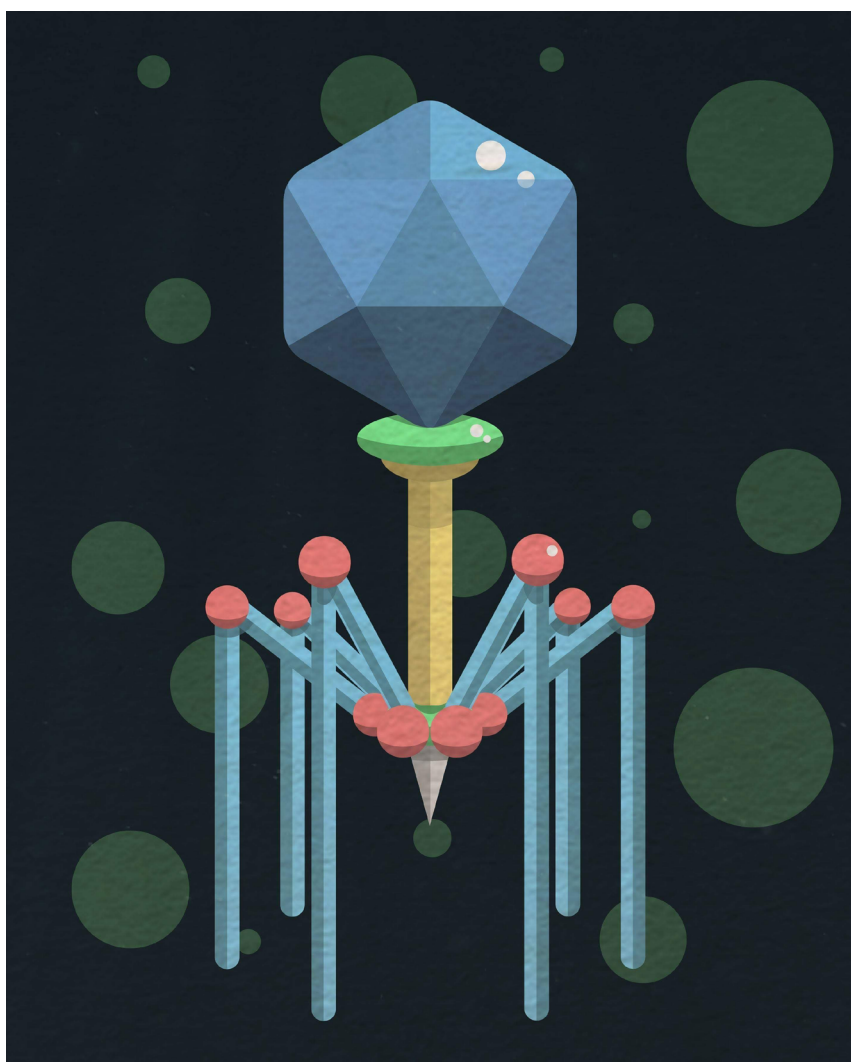




MIKROBIOLOG.SI

Letnik 1, številka 3
December 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

Virusni navdih, mikrobna umetnost v očeh študenta mikrobiologije 1. stopnje, Avtor – Žan Zrimšek

Novice iz sveta mikrobiologije

Sorodstvena diskriminacija usmerja teritorialno izključevanje pri rojenju bakterije Bacillus subtilis in omejuje izkoriščanje surfaktina

Barbara Kraigher

Raziskave v svetu mikrobiologije

Bakterijski virus Phi6 kot surogat za SARS-CoV-2

Katja Molan, Ines Mandić-Mulec, David Stopar

Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Vpliv zapiranja družbe zaradi epidemije COVID-19 na telesno zmogljivost otrok in mladostnikov

Odnos med kognitivnimi, afektivnimi in vedenjskimi odzivi na ukrepe, povezane s COVID-19, in priporočila za načrtovanje, sprejemanje in komuniciranje ukrepov za zaježitev epidemije

Obvladovanje mega krize: ko priročniki ne delujejo več

Duševno zdravje v času epidemije COVID-19

Pandemija v kriminološki perspektivi

Razvoj sistemov za dostavo bioloških vzorcev v femtosekundni kristalografiji

Preprost elektrokemijski biosenzor za anti-SARS-CoV-2 IgG protitelesa v krvnem serumu

Zlati nanodelci: od sinteze do prototipne uporabe v hitrih testih

Inaktivacija virusov z neravnovesno plinsko plazmo

Razvoj prenosljive elektrokemijske biosenzorske platforme za hitro in visoko občutljivo detekcijo SARS-CoV-2 v vzorcih slin

Kaj nam slikanje lahko pove o okužbi z virusom SARS-CoV-2?

Pandemija COVID-19 – izkušnje revmatologa

Genomski dejavniki gostitelja v patogenezi okužbe s SARS-CoV-2

Mikrobiološki dogodki

6. CEFORM, 13.-15. oktober, 2021, Kecskemét, Madžarska

Marjanca Starčič Erjavec

Mikrobiološki intervju

Profesorica dr. Darja Žgur Bertok

Strokovni članki iz sveta mikrobiologije

Koronavirusne okužbe so pri živalih pogosto ugotovljene tudi v Sloveniji

Ivan Toplak

Profil proteinov patogenih bakterij Campylobacter jejuni v enovrstnem in večvrstnem bio-filmu

Blaž Jug s sodelavci

Mikrobiologija v gospodarstvu

Monitoring prisotnosti Sars-Cov-2 in različic virusa na vtoku v slovenske čistilne naprave

Katarina Bačnik s sodelavci

Iskrice v svetu mikrobiologije

Mikrobiologija v sliki

Mikronostagija: Prof. dr. Peter Hostnik, dr. vet. med.

Mikropesem: Peter Raspor

Mikrokrižanka

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

Ta številka je posebej posvečena dvema jesenskima srečanjema, 6. CEFORM-u, pri katerega organizaciji je sodelovalo tudi naše društvo in ki je potekal »hibridno« od 13. do 15. oktobra 2021, in dogodku Raziskovalni programi se predstavijo 2021, ki smo ga izvedli na daljavo 22. in 23. novembra 2021. V tej številki boste tako lahko zasledili kratko poročilo o 6. CEFORM-u in nekaj prispevkov, ki povzemajo na Madžarskem predstavljene raziskave članov SMD. Zbrani pa so tudi povzetki predstavitev raziskovalnih programov ki raziskujejo virus SARS-CoV-2 in bolezen COVID-19 in sicer iz sekcij: Družbeno-pravni vidiki COVID-19, Diagnostika SARS-CoV-2 in Klinični vidiki COVID-19. Prispevke iz ostalih sekcij: Epidemiologija COVID-19 in Pristopi k zdravljenju COVID-19 1. in 2. del pa bomo predstavili v naši naslednji številki. V rubriki Novice iz sveta mikrobiologije boste našli zanimiv prispevek na temo teritorialnosti bakterij, ki je bil objavljen v reviji ISME. Seveda pa smo za vas pripravili tudi Iskrice in pa pesem prof. Rasporja, ki pozvema leto 2021 v odsevu pandemije COVID-19.

V upanju, da si boste z veseljem ogledali to številko in tudi kaj prispevali za naslednjo, vas prav lepo pozdravljam in vam želim vse lepo in dobro v novem letu.



Novice iz sveta mikrobiologije

Sorodstvena diskriminacija usmerja teritorialno izključevanje pri rojenju bakterije *Bacillus subtilis* in omejuje izkoriščanje surfaktina

Barbara Kraigher

Raziskavo o teritorialnosti pri bakteriji *Bacillus subtilis*, pred kratkim objavljeno v ugledni reviji ISME Journal, sva vodili dr. Barbara Kraigher in prof. dr. Ines Mandić-Mulec, vodja študija mikrobiologije in predstojnica Katedre za mikrobiologijo Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (UL BF), sodelovali sta doc. dr. Polonca Štefanič in magistrska študentka Monika Butolen, obe prav tako s Katedre za mikrobiologijo.

Vir: Kraigher Barbara, Butolen Monika, Štefanič Polonca, Mandić-Mulec Ines. 2021. Kin discrimination drives territorial exclusion during *Bacillus subtilis* swarming and restrains exploitation of surfactin. The ISME Journal:1-9, v tisku.

Povezava do [članka](#).

Bakterije kot najštevilnejši prebivalci našega planeta so enocelična živa bitja, ki smo jih do nedavnega obravnavali kot preproste individualne celice, ki niso sposobne medsebojnega sodelovanja. Šele v zadnjem času z mnogimi raziskavami odkrivamo vso pestrost njihovega socialnega življenja, kar spreminja naše dojemanje bakterij in jih postavlja ob bok organiziranim strukturam večceličnih organizmov. Pojme sorodstvena diskriminacija in teritorialnost bi najverjetneje težko povezali z bakterijami, vendar

pa naše zadnje raziskave kažejo, da nepotizem in boj za teritorij ni lasten samo človeštvu in živalskemu svetu, ampak obstaja tudi med evolucijsko najstarejšimi prebivalci našega planeta.

Na Katedri za mikrobiologijo (UL BF) že več let proučujemo različne vidike socialnega vedenja pri okoljsko in komercialno pomembni bakteriji *B. subtilis*. Pred kratkim smo pokazali, da med različnimi sevi te talne bakterije obstaja sorodstvena diskriminacija, ki omogoča prepoznavanje in razlikovanje med bližnjimi

in bolj oddaljenimi sorodniki, to pa usmerja nadaljnje sodelovalne ali tekmovalne interakcije med celicami. V našem zadnjem članku smo

temu, da so največkrat uporabljeni laboratorijski sevi *B. subtilis* v procesu laboratorijske evolucije (t. j. večkratnega precepljanja in večin-

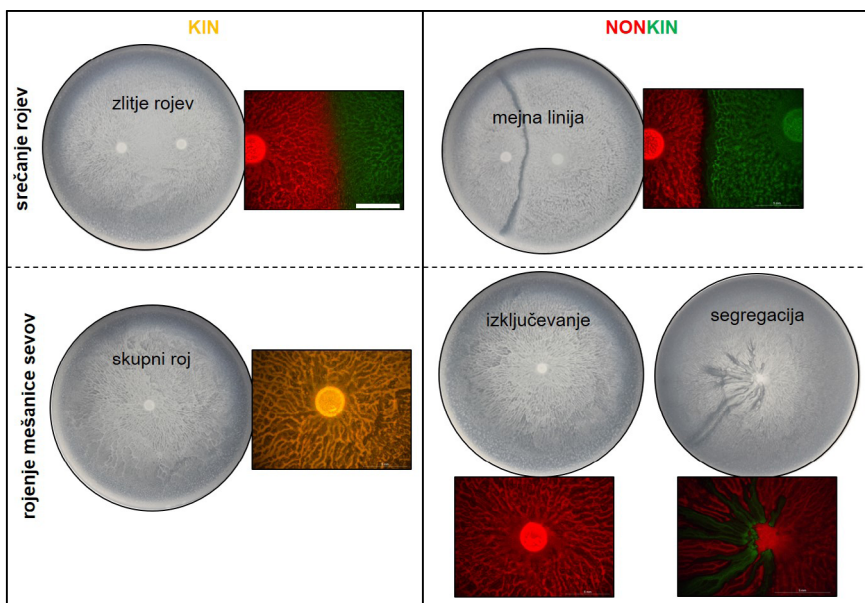
»Za uspešno zasedanje površine z rojenjem je ključno sodelovanje med celicami, zato ta proces predstavlja odličen model bakterijskega vedenja, ki omogoča proučevanje vpliva različnih socialnih interakcij med bakterijami na sodelovanje oz. tekmovanje pri zasedanju novih površin s hranili.«

prikazali ugotovitve raziskav o vplivu sorodstveno pogojenih interakcij med sevi na teritorialnost pri zasedanju površin z rojenjem in na delitev javnih dobrin.

Bakterijsko rojenje je že dolgo znan proces kolektivnega premikanja bakterij po poltrdnih ali trdnih površinah, ki pa je zelo kompleksen in zato še vedno slabo raziskan. Pomanjkanje znanja o rojenju pri bakteriji *B. subtilis* lahko pripišemo tudi

ske rasti v tekočih kulturah) izgubili nekatere sposobnosti, ki so značilne za izolate iz narave, med drugim tudi tvorbo robustnih biofilmov in sposobnost kolektivnega premikanja po poltrdni površini. Za uspešno zasedanje površine z rojenjem je ključno sodelovanje med celicami, zato ta proces predstavlja odličen model bakterijskega vedenja, ki omogoča proučevanje vpliva različnih socialnih interakcij med bakterijami na

▼ Vpliv sorodstvene diskriminacije na srečanje dveh rojev oz. na rojenje mešanice dveh sevov. Prikazane so slike agarških plošč za rojenje in povečane slike, pridobljene s fluorescentno lupo.



sodelovanje oz. tekmovanje pri zasedanju novih površin s hranili. Pokazali smo že, da pri srečanju manj sorodnih rojev („nonkin“) med sevi

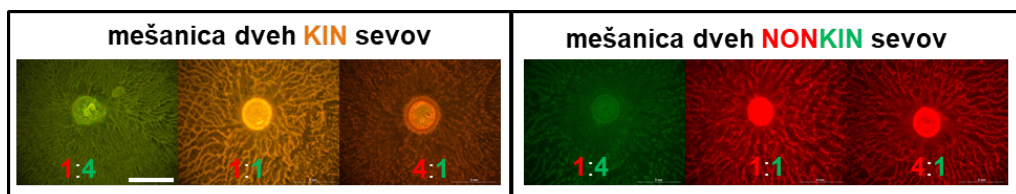
četnega razmerja med sevoma smo pokazali, da je uspešnost zasedanja površine odvisna od zastopanosti posameznega seva v začetni kapljici

»Raziskava je pokazala vpliv sorodstvene diskriminacije na kompetitivno izključevanje pri zasedanju površine s pozitivno frekvenčno odvisnostjo, kar pomembno prispeva k razumevanju ohranjanja kooperativnega vedenja in biotske raznolikosti sevov.«

bakterije *Bacillus subtilis* pride do antagonističnih interakcij, kar se kaže v pojavu mejne linije, v kateri smo zaznali povečano število mrtvih celic. V naši zadnji raziskavi pa smo pokazali, da se antagonistične interakcije med sevi najverjetneje pojavijo že takoj ob nanosu mešanice sevov na poltrdno gojišče. Tu se celice razmnožujejo in ustvarijo razmere za prehod v fiziološko stanje aktivno roječih celic, ki se potem v skupnih („raftih“) prebijo po površini. Visokosorodne celice („kin“) so si med seboj pomagale in površine zasedale v obliki skupnih rojev, medtem ko so se celice „nonkin“ medsebojno izključile, še preden jim je uspelo rojiti po površini. Zasedanje površine z rojenjem je večinoma uspelo samo enemu sevu v mešanici, medtem ko je bilo razmnoževanje in preraščanje plošče z drugim sevom ustavljeno. V nekaterih primerih smo opazili pojav segregacije, to je preraščanja plošče z obema manj sorodnima sevoma, vendar v jasno ločenih sektorjih (slika zgoraj). S spreminjanjem za-

na plošči in od njune sorodnosti. Pri mešanicah manj sorodnih sevov je ploščo večinoma prerastel le sev, ki je bil v začetni kapljici v večini (slika spodaj). Pomembno je tudi odkritje, da lahko mutantam, ki imajo okvarjen gen za izločanje surfaktina (javne dobrine, ki je nujno potrebna za uspešno rojenje), pri zasedanju površine v mešanici pomagajo visokosorodne intaktne celice, medtem ko v mešanici z manj sorodnimi intaktnimi celicami pride do izključevanja in zato pomoč pri rojenju ni možna. Raziskava je pokazala vpliv sorodstvene diskriminacije na kompetitivno izključevanje pri zasedanju površine s pozitivno frekvenčno odvisnostjo, kar pomembno prispeva k razumevanju ohranjanja kooperativnega vedenja in biotske raznolikosti sevov. Ker je *Bacillus subtilis* zelo pomemben probiotik, pospeševalec rasti rastlin in biopesticid, bi ugotovitve te raziskave lahko pripomogle k učinkovitejšemu iskanju novih pristopov za zaščito rastlin in zdravja človeka.

▼ Vpliv začetnega razmerja celic v mešanici na zasedanje površine z rojenjem glede na sorodnost sevov.



Raziskave v svetu mikrobiologije

Bakterijski virus Phi6 kot surogat za SARS-CoV-2

Katja Molan, Ines Mandić-Mulec, David Stopar

Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

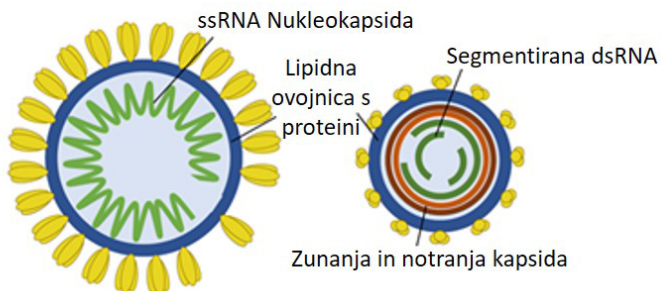
Beseda virus je danes zelo popularna. K temu je precej pripomogla pandemija virusa SARS-CoV-2 in številni znanstveniki po vsem svetu se posvečajo raziskavam, povezanim s SARS-CoV-2 in COVID-19. Obstaja veliko pristopov, s katerimi lahko raziskujemo in proučujemo širjenje in uničevanje virusov, a pomemben dejavnik, ki velikokrat ovira/upočasnuje raziskovanje, je virusna patogenost. Delo z virusi, ki so za človeka nevarni, zahteva posebne pristope in visoko stopnjo laboratorijske varnosti. Denimo, za proučevanje virusa SARS-CoV-2 potrebujemo laboratorije z biološko varnostno stopnjo 3 in v Sloveniji ima zgolj nekaj laboratorijev dovoljenje in opremo ter usposobljene zaposlene za delo s takšnimi virusi. Vendar pa uporabne raziskave virusov niso omejene zgolj na viruse, ki so nevarni za človeka.

Bakterijski virusi oziroma bakteriofagi (fagi), ki okužijo bakterijske celice, so po svoji zgradbi lahko primerljivi z virusi, ki okužijo evkariontske celice. Zato se bakterijski virusi velikokrat uporabljajo kot surogati (modeli) za študij patogenih evkariontskih virusov. Takšni pristopi so bistveno varnejši. Fagi so lahko podobne velikosti, ob-

like, morfologije in imajo podobne površinske lastnosti kot patogeni virusi, vendar za človeka niso nevarni. Delo s fagi nam omogoča raziskave na velikem številu vzorcev hitreje in ceneje. V naši raziskovalni skupini se ukvarjamo s fagom Phi6, ki je dobro znan virus in uveljavljen modelni sistem za virucidno testiranje [1,2,3,5]. Delo z virusom Phi6 je dokaj pre-

Koronavirusi

Bakteriofag Phi6



prosto in razen obvladovanja osnovnih tehnik aseptičnega dela ne zahteva dodatnih varnostnih ukrepov. Phi6 je litični fag, ki okuži celice bakterije *Pseudomonas syringae*. Spada v družino *Cystoviridae*, ki je ena od redkih znanih družin fagov, obdanih z lipidno ovojnico [4]. Je surogat za evkariontske živalske viruse z lipidno ovojnico, kot so virusi gripe, zike, ebole ter virus zahodnega Nila, HIV in SARS. Phi6 je podoben koronavirusom. Strukturno so koronavirusi in Phi6 obdani z lipidno ovojnico, na kateri so proteinske bodice oziroma

Vendar pa je virusna lipidna ovojnica lahko tudi njegova šibka točka, saj jo lahko uporabimo kot tarčo za njegovo uničenje. Lipidna ovojnica ne vsebuje zgolj lipidov, ampak tudi proteine, med drugimi proteinske bodice, in s porušenjem lipidne ovojnice vplivamo na vezavo virusa na gostiteljske celice. Lipidno ovojnico lahko poškodujemo z različnimi pristopi, od fizioloških (temperatura, pH, relativna vlaga) do kemijskih (sintetični in naravni surfaktanti) in mehanskih (iradiacija, kavitacija). Na virusne lipide in/ali proteine v

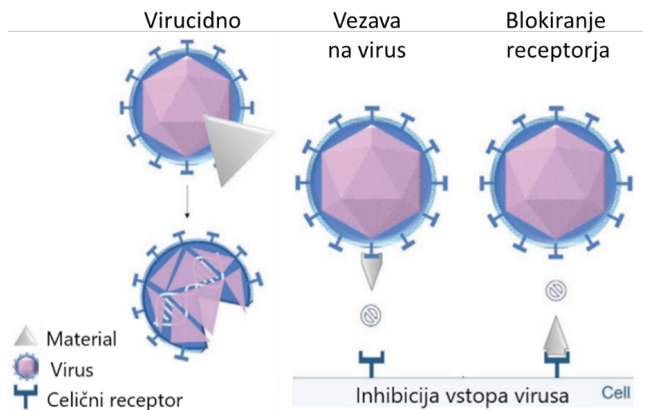
»Strukturno so koronavirusi in Phi6 obdani z lipidno ovojnico, na kateri so proteinske bodice oziroma »spike proteini«, pri obeh je genski zapis v obliki RNA. V gostitelju lipidna ovojnica virusom olajša izogibanje imunskemu sistemu in je v primerjavi z virusi brez ovojnice lahko evlucijska prednost.«

»spike proteini«, pri obeh je genski zapis v obliki RNA [6]. V gostitelju lipidna ovojnica virusom olajša izogibanje imunskemu sistemu in je v primerjavi z virusi brez ovojnice lahko evlucijska prednost.

ovojnici pa lahko negativno vplivajo tudi različne površine, ki s svojimi lastnostmi (npr. hidrofbnost/hidrofilnost, sproščanje ionov, poroznost) delujejo virucidno.

Pri virucidnem delovanju agensa ali

površine pride do uničenja virusa [7]. Kadar pa virus v gostiteljske celice ne more vstopiti, govorimo o inhibiciji vstopa, kar dosežemo z vezavo agensa/spojine na virusne proteine v lipidni ovojnici (npr. bodice) ali pa na celični receptor gostiteljske celice (slika desno). Znani so tudi drugi mehanizmi preprečevanja vstopa virusa v gostiteljske celice, na primer inhibicija fuzije (zlivanja) virusa z gostiteljevo membrano zaradi neprimerno ukrivljene virusne lipidne ovojnice, ki je posledica vgrajevanja surfaktantov. Če je virus v gostiteljski celici že prisoten in se zaradi aplicirane snovi/spojine/zdravila ne more razmnoževati, govorimo o protivirusu-



ge za izdelavo. Zato smo se pri projektu osredotočili na izdelavo novih kompozitnih materialov, ki jih lahko natisnemo tudi v tehniki 3D in ima-

▲ Zunajcelični mehanizmi inaktivacije virusa (povzeto po [5]).

»V projektu smo se osredotočili na izdelavo novih kompozitnih materialov, ki jih lahko natisnemo tudi v tehniki 3D in imajo visok aplikativni potencial (npr. virucidni gumbi v dvigalih, kljuke).«

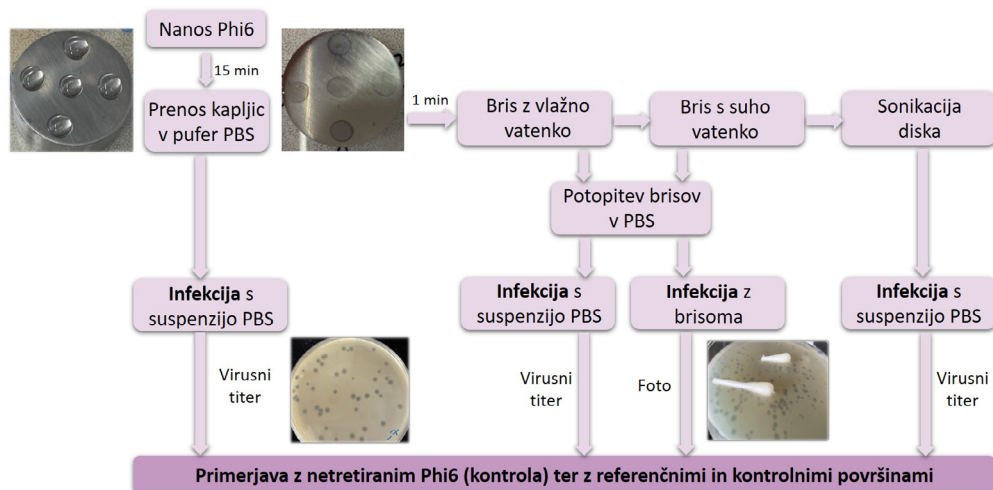
snem učinku (»antiviral effect«). Testi, ki jih opravljamo v okviru naše raziskovalne skupine, se nanašajo na virucidno delovanje agensov/spojin in kovinskih/keramičnih površin. Protimikrobne, protivirusne in virucidne lastnosti nekaterih vrst površin so razmeroma dobro znane (npr. površine bakra in srebra). Vendar pa

jo visok aplikativni potencial (npr. virucidni gumbi v dvigalih, kljuke). Testiranje virucidnega učinka agensov/spojin se lahko precej razlikuje od testiranja virucidnega učinka površin, a ne glede na metodološki pristop je splošno sprejeto dejstvo, da je za dobro virucidno aktivnost potreben upad virusnega titra za 4

»Rezultati so pokazali, da s poskusi na modelnem virusu Phi6 lahko razmeroma hitro in poceni pridobimo rezultate o virucidnem učinku testnih spojin oz. površin.«

te površine nimajo nujno najboljših mehanskih lastnosti in so precej dra-

desetiške eksponentne rede (logaritme) ali več v primerjavi s kontro-



▲ Metodologija testiranja potencialnih virucidnih površin.

lo (99,99-odstotno uničenje virusa) [8]. V raziskavah smo pridobili kar nekaj površin, ki omenjeni kriterij znatno presegajo. Kadar testiramo virucidne spojine, virus predtretiramo z izbrano spojino in nato gostiteljske celice okužimo s tretiranim in netretiranim virusom (kontrola) ter ugotovimo virusni titer. Za testiranje virucidnosti površine pa je metodologijo treba prilagoditi vezavi virusa na površino. Protokol za testiranje virucidnega učinka površin, ki smo ga optimizirali v našem laboratoriju, je shematsko prikazan na sliki zgoraj. Virusne titre smo primerjali z virusnimi titri, pridobljenimi na referenčnih materialih in kontrolnih površinah (npr. jeklo). V raziskavah

smo s partnerji v Sloveniji in tujini povezali mikrobiološko znanje in znanost o materialih. Rezultati so pokazali, da s poskusi na modelnem virusu Phi6 lahko razmeroma hitro in poceni pridobimo rezultate o virucidnem učinku testnih spojin oz. površin. Nekateri izmed testiranih novih kompozitnih materialov imajo zelo dobre virucidne in mehanske lastnosti, ki znatno odstopajo od znanih materialov. Virucidnost najobetavnejših spojin in površin lahko v nadaljevanju testiramo na SARS-CoV-2. Na ta način skrajšamo čas testiranja v laboratoriju 3. stopnje biološke varnosti in znižamo stroške testiranja.

Viri:

1. Vidaver et al. 1973. Bacteriophage phi6: a Lipid-Containing Virus of *Pseudomonas phaseolicola*. *Journal of Virology* 11: 799–805.
2. Adcock et al. 2009. The use of bacteriophages of the family *Cystoviridae* as surrogates for H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses in persistence and inactivation studies. *J Environ. Sci. Health Part A, Tox Hazard Subst. Environ. Eng.* 44: 1362–1366.
3. Fedorenko et al. 2020. Survival of the enveloped bacteriophage Phi6 (a surrogate for SARS-CoV-2) in evaporated saliva microdroplets deposited on glass surfaces. *Sci. Rep.* 10: 1–10.
4. Machado et al. 2021. Bacteriophages as surrogates for the study of viral dispersion in open air. *Arch Microbiol* 203: 4041–4049.
5. Silverman in Boehm. 2020. Systematic Review and Meta-Analysis of the Persistence and Disinfection of Human Coronaviruses and Their Viral Surrogates in Water and Wastewater. *Environmental Science & Technology Letters* 7(8): 544–553.
6. Rodrigues et al. 2021. From Bulk to Nanoparticles: An Overview

of Antiviral Materials, Its Mechanisms, and Applications Part. Part. *Syst. Charact.* 38: 2170017.

7. Tarka et al. 2021. Evaluating the Virucidal Activity of Disinfectants According to European Union Standards. *Viruses* 24, 13(4): 534.

8. Whitworth et al. 2020. Persistence of Bacteriophage Phi 6 on Porous and Nonporous Surfaces and the Potential for Its Use as an Ebola Virus or Coronavirus Surrogate. *Appl Environ Microbiol.* 18, 86(17): e01482–20.

Takoj po razglasitvi epidemije in prvem zaprtju družbe je naša raziskovalna skupina prepoznala tveganje omejevanja gibanja, še posebej za otroke in mladostnike. Pripravila je priporočila za telesno dejavnost v času omejevanja gibanja zaradi širjenja SARS-CoV-2 tako za slovenski kot mednarodni prostor in jih kot prva na svetu objavila v reviji Journal of Sport and Health Science. Na podlagi meritev v sklopu športnovzgojnega kartona smo po prvem valu epidemije kot edini na svetu potrdili domnevo, da bo zaprtje družbe imelo izjemen vpliv na telesno zmogljivost otrok in mladostnikov. Takoj smo obvestili odločevalce in medije ter predlagali ukrepe za izboljšanje stanja. Prav tako smo z našimi spoznanji seznanili WHO. Na spletni strani www.slofit.org smo vzpostavili tudi orodje COVID-19 Fitbarometer, s katerim smo želeli javnost in medije opozoriti na realizacijo predlaganih ukrepov. V časopisu Frontiers of Public Health smo o tem objavili članek. Na osnovi sicer omejenih lastnih podatkov o teles-

ni dejavnosti otrok smo tudi preliminarно analizirali upad telesne dejavnosti in porast sedentarnosti med našimi otroki ter pripravili pregled mednarodnih študij o tem. Oboje izsledke smo objavili v reviji Šport in tako dodatno informirali slovensko strokovno javnost o razsežnostih problema. Pozneje smo naredili še kompleksnejšo analizo o upadu telesne dejavnosti otrok in na to temo pripravili članek, ki je še v recenzirskem postopku. Prav tako smo spisali članek z večplastno analizo upada telesne zmogljivosti otrok po prvem in drugem valu epidemije in zaprtju naše družbe, tudi ta je v recenzirskem postopku.

▼ Vpliv zapiranja družbe zaradi epidemije COVID-19 na telesno zmogljivost otrok in mladostnikov.



▼ Članek, ki je izšel v reviji
Qualitative Health Research.

Research Article

Alone in a Time of Pandemic: Solo-Living Women Coping With Physical Isolation

Tanja Kamin¹, Nina Perger¹, Liza Debevec²,
and Blanka Tivadar³

Qualitative Health Research
2021, Vol. 31(2) 203–217
© The Author(s) 2020
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/1049732320971603
journals.sagepub.com/home/qlh
SAGE

V okviru razširjenega programa smo izvedli dve raziskavi, kvalitativno in kvantitativno, ter poskrbeli za diseminacijo rezultatov zainteresirani strokovni, pa tudi splošni javnosti. Longitudinalno zastavljena kvalitativna raziskava je osredotočena na populacijo, ki živi sama. Prvi val zbiranja podatkov je potekal med prvo zaustavitvijo javnega življenja (april 2020), ko smo proučevali doživljanje ukrepov za zajezitev epidemije v spregledani družbeni skupini – pri ženskah, ki so v tem času živele same. Proučili smo odnos med kognitivnimi, afektivnimi in vedenjskimi odzivi na ukrepe ter osebne strategije spoprijemanja z epidemijo in odziv udeleženk raziskave na uradno (vladno) komuni-

ranje o epidemiji in ukrepih za njeno zajezitev. Rezultate kvalitativne raziskave smo predstavili na več domačih in mednarodnih konferencah in jih objavili v štirih znanstvenih člankih. Sedaj poteka vnovično zbiranje podatkov, in sicer z izbranimi (mlajšimi) udeleženkami prvotnega vzorca, ki so epidemijo in ukrepe doživljale najbolj obremenjujoče.

Kvantitativno raziskavo smo izvedli na populaciji mladih, starih od 15 do 30 let (panel, reprezentativni vzorec). Zbiranje podatkov je potekalo v avgustu 2021. V raziskavi smo se osredotočili na dejavnike cepljenja proti COVID-19, med drugimi tudi na zaupanje mladih v znanost in načine informiranja o zadevah, povezanih s COVID-19. Zbrani podatki omogočajo strukturno modeliranje in pojasnjevanje (ne)odločanja za cepljenje proti COVID-19. Prve analize smo slovenskim medijem in mednarodni javnosti predstavili na znanstveni konferenci.

Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Obvladovanje mega krize: ko priročniki ne delujejo več

Program: Odziv na pandemijo COVID-19 v primerjalni perspektivi: organizacija, koordinacija in improvizacija

Vodja: Marjan Malešič

Člani: **Simona Kukovič***, Anton Bebler, Anton Grizold, Ljubica Jelušič, Iztok Prezelj, Vladimir Prebilič, Maja Garb, Jelena Juvan, Janja Vuga Beršnak, Rok Zupančič, Miro Haček, Marjan Brezovšek, Klemen Kocjančič, Teodora Tea Ristevska, Luka Zalokar, Judita Goričar

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za družbene vede

Ključne besede: politična oblast, odziv na krizo COVID-19, mednarodna primerjava, lokalna skupnost, koordinacija in improvizacija.

* prispevek predstavila na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitve dostopne na SMD strani

Nezadržno in izjemno hitro širjenje koronavirusa SARS-CoV-2 je bilo za vse vlade po svetu izziv brez primere. Če iz današnje perspektive pogledamo zaporedje dogodkov, vidimo, da je prvi primer okužbe z novo, neznano boleznijo Kitajska sporočila Svetovni zdravstveni organizaciji 31. decembra 2019. Svetovna zdravstvena organizacija je zaradi naraščajočega števila primerov okužbe mesec kasneje (30. januarja 2020) izbruh koronavirusne bolezni označila kot izredne razmere na področju javnega zdravja mednarodnega pomena; 11. marca 2020 pa je razglasila pandemijo. Zgolj v prvih treh mesecih leta je virus obkrožil svet, pri tem pa za sabo puščal smrtne žrtve, dolgotrajne posledice za psihično in fizično zdravje ljudi, ogrožal je življenja, spreminjal življenjski stil posameznikov, posegal v osnovne dejavnosti, kot so izobraževanje in zdravstvo, povzročal omejevanje človekovih

pravic ter vplival na medčloveške odnose, kar se je odrazilo tako v psihološkem stanju posameznikov kot tudi celotne družbe. V tej pandemiji gre namreč za univerzalne grožnje, ki presegajo fizične, časovne in družbene meje, kar zahteva skupen in simultani odziv držav, mednarodnih institucij ter nevladnih organizacij. Na začetku pandemije so si države izmenjevale informacije, se učile druga od druge in usklajevale svoje

▼ Ilustracija virusa, klikni za [Vir](#).
(preneseno s spleta)



odzive, a se je ta koordiniranost dokaj hitro izkazala za izjemno krhko; še več, države so postale tekmičice v nabavljanju zaščitne opreme. Tako smo bili priča nacionalizaciji različnih politik in pomanjkanju instrumentov za odzivanje na krizo, kar je povzročilo različne paradokse in veliko improvizacije. Poleg njih smo člani Obramboslovnega raziskovalnega centra v sklopu razširjenega programa krizo COVID-19 proučili

in analizirali tako z vidika odzivov odločevalcev v tujini kot slovenskega državnega vrha. Posebno pozornost smo namenili spoprijemanju s krizo na lokalni ravni in zato izvedli prvo pocovidno empirično raziskavo med župani slovenskih občin. Prav tako smo v izbranih evropskih državah izvedli primerjalno analizo uporabe oboroženih sil pri odzivu na krizo.

Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Duševno zdravje v času epidemije COVID-19

Program: Živ? Živ! Raziskovanje in preprečevanje samomora

Vodja: Diego de Leo

Člani: **Vita Poštuvan***, Nuša Zadravec Šedivy, Tina Podlogar, Meta Lavrič, Nina Krohne, Vanja Gomboc, Monika Brdnik, Patricija Kerč

Univerza na Primorskem, Inštitut Andrej Marušič, Slovenski center za raziskovanje samomora, Univerza na Primorskem, Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije

Ključne besede: COVID-19, duševno zdravje, raziskave, intervencije.

* prispevek predstavila na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitev dostopne na SMD strani

Razsežnosti epidemije COVID-19 ne ogrožajo zgolj fizičnega zdravja ljudi, ampak globoko posegajo tudi v njihovo duševno zdravje. Z namenom krepitev duševnega zdravja ter preprečevanja samomorilnega vedenja je projektna skupina UP IAM Slovenskega centra za raziskovanje samomora izvedla več raziskovalnih oz. aplikativnih projektov:

1. Dve izvedbi spletne raziskave o doživljanju sprememb v vsakodnevem življenju ter duševnem zdravju med epidemijo (tesnoba, osamljenost, skrbi, psihična blaginja, morebitne pozitivne spremembe v posameznikovem življenju),
2. raziskovanje duševnega zdravja otrok in mladostnikov med zaprtjem šol na več ravneh,
3. raziskovanje potreb po psihosocialni podpori za potencialno ranljive skupine med epidemijo,
4. longitudinalno spremljanje indi-

katorjev duševnega zdravja pred epidemijo, med njo in po njej,

5. sodelovanje v mednarodnih raziskavah različnih vidikov doživljanja in duševnega zdravja med epidemijo,

6. izvedba na čuječnosti utemeljene 8-tedenskega programa za spoprijemanje z epidemičnim vsakdanom,

7. oblikovanje in diseminacija psihosocialne intervencije po telefonu z namenom krepitev duševnega zdravja med epidemijo,

8. sodelovanje pri vzpostavitvi psihološke podpore za študente in zaposlene Univerze na Primorskem ter redno zagotavljanje podpore tistim, ki se med epidemijo soočajo s stiskami, ter

9. priredba in diseminacija smernic odgovornega poročanja o samomoru med epidemijo COVID-19.

Rezultati raziskav so bili predstavljeni (i) znanstveni javnosti v obliki

znanstvenih člankov in predstavitev na znanstvenih konferencah, (ii) strokovni javnosti v obliki predavanj za strokovnjake za duševno zdravje ter zdravstvene delavce, (iii) odločevalcem politik v obliki sodelovanja

na seji Državnega sveta, na medresorskem posvetu predstavnikov različnih ministrstev in na novinarski konferenci vlade ter (iv) laični javnosti v obliki sodelovanja z novinarji ter z objavami na spletni strani.

► Program Nara, klikni za [Vir](#).

živzlv.si/program-nara-med-epidemijo/

POSTAJE | O SCSR | FOTO | SOS | KONTAKT | ENGLISH | **ISU** | ISO



Postaja za razumevanje samomora

Si v stiski?
Imaš občutek nemoči, brezupa in misli o samomoru? Informacije za ljudi v stiski so le klik stran.

Kako pomagati?
Se pri delu srečuješ z ljudmi v stiski? Tukaj najdeš programe in gradiva za pomoč.

Po samomoru
Izguba bližnjega zaradi samomora je težka. Poišči informacije o žalovanju in reintegraciji.

Za medije
Odgovorno poročanje je pomemben dejavnik preprečevanja samomorov.

Zaščiteno: Program NARA – Na čuječnosti temelječe soočanje z vsakdanjikom (med epidemijo)

Toplo pozdravljeni na spletni strani Programa NARA. Po vsakem srečanju boste tukaj lahko našli gradiva, ki vam bodo pomagala pri vadbi čuječnosti tudi med našimi srečanji. Naj bo vsak trenutek nova priložnost za čuječe sprejemanje vsakdanjika.

Program NARA:

- 1. srečanje: stanje avtopilota
- 2. srečanje: soočanje z ovirami
- 3. srečanje: čuječnost v vsakdanjiku
- 4. srečanje: ostajati prisoten
- 5. srečanje: sprejemanje
- 6. srečanje: misli niso dejstva
- 7. srečanje: poskrbeti zase
- 8. srečanje: čuječe nagreje



Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Pandemija v kriminološki perspektivi

Program: Družbeno nadzorstvo, kazenskopравни sistem, nasilje in preprečevanje viktimizacij v kontekstu visokotehnoške družbe

Vodja: Renata Salecl

Člani: **Zoran Kanduč***, Renata Salecl, Aleš Završnik, Pika Šarf, Mojca M. Plesničar, Matjaž Jager, Vasja Badalič, Matjaž Ambrož, Katja Filipčič, Lora Briški, Marko Drobnjak

Inštitut za kriminologijo pri Pravni fakulteti

Ključne besede: triaža, družbeno nadzorstvo, partnersko nasilje, disciplina.

* prispevek predstavil na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitve dostopne na SMD strani

Obravnavane so bile naslednje teme: (a) etične in (kazensko) pravne dileme v težavnih – za odločevalce pogosto neznosnih – položajih »kolizij dolžnosti«, ko zaradi preobremenjenih bolnišničnih zmogljivosti oz. pomanjkanja medicinskega osebja, tehničnih sredstev ali drugih nujno potrebnih virov objektivno ustrezne zdravstvene oskrbe – in *eo ipso* možnosti preživetja – ni mogoče zagotoviti vsem pacientom; (b) vpliv visokotehnoških nadzorstvenih pripomočkov za sistematično in med pandemijo celo intenzivirano zbiranje osebnih podatkov, sledenje medčloveškim stikom in gibanju ljudi – kot so na primer letalniki (droni), termalne kamere, tehnologija obrazne prepoznavne in najrazličnejše digitalne aplikacije – na posameznikove pravice in temeljne svoboščine ter na učinkovitost preprečevanja širjenja nevidnega smrtonosnega sovražnika v kontekstu globalnega in lokalnega »izrednega stanja«; (c) učinki »nove normalnosti« na kriminalne pojave, zlasti na medosebno fizično nasilje v partnerskem razmerju in družinski

celici (kot ga odsevajo uradni/policijski podatki o zaznanih kaznivih dejanjih ali prekrških in viktimološke študije), in sicer tako na svetovni ravni kakor tudi v slovenskem prostoru, kjer so bila opažena vsaj na prvi pogled presenetljiva odstopanja od pričakovanih trendov (število prijav se je v primerjavi z obdobjem zadnjih desetih let zmanjšalo); (č) posledice spopadanja z virusom v prvem valu okužb na družbeno in individualno življenje, solidarno in sebično ravnanje, stanje oz. spreminjanje socialne in moralne (ne)discipline (v prvi vrsti na upoštevanje in zavračanje predpisanih in priporočenih preprečevalnih ukrepov za omejitev okužb, obolenj in smrti), naravo protestnih dogodkov ali gibanj ter izvrševanje politične/javne in zasebne/ekonomske oblasti (zlasti na razmerje med kapitalom in delom ter med bogatimi in revnimi). Rezultati opravljenih analiz in raziskav so bili povečini objavljeni v Reviji za kriminalistiko in kriminologijo.

Razvoj sistemov za dostavo bioloških vzorcev v femtosekundni kristalografiji

Program: Tranzientni dvofazni tokovi

Vodja: **Božidar Šarler***

Člani: Rizwan Zahoor, Jurij Gregorc, Tadej Dobravec, Boštjan Mavrič, Grega Belšak, Khush-Bakhat Rana, v sodelovanju s študenti Gal Savšek, Bor Zupan, Kristof Kovačič

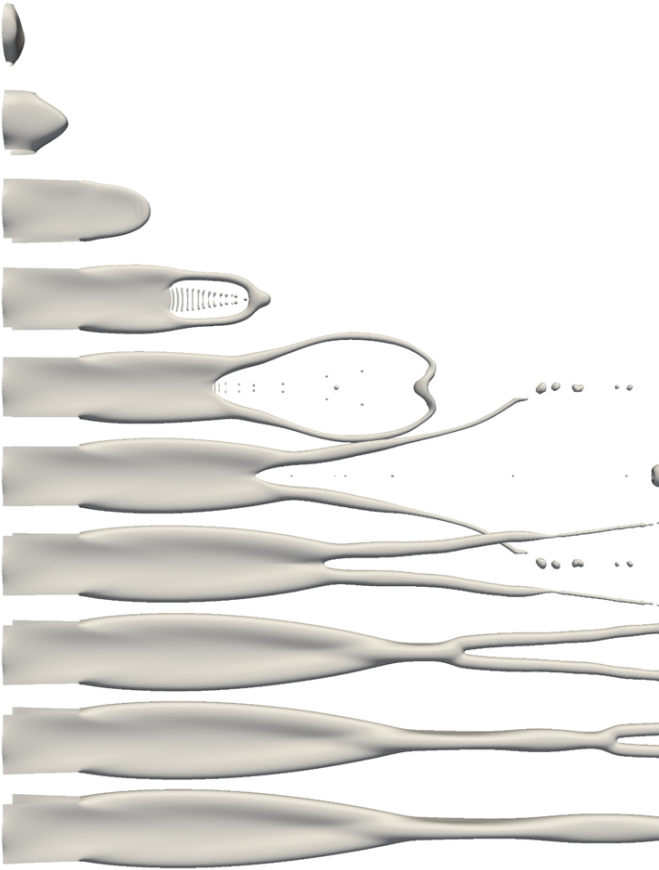
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za strojništvo

Ključne besede: femtosekundna kristalografija, laserji na proste elektrone, novi sistemi za dostavo bioloških vzorcev, nove eksperimentalne zmožnosti, numerične simulacije.

* prispevek predstavil na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitve dostopne na SMD strani

Namen dodatnih raziskav programske skupine je eksperimentalno in na podlagi simulacij preizkusiti ter optimizirati nove, inovativne, konceptualno visoko tvegane prebojne metode dostave bioloških vzorcev za femtosekundno kristalografijo z laserji na proste elektrone. Raziskave se opirajo na nove ideje o povezovanju pristopov, ki temeljijo na dostavi z vbrzgovanjem in fiksnimi tarčami, vključevanju zunanjih elektromagnetnih in ultrazvočnih polj, razvoju vbrzgovanja za opazovanje kemijskih reakcij, na načinih za omejevanje vzorcev v curkih, testiranju novih nosilnih medijev z vzorci in aerosolnem vbrzgovanju. Obstoječe laboratorijske zmogljivosti nadgrajujemo tako, da se lahko spopadamo s predstavljenimi novimi idejami. Simulacijski modeli novih metod za dostavo vzorcev temeljijo na modernih brez mrežnih računskih metodah, prilagojenih za super-računalniško infrastrukturo, ki je v izgradnji v Sloveniji. Predstavljajo korak naprej pri digitalni

transformaciji dolgotrajnega načina s poskušanjem in odpravljanjem napak, ki je trenutno pretežno v uporabi pri načrtovanju tovrstnih novih sistemov. Raziskave so ciljno usmerjene v zmanjšanje porabe nevarnih COVID-19 vzorcev, k izboljšanju učinkovitosti in kakovosti zbiranja podatkov, zagotavljanju strukturnih podatkov visoke ločljivosti brez sevalnih poškodb, pa tudi omogočanju časovno razrešenih dinamičnih študij. Z opisanimi aktivnostmi dograjujemo in pospešujemo razvoj pomembnega člena v obsežnem, mednarodno prepletenem postopku iskanja cepiv in zdravil za COVID-19. Med poglavitne dosežene uspehe sodijo: eksperimentalno verifikirani modeli plinsko fokusiranih mikro curkov, fokusiranje s kapljevino in plinom, nadzvočno plinsko fokusiranje, pospeševanje curkov z električnim poljem, ter dostava vzorcev na tekoči trak. Raziskave potekajo v tesnem sodelovanju s skupino dr. Saše Bajt, DESY, Hamburg.



Zlati nanodelci: od sinteze do prototipne uporabe v hitrih testih

Program: Tehnologije metastabilnih materialov s kovinsko osnovo

Vodja: Ivan Anžel

Člani: **Jelen Žiga***, Rakuša Martin, Peter Majerič, Rebeka Rudolf

Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo

Ključne besede: nanodelci zlata, hitri test, COVID-19, protitelesa, antigeni.

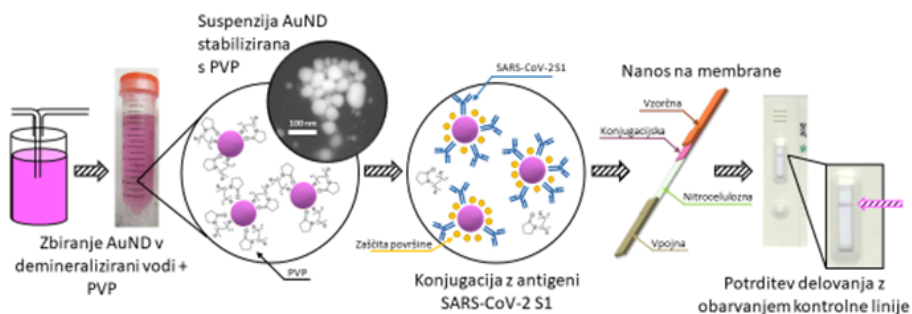
* prispevek predstavil na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitve dostopne na SMD strani

Za spremljanje poteka in preprečitev širjenja pandemije COVID-19 v realnem času in zunaj laboratorijev je bistveno razviti učinkovite medicinske pripomočke, med katere spadajo tudi hitri testi, ki bi zagotavljali hitro, selektivno in zanesljivo diagnozo okuženih oseb oziroma virusnih nosilcev v različnih okoljih. Pomemben vidik tukaj predstavlja tudi razvoj hitrega testa (LFIA), ki deluje na principu imuno-kromatografskega testiranja na osnovi lateralnega vleka tekočega medija, s katerim se ukvarja tudi

naša skupina. Takšen nov test LFIA bi lahko dodatno pomagal pri hitrem in enostavnem odkrivanju protiteles SARS-CoV-2 virusa – IgA, IgG in IgM, karakteristično prisotnih v krvi okužene oziroma prekužene osebe ali asimptomatskega nosilca.

Na razvoj in s tem na izdelavo LFIA testa vplivajo številni dejavniki, ki posredno določajo občutljivost in natančnost testa. Ti dejavniki so direktno odvisni od vrste nastalih protiteles, ki se tvorijo kot imunskih odgovor ob okužbi z virusom. Izdelava LFIA testa je povezana z

► Princip delovanja hitrega testa LFIA.



ustrezno izbiro osnovnih komponent, ki določajo tip in kvaliteto LFIA testov. Med osnovne komponente spadajo: substrati in membrane, antigeni in oznake protiteles ter kompatibilni pufri. Med naštetimi komponentami je odločilna izbira in uporaba ustrezne oznake protiteles virusa, ki mora med konjugacijo s protitelesi ohraniti svoje lastnosti, ob tem pa ne sme spremeniti lastnosti protiteles. Bistven pogoj je

tudi ta, da mora biti oznaka odzivna že pri zelo nizkih koncentracijah protiteles. Za oznako protiteles se lahko uporabijo različne snovi, v zadnjem času se za ta namen izvajajo obširne raziskave uporabe nanodelcev zlata. Le ti bi lahko bistveno izboljšali občutljivost zaznavanja testov LFIA, kot posledica njihovih funkcionalnih lastnosti (plazmonska resonanca, biokompatibilnost, idr.).

Inaktivacija virusov z neravnovesno plinsko plazmo

Program: Tankoplastne strukture in plazemsko inženirstvo površin

Vodja: **Miran Mozetič***

Člani: Benčina Metka, Cvelbar Uroš, Čekada Miha, Drenik Aleksander, Drnovšek Aljaž, Drobnič Matej, Ekar Jernej, Filipič Gregor, Filipič Tatjana, Fišer Jožko, Hojnik Nataša, Holc Matej, Humpolčiček Petr, Jakša Gregor, Junkar Ita, Kek Merl Darinka, Kisovec Urška, Košiček Martin, Kovač Janez, Kutasi Kinga, Lehocky Marian, Levičnik Eva, Lojen Dane, Mahne Nastja, Matelič Damjan, Modic Martina, Mozetič Miran, Panjan Matjaž, Panjan Peter, Paskvale Srečko, Paul Domen, Popović Dean, Primc Gregor, Recek Nina, Resnik Matic, Starič Pia, Stele Uroš, Stražar Petra, Šukarov Maja, Trtnik Janez, Vesel Alenka, Zaplotnik Rok, Zver Mark

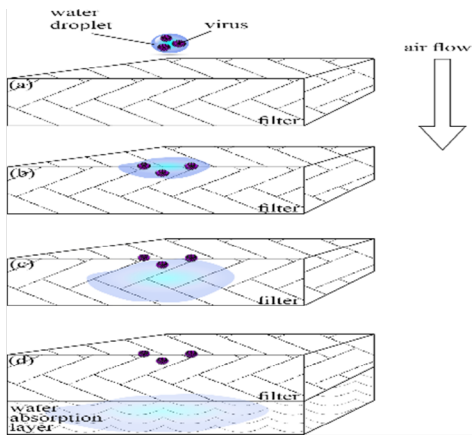
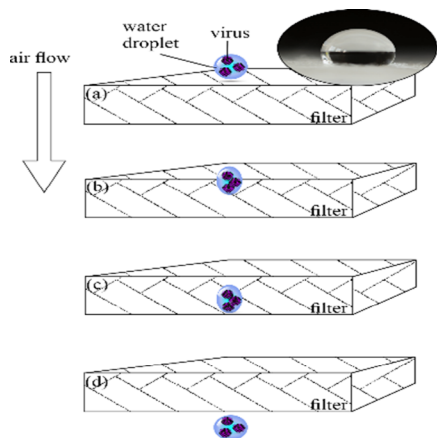
Institut Jožef Stefan

Ključne besede: Sterilizacija, plinska plazma, površina, filtriranje.

* prispevek predstavil na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitev dostopne na SMD strani

Raziskujemo metode za ireverzibilno vezavo in inaktivacijo respiratornih virusov na plazemsko obdelanih materialih za maske, filtre in podobno. Komercialni materiali, iz katerih so narejeni filtri za maske, so tako hidrofobní, da se kapljice, ki nastajajo pri kašljanju, kihanju in v manjši meri pri govoru, ne vsrkajo v filtre, ampak ostanejo na površinah vlaken, kar otežkoča inaktivacijo virusov. Raziskali smo metode hidrofilizacije filtrov in optimizirali parametre, tako da dosežemo željeno stanje supervpojnosti filtrov v času okoli desetinke sekunde, kar je primerno za industrijsko uporabo. Izkašljane oz. izdihane kapljice se zaradi plazemske obdelave popolno-

ma vpijejo v filter in s tem preprečijo širjenje kapljic (in s tem virusov) v okolico. Raziskali smo vpliv stanja površine na hitrost inaktivacije virusov in izluščili ključne korelacije. Raziskujemo postopek selektivne funkcionalizacije vlaken v filterih za zajem kapljic z virusi, pri čemer se posvečamo interakciji virusov z različnimi funkcionalnimi skupinami, ki jih je mogoče sintetizirati na površini vlaken znotraj netkanega materiala. Cilj teh raziskav je hitra inaktivacija virusov, ki so zajeti v filtrirnih plasteh.



▲ Shematičen prikaz interakcije vodne kapljice z virusi na običajnem (a) in plazemsko obdelanem (b) filtrirnem materialu.

Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Razvoj prenosljive elektrokemijske biosenzorske platforme za hitro in visoko občutljivo detekcijo SARS-CoV-2 v vzorcih slin

Program: Nanostrukturni materiali

Vodja: Sašo Šturm

Člani: Špela Trafela*, Kristina Žužek Rožman, Anja Drame

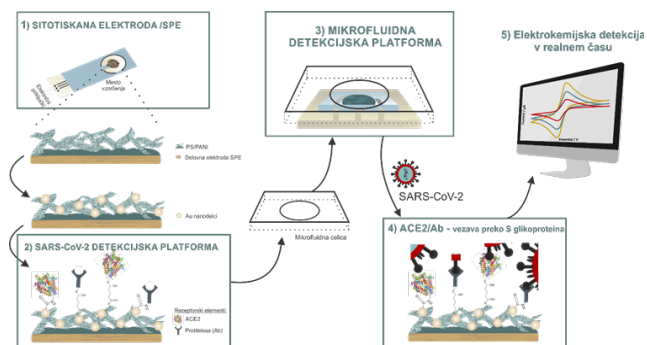
Institut Jožef Stefan

Ključne besede: detekcija SARS-CoV-2, elektrokemijski biosenzorji, elektrokemijska detekcija, nanostrukturni materiali, sitotiskane elektrode.

Novi koronavirus, t. i. SARS-CoV-2, se je v zelo kratkem času razširil po vsem svetu in povzročil pandemijo koronavirusne bolezni 2019 (COVID-19). Dosedanji podatki kažejo, da so osebe lahko kužne že pred samim pojavom bolezenskih znakov. Zatorej zanesljivo, hitro in dostopno testiranje igra eno izmed ključnih vlog pri omilitvi in nadzoru širjenja koronavirusa. Na Odseku za nanostrukturne materiale (K7, Institut Jožef Stefan) razvijamo novo strategijo testiranja, ki temelji na elektrokemijskem principu detekcije SARS-CoV-2 v vzorcih slin. Sistem za detekcijo, t. i. SARS-CoV-2 detekcijska platforma, temelji na modificiranih sitotiskanih elektrodah (SPE), katerih površina omogoča imobilizacijo velikega števila virusnih receptorskih elementov, spike

protiteles (Ab) in/ali encima za pretvorbo angiotenzina 2 (ACE2). Velik poudarek v razvoju biosenzorske platforme smo namenili modifikaciji SPE oz. pripravi visoko prevodne matrice, ki temelji na nanostrukturiranih prevodnih polimerih (polianilin in polistiren) in nanodelcih zlata. Je ključna za elektrokemijsko detekcijo, saj z vgradnjo v mikrofluidno celico omogoča pretvorbo kovalentne interakcije med Ab/ACE2 receptorskimi elementi in tarčnim virusom, v merljiv, koncentracijsko odvisen električni signal. Le-ta se pridobi s spremljanjem električnih lastnosti SARS-CoV-2 detekcijske platforme ob prisotnosti $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks sistema. Ker gre za elektrokemijski princip detekcije, so rezultati lahko ovrednoteni tako kvalitativno, kot tudi kvantitativno. Hkrati mikrofluidna detekcijska platforma zaradi kemijske sestave izkazuje edinstvene lastnosti, ko govorimo o prevodnosti in biokompatibilnosti. Vsa ta naštetá dejstva so ključna, da sistem doseže visoko analitično učinkovitost (občutljivost in specifičnost), ki posledično rezultira v zelo nizkih mejah zaznave (na atomarnem koncentracijskem območju) virusa. Predlagana platforma zagotovo predstavlja odlično izhodiščno točko za praktično in poceni testiranje.

▼ Shematski prikaz razvoja elektrokemijske mikrofluidne biosenzorske platforme za hitro in zanesljivo detekcijo SARS-CoV-2.



Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Kaj nam slikanje lahko pove o okužbi z virusom SARS-CoV-2?

Program: Medicinska fizika

Vodja: Robert Jeraj

Člani: **Andrej Studen***, Ana Marin, Barbara Šegedin, Barbara Vidergar-Kralj, Božidar Casar, Dimitrij Kuhelj, Eva Rebec, Gašper Razdevšek, Jošt Stergar, Katja Strašek, Katja Zaletel, Luciano Rivetti, Luka Jensterle, Luka Ležaić, Luka Rogelj, Maja Trošt, Martina Vrankar, Maruša Turk, Matej Perovnik, Mateja Logar, Matic Orehar, Matija Milanič, Matjaž Lukač, Petra Kolenc, Petra Tomše, Primož Peterlin, Rok Dolenc, Sergei Diuzhenko, Simona Gaberšček, Tadej Tomanič, Urban Simončič, Žan Klaneček, Živa Drakulić.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko, Institut Jožef Stefan, Onkološki inštitut Ljubljana, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Ključne besede: COVID-19, rentgensko slikanje, strojno učenje, spremljanje zdravljenja.

* prispevek predstavil na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitve dostopne na SMD strani

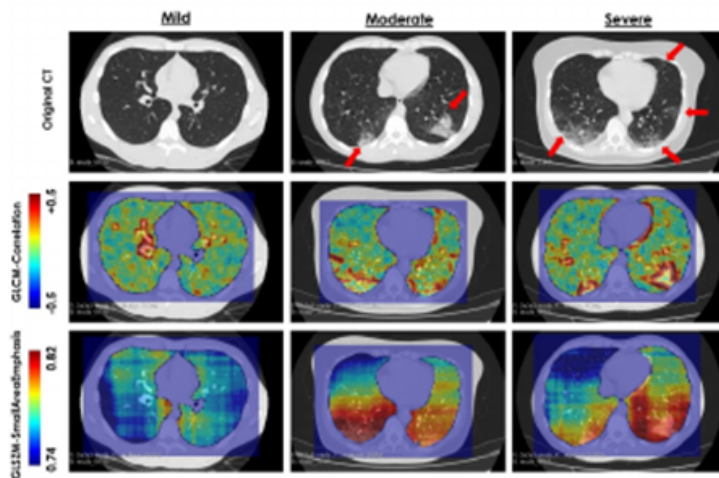
Na svetu je s COVID-19 obolelo sto milijonov ljudi, milijon jih je umrlo. Okužba z virusom SARS-CoV-2 v težavnih primerih prerase v poškodbe pljuč in sindrom akutnega respiratornega distresa, ARDS. Zdravstveni sistem potrebuje zanesljivo triažo med bolniki, napotenimi v domačo oskrbo (ob pogostosti spremljanja tovrstnih bolnikov), oz. bolniki, sprejetimi v bolnišnice. Prav tako se lahko bolnikom, ki v zgodnji fazi ne kažejo resne okužbe, trajno poslabša delovanje pljuč, pri tem pa so mehanizmi nastanka tovrstnih poškodb nejasni.

Slikanje razjasni krajevne in časovne podrobnosti razvoja oz. poteka bolezni COVID-19 ter resnost in trajnost posledic. V oskrbi se je uveljavilo slikanje z računalniško tomografijo (CT) oz. rentgenskimi žarki X. Napredne metode analize

slike, bodisi s predpripravljenimi radiomskimi značilkami ali značilkami, pridobljenimi z metodami globokega učenja, vodijo do kvantitativnih slikovnih biomarkerjev COVID-19.

Naša skupina obravnava metode slikanja COVID-19, količino informacij, ki jih prinašajo slike, in priložnosti, ki jih ponujajo sodobne metode njihove analize. Nekatere tovrstne metode smo uporabili za kvantifikacijo poteka okužbe s SARS-CoV-2, določanje obsega obolenja, za razlikovanje med bolj ali manj resnim potekom bolezni ter pridobivanje informacij o trajnih posledicah. Pri zbiranju in analizi slik je zelo pomembno mednarodno sodelovanje, kakor tudi nujnost interdisciplinarnega sodelovanja med fiziki, radiologi ter kliničnimi raziskovalci pri identifikacij ključnih podatkov za reševanje izzivov, povezanih s

► Napredne metode analize slike s predpripravljenimi radiomskimi značilkami ali značilkami, pridobljenimi z metodami globokega učenja.



COVID-19.

V ta sklop sodi tudi predstavitev uspelega tekmovanja RIS, ki smo ga izvedli skupaj z Društvom matematikov, fizikov in astronomov. V okviru

tekmovanja v obliki hackathona so skupine študentov in srednješolcev sestavile program za diagnozo in prepoznavanje resnosti obolenj.

Raziskovalne skupine v svetu SARS-CoV-2 in COVID-19

Pandemija COVID-19 – izkušnje revmatologa

Program: Sistemske avtoimunske bolezni

Vodja: Snežna Sodin-Šemrl

Člani: **Hočevar Alojzija***, Accetto Rok, Ambrožič Aleš, Antonič Zakojč Anita, Bajželj Matija, Božič Borut, Brezovec Neža, Brguljan-Hitij Jana, Burja Blaž, Čučnik Saša, Gašperšič Nataša, Huzjak Maša, Ješe Rok, Kobal Jan, Košir Jošt Sergeja, Krošel Monika Kuret Tadeja, Kveder Tatjana, Lakota Katja, Lestan Boris, Logar Dušan, Mrak Poljšak Katjuša, Oblak Miroslava, Ogrič Manca, Ostrovršnik Jaka, Pavić Nikolić Milena, Perdan Pirkmajer Katja, Plešivčnik Novljan Martina, Praprotnik Sonja, Rotar Žiga, Rozman Blaž, Salobir Barbara, Sodin Šemrl Snežna, Šipek Dolničar Alenka, Štok Ula, Švec Tinka, Terčelj Zorman Marjeta, Tomšič Matija, Zaletel Marjan, Zavrl Valentina, Zorko Marta, Žigon Polona

Univerzitetni klinični center Ljubljana

Ključne besede: SARS-CoV-2, imunomodulatorna zdravila, imunski zapleti, cepljenje.

* prispevek predstavila na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitve dostopne na SMD strani

CCOVID-19 je raznolika bolezen, tako po manifestacijah kot po resnosti. H klinični sliki in disfunkciji organov poleg neposredne virusne poškodbe tkiv oz. organov prispeva vrsta imunoloških reakcij oz. odzivov na okužbo. Boljši vpogled v te zapletene mehanizme omogoča analiza poteka COVID-19 pri bolnikih z vnetno revmatično boleznijo, ki imajo zaradi osnovne bolezni in imunomodulatornega zdravljenja okrnjen imunski odziv. Imunska oslabelost ter imunomodulatorna zdravila poleg tega lahko tudi pomembno vplivajo na učinkovitost zaščite s cepljenjem zoper COVID-19.

Izkušnje kažejo, da okužba s SARS-CoV-2 lahko razkrije ali poslabša potek že prisotne vnetne revmatične

bolezni in vpliva na izbiro najprimernejšega zdravljenja le-te. Virusna okužba lahko na novo sproži razvoj opredeljene vnetne revmatične bolezni. Možni mehanizmi indukcije avtovnetja in avtoimunosti so hiperaktivacija naravne imunosti, molekularna mimikrija, zlom imunske tolerance, spremenjeno predstavljanje antigenov in indukcija avtoproteles. Ti mehanizmi so verjetno udeleženi tudi pri pojavu nekaterih redkih neželenih učinkov, ki jih povezujemo s cepljenjem. Naša skupina se ukvarja z obravnavo bolnikov z vnetno revmatično boleznijo ter na osnovi izkušenj zbira podatke o COVID-19 pri tovrstnih bolnikih, o imunskih zapletih pri COVID-19 ter o cepljenju zoper COVID-19.

Genomski dejavniki gostitelja v patogenezi okužbe s SARS-CoV-2

Program: Ginekologija in reprodukcija: Genomika za personalizirano medicino

Vodja: Prof. dr. Borut Peterlin, dr. med

Člani: **Anja Kovanda***, Aleš Maver

Univerzitetni klinični center Ljubljana

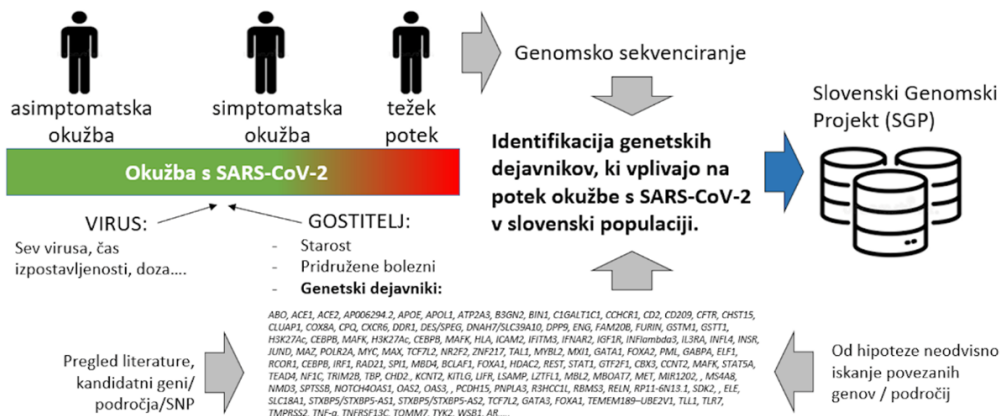
Ključne besede: Genetski faktorji gostitelja, polimorfizmi imunskih genov.

* prispevek predstavil na dogodku »Raziskovalni programi COVID-19 se predstavijo 2021«, predstavitev dostopne na SMD strani

Okužbe s SARS-CoV-2 se kažejo klinično raznovrstno, od asimptomatskih do različno resnih, tudi smrtnih primerov. Čeprav so le-ti večinoma povezani s starejšimi bolniki s pridruženimi boleznimi, so dokumentirani tudi primeri resnih okužb pri mlajših, zdravih osebah, kot tudi posamezni primeri oseb, ki so ostale neokužene kljub večkratni ali težki izpostavljenosti virusu. Ker samo virusna raznolikost in pridružene bolezni ne morejo v zadostni meri razložiti tega pojava, gre najverjetnejši vzrok iskati v genetski raznolikosti med gostitelji. Tako po svetu kot v Evropski uniji (EU) že potekajo aktivnosti v tej smeri. Kot partnerji EU iniciative 1M+ Genomes sodelujemo pri delovnem sklopu Infekcijske bolezni, ki je odziv tega projekta na pandemijo. Da bi določili genetske dejavnike, ki vplivajo na resnost poteka bolezni, načrtujemo z metodo GS (genome sequencing) analizirati našo populacijo za genetske dejavnike, ki jih bomo identificirali na podlagi doseganega znanja o interakcijah med virusom in gostiteljem ter po sistematičnem pregledu raziskav s tega področja. Sekvenciranje celotnega

genoma nam bo omogočilo tudi od hipoteze neodvisno odkrivanje dodatnih novih genov, ki bi lahko vplivali na gostiteljev odgovor na okužbo s SARS-CoV-2.

Populacijsko genetiko kandidatnih genov bomo ovrednotili skozi razvoj Slovenske imuno-genomske baze, ki bo povezana s podatki o splošni populacijski genomiki, zbranimi v okviru Slovenskega genomskega projekta (V3-1911). V podatkovno zbirko bomo v sodelovanju z Infekcijsko kliniko UKC Ljubljana, Medicinsko fakulteto UL ter drugimi zainteresiranimi ustanovami vključili na SARS-CoV-2 seropozitivne posameznike. Podatki bodo omogočili sočasen vpogled v ključne dejavnike patogeneze, kot so klinična slika ter človeški genetski faktorji za posamezne bolnike/asimptomatske osebe iz Slovenije, ter bodo osnova za nadaljnje sodelovanje z evropskimi in drugimi ustanovami po svetu za ugotovitev vpliva genoma gostitelja pri širjenju COVID-19.



▲ Shematična predstavitev aktivnosti projekta.

Mikrobiološki dogodki

6. CEFORM, 13.–15. oktober, 2021, Kecskemét, Madžarska

Marjanca Starčič Erjavec

Zaradi želje po povezovanju mikrobiologov Srednje Evrope je Madžarsko mikrobiološko društvo v začetku tega tisočletja dalo pobudo za redna srečanja v

vaško mikrobiološko društvo. V letu 2005 je tako potekalo prvo srečanje CEFORM, in sicer od 26. do 28. 10. v Keszthelyu na Madžarskem. Drugo srečanje CEFORM je bilo na istem

»6. CEFORM je organiziralo Madžarsko mikrobiološko društvo, ob sodelovanju tako Slovenskega kot Hrvaškega mikrobiološkega društva.«

obliki Srednjeevropskega foruma za mikrobiologijo (Central European Forum for Microbiology, CEFORM). Tej pobudi sta se priključili tudi Slovensko mikrobiološko društvo in Hr-

kraju od 7. do 9. oktobra 2009. Tretje srečanje CEFORM je potekalo skupaj s 5. kongresom Slovenskega mikrobiološkega društva od 12. do 15. oktobra 2011 v Mariboru. Četrto in peto srečanje CEFORM sta bili ponovno na Madžarskem, in sicer tam kot prvi dve srečanja, četrto od 16. do 18. oktobra 2013 in peto od 18. do 20. oktobra 2017. Letos od 13. do 15. oktobra pa je bilo 6. srečanje; spet na Madžarskem, a tokrat v Kecskemétu.

6. CEFORM je organiziralo Madžarsko mikrobiološko društvo, ob sodelovanju tako Slovenskega kot Hrvaškega mikrobiološkega društva. Udeležba na srečanju je bila lepa, saj je bilo registriranih 190 udeležencev, večina seveda iz Madžarske, a tudi od drugod iz Srednje Evrope. Iz Slovenije nas je bilo 8, iz Hrvaške 9, iz Nemčije 2 in iz Avstrije 1. Predstavljenih je bilo 135 povzetkov, od tega je bilo 39 daljših predavanj, 96 postrov, ki so bili sicer predstavljeni v elektronski obliki (.pdf), pa so pospremili tudi s kratkimi ustnimi predstavitvami. Srečanje je sicer potekalo v živo, a je bilo zaradi okoli

▼ Hotel Aranyhomok v središču Kecskeméta, kjer je potekal 6. CEFORM.



10 udeležencev, ki se ga niso mogli udeležiti, prenašano tudi preko spleta.

Slovensko mikrobiološko društvo je bilo na 6. CEFORM-u zastopano s

biološke lastnosti dveh potencialnih probiotičnih sevov bakterije *Escherichia coli*, LEGM-18 in ŽP.

Ker je 6. CEFORM potekal v času pandemije COVID-19, je bilo kar ve-

»Slovensko mikrobiološko društvo je bilo na 6. CEFORM-u zastopano s 6 predstavitevami, katerih povzetki so zavedeni v reviji *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*.«

7 predstavitevami, katerih povzetki so zavedeni v reviji *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* (vol. 68, supl. 1). Ivan Toplak je imel predavanje o človeških in živalskih koronavirusih v Sloveniji v obdobju 2010–2016. Aleksander Mahnič je predaval o sledenju različicam SARS-CoV-2 v Sloveniji in tudi drugod po svetu. Denis Kutnjak je v predavanju predstavil spremljanje SARS-CoV-2 v odpadnih vodah. Mojca Janc je predstavila analizo frakcij adenovirusom pridruženih virusov (AAV, ang. "adeno-associated virus") po ultracentrifugiranju v gradientu CsCl in pomen AAV za dostavo terapevtskih genov v tarčne celice. Blaž Jug je pojasnil raziskavo sprememb v proteinskem profilu v biofilmih rastočih celic *Campylobacter jejuni*, ki so v stiku z bakterijo *Pseudomonas fragi*. Dina Ramić je predstavila problematiko kontaminacije živil z mikotoksigenimi plesnimi in potencial izvečkov semen kapucinke (*Tropaeolum majus* L.) z visoko vsebnostjo benzil-izotiocijanata, hlapnega glukozinolatnega razgradnega produkta, kot učinkovitega protiglivičnega sredstva. Marjanca Starčič Erjavec je v kratki predstavitvi osvetlila

liko prispevkov o virusu SARS-CoV-2 in COVID-19, a samega vpliva te pandemije na življenje na Madžarskem ni bilo zaznati. Predsednik njihove vlade, Viktor Orbán, je na jesenski seji parlamenta namreč razložil, da so primerjali prve tri valove okužbe s SARS-CoV-2 v državah z ukrepi in tistimi brez ukrepov in da bistvene razlike med tema skupinama držav ni bilo. Zato, je sklenil, na Madžarskem po poletju, ko je bilo vse sproščeno, ne bodo ponovno uvedli omejitev.

▼ Otvoritev 6. CEFORM-a – od leve proti desni: prof. dr. Roberto Antolović (predsednik Hrvaškega mikrobiološkega društva), izr. prof. dr. Orsolya Dobay (tajnica 6. CEFORM-a), prof. dr. Marjanca Starčič Erjavec (predsednica Slovenskega mikrobiološkega društva) in prof. dr. Károly Márialigeti (predsednik Madžarskega mikrobiološkega društva).



Mikrobiološki intervju***Profesorica dr. Darja Žgur Bertok***

► Prof. dr. Darja Žgur Bertok.
Gorenjski glas, [Vir](#).



Diplomirala, magistrirala in doktorirala je na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Njen mentor je bil prof. dr. Miklavž Grabnar. Po diplomi je bila zaposlena na Inštitutu za biologijo kot raziskovalka in delala v skupini prof. Grabnarja. Leta 1984 se je kot asistenska za področje molekularne genetike zaposlila na Oddelku za biologijo, BF, UL, na Katedri za molekularno genetiko. Predstojnik katedre je bil prof. dr. Grabnar. Vrsto let je vodila vaje iz predmeta Molekularna genetika za študente biologije in več smeri Pedagoške fakultete. V študijskem letu 1995/96 je prevzela nosilstvo predmetov na medoddelčnem študiju mikrobiologije, BF - MF, UL. Leta 1994 je bila izvoljena v naziv docentka za področje molekularne biologi-

je, leta 2000 v naziv izredna profesorica in leta 2005 v naziv redna profesorica za področje molekularne biologije. V Avstriji, na Nizozemskem in v Izraelu je bila gostujoča profesorica. Bila je predstojnica Katedre za molekularno genetiko in biologijo mikroorganizmov, vodja več raziskovalnih projektov in Raziskovalnega programa ter predsednica Slovenskega genetskega društva.

► KAKŠNO JE BIL VAŠE PRVO SREČANJE Z MIKROBIOLOGIJO?

Z mikrobiologijo sem se prvič srečala med študijem biologije, pri predmetu Osnove mikrobiologije na Veterinarski fakulteti. Pri vajah smo imeli malo praktičnega dela in iskreno me mikrobiologija še ni pritegnila. Bliže sta mi bili Biokemija z metabolnimi cikli in kasneje Molekularna genetika, ki jo je predaval prof. Grabnar. Predmeta sta me pritegnila zaradi mehanizmov na molekularni ravni, kar se mi je zdelo ključno za razumevanje delovanja organizmov. Poleg tega so bile vaje pri teh dveh predmetih laboratorijske. Pri prof. Grabnarju je bil poudarek na genetiki bakterij, zlasti genetiki *Escherichia coli*, enem od takrat maloštevilnih modelnih organizmov.

► KDAJ STE SE ZARES POSVETILI MIKROBIOLOGIJI?

Najprej kot diplomantka pri prof. dr. Grabnarju, na Filozofski fakulteti. Poleg profesorja sta bila v skupini še Mihael Bricelj in Breda Kus, kasneje še tehniška sodelavka Zdenka Rakar. Zaradi prostorske stiske nas je kar nekaj diplomantov delalo izmenično v »boksu«, na hodnik razširjenem ozkem delu laboratorija. V raziskovalno delo nas je uvajal in mentoriral profesor Grabnar, mene tudi Breda Kus.

Prof. Grabnar se je nedolgo tega vrnil iz ZDA, se zaposlil na Biotehniški fakulteti, Oddelku za biologijo, nastala je Katedra za fiziologijo rastlin in molekularno genetiko. Proučevali smo sintezo hemolizina pri bakteriji *E. coli* in operon za sin-

»Z mikrobiologijo sem se prvič srečala med študijem biologije, pri predmetu Osnove mikrobiologije na Veterinarski fakulteti. Pri vajah smo imeli malo praktičnega dela in iskreno me mikrobiologija še ni pritegnila.

Bliže sta mi bili Biokemija in kasneje Molekularna genetika, ki jo je predaval prof. dr. Grabnar.«

tezo prolina pri bakteriji *Salmonella typhimurium*. Za mapiranje genov smo izolirali mutante, pridobljene s klasično kemično mutagenozo, in sledili komplementaciji s transdukcijo z bakteriofagi P22 in P1. S prihodom prof. Janca so se mikrobiološke vsebine razširile in poglobile, nastala je Katedra za molekularno genetiko in mikrobiologijo.

Nekaj besed bi namenila na eni strani takratnim res skromnim začetkom in na drugi strani zagnanosti zaposlenih. Prostori, ki so bili na voljo, so bili res majhni. Oddelek za biologijo

► KDAJ SE JE ZAČELO VAŠE PEDAGOŠKO DELO? NA KATERIH RAVNEH?

Prvi stik s pedagoškim delom je bil že v času študija, vsaj dve leti sem bila demonstratorica pri vajah iz molekularne genetike, ki jih je vodil asist. Mihael Bricelj. Skupina takrat še ni imela stalnega tehniškega sodelavca. Demonstratorji, tudi Blagajana Herzog Velikonja, smo delali prosto-voljno, kot predpriprava za diplomsko delo. Za laboratorijske vaje smo pripravljali gojišča, pipete, epruvete in bili v pomoč študentom na vajah. V okviru pedagoškega dela sem de-

»Prvi stik s pedagoškim delom je bil že v času študija, vsaj dve leti sem bila demonstratorica pri vajah iz molekularne genetike. V okviru pedagoškega dela sem delovala na vseh treh ravneh – 1. in 2. stopnji in na doktorskem študiju.«

je gostoval na Filozofski fakulteti, kjer je bila za vse skupine prostorska stiska velika. Tisti, ki so se pridružili kasneje, npr. Biokemija in Genetika, so bili v še večji stiski. Z montažnimi stenami in drsnimi vrati so se prostori širili na hodnike. Police za laboratorijski material so bile montirane kar pod stropom hodnika, tudi centrifuga je imela svoje mesto na hodniku v »kletki«, da ne bi radovedni študenti med obratovanjem pritisnili na kakšen gumb. Omarice za material so bile kuhinjske, velik del »pohištvene opreme« – pultov, polic ... – je prof. Grabnar s sodelavci izdelal kar sam. Žage za les, vrtalni stroj in kladivo so bili del opreme.

S selitvijo, sprva na Krekov trg in kasneje v Biološko središče na Večni poti, so se razmere za pedagoško delo, vaje in raziskovanje močno izboljšale.

lovala na vseh treh ravneh – 1. in 2. stopnji in na doktorskem študiju. Poklicno sem pedagoško delo pričela kot asistentka, pri vajah predmeta Molekularna genetika za študente biologije, BF, študente Pedagoške fakultete in tudi študente kemije, Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo. Ob ustanovitvi študija mikrobiologije sem v študijskem letu 1995/1996 prevzela predavanja pri predmetu Mikrobna genetika in leto kasneje Mikrob in patogeneza. Hkrati sem nekaj let na študiju Biologija predavala Mikrobiologijo, Identifikacijo mikroorganizmov, tudi nekaj predavanj pri predmetu Izbrana poglavja iz genetike.

Po bolonjski prenovi visokošolskih študijev sem predavala na 1. in 2. stopnji študija mikrobiologije in na drugostopenjskem programu Molekulska in funkcionalna biologija, vključno z nekaj predavanji pri Embriologiji in eno leto pri pred-

metu Biologija človeka. Kar pester nabor predmetov. Na 3. stopnji sem imela predavanja in konzultacije iz Genetike prokariotov. Zelo rada sem oz. še predavam, a število ur za polno obremenitev visokošolskega učitelja je veliko.

► IZKUŠNJE V TUJINI?

Zelo pomembna je bila moja udeležba na praktičnem FEMS-ovem tečaju molekularne mikrobiologije, ki jo je leta 1992 s sodelavci organiziral prof. Wim Gaastra z Veterinarske fakultete Univerze v Utrechtu na Nizozemskem. Ne samo da smo spoznali najnovejše eksperimentalne tehnike, organizatorji so bili do udeležencev izredno skrbni in pripravljeni pomagati tudi po končanem tečaju. Skozi dolgoletno delo smo raziskovali nekaj tem pri bakteriji *E. coli*. Raziskave smo pričeli ter nadaljevali na BF in s temi so povezane tudi izkušnje oz. sodelovanje v tujini. Z

prenosa oz. izražanje gena pozitivnega regulatorja operona *tra*: *traJ*. Drugi sklop: kolicini – najprej njihova prevalenca in sopojavljanje z drugimi lastnostmi, nato kompleksni mehanizmi, ki uravnavajo njihovo sintezo, uporabo kot protimikrobne učinkovine, izražanje na ravni posameznih celic, vpliv delovanja bakteriocina na transkriptom. Preko regulatorjev izražanja sinteze kolicinov smo prišli do proteina LexA, tudi poglavitnega regulatorja odziva SOS za popravilne poškodbe DNA, izražanje genov *lexA*, *recA* ter kolicinu podobnega genotoksina Usp (uropatogeni specifični protein). Te raziskave so mlajši sodelavci nadaljevali tudi v tujini. Sprva smo mi iskali sodelovanja in so mladi v tujih laboratorijih opravili del raziskav z metodami, ki pri nas še niso bile vpeljane ali zanje še nismo imeli aparatur. Kasneje so nas za sodelovanje kontaktirale tuje skupine.

»Skozi dolgoletno delo smo raziskovali nekaj tem pri bakteriji *E. coli*. Raziskave smo pričeli ter nadaljevali na BF in s temi so povezane tudi izkušnje oz. sodelovanje v tujini. Z odpiranjem vedno novih vprašanj in razvojem tehnik so nastale zgodbe, ki so mi posebno blizu. Na molekularni ravni so to bili sprva plazmidi in bakteriocini bakterije *E. coli* – kolicini.«

odpiranjem vedno novih vprašanj in razvojem tehnik so nastale zgodbe, ki so mi posebno blizu. Na molekularni ravni so to bili sprva plazmidi in bakteriocini bakterije *E. coli* – kolicini. Pri prvih smo se osredotočili na konjugativni plazmid *E. coli* pRK100 (izoliran na IMI, MF iz uropatogene seva) z determinantami rezistence in virulence ter kasneje na uravnavanje njegovega konjugativnega

S prof. Gaastro sem po FEMS-ovem tečaju ponovno navezala stik in v njegovem laboratoriju sta se izpopolnjevali oz. opravili del poskusov prof. Marjanca Starčič Erjavec (raziskave plazmida pRK100 in izražanja gena *traJ*), ki je tam tudi doktorirala, in mlada raziskovalka Irena Kuhar na temo uravnavanja sinteze kolicina K. Na Univerzi Karla in Franca (Karl-Franzens Universitaet) v Gradcu v

Avstriji sem na pobudo prof. Ellen Zechner imela za njihove študente sklop predavanj iz patogeneze bakterij. Tamkajšnji študenti so moja predavanja dobro sprejeli, kar me je močno razveselilo, saj sem v Ljubljani študentom mikrobiologije že predavala in mi je bilo to v potrditev relevantnosti in kvalitete. V istem času je v njenem laboratoriju delal naš magistrski študent, mikrobiolog Janez Mulec, opravil je nekaj poskusov na temo izražanja gena za kolicin K. Leta 2003 sem resnično uživala na Univerzi v Utrechtu pri prof. Josu van Puttnu, ki je po prof. Gaastri prevzel vodenje skupine. V laboratoriju sem že od vsega začetka zelo rada delala

laboratoriju, so mi podarili dodatna znanja in zagon.

Prof. Stephena Busbyja z Univerze iz Birminghama v Združenem kraljestvu smo spoznali na enem od FEMS-ovih kongresov, kjer je imel odmevno vabljen predavanje. Je eden največjih strokovnjakov za mehanizme uravnavanja izražanja genov bakterij, zlasti na ravni transkripcije. V njegovem laboratoriju je del raziskovalnega dela opravil naš takratni mladi raziskovalec, mikrobiolog, Matej Butala, na temo izražanja gena za kolicin K in kasneje tudi samega proteina LexA, njegovega ključnega regulatorja.

V Izraelu, na Ben Gurionovi univer-

»Leta 2003 sem resnično uživala na Univerzi v Utrechtu pri prof. Josu van Puttnu, ki je po prof. Gaastri prevzel vodenje skupine. V laboratoriju sem že od vsega začetka zelo rada delala in takrat sem se lahko za tri mesece posvetila raziskavam izražanja genov za bakteriocine *E. coli* ter genov *recA* in *lexA* inducibilnega sistema popravljanja DNA, SOS in rekombinacije.«

in takrat sem se lahko za tri mesece posvetila raziskavam izražanja genov za bakteriocine *E. coli* ter genov *recA* in *lexA* inducibilnega sistema popravljanja DNA, SOS in rekombinacije. Prof. van Putten se je pred kratkim vrnil z večletnega raziskovalnega/laboratorijskega dela v ZDA in še ni bil močno vpet v administrativno delo. V njegovem laboratoriju je takrat delala na podoktorskem projektu tudi Irena Kuhar. Sproščenih in konstruktivnih delovnih sestankov je bilo precej. Dve leti za tem sem pri prof. van Puttnu opravila še nekaj laboratorijskega dela. Ti obiski, ki so vključevali raziskovalno delo v

zi v Negevu, sem bila na študijskem obisku, povezanem s skupnimi raziskavami bakteriocinov bakterije *E. coli* pri dr. Osnat Gillor. Poleg strokovnosti me je navdušila tamkajšnja izrazita pripravljenost sodelovati ali samo pomagati s strokovnimi konzultacijami, materialom ali metodološko z opremo, tako znotraj ustanove kakor tudi med njimi. Tudi tam je nekaj poskusov opravila mikrobiologinja, mlada raziskovalka Simona Kamenšek, in sicer na področju vpliva bakteriocina na izražanje genov bakterije *E. coli*.

Prijetno je bilo tudi sodelovanje s prof. Ericom Oswaldom z INRA v

Toulousu v Franciji. V njegovem laboratoriju je bila na izmenjavi v okviru programa Erasmus študentka mikrobiologije Aleksandra Šakanović. Prof. Oswald je velik strokovnjak za patogenezo *E. coli*, zlasti za delovanje in pomen genotoksinov.

V vseh primerih sem spoznala delo skupin z močnejšim financiranjem, večjim številom doktorskih študentov in podoktorskih raziskovalcev, boljšo infrastrukturo in jasneje definirano organizacijo, tudi hierarhijo, vendar tudi z občasnimi težavami povsem človeške narave. Z izkušnjami v tujini smo pridobili ne samo različna znanja in poznanstva, temveč tudi samozavest.

► **KAJ VAS JE BOLJ OSREČEVALO, PEDAGOŠKO ALI RAZISKOVALNO DELO?** Dejstvo, da sem na svoji poklicni poti lahko opravljala oboje, pedagoško in raziskovalno delo, me je osrečevalo in izpolnjevalo. Raziskovalno delo me je vsrkalo, še posebej področje uravnavanja izražanja genov in uvažanje novih metod za razumevanje le-tega. Tudi druga področja, npr. plazmidi in pestrost ter pomen virulentnih dejavnikov bakterije *E. coli* v povezavi s patogenozo, so bila zelo pomembna. V vse raziskave so se vključevali študenti. Ob neuspehih

mozaik znanja določenega področja. Področja raziskovalnega dela sem poskušala usmeriti tako, da smo raziskovali aktualne tematike in imeli možnost uporabe/vpeljave novih tehnik, tako na ravni posameznega gena kakor tudi na genomski/transkriptomski ravni. Študenti so pridobivali metodološka znanja, pomembna za nadaljnje delo po diplomah, magisteriju in doktoratu, ter izkušnje za svoj osebni razvoj.

Na drugi strani nam je pri pedagoškem delu z vodenjem vaj in s predavanji zaupana možnost, da v pozitivnem smislu vplivamo na večje število mladih. Pri tem delu se je včasih težko upreti dobronamerni skušnjavi predstavljanja več čimnovjših mehanizmov, tudi njihovih različic. Študentom se je morda kdaj zdelo preveč podrobno in so bili mnenja, da se marsikaj hitro pozabi ter da na spletu najdejo vse potrebne informacije. Zaradi vpogleda v kompleksnost procesov in s tem delovanja organizmov je pomembno, da poglobljeno spoznajo vsaj nekaj primerov. Poleg tega procese predstavljamo na primeru modelnih organizmov, vsak na novo raziskan organizem je skozi evolucijo, zaradi specifične ekološke niše, razvil svojo

»Dejstvo, da sem na svoji poklicni poti lahko opravljala oboje, pedagoško in raziskovalno delo, me je osrečevalo in izpolnjevalo.«

poskusih, ko je motivacija popustila, sem študentom v laboratoriju dejala, da gre za preiskovalno delo, pri katerem poskušamo razjasniti zapletene pojave. Negativni rezultati in razočaranja so sestavni del raziskav. Res pa je, da sem se ob neuspehih, kakor tudi ob raziskovalnih uspehih, močno zavedala, da s svojimi izsledki lahko prispevamo sicer pomemben, a vendarle le droben kamenček v

različico, včasih tudi več. Z leti sem nekoliko oklestila število predstavljenih mehanizmov. Predavatelji poleg obveznih vsebin predmetu dodajo svoj »pečat« – meni so se zdeli mehanizmi, signali okolja in znotrajcelični signali ter s tem povezano uravnavanje izražanja genov izredno pomembni za razumevanje organizmov. Sprijazniti pa se je treba, da so zanimanja študentov različna,

da je veliko pomembnih in zanimivih področij, s katerimi se srečujejo. Vedno sem se zelo veselila vprašanj in jih tudi spodbujala. Veselila sem se dobrih ocen študentskih anket, a trpka izkušnja so bile občasne slabše ocene, ki so me – priznam – prizadele, poskušala sem jih razumeti in popraviti izpostavljeno. Verjetno pa se študenti ne zavedajo, koliko truda

identičnih celic; široka vloga mehanizmov popravljanja poškodb DNA, še posebej inducibilnega sistema SOS; vzporednice z višjimi organizmi, zapletena koevolucija mikroorganizmov s svojimi gostitelji, vključno z delovanjem proteinov patogenov na izražanje specifičnih genov gostitelja; mikrobiota in njene vloge; dejstvo, da evolucija

»Veselila sem se dobrih ocen študentskih anket, a trpka izkušnja so bile občasne slabše ocene, ki so me – priznam – prizadele, poskušala sem jih razumeti in popraviti izpostavljeno.«

vlagajo predavatelji v svoja predavanja, prav tako ne obsega pedagoških obremenitev. A študenti, ki so pri nas opravljali diplomske oz. magistrske naloge, so se iskreno zahvalili za znanje, ki so ga pridobili, kar mi je bilo v veliko veselje. Razveselilo me je tudi, ko so mi nekdanji študenti po mnogih letih povedali, da so radi prihajali k meni na vaje.

Bila sem privilegirana, ker sem opravljala poklic, ki mi je omogočil delo z mladimi, stalno izpopolnjevanje, sledenje novostim v znanosti in navdušenje nad njimi. Trdno verjamem, da sta dobro pedagoško in dobro raziskovalno delo prepletena.

► KAJ JE BIL MED VAŠIMI MIKROBIOLOŠKIMI IZKUŠNJAMI ZA VAS NAJVEČJE PRESENEČENJE?

Ne vem, ali je presenečenje pravi izraz, vsekakor je bilo navdušenje res veliko, tu navajam le nekaj primerov – neverjetno izpopolnjeni mehanizmi, ki jih mikroorganizmi uporabljajo za zaznavanje in prilagajanje na okolja – tudi horizontalni prenos DNA – in njihovo zapleteno uravnavanje; komunikacija tako med mikroorganizmi kakor tudi med mikroorganizmi in njihovimi gostitelji; heterogenost v populacijah gensko

včasih privede do mehanizma, ki je presenetljivo zapleten, vendar se je ohranil zato, ker deluje; podobnost imunskih odgovorov rastlin in živali kljub ločeni evoluciji; pomen gliv, tudi podtalnega omrežja gliv, in še in še ... Ne nazadnje so encimi prokariotov (tudi bakteriofagov) ključni za tehnike v molekularni biologiji, tudi za urejanje genomov in pripravi cepiv – restriktaze, ligaze, polimeraze, reverzne transkriptaze, encimi sistemov CRISPR ... tudi imunoterapija CAR T vključujejo mikrobiološke dejavnike.

► KATERA IZKUŠNJA VAS JE KOT MIKROBIOLOGA NAJBOLJ OBLIKOVALA?

Ni bila samo ena, temveč cel niz različnih izkušenj. Prva prav gotovo delo v laboratoriju, v katerem sem uživala. Ker smo delali z bakterijami, za katere je značilna hitra laboratorijska rast in delitev, smo nestrpno čakali, kakšni bodo naslednje jutro rezultati, na katerih ploščah bo kaj zraslo. Kolega Zdravko Podlesek je v tistih začetnih letih plošče odnesel domov in jih inkubiral kar v kuhinjski pečici. Takrat smo bili manj samozavestni, prve predstavitve na kongresih so bile nerodne, nekateri so/smo svoje prve prispevke še brali.

A s sodelovanji doma in v tujini smo spoznali, da imamo dovolj znanja in svojih zamisli, da se zlahka vključimo in tudi enakovredno prispevamo k raziskavam v mednarodnem okolju. Kongresi, domači in v tujini, predavanja, ki sem jih jaz poslušala – v spominu so mi ostala izvrstna

► KAKŠNO JE VAŠE MNENJE O ŠTUDIJI MIKROBIOLOGIJE?

Vsekakor bi poudarila zasluge in vizijo matičarjev študija mikrobiologije, prof. Grabnarja, prof. Janca, prof. Megušarja, prof. Nekrepa in seveda tudi prof. Rasporja. Pohvale tudi vsem vodjem kolegija študija mikro-

»Študij mikrobiologije in študenti, ki zaključijo študij, znatno vplivajo na razvoj mnogih ustanov, javnih in zasebnih, v katerih so se zaposlili ali opravljali svoja diplomska/magistrska dela. V okviru študija sodelujejo predani učitelji. Člani kolegija študija smo se pri ključnih vprašanjih vedno lahko dogovorili v prid študentov in s tem študija.«

predavanja, prof. Radmana na temo mehanizmov popravljanja poškodb DNA, prof. Hackerja na temo evolucije mikrobnih patogenov, prof. Busbyja o uravnavanju izražanja genov z regulatornim proteinom CRP, prof. Abigail Salyers o mobilnih elementih DNA pri po Gramu pozitivnih vrstah. Izredno pomembno je bilo delo s študenti, v laboratoriju, na vajah, priprava predavanj in sama predavanja. Za delo s študenti so potrebne jasne razlage tudi zapletenih procesov in povezovanje le-teh.

► KAKŠEN JE VAŠ POGLED NA POLOŽAJ MIKROBIOLOGIJE V SLOVENIJI?

Menim, da je položaj mikrobiologije glede na število skupin, ki pokrivajo različna mikrobiološka področja, njihovo delo in rezultate, ki jih dosežajo, zelo dober. Pomembno vlogo prav gotovo igra študij mikrobiologije in mikrobiološko društvo. Ustanovitev Oddelka za mikrobiologijo bi še dodatno utrdil položaj mikrobiologije.

biologije za odgovorno in nesebično delo.

Iskreno menim, da je študij kvaliteten, da študenti pridobijo znanja s številnih področij mikrobiologije in širše. Med študijem se vključujejo v kvalitetno laboratorijsko/raziskovalno delo in posledično se jim odpirajo možnosti zaposlitve. Študij mikrobiologije in študenti, ki zaključijo študij, znatno vplivajo na razvoj mnogih ustanov, javnih in zasebnih, v katerih so se zaposlili ali opravljali svoja diplomska/magistrska dela. V okviru študija sodelujejo predani učitelji. Člani kolegija študija smo se pri ključnih vprašanjih vedno lahko dogovorili v prid študentov in s tem študija.

Tako kot pri vseh študijih pa bodo tudi pri študiju mikrobiologije potrebne reforme.

► NA KAJ STE NAJBOLJ PONOSNI?

Ponosna je morda premočna beseda, saj moramo svoje delo vsi čim bolje opraviti. Vesela in zadovoljna pa sem, da mladi, ki so se usposo-

bljali pri nas, danes opravljajo odgovorne naloge v industriji, javnih ustanovah, tudi v akademskem okolju. Mnogi nekdanji študenti so se mi iskreno zahvalili za pridobljeno znanje in pomoč – to mi veliko pomeni. Poskušala sem slediti razvoju tehnik in relevantnim raziskavam. Veliko časa in energije sem vlagala v predavanja. Tako kot pri mnogih skupinah v Sloveniji je kvaliteta našega raziskovalnega dela skozi leta močno napredovala, od prvih objav v domačih do objav v uglednih

predsednico prof. Marjanco Starčič Erjavec, za njihovo delo in za različne oblike promoviranja mikrobiologije. Društvo pripravlja redne kongrese, vsi so bili zelo kvalitetni. Ne bi rada delala krivice preostalim, a še posebej sta mi ostala v spominu 1. kongres slovenskih mikrobiologov leta 1993, na Bledu, in 5. kongres v Mariboru. Na slednjem je bilo čutiti posebno energijo, saj se ga je udeležilo veliko mladih, oproščeni so bili kotizacije in vodstvo društva je zagotovilo brezplačni vsakodnevni pre-

»Vesela in zadovoljna sem, da mladi, ki so se usposabljali pri nas, danes opravljajo odgovorne naloge v industriji, javnih ustanovah, tudi v akademskem okolju. Mnogi nekdanji študenti so se mi iskreno zahvalili za pridobljeno znanje in pomoč – to mi veliko pomeni.«

mednarodnih revijah. Za objavo, ki je pokazala enega prvih primerov heterogenega izražanja gena v populaciji gensko identičnih organizmov, mi je čestitke poslala Margaret Riley, takrat ena največjih strokovnjakinj za področje bakteriocinov. V tujini mi je profesor dejal, da je presunjen, koliko strokovne koristi je imela njihova univerza ob sodelovanju z nami. Vsekakor sem ponosna, da sem bila predavateljica na študiju mikrobiologije in da sem bila članica kolegija študija mikrobiologije. Kljub temu da so bile naše diskusije včasih malce razgrete, zlasti ob bolonjski reformi, smo vedno imeli v mislih dobrobit študentov in študija.

► KAKŠEN JE VAŠ ODNOS DO SLOVENSKEGA MIKROBIOLOŠKEGA DRUŠTVA?

Društvo ima pomembno povezovalno in strokovno vlogo. Na tem mestu bi pohvalila vse predsednike/predsednice društva, tudi sedanjo

voz zjutraj iz Ljubljane v Maribor ter zvečer nazaj v Ljubljano. Posebno mesto ima tudi 1. FEMS-ov kongres v Ljubljani leta 2003, v organizaciji prof. Rasporja, s številno udeležbo in izvrstnimi predavatelji, med njimi sta bila tudi prof. Hopwood, ki je predaval o streptomicetah, in prof. Sansonetti s predavanjem o patogeni bakteriji *Shigella*.

Pomembni so tudi drugi dogodki, kot sta *Mladi mikrobiologi se predstavijo*, na katerem le-ti pridobivajo izkušnje, nova znanja in poznanstva, ter pred kratkim *Raziskovalni programi o COVID-19 se predstavijo*. Izhaja tudi glasilo *Mikrobiolog* – iskrene pohvale in čestitke vsem, ki sodelujejo, tako v organizacijo kakor tudi s prispevki.

► KAKO VAM JE USPEVALO USKLAJEVANJE ZASEBNEGA IN POKLICNEGA ŽIVLJENJA?

Zelo preprosto: bilo je težko, z veliko odrekovanja. Brez tega ne gre. Veliko

sem delala zvečer/ponoči, konec tedna. Skrb, vzgojo in pomoč sta potrebovali ne samo hčerki, temveč zaradi težkih bolezni dolgo časa tudi brat in zadnja leta soproga. Gre za način življenja, ki me je določil. Izredno rada sem delala z mladimi, z njimi diskutirala. To pogrešam.

► IMATE POKLICNO DEFORMACIJO?

Opazovanje je verjetno pomembno za vsakega raziskovalca in pedagoga. Prijatelji pravijo, da medtem ko drugi govorijo, jaz opazujem in poslušam. Prav gotovo sem tudi pozornejša na mikroorganizme

► S ČIM BI SE UKVARJALI, ČE NE BILI MIKROBIOLOGINJA?

Delovala bi na področju medicine. Na biologijo sem se vpisala bolj po naključju. Kot gimnazijka sem želela študirati medicino, a sem precejšen del dotedanega šolanja opravila v tujini. Za vpis na študij medicine je bil pogoj opravljen sprejemni izpit. Zaradi razlik v srednješolskih programih sem imela vrzeli v znanju pri nekaterih naravoslovnih predmetih. Časa za priprave na izpit ni bilo dovolj. Odločila sem se, da se bom vpisala na biologijo in se po zaklju-

»Prijatelji pravijo, da medtem ko drugi govorijo, jaz opazujem in poslušam.

Prav gotovo sem tudi pozornejša na mikroorganizme okoli nas, kaj se dogaja v mikroorganizmih v okolju, pozorna sem na higieno rok, morebitne vire okužb in zastrupitev. Dolgoletno pedagoško delo me je prav gotovo zaznamovalo, sem nagnjena k razlaganju pojavov tudi družini in prijateljem. Slednji me kar radi poslušajo, doma manj.«

okoli nas, kaj se dogaja v mikroorganizmih v okolju, pozorna sem na higieno rok, morebitne vire okužb in zastrupitev. Z veseljem sledim napredku znanosti, tudi širše. Dolgoletno pedagoško delo me je prav gotovo zaznamovalo, sem nagnjena k razlaganju pojavov tudi družini in prijateljem. Slednji me kar radi poslušajo, doma manj. Velikokrat se mi je zdelo pomembno, da hčerkama kaj jasno in poglobljeno razložim. V najstniških letih, včasih še danes, sta ob takih pojasnjevanjih zavijali z očmi – ojoj, mami nam bo spet na dolgo razlagala!

čnem prvem letniku prepisala na medicino. Obrnilo se je drugače, s kolegi smo stkali prijateljstva in spoznala sem, da bo študij biologije zanimiv. Z nadaljevanjem študija so me mehanizmi organizmov prevzeli. Mi pa je področje patogeneze mikroorganizmov še posebej blizu, saj združuje mikrobiologijo, genetiko in medicino.

► KAKŠEN JE VAŠ POGLED NA KORONASVET?

Razmere v koronasvetu so zelo zapletene z več vidikov – zdravstva, šolstva, gospodarstva, sociologije, psihologije, politike ... O tem govo-

rijo in pišejo in to bodo še raziskovali strokovnjaki omenjenih področij. Menim, da bi izsledki raziskav tega obdobja lahko bili pomembni za spopadanje z drugimi velikimi globalnimi izzivi – podnebne spremembe, naslednje epidemije/pandemije, neenakost med državami in družbenimi sloji, mediji in lažne novice, splošno nezaupanje ...Vse to in še več se prepleta tudi v sedanjí pandemiji.

zahteva odločne ukrepe – nove antibiotike (in strožji nadzor nad njihovo uporabo), pri katerih bo morala odločno nastopiti farmacevtska industrija, vendar močno podprta tudi z javnimi sredstvi. Sodelovanje med javnim in zasebnim je bilo ključno za hitro pripravo cepiv proti COVID-19. Podoben pristop bo potreben za razvoj in proizvodnjo novih antibiotikov in za rešitev drugih izzivov, s katerimi se in se še bomo soočali.

»Razmere so sedaj drugačne, pa vendar, kakšne trajne ukrepe bo zapustila trenutna pandemija? Ali bo, kot španska gripa, ki je terjala do 50 milijonov življenj, razmeroma hitro pozabljena, morda v senci neke druge katastrofe?«

Izredno pomembno in pomenljivo je bilo in še vedno je sodelovanje znanstvenikov, s prostim dostopom do podatkov.

Porajajo se tudi druga vprašanja – zgodovinsko odkritje v poznem 19. stoletju, da so mikroorganizmi povzročitelji infektivnih obolenj, je imelo velik vpliv tudi širše, npr. pri načrtovanju strukture mest, vodovodnih sistemov itd. Razmere so sedaj drugačne, pa vendar, kakšne trajne ukrepe bo zapustila trenutna pandemija? Ali bo, kot španska gripa, ki je terjala do 50 milijonov življenj, razmeroma hitro pozabljena, morda v senci neke druge katastrofe?

Pohvale vsem našim strokovnjakom, ki širši javnosti neumorno razlagajo o virusu SARS-CoV-2, cepivih in ukrepih, potrebnih za zajezitev epidemije pri nas.

► SE VAM ZDI, DA V DANAŠNJEM ČASU NA KAJ POZABLJAMO?

Ob poplavi lahko dosegljivih informacij se mi zdi, da pozabljamo na pomen poglobljenega znanja. Res je, da je dostop do podatkov, literature zaradi spleta neprimerno lažji, s čimer se zmanjšujejo razlike med privilegiranimi in manj privilegiranimi okolji. Neprimerno lažje je tudi povezovanje z drugimi skupinami, ustanovami. Na drugi strani eno-

»Ob poplavi lahko dosegljivih informacij se mi zdi, da pozabljamo na pomen poglobljenega znanja.«

Tokratna pandemija je razumljivo deležna velike pozornosti, vendar obstajajo še drugi veliki zdravstveni problemi, kot je odpornost bakterij proti antibiotikom. Ta nevarnost tudi

staven dostop do podatkov ustvari lažen občutek znanja in razumevanja. To se vidi tudi pri pandemiji. Le s poglobljenim znanjem postavljamo prava vprašanja, ki vodijo k

napredku pri delu, tako na osebni ravni kakor tudi širše. Najkreativnejši preboji v glavnem prihajajo od oseb, ki imajo poglobljeno znanje ožjega področja in hkrati široka pregledna znanja.

vitev le-teh. Hitro smo lahko nekonstruktivno kritični in včasih preprosto nočemo pohvaliti uspehov drugih ali konstruktivno sodelovati.

»Prav je, da že dijaki in seveda vsi študenti spoznajo neko obliko raziskovalnega dela.

Ne zato, da bi vsi postali raziskovalci, temveč da bi še nazorneje sprevideli pomen radovednosti, postavljanja vprašanj – zakaj je neki proces, pojav, tudi družbeni, tak, kakršen je? Šele ko razmere razumemo, lahko poiščemo ustrezno rešitev.«

S tem je povezano še nekaj: pozabljamo na pomen in spoštovanje pedagoškega (na vseh ravneh) in raziskovalnega dela. Učitelji pa morajo, od osnovne šole dalje, spodbujati k razmišljanju, kritičnemu razmišljanju in postavljanju vprašanj. Prav je, da že dijaki in seveda vsi študenti spoznajo neko obliko raziskovalnega dela. Ne zato, da bi vsi postali raziskovalci, temveč da bi še nazorneje sprevideli pomen radovednosti, postavljanja vprašanj – zakaj je neki proces, pojav, tudi družbeni, tak, kakršen je? Šele ko razmere razumemo, lahko poiščemo ustrezno rešitev.

V marsikaterem okolju se pozablja na pomen dobrih medosebnih odnosov, ki temeljijo na spoštljivem komuniciranju s sodelavci in drugimi, tudi o njih. Za to morajo biti volja in jasni vzvodi, ki zagotovijo vzposta-

► POZNATE KAKŠNO ZANIMIVO ANEKDOTO IZ SVETA MIKROBIOLOGIJE?

Na tem mestu ne bi izpostavila anekdot, temveč dejstvo, da je na področju mikrobiologije delovalo več tehniških sodelavk in znanstvenic, ki ostajajo bolj ali manj spregledane kljub temu, da so spremenile tok razvoja mikrobiologije. Predstavila bi dve izmed več spregledanih žensk, Fanny Hesse in Esther Lederberg. Njun vpliv seže širše od molekularne biologije in genetike, tudi zaradi inovativnih metodoloških rešitev, za katere dolgo oz. še vedno nista prejeli ustreznega priznanja. Žal spolna enakost, ki res ni več tako brutalna, kot je bila, še vedno obstaja v sicer bolj ali manj prikriti obliki.

»Na področju mikrobiologije je delovalo več tehniških sodelavk in znanstvenic, ki ostajajo bolj ali manj spregledane kljub temu, da so spremenile tok razvoja mikrobiologije. «



Fanny Hesse – zaslužna je za uporabo agarja pri pripravi trdnih gojišč. Z možem, Walterjem Hessejem, je okoli leta 1880 delala (brez plačila) v laboratoriju Roberta Kocha. Za izolacijo čistih kultur so potrebna trdna gojišča. Uporabljali so želatino kot dodatek tekočemu gojišču, vendar so se gojišča pri višji temperaturi

prostorov ali pa zaradi bakterijskih encimov, ki želatino razgrajujejo, utekočinila. Fanny Hesse je možu predlagala, da bi za pripravo trdnih gojišč tekočemu dodali agar. O tem ji je pripovedovala sosedka iz Indonezije, kjer so temperature visoke in ga dodajajo hrani. Agar se je izkazal kot idealen in so ga nemudoma pričeli uporabljati. Ostalo je zgodovina – Koch je z uporabo trdnih gojišč z agarjem odkril številne povzročitelje infektivnih bolezni – tuberkuloze, kuge, malarije, kolere itd. Gojišča z agarjem so izrednega pomena ne samo za mikrobiologijo, temveč tudi širše, za molekularno biologijo itd.

Esther Lederberg – odkrila je bakteriofag lambda, odkritje je bilo ključno za razvoj genetike bakterij, razumevanja uravnavanja izražanja genov in rekombinacije, torej tudi širše molekularne biologije/genetike. Igrala je izredno pomembno vlogo pri odkritju horizontalnega prenosa DNA pri bakterijah. Odkrila je faktor F (konjugativni plazmid) ter specializirano transdukcijo. Razvila je tehniko odtisa bakterij z žame-

»Fanny Hesse – zaslužna je za uporabo agarja pri pripravi trdnih gojišč. Z možem, Walterjem Hessejem, je okoli leta 1880 delala (brez plačila) v laboratoriju Roberta Kocha. Uporabljali so želatino kot dodatek tekočemu gojišču, vendar so se gojišča pri višji temperaturi prostorov utekočinila. Fanny Hesse je možu predlagala, da bi za pripravo trdnih gojišč tekočemu dodali agar. O tem ji je pripovedovala sosedka iz Indonezije, kjer so temperature visoke in ga dodajajo hrani. Ostalo je zgodovina.«

tom (angl. replica plating), ključno za sledenje odzivom bakterij na dejavnike okolja, kot so temperatura, antibiotiki, hranila – aminokisline, vitamini. Delovala je v senci takratnega moža, Joshua Lederberga, ki je leta 1958 pri starosti 33 let prejel



»Esther Lederberg – odkrila je bakteriofag lambda, odkritje je bilo ključno za razvoj genetike bakterij, razumevanja uravnavanja izražanja genov in rekombinacije. Igrala je izredno pomembno vlogo pri odkritju horizontalnega prenosa DNA pri bakterijah. Odkrila je faktor F (konjugativni plazmid) ter specializirano transdukcijo.«

Nobelovo nagrado. Izsledki njenega dela so bili za nagrado ključni. Joshua Lederberg je kasneje dejal, da je Nobelovo nagrado prejel za svoje laboratorijsko delo, a je prof. Stanley Falkow prav Esther opisal kot genija metodološkega in eksperimentalnega dela. Presunljivo je, da v dolgih letih delovanja v akademskem okolju ni imela stalne zaposlitve (angl. tenured) in da se njeno ime ne pojavlja v učbenikih. Kasneje se je zavzemala za enakopravnost in večjo zastopnost žensk v akademskem okolju.

► ŠE KARKOLI PO LASTNI ŽELJI IN IZBIRI.

V letih svojega službovanja sem na področju znanosti in izobraževanja doživela neverjeten napredek. Še posebej se me je dotaknil napredek v Sloveniji. Številne skupine na Biotehniški fakulteti in druge sodijo v sam svetovni vrh področja, v katerem delujejo. Za tem je ogromno znanja in težkega dela, treba pa je poudariti, da so financiranje in dru-

ge oblike podpore pogosto precej siromašnejše kot drugje. Iskrene čestitke vsem.

Velik izziv je in bo izobraževanje mladih. Kako pripraviti mlade za delo v gospodarstvu in širši družbi, je danes izziv po vsem svetu. V akademskem okolju, prav gotovo tudi marsikje v gospodarstvu, je vseživljenjsko izobraževanje povsem običajno. Vsi smo morali osvajati nove tehnike in znanja. Res je, da mladi hitro sledijo razvoju računalnikov, pametnih telefonov, vendar je danes razvoj na vseh področjih izredno hiter. Pripravljeni morajo biti na stalno dodatno izobraževanje, saj tehnologije in izzivi, s katerimi se bodo soočali, še ne obstajajo. Mnogo lažje in učinkoviteje bo, če bodo izobraževalne ustanove zapustili radovedni in razmišljajoči.

Strokovni članek

Koronavirusne okužbe so pri živalih pogosto ugotovljene tudi v Sloveniji

Izr. prof. dr. Ivan Toplak

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

ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Ključne besede: koronavirus, žival, okužba, dokazovanje, prenos, Slovenija.

Različne koronaviruse (CoV) najdemo pri netopirjih, glodavcih in pticah. Spadajo v družino *Coronaviridae*, ki jo sestavljajo štirje rodovi, poimenovani *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* in *Deltacoronavirus*. Genom CoV je enovijačna pozitivno polarna RNA, ki obsega od 26 do 32 kilobaz in spada med največje genome med vsemi RNA-virusi. Večina CoV je vrstno specifičnih in zato so različni virusi poimenovani po vrstah živali, katere okužujejo, ali pa po klinični sliki bolezni, ki jo povzročajo.

Zaradi okužbe dihal in/ali prebavnega trakta živali CoV povzročajo predvsem gospodarsko škodo, nekatere vrste pa sprožijo tudi sistemska obolenja, ki se lahko končajo s smrtjo obolelih živali. Večina CoV se ne prenaša med različnimi živalskimi vrstami in redko prehajajo na človeka [1]. Za številne vrste CoV, ki okužijo domače živali, je bilo v preteklosti značilno, da so se po vnosu v dovzetno populacijo zelo hitro razširile in ostale stalno prisotne kljub poskusom cepljenja in drugim vzpostavljenim ukrepom za preprečitev širjenja. Zaradi sodobnega načina življenja, globalne

izmenjave dobrin, spremembe prehranjevalnih navad in pogostejših stikov človeka z različnimi vrstami živali ter tesnega skupnega življenja s hišnimi ljubljenčki ali eksotičnimi živalskimi vrstami se tudi človek pogosteje srečuje z različnimi vrstami CoV. Redki pa so sevi živalskih CoV, ki pri človeku lahko povzročajo blago ali hudo klinično sliko obolenja in se nato hitro razširijo med ljudmi [1, 2].

Primeri prenosa koronavirusnih okužb z živali na človeka

Pred letom 2002, ko so se pri ljudeh prvič pojavile okužbe z virusom, ki je povzročal povečano smrtnost zaradi

sindroma akutne respiratorne stiske (SARS), proučevanje človeških CoV ni bilo prav pogosto, saj so do takrat znani sevi CoV pri ljudeh povzročali le blage okužbe dihal, v večini primerov brez večjih zapletov. Znano je, da je človeški alfakoronavirus HCoV-229E v osnovi virus netopirjev, pred prehodom na človeka pa se je virus prenesel na alpako kot vmesnega gostitelja. HCoV-OC43 se je z glodavcev prenesel na govedo in okrog 1890 med ljudi; od takrat kroži znotraj človeške populacije. V okviru obsežnejših raziskav, ki so jih izvedli po prvi epidemiji SARS CoV,

je zgodil leta 2002, ko se je virus, ki so ga prvi odkrili na Kitajskem pri farmsko vzrejenih palmovih cibetovkah (*Paguma sp.*), pri katerih ni povzročal kliničnih znakov obolenja, prenesel na človeka ter povzročil sindrom akutne respiratorne stiske (SARS) z okrog 10-odstotno smrtnostjo. Druga vrsta CoV se je prvič pojavila v Jordaniji in je pri ljudeh v več državah Bližnjega vzhoda povzročila velik preplah zaradi t. i. bližnjevzhodnega respiratornega sindroma (MERS) z okrog 30-odstotno smrtnostjo. Za medvrstni prenos okužbe so bile pomembne enogrbe kamele, s kateri-

»Pandemija SARS-a, ki se je začela leta 2019 na Kitajskem in jo je povzročil SARS-CoV-2, je pokazala izredno zmožnost koronavirusov za hitro širjenje in prilagoditev gostitelju. Pandemija COVID-19 je samo zadnji primer, ko se je nova vrsta koronavirusa, ki se v tem primeru prenaša s človeka na človeka, v zelo kratkem času razširila po vseh državah sveta.«

so pri ljudeh odkrili še dva nova CoV: človeški alfakoronavirus HCoV-NL63 se je na človeka prenesel z netopirjev; z glodavcev pa se je na človeka prenesel HCoV-HKU1, ki se uvršča med betakoronaviruse. Vsi ti štiri človeški CoV so povezani s sezonskimi prehladnimi obolenji in se pojavljajo po celem svetu. Širjenje teh človeških CoV, ki se samostojno prenašajo s človeka na človeka in ne potrebujejo rezervoarjev v živalskih vrstah, pogosto poteka skupaj z virusi gripe. Ti hkrati z drugimi respiratornimi patogeni povzročajo od blagih do hudih oblik bolezni in so del patologije prehladnih obolenj [1, 3]. Nov prenos CoV z živali na človeka se

mi so njihovi lastniki živeli v tesnem stiku.

Pandemija SARS-a, ki se je začela leta 2019 na Kitajskem in jo je povzročil SARS-CoV-2, je pokazala izredno zmožnost koronavirusov za hitro širjenje in prilagoditev gostitelju. Pandemija COVID-19 je samo zadnji primer, ko se je nova vrsta koronavirusa, ki se v tem primeru prenaša s človeka na človeka, v zelo kratkem času razširila po vseh državah sveta. Od začetka pandemije so zabeležili naravne prenose virusa SARS-CoV-2 z okuženih ljudi na že najmanj 15 različnih živalskih vrst, vendar po dosedanjih ugotovitvah te ne igrajo pomembnejše vloge pri širjenju

virusa [1]. Seveda pa raziskovalci in veterinarska stroka ugotavljajo in spremljajo prisotnost okužbe pri različnih živalskih vrstah zaradi pojava morebitnih rezervoarjev okužbe pri živalih ali nastanka novih različic virusa SARS-CoV-2, ki bi lahko med ljudmi povzročile nov val pandemije [4]. Domači dihurji so zelo občutljivi za okužbo s SARS-CoV-2 in ob stiku z okuženo osebo lahko zbolijo brez kliničnih znakov ali z blažjim, zmernim ali hujšim potekom driske, bruhanja in dehidracije. Primerjava celotnega genoma SARS-CoV-2, izoliranega leta 2020 v Sloveniji pri okuženem dihurju in njegovem lastniku, je pokazala razliko v 2 nukleotidih, kar potrjuje prenos virusa med okuže-

cijo ter povečanim poginom, obolevajo pa tudi starejše živali. V Jugoslaviji so okužbe z virusom TGE prvič ugotovili v Vojvodini in na Hrvaškem leta 1962, v Sloveniji pa prvič leta 1972, ko smo na več prašičjih farmah imeli hude izgube, ki so trajale več let, vse do leta 1977 [7]. Pri nas so širjenje virusa precej uspešno omejili z uporabo t. i. hlevskega cepiva TGE pri vseh plemenskih svinjah na farmi. Inokulum za cepivo so pripravili iz črevesja akutno obolelih pujskov in cepivo svinjam odmerjali peroralno. V serumu cepljenih živali so še več let po cepljenju dokazovali zaščitna protitelesa, kar potrjuje, da je izvedeno cepljenje zagotavljalo dolgotrajno zaščito [8]. Druga skupi-

»Primerjava celotnega genoma SARS-CoV-2, izoliranega leta 2020 v Sloveniji pri okuženem dihurju in njegovem lastniku, je pokazala razliko v 2 nukleotidih, kar potrjuje prenos virusa med okuženim lastnikom in njegovim dihurjem.«

nim lastnikom in njegovim dihurjem [5]. Zaradi ugotovitve prisotnosti in hitrega širjenja okužbe s SARS-CoV-2 med minki na farmah in dokazanimi prenosi na človeka ter nekatere druge živali v bližini so v letu 2020 v več državah po svetu izvedli takojšnjo usmrtilcev in neškodljivo odstranitev gojenih minkov, da bi preprečili nadaljnje prenose na ljudi, prav tako so začasno prepovedali vzrejo minkov na farmah [6].

Koronavirusne okužbe pri prašičih

Virus kužnega vnetja želodca in črevesja (TGE) spada med alfa koronavirus. Pri prašičih so ga prvič ugotovili leta 1946. Virus se hitro širi med rejami in prizadene predvsem nekaj dni stare pujske. Okužba se kaže s hudo drisko, bruhanjem in dehidra-

na strokovnjakov je v istem obdobju pripravljeno hlevsko cepivo prašičem odmerjala parenteralno, vendar se je ta način cepljenja izkazal za slabšega ter je celo pospešil širjenje virusa TGE znotraj reje. To potrjuje, da je način vnosa cepiva pomemben za zagotavljanje odpornosti. Boljše rezultate daje takrat, ko je cepivo vneseno na enak način, kot poteka okužba s CoV po naravni poti. Med letoma 1983 in 1987 na slovenskih prašičjih farmah nismo več dokazali protiteles proti virusu TGE, kar potrjuje, da je bila bolezen uspešno izkoreninjena [9].

Leta 1980 se je v več državah pri prašičih pojavila nova različica TGE, ki je zaradi genskih razlik in spremenjenega tropizma prešla iz enteričnega v respiratorni patogen, ta pa je dobil

ime prašičji respiratorni koronavirus (PRCV). PRCV je mutanta virusa TGE z mutacijami in delecijami v proteinu S, kar je povzročilo, da je virus izgubil zmožnost okužbe enterocitov, pridobil pa tropizem za okužbo prašičjih pljuč [10]. Okužba s PRCV v večini primerov poteka blago, pojavlja se po celem svetu. Pri virus nevtralizacijskem testu protitelesa proti virusu PRCV navzkrižno reagirajo s protitelesi proti virusu TGE in dajejo dobro zaščito [10, 11]. V praksi se prašiči od takrat naprej naravno okužujejo s PRCV in so tako dobro zaščiteni tudi proti okužbi z virusom TGE. Okužbo s PRCV smo v Sloveniji prvič ugotovili 1987 pri uvoženih prašičih v karanteni, nato pa še 1988 pri drugi karanteni. Prašiče so iz karantene odpeljali na farmo, od tam pa se je okužba s PRCV razširila po rejah prašičev po Sloveniji in je od takrat stalno prisotna [9].

Tretjo vrsto prašičjega virusa, poimenovanega virus prašičje epide-mične driske (PED), smo v Sloveniji prvič ugotovili leta 2014. PED povzroča predvsem visoko smrtnost med sesnimi pujski, prednik tega virusa pa izvira iz netopirskega CoV. Prve primere poginov in driske pri pujskih, ki jih povzroča virus PED, smo odkrili na večji farmi v decembru 2014 [12]. Z metodo RT-PCR v realnem času smo na eni farmi kroženje virusa dokazovali še 10 mesecev po okužbi, isti sev virusa pa smo v naslednjih dveh letih potrdili še v številnih rejah prašičev na območju celotne Slovenije. Z metodo sekvenciranja naslednje generacije (NGS) smo leta 2015 določili celoten genom slovenskega seva virusa PED v dolžini 28.028 nukleotidov (SLO/JH-11/2015, KU297956) in ga primerjali z dostopnimi sevi v genski banki. Ta primerjava je pokazala zelo veliko sorodnost s sevi virusov PED iz Francije, Nemčije in Belgije ter s sevom OH851, ki je bil prvič ugotovljen leta 2013 v ZDA [13] in kasneje tudi

v številnih državah sveta [11]. V času epizootije PED-a smo v Sloveniji leta 2015 ugotovili tudi dva rekombinantna seva virusa PED, ki sta nastala z vključitvijo dela genoma PRCV v odseku, ki kodira protein S (zaporedja celih genomov so dostopna v genski banki pod številko KY019623 in KY019624). Podobne rekombinantne seve so leta 2016 ugotovili na Madžarskem. V letu 2012 so raziskovalci prvič ugotovili nov prašičji CoV – delta (PDCV), ki povzroča hude driske in izvira iz ptičjega deltakoronavirusa (11).

Koronavirusne okužbe pri prežvekovalcih

Goveji koronavirus (BCoV) pri prežvekovalcih povzroča respiratorna obolenja, gastroenteritise in driske ter smrtnost pri teletih. Ta virus so ugotovili še pri ovcah, kozah, azijskih vodnih bivolih, lamah, alpakah in enogrbihih kamelah. Med letoma 2014 in 2016 smo v Sloveniji v vzorcih nosnega brisa pri 133 govedih s pljučnico BCoV dokazali pri 12,03 % pregledanih živalih. Podoben delež smo ugotovili tudi pri 84 poginulih živalih s pljučnico [14]. Prav tako smo ugotovili, da pri obolelem govedu poleg BCoV lahko potrdimo še številne druge patogene, ki se pojavljajo pri respiratornih obolenjih [3, 14]. Genetska primerjava 24 sevov BCoV in 66 človeških sevov CoV, ugotovljenih v Sloveniji, je pokazala, da se uvrščajo v ločene skupine. Največjo sorodnost z govejimi sevi CoV smo ugotovili pri človeškem virusu HCoV-OC43. Ugotovili smo 96,4–97,1-odstotno identičnost nukleotidnega zaporedja v regiji genoma, ki kodira od RNA odvisno polimerazo RNA [3]. Goveji sevi, ki smo jih ugotovili pri živih živalih s pljučnico, pri poginulih živalih z obolenjem dihal in živalih z drisko, se genetsko med seboj niso razlikovali [3], kar potrjuje predhodne ugotovitve, da isti sevi BCoV povzročajo obolenja

različnih organskih sistemov.

Koronavirusne okužbe pri perutnini

Virus kužnega bronhitisa perutnine (IBV) je prototip gamakoronavirusa in je bil do izbruha pandemije SARS-CoV-2 najbolj proučevan koronavirus med vsemi vrstami CoV. Genetsko zelo podobni virusi IBV povzročajo okužbe pri vrstah perutnine, kot so purani, pegatke, fazani ali prepelice. Okužba z IBV velja za najbolj nalezljivo virusno okužbo piščancev, po vnosu v farmsko rejo se hitro razširi in lahko zaradi pogina okuženih piščancev povzroči veliko gospodarsko škodo. Med letoma 1990 in 2013 smo z genetsko tipizacijo sevov IBV karakterizirali izolate

sevov na določenem območju. Za vzrejo puranov je gospodarsko najpomembnejši puranji koronavirus (TCoV). Povzroča enteritis in veliko gospodarsko škodo. CoV iz rodu gamakoronavirus najdemo tudi pri pticah iz reda golobov, močvirnikov, papig in plojkokljunov. Pri nekaterih pticah pevkah od leta 2009 naprej odkrivajo vedno nove CoV, ki so si med seboj podobni in so razvrščeni v rod deltakoronavirusov [2].

Koronavirusne okužbe pri drugih prostoživečih sesalcih

Enterični koronavirus dihurjev (FECV) je povzročitelj epizootičnega kataralnega enteritisa dihurjev. Obolenost je lahko pri dihurjih visoka,

»Komerzialna cepiva za preprečevanje
pojava kliničnih znakov bolezni pri živalih
so na voljo za perutnino, govedo in prašiče,
vendar zaradi razmeroma slabe zaščite v
Evropi, razen na perutninskih farmah, niso
v množični uporabi.«

iz različnih delov Slovenije. S filogenetskimi analizami delov genoma, ki kodirajo protein S, smo ugotovili genetsko zelo raznovrstne seve, ki jih lahko povežemo s pojavljanjem okužb v istem obdobju in lokaciji [15, 16, 17]. Cepljenje proti IBV v farmskih rejah poteka vsako leto že 50 let, cepiva pa proizvaja okrog 40 proizvajalcev. Med razmnoževanjem IBV prihaja do mutacij in nastanka rekombinantnih sevov, kar zmanjšuje učinkovitost cepiva, povzroča slabšo zaščito po cepljenju in poveča dovzetnost piščancev za okužbo. S cepljenjem se uspešno zmanjša gospodarska škoda, ne moremo pa popolnoma preprečiti kroženja IBV. Prav tako je treba cepiva proti IBV redno menjati in genetsko slediti pojavljanju obstoječih in novih

tudi do 100-odstotna, medtem ko je smrtnost nizka. V Sloveniji smo potrdili prisotnost FECV pri petih dihurjih s klinično sliko obolenja. S primerjavo kratkih odsekov genoma smo ugotovili, da so v Sloveniji prisotni genetsko različni sevi FECV, najbolj pa so sorodni ameriškim in nizozemskim sevom [18].

V Sloveniji smo leta 2008 v vzorcih klinično zdravih netopirjev različnih starosti prvič ugotovili SARS-u podobne CoV pri vrsti mali podkovnjak (*Rhinolophus hipposideros*). Prisotnost nukleinske kisline SARS-u podobnega CoV smo ugotovili v 38,8 % pregledanih vzorcev fecesa. Virusi v vzorcih, zbranih na petih različnih krajih po Sloveniji, so imeli 99,5–100-odstotno identično nukleotidno zaporedje in so uvrščeni

v isto skupino betacoronavirusov kot virusi SARS [19]. Netopirski sev SARS-u podobnega CoV, ki smo ga leta 2008 ugotovili v Sloveniji, se od SARS-CoV-2 na nukleotidni ravni razlikuje za približno 20 %. Podobne seve so pri različnih vrstah netopirjev v letih 2009–2011 ugotovili tudi v Italiji, Španiji in Bolgariji. Pri vseh 92 sevih CoV, odkritih pri šestih različnih vrstah netopirjev, smo ugotovili odsotnost kodirajoče regije ORF8, podobno kot so to ugotavljali pri človeških sevih SARS-CoV v pozni fazi prve pandemije [20], ki se je z izkoreninjenjem virusa končala leta 2005. Ugotovljena delecija v dolžini 29 nukleotidov je povzročila, da se je sposobnost razmnoževanja virusa SARS-CoV v različnih vrstah celic v povprečju zmanjšala za 23-krat. Ta sprememba genoma je ena od redko dokumentiranih sprememb, ki se je pri CoV zgodila v času pandemije [20].

Sklep

Komercialna cepiva za preprečevanje pojava kliničnih znakov bolezni pri živalih so na voljo za perutnino, govedo in prašiče, vendar zaradi razmeroma slabe zaščite v Evropi, razen na perutninskih farmah, niso v množični uporabi.

Okužbe s CoV so pri domačih (vzrejnih in hišnih ljubljencih) in prstoživečih vrstah živali pomembne zaradi gospodarske škode in poginov. Prav tako so CoV pomembni v okviru koncepta »Eno zdravje«, zato bi jih morali tudi zaradi zagotavljanja zdravja ljudi sistematičneje spremljati. Pri tem je pomembno sodelovanje veterinarske in medicinske stroke, saj bomo imeli s spremljanjem razširjenosti različnih vrst CoV boljši pregled tako nad prisotnimi sevi kakor tudi nad stanjem obstoječih in morebitnih novih obolenj, ki jih različne vrste CoV povzročajo pri nas.

Viri:

- Decaro N, Lorusso A. 2020. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Vet Microbiol* 244: 108693.
- Toplak I, Štukelj M, Tozon N, Krapež U. 2021. Koronavirusne okužbe pri živalih. *Vestnik Veterinarske zbornice Slovenije* 16(1): 32–36.
- Jevšnik Virant M, Černe D, Petrovec M, Paller T, Toplak I. 2021. Genetic characterisation and comparison of three human coronaviruses (HKU1, OC43, 229E) from patients and bovine coronavirus (BCoV) from cattle with respiratory disease in Slovenia. *Viruses* 13: 676.
- Stevanovic V, Vilibic-Cavlek T, Tabain J, et al. 2021. Seroprevalence of SARS CoV-2 infection among pet animals in Croatia and potential public health impact. *Transbound Emerg Dis* 68: 1767–1773.
- Račnik J, Kočvar A, Slavec B, Korva M, Rus K, Zakotnik S, et al. 2021. Transmission of SARS-CoV-2 from Human to Domestic Ferret. *Emerg Infect Dis* 27(9): 2450–2453.
- Koopmans M. 2021. SARS-CoV-2 and the human-animal interface: outbreaks on mink farms. *Lancet Infect Dis* 21:18–9.
- Železnik Z, Grom J, Boehm O, Lazar P. 1978. Proučevanje kontagionnega (Corona virusnega) gastroenteritisa prašičev v Sloveniji. Raziskovalno poročilo, 69–75.
- Grom J. Kužno vnetje želodca in črevesja – TGE. In: Zbornik ob 50 letnici virološkega laboratorija. 2014. 68–70.
- Valenčak Z, Kovač Z. 1999. Control of transmissible gastroenteritis (TGE) in Slovenia. *Praxis veterinaria* 1/2: 55–58.
- Saif LJ, Wang Q, Vlasova AN, Jung V, Xiao S. Coronaviruses. In: Zimmerman JJ, Kamler LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, Wiley-Blackwell. Diseases of swine. 2019. 488–523.
- Wang Q, Vlasova AN, Kenney SP, Sai LJ. 2019. Emerging and re-emerging coronaviruses in pigs. *Current Opinion in Virology* 34: 39–49.
- Toplak I, Štukelj M. 2015. Prvi dokaz virusa PED v Sloveniji. *Vestnik Veterinarske zbornice Slovenije* 10: 55–56.
- Toplak I, Ipavec M, Kuhar U, Kušar D, Papič B, Koren S, Toplak N. 2016. Complete genome sequence of the porcine epidemic diarrhoea virus strain SLO/H-11/2015. *Genome announcements* 4: e01725–5.
- Paller T, Hostnik P, Pogačnik M, Toplak I. 2017. The prevalence of ten pathogens detected by real-time PCR method in nasal swab samples collected from live cattle with respiratory disease. *Slov Vet Res* 54: 101–107.
- Krapež U, Slavec B, Barlič-Maganja D, et al. 2010. Molecular analysis of infectious bronchitis viruses isolated in Slovenia between 1990 and 2005: a retrospective study. *Virus Genes* 41: 414–416.
- Krapež U, Slavec B, Zorman Rojs O. 2011. Circulation of infectious bronchitis virus strains from Italy 02 and QX genotypes in Slovenia between 2007 and 2009. *Avian diseases* 55: 155–161.
- Krapež U, Slavec B, Barlič-Maganja O, Zorman Rojs O. Dvajset let kužnega bronhitisa v Sloveniji: molekularno-epidemiološka študija. V: Majdič, Gregor (ur.). Program in zbornik referatov, Slov Vet Res 2011; 48: suppl. 13. 282–285.
- Krapež U, Račnik J, Slavec B, Zadavec M, Marhold C, Čonč M. Pojav in molekularna karakterizacija enteričnega koronavirusa dihurjev v Sloveniji. V: Majdič, Gregor (ur.). Program in zbornik referatov, Slov Vet Res 2014. 61–62.
- Rihtarič D, Hostnik P, Steyer A, Grom J, Toplak I. 2010. Identification of SARS-like coronaviruses in horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) in Slovenia. *Arch Virol* 155: 507–514.
- Muth D, Corman VM, Roth H, Binger T, Dijkman R, et al. 2018. Attenuation of replication by a 29 nucleotide deletion in SARS-coronavirus acquired during the early stages of human-to human transmission. *Sci Rep* 8: 15177.

Strokovni članek

Profil proteinov patogenih bakterij *Campylobacter jejuni* v enovrstnem in večvrstnem biofilmu

Blaž Jug, Polona Jamnik, Sonja Smole Možina, Meta Sterniša, Anja Klančnik

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

blaz.jug@bf.uni-lj.si

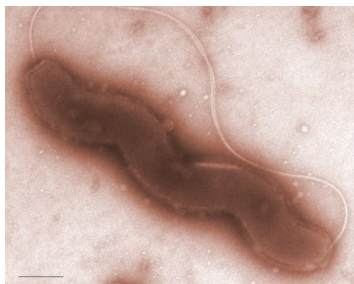
Ključne besede: *Campylobacter jejuni*, biofilmi, proizvodnja varnih živil.

Filmotvornost bakterij *Campylobacter* je pomemben mehanizem preživetja teh zdravju škodljivih črevesnih bakterij v živilski proizvodno-oskrbovalni verigi. S tem povezan problem je večja odpornost proti okoljskim dejavnikom ter prenos okužb s hrano na ljudi.

Bakterije rodu *Campylobacter* so na lestvici povzročiteljev bolezni, ki se prenašajo s hrano in vodo, na drugem mestu, takoj za salmonelo. V letu 2018 so kampilobaktri v Evropski uniji povzročili kar 524 od skupno 5146 izbruhov (10,2 %), predvsem na Madžarskem, v Franciji ter na Švedskem, kjer poročajo o izbruhih z več kot 100 primeri bolezni [1, 2]. Med vsemi prijavljenimi primeri okužb z zoonozami pa so kampilobakterioze že od leta 2005 izrazito prevladujoče črevesne okužbe ljudi v razvitih državah. V zadnjih

letih predstavljajo od 50–70 % vseh prijav med skupno 13 poročanimi zoonozami pri ljudeh v državah Evropske unije [1, 3].

Povzročitelji kampilobakterioze pri ljudeh so termotolerantne vrste rodu *Campylobacter*, med njimi izrazito prevladuje vrsta *C. jejuni*. Čeprav niso sposobne razmnoževanja v živilih in so hkrati zelo občutljive na spremembe okoljskih razmer, se pogosto занesejo v prehransko verigo človeka, predvsem s kontaminiranim perutninskim mesom, surovim mlekom in kontaminirano vodo. Poleg velike pogostnosti je problem tudi odpornost bakterij *Campylobacter* proti antibiotikom (predvsem fluorokinolonom). Sodobna proizvodnja živil omogoča uporabo številnih protimikrobnih sredstev, kar vpliva na naraščajočo odpornost mikroorganizmov ter varnost živil in uspešnost zdravljenja okužb postavlja pod vprašaj. Neizogibne so torej raziska-



► Bakterije vrste *Campylobacter jejuni*, merilo: 0,5 μm. Presevani elektronski mikroskop (TEM). (Avtorici: A. Klančnik, M. Tušek Žnidarič)

ve novih načinov oz. strategij, s katerimi bi omejili uporabo protimikrobnih snovi in s tem razvoj ter širjenje odpornosti proti antibiotikom.

Biofilmi

Pomemben prilagoditveni ter obrambni mehanizem preživetja bakterij *C. jejuni* zunaj gostiteljev je

preživetje ter spodbujata prilagoditev celic na mehanski, fizikalni in kemični stres. Celice, ki so v tej strukturi bliže površini biofilma, rastejo hitreje in so metabolno aktivnejše, globlje v biofilmu pa se lahko razvijejo fiziološko odpornejše oblike celic [4, 5].

»Sodobna proizvodnja živil omogoča uporabo številnih protimikrobnih sredstev, kar vpliva na naraščajočo odpornost mikroorganizmov ter varnost živil in uspešnost zdravljenja postavlja pod vprašaj.«

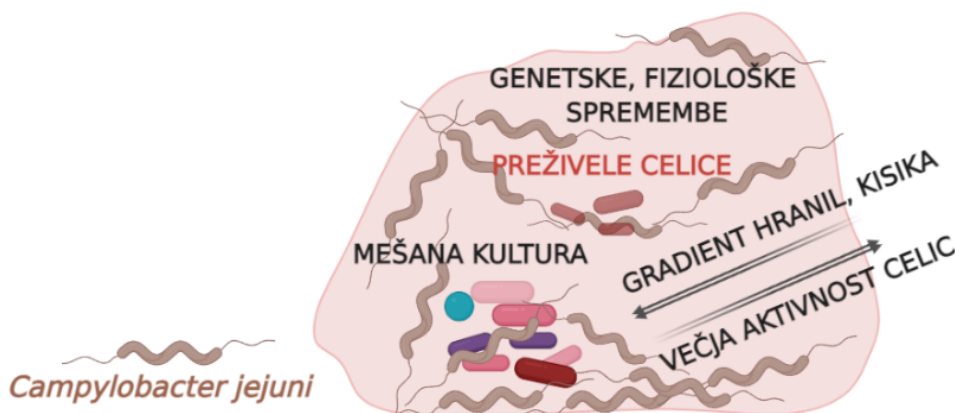
tudi filmotvornost. Kampilobakterije lahko tvorijo biofilme ali naseljujejo večvrstne biofilme na kontaktnih površinah v živilski proizvodno-oskrbovalni verigi (npr. napajalni sistemi v reji živali, strojna oprema in obdelovalne površine v klavnici ipd.).

Prav biofilmi omogočajo izkoriščanje hranil tudi mikroorganizmom, ki sicer ne presnavljajo sestavin živila, da lahko dostopajo do že presnovljenih hranil in jih uporabijo za svojo rast. Biofilmi imajo strukturno vlogo pri ustvarjanju gradienta hranil in kisika, vsebujejo zunajcelične encime, omogočajo medcelično komunikacijo in ščitijo celice pred toksičnimi spojinami. Genetska raznovrstnost ter nenehno spreminjajoča se fiziologija celic bakterijam omogočata

Večvrstni biofilmi

Večvrstni bakterijski biofilmi predstavljajo najpogostejšo obliko kontaminacije v živilski industriji. Bakterije, ki so naravno prisotne v proizvodnem okolju ali so npr. del naravne mikrobiote živali, so potencialen vir kontaminacij med proizvodnjo živil. Pri delu smo se usmerili v mešano kulturo bakterij *C. jejuni* z bakterijami, ki povzročajo kvar živil. Bakterije rodu *Pseudomonas* so del mikrobiote različnih živali in močni tvorci biofilma, v katerem lahko potencialno ustvarijo ugodne razmere za preživetje patogenih bakterij *Escherichia coli* [6]. Bakterije *Pseudomonas* kolonizirajo tudi površine v živilski industriji, kjer tvorijo persistentno obliko biofilmov [6,

▼ Vloga biofilma pri preživetju bakterijskih celic (Avtorica: A. Klančnik)



7]. Na piščančjem mesu so prisotne različne vrste rodu *Pseudomonas*, vključno z bakterijami *Pseudomonas fragi*. Visoka prilagodljivost ter raznovrstna metabolična aktivnost in nizke potrebe po hranilih bakterijam *P. fragi* omogočajo preživetje v širokem temperaturnem območju

lekularnih analiz niso razvidne [10]. Celice 48 ur starega biofilma smo lizirali (slika 3), ugotovili koncentracijo proteinov v lizatu ter izvedli kvantitativno proteomsko analizo z masno spektrometrijo (v sodelovanju z dr. Marjorie Fournier z Univerze v Oxfordu).

»Pri delu smo se usmerili v mešano kulturo bakterij *C. jejuni* z bakterijami, ki povzročajo kvar živil.«

in hitrejšo rast od drugih prisotnih mikroorganizmov [8]. Hilbert in sod. [9] so dokazali hitrejšo rast in boljše preživetje bakterij *C. jejuni* v mešani kulturi z bakterijami *P. fragi*.

Analiza proteinov lizata celic *C. jejuni* v biofilmu

Proteomski pristop raziskovanja omogoča identifikacijo in kvantifikacijo profila proteinov, ki je v celici ob stalnem prilagajanju na nove stresne izzive zelo dinamičen in zato zelo pomemben za študij interakcije celice z okoljem in drugimi organizmi. Molekularne metode študija proteinov so pomembna dopolnitev genomskih in transkriptomskih študij, saj omogočajo detekcijo tudi posttranslacijskih modifikacij proteinov, ki iz genomskih in transkriptomskih mo-

Za gojenje biofilma smo izbrali temperaturo 30 °C in primerjali profil proteinov pri mikroaerofilnih in aerobnih razmerah nastanka biofilma bakterij *C. jejuni*. V nadaljevanju smo izbrali aerobne razmere ter ovrednotili profil proteinov celic *C. jejuni* v večvrstnem biofilmu v primerjavi s celicami *C. jejuni* v enovrstnem biofilmu.

Profil proteinov celic *C. jejuni* v biofilmu pri 30 °C in različnih atmosferskih razmerah

Prvi eksperimenti so bili usmerjeni v profil proteinov celic *C. jejuni* v enovrstnem biofilmu. Opravljena analiza v treh bioloških ponovitvah je pokazala 38 skupno izraženih proteinov s kvantitativnimi razlikami pri obojih ravnih razmerah. Pri

▼ Postopek pridobivanja, izolacije in analize profila proteinov bakterij *C. jejuni*. (Jug B.)



biofilmu mikroaerofilne rasti smo zaznali 52 proteinov, ki niso bili prisotni v celicah biofilma v aerobni atmosferi. Pri biofilmu aerobne rasti pa smo zaznali 121 proteinov, ki niso bili prisotni v celicah biofilma v mikroaerofilni atmosferi. S primerjavo profila proteinov celic 48 ur starega biofilma, inkubiranega pri 30 °C v mikroaerofilni atmosferi, ki predstavlja optimalne atmosferske razmere rasti, ter v aerobni atmosferi, ki predstavlja stresne razmere, lahko izpostavimo proteine, ki so vključeni v stresni odgovor, celično delitev ter spremembe poti metabolizma v celicah biofilma v aerobni atmosferi. Glavne razlike smo zaznali pri proteinih stresnega odgovora, kot so proteini GroEL (preglednica 1), Fur in proteinih, ki vplivajo na tvorbo biofilma, kot so proteini SucD, FlmA.

Profil proteinov celic *C. jejuni* v večvrstnem biofilmu z bakterijami *P. fragi*

Drugi eksperimenti so bili usmerjeni v profil proteinov celic *C. jejuni* v večvrstnem biofilmu z bakterijami *P. fragi*, ki so močni tvorci biofilma. Primerjali smo proteinski profil celic *C. jejuni* v biofilmu po 48 urah pri 30 °C, in sicer celic v večvrstnem biofilmu *C. jejuni* in *P. fragi* pri aerobnih raz-

merah, s profilom proteinov celic v enovrstnem biofilmu *C. jejuni* pri mikroaerofilnih razmerah.

V preglednici 1 je podana analiza profila proteinov v celicah *C. jejuni* v enovrstnem in večvrstnem biofilmu s *P. fragi* v aerobni atmosferi v primerjavi s celicami enovrstnega biofilma *C. jejuni* v mikroaerofilni atmosferi. Rezultati so podani kot log₂-razmerja med vsebnostjo proteinov enovrstnega ali večvrstnega biofilma (*C. jejuni* oz. *C. jejuni* in *P. fragi*) v aerobni atmosferi pri 30 °C in vsebnostjo proteinov enovrstnega biofilma *C. jejuni* v mikroaerofilni atmosferi pri 30 °C (log₂ R). Odebeljene vrednosti log₂ R predstavljajo značilno povišano oz. znižano raven proteinov pri celicah *C. jejuni* pri izbranih razmerah (log₂ R ≥ 1,058; *p* < 0,05; *n* = 3).

Profil proteinov celic *C. jejuni* v biofilmu s *P. fragi* je pokazal razlike pri izbranih proteinih celic *C. jejuni*, vključenih v različne stopnje nastanka biofilma ali pa v stresni odgovor celic, z izjemo proteina GroEL in AhpC. V profilu proteinov celic *C. jejuni* v biofilmu s *P. fragi* je bila povišana raven proteinov HU, Fur in SucD v primerjavi s celicami *C. jejuni* v enovrstnem biofilmu pri mikroaer-

▼ Profil proteinov v celicah *C. jejuni* v enovrstnem in večvrstnem biofilmu.

IME PROTEINA	VKLJUČENOST PROTEINA		log ₂ R	
	TVORBA BIOFILMA	ODGOVOR NA OKSIDATIVNI STRES	Enovrstni biofilm <i>C. jejuni</i> , aerobno, 30 °C	Večvrstni biofilm <i>C. jejuni</i> in <i>P. fragi</i> aerobno, 30 °C
Elongacijski faktor Tu (Tu)		X ^a	- 0,3	- 2,3
DNA-vezavni protein HU (HU)		X ^b	+ 3,5	+ 2,6
Alkil hidroperoksid reduktaza C (AhpC)	X ^c	X ^c	- 1,7	- 0,3
Protein dušikove fiksacije NifU (NifU)	X ^d		+ 0,1	- 3,7
Šaperonin GroEL (GroEL)	X ^d		+ 1,5	+ 0,3
Protein za uravnavanje privzema železa (Fur)		X ^d	+ 2,5	+ 0,9
Sukcinat-CoA ligaza, podenota alfa (SucD)	X ^e		+ 4,0	+ 2,5
Flagelin A (FlaA)	X ^g		Ni prisoten	Ni prisoten

^a[11]; ^b[12]; ^c[13]; ^d[14]; ^e[15]; ^f[16]; ^g[17].

rofilnih razmerah, a nižja v primerjavi z enovrstnim biofilmom pri aerobnih razmerah.

V profilu proteinov celic v večvrstnem biofilmu *C. jejuni* ter *P. fragi* smo zaznali nižjo raven proteinov, vključenih v stresni odgovor, kot je protein Fur, globalni regulator že-

led v vpliv temperature, atmosfere ter mešane kulture na celični profil prisotnih proteinov ter njihovo vsebnost. Naši rezultati dokazujejo znižano raven proteinov, vključenih v stresni odgovor celice, ter proteinov, vključenih v različne stopnje nastanka biofilma bakterij *C. jejuni*.

»Večvrstni biofilm bakterij omogoči prilagoditev mehanizma stresnega odgovora celic *C. jejuni*, kar posledično lahko vpliva na njihovo preživetje v biofilmu.«

lezove homeostaze, kar nakazuje na manjši oksidativni stres ob prisotnosti bakterij *P. fragi*. Zanimivo je, da v tem profilu nismo določili niti prisotnosti flagelarnega proteina FlaA, vključenega v gibljivost bakterij.

Zaključek

Profil celokupnih proteinov celic *C. jejuni* v biofilmu omogoča ovrednotenje vključenosti posameznih proteinov v znotrajcelične mehanizme celic *C. jejuni* pri odpornem stanju biofilma. Prav tako omogoča vpog-

Tako lahko zaključimo, da večvrstni biofilm bakterij omogoči prilagoditev mehanizma stresnega odgovora celic *C. jejuni*, kar posledično lahko vpliva na njihovo preživetje v biofilmu.

ZAHVALA: Za financiranje se zahvaljujemo agenciji ARRS (projekt št. J4-9299). Delo je bilo izvedeno v sodelovanju s prof. dr. Marjorie Fournier, University of Oxford, Advanced Proteomics Facility, Department of Biochemistry, South Parks Road, Oxford OX1 3QU, United Kingdom.

Viri:

1. EFSA, 2020 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6090>.
2. EFSA, 2021 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2021.6971>.
3. WHO, 2020 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>.
4. Flemming, H. C., in sod. 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat. Rev. Microbiol.* 14: 5. 563–575.
5. Galie, S.; Gutierrez, C. G.; Miguelez, E. M.; Villar, C. J.; Lombo, F. 2018. Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. *Front. Microbiol.* 9: 898.
6. Sterniša, M.; Klančnik, A.; Smole Možina, S. 2019. Spoilage *Pseudomonas* biofilm with *Escherichia coli* protection in fish meat at 5 °C. *J. Sci. Food Agric.* 99: 10.
7. Møretrø, T., in sod. 2017. Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry. *Int. J. Food Microbiol.* 241: 215–224.
8. Franzetti, L., in Scarpellini, M. 2007. Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Ann. Microbiol.* 57(1): 39–47.
9. Hilbert, F.; Scherwitzel, M.; Paulsen, P.; Szostak, M. P. 2010. Survival of *Campylobacter jejuni* under conditions of atmospheric oxygen tension with the support of *Pseudomonas* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 5911–5917.
10. Wells, J. M.; Bennik, M. H. J. 2003. Genomics of food-borne bacterial pathogens. *Nutr. Res. Rev.* 16(1): 21–35.
11. Sulaeman, S., in sod. 2012. Enhanced Adhesion of *Campylobacter jejuni* to Abiotic Surfaces Is Mediated by Membrane Proteins in Oxygen Enriched Conditions. *PLoS ONE* 7: 9.
12. Flint, A.; Stintzi, A.; Saraiva, L. M. 2016. Oxidative and nitrosative stress defences of *Helicobacter* and *Campylobacter* species that counteract mammalian immunity. *FEMS Microbiol. Rev.* 40: 938–960.
13. Kim, J.-C.; Oh, E.; Hwang, S.; Ryu, S.; Jeon, B. 2015. Non-selective regulation of peroxide and superoxide resistance genes by PerR in *Campylobacter jejuni*. *Front. Microbiol.* 6: 126.
14. Oh, E., in Jeon B. 2014. Role of alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) in the biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. *PLoS ONE*, 9(1): e87312.
15. Kalmokoff, M., in sod. 2006. Proteomic analysis of *Campylobacter jejuni* 11168 biofilms reveals a role for the motility complex in biofilm formation. *J. Bacteriol. Res.*; 188(12): 4312–4320.
16. Reuter, M.; Mallett, A.; Pearson, B. M.; van Vliet, A. H. 2010. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(7): 2122–2128.
17. Van Vliet, A. H.; Bailion, M. A.; Penn, C. W.; Ketley, J. M. 1999. *Campylobacter jejuni* contains two fur homologs: characterization of iron-responsive regulation of peroxide stress defense genes by the PerR repressor. *J. Bacteriol. Res.*; 181(20): 6371–6376.

Mikrobiologija v industriji

Monitoring prisotnosti SARS-CoV-2 in različic virusa na vtoku v slovenske čistilne naprave

Katarina Bačnik, Olivera Maksimović Carvalho Ferreira, Živa Lengar, Zala Kogej, Irena Bajde, Tadeja Lukežič, David Stanković, Anže Županič, Mojca Milavec, Denis Kutnjak, Maja Ravnikar, Ion Gutierrez-Aguirre

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

Izločanje SARS-CoV-2 z blatom okuženih posameznikov je odprlo možnost za uporabo tako imenovane epidemiologije odpadnih voda, ki temelji na predpostavki, da odpadne vode odražajo zdravstveno stanje populacije. Časovno in krajevno spremljanje prisotnosti virusa v odpadnih vodah tako omogoča zgodnje odkrivanje izbruhov oz. ponovnega širjenja virusa.

Skrbno izbran način vzorčenja na različnih točkah pa lahko omogoči zaznavo kritičnih območij širjenja virusa. Podoben in bolj znan pristop epidemiologije odpadnih voda je že vzpostavljen za opisovanje porabe drog oz. prepovedanih substanc [8]. Analize odpadnih voda pa so bile že uporabljene tudi za spremljanje virusnih bolezni, in sicer virusa otroške ohromelosti oz. poliovirusa, ki je zaradi učinkovitega cepljenja že skoraj izkoreninjena bolezen [4].

Že na primeru SARS-CoV leta 2003 so ugotovili, da se ta lahko razmnožuje tudi v človeških črevesnih celicah in izloča z blatom okuženih posameznikov [3]. V letu 2020 pa

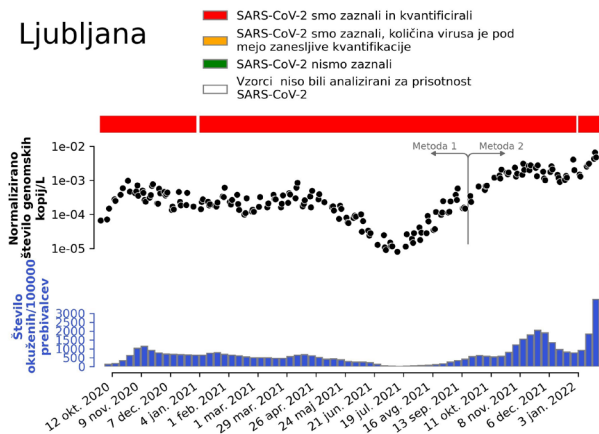
so študije pokazale, da lahko nukleinske kisline SARS-CoV-2 v blatu zaznamo še pred pojavom simptomov [1] ter pri asimptomatskih in blago simptomatskih posameznikih [6], ki predstavljajo pomemben delež vseh okuženih. Izločanje virusa v blatu pa je največje ravno v začetku simptomatskega obdobja. Količina virusa se zmanjšuje po preboleli okužbi, vendar prisotnost virusa v blatu lahko vztraja več tednov [2]. Možnosti prenosa SARS-CoV-2 z blatom in urinom oz. odpadno vodo pa so se v številnih študijah izkazale za zelo majhne, pravzaprav zanemarljive, zlasti zaradi nizkih koncentracij infektivnih virusnih delcev v takšnih vzorcih in nestabilnosti SARS-CoV-2

v okolju [2].

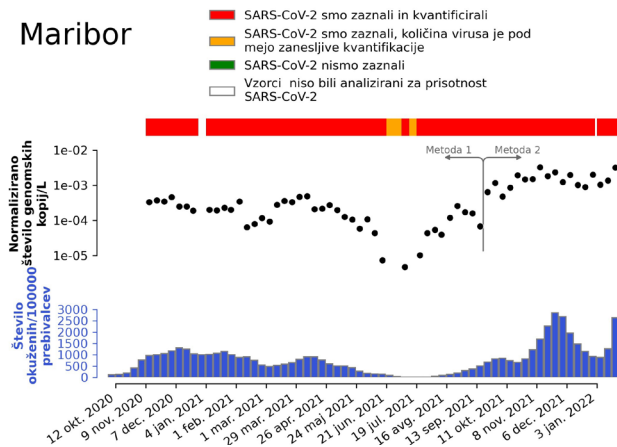
Poleg mnogih objav o zaznavanju SARS-CoV-2 v odpadnih vodah so številne države uvedle monitoring SARS-CoV-2 v odpadnih vodah različnih območij, vključno z ugotavljanjem različic SARS-CoV-2. Monitoring odpadnih voda, ki ga izvajamo na Nacionalnem inštitutu za biologijo (NIB), tudi v Sloveniji predstavlja komplementaren način spremljanja epidemiološkega stanja in se bo v tekočem letu predvidoma razširil na 15 čistilnih naprav ter s tem pokril vse statistične regije Slovenije. NIB na področju monitoringa SARS-CoV-2 v odpadnih vodah s svojimi raziskavami in znanjem sodeluje tudi pri aktivnosti Skupnega raziskovalnega središča Evropske Komisije (ang. Joint Research Centre, JRC).

▼ Število okuženih na 100 000 prebivalcev in izmerjena količina genomskih kopij virusa v odpadnih vodah čistilnih naprav, ki jih pokrivajo (Ljubljana, Maribor).

Ljubljana



Maribor

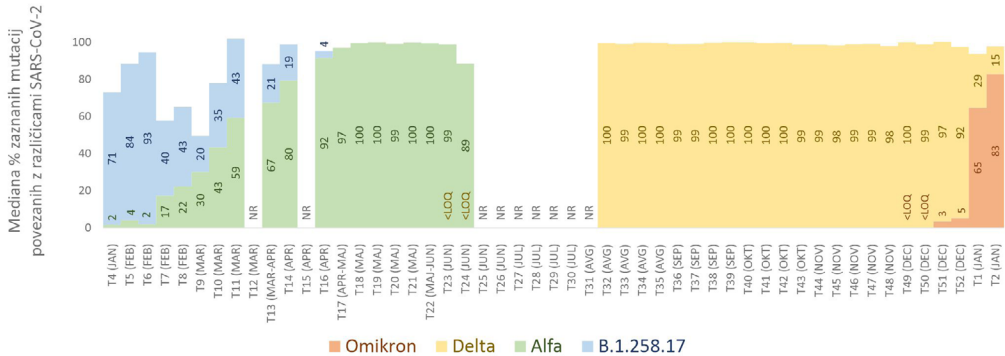


Pilotni monitoring SARS-CoV-2 in različic virusa v odpadnih vodah slovenskih čistilnih naprav

Na Nacionalnem inštitutu za biologijo smo v sodelovanju z izbranimi čistilnimi napravami začeli analizirati odpadne vode že marca 2020. Od oktobra 2020 pa poteka redni pilotni monitoring odpadnih voda za spremljanje epidemiološkega stanja okužb s SARS-CoV-2. V začetnem obdobju smo raziskovalci razvili in preizkusili metode za vzorčenje, koncentriranje vzorcev odpadnih voda, analize z verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (qPCR) ter normalizacijo pridobljenih rezultatov. Rezultati poskusnega projekta so pokazali ujemanje med količino virusnih nukleinskih kislin v odpadnih vodah in med podatki o številu okuženih na območjih, ki jih pokrivajo posamezne čistilne naprave (slika 1). V letu 2020 so bile najvišje koncentracije virusne RNA izmerjene konec oktobra oz. v začetku novembra. Od takrat so ob prisotnosti blažjih nihanj ostajale visoke v večini čistilnih naprav. Od konca marca 2021 pa je količina virusa hitreje upadala in je v poletnih mesecih postopoma prešla na najnižjo raven od začetka merjenja. Z začetkom septembra 2021 so količine virusa začele naraščati in v času oddaje prispevka še ostajajo na visoki ravni. Pokazali pa smo tudi, da je z vzorčenjem odplak mogoče spremljati epidemiološko stanje v posameznih objektih (na primer v domu starejših občanov Deos Medvode in OŠ Dragomelj).

Na začetku leta 2021 smo začeli detektirati različice SARS-CoV-2, ki krožijo v populaciji, na podlagi sekvenciranja pomoženih nukleinskih kislin SARS-CoV-2, izoliranih iz vzorcev odpadnih voda. Z uporabo visokozmogljivega sekvenciranja ter bioinformatičnih analiz lahko v odpadnih vodah zaznavamo pogostost mutacij, ki so značilne za posamezne različice SARS-CoV-2, obenem

Centralna čistilna naprava Ljubljana



pa z analizo enega vzorca odpadnih voda pridobimo širšo sliko o deležu skrb vzbujajočih različic na nekem območju. Trenutno smo z analizo rezultatov sekvenciranja za 2. teden leta 2022 zaznali različici delta in omikron v odpadni vodi iz vseh analiziranih čistilnih naprav. V primerjavi s predhodnim tednom smo opazili znatne poraste deležev različice omikron v odpadni vodi (slika zgoraj).

Prilagodnost epidemiologije odpadnih voda

Epidemiologija odpadnih voda je komplementaren način spremljanja prisotnosti povzročiteljev bolezni, ki ima zmožnost za zgodnje odkrivanje novih povzročiteljev bolezni ter z njimi povezanih okužb [5]. Razvoj metod in vzpostavitev monitoringov odpadnih voda v času pandemije

COVID-19 lahko v prihodnosti omogočita hitrejši odziv na nove epidemije, obenem pa stalno spremljanje epidemiološkega stanja glede porajajočih se povzročiteljev bolezni in drugih markerjev, kot so geni, povezani z antibiotično rezistenco bakterij. V odpadnih vodah pa bi lahko poleg patogenih organizmov spremljali tudi druge z zdravjem povezane kazalnike, kot so toksini, hormonski motilci in prognostični biomarkerji [5]. Sekvenciranje genomov SARS-CoV-2 v vzorcih odpadnih voda bi lahko razširili na druge možne patogene organizme in s tem omogočili hitro zaznavo novih patogenov oz. širjenje njihovih novih različic v populaciji.

▲ Tedensko spremljanje ocenjenega deleža različic SARS-CoV-2 - B.1.258.17 (modra), alfa (zelena), delta (rumena) in omikron (oranžna) - v odpadnih vodah iz centralne čistilne naprave Ljubljana. Na abscisni osi so označeni tedni (T) v letu 2021 in pripadajoči meseci. Odstotki predstavljajo ocene deležev različic z uporabo izračuna mediane deležev nabora označevalskih mutacij, zato, in zaradi možne prisotnosti manjšega deleža drugih različic, seštevek deležev ni vedno 100%. NR - ni rezultata; oznaka <LOQ pomeni, da smo v teh vzorcih lahko zaznali posamezne mutacije, najpogosteje povezane z določeno različico, a zaradi nizkih frekvenc še nismo mogli oceniti deleža te različice v odpadni vodi.

Viri:

1. He, X., et al. 2020. Temporal Dynamics in Viral Shedding and Transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine* 26(5): 672–75.
2. Jones, David L., et al. 2020. Shedding of SARS-CoV-2 in Feces and Urine and Its Potential Role in Person-to-Person Transmission and the Environment-Based Spread of COVID-19. *Science of the Total Environment* 749(July): 141364.
3. Leung, W. K., To, K. F., Chan, P. K. S. 2003. Enteric Involvement of Severe Acute Respiratory Syndrome. *Gastroenterology* 508S(03): 1011–17.
4. Obregón, Rafael, et al. 2009. Achieving Polio Eradication: A Review of Health Communication Evidence and Lessons Learned in India and Pakistan. *Bulletin of the World Health Organization* 87(8): 624–30.

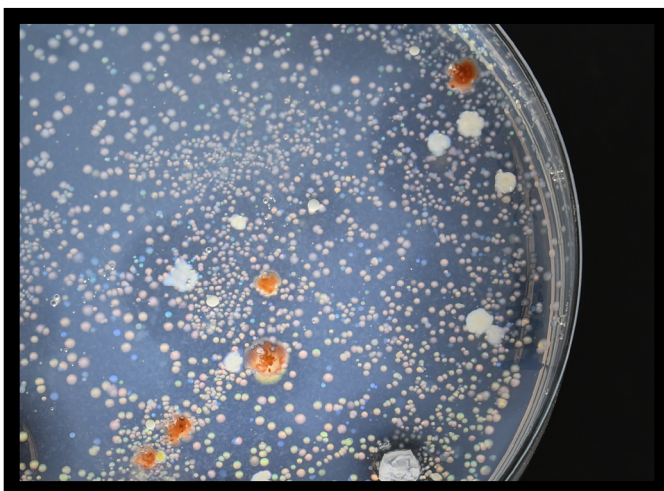
5. Sims, Natalie, Kasprzyk-Hordern, Barbara. 2020. Future Perspectives of Wastewater-Based Epidemiology: Monitoring Infectious Disease Spread and Resistance to the Community Level. *Environment International* 139(April): 105689.
6. Tang, An, et al. 2020. Detection of Novel Coronavirus by RT-PCR in Stool Specimen from Asymptomatic Child, China. *Emerging Infectious Diseases* 26(6): 1337–39.
7. Xagorarakis, Irene, O'Brien, Evan. 2019. Wastewater-Based Epidemiology for Early Detection of Viral Outbreaks. In *Women in Water Quality*: 75–97.
8. Zuccato, Ettore, et al. 2008. Estimating Community Drug Abuse by Wastewater Analysis. *Environmental Health Perspectives* 116(8): 1027–32.

Iskrice v mikrobiologiji Mikrobiologija v sliki

» We cannot fathom the marvelous complexity of an organic being; but on the hypothesis here advanced this complexity is much increased. Each living creature must be looked at as a microcosm--a little universe, formed of a host of self-propagating organisms, inconceivably minute and as numerous as the stars in heaven.«

Charles Darwin

► Iridiscentne, pigmentirane in agarolitične kolonije bakterij iz Koprskega zaliva. Avtorja: Eva Grabner in Tomaž Accetto.



► Ko ti modelni mikroorganizem polepša dan in se ti »nasmehne«: kolonija *Bacillus subtilis* na LB agarju. Avtor: Polonca Štefanič.



Mikronostalgija

Celična kultura

Prof. dr. Peter Hostnik, dr. vet. med.

Enota za virologijo, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

Bilo je v osemdesetih letih prejšnjega stoletja. O, kako oddaljeno zveni ta navedba, pa je to za tiste, ki imamo za sabo že preko 60 let življenjskih izkušenj, tako kot da bi bilo to včeraj. V osemdesetih letih sem zaključil študij na Veterinarski fakulteti oz. na VTOZD veterinarskega oddelka Biotehniške fakultete. Po opravljenem pripravništvu in zaključenem služenju vojaškega roka sem se kot mladi raziskovalec zaposlil v Virološkem laboratoriju Inštituta za mikrobiologijo Veterinarske fakultete v Ljubljani. Kaj kmalu so me naučili, da je viruse mogoče pomnoževati na

kako je tudi s celicami. Izbor celičnih linij v tistem času ni bil ravno najbolj pester, zato smo bili v veliki meri vezani na primarne celične kulture. Te kulture govejega izvora smo običajno pripravljali iz organov govejega feta: ledvic ali testisov. Sicer se je v tem času že uvajala tehnika zamrzovanja v tekočem dušiku, vendar je bilo kljub temu dobrodošlo, da smo vsakih 14 dni dobili goveji fetus. Inštitut ni bil tako bogat, da bi lahko kupili gravidne krave in opravili carski rez, ampak smo bili odvisni od najbližje klavnice Emona. Ko je prišlo kakšno gravidno govedo zaradi zakola v sili (npr. zlom

»Za uspešno delo s celičnimi kulturami niso dovolj samo usposabljanja in izkušnje, ampak moraš ta čut do celic nositi v sebi. Ga imaš ali pa ne. To je tako kot na izletu po Gorenjski: na nekaterih balkonih lahko vidiš krasne, bujno rastoče in cvetoče nageljne, na sosednjem pa so takšni, kot da bi jih včeraj ožgala slana. Vsako dekle pač nima roke za nageljne, pravijo Gorenjci.«

celičnih kulturah. Za uspešno delo s celičnimi kulturami pa niso dovolj samo usposabljanja in izkušnje, ampak moraš ta čut do celic nositi v sebi. Ga imaš ali pa ne. To je tako kot na izletu po Gorenjski: na nekaterih balkonih lahko vidiš krasne, bujno rastoče in cvetoče nageljne, na sosednjem pa so takšni, kot da bi jih včeraj ožgala slana. Vsako dekle pač nima roke za nageljne, pravijo Gorenjci. In tako ne-

noge, poškodba ...) na klanje, nas je o tem obvestil kolega veterinar, mi pa nemudoma v akcijo. Plodu smo odvzeli ustrezne organe, jih dostavili v laboratorij in iz njih pripravili primarno celično kulturo. Žal ta komunikacija ni tekla tako, kot naj bi, in kolegi veterinarji so nas pogosto pozabili obvestiti o prispetju takšne živali na klavno linijo. Treba se je bilo povezati z mesarjem Jožetom in ta nas je zelo

dosledno obveščal o zakolih v sili, vendar: brez dogovora se je vedelo, da to deluje, če naš prihod v klavnico pospremi steklenica žganega. Liter Tavžentrože je bil vsakič potreben, pa je obveščanje teklo gladko. Iz primar-

šele po enem mesecu – urgentno, po faksu – prejeli obvestilo, da lahko na carini dvignemo paket, ki ga hranijo pri sobni temperaturi. Vemo, da je življenjska doba celic kratka, tako da paketa sploh nismo dvignili. Po enem

»Kolegi veterinarji so nas pogosto pozabili obvestiti o prispetju živali na klavno linijo. Treba se je bilo povezati z mesarjem Jožetom in ta nas je zelo dosledno obveščal o zakolih v sili, vendar: brez dogovora se je vedelo, da to deluje, če naš prihod v klavnico pospremi steklenica žganega. Liter Tavžentrože je bil vsakič potreben, pa je obveščanje teklo gladko.«

nih celičnih kultur smo počasi prešli na celične linije. Celične linije smo pridobivali iz tujine na različne načine in si počasi ustvarjali lastno banko celičnih kultur. Danes mrgoli različnih ponudnikov hitre pošte, tako da pridobiti neke celice iz laboratorija v tujini, zlasti iz držav znotraj EU, res ni nikakršen problem. Odločili smo se, da iz celične banke ATCC nabavimo nekaj najbolj aktualnih in tudi certificiranih celičnih linij. Težave nastopijo takoj, že ob pridobivanju sredstev, ker so se za ta nakup potrebovale devize. Po dvomesečnih naporih, dopisovanjih, iskanju poznanstev smo iz centralne banke v Beogradu le dobili dovoljenje za nakup v tuji valuti. Na ustreznih ministrstvih smo dobili ustrezna dovoljenja za uvoz. Letalski prevoznik ni dovolil, da se celice dostavijo na suhem ledu, zato smo se dogovorili, da nam celice pošljejo v gojišču in stekleničkah. Kmalu smo po faksu od ATCC prejeli obvestilo, da je pošiljka oddana. Ko je paket s celicami prispel na letališče Brnik, se je zadeva zaustavila na carini. Zavrtelo se je birokratsko kolesje, urgentno smo poslali vse potrebne obrazložitve, vendar smo

mesecu prejmemo urgentno obvestilo po faksu: »Ako paketa ne dignete čemo ga prodat na licitaciji«. Do zaloge celic v laboratoriju smo v veliki meri prišli tako, da je vsakdo, ki je obiskal kak tuji laboratorij, v žepu domov »ilegalno« vnesel stekleničko celične kulture. Kot mladi raziskovalec sem bil na 6-mesečnem usposabljanju na veterinarskem inštitutu v Brnu. Delal sem pri izolaciji respiratornega sincicijskega virusa pri govedu, za kar smo uporabljali celično linijo telečjih testisov. Ob odhodu sem jih želel odnesti s seboj v Ljubljano. Kolegi v laboratoriju so bili dobro seznanjeni s tem, kako deluje kontrola takratne železne zavese. Za popotnico so mi pripravili tri stekleničke, v dveh so bile celice, v eni pa samo gojišče MEM. Naučili so me, da je za carinike in policijo na Berlinskem zidu to »rehydratačni raztok« in naj MEM vpričo njih spijem, če bo potrebno. Ko sem se z vlakom pripeljal na čehoslovaško-avstrijsko mejo, se na srečo ne eni ne drugi niso zanimali za stekleničke s celicami. In te celice še vedno hranimo globoko zamrznjene v tekočem dušiku.

Mikropesem

Leto 2021

Še eno leto je minilo,
mnogim se je že stemnilo,
saj covid žene pot naprej,
človek izpareva v njej.

Mikro mojstri se borijo,
da vakcino naredijo.
A bolj kot rešitev si želijo,
bolj jih vleče v polomijo.

Pa ne zaradi mikro znanja,
bolj zaradi ljudskega pehanja:
Kdo na vrhu bo pristal?
Kdo si denarcev bo nabral?

Nevedna raja pa vzdihuje,
ne ve, komu naj še potrjuje.
Kdo je pravi? Kdo je naš?
Kdo le bedni samopaš?

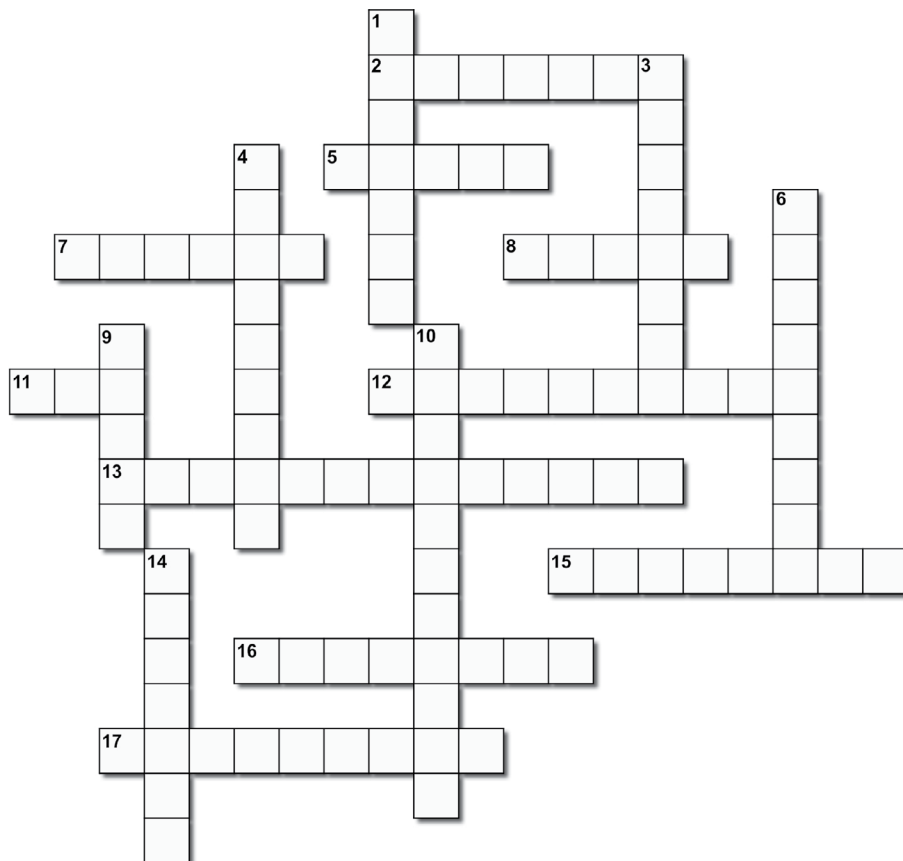
Mikrobiologi vse bolj petični,
iščejo rešitev v dolini nični.
Če bo prav – se bo zgodilo,
človeštvo bo zagat rešilo.

Če pa bo narobe šlo,
človeštvo bo odplaknilo.
A covid našel bo nov izziv,
on se z večnostjo ne bo spojil.

Spet kolo bo zavrtel,
počistil zemljo gnilih plev.
In tako v nedogled:
Kdo v vesolju pušča sled?

(Peter Raspor, 13. 12. 2021)

Mikrokrižanka



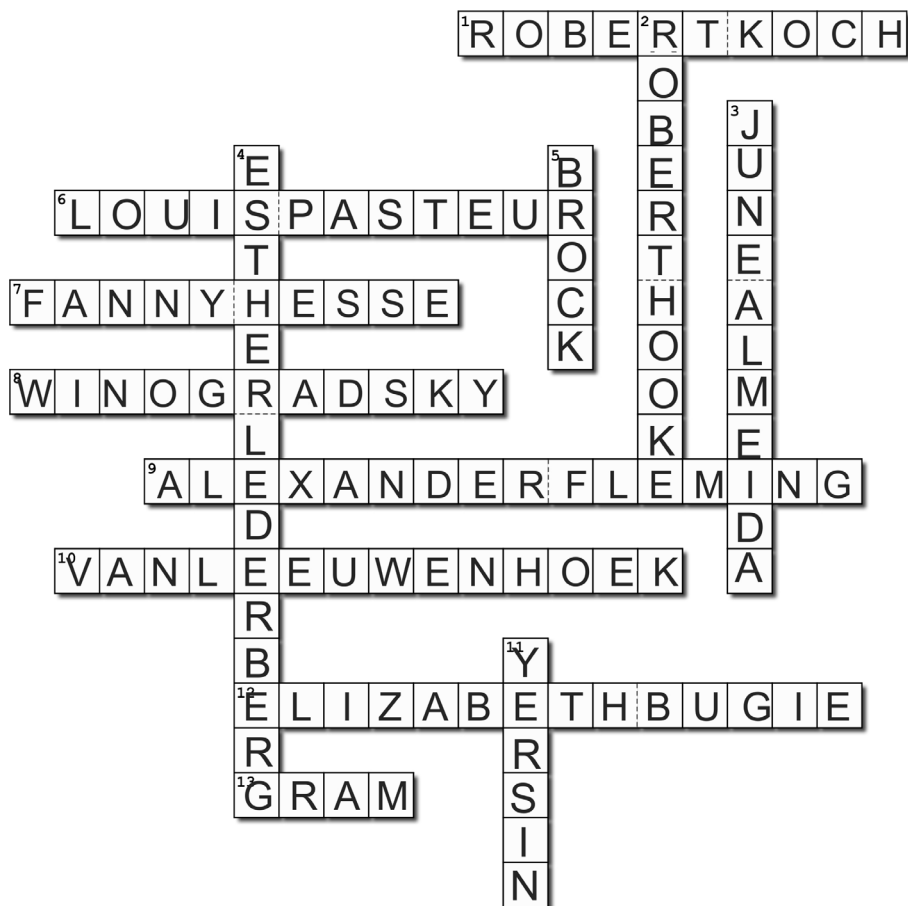
Vodoravno

2. Vranični prisad
5. Parazitska kožna nalezljiva bolezen
7. Nalezljiva epidemična črevesna bolezen, nezdravljena je smrtna v 25–50 %
8. Povzroči lahko tudi do 83% smrtnost
11. Okrajšava za verižno reakcijo s polimerazo
12. Najmanjše bakterije
13. Nalezljiva virusna bolezen, ki prizadene živčni sistem in povzroča ohromitve
15. Akutna ali kronična črevesna nalezljiva bolezen, ki jo povzroča *Entamoeba histolytica*
16. Je nalezljiva bolezen, ki jo povzročajo nekatere vrste zajedavskih praživali iz razreda trosorcev
17. Najpogostejša bakterijska povzročiteljica spolno prenosljivih okužb

Navpično

1. Herpes zoster
3. Povzroča jo virus, ki prizadene osrednje živčevje toplokrvnih živali in človeka
4. Oslovska kašelj
6. Imenovana tudi mediteranska, gibraltarska ali maltska bolezen
9. Nalezljiva virusna bolezen dihal, ki jo povzročajo RNA-virusi iz družine *Orthomyxoviridae*
10. Griža
14. *Treponema pallidum*

REŠITVE KRIŽANKE IZ DRUGE ŠTEVILKE:



Vodoravno

1. Odkritelj antraksa, tuberkuloze in kolere
6. Francoski mikrobiolog in kemik, znan po postopku, s katerim se prepreči kvar mleka
7. Predlagateljica 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 Leeuwenhoeikov 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