



MIKROBIOLOG.SI

Letnik 1, številka 2
Avgust 2021



Glasilo Slovenskega mikrobiološkega društva

ISSN 2784-4463

Odgovorna urednica
dr. Marjanca Starčič Erjavec

Glavna urednica
dr. Polonca Štefanič

Uredniški odbor
dr. Tomaž Accetto
dr. Darja Barlič Maganja
dr. Polona Kogovšek
dr. Urška Kuhar
dr. Hrvoje Petković
dr. Marjanca Starčič Erjavec
dr. Polonca Štefanič
dr. Valerija Tkalec
Rok Tomazin

Lektoriranje
Rok Dovjak

Oblikovna zasnova
dr. Polonca Štefanič

Grafična priprava
dr. Polonca Štefanič

Revija je brezplačna in izhaja 3 x letno

Spletna revija se nahaja v obliki pdf dokumenta na spletni strani SMD:
www.smd.si

Brez pisnega dovoljenja izdajatelja so prepovedani reproduciranje, distribuiranje, javna objava, predelava ali druga uporaba tega avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnemkoli obsegu ali postopku.

Prispevke pošiljajte na naslov
polonca.stefanic@bf.uni-lj.si

Naslovnica

Aspergillus sp. na laboratorijskem vzorcu lesa
Avtor: Polona Zalar.

Novice iz sveta mikrobiologije
Sorodstveno razlikovanje omogoča večji prenos DNA med manj sorodnimi sevi Bacillus subtilis
Polonca Štefanič

Raziskave v svetu mikrobiologije
Mikrobiom našega morja
Neža Orel, Tinkara Tinta in Valentina Turk

Ljudje v svetu mikrobiologije
Interdisciplinarni konzorcij raziskovalcev s področja mikrobiologije in materialov
Janja Trček, Eva Cepec, Urška Jančič in Selestina Gorgieva
NLZOH, Center za medicinsko mikrobiologijo, Skupina za aerobiologijo
Anja Simčič, Andreja Kofol Seliger

Mladi mikrobiologi
Luka Predojevič
Rok Tomazin
Martina Podgoršek
Arijana Filipić
Laura Šimenc
Taja Železnik Ramuta
Anja Pecman
Stina Hedžet

Mikrobiološki dogodek
Poletna šola osnov bioinformatike
Polonca Štefanič

Strokovni članki iz sveta mikrobiologije
Širjenje virusa SARS-CoV-2 in pomen preskušanja zaščitnih mask
Katja Fric, Tamara Košir, Arijana Filipić, Alja Štern, Bojana Žegura, Polona Kogovšek
Analiza soavtorstev na ARRS raziskovalnem področju 3.01 Mikrobiologija in imunologija v časovnem obdobju 2016–2021
Špela Štor in Andrej Kastrin

Mikrobiologija v gospodarstvu
Obvladovanje mikrobne združbe v klavnicah z namenom proizvodnje varne hrane
Manja Križman, Urška Henigman, Petra Raspor Lainšček

Iskrice v svetu mikrobiologije
Mikrobiologija v sliki
Mikronostagija: Slovensko mikrobiološko društvo – včeraj, danes, jutri
Maja Rupnik
Mikropesem
Peter Raspor
Mikrokrižanka

Pred vami je druga številka glasila Slovenskega mikrobiološkega društva, Mikrobiolog.si, glasila, ki ima namen, da mikrobiologi drug drugemu predstavimo in približamo svoje delo.

V tej številki smo za vas tako spet zbrali lep »šopek« različnih prispevkov s področja mikrobiologije. V rubriki Novice iz sveta mikrobiologije boste našli zanimiv prispevek, pravkar objavljen v reviji Nature Communications na temo znotrajvrstnega horizontalnega prenosa genov v povezavi s sorodnostjo pri bakteriji Bacillus subtilis. V rubriki Raziskave v svetu mikrobiologije se boste lahko seznanili s prispevkom raziskovalne skupine Morske biološke postaje Piran o vrstni sestavi bakterijskih združb obalnega morja, v rubriki Ljudje v svetu mikrobiologije pa vam predstavljamo skupino za aerobiologijo (NLZOH, Center za medicinsko mikrobiologijo) in Interdisciplinarni konzorcij raziskovalcev s področja mikrobiologije in materialov Univerze v Mariboru. V rubriki Mikrobiologija v gospodarstvu tokrat spoznavamo »mikrobiologijo v klavnicah«. Na novo smo uvedli rubriko Mikrobiološki dogodek, v kateri poročamo o Poletni šoli osnov bioinformatike, ki je potekala letos poleti (19.–23. julij 2021), in rubriko Mladi mikrobiologi, v kateri boste tokrat našli prispevke predavateljev s srečanja Mladi mikrobiologi se predstavijo 2021, ki smo ga v našem društvu organizirali 11. junija 2021. Med strokovnimi članki pa lahko preberete zanimiv prispevek na temo SARS-CoV-2 in prispevek, ki pokaže pestrost ARRS-jevega raziskovalnega področja 3.01 Mikrobiologija in imunologija, kot jo razkrije bioinformacijska analiza. Seveda pa smo za vas pripravili tudi Iskrice. Med njimi bi še posebej izpostavila prispevek iz mikronostagije o zgodovini našega društva in pa pesem prof. Rasporja, ki lepo povzame splošno občutje, ki nas sedaj, ob koncu poletja, vse preplavlja.

V upanju, da si boste z veseljem ogledali to številko in tudi prispevali svoje prispevke za naslednjo, vas prav lepo pozdravljam in želim uspešno akademsko leto.

Marjanca Starčič Erjavec



Novice iz sveta mikrobiologije

Sorodstveno razlikovanje omogoča večji prenos DNA med manj sorodnimi sevi *Bacillus subtilis*

Polonca Štefanič

Raziskavo o socialnih interakcijah bakterije *B. subtilis*, objavljeno v reviji Nature Communications, sva vodili doc. dr. Polonca Štefanič in prof. dr. Ines Mandić-Mulec, vodja študija mikrobiologije in predstojnica Katedre za mikrobiologijo Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (UL BF), v sodelovanju z domačimi (UL BF) in tujimi raziskovalci z Univerze v Københavnu, Univerze v Pensilvaniji in Univerze Exeter v Veliki Britaniji.

Vir: Štefanič Polonca, Belcijan Katarina, Kraigher Barbara, Kostanjšek Rok, Nesme Joseph, Madsen Jonas, Kovac Jasna, Sørensen Søren, Vos Michiel, Mandić-Mulec Ines. Kin discrimination promotes horizontal gene transfer between unrelated strains in *Bacillus subtilis*. Nature Communications. 2021, vol. 12, p. 1–11.

Povezava do [članka](#) in [bloga](#) v Nature Portfolio.

Bakterije se razmnožujejo z binarno celično delitvijo, genski material pa lahko oplemenitijo s sprejemom genov iz okolja s horizontalnim genskim prenosom (HGT). Zaradi neverjetne raznolikosti dodatnih genov znotraj genomov bakterijskih vrst (tudi pri *B. subtilis*) lahko trdimo, da je HGT zelo pomemben pri oblikovanju in evoluciji bakterijskih genomov. Poznamo različne tipe horizontalnega prenosa, npr. prenos s fagi (transdukcija) in konjugacijskimi plazmidi (konjugacija), HGT pa lahko

poteka tudi preko nanocevk in membranskih veziklov. V naših raziskavah merimo prenos in vgradnjo DNA ob naravni transformaciji (kompetenci); to fiziološko stanje je posledica izražanja genov kompetence, ki so v celoti zapisani na bakterijskem kromosomu. Omenjenih genov ni malo – če upoštevamo, da v tem zapletenem procesu celica koordinira izražanje približno 10 % vseh genov v genomu, glavni regulator, protein ComK, pa neposredno uravnava izražanje kar 100 genov, lahko sklepamo, da se je transformacija razvila in

obdržala z nekim precej tehtnim oziroma pomembnim razlogom. O tem, čemu transformacija služi, bi lahko razpravljali, saj obstaja več neodvisnih, a s poskusi potrjenih teorij, od tega, da je DNA hranilo, do tega, da je namenjena za popraviljanje genoma in tudi za njegovo večjo raznovrstnost (diverzifikacijo).

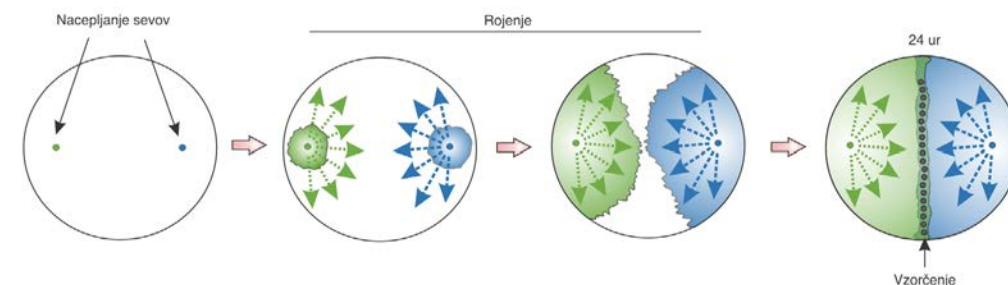
Pri *B. subtilis* kompetenco regulira sistem za zaznavanje celične gostote, ki izkazuje veliko variabilnost znotraj vrste, kar pomeni, da so bakterije razvile več "jezikov", s katerimi lahko medsebojno komunicirajo. Skupine z istim tipom jezika se prepoznajo in stimulirajo membranske receptorje, kar vodi v regulacijo procesov, med katere sodi tudi naravna transformacija. To pomeni, da lahko samo isti tip jezika vzbudi kompetenco znotraj neke populacije *B. subtilis*, medtem ko se prisotnost različnih jezikov dostikrat odraža v medsebojni inhibiciji za privzem DNA, vendar pa so raziskave na področju transformacije do sedaj vedno potekale s čistimi kulturami in dodano DNA in niso upoštevale medceličnih socialnih interakcij.

Naša raziskava predstavi horizontalni prenos genov (HGT) v luči socialnih interakcij, saj *B. subtilis* v procesu rojenja prepozna predstavnike iste vrste kot bolj ali manj sorodne, jih napade in privzame ter vgradi njihovo DNA. Stopnja privzema DNA je v laboratorijskih razmerah, ob dodajanju DNA populaciji celic v gojitveni posodici, prenosorazmerna sorodnosti dodane DNA in recipientovega genoma, saj je uspešnost

rekombinacije odvisna od stabilnosti heterodupleksa med donorsko DNA in genomom bakterije, ki DNA sprejema. To pomeni, da manj sorodna, kot je DNA, ki jo dodajamo čisti kulturi, manjša bo stopnja vgradnje le-te v genom. Na podlagi tega dejstva bi lahko trdili, da je namen transformacije popraviljanje genomov, vendar je iz genomskih zaporedij očitno, da privzem DNA ne poteka vedno med visokosorodnimi sevi: genom vrste *B. subtilis* je namreč zelo raznolik. Torej, ali zgornja predpostavka drži?

Mi smo ubrali drugačen pristop, saj smo v proces proučevanja HGT vključili tudi medcelične interakcije, in naša raziskava lahko deloma razloži, kako lahko prihaja do take diverzifikacije. Različne seve *B. subtilis* smo v parih nacepili na poltrdno gojišče in jih inkubirali, dokler se roji niso srečali. V točki srečanja je prišlo do zlitja rojev, če so se sevi prepoznali kot visokosorodni (interakcija kin), ali do tvorbe linije, če so bili sevi manj sorodni in so drug na drugega delovali antagonistično (interakcija non-kin). Sorodnost sevov smo določili s parametrom ANI (Average Nucleotide Identity) na podlagi genomskih zaporedij vseh vključenih sevov. Ugotovili smo, da se že pri 98,8 % ANI sevi *B. subtilis* prepoznajo kot manj sorodni, med njimi pa prihaja do antagonizma, ki je odvisen od vzorca prisotnosti/odsotnosti mnogih genov (npr. genov za sisteme toksin/antitoksin, antibiotikov in odpornosti na njih, membranskih proteini itd.), le-ta pa korelira s filogenetsko

▼ Shema eksperimenta: po nacepljanju sevov na poltrdno gojišče in 24-urni inkubaciji smo vzorčili na stiku rojev in določili koncentracijo posameznega seva in transformant.



sorodnostjo. In kako ta antagonizem vpliva na HGT?

Ena ključnih ugotovitev naše raziskave je, da je HGT povečan med manj sorodnimi sevi, kar lahko pospeši evolucijo genomov v smeri večje raznovrstnosti in ni v skladu z

za povečan prevzem DNA, vendar samo, kadar zazna stresni odziv pri napadeni bakteriji.

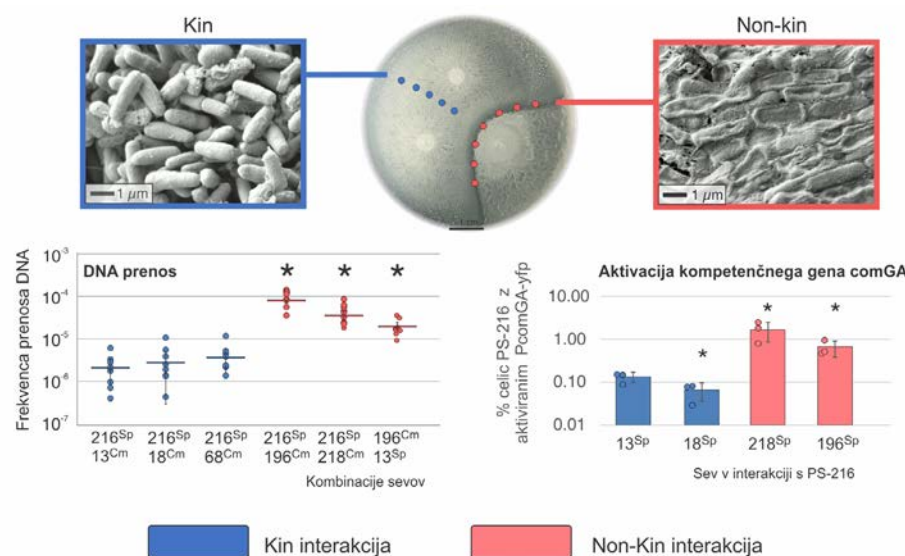
Bakterije torej v procesu rojenja, ki omogoči celični stik, prepoznajo manj in bolj sorodne predstavnike iste vrste in ob napadu na manj soro-

»Ugotovili smo, da povečan HGT ni posledica pobijanja in prisotnosti višjih koncentracij DNA, temveč je posledica obsežnejšega izražanja kompetenčnih genov v sevu, ki napada.«

opažani v čistih kulturah, za katere velja, da je prenos DNA pri bakterijah večji med bližnjimi sorodniki. Prenos DNA celo ni bil omejen na »jezike«, kot so ugotovili pri proučevanju prenosa DNA v čistih kulturah, ampak je bil večji med dvema različnima sistemoma za zaznavanje celične gostote. Ugotovili smo tudi, da povečan HGT ni posledica pobijanja in prisotnosti višjih koncentracij DNA, temveč je posledica obsežnejšega izražanja genov kompetence v sevu, ki »napada«. Ugotovili smo namreč, da napadalec aktivira mehanizme

den sev aktivirajo gene kompetence, ki povečajo izmenjavo DNA. To spominja na izogibanje parjenju v ožjem sorodstvu, ki je značilno za ljudi in živali (inbreeding avoidance). Odkrit mehanizem povečanega sprejema/vgradnje DNA ob stiku dveh manj sorodnih sevov je mogoče najstarejši in najprimitivnejši mehanizem diverzifikacije znotraj vrste in poudarja pomembnost upoštevanja in raziskovanja mikrobni interakcij pri HGT in posledično evoluciji vrste *B. subtilis*.

▼ Morfologiji kin in non-kin interakcij (zgoraj), frekvenca prenosa DNA med kin in non-kin sevi (spodaj levo) in aktivacija kompetenčnega gena *comGA* pri sevu PS-216 v kombinaciji s kin in non-kin sevi.



Raziskave v svetu mikrobiologije

Mikrobiom našega morja

Neža Orel, Tinkara Tinta in Valentina Turk

V okviru raziskav morske mikrobne ekologije na Morski biološki postaji Piran (Nacionalni inštitut za biologijo) proučujemo odzive bakterijske združbe na spreminjajoče se fizikalne in kemijske dejavnike, kot so temperatura, slanost, količina različnih hranil in onesnažil. Antropogeni dejavniki predstavljajo pritiske, ki vplivajo na sestavo in delovanje mikrobne združbe, ter posledično na zdravje morskih ekosistemov. Posebno vnos fekalnih, potencialno patogenih vrst pomeni tveganje za zdravje morskih organizmov in ljudi. Vrsto sestavo bakterij s poudarkom na potencialno patogenih vrstah smo proučevali v okviru projekta ARRS J1-9157 (Dejavniki, ki strukturirajo mikrobiom obalnega morja s poudarkom na patogenih; celostni pristop) in doktorskega dela.

Obalna morska okolja so izpostavljena številnim vplivom, ki so posledica človeških dejavnosti: vnos odpadne vode iz čistilnih naprav, napake v kanalizacijskih sistemih, spiranje z urbanih površin in kmetijskih zemljišč, izpust balastne vode idr. Odpadne vode lahko v morsko okolje vnašajo fekalne mikroorganizme, ki pri povišanih koncentracijah hranil, nižji slanosti in povišanih temperaturah v morskem okolju uspevajo in vplivajo na naravno populacijo mikroorganizmov. Na ta način ne vplivajo le na sestavo in delovanje morskega mikrobioma, temveč lahko predstavljajo tvegan-

je za zdravje morskih organizmov in ljudi. Za ugotavljanje sanitarne kakovosti voda se po uredbi uporablja klasična mikrobiološka metoda, ki temelji na gojenju fekalnih indikatorskih mikroorganizmov na izbranih gojiščih, kar omogoča zaznavanje le majhnega deleža bakterijskih vrst. Razvoj novih molekularnih metod izolacije DNA naravnih vzorcev in sekvenciranja naslednje generacije omogoča analiziranje celotne sestave bakterijske združbe in spremljanje prisotnosti bakterijskih indikatorjev onesnaženja v različnih okoljih. Pri naši raziskavi smo določili vrsto sestavo bakterij v slovenskem obal-

nem morju (mikrobiom), določili prisotnost bakterijskih indikatorjev onesnaženja (skupine bakterij, ki spadajo med fekalne indikatorje ali alternativne indikatorje onesnaženja z odpadno vodo, predlagane v različnih študijah [1-3] in proučevali vplive nekaterih antropogenih pritiskov na bakterijsko združbo v Tržaškem zalivu. Sezonska vzorčenja

»Vrstna sestava bakterijske združbe je primarno odvisna od sezonskih nihanj temperature, koncentracije raztopljenega kisika in količine organskih hranil.«

smo opravili v obdobju enega leta, na petih mestih, ki so različno oddaljena od dveh virov onesnaženja (ustje reke Rižane, v katero se izteka komunalne vode čistilne naprave mest Koper in Izola, ter podvodni izpust čistilne naprave Piran). Vzorce morske vode smo vzorčili na dveh globinah: ~0,5 m pod površjem in ~0,5 m nad dnom. Opravili smo kemijske analize (določili koncentracije anorganskih in organskih hranil) in določili število bakterij, bakterijsko produkcijo, število totalnih koliformov z gojitveno metodo ter vrstno sestavo bakterij na podlagi analize 16S rRNA amplikonov.

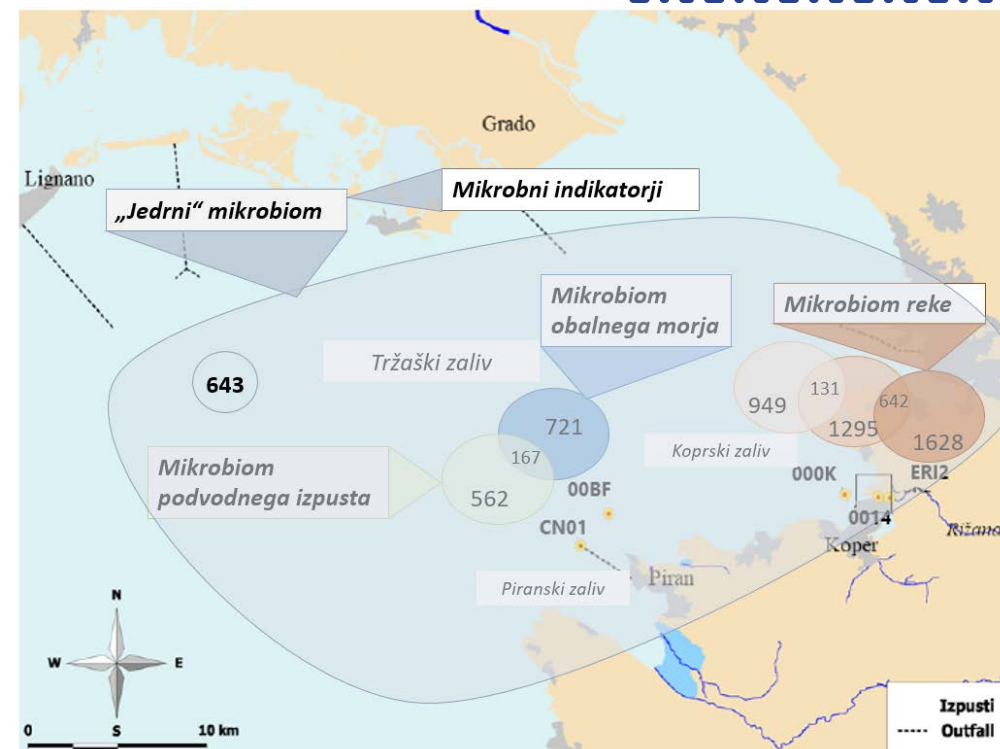
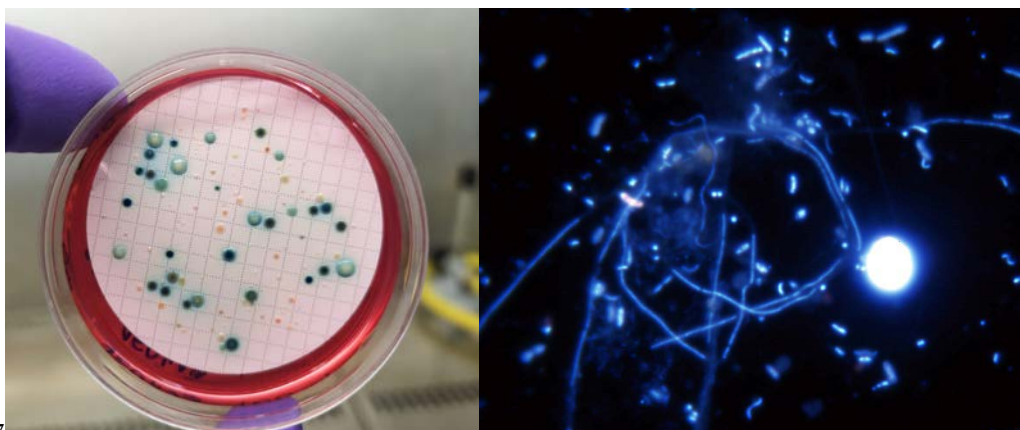
Vrstna sestava bakterijske združbe

je primarno odvisna od sezonskih nihanj temperature, koncentracije raztopljenega kisika in količine organskih hranil. Med dominantne skupine spadajo predstavniki Alphaproteobacteria, Bacteroidia, Gamaproteobacteria in Cyanobacteria. Na celotnem raziskovalnem območju smo vse leta spremljali tudi prisotnost bakterijskih indikatorjev

onesnaženja. Bakterijski indikatorji so bili prisotni na vseh lokacijah, ne glede na oddaljenost od vira onesnaženja, in so predstavljali tudi do 34 % deleža zaporedij celotne bakterijske sestave v posameznih vzorcih. Med njimi so bili predstavniki družin *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae*, *Ruminococcaceae* in *Arcobacteriaceae*. Nadaljnje filogenetske analize so pokazale, da so nukleotidna zaporedja prepoznana kot zaporedja iz družine *Arcobacteriaceae*, dejansko nukleotidna zaporedja patogene *Arcobacter cryaerophilus*.

Ta študija je prvi tako obširen popis

▼ Določanje totalnih koliformov z uporabo gojitvenih tehnik (levo), določanje števila bakterij pod epifluorescentnim mikroskopom (Olympus BX51, povečava 1000x, uporaba barvila DAPI) (desno).



bakterijskih vrst v slovenskem obalnem morju. Rezultati so pokazali, da prisotnost bakterijskih indikatorjev onesnaženja ni omejena le na lokacije ob neposrednih virih onesnaženja, temveč se ti s tokom prenašajo po celotnem območju. Spremljanje indikatorjev onesnaženja s tradi-

cionalnimi gojitvenimi metodami je omejeno na zelo majhno število mikroorganizmov, zato so molekularne analize pomembna dopolnitev za razumevanje stanja okolja in potencialnih nevarnosti.

▲ Seznam vzorčevalnih mest z označenim številom bakterijskih vrst, specifičnih za posamezno vzorčevalno mesto oz. številom bakterijskih vrst, ki so skupne vsem mestom, tako imenovani »jedrni« mikrobiom, katerega del so tudi bakterijski indikatorji.

»Ta študija je prvi tako obširen popis bakterijskih vrst v slovenskem obalnem morju. Rezultati so pokazali, da prisotnost bakterijskih indikatorjev onesnaženja ni omejena le na lokacije ob neposrednih virih onesnaženja, temveč se ti s tokom prenašajo po celotnem območju.«

Viri:

1. Newton et al. 2013. *Microb Ecol* 65, 1011–1023.
2. Mauger et al. 2014. *J Appl Microbiol* 97, 354–361.
3. Numberger et al. 2019. *Sci Rep* 9, 1–14.

Interdisciplinarni konzorcij raziskovalcev s področja mikrobiologije in materialov

¹ Oddelek za biologijo, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru

² Inštitut za inženirske materiale in oblikovanje, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru

Janja Trček¹, Eva Cepec¹, Urška Jančič² in Selestina Gorgieva²

Na Univerzi v Mariboru smo se povezali v interdisciplinarni konzorcij raziskovalcev s področja mikrobiologije in materialov ter se osredotočili na proizvodnjo in modifikacijo bakterijske nanoceluloze v funkcionalen material.

Na Oddelku za biologijo Fakultete za naravoslovje in matematiko Univerze v Mariboru (UM) smo v preteklih letih s sistematičnim vzorčenjem vsebine industrijskih bioreaktorjev za proizvodnjo konvencionalnega in ekološko (bio) pridelanega jabolčnega kisa ter nadaljnjo izolacijo ocatnokislinskih bakterij osnovali obširno zbirko taksonomsko dobro okarakteriziranih

(BC). V sodelovanju s skupino s Fakultete za strojništvo UM, ki ima večletne izkušnje z modifikacijo BC v funkcionalen material, uporaben zlasti v medicinske namene, se s tem področjem intenzivno ukvarjamo, tudi v okviru tekočega projekta ARRS (J2-2487) – Bioaktivne, *in situ* modificirane vlaknate membrane na osnovi bakterijske celuloze: procesiranje, karakterizacija in ocena upo-

»Celuloza je polimer, zgrajen iz linearnih homopolisaharidnih verig, sestavljenih iz enot D-glukoze, ki jih povezuje β -1,4-glikozidna vez. Sestavlja celično steno rastlinskih celic in je najbolj razširjen biopolimer na Zemlji.«

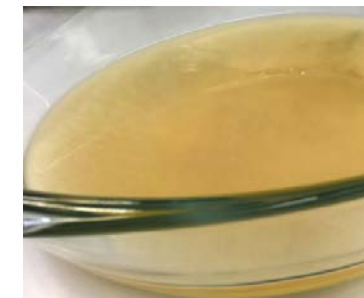
seвов iz različnih bakterijskih rodov ter v njih prepoznali potencial za proizvodnjo bakterijske celuloze

rabnosti v biomedicini.

Celuloza je polimer, zgrajen iz linearnih homopolisaharid-

nih verig, sestavljenih iz enot D-glukoze, ki jih povezuje β -1,4-glikozidna vez. Sestavlja celično steno rastlinskih celic in je najbolj razširjen biopolimer na Zemlji. Čeprav so rastline izreden vir tega biopolimera, ima celuloza, ki nastaja kot zunajcelični proizvod nekaterih bakterij, zaradi visoke čistosti, kristaliničnosti, elastičnosti, nizke gostote, velike specifične površine, odlične propustnosti, visoke poroznosti, mehanske trdnosti v mokrem stanju ter možnosti proizvodnje v nadzorovanih razmerah prednost za uporabo v biotehnoški industriji pred rastlinsko celulozo. Bakterijska celica celulozo izloča v obliki linearnih glukoznih verig, ki med seboj agregirajo v celulozna nanovlakna in v nadaljevanju oblikujejo tridimenzionalne in želatinozne strukture na površini tekočih gojišč. Najučinkovitejše proizvajalke BC so ocatnokislinske bakterije, zlasti vrste iz rodov *Komagataeibacter* in *Acetobacter*.

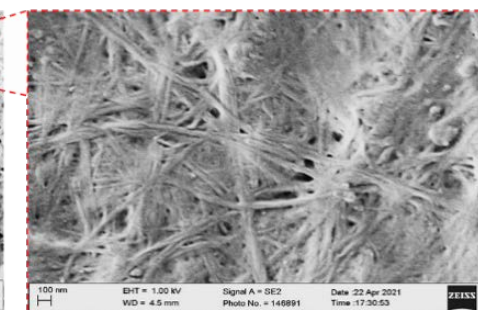
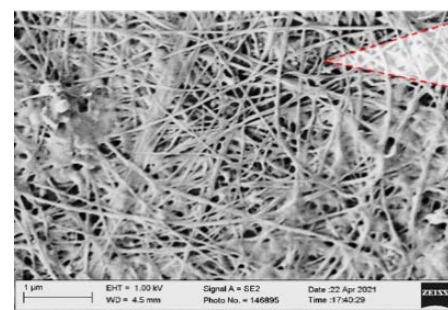
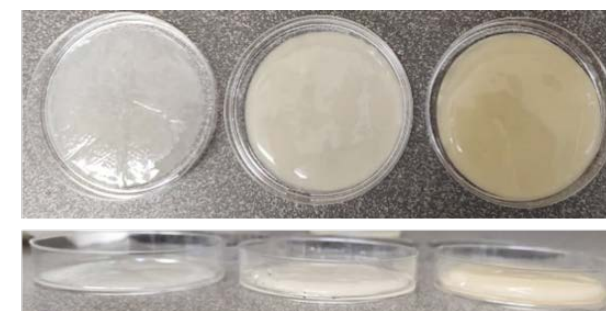
Zakaj je modifikacija BC potrebna?



▲ Laboratorijska proizvodnja celuloznega biofilma. Avtor: Kim Fijok.

Znano je, da BC ne sproži neželenih reakcij, kadar se uporablja v stiku s človeškimi tkivi, predvsem zaradi svoje hidrofilnosti in odsotnosti visokoreaktivnih skupin, kar omejuje interakcije z drugimi (bio)molekulami, ter povzroča zmanjšan odziv ob prisotnosti tujka. Takšna biološka inertnost pa pomeni težavo pri aplikacijah, pri katerih je bioaktivnost zaželena. BC zato modificiramo z različnimi postopki *ex situ* in *in situ*. Modifikacijo celuloze *ex situ* lahko izvedemo s kemijskimi postopki, kot so oksidacija, "grafting" in zamreževanje, ali pa s fizikalnimi postopki, kot so adsorpcija, sus-

▼ Primerjava celuloznih membran, proizvedenih s tremi različnimi sevi ocatnokislinskih bakterij, in analiza mikrostrukture membrane z vrstično elektronsko mikroskopijo. Avtorici: Urška Jančič in Selestina Gorgieva.



pendiranje, homogenizacija ipd. Z modifikacijo *in situ* lahko dodatke v rastnem gojišču, npr. hitozan, želatino, poli-3-hidroksibutirat ali silicijev

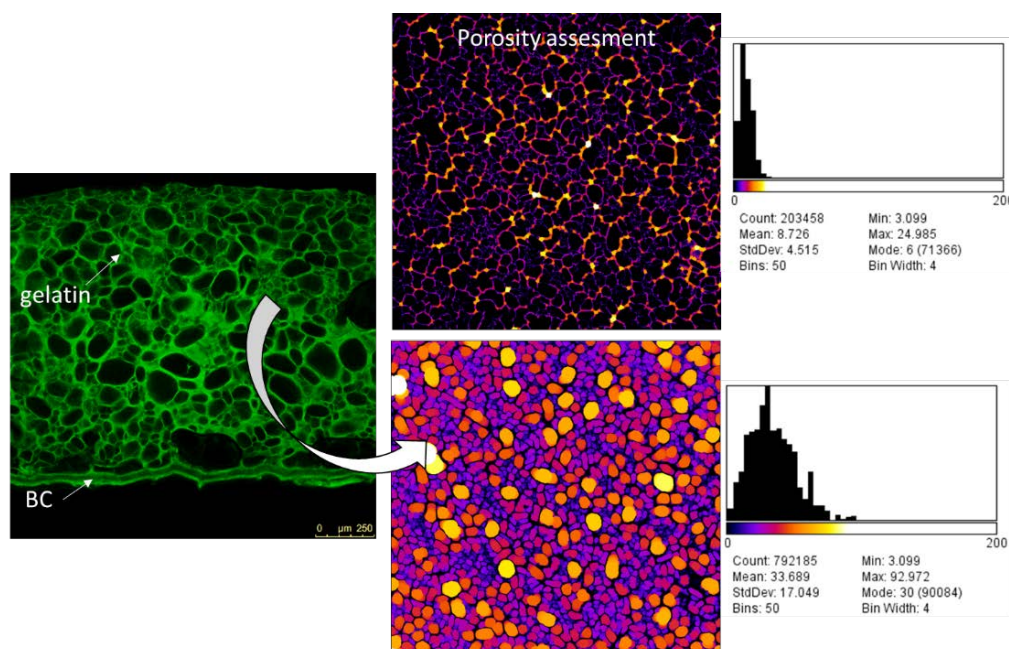
kacijski postopki velik potencial za razvoj raznovrstnega novega bioaktivnega materiala na osnovi BC. Pri izboru najprimernejšega seva za

»Cilj našega projekta je pripraviti poceni rastno gojišče iz preostankov organskega materiala iz agroživilske industrije za namnoževanje učinkovitega producenta nanoceluloze, ki je z *in-situ* postopkom modificirana v funkcionalne membrane, uporabne v medicinske namene.«

dioksid, neposredno vključimo v nastajajoče fibrile BC v obliki molekul ali že strukturiranih nano- oz. mikrodelcev. Omenjeni vključki pa lahko tudi inhibirajo rast očetnokislinskih bakterij ali povzročajo težave zaradi netopnosti, slabe disperzibilnosti in slabe obstojnosti materiala. Kljub tem oviram imajo našeti modifi-

proizvodnjo BC je poleg prisotnosti skupkov genov za sintezo celuloze ter stabilnosti bakterijskega genoma treba upoštevati tudi sposobnost seva za rast na naravnih gojiščih. Naravna gojišča morajo biti poceni ali pa naj gre za odpadke iz predelave organskega materiala, so enostavno in v velikih količinah dobavljiva ter

▼ Modifikacija BC z mikrostrukturirano želatino in analiza poroznosti kompozita. Avtor: Selestina Gorgieva.



jih je mogoče dalj časa shranjevati v primeru sezonsko omejene dobave. Primeren organski substrat je v različnih geografskih območjih lahko različen, zato je pomembno, da si glede na kmetijsko-predelovalne usmeritve območja poiščemo najprimernejši naravni substrat za proizvodnjo BC. Primeri takšnih naravnih substratov so organski ostanki pri predelavi sadja, npr. agrumov, fig, dateljnov, ananasa, jabolk, kot tudi zelenjave (krompir, korenje), orehov in žit.

Bakterijska celica sintetizira celulozo iz glukoze v gojišču, lahko pa tudi iz drugih virov sladkorja po transformaciji le-tega v glukozo. Sposobnost uporabe različnih virov sladkorja in odpornost proti različnim spremljajočim komponentam v naravnih gojiščih je pomemben dejavnik pri iskanju in izboru najprimernejšega proizvodnega organizma. Bakterijski sev lahko vsebuje več različnih genetskih skupkov za sintezo celuloze. Teh je bilo do sedaj v enem sevu identificiranih največ pet, a njihov prispevek k proizvodnji nanoceluloze še ni povsem raziskan.

Cilj našega projekta je pripraviti poceni rastno gojišče iz preostankov organskega materiala iz agroživilske industrije za namnoževanje učinkovitega producenta na-

noceluloze, ki je z *in situ* postopkom modificirana v funkcionalne membrane, uporabne v medicinske namene.

Dostopnost genomskih zaporedij in orodij genskega inženirstva za seve, ki sintetizirajo nanocelulozo, pa odpira nove možnosti za proizvodnjo nanokompozitnih materialov z rekombinantnimi bakterijskimi sevi. Tako je bil po vnosu genov za sintezo hitina iz kvasovke v bakterijo *Komagataeibacter xylinus* že proizveden himerni produkt celuloza-hitin, po vnosu gena za sintezo kurdlna iz *Agrobacterium* sp. v *Komagataeibacter hansenii* pa bionanokompozit kurdlan-celuloza. Področje se v zadnjih letih zelo intenzivno razvija in bo zagotovo doprineslo k novostim pri uporabi BC v medicinski namene.

Viri:

Gorgieva S. in Trček J. 2019. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials* 9 (10), 1352.

Marić, L., Cleenwerck, I., Accetto, T., Vandamme, P., Trček, J. 2020. Description of *Komagataeibacter melacetii* sp. nov. and *Komagataeibacter melomenus* sp. nov. Isolated from Apple Cider Vinegar. *Microorganisms* 8 (8), 1178.

Gorgieva S. in Hribnik S. 2019. Microstructured and Degradable Bacterial Cellulose-Gelatin Composite Membranes: Mineralization Aspects and Biomedical Relevance. *Nanomaterials* 9 (2), 303.

Gorgieva S. in Ojstršek A. 2020. Postopek modifikacije bakterijske celuloze z mikrostrukturiranim želatinskim nanosom: patent SI 25790 A, 2020-08-31. Ljubljana: Urad RS za intelektualno lastnino (P-201900025, 2019-02-07).

**NLZOH, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Skupina za aerobiologijo, Ljubljana**

Anja Simčič, Andreja Kofol Seliger

Z besedo aerobiologija je poimenovano proučevanje organizmov in delcev biološkega izvora, ki v zraku pasivno lebdi, njihovih lastnosti, obnašanja in gibanja, tako na prostem kot v zaprtih prostorih. Poleg cvetnega prahu in spor gliv so v zraku prisotne bakterije, virusi, praživali in drobni členonožci ter različni delci in kapljice biološkega izvora. Aerobiologija raziskuje vse te komponente in njihovo pot od vira sproščanja v zrak prek prenosa do usedanja ter njihov učinek na živa bitja.

Velik preskok pri sledenju sporam gliv in cvetnemu prahu v zraku se je zgodil v začetku petdesetih let prejšnjega stoletja v Veliki Britaniji na inštitutu Rothamsted Research, kjer so podrobno raziskovali po zraku prenosljive rastlinske patogene, z namenom povečanja količine pridelka po drugi svetovni vojni. Za sledenje patogenim sporam gliv je J. M. Hirst leta 1952 konstruiral vzorčevalnik, ki je omogočal neprekinjeno, štiriindvajseturno volumetrično vzorčenje zraka. Z manjšimi prilagoditvami Hirstov tip vzorčevalnika uporabljamo še danes. Na pobudo prof. dr. Jane Furlan Hrabar in s podporo takratnega Inštituta za varovanje zdravja (IVZ) so se začele meritve cvetnega prahu v zraku tudi v Sloveniji. Izobraževanje

za prenos metode dela v Slovenijo je potekalo na Medicinski univerzi na Dunaju, enem od pomembnih centrov v Evropi, ki je bil povezan z alergologijo. V decembru leta 1995 je bila v sodelovanju s takratnim Hidrometeorološkim zavodom Slovenije (HMZ) postavljena prva merilna postaja v Sloveniji. Skozi čas se je število merilnih postaj spreminjalo glede na potek aplikativnih raziskovalnih projektov. Od leta 2014 deluje Skupina za aerobiologijo v okviru Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH). Na državni ravni izvajamo celoletni monitoring cvetnega prahu v nižinskem svetu na štirih merilnih postajah: v Izoli, Ljubljani, Mariboru in Lendavi. Postaje so postavljene na gosto poseljenih področjih, tako



▲ Moške mačice breze in zrna cvetnega prahu; socvetje pasje trave in zrno cvetnega prahu.

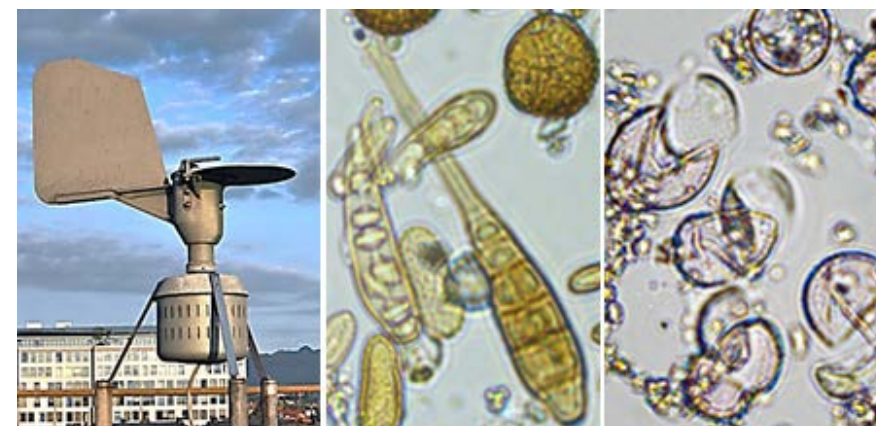
zagotavljam relevantne informacije o obremenitvi zraka za čim več uporabnikov. Meritve potekajo po standardu SIST EN 16868:2019, ta opredeljuje način vzorčenja in analizo zrn cvetnega prahu po Hirstovi volumetrični metodi, ki je najbolj uveljavljena v nacionalnih aerobioloških merilnih mrežah, tako pridobljeni podatki so tudi osnova za nadaljnje raziskovalno delo. Sledenje cvetnemu prahu v zraku je približek vsebnosti alergenov cvetnega prahu, glavni prispevajo vetrocvetke, žužkocvetne vrste predstavljajo zanemarljiv delež.

Aerobiološke postaje so postavljene na strešnih terasah, od 15 do 20 metrov visoko, kar omogoča vzorčenje v dobro premešani plasti zraka, v kateri so razpršena zrna okoliških in bolj oddaljenih virov cvetnega prahu. Vzorčevalnik Hirstovega tipa zbira vzorec največ teden

dni, sprejemu vzorca v laboratoriju sledi priprava in barvanje preparatov. Analiza je manualna s svetlobnim mikroskopom s 400-kratno povečavo. Morfološke značilnosti cvetnega prahu omogočajo določanje do rodu ali družine natančno, redkeje do vrste. Na ta način identificiramo cvetni prah več kot 60 različnih taksonov. Rezultat je podan kot povprečna dnevna koncentracija (št. zrn/m³ zraka/dan) za posamezen takson. V aerobioloških vzorcih opazujemo tudi druge delce biološkega izvora, pozorni smo na prisotnost spor gliv, zlasti na predstavnik alergenih rodov, kot sta *Alternaria* in *Cladosporium*. Povečanje obremenitve s sporami gliv v zunanjem zraku zaznamo v začetku junija, velika obremenitev se nadaljuje v jesen.

Pomemben segment našega dela je ažurno obveščanje javnosti o obre-

▼ Vzorčevalnik Hirstovega tipa; spore gliv; saharški pesek in poškodovana zrna cvetnega prahu cipresovk.



menitvah zraka s cvetnim prahom, pozornost usmerjamo zlasti na najpomembnejše alergene vrste naših fitogeografskih območij. Alergeni cvetnega prahu so namreč dejavnik tveganja za razvoj alergijskega rinitisa (senenega nahoda), redkeje so sprožilci alergijske astme. Na spletni strani www.nlzoh.si objavljamo

Network), ta združuje podatke več kot 600 merilnih postaj. Na podatkovni zbirki temelji Spletni dnevnik cvetnega prahu, namenjen polinotikom za pridobitev hkratne informacije o izpostavljenosti in samooceni zdravstvenega stanja. Podatkovna zbirka se med drugim uporablja tudi za evalvacijo modelov za napovedi

»Eden najbolj povednih in razumljivih načinov za predstavitev poteka sezone širši javnosti je koledar cvetnega prahu. Letos je bil izdan nov spletni koledar, ki prikazuje povprečen datum začetka in konca sezone za pomembnejše alergene vrste na izbrani merilni postaji.«

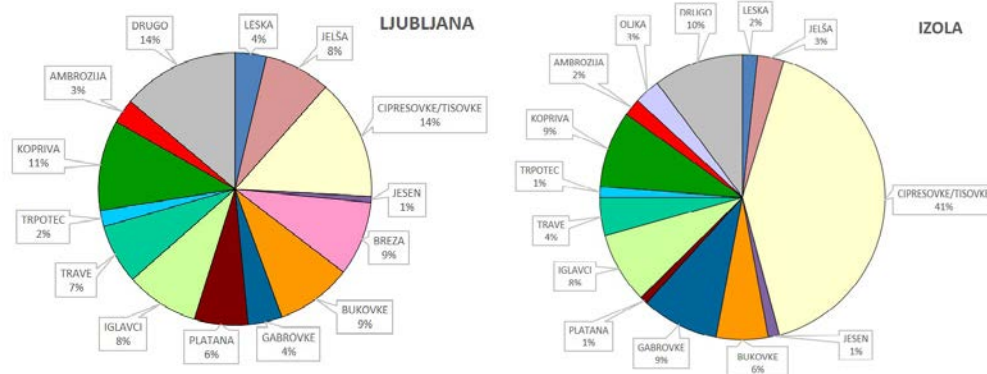
kratkoročne napovedi, ki nastajajo v sodelovanju z Agencijo RS za okolje (ARSO). Svoje znanje skupaj s predstavniki ARSO in Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ) širimo na strokovnih srečanjih *Podnebje, okolje in alergije*, na katerih javnosti predstavljamo najpomembnejša spoznanja na področju alergij in spreminjajočega se okolja.

Že od postavitve prve merilne postaje sodelujemo z Medicinsko univerzo na Dunaju, ki je skrbnik evropske podatkovne zbirke EAN (ang. European Aeroallergen

količine cvetnega prahu, ki nastajajo v okviru projekta CAMS (ang. Copernicus Atmosphere Monitoring Service).

Načrtovano in sistematično spremljanje obremenitve zraka na različnih fitogeografskih območjih omogoča vpogled v vrstni sestav in delež posameznih taksonov rastlin (slika spodaj). Eden najbolj povednih in razumljivih načinov za predstavitev poteka sezone širši javnosti je koledar cvetnega prahu. Letos je bil izdan nov spletni koledar (dostopen na www.nlzoh.si), ki prikazuje

▼ Delež letnega seštevka (v %) najpogostejših vrst cvetnega prahu v Ljubljani in Izoli, leto 2019. Letni seštevek je vsota vseh dnevnih obremenitev na izbrani merilni postaji.



povprečen datum začetka in konca sezone za pomembnejše alergene vrste na izbrani merilni postaji. Dolg niz podatkov omogoča spremljanje sprememb v pojavljanju cvetnega prahu. Številne študije kažejo na ujemanje z vzorcem segrevanja po Evropi, seveda pa gibanja niso povsod enaka in so vezana na podnebna območja. Za brezo velja, da se

aerosola cvetnega prahu je učinkovito pri ugotavljanju sprememb na meji razširjenosti rastline in je lahko koristen približek kazalnikov okoljskih sprememb in širjenja vrst, ki vzbujajo skrb. Tak primer je tuje-rodna ambrozija, katere cvetni prah vsebuje visokopotentne alergene. Že povprečna dnevna obremenitev ≥ 20 zrn/m³ lahko pri večini pre-

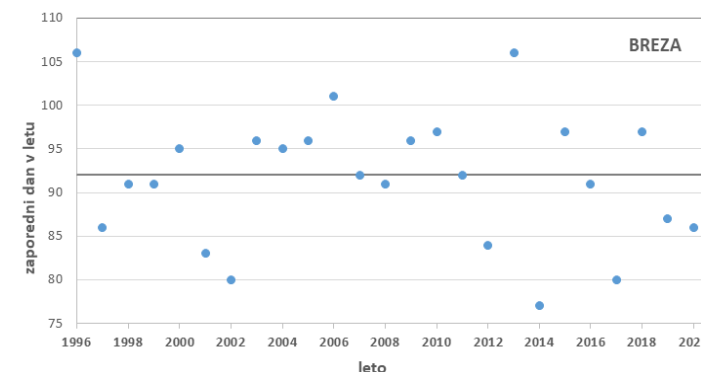
»Z analizo meritev je bil v Sloveniji potrjen gradient obremenitve v smeri zahod–vzhod, pri čemer obremenitev dosega vrednosti najbolj obremenjenih območij v Evropi.«

njen cvetni prah v srednji in zahodni Evropi dandanes pojavlja bolj zgodaj spomladi. Merilni niz s postaje Ljubljana (slika spodaj) je prekratek, da bi lahko govorili o vplivu podnebnih sprememb, meritve (1996–2021) sicer nakazujejo rahlo težnjo k zgodnejšemu pojavljanju, vendar izračuni niso statistično signifikantni. Nihanja med leti so posledica vremenskih razmer (nizke temperature, padavine), sproščanja cvetnega prahu pred in med sezono ter genotipa rastline.

Poleg zdravstvenega vidika se aerobiološke meritve vse pogosteje uporablja za zbiranje biogeografskih in ekoloških informacij. Spremljanje

občutljivih posameznikov sproži simptome bolezni. Z analizo meritev je bil v Sloveniji potrjen gradient obremenitve v smeri zahod–vzhod, pri čemer obremenitev dosega vrednosti najbolj obremenjenih območij v Evropi. Od leta 2014 sodelujemo z madžarskim Nacionalnim javnozdravstvenim centrom (ang. National Public Health Centre, NPHC) v projektu alarmnega sistema za obveščanje o cvetnem prahu ambrozije v Podonavju (ang. Ragweed Pollen Alarm System, R-PAS).

Metoda dela omogoča tudi vpogled v dnevno dinamiko sproščanja cvetnega prahu, do dveh ur natančno. Analiza dnevnega hoda na postaji



◀ Začetek sproščanja cvetnega prahu breze na postaji Ljubljana (1996–2021). Najzgodnejši pojav je bil zabeležen 77. dne (18. marec), najpoznejši pa 106. dne (16. april), vrednost mediane je 92. dan (2. april).

Lendava je za ambrozijo pokazala, da se količina cvetnega prahu v povprečju začne povečevati po 6. uri zjutraj, najvišje obremenitve so dosežene v dopoldanskem času, nato obremenitev postopoma pada. Odmik od te razporeditve so povišane obremenitve pozno popoldne in ponoči, kar nakazuje na transport iz oddaljenih virov (slika spodaj). Taki dogodki so občasni, navadno v

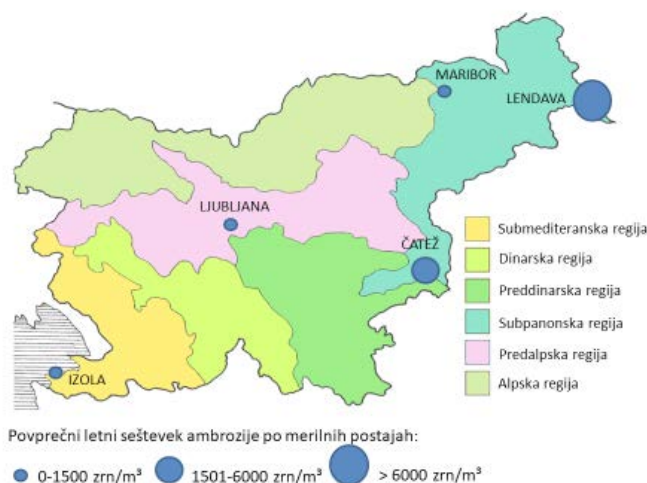
nekajdnevno, tudi tedensko zamudo. Hitrejši dostop do informacij bo omogočilo avtomatsko merjenje, ki se pospešeno razvija. V povezavi z ARSO kot članom EUMETNET (ang. European Meteorological Services Network) smo vključeni v program AutoPollen, namenjen je izoblikovanju smernic za prehod z manualnega na hitro avtomatsko merjenje s skoraj takojšnjim prikazom podat-

»Avtomatska identifikacija in kvantifikacija cvetnega prahu temelji na algoritmih strojnega učenja, kjer je ključna uporaba lokalnega vira, zato bo v prihodnje velik izziv vzpostavitev in validacija nacionalne mreže avtomatskih postaj.«

višku sezone ob visoki obremenitvi zraka.

Razvojni in raziskovalni izzivi v aerobiologiji je še veliko, smo v prehodnem obdobju, ko se postopoma uveljavljajo nove metode merjenja bioaerosola. Hirstova volumetrična metoda ima pomanjkljivosti, ki jih bomo v prihodnje poskušali odpraviti, med drugim velik časovni zamik pri analizah, rezultati so dostopni z

kov. Program zajema celotno verigo od merjenja do sporočanja opazovanj in napovedi, sprejete bodo merilne zahteve in standard za izvajanje meritev. Avtomatska identifikacija in kvantifikacija cvetnega prahu temelji na algoritmih strojnega učenja, kjer je ključna uporaba lokalnega vira, zato bo v prihodnje velik izziv vzpostavitev in validacija nacionalne mreže avtomatskih postaj.



► Primerjava povprečnega letnega seštevka cvetnega prahu ambrozije po merilnih postajah v obdobju 2012–2019, podatki za Lendavo so dostopni za obdobje 2017–2019 in nakazujejo najvišje obremenitve.

Kljub temu bo treba na referenčnih postajah nadalje uporabljati Hirstovo metodo, s katero bo zagotovljeno podaljšanje obstoječega niza podatkov in prepoznava morebitnih novih vrst cvetnega prahu.

Identifikacija zrn cvetnega prahu do rodu ali družine je mogoča tako manualno kot avtomatsko, natančnejše informacije o vrstni specifičnosti zaradi razlik v alergeničnosti lahko pridobimo z molekularnimi metodami. Eden od izzivov je pridobiti informacije o vrstni sestavi pri tistih taksonih, ki jih po morfoloških lastnostih cvetnega prahu s sedanjo metodo dela ne moremo ločiti med seboj. Primer je kategorija „cipresovke in tisovke“, v katero uvrščamo zrna z različnim alergeni potencialom, od visokoalergenih zrn cipresovk do nizkoalergenih zrn tise. Za zdaj si pomagamo z znanjem o razširjenosti rastlin, vendar bi šele raziskava na molekularni ravni pripomogla k zanesljivejši interpretaciji izmerjenih vrednosti rutinskega monitoringa. Z željo po izmenjavi znanja na molekularni ravni sodelujemo v COST Action CA18226 (ang. New Approaches in Detection of Pathogens and Aeroallergens).

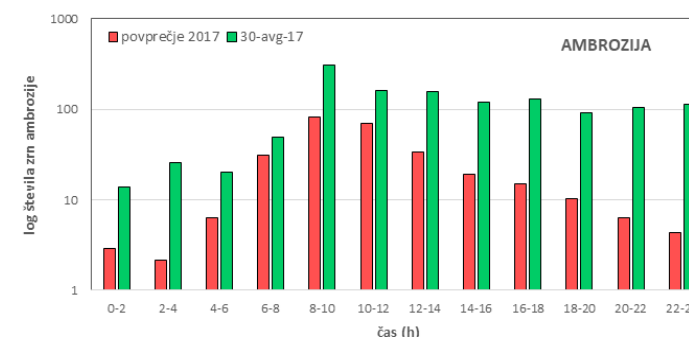
Pomen rednega monitoringa cvetnega prahu se je pokazal tudi ob pandemiji COVID-19. Mednarodna raziskovalna skupina pod vodstvom dr. Athanasiosa Damialisa je v raziskovanje pandemije vključila okoljske spremenljivke. Zbirka analiziranih

podatkov je vsebovala dnevne koncentracije cvetnega prahu s 130 merilnih postaj (vključena je tudi Slovenija), število okuženih s SARS-CoV-2, temperaturo in vlago, gostoto prebivalstva ter sprejete ukrepe za zamejitev epidemije. Za analizirano obdobje (od 1. 1. do 8. 4. 2020) so ugotovili signifikantno povezavo med povečano možnostjo okužbe s SARS-CoV-2 in visoko koncentracijo cvetnega prahu v zraku v sinergiji s temperaturo zraka in/ali relativno vlago.

Aerobiologija proučuje različne biološke komponente v zraku, zato je pri raziskovanju pogosto potreben multidisciplinaren pristop in le sodelovanje različnih strok lahko pripelje do izjemnih odkritij. Sledenje alergenom v zraku je prepoznavanje specifičnih in nespecifičnih zunanjih dejavnikov, ki jim je izpostavljen posameznik, poimenovanih tudi zunanji ekspozom. Boljše poznavanje vpliva zunanje izpostavljenosti na razvoj alergij je ključnega pomena za spodbujanje pacientov, zdravstvenih delavcev in oblikovalcev politik, da sprejmejo ukrepe za ublažitev vpliva okoljskih sprememb in se jim pravočasno prilagodijo.

VIR:

Damialis A, Gilles S, Sofiev M, Sofieva V, Kolek F, et al. Higher airborne pollen concentrations correlated with increased SARS-CoV-2 infection rates, as evidenced from 31 countries across the globe. PNAS. 2021 Mar;118(12),1-10.



◀ Povprečni dnevni hod cvetnega prahu ambrozije na postaji Lendava (2017) in primerjava s potekom dne 30. 8. 2017.

Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi

Luka Predojevič¹Raziskava uropatogeneze okužbe s človeškimi sevi bakterije *Escherichia coli* na biomimetičnem *in vitro* modelu prašičjega urotelijaMentorica: prof. dr. Marjanca Starčič Erjavec¹Somentorica: prof. dr. Mateja Erdani Kreft²Soavtorji: Darja Keše³, Peter Veranič², Taja Železnik Ramuta², Darja Žgur Bertok¹¹ Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana,² Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov Trg 2, 1000 Ljubljana,³ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

lukapredojevic@yahoo.com

Ključne besede: citokini, adhezija, invazivnost

Bakterija *Escherichia coli* (*E. coli*) je običajno prisotna kot sestavni del zdrave komezalne mikrobiote spodnjega dela prebavnega trakta živali s stalno telesno temperaturo, torej tudi človeka. A po drugi strani obstajajo tudi patogeni sevi *E. coli*, ki lahko povzročijo črevesne oziroma zunajčrevesne okužbe, kot je recimo okužba urinarne poti. Študije patogeneze okužb *E. coli* se pogosto opravijo na modelih oziroma modelnih organizmih. Za študije uropatogeneze so bili tako kot modelni organizmi že uporabljeni gliste (*Caenorhabditis elegans*), ličinke voščenega molja (*Galleria mellonella*), zarodki ribe cebrice (*Danio rerio*), ptiči, glodavci (miši) ter domači prašiči; vsi ti pa imajo ob dobrih lastnostih tudi pomanjkljivosti. Kot

alternativo številnim že obstoječim živalskim modelom *in vivo* za študije uropatogeneze okužb s sevi *E. coli* smo za ocenitev uropatogenosti človeških sevov bakterije *E. coli* v tej raziskavi uporabili biomimetični *in vitro* model prašičjega urotelija, saj je optimalna temperatura inkubacije celic modela ustrezna tudi za optimalno gojenje bakterij in so prašičje urotelijske celice evolucijsko, genetsko in funkcionalno blizu človeškemu urotelijskim. Biomimetični *in vitro* model prašičjega urotelija smo vzpostavili iz primarne kulture celic urotelija, izvirajočih iz sečnih mehurjev domačega prašiča (celice NPU), pridobljenih kot stranski produkt kategorije III v klavnicah. Tako je ta model tudi cenovno ugoden in etično nesporen.

Ustreznost biomimetičnega modela urotelija sečnega mehurja smo najprej preverili z uporabo dobro znanih in opisanih sevov *E. coli*: uropatogena seva J96 in 536 (kot pozitivni kontroli) ter človeški komezalni sev SE15 in laboratorijski sev MG1655 (negativni kontroli). Stopnjo uropatogenosti sevov smo določali z ugotavljanjem viabilnosti celic NPU po okužbi s posameznim sevom *E. coli*. Viabilnost celic NPU po okužbi smo ugotavljali s tripanskim modrilom in štetjem živih in mrtvih celic na hemocitometru. Ker so rezultati naših prvih poskusov nakazali, da model omogoča razlikovanje med kontrolnimi patogenimi in nepatogenimi sevi *E. coli*, je bil namen nadaljnjih poskusov preveriti uporabnost vzpostavljenega modela na širšem naboru človeških sevov *E. coli*. Iz zbirke sevov *E. coli* Skupine za molekularno genetiko Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete smo izbrali 20 različnih sevov: 10 uropatogenih sevov (UPEC), izoliranih iz urina bolnikov z okužbo sečil, ter 10 fekalnih sevov, izoliranih iz blata zdravih ljudi. Glede na pridobljene podatke o viabilnosti celic NPU po okužbi z naborom izbranih sevov,

smo seve iz nabora razdelili v tri skupine z različno stopnjo patogenosti: 1) skupino komezalnih (nepatogenih) sevov, 2) skupino nizkopatogenih sevov ter 3) skupino visokopatogenih sevov.

Morebitne patološke spremembe celic NPU, zaradi adhezije bakterij na celice NPU in invazije vanje, smo proučili z vrstično in presevnno elektronsko mikroskopijo. Analize posnetkov površine in znotrajcelične ultrastrukture so pokazale očitno razliko v zmognosti adhezije na celice modela in invazije vanje med patogenimi in nepatogenimi sevi *E. coli*. S kompletom Porcine ProcartaPlex™ smo v supernatantu pri okuženih celicah NPU izvedli analizo prisotnosti devetih citokinov (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IFN-α, IFN-γ in TNF-α), ki so jih izločale kot odgovor na okužbo s posameznim sevom *E. coli*. Iz razlik v količini posameznih citokinov in skupne kumulativne produkcije citokinov je bilo razvidno, da sevi *E. coli* različno vplivajo na celice NPU, zato te izločijo neenako količino citokinov. Glede na to smo seve iz nabora razdelili v tri skupine, upoštevajoč relativno spremembo v celokupni sintezi citokinov: 1) skupi-

▼ Mikrotitrne plošče s celično kulturo normalnih prašičjih urotelijskih celic, okuženih z različnimi sevi bakterije *Escherichia coli*. Avtor: Luka Predojevič.



na z majhno spremembo, 2) skupina s srednje veliko spremembo ter 3) skupina z veliko spremembo. Izvedli smo tudi analizo nekaterih lastnosti sevov *E. coli*, kot so prisotnost genov za virulentne dejavnike, pripadnost filogenetski skupini ter lastnosti LPS (O-serotip, tip oligosaharida sredice). Računalniška obdelava pridobljenih podatkov z uporabo statističnega orodja za iskanje korelacij med različnimi sklopi rezultatov poskusov je razkrila tudi povezave med skupinami sevov in omenjenimi lastnostmi. Sevi, ki so bili umeščeni v skupino visoke patogenosti, so korelirali s prisotnostjo genov za toksine (*cnf1*, *hlyA*, *clbAQ*), adhezine (*papGIII*, *sfaDE*) ter protektine (*tcpC*); skupina sevov, ki je povzročila veliko spremembo v celokupni sintezi ci-

tokinov pri celicah NPU, je korelirala s toksinom *cnf1*. Rezultati okužbe celic NPU z naravnimi sevi *E. coli* so potrdili učinkovitost modela za ocenitev patogenosti sevov in visoko zmožnost ločevanja med patogenimi in nepatogenimi sevi *E. coli*. Model temelji na genetski in fiziološki podobnosti med človeškim in prašičjim urotelijem in s tem predstavlja potencialno alternativo metodo preverjanja patogenosti sevov *E. coli* na različnih področjih od komercialnih preko znanstvenih do kliničnih. Relativna enostavnost izvedbe in nadzor razmer *in vitro* je še ena prednost pred veliko zahtevnejšimi poskusi *in vivo*, še posebej v luči etičnih vprašanj, ki zadevajo problematiko uporabe živali v eksperimentalne namene.

Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Rok Tomazin

Medsebojni vpliv mikrobiote človeka in aerobioma v kraških jamah, namenjenih turizmu in speleoterapiji

Mentorica: doc. dr. Tadeja Matos¹

Somentor: doc. dr. Janez Mulec²

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

²Inštitut za raziskovanje krasa, Znanstvenoraziskovalni center Slovenske akademije znanosti in umetnosti, Titov trg 2, 6230 Postojna

rok.tomazin@mf.uni-lj.si

Ključne besede: kraške jame, mikrobiologija zraka, bolnišnična higiena

Ljudje že od nekdaj uporabljamo jame v najrazličnejše namene, v zadnjem času posebej v turistične in zdravstvene. Pri slednjih govorimo o speleoterapiji, to je izkoriščanje lastnosti naravne jamske mikroklimе za zdravljenje oziroma lajšanje kroničnih pljučnih obolenj. Speleoterapiji pripisujejo pozitivne

obstruktivna pljučna bolezen. Obe omenjeni skupini bolnikov sta do-
vzetnejši za nekatere okužbe dihal. V turističnih jamah so obiskovalci eden od pomembnih dejavnikov spreminjanja naravne mikrobiote, zato predvidevamo, da se v jamah, namenjenih speleoterapiji, dogaja podobno, vendar še ni znano, v ko-

»Speleoterapiji pripisujejo pozitivne učinke predvsem pri bolnikih z nekaterimi kroničnimi boleznimi dihal, kot sta bronhialna astma in kronična obstruktivna pljučna bolezen. Obe omenjeni skupini bolnikov sta dovzetnejši za nekatere okužbe dihal.«

učinke predvsem pri bolnikih z nekaterimi kroničnimi boleznimi dihal, kot sta bronhialna astma in kronična

likšnem obsegu. Predpostavljamo, da je v speleoterapevtski jami sestava aerobioma pred izvajanjem

gibalnih in dihalnih terapij pacientov signifikantno drugačna kot med terapijo ter da bomo v takšni jami dokazali prisotnost oportunistično patogenih mikroorganizmov, katerih koncentracija lahko med terapijo presega priporočene vrednosti in s tem poveča tveganje za okužbe, preobčutljivostne reakcije ali klinično poslabšanje osnovne bolezni. Sklepamo, da se podobno dogaja ob množičnih obiskih turističnih jam, ko ob največji obremenjenosti prihaja do lokalno povišane koncentracije (oportunistično patogenih) mikroorganizmov. Ti že lahko pomenijo tveganje za okužbe nekaterih skupin bolnikov. Glavna vira z ljudmi povezanih in jami tujerodnih mikroorganizmov sta mikrobioma kože in dihal, ki sta v neposrednem stiku z okolico. Ta vir mikroorganizmov lahko postane del stalne ali prehodne jamske mikrobiote. Sem spadajo tudi oportunistično patogene bakterije in glive, ki zlasti v umetnih jamah z omejeno naravno zračno cirkulacijo lahko dosežejo koncentracije, ki za

določene skupine, npr. pljučne bolnike, pomenijo tveganje za zdravje. Ker gre pri speleoterapiji za lajšanje težav pljučnih bolnikov, je ključna kakovost zraka v terapevtski jami, še zlasti mikrobiološka kakovost. Ker pa je tovrstnih študij, ki spremljajo mikrobiološke razmere v terapevtskih jamah, malo, je proučevanje stanja v turističnih jamah dobro izhodišče za razumevanje dogajanja v naravnih terapevtskih jamah, upoštevanje prisotnosti in številnosti ljudi ter vpliv sezonskih podnebnih dejavnikov na naravni aerobio. V raziskavo smo vključili dve naravni kraški jami, namenjeni množičnemu turizmu – Postojnska jama in Škocjanske jame –, ter umetno jamo, namenjeno speleoterapiji – terapevtska jama Bolnišnice za zdravljenje in rehabilitacijo kroničnih pljučnih bolnikov v Sežani. V doktorski disertaciji smo že izvedli več vzorčenj za ugotavljanje morebitnega vpliva sezonskosti (naravno podnebje) ter števila obiskovalcev. Za spremljanje strukture in dinamike mikrobne populacije v jamah

▼ Speleoterapevtska jama Bolnišnice Sežana. Vzorčevalnik Coriolis (Bertin Technologies, Francija) in posodice s povzročnim zrakom. Avtor: Rok Tomazin.



vzorčenje izvajamo na več mestih ter istočasno tudi terenske meritve podnebnih parametrov (temperatura, relativna zračna vlaga, pretok

okoljskih bakterijskih izolatov. Primerjava dobljenih rezultatov s priporočenimi mejnimi vrednostmi bo pripomogla k razumevanju vpliva

»Primerjava dobljenih rezultatov identifikacije izolatov s priporočenimi mejnimi vrednostmi bo pripomogla k razumevanju vpliva jamskega okolja na paciente oziroma turiste ter k oblikovanju smernic za potrebe mikrobiološkega monitoringa zraka v okviru preprečevanja z zdravljenjem povezanih okužb in ocene sprejemne zmogljivosti turističnih jam.«

zraka, koncentracija CO₂, radiacija, celokupni aerosolizirani delci po frakcijah) ter v laboratoriju različne mikrobiološke analize. Vzorčenja potekajo v različnih letnih časih ter vedno pred in po/med obiskom ljudi. Temelj doktorske naloge je kvantitativno vzorčenje zraka ter identifikacija bakterij in gliv, osamljenih iz vzorcev zraka. Prvega smo se lotili z impaktorskim vzorčevalnikom (Duo SAS (International PBI, (Italija))) in impingerskim vzorčevalnikom (Coriolis μ (Bertin, poletna Francija)) z zajemom od 0,2 m³ do 5,0 m³ zraka, drugega pa z masno spektrometrijo MALDI-TOF (angl. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight) (Bruker Daltonik, Nemčija), ki temelji na primerjavi masnih spektrov proteoma v razponu 2–20 kDa (s sistemom OmniLog ID; Biolog, ZDA) ter prepoznavanju vrstno specifičnih fizioloških profilov izolatov. Z doktorsko nalogo želimo med drugim primerjati uspešnost in zanesljivost identifikacij izolatov z MALDI-TOF MS in sistemom OmniLog ID, ki se je po podatkih iz literature izkazal za uspešnega pri identifikaciji

jamskega okolja na paciente oziroma turiste ter k oblikovanju smernic za potrebe mikrobiološkega monitoringa zraka v okviru preprečevanja z zdravstvom povezanih okužb in ocene sprejemne zmogljivosti turističnih jam. Pri večini zadnjih raziskav o mikrobni združbi jam uporabljajo metagenomske pristope, kar bomo storili tudi mi – identifikacija bakterij in gliv neposredno iz vzorcev zraka s sekvenciranjem nove generacije 16S rDNA za bakterije in ITS za prave glive (Illumina, ZDA). Metagenomika zaenkrat zaradi svoje kompleksnosti še ni primeren pristop za izvajanje rutinskega monitoringa zraka v speleoterapevtskih in drugih jamah, zato želimo razviti/testirati postopek, temelječ na kultivaciji mikroorganizmov, ki bo uporabniku prijazen in nezahteven, časovno nepotraten ter bo na podlagi indikatorskih mikroorganizmov omogočil hiter vpogled v stanje aerobioma; taka ocena tveganja za okužbe bi lahko bila podlaga za morebitno ukrepanje (npr. časovna omejitev števila obiskovalcev/pacientov).

Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Martina Podgoršek¹

Genetska stabilnost izbranega seva kvasovke za proizvodnjo ajdovega in prosenega piva v zaporednih fermentacijah

Mentorica: doc. dr. Neža Čadež²

¹ Pivovarna Laško Union, Pivovarniška ulica 2, 1000 Ljubljana

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

martina.podgorsek@gmail.com

Ključne besede: kvasovke, pivo, genetska stabilnost

Stabilnost seva pri proizvodnji piva je izrednega pomena, saj se s tem zagotavlja enaka kakovost končnega proizvoda in varnost potrošnikov. Pivovarji zato uporabljajo komercialne kvasovke, tudi več fermentacij zapored, kar pa

njegovo genetsko stabilnost med 30 zaporednimi enotedenskimi fermentacijami ječmenove, ajdove in prosene pivine. Vseskozi smo preverjali živost in posedanje celic (t. i. flokulacijo), analizirali smo tudi sposobnost seva, da izrabi sladkor

»Stabilnost seva pri proizvodnji piva je izrednega pomena, saj se s tem zagotavlja enaka kakovost končnega proizvoda in varnost potrošnikov.«

lahko privede do kopičenja genskih sprememb v celicah. Prav prilaganje neznanih naravnih izolatov novim, neklasičnim substratom pa bi lahko izkoristili za kasnejšo uporabo v pivovarstvu.

Pri delu smo uporabili sev *Saccharomyces cerevisiae* (ZIM 3704), izoliran iz jabolčnega vina na Koroškem, ki se je v predhodnih raziskavah izkazal za najbolj obetavnega za nadaljnjo uporabo v industriji. Analizirali smo

je v različnih pivinah, in produkcijo primarnih metabolitov. Ob koncu 30-tedenskega eksperimenta smo se odločili, da preverimo genetsko stabilnost s tremi različnimi metodami. Ugotovili smo, da je živost celic sicer odvisna od izbrane pivine, a je še vedno zadovoljiva za nadaljnjo industrijsko uporabo, izbrani sev je najbolje flokuliral v ječmenovi in najslabše v proseni pivini. Dokazali smo, da je sposobnost izrabe

maltoze pri 30. zaporedni uporabi večja kot ob začetni fermentaciji, opazili pa smo tudi, da sta bili koncentraciji glicerola in etanola povezani obratnosorazmerno, saj se je ob povišanju koncentracije glicerola koncentracija etanola znižala. Tako uporaba mikrosatelitnih zaporedij DNA kot tudi metoda pulzne gelske elektroforeze nista pokazali genetskih sprememb, a smo jih zaznali s tehnologijo sekvenciranja naslednje generacije, s katerim smo dokazali prisotnost dodatnih retrotranspo-

jemo z analizo mikrosatelitov ali pregledom celotnega genoma [2]. Celoten postopek predpriprave substrata in optimizacija procesa sta se sčasoma prilagodila čim boljši izrabi ječmenovega slada. Šele v zadnjem desetletju so se raziskovalci skupaj z industrijo bolj osredotočili na alternativne vire, ki bi jih lahko uporabili v pivovarstvu. Tovrstna substrata sta med drugimi tudi ajda in proso, z optimizacijo predpripravljalnih procesov so študije že nakazale na njuno potencialno uporabnost za prip-

»Pivovarska industrija si kljub izpopolnjenosti postopka nenehno prizadeva izboljševati proces proizvodnje oz. uporabe novih substratov za varjenje piva. Pivovarji že dolgo ponovno uporabljajo oz. reinokulirajo biomaso, a se morajo pri tem zavedati, da je od tega odvisna učinkovitost fermentacije in senzorična lastnost piva.«

zonov in nekodirajočih regij med eksoni.

Pivovarska industrija si kljub izpopolnjenosti postopka nenehno prizadeva izboljševati proces proizvodnje oz. uporabe novih substratov za varjenje piva. Pivovarji že dolgo ponovno uporabljajo oz. reinokulirajo biomaso, a se morajo pri tem zavedati, da je od tega odvisna učinkovitost fermentacije in senzorična lastnost piva. Isto biomaso tako zaporedoma uporabijo pri od osmih do petnajstih fermentacijah, odvisno od stabilnosti kulture [1]. Vsakokratna uporaba povzroča kulturi stres, kar se odraža v mutacijah genov, ki so pomembni za normalen razvoj ter delovanje celice med fermentacijo. Mutacije lahko privedejo do boljše izrabe sladkorjev v pivini in jih lahko odkri-

ravo piva oz. pivu podobnih pijač [3]. Ključni proizvodni organizem so enocelični evkarionti – kvasovke. Med vsemi je najbolj poznana in proučena pekovska kvasovka *Saccharomyces cerevisiae*. Sposobnost izvajanja učinkovite alkoholne fermentacije in preživetje ob višjih koncentracijah alkohola daje vrsti precejšnjo prednost, zato se že stoletja uporablja pri pridobivanju piva [4]. Učinkovita fermentacija ni odvisna le od temperature in začetne koncentracije kulture, temveč predvsem od seva. Raziskave zadnjih let pa se osredotočajo tudi na iskanje novih gensko raznovrstnih starter-skih kultur in njihovo sposobnost fermentacije v primerjavi s konvencionalni sevi [5].

V praktičnem delu smo uporabili

sev *Saccharomyces cerevisiae* ZIM 3704, ki je v predhodnih raziskavah dobro izrabljajal sladkorje, solidno pa je tvoril tudi etanol, in je deponiran

la en teden pri temperaturi 14 °C, izmeničnem mešanju in nadtlaku; ob koncu posamezne fermentacije smo del kulture prenesli v svežo

»Naravni izolat ZIM 3704 se je uspešno prilagodil novim virom sladkorjev, opazili smo sicer nihanja v populaciji, a nam to le odpira možnosti za nadaljnje raziskovanje obnašanja populacije na genetski ravni.«

v Zbirki industrijskih mikroorganizmov Biotehniške fakultete. Uporabili smo ajdovo in proseno pivino, ki so jo za nas pripravili na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, ječmenovo pivino smo pripravili sami iz definiranega sirupa in je služila kot kontrola celotnemu procesu.

Postavili smo mikrofermentacijski sistem, ki je po zgradbi in tudi parametrih posnemal sisteme v industriji. Za vsako pivino smo uporabili tri fermentorje, kar je pomenilo tudi tri paralelke posamezne pivine. Posamezna fermentacija je traja-

pivino, preostali del pa uporabili za analizo DNA, flokulacije in živosti. Nastalo »pivo« smo analizirali s HPLC ter tako dobili vpogled v porabo sladkorjev in nastanek primarnih metabolitov.

Uspešno smo izvedli 30 enotedenskih fermentacij, z zagotovostjo lahko trdimo, da se je sev ZIM 3704 prilagodil danim substratom, sicer ne bi preživel stresa, ki mu je bil v teh 30 tednih izpostavljen. Rezultati spreminjanja stopnje živosti med zaporednimi fermentacijami bi lahko nakazovali na morebitne negativne spremembe v genomu,

saj bi se preživelost s tem zniževala. Živost celic je skozi poizkus pri posamezni pivini sicer rahlo nihala, a ni padla pod 95 %, kolikor je meja za industrijske potrebe. Sev je uspešno izrabljajal dane sladkorje, glukoza je bila v vseh primerih popolnoma porabljena. Delež porabljene maltoze in maltotrioze je z zaporedno uporabo sprva naraščal, nato pa je v 14. tednu ter kasneje še v 22. tednu fermentacije poraba upadla. To lahko nakazuje na morebitno spremembo v dinamiki populacije in na teorijo o prevladi dela populacije nad preostalimi, ki so jo predlagali že Avrahami-Moyer in sod. (2012) [6]. Ob primerjavi prve in zadnje fermentacije je poraba sladkorjev na koncu večja, zato lahko kljub nihanjem trdimo, da se je sev prilagodil, saj se delež izrabe povečuje. Analiza genetske stabilnosti je nakazala, da v izbranih mikrosatelitih in kromosomih ni prišlo do večjih sprememb, tako naši rezultati sledijo predhodno objavljenim raziskavam [7, 8, 9, 10]. S platformo Illumina smo vseeno zaznali (grafika; genetske spremembe v kromosomu VII) integracije številnih dolgih ponavljajočih se zaporedij retrotranspozonov ter krajših nekodirajočih regij med eksoni. Iz tega lahko sklepamo, da so te genetske spremembe povzročile adaptacijo na novi tip substrata – različne tipe pivin.

Zahvala

Magistrsko delo je nastalo pod mentorstvo doc. dr. Neže Čadež s Katedre za mikrobiologijo, biotehnologijo in varnost živil na Biotehniški fakulteti, ki se ji najlepše zahvaljujem za prilagoditev dela v njenem laboratoriju že kot študentka 2. letnika dodiplomskega študija Mikrobiologije; tu sem lahko še nadaljnjih 6 let krepila

laboratorijske veščine in pridobivala nova znanja.

Viri:

1. Smart KA, Whicker S. 1996 Effect of serial repitching on the fermentation properties and condition of brewing yeast. *ASBC* 54(1): 41-44
2. Jančič N. 2016. Določitev genetskih sprememb ob zaporedni uporabi kvasovke *Saccharomyces pastorianus* pri proizvodnji piva. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije: 77 str.
3. Deželak M, Zamkow M, Becker T, Košir IJ. 2014. Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization. *J. Inst. Brew* 120(4): 360-370
4. Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. 2011. *The Yeasts, a Taxonomic Study*. 5th ed. Volume 2. London, Elsevier: 1335, 733
5. Alonso-del-Real J, Larion-Peris M, Barrio E, Querol A. 2017. Effect of temperature on the prevalence of non-*Saccharomyces cerevisiae* species against a *S. cerevisiae* wine strain in strain fermentation: competition, physiological fitness and influence in final wine composition. *Front Microbiology*, 8: 1-15
6. Avrahami-Moyer L, Engelberg D, Wenger JW, Sherlock G, Braun S. 2012. Turbidostat culture of *Saccharomyces cerevisiae* W303-1A under selective pressure elicited by ethanol selects for mutations in *SSD1* and *UTH1*. *FEMS Research*, 12: 521-533
7. Powell CD, Diacotis AN. 2007. Long term serial repitching and the genetic and phenotypic stability of brewer's yeast. *J. Inst. Brew* 113, 1: 67-74
8. Bühlig F, Rüdinger P, Fetzner I, Stal F, Scheper T, Harms H, Müller S. 2013. Sustainability of industrial yeast serial repitching practice studied by gene expression and correlation analysis. *J. Biotechnol*. 168: 718-728
9. Van den Broek M, Bolat I, Nijkamp JF, Ramos E, Luttik MAH, et al. 2015. Chromosomal copy number variation in *Saccharomyces pastorianus* is evidence for extensive genome dynamics in industrial lager brewing strains. *Appl Environ Microbiol* 81 (18): 6253-6267
10. Gorter de Vries AR, Voskamp MA, van Aalst ACA, Kristensen LH, Jansen L, et al. 2019. Laboratory evolution of a *Saccharomyces cerevisiae* x *S. eubayanus* hybrid under simulated lager-brewing conditions. *Frontiers in Genetics* 10:242.

▼ Genetske spremembe v kromosomu VII.



▼ Martina Podgoršek je za svojo magistrsko nalogo prejela priznanje za najboljši mikrobiološki magistrski let 2020.

Upravni odbor Slovenskega mikrobiološkega društva je izmed 22 magistrstev iz področja mikrobiologije za leto 2020 izbral najboljšo magistrsko delo.



Priznanje

Slovenskega mikrobiološkega društva za najboljši mikrobiološki magistrski let 2020

prejme
Martina Podgoršek

za svojo magistrsko delo z naslovom
"Genetska stabilnost izbranega seva kvasovke za proizvodnjo ajdnega in prosenega piva v zaporednih fermentacijah", ki ga je opravila na študijskem programu 2. stopnje Biotehnologija na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani pod mentorstvom doc. dr. Neže Čadež.



V Ljubljani, 2. junija 2021
Prof. dr. Marjanka Starčič Rjavec

predsednica Slovenskega mikrobiološkega društva

Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Arijana Filipić

Inaktivacija virusov v vodi s hladno atmosfersko plazmo

Mentorica: izr. prof. dr. Jana Žel
Somentor: doc. dr. David Dobnik

Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana, Slovenija
arijana.filipic@nib.si

Ključne besede: Inaktivacija virusov, hladna atmosferska plazma, čiščenje vode

Pomanjkanje čiste vode je izjemno pomemben svetovni problem, h kateremu pripomore tudi vse večje število onesnaževalcev, ki se prenašajo z vodo. Med njimi so še posebej nevarni virusi, ki so zelo obstojni v okolju, gostitelja lahko okužijo že v nizkih koncentracijah, tudi z različnimi metodami čiščenja voda pa jih le težka odstranimo. Humani virusi, ki se prenašajo z vodo, vsako leto okužijo milijone posameznikov in tako

rusov ključnega pomena. Vse uveljavljene metode za čiščenje vode imajo kako pomanjkljivost, zato smo kot alternativno metodo za inaktivacijo virusov v vodi preizkusili hladno atmosfersko plazmo (HAP). HAP je nova, okolju prijazna metoda, ki se zaradi dobrih protimikrobnih lastnosti, kot so reaktivne vrste in UV-sevanje, na splošno uporablja za dekontaminacijo. Vpliv HAP na inaktivacijo virusov v vzorcih vode smo proučevali pri

»Vse uveljavljene metode za čiščenje vode imajo kako pomanjkljivost, zato smo kot alternativno metodo za inaktivacijo virusov v vodi preizkusili hladno atmosfersko plazmo (HAP).«

predstavljajo veliko zdravstveno tveganje, medtem ko rastlinski virusi povzročajo velike izgube pridelka, kar lahko privede do pomanjkanja hrane in visokih finančnih izgub. Zato je uspešna inaktivacija teh vi-

dveh pomembnih rastlinskih virusih, virusu Y krompirja (PVY, angl. potato virus Y) in virusu blage lisavosti paprike (PMMoV, angl. pepper mild mottle virus), ter pri bakteriofagu MS2. PMMoV in MS2 sta zelo sta-

bilna in odporna virusa, ki se lahko uporabljata kot nadomestka enteričnih virusov za ugotavljanje učinkovitosti metod za dekontaminacijo vode. Ob ugotavljanju inaktivacijskega potenciala HAP smo proučili tudi mehanizme inaktivacije. Preiskali smo lastnosti HAP, ki so ključne za

odpadnih vodah. Pokazali smo tudi, da lahko HAP, preko oksidacije z reaktivnimi kisikovimi zvrstmi, vpliva na virusne proteine in nukleinske kisline. Pri izbranih eksperimentalnih razmerah nismo zaznali nastanka toksičnih produktov. HAP ima odlične protivirusne last-

»HAP ima odlične protivirusne lastnosti, ki lahko uspešno inaktivirajo tudi najbolj problematične viruse brez vnosa toksičnih snovi v vodo.«

inaktivacijo virusov, in njihov vpliv na različne strukturne komponente virusov. Za ovrednotenje uspešnosti inaktivacije virusov in mehanizmov delovanja smo uporabili številne laboratorijske metode, od klasičnih testov infektivnosti in preseвне elektronske mikroskopije do najmodernejših molekularnih metod. HAP vsebuje veliko reaktivnih vrst, zato smo se odločili ugotoviti tudi potencialne citotoksične ali genotoksične lastnosti vode, obdelane s HAP. Že v nekaj minutah smo s HAP uspešno inaktivirali vse tri različne viruse, kljub njihovi stabilnosti in začetnim koncentracijam, ki so bile višje od virusnih koncentracij, običajno izmerjenih v okoljskih ali celo

nosti, ki lahko uspešno inaktivirajo tudi najbolj problematične viruse brez vnosa toksičnih snovi v vodo. Na podlagi tega lahko zaključimo, da je HAP odlično alternativno orodje za dekontaminacijo vode, ki bi lahko pomagalo zmanjšati število okužb pri ljudeh in rastlinah ter posledično izboljšati kakovost življenja.

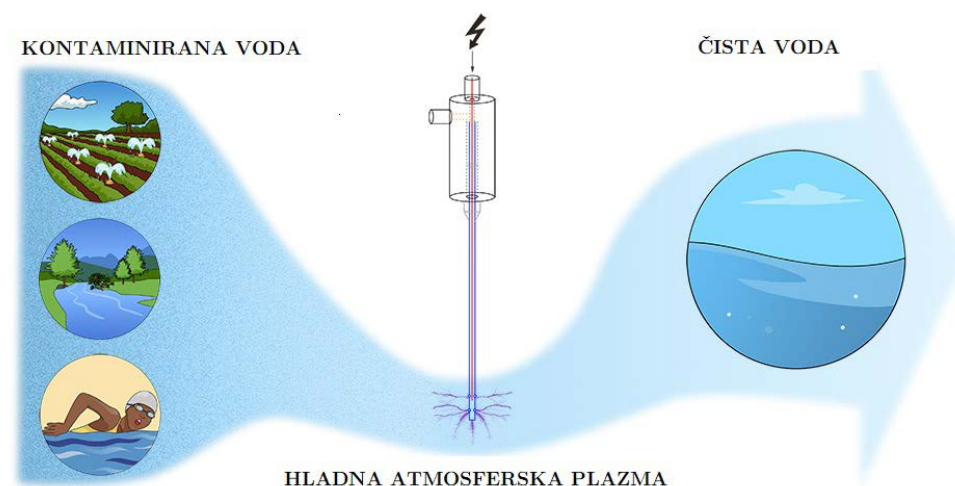
Viri:

Filipić, A., Dobnik, D., Tušek Žnidarič, M., Žegura, B., Štern, A., Primc, G., et al. Inactivation of Pepper Mild Mottle Virus in Water by Cold Atmospheric Plasma. *Front. Microbiol.* 2021;12:1–12

Filipić, A., Gutierrez-Aguirre, I., Primc, G., Mozetič, M., and Dobnik, D. Cold Plasma, a New Hope in the Field of Virus Inactivation. *Trends Biotechnol.* 2020;38:1278–1291

Filipić, A., Primc, G., Zaplotnik, R., Mehle, N., Gutierrez-Aguirre, I., Ravnkar, M., et al. Cold Atmospheric Plasma as a Novel Method for Inactivation of Potato Virus Y in Water Samples. *Food Environ. Virol.* 2020;11:220–228

▼ Čiščenje z virusi okužene vode s hladno atmosfersko plazmo (HAP). Po obdelavi katerekoli vode (okoljske, rekreacijske, vode za namakanje ipd.) s HAP se uspešno inaktivirajo tudi obstojni virusi in s tem voda postane primerna za uporabo. Pripravil: doc. dr. David Dobnik.



Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Laura Šimenc

Proučevanje virusnih okužb pri čebelah z novimi metodami

Mentor: prof. dr. Ivan Toplak

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

laura.simenc@vf.uni-lj.si

Ključne besede: čebelji virusi, gojenje čebeljih ličink *in vitro*, molekularne metode, NGS, qPCR

Kot mlada raziskovalka na enoti za virologijo pri veterinarski fakulteti sem se usmerila predvsem v proučevanje virusnih okužb čebel, saj je ta tema zelo aktualna, glede na vedno večje zavedanje pomena čebel in resnih posledic njihovih izgub. Virusi pa v tem pogledu še niso bili podrobno proučeni in še marsikje najdemo manjše in večje

V preteklosti so bili čebelji virusi proučevani predvsem s klasično metodo PCR s prikazom rezultatov na elektroforeznem gelu, sedaj pa smo uvedli metodo real-time PCR s sondo TaqMan in standardi za kvantifikacijo za 6 različnih čebeljih virusov, s katero lahko dokaj natančno ugotovimo število kopij virusa v določenem vzorcu RNA in izračuna-

»Po svetu je bilo do sedaj odkritih približno 30 različnih čebeljih virusov, v Sloveniji pa 8. To so virus akutne paralize čebel (ABPV), virus črnih matičnikov (BQCV), virus kronične paralize čebel (CBPV), virus deformiranih kril (DWV), virus Lake Sinai (LSV), virus meščkaste zalege (SBV), kašmirski virus (KBV) in virus varoje (VDV).«

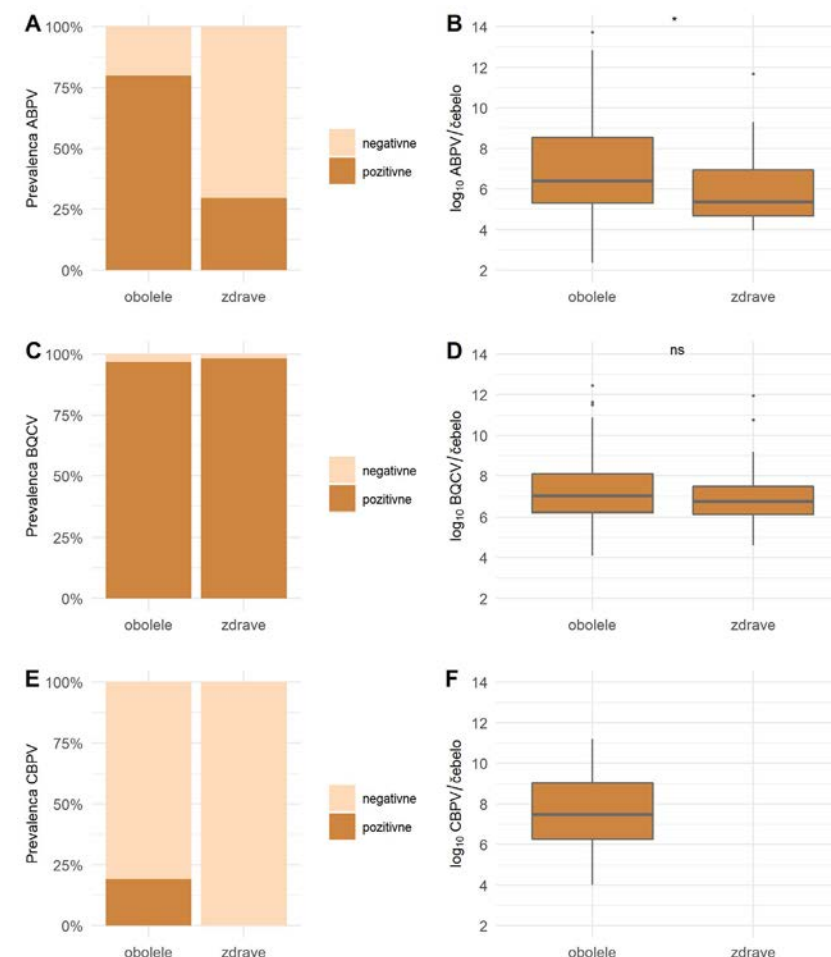
praznine v znanju in razumevanju vpliva virusnih okužb na čebele.

mo povprečno število kopij virusa na čebelo po standardih Evropskega

referenčnega laboratorija za čebelje bolezni. Razvili in ovrednotili smo tudi dve novi različici teh metod, za virusa meščkaste zalege in virus Lake Sinai, ki do sedaj še nista bili vzpostavljeni. Poleg tega določene odseke genomov sekvenciramo po Sangerju za filogenetske analize ter s sekvenciranjem druge generacije odkrivamo nove viruse ter zajemamo njihove celotne genome. Poleg tega proučujemo prenose čebeljih virusov: na viruse smo testirali tudi veliko čmrljev in čmrljih matic, v načrtu imamo še testiranje metuljev. V našem laboratoriju izvajamo tudi poskuse na čebeljih ličinkah, gojenih v inkubatorju.

Začetnik raziskovanja čebeljih virusov je bil Britanec Bailey, ki se je že od leta 1963 ukvarjal s klasičnimi virološkimi metodami diagnostike čebeljih virusov. Po svetu je bilo do sedaj odkritih približno 30 različnih čebeljih virusov, v Sloveniji pa 8. To so virus akutne paralize čebel (ABPV), virus črnih matičnikov (BQCV), virus kronične paralize čebel (CBPV), virus deformiranih kril (DWV), virus Lake Sinai (LSV), virus meščkaste zalege (SBV), kašmirski virus (KBV) in virus varoje (VDV). Čebelji virusi so majhni virusi z enovijačno pozitivno polarno RNA (ssRNA), ki spadajo v družini Dicistroviridae in Iflaviridae. Klinična slika virusnega obolenja

▼ Prevalenca (A, C, E) in število kopij virusov (B, F, D) ABPV, BQCV in CBPV pri klinično zdravih (healthy) in klinično bolnih (affected) čebeljih družinah.



čebel se kaže s paralizo, deformiranimi krili, skrajšano življenjsko dobo in odmiranjem zalege ali propadom celotne čebelje družine. Po večini pa so virusne okužbe pri čebelah nezaznavne ali blage, pri nekaterih virusih pa njihova patogeneza še ni raziskana. Pojavnost kliničnih znakov virusnih okužb pri čebelah je tesno povezano z infestacijo čebeljih družin z varjo, ki viruse vbrizgajo neposredno v hemolimfo čebel.

Moje raziskovalno delo v zvezi s čebeljimi virusi je razdeljeno na tri večje sklope: kvantifikacijo čebeljih virusov z metodami RT-qPCR, določanje celotnih genomov čebeljih virusov z NGS in poskuse na čebeljih ličinkah, gojenih v razmerah *in vitro*. Kot vzorce jemljemo 10 živih čebel, ki jih takoj zamrznemo pod -70°C . To so lahko vzorci klinično zdravih ali bolnih čebel, kakor tudi čebelje ličinke, matice, čmrlji, panjski drobir ali metulji. Vzorce homogeniziramo, iz njih izoliramo celokupno nukleinsko kislino in izvedemo reakcijo PCR v realnem času s sondo

TaqMan na 6 različnih čebeljih virusih skupaj s standardi, s čimer lahko dosti natančno ugotovimo število kopij posameznega virusa v vzorcu. NGS izvajamo z naključnim sekvenciranjem celokupne DNA in RNA (analiza viroma) iz močno pozitivnih vzorcev, predhodno ugotovljenih z metodo RT-qPCR. Zaporedje nukleotidov genoma razberejo v enem od komercialnih centrov za sekvenciranje z uveljavljeno tehnologijo Illumina (sekvenciranje z obeh koncev, ang. paired-end sequencing). Pridobljene odčitke analiziramo glede na njihovo kakovost in z računalniškim programom Geneious odstranimo odčitke ali dele teh s slabo kakovostjo. Z algoritmoma BLASTN in BLASTX nukleotidna zaporedja odčerkov ali sosesk primerjamo z zaporedji v genski banki. Za metagenomske analize s programom MEGAN soseske ali odčitke taksonomsko uvrstimo. Celotne genome ali dele genomov posameznih virusov pošiljamo v gensko banko. Z NGS smo v našem laboratoriju iz vzorca propadle če-

▼ Kos čebeljega satja, iz katerega se vzame vzorce čebeljih ličink za preiskavo na čebelje viruse. Avtor slike: portal Siol.net.



belje družine ugotovili zaporedje celotnega genoma CBPV (Jamnikar-Ciglencečki in sod., 2017) in virusa Lake Sinai (GenBank M92/2010, MG918125).

Poskuse izvajamo na čebeljih ličinkah, gojenih v razmerah *in vitro* ter starih okoli 24 ur. Iz satja jih prenesemo na mikroplošče za gojenje celičnih kultur in postavimo v inkubator s $34,5^{\circ}\text{C}$ in 96-% relativno vlago. Hranimo jih s starosti primerno količino hrane, ki je sestavljena iz matičnega mlečka, raztopine sladkorjev in kvasnega izvlečka. Te ličinke gojimo 6–7 dni, do prehoda v fazo bube, ali pa jih po iztrebljanju po posebnih metodah prestavimo na nove mikroplošče, ki jih postavimo pokončno, kjer se ličinke ob spremenjeni vlažnosti zabubijo. Pri tem smo jih okuževali *per os* s terenskim sevom SBV in LSV z zelo visokim številom kopij virusa ($\text{Cq} = 10$) in spremljali smrtnost čebeljih ličink

in množitev virusa.

Z našimi raziskavami želimo prispevati k znanosti z razvojem dveh novih različic metod RT-qPCR za kvantifikacijo virusov SBV in LSV s sondo TaqMan in povezati število kopij posameznega virusa s klinično sliko obolenja pri čebelah. Želimo predstaviti nove filogenetske analize in ter z metodo NGS odkriti nove čebelje viruse, ki do sedaj še niso bili ugotovljeni, in zajeti njihove celotne genome. Ugotoviti želimo poti prenosa čebeljih virusov med različnimi kategorijami čebel, divjimi opraševalci, metulji, cvetlicami. Gojenje čebeljih ličink v razmerah *in vitro* smo prvič uporabili za ugotavljanje patogeneze čebeljih virusov, vzpostavljen sistem gojenja ličink je uporaben tudi za študije vpliva varoj, nosem, bakterij, akaricidov in pesticidov. Proučevanje patogeneze terenskih sevov SBV in LSV je prva tovrstna raziskava pri nas.

Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Taja Železnik Ramuta¹

Širokospektralno protimikrobno delovanje homogenata humane amnijske membrane na uropatogene bakterije

Mentorica: prof. dr. Mateja Erdani Kreft¹,
Somentorica: prof. dr. Marjanca Starčič Erjavec²

¹Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

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

taja.zeleznik@mef.uni-lj.si

Ključne besede: humana amnijska membrana, protimikrobni učinek, širokospektralno delovanje, uropatogene bakterije, večkratno odporne bakterije

Okužbe urinarnega trakta spadajo med najpogostejše bakterijske okužbe. Gre za pogosto ponavljajoče se okužbe, katerih povzročitelji so vse pogostejše odporni proti antibiotikom. Humana amnijska membrana (hAM) je no-

za uporabo v klinične namene. V literaturi lahko zasledimo tudi nekaj poročil o njenem protimikrobnem delovanju, vendar so rezultati teh študij pogosto protislovni in nejasni. Namen študije je bil tako ovrednotiti protimikrobni učinek homogenata

»Namen študije je bil ovrednotiti protimikrobni učinek homogenata humane amnijske membrane (hAM) na izbrane seve uropatogenih bakterijskih vrst ter ugotoviti, kako način priprave in shranjevanja vpliva na njegovo protimikrobno učinkovitost.«

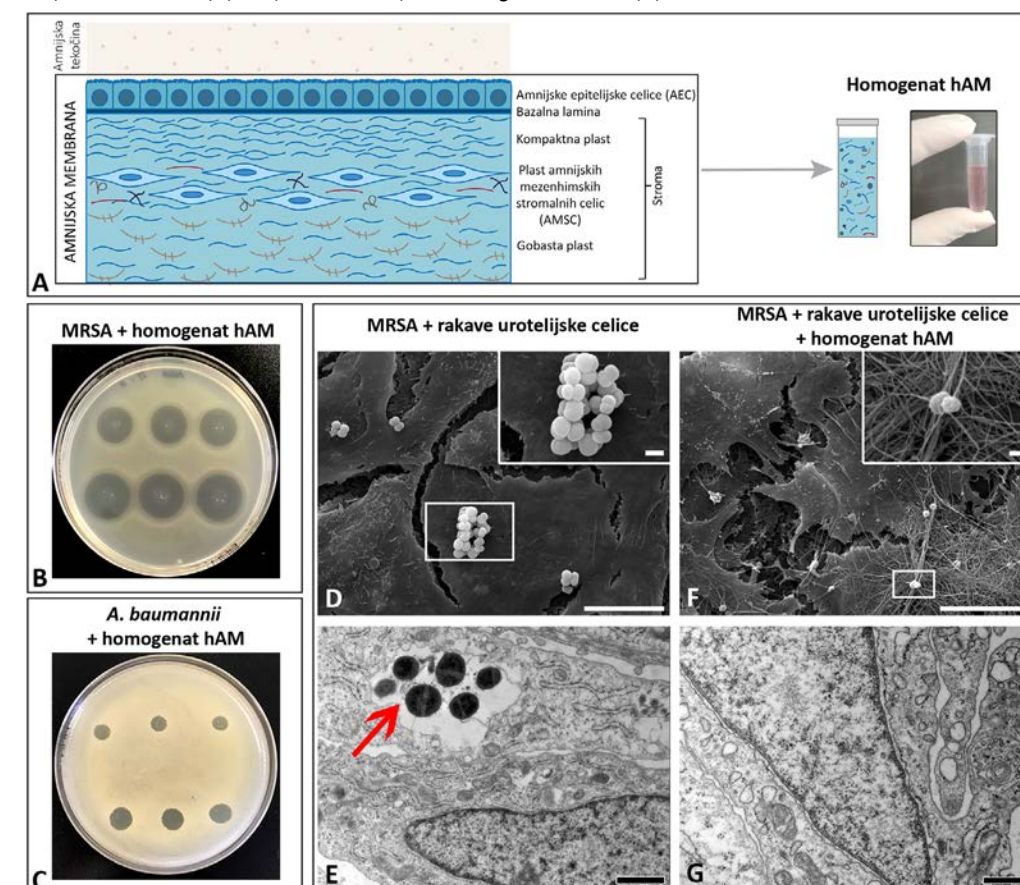
tranja plodova ovojnica, ki je zaradi svojih lastnosti, kot so spodbujanje epitelizacije, zaviranje brazgotinjenja in nizka imunogenost, primerna

hAM na izbrane seve uropatogenih bakterijskih vrst ter ugotoviti, kako način priprave in shranjevanja vpliva na njegovo protimikrobno učinkovi-

tost. Ovrednotili smo protimikrobno učinkovitost a) homogenata sveže hAM (svAM), b) homogenata krioshranjene hAM (kAM), ki je bil shranjen 1 teden pri -80°C , c) homogenata kAM, ki je bil shranjen 10 tednov pri -80°C in d) homogenata kAM, ki je bil shranjen 10 tednov pri -20°C . Dokazali smo, da homogenati svAM in kAM povzročijo cono protimikrobnega učinka pri 16 od 25 testiranih sevov uropatogenih bakterijskih vrst, med drugim tudi pri določenih bakterijskih sevih, ki so odporni proti več antibiotikom.

Način priprave ter shranjevanja homogenata hAM vpliva na obseg njegovega protimikrobnega učinka. Protimikrobno delovanje homogenata hAM smo nato dokazali tudi na z bakterijami okuženih modelih normalnega in rakavo spremenjenega urotelija *in vitro*. Ugotovitve, da homogenat hAM na izbrane seve uropatogenih bakterijskih vrst deluje zaviralno, močno prispevajo k razumevanju delovanja hAM ter soizhodišče za nadaljnje študije, ki bodo vrednotile možnosti uporabe hAM v urologiji.

▼ Homogenat humane amnijske membrane deluje protimikrobno na uropatogene bakterije. (A) Struktura humane amnijske membrane (hAM) in priprava homogenata hAM. (B, C) Homogenat hAM povzroči cono protimikrobnega učinka pri proti meticlinu odporni bakteriji *Staphylococcus aureus* (MRSA) in proti karbapenemom odporni bakteriji *Acinetobacter baumannii*. V zgornji vrstici smo nanесли 5 μl , v spodnji vrstici pa 10 μl homogenata hAM. (D-G) Rakave urotelijske celice smo inkubirali z MRSA v prisotnosti ali odsotnosti homogenata hAM. Z vrstično in presežno elektronsko mikroskopijo smo dokazali prisotnost MRSA v in na površini rakavih urotelijskih celic (D, E). V prisotnosti homogenata hAM se na rakave urotelijske celice pritrdi manj bakterij, poleg tega pa te tvorijo le manjše skupke. Močno se zmanjša tudi število bakterij, ki se endocitirajo v rakave urotelijske celice. Zunajcelični matriks homogenata hAM se pritrdi na površino rakavih urotelijskih celic, s čimer je omejen dostop MRSA do rakavih urotelijskih celic (F, G). Rdeča puščica označuje MRSA v endosomu. Merilca: (D, F) 10 μm , (E, G) 600 nm, (merilca v belih okvirjih pri D, F) 1 μm . Prilagojeno po Ramuta in sod., *Biomedicine* 2021, 9, 2018; Ramuta in sod., *Front Bioeng Biotechnol* 2021, 9, 691522.



Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Anja Pecman

Odkrivanje rastlinskih viromov z uporabo različnih strategij priprave virusnih nukleinskih kislin in platform visokozmogljivega sekvenciranja

Mentorica: prof. dr. Maja Ravnikar,
Somentor: dr. Ion Gutierrez Aguirre,
Delovni mentor: dr. Denis Kutnjak

Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana, Slovenija

anja.pecman@nib.si

Ključne besede: rastlinski virusi, visokozmogljivo sekvenciranje, zaznavanje, odkrivanje

Rastlinski virusi so pomembni patogeni mikrobi, saj z okuženjem kulturnih rastlin zmanjšajo količino in kakovost pridelka, s tem pa povzročajo veliko gospodarsko škodo. V zadnjih letih je razvoj tehnologij visokozmogljivega sekvenciranja (ang. High Throughput Sequencing – HTS) omogočil razmah pri odkrivanju novih virusov. HTS omogoča določanje zaporedja vseh nukleinskih kislin v vzorcu, pri čemer pa lahko, zaradi ozadja močno zastopanih nukleinskih kislin gostitelja, spregledamo manj zastopane nuk-

leinske kisline prisotnih patogenih mikrobov. Z namenom zaznavanja rastlinskih virusov s HTS smo v prvi študiji [1] primerjali dva načina priprave virusnih/viroidnih nukleinskih kislin: sekvenciranje malih RNA ter celokupne RNA z odstranjenjo ribosomske RNA (rRNA). V primerjavo smo vključili viruse z različno organizacijo genoma ter viroide. Z obeh načinoma sekvenciranja smo zaznali vse viruse/viroide, le v primeru novega virusa z negativno usmerjeno enoverižno RNA, prisotnega v nizki koncentraciji, smo virus zaznali

le s sekvenciranjem celokupne RNA z odstranjenjo rRNA. V naslednji raziskavi [2] smo prej pridobljene izkušnje uporabili za analizo vzorca paradižnika z nekrotičnimi bolezenskimi znamenji in z rezultati sekvenciranja v vzorcu identificirali hkratno okužbo s tremi različnimi virusi: virusa M krompirja, južnega virusa paradižnika in virusa mozaika zobnika. Pri slednjem smo prvič določili celoten genom ter pokazali, da virus povzroča bolezen paradižnika (slika). V zadnjemu sklopu raziskav smo želeli ugotoviti, kako se za namen zaznavanja virusov primerja uveljavljeno sekvenciranje celokupne RNA z odstranjenjo rRNA s tehnologijo Illumina in različni načini sekvenciranja s tehnologijo nanopor (Oxford Nano-

pore Technologies). Sekvenciranje z nanoporami se je, za detekcijo rastlinskih virusov in viroidov, izkazalo za primerljivo sekvenciranju s platformo Illumina. Rezultati te študije bodo imeli ključen vpliv na uporabo HTS za hitro generično diagnostiko rastlinskih virusov.

Viri:

1. Pecman, A., Kutnjak, D., Gutierrez-Aguirre, I., Adams, I., Fox, A., Boonham, A., and Ravnikar, M. Next generation sequencing for detection and discovery of plant viruses and viroids: Comparison of two approaches. *Front. Microbiol.* 2017 Oct;8:1-10.

2. Pecman A., Kutnjak D., Mehle N., Žnidarič M. T., Gutiérrez-Aguirre I., Pimat P., et al. High-throughput sequencing facilitates characterization of a "forgotten" plant virus: the case of a herbaceous mosaic virus infecting tomato. *Front. Microbiol.* 2018 Nov;9:1-11.

▼ Neokužen (A) in z virusom mozaika zobnika (HMV/SI-L) okužen (B) paradižnik (*S. lycopersicum* cv. Moneymaker). Prikazan bolezenski simptom okuženega paradižnika (B) je deformacija listov, sistemsko razširjena po vsej rastlini.



Ljudje v svetu mikrobiologije

Mladi mikrobiologi se predstavijo

Stina Hedžet¹

Bakteriofagi pogostih predstavnikov humane črevesne mikrobiote

Mentorica: prof. dr. Maja Rupnik^{1,2}

Somentor: doc. dr. Tomaž Accetto³

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

² Medicinska fakulteta (MF), Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, Maribor

³ Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Groblje 3, 1230 Domžale

stina.hedzet@nlzoh.si

Ključne besede: črevesna mikrobiota, bakteriofagi, *Bacteroides*

Bakteriofagi predstavljajo najštevilnejšo komponento črevesnega viroma, zaposavljenega, a pomembnega dela črevesne mikrobiote. Majhno število izoliranih in opisanih predstavnikov bakteriofagov otežuje analize metagenomskih študij črevesnih viromov. Izolacija novih fagov in kultivacija anaerobnih bakterijskih predstavnikov je tako ključna za razumevanje črevesnega viroma.

Delo v sklopu doktorske disertacije je bilo razdeljeno na tri sklope. V prvem smo izolirali 284 sevov pogostih črevesnih bakterij. Osredotočili smo se predvsem na predstavnike rodov, ki so v črevesju močno zastopani (*Bacteroides*, *Phocaeicola*, *Dorea*, *Blautia*, *Roseburia*). Seve smo nato primerjali med seboj na ravni genomskih zaporedij ter pri njih identificirali potencialne profagne regije. V drugem sklopu smo iz sterilnega filtrata fekalne vode izolirali 20 novih bakteriofagov, predstavnikov

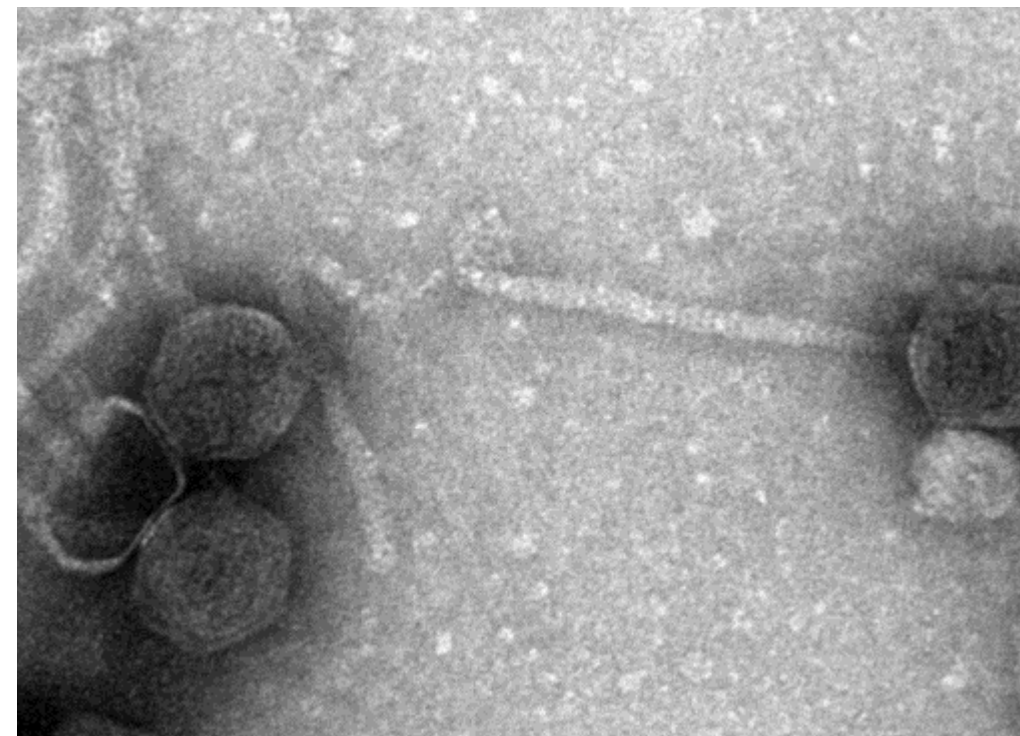
treh različnih virusnih rodov. Ti so deloma že okarakterizirani, deloma pa je karakterizacija še v teku. V tretjem sklopu bomo izbrane izolirane bakteriofage uporabili kot potencialne modulatorje fekalne mikrobiote v sistemu *in vitro*.

V predstavitvi bom povzela delo v sklopu, v katerem smo karakterizirali fage, ki okužijo predstavnike vrste *Bacteroides uniformis*. Čeprav so bakterije iz rodu *Bacteroides* ena najbolj splošnih in zastopanih skupin v črevesni mikrobni združbi, je opisanih le nekaj bakteriofagov, ki okužijo predstavnike tega rodu. Izolirani bakteriofagi pripadajo novemu virusnemu rodu, *Bacuni*, in se uvrščajo v družino *Siphoviridae*. V svojem genomu imajo zapis za »retroelemente«, ki generirajo diverziteto, tako imenovane DGR-je (ang. Diversity Generating Retroelements). Te promovirajo fagno adaptacijo na hitro se spreminjajoče okoljske dejavnike in prispevajo

k širšemu naboru gostiteljev. Genomi treh izoliranih fagov *Bacuni* so identični v 99,83 % nukleotidnega zaporedja, a okužijo različne seve *B. uniformis*. Čeprav fagi *Bacuni* okužijo pogosto zastopane bakterije rodu

Bacteroides, pa smo njihovo prisotnost zaznali le v omejenem podsetu objavljenih črevesnih metagenomov.

▼ *Bacuni* fagi, posneti s presevnim elektronskim mikroskopom (TEM). Pripadajo družini *Siphoviridae*.



**Poletna šola: Osnove analiz podatkov mikrobnih
genomskih zaporedij**

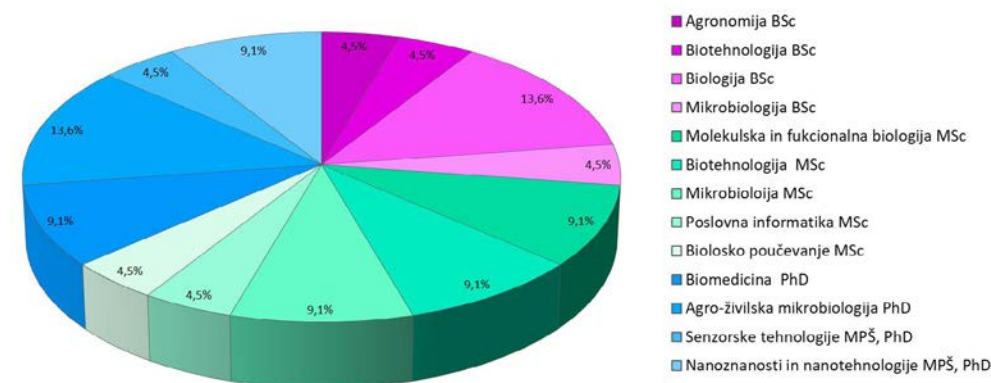
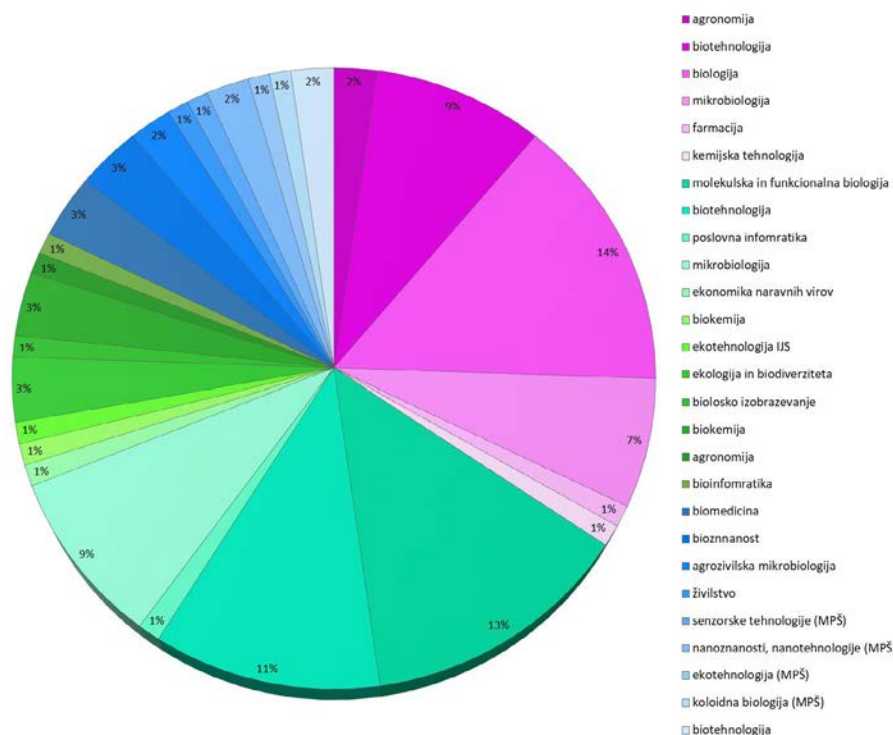
Polonca Štefanič

Bioinformatika je mlada veda, ki vključuje interdisciplinarno znanje mikrobiologije, biotehnologije, biologije, kemije, biokemije, fizike, genetike, matematike ter računalništva in informatike. Namenjena je razvoju orodij in metod za obdelavo, organizacijo in vizualizacijo bioloških podatkov v uporabnikom razumljivi obliki. Ideja za organizacijo poletne šole se je porodila, ker sem menila, da v našem študijskem prostoru (tako pri študiju kot med raziskovalci) manjka znanja bioinformatike, in predvsem zato, ker ima gostujoča profesorica, dr. Jasna Kovač, številna znanja in izkušnje s tega področja, ki

jih je nabirala kot podoktorska študentka na prestižni Univerzi Cornell v ZDA, zdaj pa ima svojo projektno skupino na Univerzi v Pensilvaniji. Dr. Jasna Kovač je podobne poletne šole že organizirala drugod po Evropi in bioinformatičska orodja redno uporablja pri svojih raziskavah in predavanjih na Univerzi v Pensilvaniji, zato sem hotela izkoristiti to izjemno priložnost in sem jo povabila v Slovenijo. Zelo bom vesela, če se bo mojemu vabilu še kdaj odzvala, še posebej pa, če postane poletna šola bioinformatike naša »poletna stalnica«.

Poletna šola bioinformatike je na

▼ **Struktura prijavljenih študentov na poletno šolo. Z rožnatimi barvami so označene smeri prve stopnje bolonjskega študija, z zeleno druge in z modro barvo smeri tretje stopnje.**



Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani potekala julija (19–23. 7. 2021) in je bila namenjena študentom, vpisanim v katerikoli program Univerze v Ljubljani. Na poletno šolo se je prijavilo 88 študentov, od tega jih je bilo 31 vpisanih v programe prve bolonjske stopnje, 41 v programe druge in 16 v programe tretje bolonjske stopnje. Velika večina prijavljenih študentov (86 %) je bila vpisana v študijske programe

nas, da so se na šolo prijavi tudi študenti, vpisani na študijske smeri drugih fakultet, npr. na prvi stopnji: farmacija, kemijska tehnologija; na drugi stopnji: biokemija, poslovna informatika, ekotehnologije (IJS), bioinformatika; na tretji stopnji: nanoznanosti, koloidna biologija, senzorske tehnologije in nanotehnologije (vse smeri Mednarodne podiplomske šole IJS). Študentje so bili na praktični del

▲ Struktura sprejetih študentov na poletno šolo. Z rožnatimi barvami so označene smeri prve stopnje bolonjskega študija, z zeleno druge in z modro barvo smeri tretje stopnje.

»Na praktični del smo zaradi epidemioloških omejitev sprejeli 22 študentov, ki so večinoma prihajali z Biotehniške fakultete (81 %), nekaj študentov pa smo sprejeli z Mednarodne podiplomske šole Jožefa Stefana.«

Biotehniške fakultete, npr. na prvi stopnji: biologija, biotehnologija in mikrobiologija; na drugi stopnji: molekulska in funkcionalna biologija, biotehnologija, mikrobiologija, ekologija in biodiverziteta ter ekonomika naravnih virov, agronomija in biološko izobraževanje; in na tretji stopnji: biomedicina, bioznanosti, agroživilska mikrobiologija, biotehnologija ter živilstvo. Veseli

poletne šole izbrani na podlagi motivacijskih vprašanj izbirnega postopka in predznanja bioinformatike. Na žalost smo marsikoga, ki je imel predhodno znanje iz bioinformatike, zavrnili, saj smo dali prednost popolnim začetnikom in takim, ki opravljajo magistrsko ali doktorsko delo na tem področju in smo ocenili, da je pridobivanje znanja bioinformatike za njih prednostno. Na praktični



▲ Uvodno predavanje na poletni šoli (levo); predavanje o sestavljanju genomov, predavateljica dr. Jasna Kovač (desno).

del smo tako zaradi epidemioloških omejitev sprejeli 22 študentov, ki so večinoma prihajali z Biotehniške fakultete (81 %), nekaj študentov pa smo sprejeli z Mednarodne podiplomske šole Jožefa Stefana. Glede na stopnjo izobrazbe smo jih skušali razporediti čim bolj enakomerno, da bi tudi študenti prvih stopenj stu-

sekvenciranja v živilski industriji ter metodah sestavljanja in preverjanja kakovosti genomskih zaporedij. Prav tako je predstavila orodja za genotipizacijo, odkrivanje polimorfizmov posameznega nukleotida (SNP-jev) in konstrukcijo filogenetskih dreves. Vsa jutranja predavanja so bila preko aplikacije Zoom na voljo tudi članom društva SMD, medtem ko so bile analize podatkov namen-

»Za delo smo uporabljali platformo GalaxyTrackr, katere uporabo nam je omogočila ameriška agencija za zdravila in hrano, FDA.«

dijskih programov dobili priložnost pridobiti nova znanja. Tako je bilo na praktičnem delu iz prve stopnje prisotnih 27 %, iz druge in tretje pa po 36 % udeležencev. Tak nabor študentov nam je omogočil, da smo jih lahko ustrezno in uravnoteženo razvrstili v posamezne skupine, ki so nato dobile določeno dnevno nalogo. Poletna šola je trajala en teden, in sicer vsak dan od ponedeljka do petka med 9. in 17. uro. V dopoldanskem času je gostujoča profesorica dr. Jasna Kovač predavala o tehnologijah sekvenciranja, uporabi

jene fizično prisotnim študentom z dostopom do platforme, ki smo jo uporabljali. Po jutranjih predavanjih smo imeli teoretičen uvod v tehnologije sekvenciranja in analize, ki smo jih praktično nadaljevali popoldne. Po teoretičnem uvodu so študentje dobili zadolžitve z branjem literature, vezane na bioinformacijske analize podatkov; kritično so jo predstavili v »journal clubu« po odmoru za kosilo. Osredotočili so se na ključna vprašanja, kot so: jasnost hipotez, odmevnost rezultatov, jasnost metod in rezultatov, eksperimentalna ponovljivost, uravnoteženost rezultatov in zaključkov

in podobno. V popoldanskem času smo imeli vsak dan vođeno praktično delo oziroma analizo podatkov, ki je temeljila na vzorcih dejanskega bakterijskega izbruha *Bacillus cereus* v ZDA. Za delo smo uporabljali platformo GalaxyTrackr, katere uporabo nam je omogočila ameriška agencija za zdravila in hrano US Food and Drug administration (FDA CFSAN [GenomeTrkR](#) network). Vsi udeleženci poletne šole so dostop do platforme GalaxyTrakr, na kateri bodo lahko tudi v prihodnje izvajali analize genomskih podatkov, pridobili v trajno last. Najprej smo se naučili, kako pridobiti zaporedja iz NCBI-eve podatkovne zbirke SRA (Sequence Read Archive), potem pa smo preverjali kakovost sekvenciranja in se naučili odstranjevati adapterje iz goilih podatkov genomskih zaporedij. Nato smo genome sestavili in preverili kakovost sestavljenosti, zadnja dva dni pa smo se usmerili v genotipizacijo, iskanje protimikrobnih in virulenčnih genov ter konstrukcijo filogenetskih dreves. Zadnji dan se nam je pridružila tudi Nika Tuta, mag. farm. (Novartis d.o.o.), ki je predavala o tarčnem sekvenciranju nove generacije za detekcijo in identifikacijo mikrobnih kontaminantov v industriji.



Na poletni šoli smo se počutili prijetno in sproščeno, predavanja, delavnice in diskusije so tekle nemoteno in predvsem zaradi pomoči društva SMD in podjetij Acies bio d.o.o. in Mikro polo d.o.o. smo se na poletni šoli lahko osvežili s sveže pripravljeno limonado, piškoti, kavo, čajem, sadjem in drugimi dobrotami in brez problema napeili možgane in usvojili nova znanja. Iskrena hvala!

▲ Udeleženci poletne šole z organizatorkama dr. Polonco Štefanič in dr. Jasno Kovač.

Strokovni članek

Širjenje virusa SARS-CoV-2 in pomen preskušanja zaščitnih mask

Katja Fric, Tamara Košir, Arijana Filipič, Alja Štern, Bojana Žegura, Polona Kogovšek

Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana, Slovenija (+386(0)1 320 3829); polona.kogovsek@nib.si

Pandemična okužba z virusom SARS-CoV-2 (ang. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) je močno spremenila naš način življenja. Virus se je v le 3-4 mesecih razširil po celem svetu. To mu je omogočil zelo hiter in učinkovit način prenosa.

Ključne besede: pandemija okužbe SARS-CoV-2, kapljice in aerosoli, preskušanje in certificiranje zaščitnih mask

Znano je, da se infektivni delci virusa SARS-CoV-2 širijo na več načinov, in sicer neposredno z večjimi kapljicami in aerosoli ali pa posredno preko površin in predmetov, kontaminiranih z njimi. Ti načini prenosa se med seboj prepletajo, skupni izvor kapljic in aerosolov pa so dihanje, kašljanje in kihanje ter govor okužene osebe [1]. Zato je

medtem ko pri zdravih osebah ustavijo vstop patogenov skozi sluznico nosu in ust.

Kapljica ali aerosol

Poznavanje narave respiratornih kapljic nam pomaga, da lažje razumemo, kako obrazne maske pripomorejo k preprečevanju širjenja okužb. Ne glede na velikost kapljic

»Delci kot lahke kapljice potujejo po prostoru z zračnimi tokovi – to je prenos okužbe z aerosolom.«

zelo pomembno nošenje osebne varovalne opreme, kot so maske, ki so glavna fizična pregrada pred širjenjem respiratornih kapljic in zaščitijo pred inhalacijo kužnih kapljic. Na tak način imajo maske dvojno vlogo, in sicer pri okuženih osebah preprečujejo nadaljnje širjenje patogenov,

le-te sestojijo iz hlapnih spojin, primarno vode, in nehlapnih delcev, kot so ostanki epitelijskih celic, DNA, proteini in tudi virusni delci. Ob izpostavljenosti zraku voda v kapljicah delno ali popolnoma izhlapi, kar vpliva na obnašanje kapljic v prostoru [2]. Večje kapljice ($> 5 \mu\text{m}$) lahko



povzročajo neposredne okužbe, kadar sta okužena in neokužena oseba v neposredni bližini. Poleg tega so večje kapljice dovolj težke, da padejo na tla, še preden popolnoma izhlapijo, s čimer povzročijo kontaminacijo površin in predmetov okoli kužne osebe. To vodi v tako imenovani kapljični prenos ter prenos preko površin in predmetov [3]. Kapljice z manjšim premerom (aerosoli; $< 5 \mu\text{m}$) so dovolj lahke, da ne padejo na tla, temveč lebdijo v zraku. Nekatere popolnoma izhlapijo, pri čemer se v zrak izloči le njihova vsebina, torej virusni delci. Tako delci

okužbe z aerosolom [3, 7]. Čeprav se ta način prenosa večinoma povezuje z okužbami pri večji razdalji, imajo aerosoli prav tako pomembno vlogo pri okužbah ob neposrednem stiku [3]. Ocenjujejo, da naj bi se že pri eni minuti glasnega govorjenja tvorilo več kot 10^3 kapljic z virusi, ki lahko ostanejo v zraku tudi dlje kot 8 min [2].

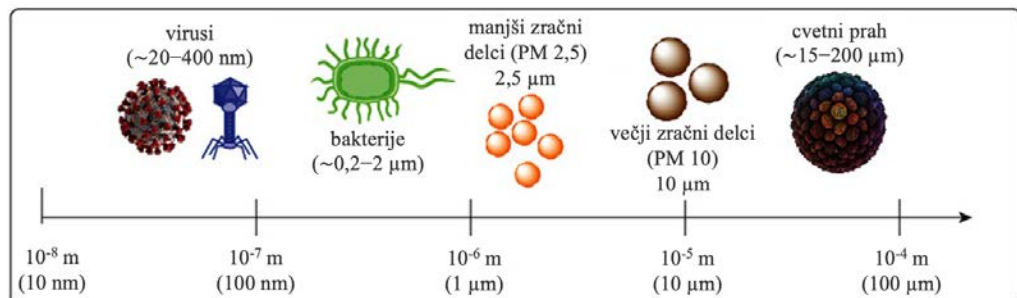
Poleg velikosti kapljic je njihovo gibanje in izhlapevanje, in s tem povezano širjenje virusnih delcev, odvisno tudi od okoljskih dejavnikov, kot so temperatura in relativna zračna vlažnost ter zračni tokovi. Zato je

»Najnevarnejši so delci velikosti do $0,6 \mu\text{m}$, saj v zraku ostanejo dlje časa in jih lahko vdihnemo v spodnje dele pljuč, in prav ti delci oz. kapljice lahko nosijo respiratorne viruse.«

kot lahke kapljice po prostoru potujejo z zračnimi tokovi – to je prenos

pri preprečevanju širjenja virusnih delcev pomembno zračenje prostor-

▲ Štetje bakterijskih kolonij *S. aureus* med postopkom preskušanja učinkovitosti bakterijske filtracije mask. Avtor: Aleš Rosa.



▲ Primerjava velikosti virusov, bakterij in cvetnega prahu. Kot zanimivost naj navedemo, da so kapljice, ki jih izločamo pri dihanju, velike le okrog 1 µm, vendar se z njimi vseeno lahko prenese virus SARS-CoV-2, ta je velikosti 60–140 nm [13]. Slika povzeta po [6] in prevedena v slovenščino. Licenca: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

ov. Na zadrževanje virusnih delcev na površinah in predmetih vplivata tudi sestava kapljice (sline, kri) in poroznost materiala [4].

Zaščitne maske

Filtracijska učinkovitost zaščitnih mask je odvisna predvsem od strukture materiala (gostote tkanja, velikosti por, organizacije vlaken, debeline in premera vlaken, naboja). Vlakna, ki imajo majhen premer (< 3 µm), veliko skupno površino in malo praznega prostora med seboj, imajo za razliko od dolgih vlaken (~10–50

okužb [7, 8]. Kot ena boljših vrst tekstila za izdelavo higienskih mask se je izkazal bombaž oz. poplin. Poleg higienskih mask poznamo tudi t. i. respiratorje (npr. FFP1, FFP2, FFP3, KN95), ki zaradi posebne slojevitosti materiala in dobrega prilaganja obrazu poleg večjih kapljic ustavijo tudi večino najmanjših aerosolnih delcev. Respiratorji so namenjeni predvsem ljudem, ki delajo pri veliki količini aerosolov in nevarnih snovi v zraku. Prav tako so zelo v uporabi tudi polobrazne medicinske (kirurške) maske, ki so namenjene

»Na NIB smo vzpostavili postopke testiranja učinkovitosti filtracije bakterij/virusov in preskus biološke združljivosti. Po vzpostavljenih postopkih smo preverili kakovost in ustreznost obraznih mask, ki so bile proizvedene v Sloveniji ali pa so v Slovenijo prispele iz drugih držav, ter na podlagi dobljenih rezultatov izdali potrdilo o njihovi ustreznosti.«

µm) boljše lastnosti za filtracijo [17, 18]. Na primer, higienske maske so navadno narejene iz različnih tkanin (bombažnih, svilenih, sintetičnih) z večjimi vlakni brez naboja, kar je eden od razlogov, da so te maske pri filtraciji delcev nekoliko manj učinkovite v primerjavi z medicinskimi maskami in respiratorji, vendar kljub temu zmanjšujejo možnost širjenja

preprečevanju prenosa patogenov preko kapljic od okužene osebe na okolico. Navadno so iz treh plasti, in sicer iz notranje, ki absorbira vlago iz izdihanega zraka, srednje – filtra, ki je sestavljen iz goste plasti tankih vlaken in prestreže delce, in pa zunanje plasti, ki je vodoodporna in odbija tekočine, npr. vodo, kri. Navadno so iz polipropilena, drugi

materiali, ki se še uporabljajo, so: polistiren, polikarbonat, polietilen, poliamid, poliuretan, poliester [8, 16].

Preskušanje zaščitnih mask

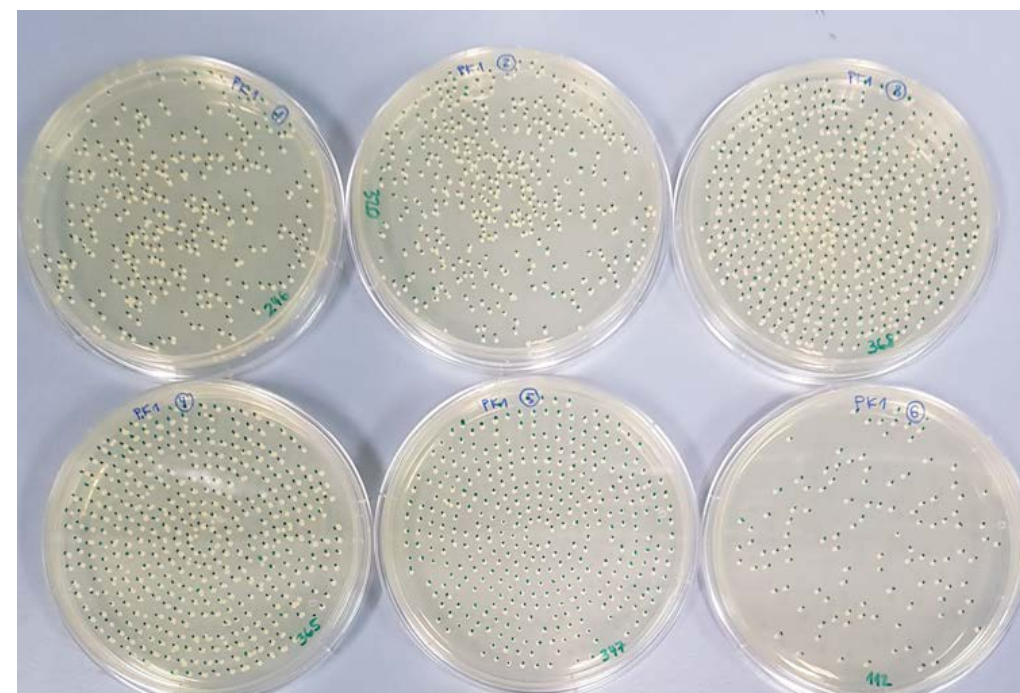
V času pandemije je prišlo do velikega pomanjkanja zaščitne opreme in materialov za njihovo izdelavo, zato se je na tržišču pojavilo več različnih tipov mask in druge zaščitne opreme iz različnih materialov, za katero pa ni bilo znano, ali je skladna s standardi in varna za uporabnika. Prav zaradi tega smo na Nacionalnem inštitutu za biologijo (NIB) v sodelovanju s podjetjem Lotrič Meroslovje d.o.o., takoj na začetku pandemije leta 2020 vzpostavili postopek preskušanja kakovosti in ustreznosti zaščitnih mask. V Evropi so medicinske polobrazne maske preskušane in certificirane, v skladu s standardom EN 14683:2019, ki določa različne zahteve in preskusne metode [9]. V Sloveniji pa morajo maske ustrezati zahtevam, predpisanim v slovenski tehnični specifikaciji SIST (SIST-TS

1200:2020), v kateri so opisane minimalne zahteve za maske za enkratno in splošno uporabo [10]. Tako je mogoče le na podlagi niza različnih preizkusov realno oceniti primernost posameznih obraznih mask. Na NIB smo tako vzpostavili postopke testiranja učinkovitosti filtracije bakterij/virusov in preskus biološke združljivosti (citotoksičnosti). Po vzpostavljenih postopkih smo preverili kakovost in ustreznost obraznih mask, ki so bile proizvedene v Sloveniji ali pa so v Slovenijo prispele iz drugih držav, ter na podlagi dobljenih rezultatov izdali potrdilo o njihovi ustreznosti. Poleg že izdelanih zaščitnih mask smo v razvojni fazi v sodelovanju s številnimi domačimi podjetji preskušali materiale, namenjene izdelavi drugih končnih proizvodov in s tem omogočili hitrejšo proizvodnjo teh ter hitrejšo vključitev domačih podjetij na tržišče.

Učinkovitost filtracije bakterij (BFE)

Učinkovitost filtracije bakterij (BFE;

▼ Plošče pozitivne kontrole 1 s kolonijami *S. aureus*, ki so bile nameščene v vzorčevalnik Andersen po 24 h inkubacije.



▼ Primer rezultatov testiranja BFE za eno masko. Za vsako masko je treba testirati 5 podvzorcev iste maske (V1-5), 2 pozitivni kontroli (1, 2) ter negativno kontrolo (NK), pri kateri skozi sistem ne spustimo bakterijske suspenzije. Za vsak vzorec in kontrolo uporabimo 6 plošč z gojiščem, na katere lovimo kapljice z bakterijami (ali brez pri NK) z vzorčevalnikom Andersen. Po inkubaciji preštujemo kolonije na posamezni plošči in število pretvorimo v število kapljic (EN 14683:2019). Te vrednosti uporabimo za izračun BFE (v %).

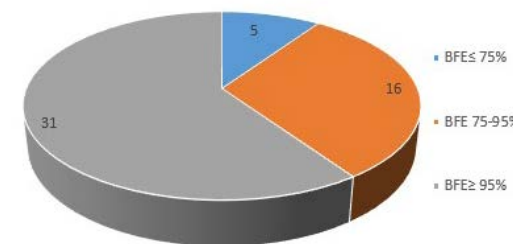
Vzorec	Plošča	Število kolonij	Število kapljic z bakterijami	Vsota vseh kapljic z bakterijami	Povprečno število kapljic z bakterijami v pozitivnih kontrolah	BFE (%)	Povprečna vrednost BFE (%)
Pozitivna kontrola 1	1	198	198	2200	2.13E+03	99.25	99.81
	2	301	301				
	3	316	624				
	4	297	543				
	5	289	513				
	6	20	21				
V1	1	0	0	16	2.13E+03	100.00	99.81
	2	1	1				
	3	0	0				
	4	14	14				
	5	1	1				
	6	0	0				
V2	1	0	0	0	2.13E+03	100.00	99.81
	2	0	0				
	3	0	0				
	4	0	0				
	5	0	0				
	6	0	0				
V3	1	0	0	3	2.13E+03	99.86	99.81
	2	0	0				
	3	0	0				
	4	0	0				
	5	3	3				
	6	0	0				
V4	1	0	0	0	2.13E+03	100.00	99.81
	2	0	0				
	3	0	0				
	4	0	0				
	5	0	0				
	6	0	0				
V5	1	0	0	1	2.13E+03	99.95	99.81
	2	0	0				
	3	0	0				
	4	0	0				
	5	1	1				
	6	0	0				
Pozitivna kontrola 2	1	183	183	2053	2.13E+03	99.95	99.81
	2	283	283				
	3	299	551				
	4	319	639				
	5	245	379				
	6	18	18				
Negativna kontrola	1	0	0	0	2.13E+03	100.00	99.81
	2	0	0				
	3	0	0				
	4	0	0				
	5	0	0				
	6	0	0				

li (< 5 µm), ki nosijo respiratorne vire in jih lahko vdihnemo v spodnje dele pljuč, so izjemno nevarni, saj povzročajo večje tveganje za razvoj pljučnice in težjih oblik okužb [11, 12].

Pri preskusu BFE kapljice različne velikosti prehajajo skozi masko in se ulovijo na plošče z gojiščem za bakterije, ki so nameščene v 6-stopenjskem vzorčevalniku Andersen. V vzorčevalniku se kapljice sortirajo po velikostnem redu, kot naj bi se v respiratornem sistemu. Iz vsake kapljice, ki vsebuje bakterije, po inkubaciji na gojišču zraste bakterijska kolonija (slika 3). Iz števila kolonij preračunamo koncentracijo kapljic oz. bakterij, kar pa je velik matematični izziv. Treba je namreč upoštevati, da lahko skozi posamezno luknjico vzorčevalnika pride več kapljic/bakterij zapored, skupaj pa tvorijo le eno kolonijo. Da ne bi podcenili števila kapljic z bakterijami, ki pridejo skozi masko, se število kolonij pretvori s formulo po Fellerju (ang. Positive Hole Conversion [14, 15]). BFE se nato izračuna iz števila kapljic z bakterijami, ki so prešle masko, v primerjavi s pozitivno kontrolo, pri kateri bakterijsko suspenzijo spustimo skozi sistem brez maske. Končni rezultat BFE se izrazi v odstotkih [9] (preglednica 1 predstavlja primer tabele z določeno BFE). Torej, višja kot je vrednost BFE, učinkoviteje maska prepreči, da bi kapljice z bakterijami prešle masko in dosegle drugo osebo. Na primer, vrednost BFE 99,81 % pomeni, da maska ustreza zahtevam medicinskih in kirurških mask (EN 14683:2019) in spada v razred 1, saj ne prepušča le 0,19 % kapljic.

Rezultati testiranja zaščitnih mask in materialov

Rezultati učinkovitosti bakterijske filtracije so pokazali, da so testirane maske ustrežale SIST-TS 1200:2020 [10], in sicer naj bi maske imele dokazilo o učinkovitosti BFE ≥ 75 %. V



naši raziskavi le 5 vzorcev ni ustrezalo zahtevam SIST, in sicer 2 higienski maski iz bombaža, 1 material za maske in 2 filtra (slika 4). V vseh primerih je šlo za preverjanje primernosti novih materialov, ki so jih proizvajalci želeli uporabiti za izdelavo mask. Šestnajst mask je ustrezalo zahtevam SIST, ne pa zahtevam evropskega standarda EN 14683:2019 in jih zato ne moremo uvrstiti v tip I ali II, saj ta zahteva BFE ≥ 95 % (tip I) oz. BFE ≥ 98 % (tip II). Na podlagi rezultatov BFE bi v tip I ali II lahko uvrstili 31 testiranih mask. Zaključimo lahko, da filtracijska učinkovitost

om MS2, ki je nekoliko manjši od virusa SARS-CoV-2. Metoda kaže, kako dobro maska filtrira kapljice z virusi. Za preizkušanje VFE smo uporabili enako napravo, le da smo bakteriofage MS2 vzorčili v steklene vzorčevalnike s tekočino. Z metodo dvoslojnega agarja smo nato določili koncentracijo virusov in izračunali učinkovitost virusne filtracije. Višja kot je vrednost VFE, učinkoviteje maska oz. material zadrži kapljice z ujetimi virusi. Rezultati preskušanja učinkovitosti virusne filtracije so bili primerljivi z rezultati BFE, kar je pričakovano, saj v obeh primerih

»Na podlagi rezultatov testiranja mask, ki smo jih opravili na NIB, lahko rečemo, da je večina testiranih obraznih mask zelo učinkovitih in zmanjšajo možnost širjenja aerosolov, ki vsebujejo tako bakterijske kot tudi virusne delce. Seveda pa je pomembno tudi, da masko pravilno namestimo in ne segamo k obrazu, medtem ko jih nosimo.«

mask na tržišču, ki so namenjene za splošno uporabo, v veliki meri ustrezajo predpisanim evropskim zahtevam za določen tip maske.

Učinkovitosti virusne filtracije (VFE)
Vzpostavili smo tudi sistem za preskušanje VFE (ang. Viral Filtration Efficiency) z modelnim bakteriofag-

določamo količino kapljic z mikrobi, ki so v enakem razponu velikosti in lahko prehajajo skozi masko.

Biokompatibilnost materialov in mask

Eden od zelo pomembnih preskusov je tudi preizkus biološke združljivosti

◀ Prikaz skladnosti preskušanih mask glede na učinkovitost bakterijske filtracije. Samo 5 testiranih vzorcev (≈ 10 %) je imelo BFE ≤ 75%, zaradi česar niso skladni z zahtevami SIST, 16 mask (≈ 30 %) je imelo vrednost BFE 75–95% in so tako skladne s SIST, 31 mask (≈ 60 % vseh testiranih) pa je bilo skladnih s SIST in bi jih na podlagi rezultatov BFE lahko uvrstili v tri tipe, ki jih določa evropski standard EN14683.

sti mask in materialov za njihovo izdelavo. Preskus se opravi v skladu z zahtevo EN 14683:2019 in je predpisan v okviru ocene tveganja skladno s standardom ISO 10993-5:2009, z namenom vrednotenja vpliva nošenja maske na zdravje uporabnika [9]. Izvaja se na modelni celični kulturi (mišjih fibroblastih) ob simuliranju pogojev stika maske s kožo pri normalni uporabi. Pri preizkusu ugotavljamo vpliv materiala, iz katerega je maska izdelana, ali materiala, ki je namenjen izdelavi mask, na živost modelne celične kulture (citotoksičnost) ter na morfološke spremembe celic, kar ocenimo pod mikroskopom (biološka reaktivnost). Preizkus nam poda oceno o tem, ali je nošenje testirane maske morebiti lahko škodljivo za uporabnika. Zatorej se takšni preizkusi velikokrat izvajajo tudi na samih materialih za izdelavo mask, z namenom izbrati najustreznejše materiale pred začetkom izdelave mask. Med skupno 69 testiranimi maskami in materiali za izdelavo mask na biokompatibilnost je bilo 40 (58 %) ustreznih vzorcev. Med neustreznimi je bilo največ (17) materialov, namenjenih za izdelavo mask, med tem ko je bila večina že izdelanih kirurških mask in respiratorjev ustreznih. Dodatno smo za testiranje naključno izbrali nekaj mask, ki so že na tržišču, kjer so zahtevam standarda ustrezale vse testirane maske.

Zaključek

Preskusi učinkovitosti bakterijske in virusne filtracije, prepustnosti pri dihanju ter biološke združljivosti so izjemno pomembni za zagotavljanje ustrezne kakovosti in primernosti zaščitnih mask in predvsem za zagotavljanje, da so maske na tržišču skladne z evropskimi zahtevami in tako varne za uporabnika. Na podlagi rezultatov testiranja mask, ki smo jih opravili na NIB, lahko rečemo, da je večina testiranih obraznih

mask zelo učinkovitih in zmanjšajo možnost širjenja aerosolov, ki vsebujejo tako bakterijske kot tudi virusne delce. Seveda pa je pomembno tudi, da masko pravilno namestimo in ne segamo k obrazu, medtem ko jih nosimo.

Viri:

1. World Health organization (WHO). Mask use in the context of COVID-19, Interim guidance [citirano: 1.7.2021]. Dosegljivo na [kliku](#).
2. Božič A, Kanduč M. Relative humidity in droplet and airborne transmission of disease. *J. Biol. Phys.* 2021;47, 1-29.
3. Jayaweera M, Perera H, Gunawardana B, Manatunge J. Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy. *Environ. Res.* 2020;188, 109819.
4. Greenhalgh T, Jimenez JL, Prather KA, Tufekci Z, Fisman D, School-ey R. Ten scientific reasons in support of airborne transmission of SARS-CoV-2. *The Lancet*. 2021; 397(10285), 1603-1605.
5. Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat. Med.* 2020; 26(5), 676-680.
6. Chua MH, Cheng W, Goh SS, et al. Face Masks in the New COVID-19 Normal: Materials, Testing, and Perspectives. *Research (Wash D C)*. 2020; 2020, 7286735.
7. Konda A, Prakash A, Moss GA, Schmoldt M, Grant GD, Guha S. Aerosol Filtration Efficiency of Common Fabrics Used in Respiratory Cloth Masks. *ACS Nano*. 2020;14(5), 6339-6347.
8. O'Dowd K, Nair KM, Forouzanmehr P, Mathew S, Grant J, Moran R, Bartlett J, Bird J, Pillai SC. Face Masks and Respirators in the Fight against the COVID-19 Pandemic: A Review of Current Materials, Advances and Future Perspectives. *Materials (Basel)*. 2020; 13(15), 3363.
9. Slovenski standard, SIST EN 14683:2019+AC:201901-oktober-2019, Medicinske maske za obraz - Zahteve in preskusne metode. 2019.
10. Slovenski inštitut za standardizacijo. Specifikacija za osebne polobrazne maske. Slovenska tehnična specifikacija: SIST-TS 1200:2020.
11. Pan M, Lednicky JA, Wu CY. Collection, particle sizing and detection of airborne viruses. *J. Appl. Microbiol.* 2019; 127(6), 1596-1611.
12. Thermo Scientific, Instruction Manual, Six and Two Stage Viable Samplers Part Number 100072-00, 2009 [citirano: 26.6.2021]. Dosegljivo na [kliku](#).
13. Asadi S, Wexler AS, Cappa CD et al. Aerosol emission and superemission during human speech increase with voice loudness. *Scientific Reports*. 2019; 9, 2348.
14. Feller W. An introduction to the probability theory and its applications, 1950; 175. John Wiley and Sons, Inc., New York.
15. Andersen AA. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. *U.S. Army Chemical Corps Proving Ground, Dugway, Utah*, 1958; 14.
16. Tcharkhtchi A, Abbasnezhad N, Zarbini Seydani M, Zirk N, Farzaneh S, Shirinbayan M. An overview of filtration efficiency through the masks: Mechanisms of the aerosols penetration. *Bioactive Materials*, 2021; 6(1), 106-122.
17. Erzar A. Obrazne maske in respiratorji v boju proti pandemiji Covid-19: pregled materialov, prednosti in perspektive v prihodnosti - povzetek članka, [citirano: 15. 7. 2021]. Dosegljivo na [kliku](#).
18. Songer J, Rizvi S. Mask Fabrics: Introduction to Fibers and Fabrics. [citirano: 2. 8. 2021]. Dosegljivo na [kliku](#).

Strokovni članek

Analiza soavtorstev na ARRS-jevem raziskovalnem področju 3.01 Mikrobiologija in imunologija v obdobju 2016–2021

Špela Štor¹ in Andrej Kastrin²

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

2 Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

Ključne besede: mikrobiologija, imunologija, raziskovalno sodelovanje, bibliometrična analiza, analiza omrežij

Dejavnosti na področju mikrobiologije so v Sloveniji zelo pestre. V prispevku obravnavamo omrežje soavtorstev evidentiranih aktivnih raziskovalcev v Sloveniji na ARRS-jevem raziskovalnem področju 3.01 Mikrobiologija in imunologija v zadnjih petih letih (2016–2021). Raziskovalci so v tem obdobju objavili skoraj 2000 znanstvenih prispevkov. Z analizo omrežja smo prepoznali več homogenih raziskovalnih skupnosti, ki razkrivajo bogato znotrajkupinsko sodelovanje, hkrati pa so dobro povezane z domačim raziskovalnim prostorom in aktivno vpete v mednarodno znanstveno skupnost.

Mikrobiologija ima v Sloveniji dolgo tradicijo, zato ni čudno, da je to področje dobro razvito, z veliko uspešnimi in znanimi mikrobiologi ter mikrobiologinjami doma in po svetu, ki raziskave izvajajo v okviru različnih institucij. Da bi področje razumeli bolje, smo se odločili, da pestrost sodelovanja

med domačimi mikrobiologi osvetlimo z bibliometrično analizo. Pregled empirične evidence razkriva, da raziskovalne skupine v primerjavi s samostojnimi avtorji dosegajo nepremerljivo boljši znanstveni izplen [1]. Sodelovanje med raziskovalci ne omogoča samo dostopa do (še) neobjavljenih raziskovalnih izsledkov

in drage raziskovalne infrastrukture, pač pa tudi močno pospešuje znanstvenoraziskovalni proces [2]. Katz in Martin [3] sta npr. pokazala, da sodelovanje pomembno vpliva na prebojnost raziskovalnih idej in močno korelira s kakovostjo znanstvenih člankov.

Iz podatkovne tabele RAZISKOVALCI smo zato izluščili evidenčne številke registriranih raziskovalcev, ki so ustrezali naslednjim merilom: Status zaposlitve = {raziskovalec, mladi raziskovalec}, Status = {aktiven}, Veda = {Medicina} in Področje = {Mikrobiologija in imunologija}. Nato smo

Ključne ugotovitve:

- Na ARRS-jevem raziskovalnem področju 3.01 Mikrobiologija in imunologija smo med letoma 2016 in 2021 evidentirali 511 aktivnih in 23 mladih raziskovalcev.
- 424 raziskovalcev ima področje 3.01 Mikrobiologija in imunologija navedeno kot primarno raziskovalno področje.
- V obdobju 2016–2021 je množica evidentiranih raziskovalcev objavila 1989 bibliografskih enot, ki so kategorizirane kot znanstvena dela.

V prispevku obravnavamo strukturo omrežja soavtorstev slovenskih raziskovalcev na področju mikrobiologije. V analizi upoštevamo vse registrirane raziskovalce, pri katerih je v podatkovni zbirki SICRIS [4] navedeno, da je njihovo primarno raziskovalno področje po klasifikaciji ARRS 3.01 Mikrobiologija in imunologija.

Metoda

Kot vir surovih podatkov smo uporabili Informacijski sistem o raziskovalni dejavnosti v Sloveniji (SICRIS) [4]. Po veljavni ontologiji Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (ARRS) je mikrobiologija uvrščena v razred medicinskih ved in področje "3.01 Mikrobiologija in imunologija" [5].

z bibliografsko zbirko COBIB.SI za vsakega evidentiranega raziskovalca pripravili osebno bibliografijo [6]. Pri tem smo upoštevali samo tiste bibliografske enote, ki so po veljavni tipologiji označene kot znanstvena dela in so bile objavljene v zadnjih petih letih (2016–2021) [7]. V tretjem koraku smo osebne bibliografije normalizirali in razširili z metapodatki iz zbirke Web of Science (WoS) Core Collection [8]. Za preslikavo v WoS smo uporabili identifikator DOI (angl. Digital Object Identifier). Podatke smo osvežili ob oddaji prispevka (konec avgusta 2021). Bibliografske podatke smo razdvojili in pretvorili v obliko neusmerjenega omrežja. V splošnem lahko tako zgrajeno omrežje predstavimo kot graf, v katerem posamezne točke

predstavljajo evidentirane raziskovalce na tem področju, povezave med točkami pa se nanašajo na relacijo soavtorstva (angl. co-authorship) pri posameznem bibliografskem zapisu (npr. članku ali poglavju v knjigi). Število soavtorstev med dvema raziskovalcema smo predstavili z utežjo na povezavi. Preostale pomembne metapodatke (npr. institucija, povezana z avtorjem, njegova programska skupina, status zaposlitve) smo v omrežje dodali kot attribute posameznim vozliščem.

Za pripravo in analizo podatkov smo uporabili skripta, pripravljena v programskih jezikih Python in R, za grafično predstavitev pa orodje VOSviewer [9]. Skripta so pripravljena za ponovljivo analizo in so na voljo pri avtorjih.

Rezultati in razprava

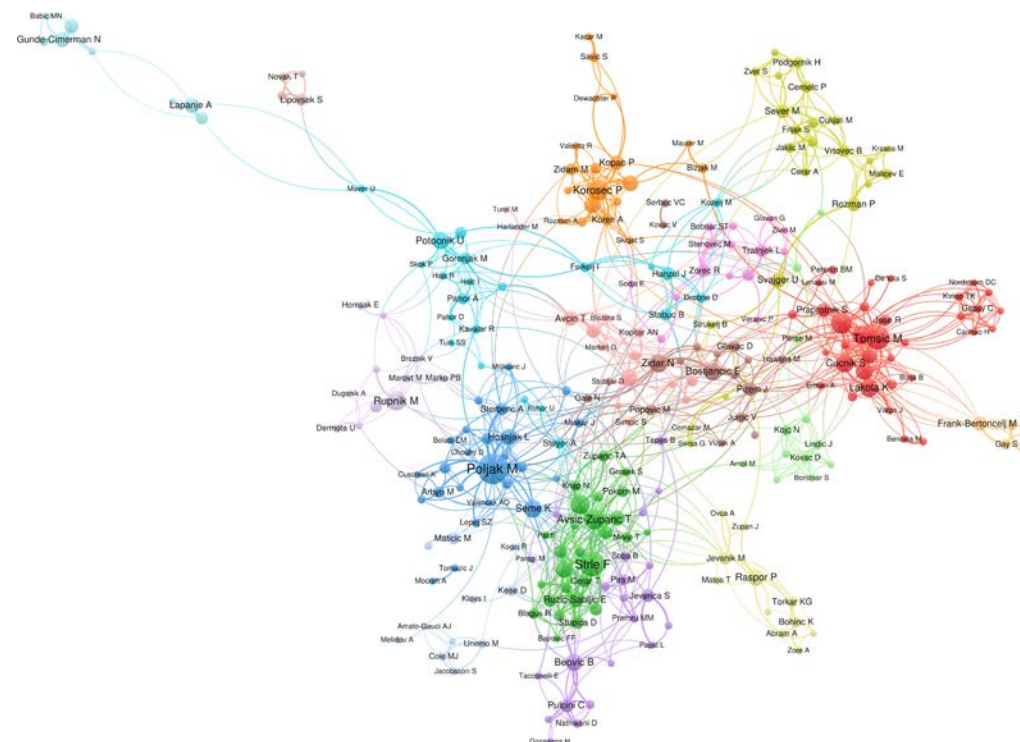
V zbirki SICRIS smo (ob zadnji redakciji prispevka) identificirali 44.203 raziskovalcev in tehničnih sodelavcev. Na ARRS-jevem raziskovalnem področju 3.01 Mikrobiologija in imun-

ologija smo evidentirali 511 aktivnih raziskovalcev in 23 podiplomskih študentov, ki se usposabljaajo v okviru programa Mladi raziskovalci. V nadaljnjo analizo smo vključili 424 raziskovalcev, pri katerih je oznaka »3.01 Mikrobiologija in imunologija« navedena kot primarno raziskovalno področje.

V zadnjem petletnem obdobju (2016–2021) je množica evidentiranih raziskovalcev objavila 1989 bibliografskih enot, ki so kategorizirane kot znanstvena dela. Med temi prevladujejo izvirni znanstveni članki (1157), občutno manj pa je objavljenih znanstvenih prispevkov na konferenci (281), preglednih znanstvenih člankov (257) in kratkih samostojnih prispevkov (167). Preostali znanstveni dosežki se porazdelijo med poglavja v monografijah, uredništva in patente. Po merilih znanstvene uspešnosti kar 675 (34 %) objavljenih del spada v najvišjo kategorijo (1A1).

V nadaljevanju nekoliko podrob-

▼ Omrežje soavtorstev evidentiranih raziskovalcev s področja 3.01 Mikrobiologija in imunologija. Omrežje vključuje tudi raziskovalce z drugih znanstvenih področij in mednarodna sodelovanja. Zaradi boljše preglednosti smo pri prikazu upoštevali samo avtorje, ki so sodelovali vsaj pri petih znanstvenih prispevkih. Glede na vzorec podobnosti soavtorstev lahko iz omrežja izluščimo 18 skupnosti. Vsaka skupnost je na sliki predstavljena z drugo barvo. Največje skupnosti sestavljajo raziskovalci, zbrani okrog vozlišč "Tomsic M" (34 soavtorjev), "Strle F" in "Avsic-Zupanc T" (27) in "Poljak M" (25). Najmanjšo skupnost sestavlja vozlišče "Harlander M" in "Turel M".



neje opišemo glavne lastnosti treh največjih skupnosti. V omrežju je najmočnejše zastopana skupina sodelavcev prof. dr. Matija Tomšiča ($n = 34$ soavtorjev), s Kliničnega oddelka za revmatologijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. V podatkovni bazi SICRIS ima prof. dr. Matija Tomšič kot ključne besede: raziskovalne dejavnosti navedeno: avtoprotitelesa, Sjogrenov sindrom, vaskulitis in avtoimunost.

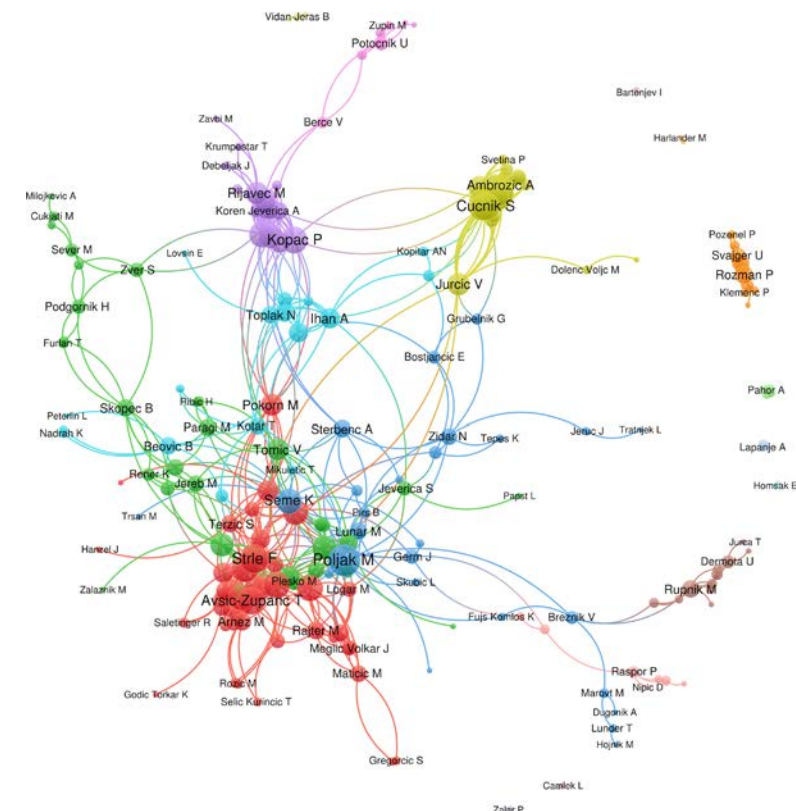
Sledi skupnost avtorjev, za katero je značilno manjše število vozlišč z izrazito močnim vzorcem povezanosti. Tipični predstavniki skupnosti so prof. dr. Franc Strle s Klinike za infekcijske bolezni in vročinska stanja Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana ter prof. dr. Tatjana Avšič-Županc in prof. dr. Miroslav Petrovec z Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete na Univerzi v Ljubljani. V podatkovni bazi SICRIS ima prof. dr. Franc Strle kot ključne besede: raziskovalne dejavnosti navedeno: lymfska borelioz, klopni meningoencefalitis, človeška granulocitna erlihoza, okužbe osrednjega živčnega sistema; prof. dr. Tatjana Avšič-Županc in prof. dr. Miroslav Petrovec pa imata oba navedene enake ključne besede, in sicer: virusne hemoragične mrzlice, klopno prenosljivi mikroorganizmi, ekologija, epidemiologija, infekcije, molekularna epidemiologija, patogeniza.

Z Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo pa je tudi skupina prof. dr. Maria Poljaka. Vzorec soavtorstev v skupnosti prof. dr. Poljaka je oblikovan zvezdasto; vodja skupine se ponša z močno usredinjenostjo, povezave med njegovimi sodelavci pa so manj izrazite. Skupnosti lastne tematike so povezane z raziskovanjem detekcije virusov z molekularnimi metodami, papilomavirusi in karcinomi, ki jih povzročajo virusi. Prof. dr. Mario Poljak ima v podatkovni bazi SICRIS na-

vedene naslednje ključne besede: virologija, molekularna mikrobiologija, hepatitis, HIV, AIDS, humani virusi papiloma in PCR.

Preostale močne skupine, ki so primarno še uvrščene v področje 3.01 Mikrobiologija in imunologija, so: skupina okoli dr. Petra Korošca z Univerzitetne klinike za pljučne bolezni in alergijo Golnik, ki se ukvarja z nepravilnimi imunskimi odzivi, kot so astma, alergijske reakcije, ter skupina okoli dr. Nine Zidar, dr. Emanuele Boštjančič in dr. Jožeta Pižma z Inštituta za patologijo, ki se ukvarja z molekulami RNA in vplivom na izražanje genov in tako raziskovalno področje te skupine sploh ne spada v področje 3.01 Mikrobiologija in imunologija, čeprav imata tako Boštjančičeva kot Zidarjeva to področje navedeno kot primarno. V Mariboru pa delujeta dve skupini, ki imata kot primarno navedeno področje 3.01 Mikrobiologija in imunologija, skupina okoli prof. dr. Maje Rupnik z NLZOH, ki proučuje črevesno mikrobioto in patogene bakterije s poudarkom na bakteriji *Clostridioides difficile* in proti metilinu odporne *Staphylococcus aureus*, ter skupina okoli prof. dr. Uroša Potočnika z Medicinske fakultete Univerze v Mariboru, ki se ukvarja s farmakogenomiko ter zato prav tako ne sodi v domeno 3.01 Mikrobiologija in imunologija.

Na sliki desno je dodatno prikazano omrežje sodelovanj med evidentiranimi raziskovalci, pri čemer smo ohranili samo avtorje, ki so uvrščeni na področje 3.01 Mikrobiologija in imunologija. Tudi na tem prikazu je velikost vozlišča sorazmerna stopnji vozlišča (tj. številu sodelovanj). Število skupnosti je sicer enako kot na zgornjem prikazu, nekoliko pa se spremeni njihova velikost. Omrežje je dobro povezano, vendar bo pozoren bralec opazil nekaj manjših skupnosti in osamelcev; gre za avtorje, ki sodelujejo izključno z raziskovalci



na drugih znanstvenih področjih.

Zaključek

Analiza omrežja soavtorstev slovenskih raziskovalcev na ARRS-jem raziskovalnem področju 3.01 Mikrobiologija in imunologija v zadnjem petletnem obdobju razkriva bogato strukturo povezanosti. Domači raziskovalci so, kljub razmeroma homogenim skupnostim, znotraj katerih ustvarjajo, dobro integrirani v sorodna znanstvena področja in močno vpeti v mednarodno sodelovanje. Je pa opravljena analiza razkrila, da nekateri raziskovalci dejansko raziskujejo na drugem področju, kot ga imajo navedenega v podatkovni bazi, in da bi bilo smiselno, da ARRS vse raziskovalce pozove, naj posodobijo svoje podatke v njegovi podatkovni bazi.

Predstavljena analiza ni izčrpna in še zdaleč ne zadovolji obsega klasičnega bibliometričnega članka. V prispevku je predstavljen le

delček rezultatov obsežnejše scientometrične raziskave, ki jo trenutno opravljamo. Več o tem pa v eni od naslednjih števil Mikrobiolog.si.

Viri:

1. Börner K, Contractor N, Falk-Krzesinski HJ, Fiore SM, et al. A multi-level systems perspective for the science of team science. *Sci Transl Med*. 2010;2(49).
2. Olson GM, Zimmerman A, Bos N. Scientific collaboration on the Internet. Cambridge: MIT Press; 2008.
3. Katz JS, Martin BR. What is research collaboration? *Res Policy*. 1997;26(1):1–18.
4. Institut informacijskih znanosti. SICRIS - Informacijski sistem o raziskovalni dejavnosti v Sloveniji. 2021. Dostopno na [kliku](#).
5. Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije. Raziskovalne vede, področja in podpodročja (klasifikacija ARRS). 2021. Dostopno na [kliku](#).
6. Institut informacijskih znanosti. Vzemajna bibliografsko-kataložna baza podatkov COBIB. 2021. Dostopno na [kliku](#).
7. Institut informacijskih znanosti. Tipologija dokumentov/del za vodenje bibliografije v sistemu COBIS. 2016. Dostopno na [kliku](#).
8. Clarivate Analytics. Web of Science Core Collection. 2021. Dostopno na [kliku](#).
9. Van Eck NJ, Waltman L. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*. 2010;84(2):523–538.
10. Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfattah S, Abdellatif M, Abdoli A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy*. 2021;17(1):1–382.

▲ Omrežje soavtorstev evidentiranih raziskovalcev s področja Mikrobiologija in imunologija. V omrežje so vključeni samo raziskovalci z omenjenega področja.

Mikrobiologija v industriji

Obvladovanje mikrobne združbe v klavnicah z namenom proizvodnje varne hrane

Manja Križman¹, Urška Henigman¹, Petra Raspor Lainšček¹

¹Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana

Zakonodaja določa, da morajo biti živali, ki pridejo v klavnico, čiste, zdrave, ustrezno označene in s pravilno izpolnjenimi spremnimi dokumenti, prav tako mora biti poskrbljeno za njihovo dobrobit. Čeprav zakonodaja predpisuje, da morajo biti živali, namenjene za zakol, čiste, pa to ne pomeni, da so brez mikrobiote. Rejne živali glede na okolje vzreje sčasoma pridobijo samosvojo mikrobioto; ta poseljuje predvsem kožo in sluznico ter parklje in črevesje.

Mikrobiotska sestava se lahko razlikuje individualno med živalmi iz iste reje, med samimi rejami in živalskim vrstami. To pomeni, da v klavnico prihaja veliko število različnih bakterijskih združb, ki so lahko nevarne za zdravje ljudi in živali. Po drugi strani pa v klavnico vstopajo tudi zaposleni s svojo mikrobioto, ki jo ob neupoštevanju higienskih standardov занesejo v klavniško okolje. Proizvodno okolje je treba ohranjati čisto, kar predpisujejo določeni zakoni in standardi, to pa je tudi temelj proizvodnje varne hrane.

Zakonodaja, ki ureja zagotavljanje varne hrane, je določena v Uredbi Evropskega parlamenta in Sveta (ES) št. 178/2002 o določitvi splošnih na-

čel in zahtevah živilske zakonodaje [1]. O obstoječih in nastajajočih tveganjih v prehranski verigi ažurno obvešča Evropska agencija za varnost hrane (ang. European Food Safety Authority – EFSA). Klavnica kot izvajalec živilske dejavnosti mora delovati v skladu z Uredbo (ES) št. 852/2004 o higieni živil, po kateri morajo izvajalci živilske dejavnosti zagotoviti, da vse stopnje proizvodnje, predelave in distribucije hrane, ki so pod njihovim nadzorom, izpolnjujejo ustrezne higienske zahteve [2]. Klavnica mora delovati tudi v skladu z Uredbo (ES) št. 853/2004, ki predpisuje posebna higienska pravila za izvajalce živilske dejavnosti, ki proizvajajo živila živalskega izvora [3]. Poleg upoštevanja ustrezne za-

konodaje mora imeti klavnica vzpostavljen tudi sistem HACCP (ang. Hazard analysis of critical control points – analiza tveganj in kritičnih nadzornih točk), ki ga odobri uradni veterinar, odgovoren za nadzor objekta. HACCP je mednarodna metoda za zagotavljanje varne hrane. Določila HACCP so obvezna za vse proizvajalce živil in se uvedejo na osnovi načrta v štirinajstih korakih, ki vključujejo sedem osnovnih načel po mednarodnem sistemu ISO 22000. Gre za sistem spremljanja, ki vključuje programe za varnost živil, HACCP in sistem zagotavljanja kakovosti, s katerim celovito obvladujejo kakovosti v določeni organizaciji. Da klavnica izpolnjuje načela dobre prakse, mora imeti spisan tudi dokument oz. standardni operacijski postopek, ki natančno opisuje postopke glede higienske obdelave trupov zaklanih živali. V dokumentu so podane zahteve glede osebne higiene delavca (trajno vzdrževanje higiene rok in sprotno umivanje), čiščenje in sterilizacijo delovne opreme in strojev (noži, žage, gladila ...), čiščenje osebne varovalne opreme (predpasniki, škornji, čevlji ...), nošenje čiste delovne obleke, navodilo za delo in kontrolo obdelave trupov ter ukrepe ob nepravilnostih. Dokument predpisuje tudi pravila dobre delovne prakse, kot so: klavna linija mora biti v tehnično neoporečnem stanju, delavci morajo nositi delovno obleko in neoporečno osebno higiensko varovalno opremo, pred delom in med njim morajo vzdrževati osebno higieno, med delom ne smejo nositi nakita, na delovnem mestu mora veljati red, po vsaki kontaminaciji noža ga je treba oprati in sterilizirati. Bolne živali se kolje ločeno oz. na koncu klanja – po navodilih uradnega veterinarja [4]. Izvajalci živilske dejavnosti morajo torej preverjati in potrjevati pravilnost postopkov, izvedenih na podlagi načel HACCP in dobre higienske prakse. V ta namen

izvajajo preizkuse, določene v Prilogi I Uredbe (ES) št. 2073/2005 o mikrobioloških merilih za živila [5]. Načela dobre higienske prakse v klavnicah pa ne določajo samo spremljanja mikrobiološke onesnaženosti trupov zaklanih živali in izhodnih surovin, temveč tudi preverjanje higienskega stanja objekta in vzdrževanje osebne higiene zaposlenih. V ta namen izvajalec živilske dejavnosti jemlje brise delovnih površin po čiščenju/ali razkuževanju, preverja, ali voda ustreza kriterijem, določenim v Pravilniku o pitni vodi (Uradni list RS, št. 19/04 in naslednji) [6], jemlje brise rok delavcev in njihove opreme.

Kljub naprednim tehnologijam v klavnicah še vedno lahko prihaja do navzkrižne kontaminacije med sami-

▼ Bris govejega trupa na področju stegna zaradi fekalne kontaminacije. Avtor: Manja Križman



mi tehnološkimi postopki. Bakterije, ki so prisotne v klavnici, delimo na povzročitelje zoonoz in tako imenovane kvarljivce živil. Med povzročitelje

aureus, običajno najdemo na koži in v nosno-žrelni votlini zdravih živali. Druga vrsta bakterij so kvarljivci živil: ti so običajno odporni proti mrazu

»Bakterije, ki so prisotne v klavnici, delimo na povzročitelje zoonoz in tako imenovane kvarljivce živil. Med povzročitelje zoonoz spadajo *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*), *Salmonella* (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*), *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium*, virus hepatitisa E itd.«

telje zoonoz spadajo *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*), *Salmonella* (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*), *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium*, virus hepatitisa E itd. Večina teh bakterij in virusov se nahaja v črevesju, na parkljih in koži oz. perju rejnih živali. Bakterije se na trupu na klavni liniji načeloma ne razmnožujejo, saj temperature

in se v razmerah klavne linije lahko razmnožujejo. V to skupino spadajo bakterije iz rodov *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter*, *Moraxella* in *Lactobacillus*. Te bakterije povzročijo kvarjenje mesa in vplivajo na kakovost mesnih izdelkov, kar se kaže predvsem kot za sveže meso neznačilen vonj. S tehnološkimi postopki, kot so odiranje, gáranje, parjenje in skubjenje, se bakterije lahko v večji meri odstrani, vendar

»Za vzdrževanje higiene klavniškega obrata in zagotavljanje varne hrane imamo predpisano obsežno zakonodajo, ki ureja nadzor od vil do vilic. Pomembno je, da se izvajalec živilske dejavnosti zaveda svojih dolžnosti in nalog in da tudi delavci v klavnici upoštevajo pravila ter opravljajo svoje delo na visoki higieni.«

za to niso ugodne, vendar se njihovo število poveča, če hladna veriga ni zagotovljena do same uporabe živila. Nekatere bakterije, na primer *S.*

lahko pride do ponovne kontaminacije kasneje med razsekom trupa oz. med pakiranjem, če niso upoštevani predpisi dobre higienske prakse [7].

Klavnica predstavlja mesto raznovrstne bakterijske združbe, ki vanjo vstopa z živimi živalmi in tudi delavci. Za vzdrževanje higiene klavniškega obrata in zagotavljanje varne hrane imamo predpisano obsežno zakonodajo, ki ureja nadzor od vil do vilic. Pomembno je, da se izvajalec živilske dejavnosti zaveda svojih dolžnosti in nalog in da tudi delavci v klavnici upoštevajo pravila ter opravljajo svoje delo na visoki higieni. Izvajalec živilske dejavnosti mora poskrbeti za redna izobraževanja, da delavci svoje znanje obnovijo in nadgradijo. S pravilnim rokoivanjem poskrbijo za lastno zdravje in postanejo pomemben člen pri proizvodnji varne hrane. Letošnji 7. junij je bil dan, posvečen varnosti hrane. Potekal je pod sloganom »Varna hrana danes za zdrav jutri«. Varna hrana prispeva k zdravemu življenju, zdravemu gospodarstvu, zdravemu planetu in zdravi prihodnosti. Zanj pa moramo skrbeti vsi v prehranski verigi, od pridelovalcev in predelovalcev do nas, potrošnikov. Tudi potrošniki se moramo zavedati, da hrana lahko vsebuje mikroorganizme, s pravilnim ravnanjem pa lahko sami poskrbimo za varno uživanje hrane.

Viri:

1. Uredba (ES) št. 178/2002 o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane (2002). Klikni za vir.
2. Uredba (ES) št. 853/2004 o higieni živil (2004). Klikni za vir.
3. Uredba (ES) št. 853/2004 o posebnih higienskih pravilih za živila živalskega izvora (2004). Klikni za vir.
4. Kirbiš A, Križman, Raspor Lainšček P. Veterinarsko-sanitarni nadzor klavnih živali in mesa. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2013: 10-12.5.
5. Uredba (ES) št. 2073/2005 o mikrobioloških merilih za živila (2005). Klikni za vir.
6. Pravilnik o pitni vodi (2004). Uradni list RS, št. 19 (3.2.2004). Klikni za vir.
7. Raspor Lainšček P, Križman M. Proces zakola in vpliv na kakovost mesa. Izobraževanje za pridobitev potrdila o usposobljenosti v skladu z 21. členom Uredbe Sveta (ES) št. 1099/2009 o zaščiti živali pri usmrtnosti. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2019.



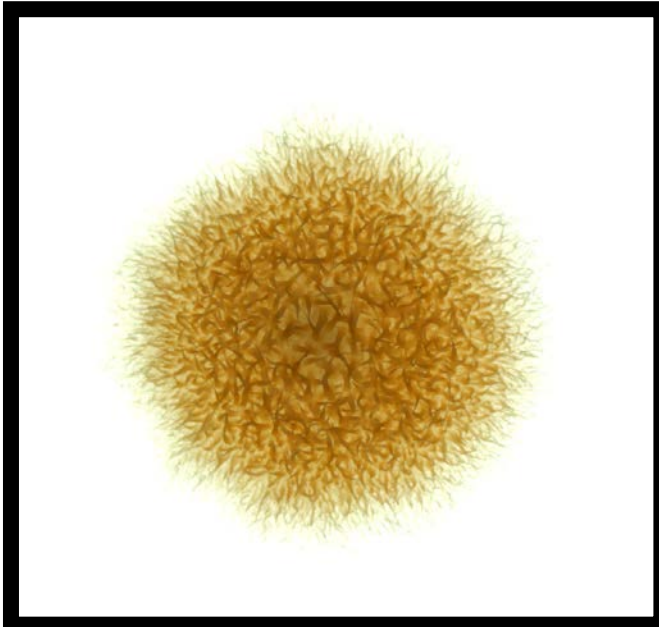
▲ Bris govejega trupa po koncu tehnološke obdelave v klavnici in pred vstopom v hladilnico. Avtor: Manja Križman.

Iskrice v mikrobiologiji

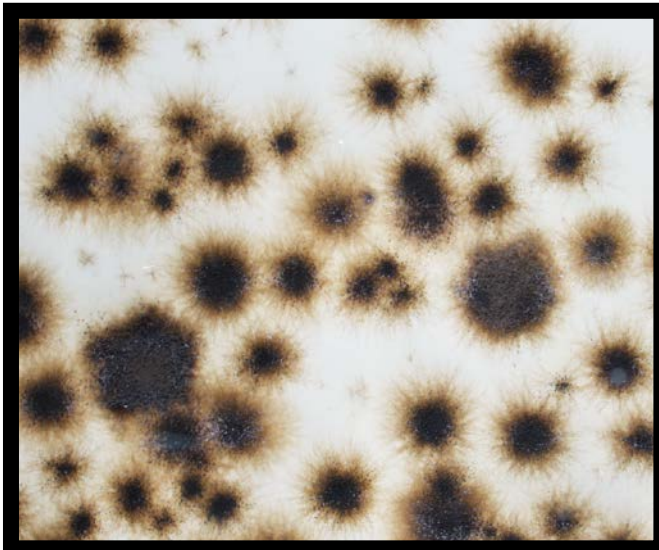
Mikrobiologija v sliki

“You can fool all of the people some of time; you can fool some of the people all of the time, but you can't fool all the people all the time.” Pripisano Abrahamu Lincolnu v reviji The New York Times, Avgust 27, 1887

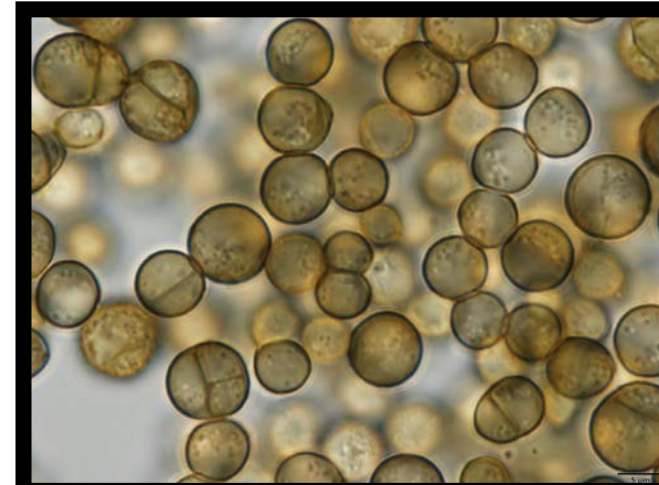
► Kolonija glive *Fusicolla aqueductum* na gojišču MEA. Avtor: Polona Zalar.



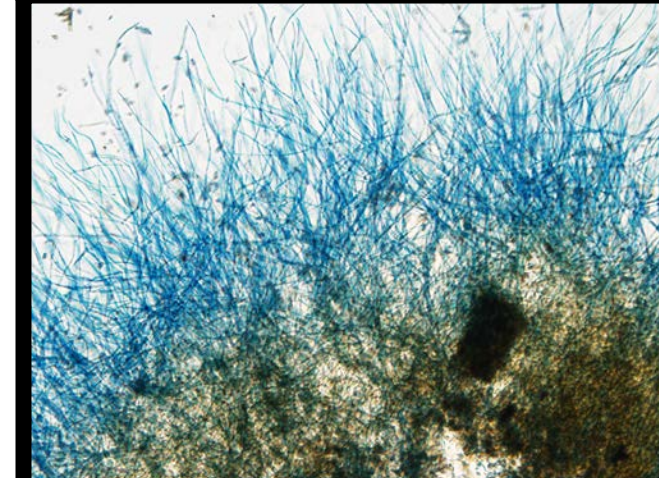
► Kolonije gliv rodu *Cladosporium* – kontaminante umetniške slike na gojišču. Avtor: Polona Zalar.



◄ Kolonija glive *Fusicolla aqueductum* na gojišču MEA. Avtor: Polona Zalar.



◄ Kolonija glive *Fusicolla aqueductum* na gojišču MEA. Avtor: Polona Zalar.



◄ Kolonija glive *Fusicolla aqueductum* na gojišču MEA. Avtor: Polona Zalar.



Mikronostalgijska

Slovensko mikrobiološko društvo – včeraj, danes, jutri

prof. dr. Maja Rupnik

Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, NLZOH, Maribor, in Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Ta prispevek verjetno berete kot član Slovenskega mikrobiološkega društva (SMD), saj je objavljen v glasilu SMD, ki je letos pričelo izhajati.

Kot dolgoletna aktivna članica društva, članica več upravnih odborov in predsednica društva v dveh mandatih sem bila naprošena, da na kratko povzamem spremembe v delovanju in vlogi društva skozi njegovih dobrih šest desetletij obstoja. Ob naši šestdeseti obletnici je v pripravi zbornik, a je epidemija končno oblikovanje in tisk kar precej zamaknila. Del besedila, ki je predstavljen tukaj, bo objavljen tudi v zborniku. Vendar menim, da se to ne izključuje, saj bo besedilo v elektronski obliki gotovo doseglo večje število naših članov kot natisnjeno.

Kako smo prišli do sem – kratka zgodovina SMD

Sekcija slovenskih mikrobiologov je bila ustanovljena 8. 4. 1958. Delovala je znotraj Jugoslovanskega mikrobiološkega društva (JMD), ki je bilo ustanovljeno le dobrega pol leta prej. Prvi statut JMD je navajal naslednje naloge društva: prispevati k napredku mikrobiološke znanosti, pomagati službenim organom pri promociji gospodarstva, izobraževati svoje člane.

Sekcija se je nato 30. 3. 1963 na občnem zboru preimenovala v Slovensko mikrobiološko društvo (SMD), Jugoslovansko mikrobiološko društvo pa se je preimenovalo v Zvezo jugoslovanskih mikrobioloških društev (SMDJ). Leta 1991 se starejši člani

spominjamo kot tistega, v katerem je ideja samostojne Slovenije postajala vse bolj uresničljiva možnost. Člani SMD so na izrednem občnem zboru 4. 11. 1991 sklenili, da SMD izstopi iz SMDJ in postane samostojno društvo, kar je še en pomemben mejnik v zgodovini društva. To je med drugim omogočilo, da se je društvo samostojno vključevalo v mednarodne zveze društev in je bilo SMD leta 1992 sprejeto v FEMS.

Ob ustanovitvi je bilo v Sekciji slovenskih mikrobiologov 62 članov (22 zdravnikov, 14 agronomov, 10 kemikov, 9 veterinarjev, 7 biologov). Takšna sestava je precej zanimiva in zelo drugačna kot danes, ko prevladujejo predvsem mikrobiologi, ki delujejo v raziskovalnem prostoru, manj je članov s strokovnih področij. Presečišče z medicinsko mikrobiologijo je sicer prisotno, vendar imajo podobno kot v številnih drugih državah zdravniki specializirani medicinske mikrobiologije svoje lastno združenje (Sekcijo za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe pri SZD).

V začetku se je vodstvo SMD in njegovega predhodnika Sekcije slovenskih mikrobiologov selilo med različnimi področji znotraj mikrobiologije, od industrijske in veterinarske do agronomske. Od nastanka do danes je društvo vodilo 15 predsednikov, med njimi sta bila po številu ter dolžini mandatov najaktivnejša prof. Aleksa Cimerman in prof. Peter Raspor.

Aktivnosti društva skozi desetletja

V prvih desetletjih je bilo društvo aktivno pri prirejanju predavanj, tečajev (npr. tečaj svetlobne mikroskopije, statistike ...) in ekskurzij. Kongresi so sprva potekali na jugoslovanski ravni, člani slovenskega društva pa so se srečevali na plenarnih sestankih, ki so vključevali do pet predavanj. Glede na zapise iz zgodovine društva so plenarni sestanki potekali redno (več kot enkrat letno) do leta 1998 (Cimerman, 1999). Medicinski in veterinarski mikrobiologi so se srečevali tudi na posebnih srečanjih, seminarjih. Predavanja za širšo javnost so bila redka; edina omemba, ki sem jo zasledila, je bilo predavanje takratnega člana SMD, prof. Maria Poljaka, februarja 2002 z naslovom *Bioterrorizem – mikroorganizmi kot biološko orožje: iznajdba 21. stoletja ali tisočletna vojaška praksa?*.

Člani SMD so bili aktivni tudi pri organizaciji jugoslovanskih dogodkov, npr. leta 1985 ob 1. jugoslovanskem simpoziju mikrobne ekologije (prof. Megušar). V tretjem desetletju se je pričela tudi organizacija mednarodnih dogodkov. Prvo

mednarodno šolo (Bioreactor engineering) je na Otočcu leta 1987 organiziral dr. Marin Berović. Prvi večji mednarodni kongres pa je že leto prej, 1986, v Ljubljani priredil prof. Megušar: mednarodni kongres mikrobne ekologije (ISME). Pomemben dosežek na tem področju je organizacija prvega kongresa FEMS v Ljubljani leta 2003. Eden od pobudnikov FEMS-ovih kongresov je bil prof. Peter Raspor, takrat generalni tajnik FEMS, ki mu je nato uspelo kongres tudi »pripeljati« v Slovenijo. V času prvega mandata prof. Rasporja se je pričelo intenzivno sodelovanje z mikrobiološkimi društvi iz sosednjih držav, kar se je prav tako odražalo v organizaciji skupnih dogodkov. Z madžarskim društvom je bil organiziran kongres avgusta 2000 – *First joined meeting of the Slovenian society for microbiology and the Hungarian society for microbiology* v Kesthegyu na Madžarskem. S hrvaškim društvom je bil leta 2001 organiziran skupen *Simpozij o zoonozah* v nacionalnem parku Plitvička jezera, organizatorici sta bili prof. dr. Tatjana Avšič Županc (SMD) in

▼ Kongres SMD je bil in ostaja ena od najpomembnejših in najbolj obiskanih dejavnosti društva. Do sedaj je bilo organiziranih osem kongresov.

Kongres	Kraj in datum	Predsednik Organizacijskega odbora
1. kongres slovenskih mikrobiologov	Bled, od 24. do 27. oktobra 1993	prof. dr. Franc Viktor Nekrep
2. kongres slovenskih mikrobiologov	Portorož, od 27. do 30. septembra 1998	prof. dr. Helena Hren Vencelj
FEMS Congres (skupaj z njim poteka 3. kongres slovenskih mikrobiologov)	Ljubljana, od 29. junija do 30. julija 2003	prof. dr. Peter Raspor
4. kongres SMD z mednarodno udeležbo	Portorož, od 19. do 22. november 2008	prof. dr. Darja Barlič Maganja
5. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva (skupja s CEFORM in kongresom SBD)	Maribor, od 12. do 15. oktobra 2011	prof. dr. Maja Rupnik
6. kongres SMD	Bled, od 24. do 26. septembra 2014	zn. svet. dr. Matjaž Ocepek
7. kongres SMD	Bled, od 20. do 22. septembra 2017	prof. dr. Romana Marinšek Logar
8. kongres SMD	Spletni kongres, od 23. do 25. septembra 2020	prof. dr. Marjanca Starčič Erjavec

▼ Platnica (prva in zadnja stran) ene od številčk Mikrobiltena, s katerim je Upravni odbor SMD obveščal svoje člane o zanimivostih in aktualnih novicah.

prof. dr. Lijana Pintar (HMD). SMD je nato sodelovalo kot soorganizator pri številnih mednarodnih kongresih skupaj s HMD, npr. *Power of microbes in industry and environment*. Leta 2005 je SMD skupaj s HMD sodelovalo pri organizaciji kongresa *Central European Forum for Microbiology* (CEFORM), pri katerem je bil glavni organizator Madžarsko mikrobiološko društvo.

Običajno kongres SMD poteka vsaka tri leta. V programu so najpogostejše zastopane medicinska mikrobiologija, veterinarska mikrobiologija, zoonoze, rastlinska mikrobiologija, industrijska mikrobiologija, mikrobna ekologija, mikrobiologija živil ter molekularne teme; med navedenimi industrijska mikrobiologija žal ni zastopana tako močno, kot bi si želeli. Kongresni program je včasih organiziran po sklopih, kot so naštetih zgoraj, včasih pa glede na skupine mikroorganizmov (npr. Virološki dan) ali pa glede na interakcije mikroorganizma z gostiteljem oziroma okoljem

(Mikrob in zdravje, Mikrob in okolje, Mikrob in tehnologija). Že zgodaj se je pokazala potreba, da društvo deluje tudi na področju terminologije in **Terminološka komisija** je bila ustanovljena 1961 v okviru slovenske sekcije Jugoslovanskega mikrobiološkega društva ter deluje neprekinjeno do danes. V začetku svojega delovanja je bilo društvo aktivno tudi pri izdajanju publikacij. Gotovo je najpomembnejša med njimi **Mikrobiološki terminološki slovar**, ki je izšel julija 1994, danes pa je na voljo spletna različica, dostopna na spletnem slovarskem portalu Termania (<http://www.termania.net>). SMD je izdalo precej **zbornikov in knjižic**, ki so dobro navedeni v virih v prispevku Cimerman in sod (2010a): *Knjižica o sterilizaciji* (1977, uredil I. Brglez); *Gojitev evkariontskih celic* (1994, uredila Filipič Bratko in Ravnikar Maja); *Gojitev evkariontskih celic : Načini priprave in uporabe monoklonskih protiteles* (1995, uredili Fi-

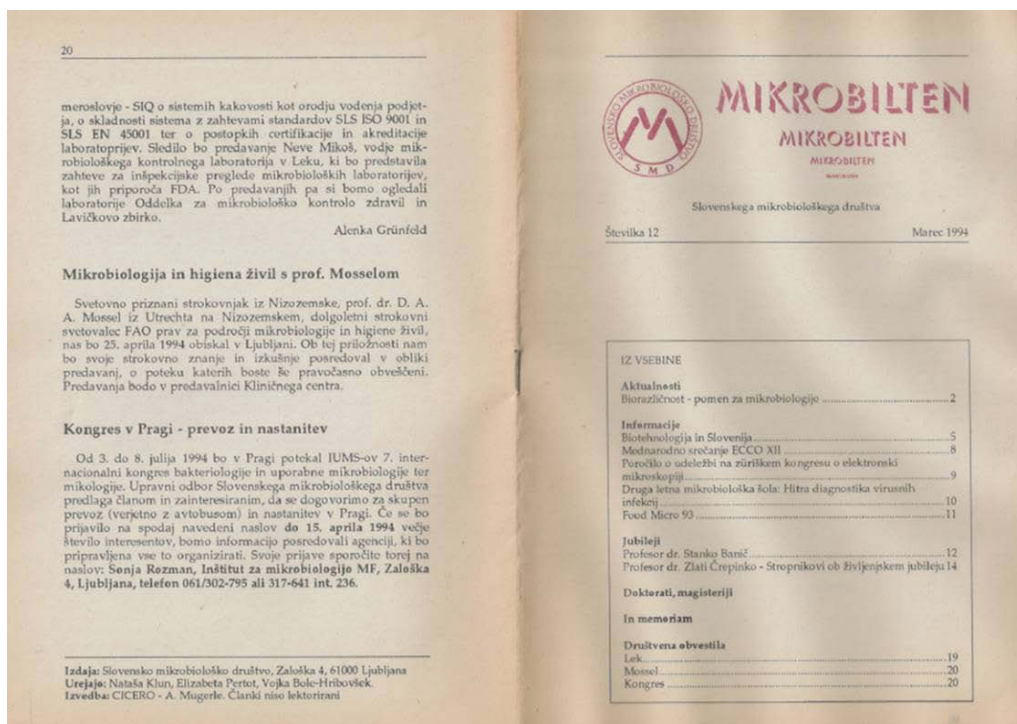
lipič Bratko, Sonja Rozman, Avrelja Cenčič); *Louis Pasteur, 1822–1895* (1996, uredil Borut Drinovec). Ob 40. obletnici je SMD objavil knjižico *Prvih štirideset let Slovenskega mikrobiološkega društva* (Aleksa Cimerman, 1999), ob 50. obletnici pa je SMD skupaj z Biotehniško fakulteto izdal zbornik (Raspor in Matos, 2010). Ob izidu prve številke EnoVIC SMD pa ne moremo mimo **Mikrobiltena**. To je bila manjša brošura z novicami in zanimivostmi, s katero je vodstvo društva komuniciralo s člani. Prva številka je izšla maja 1990. Od leta 1990 do junija 1999 je izšlo 23 številčk, za kasnejša obdobja ni podatkov. V letu 2000 se je pričela komunikacija s člani premikati v spletni prostor. Prva spletna stran društva (<http://www.bfro.uni-lj.si/smd/>) je ob pomoči nekaterih študentov pričela objavljati vesti 1. decembra 1998. Kasneje, v letu 2000, se je preselila na spletni naslov <http://www.bfro.uni-lj.si/gost/smd/> in leta 2003 na sedanji naslov www.smd.si.

Ekskurzije po Sloveniji ali v druge države so bile pogoste. Skorajda ni bilo inštituta ali tovarne, ki se je ukvarjala z dejavnostjo, povezano z mikrobiologijo, in si je društvo ne bi ogledalo. Organizirali so tudi ekskurzije v Italijo in Francijo, kjer so si člani prav tako ogledali tovarne in akademske ali druge institucije, povezane z mikrobiologijo. Zadnja mednarodna ekskurzija je bila leta 1997 v Francijo (Po poteh Louisa Pasteurja).

Člani SMD so tudi aktivno sodelovali pri pripravah podiplomskih in dodiplomskih študijev mikrobiologije (Nekrep, 2013). Podiplomski medfakultetni študij mikrobiologije se je pričel leta 1974, prva generacija dodiplomskega medoddelčenega študija mikrobiologije na Biotehniški fakulteti pa se je vpisala oktobra leta 1993. Sodelovanje z Društvom

študentov mikrobiologije (DŠMBS) ima dolgo zgodovino, a ne zaživi v celoti. Prvi dokumentirani sklep, da se sestankov UO SMD udeleži tudi predsednik študentov mikrobiologije, sega v leto 2002. SMD kot sponzor aktivno podpira številne dogodke, ki jih organizira DŠMB. Prav tako so študenti mikrobiologije vabljeni, da postanejo tudi člani SMD, saj je delovanje obeh društev komplementarno. V zadnjih desetih letih se je delovanje društva usmerjalo v vse že znane aktivnosti in dodajalo nove. Organizirali smo tri kongrese. Število društvenih predavanj se navidezno sicer zmanjšuje, a naši člani imajo številne goste, gostitelji predavanj pa so nato katedre in redkeje društvo. Vsako leto je organiziran vsaj en večji dogodek. V mandatu Petra Rasporja smo imeli 1. Mikrobiološki večer, v mandatu Matjaža Ocepka 2. Mikrobiološki večer z okroglo mizo *Prihodnost mikrobiologije – lokalno in globalno*. Raziskave v okviru raziskovalnih programov s področja mikrobiologije smo spoznali na dogodku Mikrobiologija se predstavi (2016), delo mladih raziskovalcev ali doktorjev znanosti pa na dogodku Mladi mikrobiologi se predstavijo (2018). Pri organizaciji kongresov uspešno sodelujemo s Hrvaškim mikrobiološkim društvom (CESAR; Power of microbes in industry and environment). Naši kongresi so sicer nacionalni, a sta na 7. kongresu SMD 2017 obe društvi (SMD in HMD) soorganizirali en dan v programu (Virology Day).

Ekskurzije so bile redkeje kot v preteklosti, izvedli smo le dve, in sicer leta 2011 v Pivovarno Laško, kjer je bila naša gostiteljica Nataša Kočar, ter leta 2015 na Univerzo na Primorskem, kjer je bila naša gostiteljica prof. Darja Barlič Maganja. Dva skupna pohoda smo organizirali tudi s HMD; najprej na Veliko planino avgusta 2015 in naslednje



leto skupni izlet članov v Samoborsko gorje.

Eden od opaznejših premikov pri delu društva je znatno intenziviranje **popularizacije mikrobiologije**. SMD vsako leto sodeluje na *Znanstivalu*, za kar gre zahvala predvsem Ani Cerar, zagnanim študentom mikrobiologije ter nekaterim članom SMD, ki pomagajo pri pripravi gradiva. Med leti 2011 in 2014 smo skupaj s Hišo eksperimentov pripravili niz trinajstih predavanj in poslušalce seznanjali z zanimivostmi iz sveta mikroorganizmov. Organizacijo predavanj sta koordinirali Maša Vodovnik in Ana Cerar. Leta 2017 je bila v Univerzitetni knjižnici Maribor na ogled manjša razstava fotografij mikroorganizmov, ki sta jo pripravila Maja Rupnik in fotograf Matjaž Wenzel. Fotografije so bile uporabljene tudi za pripravo koledarja za leto 2018, ki so ga vsi člani prejeli na kongresu septembra 2017. V letu 2020 smo izdali knjigo esejev **Majhno, manjše, najmanjše** v kateri je devet avtorjev, članov SMD, v poljudnih esejih predstavilo svoje poglede na področje mikrobiologije, s katerim se ukvarjajo.

Videti je, kot da je slovenska mikrobiologija dočakala tisto točko v razvoju, ko nima več le nekaj izstopajočih posameznikov, pač pa slovenski mikrobiologi redno objavljajo svoje rezultate v najboljših revijah. V preteklih nekaj letih so številni člani SMD prejeli tudi prestižne državne nagrade. Akad. prof. dr. Tatjana Avšič Županc je leta 2016 za pomembno odkritje v patogenezi virusa zika prejela državno priznanje jabolko navdiha. Prof. dr. Peter Raspor je v letu 2018 za svoj doprinos prejel državno odličje medalja za zasluge. Kar štiri članice SMD pa so v tem desetletju prejele eno izmed najvišjih priznanj za znanstveno delo, in sicer Zoisovo priznanje: leta 2014 prof. dr. Maja Rupnik, leta 2017 prof. dr. Ines Mandič Mulec in leta 2018 izr. prof.

dr. Mojca Benčina in prof. dr. Nina Gunde Cimerman.

Tudi SMD ima svoja društvena priznanja. Ta so pomemben način, kako društvo obeleži dosežke ter doprinos svojih članov. Pravilnik o podeljevanju Plenčičevih odličij in priznanj je upravni odbor društva sprejel leta 1994. Odlikovanje je izdelal akademski slikar Milan Batis, SMD je odkupil avtorske pravice. Prva odličja in priznanja so bila podeljena leta 1996 ter nato še leta 1998. Leta 2009 je UO SMD s predsednikom Petrom Rasporjem sprejel nov pravilnik, s katerim je uveljavil več kategorij Plenčičevih nagrad in priznanj. Priznanja so bila nato podeljena v letih 2010, 2012, 2014, 2017 in 2020, prejemniki pa so predstavljeni na spletni strani društva. V letu 2019 je društvo pričelo podeljevati nagrade za najmagisterij s področja mikrobiologije. Vključeni so magisteriji študentov Medfakultetnega študija mikrobiologije in drugih študentov, če so mentorji člani SMD. Društvo zaradi ugodnega finančnega položaja lahko (ponovno) podeljuje štipendije; štipendija je namenjena kritju stroškov udeležbe na kongresih oz. delavnicah. Prvič so bile podeljene že leta 1994, nato pa 2014. Od 2018 društvo razpisuje letni natečaj za od tri do štiri štipendije za udeležbo na kongresih oziroma delavnicah, vezanih na mikrobiološke teme.

Pomemben dosežek je v letu 2019 pridobljen status društva v javnem interesu, za kar so si prizadevali že vsi trije upravni odbori v preteklem desetletju. Preprosta prijava se je izkazala za manj preprosto, saj se je med postopkom spreminjala zakonodaja, kasneje pa so bili zahtevani različni dokumenti o ustanavljanju in ustanoviteljih, s katerimi pa društvo zaradi uničenega arhiva ni razpolagalo. Doc. dr. Urška Jamnikar Ciglenečki, podpredsednica SMD, je bila tista, ki je v Arhivu

Različne zanimivosti:

Jeseni 1967 prof. Batis v imenu SMD v Solkanu odkrije spominsko ploščo Marku Antonu Plenčiču.

Leta 1973 prof. Megušar na občnem zboru SMD prvič predstavi aktivnosti, povezane z ustanovitvijo medfakultetnega študija mikrobiologije.

Društvo je prvič razpravljalo o možnosti različnih sekcij že leta 1970, a nato sklenilo, naj organizacija ostane enotna.

V letu 1983 je aktivno delovala sekcija industrijskih mikrobiologov.

Logotip SMD je izdelal dr. Marin Berovič kot znak 6. kongresa Zveze jugoslovanskih mikrobioloških društev (SDMJ). Ta znak je postal tudi logotip SDMJ, ker pa je imel SMD avtorske pravice, je kasneje to postal logotip SMD.

Društvo je med člani večkrat izvedlo anketo o tem, katere dejavnosti si želijo; ohranjen je zapis o rezultatih ene od njih (leta 1997), ko je društvo prejelo dva odgovora.

RS in drugod zbrala vse potrebno gradivo in uspešno zaključila prijavo. Ta status je pomemben predvsem iz finančnega vidika, ker društvu omogoča, da se prijavlja na različne razpise in tudi, da prejema del dohodnine svojih članov. Finančni vidik pa se nato seveda lahko odraža v pestrejši dejavnosti društva.

Kam gremo – društvo se spreminja

Na slavnostni akademiji ob 60. obletnici SMD smo imeli tudi okroglo mizo *Vloga društvenega delovanja v sedanjih družbi*, na kateri so sodelovali predsednica Slovenskega genetskega društva prof. dr. Darja Žgur Bertok, predsednik Slovenskega biokemijskega društva prof. dr. Janko Kos, predsednik Sekcije za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD prof. dr. Miroslav Petrovec, predsednica SMD prof. dr. Maja Rupnik in predstavnici študija mikrobiologije prof. dr. Romana Marinšek Logar in prof. dr. Ines Mandić Mulec. Vsi smo se strinjali, da se je vloga društev v preteklih letih ali celo desetletjih močno spremenila. Če je bila ob ustanovitvi pomembna strokovna povezanost in je bilo društvo pomemben vir pretočnega strokovnih informacij, smo danes s temi preplavljeni. Društvo postaja bolj okolje, ki ponuja dostop do mednarodnih štipendij in informacij o delovnih mestih, če sodim po vsebini večine objav, ki smo jih poslali našim članom v preteklih letih. Še več, društvo postaja samoumevno. Vemo, da je tukaj, da deluje, in posamezen član ne vidi več pomena svojega doprinosa.

Ko sem spraševala starejše in mlajše kolege, pa tudi samo sebe, zakaj je društvo dandanes pravzaprav pomembno, se odgovori niso prav ponujali. Zato sem se vprašala, kaj pa bi se zgodilo, če mikrobiologi ne bi imeli svojega društva. Poskusite si to za trenutek zamisliti. Mislím, da bi se prav kmalu dobila skupina

mikrobiologov, ki bi se nato večala in večala in večala in nastalo bi društvo. Mikrobiologi potrebujemo prostor, v katerem se lahko družimo, spoznavamo, si pripovedujemo o raznolikih nenavadnostih iz sveta mikroorganizmov, ki nam je tako domač. SMD se bo razvijal naprej, postal bo drugačen. Prav simbolično se bodo naše dejavnosti iz vidnega prostora srečanj, predavanj, kongresov počasi prenesle v virtualni svet. Podobno kot je svet mikroorganizmov, s katerim se ukvarjamo, neviden, se bomo tudi mi preselili v manj oprijemljiv prostor (nevidne) spletne komunikacije s spletnimi novičkami, tviti, Facebookom. Na stoti obletnici SMD bo Mikrobilten iz devedesetih let izgledal že predzgodovinsko, tudi naša spletna komunikacija bo videti okorna in zastarela. Kakšna le bo takrat sedanjost in kakšno bo življenje društva?

Viri:

CIMERMAN A. (urednica). 1999. Prvih štirideset let Slovenskega mikrobiološkega društva, SMD, Ljubljana, april 1999.

CIMERMAN A, DRINOVEC B, RASPOR P. 2010a. Pot SMD in njen vpliv na dogajanje na mikrobiološkem področju v zadnjih 50 letih. V: 50 let SMD: Mikrobiologija od včeraj za jutri, Raspor, P., in Matos, T., (urednika). SMD, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana.

CIMERMAN, A., DRINOVEC, B., GROM, J., RASPOR, P. 2010b. Spomini predsednikov Slovenskega mikrobiološkega društva na čas njihovega predsedovanja. V: 50 let SMD: Mikrobiologija od včeraj za jutri, Raspor, P., in Matos, T., (urednika). Ljubljana, SMD, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana.

NEKREP, F. V. 2013. Začetki študija mikrobiologije na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. V: Mikrobiologija za znanje in napredek, 20 let univerzitetnega študija mikrobiologije. RASPOR, P., (urednik). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, katedra za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil.

Mikropesem

Konec nekega poletja...

Poletje se umika,
svoboda se zatika.

Vlada spotika,
družba že vika.

Politiki so slika,
ki se narodu dobrika.
Prevlada pa klika,
skrita izza vidika.

Kultura je v kleti,
krmljena z obeti.
Duhovnost več ne sveti.
Ljudje so prizadeti.

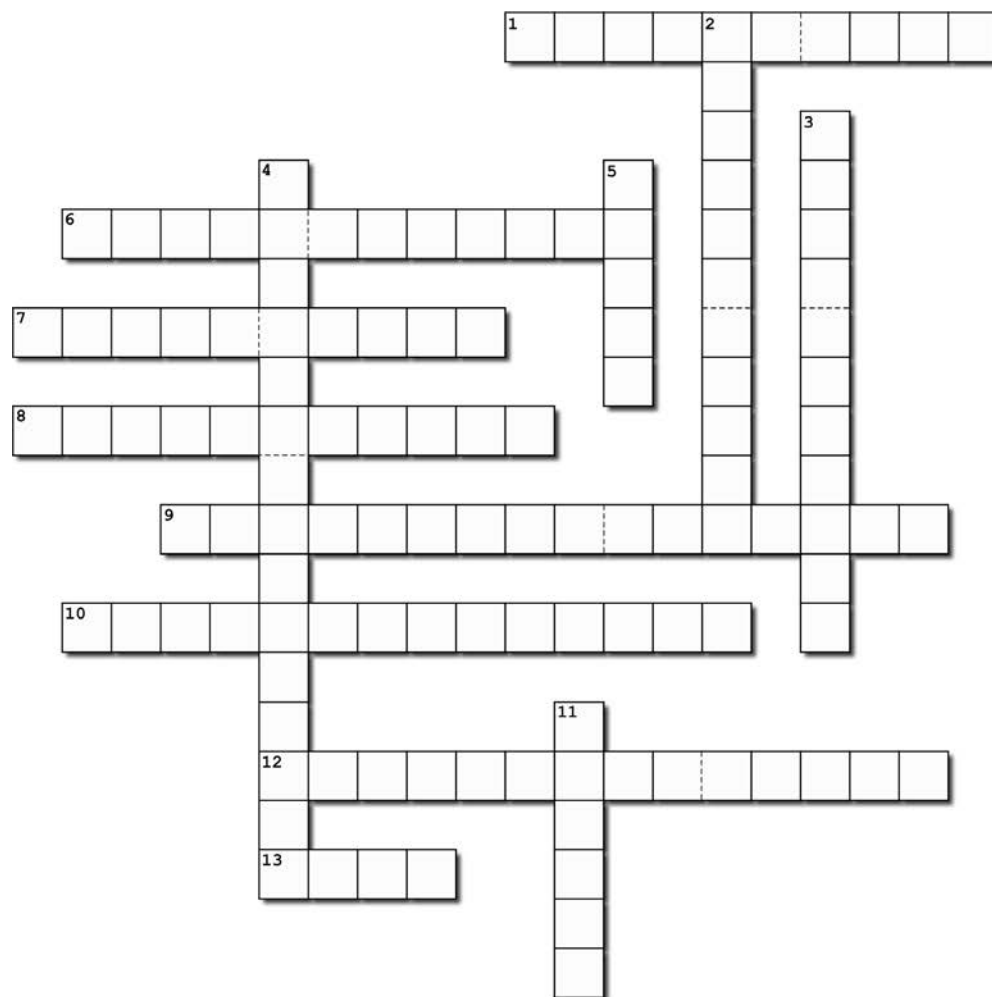
Znanje ni sadika,
individualizem sika.
Ni več rešenika,
črni se sodnika.

Svoboda jih ovira,
zdravje nam vsem hira,
ljudstvo nam umira,
grenka bo ta bira.

Pustošenje se vzpenja,
podnebje se menja.
Pohlep pa ne jenja,
ljudstvo se drenja.

Misleci so prazni,
rešitelji porazni,
zločinci brez kazni,
konec bo v spazmi.

(Peter Raspor, 4. 1. 2021 zaključena 16. 8. 2021)



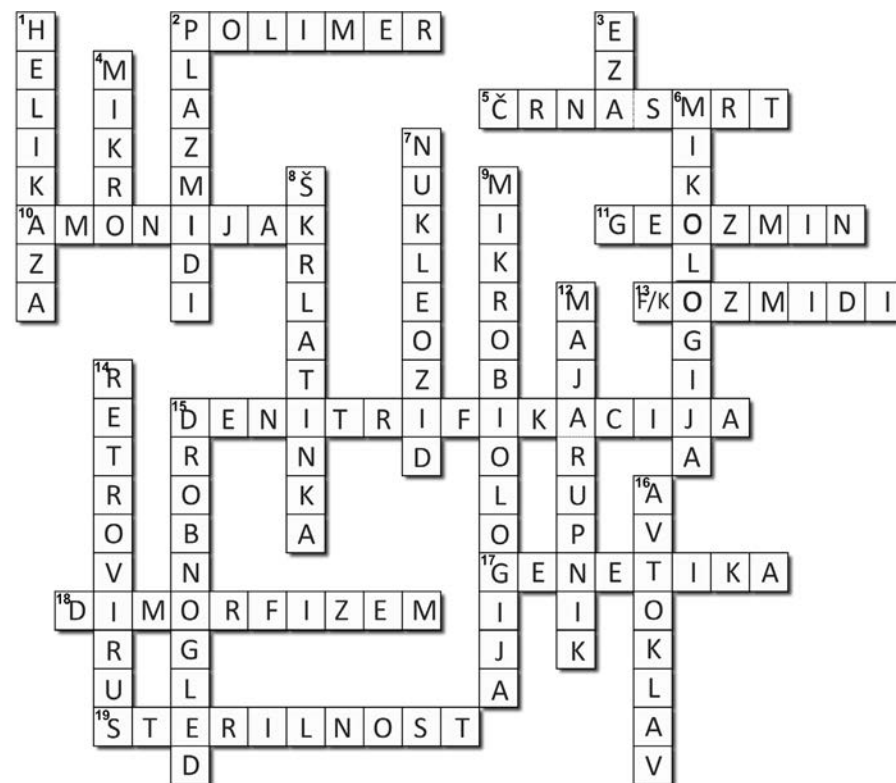
Vodoravno

1. Odkritelj antraksa, tuberkuloze in kolere
6. Francoski mikrobiolog in kemik, znan po postopku, s katerim se prepreči kvar mleka
7. Izumiteljica agarja za mikrobiološko uporabo
8. Pionir okoljske mikrobiologije
9. Odkril je lizocim in penicilin
10. Izumitelj mikroskopa
12. Odkrila je streptomycin
13. Znan po barvanju, ki loči bakterije glede na debelino peptidoglikana

Navpično

2. Odkril je prvo dvojno zvezdo in izboljšal Leeuwenhoekov mikroskop
3. Prva oseba, ki je videla korona virus pod mikroskopom
4. Odkrila je fag lambda
5. Oče knjige Biology of microorganisms
11. Odkril povzročitelja bubonske kuge

REŠITVE KRIŽANKE IZ PRVE ŠTEVILKE:



Vodoravno:

2. Sestavljen je iz ponavljajočih se strukturnih enot
5. *Yersinia pestis*
10. Brezbarven plin neprijetnega vonja
11. Svež zemeljski vonj
13. Vektorji za izdelavo metagenomskih knjižnic
15. Reakcijo povzročajo določene heterotrofne, redko tudi avtotrofne bakterije v odsotnosti kisika
17. Veda o dedovanju lastnosti organizmov
18. Spolna dvoličnost
19. Odsotnost mikroorganizmov

Navpično:

1. Omogoči razprtje dvojne vijačnice DNA
2. Med celicami se prenašajo s transformacijo, transdukcijo ali konjugacijo
3. Mikrobiološka zanka
4. 0.000001
6. Veda, ki se ukvarja z glivami
7. Sladkor in dušikova baza
8. Otroška bolezen, *Streptococcus pyogenes*
9. Veda o mikroorganizmih
12. Pretekla predsednica društva SMD
14. Genom je iz dveh enakih molekul linearno pozitivne polarne enovijačne RNK
15. Mikroskop
16. Parni sterilizator