



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0066

Výskum hostiteľ'sko – parazitických, bunkovo - Rickettsiových vzťahov, monitorovaných pomocou transcriptomických a proteomických štúdií.

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Zuzana Sekeyová, PhD.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV, v. v. i.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV, v.v.i. Dúbravská cesta 9 845 05 Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

CNR des Rickettsies, Coxiella et Bartonella, VITROME – IHU Méditerranée Infection 19-21 Boulevard Jean Moulin – 13005 Marseille. France.

Jednalo sa o priateľskú spoluprácu, francúzsky kolegovia neboli priamymi účastníkmi projektu.

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

žiadne

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

PUBLIKÁCIE / ČLÁNKY

1.1 Publikácie v karentovaných časopisoch v SR v počte: 2

1.2 Publikácie v zahraničných karentovaných časopisoch v počte: 9

1.6 Vedecké práce publikované v recenzovaných vedeckých časopisoch v SK v počte: 2

1. (1.2) ŠPITALSKÁ E, - ŠEVČÍK M, - PERESHYY, - BENDA P. Bartonella in bat flies from the Egyptian fruit bat in the Middle East. Parasitol Res. 2024 Feb 27;123(2):144.

<https://doi.org/10.1007/s00436-024-08165-6>

2. (1.2) ŠEVČÍK, Martin** - ŠPITÁLSKA, Eva - KABÁT, Peter - LUČAN, Radek K. - MALITERNÁ, Michaela - REITER, Antonín - UHRIN, Marcel - BENDA, Petr. Reticulinasus salahi (Acarina: Argasidae), a tick of bats and man in the Palaearctic and Afrotropics: review of records with the first pathogens detected. In Parasitology Research, 2023, vol. 122, no. 6, p. 1271-1281. ISSN 0932-0113. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07826-2>

3. (1.3) ČENTE, Martin - DANCHENKO, Monika - ŠKULTÉTY, Ľudovít - FILIPČÍK, Peter** - SEKEYOVÁ, Zuzana. Rickettsia Deregulates Genes Coding for the Neurotoxic Cell Response Pathways in Cerebrocortical Neurons In Vitro. In Cells, 2023, vol. 12, no. 9, art. no. 1235. ISSN 2073-4409. Dostupné na internete:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10177168/pdf/cells-12-01235.pdf>

4. (1.6) ŠPITALSKÁ, Eva** - PALKOVIČOVA, Katarina - BOLDIŠOVA, Eva - KERLIK, Jana

- ŠKULTÉTY, Ľudovít. Kliešťami prenášané infekcie na Slovensku v rokoch 2021 – 2023. In Newslab : časopis laboratornej medicíny, 2023, roč. 14, suppl. 2, s. 80-81. ISSN 1338-9661. (Il. Aktuálne problémy humannej parazitológie).
5. (1.2) D ANCHENKO, Monika - BENADA, Oldřich - ŠKULTÉTY, Ľudovít - SEKEYOVA, Zuzana**. Culture Isolate of *Rickettsia felis* from a Tick. In International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, vol. 19, no. 7, art. no. 4321. (2021: 4.614 - IF, Q1 - JCR, 0.814 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2022 - Current Contents). ISSN 1660-4601. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijerph19074321>
6. (1.2) STANKO, Michal - DERDAKOVA, Marketa - ŠPITALSKA, Eva - KAZIMIROVA, Maria**. Ticks and their epidemiological role in Slovakia: from the past till present. In Biologia, 2022, vol. 77, no. 6, p. 1575-1610. (2021: 1.653 - IF, Q3 - JCR, 0.339 - SJR, Q3 - SJR, karentované - CCC). (2022 - Current Contents). ISSN 0006-3088. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00845-3>
7. (1.2) ŠPITALSKA, Eva - MINICHOVA, Lenka - HAMŠIKOVA, Zuzana - STANKO, Michal - KAZIMIROVA, Maria**. Bartonella, Rickettsia, Babesia, and Hepatozoon Species in Fleas (Siphonaptera) Infesting Small Mammals of Slovakia (Central Europe). In Pathogens, 2022, vol. 11, no. 8, art. no. 886. (2021: 4.531 - IF, Q2 - JCR, 0.901 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 2076-0817. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/pathogens11080886>
8. (1.1) OUARTI, Basma - EL HAMZAOU, Basma - STANKO, Michal - LAROCHE, Maureen - MEDIANNIKOV, O. - PAROLA, Philippe**. SEKEYOVA, Zuzana. Detection of *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis inermis* ticks in Slovakia. In Biologia, 2022, vol. 77, no. 6, p. 1611-1617. (2021: 1.653 - IF, Q3 - JCR, 0.339 - SJR, Q3 - SJR, karentované - CCC). (2022 - Current Contents). ISSN 0006-3088. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00789-8>
9. (1.1) Eva Špitalská, Eva Boldišová, Katarína Palkovičová, Zuzana Sekeyová & Ľudovít Škultéty: Case studies of rickettsiosis, anaplasmosis and Q fever in Slovak population from 2011 to 2020. Biológia (Springer Publisher). Published on line: 19 July 2021. DOI: 10.1007/s11756-021-00838-2
10. (1.2) Eva Špitalská, Eva Boldišová, Katarína Štefanidesová, Elena Kocianová, Zuzana Majerčíková, Veronika Rusnáková Taragelová, Diana Selyemová, Michal Chvostáč, Markéta Derdaková, Ľudovít Škultéty: Pathogenic microorganisms in ticks removed from Slovakian residents over the years 2008–2018. Ticks Tick Borne Dis. 2021 Mar;12(2):101626. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101626
11. (1.2) GAYE, Mapenda - AMANZOUAGHENE, Nadia - LAIDOU, Younes - NIANG, El Hadji Amandou - SEKEYOVA, Zuzana - LAROCHE, Maureen - BERENGER, Jean-Michel - RAOULT, D. - KAZIMIROVA, Maria - FENOLLAR, Florence - MEDIANNIKOV, O. Hymenopteran parasitoids of hard ticks in western Africa and the Russian far east. In Microorganisms, 2020, vol. 8, no. 12, art. no. 1992. (2019: 4.152 - IF, Q2 - JCR). (2020 - WOS, SCOPUS). ISSN 2076-2607. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121992>
12. (1.2) Csicsay F, Flores-Ramirez G, Zuñiga-Navarrete F, Bartošová M, Fučíková A, Pajer P, Dresler J, Škultéty Ľ, Quevedo-Diaz M.: Proteomic analysis of *Rickettsia akari* proposes a 44 kDa-OMP as a potential biomarker for *Rickettsialpox* diagnosis. BMC Microbiol. 2020 Jul 8;20(1):200. doi: 10.1186/s12866-020-01877-6.
13. (1.6) Eva Boldišová, Eva Špitalská, Katarína Palkovičová, Vojtech Boldiš, Ľudovít Škultéty: Diagnostika rickettsiových infekcií ELISA testom 77 vyvinutým na BMC SAV: Porovnanie s komerčnými testami na vzorke pacientov zo Slovenska. Newslab, 2020; roč. 11 (2): 77 – 78. Registrácia MK SR pod číslom EV 5164/15, ISSN 2454-0021 (online).
- 1.8 Vedecké práce v nerecenzovaných zborníkoch v SR: 13
- 1) LOWENBERGOVÁ, Lucia - BOLDIŠOVÁ, Eva - ŠPITALSKA, Eva. Uhlíkové kvantové bodky pripravené z kyseliny citrónovej a ich potenciálne využitie v praxi. In ChemZi : Zborník abstraktov: 73. Zjazd chemikov, 6 - 10 september 2021, Vysoké Tatry, Horný Smokovec, Slovensko. - Bratislava : Slovenská chemická spoločnosť, 2021, roč. 17, č. 1, s. 255. ISSN 1336-7242.
- 2) CSICSAY, František - ŠKULTÉTY, Ľudovít - QUEVEDO-DIAZ, Marco. Novel Biomarkers for *Rickettsial* Diagnosis. In "VI. Labudové dni" : Abstract book. - Bratislava : Institute of Virology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, 2022, p. 57. ISBN 978-80-972111-5-8.

- 3) ŠPITÁLSKA, Eva - KAKAŠOVÁ, A. - KOVÁČOVÁ, Mária - ŠPITÁLSKY, Zdenko - BOLDIŠOVÁ, Eva. Antimicrobial Activity of Carbon Quantum Dots/Polydimethylsiloxane Nanocomposites for Photodynamic Therapy Applications of Rickettsia Slovaca Infection. In "VI. Labudove dni". Abstract book. - Bratislava : Institute of Virology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, 2022, p. 46. ISBN 978-80-972111-5-8.
- 4) PERESH, Yevheniy-Yuliy - KOVÁČOVÁ, Maria - ŠPITALSKÝ, Zdenko - ŠKULTETY, Ľudovít - ŠPITALSKÁ, Eva. FOTODYNAMICKÁ INAKTIVÁCIA INFEKČIE RICKETTSIA CONORI POUŽITIM UHLIKOVYCHKVANTOVÝCH BODIEK AKO FOTOSENZIBILIZATOR. In Chémia a technológie pre život. 25.celoslovenská študentská vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou. Editori: doc. Ing. Milena Reháková, PhD., doc. Ing. Juraj Oravec, PhD. - Bratislava : Slovenska chemická knižnica, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenska technická univerzita v Bratislave, 2023, s. 122-123. ISBN 978-80-8208-106-3. (25. celoslovenská študentská vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou : Chémia a technológie pre život.
- 5) CSICSAY, František - PALKOVIČOVÁ, Katarina - ZUNIGA-NAVARRETE, Fernando - ŠKULTETY, Ľudovít - QUEVEDO-DIAZ, Marco. Glycolipidomics of lipopolysaccharides from obligate intracellular bacteria : OL16. In 3rd workshop on biomarkers of infectious, oncological, and neurodegenerative diseases. - Bratislava : Institute of Virology, Biomedical Research Centre Slovak Academy of Sciences, 2023, s. 26. ISBN 978-80-972111-6-5.
- 6) CSICSAY, František - ŠPITALSKÁ, Eva - PALKOVIČOVÁ, Katarina - FLORES - RAMIREZ, Gabriela - ŠKULTETY, Ľudovít - QUEVEDO-DIAZ, Marco. Coxiella burnetii and Rickettsia spp. as potential biological warfare agents in the Slovak countryside. In 29. Moravsko-slovenske mikrobiologicke dni. - Stara Lesna : Slovenska spoločnosť klinickej mikrobiologie SLS, Sekcia klinickej mikrobiologie SLK, 2023. ISBN 978-80-69053-01-4.
- 7) JANIK, Mario - ŠKULTETY, Ľudovít - CSICSAY, František - PALKOVIČOVÁ, Katarina - QUEVEDO-DIAZ, Marco - PERESH, Yevheniy-Yuliy - ŠPITALSKÁ, Eva. Infikovanosť kliešťov odobratých z ľudí na území Slovenska. In 29. Moravsko-slovenske mikrobiologicke dni. - Stara Lesna : Slovenska spoločnosť klinickej mikrobiologie SLS, Sekcia klinickej mikrobiologie SLK, 2023. ISBN 978-80-69053-01-4. (29. Moravsko-slovenske mikrobiologicke dni.
- 8) PERESH, Yevheniy-Yuliy - ŠPITALSKÁ, Eva - ZUNIGA-NAVARRETE, Fernando - PALKOVIČOVÁ, Katarina - KOVÁČOVÁ, Maria - ŠPITALSKÝ, Zdenko - ŠKULTETY, Ľudovít. Photodynamic inactivation of rickettsial infections : OL7. In 3rd workshop on biomarkers of infectious, oncological, and neurodegenerative diseases. - Bratislava : Institute of Virology, Biomedical Research Centre Slovak Academy of Sciences, 2023, s. 16. ISBN 978-80-972111-6-5. (3rd workshop on biomarkers of infectious, oncological, and neurodegenerative diseases.
- 9) QUEVEDO-DIAZ, Marco - CSICSAY, František - ŠKULTETY, Ľudovít. Differential diagnosis of Rickettsioses : OL17. In 3rd workshop on biomarkers of infectious, oncological, and neurodegenerative diseases. - Bratislava : Institute of Virology, Biomedical Research Centre Slovak Academy of Sciences, 2023, s. 27. ISBN 978-80-972111-6-5. (3rd workshop on biomarkers of infectious, oncological, and neurodegenerative diseases.
- 10) ŠPITALSKÁ, Eva - PERESH, Yevheniy-Yuliy - KAKAŠOVÁ, A. - LOWENBERGOVA, Lucia - KOVÁČOVÁ, Maria - ŠPITALSKÝ, Zdenko - ŠKULTETY, Ľudovít. Effect of photodynamic inactivation of rickettsial infection using different photosensitizers : OL6. In 3rd workshop on biomarkers of infectious, oncological, and neurodegenerative diseases. - Bratislava : Institute of Virology, Biomedical Research Centre Slovak Academy of Sciences, 2023, s. 15. ISBN 978-80-972111-6-5.
- 11) Špitalská E., Ševčík M., Ye.- Yu. Peresh Ye.- Yu., Benda P.: Bartonella in bat flies from the Egyptian fruit bat in the Middle East, In: Abstract Book, PARADNI 24, Parasites of 21. century, XV. Slovak and Czech Parasitological Days, 13.-17. May, 2024, Tesáre – Nové Mlyny, Slovakia. P08, page 55.
- 12) Peresh Ye.-Yu., Špitalská E., Kováčová M., Špitalský Z., Ľ. Škultéty Ľ.: Non-antibiotic elimination of rickettsial infections, In: Abstract Book, PARADNI 24, Parasites of 21. century, XV. Slovak and Czech Parasitological Days, 13.-17. May, 2024, Tesáre – Nové Mlyny, Slovakia. P28, page 75.
- 13) Minichová L., Špitalská E., Palkovičová K., Chal'ová P., Fournier P. E., Csicsay F., Škultéty Ľ., Sekeyová Z.: Analysis of patient sera for the presence of specific antibodies against tick-borne

Antigens. In: Abstract Book, PARADNI 24, Parasites of 21. century, XV. Slovak and Czech Parasitological Days, 13.-17. May, 2024, Tesáre – Nové Mlyny, Slovakia. P31, str. 78.

1.9 Vedecké práce v nerecenzovaných zborníkoch v zahraničí: 7

1) FLORES - RAMÍREZ, Gabriela** - PALKOVIČOVÁ, Katarína - DANCHENKO, Maksym - MITULOVIC, G. - ZUNIGA-NAVARRETE, Fernando - ŠKULTÉTY, Ľudovít.: Infection with *Coxiella burnetii* triggers host defence responses in human macrophages in a time-dependent manner. In XXVI. Annual Congress of Czech and Slovak Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Austrian and German Biochemical Section : "Life is Biochemistry, Biochemistry is Life". České Budějovice, Czech Republic, August 29th - September 1st, 2021. - Praha : Venice, 2021, s. 111. ISBN 978-80-907779-1-0.

2) ZUNIGA-NAVARRETE, Fernando - DANCHENKO, Maksym - MITULOVIC, G. - KABÍCKOVA, Hana - ŠKULTÉTY, Ľudovít - FLORES - RAMÍREZ, Gabriela**. Discovery proteomics proposes a tolerance mechanism maintaining the survival of *Coxiella burnetii* under doxycycline exposure. In XXVI. Annual Congress of Czech and Slovak Societies for Biochemistry and Molecular Biology with cooperation of Austrian and German Biochemical Section : "Life is Biochemistry, Biochemistry is Life". České Budějovice, Czech Republic, August 29th - September 1st, 2021. - Praha : Venice, 2021, s. 47. ISBN 978-80-907779-1-0.

3) SEKEYOVÁ, Zuzana - ČENTE, Martin - DANCHENKO, Monika - ŠKULTÉTY, Ľudovít - FILIPČÍK, Peter. *Rickettsia* cause deregulation of genes coding for the neurotoxic cell response pathways in cerebrocortical neurons cultured in vitro : Abstract Book. P-49, International intracellular bacteria meeting 2022, Lausanne, Swiss.

4) SEKEYOVÁ, Zuzana - QUARTI, Basma - HAMZAOU EL, Basma - LAROCHE, Maureen - ČIAMPOR, Fedor, ml. - ČIAMPOROVÁ-ZAŤOVIČOVÁ, Zuzana - PAROLA, Philippe. Search for Parasitization of Trichoptera, *Sericostoma* spp., by *Rickettsia* and alike organisms : Abstract Book. P-27 (International intracellular bacteria meeting 2022).

5) CSICSAY, František - PALKOVIČOVÁ, Katarína - ZUNIGA-NAVARRETE, Fernando - ŠKULTÉTY, Ľudovít - QUEVEDO DIAZ, Marco. Chemical comparison of lipopolysaccharides of intracellular bacteria.: Abstract Book, P-28, International intracellular bacteria meeting 2022, Lausanne, Swiss

6) ČENTE, Martin - DANCHENKO, Monika - ŠKULTÉTY, Ľudovít - FILIPČÍK, Peter - SEKEYOVA, Zuzana. Molecular signalling associated with neuroinvasive *Rickettsia* species : P60. In International Symposium on Tick- Borne Pathogens and Disease ITPD 2023 : Book of abstracts, s. 101. (International Symposium on Tick- Borne Pathogens and Disease / ITPD 2023).

7) MINICHOVA, Lenka - SEKEYOVA, Zuzana - PALKOVIČOVA, Katarina - CHAL'OVA, Petra - CSICSAY, František - ŠPITALSKA, Eva. Isolation of *Rickettsia slovaca* from *Dermacentor marginatus* tick collected in Slovakia : P66. In International Symposium on Tick- Borne Pathogens and Disease ITPD 2023 : Book of abstracts, s. 107. (International Symposium on Tick- Borne Pathogens and Disease / ITPD 2023).

Uplatnenie výsledkov projektu

Poskytnutie špecifickej sekvenčnej informácie, identifikácia génovej expresie závislej od rickettsiálnej infekcie, určenie imunodominantných proteínov a ich antigénny potenciál, nám poskytli cenné údaje, využiteľné v diagnostickej praxi. Možné zlepšenie diagnostických prípravkov, navrhnutých na báze druhovo špecifických biomarkerov, odhalených pri riešení projektových úloh, prispeje k rýchlemu a špecifickému odhaleniu rickettsiôz. Získané výsledky, budú mať priamy ekonomický prospech, keďže na báze našich výsledkov by sme v budúcnosti mali byť schopný dodať návrh diagnostických prípravkov, kitov, z našich, domácich zdrojov.

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

V tomto projekte, sme integráciou genomických, transkriptomických a proteomických informácií, poskytli globálny pohľad na molekulárnu architektúru patogenézy a podstatu hostiteľsko-parazitických interakcií. Hostiteľmi boli endoteliálne, cerebrokortikálne a VERO bunky a parazitmi *Rickettsia* spp. Odhalili sme regulačné mechanizmy, ktoré prebiehajú počas bakteriálnej infekcie a sú základom nielen fungovania jednotlivých buniek ale aj procesov

typu syntézy bielkovín, ich spracovania, skladania alebo degradácie, u oboch aktérov prebiehajúcej infekcie, infikovaných aj infekčných buniek. Potvrdili sme transkripčné zmeny v napadnutých bunkách, ktoré nastali v dôsledku Rickettsiálnej infekcie. Najmä u tých génov, ktoré sú zodpovedné za signalizáciu receptora, transkripčný faktor, zápal, pro-apoptotické, anti-apoptotické regulácie, reguláciu potenciálu mitochondriálnej membrány, metabolizmus glukózy atď. Verifikovali sme ich pomocou kvantitatívnej PCR v reálnom čase a pomocou reverznej transkriptázovej kvantitatívnej PCR, využívajúc šablóny amplifikácie cDNA a totálnej RNA, t. j. používajúc nástroje s veľkým potenciálom pre štúdium mechanizmov, ktoré prebiehajú na pozadí virulencie. Sledovali sme funkcie proteínov s ohľadom na dráhu proteínovej exprese pri infekcii, pri ktorej je možné regulovať tok informácií z genómu do proteómu. Využili sme špičkové proteomické technológie, ktorými sme boli schopný merať niekoľko tisíc proteínov v priebehu niekoľkých hodín, čo nám umožnilo významný nárast analytických údajov a pokrytie komplexných proteómových analýz. Uvedenými postupmi sme získali poznatky o kľúčových ukazovateľoch Rickettsiálnej patológie, cenné informácie o perzistencii, šírení chorôb a o zmenách v infikovaných bunkách. Sinergickým riešením vedeckých úloh, sme splnili súčasné náročné trendy moderného diagnostického prístupu, potrebného na výskum bakteriálnych patogénov.

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

In this project, by the integration of the genomic, transcriptomic and proteomic information, we have provided a global insight into the molecular architecture of pathogenesis, and the molecular nature of host-parasite interactions. The hosts were endothelial, cerebrocortical and VERO cells and parasites Rickettsiae. We revealed the regulatory mechanisms, which underlie not only the functioning of individual cells, but also the processes of differentiation and development, protein synthesis, processing, folding or degradation, that take place in both "the actors" of the ongoing infection, both infected and infectious cells. We confirmed transcriptional changes in infected cells that occurred as a result of rickettsial infection. Especially in those genes that are responsible for receptor signaling, transcription factor, inflammation, pro-apoptotic, anti-apoptotic, regulation of mitochondrial membrane potential, glucose metabolism etc. We verified them with real-time quantitative PCR and by quantitative reverse transcription PCR starting from amplified cDNA and total RNA as templates, an approach that has great potential for the study of mechanisms behind the virulence and intracellular survival of members of the genus Rickettsia. We monitored the functions of the proteins with respect to the course of protein expression, at which can be regulated the flow of information from the genome to the proteome. We have used the state-of-the-art proteomic technologies, which has permitted us the coverage of complex proteome analyses. We have obtained further insights into key determinants of Rickettsial pathology, valuable information on disease persistence and dissemination. We met the current demanding trends of modern research, necessary for the diagnosis of bacterial pathogens.