

ASSERTED BY
ACTING RECTOR
OF HIGHER EDUCATIONAL INSTITUTION
«PODILLIA STATE UNIVERSITY»

Alla IVANOVSKA

“25” березня 2025



Report on the completion of the internship

VIKTORIYA LEVYTSKA

Professor of the Department of Infectious and Invasive Diseases,
Doctor of Veterinary Sciences

at Institute of Parasitology, Biology Centre CAS, Czech Republic

Topic: "Exploring Babesia parasite growth: nutrient acquisition and disease dynamics"

Training period: from October 1, 2024 till July 31, 2025

Amount (duration) of the Foreign Internship 180 hours / 6 credits ECTS.

Internship objective: to deepen knowledge of the biology and metabolic features of *Babesia*, to acquire practical experience in working with cell cultures and molecular biology methods, and to become familiar with modern innovative approaches to the organization of scientific research.

The objectives and training plan for the specified period were fully achieved.

Outcomes and achievements:

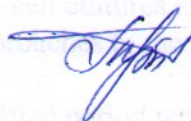
1. Mastery of laboratory protocols. Acquired biosafety skills and methodologies for working with cell cultures, and developed protocols for maintaining stable *Babesia divergens* cultures in vitro.
2. Parasite growth analysis methods. Established quantitative approaches to proliferation assessment (flow cytometry), applied immunofluorescence and PCR methods to confirm parasite viability and activity, and employed biochemical and proteomic approaches to investigate their metabolic profile.
3. Metabolism studies. Demonstrated that iron, primarily in a transferrin-bound form, represents the key factor for parasite growth. Identified energy-dependent iron transport mechanisms, ferric reductase activity, and the incorporation of iron into protein complexes, highlighting this metabolic pathway as a critical vulnerability.
4. Functional studies. Performed inhibitor-based experiments and comparative analyses of different culture media, enabling the characterization of parasite dependence on specific nutrients and the elucidation of their adaptive mechanisms.
5. Modeling of the invasion process. Reproduced the development of *Babesia* infection under laboratory conditions, defined the phase dynamics of the invasion process, and

- correlations between parasite metabolic activity, disease severity, and host immune response.
6. Innovative technologies. Implemented modern functional genomic tools, including novel transfection protocols, inducible gene editing, and reporter line generation. Applied ultrastructure expansion microscopy, providing unprecedented visualization of parasite cytoskeletal structures.
 7. Data analysis and interpretation. Conducted a comprehensive synthesis of experimental findings, formulated new concepts regarding the metabolic vulnerabilities of *B. divergens*, and identified candidate proteins with promising potential for antiparasitic therapy or vaccine development.
 8. Professional development. Gained practical expertise in advanced microscopy, bioinformatics, and image analysis methods. Strengthened teaching and mentoring skills through the supervision of PhD and undergraduate students.
 9. International collaboration. Research findings were presented at international scientific meetings, including the *Chemistry and Biology of Tetrapyrroles Conference*, the *Tick and Tick-Borne Pathogen Conference*, and workshops on One Health and parasitology, thereby promoting integration into global research networks.
 10. Reporting and future perspectives. Prepared a final analytical report and developed proposals for further investigations, particularly concerning the pharmacological targeting of key metabolic pathways. The obtained results are being prepared for publication in a peer-reviewed international journal.

Agreed:

This report was reviewed and approved at the meeting of the Department of Infectious and Invasive Diseases (protocol № 7, from August 25, 2025) of the Higher Educational Institution «Podillia State University».

Deputy Head of the Department,
Associate Professor



Tetiana KARCHEVSKA

This report was reviewed and approved at the meeting of the Council of the Faculty of Veterinary Medicine and Technology in Animal Husbandry (protocol № 7, September 18, 2025) of the Higher Educational Institution «Podillia State University».

Dean of the Faculty of Veterinary Medicine
medicine and technology in animal husbandry,
Associate Professor



Victor GORYUK

Trainee



Viktoriya LEVYTSKA

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. ректора
Закладу вищої освіти

«Подільський державний університет»

Алла ІВАНОВСЬКА

«25» вересня 2025 року
М.П.



Звіт

про проходження наукового стажування у Біологічному Центрі Чеської академії наук,

Інституті паразитології (Чехія)

ЛЕВИЦЬКОЇ Вікторії

професора кафедри інфекційних та інвазійних хвороб,

доктора ветеринарних наук

Тема: «Дослідження росту паразитів роду *Babesia*: механізми поглинання поживних речовин та динаміка захворювання»

Термін стажування: з «1» жовтня 2024 року по «31» липня 2025 року.

Мета стажування: поглиблення знань про біологію та метаболічні особливості *Babesia*, набуття практичного досвіду роботи з клітинними культурами й молекулярно-біологічними методами, а також ознайомлення з сучасними інноваційними підходами до організації наукових досліджень.

Мету та план проходження стажування за вказаний період виконано у повному обсязі.

Досягнуті результати:

1. Опанування лабораторних протоколів. Засвоєно правила біобезпеки та методологію роботи з клітинними культурами, відпрацьовано протоколи культивування стабільних культур *Babesia divergens in vitro*.
2. Методи аналізу росту паразитів. Освоєно кількісні підходи до оцінки проліферації (проточна цитометрія), застосовано імунофлуоресцентні та ПЛР-методи для підтвердження життєздатності й активності паразитів, а також біохімічні та протеомні підходи для дослідження їхнього метаболічного профілю.
3. Дослідження метаболізму. Встановлено, що ключовим фактором росту є залізо, насамперед у формі, доступній із трансферину. Ідентифіковано енергозалежні механізми транспорту заліза, активність ферик-редуктази та інтеграцію заліза в білкові комплекси, що окреслює критичну вразливість цього метаболічного шляху.
4. Функціональні дослідження. Проведено інгібіторні експерименти та порівняльний аналіз різних культуральних середовищ, що дозволило охарактеризувати залежність паразитів від специфічних поживних субстратів та розкрити їх адаптаційні механізми.
5. Моделювання інвазійного процесу. У лабораторних умовах відтворено розвиток інвазії *Babesia*, визначено фазову динаміку інвазійного процесу та виявлено

кореляцію між метаболічною активністю паразитів, тяжкістю перебігу захворювання та імунною відповіддю макроорганізму.

6. Інноваційні технології. Освоєно сучасні інструменти функціональної геноміки, включаючи нові протоколи трансфекції, індуковане редагування генів та створення репортерних ліній. Використання ультраструктурної розширювальної мікроскопії забезпечило детальну візуалізацію цитоскелетних структур паразита.
7. Аналіз та інтерпретація результатів. Виконано комплексне узагальнення експериментальних даних, сформульовано нові концепції щодо метаболічних вразливостей *B. divergens* та ідентифіковано кандидатні білки з перспективним потенціалом для розробки протипаразитарних терапій або вакцинних стратегій.
8. Професійний розвиток. Набуто практичного досвіду у застосуванні передових методик мікроскопії, біоінформатичного аналізу та обробки зображень. Розвинено педагогічні та наставницькі навички через супровід аспірантів і студентів.
9. Міжнародна співпраця. Результати досліджень були презентовані на міжнародних наукових форумах, зокрема *Chemistry and Biology of Tetrapyrroles Conference*, *Tick and Tick-Borne Pathogen Conference*, а також на семінарах з One Health та паразитології, що сприяло інтеграції у міжнародні дослідницькі мережі.
10. Звітність та перспективи. Підготовлено підсумковий аналітичний звіт, сформовано пропозиції для подальших досліджень, зокрема щодо фармакологічного блокування ключових метаболічних шляхів. Отримані результати готуються до публікації у міжнародному рецензованому журналі.

Погоджено:

Звіт розглянуто і затверджено на засіданні кафедри інфекційних та інвазійних хвороб (протокол № 7 від «25» серпня 2025 року) Закладу вищої освіти «Подільський державний університет».

Заступник завідувача кафедри,
доцент

Тетяна КАРЧЕВСЬКА

Звіт розглянуто і затверджено на засіданні вченої ради факультету ветеринарної медицини і технологій у тваринництві (протокол № 7 від 18 вересня 2025 року) Закладу вищої освіти «Подільський державний університет».

Декан факультету ветеринарної
медицини і технологій у тваринництві,
доцент

Віктор ГОРЮК

Стажист

Вікторія ЛЕВИЦЬКА



BIOLOGY CENTRE ASCR
Institute of Parasitology

address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic
IBAN – CZ22 0710 0000 0000 0552 7231 | SWIFT CODE – CNBACZPP | VAT No.: CZ60077344
phone: +420 387 775 403 | fax: +420 385 310 388 | www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

CERTIFICATE

This is to certify that

VIKTORIYA LEVYTSKA, DVM, Ph.D., Dr.Sc.

Has successfully completed an Internship at the Biology Centre, Czech Academy of Sciences (CAS), Institute of Parasitology, Laboratory of Molecular Biology of Ticks, from October 1, 2024, to July 31, 2025, encompassing a total of 180 hours. The focus of the internship was on the topic: Exploring *Babesia* parasite growth: nutrient acquisition and disease dynamics.

During this internship, Dr. Viktoriya Levytska acquired in-depth knowledge of the biology of *Babesia* parasites, with a focus on their adaptation mechanisms and nutrient acquisition during infection. She investigated parasite growth dynamics under various experimental conditions, emphasizing the role of metabolic pathways, and gained valuable practical experience in cell culture techniques and molecular biology methods for analyzing parasitic processes. In addition, she strengthened her professional competencies by expanding both theoretical and practical expertise, while becoming familiar with innovative methodologies and modern technologies for conducting and organizing scientific research.

1.08.2025

Jan Perner, Ph.D.
Head of Laboratory of Molecular
Biology of Ticks
Institute of Parasitology
Biology Centre, CAS