

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: MVDr. Markéta Derdáková, PhD.	Evidenčné číslo projektu: APVV-51-009205
Názov projektu: Molekulárna diagnostika pôvodcov kliešťami prenosných ochorení a vývoj DNA-čipu.	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Ústav zoológie SAV
	Virologický ústav SAV
	Parazitologický ústav SAV
	Ústav molekulárnej biológie SAV
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	Neboli udelené patenty.
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	<p><u>MAJLÁTHOVÁ V.</u> - <u>MAJLÁTH I.</u> - <u>DERDÁKOVÁ M.</u> - <u>VÍCHOVÁ B.</u> - <u>PEŤKO B.</u> <i>Borrelia lusitaniae</i> and Green Lizards (<i>Lacerta viridis</i>), Karst Region, Slovakia. In <i>Emerging Infectious Diseases</i>. Vol. 12, no. 12. 1895-1901. (2006)</p> <p><u>BARÁK I.</u> - <u>BARBARO M.</u> - <u>BLAŠKOVIČ D.</u> - <u>BONFIGLIO A.</u> - <u>ALESSANDRINI A.</u> - <u>MULLEROVÁ D.</u> - <u>FACCI P.</u> - <u>RAFFO L.</u> (2006) DNA Biochips for Microbial Pathogen Detection Based on Fluorescence or CMOS Process. In <i>Nanopages</i>. KOCIANOVÁ, E. - <u>BLAŠKOVIČ, D.</u> - <u>SMETANOVÁ, K.</u> - <u>SCHWARZOVÁ, K.</u> - <u>BOLDIŠ, V.</u> - <u>KOŠTANOVÁ, Z.</u> - <u>MÜLLEROVÁ, D.</u> - <u>BARÁK, I.</u> (2008) Comparison of an oligo-chip based assay with PCR method to measure the <u>TARAGEL'OVÁ, V.</u>, <u>KOČÍ, J.</u>, <u>HANINCOVÁ, K.</u>, <u>KURTENBACH, K.</u>, <u>DERDÁKOVÁ, M.</u>, <u>OGDEN, N.H.</u>, <u>LITERÁK, I.</u>, <u>KOCIÁNOVÁ, E.</u>, <u>LABUDA, M.</u>: Blackbirds and song trushes constitute a key reservoir of <i>Borrelia garinii</i>, the <u>ŠPITALSKÁ E.</u>, <u>ŠTEFANIDESOVÁ K.</u>, <u>KOCIANOVÁ E.</u>, <u>BOLDIŠ V.</u> Specific detection of <i>Rickettsia slovaca</i> by restriction fragment length polymorphism of <i>sca4</i> gene. In <i>Acta Virol.</i> 52. 189 – 191. 2008</p>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	DNA-čip môže mať uplatnenie pri vyšetřovaní veľkého počtu vzoriek v epidemiologických štúdiách, ale aj na diagnostiku v klinických laboratóriách.

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Kolektív riešiteľov projektu získal poznatky o výskyte, rozšírení, genetickej variabilite kliešťami prenášaných patogénov (*Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia Rickettsia*, *Coxiella*) a ich cirkulácii v prírodných ohniskách na Slovensku. Fylogenetická analýza získaných sekvencií odhalila vysokú genetickú variabilitu *B. burgdorferi* s.l. na území Slovenska a navyše v prípade *B. afzelii*, *B. valaisiana* a *B. garinii* prítomnosť súbežne sa vyskytujúcich východoeurópskych a západoeurópskych genotypov. Bola potvrdená asociácia medzi jednotlivými druhmi borélií a ich rezervoárovými hosťami, a to hlavne medzi *B. afzelii* a hlodavcami, *B. garinii*, *B. valaisiana* a vtákmi a *B. lusitaniae* a jaštericami. V kliešťoch a rezervoárových hosťoch bola pozorovaná výrazná heterogenita čeľade Anaplasmataceae v zastúpení *Anaplasma phagocytophilum*, *Neoehrlichia mikurensis* a *Anaplasma ovis*. *A. phagocytophilum* vykazovala výraznú heterogenitu asociovanú s rezervoárovými hosťami a rozdielnou patogenitou pre ľudí. V kliešťoch z vegetácie a cicajúcich na vtákoch bola potvrdená prítomnosť *Rickettsia* sp. konkrétne *Rickettsia slovacae* a *R. helvetica*. Boli zavedené a optimalizované metódy detekcie a diferenciacie patogénov v biologických vzorkách. Na základe analýzy získaných sekvencií jednotlivých bakteriálnych druhov a ich kmeňov boli navrhnuté oligonukleotidové sondy na prípravu DNA-čipu. Bol vyvinutý DNA-čip, ktorý umožňuje vyšetrenie veľkého počtu biologických vzoriek (kliešťov, krvi, biopsií) na prítomnosť kliešťami prenášaných baktérií vyskytujúcich sa na Slovensku, a to jednotlivých druhov borélií, anaplaziem, ehrlichii, rickettsií, coxielly a *Franciscella tularensis* v jednom kroku. Výsledky vyšetrenia vzoriek DNA – čipmi vo veľkej miere korelovali s výsledkami získanými PCR závislými metódami RFLP, RLB, SSCP aj keď DNA čip bol citlivejší a bolo ním možné zachytiť viac zmiešaných infekcií viacerých druhov patogénov.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

New information on the incidence, spread, genetic variability and circulation of tick-borne pathogens (*Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia Rickettsia*, *Coxiella*) in the natural foci of Slovakia have been obtained by the members of the research team. Phylogenetic analysis of the sequences obtained in the study revealed high genetic variability of the *B. burgdorferi* s.l. in Slovakia, more so *B. afzelii*, *B. valaisiana* and *B. garinii* was represented by parallel Eastern European and Western European genotypes. We have confirmed association between different borrelial species and their reservoir hosts, especially in between *B. afzelii* and rodents, *B. garinii*, *B. valaisiana* and birds and *B. lusitaniae* and lizards. High heterogeneity of the members of family Anaplasmataceae was observed in collected ticks and rodents. We have detected the presence of *Anaplasma phagocytophilum*, *Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma ovis*. We have observed high heterogeneity of *A. phagocytophilum* associated with the different reservoir hosts and different pathogenicity. Presence of *Rickettsia* spp., particularly *Rickettsia slovacae* and *Rickettsia helvetica* were confirmed in questing ticks as well as ticks feeding on birds. We have established and optimized molecular methods for the detection and discrimination of pathogens in biological samples. Based on the analysis of the obtained sequences, oligonucleotide probes for the development of DNA-chip were designed. The DNA-chip for the detection of all relevant tick-transmitted bacterial species in one step (*Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Coxiella*, *Rickettsia* and *Franciscella*) have been developed and tested. Results of the tested samples obtained by the DNA-chip and PCR-based typing methods such as RLB, RFLP and SSCP largely correlated, nevertheless DNA-chip was more sensitive and it was able to detect more combined infection with two or more pathogens than by other methods

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:

Dátum:

Podpis štatutárneho zástupcu:

Pečiatka: