

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/88



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z1-2190
Naslov projekta	Virulentnost bakterij <i>Campylobacter</i> v modelu: okoljski stres - celične linije
Vodja projekta	22491 Anja Klančnik
Tip projekta	Z Podoktorski projekt
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	06.2013 - 07.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.03 Biologija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Potrošniki želimo in imamo pravico kupovati in uživati le kakovostno hrano, pri čemer je pomembna mikrobiološka neoporečnost živil v celotni živilsko predelovalno oskrbovalni verigi. Bakterije *C. jejuni* so vodilni povzročitelji črevesnih okužb ljudi v razvitih državah. Glavni vzrok je kontaminirana hrana. Do kontaminacije mesa pride med zakolom živali, vzrok epidemij sta tudi kontaminirana voda in mleko, saj je infektivna doza zelo nizka. Zaradi naraščajoče odpornosti proti antibiotikom se intenzivno razvijajo nove tehnologije in sredstva za omejevanje kontaminacije s *C. jejuni* in/ali zdravljenje okužb. Med nova protimikrobna sredstva sodijo tudi naravne rastlinske učinkovine. Delovanje antibiotikov je dobro poznano, delovanje rastlinskih derivatov fenolnih in terpenskih spojin na bakterije *Campylobacter* pa še

dokaj neraziskano. Tekom projekta smo za bakterije *Campylobacter* opisali kompleksen mehanizem izlivnih sistemov, vključenih v odpornost proti rastlinskim učinkovinam. Učinkovitosti naravnih fenolnih spojin proti bakterijam rodu *Campylobacter* tako podaja potencialne protimikrobne učinkovine za zagotavljanje varnosti v živilski proizvodno-oskrbovalni verigi in/ali za preprečevanje in zdravljenje mikrobni okužb. Dokazali smo, da lahko te spojine delujejo tudi kot modulatorji bakterijske odpornosti proti drugim protimikrobnim snovem, zato so še toliko bolj zanimive alternativne protimikrobne snovi.

Varnost živil ogroža tudi prilagoditev bakterij na okoljski stres, ki se odraža v boljši preživelosti in večji virulentnosti patogenih bakterij. Stres pa vpliva tudi na gostiteljske (črevesne) celice in poveča ali zmanjša njihovo občutljivost. Kljub visoki prevalenci bakterij *C. jejuni* in kampilobakterioz je stresni odziv teh bakterij slabo poznan. Ne vsebujejo mehanizmov prilagoditve drugih bakterij, prenosljivih s hrano, a strese zaznajo, povečajo odpornost s spremembo morfologije, tvorbo VBNC, sintezo proteinov in virulentnih dejavnikov. Tekom projekta smo potrdili vpliv kombiniranega okoljskega stresa in protimikrobnih snovi na različnih fizioloških nivojih mikrobni celic na modulacijo virulence bakterij rodu *Campylobacter* ter vpliv izbranega naravnega dodatka na modelne gostiteljske črevesne celice. Ključno vlogo stresnega odziva smo potrdili tudi na živalskem modelu mišk preko modulatorne vloge tvorbe IFN γ , ki je znan kot pomemben dejavnik pri patogenezi infekcije in nakazuje vlogo v začetnem imunskem odzivu. Odziv kampilobaktrov je nujen za preživetje v gostitelju ter s tem na njihovo patogenost, kar lahko vpliva tudi na zdravje ljudi in živali.

ANG

The consumers wish and have right to buy only the food products of high quality. One of the critical points for this is microbiological safety along food production and supply chain. *Campylobacter* spp. cause food-borne illnesses worldwide due to contaminated food and cross-contamination. Meat contamination is usual during slaughtering, but contaminated water or milk could cause the outbreak due to low infection dose. New antimicrobials are needed to control the prevalence of *C. jejuni*, and for clinical treatment of campylobacteriosis. Plant derived phenolic and terpen derivatives have been recognized as alternative antimicrobials. However, while the target site activities of most antibiotics are well known, the killing mechanisms of these natural plant compounds in *Campylobacter* spp. remain largely unknown. During the project we demonstrated that complex efflux mechanisms, which are involved in the resistance of *C. jejuni* to phenolic compounds and extracts of plant phenolics. These findings represent the first comprehensive evaluation of the anti-*Campylobacter* and modulatory activities of natural phenolics and suggest that alternative compounds can be further developed to control *Campylobacter* contamination in food production and processing, or as therapeutics for clinical treatment of campylobacteriosis. These compounds can also target efflux pumps and export of antibacterial drugs out of bacterial cells, so that they are even more interesting alternative antimicrobials.

The problem concerning food safety is at least partly the consequence of microbial adaptation to environmental stress resulting in the increased survival and virulence properties of pathogenic bacteria. In addition, stress has an impact on increased/reduced sensitivity of the host (intestinal) cells. Despite high incidence, the response of campylobacters is not clear yet. They do not possess the mechanisms of other food-borne pathogens, but they sense and react to stresses with morphology changes, VBNC formation, synthesis of proteins and virulence factors. During the project we determine the combined influence of environmental stress/antimicrobial agent on different levels of microbial physiology and virulence of *Campylobacter*; and determine the influence of selected additives to the survival of campylobacters in an *in vitro* cell culture model of and host epithelium. The most pronounced differences were confirm also including *in vivo* experiments with mice as use models for investigating pathogenesis of experimental campylobacteriosis. Interferon and interleukin 10 productions thus indicate their roles in the immune response to *C. jejuni* infection. The study of environmental impact on bacterial virulence reveals that microbial adaptation during stress challenge is crucial not just for pathogen survival out of the host, but also during host-pathogen interactions, and thus for the bacterial pathogenicity.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Podoktorski projekt je zaradi dveh porodniških dopustov ter dopustov za nego in varstvo otroka potekal med štirimi koledarskimi leti: meseci 1-12 (1.5.2009-22.4.2010), meseci 13-19 (22.5.2011-31.12.2011), meseci 19-22 (1.1.2012-1.4.2012), meseci 22-24 (1.6.2013-31.7.2013). Tekom podoktorskega projekta je moje raziskovalno delo na patogenih bakterijah *Campylobacter*, ki se zlahka prenašajo v prehransko verigo človeka, potekalo zelo aktivno na

vseh predvidenih področjih, kar je dalo veliko zanimivih rezultatov. Skladno s postavljenimi temeljnimi cilji projekta so bile opravljene sledeče aktivnosti po sklopih.

WP1: Raziskava vpliva stresnih razmer na fiziologijo in preživetje mikrobnih celic

Ovrednotili smo vpliv okoljskih stresov na preživetje kampilobakterjev (sklop 1.1) ter njihov odgovor na protimikrobne snovi (sklop 1.2) in prehod v odpornejša stanja (sklop 1.3).

Z vpeljanimi metodami ugotavljanja živosti z barvilom *Live/Dead BacLight*, spremljanjem metabolne aktivnosti (npr. znotrajcelična oksidacija, encimska aktivnost), elektronskim mikroskopiranjem in drugimi metodami smo potrdili, da izpostavitve bakterija *C. jejuni* stradanju, temperaturnemu ali oksidativnemu stresu vpliva na fiziološke in morfološke spremembe celic. Predhodno stradana kultura se na dodatne strese prilagodi s prehodom v stanje VBNC ter zmanjšanim metabolizmom. Vendar pa slednja ne predstavlja spečega stanja celic, kar smo dokazali s povečano odpornostjo stradanih celic na toplotni in peroksidni stres. Za spremljanje vpliva protimikrobnih snovi smo objavili natančnejše in bolj občutljive metode mikrodilucije za kampilobakterje, na osnovi ugotavljanja prisotnosti ATP, metabolne aktivnosti z reagentom INT in pretočno citometrijo ter tako definirali najnižje inhibitorne koncentracije (MIK) [Klančnik in sod., *J Food Prot* COBISS.SI-ID 3604088; *J Microb Methods* COBISS.SI-ID 3836536]. Največ pa nam o delovanju izvlečkov povedo kinetika inhibicije rasti ter morfološke spremembe, ki so pokazale prehod celic iz spiralne v druge oblike, vpliv na deljenje, ter nastanek por v celični ovojnici, a ne prehoda v stanje VBNC. Z vpeljavo nove metode testiranja z 'food microdilution' oz. metodo mikrodilucije v modelnih živilih [Klančnik in sod., *Int J Food Sci Technol* COBISS.SI-ID 3836536] smo dopolnili metodološke nejasnosti v literaturi na tem področju ter tudi ovrednotila njihovo uporabnost v proizvodni verigi za zmanjšanje števila kampilobaktrov v proizvodni verigi živil [Piskernik in sod., *Food Control* COBISS.SI-ID 3773560].

Preko sodelovanja, vzpostavljenega s prof. dr. Qijing Zhang (Iowa State University, ZDA) sem z metodo naravne transformacije pridobila tri mutante v tarčnih genih *cmeB*, *cmeR* in *cmeF* membranskih izlivnih črpalk, vključenih v odpornost kampilobaktrov. Preko primerjave z divjim tipom ter uporabo inhibitorjev membranskih izlivnih črpalk (PAβN, NMP, CCCP, Verapamil, Reserpine) sem predstavila pomembne ugotovitve o molekularnih mehanizmih odpornosti ter mehanizmu protimikrobnega delovanja snovi rastlinskega izvora. Kot prvi smo ovrednotili aktivno vlogo izlivnih sistemov *CmeABC* in *CmeDEF* na pridobljeno odpornost proti naravnim protimikrobnim učinkovinam [Klančnik in sod., *PLoS one* COBISS.SI-ID 4160120]. Preko sodelovanja s prof. dr. Franz Bucarjem (Karl-Franzens-University Graz, AU) pa sem mehanizem protimikrobnega in potencialno modulatornega delovanja preizkusila tudi na izvlečkih *Alpinia katsumadai* [Klančnik in sod., *J Appl Microbi* COBISS.SI-ID 4120696]. Naravni izvleček *Alpinia katsumadai* smo uspešno uporabili tudi na končnem živilu (mletem mesu), v katerem je inhibiral rast patogenih bakterij [Klančnik in sod., *J Sci Food Agric* COBISS.SI-ID 4334968].

Vse te objave nakazujejo nujnost poznavanja odziva bakterij na naravne protimikrobne učinkovine ter poznavanja mehanizmov delovanja in mehanizmov, ki prispevajo k odpornosti, tudi v biofilmu bakterij [Smole Možina in sod., *Biofilms Bioengi Book*, COBISS.SI-ID 4286584]. Iz te osnove smo z namenom razvoja učinkovite in varne strategije za preprečevanje okužb s kampilobaktromi raziskave razširili tudi na modulatorno delovanje bioaktivnih učinkovin za učinkovit nadzor patogenih bakterij. Dokazali smo modulatorno aktivnost bakterijske odpornosti čiste bioaktivne učinkovine epigalokatehin galata ter naravnega izvlečka *Alpinia katsumadai* [Kurinčič in sod., *Int J Antim Agents* COBISS.SI-ID 4119160; Klančnik in sod., *J Appl Microbi* COBISS.SI-ID 4120696].

WP2: Raziskava *in vitro* celičnih modelov za testiranje virulentnosti bakterij *Campylobacter*

Ž vključitvijo treh *in vitro* celičnih modelov Caco-2, Makrofage J774 ter PSI celice (sklop 2.1) smo ovrednotili vpliv okoljskih stresov na njihovo integriteto (sklop 2.2) in virulentnost bakterij *C. jejuni* (sklop 2.3) ter indukcijo stresnega odgovora (sklop 2.4).

Potrdili smo vpliv stresnih razmer na virulentnost bakterij *C. jejuni*, ne glede na uporabljeno celično linijo. Oksidativni stres je povečal vezavo, vstop ter tudi preživetje bakterij znotraj celic Caco-2 [Klančnik in sod., *Res Microbi* COBISS.SI-ID 3635064]. Medtem ko so bakterije uspešno vstopile v celice makrofagov, pa pričakovano niso bile spodobne dolgotrajnega preživetja [Šikić Pogačar in sod., *Int J Food Microb* COBISS.SI-ID 3532920]. Toplotni stres je povečal sposobnost adhezije pri model ptičjih črevesnih celic epitelij (PSI), medtem ko jo je oksidativni stres zmanjšal. Stradanje je negativno vplivalo na vse virulentne sposobnosti. Prav tako nismo dokazali korelacije med prehodom preko polariziranih celic epitelija ter

transepitelno električno upornost pri celičnih linijah PSI. Poleg adhezije ter invazivnosti smo predstavili nove metode prehoda kampilobakterjev preko polariziranih epitelnih celic (TER) in transepitelno električno upornost za spremljanje vpliva bakterij na celično integriteto [Šikić Pogačar in sod., *Foodborne Pathog Disease* COBISS.SI-ID 3737720]. Kratkotrajno stradanje je tudi spodbudilo stresni odgovor bakterij ter prehod celic v stanje VBNC, za katerega smo dokazali da kljub zmanjšanemu metabolizmu povzroči pridobitev navzkrižne odpornosti. Vendar pa smo bakterijam v potencialno kritični obliki za povzročitev bolezni dokazali zmanjšane virulentne aktivnosti ter s tem zmanjšano infektivnost.

WP3 in WP 4 Optimizacija *in vivo* živalskega modela za študij virulentnosti bakterij *Campylobacter* ter spremljanje lokalne/ sistemske kampilobakterioze

Glede na točko 4.1 smo v sodelovanju z prof. Majo Abram ter Darinko Vučković (Univerza na Reki, Hrvaška) optimizirali mišji *in vivo* model ter ga uporabil pri bakterijah, izpostavljenih stradanju. Ugotovili smo da tudi stradani kampilobakterji lahko povzročijo sistemsko kampilobakteriozo testnih mišk. Vendar pa so bakterije preživele le znotraj jeter in ne v tudi v vranici. Namesto razvoja novega *in vitro* modela s celicami praživali smo se usmerili na ugotavljanje lokalne in sistemske kampilobakterioze ter profila lokalnih in sistemskih citokinov (toksinov). To nam je omogočilo predvsem odlično sodelovanje s prof. Majo Abram ter Darinko Vučković (Univ. Reka, HR), s katerimi smo optimizirali *in vivo* model mišk Balb/c (H2d), ki smo ga uspešno vključili v del raziskave o spremljanju virulentnosti.

Preko bakteriološke analize organov *in vivo* modela mišk smo spremljali kinetiko prisotnosti kampilobakterjev v jetrih in vranici po 1, 3 in 8 dnevih infekcije s predhodno izpostavljenimi stradanju, kisiku, toplotnemu stresu. Zmanjšano infektivnost kampilobaktrov v stanju VBNC smo potrdili tudi v *in vivo* živalskem modelu ter dokazali pomembno vlogo mehanizmov prilagoditve na oksidativni stres pri preživelosti med interakcijo gostitelj-patogen ter s tem vlogo pri patogenezi [Klančnik in sod., *Res Microbi* COBISS.SI-ID 3635064]. Fiziologijo in virulenco kampilobaktrov smo podrobno raziskali tudi preko primerjave *in vitro* ter *in vivo* modelov. Taka primerjava je v literaturi zelo redka, saj se malokrat ekspertize med seboj pokrivajo. Naše znanje, aktivnosti in pridobljeno sodelovanja so nam tako omogočili primerjalno analizo virulentnih dejavnikov (adhezija, invazija, znotrajcelična preživelost, TER) študiranih na različnih celičnih linijah (CaCo2, makrofagai, PSI celice) z lokalne/sistemske kampilobakterioze preko kolonizacije različnih organov (vranica, jetra) *in vivo* modela mišk. Kot smo objavili smo infektivnost kampilobaktrov na celičnih linijah potrdili tudi v BALB/c modelu mišk. Prilagoditev kampilobaktrov na neugodne stresne pogoje je vključena v njihovo podaljšano preživelost pri interakciji gostitelja in patogena ter s tem v njegovo patogenost. Izpostavitve bakterij predhodnemu subletalnemu stresu, ki izzove stresni odziv celic, lahko torej lahko modulira virulentnost kampilobaktrov, ter tako povečuje tveganje tudi v proizvodnji in pripravi živil. Bakterije smo predhodno izpostavili toplotnemu in kisikovemu stresu ter kombinaciji predstradanja in naknadnega kisikovega stresa ter ugotavljali profil citokinov *IL6*, *IL10*, *TNFα*, ter *IFNγ* v jetrih in plazmi. Tako smo kot prvi nakazali vlogo stresnega odziva bakterij v začetnem imunskem odzivu celic [Klančnik in sod., *Foodborne Pathog Disease* COBISS.SI-ID 4242296].

Potrdili smo tudi spremembe virulentnosti bakterij *C. jejuni* kot odgovor na prisotnost naravnih protimikrobnih snovi tako v *in vivo* modlu mišk ter analizo citokinskega profila. Izvedli smo spremljanje kinetike prisotnosti divjega tipa in mutanta *cmeB* v odsotnosti oz. prisotnosti rožmarinskega izvlečka Vivox40 v različnih organih mišk (jetra, vranica) preko bakteriološke analize organov. V plazmi okuženih mišk smo določili nastanek sistemskih citokinov (*IL6*, *IL10*, *IL12*, *TNFα*, *IFNγ*), ter profil primerjali z neokuženimi kontrolnimi miškami [publikacija v nastajanju].

K znanstveni prepoznavnosti stresnega odziva bakterij rodu *Campylobacter*, njihove interakcije z gostiteljem, ter nujnosti razvoja učinkovitih in varnih alternativnih strategij z uporabo naravnih učinkovin za nadzor patogenih bakterij v živilski industriji sem tekom projekta prispevala preko tudi soavtorstva pri 13 znanstvenih člankih (omenjeni zgoraj v poročilu), preko vabljenih predavanj [COBISS.SI-ID 3579256, COBISS.SI-ID 3579512, COBISS.SI-ID 4149624] ter številnih sodelav na mednarodnih kongresih z objavljenimi ali znanstvenimi prispevki [COBISS.SI-ID 3777144, COBISS.SI-ID 4088952] ali povzetki znanstvenih prispevkov [COBISS.SI-ID 4296568, COBISS.SI-ID 4296056, COBISS.SI-ID 4295800, COBISS.SI-ID 4348536, COBISS.SI-ID 4348024, COBISS.SI-ID 4281464, COBISS.SI-ID 4091256, COBISS.SI-ID 4202616, COBISS.SI-ID 3951736, COBISS.SI-ID 3964792, COBISS.SI-ID 3939192, COBISS.SI-ID 3989368, COBISS.SI-ID 3784056, COBISS.SI-ID 3821176, COBISS.SI-ID 3812728, COBISS.SI-ID 3705976, COBISS.SI-ID 3704696].

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

Glede na poročilo o realizaciji programa in objavljene rezultate v mednarodnih revijah ter predstavljene na kongresih ocenjujem, da sem v okviru podoktorskega projekta izpolnila cilje, postavljene za obdobje dveh let trajanja projekta.

Razumevanje vključenosti in interakcije med mehanizmi odgovora (stresni, odpornost), preživelostjo ter virulentnostjo bakterij je ključno za kvantitativno oceno tveganja v proizvodnji varne hrane. Blagi stres, sproži povečano odpornost kampilobakterjev proti stresom ter modulira virulentnost. V okviru projekta smo podrobno raziskali ter opredelili stresni odgovor kampilobakterjev po izpostavitvi okoljskim stresom (temperatura, kisik, stradanje) ter zaokrožili raziskave na mehanizmu odpornosti celic proti naravni bioktivnim izvlečkom/komponentam. Ker na tem področju metodika ni enotna, smo najprej optimizirali in objavili nekatere metode, s katerimi smo lahko ovrednotili fiziološki odgovor bakterij *Campylobacter* na prilagoditev ter njihovo sposobnost preživetja v *in vitro* ter *in vivo* pogojih. Dokazali smo pomembno vlogo izlivnih sistemov, predvsem glavnih izlivnih črpalkah CmeABC in CmeDEF, na pridobljeno odpornosti proti naravnim protimikrobnim učinkovinam. Pri predlogu učinkovite in varne aletnativne strategije za preprečevanje bakterijskih okužb s hrano v plantktonskih celicah in biofilmu smo se usmerili na potencialne inhibitorje naravnega izvora, ki bi z modulatornim delovanjem sodelovali pri pridobitvi bakterijske odpornost. Potencialno modulatorno vlogo smo pri bakterijah *Campylobacter* spp. dokazali pri naravnem izvlečku *Alpinia katsumadai* ter čisti fenolni spojini epigalokatehin. Ugotovili smo, da je realnejša ocena tveganja za zdravje ljudi, nujno protimikrobno aktivnost naravnih izvlečkov ovrednotili tudi na modelih živil ter v realnem živilu. Dokazali smo, da so naravne protimikrobne učinkovine, kot so *Alpinia katsumadai* ter izvlečki rožmarina potencialno lahko vključeni kot dodatne bioaktivne snovi v novih konzervativnih ali dekonaminacijskih postopkih pri zmanjševanju števila kampilobaktrov v mesni predelovalni industriji.

Pri raziskavah virulentnosti bakterij po izpostavitvi stresnim pogojem smo z *in vitro* modeli celičnih linij dokazali povezanost fizologije kampilobaktrov z njihovo virulentnostjo. Stresni odgovor po izpostavitvi stradanju povzroči prehod obliko VBNC, ki sicer predstavlja spečo stanje, a smo preko zmanjšane metabolizma in tudi zmanjšane infektivnosti dokazali degeneracijo celic. Ključno vlogo stresnega odgovora smo, z *in vivo* modelom mišk za študij infektivnosti ter ugotavljanje lokalne/sistemske kampilobaterioze, potrdili tudi pri modulatorni vlogi tvorbe *IFN γ* , ki je znan kot pomemben dejavnik pri patogenezi infekcije in nakazuje vlogo v začetnem imunskem odzivu. Odgovor kampilobaktrov je torej nujen za preživetje v gostitelju ter s tem na njihovo patogenost, kar lahko vpliva tudi na zdravje ljudi in živali.

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

Glede na zanimive rezultate našega dela na modelnih celičnih linijah in tudi po prenosu na modele mišk smo se odločili, da delo razširimo na ugotavljanje lokalne/sistemske kampilobaterioze ter profila lokalnih/sistemskih citokinov (toksinov) (sklop WP4) in ne na razvoj novega *in vitro* modela s celicami praživali (kar je bilo predvideno v sklopu WP3). Delno smo razširi tudi WP 1 ter poleg protimikrobne aktivnosti ugotavljali tudi zelo aktualno modulatorno aktivnost naravnih spojin ter izvlečkov.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	4242296	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	In vivo modulacija virulentnosti bakterij <i>Campylobacter</i> jejuni na okoljske stresne pogoje
		<i>ANG</i>	In vivo modulation of <i>Campylobacter</i> jejuni virulence in response to

		environmental stress
Opis	SLO	V študij virulentnosti bakterij z živalskim modelom smo vključili stresne pogoje (stradanje, oksidativni stres, toplotni stres) ter dokazali povezanost fiziologije kampilobaktrov z njihovo virulentnostjo, predvsem pri kampilobaktirih izpostavljenimi stradanju. Zaključimo lahko, da v končni fazi predstavlja VBNC sicer spečo stanje celice, ki pa je tudi degenerativno, saj ima poleg zmanjšane metabolizma tudi zmanjšano infektivnost. Dodatno teži raziskavam so dali citokinski profili od vseh raziskanih citokinov (IL6, IL10, IL12, TNF α in IFN γ) se je kot najbolj zanimiv izkazal IFN γ , katerega produkcija je bila povečana kot odziv na pogoje oksidativnega stresa. Tako smo dokazali ključno vlogo stresnega odziva tudi pri modulatorni vlogi tvorbe IFN γ , ki je znan kot pomemben dejavnik pri patogenezi infekcije in nakazuje vlogo v začetnem imunskem odzivu. Odziv kampilobaktrov je nujen za preživetje v gostitelju ter s tem na njihovo patogenost, kar lahko vpliva tudi na zdravje ljudi in živali.
	ANG	We analyzed in vitro stress responses and the consequent in vivo modulation of Campylobacter pathogenicity as a result of the exposure of the C. jejuni to environmental stress (starvation, oxidative stress, heat shock). In vitro, the influence of starvation and oxidative stress has milder effect than that of heat shock, although all of the stress conditions influenced the survival of C. jejuni. Prestarvation did not contribute to improved survival of C. jejuni cells during oxygen exposure. Changes in bacteria numbers and the levels of several cytokines (IL6, IL10, IL12, TNF α in IFN γ) were followed in vivo, in liver homogenates from the mice intravenously infected with either control (untreated) or stressed C. jejuni. The most pronounced differences were in interferon γ and interleukin 10 productions, indicating their roles in the immune response to C. jejuni infection. The study of environmental impact on bacterial virulence reveals that microbial adaptation during stress challenge is crucial not just for pathogen survival out of the host, but also during host-pathogen interactions, and thus for the bacterial pathogenicity.
Objavljeno v		Mary Ann Liebert; Foodborne pathogens and disease; 2013; Vol. 10, issue 6; str. 566-572; Impact Factor: 2.283; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.468; A': 1; WoS: JY; Avtorji / Authors: Klančnik Anja, Vučković Darinka, Plankl Mojca, Abram Maja, Smole Možina Sonja
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	4160120 Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Protimikrobna učinkovitost rastlinskih fenolnih izvlečkov in mehanizem efluksa, ki vpliva na odpornost patogenih bakterij rodu Campylobacter
	ANG	Anti-Campylobacter activities and resistance mechanisms of natural phenolic compounds in Campylobacter
Opis	SLO	Naraščajoča prevalenca črevesnih bakterij Campylobacter ter njihova povečana odpornost proti antibiotikom je najverjetneje posledica uporabe antibiotikov v prireji živali. Le ta je v zadnjih letih omejena ali prepovedana, zato so aktualna alternativna protimikrobna sredstva, med katere sodijo tudi rastlinske učinkovine. Delovanje antibiotikov je dobro poznano, delovanje rastlinskih derivatov fenolnih izvlečkov na bakterije Campylobacter pa še dokaj neraziskano. Preko mutantov na genih, ki kodirajo izlivne proteine CmeB in CmeF, ter na genu za transportni protein CmeR, smo prvič za bakterije Campylobacter opisali kompleksen mehanizem izlivnih sistemov, vključenih v odpornost proti rastlinskim učinkovinam. Mehanizem efluksa poteka preko sodelovanja glavne izlivne črpalke CmeABC z CmeDEF. Z vključitvijo kemijskih inhibitorjev izlivnih črpalk PABN ter NMP smo potrdili potencialno vključenost neznanne - tretje izlivne črpalke pri odpornosti kampilobaktrov proti fenolnim komponentam. Obširna raziskava učinkovitosti naravnih fenolnih spojin proti bakterijam

		rodu <i>Campylobacter</i> tako podaja potencialne učinkovine za zagotavljanje varnosti v živilski proizvodno-oskrbovalni verigi in/ali za preprečevanje in zdravljenje mikrobnih okužb.
	ANG	The increasing prevalence of intestinal bacteria <i>Campylobacter</i> and their increased antibiotic resistance is most likely due to the use of antibiotics in animal production. This is only in recent years restricted or prohibited, so natural phenolic compounds of plant origin can be further developed for potential use in controlling <i>Campylobacter</i> . Multiple mechanisms associated with antibiotic resistance have been identified in <i>Campylobacter</i> spp., while the mechanism involved in the resistance to phenolics is not known. Using mutants that lack the functional genes coding for the CmeB and CmeF efflux pump proteins and the CmeR transcriptional repressor; and EPIS, we demonstrated that complex efflux mechanisms are involved in the resistance of <i>C. jejuni</i> to phenolic compounds and extracts of plant phenolics. Particularly, the CmeABC efflux pump is a significant player in reducing the susceptibility to the phenolics, while CmeDEF plays a modest role in the resistance. Additionally, our results suggest that nonCmeABC and nonCmeDEF efflux systems also contribute to <i>Campylobacter</i> resistance to phenolic compounds. These findings represent the first comprehensive evaluation of the anti- <i>Campylobacter</i> activities of natural phenolics and suggest that alternative compounds can be further developed to control <i>Campylobacter</i> contamination in food production and processing, or as therapeutics for clinical treatment of campylobacteriosis.
Objavljeno v		Public Library of Science; PloS one; 2012; Vol. 7, no. 12; str. 110, e51800; Impact Factor: 4.092; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.096; A': 1; WoS: CU; Avtorji / Authors: Klančnik Anja, Smole Možina Sonja, Zhang Qijing
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	3737720
		Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Pritrditev, invazija ter prehod bakterij <i>Campylobacter jejuni</i> v prašičjih črevesnih epitelijskih celicah
	ANG	Attachment, invasion, and translocation of <i>Campylobacter jejuni</i> in pig smallintestinal epithelial cells
Opis	SLO	Članek je bil objavljen v reviji, ki spada med prvih 15 % revij na področju živilstva. Potrdili smo vpliv stresnih razmer na virulentnost bakterij <i>C. jejuni</i> . Predstavili smo nov funkcionalni model črevesnih epitelnih celic (PSI) kot normalnih, nekancerogenih celic tankega črevesa. Toplotni stres je povečal sposobnost adhezije, medtem ko jo je oksidativni stres zmanjšal. Stradanje je negativno vplivalo na vse virulentne sposobnosti. Prav tako nismo dokazali korelacije med prehodom preko polariziranih epitelnih celic ter transepitelno električno upornost.
	ANG	The article was published among top 15 % group of food science & technology journals. We confirmed a direct link between stress response and infectivity of <i>C. jejuni</i> . We also established new functional model of the intestinal epithelium, which accords with the properties of normal, noncarcinogenic small intestinal epithelial cells (PSI). Heat stress increased only adhesion, while oxygen reduced their adhesion. Nutrient limitation reduced all virulence properties. There was no correlation between TER and the translocation capacity.
Objavljeno v		ŠIKIĆ POGAČAR, Maja, KLANČNIK, Anja, SMOLE MOŽINA, Sonja, CENCIČ, Avrelija. Attachment, invasion, and translocation of <i>Campylobacter jejuni</i> in pig small-intestinal epithelial cells. Foodborne pathogens and disease, ISSN 1535-3141, 2010, issue 5, vol. 7, str. 589-595, doi: 10.1089/fpd.2009.0301. Impact Factor: 2,134; JY - food science & technology ; 28/126 ; četrtina: 1 ; x=1.269 ; IFmin: 1.831 ; IFmax: 4.713
Tipologija		1.01

		Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	3635064	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Stresni odziv ter virulentni potencial bakterij <i>Campylobacter jejuni</i> izpostavljenih stradanju
		ANG	Stress response and pathogenic potential of <i>Campylobacter jejuni</i> cells exposed to starvation
	Opis	SLO	V članku, ki je bil objavljen v kakovostni mikrobiološki reviji, smo definirali vpliv okoljskega stresa na bakterijske celice. Zaključek primerjave različnih okoljskih stresov je dokazan močan vpliv stradanja na fiziologijo, prehod v stanje VBNC ter virulentnost kampilobakterjev. Zmanjšana metabolna aktivnost stradanih celic ni pomenila spečega stanja, saj so celice preživele znotraj celičnih linij Caco2 ter povzročile sistemsko kampilobakteriozo tudi v modelu mišk. Tako smo dokazali povezavo med stresnim odgovorom bakterij ter njihovo virulentnostjo.
		ANG	In the article, published in quality microbiological journal, we determined the impact of environmental stresses on bacterial cells. The comparison of different environmental stress conditions showed that starvation severely impaired <i>Campylobacter</i> 's physiology, VBNC formation and virulence. However, the lower metabolic activity of starved cells was not a dormant state, since they survived within Caco2 enterocytes up to 4 days and caused systemic campylobacteriosis also in a mouse model. This indicates the connection between bacterial environmental stress response and their virulence properties.
	Objavljeno v	Research in Microbiology, ISSN 0923-2508. [Print ed.], 2009, issue 5, vol. 160, str. 345-352, doi: 10.1016/j.resmic.2009.05.002. Impact Factor: 2.154; QU - microbiology ; 55/94 ; četrtina: 3 ; x=3.333 ; IFmin: 1.633 ; IFmax: 2.336	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

		Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	4119160	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Epigalokatehin galat je modulator odpornosti bakterij rodu <i>Campylobacter</i> proti makrolidnim antibiotikom
		ANG	Epigallocatechin gallate as a modulator of <i>Campylobacter</i> resistance to macrolide antibiotics
	Opis	Zaradi vse večje odpornosti bakterij <i>Campylobacter jejuni</i> na eritromicin so v zadnjih letih v medicinske namene razvili bolj učinkovite makrolidne antibiotike ter nove tehnologije in sredstva za omejevanje kontaminacije s <i>C. jejuni</i> in/ali zdravljenje okužb. Med nova protimikrobna sredstva sodijo tudi nekatere rastlinske učinkovine, ki lahko delujejo tudi kot modulatorji bakterijske odpornosti proti drugim protimikrobnim snovem. Dokazali smo, da je epigalokatehin galat, glavni polifenol v zelenem čaju, naravni netoskičen inhibitor izlivnih (EPI) črpalk, ki zmanjša odpornost bakterij <i>C. jejuni</i> na makrolidne antibiotike ter tako zmanjša pojavnost visoko odpornih sevov. Z vključitvijo mutantov na genih, ki kodirajo izlivne proteine CmeB in CmeF ter na genu za transportni protein CmeR smo dokazali, da je v odpornost proti makrolidnim antibiotikom vključen mehanizem efluksa kot posledica sodelovanja CmeABC, v vlogi glavne izlivne črpalke, skupaj z CmeDEF. Te izlivne črpalke so tudi potencialne tarče pri razvoju novih terapevtskih strategij pri povrnitvi učinkovitosti makrolidnim antibiotikom odpornih kampilobaktrov.	

		<p>To improve clinical performance of licensed antibiotics and chemotherapeutic agents, it is important to understand the factors in <i>Campylobacter</i> that affect susceptibility to macrolide antibiotics. We demonstrated that EGCG increase <i>Campylobacter</i> spp. Susceptibilities and thus have effects on multidrug efflux systems that might improve the clinical performance of antibiotics. These findings provide an evaluation of a natural phenolic EGCG with modifying activities that can reverse macrolide resistance. Using mutants that lack the functional genes coding for the CmeB and CmeF efflux pump proteins and the CmeR transcriptional repressor, we show that these efflux pumps are potential targets for the development of therapeutic strategies that use a combination of a macrolide with an efflux pump inhibitor (EPI) to restore macrolide efficacy.</p>
Šifra	F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
Objavljeno v	<p>KURINČIČ, Marija, KLANČNIK, Anja, SMOLE MOŽINA, Sonja. Epigallocatechin gallate as a modulator of <i>Campylobacter</i> resistance to macrolide antibiotics. <i>International journal of antimicrobial agents</i>, ISSN 0924-8579. [Print ed.], 2012, vol. 40, issue 5, str. 467-471, doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.07.015; Impact factor: 4.415; NN - infectious diseases ;A': 1; WoS: NN, QU, TU</p>	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2. COBISS ID	3752312	Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Ugotavljanje protimikrobne aktivnosti rastlinskih izvlečkov z metodami difuzije in dilucije
	ANG	Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts
Opis	SLO	<p>V članku, ki je bil objavljen v kvalitetni mikrobiološki reviji, smo primerjali metode difuzije in dilucije ter predstavili učinkovito ugotavljanje živosti aerobnih mikroorganizmov pri razredčevanju v mikrotiterski ploščici z barvilom INT, ter pri mikroaerofilnih kampilobaktirih z reagentom BacTitterGlo (prisotnost ATP). Rezultati so prikazali po gramnegativne kampilobakte kot zelo občutljive na prisotnost naravnih izvlečkov, v primeravi z <i>E. coli</i> ali po gramu pozitivnimi salmonelami. Uporaba predstavljene metode ima veliko raziskovalno uporabo, saj lahko ugotovimo protimikrobno učinkovitost rastlinskih izvlečkov pred njihovim prenosom na modele živil. S pomočjo metode smo pregledali tudi večje število fenolnih sestavin ter jih izbrali za nadaljnje delo.</p>
	ANG	<p>The article was published in a quality microbiological journal. We compared disk diffusion, agar dilution, broth microdilution and macrodilution methods. However, we established microdilution method with INT to indicate the viability of aerobic bacteria and with BacTitterGLO (ATP determination) as the only appropriate to indicate the viability for microaerophilic <i>Campylobacter</i> spp.. Gram negative pathogen <i>Campylobacter</i> spp. showed a similar sensitivity to plant extracts as the tested gram positive bacteria, but <i>S. infantis</i> and <i>E. coli</i> were more resistant. With this contribution we presented the fast screening method for MIC determination, which can give comparable results from different studies prior to their in vivo application. Using the method we determined the activity of several phenolic components and selected the most effective one for our future work.</p>
Šifra	F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
Objavljeno v	<p>KLANČNIK, Anja, PISKERNIK, Saša, JERŠEK, Barbara, SMOLE MOŽINA, Sonja. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. <i>Journal of microbiological methods</i>, ISSN 0167-7012. [Print ed.], 2010, issue 2, vol. 81, str. 121-126, doi: 10.1016/j.mimet.2010.02.004. Impact factor: 2.018; CO - biochemical research methods ; 41/71 ; četrtina: 3 ; x=3.135 ; IFmin: 1.626 ; IFmax:</p>	

		2.333; QU - microbiology ; 63/107 ; četrtina: 3 ; x=3.177 ; IFmin: 1.266 ; IFmax: 2.365
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	3836280 Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<p><i>SLO</i> Znižanje števila bakterij <i>Campylobacter jejuni</i> z naravnimi protimikrobnimi dodatki v živilih (piščančje) meso</p> <p><i>ANG</i> Reduction of <i>Campylobacter jejuni</i> by natural antimicrobials in chicken meat-related conditions</p>
	Opis	<p><i>SLO</i> V članku, ki je bil objavljen v kakovostni mikrobiološki in tudi živilski reviji smo definirali protimikrobno delovanje rožmarinskega izvlečka na <i>Campylobacter jejuni</i> pri nizkih temperaturah z oz. brez dodanega pred-zmrzovanja. Dokazan je močan vpliv nizkih temperatur in pred-zamrzovanja na preživelost kampilobaktrov brez ali v kombinaciji z izvlečki. Tudi rezultati v piščančjem modelu živila so pokazali sinergističnost delovanja stresnih razmer ter delovanja rožmarinskega izvlečka. Tako smo dokazali potencialno uporabo novih konzervansov ali dekontaminacijskih postopkov z vključitvijo naravnih protimikrobnih snovi pri zmanjšanju števila kampilobaktrov v mesni predelovalni industriji.</p> <p><i>ANG</i> The article was published in a quality microbiological and food science and technology journal. We tested the antimicrobial effect of rosemary extracts against <i>Campylobacter jejuni</i> at a low storage temperature with or without shortterm prefreezing. Furthermore, low temperature storage conditions prolonged the survival of <i>C. jejuni</i> in chicken meat juice. The results in chicken meat food model again showed the synergistic effect of freezing and plant extract antimicrobial activity. A better understanding of how bacteria cope with stress conditions on one hand, and adapt to a protective environment on the other, will be critical in designing new intervention strategies for <i>Campylobacter</i> reduction in the poultry meat supply and control methods for food safety management.</p>
	Šifra	F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v	PISKERNIK, Saša, KLANČNIK, Anja, TANDRUP RIEDEL, Charlotte, BRØNDSTED, Lone, SMOLE MOŽINA, Sonja. Reduction of <i>Campylobacter jejuni</i> by natural antimicrobials in chicken meat-related conditions. Food control, ISSN 0956-7135. [Print ed.], 2011, vol. 22, issue 5, str. 718-724, doi: 10.1016/j.foodcont.2010.11.002. Impact factor: 2.656; JY - food science & technology ; 15/128 ; četrtina: 1 ; A': 1; WoS: JY;
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^Z

V raziskovalno delo se je preko priprave diplomskega/magisterskega/doktorskega dela vključilo več slovenskih in tujih študentov. Tekom projekta sem vzpostavila povezavo za sodelovanje s prof. dr. Qijing Zhang iz državne univerze Iowa (Združene države Amerike), ki je eden vodilnih raziskovalcev na področju bakterijske genetike, odpornosti na antibiotike in interakcij bakterija-gostitelj; ter s prof. dr. Franz Bucar iz univerze Karl Franz (Graz, Avstrija), ki opravlja raziskave na področju izolacije aktivnih snovi iz zdravilnih rastlin ter njihove modulatorne aktivnosti. Sodelovanje smo nadaljevali tudi z več raziskovalci iz Slovenije in ostalih držav Evropske unije, med drugim z raziskovalci Medicinske fakultete univerze na Reki (Hrvaška), ki so vzpostavili model spremljanja patogeneze mišji model kampilobakterioze.

Navezave osebnih pa so že prerasle v plodno mednarodno sodelovanje na bilateralnih projektih (vodja prof. dr. Sonja Smole Možina), kjer je bil narejen opazen napredek in so potekale izmenjave dodiplomskih in podiplomskih študentov ter s tem prenos znanja v naše nacionalne inštitucije ter s tem doprinos k razvoju tega področja: SI-HR (2009-2011) Naravni, biološko aktivni dodatki za zdrava in obstojna živila; SI-ZDA (2011-2012) Vključenost izlivnih črpalk v

mehanizem odpornosti ter patogenost bakterij rodu *Campylobacter* spp. ; SI-AU (2011-2012) Rastlinski naravni produkti kot nove komponente obrambe proti infekcijam z bakterijami *Campylobacter* – protimikrobna in modulatorna aktivnost ter inhibicija tvorbe biofilma; SI-ZDA (2014-2015) Mehanizem delovanja alternativnih naravnih protimikrobnih snovi proti bakterijam *Campylobacter* jejuni.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

C. jejuni je za človeka patogena črevesna bakterija, ki se predvsem s kontaminiranim perutninskim mesom prenaša v prehransko verigo človeka. Čeprav je nesposobna razmnoževanja v živilu, lahko preživi v tolikšnem številu, da povzroča obolenj. Zato smo preko raziskav testirali kakšen je odziv kampilobakterjev med neugodnimi pogoji, katerim so pogosto izpostavljene med živilsko obdelavo in skladiščenjem/hranjenjem ter distribucijo živil. Tako smo prispevali k boljšemu razumevanju preživetja bakterij rodu *Campylobacter* v proizvodni verigi živil. Prav tako smo preverjali učinkovitost alternativnih snovi, ki se vse bolj uporabljajo med živilsko pridelavo in predelavo. Dodatno zaskrbljenost v živilstvu predstavlja tudi naraščajoča protimikrobna odpornost pri *C. jejuni*, kar še poveča njihov pomen. Vzporedno smo objavili tudi novo metodo razredčevanja v tekočem gojišču na osnovi merjenja metabolne aktivnosti (reagenta ATP ter INT) ter tako ovrednotili vpliv alternativnega protimikrobnega učinkovanja na bakterijske celice ter prispevali k izboljšani diagnostiki vzorcev.

Z vpeljavo metode razredčevanje v modelih živi ter s prenosom na realno živilo (piščančje in mleto meso) pa smo realnejše ocenili tveganje za zdravje ljudi in učinkovitost uporabe protimikrobno aktivnih naravnih izvlečkov. Ker je mehanizem delovanja ter mehanizem odpornosti proti alternativnim protimikrobnim snovi kompleksen in pri kampilobakterjih popolnoma neraziskan smo se usmerili tudi na poznavanje njihovega učinka na ravni celice. Prvič smo za bakterije *Campylobacter* opisali kompleksen mehanizem izlivnih sistemov, vključenih v odpornost proti rastlinskim učinkovinam. Obširna raziskava učinkovitosti naravnih fenolnih spojin proti bakterijam rodu *Campylobacter* tako podaja potencialne protimikrobne in tudi modulatorne učinkovine za zagotavljanje varnosti v živilski proizvodnobooskrbovalni verigi in/ali za preprečevanje in zdravljenje mikrobnih okužb.

Vpliv okoljskih dejavnikov smo testirali tudi na nivoju virulentnosti kampilobakterjev ter s tem poskušali izboljšati oceno tveganja, ki ga le ti predstavljajo za zdravje ljudi. Dokazali smo povezavo med stresnim odgovorom bakterij ter njihovo virulentnostjo, ki je v primeru oksidativnega stresa zaskrbljujoča, saj ne vpliva na zmanjšano živost in celo izboljša virulentne lastnosti kampilobakterjev. Medtem ko so prve ugotovitve o zmanjšani virulentni aktivnosti ter zmožnost infektivnosti celic v odpornejšem stanju VBNC bolj spodbudna za natančno kvantifikacijo mikrobiološkega tveganja (QMRA, angl. quantitative microbial risk assessment). Vpeljali smo tudi nekaj modelov in vitro celičnih linij ter in vivo model mišk, ki bodo uporabni pri natančnejši opredelitvi imunske mehanizme pri infekciji ter kampilobakterioz pri ljudeh. Tako lahko preko boljšega razumevanja virulentnih dejavnikov kampilobakterja opredelimo nova spoznanja o sistemskih boleznih tega patogena. Tako smo ovrednotili znanja o naravi, regulaciji ter mehanizmu delovanja virulentnih dejavnikov, ki so nujni pri postavljanju novih strategij celovitega obvladovanja varnosti živil ter novih strategij nadzora.

ANG

Campylobacter jejuni is currently recognized as a leading cause of foodborne illness worldwide, which is usually transmitted by eating and/or handling undercooked meat and other food. Unlike most other bacterial foodborne pathogens, campylobacters are not normally capable of multiplication in food during processing or storage, but they are capable to survive and cause human infection. During food chain they are exposed to variety of stresses. Often they are able to tolerate these stresses, survive in extraintestinal environment. Thus we clarify of *Campylobacter* spp. survival potential in food production/supply chain. We also tested additives that have can be used in food processing. Additional problem during food chain is also increasing antimicrobial resistance of *C. jejuni*, what gives additional impact on the use of alternative natural antimicrobials. We also established new microdilution method based on metabolic activity (using reagent ATP or INT) measurement as useful and rapid technique also

for determining efficiency of plant extract and pure phenolics, and clarified the determination of the impact of natural antimicrobials on bacterial cells and develop better diagnostics of samples. Using established food microdilution method and real food system (chicken and minced meat) we obtained real risk assessment and efficiency of natural antimicrobial agents. Since their mechanism of influence is very complex and unknown for campylobacters we focus also on their complex activity on cell level. For the first time we demonstrated that complex efflux mechanisms are involved in the resistance of *C. jejuni* to phenolic compounds and extracts of plant phenolics. These findings represent the first comprehensive evaluation of the anti-Campylobacter and modulatory activities of natural phenolics and suggest that alternative compounds can be further developed to control Campylobacter contamination in food production and processing, or as therapeutics for clinical treatment of campylobacteriosis.

We transfer the environmental impact also on virulence level of campylobacters and thus better increase quantitative microbial risk assessment (QMRA). We determined the connection between bacterial environmental stress response and their virulence properties and oxidative stress seems to make a lot of concern since does not influence campylobacter survival and even increase their virulence properties. However, the reduction in virulence activity of campylobacters and decreased of their capacity for infection in more resistant VBNC state are more encourage for accurate determination of quantitative microbial risk assessment (QMRA). We also introduce several cell lines in vitro and mouse in vivo models, which will allow the additional studies needed to determine the exact mechanism by which campylobacters establish human intestinal infection. According to better understanding of Campylobacter virulence determinants we can determine immune mechanisms of their infection and novel insights into the systemic disease by this pathogen. However, we clarify knowledge on the nature, regulation, and mechanism of action of virulence determinants what is indispensable in formulating new strategies for food safety management and potentially for the development of novel control strategies.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

V zadnjih letih je skrb za kakovostno in varno hrano postala pomembna tema. Varnost hrane je povezana z dobrimi praksami in zato je skrb za proizvodnjo mikrobiološko neoporečnih živil pomembna smernica državne politike. Pridobljene ugotovitve bodo vplivale na primernejše rokovanju s hrano, pripravo ter shranjevanju živil in zmanjšale pomanjkljivosti v znanju o mikrobiološkem tveganju. Posledično bo to pripomoglo k manjši obolevnosti ljudi / živali zaradi uživanja kontaminirane hrane in zmanjšane porabe zdravil. Prav tako bodo prispevale k načrtovanju proizvodnje varne hrane v živilsko prehranski verigi, še posebno v primarni ter sekundarni proizvodnji ter prenosu znanja v sisteme HACCP ter ISO 22000. Preko milejših postopkov obdelave živil lahko hitro spodbudimo razvoj bolj odpornih mikrobov, ki so sposobni preživeti in tudi povzročiti bolezen pri potrošniku. Vendar lahko s pridobljenim znanjem ter tudi s vključitvijo protimikrobnih sredstev v obliki naravnih rastlinskih izvlečkov, mikrobovno rast zavremo, kupcu pa ponudimo nov in prijazen pristop v proizvodnji varnih živil.

ANG

Food quality and food safety have become an important topic in last years. Food safety is connected with different good practices and thus production of microbiologically safe food is of national importance. Obtained results are important for appropriate food handling (preparation, storage) and thus fill up some gaps of food handlers' knowledge on microbiological hazards. With the help of national health policy this may contribute to better understanding of the consumer about their behavior and attitudes toward food safety. Food safety point of view should be focused on knowledge, constant education and exchange of information. Consequently this will decrease consumption of contaminated food, illness of people / animals and thus also decrease drug consumption. Additionally, new insights will directly contribute to food safety management schemes in food supply chains in particular in primary and secondary production and knowledge transfer into HACCP and ISO 22000 systems. Using mildly processed food products we can increase microbial resistance and their survival and in some cases also cause a disease of consumer. But including obtained knowledge and also natural antimicrobials like plant phenolic extracts with biological activity we can reduce microbial growth and thus

represent a new and consumerfriendly concept in safe food supply.

**10.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljaljskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26 Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27 Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28 Priprava/organizacija razstave		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29 Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30 Strokovna ocena stanja		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31 Razvoj standardov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32 Mednarodni patent		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33 Patent v Sloveniji		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34 Svetovalna dejavnost		

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

11.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

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

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
		1.	
		2.	
		3.	
		4.	
		5.	
	Komentar		
	Ocena		

13.Izjemni dosežek v letu 2013¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

In vivo modulacija virulentnosti bakterij *Campylobacter jejuni* na okoljske stresne pogoje

KLANČNIK A, VUČKOVIĆ D, PLANKL M, ABRAM M, SMOLE MOŽINA S. 2013. In vivo modulation of *Campylobacter jejuni* virulence in response to environmental stress. *Foodborne pathogens and disease*,10,6:566-572.

Ključno vlogo stresnega odgovora bakterij *C. jejuni* smo z in vivo modelom mišk za študij infektivnosti ter lokalne/sistemske kampilobaterioze, potrdili pri modulatorni vlogi tvorbe citokina IFN γ . Interferon je pomemben dejavnik pri patogenezi infekcije in nakazuje vlogo v začetnem imunskem odzivu po izpostavitvi oksidativnemu stresu. Nasprotno pa povzroči stresni odgovor po izpostavitvi stradanju prehod v fiziološko odporno obliko (živa a nekultivabilna, VBNC), ki pa je degenerativno, saj ima poleg zmanjšanega metabolizma tudi zmanjšano infektivnost. Odgovor kampilobaktrov je torej nujen za preživetje v gostitelju ter s tem na njihovo patogenost, kar lahko vpliva tudi na zdravje ljudi in živali.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Odpornost mikroorganizmov

SMOLE MOŽINA S, KLANČNIK A, RASPOR P. 2013. Mechanisms of microbial resistance in biofilms. V: SIMÕES, Manuel (ur.), MERGULHÃO, Filipe (ur.). *Biofilms in bioengineering, (Microbiology research advances)*. New York: Nova Science Publishers

KLANČNIK, A, VUČKOVIĆ, D, ŠIKIĆ POGAČAR, M, ABRAM, M, SMOLE MOŽINA, S. Modulation of *Campylobacter jejuni* pathogenicity as a consequence of environmental stress response. V: CHRO, Aberdeen, UK. *FORBES*, Ken (ur.)

Mehanizmi odpornosti na okoljske stresne pogoje, so odvisni od strategij posameznih mikroorganizmov ali njihovih združb in vplivajo na fiziološko ter genetsko raznolikost plantkonskih celic ter mikrobnih biofilmov. Različni načine preučevanja stresnega odgovora na vseh nivojih v celici v končni fazi omogočijo proizvodnjo varnih izdelkov. Poznavanje mehanizmov odpornosti lahko izboljša biotehnološko aplikacijo in izboljša mikrobiološko varnost med živilsko proizvodno verigo.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

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

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Anja Klančnik

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

4.4.2014

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/88

- ¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)
- ² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)
- ⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- ⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)
- ⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.
- Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.
- Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)
- ⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)
- ⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)
- ⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)
- ¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)
- ¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.02

88-63-F4-76-3F-D0-D1-29-34-7B-39-24-90-DE-74-57-2E-5B-94-8D

Priloga 1

OKOLJSKI STRESI (STRADANJE, KISIK) → STRESNI ODGOVOR BAKTERIJ *Campylobacter jejuni*

ŽIVOST IN KUTLIVABILNOST



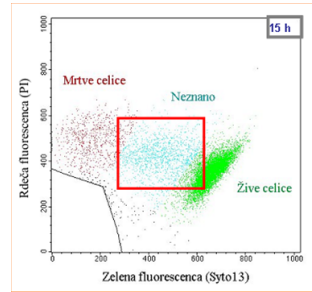
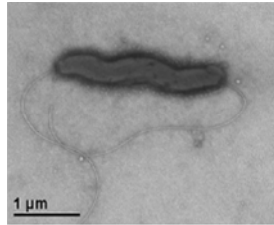
VBNC in MORFOLOGIJA



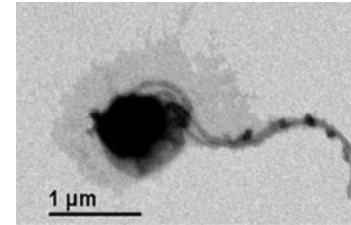
METABOLNA AKTIVNOST



VIRULENCA

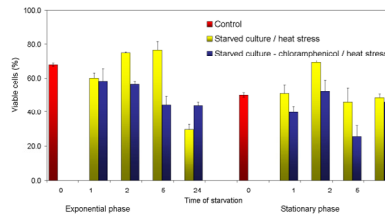


Živo a nekultivabilno stanje VBNC.

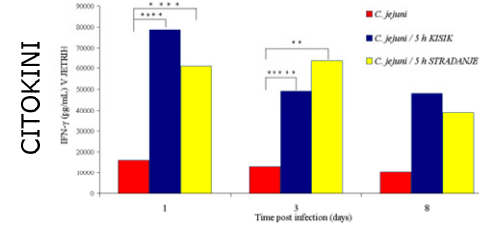
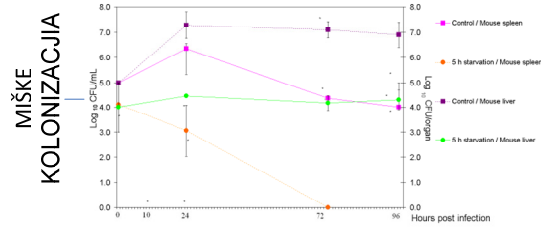


Prehod v kokoidno obliko.

Stradanje povzroči odpornost na druge strese.



Zmanjšana metabolna aktivnost.



STRADANJE: STRESNI ODGOVOR- FIZIOLOGIJA (VBNC), MANJŠA INFEKTIVNOST

OKSIDATIVNI STRES: STRESNI ODGOVOR- PRILAGODITEV, VEČJA INFEKTIVNOST

Priloga 2

