

## Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu **APVV –0280–12****Identifikácia biomarkerov na diagnostiku rickettsií, Coxiella burnetii a im príbuzných organizmov imunoproteomickými a molekulárne biologickými metódami.**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Zuzana Sekeyová, PhD.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. FLORES - RAMÍREZ, Gabriela - JANKOVIČOVÁ, B. - BILKOVÁ, Z. - MIERNYK, J.A. - ŠKULTÉTY, Ľudovít. Identification of Coxiella burnetii Surface-Exposed and Cell Envelope Associated Proteins Using a Combined Bioinformatics plus Proteomics Strategy. In Proteomics, 2014, vol. 16, p. 1868-1881. (3.973 - IF2013). (2014 - Current Contents). ISSN 1615-9853. 9 zah. cit.
2. BERTHOVÁ, Lenka - SLOBODNÍK, V. - SLOBODNÍK, R. - OLEKŠÁK, M. - SEKEYOVÁ, Zuzana - SVITÁLKOVÁ, Zuzana - KAZIMÍROVÁ, Mária - ŠPITÁLSKA, Eva. The natural infection of birds and ticks feeding on birds with Rickettsia spp. and Coxiella burnetii in Slovakia. In Experimental & Applied Acarology, 2016, vol. 68, no. 3, p. 299-314. (1.812 - IF2015). 10 zah. cit.

3. ŠPITÁLSKA, Eva - BOLDIŠ, Vojtech - DERDÁKOVÁ, Markéta - SELYEMOVÁ, Diana - RUSŇÁKOVÁ - TARAGEL'OVÁ, Veronika. Rickettsial infection in Ixodes ricinus ticks in urban and natural habitats of Slovakia. In Ticks and Tick-Borne Diseases, 2014, vol.5, no.2, p.161 - 165. (2.878 - IF2013). (2014 - Current Contents). ISSN 1877-959X (6 zah. cit.
4. BOHÁCSOVÁ, Monika - MEDIANNIKOV, O. - KAZIMÍROVÁ, Mária - RAOULT, D. - SEKEYOVÁ, Zuzana. Arsenophonus nasoniae and Rickettsiae Infection of Ixodes ricinus Due to Parasitic Wasp Ixodiphagus hookeri. In PLoS ONE, 2016, vol. 11, no. 2, article number: e0149950. (3.057 - IF2015) 3 zah. cit.
5. FLORES - RAMÍREZ, Gabriela - DANCHENKO, Maksym - QUEVEDO-DIAZ, Marco - ŠKULTÉTY, Ľudovít. Reliable tool for detection of novel Coxiella burnetii antigens, using immobilized human polyclonal antibodies. In Journal of chromatography. B. Analytical technologies in the biomedical and life sciences, 2017, vol. 1047, p. 84-91. (2.603 - IF2016).

## Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky prispievajú k riešeniu problémov spojených s infekciami spôsobenými rickettsiami, Coxiella burnetii a im príbuznými mikroorganizmami v humánnej i veterinárnej diagnostike a to nie len na Slovensku ale aj v celo Európskom meradle. Odhalenie možných ohnisk nákaz, ich eradikácia a následné zabránenie šíreniu infekcií formou rickettsiôz alebo Q horúčok, sú priamym dôkazom konkrétneho uplatnenia nami získaných výsledkov v praxi. V projekte nadobudnuté vedecké poznatky, t.j. odhalenie štruktúry, funkcie i následná aplikácia špecifických markerov, proteínov, lipoproteínov i lipopolysacharidov v diagnostike, nám otvárajú nové vedecké obzory. Nadobudnuté výsledky poskytnú ďalšie témy vhodné na skúmanie vysoko infekčných, patogénnych mikroorganizmov a prispievajú k urýchleniu vývoja nových diagnostík, liečebných postupov a vakcín.

## CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Našu pozornosť sme zamerali na molekulárnu diagnostiku, sérologické, štrukturálne a imunoproteomické štúdie, s cieľom odhaliť virulénne faktory a druho špecifické markery, vhodné pre detekciu Rickettsií, C. burnetii a im príbuzných mikroorganizmov.

1. V oblasti monitorovania vektormi prenášaných infekcií, so zámerom odhaliť "de novo" sa objavujúce baktérie, sme detekovali Rickettsiálne infekcie v kliešťoch Ixodes ricinus v mestských i prírodných biotopoch Slovenska; potvrdili sme možnú infekciu Rickettsia spp. a C. burnetii u vtákov a kliešťov sajúcich na vtákoch; a objavili sme, že infekcia kliešťa s Arsenophonus nasoniae (baktéria 1vý x izolovaná v našom laboratóriu) je závislá od prítomnosti parazitickej osičky Ixodiphagus hookeri.
2. Pri proteomických štúdiách molekulárnych biomarkerov a virulénnych faktorov vybraných kmeňov pomocou proteomických metód, sme z 2026 C. burnetii proteínových sekvencií, analyzovaných pomocou siedmich odlišných bioinformačných algoritmov, identifikovali 157 proteínov vonkajšej membrány (OMP), alebo lipoproteínov (LP), ktoré zjavne fungujú ako funkčné biomarkery Q horúčkovej infekcie.
3. V časti zaoberajúcej sa odhalením štruktúrnych a funkčných vlastností biomarkerov, sme navrhli nový spôsob purifikácie patogénnych rickettsií, redukujúci zdravotné riziká; aj nový, spoľahlivý spôsob detekcie Coxiella burnetii antigénov, použijúc imunoreaktívne proteíny vo väzbe s imobilizovanými protilátkami získanými z ľudských sér. Taktiež sme dokázali, že rickettsiae sú schopné infikovať cerebrokortikálne neuróny (in vitro), čo sa prejavuje významným poklesom hladiny biochemického markera, vnútro bunkového ATP.

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Our attention was focused on molecular diagnostics, serological, structural and immunoproteomic studies, with the aim to detect virulence factors and species-specific

markers suitable for detection of Rickettsiae, *C. burnetii* and a similar microorganisms.

1. In the area of monitoring of vector transmittable infections, and screening of the studied bacteria with aim to detect re-emerging bacteria, we have detected Rickettsial infection in *Ixodes ricinus* ticks in urban and natural habitats of Slovakia; proved the natural infection of birds and ticks feeding on birds with *Rickettsia* spp. and *C. burnetii*; and discovered, that *Arsenophonus nasoniae* infection (1<sup>st</sup> time isolated in our labs.) in *Ixodes ricinus* is due to a parasitic wasp *Ixodiphagus hookeri*.

2. As concerns proteomic studies, identification of molecular biomarkers and virulence factors of selected strains/isolates via proteomic methods, we have predicted out of the 2026 *C. burnetii* protein sequences, analyzed using seven distinct bioinformatic algorithms, 157 to be outer membrane proteins (OMP) and/or lipoproteins (LP), all of those possibly serving as a suitable major biomarkers of Q fever infection.

3. In the part detection of structural and functional properties of biomarkers, we have proposed a new way of purification of pathogenic rickettsiae reducing health risks; and suggested a reliable tool for detection of *C. burnetii* antigens, using immunoreactive proteins recognized by immobilized polyclonal antibodies isolated from human sera. We have also reported that rickettsiae can infect rat cerebrocortical neurons in vitro, which is reflected by significant drop of a biochemical marker, intracellular level of ATP.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

**Zodpovedný riešiteľ**

RNDr. Zuzana Sekeyová, PhD

V Bratislave 11. 10. 2017

**Štatutárny zástupca príjemcu**

prof. RNDr. Silvia Pastoreková, DrSc.

V Bratislave 18. 10. 2017

.....  
podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu