ჯილეხის გამომწვევის სადიაგნოსტიკო რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ტესტის შემუშავება და ვალიდაცია

გვანცა ბრაჭველი

სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე, მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების შესაბამისად

ხელმძღვანელი: ეკატერინე თევდორაძე, ასოცირებული პროფესორი

თანახელმძღვანელი: თამარ ჯაშიაშვილი, მკვლევარი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2019

განაცხადი

როგორც წარდგენილი ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

გვანცა ბრაჭველი

10.06.2019

აბსტრაქტი

ჯილეხი წარმოადგენს მსოფლიოში ფართოდ გავრცელებულ ზოონოზურ, მწვავე ინფექციურ დაავადებას. მისი გამომწვევი, *Bacillus anthracis,* მაღალი ვირულენტობისა და სიცოცხლისუნარიანობის, ასევე სიკვდილის შესაძლო გამოწვევის გამო, მიეკუთვნება ბიოლოგიური საფრთხის პირველი რისკ-ჯგუფის პათოგენებს. გამომდინარე იქიდან, რომ ჯილეხი საქართველოსთვის ენდემურია, არსებითია, მისი სწრაფი, ეფექტური, მაღალ-სენსიტიური და ხარჯთ-ეფექტური ტესტის გამოყენება კლინიკური დიაგნოსტიკისთვის.

დღესდღეისობით, ქვეყანაში დანერგილია კომერციული ტესტი, რომელიც ასრულებს ყველა მოთხოვნას, გარდა ხარჯთ-ეფექტურობისა. სწორედ ამის გამო, კვლევის მიზანს წარმოადგენდა, შემუშავებულიყო კომერციული ტესტის ალტერნატიული, In house qPCR პროტოკოლი, რომელიც ყველა ზემოთ აღნიშნულ მოთხოვნას დააკმაყოფილებდა.

კვლევა მოიცავს ჯილეხის ქრომოსომისა და პლაზმიდების (pOX1, pOX2) რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციების სერიას, შესაბამისი პროტოკოლის ვალიდაციისა და საბოლოო შემუშავებისთვის. შედეგების სტატისტიკური ანალიზი შესრულებულია სტატისტიკური პროგრამის - StatsDirect 3-ის მეშვეობით.

შედეგად, შემუშავდა ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ალგორითმი, რაც მოიცავს სამ - რეაქციას: ქრომოსომული უბნის (dhp61) სადეტექციო პროტოკოლი 95.77%-იანი სენსიტიურობით და პლაზმიდური გენების სადეტექციო პროტოკოლები, pagA უბნისთვის 91.35%-იანი, ხოლო capC უბნისთვის 88.6%-იანი სენსიტიურობით. აღნიშნული სადიაგნოსტიკო ალგორითმის მეშვეობით შესაძლებელი იქნება საქართველოში ჯილეხის კლინიკური შემთხვევების მაღალი სენსიტიურობითა და სპეციფიკურობით დეტექცია.

საძიებო სიტყვები: ჯილეხი, დიაგნოსტიკა, სადეტექციო პროტოკოლი, *B.anthracis*

Abstract

Bacillus anthracis, a category A biothreat agent is the etiologic agent of anthrax - a zoonotic disease associated with livestock. It is endemic in Georgia and displays subspecies-specific differences in virulence, geographic distribution, and genetic diversity.

Although commercially available qPCR assays have high usage in detection, quantification and typing of different microbial agents, it is essential for many laboratories to create and validate in-house qPCR assay. The algorithm of qPCR diagnostics for B. anthracis contains 3 main components. The first step is the detection of the chromosome via dhp61 gene followed by detection of the plasmid pXO1 via the pagA gene and of pXO2 via capC.

As a result, we present validation and verification procedure of Bacillus anthracis qPCR at the R.G. Lugar Center laboratories according to the SOPs provided by the Bundeswehr institute of Microbiology. Specially designed plasmids (containing dhp61, pagA, capC and gyrA fragments) were used as positive controls.

In summary, we have verified the in-house qPCR assays for all 3 targets; main benefit of the newly established protocols is high sensitivity that gives us opportunity to reach low limits of detection (LOD) with 4-6 molecules per reaction. This method as an additional confirmatory tool is applied for molecular diagnostics of anthrax in the country.

მადლობა

მადლობას ვუხდი ილიას სახწლმწიფო უნივერსიტეტის მოლეკულური ბიომეცნიერებების პროგრამისა და რიჩარდ ლუგარის სახელობის საზოგადოებრივი ჯანდაცვის კვლევითი ცენტრის მოლეკულური ეპიდემიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის დეპარტამენტის თანამშრომლებს თანადგომისთვის. მადლობას ვუხდი ჩემს სამეცნიერო ხელმძღვანელს, პროფ. ეკატერინე თევდორაძესა და თანახელმძღვანელს, მკვლევარ თამარ ჯაშიაშვილს გაწეული შრომისა და დახმარებისთვის. მადლობა, ბუნდესვერის მიკრობილოგიის ინსტიტუტს (BwIM), რომლის პროგრამის ფარგლებში ჩატარდა წარმოდგენილი სამაგისტრო კვლევა. მადლობა ორგანიზაცია GIZ-ს (Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit), რომლის დაფინანსებით გახდა შესაძლებელი აღნიშნული კვლევის ჩატარება.