



ლეიშმანიოზის მოლეკულური ეპიდემიოლოგია საქართველოში

“

გიორგი ბაბუაძე

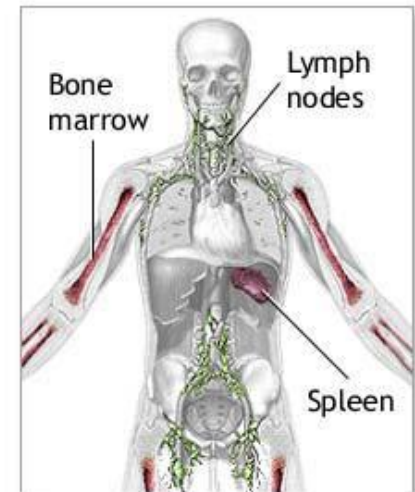
ლეიშმანიოზი – დაავადების ზოგადი მიმოხილვა

დაავადება –

- ✓ ტრანსმისიული/ზოონოზი/ანთროპოზი
- ✓ ართროპოდები
- ✓ ძუძუმწოვრები
- ✓ ადამიანი

ორგანიზმში შეჭრის გზები –

- ✓ სისხლი

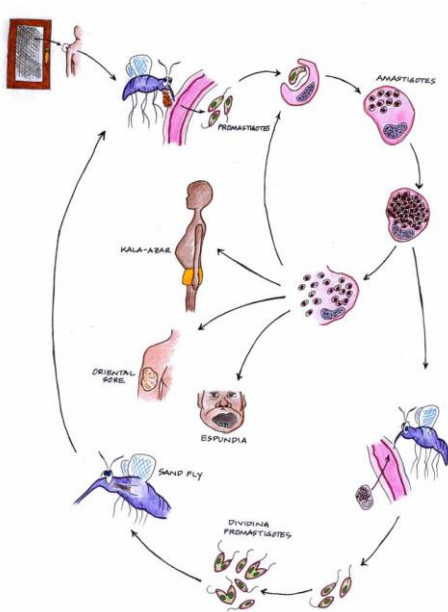
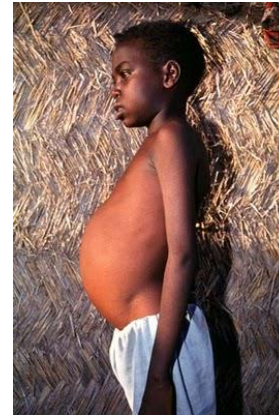


სამიზნე ორგანოები –

- ✓ ელენთა,
- ✓ ღვიძლი
- ✓ ძვლის ტვინი
- ✓ ლიმფური ჯირკვლები

ლეიშმანიოზის კლინიკური ფორმები

- ✓ კანის
- ✓ კან-ლორწოვანის
- ✓ ვისცერული



Cutaneous Leishmaniasis. Saudi Arabia.
W. Peters: A Colour Atlas of
Arthropods in Clinical Medicine. 1992

ეპიდემიოლოგია

- ✓ დაავადების კლასიფიკაცია: ძველი და ახალი სამყაროს ლეიშმანიოზები.
- ✓ გავრცელებულია მსოფლიოს 98 ქვეყანაში.
- ✓ დაახლოებით 310 მილიონი ადამიანი იმყოფება დაავადების რისკ ქვეშ.
- ✓ ყოველწლიურად დაახლოებით 3 მილიონი ახალი შემთხვევა.
- ✓ დაახლოებით 20 000 ლეთალური შედეგი.

ვისცერული ლეიშმანიოზის სიმპტომები

- ცხელება, ზოგადი
- სისუსტე, კანკალი,
- შემცივნება, წონის კლება
- ანორექსია
- უმტკივნეულო სპლენომეგალია, ჰეპატომეგალიით ან მის გარეშე
- ლორწოვანი გარსების განლევა და სიფერძკრთაღე
- ზოგჯერ შეიძლება გამოვლინდეს ლიმფოადენოპათია



სურათი . პაციენტი კარგად გამოხატული ელენთის და ღვიძლის კონტურებით

ლეიშმანიოზი საქართველოში

- ✓ 1913 წ. – ლაგოდეხი, კახეთის რ-ნი, ვისცერული ლეიშმანიოზის აფეთქება საქართველო-აზერბაიჯანის სასაზღვრო ჯარის ნაწილში;
- ✓ 1954 წ. – ვისცერული ლეიშმანიოზის დიდი აფეთქება, კახეთისა და შიდა ქართლში (6 რაიონი, 164 სოფელი);
- ✓ 1960 წ. – ქიმიური ინსექტიციდ/პესტიციდის დდტ -ს მასიური გაფრქვევის კამპანიის დაწყება;
- ✓ 1995 წ. – ვისცერული ლეიშმანიოზის პირველი შემთხვევა თბილისში;
- ✓ 2005-2015 წ. – საქართველოში სულ დაფიქსირდა 2370 შემთხვევა, აქედან თბილისში 1228;
- ✓ 2007 წ. – წელს პირველად დასავლეთ საქართველოში, ქუთაისში დაფიქსირდა ლეიშმანიოზის პირველი შემთხვევა;

ლეიშმანიოზის გავრცელება საქართველოში



კვლევის მიზანი

- საქართველოში გავრცელებული *Leishmania donovani-infantum* კომპლექსის შესწავლა და მისი მოლეკულურ-ეპიდემიოლოგიური დახასიათება.
- *Leishmania* -ციდური მოქმედების ახალი პრეპარატების გამოცდა

კვლევის ამოცანები

- ლეიშმანიოზის სეროპრევალენტობის შესწავლა რეზერვუარებში.
- გადამტანების ბიოლოგიისა და დაავადების ტრანსმისიაში მათი როლის შესწავლა.
- საქართველოში მოცირკულირე *Leishmania*-ს სახეობის იდენტიფიკაცია.
- სწრაფი გენოტიპირების მეთოდის შემუშავება.
- მოპოვებული იზოლატების მოლეკულური ტიპირება და გლობალურ ფილოგენეტიკურ ხეზე განთავსება.
- ახალი წამლების გამოცდა

კვლევის მეთოდები

მოპოვებული ნიმუშების
პირველადი დამუშავება და
დადასტურება:

- კულტივირება (გაზრდა
გამდიდრებულ ნიადაგებზე)
- ნუკლეინის მჟავების
ექსტრაქცია
- სეროლოგიური
 - rK39 ტესტი
- მოლეკულური
 - ბუდობრივი PCR

კვლევა: გენოტიპირება:

– Sanger

ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის
Leishmania-ციდური მოქმედების
შესწავლა:

- ტოქსიკურობის ტესტი
- პლაზმური მემბრანის
პერმეაბილიზაცია
- უჯრედშიდა თავისუფალი
ატფ-ის დონის ცვლილების
მონიტორინგი რეალურ
დროში
- მიტოქონდრიული
მემბრანის დეპოლარიზაცია
- კონფოკალური
მიკროსკოპირება
- ელექტრო მიკროსკოპირება

კვლევის დიზაინი

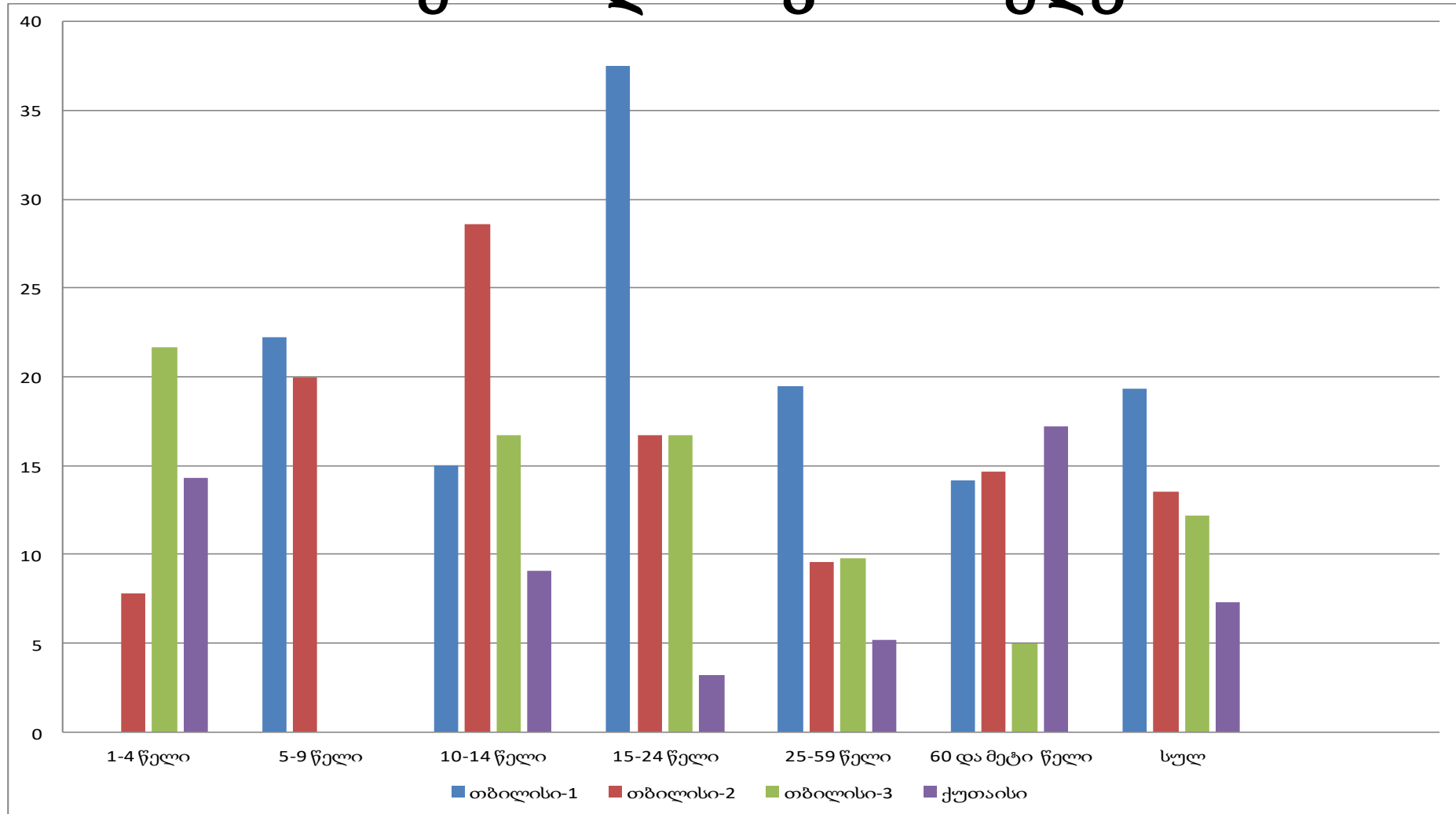
პრინციპი:

- დემოგრაფიული ინფორმაციის გათვალისწინებით შერჩეული იქნა კლასტერები
- მომზადდა ოთხი ცხრილი, თითოეული ქალაქისა და რაიონისთვის ცალ-ცალკე.

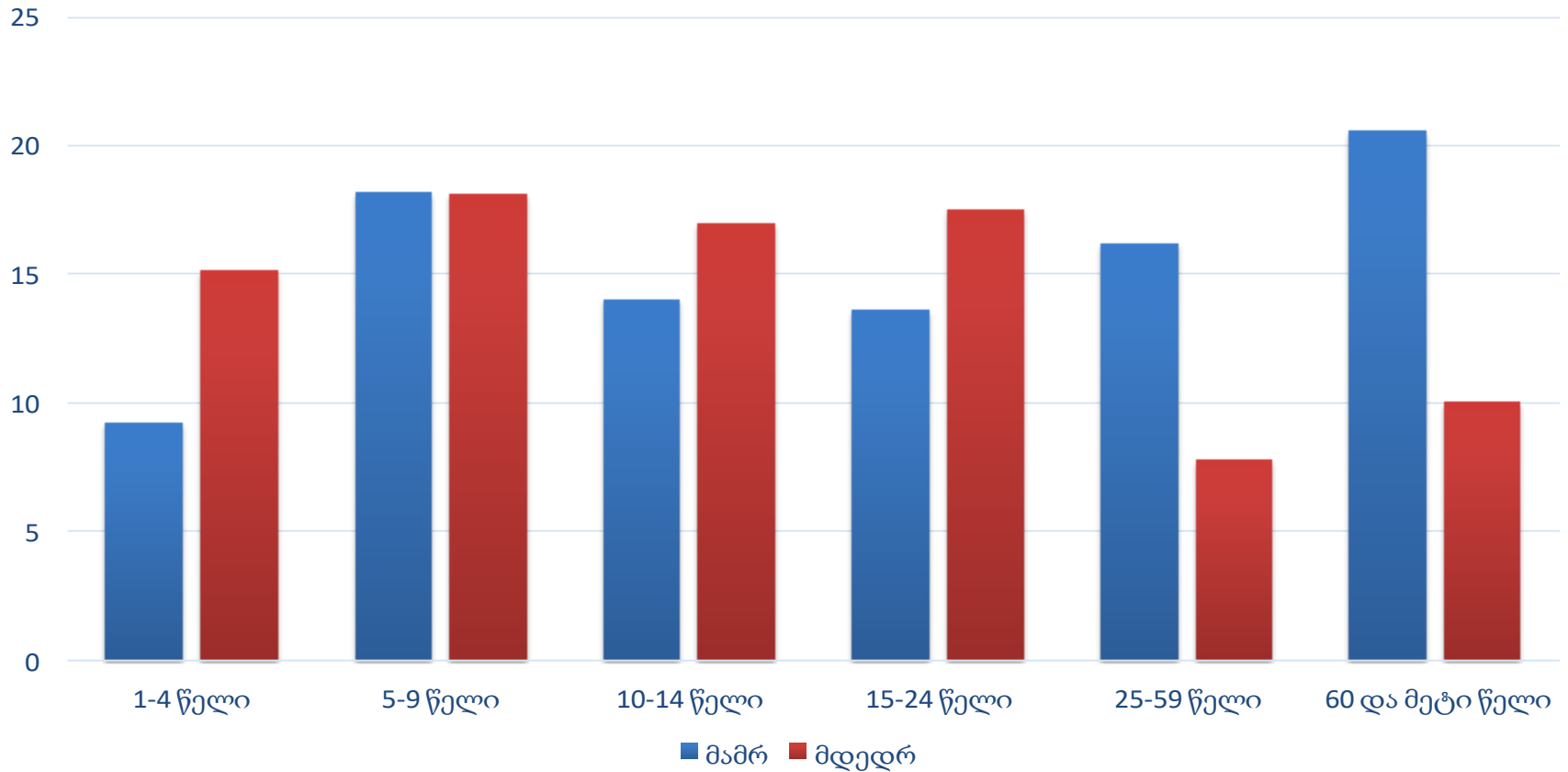
მეთოდი:

- LST -ტესტი
- rK39 -ტესტი

სეროდადებითი ი პოპულაციის გავრცელება (%) რაიონებისა და ასაკის მიხედვით



სეროდადებითი პოპულაციის გავრცელება (%) ასაკისა და სქესის მიხედვით



სეროპრევალენტობის შესწავლა რეზერვუარებში

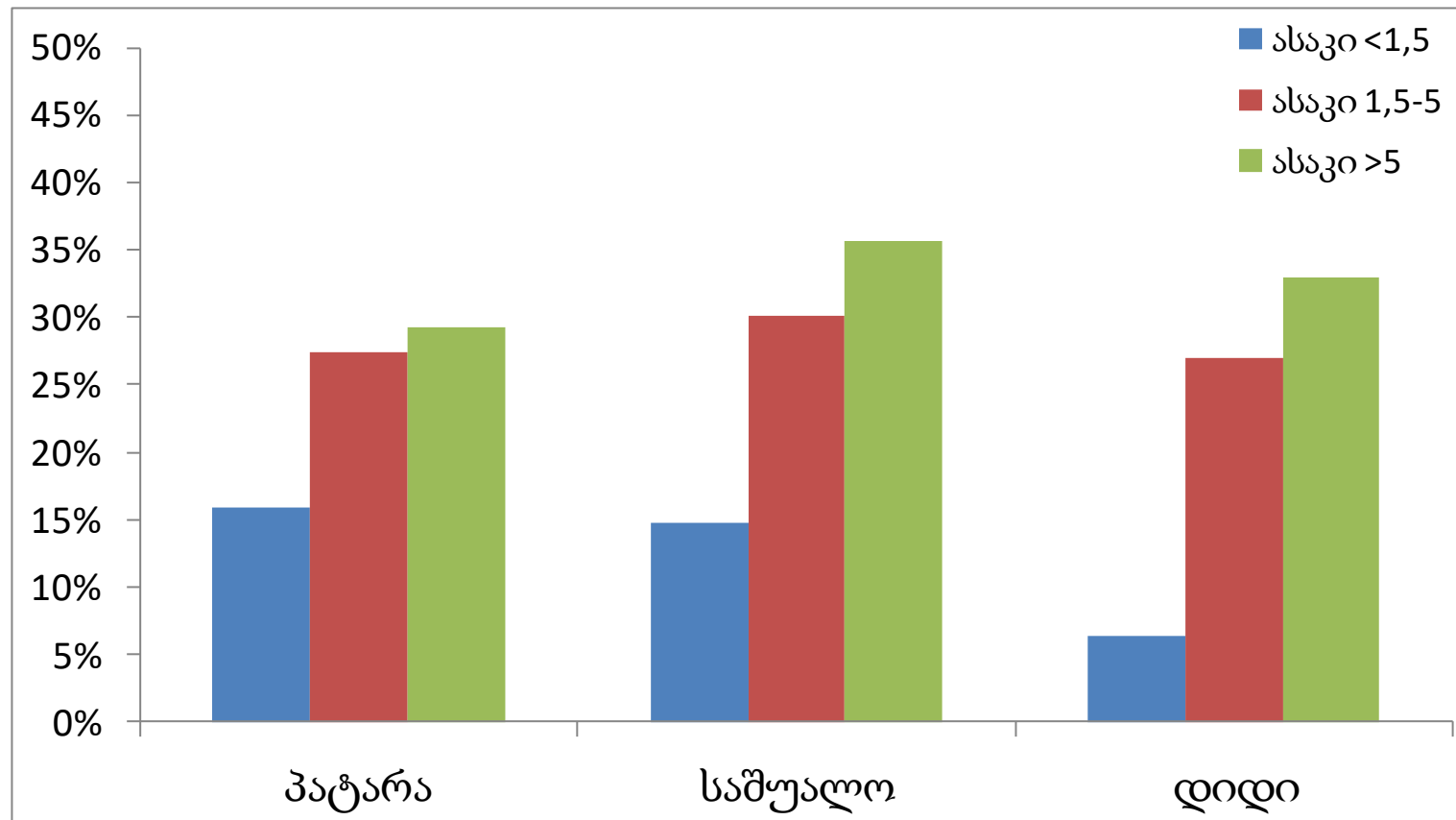
- სულ - 2,094 სახლის და მაწანწალა ძაღლი
- თბილისი -1293 (623 სახლის, 670 მაწანწალა)
- ქუთაისი 201 (151 სახლის, 50 მაწანწალა).
- ყვარელი/საგარეჯო -600 სახლის ძაღლი (329 ყვარელი, 271 საგარეჯო)
- თბილისის შემოგარენი - 77 გარეული ცხოველი (38 მელა, 39 ტურა)



სეროპრევალენტობის შედეგები რეზერვუარებში - rK39 ტესტი

- თბილისში, სეროდადებითი ძაღლები -D#2 -ში მოპოვებული ნიმუშიდან ტესტ დადებით ადმოქნდა 28.1%, ხოლო D#1 -ში შეგროვილი ნიმუშიდან დადებითი 27% იყო .
- ძაღლებისგან განსხვავებით გარეულ ცხოველებში ტესტ დადებითების მაჩვენებელმა 2.7% შეადგინა.
- ქუთაისი - 27%
- ყვარელი 21%
- საგარეჯო -19%
- მაწანწალა ძაღლები - 16,0%

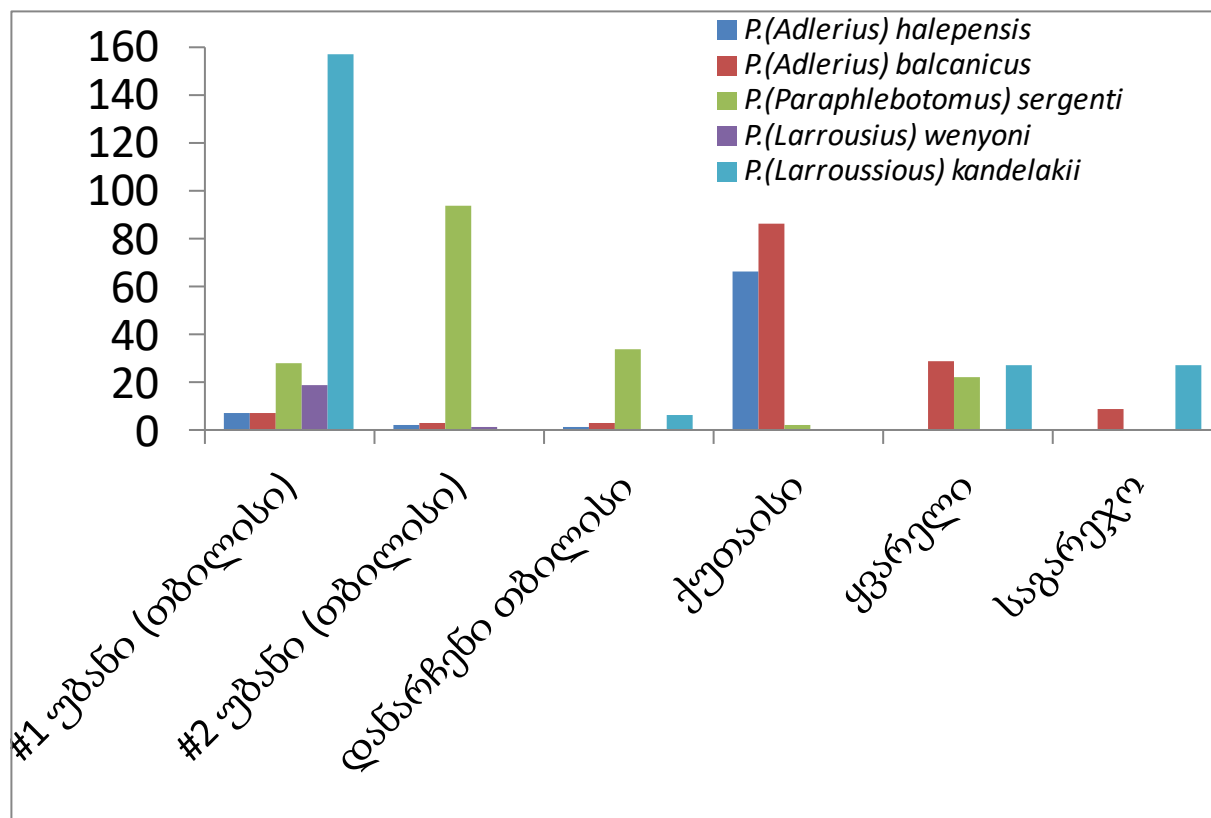
ლეიშმანიოზზე ტესტის დადებითი შედეგის მქონე ძაღლების პროცენტული განაწილება, მათი ჯიშის ზომისა და ასაკობრივი ჯგუფების მიხედვით (%)



აღმოჩენილი გადამტანების განაწილება შესწავლილი გეოგრაფიული წერტილების მიხედვით

რაოდენობა

- თბილისი -656 (5.1%)
 - ქუთაისი - 217 (1.3%)
 - ყვარელი - 162 (2.6%)
 - საგარეჯო - 69 (0%)
 - სულ -1,104
-
- *P. kandelakii*
 - *P. balcanikus*
 - *P. halepensis*
 - *P. wenyoni*
 - *P. sergenti*



პუბლიკაცია

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS | NEGLECTED TROPICAL DISEASES

Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in Georgia

Giorgi Babuadze^{1,2*}, Jorge Alvar^{3#}, Daniel Argaw⁴, Harry P. de Koning^{5*}, Merab Iosava¹, Merab Kekelidze¹, Nikoloz Tsertsvadze¹, David Tsereteli¹, Giorgi Chakhunashvili¹, Tamar Mamatsashvili¹, Nino Beria¹, Irine Kalandadze¹, Mikhail Ejov⁶, Paata Imnadze¹

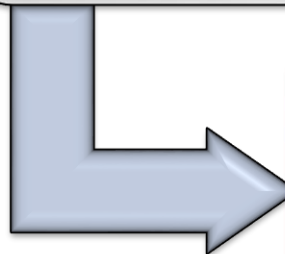
1 National Center for Disease Control and Public Health of Georgia, Tbilisi, Georgia, **2** Ilia State University, Tbilisi, Georgia, **3** WHO/NTD/Leishmaniasis Program, Geneva, Switzerland, **4** World Health Organization/NTD, Geneva, Switzerland, **5** Institute of Infection, Immunity and Inflammation, University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom, **6** World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark

ფილოგენეტიკა

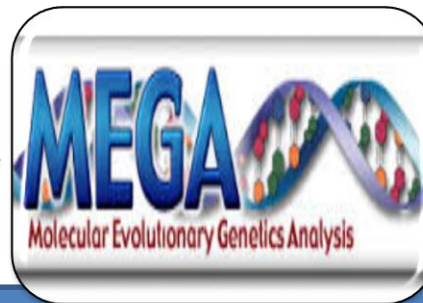
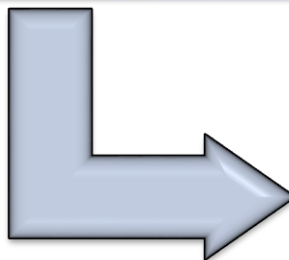
- 19 ქართული იზოლატის (რომელიც მოიცავდა ნიმუშებს კლინიკურ და გარემო ნიმუშებს) ჭრნმ -ის ITS1 და ITS2 სექვენსის აწყობა.
- პროგრამული დამუშავება და გენეტიკური მანძილების გამოთვლა - MEGA 6.
- NCBI გენ ბანკის ბაზაში, ბლასტ (BLAST) ოფციის გამოყენება (შერჩეულ იქნა 51 სექვენსი).
- გენეტიკური კავშირების დადგენა - Akaike Information (AIC) და Bayesian Information (BIC) შემფასებელი კრიტერიუმები.
- ამავე შემფასებელი კრიტერიუმების მიერ, შერჩეულ იქნა JC მოდელი.
- უბნებს შორის, სექვენსის ვარიაციების სისწრაფის არაერთგვაროვნების გამოთვლა - დისკრეტული გამა განაწილების მეთოდის მეშვეობით (Gamma distribution (+G)).



- **ABI 3330xl**



- **Sequencher 5.0**

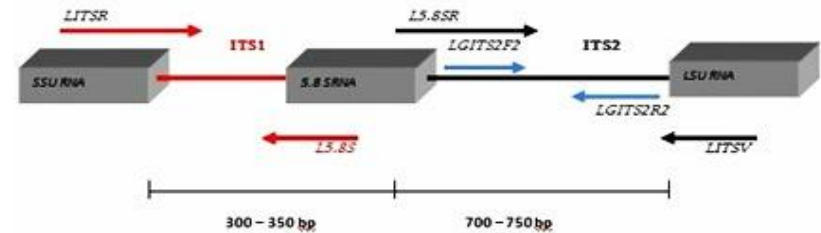


- **MEGA6**

ფილოგენეტიკური ანალიზი

ფილოგენეტიკური ანალიზი

- ფილოგენეტიკური ხე: Neighbor joining (NJ) და Maximum Likelihood (ML).
- მიკროსატელიტურ ანალიზზე დაყრდნობით, ქართულ იზოლატებში ნაპოვნი იქნა 7 შემთხვევითი განსხვავებული უბანი (Diversity Region), DR1-7
- ცალკეული ნუკლეოტიდურ პოლიმორფიზმი (SNP)
- Group I -მონოფილეტური ჯგუფი (19 დან 8 ქართული იზოლატი ერთ მონოფილეტურ ძლიერი bootstrap-ის მქონე (83 და 86%) ქვეჯგუფში განთავსდა).
- Group II -მხოლოდ 3 იზოლატი, რომელთაც შედარებით დაბალი bootstrap-ი გააჩნიათ (65 NJ და 61% ML).

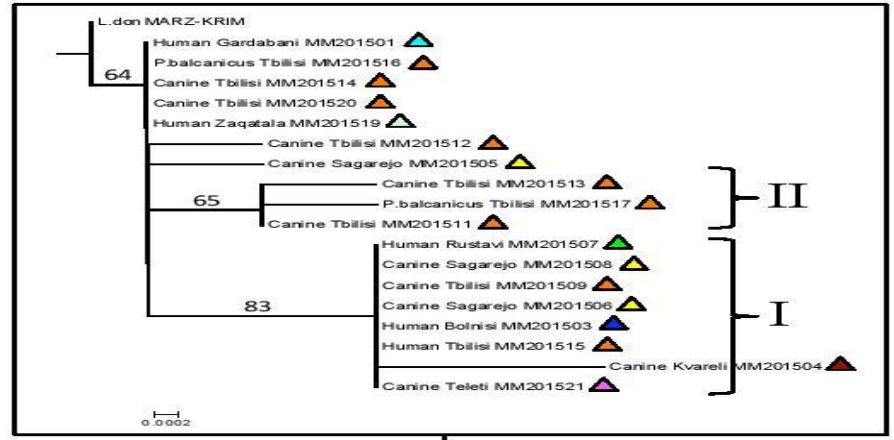


Region	Primer pair	Product size	Primer sequence
Whole ITS region	LITSR/LITSV	950-1130	5' CTGGATCATTTCCGATG 3' 5' AACTCAGGTCGTAAC 3'
ITS1	LITSR/L5.8S	300-350	5' CTGGATCATTTCCGATG 3' 5' TGATACCACTTATCGACTT 3'
ITS2	L5.8SR/LITSV	700-750	5' AAGTGCAGTAAGTGGTA 3' 5' AACTCAGGTCGTAAC 3'
ITS2 internal	LGITS2F2/LGITS2R2	372-450	5' GCATGCCATATTCTCAGTGTCT 3' 5' GGC CAA CGC GAA GTT GAA TTC 3'

- გენეტიკურმა ჯგუფმა, შესაბამისი ფილოგენეტიკური ალგორითმის მიხედვით, ალტერნატიული ტოპოლოგიური განლაგება აჩვენა.
- II ჯგუფში განლაგებული ქართული იზოლატები იზიარებენ ITS1 -ის პოლი A ტრაქტის A28G ვარიაციას

	DR1: ITS1 poly (C) + poly (A)	DR2: ITS1 poly (TA)	DR3: ITS2 poly (TA)	DR4: ITS2 poly (G)	DR5: ITS2 poly (G) + poly (TGG)	DR6: ITS2 poly (G)	DR7: ITS2 poly (C)
Consensus Identity	20 30 40 ATTACCCCAAAAAA CATATA	60 70 80 TGATATATAT 6TAGGCCCT	460 470 ATATAT TATAC	740 750 GAGGGGGGGG TCGA	840 850 GGGG AGGTTG GTGT	920 930 940 TGTTGTTATGTTTACACATATATA	1,010 1,020 1,030 TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
1. Human_Rustavi MM201507	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
2. Canine_Sagarejo MM201508	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
3. Canine_Tbilisi MM201509	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
4. Human_Gardabani MM201501	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
5. Human_Tskhinali MM201502	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
6. Canine_Kvareli MM201504	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
7. Canine_Sagarejo MM201505	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
8. Canine_Sagarejo MM201506	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
9. Human_Bofnisi MM201503	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
10. Canine_Tbilisi MM201511	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
11. Canine_Tbilisi MM201512	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
12. Canine_Tbilisi MM201513	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
13. Human_Tbilisi MM201515	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
14. P.balcanicus_Tbilisi MM201516	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
15. P.balcanicus_Tbilisi MM201517	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
16. Canine_Tbilisi MM201514	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
17. Canine_Tbilisi MM201520	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
18. Human_Saigililo MM201519	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
19. Canine_Teleti_2I	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
20. L.chag_PP75	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
21. L.chag_GU045591	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
22. L.don_LRC-L51a	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
23. L.don_LV139	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
24. L.don_DD8	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
25. L.don_LS	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
26. L.don_NLB218	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
27. L.don_NLB323	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
28. L.don_LEM3946	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
29. L.don_LEM3429	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
30. L.don_HUSSEN	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
31. L.don_LRC-L61	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
32. L.don_35-band	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
33. L.don_GEBRE1	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
34. L.don_338	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
35. L.don_95	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
36. L.don_HU3	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
37. L.don_NLB189	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
38. L.don_SC23	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
39. L.don_DEVI	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
40. L.don_THAK35	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
41. L.don_BHU20140	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
42. L.don_FJ75386	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
43. L.don_GU045589	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
44. L.don_GU045590	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
45. L.don_Wangjie1	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
46. L.don_GE	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
47. L.don_NLB189	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
48. L.don_SC23	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
49. L.don_MARZ-KRIM	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
50. L.don_SUKKAR2	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
51. Linf_LPM75	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
52. Linf_LPM114	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
53. Linf_PM1	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
54. Linf_LSL29	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
55. Linf_BCN16	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
56. Linf_IMT260	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
57. Linf_Peking	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
58. Linf_RM1	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
59. Linf_LLM175	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
60. Linf_BUCK	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
61. Linf_LLM189	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
62. Linf_LLM373	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
63. Linf_ISS1036	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
64. Linf_ISS800	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
65. Linf_597-2	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
66. Linf_GILANI	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
67. Linf_452BM	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
68. Linf_IPT1	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
69. Linfantum_Aj634363	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT
70. Linfantum_GU045592	ATTACCCCAAAAAA CATATA	TGATATATAT 6TAGGCCCT	ATATAT TATAC	GAGGGGGGGG TCGA	GGGG AGGTTG GTGT	TGTTGTTATGTTTACACATATATA	TCCTTTT TCCCCC ACCCCCGACAACCTT

L.don LRC-L51a
 L.don NLB323
 L.don NLB218
 L.don GU045589
 L.don SC23
 L.don NLB189
 L.don DD8
 L.don FJ753386
 L.don GU045590
 L.don BHU20140
 L.don THAK35
 L.don DEVI
 L.don LRC-L61
 L.don 35-band
 L.don GEBRE1
 L.don 338
 L.inf 597-2
 L.inf GILANI
 L.don LV139
 L.don 1S
 L.inf 452BM
 L.don HU3
 L.don 9S
 L.don SUKKAR2
 L.don MARZ-KRIM
 Human Gardabani MM201501
 P.balcanicus Tbilisi MM201516
 Canine Tbilisi MM201514
 Canine Tbilisi MM201520
 Human Zaqatala MM201519
 Canine Tbilisi MM201512
 Canine Sagarejo MM201505
 Canine Tbilisi MM201513
 P.balcanicus Tbilisi MM201517
 Canine Tbilisi MM201511
 Human Rustavi MM201507
 Canine Sagarejo MM201508
 Canine Tbilisi MM201509
 Canine Sagarejo MM201506
 Human Bolnisi MM201503
 Human Tbilisi MM201515
 Canine Kvareli MM201504
 Canine Teleti MM201521
 L.inf BCN16
 L.inf LLM175
 L.inf LEM189
 L.inf IPT1
 L.inf LPN114
 L.chag GU045591
 L.don Wangjie1
 L.inf Peking
 L.inf LSL29
 Human Tskhinvali MM201502
 L.chag PP75
 L.don LEM3946
 L.don GE
 L.don LEM3429
 L.don HUSSEN
 L.inf LEM75
 L.inf PM1
 L.inf IMT260
 L.inf RM1
 L.inf BUCK
 L.inf LLM373
 L.inf ISS1036
 L.inf ISS800



RESEARCH

Open Access



Seroepidemiology and molecular diversity of *Leishmania donovani* complex in Georgia

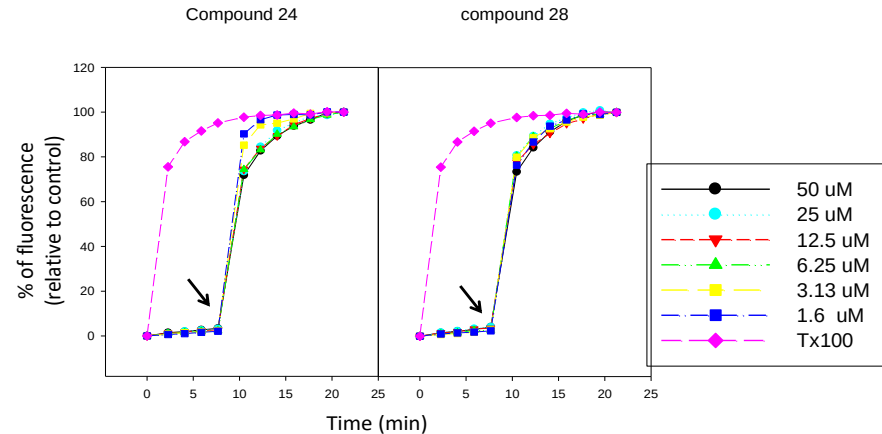
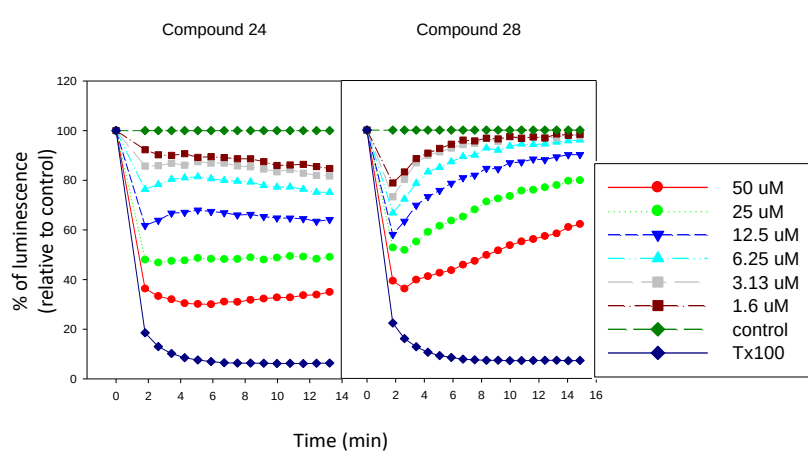
Giorgi Babuadze^{1,2*}, Jason Farlow³, Harry P. de Koning⁴, Eugenia Carrillo⁵, Giorgi Chakhunashvili¹, Mari Murskvaladze², Merab Kekelidze¹, Irakli Karseladze¹, Nora Kokaia⁶, Irine Kalandadze¹, David Tsereteli¹, Ivane Markhvashvili¹, Ketevan Sidamonidze¹, Gvantsa Chanturia¹, Ekaterine Adeishvili¹ and Paata Imnadze¹

ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის პრეპარატების *Leishmania* -ციდური მოქმედების შესწავლა

- შერჩეული შტამები
- *L. donovani* _HOM/SD/00/1S-2D და მისგან მიღებული სპეციალური უჯრედული ხაზი 3-Luc, ჩაშენებული ფლუორესცენტულად მნათი ციცინათელას გენით - ლუციფერაზა *Photinus pyralis luciferase*.
- ქიმიური კომპონენტები
- ექსპერიმენტები
- ტოქსიკურობის ტესტი (MTT).
- პლაზმური მემბრანის დეპოლარიზაცია
- *L. donovani* პრომასტიგოტებში, უჯრედშიდა თავისუფალი ატფ-ის დონის ცვლილების მონიტორინგი რეალურ დროში
- მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია
- კონფოკალური მიკროსკოპირება
- ელექტრო მიკროსკოპირება

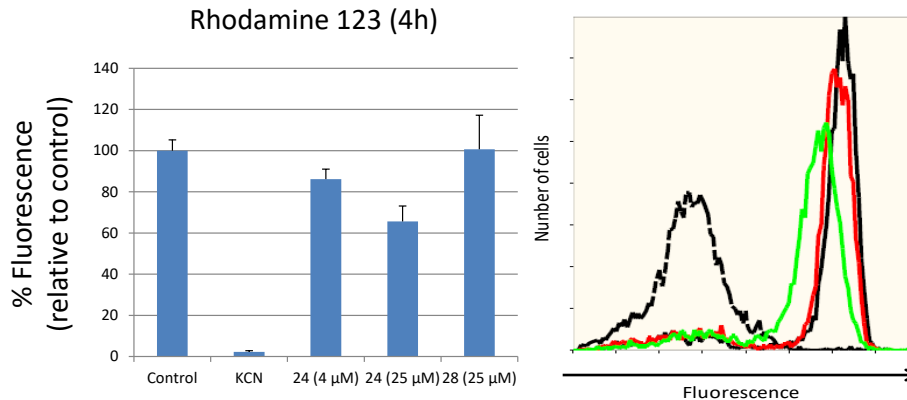
ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* - ციდური მოქმედების შედეგები

- კანდიდატად შეირჩა ორი მათგანი: კომპონენტი #24 და #28.



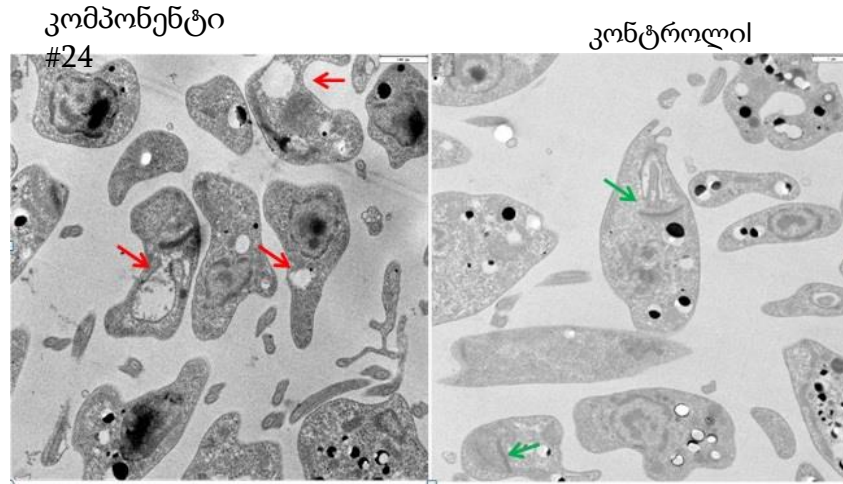
კომპონენტების დამატების შედეგად გამოწვეული ლუმინესცენციის ინჰიბირება (თავისუფალი ციტოპლაზმური ატფ), 3-Luc *L. donovani*-ის პრომასტიგოტებში.

L. donovani პრომასტიგოტების პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაცია კომპონენტებთან 4 სთ ინკუბაციის შემდეგ. SYTOX Green დამატებული იქნა ინკუბაციის ბოლოს (ისარი მიუთითებს Triton X100-ის დამატებას).

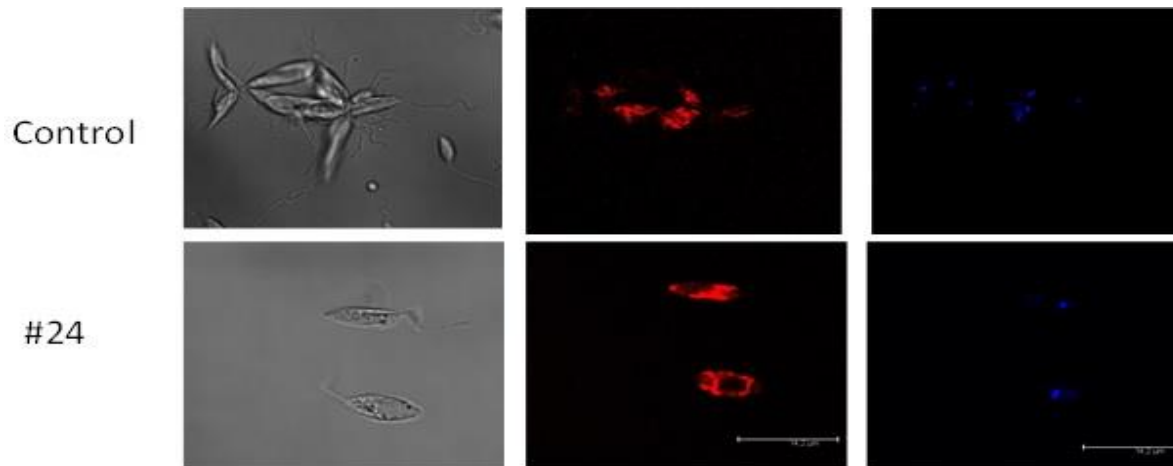


მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, უჯრედების #24 კომპონენტთან 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. უჯრედების შესაღებად გამოყენებული იქნა Rhodamine 123; ბ).
მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, უჯრედების Flow cytometry ჰისტოგრამა.

ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* - ციდური მოქმედების შედეგები



მიტოქონდრიის დაზიანება *L. donovani* -ის უჯრედებში,
ელექტრონული მიკროსკოპი



L. donovani პრომასტიგოტები კომპონენტთან #24 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. ი ნკუბაციამდე უჯრედებს დაემატა 0.05 მკმ Mitotracker Red ფლუორესცენტული საღებავი. კონფოკალური მიკროსკოპირება.

დასკვნები

- თბილისი წარმოადგენს ლეიშმანიოზის აქტიურ კერას, სადაც ინფექციის პრევალენტობა მაღალია, როგორც რეზერვუარებში, ასევე ადამიანებშიც. ასევე შეინიშნება დაავადების ქვეყნის აღმოსავლეთიდან დასავლეთის მიმართულებით გავრცელების ტენდენცია.
- ITS გენის მიხედვით ჩატარებულმა გენოტიპირების შედეგებმა აჩვენეს, რომ მოპოვებული იზოლატები მიეკუთვნებიან *L. donovani* კომპლექსს.
- მიკროსატელიტების ანალიზით მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით ორივე მონოფილეტურ ჯგუფში მყოფი 11 ქართული იზოლატი უნიკალურია და იგი არ გვხვდება არა მხოლოდ დანარჩენ სხვა ქართული იზოლატის სექვენსში, არამედ, დღემდე დასექვენირებულ სხვა *Leishmania* შტამებშიც კი.
- შეტანილია სიახლე ევროპისა და აზიის გასაყარზე გავრცელებული *Leishmania* ფილოგენეტიკური თავისებურებების შესწავლაში.

დასკვნები

- მიღებული მონაცემები სრულყოფილ წარმოდგენას იძლევიან, ამ პათოგენის გენეტიკურ სტრუქტურაზე ევროპისა და აზიის გასაყარზე მყოფ გეოგრაფიულ არეალში, რაც მნიშვნელოვან როლს ითამაშებს მომავალ კვლევებში, რომლებიც პათოგენის ქვეტიპების რეგიონალურ დახასიათებასა და დაავადების ეპიდემიოლოგიაზე გავლენის შესწავლაზე იქნება მიმართული.
- 49 კანდიდატი პრეპარტიდან შერჩეული იქნა 1 კანდიდატი, რომელიც გამოირჩევა ნაკლებ ციტოტოქსიურობითა და მაღალი *Leishmania* -ციდური ეფექტით.
- მოპოვებულ მონაცემებს დიდი მნიშვნელობა ექნება ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალო ახალი, ადამიანისთვის ნაკლებ უსაფრთხო, არომატული კეტონების ჯგუფის, პრეპარატების ვალიდაციაში.

მადლობა



- University of Glasgow - ინფექციის, იმუნიტეტისა და ინფლამაციის ინსტიტუტი, მედიცინის, ვეტერინარიისა და ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კოლეჯი, პროფესორი ჰარი დე კონინგი. გაწეული მატერიალური და ფინანსური დახმარებისათვის



- ISC - კარლოს III -ეს სახ. მიკრობიოლოგიის ეროვნული ცენტრი, ჯანმრთელობის ინსტიტუტი, ლეიშმანიოზისა და ჩაგასის დაავადებების ლაბორატორია, მახადაონდამადრიდი, ესპანეთი, დოქტორი ხავიერ მორენო, ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისა და გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის



- CIB - ბიოლოგიურ კვლევათა ცენტრი, ეუკარიოტების ანტიბიოტიკური პეპტიდების ლაბორატორია, მადრიდი, ესპანეთი, დოქტორი ლუის რივასი, ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისა და გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის.



- დკსჯეც - ლ. საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, დოქტორი მერაბ კეკელიძე, პროფესორი პაატა იმნაძე, პროფესორი ამირან გამყრელიძე.



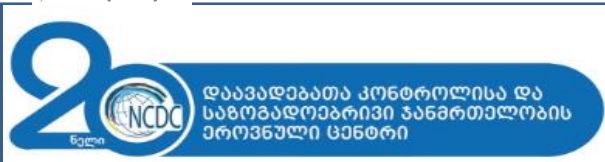
- ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი, პროფესორი რევაზ სოლომონია



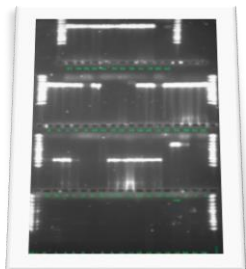
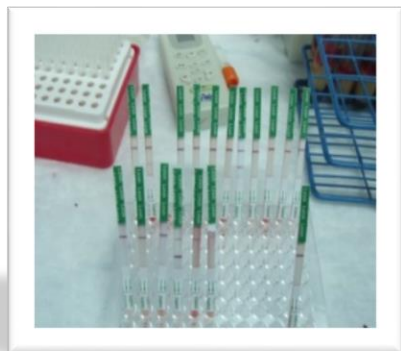
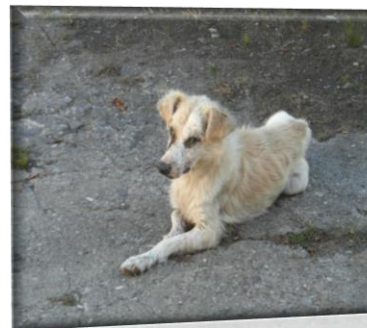
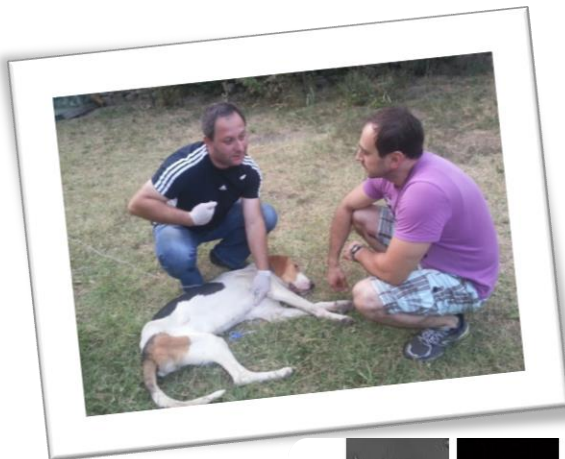
- შრესფ - შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდი, გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის.



- BIF - ბერინგერ ინგელჰეიმის ფონდი, გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის.



მადლობთ ყურადღებისთვის !



Control

#24

