR za hitro, zanesljivo, občutljivo ter cenovno ugodno kvantifikacijo iskanih tarčnih molekul DNA bakterij vrste *C. jejuni* v vzorcih brez hkratne prisotnosti standardov.

Ključne besede: dPCR; absolutna kvantifikacija; *Campylobacter jejuni*



GLICEROLNI METABOLIZEM PRI *AUREOBASIDIUM PULLULANS* IN *AUREOBASIDIUM SUBGLACIALE*

Martina Turk, Inge Sotlar, Nina Gunde-Cimerman, Cene Gostinčar

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, Ljubljana
martina.turk@bf.uni-lj.si

Ekstremna okolja naseljujejo številni mikroorganizmi, med njimi sta tudi poliekstremofilni črni kvasovki *Aureobasidium pullulans* (iz Sečoveljskih solin) in *Aureobasidium subglaciale* (iz arktičnega ledeniškega ledu). Življenje v skrajnostnih razmerah jim omogoča kompleksna kombinacija molekulskih, fizioloških in morfoloških prilagoditev. Kopičenje glicerola v celicah je ena od glavnih prilagoditev gliv na osmotski stres in tudi na stres, povzročen z nizko temperaturo.

V raziskavi smo pri kvasovkah *A. pullulans* in *A. subglaciale* z verižno reakcijo s polimerazo v realnem času ugotavljali vpliv povišane koncentracije soli, nizke temperature ali kombinacije obojega na prepisovanje izbranih genov, katerih produkti sodelujejo v metabolizmu glicerola (sinteza, razgradnja in transport).

Vsaka od vrst vsebuje gene za od NAD⁺-odvisno glicerol-3-fosfat dehidrogenazo (*GPD1*), glicerol-3-fosfat fosfatazo (*GPP1*), mitohondrijsko glicerol-3-fosfat dehidrogenazo (*GUT2*), dve kopiji glicerol kinaze (*GUT1*) in več kot deset kopij gena za transporterski protein, podoben glicerol-protonskem simporterju (*STL1*) iz superdružine MFS transporterjev. Transkripcijski odziv na slani stres je bil večji v primerjavi z odzivom na stres, povzročen z nizko temperaturo ter je bil bolj dosleden pri *A. pullulans* v primerjavi z *A. subglaciale*, kar odraža različno toleranco na stres in ekološko strategijo posamezne vrste.

Ključne besede: transkripcijski odziv; slanostni stres; črne kvasovke

ZMOŽNOST RAZGRADNJE RASTLINSKIH POLISAHARIDOV IN GEOGRAFSKA RAZPROSTRANJENOST VAMPNIH IN ČREVESNIH VRST BAKTERIJ RODU *PREVOTELLA*

Tomaž Accetto, Gorazd Avguštin

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale
tomaz.accetto@bf.uni-lj.si

Vrste rodu *Prevotella* so prepoznane kot ena od glavnih bakterijskih skupin udeleženih v razgradnji polisaharidov v vampu prežvekovalcev po vsem svetu. Od okoli petdesetih vrst rodu je le pet iz vampa. Nedavna bioinformacijska analiza pretežno ustnih vrst je pokazala raznolikost v naborih polisaharidov, ki naj bi jih bile te vrste sposobne razgrajevati, pogosto osredotočenost na razgradnjo gostiteljevih glikanov in tudi močno redukcijo možnosti razgradnje polisaharidov v nekaterih, predvsem periodonto patogenih vrstah. Tukaj bomo predstavili podobno analizo vampnih vrst rodu *Prevotella*, ki so bile sekvencirane pod okriljem projekta Hungate 1000 skupaj s sekvencami sevov prevotel, ki smo jih pridobili iz fecesa prašičev. Pregledali smo 15 vampnih in 8 črevesnih vrst, skupaj 51 sevov. Analiza genskih skupkov, ki sodelujejo pri razgradnji polisaharidov (PUL) in encimov, udeleženih pri tem, je razkrila splošno usmerjenost v razgradnjo hemiceluloz in pektina, a spet z mnogimi variacijami: medtem ko sta, recimo, *P. ruminicola* in *P. bryantii* generalista, je *P. brevis* specializirana za razgradnjo pektina in glivnega α -manana. Da bi preverili točnost bioinformacijskih napovedi, smo ugotavljali rast dvajsetih sevov z različnimi polisaharidi. Za razgradnjo škroba, fruktana, ksilana in pektina smo ugotovili dobro ujemanje, medtem ko smo za ksiloglukan in gluko/galaktomanan opazili več lažno negativnih sevov, kar je po vsej verjetnosti posledica še neodkritih PUL, ki jih niso opazili pri rodu *Bacteroides*, od koder sicer prihaja večina eksperimentalno potrjenih PUL. Lažno pozitivni pa so bili nekateri sevi pri razgradnji kvasnega α -manana. Kot kaže, so ti PUL specializirani za razgradnjo komponent celičnih sten vampnih gliv. Vrednotili smo tudi prispevek analiziranih sevov k ekosistemu vampa s klasifikacijo metagenomskih odčitkov. Prikazali bomo rezultate, pridobljene iz podatkov velikih vampnih metagenomskih študij iz ZDA, Nove Zelandije in Škotske.

Ključne besede: *Prevotella*; vamp; polisaharidi



GLAVNI POVZROČITELJ BOLEZNI MEHKIH GNILOB ORHIDEJ PREDSTAVLJA POTENCIALNA NOVA VRSTA IZ RODU *DICKEYA*

Špela Alič^{1,2}, Tina Naglič^{1,3,#}, Magda Tušek Žnidarič¹, Frédérique Van Gijsegem⁴,
Jacques Pédrón⁴, Matjaž Peterka³, Maja Ravnikar^{1,3}, Tanja Dreo^{1,3}

¹Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Jamova 39, 1000 Ljubljana;

³COBIK – Center odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo,
Tovarniška cesta 26, 5270 Ajdovščina;

⁴UPMC Univ Paris 06, UMR 7618, iEES Paris (Institute of Ecology and Environmental Sciences),
7 quai Saint Bernard, F-75005 Pariz, Francija;

#Trenutni naslov:

Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Univerza v Ljubljani, Ljubljana
spela.alic@nib.si

Bolezni mehkih gnilob močno omejujejo produkcijo številnih agrikulturno pomembnih rastlin po celem svetu, kot na primer krompir, paradižnik in orhideje. Trenutno ni na voljo nobenega učinkovitega sredstva za preprečevanje in nadzor te bolezni, kar povzroča nezanemarljive ekonomske izgube. Cilj naše raziskave je izolacija in identifikacija povzročiteljev mehkih gnilob orhidej (*Phalaenopsis* sp.) in preučiti možnosti biokontrole povzročiteljskih bakterij s pomočjo bakteriofagov.

Orhideje z razvitimi bolezenskimi znaki mehkih gnilob smo vzorčili v rastlinjaku za komercialno vzgojo orhidej. Izolirane bakterije so bile na podlagi morfoloških lastnosti, delnega sekvenciranja 16S rDNA, *fliC* in *dnaX* ter izborom biokemijskih testov uvrščene v rod *Dickeya*. Z nobenim od izvedenih testov ni bilo mogoče določiti vrste izoliranih bakterij, zato smo iz vseh izolatov izbrali 2 reprezentativna predstavnika in jima sekvencirali celotna genoma. Pridobljena osnutka genomov smo vključili v obsežnejšo primerjalno analizo genomov. Rezultati analize povprečnih nukleotidov (ANI) in analize na osnovi zaporedij več lokusov (MLSA) so novo sekvencirana izolata, skupaj še z dvema predstavnikoma *Dickey* (*Dickeya* sp. MK7 in NCPPB 3274), identificirali kot novo vrsto iz rodu *Dickeya*. Genomsko določeno taksonomsko in filogenetsko umestitev potencialne nove vrste *Dickeya* smo nadalje analizirali še na fenotipskem nivoju. Agresivnost izolatov je bila fenotipsko testirana na modelnih rastlinah, in sicer na gomoljih krompirja, belgijskem radiču in orhidejah. Na vseh testnih rastlinah so se predstavniki nove vrste izkazali za agresivnejše od ostalih vrst *Dickeya*. Poleg tega pa so v testu izvedenem na rastlinah krompirja pokazali sposobnost preživetja in širjenja po rastlina krompirja, kar nakazuje potencialno nevarnost, ki jo predstavlja nova vrste tudi za poljščine kot je krompir. Vzporedno z raziskavami smo izolirali bakteriofage aktivne proti bakterijskim izolatom in proučevali možnosti biokontrole identificiranih povzročiteljev bolezni s pomočjo bakteriofagov.

Ključne besede: *Dickeya*; nova vrsta; genomika

VPLIV SORODSTVENE DISKRIMINACIJE NA HORIZONTALNI PRENOS GENOV PRI BAKTERIJI *BACILLUS SUBTILIS*

Katarina Belcijan, Ines Mandić Mulec, Polonca Štefanič

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Katedra za mikrobiologijo,
Večna pot 111, 1000 Ljubljana
katarina.belcijan@gmail.com

Naravno kompetentni sevi *Bacillus subtilis* so sposobni privzema proste DNA iz okolja in njenega vključevanja v genom s homologno rekombinacijo. S tem lahko sevi popravijo poškodovano DNA ali pridobijo zapise za nove lastnosti, vendar je poznavanje izmenjave DNA med različnimi sevi te bakterije še vedno slabo razumljeno. Med rojenjem sevov *B. subtilis* po površini opazimo, da se roji sorodnih («kin») sevov združujejo, med roji manj sorodnih («nonkin») sevov pa se pojavi vidna mejna linija. Pojav imenujemo sorodstvena diskriminacija, saj se sevi drugače vedejo do sorodnih, kot do manj sorodnih. Predhodne raziskave so nakazale, da na liniji med »nonkin« roji prihaja do stresnega odziva, zato smo predpostavili, da lahko interakcije med sevi na liniji pospešijo horizontalni prenos genov.

Vzorčili smo na stiku in na liniji med roji sevov in določili skupno število celic in deleže celic, ki so sprejele DNA drugega seva. Transformacija je bila na stiku rojev »nonkin« sevov pogostejša, kot na stiku rojev »kin« sevov. Izražanje gena *comGA*, (transporter ComGA sodeluje pri privzemu DNA) je bilo prav tako višje na liniji med »nonkin« roji. To nakazuje, da antagonistične interakcije vplivajo na razvoj kompetence in s tem na višji privzem DNA drugega seva. Na stiku »kin« rojev in na liniji med »nonkin« roji smo določali tudi koncentracijo DNA, vendar nismo našli signifikantnih razlik med »kin« in »nonkin« sevi. Mehanizem izmenjave za zdaj ni poznan, vendar naši rezultati kažejo, da je sorodnost pomembna pri frekvenci prenosa genov med sevi.

Ključne besede: sorodstvena diskriminacija; izmenjava DNA; *Bacillus subtilis*

INTERAKCIJA SEVA *BACILLUS SUBTILIS* PS-216 Z MUTANTI *CAMPYLOBACTER JEJUNI* NCTC 11168

Andi Erega, Katarina Šimunović, Anja Klančnik, Polonca Štefanič,
Ines Mandič Mulec, Sonja Smole Možina

Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, Ljubljana
sonja.smole@bf.uni-lj.si

Bakterije rodu *Campylobacter* so najpogostejši vzrok bakterijskega gastroenteritisa, perutnina pa največji naravni rezervoar vrste *C. jejuni*. Odpornost *C. jejuni* proti klasičnim protimikrobnim sredstvom predstavlja vse večje tveganje in povečuje potrebo po novih načinih nadzora kontaminacije s kampilobaktri. V tem smislu so lahko ključne medvrstne mikrobne interakcije. Bakterije *Bacillus subtilis* so sporogene bakterije s potencialnim probiotičnim delovanjem in posledično vplivom na patogene črevesne bakterije. Uporaba *B. subtilis* za omejevanje kontaminacije in okužb s *C. jejuni* je novo raziskovalno področje, razumevanje načina delovanja bakterij *B. subtilis* na *C. jejuni* ter njuna interakcija pa eno od glavnih ciljev.

Potencialne mehanizme odziva bakterij *C. jejuni* na delovanje *B. subtilis* smo testirali s 17 mutanti *C. jejuni* NCTC 11168 z delecijami v genih, pomembnih predvsem pri: (I) odpornosti na protimikrobne snovi (npr. $\Delta cmeB$ in $\Delta cj1687$), (II) virulenci in odzivu na okoljske stresne dejavnike (npr. $\Delta racR$, $\Delta pseB$ in $\Delta hspR$), (III) transportu železa ($\Delta cj1661-1663$) in (IV) komunikaciji ($\Delta luxS$). Določali smo kolonijske enote (CFU/mL) prosto plavajočih in celic, pritrjenih na polistiren ter tako ugotavljali vpliv interakcije mutant *C. jejuni* z *B. subtilis* na preživetje in adhezijo po 24 urni inkubaciji. Ugotovili smo, da je prisotnost delujoče črpalke Cj1687 izrednega pomena za preživetje *C. jejuni* v ko-kulturi z *B. subtilis*. Učinek se odraža v razliki koncentracije kultivabilnih celic že po 24 urah ($<1 \cdot 10^2$ CFU/mL mutanta, $5 \cdot 10^4$ CFU/mL divjega tipa). Mutacije v genih *hspR*, *racR* in *pseB* v primerjavi z divjim tipom niso bistveno vplivale na preživetje *C. jejuni* v ko-kulturi z *B. subtilis*, ampak so vplivale na adhezijo, saj je bila ta v ko-kulturi mutant bistveno manjša. Dosedanji rezultati nakazujejo, da je več različnih mehanizmov vključenih v obrambo bakterij *C. jejuni* pred delovanjem *B. subtilis* oz. v njuno interakcijo. Razumevanje teh interakcij je nujno za vpeljavo novih načinov nadzora/zmanjšanja okužb z bakterijami *C. jejuni* z uporabo bakterij *B. subtilis*

Ključne besede: *Campylobacter jejuni*; mehanizem mikrobne interakcije; *Bacillus subtilis*

INFEKTIVNOST RASTLINSKIH VIRUSOV V VZORCIH VTOKA V ČISTILNO NAPRAVO

Katarina Bačnik, Anja Pecman, Ion Gutiérrez-Aguirre, Nataša Mehle, Denis Kutnjak,
Maja Ravnikar

Nacionalni Inštitut za Biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo
katarina.bacnik@gmail.com

Vodni viri postajajo z globalizacijo, naraščanjem prebivalstva ter posledično širitvijo kmetijskih dejavnosti vse bolj podvrženi onesnaženju tudi z biološkimi agensi. Nove tehnologije, predvsem metode sekvenciranja naslednje generacije (NGS), omogočajo generičen vpogled v prisotnost številnih mikrobov v vodi. Poleg človeških in živalskih virusov so v vodi prisotni tudi rastlinski patogeni virusi, ki se kljub nizkim koncentracijam lahko prenašajo in okužujejo rastline.

Številni rastlinski virusi prisotni v sadju in zelenjavi preživijo pot skozi prebavni trakt ljudi ali živali ter tako preko kanalizacije zaidejo v okoljske vode, ki se nadalje lahko uporabljajo za namakanje rastlin. Zaradi obstojnosti v okolju in enostavne mehanske prenosljivosti, njihova prisotnost v vodi predstavlja potencialno nevarnost za okužbo ekonomsko pomembnih rastlin, zato je pomembno, da viruse pravočasno zaznamo in s tem preprečimo pojav bolezni pri gostiteljskih rastlinah.

Analizirali smo vzorec vtoka v Centralno čistilno napravo Domžale - Kamnik, pri čemer smo viruse koncentrirali s CIM monolitno kromatografijo, nato pa z metodo kvantitativne verižne reakcije s polimerazo (qPCR) zaznali RNA molekule rastlinskih virusov, kot so virus zelene lisavosti in mozaika kumar (*Cucumber green mottle mosaic virus*; CGMMV) ter virus blage lisavosti paprike (*Pepper mild mottle virus*; PMMoV). Prisotnost virusov v vodah ima epidemiološki pomen, vendar zaznava virusa z molekularnimi metodami še ne pomeni, da je v vzorcu prisoten infektiven virus. Za rastlinske viruse, ki smo jih dokazali v vodnih virih je znano, da so v okolju relativno stabilni, vendar možnost preživetja v vodi in njihovo širjenje z vodo ni dobro raziskano, zato smo z biološkimi poskusi z mehansko inokulacijo testnih rastlin preverjali njihovo infektivnost.

Glede na nova dognanja o prisotnosti in infektivnosti virusov v vodah bo v prihodnosti potrebno razmišljati o nadzoru vodnih virov, ki jih uporabljamo kot pitno vodo in vodo za zalivanje ali namakanje. Poleg že obstoječih indikatorjev onesnaženosti vode, bi lahko spremljali tudi prisotnost rastlinskih virusov.

Ključne besede: rastlinski virusi; okoljske vode; infektivnost

SORODSTVENA DISKRIMINACIJA IN PROSTORSKO IZKLJUČEVANJE PRI BAKTERIJI *BACILLUS SUBTILIS*

Barbara Kraigher, Polonca Štefanič, Martina Štampar, Rebeka Grabar, Ana Cerovečki, Monika Butolen, Ines Mandić Mulec

Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, 1000 Ljubljana
barbara.kraigher@bf.uni-lj.si

Bakterije med seboj tekmujejo za hranila, pri čemer učinkovito zasedanje novih površin predstavlja veliko prednost. *Bakterija Bacillus subtilis* je sposobna relativno hitrega premikanja po poltrdnih površinah s pomočjo rojenja, ki je koordinirano skupinsko vedenje, za katerega so potrebni bički in surfaktanti. Opazili smo, da so interakcije med roji odvisne od sorodstvene povezanosti med sevi, in sicer manj sorodni sevi ('non kin') ob stiku roječih celic med seboj tvorijo vidno mejno linijo, medtem ko se zelo sorodni sevi ('kin') med seboj zlijejo (Štefanič in sod., 2015). Ta pojav bi lahko vplival na uspešnost zasedanja površine glede na to, kateri sevi se znajdejo v bližini. Da bi to preverili, smo pripravili različno fluorescenčno označene seve in jih kot mešanice nacepili na gojišče za rojenje. S pomočjo mikroskopske analize in fluorimetrije smo ugotovili, da se 'non kin' sevi med seboj prostorsko izključujejo, medtem ko so 'kin' sevi lahko rojili skupaj po isti površini. V mešanici 'non kin' sevov je večinoma celotno površino zasedel le en, številčno prevladujoč sev. Včasih je prišlo tudi do t.i. pojava segregacije, ko sta površino zasedla oba 'non kin' seva, vendar sta bila med seboj jasno prostorsko ločena. Ta pojav smo opazili pogosteje, če smo začetno mešanico celic redčili in le, če sta bila nacepljena v razmerju 1:1. Nasprotno pa so mešanice 'kin sevov' vedno rojile skupaj (tudi če razmerje med njimi ni bilo 1:1), kar kaže na kooperativnost med 'kin' sevi. Podobno smo ugotovili pri poskusih kolonizacije korenin *Arabidopsis thaliana*, kjer so 'kin' mešanice sevov zasedle korenino skupaj, medtem ko je po inkubaciji rastline v gojišču z mešanico 'non kin' sevov korenino zasedel večinoma le en sev, kar vse kaže na antagonistične interakcije med manj sorodnimi sevi. Zaključimo lahko, da bi sorodstvena diskriminacija lahko predstavljala mehanizem izključevanja genetsko manj sorodnih sevov pri kolonizaciji površin z rojenjem in tako omogočala kooperativno premikanje genetsko enakih ali zelo sorodnih sevov pri zasedanju novih površin.

Ključne besede: rojenje; sorodstvena diskriminacija; *Bacillus subtilis*

Stefanic P, Kraigher B, Lyons NA, Kolter R, Mandic-Mulec I. Kin discrimination between sympatric *Bacillus subtilis* isolates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(45):14042-14047

INTERAKCIJA BAKTERIJ *CAMPYLOBACTER JEJUNI* IN *BACILLUS SUBTILIS*

Katarina Krapež, Erika Logar, Katarina Šimunović, Anja Klančnik, Polonca Štefanič,
Ines Mandič Mulec, Sonja Smole Možina

Oddelek za Živilstvo, Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, Ljubljana
sonja.smole@bf.uni-lj.si

Bakterije rodu *Campylobacter* so vodilni povzročitelji črevesnih okužb ljudi, povezanih z uživanjem kontaminirane hrane. Njihov glavni življenjski prostor je črevesje ptic, najpogostejši vzrok okužbe pa neustrezno toplotno obdelano piščančje meso. Pri tem je adhezija *C. jejuni* na živila ali površine v živilsko-predelovalni industriji pomembna za ohranjanje in širitev tega patogena v okolju. Novejša alternativna metoda nadzora in zmanjšanja prisotnosti patogenih bakterij v prebavnem traktu piščancev vključuje dodatek probiotičnih bakterij, med katere sodijo tudi bakterije *Bacillus subtilis*. Socialne interakcije bakterij v črevesju so zelo intenzivne, a neraziskane. Preučevali smo jih v ko-kultivaciji in ko-adheziji *C. jejuni* in *B. subtilis* pod različnimi *in-vitro* pogoji, ter ovrednotili število kolonijskih enot v posamezni kulturi ter v ko-kulturi bakterij.

Ko-kultivacija *B. subtilis* in *C. jejuni* ni vplivala na rast *B. subtilis*, vplivala pa je na rast *C. jejuni*. Ko-kultivacija v pogojih mikroaerofilne atmosfere pri temperaturah 37°C ali 42°C, ki omogočajo kampilobaktrom rast je močno zmanjšala fitnes *C. jejuni*. Nasprotno pa je ko-kultivacija v pogojih aerobne atmosfere pri temperaturah 20°C ali 37°C, ki za rast kampilobaktrov niso optimalni, zaščitno vplivala na preživetje *C. jejuni*. Podobno je tudi ko-adhezija *B. subtilis* in *C. jejuni* na abiotski polistirenski površini vplivala na adhezijo *C. jejuni*, saj je zmanjšala število pritrjenih kampilobaktrov. V nadaljevanju smo testirali morebitni vpliv izrabljenega gojišča, v katerem smo predhodno gojili *B. subtilis*, na rast bakterij *C. jejuni*. Ta je bila v izrabljenem gojišču le delno zavrta. Sekundarni metaboliti, ki jih proizvaja *B. subtilis*, sami torej neznatno vplivajo na rast *C. jejuni* v primerjavi z aktivno rastočimi bakterijami *B. subtilis* pri ko-kultivaciji. Zaključujemo, da *B. subtilis* s kompetitivnim in antagonističnim delovanjem lahko izrine *C. jejuni* iz njegovega življenjskega prostora. Dodatek bakterij *B. subtilis* torej predstavlja učinkovito strategijo omejevanja okužb s *C. jejuni* ter zanimivo in aktualno raziskovalno področje.

Ključne besede: mikrobna interakcija; *C. jejuni*; *B. subtilis*

MASOVEN POJAV ŽELEZOVIH BAKTERIJ V KRAŠKI JAMI Z OSTALINAMI UBOJNIH SREDSTEV

Janez Mulec¹, Adrijan Košir²

¹Inštitut za raziskovanje krasa, Znanstvenoraziskovalni center SAZU, Titov trg 2, 6230 Postojna;

²Paleontološki inštitut Ivana Rakovca, Znanstvenoraziskovalni center SAZU, Novi trg 2, 1000 Ljubljana
janez.mulec@guest.arnes.si

Matijeva jama je estavela na robu presihajočega Palškega jezera, ki je večji del leta zalita z vodo. Jamo sestavlja vhodno brezno z zaobljenim gruščem na dnu. Vhod v jamo je Jugoslovanska ljudska armada uporabljala kot tarčo za urjenje obstreljevanja s težkim orožjem. V kamnitem grušču na dnu vhodnega brezna so kovinski deli eksplozivnih kot neeksplozivnih ubojnih sredstev. Sodelavci Inštituta za raziskovanje krasa ZRC SAZU so v avgustu 2016 na dnu stožca opazili rjav biofilm, ki se je razširjal na površini približno 7 m² in na katerem so bili že prisotni posamezni osebki terestične favne. Strukturo biofilma smo proučili pod vrstičnim elektronskim mikroskopom in z EDS analizirali njegovo elementno sestavo. Moker biofilm je bil debel od 0.2 do 2 mm, pretežno zgrajen iz spleta organskih ali mineraliziranih cevastih tvorb premera 1-2 μm in dolžine nekaj 10 μm, redkejšje so bile sferične forme premera približno 3 μm. Mineralna zrna so bila podmikrometrskih dimenzij, amorfna, brez jasnih kristalnih ploskev. Biofilm je bil v preseku grobo stratificiran: elementna analiza je pokazala, da v zunanji in notranji plasti prevladujejo Fe minerali (15-60%), med njima pa je nekaj 10 μm debela plast s povišano prisotnostjo mangana (>15%). Mikrobiološka analiza biofilma (pH ~7,5) je pokazala precej kultivabilne mikrobne biomase (~ 8,5×10⁸ CFU/g suhe snovi pri aerobnih pogojih rasti oziroma 3,0×10⁸ CFU/g suhe snovi v anaerobnih pogojih rasti pri 10°C). V biofilmu so prevladovali predstavniki debel Proteobakterij (76,3%) in Bacteroidetes (14,2%). Največji delež identificiranih sekvenc je pripadal rodovom *Leptothrix* (25,0%), *Geobacter* (15,6%), *Rhodoferrax* (5,3%) in *Anaeromyxobacter* (5,3%), ki so znani po svoji vpetosti v geokemijski cikel kroženja kovin v naravi. Takšen masovni pojav biofilma ni pogost v kraških jamah, ki običajno veljajo za oligotrofna okolja. Čeprav gre v primeru Matijeve jame za izjemen primer koncentriranja kovin v podzemlju, bo treba v prihodnje večjo pozornost posvetiti mikrobno pogojenim oksido-redukcijskim pretvorbam v krasu, ki lahko služijo kot vir energije za podzemeljski ekosistem. Istočasno pa je treba biti pozoren na takšna nesanirana odlagališča ubojnih sredstev, saj lahko mikrobi zaradi korozivnega učinka pripomorejo k luženju nevarnih snovi v podtalnico.

Ključne besede: biofilm; železove bakterije; EDS elementna analiza

ENDOFITNE GLIVE LESNATIH RASTLIN - SPEČI ZMAJI?

Barbara Piškur¹, Draginja Pavlic-Zupanc², Dušan Jurc¹

¹Gozdarski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo gozdov, Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana, Slovenija;

²Department of Microbiology, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), University of Pretoria, 0028 Pretoria, Južna Afrika
barbara.piskur@gozdis.si

V Sloveniji smo v zadnjih letih priča odmiranju in propadanju posameznih drevesnih vrst v gozdovih, tudi zaradi patogenega delovanja endofitnih gliv. V na videz zdravih rastlinskih tkivih so namreč prisotni različni organizmi, ki predstavljajo nevidne ali asimptomatske okužbe ter med celotnim ali le v delu življenjskega cikla ne povzročijo nastanka bolezenskih znakov na okuženi rastlini. Kot primer patogenega delovanja endofitnih gliv predstavljamo raziskavo neobičajnega pojava sušenja črnega gabra (*Ostrya carpinifolia*), ki sicer velja za drevesno vrsto, odporno na bolezni. Kot povzročiteljica odmiranja je bila ugotovljena gliva *Botryosphaeria dothidea*, ki do našega poročanja ni bila znana kot patogena gliva za to drevesno vrsto. Genetska struktura populacije te glive nakazuje, da je v bolezen vpletena samonikla populacija sicer endofitske glive, ki je zaradi spremenjenih razmer v okolju (ekstremne suše in visoke temperature) v določenem trenutku začela delovati patogeno. Vrsta *B. dothidea* je sicer znana kot pogosta in ena od najbolj razširjenih patogenov lesnatih rastlin v svetu, s širokim naborom gostiteljev. Najnovejše raziskave kažejo, da je genetska struktura svetovne populacije te vrste izredno raznolika, kar je najverjetneje posledica večkratnih vnosov glive. Z vnosom gostiteljskih rastlin, skupaj z njihovo endofitno glivno združbo, prenašamo v nova okolja tudi morebitne patogene organizme, ki lahko kužijo in povzročajo razvoj bolezenskih simptomov na rastlinah, ki nimajo razvite odpornosti proti vnešenim vrstam ali haplotipom.

Iz vidika varstva gozdov endofitne glive lahko predstavljajo grožnjo za pojav novih bolezni, še posebej zaradi napovedanih klimatskih sprememb ter čedalje večje globalizacije in pomanjkanja ustreznih hitrih testov za ugotavljanje in spremljanje latentnih patogenov ter učinkovitih karantenskih ukrepov proti njim.

Ključne besede: endofiti; patogeni; gozdovi

NAPOVED SUBSTRATNE SPECIFIČNOSTI IN PILOV TIPA IV PRI BAKTERIJAH PREBAVIL

Vita Rozman, Maša Vodovnik, Tomaž Accetto

Biotehniška fakulteta, Groblje 3, 1230 Domžale
masa.vodovnik@bf.uni-lj.si

Pili tipa IVa (PT4) so proteinski filamenti na površini nekaterih bakterij in arhej. Dobro preučeni so predvsem pri Gram-negativnih bakterijah, kjer so vpleteni v različne procese (pritrjanje na gostiteljska tkiva, tvorbo mikrokolonij, privzem horizontalno prenesene DNA, premikanje po trdih površinah s potezanjem..). Pri Gram-pozitivnih bakterijah so bili odkriti kasneje, njihova razširjenost in funkcije pa so še relativno slabo preučene. Nedavne raziskave kažejo, da bi lahko bili pri nekaterih bakterijah pomemben faktor pritrjanja na netopne substrate. V pričujoči študiji smo analizirali sekvence (osnutkov) genomov 118 taksonomsko raznolikih bakterijskih sevov, pretežno izoliranih iz prebavil (kot kontrolo smo vključili tudi nekaj sevov iz zunanjih ekosistemov), z namenom: (1) ugotoviti, ali lahko z »*in silico*« analizo nabora genov, ki kodirajo encime, aktivne na ogljikovih hidratih (CAZy) pravilno napovemo substratno specifičnost izbranih sevov, (2) ugotoviti, ali obstajajo povezave med nabori CAZy in prisotnostjo (zgradbo) gruč genov, ki domnevno kodirajo PT4. Z bioinformatičnimi orodji smo najprej preverili ustreznost taksonomske umeščeni izbranih sevov v podatkovni bazi NCBI Taxonomy. Izkazalo se je, da številni sevi na ravni vrst (14) in rodov (8) niso uvrščene ustrezno in jih je potrebno reklasificirati. Z algoritmom HMMer smo nato v osnutkih genomov izbranih sevov identificirali zapise za encime, ki so aktivni na ogljikovih hidratih (CAZy). Na osnovi števila domnevno monospecifičnih CAZy smo napovedali sposobnost sevov za razgradnjo posameznega substrata. Da se nabor zapisov za CAZy dejansko odraža v substratni specifičnosti sevov smo nato preverili (in potrdili) še eksperimentalno, z gojenjem 5 izbranih sevov. V drugem delu smo z algoritmoma BLAST in HMMer identificirali gene *pil* ter jih glede na arhitekturno ohranjenost in aminokislinska zaporedja produktov ohranjenih genov razvrstili v podskupine. Analiza je pokazala dobro ohranjene genske gruče *pil* pri vseh celulolitičnih bakterijah iz različnih habitatov, vendar pa je slednje najti tudi pri nekaterih sevih z drugačnimi napovedanimi specifičnostmi.

Ključne besede: bakterije iz prebavil; pili tipa IV (PT4); encimi, aktivni na ogljikovih hidratih (CAZy)

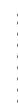
MIKROBIOLOŠKO PRESKUŠANJE KOZMETIČNIH PROIZVODOV

Tatjana Rupel, Katja Kastelic, Darja Dovečar

Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Grablovičeva 44, 1000 Ljubljana
tatjana.rupel@nlzoh.si

Danes ljudje uporabljamo vse več kozmetičnih proizvodov. Ob pravilni uporabi morajo biti kozmetični proizvodi varni in ne smejo predstavljati tveganja za zdravje ljudi. Pri tem je potrebno upoštevati pogoje uporabe in informacije, s katerimi je kozmetični izdelek opremljen. Pomembna tveganja za zdravje potrošnikov so fizikalna, kemična in biološka. Mikrobiološko varnost potrjujemo z mikrobiološkim preskušanjem, ki ga izvajamo po navodilih različnih mednarodnih standardov in v skladu z načeli dobre laboratorijske prakse. Mnogo kozmetičnih proizvodov podpira rast mikroorganizmov in omogoča njihovo preživetje. Za take proizvode je nujna kontrola končnih proizvodov in mikrobiološko preskušanje z ustreznimi metodami. V letih 2014, 2015 in 2016 smo opravili 323 tovrstnih preskušanj. Rezultati kažejo, da je večina (87,62%) preskušanih kozmetičnih proizvodov bila skladna z zahtevami zakonodaje. Samo en od pregledanih vzorcev (0,31%) ni bil varen.

Ključne besede: kozmetika; varnost; mikrobiologija



KULTIVABILNA BAKTERIJSKA MIKROBIOTA IZ SAPIŠČ PROSTOŽIVEČIH PTIC, UJETIH V SLOVENIJI

Jure Škraban¹, Tjaša Matjašič¹, Polona Ber¹, Franc Janžekovič¹, Gottfried Wilharm²,
Nikos C. Kyrpides³, William B. Whitman⁴, Janja Trček^{1,5}

¹Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Koroška cesta 160, 2000 Maribor;

²Robert Koch Institute, Wernigerode;

³DOE Joint Genome Institute, Walnut Creek, California;

⁴University of Georgia, Department of Microbiology, Athens, Georgia;

⁵Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru

janja.trcek@um.si

Prostoživeče ptice so lahko vektorji prenosa patogenih bakterij v okolju. Prisotnost patogenih bakterij v zgornjih in spodnjih dihalih je bila dokazana pri perutnini, skoraj nič pa ni znanega o mikrobioti zgornjih dihal prostoživečih ptic. V tem delu smo analizirali kultivabilno bakterijsko mikrobioto iz sapišč prostoživečih ptic z vidika vpliva prehrane ptic na sestavo in bogatost mikrobiote.

Petindvajsetim prostoživečim pticam ujetim v Sloveniji, ki so pripadale 13 vrstam, smo odvzeli bris sapišča. Po nacepitvi brisov na hranilni agar smo iz vsakega vzorca izolirali morfološko različne kolonije in jim določili nukleotidno zaporedje gena za 16S rRNK. Enemu izolatu, ki smo ga opisali kot novo vrsto, smo analizirali tudi celoten genom.

Večina izoliranih bakterij je pripadala deblu *Actinobacteria* (52 %), *Proteobacteria* (31 %), *Firmicutes* (15 %) in *Bacteroidetes* (4 %). Z metodo hierarhičnega združevanja smo ptice združili v skupine glede na sestavo mikrobiote sapišč. Žužkojede ptice so se združile v eni, ptice z mešano prehrano živalskega in rastlinskega izvora pa v drugi skupini. Bogatost mikrobiote žužkojedih ptic je bila nižja kot pri vsejedih pticah ($P=0,0002$). Tudi sestava kultivabilne mikrobiote se je razlikovala; le 11 od skupno 67 identificiranih bakterijskih vrst smo zaznali pri obeh skupinah ptic. Tretjina ptic je bila koloniziranih z bakterijami oportunističnimi za človeka, skoraj polovica pa z bakterijami, ki so patogene za rastline. Pri vrtni penici smo našli in opisali novo vrsto *Aeromicrobium choanae*. V njenem genomu smo identificirali gene z visoko podobnostjo z geni za odpornost proti teluritu, azaleucinu in linkomicinu, ter z geni za razgradnjo bisfenola A, ki se uporablja pri proizvodnji plastike.

Z metodo hierarhičnega združevanja smo pokazali, da imajo ptice s podobno prehrano tudi podobno bakterijsko mikrobioto sapišč. Pokazali smo tudi, da so zgornja dihala prostoživečih ptic pomemben rezervoar oportunističnih in patogenih bakterij ter vir novih vrst bakterij z zanimivimi in potencialno uporabnimi lastnostmi.

Ključne besede: bakterije; mikrobiota; sapišče

BIOTSKA RAZNOVRSTNOST KVASOVK POVEZANIH S PROIZVODNJO JABOLČNEGA VINA

Eivind Vangdal¹, Melita Sternad Lemut², Branka Mozetič Vodopivec², [Lorena Butinar](mailto:lorena.butinar@ung.si)²

¹NIBIO Ullensvang, 5781 Lofthus, Norway;

²Univerza v Novi Gorici, Center za raziskave vina, Vipavska 13, 5000 Nova Gorica
lorena.butinar@ung.si

Na območju fjorda Hardanger, del zahodne Norveške, ima proizvodnja jabolčnega vina dolgo tradicijo in sicer sega v 12. stoletje, ko so menihi na tem območju začeli uvajati sadjarstvo. Danes je to glavno območje pridelovanja sadja na Norveškem. Kljub strogi regulativi proizvodnje alkoholnih pijač, pa se je na tem območju na nekaterih kmetijah ohranila tradicionalna proizvodnja jabolčnega vina. Namen naše študije je bil predvsem preučiti ekologijo in biotsko raznovrstnost kvasovk, ki so povezane s proizvodnjo tradicionalnega jabolčnega vina na območju Hardanger. Na tem območju smo tekom dveh zaporednih let vzorčili na 11-ih različnih lokacijah, kjer smo pri proizvajalcih vzorčili jabolčno vino, tla in različne dele jablan v sadovnjakih. Tako smo s pomočjo bogatitve v gojišču s povišanim sladkorjem in etanolom osamili približno 1300 izolatov kvasovk. Kvasovke smo s pomočjo multipleks PCR testa ločili na skupino kompleksa *Saccharomyces sensu stricto* in ne-*Saccharomyces* kvasovke. Nadalje smo izolate določili do nivoja vrste z izvedbo restriksijske analize ITS PCR produktov, v nekaterih primerih smo za potrditev identifikacij opravili še določitev nukleotidnih zaporedij D1/D2 domene 26S rDNA. Kot pričakovano smo ugotovili, da sadovnjake naseljujejo predvsem ne-*Saccharomyces* kvasovke iz rodov *Metschnikowia* in *Hanseniaspora*, v tem okolju so bile *Saccharomyces* izolirane iz tal in jabolk. V jabolčnem vinu pa je bila pretežno izolirana vrsta *S. uvarum*, občasno pa tudi *S. cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii* in *P. membranifacies*.

Ključne besede: kvasovke; biotska raznovrstnost; jabolčno vino

IZOLACIJA IN IDENTIFIKACIJA AVTOHTONIH VINSKIH KVASOVK

Polona Zabukovec, Franc Čuš

Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana
polona.zabukovec@kis.si

Spontana alkoholna fermentacija mošta je kompleks ekoloških, biokemijskih in mikrobioloških interakcij, kjer prevladuje populacija ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces* kvasovk. Presnovno jo pričnejo vrste rodov *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia* in *Metschnikowia*, ki imajo šibko fermentacijsko sposobnost in prevladujejo na površini grozdne jagode in kletarske opreme. Proti koncu AF prevladujejo različni sevi *Saccharomyces*, ki so odpornejši na večjo vsebnost etanola v vinu.

V prvem poskusu smo izvedli spontane AF z namenom izolacije indogenih sevov ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces* kvasovk iz vseh treh vinorodnih dežel. V laboratorijskih vinifikacijah moštov iz različnih sort grozdja smo spremljali potek spontane AF z merjenjem mase izhajajočega CO₂. Med potekom AF smo vzorčili populacijo kvasovk ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces*. Z izolacijo lastnih, za določeno območje značilnih izolatov, želimo izboljšati učinkovitost AF z mešano indogeno mikrobno združbo ter tako povečati vsebnosti pozitivnih ne aromatičnih in aromatičnih spojin v vinu. Z različnim zaporedjem inokulacije (koinokulacija, sekvenčna inokulacija) in dodatkom različnih količin dušičnih hranil bomo v nadaljevanju spremljali aktivnost indogene mikroflore, glede na končen vpliv na senzorično kakovost vina. Končni cilj je večja prepoznavnost in izboljšana senzorična kakovost vina iz določenega vinorodnega območja.

V drugem poskusu smo v laboratorijskih AF preverili fermentacijske in nekatere presnovne lastnosti predhodno izoliranih indogenih sevov *Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces* kvasovk vrst *S. cerevisiae*, *H. uvarum* in *S. bacillaris* za izpeljavo AF, tako, da smo v mošt inokulirali tri različna razmerja omenjenih izolatov. Z rezultati smo potrdili relativno počasnost AF z uporabo indogenih sevov kvasovk ob izbrani temperaturi in ne povsem dokončane AF. Po končanih AF smo v vinih izmerili vsebnosti nekaterih osnovnih kemijskih parametrov ter aromatičnih spojin. Z rezultati smo potrdili, da je bila najmanjša izmerjena vsebnost alkohola v obravnavanju, kjer je bil začetni delež kvasovk *S. cerevisiae* najnižji. Omenjen rezultat je lahko pomemben s stališča zmanjševanja vsebnosti alkohola v vinu. Nasprotno je lahko negativen učinek uporabe ne-*Saccharomyces* kvasovk povečana vsebnost hlapnih kislin in etilacetata. Potencial uporabe ko-inokuluma *Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces* kvasovk smo potrdili s povečanjem vsebnosti hlapnih tiolov, ki predstavljajo pomembne aromatične spojine nekaterih vin (npr. sauvignon, laški rizling, traminec).

Ključne besede: kvasovke; ne-*Saccharomyces*; *Saccharomyces*; vino

TAKSONOMIJA GLIVE *HORTAEA WERNECKII* S PODVOJENIM GENOMOM

Polona Zalar¹, Jerneja Zupančič¹, Cene Gostinčar¹, Janja Zajc², Nina Gunde-Cimerman¹

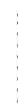
¹Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

polona.zalar@bf.uni-lj.si

V rod črnih kvasovk *Hortaea* (Teratosphaeriaceae, Capnodiales, Ascomycota) trenutno uvrščamo dve vrsti: izjemno halotolerantno vrsto *Hortaea werneckii*, ki je pogosta v skrajno slanih okoljih, ter izjemno redko filozofno vrsto *H. thailandica*. *Hortaea werneckii* je v tropskih in subtropskih območjih znana kot povzročiteljica kožnih mikoz pri človeku, poleg tega pa so znani izolati iz različnih morij, njihovih sedimentov in globin, s potapljaške opreme, z rastlin in živali. Najnovejši izolati izhajajo iz Atakamske poščave, kjer gliva živi v povezavi z alga *Dunaliella atacamensis* na pajkovih mrežah. Tako raznovrstni habitati nakazujejo obstoj več vrst v rodu *Hortaea*. Čeprav je *H. werneckii* uveljavljen modelni organizem za proučevanje halotolerance pri evkariontih, podrobna filogenetska študija rodu še ni bila narejena. Razlog je v njenih genetskih posebnostih, o katerih poročajo številne molekularne študije, ki so odkrile po dve verziji genov povezanih s halotoleranco. Analiza genoma enega seva *H. werneckii* je pokazala več kot 90% podvojenih genov, izjemno redko opažen fenomen pri glivah, in posledično nenavadno obsežen genom (51,6 Mb). Moderna taksonomija gliv temelji na genotipskih označevalcih. Poleg regije notranjih distančnikov 1 in 2 vključno s 5,8S rDNA (ITS regije) imajo vse večji pomen kodirajoči in nekodirajoči predeli hišnih genov. V primeru *H. werneckii* tovrstna analiza ni mogoča zaradi različnih kopij paralognih genov. Zato smo filogenetsko analizo na osnovi ribosomskega operona, ki izgleda ohranjen, dopolnili s pristopi kot so analiza prstnega odtisa, kariotipizacija, ter različne fenotipske in fiziološke analize. Le te so dopolnile analize, ne omogočajo pa končne razrešitve ključnega vprašanja ali raznoliki sevi pripadajo eni ali večim vrstam.

Ključne besede: *Hortaea*; genom; halofili



ARKTIČNE GLIVE V DOMAČEM HLADILNIKU

Jerneja Zupančič, Mojca Matul, Polona Zalar, Nina Gunde-Cimerman

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, Ljubljana
nina.gunde-cimerman@bf.uni-lj.si

Arktika je okolje, kjer poleg izjemno nizkih temperatur življenje otežujejo še osmotski stres, velika nevarnost zamrzovanja, visoko UV sevanje na površju, občasno visoka slanost ter pomanjkanje vode in hranil. Danes vemo, da arktična okolja naseljujejo ekstremofilni mikroorganizmi, tudi psihrofilne in psihrotolerantne glive. Iz tal so bile osamljene predvsem askomicetne filamentozne glive ter askomicetne in bazidiomicetne kvasovke rodov *Candida*, *Cryptococcus*, *Vishniacozyma*, *Naganishia* in *Leucosporidium*. Iz vodnih habitatov polarnih območij (morske vode, snega, morskega in ledeniškega ledu ter kriokonitnih kotanj) so bile osamljene številne askomicetne in bazidiomicetne nitaste glive in kvasovke iz rodov *Cryptococcus*, *Vishniacozyma*, *Naganishia*, *Rhodotoula*, *Leucosporidium*, *Rhodosporidium* in *Sporobolomyces*, melanizirane glive (večinoma iz rodov *Cladosporium* in *Aureobasidium*) ter rod *Penicillium*. Hladna okolja pa niso prisotna le v naravi, najdemo jih tudi v naših domovih, v hladilnikih. Mikrobiološko je najbolj obremenjen kanal za izcedno vodo, sledijo steklene in plastične police ter gumijasta tesnila vrat hladilnika in zamrzovalnika. Manj naseljena mesta so stene in vrata hladilnika. Iz domačih hladilnikov smo osamili različne vrste filamentoznih rodov *Cladosporium*, *Penicillium* in *Aspergillus*. Med kvasnimi rodovi prevladujejo askomicetne in bazidiomicetne kvasovke iz rodov *Candida*, *Debaryomyces*, *Naganishia*, *Cryptococcus*, *Vishniacozyma* in *Dioszegia* ter melanizirane črne kvasovke iz rodov *Exophiala* in *Aureobasidium*. Primerjava glivnih izolatov osamljenih iz Arktike z glivami iz domačega hladilnika je pokazala več kot 50% prekrivanje združbe. Vsi pridobljeni izolati so bili deponirani v mikrobiološko zbirko Ex, ki je edinstvena v svetovnem merilu, ker je specializirana na ekstremofilne glive, ki so bile tekom let osamljene iz različnih skrajnostnih okolij. Mikrobiološka zbirka Ex predstavlja pomemben integralni del infrastrukturnega centra Mycosmo, ki deluje v okviru MRIC UL. Ex, ki je bila ustanovljena leta 1998, se nahaja na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete UL. Zbirka trenutno obsega preko 12200 sevov gliv, 2300 sevov bakterij in 50 sevov arhej. Velika večina sevov je javno dostopna. Podatki o kulturah so objavljeni v katalogu sevov na spletni strani (<http://www.ex-genebank.com/>).

Ključne besede: hladna okolja; glive; hladilnik; Mycosmo; mikrobiološka zbirka

OCETNOKISLINSKE BAKTERIJE IN ZUNAJCELIČNI POLISAHARIDI

Jure Škraban¹, Nina Jančič¹, Mateja Polc¹, Lijana Fanedl², Ilse Cleenwerck³,
Peter Vandamme³, Janja Trček^{1,4}

¹Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo,
Koroška cesta 160, 2000 Maribor;

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta;

³BCCM/LMG Culture Collection, University of Ghent;

⁴Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo
janja.trcek@um.si

Ocetnokislinske bakterije oblikujejo monofiletsko skupino 19 rodov znotraj družine *Acetobacteriaceae*. Med njimi so tudi takšne, ki proizvajajo produkte, zanimive za različne vrste industrij. Rodova *Acetobacter* in *Komagataeibacter* imata močno izraženo produkcijo encimov za oksidacijo etanola v očetno kislino in se uporabljata v proizvodnji kisa, kefirja in kombuča. Ocetnokislinske bakterije se pred vdorom tega metabolita v citoplazmo med drugim zaščitijo z oblikovanjem biofilmov. Poglavitna sestavina teh biofilmov so polisaharidi, ki se uporabljajo kot zgoščevalci in bio-material s specifičnimi visko-elastičnimi lastnostmi. V tem delu smo se ukvarjali s karakterizacijo zunajceličnih polisaharidov pri referenčnih sevih in tudi na novo osamljenih sevih ocetnokislinskih bakterij iz kisa.

Nove izolate smo pridobili iz industrijske proizvodnje jabolčnega kisa. Med njimi je bil tudi sev *Komagataeibacter* sp. T5K1, z nekaterimi fenotipskimi lastnostmi, ki so ga razlikovale od vseh ostalih vrst ocetnokislinskih bakterij. Sevu smo preiskali njegovo celotno genomsko zaporedje in na osnovi vrednosti ANI potrdili, da sev T5K1 predstavlja novo vrsto znotraj rodu *Komagataeibacter*, in da je njegov najbližji sorodnik vrsta »*Gluconacetobacter entanii*«. V preiskovanju zunajceličnih polisaharidov smo vključili 22 referenčnih sevov in 10 na novo pridobljenih izolatov. Seve smo analizirali z vidika prisotnosti različnih genov za sintezo zunajceličnih polisaharidov in sestave biofilmov. Sevi, ki so tvorili biofilm, so večinoma vsebovali gene za sintezo celuloze, ali celuloze in acetana. *Asaia bogorensis* in *Komagataeibacter kakiaceti* sta vsebovala gene za sintezo celuloze in levana, *Acetobacter aceti* za acetan in levan, *Gluconobacter oxydans* pa samo za levan. Zunajcelične polisaharide v biofilmih smo izolirali z raztapljanjem v NaOH in precipitacijo z etanolom. Nato smo jih hidrolizirali s kislino in hidrolizate ločili s tankoplastno kromatografijo. Rezultati kažejo, da so zunajcelični polisaharidi pri ocetnokislinskih bakterijah zgrajeni predvsem iz glukoze, manoze, glukuronske kisline, fruktoze in ramnoze.

V prihodnosti želimo pridobiti industrijsko zanimive seve, ki bi tvorili biofilme z novimi zunajceličnimi polisaharidi in s posebnimi visko-elastičnimi lastnostmi.

Ključne besede: ocetnokislinske bakterije; biofilm; genom

MORSKA SEVA *CELLULOPHAGA LYTICA* KP1 IN *POLARIBACTER* SP. VR6 KOT VIR BIOTEHNOLOŠKO ZANIMIVIH ENCIMOV

Andrej Pavel Kozak¹, Darja Kušar², Bojan Papič², Tomaž Accetto¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale;

²Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo,
Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
tomaz.accetto@bf.uni-lj.si

Encimi morskih bakterij so v industrijski biokatalizi zanimivi tako zaradi zmožnosti obdelave polisaharidov morskih alg za farmacevtsko in živilsko industrijo, kot tudi zaradi svojih procesnih lastnosti, npr. aktivnosti pri visoki slanosti, visokem tlaku, nizkih temperaturah itd. Tukaj predstavljamo seva *Cellulophaga* sp. KP1 in *Polaribacter* sp. VR6, pridobljena iz obalne vode Koprškega zaliva. Sodita v deblo *Bacteroidetes*, številčno pomembne razgrajevalce polisaharidov tako mikro kot makroskopskih alg, ki jih pogosto najdemo na morskih delcih, algah in okoliški vodi. Za oba seva smo ugotavljali ali za rast lahko uporabljata agar, karagenan, alginat, škrob, ksilan in karboksimetilcelulozo. Na podlagi genoma smo ju uvrstili v vrsti *Cellulophaga lytica* in še neimenovano vrsto skupaj s *Polaribacter* sp. MED152. Pregledali smo njune nabore encimov, ki so aktivni na ogljikovih hidratih (CAZY) in jih, da bi pridobili splošen vpogled v nišo teh dveh sevov, primerjali z onimi iz ostalih morskih bakteroidet. V tem bakterijskem deblu se geni CAZY pogosto združujejo s tistimi za prenašalce signala in vezavo/prenos delno razgrajenih polisaharidov v substratno specifične genske gruče, imenovane PUL (polysaccharide utilization locus). Za oba seva bomo predstavili nabor PUL, za katere napovedujemo, da so odgovorni za razgradnjo določenih polisaharidov in predstavili izbor biotehnološko zanimivih encimov teh dveh sevov.

Ključne besede: *Bacteroidetes*; polisaharidi morskih alg

HETEROLOGNA PRODUKCIJA AKTIVNEGA PERNIZINA V BAKTERIJI *STREPTOMYCES RIMOSUS*

Andres Felipe Carrillo Rincon¹, Vasilka Magdevska^{1,2}, Luka Kranjc¹, Marko Šnajder¹,
Miha Bahun¹, Maja Paš¹, Hrvoje Petkovič¹, Nataša Poklar Ulrih¹

¹Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana;

²Acies Bio d.o.o., Tehnološki park 21, 1000 Ljubljana

natasa.poklar@bf.uni-lj.si

Pernizin je termostabilna proteaza arheje *Aeropyrum pernix* K1. Zaradi lastnosti, kot so stabilnost pri visokih koncentracijah denaturantov, detergentov in reducentov, ima dober industrijski potencial tako za uporabo v medicini kot tudi v industriji čistil. Neprocesirana oblika pernizina (propernizin) ima dolžino 430 amino kislin in na N-terminalnem koncu vsebuje signalno sekvenco, ki omogoča izločanje encima v ekstracelularni prostor ter proregijo, ki se po transportu v ekstracelularni prostor z avtokatalitično aktivnostjo odcepi in tako omogoči aktivacijo encima. Rezultati eksperimentalnega dela so pokazali, da je potrebno propernizin, ki je bil heterologno izražen v bakteriji *Escherichia coli*, predhodno aktivirati s segrevanjem pri 80°C. Pomanjkljivost bakterije *E. coli* kot gostiteljskega organizma je omejena zmožnost izločanja encimov v ekstracelularni prostor, in ker je pernizin v osnovi ekstracelularni encim, smo se za preverjanje encimske aktivnosti odločili encim heterologno izraziti v bakteriji *Streptomyces rimosus*, saj je bila pri omenjeni vrsti sposobnost izločanja encimov v medij dobro okarakterizirana. Za heterologno izražanje pernizina smo pripravili genske konstrukte s kodonsko optimiziranim nukleotidnim zapisom za neprocesirano in zrelo obliko pernizina pod nadzorom tetraciklinskega promotorja in signalno sekvenco bakterije *S. rimosus*. Rezultati so pokazali, da je zrela oblika rekombinantnega encima ohranila encimsko aktivnost, medtem ko je bila aktivnost neprocesirane oblike encima, kljub poskusom termične aktivacije, še vedno nizka. Izkazalo se je, da prisotnost proregije ni potrebna za pravilno zvijanje encima, oziroma ne vpliva na njegovo aktivnost, kot se to zgodi v primeru homologne termostabilne proteaze Tk-subtilizina. Hkrati so rezultati potrdili, da je bakterija *S. rimosus* primeren gostitelj za heterologno izražanje pernizina, saj je imela v primerjavi z bakterijo *E. coli* višje donose pernizina, z optimizacijo sestave produkcijskega gojišča pa se donose lahko še dodatno poveča. Poleg tega je biofizikalna karakterizacija pokazala, da rekombinanten pernizin v večji meri ohrani karakteristike nativnega encima, kar nakazuje na možnost uporabe bakterije *S. rimosus* kot gostiteljskega organizma za heterologno izražanje različnih termostabilnih proteaz.

Ključne besede: pernizin; termostabilna proteaza; *Streptomyces rimosus*



UGOTAVLJANJE UČINKOVITOSTI MIKROBIOLOŠKEGA ODSTRANJEVANJA FOSFORJA IZ ODPADNE VODE V ZAGONSKI FAZI SBR BIOREAKTORJA

Nejc Košir^{1,2}, Maša Vodovnik¹, Romana Marinšek Logar¹, Marjetka Levstek²,
Marjetka Stražar²

¹Biotehniška fakulteta, Groblje 3, 1230 Domžale;

²Centralna čistilna naprava Domžale-Kamnik, Študljanska cesta 91, 1230 Domžale
masa.vodovnik@bf.uni-lj.si

Z naraščanjem števila prebivalstva, se povečuje tudi količina onesnaževal v odpadnih vodah. V okolje se izteka veliko odplak s povečano koncentracijo fosforjevih in dušikovih spojin. Zato v veljavo vstopa nova Uredba o odvajanju in čiščenju komunalne odpadne vode (Uradni list RS, št. 98/15), ki od čistilnih naprav zahteva uvedbo terciarne stopnje čiščenja (odstranjanje dušika in fosforja).

V raziskavi smo se osredotočili na odstranjanje fosforja na Centralni čistilni napravi Domžale-Kamnik (CČNDK), ki je bila v letu 2016 nadgrajena s štirimi sekvenčnimi šaržnimi reaktorji (SBR), ki omogočajo tudi terciarno čiščenje odpadne vode. Z ustreznim delovanjem bazenov z SBR, naj bi CČNDK v prihodnjih letih zagotovila pod 1 mg/L celotnega fosforja na iztoku iz CČNDK. SBR reaktorji med drugim omogočajo mikrobiološko odstranjanje fosforja in s tem pripomorejo k zmanjšani uporabi kemikalij.

S fizikalno-kemijskimi analizami odpadne vode smo preverjali ali nadgradnja CČNDK zadosti kriterijem nove uredbe, poleg tega pa smo z metodo qPCR kvantificirali fosfat akumulirajoče bakterije (PAO), ki omogočajo mikrobiološko odstranjanje fosforja. S sledenjem funkcionalnega genskega markerja *ppk1*, ki je ključen za metabolizem PAO, smo sledili njihov delež v aktivnem blatu na različnih stopnjah čiščenja. Poleg tega smo z oligonukleotidnimi začetniki, ki nalegajo na gen za 16s rRNA posebej sledili tudi spreminjanje deleža ključnega predstavnika PAO-še neizolirano bakterijsko vrsto *Candidatus Accumulibacter phosphatis* (CAP) iz debla beta-proteobakterij.

Ključne besede: fosfat akumulirajoče bakterije; mikrobiološko odstranjanje fosforja; *ppk1*

PRODUKCIJA HETEROLOGNIH EKTRACELULARNIH PROTEINOV Z *STREPTOMYCES RIMOSUS*, PRODUCENTKO OKSITETRACIKLINSKEGA ANTIBIOTIKA

Andrés Felipe Carrillo Rincón^{1,3,4}, Vasilka Magdevska^{1,2}, Lucija Slemc¹, Štefan Fujs^{1,2}, Rolf Müller⁴, Hrvoje Petković^{1,2,3}

¹Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, Slovenia;

²Acies Bio, d.o.o. Tehnološki park 21, SI-1000 Ljubljana, Slovenia;

³Universidad de Cantabria, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Parque Científico C/Albert Einstein, 22 39011 Santander, Spain;

⁴Department of Microbial Natural Products, Helmholtz-Institute for Pharmaceutical Research Saarland (HIPS), Helmholtz Centre for Infection Research (HZI) Campus C2 3, 66123 Saarbrücken, Germany
lucija.slemc@bf.uni-lj.si

Streptomyces rimosus je pomemben industrijski producent antibiotika oksitetraciklina. Ugodne lastnosti kot so: i) hitra rast, ii) rast v kratkih fragmentih, kar je primerljivo z *E. coli* iii) transformacija z elektroporacijo iv) status GRAS in v) izločanje proteinov v gojišče, uvrščajo *S. rimosus* med zanimive gostitelje za heterologno produkcijo.

V predstavljeni študiji smo želeli oceniti potencial *S. rimosus* kot gostitelja za produkcijo heterolognih proteinov, zato smo uporabili poročevalski protein katehol 2,3-dioksigena *xylE* iz *Pseudomonas putida* TOL in komercialni encim fitaza Appa iz *E. coli*. Konstruirali smo replikativni bifunkcionalni *E. coli* - *S. rimosus* vektor pVF, z ligacijo streptomicetnega vektorja pZ12 in bakterijskega pUC19. Na podlagi podatkov iz literature smo zbrali in ovrednotili vpliv različnih promotorjev in signalnih sekvenc v konstruiranem replikativnem vektorju pVF in integrativnem vektorju pAB04, s pomočjo poročevalskega sistema *xylE* in *appA*. Izmed vseh testiranih promotorjev ste se v gostiteljskem sevu *S. rimosus* kot najbolj uporabna izkazala nitrilazni *PnitA* in tetraciklinski promotor *Ptcp830*, v primeru ko je bil uporabljen replikativni vektor pVF. Za izražanje integrirane kopije poročevalskega gena pa je bil najboljši promotor mutirani eritromicinski promotor *Perme**. Z merjenjem učinkovitosti izločanja in aktivnosti *xylE* sta se kot najprimernejši signalni sekvenci izkazali signalna petida lipaze in tirpsinu-podobne proteinaze iz *S. rimosus*. Na podlagi pridobljenih podatkov smo izdelali vektorja (pVF in pAB04) z različnimi kombinacijami promotorjev in signalnih sekvenc za izražanje fitaze in spremljali produkcijo tega encima v različnih časovnih intervalih. Najvišje donose smo izmerili z uporabo replikativnega vektorja pVF v kombinaciji z promotorjem *Ptcp830*. Visoko aktivnost Appa smo dosegli tudi z uporabo integrativnega vektorja pAB04 s promotorjem *Perme**. Primernost postavljenega sistema smo demonstrirali z izolacijo fitaze s pomočjo afinitetne kromatografije. S konstruiranimi orodji smo tako načrtali pot v razvoju gostiteljskega organizma *S. rimosus* za heterologno izražanje proteinov.

Ključne besede: *Streptomyces rimosus*; heterologna produkcija; genska orodja

KAVITACIJA – TEHNOLOGIJA OBLVADOVANJA MIKROBIOLOŠKIH DEJAVNIKOV TUDI V PAPIRNI INDUSTRIJI?

Matej Šuštaršič¹, Martin Petkovšek²

¹Inštitut za celulozo in papir;

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za strojništvo, Laboratorij za vodne in turbinske stroje
matej.sustarsic@icp-lj.si

Ugodni pogoji procesnih voda (pH, T, prisotnost organskih in anorganskih snovi) omogočajo razrast različnim skupinam mikroorganizmov. Prekomeren razrast pa lahko vodi do nastanka oblog in povzroča težave v procesu proizvodnje papirja. Obvladovanje in zmanjševanje števila mikroorganizmov v procesnih vodah papirnice dosegajo z uporabo različnih biocidnih sredstev, razvoj obvladovanja mikroorganizmov pa poteka tudi v smeri naprednih tehnologij, ki temeljijo na okolju prijaznejšem načinu uničevanja bioloških dejavnikov. Predstavili bomo prve rezultate učinkovitosti kavitacije na modelni suspenziji in izzive vrednotenja s katerimi smo se srečali pri izvajanju testiranj. Postopek testiranja smo prilagodili na način, ki omogoča primerjavo med različnimi kavitacijskimi napravami. Za pripravo modelne raztopine smo uporabili suspenzijo organizma *Bacillus subtilis*, kot tipičnega papirniškega mikroorganizma. Kavitacijsko napravo smo predhodno dezinficirali z uporabo biocidnega sredstva, in vrednotili število mikroorganizmov pred in po dodatku modelne suspenzije. Modelni organizem smo namnožili na trdnem gojišču (Standard Count Agar, Merck), 24-48h, pri temperaturi 37°C. Pogoje in čas kavitiranja smo prilagodili na način, da je bila vložena energija med različnimi kavitacijami primerljiva. Ugotavljanje številčnosti mikroorganizmov smo izvedli na gojišču Standard Count Agar, po 48h inkubaciji pri 37°C.

Naši rezultati kažejo, da je za ugotavljanje primerljivosti učinkovitosti različnih kavitacij ključnega pomena evalvacija prisotnih organizmov v sami kavitacijski napravi, način in izvedba čiščenja kavitacijske naprave, uporaba biocida in izpiranje iz kavitacijske naprave. Predstavili bomo tudi rezultate dveh kavitacijskih naprav pri katerih smo analizirali učinkovitost uničevanja modelnega organizma v treh koncentracijskih točkah.

Ključne besede: kavitacija; papirništvo; *B. subtilis*

PRODUKCIJA LIGNOCELULOLITIČNIH ENCIMOV NA TRDNEM ODPADKU IZ PAPIRNE INDUSTRIJE – POGLED V SEKRETOM *P. OSTREATUS*

Maša Vodovnik¹, Katja Vrabc¹, Patrick Hellwig², Mija Sežun³, Andrej Gregori⁴,
Udo Reichl^{2,5}, Dirk Benndorf^{2,5}

¹Biotehniška Fakulteta, Groblje 3, Domžale, Slovenia;

²Institute of Process Engineering, Otto von Guericke University Magdeburg, Magdeburg, Germany;

³Inštitut za celulozo in papir, Ljubljana, Slovenia;

⁴MycoMedica d.o.o, Kranjska Gora, Slovenia;

⁵Max Planck Institute for Dynamics of Complex Technical Systems, Germany

masa.vodovnik@bf.uni-lj.si

V papirni industriji v velikih količinah nastajajo celulozni odpadni mulji, katerih odlaganje predstavlja velik okoljski in ekonomski problem. V zadnjem času je velik poudarek na razvoju strategij v skladu s konceptom krožne bioekonomije, ki predvidevajo pretvorbo odpadkov v produkte z visoko dodano vrednostjo. Med slednjimi so tudi lignocelulolitični encimi, ki imajo velik potencial za uporabo v mnogih industrijskih panogah (papirna, tekstilna, prehranska, krmilna industrija, industriji biogoriv), ter v bioremediaciji.

Namen naše raziskave je bil analizirati potencial izbranih glivnih sevov za produkcijo lignocelulolitičnih encimov na enem najbolj razširjenih odpadkov papirniške industrije - papirniškem mulju po postopku razsvitve (DIP). Po presejalnem testiranju širšega nabora sevov, smo podrobneje raziskali sekretom najbolj obetavnega med njimi – *P. ostreatus* PLAB. Poleg kvantitativnega ovrednotenja celulazne, ksilanazne in lakazne aktivnosti v različnih fazah inkubacije, smo z metodami 1D in 2D-GE MS/MS identificirali tudi ključne ekstracelularne encime v ekstraktu iz preraščenega mulja. Rezultati so pokazali izstopajočo produkcijo encimov, vpletenih v razgradnjo lignina (lakaze, mangan peroksidaze, bilirubin oksidaze), ne pa tudi ksilanaz in celulaz. V encimskih ekstraktih iz preraščenega mulja smo izmerili lakazno aktivnost do 46 000 U / kg_{DIS}, kar znatno presega vrednosti, o katerih poročajo ob gojenju gliv na drugih lignoceluloznih odpadnih substratih.

Ključne besede: lignocelulolitični encimi; papirniški mulj; glive

MOLEKULARNE METODE ZA SPREMLJANJE KONTAMINACIJE BOLNIŠNIČNIH TEKSTILIJ

Urška Rozman

Univerza v Mariboru, Fakulteta za zdravstvene vede, Žitna ulica 15, 2000 Maribor, Slovenija
urska.rozman@um.si

Bolnišnično okolje predstavlja pomembno ekološko nišo in lahko služi kot rezervoar za potencialno patogene mikroorganizme. Bolnišnične tekstilije skupaj z vlago in toploto ustvarijo ustrezne pogoje za rast, širjenje in dolgotrajno preživetje številnih mikroorganizmov, zaradi česar lahko služijo kot vektor navzkrižnega prenosa bolnišničnih okužb. Bolnišnične okužbe ne predstavljajo samo zapletov pri zdravljenju bolnikov v bolnišnici, temveč povzročajo tudi gospodarsko škodo saj so letne finančne izgube. Klasične metode za vzorčenje mikroorganizmov na tekstilijah, kot je jemanje odtisov z RODAC agar ploščami, brisi in z destruktivno elucijsko metodo ter naknadna fenotipska identifikacija so dolgotrajne, zato smo v raziskavi uvedli vzorčenje z metodo nedestruktivnega eluiranja z aparaturo Morapex A in detekcijo mikroorganizmov z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) ter kvantifikacijo z verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (rtPCR). Dokazali smo, da aparatura Morapex A predstavlja ustrezen in učinkovit nadomestek za vzorčenje mikroorganizmov na tekstilijah, saj je bila učinkovitost vzorčenja večja v primerjavi z optimizirano metodo destruktivnega eluiranja oz. z metodo vzorčenja z RODAC agar ploščami. Z uporabo molekularnih metod za detekcijo izbranih vrst mikroorganizmov smo dosegli večjo občutljivost kot pri detekciji s klasičnimi gojitvenimi metodami, saj lahko mikroorganizme zaznamo pri nižjih začetnih nanosenih koncentracija na tekstil, zaznamo pa tudi žive in mrtve mikroorganizme, ter mikroorganizme v VBNC stanju in ostanke proste DNK. Za oceno celotne mikrobne populacije na tekstilijah iz realnega okolja smo uporabili metodo ločevanja celokupne baktrejske 16S rDNK z visokotlačno kromatografijo v denaturizirajočih pogojih (DHPLC). Zaradi široke pestrosti mikrobne populacije na bolnišničnih tekstilijah iz realnega okolja se metoda DHPLC ni izkazala kot najbolj ustrezna, saj zaradi pojavljanje mešanih sekvenc v posamezni frakciji ni bila mogoča identifikacija do ene same bakterijske vrste. Vzorčenje mikroorganizmov na tekstilijah z metodo nedestruktivnega eluiranja z aparaturo Morapex A in njihova detekcija z molekularnimi metodami lahko predstavlja izboljšano alternativo za potrebe kontrole higiene bolnišničnih tekstilij.

Ključne besede: bolnišnične tekstilije; PCR; DHPLC

SOCIALNE INTERAKCIJE BAKTERIJE *BACILLUS SUBTILIS*

Anna Dragoš^{1,2}, Polonca Štefanič¹, Iztok Dogša¹, Tjaša Danevčič¹, Mihael Špacapan¹,
Ákos T. Kovács², Ines Mandić-Mulec¹

¹Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana;

²Institute of Microbiology, Friedrich Schiller University Jena, Nemčija
anna.dragos@uni-jena.de

Bakterije komunicirajo s pomočjo majhnih signalnih molekul, ki jih izločajo med rastjo. Ta proces imenujemo zaznavanje kvoruma (ang. Quorum sensing - QS). Klasičen model predpostavlja, da se QS signali pri kritični koncentraciji vežejo na specifične receptorje, kar sproži koordiniran odziv na nivoju populacije. V doktorski disertaciji smo proučevali povezave med sintezo signala in odzivom na signal pri bakteriji *Bacillus subtilis*, ki uporablja sistem ComQXPA. Ta je sestavljen iz encima ComQ, ki procesira peptidni signal ComX, receptorja ComP, ki ga veže ter transkripcijskega dejavnika ComA, ki aktivira izražanje operonov za sintezo lipopeptidnega antibiotika in surfaktanta poimenovanega surfaktin in tudi genov za razvoj kompetence in sprejem DNA. Ugotovili smo, da se mutante QSS- (*comQ::kan*) prekomerno odzovejo na ComX, ki ga producira populacija QS+, kar se odraža v povečani produkciji surfaktina in povečani genetski kompetenci za transformacijo. Povečan odziv mutant je povezan z visokim stroškom odziva, kar zniža fitnes mutante in s tem sposobnost sobivanja v kokulturi s populacijo QS+. Kljub temu ima mutanta QSS- pod selekcijskim pritiskom, ki je vezan na sposobnost sprejemanja DNA, zvišano možnost preživetja, ker postane hiperkompetentna. Ti rezultati so pokazali, da linearana in kompleksna arhitektura lokusa comQXPA lahko pripelje do nepredvidljivega fenotipa, ki vpliva na fitnes predvsem v kokulturi s producentom signala. Socialne interakcije so še posebej zanimive v naravnih populacijah *B. subtilis*, ki smo jih pridobili iz rizosfere paradižnika, saj smo pri teh dokazali visoko diverzitetu sistema ComQXPA, ki vodi do komunikacijske izolacije kot tudi raznolikosti fenotipov, ki jih ta sistem uravnava. Med izolati *B. subtilis* iz rizosfere, ki smo jih preučevali v okviru te disertacije, so nekateri pokazali lastnosti pomembne za zaščito in pospeševanje rasti rastlin ter so zato zanimivi za nadaljnji razvoj biognojil in biozaščitnih agensov.

Ključne besede: socialne interakcije; zaznavanje kvoruma; *Bacillus subtilis*



PREPREČEVANJE FILMOTVORNOSTI BAKTERIJ CAMPYLOBACTER JEJUNI NA ABIOTSKIH POVRŠINAH TER ADHEZIVNOSTI IN INVAZIVNOSTI NA MODELU CELIČNIH LINIJ

Katja Bezek

Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
katja.bezek@fvz.upr.si

Bakterije *Campylobacter jejuni* so najpogostejši bakterijski povzročitelj črevesnih okužb ljudi. Kljub veliki fenotipski in genotipski raznolikosti sevov sposobnost adhezije in tvorba biofilma predstavljata ključna dejavnika odpornosti in preživetja v okolju, kakor tudi izhodišče za kolonizacijo črevesnih epitelnih celic.

V sklopu doktorske naloge smo s primerjavo izbranih fenotipskih in genotipskih lastnosti 130 sevov *C. jejuni* pokazali, da so se sevi izolirani iz fecesa živali umestili v skupino z najvišjo stopnjo filmotvornosti na površini polistirena. V nadaljevanju smo pokazali, da površinska obdelava kontaktne površine nerjavnega jekla vpliva na filmotvornost izbranih sevov *C. jejuni*. Kljub veliki dinamiki glede na sev, čas inkubacije in prisotnost kisika, je bila filmotvornost najnižja na krtačeni površini obeh testiranih tipov nerjavnega jekla.

Problematika filmotvornosti in širjenja odpornosti bakterij *C. jejuni* na obstoječa protimikrobna sredstva spodbuja iskanje novih učinkovin. V sklopu naše raziskave smo pokazali protimikrobno učinkovitost izvlečka plodov *Euodia ruticarpa* (EREE) in posameznih frakcij izvlečka (frakcija Q, evodiamin, rutekarpin). Testirane učinkovine v subinhibitornih koncentracijah so bile učinkovite tudi pri preprečevanju filmotvornosti bakterij *C. jejuni* na abiotični površini nerjavnega jekla. Na podlagi teh rezultatov smo učinek EREE in evokarpina, ki je bil v največjem deležu zastopan v frakciji Q, preizkusili še na biotični površini modela humanih črevesnih epitelnih celic E12. Vpliva izvlečka ali evokarpina na adhezivnost in invazivnost sevov *C. jejuni* na izbranem celičnem modelu nismo mogli potrditi. Zato smo preizkusili še kombiniran sistem ob uporabi EREE ali evokarpina z bakteriofagom PC5. Čeprav dodatek izvlečka ali evokarpina ali bakteriofaga samega na število bakterij *C. jejuni* 660/08 ni imel zaznavnega vpliva, je kombinacija posamezne učinkovine z bakteriofagom vplivala na zmanjšanje števila invadiranih bakterij.

Pridobljeni rezultati prispevajo k boljšemu razumevanju narave tega s hrano prenosljivega mikroorganizma, njegovemu učinkovitejšemu obvladovanju v živilsko-prehranski oskrbovalni verigi in izboljšani mikrobiološki varnosti živil.

Ključne besede: filmotvornost; *Campylobacter jejuni*; preprečevanje

MOLEKULARNA TIPIZACIJA BAKTERIJ IZ SKLOPA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Urška Bidovec-Stojkovič

Laboratorij za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Klinika Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik
urska.bidovec-stojkovic@klinika-golnik.si

Učinkovit nadzor nad širjenjem nalezljive bolezni, kot je tuberkuloza, zagotavljajo le ustrezne metode genotipizacije, ki odkrivajo prenos okužbe z bacili tuberkuloze. Metoda RFLP IS6110 (RFLP), metoda MIRU-VNTR in metoda spoligotipizacije so svetovno uveljavljene in uporabljane metode na tem področju. Slovenija je bila ena izmed redkih držav na svetu, kjer se je metoda RFLP od leta 2000 uporabljala za genotipizacijo vseh izolatov *M. tuberculosis* na nacionalni ravni. S to metodo so bili v Sloveniji prepoznani in opisani najpomembnejši dejavniki tveganja za obolevanje s tuberkulozo. Da bi lahko metodo RFLP zamenjali s hitrejšo in učinkovitejšo, smo naredili obširno retrospektivno analizo rezultatov treh različnih tipizacijskih metod (RFLP, MIRU-VNTR in spoligotipizacija), na vseh izolatih (n=576) osamljenih v Sloveniji v obdobju treh let (2007-2009). Triletna primerjalna analiza rezultatov metod RFLP, MIRU-VNTR/24 in spoligotipizacije je pokazala, da lahko metoda MIRU-VNTR/24 ustrezno nadomesti metodo RFLP in postane metoda izbora tipizacije slovenskih izolatov bacilov tuberkuloze. Obe metodi epidemiološko ustrezno povežeta bolnike s tuberkulozo.

Metoda MIRU-VNTR/24 omogoča tipizacijo bacilov tuberkuloze že iz prvih bakterijskih kultur in s tem zelo pomembno skrajša čas od odkritja novega bolnika s tuberkulozo do končnega rezultata genotipizacije. Čas je krajši za vsaj tri tedne in rezultat genotipizacije je dostopen v nekaj dneh, ko je bolnik še v bolnišnici. Metoda spoligotipizacije se je izkazala kot dobra dopolnilna metoda v primeru, ko je potrebno določiti kateri svetovni genetski liniji pripada genotip in bi bila genetska linija pomembna z vidika invazivnosti in odpornosti na zdravila.

Kot prvi v svetovnem merilu, smo s prospektivno raziskavo jasno dokazali, da je možna neposredna tipizacija bacilov tuberkuloze iz kliničnih vzorcev (n=79). Uspešnost tipizacije z metodo MIRU-VNTR/24 neposredno iz kliničnih vzorcev korelira s stopnjo mikroskopske pozitivnosti vzorca. Hkrati smo tudi prvi v svetovnem merilu dokazali, da je možna tipizacija bacilov tuberkuloze iz svežih kliničnih vzorcev še več tednov po začetku zdravljenja.

Ključne besede: *Mycobacterium tuberculosis*; molekularna tipizacija; MIRU-VNTR 24 lokusov

OPTIMIZACIJA PROIZVODNJE BIOPLINA IZ LIGNOCELULOZNEGA SUBSTRATA Z GRANULIRANO ANAEROBNO BIOMASO IZ UASB BIOREAKTORJA

Maša Čater

Biotehniška fakulteta, Groblje 3, 1230 Domžale
masa.cater@gmail.com

Lignocelulozni substrati so na voljo v velikih količinah, vendar v bioplinski proizvodnji niso pogosto uporabljeni zaradi slabe anaerobne razgradnje. S testom biometanskega potenciala smo raziskali možnosti izboljšanja bioplinske proizvodnje z bioaugmentacijo s hidrolitskimi vampnimi bakterijami *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* Mz5^T, *Fibrobacter succinogenes* S85 in *Ruminococcus flavefaciens* 007C ter s celulozom in ksilanolitom *Clostridium cellulovorans*. Bakterije smo uporabljali individualno ali v kokulturah, pri čemer sta bili njihova celulozitična in ksilanolitična aktivnost pred dodajanjem v bioreaktor inducirani. Kot vir aktivnih mikroorganizmov smo uporabili anaerobno mikrobo biomaso iz bioreaktorja UASB Čistilne naprave Laško, odpadne pivovarske tropine pa so predstavljale modelni lignocelulozni substrat. Testirali smo tudi možnosti izboljšanja bioplinske proizvodnje z dodajanjem komercialnih encimskih mešanic MethaPlus L120, MethaPlus 100 in Axiase 100 v različnih doziranjih, ki se sicer uporabljajo za povečevanje bioplinske proizvodnje iz težje razgradljivih žitaric in drugih lignoceluloznih odpadkov v bioplinarnah, pri čemer pa njihova učinkovitost na pivovarskih tropinah doslej še ni bila determinirana. Poleg fizikalno-kemijskih parametrov bioplinskega procesa smo z molekularnimi metodami spremljali tudi spremembe v sestavi mikrobne združbe. Za najučinkovitejšo izboljšavo bioplinskega procesa se je izkazala bioaugmentacija s *P. xylanivorans* Mz5^T, kjer smo dosegli do 20 % povečanje proizvodnje metana na g KPK substrata. Hitrost nastajanja metana je bila v prvih dneh eksperimenta močno pospešena. Analize mikrobne združbe so potrdile, da v bioreaktorju po bioaugmentaciji izmed testiranih dodanih bakterij najdlje preživi *P. xylanivorans* Mz5^T. Izmed testiranih encimskih mešanic je bila najučinkovitejša Axiase 100 s povečanjem volumna nastalega metana na g KPK substrata za 20 - 40 %. Razkorak med ceno encimskih mešanic in njihovo učinkovitostjo povečuje potencial mikrobioloških pristopov oziroma uporabe bioaugmentacije za učinkovito izboljšanje bioplinske proizvodnje. Za aplikacijo v bioplinarnah so potrebna nadaljnja testiranja v pilotnem in industrijskem merilu, natančnejša opredelitev najmanjše količine dodajanja bakterij ali encimov za še zadovoljivo povečanje proizvodnje metana in s tem minimiziranje stroškov obdelave lignoceluloznega substrata.

Ključne besede: bioplin; lignoceluloza; *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* Mz5^T

ODKRIVANJE IN ŠTUDIJ RAZNOLIKOSTI VIRUSOV S SEKVENCIRANJEM NASLEDNJE GENERACIJE

Denis Kutnjak^{1,2}

¹Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana;

²Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Jamova 39, 1000 Ljubljana
denis.kutnjak@nib.si

Sekvenciranje naslednje generacije (NGS) omogoča sočasno zaznavo in določanje zaporedij vseh nukleinskih kislin v bioloških vzorcih in odpira nove priložnosti za študij biologije virusov na različnih ravneh. Pri raziskavah, pri katerih se osredotočamo na virusna zaporedja, moramo pogosto pred izvedbo NGS odstraniti nukleinske kisline gostitelja. To lahko dosežemo z uporabo različnih tehnik za pripravo vzorcev. V okviru doktorskega dela smo želeli razviti nove načine priprave vzorcev, ki bi izboljšali raziskave virusov, ki temeljijo na NGS ter primerjati nove in obstoječe tehnike obogatitve virusov ter z njihovo pomočjo dobiti vpogled v raznolikost ter evolucijo virusov.

S povezavo monolitne kromatografije (za čiščenje virusnih delcev) in NGS smo določili zaporedje novega humanega enteričnega virusa (orthoreovirus sesalcev) in zaporedje pomembnega rastlinskega virusa (virus Y krompirja). Uporaba tega pristopa je izboljšala učinkovitost rekonstrukcije zaporedja genoma v primeru obeh virusov. Za določitev genoma novih različkov drugega pomembnega rastlinskega virusa (virus X krompirja) smo uporabili sekvenciranje malih RNA. Zaznali smo novo filogenetsko linijo virusa v Južni Ameriki in uspeli ločiti med dvema različkoma virusa v mešani okužbi. Oba uporabljena načina priprave vzorcev smo nato primerjali in pri tem uporabili virus Y krompirja kot model. Pokazali smo, da obe skupini zaporedij (virusne male RNA in RNA iz virusnih delcev) odražata zelo podobno strukturo virusnih populacij znotraj rastline. Globoko sekvenciranje virusnih malih RNA smo nato uporabili za študij časovne dinamike populacij PVY med eksperimentalno evolucijo v genotipih krompirja, ki se različno odzovejo na virus. Rezultati so razkrili pomemben prispevek prepletanja naravne selekcije in genetskega drsa v evoluciji virusa in nakazali na ločujočo selekcijo, ki deluje na virus v genotipih krompirja, ki so manj občutljivi na virus.

Rezultati tega raziskovalnega dela so pomembni za razumevanje raznolikosti in evolucije virusov, še zlasti pa predstavljajo pomemben prispevek na področju odkrivanja novih virusov in študija raznolikosti ter mikroevolucije virusnih populacij znotraj gostiteljev.

Ključne besede: sekvenciranje naslednje generacije; virusi; male RNA; virusni delci; evolucija



MOLEKULARNA OPREDELITEV VIRULENČNIH DEJAVNIKOV IN GENOTIPOV PROTI METICILINU ODPORNE BAKTERIJE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DOMAČEGA OKOLJA NA PODROČJU SLOVENIJE

Urška Dermota

Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj,
Gospodsvetska ulica 12, 4000 Kranj
urska.dermota@nlzoh.si

Proti meticilinu odporna bakterija *Staphylococcus aureus* (MRSA) povzroča okužbe v bolnišničnem (angl. *hospital-associated*; HA-MRSA) in v domačem okolju (angl. *community-associated*; CA-MRSA), v zadnjih letih pa novo grožnjo za okužbe pri ljudeh predstavljajo rejne živali; LA-MRSA (angl. *livestock-associated*). V naši raziskavi smo pregledali MRSA, ki so bili osamljeni med rutinsko mikrobiološko diagnostiko v mikrobioloških laboratorijih v letu 2010 in so ustrezali kriteriju fenotipskega presejanja. Vključili smo seve MRSA, ki so bili odporni proti oksacilinu in cefoksitinu ter občutljivi vsaj na dva od štirih antibiotikov (eritromicin, klindamicin, gentamicin ali ciprofloksacin). Za lažjo opredelitev MRSA smo uporabili tudi genotipizacijske metode, in sicer tipizacijo *spa*, MLST, PFGE, tipizacijo *SCCmec* in dokazovanje virulenčnih dejavnikov. V raziskavo smo tako vključili 151 sevov MRSA, in sicer 124 iz nadzornih in 27 iz kliničnih kužnin. Vseh 151 sevov MRSA smo uspešno tipizirali s tipizacijo *spa*. Odkrili smo 46 različnih tipov *spa*, med katerimi so prevladovali tipi *spa* t003 (16,5 %), t015 (13,9 %) in t011 (7,9 %). Prvi v svetu smo odkrili tip *spa* t13070. Pri tipu *spa* t4336 smo odkrili tudi nov alel pri genu *ygiL*. Prevalenca CA-MRSA je v letu 2010 bila 1,8 %. Ugotovili smo, da so CA-MRSA, ki so prisotni v Sloveniji, genetsko zelo heterogeni. Med vsemi 151 sevi MRSA so prevladovali sekvenčni tipi ST5 (40 sevov, 26,4 %), ST45 (38 sevov, 25,2 %), ST22 (16 sevov, 10,6 %) in ST398 (15 sevov, 9,9 %). Prvi v Sloveniji smo med CA-MRSA iz humanih vzorcev odkrili tudi seve MRSA s tipi *spa*, ki jih uvrščamo med LA-MRSA. Med LA-MRSA smo uvrstili 15 (9,9 %) sevov, ki so pripadali sekvenčnemu tipu ST398, ki ga povezujejo s prašiči. Prvi v Sloveniji smo pri 1 (0,6 %) izolatu MRSA dokazali novo različico gena *mecA*, in sicer gen *mecC*.

Ključne besede: CA-MRSA; LA-MRSA; *mecC*

MOLEKULARNA OPREDELITEV IN KLINIČNI POMEN NOVEGA ČLOVEŠKEGA PAPILOMAVIRUSA HPV-179 IN SORODNIH GENOTIPOV

Lea Hošnjak

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenija
lea.hosnjak@mf.uni-lj.si

Navadne kožne bradavice so najpogostejše benigne spremembe na koži, ki jih povzročajo predvsem človeški papilomavirusi (HPV) iz rodu *Alphapapillomavirus*, občasno pa tudi posamezni genotipi HPV iz rodov *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* in *Nupapillomavirus*. V sklopu doktorske naloge smo popolnoma molekularno in filogenetsko opredelili celotno nukleotidno zaporedje novega genotipa HPV-179 iz rodu *Gammapapillomavirus*, ki smo ga v našem laboratoriju odkrili v vzorcu navadne kožne bradavice imunsko-oslabiljenega bolnika. Na podlagi molekularne analize virusnega genoma smo zaključili, da HPV-179 nosi zapise za značilne PV-beljakovine (E1, E2, E4, E6, E7, L1 in L2) z večino ohranjenih funkcionalnih domen, ki virusu omogočajo, da zaključi svoj življenjski krog in okuži nove gostiteljske celice. S pomočjo novo-razvitega visoko-občutljivega tipsko-značilnega kvantitativnega PCR v realnem času (RT-PCR) v kombinaciji s kvantitativnim RT-PCR, s katerim lahko pomnožimo 150-bp velik del gena za človeški beta-globin, smo v omenjeni kožni bradavici dokazali visoko virusno breme HPV-179 (2.463 virusnih kopij/celico). Na podlagi odsotnosti značilnih povzročiteljev benignih kožnih sprememb in visokega virusnega bremena HPV-179 smo zaključili, da je bil HPV-179 etiološko povezan z nastankom omenjene novotvorbe. Na podlagi testiranja reprezentativne zbirke vzorcev s HPV-povezanih benignih in malignih sprememb ter klinično normalne kože in sluznic smo dokazali, da HPV-179 izkazuje kožno-sluznični tropizem ter, da v večini primerov najverjetneje povzroča dolgotrajne, prikrite, okužbe kože in sluznic tako imunsko-oslabiljenih kot tudi imunsko-kompetentnih oseb. V nadaljevanju smo razvili tudi visoko-občutljiv tipsko-značilen kvantitativen multipli RT-PCR, s pomočjo katerega smo na podlagi testiranja zgoraj omenjene zbirke vzorcev dokazali, da najbližja sorodnika HPV-179, HPV-135 in HPV-146, prav tako izkazujeta kožno-sluznični tropizem, povzročata prikrite okužbe imunsko-kompetentnih oseb in za razliko od HPV-179 lahko okužita tudi sluznico analnega kanala. V zadnjem delu raziskave smo pridobili prve podatke o genetski raznolikosti HPV-179/-135/-146, saj smo odkrili več podtipskih različic omenjenih virusov in dokazali, da le-te niso povezane s specifično klinično sliko oz. anatomskim mestom okužbe.

Ključne besede: novi človeški papilomavirus; imunsko-oslabiljeni bolniki; navadne kožne bradavice

FILOGENIJA IN EKOFIZIOLOGIJA GLIV KSEROFILNEGA RODU *WALLEMIA*

Sašo Jančič, Nina Gunde-Cimerman¹

¹Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenija
saso.jancic@gmail.com

Glivni rod *Wallemia* (Basidiomycota) vključuje tri vrste (*W. sebi*, *W. ichthyophaga*, *W. muriae*), ki so patogene, tvorijo mikotoksine in se pogosto pojavljajo v hrani ter zraku bivalnih prostorov. Vse tri vrste so kserofilne, kar pomeni, da za razvoj kolonij potrebujejo znižano vodno aktivnost v gojišču. Izolati gliv rodu *Wallemia* rastejo počasi, zato so velikokrat spregledani v klasičnih mikrobioloških raziskavah. V prvem delu doktorske naloge smo v okviru različnih ekofizioloških raziskav rodu *Wallemia* vzorčili okolja z znižano vodno aktivnostjo in zrak po celem svetu. Medtem ko smo halofilno vrsto *W. ichthyophaga* izolirali izključno iz izjemno slanih okolij, smo vrsti *W. sebi* in *W. muriae* osamili predvsem iz slane, sladke in suhe hrane. Vse tri vrste se pojavljajo tudi v zraku, kjer prevladuje *W. muriae*. Z analizo strojnega učenja smo pokazali, da je koncentracija propagul gliv rodu *Wallemia* v zraku odvisna predvsem od habitata in od vremena. Najvišje vrednosti smo določili v zraku kmetijskih objektov ob slabem vremenu. Novo izolirane seve in seve pridobljene iz mikrobioloških zbirk smo filogenetsko analizirali. Poleg treh obstoječih vrst smo opisali še štiri nove vrste. Tri vrste (*W. mellicola*, *W. canadensis* in *W. tropicalis*) so kserofilne in tesno sorodne vrsti *W. sebi*, medtem ko je vrsta *W. hederiae* halofilna in sestrška vrsti *W. ichthyophaga*. Razlikujejo se v velikosti konidijev, ksero-, halo- in kaotoleranci, temperaturi rasti, v profilu zunajceličnih encimov in naboru sekundarnih metabolitov. Za učinkovito določitev vrst smo uvedli nove molekulske markerje. Zaradi pogostih kontaminacij slane in sladke hrane z glivami rodu *Wallemia* smo pri vseh vrstah preučili vpliv vrste in koncentracije topljencev na tvorbo sekundarnih metabolitov in zunajceličnih encimov. Povišana koncentracija NaCl v gojišču vzpodbudi tvorbo toksičnih metabolitov valimidion, valeminol in valeminon in tudi določene zunajcelične encimske aktivnosti. Encimi z beta-glukozidazno aktivnostjo so prilagojeni na povišanje slanosti in imajo verjetno pomembno vlogo pri prilagajanju gliv rodu *Wallemia* na povišano slanost na nivoju celične stene.

Ključne besede: ekofiziologija; kserofilija; *Wallemia*

SVETOVNA GENOMSKA RAZNOLIKOST ČLOVEŠKIH PAPILOMAVIRUSOV HPV-6 IN HPV-11

Mateja Jelen

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenija
mario.poljak@mf.uni-lj.si

Človeška papilomavirusa HPV-6/-11 sta medicinsko najbolj pomembna nizkorizična genotipa, ki povzročata več kot 90% vseh anogenitalnih bradavic in papilomov grla. Vključena sta v štirivalentno in nonavalentno cepivo proti HPV. V primerjavi z visokorizičnimi genotipi HPV, je genomska raznolikost nizkorizičnih, slabo raziskana. Z našo raziskavo smo prvič opredelili genomsko raznolikost genotipov HPV-6/-11 na svetovnem nivoju. V raziskavo smo vključili do sedaj največje število HPV-6/-11-pozitivnih vzorcev (n=737), pridobljenih iz klinično pomembnih vzorcev, iz različnih anatomskih mest okužbe (anogenitalnih bradavic, papilomov grla in brisov materničnega vratu), iz petnajstih držav, iz šestih celin (Evropa, Azija, Severna in Južna Amerika, Avstralija in Afrika). V raziskavo smo vključili 530 HPV-6 in 207 HPV-11-pozitivnih vzorcev, katerim smo določili približno 2.800 baznih parov dolgo nukleotidno zaporedje, znotraj genomskih področij: E5a-E5b-L1-LCR ter opredelili najbolj raznolike podtipske različice, katerim smo določili celotno nukleotidno zaporedje (CG), približno 8.000 baznih parov. Opredelili smo največje število CG do sedaj: 130 CG HPV-6 in 30 CG HPV-11, kar predstavlja 40-70% vseh dostopnih CG HPV-6/-11 ter s filogenetsko analizo uvrstili podtipske različice HPV-6 v genetski liniji: A in B ter podlinije: B1, B2, B3, B4 in B5 ter podtipske različice HPV-11 v liniji A in B ter podlinije A1-A4. Podliniji HPV-6 B4 in B5 ter linijo B in podliniji A3 in A4 pri HPV-11 smo dokazali prvič. Na podlagi podlinijsko-specifičnih polimorfizmov posameznih nukleotidov smo pri HPV-6/-11 določili najkrajše nukleotidno zaporedje (del gena L2 pri HPV-6 in delno zaporedje znotraj področij E2-NCR2 pri HPV-11), ki je dovolj informativno za filogenetsko določanje vseh, do sedaj opredeljenih (pod)linij HPV-6/-11. V genu L1 HPV-6/-11 smo dokazali obstoj aminokislinskih zamenjav, ki bi teoretično lahko vplivale na učinkovitost štiri-/nonavalentnega cepiva proti HPV. Na svetovnem nivoju smo prav tako prvič z multivariatno logistično regresijo dokazali geografsko prevladujoče podtipske različice in dokazali povezave med (pod)linijami HPV-6, geografskim poreklom, spolom in anatomskim mestom okužbe.

Ključne besede: človeški papilomavirusi; svetovna genomska raznolikost; celotni genom

UČINEK MEDSEBOJNEGA VPLIVA OGORČICE *MELOIDOGYNE ETHIOPICA* IN BAKTERIJE *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* NA GOSTITELJSKE RASTLINE

Janja Lamovšek, Gregor Urek

¹Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana
janja.lamovsek@kis.si

Pojavnost boleznih raka koreninskega vratu (*Agrobacterium tumefaciens*) se že dolgo povezuje z dejavnostjo ogorčic koreninskih šišek (*Meloidogyne* spp.) na koreninah gostiteljskih rastlin. Oba organizma, *M. ethiopica* in *A. tumefaciens*, na koreninah povzročata zadebelitve v obliki gal in tumorjev, ki omejujejo pretok hranil in ob napredovanju boleznih vodijo v propad rastline. Rezultati raziskav o odnosu med obema škodljivima organizmoma niso enotni, zato smo v predstavljenem delu preverili domnevo o pozitivnem odnosu med ogorčicami koreninskih šišek in patogenimi agrobakterijami na koreninah paradižnika.

Zasnovali smo lončne poskuse in ovrednotili vitalnost rastline, uspešnost razmnoževanja ogorčic ter pojavnost raka koreninskega vratu (tumorjev) ob prisotnosti ogorčic *Meloidogyne* in bakterij *Agrobacterium* na koreninah paradižnika. Rezultati kažejo, da so rastline, ki smo jih okužili z bakterijami dva dni pred ogorčicami, bolj odporne proti *M. ethiopica*. Ogorčice so na tako okuženih rastlinah po 45 in 90-ih dneh tvorile manj jajčec in manj gal. Ob sočasni okužbi vpliva na razmnoževanje *M. ethiopica* nismo opazili. Poskus na ločenih koreninah je pokazal, da je opažen antagonistični vpliv bakterije na ogorčico sistemski. Izražanje nekaterih gostiteljskih obrambnih genov, ki so pod nadzorom rastlinskih hormonov, smo ovrednotili s tehniko reverzne transkripcije in PCR v realnem času (SYBR Green I). Odkrili smo, da je opažen antagonizem posledica aktivacije sistemsko pridobljene odpornosti (SAR), ki deluje prek markerskega gena poti salicilne kisline, *PR1* (s patogenezo-povezanega proteina 1). Po drugi strani pa ogorčice niso okrepile obrambe rastline na patogene agrobakterije; so pa popolnoma preprečile nastanek tumorjev, če smo jih inokulirali na korenine pred bakterijami.

Sklepamo, da je opažen antagonizem v izbranem patosistemu posledica sprva močnejšega obrambnega odziva rastline, ki sta ga kasneje zavrla tako patogena bakterija *A. tumefaciens* in škodljivec *M. ethiopica*.

Ključne besede: rak koreninskega vratu; ogorčice koreninskih šišek; obramba rastline

POGOSTNOST KOLONIZACIJE Z BAKTERIJO *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* IN MOŽNOSTI ZA IZBOLJŠANJE DIAGNOSTIKE PNEVMOKOKNIH OKUŽB DIHAL

Dane Lužnik

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik
dane.luznik@klinika-golnik.si

Okužbe spodnjih dihal so vodilni vzrok obolevnosti po celem svetu. Najpogostejši povzročitelj je *Streptococcus pneumoniae*. Postavitev diagnoze pnevmokokne pljučnice z uporabo klasičnih mikrobioloških tehnik je zahtevna, saj metoda izolacije bakterije iz krvi ni dovolj občutljiva, kultivacija iz izmečka lahko predstavlja kolonizacijo, invazivne metode odvzema vzorca pa se izvajajo le redko.

Z našo raziskavo smo želeli ugotoviti pogostost *S. pneumoniae* pri treh skupinah bolnikov, hospitaliziranih na Kliniki Golnik. Zbrali smo respiratorne in urinske vzorce 106 bolnikov z zunajbolnišnično pljučnico, 55 bolnikov z akutni poslabšanjem kronične obstruktivne pljučne bolezni (apKOPB) in 159 bolnikov, hospitaliziranih zaradi drugih bolezni. Izvedli smo kultivacijo respiratornih kužnin. Iz porasle kulture respiratornih vzorcev smo izvedli hibridizacijski test AccuProbe *S. pneumoniae*. Vsem respiratornim vzorcem smo izolirali DNK in iz izolatov DNK izvedli in-house hkratni PCR ter in-house PCR v realnem času, specifična za *S. pneumoniae*. Urinske vzorce smo testirali s testom BinaxNOW za zaznavanje topnega pnevmokoknega antigena.

Testirali smo 320 vzorcev z vsemi petimi metodami in glede na metodo dobili od 19 (6,3 %) do 51 (15,9 %) pozitivnih rezultatov. Metoda z največ pozitivnimi rezultati je bila PCR v realnem času. S kombinacijo različnih metod za dokazovanje pnevmokokov smo ugotovili pogostost bakterije *S. pneumoniae* v posamezni skupini bolnikov. Pri bolnikih, hospitaliziranih zaradi zunajbolnišnične pljučnice, smo možnost pnevmokokne pljučnice odkrili pri 40 (37,7 %) bolnikih. V skupini bolnikov z apKOPB smo odkrili 8 (14,6 %), v skupini bolnikov, hospitaliziranih zaradi drugih, pa 29 (18,2 %) bolnikov, koloniziranih z bakterijo *S. pneumoniae*.

Med deležem bolnikov, hospitaliziranih zaradi drugih bolezni, in deležem bolnikov z apKOPB, ki so kolonizirani s *S. pneumoniae*, nismo odkrili statistično pomembne razlike. S kombinacijo različnih metod smo dobili višje število pozitivnih vzorcev kot s katerokoli posamezno metodo. Test BinaxNOW za zaznavanje pnevmokoknega urinskega antigena se je pokazal kot možna metoda za ločevanje med pnevmokokno okužbo in pnevmokokno kolonizacijo.

Ključne besede: zunajbolnišnična pljučnica; kronična obstruktivna pljučna bolezen; *Streptococcus pneumoniae*

ODPORNOST PROTI METICILINU, VIRULENTNI DEJAVNIKI IN GENETSKA RAZNOLIKOST IZOLATOV *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, OSAMLJENIH PRI BOLNIKIH Z OKUŽBO MEHKIH TKIV IN KOŽE

Nataša Švent-Kučina¹, Dragica Maja Smrke², Katja Seme¹

¹Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo,
Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana;

²Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični oddelek za kirurške okužbe, Zaloška 7, 1000 Ljubljana
natasa.svent-kucina@mf.uni-lj.si

Staphylococcus aureus spada med poglavitne povzročitelje okužb kože in mehkih tkiv (OKMT). Zadnji dve desetletji proti meticilinu odporen *S. aureus* iz domačega okolja (CA MRSA) pogosteje povzroča OKMT. Namen prospektivne raziskave je bil ugotoviti prevalenco CA MRSA pri OKMT v Sloveniji ter razlike med izolati *S. aureus*, osamljenimi iz ran pri bolnikih z OKMT (SAb), in izolati *S. aureus*, osamljenimi iz nosu zdravih nosilcev (SAk). Pri 461 bolnikih z OKMT smo odvzeli brise ran in nosu, brise nosu pa pri 451 zdravih osebah in zbrali 344 izolatov *S. aureus*. Izolatoma smo določili občutljivost za antibiotike, klonalne komplekse (CC), *spa*-tipe in gene za Panton-Valentinov leukocidin (*pvl*), toksin toksičnega šoka 1, stafilokokne enterotoksine in toksin alfa. Ugotovili smo, da je proti meticilinu odporen *S. aureus* redek (2,8 %) povzročitelj OKMT ter da je večina SAb in SAk odpornih le proti penicilinu. Med SAb in SAk smo našli zelo heterogene izolate, vendar je večina pripadala sedmim poglavitnim humanim CC. Z izjemo CC121 in CC15 so bili CC enakomerno zastopani med SAb in SAk. CC121 smo pogosteje dokazali med SAb (22,0 % SAb proti 3,0 % SAk, *p*-vrednost < 0,0001), CC15 smo pogosteje dokazali med SAk (0,9 % SAb proti 3,0 % SAk, *p*-vrednost 0,0294). Podobno kot drugod po svetu je tudi pri nas med povzročitelji OKMT najpogostejši *pvl* pozitiven za meticilin občutljiv *S. aureus*, ki spada v CC121. Poglavitni *spa*-tip med SAb in SAk je bil t091. Med SAb smo pogosteje dokazali *pvl* (31,2 % SAb proti 3,6 % SAk, *p*-vrednost < 0,0001), gen za stafilokokni enterotoksin C pa med SAk (1,6 % SAb proti 17,0 % SAk, *p*-vrednost 0,0006). Verjamemo, da bodo zbrani podatki koristni za oblikovanje smernic za predpisovanje protimikrobnih zdravil v Sloveniji ter za razumevanje populacijske strukture in širjenja *S. aureus* na nacionalni in mednarodni ravni.

Gljučne besede: *Staphylococcus aureus*; okužbe kože in mehkih tkiv; virulentni dejavniki

GENETSKA OPREDELITEV IN TKIVNI TROPIZEM KANDIDATNIH IZOLATOV ZA NOVE GENOTIPE ČLOVEŠKIH PAPILOMAVIRUSOV V SLOVENIJI

Anja Oštrbenk

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija
anja.ostrbenk@mf.uni-lj.si

Človeški papilomavirusi (HPV) so povzročitelji številnih benignih in malignih človeških tumorjev, ki jih večinoma uvrščamo v tri rodove: Alphapapillomavirus (α -PV), Betapapillomavirus (β -PV), Gammapapillomavirus (γ -PV). Z uporabo širokospektralnih oligonukleotidnih začetnikov smo iz različnih anatomskih področij opredelili sedem slovenskih kandidatnih izolatov za nove genotipe HPV: SIBX12, SIBX13, SIBX15, SIBX18, SIBX19, SIBX20 in KC82-SLO. V prvem delu doktorske naloge so opisani kandidatni izolati SIBX12, SIBX13, SIBX15, SIBX18, SIBX19 in SIBX20 in njihova filogenetska uvrstitev v pripadajoče rodove oz. vrste HPV. V drugem delu doktorske naloge je opisan kandidatni izolat KC82-SLO, ki so mu v Referenčnem centru za HPV dodelili zaporedno številko HPV-199. Da bi potrdili obstoj novega genotipa, smo določili še celotno nukleotidno zaporedje neodvisnega izolata HPV-199, ki je bil izoliran iz vzorca analnega brisa. Molekularna opredelitev je pokazala, da genom HPV-199 izkazuje značilno organizacijo genoma in nosi zapis za 7 genov, ki kodirajo 5 zgodnjih (E1, E2, E4, E6 in E7) in 2 pozni (L1 in L2) virusni beljakovini. S filogenetsko analizo smo ugotovili, da je HPV-199 najbolj soroden HPV-127, s katerim izkazuje 77,0% skladnost v genu L1 in 73,2% skladnost v celotnem genomu. Tkivni tropizem in klinični pomen okužbe s HPV-199 smo določili na podlagi testiranja reprezentativne zbirke. V ta namen smo razvili in uvedli kvantitativni tipsko značilen PCR v realnem času z visoko analitično občutljivostjo in specifičnostjo. Na podlagi testiranja reprezentativne zbirke kliničnih vzorcev (n=916) smo odkrili 13 neodvisnih izolatov HPV-199, in sicer dva v vzorcih navadnih kožnih bradavic (2/76;2,6%), dva v dlačnih mešičkih obrvi (2/108;1,9%), dva v brisih analnega kanala (2/137;1,5%), štiri v nosnem delu žrela (4/184;2,2%) in tri v brisih materničnega vratu (3/411;0,7%). Dodatno smo z določitvijo nukleotidne sekvence nekodirajočega področja LCR odkrili tri podtipske različice HPV-199, ki so se od referenčnega izolata razlikovale v 2, 4 in 5 točkovnih mutacijah.

Ključne besede: človeški papilomavirusi; genetska opredelitev; tkivni tropizem

FENOTIPSKA IN GENOTIPSKA OPREDELITEV BAKTERIJE IZ RODU *LEPTOSPIRA* IN OCENA IZBRANIH METOD ZA MIKROBIOLOŠKO DIAGNOSTIKO LEPTOSPIROZE

Daša Podgoršek

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana
dasa.podgorsek@gmail.com

Leptospiroza je najbolj razširjena zoonoza na svetu, endemična tudi v Sloveniji. Povzročajo jo spirohete iz rodu *Leptospira*. Človek je le naključni gostitelj, ki se z leptospirami okuži ob stiku z izločki okužene živali oziroma prek kontaminiranega okolja. Za leptospirozo je značilna zelo pestra klinična slika. Zgodnja antibiotična terapija je bistvena za ozdravitev, pri tem pa je pomembna hitra in učinkovita diagnostika, kjer igrata ključno vlogo poznavanje epidemioloških podatkov in izbor ustreznega diagnostičnega testa glede na fazo bolezni. Namen doktorske disertacije je bil oceniti metode za mikrobiološko diagnostiko leptospiroze, opredeliti leptospire pridobljene s kultivacijo bolnikovih vzorcev na Slovenskem ter oceniti metode za tipizacijo.

V raziskavi smo uporabili pet različnih metod za tipizacijo (imunski serumi, *NotI*-PFGE, RT-PCR z analizo Tm, MLST in MALDI-TOF MS) s katerimi smo opredelili 21 referenčnih sevov in 10 kliničnih izolatov leptospir. Za dokaz okužbe z leptospirami smo prejeli 1399 vzorcev krvi, urina, likvorja in prekatne vodke 886 bolnikov s sumom na leptospirozo, ki smo jih testirali s tremi različnimi diagnostičnimi pristopi (kultivacija, serologija in molekularne metode). Uspešno smo opredelili referenčne seve in klinične izolate leptospir v Sloveniji ter ugotovili, da na našem geografskem področju prevladujeta serovara Grippotyphosa in Icterohaemorrhagiae ter vrsti *L. kirschneri* in *L. interrogans sensu stricto*. Leptospirozo smo dokazali pri 73 bolnikih; največkrat so bili pozitivni serološki testi, sledijo molekularni testi, kultivacija pa je bila pozitivna le pri dveh bolnikih.

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko trdimo, da je slovenska epidemiološka slika podobna evropski in da ima tipizacijska metoda MLST največjo razlikovalno moč. Hkrati smo dokazali tudi nizko občutljivost kultivacije in ugotovili, da leptospirozo v prvi fazi bolezni najučinkoviteje dokažemo z molekularnimi testi, med katerimi izstopa RT-PCR reakcija z oligonukleotidnimi začetniki LipL32, in s hitrim serološkim testom Leptocheck, kasneje pa je za diagnostiko leptospiroze najbolj uporaben referenčni serološki test MAT.

Ključne besede: leptospiroza; tipizacija; mikrobiološka diagnostika

PRIROJENA IN PRIDOBLEJENA OKUŽBA S HUMANIM VIRUSOM CITOMEGALIJE V SLOVENIJI

Katarina Rednak Paradiž¹, Mario Poljak², Darja Paro-Panjan³

¹Oddelek za pediatrijo, Splošna bolnica Slovenj Gradec, Gosposvetska 1, 2380 Slovenj Gradec;

²Laboratorij za molekularno diagnostiko in slovenski referenčni center za HIV/AIDS, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana;

³Klinični oddelek za neonatologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva 20, 1000 Ljubljana
katarina.paradiz@gmail.com

Humani virus citomegalije (CMV) je najpogostejši povzročitelj prirojene virusne okužbe pri ljudeh. V prvi raziskavi pogostnosti prirojene okužbe s CMV v Vzhodni in Srednji Evropi smo pri vseh novorojenčkih, rojenih v 22-mesečnem obdobju v dveh slovenskih porodnišnicah, opravili prospektivno presejanje na prirojeno okužbo s CMV z verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (PCR) iz urina. Pri vseh novorojenčkih, ki smo jim dokazali CMV DNA v urinu, smo testirali kapljico posušene krvi na filter lističu (angl. dried blood spot, DBS) in plazmo ter prirojeno okužbo s CMV dodatno potrjevali z osamitvijo CMV na celični kulturi iz urina. Prirojeno okužbo s CMV smo potrdili pri štirih od 2841 testiranih novorojenčkov (pogostnost 0,14 %; 95 % interval zaupanja: 0,05–0,39 %) in ugotovili, da je pogostnost prirojene okužbe s CMV v Sloveniji med nižjimi na svetu. Koncentracija CMV DNA v urinu se je gibala od 4,68 do 8,18 log₁₀ kopij/ml in v popkovni krvi od 1,26 do 3,34 log₁₀ kopij/ml. Pri dveh od štirih smo dokazali CMV DNA tudi v DBS.

V prospektivno raziskavo o pojavnosti pridobljene okužbe s CMV smo vključili vse otroke iz prvega dela raziskave, ki so bili zaradi različnih bolezni napoteni na Oddelek za pediatrijo slovenjegraške bolnišnice. Pri skupno 304 otrocih, mlajših od pet let, smo v serumskih vzorcih ugotavljali navzočnost specifičnih protiteles proti CMV razredov IgG in IgM. Rezultati seroloških preiskav, opravljenih pri otrocih, ki so bili ob ponovnem odvzemu krvi starejši od 12 mesecev, nakazujejo trend povečevanja prekuženosti s CMV s starostjo od 39 % (95 % interval zaupanja: 0,27–0,53) prekuženosti pri otrocih starih 13–18 mesecev na 56 % (95 % interval zaupanja: 0,31–0,79) pri otrocih starih 49–60 mesecev. Prvič pridobljeni podatki o pojavnosti okužbe s CMV med predšolskimi otroci v Sloveniji so pomembni zaradi možnosti prenosa okužbe na nosečnico in plod.

Ključne besede: CMV; prirojena okužba; pogostnost

ADHEZIVNOST BAKTERIJE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* K49/4 V CELIČNIH LINIJAH ČREVESNIH EPITELNIH CELIC IN PROTIADHEZIJSKA UČINKOVITOST IZBRANIH RASTLINSKIH IZVLEČKOV

Maja Šikić Pogačar^{1,2}

¹Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor;

²Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

maja_sikic@yahoo.com.au

Protiadhezijska terapija predstavlja novo, alternativno metodo zdravljenja bakterijskih okužb, ki je zanimiva predvsem zato, ker preprečuje adhezijo bakterij, ključno, začetno stopnjo okužbe. Še bolj pomembno pri protiadhezijski terapiji je dejstvo, da ne izvaja selektivnega pritiska na bakterije, zaradi česar je manjše tveganje razvoja odpornosti. Da bi preverili inhibicijo adhezije *C. jejuni* K49/4, smo v poskusih *in vitro* testirali različne rastlinske izvlečke na celičnem monosloju celic PSI, in sicer izvleček tropin sorte Modri pinot (GE), oljčnih listov (OE) ter timijana (TE) in njegov preostanek po hidrodestilaciji eteričnega olja (TE-R) ter izvleček iz semen rastline *Alpinia katsumadai* (SEE) in njegov preostanek po hidrodestilaciji eteričnega olja (hdSEE-R). Pred poskusom protiadhezijske učinkovitosti izvlečkov smo preverili njihovo protimikrobno delovanje ter citotoksičnost na celičnih kulturah PSI in H4 in s tem določili koncentracijsko območje za testiranje protiadhezijske aktivnosti izvlečkov. Želeli smo preveriti uporabnost odpadnega materiala in stranskih proizvodov agro-živilstva ter primerjati njihovo učinkovitost z izvlečki iz izhodnega rastlinskega materiala. Z različnimi metodami predinkubacije celic PSI z izvlečki ali s *C. jejuni* K49/4 smo preverjali njihov vpliv na celične receptorje ali bakterijske adhezine. Najučinkovitejša izvlečka pri preprečevanju adhezije *C. jejuni* K49/4 na celice PSI sta bila SEE in hdSEE-R, sledila sta TE in TE-R. Zanimivo je, da so se odpadni materiali (TE-R in hdSEE-R) ter OE, izvleček iz stranskega proizvoda agro-živilske industrije, pokazali kot zelo uspešni pri preprečevanju adhezije *C. jejuni* K49/4 tudi pri zelo nizkih koncentracijah. Rezultati so pokazali učinkovitost odpadnega materiala (TE-R in hdSEE-R) in stranskih proizvodov (OE) pri preprečevanju adhezije bakterij. Obetavni rezultati študije kažejo možnosti uporabe izvlečkov iz odpadnih rastlinskih materialov na različnih področjih, vključno z industrijo in skrbjo za zdravje ljudi in živali.

Ključne besede: *Campylobacter jejuni* K49/4; adhezija; rastlinski izvlečki

DIVERSITY AND EVOLUTION OF PNEUMOVIRUSES CIRCULATING IN CROATIA

M. Jagušić^{1,2}, A. Slovic^{1,2}, J. Ivančić-Jelečki^{1,2}, D. Forčić^{1,2}, S. Ljubin Sternak^{3,4},
G. Mlinarić-Galinović⁴, Tatjana Vilibić-Čavlek^{4,5}, Irena Tabain⁵

¹Centre for Research and Knowledge Transfer in Biotechnology, University of Zagreb,
Rockefellerova 10, 10000 Zagreb, Croatia;

²Center of Excellence for Viral Immunology and Vaccines, CERVirVac, Croatia;

³Teaching Institute of Public Health "Dr. Andrija Štampar", Mirogojska 16, 10000 Zagreb, Croatia;

⁴School of Medicine University of Zagreb, Šalata 3, 10000 Zagreb, Croatia;

⁵Croatian National Institute of Public Health, Rockefellerova 12, 10000 Zagreb, Croatia
mmarkusi@unizg.hr

Acute respiratory tract infection (ARTI) is the most common infection in children under 5 years of age and it is frequently induced by two pneumoviruses; human respiratory syncytial virus (HRSV) and human metapneumovirus (HMPV). Epidemic seasons of these viruses overlap and disease manifestations are highly similar, including severe lower ARTI such as bronchiolitis or pneumonia. Reinfections with pneumoviruses are frequent and limited prevention treatment is available.

Genetic diversity of HRSV and HMPV strains circulating in Croatia was monitored during six consecutive years, March 2011-March 2016. Samples were obtained from hospitalized patients with DFA-confirmed HRSV or HMPV infection and further molecular analyses were based on sequences of the second hypervariable region of the HRSV G gene or partial HMPV F gene.

Throughout the study period a higher substitution rate (9.94×10^{-3} /site/year) was observed within HRSV group B strains compared to the group A strains (up to 4.98×10^{-3} /site/year). In group A, NA1 was predominant genotype during first 3 years of the study, followed by rapid replacement with genotype ON1. At the beginning of 2016, 70% of analysed HRSV samples were of ON1 genotype showing clear genotype shift in the circulating HRSV population. Both HMPV group A and group B strains had similar substitution rates of approx. 2.4×10^{-3} /site/year and showed the same degree of genetic diversity. Based on sequences of complete F, G and SH HMPV glycoproteins, the presence of a novel subcluster A2c in Europe was confirmed. Within the group A, 40% of the strains classified in this subcluster. Prior to our analysis, A2c has only been detected in Japan (2010-2011) and Malaysia (2012-2014).

Keywords: human respiratory syncytial virus; human metapneumovirus; genetic diversity

REVEALING THE PROMOTER OF AN HSV-1 miRNA – WORK IN PROGRESS

Ana Mihatović^{1,2}, Marina Matešić¹, Igor Jurak¹

¹Laboratory for molecular virology, Department of Biotechnology, University of Rijeka;

²Master program in Biotechnology in Medicine, University of Rijeka, Department of Biotechnology
igor.jurak@biotech.uniri.hr

Many viruses, including herpes simplex virus 1 and 2 (HSV-1, HSV-2), have been found to express functional microRNAs. Viral miRNA can target both viral and cellular transcripts and can have a profound effect on virus replication. For example, HSV-1 expresses miRNAs that target important virus genes ICPO or ICP4. However, although HSV-1 miRNAs have been discovered more than 10 years ago, little is known about their biogenesis and regulation. The main aim of this study is to identify a promoter for miR-H1, a virus encoded miRNA abundantly expressed during productive infection. Thus far, by using different bioinformatics tools we predicted the promoter region and the transcriptional termination site for the transcript that might give rise to miR-H1. To test if the predicted promoter region indeed contains the promoter we have generated a dual-luciferase reporter assay based on a commercially available system pmiR-GLO (Ambion). We are planning to replace the original promoter (PGK) for the expression of a reporter luciferase with the 1,5kb genomic region that spans the predicted promoter derived from the HSV-1 strain KOS. Next, we plan to test the activity of luciferase by introducing different mutations to identify the exact miR-H1 promoter sequence. Our current results and plan of our future experiments will be presented.

Keywords: miRNA; promoter; HSV-1

INVESTIGATING THE ROLES OF **microRNAs** IN **HERPES SIMPLEX VIRUS 1** LATENCY USING AN *IN VITRO* MODEL

Maja Badurina¹, Henrik Paavilainen², Riikka Arffman³, Igor Jurak¹, Veijo Hukkanen²

¹Department of Biotechnology, University of Rijeka, Croatia;

²Department of Virology, University of Turku, Finland;

³NYU Langone Medical Center, New York

maja.badurina@uniri.hr

Herpes simplex virus 1 (HSV-1) encodes a large number of microRNAs (miRNAs). MicroRNAs are small non-coding RNAs that play key roles in the regulation of gene expression and participate in many cellular pathways. The recent discovery of virus-encoded miRNAs in latently HSV-infected ganglia has suggested a potential new molecular mechanism for the control of latency and repression of lytic viral genes. For example, miR-H1 is abundantly expressed only in productive infection, whereas miR-H2 - miR-H5 are abundant in latency. Recently we have developed a model based on intact mouse embryonic dorsal root ganglia (DRG) cultures (Mattila et al., J Gen Virol 96:2304, 2015), which recapitulates the features of HSV-1 latency observed in mouse models. Currently we study the HSV-1 miRNA expression pattern in this model. Using a recombinant HSV-1 that expresses the green fluorescent protein (EGFP) under a strong mouse cytomegalovirus promoter, we showed that after infecting the DRGs the virus passes through different phases of infection, from the initial productive phase (strong expression of GFP and DNA replication) to latent infection (marked by a diminished expression of GFP and cessation of infectious virus production). We have analyzed latently infected DRGs and DRGs stimulated to reactivate the latent virus, and our preliminary results show that this model resembles the pattern of HSV-1 expression found in humans and animal models. Using highly specific miRNA assays based on TaqMan probes, we have found that miR-H6 and miR-H4, as expected, are expressed during latency, and that their expression levels decrease during the reactivation phase, which is in accordance with previously published data. Investigation of HSV-1 lytic transcripts shows expression in early stages of infection, after which expression significantly decreases. To investigate comprehensively miRNA deregulation, we have sequenced miRNAs from the productively and latently infected DRGs and currently analyzing the obtained data sets.

Keywords: microRNAs; HSV-1; latency



EFFICIENT PHOTODYNAMIC INHIBITION OF HSV-1 REPLICATION USING A NOVEL CATIONIC AMPHIPHILIC PORPHYRIN

Maja Cokarić Brdovčak¹, Lara Djaković¹, Ivana Bertović², Klaudia Knežević¹, Antonija Jurak Begonja², Nela Malatesti³, Igor Jurak¹

¹Laboratory for Molecular Virology, Department of Biotechnology, University of Rijeka, Rijeka, Croatia;

²Laboratory for Haemathopoiesis, Department of Biotechnology, University of Rijeka, Rijeka, Croatia;

³Laboratory for organic and solid state chemistry, Department of Biotechnology,

University of Rijeka, Rijeka, Croatia

maja.cokaric@biotech.uniri.hr

Treatment of HSV-1 infections largely relies on nucleoside analogs such as acyclovir (ACV) and its derivatives. However, prevalence of ACV resistant viruses is increasing and thus the development of novel strategies to treat HSV-1 infections is necessary. Photodynamic therapy (PDT) is an approach that employs a nontoxic photosensitizer (PS) that can be excited by light and produce reactive oxygen species (ROS) and HSV-1 is frequently used as a model to study effects of PDT on enveloped viruses. In our study we investigated the potency of TMPyP3-C₁₇H₃₅, an amphiphilic porphyrin based PS, previously shown as an effective inducer of cell death, to inhibit HSV-1 replication in cultured cells. First, we have determined the concentration range at which the light activated compound does not exert a significant toxicity on Vero cells by using standard MTT and proliferation assays. Such sub-toxic concentrations of TMPyP3-C₁₇H₃₅ were used to test its antiviral properties in a variety of different experiments. We show that TMPyP3-C₁₇H₃₅ inhibits replication of HSV-1 in a dose dependent manner and that its activity strongly depends on the activation by light. Virus yields in treated and irradiated cells were more than thousand times lower than in cells equally treated by not irradiated compound or not treated at all. Moreover, we show that treatment of cells prior to infection effects expression of genes of all expression-kinetics classes, including immediate early gene ICP0, indicating an early block in virus replication. However, in experiments where cells were treated after infection we observed a strong effect of TMPyP3-C₁₇H₃₅ on virus replication only when cells were treated shortly after infection, i.e. up to 30 min post entry. These results indicate that the activated compound might effectively inhibit the entry of the virus, perhaps by damaging virions. Indeed, we show that TMPyP3-C₁₇H₃₅ strongly limits the infectivity of HSV-1 virions probably by damaging the virus envelope. Taken together, our results show that activated TMPyP3-C₁₇H₃₅ inhibits HSV-1 infection by several different mechanisms and might offer a novel approach in therapy against HSV-1.

Keywords: HSV-1; photodynamic therapy; TMPyP3-C₁₇H₃₅

PROTEIN INTERACTIONS INVOLVED IN THE RELATION OF POTATO VIRUS Y WITH POTATO PLANT

Ion Gutierrez Aguirre¹, Anna Coll¹, Kristina Gruden¹, Andreja Šink², Marjetka Podobnik², Gregor Anderluh², Špela Tomaž^{1,3}, Aleksandra Usenik³, Ajda Taler-Verčič³, Dušan Turk³, Maja Ravnikar¹

¹National institute of Biology, večna pot 111, 1000, Ljubljana, Slovenia;

²National Institute of Chemistry, Hajdrihova 19, 1001, Ljubljana, Slovenia;

³Jožef Stefan Institute, Jamova 39, 1000, Ljubljana, Slovenia

ion.gutierrez@nib.si

Potato virus Y (PVY) is among the 10 most important plant viruses. During its infection cycle, the coat protein (CP) and other viral proteins interact with each other and with host plant proteins to ensure virus replication, encapsidation and movement. In the frame of a recently awarded project, we are studying the protein interactions involved in the PVY relation with its potato host from various points of view.

Based on a recently developed plant immune signalling model and two datasets of potato-PVY interaction transcriptomic data, we selected 29 interesting potato proteins together with 17 viral proteins coming from 2 PVY genotypes, NTN and N. All proteins were cloned in 4 different expression vectors (pMCSG7, pMCSG9, pMCSG10 in pSUMOLIC) and their expression attempted in *E. coli*. At the moment three potato proteins (SAPK8, MAPK13, TGA1) and one viral protein (VPg) have been successfully expressed with and without HIS tag. Attempts to crystalize the expressed proteins are going on.

We are preparing SPR experiments to explore the interactions of successfully expressed proteins among each other and/or with PVY particles. We will also use SPR to try to find new potential interacting partners by injecting protein extracts from potato plants onto chips exposing either captured PVY particles or successfully expressed proteins.

We also research the self-interaction of CP expressed in *E. coli* by monitoring the formation of filamentous virus like particles (VLPs), which may have potential biotechnological uses. We seek to decipher the structure of the CP. For this, we produced different CP constructs that do not assemble into particles but into homogeneous oligomers that may be easier to crystalize. To study the structure of both VLPs and PVY particles (genotype NTN) we are using CryoEM. First pictures are promising and suggest that resolving their 3D structure at high resolution is possible.

Keywords: PVY; protein-protein interaction; VLP, SPR



GENERATING HUMAN GUT VIROME: THE INFLUENCE OF VIRAL NUCLEIC ACID PREPARATION

Nika Janež¹, Sandra Janežič², Aleksander Mahnič², Tomaž Curk³, Maja Rupnik²,
Matjaž Peterka¹

¹Centre of Excellence for Biosensors, Instrumentation and Process Control, Centre for Biotechnology, Tovarniška 26,
5270 Ajdovščina;

²National Laboratory for Health, Environment and Food (NLZOH), Prvomajska 1, 2000 Maribor;

³University of Ljubljana, Faculty of Computer and Information Science, Bioinformatics, Laboratory,
Večna pot 113, 1000 Ljubljana
nikolaja.janez@cobik.si

Human body is a host to array of microorganisms and microbial populations are most abundant in the gut. Using novel sequencing techniques and tools to analyse the sequencing data, we are beginning to establish the role of microbes in human health status. Bacterial microbiomes are mostly studied while fungi, archaea and viruses only starting to be addressed. The virome, composed of mainly bacterial viruses, serve as agent of microbial mortality, lateral gene flow and source of new genes affecting microbial metabolism.

When generating the virome, the proportion of viral nucleic acids (NA) within metagenome is typically much lower than the microbial DNA, affecting the quality of sequencing and data analysis. In this study we demonstrate how preparation of viral NA affects sequencing and profiles of viral metagenomes in terms of taxonomic diversity. The viral NA was isolated from faecal sample of a healthy volunteer. Sample was homogenized, clarified and treated with DNA degrading enzyme followed by DNA extraction using commercially available kits. The pure NA were then either amplified by Phi-29 polymerase or were directly subjected to library preparation. The Illumina pair end sequencing reads were quality filtered, merged and de-replicated. We will present data from pairwise comparisons of the reads itself and *de novo* assemblages against the viral RefSeq database, phage-specific and cellular markers database aimed to estimate taxonomic diversity as well as the microbial contamination arising from the sample.

Keywords: human microbiome; virome; sequencing

SEROPREVALENCE OF HEPATITIS E IN DIFFERENT POPULATION GROUPS IN CROATIA

Pavle Jeličić¹, Tatjana Vilibić-Čavlek^{1,2}, Maja Vilibić³, Lorena Jemeršić⁴,
Branko Kolarić^{5,6}, Jasmina Kučinar⁷, Ljubo Barbić⁸, Vladimir Stevanović⁸,
Nataša Janev-Holcer¹, Irena Tabain¹, Vlatka Brumen⁹, Ivka Djaković¹⁰,
Alef Prohić⁹, Vesna Košec¹⁰, Bernard Kaić¹

¹Croatian National Institute of Public Health, Zagreb, Croatia;

²School of Medicine University of Zagreb, Zagreb, Croatia;

³Vrapce Psychiatric Hospital, Zagreb, Croatia;

⁴Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia;

⁵Andrija Stampar Teaching Institute of Public Health, Zagreb, Croatia;

⁶School of Medicine University of Rijeka, Rijeka, Croatia;

⁷Istria County Institute of Public Health, Pula, Croatia;

⁸Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Zagreb, Croatia;

⁹Sveti Rok Polyclinic, Zagreb, Croatia;

¹⁰Clinical Hospital Centre »Sisters of Mercy«, Zagreb, Croatia

pavle.jelicic@hzjz.hr

Hepatitis E virus (HEV) infection has become an emerging infection in many European countries. We analyzed the prevalence of HEV infection in professionally exposed and non-exposed population groups in continental Croatia. From June 2014 to May 2017, a total of 322 serum samples collected from Croatian residents were tested for the presence of anti-HEV IgM and IgG antibodies using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (Euroimmun, Lübeck, Germany). All reactive samples were confirmed using a commercial immunoblot assay (HEV Recomline; Mikrogen, Neuried, Germany). IgM positive samples were further tested for the presence of HEV RNA. RNA extraction was performed using a QIAamp extraction kit (Qiagen, Hilden, Germany) and reverse transcription using a GoScript Reverse Transcription System for RT-PCR (Promega, Madison, USA) in a GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA). Overall HEV IgG seropositivity was 16/322 (4.6%; 95%CI=2.9-7.9). HEV IgM antibodies were detected in 4/322 (1.2%; 95%CI=0.3-3.1) participants. No one IgM positive sample was positive for HEV RNA. HEV IgG antibodies were most prevalent in alcohol abusers (5/56; 8.9%, 95%CI=3.0-19.6), forest workers (3/37; 8.1%, 95%CI=0.2-21.9) and injecting drug users (3/49; 6.1%, 95%CI=1.3-16.9) compared to hunters (1/25; 4.0%; 95%CI=0.1-20.4), healthcare workers (1/50; 2.0%, 95%CI=0.1-10.6), general population (1/37; 2.7%, 95%CI=0.1-14.2) and pregnant women (2/68; 2.9%, 95%CI=0.4-10.2). Our results indicate that HEV IgG seroprevalence rates differ among different population groups in Croatia. Further studies on a larger sample are needed to confirm this observation.

Keywords: hepatitis E; prevalence; Croatia

DETECTION OF PLANT VIRUSES BY NEXT GENERATION SEQUENCING

Nataša Mehle, Denis Kutnjak, Anja Pecman, Maja Ravnikar

National Institute of Biology, Večna pot 111, 1000 Ljubljana
natasa.mehle@nib.si

Several different viruses may infect plants. Infection of plants by different viruses may result in similar symptomatology, and symptoms may resemble the infection with other pests, abiotic stress, physical or genetic disorders, therefore symptomatology alone cannot be used as an identification tool. Host range of viruses and their transmission mode (e.g., by aphids, thrips, fungi, nematode, seeds) differ; consequently the identification of plant viral agents is crucial for planning an effective prevention of virus spreading or its eradication. The methods currently used for viral disease diagnosis are, in general, designed to detect one or a few viruses at the same time, but multiple detection of plant pathogens in a single step would be useful. This would not only decrease handling time, but also reduce the amounts of consumables and reagents needed, resulting in lower costs. Next-generation sequencing (NGS) is one of the emerging methods in plant virology currently being introduced also in our diagnostic process for symptomatic samples for which identification by classical screening methods failed. We developed a user-friendly bioinformatic pipeline in CLC Genomics Workbench for identification of viruses from small RNA deep sequencing results. With NGS analyses of ornamental and vegetable samples, we discovered known and new plant viruses in Slovenia. NGS allows also more effective determination of unknown (still to be described) viral nucleotide sequences. In the presentation, we will outline the significance and new challenges after the introduction of NGS in the diagnosis of plant viruses.

Keywords: NGS; plants; viruses

NOVEL BAT MAMMALIAN ORTHOREOVIRUS VARIANTS - EMERGING HUMAN PATHOGENS

Tina Naglič¹, Danijela Rihtarič², Peter Hostnik², Nataša Toplak³, Simon Koren³,
Mateja Poljšak Prijatelj¹, Andrej Steyer¹

¹Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana,
Zaloška 4, Ljubljana, Slovenia;

² Institute of Microbiology and Parasitology, Veterinary Faculty, University of Ljubljana,
Gerbičeva ulica 60, Ljubljana, Slovenia;

³Omega d.o.o., Dolinškova ulica 8, Ljubljana, Slovenia
tina.naglic@mf.uni-lj.si

Orthoreoviruses frequently infect humans and other animals, causing variety of diseases. Recently, first report on mammalian orthoreovirus (MRV), strain SI-MRV01 with high similarity to newly described bat MRVs, was detected in a child with severe diarrhoea. The aim of our study was to analyse clinical importance of detected bat MRVs in humans and to elucidate zoonotic potential and molecular diversity of the isolated MRVs. A total of 459 bat guano samples and 583 stool samples from hospitalised children (< 6 years of age) with severe diarrhoea were retrospectively analysed for the presence of MRVs using broad spectrum RT-PCR of partial L3 MRV segment. A specific real time RT-PCR, targeting L1 gene segment, was performed for a sensitive detection of the new bat MRV variant. Viruses were isolated on LLC-MK2 cell line. Representative MRV isolates were molecularly characterized by Ion Torrent NGS platform. The prevalence of MRV in bat guano was 10.7 % (49 out of 459). Out of 583 children stool samples only one was positive for MRV. According to molecular analysis of partial L3 segment, most of the detected MRVs in bats were highly similar (99 %) to Slovenian MRV isolate SI-MRV01. However, in two samples, more divergent strains were detected, with only 78 % nucleotide similarity to isolate SI-MRV01 and no closely related sequence was found in GenBank. According to the whole genome analysis, bat MRVs showed high reassortant dynamic between MRVs found in different mammalian species. High prevalence of MRV in bats and the detection of closely related strain in humans suggests a potential zoonotic transmission. Further research is focused on MRV seroprevalence to investigate epidemiology and circulation of MRVs in nature.

Keywords: mammalian orthoreovirus; zoonosis; NGS

MEASURING INNATE IMMUNE RESPONSE IN EPITHELIAL CELLS AFTER ADENOVIRUS INFECTION

Davor Nestić¹, Alen Kovačević¹, Jolien van den Bosch¹, Jelena Knežević², Jerome Custers³, Andreja Ambriović-Ristov¹, Dragomira Majhen¹

¹Laboratory for Cell Biology and Signalling, Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia;

²Laboratory for advanced genomics, Division of Molecular Medicine, Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia;

³Janssen Vaccines and Preventions BV, CA, Leiden, The Netherlands
dragomira.majhen@irb.hr

Adenovirus vectors based on a serotype 5 (AdV5) are the most commonly investigated adenoviral vectors for gene therapy and vaccination. Limitations for using AdV5 as a vector are activation of the host innate immune responses as well as preexisting immunity to AdV5 wild type. The aim of this study was to investigate the differences in the activation of innate immune response after infection with AdV5 and low seroprevalent serotypes of adenovirus: AdV35, and AdV26, which may be used to overcome the preexisting immunity to AdV5. After infecting SK-OV-3 and A549 cell lines with replication deficient AdV5, AdV26 and AdV35, we measured the levels of mRNA and corresponding proteins for molecules known to be involved in innate immune response using qPCR, western blot and ELISA. We showed that in contrast to AdV5, infection with AdV26 and AdV35 increased expression of genes known to be involved in initiation of inflammation, namely IL-6, IL-8, IFN- α 1, TNF- α and IL-1 β . We also observed differences in adaptor molecules situated downstream of pattern recognition receptors and those involved in inflammasome formation. We hypothesize that there are differences in role of innate immune response in AdV26 and AdV35 infection which might be used for construction of vectors with better performances for DNA transfer and vaccination purposes.

Keywords: adenovirus; innate immune response; gene transfer and vaccination.

CHARACTERIZATION OF VACCINE-VIRUS-ASSOCIATED RABIES IN STONE MARTEN

Danijela Rihtarič, Urška Kuhar, Jože Grom, Peter Hostnik, Ivan Toplak

University of Ljubljana, Veterinary faculty, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
danijela.rihtaric@vf.uni-lj.si

In Slovenia, an oral vaccination program has been running since 1988. As Slovenia was declared as rabies free country on the 1st of May 2016, the vaccination program will probably end. Vaccine, which contains strain SAD B19 is not neurotropic for foxes, therefore it should not induce disease.

Three cases of vaccine-virus-associated rabies were already confirmed in wild animals in Slovenia. In 2008, the first case was confirmed in a young red fox. The second case was confirmed in 2012 in less than one-year-old red fox and the third case in 2014 in stone marten. Clinical signs typical for rabies were described in the last case in stone martin, namely, the animal was found during a day in a village, it showed uncoordinated movement and aggression. The direct immunofluorescence test from this case was positive and the virus was isolated from cell culture (NA cell line). The presence of rabies vaccine strain was confirmed by specific real time RT-PCR. The nucleic acid was extracted from the cell culture isolate and used for RNA library preparation. Library concentration and quality were performed with the capillary electrophoresis. The library was sequenced with the Ion Torrent technology on the Ion PGM platform (Thermo Fisher Scientific, ZDA).

The complete genome sequence was determined with the NGS. The genome of the isolated vaccine virus from stone marten differs from the reference strain SAD B19 (EU877068) in only 3 nucleotides. The nucleotide changes were found on following genome positions: 5.352 (A to G), 5.389 (T to C) and 8.518 (A to G). The nucleotide changes on G protein are responsible for rabies virus virulence. As the sample from the stone marten showed no nucleotide changes in the G protein gene, the recombination event between wild type and vaccine strain can be excluded. The occurrence of rabies vaccine virus in the brain tissue of stone marten may be the result of the residual pathogenicity of SAD B19 vaccine strain for rodents. Second reason for vaccine-induced rabies in stone marten may be accidentally weak immune system. It is not yet clear whether an animal infected with the SAD B19 rabies virus strain can be a source in infection for other animals.

Keywords: rabies; vaccine strain SAD B19; NGS

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF ROTAVIRUSES IN SLOVENIA

Andrej Steyer, Martin Sagadin, Aneja Tahirović, Marko Kolenc, Tina Naglič,
Mateja Poljšak-Prijatelj

Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Slovenia
andrej.steyer@mf.uni-lj.si

In countries with low vaccination coverage or without vaccination rotaviruses remains one of the important cause of acute diarrhoea in children 0-5 years of age. In Slovenia both rotavirus vaccines are available, but the vaccination coverage in new-borns is still low (20.7% in 2016). The aim of the work was to analyse rotavirus epidemiology and molecular characteristics after the vaccine introduction in Slovenia.

During the study period 2007-2016 the data on rotavirus cases was obtained from the records in the national database (National Institute of Public Health). In addition, 4222 strains from the study period were collected for genotyping of VP7 and VP4 genes according to the EuroRotaNet protocol. Maximum likelihood phylogenetic tree was constructed and VP7 and VP4 neutralizing epitopes of aligned amino acid sequences were analysed.

The incidence of rotavirus diarrhoea and hospital admissions for rotavirus were decreased for 40% throughout the seasons 2007 to 2016. The vaccination rate of new-borns was 5.5% and 10.7% in 2007 and 2008, respectively, but in the period 2009-2016, it varied between 18.4% and 26.9%. Among the most frequent genotypes G1P[8] was predominant in 2014/15 (77.9%), G2P[4] in 2015/16 (60.0%) and G4P[8] in 2009/10 (52.1%). For these genotypes, a phylogenetic clusters were observed, corresponding to the year of appearance, most evident in the VP7 phylogenetic tree of G1P[8] genotype strains. They shared 97.0-100.0% of nucleotide identity within and 92.0-97.5% between the clusters. Within the defined VP7 antigenic regions, G1 strains showed changes in 7-1a and 7-2 epitopes of VP7.

Although there is a marked decrease in rotavirus disease in Slovenia, it might not be solely the effect of vaccination, as the coverage is still low. Beside the fluctuation of rotavirus genotypes, the most evident change observed during the vaccination period is the genetic shift of G1P[8] strains.

Keywords: group A rotaviruses; molecular epidemiology; phylogenetic analysis

DETERMINATION OF THE FIRST COMPLETE GENOME OF PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS Meo19/2011 ISOLATED IN SLOVENIA

Ivan Toplak, Marina Štukelj, Danijela Rihtarič, Urška Kuhar

University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Infections with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) began to spread intensely among Slovenian pig farms after year 2004. The presence of antibodies against the PRRS virus was detected in 2010 in about half of the examined farms. The introduction of PRRS into the herd has mainly economic consequences due to the death of piglets, reduced growth and clinical manifestations of all endemic diseases present in the herd, which reduces the competitiveness of pig farms. In the period from 2009 to 2016, the presence of at least 16 different genetic lineages of PRRS viruses was detected by typing viruses isolated in Slovenia, most of the strains belonging to the genotype 1. We found also some positive herds that were infected with PRRS virus of genotype 2. The detection of large number of genetically different strains of PRRS is the result of increased imports of live pigs into Slovenia.

From 2009 to 2011, the same strain of PRRS from genetic lineage 1e was detected in Slovenia in about 60%, and in 2016 this virus was still present in about 10% of PRRS positive herds. For this reason, we decided to use the PRRS Meo19/2011 strain as the representative of this lineage. First, the presence of the PRRS virus in the serum sample, taken from 10 weeks old piglets, was demonstrated by the specific RT-PCR method. The PRRS Meo19/2011 virus was isolated on pulmonary alveolar macrophages and the complete genome of the virus was determined by using Ion Torrent technology.

The PRRS Meo19/2011 virus have 15.007 nucleotides (nt) and a typical organization of PRRS genome. With the closest PRRS strain in the Genebank, the Lelystad virus (M96262), it has only 86% nt identity. In the gene encoding a RNA-dependent RNA polymerase, the insertion of three nucleotides (one amino acid) in positions from 2.264 to 2.267 and the deletion of 84 consecutive nucleotides (28 amino acids) at positions from 2.430 to 2.514, according to the Lelystad strain, were found. Until now, these unique deletions have not been detected in any PRRS strain available in the Genebank. For our future research, it is important that the PRRS virus was isolated, as this is further confirmed by the successful replication of this strain, despite of deletion. The determination of the complete genome will enable more precise comparisons and the study of the presence of this type of deletion also among the PRRS strains that were detected in PRRS virus positive herds between 2009 and 2016. Virus Meo19/2011 is the first PRRS strain with complete determined genome sequence in Slovenia.

Keywords: PRRS virus; complete genome; epidemiology

ISOLATION OF A CYTOPATHIC STRAINS OF ENTEROVIRUSES FROM SAMPLES OF PIGS FECES

Ivan Toplak, Peter Hostnik, Danijela Rihtarič, Urška Kuhar

University of Ljubljana, Veterinary Faculty, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana
ivan.toplak@vf.uni-lj.si

In the *Picornaviridae* family, more than 50 strains of porcine enteroviruses are known, which are classified into two genera, the genus *Enterovirus* and the genus *Teschovirus*. The genome of picornaviruses represents a single stranded RNA molecule which is genetically very stable. Pig enteroviruses are widespread in pig populations. Most of infections are asymptomatic but some strains can cause severe clinical signs of disease with polyoencephalomyelitis, reproductive problems, myocarditis, pericarditis, pneumonia and diarrhoea. Teschen disease is the most severe disease that causes polyoencephalomyelitis and high mortality of pigs. Less virulent strains of enteroviruses are endemic in pig farms and are excreted over the feces, and spreads through contacts between infected and uninfected pigs. Live pigs are imported into Slovenia from a large number of European countries. Because enteroviruses are poorly studied in our country, we started with this research to identify and characterize pig enteroviruses.

From 194 fresh carcasses of dead pigs, aged about 3 months, samples of about 30 cm of intestines were collected. In the laboratory, feces samples were suspended in the RPMI medium, the supernatant was filtered, and the isolation of viruses on cell culture of the pig kidneys (PK-15) was performed. The inoculated cells were first incubated for at least 7 days in a thermostat at 37°C and 5% CO₂, and carried out with two additional passages. On a daily basis, the cytopathic effect (CPE) on the PK-15 cell monolayer was observed under the microscope. If we found CPE in the wells of the investigated sample, the isolate was stored, multiplied and titrated.

Virus strains with CPE were isolated from 36 (18.55%) out of 194 examined samples, most often in the first or second passage. Isolated strains produced CPE over a period from 24 hours to 10 days after inoculation, so we assume that different strains of enteroviruses have been isolated. The determined virus titer of virus isolates varied from 10^{-3,375} to 10^{-7,375} TCID₅₀/ml. All the isolates were aliquoted and stored deep-frozen. In the future, these isolates will be used for determination of the complete enterovirus genomes and for comparative serological studies. The performed research represents an important contribution to better knowledge of enteroviruses and will be followed by further epidemiological studies.

Keywords: pig; enterovirus; cytopathic strain

**VODOTOPNI PROPOLIS (GREIT120)
IN ČLOVEŠKI INTERFERON- α (HuIFN- α N3)
KAŽETA PROTI-INFLUENČNO AKTIVNOST V POGOJIH *IN VITRO***

Bratko Filipič¹, Lidija Gradišnik², Adriana Pereyra³, Klemen Rihar⁴, Hrvoje Mazija¹,
Fabio Galeotti⁵, Nicola Volpi⁵, Alfredo Fachini⁶

¹Hieto, Koledinečka 3, 10040 Zagreb, Hrvaška;

²Inštitut za biomedicinske raziskave, Medicinska Fakulteta, Univerza v Mariboru,
Taborska 8, 2000 Maribor, Slovenija;

³MEDEX d.o.o., Linhartova 049a, 1000 Ljubljana, Slovenija;

⁴Chengdujska 4, 1000 Ljubljana, Slovenija;

⁵Oddelek za Biološke vede, Univerza v Modeni & Reggio Emilia, Modena, Italija;

⁶BNatural, Via Gran Sasso 33, Corbetta, Italija

bratko.filipic@gmail.com

Virus Influence okuži dihala ljudi in živali in povzroča različne simptome, vključno s povišano telesno temperaturo, pojavljanjem nosnih izločkov, kašlja, glavobola, bolečin v mišicah in pljučnic, ki pogosto lahko postanejo resne. Ugotovili so, da virusi Influence A postanejo odporni na Amantadin in Rimantadin, in kažejo visoko stopnjo odpornosti na Osletamvir. Kemična sestava Propolisa je kompleksna saj ta vsebuje več kot 300 različnih spojin. HuIFN- α N3 je beljakovina, ki kaže protivirusno aktivnost proti virusom Influence.

Cilj opravljenih raziskav je bil pojasnitev anti-influenčne aktivnosti vodotopnega Propolisa Greit120 (BNatural, Corbetta, Milano, Italija) v kombinaciji z HuIFN- α N3 v različnih razmerjih. Polifenole Greit-a120, njegove celokupne fenolne kisline in bioflavonoide smo analizirali s pomočjo HPLC-UV-ESI-MS (Univerza v Modeni in Reggio Emilia, Modena, Italija). Analizo HuIFN- α N3 smo izvedli s pomočjo RP-HPLC kolone PurospherSTAR RP-18. Virusa Influence A in Influence B smo dodali posebej na celice, ki so bile obdelane z Greit-om120 in HuIFN- α N3 v razmerjih 1:1, 1:2 in 2:1 za štirindvajset ur pri 37° C in 5% CO₂. Po nadaljnjih štirih dneh inkubacije, smo analizirali razvoj plakov. Najboljše rezultate (ID₅₀), smo dobili z 10% Greit-om120 in HuIFN- α N3 v kombinaciji z 1:2 (ID₅₀ 12±2 µg/ml za Influence A in 19±6 µg/ml za Influence B). Za 10% etanoli ekstrakt Propolisa (kot kontrolo) in HuIFN- α N3 je bilo najboljše razmerje je 2:1. Tu je bila vrednost ID₅₀ za virus Influence A 22±7 µg/ml in virus Influence B 15±4 µg/ml. ID₅₀ indeks smo izračunali da bi primerjali ID₅₀ (AV) aktivnost kombinacije Greit120 propolis:HuIFN- α N3 z Ribavirinom. Kakorkoli že, za 1:2 smo ugotovili, da je najboljše razmerje za Greit120 v kombinaciji z HuIFN- α N3 (za 0,5 za Influenco B, in za 0,6 za Influenco A). Propolis kaže protibakterijsko, protiglivično in protivirusno aktivnost proti virusu Influence. V naših poskusih smo potrdili sposobnost vodotopnega Propolisa Greit120, da zavira virusa Influence A in B *in vitro* v kombinaciji z HuIFN- α N3 (1:2). Take aktivnosti so lahko povezane z topnostjo Greita120 v vodi, vsebnostjo polifenolov in njegovo kompleksno sestavo iz različnih fenolnih kislin in bioflavonoidov.

Ključne besede: vodotopni propolis; Greit120; HuIFN- α N3; anti-influenčna aktivnost *in vitro*

VPLIV POLISAHARIDOV NA SESTAVO DOLGOVERIŽNIH MAŠČOBNIH KISLIN *PREVOTELLA BRYANTII* TF1-3

Maša Zorec, Tomaž Accetto

Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Groblje 3, SI-1230 Domžale
masa.zorec@bf.uni-lj.si

Dolgoverižne maščobne kisline (MK) celic se pogosto uporabljajo v kemotaksonomiji številnih bakterij. Sestava MK je značilna za določeno vrsto, vendar celice lahko spreminjajo količino in vrsto MK, da prilagodijo lastnosti membrane razmeram v okolju. V raziskavi smo ugotavljali učinek različnih polisaharidnih substratov na profil celičnih MK. Primerjali smo sestavo MK pri celicah *Prevotella bryantii* TF1-3, ki so rasle v gojiščih s škrobom, inulinom, bukovim ksilanom, arabinoksilanom, ksiloglukanom, beta-glukanom, glukomananom, galaktoglukomananom, poligalakturonsko kislino (PGA) in ramnogalakturonanom I (RGI). Sestavo MK celic, ki so zrasle v gojišču z glukozo, smo uporabili kot kontrolo. MK smo estrahirali iz peleta kultur in po transesterifikaciji/metilaciji vzorec analizirali s plinsko kromatografijo. MK smo identificirali s faktorji ekvivalentne dolžine verig (ECL) in profile obdelali v podatkovni bazi Sherlock MIDI. Kot poglavitne MK smo določili 15:0-anteizo, 15:0, 16:0-3OH, 14:0-izo in 15:0-3OH MK. Z rastjo na polisaharidnih substratih se je sestava celičnih MK spremenila, najbolj pri celicah, ki so rasle s pektinskimi substrati (PGA, RGI). Pri teh celicah smo izmerili povečan delež razvejanih MK (zlasti 3-hidroksi MK) in krajšo povprečno dolžino verig MK v primerjavi s celicami, ki so rasle v gojišču z glukozo. 3-Hidroksi MK so sestavina lipida A v zunanji membrani in se verjetno specifično povezujejo z multiproteinskimi kompleksi za razgradnjo pektinskih substratov. V teku so nadaljnje raziskave z drugimi sevi vmpnih prevotel, da bi ugotovili specifične premike v sestavi celičnih MK v povezavi s polisaharidnimi substrati.

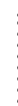
Ključne besede: polisaharidi; dolgoverižne maščobne kisline; *Prevotella bryantii* TF1-3

KAZALO AVTORJEV

| | |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| Accetto, Tomaž | Pr24, Po36, Po45, Po53 |
| Adams, Ian | Pr26 |
| Alič, Špela | Po37 |
| Ambriović-Ristov, Andreja | Po85 |
| Anderluh, Gregor | Po80 |
| Anesio, A. | VPr6 |
| Arffman, Riikka | Po78 |
| Auchtung, Jennifer | Po9 |
| Avberšek, Jana | Pr3, Po5, Po13, Po14, Po16 |
| Avguštin, Gorazd | Pr2, Po36 |
| Avšič Županc, Tatjana | VPr11 |
| Babić-Erceg, Andrea | Pr20 |
| Bačnik, Katarina | Po40 |
| Badurina, Maja | Pr22, Po78 |
| Bahun, Miha | Po54 |
| Barbić, Ljubo | Pr20, Po82 |
| Baš, Sara | Pr17 |
| Bauk, Nataša | Pr20 |
| Belcijan, Katarina | Po38 |
| Benčina, Dušan | Pr9 |
| Benndorf, Dirk | Po58 |
| Benulič, Katarina | Pr1 |
| Beović, Bojana | Po1 |
| Ber, Polona | Po47 |
| Berginc, Nataša | Pr21 |
| Bertović, Ivana | Po79 |
| Betica-Radić, Ljiljana | Pr20 |
| Bezek, Katja | Po61 |
| Bidovec-Stojkovič, Urška | Po62 |
| Blažič, Barbara | Po12 |
| Bodmer, Pascal | Pr11 |
| Bogovič Matijašič, Bojana | Pr4 |
| Bolješić, Maja | Pr14 |
| Boonham, Neil | Pr26 |
| Brancelj, Anton | Pr11 |
| Britton, Robert A. | Po9 |
| Brumen, Vlatka | Po82 |
| Bucar, Franz | Pr5, Po21, Po28 |
| Burnik, Dani | Po27 |
| Butala, Matej | VPr5 |
| Butinar, Lorena | Pr19, Po48 |
| Butolen, Monika | Po41 |
| Carrillo Rincón, Andrés Felipe | Po54, Po56 |
| Cerar Kišek, Tjaša | Pr1, Po10 |
| Cerovečki, Ana | Po41 |
| Cizelj, Ivanka | Pr9 |
| Cleenwerck, Ilse | Po52 |
| Cocianich, Vasilij | Po13 |
| Cokarić Brdovčak, Maja | Po79 |
| Coll, Anna | Po80 |
| Curk, Tomaž | Po81 |
| Custers, Jerome | Po85 |
| Cvitkovič Špik, Vesna | Pr1, Po1 |
| Čadež, Neža | Pr12 |
| Čater, Maša | Po63 |
| Česnik, Urban | Pr19 |
| Čuš, Franc | Po49 |
| Danevčič, Tjaša | Pr7, Po60 |
| Dermastia, Marina | VPr4 |
| Dermota, Urška | Pr3, Po65 |
| Djaković, Ivka | Po82 |

| | |
|-----------------------------|--|
| Djaković, Lara | Po79 |
| Dobnik, David | VPr14, Pr18 |
| Doering, Michael | Pr11 |
| Dogša, Iztok | Pr13, Pr14, Po60 |
| Dovečar, Darja | Po46 |
| Dragoš, Anna | Po60 |
| Dražetić, Mirjana | Po4 |
| Dreo, Tanja | Pr10, Po37 |
| Drole Torkar, Ana | Po1 |
| Duh, Darja | Po12 |
| Dular, Matevž | Pr18 |
| Duvnjak, Sanja | Po13 |
| Erdani Kreft, Mateja | Po18, Po29 |
| Erega, Andi | Po39 |
| Erjavec, Jana | Po30 |
| Erzar, Kaja | Po21, Po28 |
| Fachini, Alfredo | Po90 |
| Fanedl, Lijana | Pr16, Po52 |
| Fijan, Sabina | Po3 |
| Filipič, Arijana | Pr18 |
| Filipič, Bratko | Po15, Po90 |
| Forčić, Dubravko | Pr23, Po76 |
| Fox, Adrian | Pr26 |
| Frisvad, J. C. | VPr6 |
| Fujs, Štefan | Po56 |
| Galeotti, Fabio | Po90 |
| Godič Torkar, Karmen | Po4, Po10, Po27 |
| Golle, Andrej | Po12 |
| Golob, Majda | VPr1, Pr3, Po2, Po5, Po13 |
| Gorinšek, Nadja | Pr16 |
| Gostinčar, Cene | VPr6, Pr6, Po35, Po50 |
| Grabar, Rebeka | Po41 |
| Gradišnik, Lidija | Po15, Po90 |
| Gregori, Andrej | Po58 |
| Grilc Fajfar, Aleksandra | Po7 |
| Griz, Ana | Po6 |
| Grmek Košnik, Irena | Pr3 |
| Grom, Jože | Po86 |
| Gruden, Kristina | ZPr, Po80 |
| Gruntar, Igor | Po13, Po16, Po32 |
| Gunde-Cimerman, Nina | VPr6, Pr6, Pr15, Po35, Po50, Po51, Po67 |
| Gutiérrez-Aguirre, Ion | Pr18, Pr26, Po80, Po40 |
| Haberl Meglič, Saša | VPr9 |
| Hackenberg, Michael | Pr22 |
| Hellwig, Patrick | Po58 |
| Horvat, Sabina | Po22 |
| Hostnik, Peter | Po7, Po84, Po86, Po89 |
| Hošnjak, Lea | Po66 |
| Hren, Matjaž | Po30 |
| Hukkanen, Veijo | Po78 |
| Ivančič Jelečki, Jelena | Pr23, Po76 |
| Jagušič, M. | Po76 |
| Jaklič, Domen | Po15 |
| Jamnikar-Ciglencečki, Urška | VPr15 |
| Jančič, Nina | Po52 |
| Jančič, Sašo | Po67 |
| Janev-Holcer, Nataša | Po82 |
| Janež, Nika | VPr9, Pr24, Po26, Po81 |
| Janežič, Sandra | VPr2, Po8, Po25, Po81 |
| Janžekovič, Franc | Po47 |
| Jarc, Marjeta | Po2 |
| Jelen, Mateja | Po68 |
| Jeličič, Pavle | Pr20, Po82 |
| Jemeršič, Lorena | Po82 |
| Jenčič, Vlasta | Po11 |
| Jerič Kokelj, Barbara | Pr14 |
| Jeršek, Barbara | Po34 |
| Jovanova, Viktorija | Pr12 |
| Jug, Tjaša | Pr12 |
| Jurak, Igor | Pr22, Po77, Po78, Po79 |

| | |
|---------------------------|--|
| Jurak Begonja, Antonija | Po79 |
| Jurc, Dušan | Po44 |
| Jurhar, Andreja | Pr5, Po21 |
| Kaić, Bernard | Pr20, Pr23, Po82 |
| Karabuva, Svjetlana | Pr20 |
| Kastelic, Katja | Po46 |
| Kavalič, Maja | VPr1, Po14, Po16 |
| Keše, Darja | Po18, Po20 |
| Kirbiš, Andrej | Po19 |
| Klančnik, Anja | Pr5, Po21, Po28, Po34, Po39, Po42 |
| Knežević, Klaudia | Po79 |
| Knežević, Jelena | Po85 |
| Kocuvan, Aleksander | Pr8, Po8 |
| Kodre, Meta | Pr1 |
| Kofol, Romina | Po24 |
| Kogoj, Rok | Po1 |
| Kogovšek, Polona | VPr14 |
| Kokalj, Maja | VPr2 |
| Kolarić, Branko | Po82 |
| Kolenc, Marko | Po87 |
| Kopinč, Rok | Po15 |
| Koren, Simon | Po33, Po84 |
| Korva, Miša | VPr11 |
| Kosel, Janez | Pr18 |
| Kostanjšek, Rok | VPr7, Pr13 |
| Košec, Vesna | Po82 |
| Košir, Adrijan | Po43 |
| Košir, Nejc | Po55 |
| Košmerl, Tatjana | Pr12 |
| Kotar, Tadeja | Po24 |
| Kovács, Ákos T. | Po60 |
| Kovač, Miha | Po33 |
| Kovač, Minka | Po34 |
| Kovačević, Alen | Po85 |
| Kozak, Andrej Pavel | Po53 |
| Kraigher, Barbara | VPr7, Pr14, Po41 |
| Kramer, Mateja | Pr17 |
| Kranjc, Luka | Po54 |
| Krapež, Katarina | Po42 |
| Krapež, Uroš | VPr15 |
| Krt, Brane | Po16 |
| Kučinar, Jasmina | Po82 |
| Kuhar, Urška | VPr15, Po7, Po86, Po88, Po89 |
| Kušar, Darja | VPr1, Pr3, Po5, Po13, Po32, Po53 |
| Kutnjak, Denis | VPr14, Pr26, Po40, Po64, Po83 |
| Kyrpides, Nikos C. | Po47 |
| Lamovšek, Janja | Po69 |
| Lemut, Ajda | Pr19 |
| Lepen, Maja | Po2 |
| Lešnik, Vida | Po2 |
| Levart, Alenka | Po6 |
| Levstek, Marjetka | Po55 |
| Lipoglavšek, Luka | Pr2 |
| Ljubin Sternak, Sunčanica | Pr23, Po76 |
| Loboda, Nežka | Po10 |
| Logar, Erika | Po42 |
| Lotrič-Furlan, Stanka | Pr1 |
| Lukšič, Boris | Pr20 |
| Lušicky, Marija | VPr2 |
| Lužnik, Dane | Po70 |
| Magdevska, Vasilka | Po54, Po56 |
| Mahnič, Aleksander | Pr8, Po9, Po81 |
| Majhen, Dragomira | Po85 |
| Makuc, Damjan | Po22 |
| Malatesti, Nela | Po79 |
| Mandić Mulec, Ines | VPr7, Po39, Po42, Pr14, Po38, Po41, Pr7, Po60 |
| Mandl, Neža | Pr12 |
| Marinšek Logar, Romana | Pr16, Po55 |
| Matešič, Marina | Po77 |
| Matjašič, Tjaša | Po47 |



| | |
|---------------------------|--|
| Matul, Mojca | Po51 |
| Mavrič Pleško, Irena | Pr27 |
| Mazija, Hrvoje | Po15, Po90 |
| Mehle, Nataša | Pr18, Po40, Po83 |
| Mesarič, Simon | Po25 |
| Mičunovič, Jasna | Po13 |
| Mihatovič, Ana | Po77 |
| Miklaušič, Božana | Pr20 |
| Miklavčič, Damijan | VPr9 |
| Mitar, Marko | Po33 |
| Mlakar, Sabina | Po8 |
| Mlinarič-Galinovič, G. | Po76 |
| Mohar Lorbeg, Petra | Pr4 |
| Molan, Katja | Po31 |
| Mori, Nataša | Pr11 |
| Mozetič, Miran | Pr18 |
| Mozetič Vodopivec, Branka | Po48 |
| Mueller Premru, Manica | Po1 |
| Mulec, Janez | Po24, Po43 |
| Müller, Rolf | Po56 |
| Nabergoj, Dominik | VPr9 |
| Naglič, Tina | Po37, Po84, Po87 |
| Narat, Mojca | Pr9, Po26 |
| Nestič, Davor | Po85 |
| Novak, Sabina | Po3 |
| Novak Babič, Monika | Pr15 |
| Ocepek, Matjaž | VPr1, Pr3, Po5, Po11, Po13, Po14, Po16, Po32 |
| Ogrinc, Katarina | Pr1 |
| Ogrizovič, Mojca | Pr12 |
| Orel, Rok | Pr2 |
| Oštrbenk, Anja | Po72 |
| Ovca, Andrej | Po11 |
| Oven, Irena | Pr9 |
| Paavilainen, Henrik | Po78 |
| Paller, Tomislav | Po13 |
| Pandak, Nenad | Pr20 |
| Papič, Bojan | VPr1, Po32, Po53 |
| Papst, Lea | Po1 |
| Paro-Panjan, Darja | Po74 |
| Paš, Maja | Po54 |
| Pate, Mateja | VPr1, Pr3, Po5, Po11, Po13, Po32 |
| Pavlic-Zupanc, Draginja | Po44 |
| Pecman, Anja | Pr26, Po40, Po83 |
| Pečnik, Klemen | Po22 |
| Pédron, Jacques | Po37 |
| Pereyra, Adriana | Po15, Po90 |
| Perini, L. | VPr6 |
| Peterka, Matjaž | VPr9, Po26, Po37, Po81 |
| Petkovič, Hrvoje | VPr8, Po54, Po56 |
| Petkovšek, Martin | Po57 |
| Petrovič, Uroš | Pr12 |
| Petrovič, Živa | Po12 |
| Pintar, Špela | Pr8 |
| Pirc, Manca | Pr10 |
| Pirš, Tina | Po13, Po14 |
| Piškur, Barbara | Po44 |
| Plavec, Janez | Po22, Po26 |
| Poberaj, Igor | Pr13 |
| Podgornik, Aleš | VPr9 |
| Podgoršek, Daša | Po73 |
| Podlesek, Zdravko | Po31 |
| Podobnik, Marjetka | Po80 |
| Poklar Ulrih, Nataša | Po9, Po54 |
| Pokorn, Marko | Po1 |
| Polc, Mateja | Po52 |
| Poljak, Mario | VPr10, Po74 |
| Poljšak Prijatelj, Mateja | Po84, Po87 |
| Potokar, Jana | Po15 |
| Predojevič, Luka | Po18 |
| Pretnar, Gaja | Pr5, Po21, Po34 |

| | |
|---------------------------|--|
| Primc, Gregor | Pr18 |
| Prohić, Alef | Po82 |
| Prosenc Trilar, Katarina | Pr21 |
| Raspor Lainšček, Petra | Po19 |
| Ratkaj, Ivana | Pr22 |
| Ravnikar, Maja | VPr14, Pr10, Pr18, Pr26, Po37, Po40, Po80, Po83 |
| Rednak Paradiž, Katarina | Po74 |
| Redžepagić, Almina | Po27 |
| Reichl, Udo | Po58 |
| Rihar, Klemen | Po15, Po90 |
| Rihtar, Erik | Po31 |
| Rihtarič, Danijela | Po7, Po84, Po86, Po88, Po89 |
| Rikanović, Tanja | Po25 |
| Robič, Erika | Po20 |
| Robinson, Christopher T. | Pr11 |
| Rowland, Adesida | Pr19 |
| Rozman, Urška | Po59 |
| Rozman, Vita | Po45 |
| Rupel, Tatjana | VPr2, Po46 |
| Rupnik, Maja | PPr, Pr3, Pr8, Po8, Po9, Po22, Po23, Po25, Po81 |
| Ružič-Sabljić, Eva | Pr1 |
| Sagadin, Martin | Po87 |
| Savić, Vladimir | VPr13, Pr20 |
| Seme, Katja | Po1, Po71 |
| Sežun, Mija | Po58 |
| Simčič, Saša | Po24 |
| Simonič, Tamara | Po25 |
| Skok, Barbara | Po25 |
| Skok, Pavel | Pr8 |
| Skvarč, Miha | Po20 |
| Slavec, Brigita | VPr15 |
| Slemc, Lucija | Po56 |
| Slovic, A. | Po76 |
| Sluga, Nina | Po7 |
| Smole Možina, Sonja | Pr5, Po6, Po21, Po28, Po34, Po39, Po42 |
| Smrekar, Frenk | VPr12 |
| Smrke, Dragica Maja | Po71 |
| Sotlar, Inge | Po35 |
| Sretenovič, Simon | Pr13 |
| Starčič Erjavec, Marjanca | Po17, Po18, Po29 |
| Sternad Lemut, Melita | Pr19, Po48 |
| Sterniša, Meta | Po6 |
| Stevanović, Vladimir | Pr20, Po82 |
| Steyer, Andrej | Po84, Po87 |
| Stojković, Biljana | Pr13 |
| Stopar, David | Pr13, Pr17 |
| Stopinšek, Sanja | Po24 |
| Stošicki, Tjaša | Pr14 |
| Stražar, Marjetka | Po55 |
| Strle, Franc | Pr1 |
| Stupica, Daša | Pr1 |
| Šantak, Maja | Pr23 |
| Šereš, Zita | Po6 |
| Šeruga Mušič, Martina | VPr16 |
| Šikić Pogačar, Maja | Po75 |
| Šimunović, Katarina | Pr5, Po21, Po28, Po39, Po42 |
| Šink, Andreja | Po80 |
| Šket, Primož | Po26 |
| Škraban, Jure | Po47, Po52 |
| Šnajder, Marko | Po54 |
| Šoba Šparl, Barbara | Po20 |
| Šoba, Barbara | VPr3 |
| Šoronja Simović, Dragana | Po6 |
| Špacapan, Mihael | Pr7, Po60 |
| Špičić, Silvio | Po13 |
| Štampar, Martina | Po41 |
| Štefanič, Polonca | VPr7, Po38, Po39, Po41, Po42, Po60 |
| Štukelj, Marina | Po88 |
| Šuštaršič, Matej | Po57 |
| Švent-Kučina, Nataša | Po71 |



| | |
|--------------------------|---|
| Tabain, Irena | Pr20, Po76, Po82 |
| Tahirović, Aneja | Po87 |
| Taler-Verčič, Ajda | Po80 |
| Tešovič, Goran | Pr23 |
| Tkalec, Valerija | Po25 |
| Tomaž, Špela | Po80 |
| Tomšič, Brigita | Po27 |
| Toplak, Ivan | VPr15, Pr25, Po7, Po19, Po86, Po88, Po89 |
| Toplak, Nataša | Po33, Po34, Po84 |
| Trček, Janja | Po47, Po52 |
| Trkov, Marija | VPr1 |
| Truden, Sara | Po17 |
| Trunk, Mateja | Po3 |
| Turek, Ivana | Pr5, Po21 |
| Turk, Dušan | Po80 |
| Turk, Martina | Pr6, Po35 |
| Tušar, Jasmina | Po26 |
| Tušek Žnidarič, Magda | VPr14, Po37 |
| Urek, Gregor | Po69 |
| Usenik, Aleksandra | Po80 |
| Valinger Sluga, Matija | Pr9 |
| van den Bosch, Jolien | Po85 |
| Van Gijsegem, Frédérique | Po37 |
| Vandamme, Peter | Po52 |
| Vangdal, Eivind | Po48 |
| Velikonja, Ana | Pr2 |
| Vengušt, Gorazd | Po16 |
| Verenovski, Anja | Po33 |
| Vidmar, Beti | Pr16 |
| Vidmar, Darja | Po1 |
| Vilibić, Maja | Po82 |
| Vilibić-Čavlek, Tatjana | Pr20, Pr23, Po76, Po82 |
| Viršček Marn, Mojca | Pr27 |
| Vodovnik, Maša | Po45, Po55, Po58 |
| Volmajer, Nika | Po12 |
| Volpi, Nicola | Po90 |
| Vrabec, Katja | Po58 |
| Vrhovnik, Urška | Pr12 |
| Whitman, William B. | Po47 |
| Wilharm, Gottfried | Po47 |
| Zabukovec, Polona | Po49 |
| Zahorec, Jana | Po6 |
| Zajc, Janja | Pr6, Po50 |
| Zajc, Urška | Pr3, Po5, Po13, Po14, Po32 |
| Zajkoska, Sandra | Po21 |
| Zalar, Polona | VPr6, Pr15, Po50, Po51 |
| Zaletel, Eva | Po26 |
| Zdovc, Irena | VPr1, Pr3, Po2, Po5, Po13 |
| Zelenik, Katja | VPr2 |
| Zore, Anamarija | Po27 |
| Zorec, Maša | Po91 |
| Zorko, Špela | Po28, Po34 |
| Zubkovič, Andreja | Pr22 |
| Zupančič, Jerneja | Po50, Po51, Pr15 |
| Zupančič, Klemen | Po30 |
| Žalig, Sabina | Po23 |
| Žel, Jana | Pr18 |
| Žele, Diana | Po7, Po16 |
| Železnik, Taja | Po29 |
| Žgur Bertok, Darja | Po31, Po18 |
| Žolnir-Dovč, Manca | Po11, Po17 |
| Žugelj, Alenka | Po2 |

ELITE InGenius

Fully Automated Sample-to-Result Solution

-  Full AUTOMATION
-  Efficient PERFORMANCE
-  Unrivaled FLEXIBILITY
-  Unlimited MENU



ELITE InGenius

- is an integrated and easy to use sample-to-result solution dedicated to Molecular Diagnostics,
- it automatically performs extraction, amplification and result interpretation with unprecedented flexibility and assay menu possibility,
- it combines universal extraction in cartridge-based format with individual and independently controlled RT-PCR enabling laboratories to develop & run custom panels of assays on demand.



Distributer za Slovenijo:



Diahem d.o.o., Apače 207, 2324, Lovrenc na Dr. polju, Slovenija

+386 51 425 963  info@diahem.si

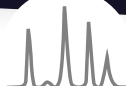
KEMOMED
PRINAŠAMO REŠITVE

ŽE 20 LET

Potrebujete ustrezna
orodja za analitiko?

Iščete rešitve na področju
znanosti o življenju?

Mi vam jih ponujamo!



- Reagenti za diagnostiko in biomedicino
- Instrumenti in tehnična podpora
- Potrošni material
- Aplikativna pomoč
- Pipetni program in akreditirane kalibracije
- Plastika

Kemomed

Svetovanje, trgovina in
trženje d.o.o

Kališka 9
PE: Stritarjeva 5
4000 Kranj
Slovenija

T 04 2015 050
F 04 2015 055
E info@kemomed.si
W www.kemomed.si

chromID[®] Colistin R

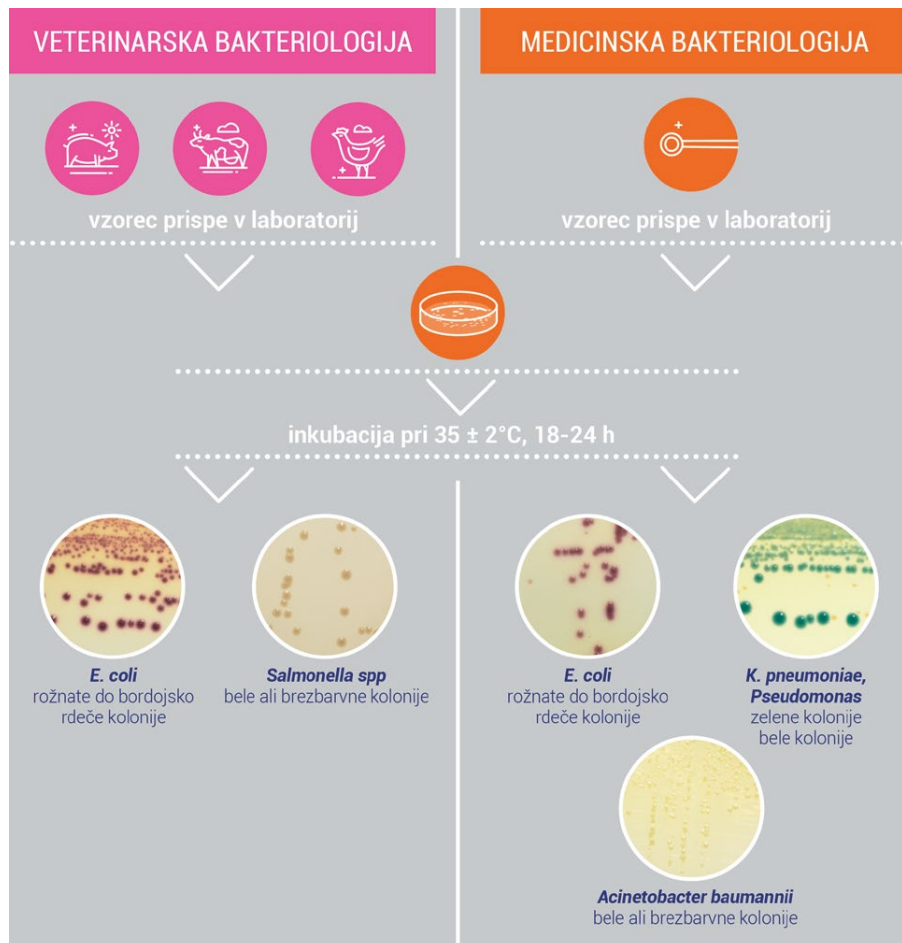


VODILNI V BOJU PROTI ODPORNOSTI NA KOLISTIN

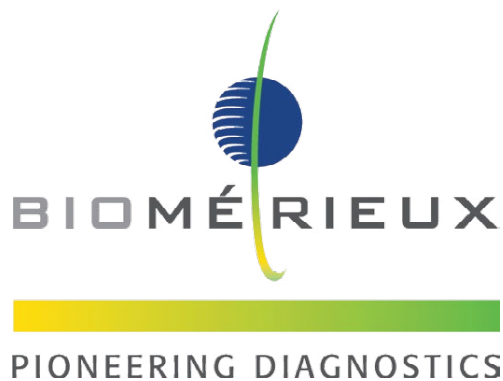
Nedavno so v humanih in veterinarskih vzorcih odkrili na kolistin rezistenčne seve, katerih **rezistenca je pogojena s prisotnostjo mcr gena**, ki se prenaša s plazmidi.

Kolistin se v mnogih državah uporablja v živaloreji za nadzor okužb pri prašičih in ponekod pri govedu. Uporaba v humani medicini je bila do sedaj zelo omejena, predvsem zaradi toksičnosti za ledvice. Pred kratkim je bil ponovno uveden **kot zadnja možnost** pri zdravljenju okužb z večkratno odpornimi bakterijami, kot so, na primer, na **karbapeneme odporni sevi**.⁽¹⁾

Presejalno testiranje kliničnih in veterinarskih vzorcev z uporabo kromogenih in selektivnih gojišč ima ključno vlogo pri preprečevanju širjenja odpornosti bakterij na kolistin.⁽¹⁾



Kitajska: plazmid je prisoten v več kot 15% sevov v vzorcih mesa in 21% sevov, ki izhajajo neposredno iz vzorcev živali.⁽²⁾



mikro+polo[®]
vaš partner za laboratorij

MODRA ŠTEVILKA
080 61 40

Zagrebška 22 | 2000 Maribor
podpora@mikro-polo.si
www.mikro-polo.si

(1) M.C.R. Modern Colistin Resistance Eur J Clin Microbiol Infect Dis DOI 10.1007/s10096-016-2846-y/ M.F. Gros.

(2) Emergence of of plasmid mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis 16:161-168.



■ ■ Axonlab povezuje.

Produkti in podpora za vašo laboratorijsko diagnostiko:

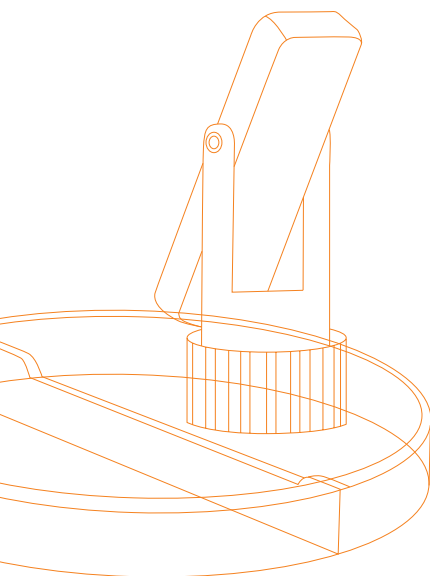
- ProbeAX / UltraturAX
- AXpress
- SirScan®
- Amplex-Systems
- Biocentric Borealis
- Unyvero itd.

Axonlab

connecting ideas



■ ■ Axonlab – od vzorca do rezultata

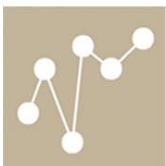


- **Naše kompetence:** medicina, hrana, kozmetika, farmacija, testiranje vode in molekularna diagnostika
- Dehidrirana gojišča, gojišča pripravljena za raztapljanje, predpripravljena gojišča in sestavine
- Laboratorijske naprave za klinično in industrijsko mikrobiologijo
- Identifikacijski kiti, hitri testi in ST testi
- Kontrola higiene in vzorčenje zraka
- QC sevi z ATCC licenco



COBIK

Center odličnosti za biosenzoriko,
instrumentacijo in procesno kontrolo



BioPharm.Si

Laboratorijska in procesna oprema



SMALL ENOUGH TO CARE BIG ENOUGH TO DARE



Kambič d.o.o., Metliška cesta 16, SI-8333 Semič, Slovenia - EU
T: +386 (0)7 35 65 220, F: +386 (0)7 35 65 232
info@kambicmetrology.com, info@kambic.com
www.kambicmetrology.com, www.kambic.com



Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veletrgovska družba za prodajo zdravil z najširšo ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikujejo nas hitrost, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravstvene in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost ponuja nešteto izzivov. Premagamo jih lahko z nenehnim izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko izbiro zdravil ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev opravičevali tudi v prihodnje!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si





BD BIOTEHNOLOGIJA

- Pretočni citometri
- Monoklonska protitelesa
- Celične kulture
- Falcon laboratorijska plastika
- Molekularna diagnostika

BD MIKROBIOLOŠKI SISTEMI

- Bactec sistemi za hemokulture
- Sensi diski
- Gojišča (Difco, BBL) in reagenti
- Identifikacijski sistemi Crystal, Phoenix ID/AST
- MGIT za TBC sistem

BD VACUTAINER

- Sistemi za odvzem krvi
- Urinski sistemi

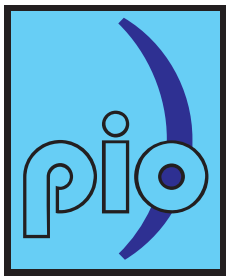
BD MEDICAL

- Diabetes - insulinke in igle za peresnike
- IV terapija
- Injekcijski sistemi
- Anestezija



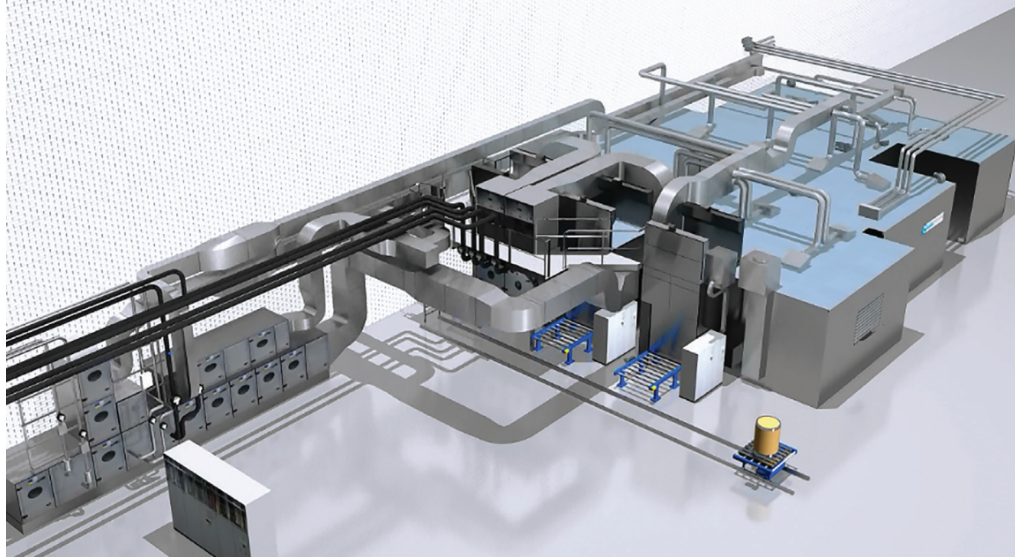
Z vami že od leta 1992

Medias International d.o.o.
Leskoškova cesta 9D
SI-1000 Ljubljana
Telefon: 01 52 02 300
Fax: 01 52 02 495
info@medias-int.si
www.medias-int.si



Iskra pio d.o.o.
Proizvodnja industrijske opreme

Iskra PIO d.o.o
Proizvodnja industrijske opreme
Trubarjeva cesta 5
SI – 8310 Šentjernej
Tel: 00 386 7 39 31 400
Fax: 00 386 7 39 31 440
Internet: www.iskra-pio.si
E-pošta: info@iskra-pio.si



Iskra Pio, d.o.o. je družba z domačim kapitalom, ki ima sedež in proizvodne prostore v Šentjerneju na Dolenjskem. Osnovna dejavnost družbe je projektiranje in izdelava opreme za čisto in čistilno tehnologijo. Dodatni programi so validacije prostorov in proizvodnja ALU stavbenega pohištva. Družba je bila ustanovljena leta 1991 in pričela dejavnost z 18 zaposlenimi. Danes, po 25. letih smo se razvili v podjetje z več kot 120 redno zaposlenimi in nekaj pogodbenimi delavci.

Na podlagi dolgoletnih izkušenj in seveda tudi s sprotnim izobraževanjem in uvajanjem novosti, nenehno razvijamo opremo za čisto in čistilno tehnologijo. Družba je edini proizvajalec tovrstne opreme v Sloveniji, s katero enakovredno nastopamo tudi na tujem tržišču, kateremu je namenjeno več kot pol proizvodnje tega programa. Sodelujemo z več kot 100 podjetji in organizacijami po vsem svetu. Poglavitni naročniki proizvodov so farmacevtska podjetja, medicinske ustanove, lekarne ter raziskovalni inštituti doma in v tujini. Z intenzivnim zaposlovanjem visoko strokovnega tehničnega kadra v preteklih letih se vsako leto povečuje obseg proizvodnje in zvišuje nivo kakovosti izdelkov.

Naš proizvodni program obsega:

- Zaščitne mikrobiološke komore
- Izolatorji (zaščita, sterila, po naročilu ...)
- LAF komore (vzorčevanje, tehtanje ...)
- Oprema za obdelavo surovin (dvigala, mešalniki, vgrajena oprema – mlin, sito, tehtnica ...)
- Čiste sobe
- Ultrazvočni čistilniki
- ALU oprema

Naš cilj je izdelovanje varnih, funkcionalnih in zanesljivih proizvodov za naše kupce, ki si želijo najsodobnejšo opremo.

Velika fleksibilnost proizvodnje z uporabo moderne strojne opreme omogoča prilagajanje vedno večjim in spreminjajočim se zahtevam tržišča. Proizvodnja je organizirana v skladu s standardom kakovosti ISO 9000, kar prinaša našim strankam visoko kakovost izdelkov.





Vrhunska znanost ...

Vse, kar delamo, delamo za dobro ljudi.

Kakovost je temelj naše predanosti bolnikom in našega odnosa do zdravja. Naše delovanje temelji na dolgoletnem znanju in izkušnjah, medsebojnem zaupanju, vključevanju in spoštovanju različnosti ter na najvišjih etičnih vrednotah.

Stalna vlaganja v raziskave, inovacije in napredek proizvodnje omogočajo, da doma in po svetu ponujamo visokokakovostna, varna ter cenovno dostopna zdravila.

Z dolgoročno načrtovanim razvojem zagotavljamo pogoje za nova delovna mesta in izobraževanje ter napredovanje strokovnjakov v vrhunske znanstvenike.

Kot odgovoren delodajalec skrbimo za razvoj zaposlenih, odgovoren odnos z lokalnimi skupnostmi ter trajnostni razvoj okolja.

Lek je cenjen član Novartisa, vodilne svetovne družbe v farmacevtski industriji.

... za zdravje.



član skupine Sandoz





moloXin®

filmsko obložene tablete, 400 mg
raztopina za infundiranje, 400 mg/250 ml

moksifloksacin

Uspešen lovec na bakterije



Moloxin® – ko potrebujete zanesljivo rešitev

Sestava Ena steklenica z 250 ml raztopine za infundiranje oz. ena filmsko obložena tableta vsebuje 400 mg moksifloksacina v obliki moksifloksacinijevga klorida. **Indikacije** Moksifloksacin se lahko uporablja samo, če protimikrobna zdravila, ki se priporočajo za začetno zdravljenje navedenih okužb, niso primerna ali če pri zdravljenju okužb niso bila učinkovita. Upoštevati je treba uradne smernice za uporabo protibakterijskih zdravil. **Raztopina za infundiranje** Pljučnica, pridobljena v domačem okolju. Zapletene okužbe kože in mehkih tkiv. **Filmsko obložene tablete** Akutni bakterijski sinusitis (ustrezno diagnosticiran). Akutno poslabšanje kroničnega bronhitisa (ustrezno diagnosticirano). Zunanjooboljšna pljučnica, razen hudih oblik. Blaga do zmerna medenična vnetna bolezen (tj. okužbe ženskih notranjih genitalij, tudi salpingitis in endometritis) brez spremljajočega tubovarijskega ali medeničnega abscesa (zaradi naraščajoče odpornosti bakterije *Neisseria gonorrhoeae* proti moksifloksacinu je priporočljivo predpisati kombinacijo z drugim ustreznim protimikrobnim zdravilom). Nadaljevanje začetnega zdravljenja z intravensko obliko moksifloksacina pri zunajbolnišnični pljučnici in zapletenih okužbah kože in mehkih tkiv. **Odmerjanje in način uporabe** **Odmerjanje** Priporočeni odmerek je 400 mg moksifloksacina, infundiran enkrat na dan, oz. ena filmsko obložena tableta po 400 mg enkrat na dan. Začetnemu intravenskemu zdravljenju lahko sledi peroralno zdravljenje s tabletami, če je to klinično indicirano. Bolnikom z blago do hudo ledvično okvaro in bolnikom na kronični dializi odmerka ni treba prilagajati. O zdravljenju bolnikov z jetrno okvaro ni dovolj podatkov. Starejšim bolnikom in bolnikom z majhno telesno maso odmerka ni treba prilagajati. **Trajanje zdravljenja** Zdravljenje z Moloxinom naj bi pri akutnem poslabšanju kroničnega bronhitisa trajalo 5 do 10 dni, pri zunajbolnišnični pljučnici 10 dni, pri akutnem bakterijskem sinusitisu 7 dni, pri blagi do zmerni medenični vnetni bolezni pa 14 dni. V kliničnih raziskavah s sekvenčnim zdravljenjem je večina bolnikov z intravenskega zdravljenja na peroralno prešla v 4 dneh (pri pljučnici, pridobljeni v domačem okolju) ali 6 dneh (pri zapletenih okužbah kože in mehkih tkiv). Priporočeno skupno trajanje intravenskega in peroralnega zdravljenja je 7 do 14 dni za pljučnico, pridobljeno v domačem okolju, in 7 do 21 dni za zapletene okužbe kože in mehkih tkiv. Priporočeni odmerek se ne sme preseči, zdravljenje pa ne sme trajati dlje, kot je za indikacijo priporočeno. **Način uporabe** Raztopina za intravensko uporabo se infundira neprekinjeno 60 minut. Če je medicinsko indicirano, se lahko daje po T-cevki, skupaj s kompatibilnimi raztopinami za infundiranje: vodo za injekcije, raztopino natrijevega klorida v koncentraciji 9 mg/ml (0,9 %), raztopino natrijevega klorida v koncentraciji 1 mol/l, raztopino glukoze v koncentracijah 50 mg/ml, 100 mg/ml, 400 mg/ml (5 %, 10 %, 40 %), raztopino ksilitola v koncentraciji 200 mg/ml (20 %), Ringerjevo raztopino, sestavljeno raztopino natrijevega laktata (Hartmannova raztopina, raztopina Ringerjevega laktata). Filmsko obloženo tableto je treba pogoltniti celo in z dovolj tekočine, zaužije se lahko s hrano ali brez nje. **Kontraindikacije** Preobčutljivost za moksifloksacin, druge kinolone ali katerokoli pomožno snov. Nosečnost in dojenje. Bolniki, mlajši od 18 let. Bolniki, ki imajo v anamnezi bolezni oz. motnje kit, povezane z zdravljenjem s kinoloni. Zaradi varnostnih razlogov je uporaba moksifloksacina kontraindicirana pri bolnikih s prirojenim ali dokazano pridobljenim podaljšanjem intervala QT, motnjami elektrolitskega ravnovesja, zlasti z nezdravljeno hipokaliemijo, klinično pomembno bradikardijo, klinično pomembnim srčnim popuščanjem z zmanjšanim iztisnim deležem levega prekata in simptomatskimi aritmijami v anamnezi. Moksifloksacin se ne sme uporabljati sočasno z drugimi zdravili, ki podaljšujejo interval QT. Ker ni na voljo dovolj kliničnih podatkov, je njegova uporaba kontraindicirana tudi pri bolnikih z okvarjenim jetrnim delovanjem (razred C po Child-Pughovi lestvici) in pri bolnikih s povečanimi vrednostmi transaminaz, ki pa več kot petkrat presegajo zgornjo mejo normalnih vrednosti. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi** Pri bolnikih s proaritmičnimi stanji (zlasti pri ženskah in starejših), kot sta akutna miokardna ishemia in podaljšanje intervala QT, je treba moksifloksacin uporabljati previdno, ker lahko ta stanja povečajo tveganje za ventrikularne aritmije (vključno s *torsade de pointes*) in srčni zastoj. Po prvi

uporabi fluorokinolonov, tudi moksifloksacina, so poročali o preobčutljivostnih in alergijskih reakcijah. V povezavi z moksifloksacinom so poročali o primerih fulminantnega hepatitisa, ki lahko povzroči jetrno odpoved (vključno s smrtnimi primeri). Pri uporabi moksifloksacina so poročali o buloznih kožnih spremembah, npr. Stevens-Johnsonovem sindromu, in toksični epidermalni nekrolizi. Bolniki z motnjami osrednjega živčevja ali drugimi dejavniki tveganja, ki lahko povzročijo nagnjenost h konvulzijam ali znižajo prag za njihov pojav, morajo kinolone uporabljati previdno. Pri bolnikih, ki so jemali kinolone, vključno z moksifloksacinom, so poročali o pojavu senzorične ali senzorično-motorične polinevropatije. Psihiatrične reakcije se lahko pojavijo celo po prvi uporabi kinolonov, tudi moksifloksacina. Pri uporabi antibiotikov širokega spektra, vključno z moksifloksacinom, so poročali o driski in kolitisu, ki sta bila povezana z antibiotičnim zdravljenjem, ter o psevdomembranskem kolitisu in driski, ki sta bila povezana s *Clostridium difficile*. Pri bolnikih z miastenijo gravis je treba moksifloksacin uporabljati previdno, ker se simptomi bolezni lahko poslabšajo. Med zdravljenjem s kinoloni, tudi z moksifloksacinom, lahko pride do vnetja in ruptur kit (predvsem Ahilove tetive). Pri starejših bolnikih z motnjami ledvičnega delovanja, ki ne morejo skrbeti za zadosten vnos tekočine, moramo moksifloksacin uporabljati previdno, saj lahko dehidracija poveča tveganje za ledvično odpoved. Če se pojavijo motnje vida ali kakršnekoli očne spremembe, mora bolnik takoj obiskati oftalmologa. Tako kot pri ostalih fluorokinolonih so pri uporabi moksifloksacina poročali o spremembah vrednosti glukoze v krvi, vključno s hipoglikemijo in hiperglikemijo. Zlasti pri starejših sladkornih bolnikih, ki so se sočasno zdravili z moksifloksacinom in s peroralnim antidiabetikom (npr. sulfonilsečninno) ali inzulinom, se je pojavila disglukemija. Ugotovili so, da kinoloni pri bolnikih povzročajo fotosenzitivne reakcije, vendar pa so z raziskavami dokazali, da je pri moksifloksacinu tveganje manjše. Bolniki s pomanjkanjem encima glukoza-6-fosfat dehidrogenaza ali s to motnjo v družinski anamnezi, so med zdravljenjem s kinoloni nagnjeni k hemolitičnim reakcijam, zato je treba pri njih moksifloksacin uporabljati previdno. Moksifloksacin se ne priporoča za zdravljenje okužb z MRSA. Raztopina za infundiranje vsebuje 35,3 mmol (811,9 mg) natrija na 250 ml raztopine. To morajo upoštevati bolniki, ki so na dieti z nadzorovanim vnosom natrija. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij** Pri sočasni uporabi moksifloksacina in drugih zdravil, ki lahko podaljšajo interval QT, se učinki na podaljšanje intervala QT lahko seštevajo. Zato je kontraindicirana sočasna uporaba moksifloksacina z antiaritmiki razreda IA, antiaritmiki razreda III, nekaterimi antipsihotiki, tricikličnimi antidepresivi, nekaterimi protimikrobnimi zdravili, nekaterimi antihistaminiki in drugimi zdravili (cisapridom, vinkaminom i.v., bepridilom, difemanilom). Moksifloksacin je treba uporabljati previdno pri bolnikih, ki jemljejo zdravila, ki lahko zmanjšajo vrednosti kalija, ali zdravila, ki so povezana s klinično pomembno bradikardijo. Od zaužitja moksifloksacina do uporabe zdravil, ki vsebujejo dvovalentne ali trivalentne katione, mora miniti približno 6 ur. Sočasna uporaba aktivnega oglja in moksifloksacina izrazito preprečuje absorpcijo zdravila in zmanjša sistemsko uporabnost zdravila za več kot 80 %. Pri bolnikih, ki so jemali protimikrobna zdravila, se je aktivnost sočasno uporabljenega peroralnega antikoagulanta pogosto povečala. **Plodnost, nosečnost in dojenje** Med nosečnostjo in dojenjem je zdravljenje z moksifloksacinom kontraindicirano. **Neželeni učinki** Najpogostejše se pojavita driska in slabost. Pogosto se pojavijo superinfekcije z odpornimi bakterijami ali glivicami, glavobol, omotica, podaljšanje intervala QT pri bolnikih s hipokaliemijo, bruhanje, bolečine v prebustilih in trebuhu ter povečane vrednosti transaminaz, pri raztopini za infundiranje tudi reakcije na mestu injiciranja in infundiranja. Ostali neželeni učinki so občasnici, redki ali zelo redki. **Imetnik dovoljenja za promet z zdravili** Krka, d. d., Šmarješka cesta 6, 8501 Novo mesto, Slovenija. **Način izdajanja zdravila** Samo na zdravniški recept. Raztopina za infundiranje se uporablja samo v bolnišnicah. **Oprema** 10 steklenic po 250 ml raztopine za infundiranje z 400 mg moksifloksacina. 5 ali 7 filmsko obloženih tablet po 400 mg moksifloksacina. **Datum zadnje revizije besedila** 20. 5. 2017.

Samo za strokovno javnost. Pred predpisovanjem preberite celoten povzetek glavnih značilnosti zdravila. Objavljen je na www.krka.si

Krka, d. d., Novo mesto
Šmarješka cesta 6
8501 Novo mesto
www.krka.si



Naša inovativnost in znanje
za učinkovite in varne
izdelke vrhunske kakovosti.

T: +386 (0)1 724 65 00
E: info@ccn-domzale.si
W: www.ccn-domzale.si
A: ŠTUDLJANSKA 91,
1230 DOMŽALE,
SLOVENIJA



JP CČN
DOMŽALE-KAMNIK
d.o.o.

SVETOVANJE NA PODROČJU ČIŠČENJA ODPADNIH VOD

SPREJEM V ČIŠČENJE

IZVAJANJE

IZOBRAŽEVANJA SEMINARJI

nadgradnja ali izgradnja
novih čistilnih naprav

optimizacija procesov

reševanje težav pri
obratovanju

izračuni obremenitve,
zmogljivosti, sprejemljivosti
specifičnih odpadnih vod

greznične gošče

blato iz malih čistilnih naprav

biološko razgradljivi
tekoči odpadki

industrijske odpadne vode

pilotni poskusi

zahtevnejše
laboratorijske analize

mikrobioloske preiskave
aktivnega blata

simulacije procesev čiščenja
aktivnega blata

vodenje procesa večje ČN

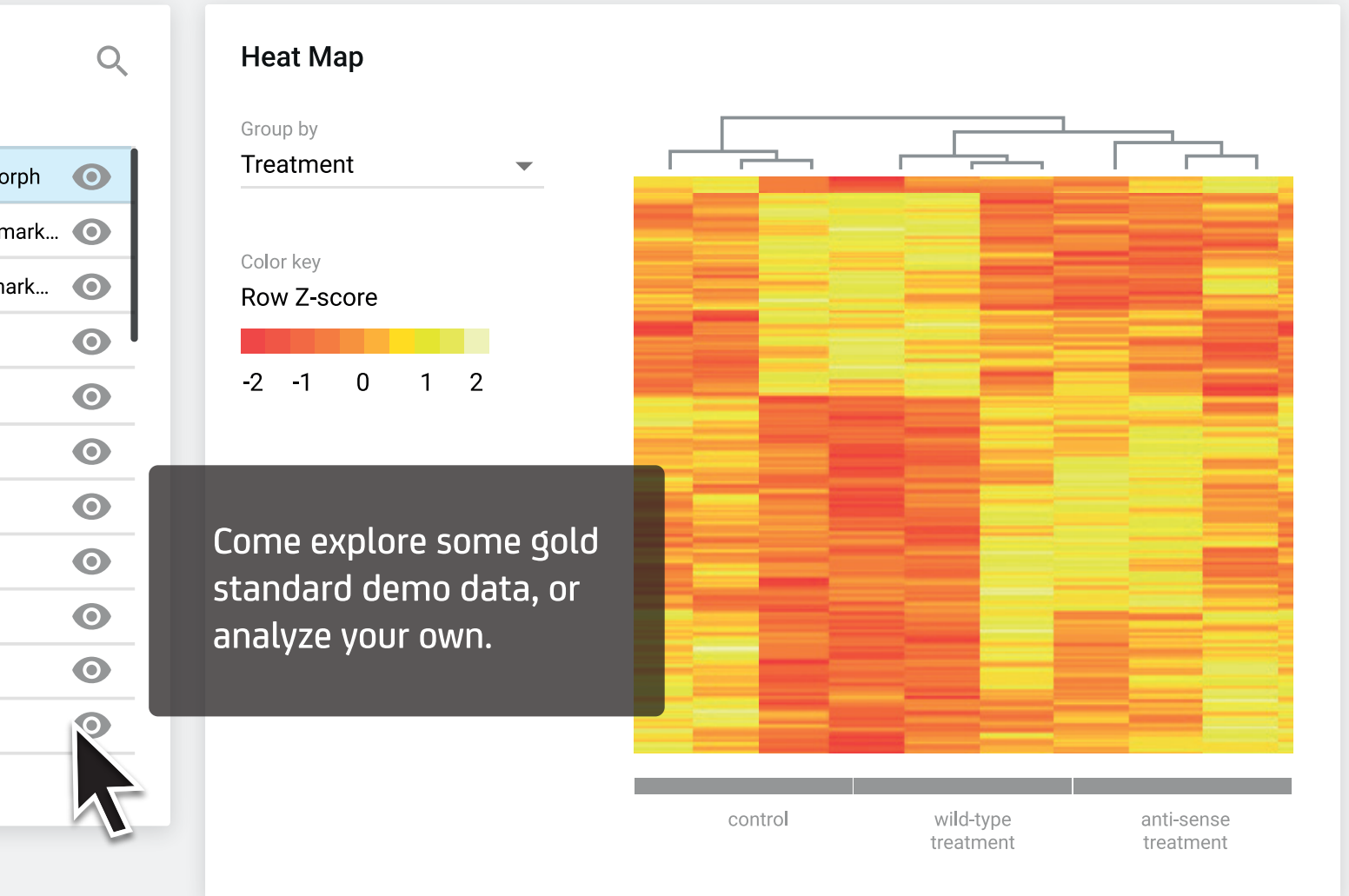
problematika malih ČN

individualna izobraževanja

seminarji tujih strokovnjakov

Get exclusive access to Genialis' new RNA-seq application.

<http://genialis.com/smd2017>



We're delighted to welcome you on the app and hear your feedback.

[✉ support@genialis.com](mailto:support@genialis.com)

We are hiring!

We are looking for life scientists, computer and software scientists, and business people.

Please check genialis.com/jobs.

Genialis



Clinical Diagnostics

Autoimmune • Serology • BioPlex® 2200 Multiplex Testing • Diabetes Testing • Hemoglobinopathies
Bacteriology / Mycology • Newborn Screening • Quality Control • Special Chemistry
Critical Raw Materials • Remote Monitoring & Support • Access Virology and Antibodies



Distributer za Slovenijo:

 **diahem**

Diahem d.o.o., Apače 207, 2324, Lovrenc na Dr. polju, Slovenija

+386 51 425 963  info@diahem.si

Global Technology.
Local Solutions.



Looking for Innovative Solutions in the Field of
Genomics, Biomedicine and Biotechnology?

We Bring Them To You!



- Instruments and Laboratory Equipment
- Reagents for Research and Diagnostic Biomedicine
- Consumables
- Application Support
- Service and Technical Support
- Calibration

Kemomed

Svetovanje, trgovina in
trženje d.o.o.

Kališka 9
PE: Stritarjeva 5
4000 Kranj
Slovenia

T +386 4 2015 050
F +386 4 2015 055
E info@kemomed.si
W www.kemomed.si



MIKROBIOLOGIJA NA OSNOVI UTEKOČINJENIH VZORCEV



FLOQSwabs®
odvzem in transport
vzorca

V tesnem sodelovanju s ključnimi mnenjskimi voditelji in evalvacijami v kliničnem okolju je Copan zasnoval in razvil anatomsko oblikovane brise FLOQSwabs®, ki optimirajo učinkovitost odvzema ciljnega vzorca ob večjem udobju pacienta. Z izboljšano absorpcijo in sproščanjem vzorca iz brisa, FLOQSwabs® poveča občutljivost in specifičnost diagnostičnih preiskav.

Na osnovi prednosti teh inovacij je Copan razvil nov pristop, ki omogoča utekočinjanje trdnih, poltrdnih in viskoznih vzorcev. Linija COPAN LBM® (Liquid Based Microbiology) vključuje eSwab® brise, FecalSwab® brise za hitro in enostavno procesiranje vzorcev blata, SLSolution za olajšano procesiranje vzorcev sputuma in Uriswab za zbiranje, transport in prezervacijo vzorcev urina ter linijo obogatitvenih bujonov, ki omogočajo popolno avtomatizacijo laboratorijskega dela z uporabo WASP® aparata.



WASP® & WASPLab® AVTOMATIZIRANO PROCESIRANJE IN DIGITALNA MIKROBIOLOGIJA



Zagrebška 22 | 2000 Maribor
podpora@mikro-polo.si
www.mikro-polo.si

MODRA ŠTEVILKA
080 61 40

Copan WASP® (Walk Away Specimen Processor) je odprta, modularna platforma, ki omogoča avtomatsko procesiranje mikrobioloških vzorcev: nacepljanje, pripravo razmazov za barvanje po Gramu, inokulacijo obogatitvenih gojišč in dispنزiranje diskov z antibiotiki za testiranje občutljivosti na antibiotike

WASPLAB® je sofisticiran sistem za popolno avtomatizacijo dela z mikrobiološkimi vzorci, ki jih procesira na podlagi črtnih kode. Sistem se povezuje z aparatom WASP® s pomočjo tekočega traka. WASPLab® premika vzorce od sistema WASP® v avtomatiziran inkubator, kjer se plošče avtomatsko odčitajo in uporabijo v nadaljnjih procesih, ali pa se zavrnejo. Zaradi kompaktne oblike in modularnosti je možno WASPLab® prilagoditi potrebam vsakega laboratorija.

COLIBRI® je odprt sistem, ki samodejno pobere izbrano kolonijo bakterij z gojišča in pripravi tarčno mesto za MALDI TOF identifikacijo, suspenzijo za AST in/ali subkultivacijo.

PhenoMATRIX™ je inovativen sistem, ki samodejno prepozna kolonije na gojišču s pomočjo napredne umetne inteligence (AI) in mikrobiološkim laboratorijem omogoča avtomatizirano odčitavanje, interpretiranje in ločevanje bakterijskih kultur na podlagi morfoloških značilnosti.





Clinical Diagnostics

Autoimmune • Serology • BioPlex® 2200 Multiplex Testing • Diabetes Testing • Hemoglobinopathies
Bacteriology / Mycology • Newborn Screening • Quality Control • Special Chemistry
Critical Raw Materials • Remote Monitoring & Support • Access Virology and Antibodies



Distributer za Slovenijo:

 **diahem**

Diahem d.o.o., Apače 207, 2324, Lovrenc na Dr. polju, Slovenija

+386 51 425 963  info@diahem.si