

საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი

## ნინო ვეფხვაძე

### დორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკა საქართველოში

ვეტერინარიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის

მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

## დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

**სპეციალობით:** სავეტერინარო მიკრობიოლოგია, ვირუსოლოგია, ეპიზოოტოლოგია, მიკოლოგია, იმუნოლოგია და პარაზიტოლოგია.

**სამეცნიერო ხელმძღვანელი:** ვეტერინარიის მეცნიერებათა დოქტორი, სრული პროფესორი, საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის წევრ-კორესპონდენტი **თენგიზ ყურაშვილი**

თბილისი 2012

## მადლიერების ნიშნად

მინდა მადლობა გადაუხადო დახმარებისთვის და მხარდაჭერისთვის იმ პიროვნებებს, ვისაც წვლილი მიუძღვის ამ სამეცნიერო ნაშრომის შექმნაში: სამეცნიერო ხელმძღვანელს სრულ პროფესორს, საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის წევრ-კორესპონდენტს პროფესორ ბ-ნ თენგიზ ყურაშვილს, სახელმწიფო აგრარული უნივერსიტეტის რექტორს, ვეტერინარული ფაკულტეტის დეკანს სრულ პროფესორს ბ-ნ ლ. მაკარაძეს, ფაკულტეტის თანამშრომლებს, სამეცნიერო შრომათა კრებულის სარედაქციო კოლეგიას, ასევე ამერიკული მხარის მეცნიერთა ჯგუფს- ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა ცენტრი (Plum Island Animal Disease Center-PIADC), ა.შ.შ-ის სოფლის მეურნეობის დეპარტამენტს, ოაკ რიჯის მეცნიერებათა და განათლების ინსტიტუტს დაფინანსებისთვის, აშშ ეროვნული უსაფრთხოების დეპარტამენტს. (PIADC, USDA, ORISE, DHS).

ამერიკის შეერთებული შტატების საელჩოს, აშშ თავდაცვის საფრთხის შემცირების პროგრამის კოორდინატორი ბ-ნ პაატა ენუქიძეს, თბილისი, სააქართველო. საქართველოს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიის (LMA) თანამშრომლებსა და ლაბორატორიის დირექტორს ქ-ნ თინათინ ონაშვილს, რომლის დიდი მონდომებითა და მხარდაჭერით საშუალება მოგვეცა ეს მნიშვნელოვანი სადიაგნოსტიკო და სამეცნიერო კვლევები შესრულებულიყო ამერიკის შეერთებულ შტატებში ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის ცენტრში, პლამ აილენდზე. აშშ (PIADC, USA).

## შინაარსი

1. შესავალი.	5
1.1 ნაშრომის ზოგადი დახასიათება	5
2. ლიტერატურის მიმოხილვა	8
2.1. ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ბიოლოგია, გეოგრაფიული გავრცელება, ვირუსის კლასიფიკაცია.	8
2.2. ღორის აფრიკული ცხელების გენომი	15
2.3. დაავადების პათოგენეზი, კლინიკური ნიშნები, პათოლოგიური ანატომიური ცვლილებები.	23
2.4. ღორის აფრიკული ცხელების ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა	26
3. საკუთარი გამოკვლევები	31
3.1. კვლევის მასალა და მეთოდები	31
3.1.1. ვირუსის იზოლაცია ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპით.	31
3.1.2. ჰემადსორბციის რეაქცია	32
3.1.3. იმუნოფერმენტული რეაქცია	38
3.1.4. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია	41
3.1.5. ნუკლეინის მჟავების თანმიმდევრობის განსაზღვრა სეკვენსირება	47
3.2. ღორის აფრიკული ცხელების ეპიდემიოლოგიური მდგომარეობა საქართველოში	48
3.3. მასალის მყისიერი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით (PCR) გამოკვლევის შედეგები	54
3.4. მასალის იმუნოფერმენტული ანალიზით (ELISA) გამოკვლევის შედეგები	63
3.5. საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული	70

ცხელების ვირუსის ვიზუალიზაცია ჰემადსორბციის რეაქციით (HAD)	
3.6. საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვირულენტობის განსაზღვრა	75
3.7. იორკშირის ღორების (ბურვაკები) ინოკულაცია საქართველოში დაფიქსირებული ASF ვირუსით, ტიტრაცია და შედეგები.	82
3.8. ღორის აფრიკული ცხელების დნმ-ის ექსტრაქცია, PCR, ელექტოფორეზი, პურიფიკაცია, სეკვენსის შედეგები.	85
3.9. რეკომბინანტი გენის მიღება ინფექცია/ტრანსფექციის გზით (გამოყენებით) 9GL გენის დელეცია და რეპორტიორი βGus გენის ჩასმა ატენუირებული შტამის შესაქმნელად.	96
3.10. საქართველოში დაფიქსირებული ASF ვირუსის იზოლაცია ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპით	100
4. გამოკვლევის შედეგების განხილვა	108
5. დასკვნები.	118
6. პრაქტიკული რეკომენდაციები	119
7. გამოყენებული ლიტერატურა	120
8. აბრევიატურის განმარტება	148
9. დანართი	151

## 1. შესავალი

ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსი Asfarviridae-ს ოჯახის ერთადერთი წარმომადგენელია, მრავლდება ციტოპლაზმაში და შინაურ ღორებსა და ევროპულ გარეულ ღორებში იწვევს ლეტალურ ჰემორაგიულ დაავადებას. დღემდე, მეცნიერებისთვის აქტუალური კვლევის საგანს წარმოადგენს, ვინაიდან არ არსებობს დაავადების საწინააღმდეგო ვაქცინა და რაიმე სამკურნალო საშუალება. გულდასმით შეისწავლება ვირუსის მასპინძელთან ურთიერთქმედება, ვირულენტობა, სტრუქტურა, გენები და მექანიზმები, რომელებიც შეიძლება ხელს უშლიან მის რეპლიკაციას. მნიშვნელოვანია დაავადების აღმოჩენის სწრაფი და დროული დიაგნოსტიკა, რათა საშუალება მოგვეცეს შევძლოთ როგორც, დაავადების წინააღმდეგ ბრძოლის გონივრული სამოქმედო გეგმის დასახვა, უზრუნველყოთ ASF-ის შემდგომი გავრცელების პრევენცია და კონტროლი. (E.R. Tulman et al. & D.L. Rock 2001)

### 1.1. ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

**თემის აქტუალობა:** მსოფლიოს მთელი რიგი ქვეყნები ყოველწლიურად ახალი ინფექციური დაავადებების გავრცელების წინაშე დგანან, რომელთაც მნიშვნელოვანი ეკოლოგიური და სოციალურ-ეკონომიური ზარალი მოაქვთ. ასევე, აუცილებელი ხდება საკვები პროდუქტების უსაფრთხოების დაცვა, რომელიც მრავალი ქვეყნისთვის პრობლემურ საკითხს წარმოადგენს. მათი გადაჭრისათვის კი, საჭიროა დაავადებების წინააღმდეგ პრევენციული ღონისძიებების გატარება, სწორი დაგეგმვა, ხელმძღვანელობა და მენეჯმენტი, რაც თავის მხრივ ქვეყნებს შორის საერთაშორისო თანამშრომლობის გაღრმავებას დაინტეგრაციას მოითხოვს. მსოფლიოს უმეტესი ქვეყნებისთვის მოსახლეობის საკვები პროდუქტებით მომარაგებაში უდიდესი ადგილი ღორის ხორცი და ხორც-პროდუქტებით მომარაგებას უჭირავს, ეს უკანასკნელი პრობლემური სამიზნე გახდა, საქართველოსთვისაც აქამდე, უც-

ნობი დაავადების ღორის აფრიკული ცხელების გაჩენის გამო, რომელმაც უკანასკნელი ათეული წლების მანძილზე აფრიკის, სამხრეთ ამერიკის და ევროპის ქვეყნებში საკმაოდ დაძაბული ეპიზოოტიური სიტუაცია შექმნა. აღნიშნულმა, ქვეყნებმა უდიდესი ზარალი განიცადეს, როგორც სოციალური ისე, ეკონომიური თვალსაზრისით. მიუხედავად, კოლოსალური თანხების ხარჯისა ზოგიერთი ქვეყნები ჯერ კიდევ ენდემურ კერებად რჩებიან, რაც შემდგომ პერიოდებში დაავადების კვლავ, აღმოცენების საშიშროებას ქმნიან. ამრიგად, საქართველოში 2007 წელს დაფიქსირდა ახალი ეპიზოოტიური დაავადება, რომელიც ამ პერიოდამდე პოსტსაბჭოურ სივრცეში არ იყო რეგისტრირებული. არასრული მონაცემებით დაავადების გავრცელების პირველ პერიოდებში განადგურდა და მოკვდა 200 000-მდე სული ღორი. ღორი საქართველოს ყველა ოჯახის ტრადიციული ცხოველია და ამდენად მეღორეობა ჩვენში ძირითადად ოჯახური და წვრილი ფერმერული მეურნეობების სახით არის წარმოდგენილი. დაავადებამ კი სერიოზული საფრთხე შეუქმნა მეღორეობას, რომლის აღორძინების მნიშვნელოვანი ძვრები შეინიშნებოდა ქვეყნის მასშტაბით.

**გამოკვლევის მიზანი და ამოცანები:** პროგრამისა და სამეცნიერო კვლევის ძირითად მიზნებს წარმოადგენს: დაავადების აღმოჩენა, სწრაფი პრეკლინიკური დიაგნოსტიკა, ვირუსის მოლეკულური თვისებების შესწავლა. მათი განხორციელებისთვის და გადაწყვეტისთვის დავსახეთ შემდეგი ამოცანები:

1. საქართველოში ღორის აფრიკული ცხელების ეპიდემიოლოგიური პროცესების შესწავლა.
2. აფრიკული ცხელების აღმძვრელი ვირუსის სეროლოგიური და გენეტიკური კვლევის მეთოდების ათვისება.
3. რეგიონების მიხედვით შეგროვილი მასალის ლაბორატორიული გამოკვლევა.

4. საქართველოში გავრცელებული ვირუსის იზოლაცია ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპის მეთოდის გამოყენებით.
5. გამოყოფილი ვირუსების გენოტიპის სეკვენსირება და შესწავლა.

**ნაშრომის მეცნიერული სიახლე:**

1. პირველად საქართველოში შესწავლილი იქნა ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის მოლეკულური თვისებები.
2. დაავადების სადიაგნოსტიკოდ გამოყენებული იქნა თანამედროვე მეთოდები იმუნოფერმენტული და პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციები.
3. პირველად საქართველოში განისაზღვრა ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვირულენტობა და ტიტრი.
4. პირველად გაკეთდა პათოლოგიური მასალებიდან გამოყოფილი ვირუსის შტამების სეკვენსირება, ნუკლეინის მჟავების თანმიმდევრობების განსაზღვრა.
5. პირველად იქნა მიღებული ტრანსფექცირებული ე.წ. მწვანე უჯრედები საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის შტამზე. რომელიც შეიძლება გამოყენებული იქნეს საექსპერიმენტო ატენუირებული ვაქცინის შესაქმნელად.

**ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა:** დანერგილია ღორის აფრიკული ცხელების სადიაგნოსტიკო თანამედროვე მეთოდები, რომელთა გამოყენებით შესაძლებელი გახდა დაავადების ეპიდემიოლოგიის შესწავლა. მოხდა ვირუსის იზოლაცია და განისაზღვრა მისი ვირულენტობა. შემუშავდა რეკომბინანტი გენი საქართველოში დაფიქსირებული ASFV-ის ვირუსის 9GL გენომზე, რომელიც გარკვეული სამეცნიერო კვლევების შემდეგ, გამოყენებული იქნება საექსპერიმენტო ატენუირებული ვაქცინის შესაქმნელად.

**კვლევის შედეგების აპრობაცია:** ნაშრომის ძირითადი დებულებები და შედეგები მოხსენებულია: საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის სტუდენტთა და ასპირანთა სამეცნიერო კონფერენციაზე

(2009,2010წ,თბილისი) და პლამ აილენდის მეცნიერთა ჯგუფის შეფასებაზე (აშშ, 18.11.2010.)

**კვლევის შედეგების პუბლიკაცია:** სადისერტაციო პუბლიკაციების ძირითადი მასალები გამოქვეყნებულია 9 სამეცნიერო ნაშრომში. 6 ნაშრომი საქართველოს, რეფერარებად ჟურნალებში, 3 ნაშრომი აშშ-ში ვირუსოლოგიის ჟურნალში.

## **2.ლიტერატურის მიმოხილვა**

### **2.1. ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ბიოლოგია, გეოგრაფიული გავრცელება, ვირუსის კლასიფიკაცია.**

ღორის აფრიკული ცხელება, მონტგომერის დაავადება ღორების ეგზოტიკური, სახეობრივი, მწვავე, ძლიერ კონტაგიოზური ვირუსული ინფექციაა, რომელიც ხასიათდება მაღალი ტემპერატურით, ჰემორაგიული დიათეზით, სისხლჩაქცევებით, ნეკროზულ-დისტროფიული ცვლილებებით, პარენქიმული ორგანოების დაზიანებით, 100%-იანი სიკვდილიანობის მაჩვენებლით (Plowright W. et al., 1994). დაავადების აღმქრელი ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსი საკმაოდ გამძლეა გარემო პირობების, მაღალი ტემპერატურის და, pH 4-13 დიაპაზონის მიმართ (Plowright W. et al., 1967; 1968; 1969; Donaldson and ferris, 1976; Dixon L.K. et al., 2000; Canals A. 1992) როცა იგი დაცულია ცილოვანი გარემოთი (ხორცი, სისხლი, ფეკალი, ძვლის ტენი) ის ინახება დიდი ხნის განმავლობაში. ვირუსი არ კარგავს აქტიურობას 5<sup>0</sup>C ტემპერატურაზე 5 წლის განმავლობაში. ვირუსს აქვს უნარი გაძლოს მრავალი თვე გაყინულ ხორცში. ვირუსი კარგავს აქტიურობას 60<sup>0</sup>C ტემპერატურაზე 30 წუთის ექსპოზიციისას. 18 თვე პერსტისტირებს სისხლში 4<sup>0</sup>C ტემპერატურაზე. დაახლოებით 15 წელი ინახება -70<sup>0</sup>C ტემპერატურაზე.



(Dixon L.K. et al., 2000; Vinuela E. 1985; Tabares E. 1987). ღორის აფრიკული ცხელება პირველად შემჩნეული იქნა სამხრეთ აფრიკაში 1903 წელს ხატჩენის (Hutchen) და სტოკმენის (Stockmen) მიერ, 1905 წელს აღწერა ტეილორმა, 1910 წელს დაავადება რეგისტრირებული იქნა სამხრეთ-დასავლეთ აფრიკაში მონტგომერის მიერ (R.E.Montgomerie). 1921-წელს დაავადება დაფიქსირდა კენიაში. 1957 წელს პირველად დაავადება აღმოჩენილია აფრიკის გარეთ, კერძოდ პორტუგალიაში, 1960 წელს ესპანეთში, შემდგომ საფრანგეთსა და იტალიაში, 70-იან წლებში დაავადება რეგისტრირდება კუბაში, დომინიკის რესპუბლიკაში და ბრაზილიაში. მეოცე საუკუნის ბოლოს დაავადება მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში სწრაფად გავრცელდა. 2007 წელს დაავადება გავრცელდა საქართველოში, სომხეთში და რუსეთში, 2008 წელს აზერბაიჯანში. ASFV ვირუსი დაფიქსირებულია სუბ-საჰარული აფრიკის ქვეყნების უმრავლესობაში, სადაც მეღორეობაა განვითარებული. დაავადება ენდემურია სამხრეთ აღმოსავლეთ და ცენტრალური აფრიკის უმრავლეს ქვეყნებში. გამონაკლისია ზიმბაბვე, სადაც უკანასკნელი ორმოცი წლის მანძილზე დაავადება არ გამოვნილებულა. საერთოდ არ დაფიქსირებულა დაავადება სვაზილანდში, ლესოტოში და სამხრეთ-აღმოსავლეთ აფრიკის კუნძულებზე. გარდა მადაგასკარისა, სადაც 1997-1998 წელს იყო რეგისტრირებული ინფექციის შემთხვევები. (Rebecca J.Rowlands 2008; Arias M.&Sanchez-Vizcaino J.M. et all 2002); <http://www.promedmail.org>, 2007, 2008. ინტერნეტ რესურსი (African swine fever, Georgia. Promed. 2007 Jun 7 [cited 2007 Jun 7]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20070607.1845. 2. African swine fever, Georgia Abkhazia Autonomous Republic. Promed. 2007 Aug 21 [cited 2007 Aug 19]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20070821.2737; 3. African swine fever, NagoroKarabagh. Promed. 2007 Nov 4 [cited 2007 Nov 3]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20071104.3589. 4.African

swine fever, Russia Chechnya. Promed. 2008 Jan 29 [cited 2008 Jan 27]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20080129.0370.

აფრიკაში 1994 წლიდან აღინიშნებოდა ASF-ის აქტივობის განსაკუთრებული ზრდა, რაც გამოწვეული იყო აფრიკის ბევრ ქვეყანაში ღორის პოპულაციის მკვეთრი ზრდით, რაც შედეგი იყო ღორის ხორცზე მომატებული მოთხოვნით. განსაკუთრებით საყურადღებო იყო, პანდემია დასავლეთ აფრიკაში, რაც სავარაუდოდ დაიწყო კოტდ'ივუარის აფეთქებით 1996 წელს და დღემდე გრძელდება. დაავადება ენდემური გახდა ისეთი ქვეყნებისთვის, სადაც მანამდე არ იყო დაფიქსირებული. მაგალითი მადაგასკარის, სადაც დაავადება გავრცელდა ვარაუდით მოზამბიკიდან. ASF-ის ხელახლად გამოჩენა კენიაში და მოზამბიკის სამხრეთ პროვინციებში. ყველა ეს აფეთქება დაკავშირებული იყო შინაური ღორის გადაადგილებასთან და არა გარეულ ღორთან, რომელიც ვირუსის ბუნებრივი მასპინძელია. ასევე, დღემდე ენდემურ ზონად რჩება აფრიკის გარეთ მყოფი კ. სარდინია (იტალია). (Penrith M.L. et al., 2007; Veilan J.G. 1997).

ASF ვირუსი უნიკალური ვირუსია მრავალი მიზეზის გამო. ეს ოჯახი ენათესავება სხვა დნმ-ის შემცველ დიდი ზომის ვირუსებს, როგორცაა Poxviridae , Iridoviridae და Phycodnaviridae (Dixon L.K. et al. 2000; Senkevich T.G. 2002; Smith S.A. 2002). ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსი (ASFV) თავდაპირველად კლასიფიცირებული იყო, როგორც ირიდოვირიდებს Iridoviridae ოჯახის წარმომადგენელი თავისი სტრუქტურული მსგავსების და ციტოპლაზმური რეპლიკაციის გამო, ხოლო გენომის რეპლიკაციის შესწავლამ გამოავლინა მეტად მსგავსება Poxviridae-თან, რის საფუძველზეც ვირუსი ამოღებული იქნა ამ ოჯახიდან. გარკვეული პერიოდის განმავლობაში ი აღარ შედიოდა არცერთ ოჯახში, მანამ, სანამ ვირუსის ტაქსონომიური საერთაშორისო კომიტეტის მიერ (ICTV) სენდაი (იაპონია) 1984 წელს არ იქნა კლასიფიცირებული ცალკე—

Asfaviridae ოჯახში და დღესდღეობით მისი ერთადერთი წარმომადგენელია.(Wilkinson P.J.2000; Dixon L.K.& Escribano J.M. 2000, 2005; Costa J.V. 1990; Brown F. 1986) გენის კომპლემენტების კლადისტიკური ანალიზი მიუთითებს ASFV-ს, ყვავილის ვირუსის, ირიდოვირუსების, მიმივირუსების და ფიკოდნავირუსების მონოფილიაზე (Iyer L.M. et al. 2001, 2006). ეს

ვირუსები მრავლდება ან მხოლოდ ინფიცირებული უჯრედის ციტოპლაზმაში, ან სასიცოცხლო ციკლს იწყებენ ბირთვში და ასრულებენ ციტოპლაზმაში. ზოგიერთი მათგანის რეპლიკაცია შედარებით ნაკლებადაა დამოკიდებული მასპინძლის უჯრედის რეპლიკაციის მექანიზმზე. (Alcami A. at all 1989, 1990.)

ვირუსის ბიოლოგია: ხერხემლიანებს შორის ვირუსის ერთადერთ მასპინძლებს წარმოადგენენ ღორისებთა ოჯახი (Suidae) . აფრიკული გარეული ღორები (იხ. სურათები 1,2,3,4)



სურათი 1



სურათი 2



სურათი 3



სურათი 4

ვირუსის ბუნებრივი მასპინძლები არიან და მისი პათოგენური მოქმედების მიმართ გამომუშავებული აქვთ იმუნიტეტი, განსაკუთრებით ვირუსი მაღალი კონტაგიოზურობით ხასიათდება შინაურ ღორებსა და ევროპულ გარეულ ტახებს შორის, იწვევს ფატალურ ჰემორაგიულ სინდრომს, პრაქტიკულად სიკდილიანობა 100% აღწევს. (Arias M & Sanchez Vizcaino J.M. 2002; Carrascosa J.L. at all 1984; Coggins L. 1974; Wardley R.C. 1987; Plowright W. 1969) ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსი დიდი ზომის კაფსულიანი ვირუსია, რომელიც შეიცავს დნმ-ის ორმაგსპირალიან დაახლოებით 190 კილო ფუძე წყვილ (kbp) გენომს. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ ASFV-ს ისეთივე გენომური სტრუქტურა და სტრატეგია ახასიათებს, როგორც სხვა დიდი ზომის დნმ-ის ორმაგჯაჭვიან ვირუსებს. ASFv და ყვავილების ვირუსები მრავლდება ინფიცირებული უჯრედის ციტოპლაზმაში, თავდაპირველად ცალკეულ პერინუკლეარული აწყოების საიტებზე, რომლებსაც „ვირუსის ქარხნებს“ უწოდებენ. ორივე სახის ვირუსს გააჩნია დროში გენების ექსპრესიის რეგულაციის უნარი და აქვთ გენომის მსგავსი სტრუქტურა, მსგავსი ტერმინალური ინვერტირებული განმეორებები, ტერმინალური ჯვარედინი კავშირი, ცენტრალური კონსერვირებული უბანი და ცვალებადი უბნები გენომის ყოველ ბოლოზე. არსებობს ვირუსის ერთი სეროტიპი, ვინაიდან ლაბორატორიაში გამოვლენილი იმუნოლოგიური სახესხვაობების მიუხედავად, ძალიან არამდგრადი არიან, რის გამოც კლასიფიკაციის საფუძველი ვერ გახდებიან. მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევებით ამ ეტაპზე გამოვლენილია 23 გენოტიპი, რომლებიც საკმაოდ სტაბილურია დროსა და სივრცეში და საფუძველს ქმნიან მოლეკულური ეპიდემიოლოგიური კვლევებისთვის. (Penrith M.L. 2007; Takezaki N. 1995; Saitou N. 1987). ASFV ერთადერთი დნმ-ს შემცველი არბოვირუსია, რომლის სასიცოცხლო ციკლში მონაწილეობს ფეხსახსრიანი მასპინძელი და ვექტორი. აფრიკის სუბ-სახარაში ის ჩართულია ტყის ციკლში გარეული

ლორებს (მეჭკეჭიანი ღორის და ფუნჯყურა ღორის) და არგასიდის *Ornithodoros*-ის გვარის ტკიპებს შორის. შინაური ღორისაგან განსხვავებით, ASFV-ით ინფიცირებული გარეული ღორი ძირითადად ასიმპტომურია და ვირემიის ტიტრი დაბალი აქვს. ენზოოტიის ადგილებში ზრდასრული მეჭკეჭიანი ღორის უმრავლესობა სეროპოზიტიულია და როგორც წესი ინფიცირებული (Simpson V.R. 1979). ASFV აინფიცირებს *ornithodoros*-ის გვარის ტკიპას. ტკიპადან ვირუსის იზოლაცია ინფიცირებიდან წლების განმავლობაშია შესაძლებელი. შინაური ღორის ASFV-ით ინფიცირებისას მასპინძლის და ვირუსის ფაქტორები განაპირობებენ დაავადების სხვადასხვანაირ კლინიკურ მიმდინარეობას დაწყებული მეტად ლეტალური და დამთავრებული სუბკლინიკური ფორმით. (Dixon L.K. 2000; Detray D.E. 1963) შინაურ ღორში ASFV-ს ვირულენტობის მთავარი განმაპირობებელია ვირუსის უნარი გამრავლდეს და გამოიწვიოს მაკროფაგების სერიოზული ციტოპათოლოგია ინ ვივო. დღეისათვის არ არსებობს ASFV-ის საწინააღმდეგო ვაქცინა და დაავადება კონტროლდება ცხოველების კარანტინის და დახოცვის საშუალებით (Dixon L.K. 1995, 2004).

ASFV-ის ვირიონი. ელექტრონულ მიკროგრაფიაზე ჩანს, რომ ASFV-ის ვირიონი შედგება 50-ზე მეტი პოლიპეპტიდისაგან და აქვს რთული მაგრამ რეგულარული, იკოსაედრული სიმეტრიის მქონე სტრუქტურა რამდენიმე კონცენტრული ფენით და 200 ნმ-ის საერთო დიამეტრით (Breese S.S. and DeBoer 1966; Carrascosa A.L. et al. 1984, 1985; Estevez A. et al. 1986; Schloer A. 1985; Epifano C. 2006). ვირიონის 80 ნმ-ის ცენტრალური ნაწილი (შუაგული, core) შედგება ელექტრონულად მკვრივი ნუკლეოპროტეინისაგან ანუ ნუკლეოიდისაგან. ის გარშემორტყმულია ცილის სქელი ფენით - მატრიქსით ანუ შუაგული საფარით (ნაჭუჭით), რომელიც შეიცავს რამდენიმე ვირუსულ ცილას. ეს ცილები შეადგენენ

ვირიონის ცილების მასის მესამედს (Andres G. et al. 1997, 2002). შუაგულის გარშემო არის ლიპიდების ორი ორმაგი შრე – შიდა მემბრანა. ის სავარაუდოდ წარმოიქმნება მასპინძლის დაზიანებული ენდოპლაზმური ბადისაგან (Andres G. et al. 1997, 1998; Rouiller I. et al. 1998). შიდა მემბრანის გარედან განლაგებულია კაფსიდი, რომელიც შედგება p72 (ან სხვა კლასიფიკაციით p73) სტრუქტურული ცილისაგან. ეს ცილა შეადგენს ვირიონში შემავალი ცილის მესამედს და ქმნის ვირიონის იკოსაედრულ სტრუქტურას (Andres G. et al. 1997; Carrascosa A.L. et al. 1986; Garcia-Escudero R. et al. 1998; Tabares E. et al. 1980a; Epifano C. 2006; Giorda R. 1996). ASFV-ს კაფსომერები განლაგებულია ჰექსაგონალური ბადის სახით. თითოეული კაფსომერი წარმოადგენს 13 ნმ დიამეტრის 4 ჰექსაგონალურ წყობას ცენტრალური ღრუთი (Carrascosa A.L. et al. 1984). კაფსიდის პარამეტრების და კაფსიდშორის დისტანციის (7.4–8.1 ნმ) მიხედვით ASFV-ს კაფსიდის ტრიანგულაციური რაოდენობა უდრის  $T=189-T=217$  და სავარაუდოდ ASFV-ს კაფსიდი შეიცავს 1892-2172 კაფსომერს (Carrascosa J.L. et al. 1984). კაფსიდს ფარავს ფაშარი გარე მემბრანა, რომელიც იქმნება უჯრედის პლაზმური მემბრანიდან ვირიონის გამოსვლის (გამოკვირტვის) დროს. ეს მემბრანა კაფსიდს სცილდება ხოლმე ოსმოსური შოკის ან დეტერგენტის ზემოქმედების შედეგად. ის არ არის აუცილებელი ვირუსის ინფექციისათვის (Andres G. et al. 2001b; Breese S.S. and DeBoer 1966; Carrascosa J.L. et al. 1984; Moura Nunes J.F. et al. 1975). უჯრედული მემბრანის მინარევებისაგან თავისუფალი ASFV-ს ნაწილაკების იზოლაცია გაუმჯობესდა პერკოლის სიმკვრივის გრადიენტების გამოყენების შედეგად. ამ დროს ვირიონების დალექვის კოეფიციენტი უდრის 3,500 3000S, დნმ-ს შეფარდება ცილასთან -  $0.18 \pm 0.02$ , ხოლო სპეციფიკური დამასნებოვნება შეადგენს ცილის  $2.7 \times 10^7$  PFU/მგ-ს (Carrascosa A.L. et al. 1985). ვირიონის 15 ცილოვანი კომპონენტი

მიგრირებს SDS-PAGE- ში იმავე მოლეკულური წონით, როგორც აქვთ უჯრედის ცილებს ან/და გააჩნიათ უჯრედის ცილების (აქტინის, ტუბულინის, ) მსგავსი იმუნორეაქტიულობა (Carrascosa A.L. et al. 1985; Estevez A. et al. 1986; Alcaraz A. 1989,1992; Aguado B.1991; Andres G. 1997, 2001). იმუნოელექტრონულმა მიკროსკოპიამ მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით გამოავლინა გარკვეული ცილები გარე (p14, p24), შუალედურ (p12, p72, p17, p37) და ნუკლეოიდის (p150) ფენებში (Carrascosa J.L. et al. 1986; Rodriguez F.1996; Redrejo-Rodruigez M. 2006; Martinez-Pomares L. 1997; Hawes P.C. 2008; Alejo A. 2003; Andres G. 2002; Hess W.R. 1982). ასეთივე ცილები ნახსია ყვავილის ვირუსის ვირიონში. ASFV-ს ვირიონებში აღინიშნება ენზიმური აქტივობა (რნმ-პოლიმერაზული, ნუკლეოზიდ ტრიფოსფატ ფოსფოჰიდროლაზური, ტოპოიზომერაზული, რნმ-ის გადაფარვა), რომელიც განაპირობებს მასპინძლის ციტოპლაზმაში ვირუსის რეპლიკაციის საწყის პროცესებს და აგრეთვე აქტივობა, რომელიც აუცილებელია მთელი ამ პროცესის წარმართვისათვის (Kuznar J. et al. 1980, 1981; Polatnick J. 1974; Salas M.L. et al. 1981, 1983). მომწიფებულ ვირიონში ჩართულია უბიკიტინის ლიპიდ-მოდულირებული ფორმაც (Webb J.H. et al. 1999).

## 2.2. ASFV-ის გენომი

ASFV-ს გენომი დნმ-ს ორმაგი ჯაჭვის მქონე მოლეკულაა. მისი ძირითადი თვისებები ცნობილია (Vinuela E. 1985). Vero-უჯრედებთან ადაპტირებული ASFV-ს გენომის ზომა 170 კ. ფუძეწყვილი პირველად დადგინდა ესპანეთში გავრცელებული ეპიდემიის დროს გამოყოფილ იზოლატებში - Badajoz 1971 (Almendral J.M. et al. 1984; Enjuanes L. et al. 1976;

Vadeira M.L. 1998; Carrascosa A.L. 2002; Santaren J.F. 1986). გენომური და რესტრიქციული 5 ფრაგმენტის დენატურაციის და ტერმინალურად ლოკალიზებული ფრაგმენტების მიერ ნუკლეაზას მიმართ რეზისტენტული S1 ჰეტეროდუპლექსების წარმოქმნის შემდეგ, სედიმენტაციის (დალექვის) მაჩვენებლები მიუთითებს ტერმინალურ გენომური კოვალენტური ჯვარედინი კავშირების არსებობაზე (Almendral J.M. et al. 1984; Ley V. et al. 1984; Ortin J. et al. 1979; Yanez R.J. 1995; Wishart D.S., 1994; Alcamí A. 1989). BA71V შეიცავდა 37 ადენინი-თიმინი (A+T)-ის დიდი რაოდენობით შემცველ, არასრულად ფუძე-შეწყვილებული ნუკლეოტიდების ტერმინალურ მარყუებებს, რომლებიც ინვერტირებული იყო და საწინააღმდეგო დაბოლოების მიმართ კომპლემენტარული (Nix R.J. 2006; Neilan J.G. 2002) მათი იზოლაცია ინფიცირებული უჯრედიდან შესაძლებელი იყო დიმერული ფორმის სახით, რაც სავარაუდოდ მიუთითებს თავი-თავი და კუდი-კუდი კონცატემერული რეპლიცირებადი შუალედური სტრუქტურების არსებობაზე (Gonzalez A. et al. 1986). დამატებითი ინვერტირებული თანმიმდევრობა ვრცელდებოდა 2.1 კვწ-ზე გენომის ბოლოდან. ეს ჩანს განმეორებითი გამოწვის შემდეგ ჰეტეროდუპლექსების ელექტრონული მიკროსკოპით შესწავლისას და აგრეთვე დენატურირებული ტერმინალური რესტრიქციული ფრაგმენტების საუთერნის ჯვარედინი ჰიბრიდიზაციისას (Almendral J.M. et al. 1984; Sogo J.M. et al. 1984). ეს ინვერტირებული ტერმინალური განმეორებების (TIR) თანმიმდევრობა შეიცავს დიდი რაოდენობით ტანდემურ განმეორებებს 27-35 ფუძე-წყვილით და იდენტურია გენომურ დაბოლოებებს შორის (de la Vega I. et al. 1994; Meireles M. and Costa J.V. 1994). ASFV-ს ტერმინალური მარყუეის მეზობლად აღინიშნული თანმიმდევრობები გავს ყვავილის ვირუსებში გამოვლენილ თანმიმდევრობებს, რომლებიც ვლინდება კონცეტემერული რეპლიკატური



შუალედების საშუალო გადიდებისას (de la Vega I. et al.1994; Meireles M. and Costa J.V. 1994). მთლიანობაში, ეს მახასიათებლები გამოხატავს მსგავსებას ASFV-სა და Poxviridae ოჯახის ვირუსებს შორის გენომის ზომასა და სტრუქტურაში (Vinuela E. 1985). Vero-უჯრედთან ადაპტირებული ASFV-ის ხაზი BA71V წარმოადგენს პროტოტიპს მოლეკულური კვლევისა და გენომის შესწავლისათვის, თუმცა უჯრედული კულტურის პასაჟის ვირუსები განსხვავდება გენომის მიხედვით. ეს გამოიხატება რესტრიქციული ფრაგმენტების განსხვავებაში, რომელიც გვხვდება აგრეთვე ASFV-ს სხვადასხვა იზოლატებში, რომელთა გენომის სიგრძე აღწევს 190 kbp –ს (Blasco R. et al. 1989a; Santurde G. et al. 1988; Tabares E. et al. 1987; Wesley R.D. and Pan I.C.1982). შედარებითი რესტრიქციული რუკის შედგენამ გამოავლინა გენომის ვარიანტების მრავალი ასპექტი. ASFV-ის მრავალფეროვანი აფრიკული იზოლატების რესტრიქციული პროფილები ნაკლებად იყო კონსერვირებული ევროპულ და ამერიკულ იზოლატებთან შედარებით. ეს ნიშნავს, რომ იმ რეგიონებში, სადაც ადვილად ხდებოდა ბუნებრივი ტრანსმისიის ციკლი, ვირუსების გენომი მეტად ჰეტეროგენული იყო და არა ის, რომ - აფრიკული იზოლატები საერთო წარმოშობის არიან (Blasco R. et al. 1989a; Dixon L.K. and Wilkinson P.J. 1988; Wesley R.D. and Tuthil A.E.1984) აფრიკული ASFV-ის იზოლატებში, რომლებიც დაკავშირებული იყო დაავადების აფეთქებასთან შინაურ ღორებში, გენომი მეტად ჰომოგენური იყო ტიპადან იზოლირებულ იზოლატებთან შედარებით (Dixon L.K. and Wilkinson P.J. 1988; Sumption K.J. et al. 1990). შემდგომმა მოლეკულურმა ფილოგენეზურმა კვლევამ, p72 გენის უტილიზაციით, დაამტკიცა: 1. დასავლურ-აფრიკული, ევროპული და ამერიკული იზოლატების შედარებითი ჰომოგენურობა, 2. იმ აფრიკული ხაზების ჰომოგენურობა, რომლებიც უკავშირდებოდა

დაავადების აფეთქებას შინაურ ღორებში და 3. სამხრეთ-და  
აღმოსავლეთ-აფრიკული იზოლატების შედარებითი ჰეტეროგენობა  
(Bastos A.D. et al. 2003; Lubisi B.A. et al. 2003, 2005; Wambura P.N. et al. 2006).  
ASFV-ის გენომი შეიცავს დისკრეტულ უბნებს და ელემენტებს,  
რომლებიც ვლინდება რესტრიქციული რუკის შედგენისას. ASFV-ის  
იზოლატები და უჯრედულ კულტურასთან ადაპტირებული ვირუსები  
შეიცავენ კონსერვირებულ, ცენტრალურად ლოკალიზებულ 125-kbp  
გენომურ შუაგულს, რომელშიც იშვიათია ინსერციულ-დელეციური  
მოვლენები და აგრეთვე ASFV-ის გენომის 13- 16-kbp ტერმინალურ  
უბნებს (Blasco R. et al. 1989a; Sumption K.J. et al. 1990; Tabares E. et al. 1987;  
Lopez Otin C. 1990; Ley V. 1984) ტერმინალური უბნის ვარიაბელობა  
ძლიერ გამოხატულია გენომის ტერმინალის მარცხენა მხარეს  
განმეორებად თანმიმდევრობაში 7–27 და განაპირობებს 9.5 kbp  
დელეციას BA71V-ში მშობლიური BA71–გან განსხვავებით (Aguero M. et  
al. 1990; Blasco R. et al. 1989a, 1989b; Sumption K.J. et al. 1990). ყველაზე  
დიდი ვარიაბელური უბნების თანმიმდევრობის ანალიზი ავლენს  
მულტიგენურ ოჯახებს, ხშირ შემთხვევაში ტანდემურად განლაგებულ  
გენებს, რომლებსაც აქვთ მსგავსი თანმიმდევრობები, წარმოადგენენ  
სხვადასხვა კოპიოს და კომპლემენტური არიან ASFV-ის იზოლატებში  
(Almendral J.M. et al. 1990; Gonzalez A. et al. 1990). ASFV-ის მონათესავე  
აფრიკულ იზოლატებში დაფიქსირებულია ცენტრალური ვარიაბელური  
და მინისატელიტის მსგავსი უბნები რომლებიც შედგება სხვადასხვა  
სიგრძის ტანდემური განმეორებებისაგან და ათეული ვარიაბელური  
გენომური უბნისაგან. გენომის ძირითადი ნიშნებია: ცენტრალური  
კონსერვირებული უბანი, ცენტრალური ვარიაბელური უბანი, მარცხენა  
და მარჯვენა ტერმინალური გენომური უბანი, ტერმინალური  
ინვერტირებული განმეორებადი თანმიმდევრობა. ტერმინალური გენო-

მური უბნები შეიცავენ მულტიგენის ოჯახის ტანდემებს ( MGF ) . MGFკოპიოების რიცხვი ცვალებადობს ვირუსის ხაზებს შორის. მოცემულ შემთხვევაში ხაზები მოიცავს პროტოტიპულ მაგრამ უჯრედულ კულტურასთან ადაპტირებულ ხაზებს BA71V და ვირულენტურ სავლე იზოლატებს (ქვედა მხარე, გენების ბანკის კოლექციიდან ASU18466, AY261361, AY261363). გენების ინსერცია და დელეცია ხდება მრავლობით MGF უბნებში. ხშირ შემთხვევაში MGF110 შემცველ უბნებში და აგრეთვე სავლე იზოლატებს შორის განსაკუთრებით ვარიანტულ უბნებში. (Yozawa T. 1994; Zsak L. 1996, 2001; Altschul S.F. 1990; Aguero M. 1990) ვირუსის ვირულენტობაში და მასპინძლის ნაირგვარობაში ზოგიერთი MGF გენის ფუნქციიდან გამომდინარე ეს ტერმინალური გენომური განსხვავებები სავარაუდოდ ხელს უნდა უწყობდეს ვირუსის იზოლატების ფენოტიპური განსხვავებების განვითარებას. აღნიშნული ვარიანტული უბნები, კერძოდ ცენტრალური ვარიანტული უბნები, გამოყენებულ იქნა ეპიდემიოლოგიურ მარკერად ერთნაირი გენოტიპების გარჩევისათვის (Bastos A.D. et al. 2004; Boshoff C.I. et al. 2007; Lubisi B.A. et al. 2007; Nix R.J. et al. 2006 ; Phologane S.B. et al. 2005; Holmgren A. 1985 ). ცალკეული იზოლატების კლონებში გამოვლინდა სიგრძის ჰეტეროგენურობა როგორც TIR განმეორებებში ასევე ტერმინალურ სპეციფიკურ თანამიმდევრობებში (Aguero M. et al. 1990; Blasco R. et al. 1989a, 1989b; de la Vega I. et al. 1994; Santurde G. et al. 1988). ASFV-ის გენომი შეიცავს რამდენიმე გარკვეულ მულტიგენის ოჯახის ტანდემებს MGF-ს ვარიანტობის სავარაუდო მექანიზმში იგულისხმება ჰომოლოგიური გენების ჩარჩოს შიდა რეკომბინაცია, დუბლიკაცია, დელეცია და ტერმინალური გენომური თანამიმდევრობის ტრანსპოზიცია (de la Vega I. et al. 1990; Vydelingum S. et al. 1993). საწყისი ASFV გენომური

თანმიმდევრობის ანალიზი შემოიფარგლა პათოგენური აფრიკული იზოლატის Malawi Lil20/1-ის მარჯვენა ბოლოდან აღებული BA71V, 55 kbp –ით და რამდენიმე პათოგენური და არაპათოგენური იზოლატის ნაწილობრივი თანმიმდევრობით (Dixon L.K. 1994; Yanez R.J. 1995). ASFV-ის გენომში ინტერ-და ინტრაგენური ტანდემები სტრუქტურულად მსგავსია ყვავილის ვირუსის გენომისა, მაგრამ უფრო ხშირია (Dixon L.K. 1994; Yanez R.J. 1995). BA71V გენომი შეიცავს 115 გენს სავარაუდოდ ღია წაკითხვადი ჩარჩოს (ORFs) სახით. მართალია TIR –ში არის 2 პატარა ORF, ყველა დანარჩენი წარმოდგენილია უნიკალურ მაკოდირებელ უბანში და განაწილებულია ორივე ჯაჭვზე, ტრანსკრიპციული ორიენტაციის თვალსაზრისით არჩევითობით გენომის ტერმინალისაკენ, რაც ხშირად გვხვდება ყვავილის ვირუსების გენომში, BA71V –ის 17 kbp მარცხენა ტერმინალში (Dixon L.K. 1994; Yanez R.J. 1995). BA71V–ის მთლიანი გენომის თანმიმდევრობის ანალიზმა უჩვენა, რომ აქ უპირატესია MGF და ASFV ტერმინალური გენომური თანმიმდევრობები: ხუთი MGF110, ორი MGF100, თორმეტი MGF360, რვა MGF505/530, ოთხი MGF300 გენი და ერთი სტრუქტურული p22 ცილის გენი, რომელიც წარმოდგენილია მხოლოდ BA71V –ის მარცხენა ტერმინალში. შვიდი აფრიკული პათოგენური საველე იზოლატის გენომური თანმიმდევრობის შემდგომმა ანალიზმა დაამტკიცა, რომ მაშინ როდესაც MGF გენები განაპირობებენ ASFV-ს ვარიაბელობას გენის კომპლემენტში, კონკრეტულად MGF110 გენებში, რომლებიც წარმოდგენილია 6-14 კოპიოს სახით, ASF-ს საველე იზოლატები ინარჩუნებენ მეტ MGF გენებს ვიდრე BA71V და ძირითადად ეს თანმიმდევრობებია პასუხისმგებელი გენომის დიდ, დაახლოებით 185–194 kbp სიგრძეზე. გენების ბანკში დაცული AY261360–AY261366) ASF-ს გენომი აკოდირებს მისი ვირიონის 9 რთული სტრუქტურის და

ინტრაციტოპლაზმური რეპლიკაციის ციკლის დამახასიათებელ ცილების კომპლემენტს. კოდირება ძირითადად ხდება ცენტრალურ გენომურ შუაგულში, რომელიც შედარებით დაკონსერვებულია სხვადასხვა ვირუსულ იზოლატებში (Dixon L.K. 1994; Yanez R.J. 1995). ამ ცილებს შორისაა მემბრანული და სხვა სტრუქტურული ცილები, რომლებიც არის ვირუსის ნაწილაკში და აგრეთვე ის ცილები, რომლებიც, როგორც ბოლო პერიოდის კვლევამ უჩვენა, ზეგავლენას ახდენს ვირიონის მორფოგენეზის სხვადასხვა ეტაპზე ინფიცირებულ უჯრედში (Afonso CL. et al. 1992; Alcamí A. et al. 1992, 1993; Brookes S.M. et al. 1998b; Camacho A. and Viluela E. 1991; Lopez-Otin C. et al. 1988, 1990; Munoz M. et al. 1993; Rodriguez F. et al. 1994; Simon-Mateo C. et al. 1995; Sun H. et al. 1995, 1996). სხვა ASF ცილებს აქვთ უჯრედის ცილების ან ენზიმების მსგავსი თანმიმდევრობები. ეს ცილები ჩართულია ნუკლეოტიდების მეტაბოლიზმში, დნმ-ს რეპლიკაციასა და რეპარაციაში, ტრანსკრიპციაში, ცილების მოდიფიცირებაში და იმ ენზიმური აქტივობის ორგანიზაციაში, რომლებიც წარმოდგენილია ASF-ს ვირიონში ან წარმოიქმნება ინფიცირებულ უჯრედში (Baylis S.A. et al. 1992, 1993a; Blasco R. 1990; Bournsnel M. et al. 1991; Freije J.M. et al. 1993; Hammond P.W. et al. 1992; Lu et al. 1993; Martin Hernandez L. and Tabares E. 1991; Martins A. et al. 1994; Rodriguez J.M. et al. 1993b; Yanez R.J. 1993; Yanez R.J. et al. 1993a, 1993b, 1993c; Gonzalez A. 1986; Date T. 1990; Cleland W.W. 1964). ამ ცილებიდან ზოგიერთი ამჟღავნებს შორეულ ნათესაობას ჰომოლოგებთან ყვავილის ვირუსში (Baylis S.A. et al. 1993b; Blasco R. 1990; Bournsnel M. et al. 1991; Freije J.M. et al. 1993; Martin Hernandez L. and Tabares E. 1991; Roberts P.C. et al. 1993; Yanez R.J. et al. 1993b;). მართლაც, კონსერვირებული გენური კომპლემენტების კლადისტიკური ანალიზი გვიჩვენებს, რომ ASFV-ს საერთო წარმოშობით უკავშირდება ყვავილის ვირუსებს და აგრეთვე

სხვა, დიდი ზომის, ბირთვსა და ციტოპლაზმაში რეპლიცირებად დნმ-ს შემცველ ვირუსებს Iridoviridae, Phycodnaviridae და Mimiviridae ოჯახებიდან (Iyer L.M. et al. 2001; Iyer et al. 2006). ამ მსგავსების მიუხედავად, ASFV-ს გენომი დივერგენტულია ვირუსების სხვა ოჯახების წარმომადგენლების მიმართ, აქვს ცოტა ჰომოლოგები შორეულ ნათესავებთან, არ გააჩნია გენების საერთო ხაზოვანობა (co-linearity) და ახასიათებს შედარებით უნიკალური ზოგადი გენური კომპლემენტი (Yanez R.J. 1995). ASFV-ს გენომში კოდირებული სხვა ენზიმური კომპონენტებია უჯრედული უბიკიტინის მაკონიუგირებელი ენზიმის ანალოგი, ტრანს-პრენილტრანსფერაზა, NifS-ის მსგავსი ცილა და ფუძის ამოჭრის რეპარაციის ენზიმური კომპონენტები (Hingamp P.M. et al. 1992; Rodriguez J.M. et al. 1992; Cortes H.J. 1987; Blasco R. 1990; Brookes S.M. 1998; Bairoch A. 1997; Bernardes C. 1995). ASFV აკოდირებს აგრეთვე ცილებს, რომლებიც სავარაუდოდ განაპირობებენ ვირუსის და მასპინძლის ურთიერთობას, ვირულენტობას და აძლიერებენ ვირუსის რეპლიკაციას მასპინძელში. ამ ცილებს შორისაა აპოპტოზის უჯრედული ინჰიბიტორების (IAP) ჰომოლოგები, Bcl-2, IKB, მიელოიდის დიფერენციაციის პირველადი პასუხის ანტიგენი MyD116, ლექტინის მსგავსი და CD2 ცილები (Borca M.V. et al. 1994b; Neilan J. et al. 1993a; Rodriguez J.M. et al. 1993a; Sussman M.D. et al. 1992). ვირულენტობის და მასპინძლის ნაირგვარობის განმაპირობებელი ამ ცილებიდან მრავალი, ისევე როგორც ცენტრალური ვარიანტული უბნის ცილა 9-RL (BA71V-ის მიხედვით pB602L) და ვარიანტული ტანდემის განმეორების შემცველი სტრუქტურული ცილა p54 (pE183L) (Irusta P.M. et al. 1996; Rodriguez et F. et al. 1994; Sun H. et al. 1995; Blasco R. 1989; Borca M.V. 1996; Beyers A.D. 1989; Bierer B.E. 1989; Rodriguez J.M. 2004; Pastor M.J. 1989, 1990) მიეკუთვნებიან ყველაზე ვარიანტულ ცილებს მრავალ სავსელ

იზოლატში. ეს ცილები დახასიათებულია თანმიმდევრობის მსგავსებით და /ან ბიოლოგიურად მაგრამ ჯერაც უცნობია თუ რა როლს თამაშობს ASFV-ს ცილების მთელი რიგი. ისინი შესაძლებელია მნიშვნელოვანი აღმოჩნდეს ვირუსის და მასპინძლის ურთიერთობისათვის.

### **2.3. ვირუსის პათოგენეზი, კლინიკური, პათოლოგიური ანატომიური ცვლილებები**

ჩვეულებრივ, ღორები ინფიცირდებიან ორო-ნაზალური გზით. ვირუსი პირველად ნუშისებურ ჯირკვლებსა და ქვედა ყბის ლიმფურ კვანძებში ხვდება. ზოგიერთ შემთხვევაში, ვირუსი ჯერ ბრონქულ ან კუჭის ლიმფურ კერებში აღმოჩნდება, რაც შესუნთქვით და ალიმენტარული გზით ინფიცირებაზე მიუთითებს, რომლის დროსაც ვირუსმა გვერდი აუარა ნუშურა ჯირკვლებს. ტკიპების ნაკბენის, ან დაბინძურების ნემსით ინფიცირებისას, ვირუსი პირდაპირ სისხლში ხვდება (Detray D.E. 1957; Moulton J. 1968; Sanchez Vizcaino J.M. 1987,2006; Maurer F.D. 1958).

ლიმფური კვანძებიდან პირველი რეპლიკაციის შემდეგ, ვირუსი ხვდება სისხლში. სისხლში ვირიონების 80%-მდე უკავშირდებიან ერითროციტებს და პერიფერიულ ლეიკოციტებს ნეიტროფილებს, სადაც გარკვეულ რეპლიკაციას განიცდიან. მწვავე ინფექციის მიმდინარეობისას ფიქსირდება ვირუსემიის მაღალი მაჩვენებელი  $10^8 \text{HAD}_{50}/\text{მლ-მდე}$ . (Detray D.E. 1957; Enjuanes L. 1976). ASF-ით ინფიცირებული ღორების სიკვდილის მიზეზი არის გავრცელებული ჰემორაგიებისა და დისემინირებული სისხლძარღვშიდა შედეგების შედეგად განვითარებული შოკი. ზოგ შემთხვევაში სიკვდილის უშუალო მიზეზი გამოწვეულია სუნთქვის უკმარისობით, რაც ვითარდება ფილტვების შეშუპებით, რა დროსაც ღორი საკუთარ

ექსუდატში იხილება, ხოლო ღორები რომლებიც გარკვეული ხნით რჩებიან ცოცხლები, იღუპებიან მულტიორგანული უკმარისობის შედეგად.(Moura Nunes J.F. 1983; Powell P.P. 1996; Dixon L.K. 1994, 2004).

ASF დამახასიათებელი მნიშვნელოვანი ნიშანია მაღალი სიკვდილიანობა ყველა ასაკის ღორებში. კლინიკური ნიშნები მიგვანიშნებს დაავადების არსებობაზე, თუმცა არა სპეციფიურია და ლაბორატორიული დადასტურება წარმოადგენს ყოველთვის აუცილებელობას (Konno S. 1971; Colgrove G.S. 1969; Ruiz-Gonzalvo F. 1986a, 1986b). ASF-ს ახასიათებს უეცარი სიკვდილი, დაავადების დამახასიათებელი კლინიკური ნიშნების გარეშე, როდესაც ვითარდება ელვისებური ფორმა.

მწვავე ASF-ის დროს აღინიშნება მაღალი ტემპერატურა 41-42<sup>0</sup> . მაღალ ცხელებას თან ახლავს უმადობა, ლეთარგია და უმოძრაობა, კიდურებზე და მუცელზე კანის გაწითლება, ჰემორაგიები კანზე და ლორწოვანზე, კანქვეშა დიფუზიური ჰემორაგიები, რომლებიც იწვევენ მორულჯო შეფერილობას კუდზე, ყურებზე. ასევე, შეიძლება განუვითარდეს ტკივილი მუცლის არეში, გულისრევა, შეკრულობა, დიარეა სისხლიანი გამონადენით, უკანა ფეხების სისუსტე ატაქსია, რის გამო ისინი დაწოლას არჩევენ, სუნთქვის გაძნელება, აბორტი გესტაციის ნებისმიერ პერიოდში, ნერვული სისტემის დაზიანების ნიშნები იმ ღორებში, რომლებიც დხანს რჩებიან ცოცხლები (Konno S. 1971; Chen et all. 2006, 2008, 2008a; Haresnape J.M. 1998).

ჩვეულებრივ, გამოწვეულია შედარებით დაბალი პათოგენობის ვირუსით. ცნობილი ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსების უმრავლესობა მაღალვირულენტურია და იწვევს მწვავე ან ელვისებურ ცხელებას მაღალი სიკვდილიანობით. სამხრეთ აფრიკაში ანგოლასა და კონგოს, აფრიკის გარეთ (ევროპაში, კარიბის აუზში) ლაბორატორიულ კვლევებში დაფიქსირებული აფეთქებების დროს აღწერილია დაბალი



ვირულენტობის მქონე ვირუსები. ლაბორატორიულ კვლევებში აღწერილია ASF-ის ავირულენტური ვირუსები, თუმცა მათი მნიშვნელობა უცნობია.(Moulton J. 1968; Wilkinson P.J. 1989; Wardley R.C. 1987; Galiardo C. 2006; Escribano J.M. 1987; Forman A.J. 1972; Penrith M.L. 2007). ASF-ის ვირუსის ვირულენტური შტამებით ინფიცირებული ღორების უმრავლესობა კვდება მწვავე ASF-ით გამოწვეული ფორმით. მათი გამომწვევი იყო გენოტიპი I-ის ვირუსის ვარიანტები, რომლებიც წარმოქმნილია სავარაუდოდ ანგოლაში. ვირულენტობის დაკარგვა დაკავშირებულია სავარაუდოდ, ვაქცინის შექმნისა და მცდელობის შედეგია, რაც დამთავრდა მარცხით, რამაც გამოიწვია ცირკულაციაში მოდიფიცირებული ვირუსების მოხვედრა. (Zsak I. 1993, 1996; Afonso C.L. 1998; Thomson G.R.1980, 1983, 1985). ასეთი ვარაუდის მიზეზი არის ის, რომ ბუნებრივ პირობებში ASF-ის ვირუსი არ კარგავს ვირულენტობას. 1960 წელს პორტუგალიაში შეტანილი ვირუსი მაღალვირულენტური იყო.

ქვემწვავე და ქრონიკული ASF-ის კლინიკური ნიშნები და პათოგენეზი არასპეციფიურია. ზოგიერთი მათგანი გამოწვეულია იმუნოსუპრესიის შედეგად განვითარებული მეორადი ინფექციით. იმუნოსუპრესიის მიზეზია ლიმფოციტების ფართოდ გავრცელებული აპოპტოზი. ღორებს, აღენიშნებათ ცხელება ჩვეულებრივ. პნევმონია ხშირად ქვემწვავე ASF-ის დროს გამოხატული ნიშანია. ეს ღორები იღუპებიან რამოდენიმე კვირაში, ASF-ის პირდაპირი დაზიანებით ან მეორადი ინფექციის გამო.(Ordasalvarez A. 1987; Plowright W. 1969; Bastos ADS.& Penrith M.L. 2004; Brookes S.M. 1998; Basto A.P. 2006; Roger F. 2001; Rojo G.1998; Mendoza C. 1991; Pan I.C. 1974).

ქრონიკული ASF-ის მქონე ღორმა შეიძლება იცოცხლოს 7-8 თვემდე, ან უფრო დიდხანს, მაგრამ მათი შენახვა არა მომგებიანია და ხდება მათი დაკვლა. ცხოველი გამოფიტულია და შეიძლება გაუხნდეს წყლულები. ხშირად აღინიშნება ქრონიკული პნევმონია. ნეკროფსიაზე

ვლინდება რომ ლიმფური კვანძები გადიდებული, მაგრამ არააქტიური და ფიბროზულია. ქრონიკულად ინფიცირებული ღორი სიკვდილამდე გამოყოფს ვირუსს. დაბალი შტამებით გამოწვეული ქრონიკული ფორმის დროს გამოვლინდება კანის დაავადება. ასეთი შემთხვევები დაფიქსირებულია დომენიკისა და ანგოლაში. ამ დროს ღორებს აღენიშნებათ წყლულები ირიოცეკალურ არეში, CSF-ის მსგავსად. (Plowright W. 1968, 1981; Whitlall J.T. 1997; Boshoff C.I. 2007, Coggins L. 1974; Wardley R.C.1982).

პათოლოგიური ანატომიური გაკვეთის შედეგად ჩვეულებრივ ASF-ის დროს აღენიშნებათ შემდეგი ტიპური დაზიანებები: სისხლიანი სითხის არსებობა მუცლისა და გულმკერდის ღრუში, ჰემორაგიები და შეგუბება ორგანოებში, ლიმფური კვანძები გადიდებული, ფილტვების ძლიერი შესუპება, რაც გამოვლინდება გამოსატული წილთაშუა ძვლით, ქაფის არსებობა ტრაქეაში და მნიშვნელოვანი მახასიათებელი ელენთა—გადიდებული და საკმაოდ მუქი ფერის, თირკმელზე სისლჩაქცევები, ჰემორაგიები გულზე (Salas M.L.1999; Wilkinson P.J. 1989; Sanchez Vizcaino J.M. 1987,2006; Maurer F.D.1958;).

#### **2.4. ღორის აფრიკული ცხელების ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა**

ვირუსის იზოლაცია: ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ზომა და სტრუქტურა ელექტრონული მიკროსკოპით ადვილად, იდენტიფიკაციის საშუალებას იძლევა. ეს ტექნოლოგია ძვირად ღირებულია და მთელი რიგი ლაბორატორიებისთვის ხელმიუწვდომელი. თუმცა, ვირუსის იზოლაცია უნიკალურია. ინტერპრეტაცია მოითხოვს გამოცდილებას და კვალიფიკაციას. (Breese S.S. 1966; Burrage T. 1994).

ვირუსის ეფექტების ვიზუალიზაცია: ჰემადსორბციის რეაქცია (HAD) ASF-ს დამადასტურებელი ტესტია. ღორის ერთროციტები მიეწებება ASF-ით ინფიცირებული მონოციტების ან მაკროფაგების ზედა-

პირს. ASF-ზე საექვო ღორის სისხლის ან ქსოვილის სუსპენზიის ინოკულაცია ხდება ლეიკოციტურ კულტურაში. ინოკულაციიდან 2-3 დღის შემდეგ HAD-ის დანახვა დადებით შემთხვევაში შესაძლებელია ბუფერულ ფიზიოლოგიურ ხსნარში ღორის ერთროციტების დამატებით. დადებითი და უარყოფითი კონტროლების არსებობა აუცილებელია არასპეციფიური HAD-ის გამოსარიცხად. HAD-ის არარსებობისას, უჯრედულ კულტურებს აკვირდებიან ციტოპათოლოგიური ეფექტების აღმოსაჩენად, რაც გამოვლინდება ადჰეზიის უნარის მქონე უჯრედების რაოდენობის შემცირებით. ( Zsak L. et al,1996; Gomez-Puertes P. 1996, 1988; Bastos A.P 2003; Hamdy F.M. 1984; Vigarío J.D. 1974; Simon-Mateo C.1997;) ჰემადსორბციის (HAD) ტესტი არის მაღალ მგრძობიარე და რუტინული მეთოდი ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის დეტექციისთვის ღორის სისხლის პირველადი უჯრედების კულტურაში, რომელიც ხასიათდება როგორც ზემოთ ავლნიშნეთ ფენომენის წარმოქმნით ჰემადსორბციით, დამახასიათებელი ციტოპათოლოგიური ეფექტით (Vallee I. 2001; Rouiller I. 1998; Roriguez J.M. 1993; Rabin E.M. 1993; Plowright W. 1998; Gonzague M. 2001; Sanchez Botija C. 1970; Ruiz-Gonzalvo F. 1986b, 1993). რეაქციის შედეგებს აკვირდებიან მიკროსკოპის მცირე გადიდებით. ASF ვირუსის მთავარი სამიზნე უჯრედებია მაკროფაგები და მონოციტები, კერძოდ ანტიგენის წარმდგენი უჯრედები, რომლებშიც ვირუსის რეპლიკაცია მიმდინარეობს ციტოპლაზმიშიდა "ვირუსის ქარხნებში" რომელთა მიმართაც ASF ვირუსს ძლიერი ტროპიზმი ახასიათებს. სწორედ ეს თვისება წარმატებით გამოიყენება ASFV in vitro კვლევებისთვის. რაც, გვაძლევს საშუალებას ვთქვათ, რომ სახეზეა ცოცხალი ვირუსი. (Moingeon P. 1989; Miller G.T. 1993; Genovesi E.V. 1990; Esparza I. 1988; Caririllo C. 1994; Casal I. 1984; Coggins L. 1968; Borca M.V. 1994).

ანტიგენის დეტექცია: იმონოფერმენტული ანალიზი (ELISA) აღიარებული სადიაგნოსტიკო ტესტია ცხოველთა ინფექციური დაავა-

დების გამოსავლინებლად. აქადან გამომდინარე ღორის აფრიკული ცხელების ანტიგენის (ვირუსის) და ანტისხეულების აღმოსაჩენად უპირატესობა ენიჭებათ ამ რეაქციებს (Zsak L. at all 1995, 2005; Knudsen R.C.1987; Kleiboeker S.B. 1998;).

ანტიგენის აღმოჩენი ELISA ტესტი ეფუძნება ორმაგი ანტისხეულების სენდვიჩის ტიპის იმუნოფერმენტული ანალიზს (DAS ან შებოჭვის ELISA). (Escribano J.M. 1989, 1990).

ანტისხეულების ტესტი (რეაქცია წარმოადგენს მახლოკირებელ იმუნოფერმენტულ ანალიზს (Blocking ELISA). ქვემოთ მოყვანილია მეთოდის მოკლე აღწერა. (Sanchez Vizcaino J.M. 1983; Sanz A. 1985; Malmquist WA. 1963). ანტისხეულების ტესტირება რეკომენდებულია ქვემწვავე და ქრონიკული ფორმების კვლევისას და განსაკუთრებით სასარგებლოა ერადიკაციის პრობლემების განხორციელებისას. მნიშვნელოვანია ზედამხედველობის აქტიური პროგრამების საკონტროლოდ, რომელიც გვაძლევს დაავადების და ინფექციის არ არსებობის დადასტურების საშუალებას. მისი, საშუალებით შეგვიძლია განვსაზღვროთ რამდენად თავისუფალია ტერიტორია დაავადებისაგან, აგრეთვე, გვაძლევს იმპორტ-ექსპორტი კონტროლის საშუალებას ანტიგენზე და PCR-ის კვლევებთან ერთად (Wardley R.C. 1979; Hutchings G.H. 2006).

მოლეკულური ტექნოლოგიის განვითარებამ ჩაანაცვლა ASF-ის სწრაფი რუტინული დიაგნოსტიკის სხვა მეთოდები. ეს მეთოდი როგორცაა PCR ცალკე იქნება აღწერილი, მაგრამ მაინც მნიშვნელოვანია იმის ცოდნაც აღმოჩენილი ASF ვირუსი ცოცხალია თუ არა, ამოტომ საჭიროა საცნობარო ლაბორატორიებს მაინც ჰქონდეთ იმის უნარი, რომ ვირუსული ანტიგენის დეტექციის გარდა, ვირუსის იზოლაციაც მოახდინონ. PCR უპირატესობებია ის, რომ სწრაფია, არაძვირადღირებული და მარტივი გზა დნმ-ის მასალის მისაღებად უმნიშვნელო

რაოდენობის დნმ-ის ფრაგმენტიდან. არ გამოიყენება რადიოიზოტოპები და ტოქსიური ქიმიური ნივთიერებები.

უპირატესობებთან ერთად აქვს ასევე შეზღუდვები: პრაიმერის სინთეზისათვის საჭიროა ვიცოდეთ ჩვენთვის საინტერესო დნმ-ის ფრაგმენტის თანმიმდევრობა. ჩვეულებრივ იყენებს მხოლოდ დნმ-ის მოკლე ფრაგმენტებს 5 კილო ბაზაზე ნაკლებს (აზოტოვანი ფუძეების წყვილი)(referenceHttp://www.engin.umich.edu/dept/che/research/gulari/bilge.htm;reference: [http://www.appliedbiosystems.com/support/tutorials/pdf/rtPCR\\_vs\\_tradPCR.pdf](http://www.appliedbiosystems.com/support/tutorials/pdf/rtPCR_vs_tradPCR.pdf); Gonzague M., 2002; King D.P., 2003).

მყისიერი PCR-ის დროს მიკრომოცულობითი ფლუორომეტრი არის ინტეგრირებული თერმოციკლერთან, ისე, რომ შესაძლებელი ხდება ამპლიფიკაციის შედეგად მიღებული პროდუქტების დეტექცია, რომელიც გამოისახება სიგნოიდური მრუდების სახით მონიტორზე. მყისიერი PCR-ს გარკვეული უპირატესობები აქვთ ჩვეულებრივ PCR-თან შედარებით, არის უფრო სწრაფი და გამოსაყენებლად მოხერხებული. თუმცა ორივე ტესტს სჭირდება დნმ-ის ექსტრაქცია. ეს ტესტები წარმოადგენს მნიშვნელოვან ტექნოლოგიას როგორც სადიაგნოსტიკო, ისე, სამეცნიერო შემდგომი კვლევების განსახორციელებლად. (Zsak L. 1995; Agüero M. 2003,2004; Wilkinson P.J. 1989).

ელექტროფორეზი-არის ანალიტიკური მეთოდი, რომელიც გამოიყენება მაკრომოლეკულების განცალკავებისთვის და გასუფთავებისთვის. განსაკუთრებით ცილების და დეზოქსირიბონუკლეინის მუკავებისთვის ელექტროველის ძალის გამოყენებით. ის წარმოადგენს ყველაზე ფართოდ გამოყენებად ტექნიკას ბიოქიმიისა და მოლეკულურ ბიოლოგიაში. აგაროზას გელი გათვალისწინებულია ფართო სპექტრის ნიმუშის განცალკავებისთვის, ამასთან დაბალი ძალის გამოყენებით. აგაროზას საშუალებით შესაძლებელია ნუკლეინის მუკავების ფრაგმენტის დაახლოებით 200-50000bp-ის განცალკავება, სტანდარტული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით. განცალკავების შემდეგ დნმ-

ის სხადასხვა ზომის ფრაგმენტების ვიზუალიზაცია ხდება ფლუორეცენტრული საღებავის საშუალებით სპეციფიური დნმ-ის ურთიერთქმედებით. აგაროზას გელისთვის ჩვეულებრივ იყენებენ ეთიდიუმ ბრომიდის საღებავს, რომლებიც ფლუორესცირებს და ნიმუშების დანახვა ხდება ულტრაიოლექტი სხივების საშუალებით. დნმ-ის ფრაგმენტების სიგრძის შედარება ხდება მოლეკულური წონის სტანდარტად მიღებული პლაზმიდებით, რომელიც შესაბამისად დამუშავებულია რესტრიქციული ენზიმებით ისე, რომ მიღებულია ჩვენთვის საჭირო 12 ბენდი და გამოიყენება როგორც რეფერენს სტანდარტი. (1კბ DNALadder). (Urzaingui A. 1987; Salas M.L. 1999). ნუკლეინის მჟავების თანმიმდევრობის განსაზღვრა სეკვენსირება--სეკვენსი ინგლისური სიტყვაა და თანმიმდევრობას ნიშნავს. ბიოპოლიმერების სეკვენსირების დროს განისაზღვრება პირველადი ამინო და ნუკლეოტიდების მჟავების თანმიმდევრობები. საბოლოოდ, მიიღება სიმბოლური ხაზოვანი აღწერა, რომელიც განსაზღვრავს მოლეკულების ატომურ სტრუქტურას. მიღებულია სეკვენსირების რამოდენიმე მეთოდი: ედმანის, სენგერის და სხვა. (Sanger F. 1977). თანამედროვე მოლეკულურ ბიოლოგიაში ნუკლეომჟავების განსაზღვრად გამოიყენება სენგერის მეთოდი დიდფოკსირნუკლეოზიდტრიფოსფატების გამოყენებით (ddNTP). რომლის საშუალებით შეგვიძლია ვირუსის გენომის სტრუქტურის, ფილოგენეტიკური ხის, ცენტრალური ვარიანტული რეგიონის (CVR) გენზე ჩატარებული კვლევებით განსაზღვროთ ASF ვირუსების გენოტიპებს შორის კავშირი და დავადგინოთ სიახლოვე სხვადასხვა ვირუსის შტამებს შორის. ასევე, გენური მოდიფიკაციების საშუალებით სამეცნიერო კვლევების ჩატარების. (Walowsky C., 1999; Thompson J.D. 1994; Tamura K. 2007; Sharma D. 2000; Breard W.A. 2006; Cbbold C. 2007; Grzesiek S. 1992, 1993, 1996; Hajduk P.J. 1997) (Yamazaki T. 1994; Tsai Y.C. 2006; Showalter A.K. 2001 Shuker S.B. 1996; Kimura M.A. 1980; Lamarche B.J. 2006; Prased R. 1998; Ren B. 2009)

### **3. საკუთარი გამოკვლევები**

#### **3.1. მასალა და მეთოდოლოგია**

სამუშაოები შესრულებულია 2007-2010 წლებში საქართველოს აგრარულ უნივერსიტეტში, სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში (LMA), ხოლო, კვლევების ნაწილი შესრულებულია ცხოველთა ევზოტიკურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის ცენტრში, პლამაილენდი, აშშ-ში. კვლევის ობიექტად აღებული იქნა სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში შემოსული (2964 ნიმუშიდან დადებითი იყო 415 ნიმუში.) პათოლოგიური მასალები (ღვიძლი, ელენთა, სისხლი, სისხლის შრატ) ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკისა და სამეცნიერო კვლევების მიზნით. კვლევისთვის გამოყენებული იქნა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR) და იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELISA). ვირუსის ვიზუალიზაციისათვის და ვირულენტობის განსაზღვრისათვის ვიყენებდით ჰემადსორბციის რეაქციას. მოვახდინეთ ვირუსის იზოლაცია ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპის საშუალებით და მივიღეთ რეკომბინანტი გენი საქართველოში დაფიქსირებული ნიმუშებისთვის ატენუირებული შტამის შექმნის მიზნით.

#### **3.1.1. ვირუსის იზოლაცია ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპით.**

ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპით ადვილად იდენტიფიკაციის საშუალებას იძლევა. ეს ტექნოლოგია ძვირად ღირებულია და მთელი რიგი ლაბორატორიებისთვის ხელმიუწვდომელი. თუმცა ვირუსის იზოლაცია უნიკალურია, ინტერპრეტაცია მოითხოვს გამოცდილებას და კვალიფიკაციას (Breese S.S. 1966; Burrage T. 1994) მისმა განვითარებამ საშუალება მოგვცა ქსოვილთა და უჯრედთა სტრუქტურის ნატიფი ორგანიზაციის შესწავლის. ელექტრო მიკროსკოპთან მუშაობის დროს, უნდა გათვალის-

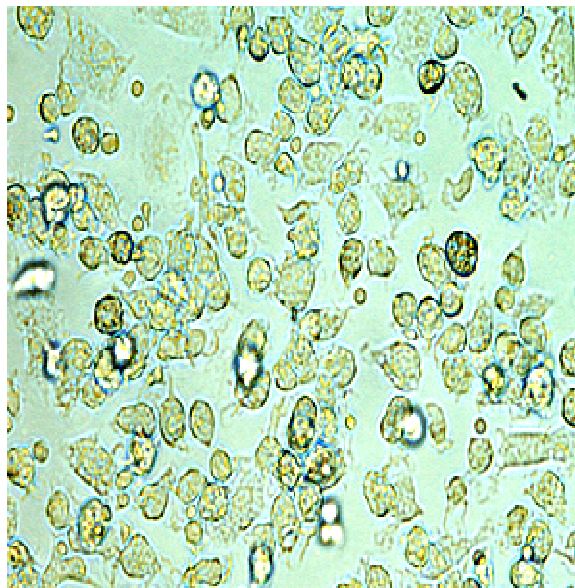
წინებული იყოს, რომ სუბმიკროსკოპული სტრუქტურები თავისი ნაზი შენების გამო ძალზე მგრძობიარენი არიან ყოველი ზემოქმედების მიმართ. ამიტომ, შესასწავლი ქსოვილის დამუშავება მოითხოვს, ზედმიწევნით სინაზეს და სიზუსტეს კვლევის ყოველ მომდევნო ეტაპზე. ვირუსის იზოლაცია წარმოადგენს ლაბორატორიული კვლევის ოქროს სტანდარტს.

### 3.1.2. ჰემადსორბციის რეაქცია.

ASF-ით ინფიცირებული მონოციტების ან მაკროფაგების ზედაპირზე (Borca M.V. 1994) ASF-ზე საეჭვო ღორის სისხლის ან ქსოვილის სუსპენზიის ინოკულაცია ხდება ლეიკოციტურ კულტურაში. ინოკულაციიდან 2-3 დღის შემდეგ HAD-ის დანახვა დადებით შემთხვევაში შესაძლებელია ბუფერულ ფიზიოლოგიურ ხსნარში ღორის ერითროციტების დამატებით. უარყოფითი და დადებითი კონტროლების არსებობა აუცილებელია არასპეციფიური HAD-ის გამოსარიცხად. არაინფექციური მაკროფაგების უარყოფითი კონტროლი (სურათი 5). დაინფიცირებული მაკროფაგის უჯრედები განვითარებული ციტოპათოლოგიური ეფექტით (სურათი 6.)

სურათი 5

არაინფიცირებული მაკროფაგის უჯრედები.

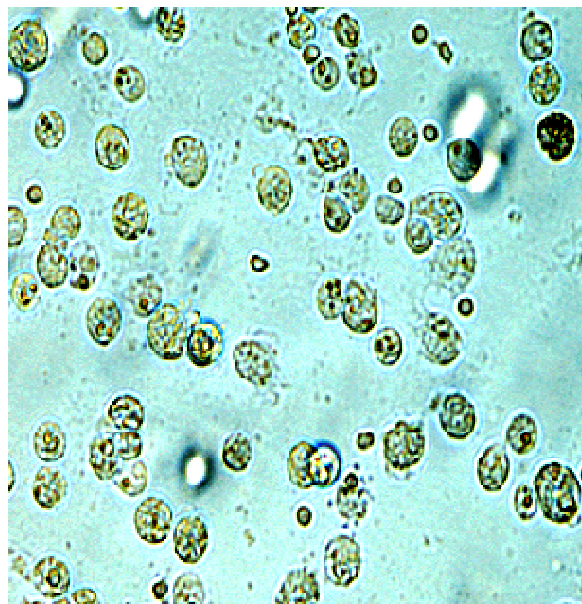




HAD-ის არარსებობისას, უჯრედულ კულტურებს აკვირდებიან ციტოპათოლოგიური ეფექტების აღმოსაჩენად, რაც გამოვლინდება ადჰეზიის უნარის მქონე უჯრედების რაოდენობის შემცირებით (სურათი 6). ეფექტები შეიძლება, გამოწვეული იყოს არა მხოლოდ ASF-ის ვირუსით, არამედ სხვა ინფექციური აგენტებით, ამიტომ საჭიროა

სურათი 6

დაინფიცირებული მაკროფაგის უჯრედი ც. ეფექტით

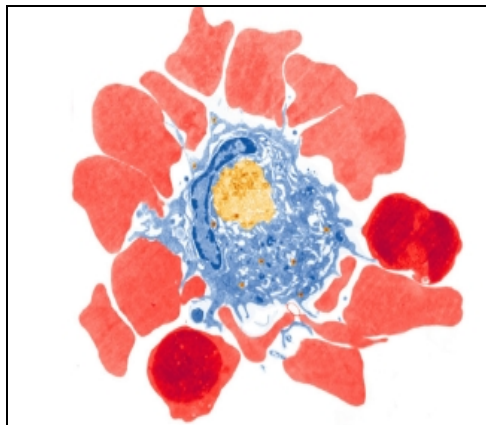


ამ ნიმუშების გამოკვლევა მოხდეს FAT-ით, ან PCR-ით, რათა დადასტურდეს არაჰემადსორბციული ASF ვირუსის არსებობა. (Zsak L. et al, 1996). ჰემადსორბციის (HAD) ტესტი არის მაღალ მგრძობიარე და რუტინული მეთოდი ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის დეტექციისთვის ღორის სისხლის პირველადი უჯრედების კულტურაში, რომელიც ხასიათდება როგორც ზემოთ ავნიშნეთ ფენომენის წარმოქმნით---ჰემადსორბციით, ციტოპათოლოგიური ეფექტით. (Vallee I. 2001; Rouiller I. 1998; Roriguez J.M. 1993; Rabin E.M. 1993; Plowright W. 1998; Gonzague M. 2001; Sanchez Botija C. 1970; Ruiz-Gonzalvo F. 1993). რეაქციის შედეგებს აკვირდებიან მიკროსკოპის მცირე გადიდებით. ASF ვირუსის მთა-

გარი სამიზნე უჯრედებია მაკროფაგები და მონოციტები, კერძოდ ანტიგენის წარმდგენი უჯრედები, რომლებშიც ვირუსის რეპლიკაცია მიმდინარეობს ციტოპლაზმიში და „ვირუსის ქარხნებში“ რომელთა მიმართაც ASF ვირუსს ძლიერი ტროპიზმი ახასიათებს. სწორედ ეს თვისება წარმატებით გამოიყენება ASFV in vitro კვლევებისთვის. ASF ვირუსის აღმოსაჩენად ვირუსით დაჭირიანებულ ქსოვილის კულტურას უმატებენ ერითროციტების სუსპენზიას. თუ გამოსაკვლევი მასალა შეიცავს ვირუსს, მაშინ მონოშრეხე ადგილი ექნება ერითროციტების ადსორბციას, წარმოიქმნება ე.წ. „როზეტები“ (მტევნები, ძეწკვები). (სურათი 7; 8 ა, ბ).

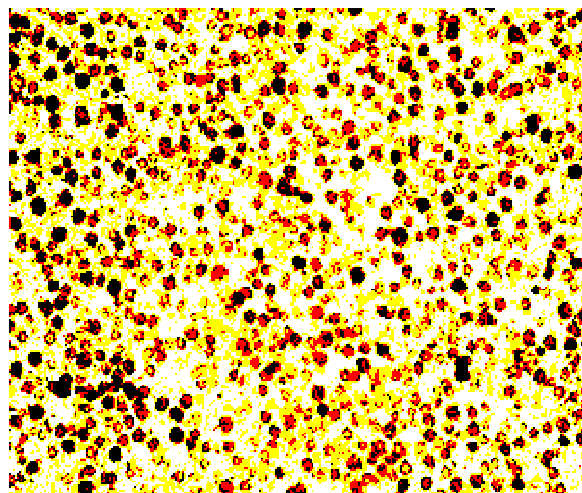
სურათი 7

მაკროფაგის უჯრედი, რომელიც იერთებს ერითროციტის უჯრედებს.

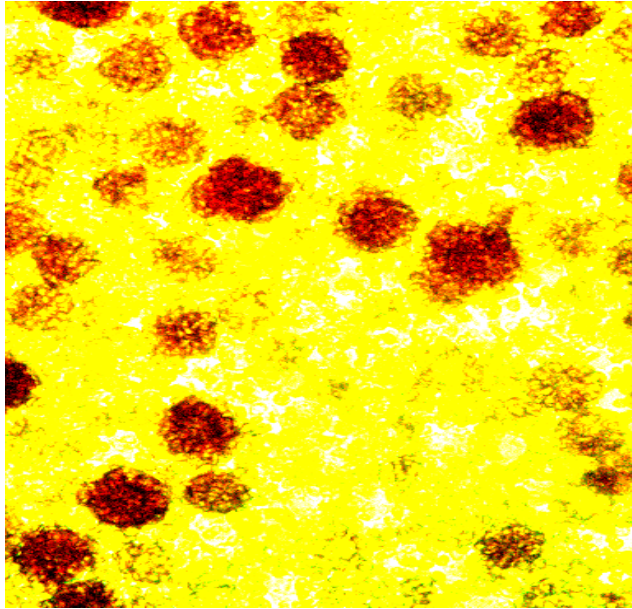


სურათი 8 ა

განვითარებული ჰემადსორბცია მაკროფაგის უჯრედებში



ინფიცირებული მაკროფაგის უჯრედები ადსორბირებული  
ერიტროციტებით



დამახასიათებელი გროვები, რეაქცია ითვლება დადებითად. თუ მიკროსკოპში მცირე გადიდებით დაკვირვებისას ერიტროციტები არ მიემაგრებიან მონოშრეს ან ადსორბციას განიცდიან ერთეული ერიტროციტები, რეაქცია ამ დროს არის უარყოფითი. ჰემადსორბციის გამოვლენა დამოკიდებულია ციტოპათოლოგიურ ეფექტზე, რაც უფრო მაღე ხდება ცპ ცვლილებების განვითარება მით უფრო მკვეთრად არის გამოხატული ერიტროციტების შეწებება. მოკლე პროტოკოლი მაკროფაგების მომზადების და გამოყენებული მასალა და რეაგენტები ემუშაობთ BSL-2 კაბინეტში: სტერილური ფილტრები 0.22μl-იანი მედიუმის გასაფილტრად, 0.45μl-იანი შრატის გასაფილტრად; I დღეს ვამზადებთ გამოსაყენებელ რეაგენტებს: RPMI-მედიუმი უჯრედული და ქსოვილოვანი კულტურებისთვის ინახება +4°C. ანტიბიოტიკი-ანტიმიკოციტი და ხბოს ემბრიონის შრატი ინახება +4°C (FBS- Fetal Bovine Serum). ხოლო, 1ლ ღორის სისხლს, შრატის გამოსაყოფად ვათავსებთ წყლის აბაზანაში +37°C 1სთ-ის განმავლობაში. L 929 (1943

წელს ერლის მიერ შემუშავებული უსასრულოდ გამრავლების უნარის მქონე თაგვების ფიბრობლასტების L ხაზები) ინახება  $-20^{\circ}\text{C}$ -ზე, რომელსაც გამოყენების წინ ვაღდობთ  $+37^{\circ}\text{C}$  წელის აბაზანაში. ვამატებთ 150 მლ L 929-ს, 50 მლ FBS, 5 მლ ანტიბიოტიკ-ანტიმოკოცინი, 250 მლ RPMI რეაგენტებს და ვფილტრავთ  $0.22\ \mu\text{m}$  ფილტრის მეშვეობით. დარჩენილი 250 მლ RPMI-ს ვუმატებთ 5 მლ ანტიბიოტიკ-ანტიმოკოციტს შემდგომი გამოყენებისთვის. 35 მლ პლაზმა შეგვაქვს 6 ცალ კონიკალ სინჯარებში, და ცალკე 50 მლ 2 ცალ კონიკალ სინჯარაში. რომელშიც ვამატებთ 10 მლ ფიკოლი, სედიმენტაციისთვის. ვაცენტრიფუგირებთ 1350 rpm 30 წთ. მივიღებთ შრატს, სისხლის თეთრ უჯრედებს (ლეიკოციტებს) და სისხლის წითელ უჯრედებს (ერიტროციტებს). შრატი გადაგვაქვს დიდი საცენტრიფუგო სინჯარაში, ვაბალანსებთ და ვაცენტრიფუგებთ 6000 rpm 30წთ ოთახის ტემპერატურაზე. მიღებულ შრატს ვფილტრავთ  $0.45\ \mu\text{m}$  ფილტრის, შემდეგ კი  $0.22\ \mu\text{m}$  ფილტრის მეშვეობით. სისხლის თეთრი უჯრედები (ლეიკოციტები) შევავროვეთ სინჯარაში და დავამატეთ 25 მლ RPMI. ვაბალანსებთ და ვაცენტრიფუგებთ 10წთ. 1250 rpm. გადავღვრით ლაობრატორიულ სტერილურ ჭიქაში მედიუმის სითხეს და დარჩენილ უჯრედების ნალექს დავამატებთ 25 მლ RPMI გასარეცხად. ვიმეორებთ ამ პროცედურას 2-ჯერ 1000 rpm. ცენტრიფუგის შემდეგ ვიღებთ სისხლის თეთრ უჯრედებს (ლეიკოციტები). ვამზადებთ სრულ(complete) მედიას: ვიღებთ 350 მლ (RPMI) ვამატებთ 150 მლ გაფილტრულ შრატს. 210 მლ ვიღებთ 250 მლ სტერილურ ბოთლებში მოსათესი Seeding მედია, 115 მლ მოსაფენიმედია. 160 მლ გამოსაცვლელი (changing) მედია. უჯრედებს რესუსპენზიას ვუკეთებთ 210 მლ მედიით და შეგვაქვს პირველადი ქსოვილოვანი კულტურის მატრასში (Flask) 20 მლ რესუსპენდირებული თეთრი უჯრედები, გაუკეთეთ ინკუბაცია 2სთ.

+37°C ინკუბატორში 5% CO<sub>2</sub>-ით. 2 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ, გადავღვარეთ ლაბორატორიულ ჭიქაში მედიას და დაუმატეთ ახალი 15 მლ-ს ყოველ მატრასს, ისევ გაუკეთეთ ინკუბაცია 2სთ. +37°C ინკუბატორში 5% CO<sub>2</sub>-ით მთელი ღამით. II დღეს მოვამზადეთ PBS (Dublecco, DPBS) 500 მლ უჯრედების გასარეცხად, რომელსაც დაუმატეთ 10 მლ EDTA და გავფილტრეთ 0.22 µl ფილტრის საშუალებით. მთელი ღამის ინკუბაცია შემდეგ დავამატეთ 10 მლ ოდენობით PBS, გამოვრეცხეთ, გადავღვარეთ და დაუმატეთ 10 მლ რაოდენობით PBS, გაუკეთეთ 10 წთ იკნუბაცია +37°C ინკუბატორში 5% CO<sub>2</sub> იმისათვის, რომ მოცილდეს მატრასის კედლებზე დაფიქსირებული უჯრედები. ვამზადებთ კონიკალ სინჯარებს, შეგვაქვს 5 მლ რაოდენობით FBS და აქვე შეგვაქვს ელექტრო პიპეტორის საშუალებით უჯრედების სუსპენზია. დავაცენტრიფუგეთ 1000 rpm 10 წთ, შემდეგ გადავღვარეთ PBS-და დარჩენილი ნალექი (ლეიკოციტები) აღვადგინეთ 115 მლ მოსაფენ მედიაში და 10 მლ ოდენობით შეგვაქვს ახალ მატრასებში, რომელთაც გაუკეთდა 3სთ ინკუბაცია +37°C ინკუბატორში 5% CO<sub>2</sub>-ით. გამოწმებ ინკუბაციის შემდეგ უჯრედებს ელექტო მიკროსკოპის დახმარებით (NIKON 0,2A, TMS). შემდეგ ვასნებოვნებ პირველადი ქსოვილის კულტურას შემაქვს 1მლ ვირუსი მატრასებში, და ვდგავთ უარყოფით კონტროლს, რომელშიც ვირუსი არ შეგვაქვს. უკეთებთ ინკუბაციას +37°C ინკუბატორში 5% CO<sub>2</sub>-ით დაახლოებით 3სთ განმავლობაში. სანამ არ განვითარდება ციტოპათოლოგიური ეფექტი. ჰემადსორბციის გამოსავლენად ვამზადებთ და ვრეცხავთ სისხლის წითელი უჯრედების ვიდებთ 15 მლ სისხლს კონიკალ სინჯარაში და ვაცენტრიფუგებთ 2000 rpm 20 წთ, ცენტრიფუგის შემდეგ ამომაქვს 3მლ წითელი უჯრედები და შემაქვს ახალ სინჯარაში და ვამატებ 10 მლ 1x PBS. დავცენტრიფუგეთ 2000 rpm 20 წთ, ცენტრიფუგირების შემდეგ გადავღვრით სითხეს და დავამატებთ სისხლის წითელ უჯრედებს

დაახლოებით 12 მლ ოდენობით 1x PBS. ვიმეორებთ გარეცხვის პროცედურას 2-ჯერ. ცენტრიფუგის შემდეგ ერითროციტები დალექილია სინჯარის ფსკერზე, გადავღვარეთ ზედმეტი სითხე ლაბორატორიულ ჭიქაში და მოვამზადეთ 20%-იანი ერითროციტები BRC. ვამატებთ ინფიცირებულ უჯრედებს. გაუკეთეთ ინკუბაცია +37°C ინკუბატორში 5% CO<sub>2</sub>. დაახლოებით 3 სთ შემდეგ განვითარება დაიწყო და მოხდა შეწებება ერითროციტების ინფიცირებულ უჯრედთან, რაც იმის დამადასტურებელია, რომ გვაქვს სახეზე ვირუსი. (Moingeon P. 1989; Miller G.T. 1993; Genovesi E.V. 1990; Esparza I. 1988; Caririllo C. 1994; Casal I. 1984; Coggins L. 1968; Malmquist W.A. 1963).

### 3.1.3. იმუნოფერმენტული ტესტი

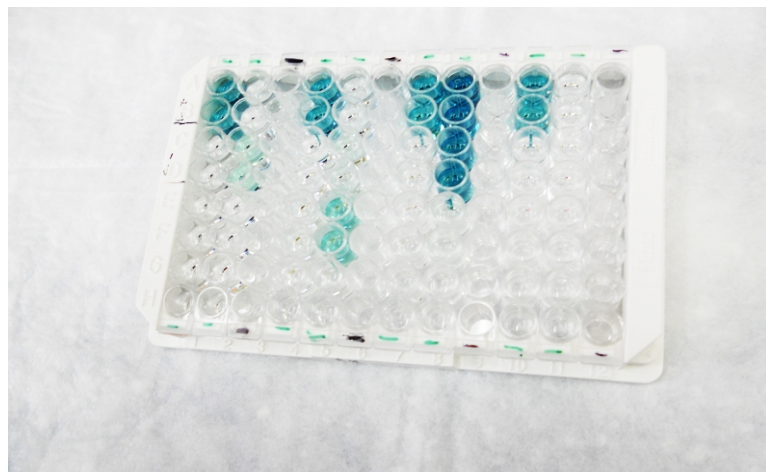
ანტიგენის დეტექცია: ანტიგენის აღმომჩენი ELISA ტესტი ეფუძნება ორმაგი ანტისხეულების სენდვიჩის ტიპის იმუნოფერმენტული ანალიზს (DAS ან შებოჭვის ELISA). (Zsak L. at all 1995, 2005; Onisk D,V. 1994). ქვემოთ მიმოხილულია მეთოდის მოკლე აღწერილობა: პლანშეტის ფოსოები ამოფენილია ღორის აფრიკული ცხელების (ASFV) ვირუსის VP73-ის მიმართ სპეციფიური მონოკლონური ანტისხეულებით (MAB). შესაბამისად, როდესაც ფოსოებში ხდება ნიმუშის შეტანა, თუ ნიმუში შეიცავს ანტიგენს, იგი განიცდის შებოჭვას ფოსოში ამოფენილი ანტისხეულების მიერ. გამორეცხვის შემდეგ ფოსოებს ემატება სხვა VP73-მონოკლონური ანტისხეულები (სპეციფიური სხვა ეპიტოპის მიმართ), რომელნიც კონიუგირებულია პეროქსიდაზასთან. (Wardley R.C. 1979; Hutchings G.H. 2006). (პეროქსიდაზით მონიშნული MAB), თავის მხრივ, შედის მასთან ბმაში და შესაძლებელი იქმნება პეროქსიდაზის დეტექცია შესაბამისი სუბსტრატის საშუალებით. სატესტირებელ ნიმუშებად შეიძლება იყოს გამოყენებული ნებისმიერი ქსოვილი, რომელიც შეიძლება იყოს ინფიცირებული. ჩვენ ვუწევთ რეკომენდაციას,



სადიაგნოსტიკო ნიმუშებად გამოყენებულ იქნას სისხლი, ელენთა ან ლიმფური კვანძები (ნიმუშები, სადაც მოსალოდნელია ვირუსების უფრო მაღალი კონცენტრაცია.) (Escribano JM., 1989, 1990). სურათი 9 (ა,ბ) გამოსახულია იმუნოფერმენტული ანალიზის შედეგები პლანშეტებზე ა) ELISA-Ag ანტიგენის შედეგები, ბ) ELISA-Ab ანტისხეულების კვლევის შედეგები.

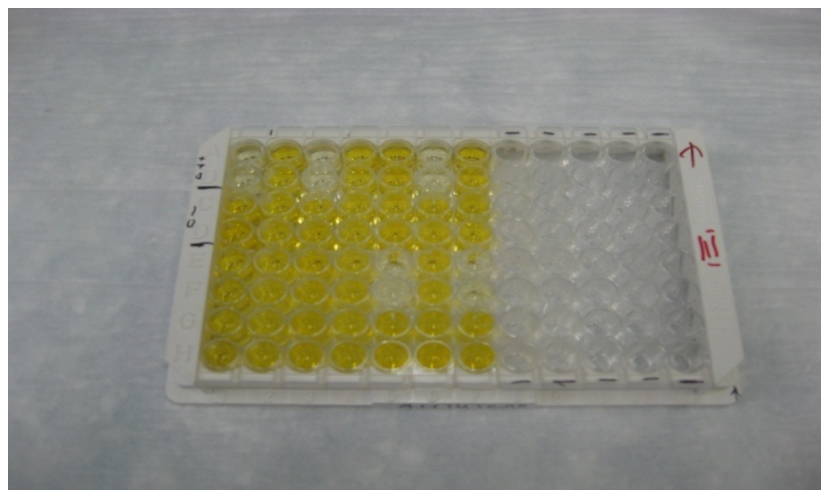
სურათი 9 ა

ELISA-Ag-ის ტესტი შედეგი.



სურათი 9 ბ

ELISA-Ab-ის ტესტი შედეგი.



ანტისხეულების ტესტი (რეაქცია წარმოადგენს მახლოკირებელ იმუნოფერმენტულ ანალიზს (Blocking ELISA). ქვემოთ მოყვანილია მეთოდის მოკლე აღწერა: ანტიგენის აბსორბირება ხდება მყარ

ზედაპირზე (პოლისტირენის პლანშეტზე). იმ შემთხვევაში, თუ შრატის ნიმუში შეიცავს ვირუსის საწინააღმდეგო სპეციფიურ ანტისხეულებს, მოხდება მათი ბმა პლანშეტზე აბსორბირებულ ანტიგენტან, ხოლო თუ შრატის ნიმუში არ შეიცავს სპეციფიურ ანტისხეულებს, არ მოხდება მათი ანტიგენტან ბმა. თუ დავამატებთ ვირუსული ანტიგენის (რომლითაც ამოფენილია პლანშეტი) საწინააღმდეგო პეროქსიდაზასთან კონიუგირებულ სპეციფიურ მონოკლონურ ანტისხეულს (Mab), ის კონკურენციას მოახდენს შრატის ანტისხეულებთან. თუ შრატის ნიმუშები შეიცავს სპეციფიურ ანტისხეულებს, შეუძლებელი იქნება მონიშნული Mab-ის ბმა ანტიგენტან, ხოლო თუ ნიმუში სპეციფიურ ანტისხეულებს არ შეიცავს – Mab-ის ბმა ანტიგენტან პლანშეტზე მოხდება. დაუფიქსირებელი მასალისგან გასათავისუფლებლად პლანშეტის გარეცხვის შემდეგ შეგვიძლია ვნახოთ მონიშნული Mab-ის არსებობა ან არარსებობა სპეციფიური სუბსტრატის დამატების გზით, რომელიც პეროქსიდაზის არსებობისას იძლევა კოლორიმეტრულ რეაქციას. ჩვენს სარეაქციო კომპლექტში ანტიგენი, რომლითაც ამოფენილია პლანშეტი, შედგება ვირუსის (VP73) პროტეინის გაწმენდილი ექსტრაქტისგან, რომელიც წარმოადგენს ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის მთავარ სტრუქტურულ პროტეინს და ისეთს, რომელსაც ყველაზე მეტად ახასიათებს ანტიგენური თვისებები. (Sanchez Vizcaino J.M. 1983; Sanz A. 1985; Malmquist W.A. 1963). ანტისხეულების ტესტირება რეკომენდებულია ქვემწვავე და ქრონიკული ფორმების კვლევისას და განსაკუთრებით სასარგებლოა ერადიკაციის პრობლემების განხორციელებისას. მნიშვნელოვანია ზედამხედველობის აქტიური პროგრამების საკონტროლოდ, რომელიც გვაძლევს დაავადების და ინფექციის არ არსებობის დადასტურების საშუალებას. მისი საშუალებით შეგვიძლია განვსაზღვროთ რამდენად თავისუფალია ტერიტორია დაავადებისაგან,



აგრეთვე გვაძლევს იმპორტ-ექსპორტი კონტროლის საშუალებას ანტიგენზე და PCR-ის კვლევებთან ერთად. (Arias M. 1992).

### 3.1.4. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია

მიმოვიხილათ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ზოგად პრინციპებს და რამოდენიმე მეთოდს, რომელიც უშუალოდ იქნა გამოყენებული დორის აფრიკული ცხელების დიაგოსტიკასა და სამეცნიერო კვლევებში.

დნმ-ის ერთი ასლისგან უსაზღვრო რაოდენობის დნმ-ის მიღების იდეა დაებადა კარი მულისს 1983 წელს და მას ეწოდა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR). ათი წლის შემდეგ ამ გამოგონებისთვის დაჯილდოვებული იქნა ნობელის პრემიით ქიმიაში. ახალმა ტექნოლოგიამ პრაქტიკულად მოლეკულური ბიოლოგია მნიშვნელოვნად შეცვალა. ამ კვლევებს წინ უსწრებდა დიდი სამეცნიერო მიღწევები ფიზიოლოგიასა და მედიცინაში, დნმ-ის მოლეკულური სტრუქტურის, ორმაგი სპირალის აღმოჩენა.

მე-20 საუკუნის ადრეულ წლებში დნმ არ იყო ის მოლეკულა, რომელიც გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელი იყო, ვინაიდან იგი შედგებოდა მხოლოდ 4 ნუკლეოტიდისგან, ხოლო ცილები 20 ამინომჟავისგან. ეს 4 ნუკლეოტიდი დნმ-ში ექვიმოლური რაოდენობით იყო, და დნმ A,T,G და C ერთეულების განმეორებას წარმოადგენდა. იგი წარმოადგენდა ხაზოვან პოლიმერს, რომელიც ნუკლეოტიდებს შეიცავდა ერთეულების სახით. თითოეული ერთეული კი უკავშირდება 2 მეზობელ ერთეულს. ერთ დეზოქსირიბოზის 5' ნახშირბადთან ჟანგბადის დაკავშირებით, ხოლო მეორეს 3' ნახშირბადთან ჟანგბადის რის შედეგად დნმ-ის ჯაჭვებს ახასიათებთ პოლარობა. ტრადიციულად ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობის დაწერა ხდება 5'-დან 3' მიმართულებით. მოგვიანებით ანალიზის მეთოდოლოგიის გაუმჯობესებამ

ახვენა, რომ 4 ფუძე ექვიმოლური რაოდენობით კი არ იყო, არამედ რაოდენობრივი შემცველობა ჰქონდათ A ტოლი იყო T-სი, და G ტოლი იყო C-სი. რამაც შეცვალა დნმ-ის ფორმის სტრუქტურული მოდელი. მისი მთავარი მახასიათებელია: 2 ჯაჭვისგან დახვეული სპირალი, ორი ჯაჭვის კარკასი ანტიპარალელურად არის განლაგებული 5'-3'-კენ და 3' დან 5'-კენ. მათ აქვთ საწინააღმდეგო პოლარობა. სპირალის გარეთა მხარე წარმოდგენილია ნახშირწყლოვან-ფოსფატური კარკასით, ხოლო ფუძეები წყვილებად მოთავსებულია შიგნით. სტრუქტურა შედგება შემდეგი წყვილებისგან A-T და G-C. ამ მოდელთან ერთად სწრაფადვე გაჩნდა და ჩამოყალიბდა აზრი მოლეკულის თანაბარი დუბლიკაციის მექანიზმებზეც. ჩვეული სტრუქტურული კონფიგურაციის დროს A და T შორის წარმოიქმნება 2 წყალბადოვანი კავშირი, ხოლო C და G შორის 3 წყალბადოვანი კავშირი. ფუძეების დაწყვილების სპეციფიურობის გამო დნმ-ის ორი ჯაჭვი არის კომპლემენტარული. ეს თვისება ხდის დნმ-ს სწორედ უნიკალურსა და გენეტიკური ინფორმაციის გადამცემს.

დღესდღეობით PCR ტექნოლოგია წარმოადგენს მოლეკულური ბიოლოგიის მძლავრ სტანდარტულ იარაღს. რა არის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია?- PCR წარმოადგენს ფერმენტულ ამპლიფიკაციას, რომლის შედეგადაც ხდება დნმ-ის ნებისმიერი ფრაგმენტის ასლების რაოდენობრივი ზრდა, ხოლო rRT-PCR-რევერსიული ტრანსკრიფციის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, ეს არის პროცესი, რომლის დროსაც ხდება რნმ-ის ერთი ჯაჭვის ტრანსკრიფცია დნმ-ის ერთ ჯაჭვად, რომლის საფუზველზეც მიმდინარეობს პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია.

PCR- პრინციპი მდგომარეობს იმაში, რომ ხდება დნმ-ის დენატურაცია და მიიღება ერთ ჯაჭვიანი დნმ. დნმ-ის მოკლე კომპლემენტარულ მონაკვეთს (პრაიმერი) შეუძლია დაუკავშირდეს დნმ-ის ცალკე

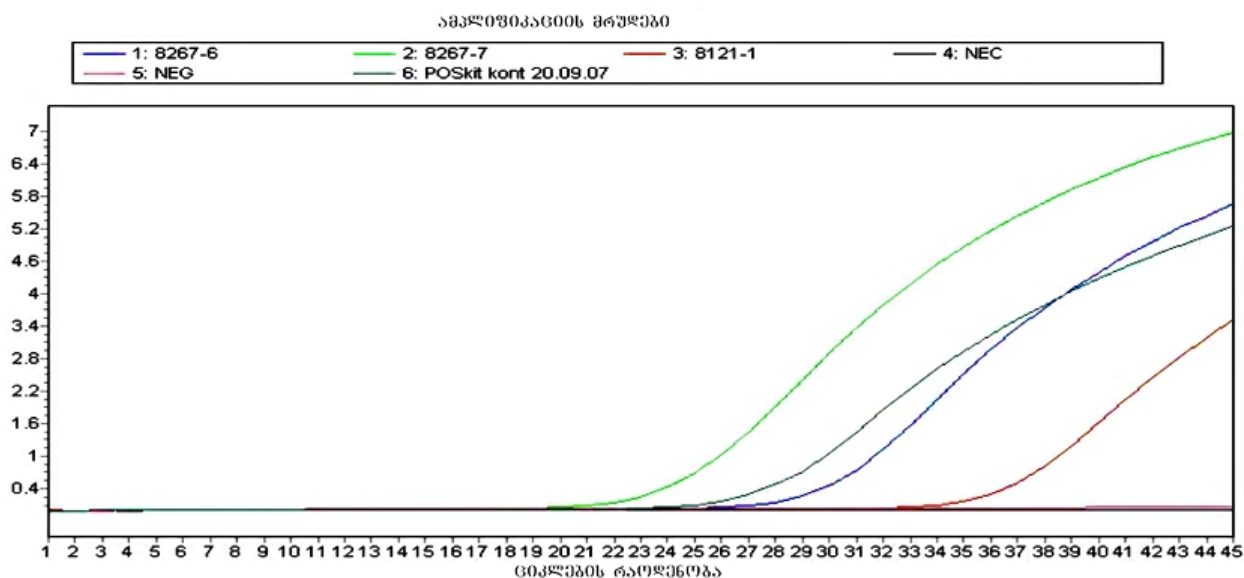
მყოფი ჯაჭვის სტანდარტულ ფრაგმენტს (მატრიცა). პრაიმერი ცნობს მატრიცას და უკავშირდება (ხდება ჰიბრიზიდაცია) ამოცნობილ თანამიმდევრობას. პრაიმერის 3' დაბოლოების გამოყენებით დნმ პოლიმერაზა ახდენს დნმ-ის ახალი ჯაჭვის სინთეზს (ელონგაცია/დაგრძელება). ერთი გაორმაგების ციკლის 3 ეტაპი: დენატურაცია, ჰიბრიდიზაცია და ელონგაცია დამოკიდებულია ტემპერატურაზე. კერძოდ, დნმ ცხელდება მაღალ ტემპერატურაზე, ისე რომ დნმ-ის ორი ძაფი შორდება ერთმანეთს. ხოლო ტემპერატურის შემცირებით პრაიმერებს ეძლევა საშუალება დაუკავშირდნენ დნმ-ის მატრიცას, ტემპერატურა დამოკიდებულია პრაიმერებზე და  $T^0$ -ის შემცირებაან მომატება იმისთვის, რომ დნმ პოლიმერაზის ფუნქციონირებისთვის შეიქმნას ოპტიმალური  $T^0$ -რა. ოპტიმალურ ტემპერატურაზე დნმ პოლიმერაზა საწყისი მატრიცის კომპლემენტარულად პრაიმერზე ააგებს დნმ-ის ახალ ასლს. ასეთი გზით დნმ-ის თანამიმდევრობა რომელიც 2 პრაიმერის თანამიმდევრობას შორისაა მოქცეული მატულობს ექსპონენციალურად და საბოლოო ჯამში მიიღება, იმავე სიგრძის ორ ჯაჭვიანი დნმ-ის ძალიან დიდი კონცენტრაცია. PCR უპირატესობებია, ის, რომ სწრაფია, არაძვირადღირებული და მარტივი გზა დნმ-ის მასალის მისაღებად უმნიშვნელო რაოდენობის დნმ-ის ფრაგმენტიდან. არ გამოიყენება რადიოიზოტოპები და ტოქსიური ქიმიური ნივთიერებები. უპირატესობებთან ერთად აქვს ასევე შეზღუდვები: პრაიმერის სინთეზისათვის საჭიროა ვიცოდეთ ჩვენთვის საინტერესო დნმ-ის ფრაგმენტის თანამიმდევრობა. ჩვეულებრივ იყენებს მხოლოდ დნმ-ის მოკლე ფრაგმენტებს 5 კილო ბაზაზე ნაკლებს (აზოტოვანი ფუძეების წყვილი). ამპლიფიკაციის მისაღწევად საჭიროა ტემპერატურული ციკლების მუდმივი ცვალებადობა, რაც იწვევს ინსტრუმენტთან დაკავშირებულ შეზღუდვებს, ხდის მას უფრო რთულს და ზღუდავს ამპლიფიკაციის სიხშირეს ციკლების  $T^0$ -ული ცვალება-

დობის მიხედვით. (reference [Http://www.engin.umich.edu/dept/che/research/gulari/bilge.htm](http://www.engin.umich.edu/dept/che/research/gulari/bilge.htm)). იმისთვის, რომ გასაგები გახდეს ტრადიციული PCR-ის ბოლოს არსებული მდგომარეობით გამოწვეული შეზღუდვები, აუცილებელია, რომ გავიგოთ, თუ რა ხდება პოლიმერიზაციის ჯაჭვური რეაქციის დროს: პირველი ეტაპი ექსპოტენციალური ანუ ზუსტი გაორმაგებით ხდება მიღებული პროდუქტის დაგროვება ციკლის ბოლოში, როდესაც ეფექტურია 100% რეაქცია. რეაქცია ძლიერ სპეციფიურია და ზუსტია. მეორე ეტაპისას ანუ ხაზოვანი მაღალი ვარიანტობა-ხდება რეაქციის კომპონენტების მოხმარება, რეაქცია ნელდება და პროდუქტები აღარ წარმოიქმნება და თუ დიდხანს დავტოვებთ შესაძლებელია, რომ PCR-ის პროდუქტებმა დეგრადაცია განიცადოს. (reference [http://www.appliedbiosystems.com/support/tutorials/pdf/rtpcr\\_vs\\_tradpcr.pdf](http://www.appliedbiosystems.com/support/tutorials/pdf/rtpcr_vs_tradpcr.pdf) (Gonzague M. 2002; King D.P. 2003). მყისიერი PCR ტრადიციული PCR-ის მოდიფიკაციაა. ამ დროს პროდუქტის ამპლიფიკაცია და ამპლიფიკაციის შედეგად მიღებული პროდუქტების დეტექცია ერთდროულად ხდება. მყისიერი PCR-ის დროს მიკრომოცულობითი ფლუორომეტრი არის ინტეგრირებული თერმოციკლერთან, ისე, რომ შესაძლებელი ხდება ამპლიფიკაციის შედეგად მიღებული პროდუქტების დეტექცია, რომელიც გამოისახება სიგნოიდური მრუდების სახით მონიტორზე. ღორის აფრიკული ჭირის ვირუსის (ASFV) დნმ-ის აღმოჩენის პროცედურა მიმდინარეობს მყისიერი PCR-ით როშეს LightCycler® 2.0 ვერსიის ინსტრუმენტის გამოყენებით. გამოყენებული აპარატი მოიცავს ინსტრუქციებს ინსტრუმენტის დამონტაჟების და პროგრამირების, კვლევის ჩატარების, ხარისხის კონტროლოს, მონაცემთა ანალიზის და ინტერპრეტაციის შესახებ. ტესტის მასალად გამოიყენება საკვლევი ნიმუშიდან გამოყოფილი დნმ. (სურათი 10) მყისიერი PCR-ს გარკვეული უპირატესობები აქვთ ჩვეულებრივ PCR-თან შედარებით, არის უფრო სწრაფი და გამოსაყენებლად მოხერხებუ-

ლი. თუმცა ორივე ტესტს სჭირდება დნმ-ის ექსტრაქცია. ეს ტესტები წარმოადგენს მნიშვნელოვან ტექნოლოგიას როგორც სადიაგნოსტიკო, ისე, სამეცნიერო შემდგომი კვლევების განსახორციელებლად. (Zsak L. 1995; Agüero M. 2003,2004; Wilkinson P.J. 1989; ).

სურათი 10

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (PCR) ანალიზის შედეგები.



ელექტროფორეზი-არის ანალიტიკური მეთოდი, რომელიც გამოიყენება მაკრომოლეკულების განცალკავებისთვის და გასუფთავებისთვის. განსაკუთრებით ცილების და დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავებისთვის ელექტროფორეზის ძალის გამოყენებით. (PAN I.C.1972) ის წარმოადგენს ყველაზე ფართოდ გამოყენებად ტექნიკას ბიოქიმიისა და მოლეკულურ ბიოლოგიაში. როდესაც დამუხტული მოლეკულები მდებარეობენ ელექტრონულ ველში, ისინი მიგრირებენ შესაბამისად ხან, დადებითი, ხანაც კი უარყოფითი პოლუსების მიმართულებით. განსხვავებით ცილების, რომლებთანაც შეუძლიათ ჰქონდეთ როგორც დადებითი, ასევე უარყოფითი სუფთა მუხტები. ხოლო დნმ-ის მოლეკულის საქაროზაფოსფატური ნაერთი დამუხტულია უარყოფითად, ამიტომ ისინი მოძრაობენ უარყოფითად დამუხტული კათოდის დადებითი მუხტის-

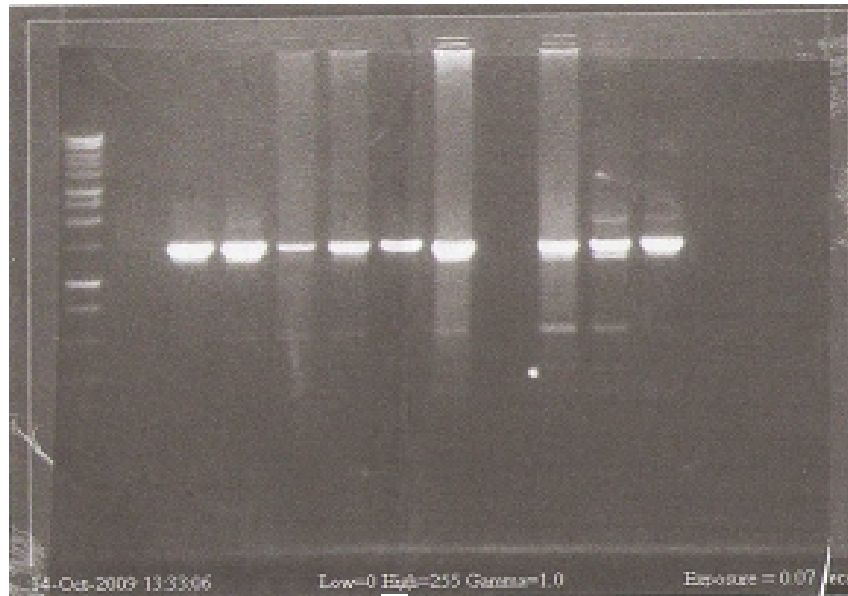
კენ-ანოდისკენ. მომზადებული აგაროზას გელი თხელი ფასადით და „ჭაბურღილებით“, რომელშიც ჩატვირთული უნდა იქნეს ნიმუშები, მოთავსებულია ელექტროფორეზის დროს ბუფერულ ხსნარში, რომელიც უზრუნველყოფს იონების ბუფერულ კონცენტრაციას, რათა შეინარჩუნოს pH მუდმივი მნიშვნელობა. უშუალოდ გამოიყენება ბუფერულ ხსნარად TAE ბუფერი. გელი თვითონ შედგება აგაროზის ან პოლიაკრილამიდისგან, რომელთაც მინიჭებული აქვთ შესაბამისი კონკრეტული ამოცანები: პოლიაკრილამიდი არის ჰიბრიდული რგოლის პოლიმერი-აკრილამიდის. მისი მომზადება გართულებულია, ვიდრე აგაროზას გელის. ვინაიდან ჟანგბადი აინჰიბირებს პოლიმერიზაციის პროცესს, ამიტომ ის შეტანილი უნდა იქნეს მინის შუშის ფირფიტებს შორის (ან ცილინდრების). პოლიაკრილამიდის გელს აქვს მაღალი განცალკავების უნარი, რომელიც ინტენსიურად გამოიყენება ცილების ნარეგების განცალკავებისთვის და მათი დახასიათებისათვის.

აგაროზა წარმოადგენს პოლისახარიდს, რომელიც მოპოვებულია ზღვის წყალმცენარეებისაგან, რომელიც ხშირად გამოიყენება მომზადების დროს 0.5-2%-იანი კონცენტრაციით. დიდი ზომის მოლეკულები ნელა მოძრაობენ გელში, რამდენადაც ბრკოლდებიან, ხოლო მცირე ზომის მოლეკულები გადაადგილდებიან უფრო სწრაფად. აგაროზას გელი გათვალისწინებულია ფართო სპექტრის ნიმუშის განცალკავებისთვის, ამასთან დაბალი ძალის გამოყენებით. გაროზას საშუალებით შესაძლებელია ნუკლეინის მუკვების ფრაგმენტის დაახლოებით 200-50000bp-ის განცალკავება, სტანდარტული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით (სურათი 11). განცალკავების შემდეგ დნმ-ის სხადასხვა ზომის ფრაგმენტების ვიზუალიზაცია ხდება ფლუორესცენტრული საღებავის საშუალებით სპეციფიური დნმ-ის ურთიერთქმედებით. აგაროზას გელისთვის ჩვეულებრივ იყენებენ ეთიდიუმ ბრომიდის საღებავს, რომლებიც ფლუორესცირებს და ნიმუშების

დანახვა ხდება ულტრაიოლეტი სხივების საშუალებით. დნმ-ის ფრაგმენტების სიგრძის შედარება ხდება მოლეკულური წონის სტანდარტად მიღებული პლაზმიდებით,

სურათი 11

ელექტროფორეზის შედეგების ვიზუალიზაცია.



რომელიც შესაბამისად დამუშავებულია რესტრიქციული ენზიმებით ისე, რომ მიღებულია ჩვენთვის საჭირო 12 ბენდი და გამოიყენება როგორც რეფერენს სტანდარტი. (1კბ DNA Ladder).

### 3.1.5 ნუკლეინის მჟავების თანმიმდევრობის განსაზღვრა სეკვენსირება

ნუკლეინის მჟავების თანმიმდევრობის განსაზღვრა სეკვენსირება--სეკვენსი ინგლისური სიტყვაა და თანმიმდევრობას ნიშნავს. ბიოპოლიმერების სეკვენსირების დროს განისაზღვრება პირველადი ამინო და ნუკლეოტიდების მჟავების თანმიმდევრობები. საბოლოოდ, მიიღება სიმბოლური ხაზოვანი აღწერა, რომელიც განსაზღვრავს მოლეკულების ატომურ სტრუქტურას. მიღებულია სეკვენსირების რამოდენიმე მეთოდი: ედმანის, სენგერის და სხვა. თანამედროვე მოლეკულურ ბიოლოგიაში ნუკლეომჟავების განსაზღვრად გამოიყენება სენგერის მეთოდი დიდუზოქსი ნუკლეოზიდ ტრიფოსფატების გამოყენებით (ddNTP). ჩვე-

ულებრივ, სეკვენსირებამდე ხდება DNA-ის ამპლიფიკაცია, რომელიც მიიღება და განისაზღვრება (PCR) პოლიმერეზული ჯაჭვური რეაქციის გამოყენებით. (Walowsky C. 1999; Thompson J.D. 1994; Tamura K. 2007; Sharma D. 2000; Breard W.A. 2006; Cbbold C. 2007; Grzesiek S. 1992, 1993; Hajduk P.J. 1997) სეკვენსირების წინ ხდება ჰიბრიდიზაცია სინთეზური ოლიგონუკლეოტიდების, რომლის სიდიდე დაახლოებით 17-20 წყვილი ნუკლეოტიდია სპეციფიური უბნის. ეს ოლიგონუკლეოტიდები წარმოადგენენ პრაიმერებს, რომლებიც მონიშნულია 3' ჰიდრომეჯავური ჯგუფები, რომელიც ახდენს ინიციაციას სინთეზური ხაზების, კომპლიმენტარულმატრიცაზე. (Yamazaki T.,1994; Tsai YC., 2006; Showalter AK., 2001 Shuker SB., 1996; Kimur a MA., 1980; Lamarche BJ.,2006; Prased R., 1998; Ren B., 2009)

### **32. ASF-ის ეპიდემიოლოგიური მდგომარეობა საქართველოში:**

ღორის აფრიკული ცხელება ჯერ კიდევ აფრიკის, ევროპის და ამერიკის ზოგიერთი ქვეყნებისთვის საკმაოდ სერიოზულ ეპიზოოტიურ სიტუაციას ქმნის. მითუმეტეს ჩვენი ქვეყნისთვის, ვინაიდან ASF საქართველოსთვის წარმოადგენს ახალ ეპიზოოტიურ დაავადებას, რომელიც 2007 წლამდე პოსტსაბჭოურ სივრცეში არ იყო რეგისტრირებული.

2007 წელს ღორის აფრიკულმა ცხელებამ საქართველოს ტერიტორიაზე გავრცელება დაიწყო ძალიან სწრაფად. ვირუსის შემოტანის წყარო და გზა კვლავ უცნობი რჩება. სავარაუდოდ, დაავადება პირველად დაფიქსირდა დასავლეთ საქართველოში, კერძოდ, ფოთში და ვინაიდან იგი წარმოადგენს საპორტო ქალაქს შავი ზღვის სანაპიროზე, სადაც სვადასხვა ქვეყნის და მათ შორის აფრიკის კონტინენტის ირგვლივ მცურავი ხომალდებიც ხშირად შემოდის პორტში, აქედან კი სვადასხვა გზებით დაავადება გავრცელდა ქვეყნის აღმოსავლეთ, ჩრდილოეთ და სამხრეთ რეგიონებში. 2007 წლის მაისის



თვეში გურიასა და სამეგრელოს რეგიონებიდან საქართველოს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში (LMA) მიღებული იქნა ათეულობით პათ-მასალა გამოსაკვლევადა, რომელთა ანამნეზი ჩვენთვის მანამდე ცნობილი ღორების დაავადებებისგან რადიკალურად განსხვავდებოდა. არსებულ მდგომარეობზე ვეტერინარი ექიმების ხანმოკლე დაკვირვების და შესწავლის შედეგად ეპიზოოტიური და პათ-ანატომიური გაკვეთის მონაცემებით ეჭვი მიტანილი იქნა ღორის აფრიკულ ცხელებაზე. დაინფიცირებული კერებიდან აღებული მასალები ბიოუსაფრთხოების დაცვით გადაგზავნილი იქნა ბრიტანეთში ცხოველთა დაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (OIE) პირბრაითის ლაბორატორიაში. ლაბორატორიული შემოწმების შედეგად 2007 წლის 4 ივნისს მივიღეთ ოფიციალური დასტური ღორის აფრიკული ცხელებაზე, რომ საქართველოში დაფიქსირებული დაავადების აფეთქებები გამოწვეული იყო II გენოტიპის ვირუსით, რომელიც გავრცელებულია მოზამბიკში, მადაგასკარზე და ზამბიაში და სადაც დაავადება დღემდე ძალიან აქტიურია. ხოლო მას შემდეგ რაც საქართველოს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიამ (LMA) მიიღო შესაბამისი დიაგნოსტიკუმები ღორის აფრიკული ცხელების ტესტირებისათვის, ჩვენს მიერ მიღებული იქნა იდენტური პასუხი იგივე ნიმუშებზე 11 ივნისს (Dixon L.K at all 2007; Rebecca J. Rowlands 2008; ყურაშვილი თ. & ვეფხვაძე ნ.გ. 2010).

ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის აღმოსაჩენად გამოყენებული იქნა რამოდენიმე აპრობირებული დიაგნოსტიკური მეთოდი იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELISA) და პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR) რომელიც დეტალურად ზემოთ იქნა განხილული. (Zsak L. At all 1995, 1993, 1996; Aguerro M. 2003, 2004; Gonzague M. 2001; King D.P. 2003). სადიაგნოსტიკოდ შემოსული მასალების პრაქტიკულად ჩავატარეთ სერო-მორიტონინგი. ლაბორატორიული კვლევის შედეგების

მიხედვით გარკვეული რეგიონები შეიძლება ჩაითვალოს პირობითად დაავადებისგან თავისუფალ ზონად, თუმცა ლაბორატორიის კვლევების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ საქართველო ჩამოყალიბდეს ენდემურ ზონად, ვინაიდან რეგიონების და მიხედვით გვაქვს დაავადების რეციდივები. საქართველოს რეგიონებში დაავადება გავრცელდა ტალღისებურად, ინფექციის შემთხვევები ფიქსირდება სხვადასხვა რეგიონებში: სვანეთში, იმერეთში, რაჭა, ზემო აფხაზეთი, სამცხეთ-ჯავახეთი, მცხეთა-მთიანეთი, კახეთში. დაინფიცირებულ ტერიტორიებზე მოსალოდნელია კიდევ მრავალი აფეთქება, მიუხედავად იმისა, რომ დღეისათვის ბოლომდე უცნობია გარეული ღორის შესაძლო დაინფიცირების მასშტაბები. ვინაიდან, უკვე გვაქვს გარეული ღორის სიკვდილის ერთი შემთხვევა, მათ შეუძლიათ დიდ წვლილის შეტანა ვირუსის შესაძლო ენდემურობაში, როგორც ეს მოხდა პირენეის ნახევარკუნძულზე და როგორც ეს ხდება სარდინიაზე. (Escribano J.M. 1987; Forman A.J. 1982; Gallardo C. 2006; Heuschele W.P. 1969; Mebus C.A. 1981; Wilkinson P. J. 1981). 2005 წლისთვის საქართველოში მაშტაბით დაახლოებით 500 000-მდე ღორი აღირიცხებოდა, საქართველოში, მიუხედავად იმისა, რომ ღორის ხორცის წარმოება მსოფლიო ბაზარზე მხოლოდ, მცირე პროცენტს შეადგენს, ღორი სასოფლო-სამეურნეო ტიპის ყველა ოჯახის ტრადიციული ცხოველია და ამდენად მეღორეობა ოჯახური და წვრილი ფერმერული მეურნეობებითაა წარმოდგენილი, რომელსაც საკმაოდ დიდი ადგილი უჭირავს. დაავადებამ კი სერიოზული საფრთხის წინაშე დააყენა მეღორეობა. არსებული არაოფიციალური მონაცემებით განადგურდა და მოკვდა 200-ათასამდე სული ღორი (სურათი 12). ინფექციის გავრცელების პოტენციურობა გლობალურია და მეტად საშიშიც, რასაც ართულებს ისიც, რომ გარეული და შინაური ღორები თავისუფლად მოძრაობენ, მათ შეუძლიათ ერთმანეთთან მჭიდროკავშირი იქონიონ, რამაც

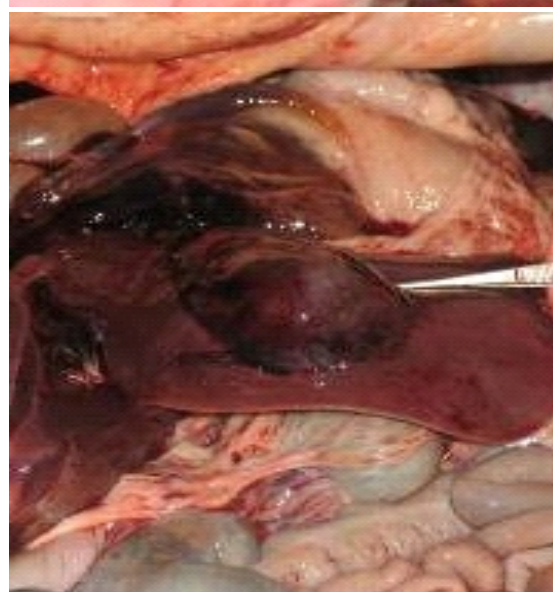
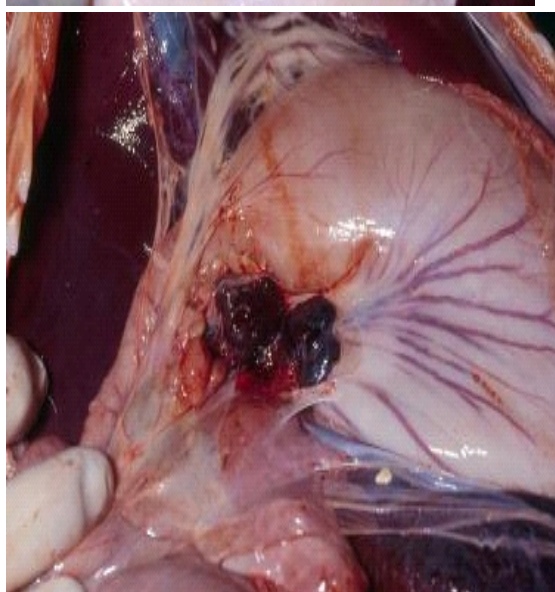
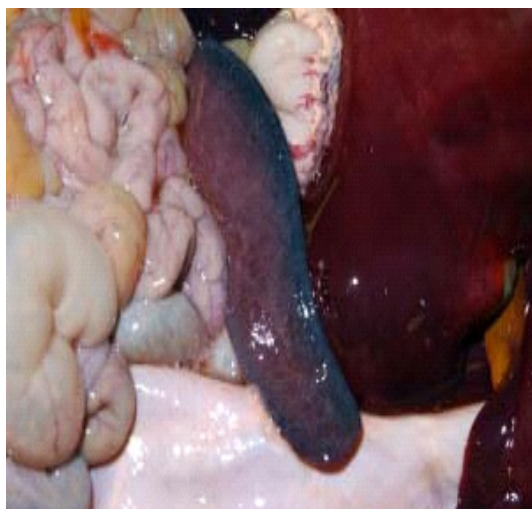


ღორის აფრიკული ცხელებისთვის დამახასიათებელი გარეგანი  
ცვლილებები





პათოლოგო-ანატომიური ცვლილებები







### **33. მასალის მყისიერი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით (PCR) გამოკვლევების შედეგები**

დაავადების ადრეული აღმოჩენის მიზნით, მნიშვნელოვან პრიორიტეტს წარმოადგენს ღორის აფრიკული ცხელების ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის გამოყენებით.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია გვაძლევს საშუალებას ვირუსის აღმოჩენისა ინკუბაციურ პერიოდში, კლინიკური ნიშნების გამოვლენამდე 3–4 დღით ადრე. რეაქცია ხასიათდება სპეციფიკურობით და მგრძობელობით, არის ძალიან სწრაფი, ნაკლებ მიდრეკილია პროცესის ბოლოს ჯვარედინი დაბინძურებისკენ, ვინაიდან მიკრობის (ნუკლეინის მჟავის) დეტექცია ხდება აპარატში. ასევე შესაძლებელია ინაქტივირებული ვირუსის დეტექცია ნიმუშის არასწორი შენახვის შემთხვევაში. სწორედ ამ კვლევის მეთოდით გვქონდა საშუალება გამოგვეკვლია ის ნიმუშები, რომელიც მიღებული იქნა ლაბორატორიაში 2007 წლის მაისიდან. საყურადღებოა ის, რომ ლაბორატორიული კვლევის შედეგების ხარისხი პირდაპირ დამოკიდებულია ნიმუშების ხარისხზე. კარგია ნიმუშები რომლებიც ვირუსის ლოკალიზაციის ადგილებს წარმოადგენს. ჩვენი გამოკვლევით დადგინდა, რომ ეფექტურია ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის დროს ნიმუშის პათოლოგიური მასალა (ელენტა, ჯირკვალი, სისხლი, (შრატის ანტისხეულების კვლევების დროს) ღვიძლი, ხოლო პრეკლინიკური დიაგნოსტიკისას სისხლი ისინი მაღალი კონცენტრაციით შეიცავენ ASF ვირუსს: 2007 წელს ჩვენს მიერ გამოკვლეული იქნა 1151 ნიმუში, საიდანაც დადებითია 187 შემთხვევა. კვლევის შედეგები რეგიონების მიხედვით მოცემულია, ცხრილ1-ში და დიაგრამა 1-ში.

ცხრილი 1

2007 წელს ღორის აფრიკულ ცხელებაზე გამოკვლევის შედეგები რეგიონების მიხედვით

№	რეგიონი	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი	%
1	ქვემო ქართლი	74	2	2.7
2	შიდა ქართლი	39	3	7.7

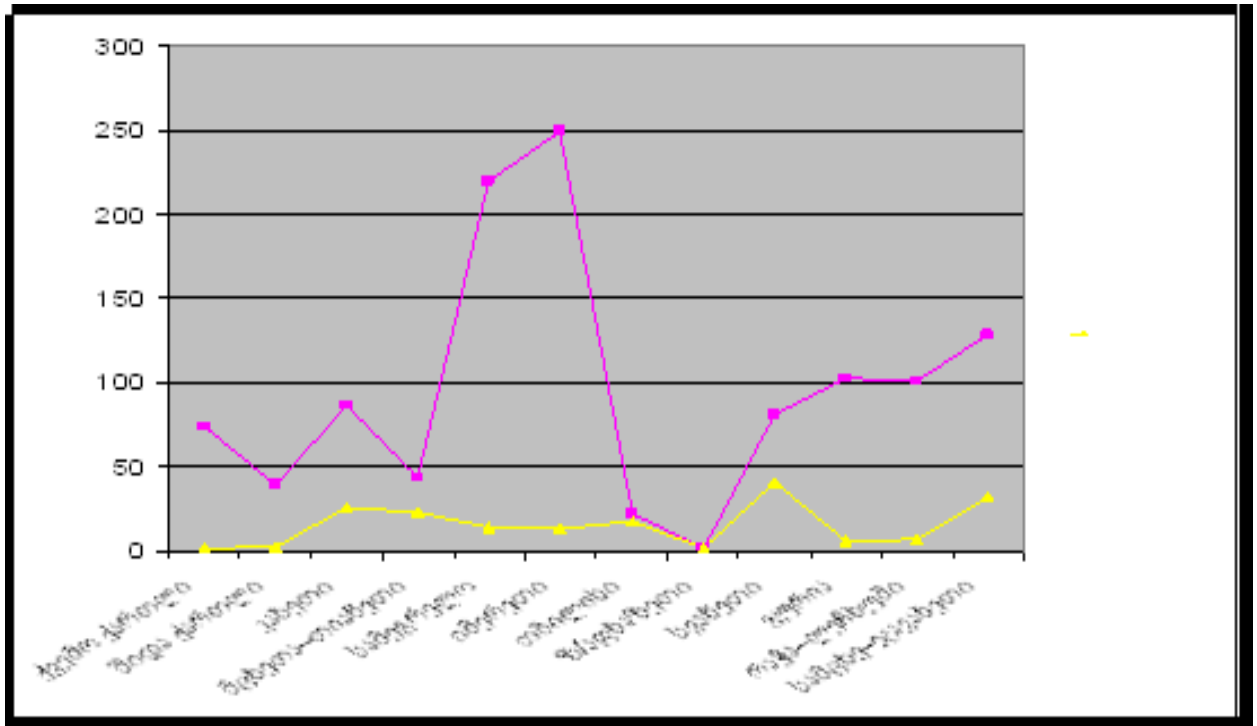
3	კახეთი	87	26	29.8
4	მცხ.-მთიანეთი	44	23	52.2
5	სამეგრელო	220	14	6.3
6	იმერეთი	249	13	5.2
7	თბილისი	22	18	81.8
8	ზ/აფხაზეთი	2	2	100
9	სვანეთი	81	41	50.6
10	გურია	103	6	5.8
11	რაჭა-ლეჩხუმი	101	7	6.9
12	სამც.ჯავახეთი	129	32	24.8
13	სულ	1151	187	16.2

2007 წელს პროცენტულად ყველაზე მაღალი აქტივობა შეინიშნებოდა დაავადების პირველი აფეთქებების დროს სამეგრელოში და გურიაში, საიდანაც ინფექცია ტალღისებურად გავრცელდა საქართველოს თითქმის მთელ ტერიტორიაზე. დაავადებულთა რიცხვი ყველაზე მაღალი იყო მაისის თვესა და დეკემბრის თვეში. ყველაზე ნაკლები ივლისის თვეში თუმცა, წლის სხვა თვეებშიც % მაჩვენებლის სიდიდე არც ისე დაბალი იყო. შეიძლება ავლნიშნოთ რომ, ინფექციას არ ახასიათებს სეზონურობა, იგი დაფიქსირდა წლის ნებისმიერ დროს.თუ დავაკვირდებით 2008წწ მონაცემებს ცხრილი №3, შევნიშნავთ დაავადებების შემთხვევების შემცირებას. თუმცა ეს არ ნიშნავს ინფექციის არ არსებობას, ვინაიდან დაავადებას ახასიათებს სპორადიული აფეთქებები. შემოსული ნიმუშების რაოდენობა შემცირებულია, მაგრამ შეიმჩნევა პროცენტული მაჩვენებლის ზრდა 2007 წლის მაჩვენებელთან შედარებით.



დიაგრამა 1.

2007წელს ღორის აფრიკულ ცხელებაზე გამოკვლევის შედეგების დიაგრამული გამოსახულება:



ცხრილი 2.

2007 წლის ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის შედეგები თვეების მიხედვით.

№	თვე	ნიძუშების რაოდენობა	დაღუპული ნიძუშები	%
				მაჩვენებელი
1	მაისი	14	13	92,8%
2	ივნისი	51	21	41,2%
3	ივლისი	213	1	0,4%
4	აგვისტო	215	39	18,1%
5	სექტემბერი	241	46	19,1%
6	ოქტომბერი	39	10	25%
7	ნოემბერი	180	23	13%
8	დეკემბერი	80	35	43,8%

ცხრილი 3.

2008 წლის ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის შედეგები რეგიონების მიხედვით.

№	რეგიონი	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი ნიმუშები	%
1	შიდა ქართლი	2	2	100%
2	თბილისი	7	5	71.4%
3	სვანეთი	6	6	100%
4	მცხეთა-მთიანეთი	3	3	100%
5	იმერეთი	17	10	58.8%
6	გურია	12	0	0%
	სულ	47	26	55.3%

2008 წელში დაავადების მაღალი აქტიურობა დაფიქსირდა შიდა ქართლის, თბილისის, სვანეთის, მცხეთა მთიანეთის, იმერეთის რეგიონებში.

ცხრილი 4.

2009 წლის ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის შედეგები რეგიონების მიხედვით.

№	რეგიონი	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი ნიმუშები	%
				მაჩვენებელი
1	კახეთი	11	0	0%
2	მცხეთა-მთიანეთი	13	6	46.15%
3	თბილისი	8	0	0%

4	სამცხეთ- ჯავახეთი	20	0	0%
5	სამეგრელო	16	10	62.5%
6	გურია	34	10	29.4%
	სულ	102	26	25.5%

გამოკვლეულია ღორის აფრიკულ ცხელებაზე საქართველოს 40 რაიონი, დაავადების აქტიურობით გამოირჩევა კახეთის რაიონები (ყვარელი, გურჯაანი, თელავი, სიღნაღის, დედოფლის წყაროს რაიონები), იმერეთის (წყალტუბოს, ქუთაისი, საჩხერის რაიონები), მცხეთა-მთიანეთის, დუშეთი, მცხეთა, ყაზბეგი), სამცხეთ-ჯავახეთის (ახალციხე, ადიგენი), სვანეთის რაიონები (მესტია, ლენტეხი), გურიის (ოზურგეთი, ჩოხატაური), სამეგრელოს (სენაკი, ფოთი, ზუგდიდი), შიდა ქართლი (ქარელი), ქვემო ქართლი (გარდაბანი) და თბილისი 2007 წელს. ცხრილი 5-ში მოცემულია სოფლის მეურნეობის სამინისტროში 2007-2009 წლებში შემოსული ღორის აფრიკული ცხელების კვლევის შედეგები რაიონების მიხედვით.

2010 გამოსაკვლევად შემოსულია 436 ღორის პათოლოგიური ნიმუში, საიდანაც, დადებითია 146 ნიმუში. ამ წელს აღინიშნა ვირუსის მაღალი აქტიურობა საქართველოს მაშტაბით (ცხრილი 6). 2011 წლის იანვარის, თებერვლის და მარტის გამოკვლევების შედეგები მოცემულია (ცხრილი 7). 2011 წლის იანვრის, თებერვლის და მარტის თვეში შემოსულია 93 ღორის 229 ნიმუში გამოსაკვლევად. კვლევების საფუძველზე ვირუსი გხვდება იმ რაიონებში, სადაც თავდაპირველად დაფიქსირდა. თუ დავაკვირდებით ცხრილში მოცემულ შედეგებს შეიმჩნევა ინფექციის აქტიურობა კახეთში, აჭარის, იმერეთის, სამცხეთ-ჯავახეთის და შიდა ქართლის რეგიონებში.

2007-2009წწ. კვლევის შედეგები რაიონების მიხედვით

№	რაიონის დასახელება	2007	2007	2008	2008	2009	2009	შენიშვნა
		ნიმუშების რ-ბა მ.შ. დადებითი	დადებითი	ნიმუშების რ-ბა მ.შ. დადებითი	დადებითი	ნიმუშების რ-ბა მ.შ. დადებითი	დადებითი	
1	ყვარელი	8	8			11/0	0	
2	ღუშეთი	27	6			13/6	6	13/6 დადებითია ELISA-AB
3	წყალტუბო	46	10					
4	გურჯაანი	23	10					
5	თბილისი	22	18	7	5	8/0	0	
6	დედოფლისწყარო	20	4					
7	ახალციხე	121	26			20/0	0	
8	გორი	36	0					
9	მარნეული	33	0					
10	ამბროლაური	99	5					
11	ბოლნისი	18	0					
12	ზუგდიდი	100	5			16/10	10	16/10 დადებითია ELISA-AB
13	მცხეთა	15	15					
14	ოზურგეთი	47	2			34/10	10	34/10 დადებითია ELISA-AB
15	ჩოხატაური	46	4	12	0			
16	ლანჩხუთი	10	0					
17	გარდაბანი	16	2					
18	მესტია	20	18	6	6			
19	კიათურა	85	0					
20	თელავი	8	1					
21	ზემო აფხაზეთი	2	2					
22	სიღნაღი	21	13					
23	ადიგენი	8	6					
24	ლენტეხი	61	23					
25	ონი	2	2					
26	ზესტაფონი	112	0	2	0			
27	ახმეტა	7	0					
28	თეთრიწყარო	7	0					
29	წალენჯიხა	25	0					
30	ჩხოროწყუ	21	0					
31	მარტვილი	20	0					
32	აბაშა	14	0					
33	სენაკი	23	5					
34	ფოთი	17	5					
35	ყაზბეგი	2	2					
36	ქუთაისი	4	1					
37	ქარელი	3	3					
38	სახსერე	2	2	15	10			15/10 დადებითია Iწ
39	ხაშური			2	2			
40	თიანეთი			3	3			
სულ:		1151	187	47/26	26	102/26		47/26 (10 ნიმუში დადებითია ELISA-AB)
								102/26 (26 ნიმუში დადებითია ELISA-AB)

2010 წელს ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის  
შედეგები რეგიონების მიხედვით.

№	რეგიონი	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი ნიმუშები	% მაჩვენებელი
1	თბილისი	111	56	50.45%
2	კახეთი	68	23	33.82%
3	იმერეთი	38	8	21%
4	გურია	2	2	100%
5	შიდა ქართლი	6	6	100.00%
6	ქვემო ქართლი	70	4	5.71%
7	მცხეთა მთიანეთი	95	26	27.36%
8	სამცხეთა-ჯავახეთი	25	6	24%
9	რაჭა-სვანეთი	20	15	75%
10	სამეგრელო	1	0	0%
	სულ	436	146	33.48%

2011 წელს ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის  
შედეგები რეგიონების მიხედვით

№	რეგიონი	ცხოველე- ბის რაოდენობა	ნიმუ- შების რაოდენობა	და- დებითი ნიმუშები
1	კახეთი	56	129	22
2	თბილისი	5	11	2
3	მცხეთა მთიანეთი	2	9	0
4	შიდა ქარ- თლი	5	17	3
5	ქვემო ქართლი	10	20	0
6	სამცხეთ- ჯავახეთი	1	3	1
7	აჭარა	7	21	1
8	გურია	2	5	0
9	იმერეთი	5	14	1
	სულ	93	229	30

ლაბორატორიაში მიღებული ნიმუშების რაოდენობა მეტია ვიდრე ცხოველის, თუმცა, ეს ჩატარებული კვლევები მნიშვნელოვანი იყო იმ მიზნით, რომ ვიკვლევდით ერთი ღორის რამოდენიმე ნიმუშს (ელენტა, ღვიძლი, ჯირკვალი სისხლის ნიმუშები) და ვადარებდით გამოკვლეული პათოლოგიური ორგანოებიდან მიღებულ შედეგებს ერთმანეთს. რათა შემდგომ შეგვეჩინა ღორის პათოლოგიური ნიმუშებიდან ორგანოები, სადაც მოსალოდნელი იყო ვირუსის მაღალი კონცენტრაცია და

გმოგვეყენებინა სადიაგნოსტიკოდ. 2011 წელი არ გამოირჩეოდა დაავადების აქტივობით, როგორც 2009 რაც, საშუალებას გვაძლევს ვთქვათ, რომ დაავადებას ახასიათებს სპორადული აფეთქებები, რომ წლის ნებისმიერ დროს შეიძლება გავრცელდეს ქვეყნის ტერიტორიაზე. ჩვენი გამოკვლევით დადგინდა, რომ ეფექტურია ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის დროს ნიმუშის პათოლოგიური მასალა (ელენტა, ჯირკვალი, სისხლი, ღვიძლი) ისინი მაღალი კონცენტრაციით შეიცავენ ASF ვირუსს.

კვლევების საფუძველზე დაავადგინეთ, რომ არსებობს ადგილები, სადაც პერიოდულად ხდება აფეთქებები, გვაქვს დაავადების რეციდივები, ამ პერიოდისთვის დაფიქსირებულია დაავადების მრავალი ტალღის შემთხვევები.

ტესტები ჩატარებულია სტანდარტული პროცედურების სრული დაცვით, სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიის ბიოუსაფრთხოების მე-2-ე დონის კაბინეტებში. რათა გარკვეულმა ფაქტორებმა არ მოახდინოს ზეგავლენა ტესტის ჩატარებაზე. ასევე მნიშვნელოვანია გვახსოვდეს პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR) დადებითი შედეგი ყოველთვის არ ნიშნავს, რომ სახეზეა აქტიური ინფექცია ცოცხალი ვირუსით. ეს უნდა იქნას დადასტურებული სხვა ტესტებით, მათ შორის ვირუსის იზოლაციით.

### **3.4. იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELISA)**

იმუნოფერმენტული ანალიზით (ELISA) კვლევები ჩატარებულია სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში. ვინაიდან, იგი (ELISA) აღიარებული სადიაგნოსტიკო ტესტია ცხოველთა ინფექციური დაავადების გამოსავლინებლად, გომომდინარე აქედან ღორის აფრიკული ცხელების ანტიგენის (ვირუსის) და ანტისხეულების აღმოსაჩენად უპირატესობა მივანიჭეთ ამ რეაქციას.

სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში იმუნოფერმენტული ანალიზით გამოკვლეული იქნა საქართველოს რეგიონებიდან შემოსული ნიმუშები. ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ანტიგენის აღმოსაჩენად 2007-2008 წლებში გამოკვლეული იქნა 112 ღორის ნიმუში, საიდანაც დადებითი აღმოჩნდაა 52 ნიმუში. (ცხრილი 8).

2008 წელს ღორების მასიური სიკვდილიანობა არ შეიმჩნეოდა, შესაბამისად შემოსული ნიმუშების რაოდენობა 2007 წელთან შედარებით, შემცირებულია. ხოლო 2008 წლის დადებითი შედეგების %-ული მაჩვენებელი პირიქით მაღალია, ვიდრე 2007 წელს. 2007–2008 წლებში დასავლეთ და აღმოსავლეთ საქართველოდან შემოსული ნიმუშების იმუნოფერმენტული ანალიზით კვლევის შედეგები გამოხატულია დიაგრამა 2, 3, 4, და 5-ში.

ცხრილი 8

2007-2008 წლებში იმუნოფერმენტული ანალიზით (ELISA) ცხოველთა გამოკვლევის შედეგები.

№	რეგიონები	2007 წ.	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი ნიმუშები	% მაჩვენებელი
1	ქვემო ქართლი		10	5	50
2	შიდა ქართლი		2	0	0
3	ურია		15	3	20
4	სვანეთი		14	6	42.85
5	კახეთი		10	6	60
6	ზ/აფხაზეთი		2	2	100
7	სამცხე-ჯავახეთი		20	18	90
8	რაჭა		2	2	100
9	სამეგრელო		12	1	8.3
სულ			87	43	
		2008წ			
1	თბილისი		2	2	100
2	სვანეთი		6	4	66.7

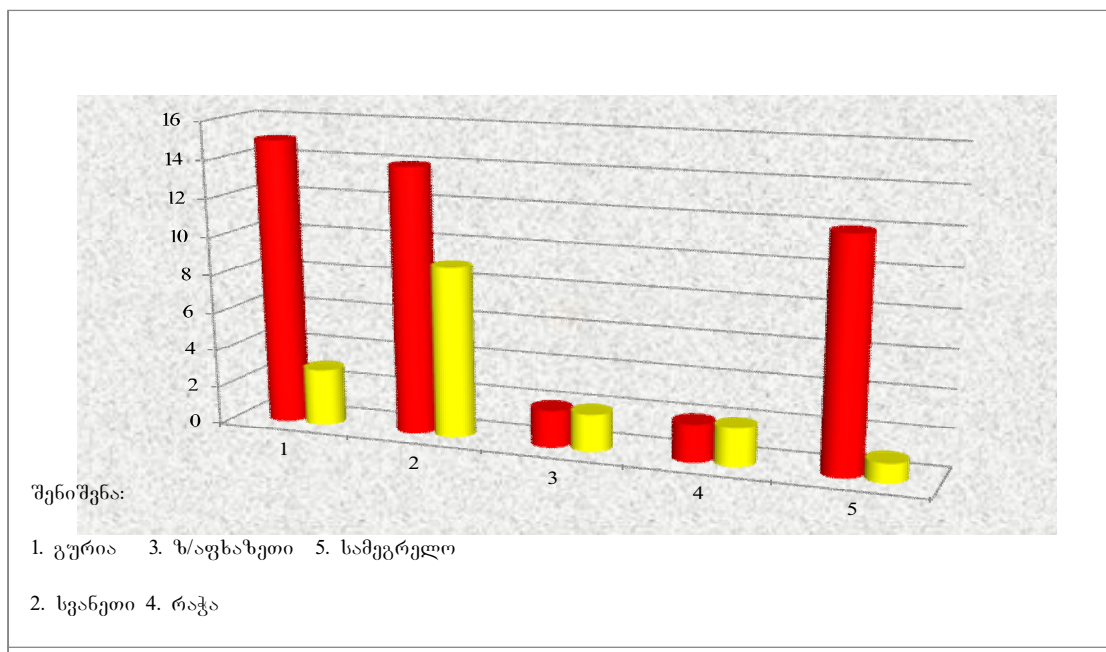


3	მცხეთა-მთიანეთი		3	3	100
4	იმერეთი		2	0	0
5	გურია		12	0	0
სულ			25	9	36
ჯამი			112	52	46.42%

2007-წ იმუნოფერმენტული ანალიზით ცხოველთა გამოკვლევის შედეგების დიაგრამული გამოსახულება დასავლეთ საქართველოს (დიაგრამა 2) გურია, სვანეთი, ზ/აფხაზეთი, რაჭის და სამეგრელოს რეგიონებში შემოსული მასალის რაოდენობა და მათ შორის დადებითი ნიმუშები. ხოლო, დიაგრამა 3-ში გამოსახულია აღმოსავლეთ საქართველოს ქვემო ქართლის, შიდა ქართლის, კახეთის და სამცხეთ-ჯავახეთის რეგიონებში შემოსული ნიმუშების რაოდენობა და მათ შორის დადებითი ნიმუშები. დიაგრამაზე წითელი ფერში გამოსახულია შემოსული ნიმუშების რაოდენობა, ხოლო ყვითელი ფერით აღნიშნულია დადებითი შემთხვევები. 2008-წ იმუნოფერმენტული ანალიზით ცხოველთა გამოკვლევის შედეგების დიაგრამული გამოსახულება (დასავლეთ საქართველო დიაგრამა 4) და აღმოსავლეთ საქართველო (დიაგრამა 5). წითელ ფერში ნაჩვენებია შემოსული ნიმუშების რაოდენობა, ყვითელში დადებითი ნიმუშები. თუ დავაკვირდებით აღმოსავლეთის და დასავლეთის კვლევის მონაცემებს შევნიშნავთ, რომ პრაქტიკულად დასავლეთ და აღმოსავლეთ საქართველოში ინფექცია ვრცელდება თითქმის ერთნაირად, როგორც ვხედავთ პროცენტული მაჩვენებელი შემოსული გამოკვლეული ნიმუშების, დადებითი მაჩვენებელი 2007 წელს აღმოსავლეთ საქართველოში შეადგენს 63,6% ხოლო, დასავლეთ საქართველოში 53,8 %. 2009-2010 წლებში ჩატარდა მონიტორინგი ანტისხეულებზე იმუნოფერმენტული ანალიზი და 1000ნიმუში იქნა

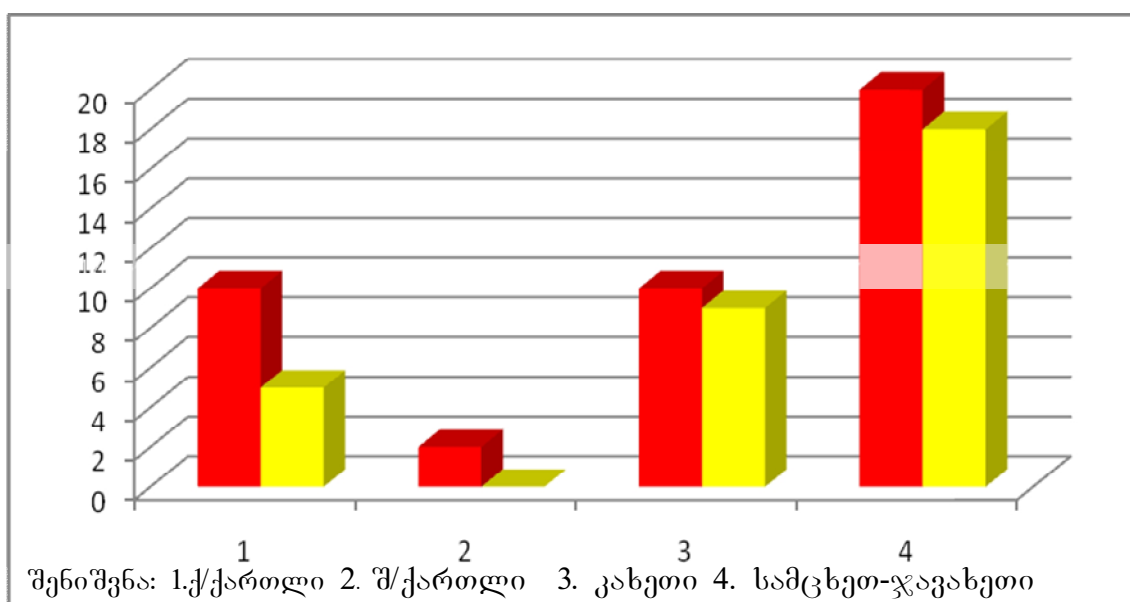
დიაგრამა 2

2007 წელს ღორის აფრიკულ ცხელების კვლევების დიაგრამული გამოსახულება დასავლეთ საქართველოს რეგიონები



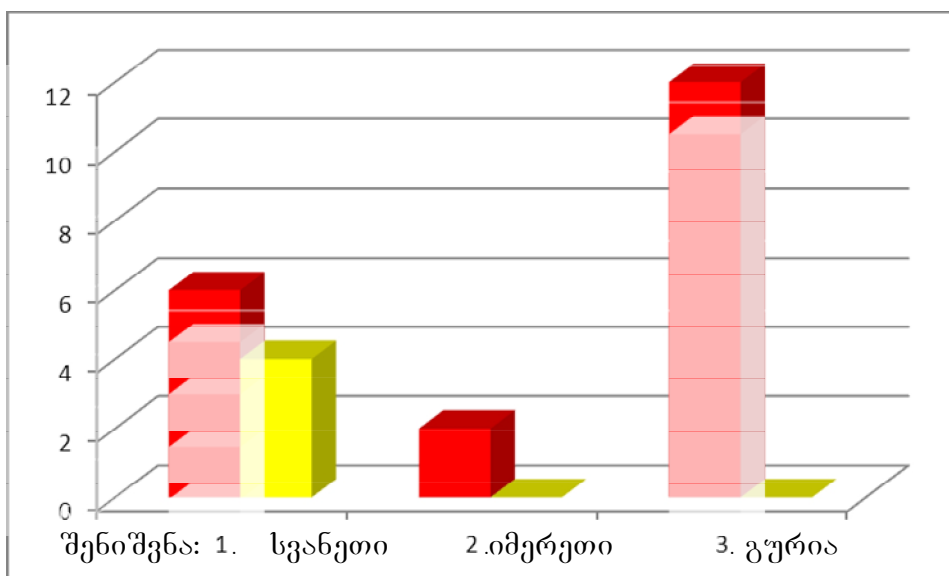
დიაგრამა 3

2007 წელს ღორის აფრიკულ ცხელების კვლევების დიაგრამული გამოსახულება აღმოსავლეთ საქართველოს რეგიონები



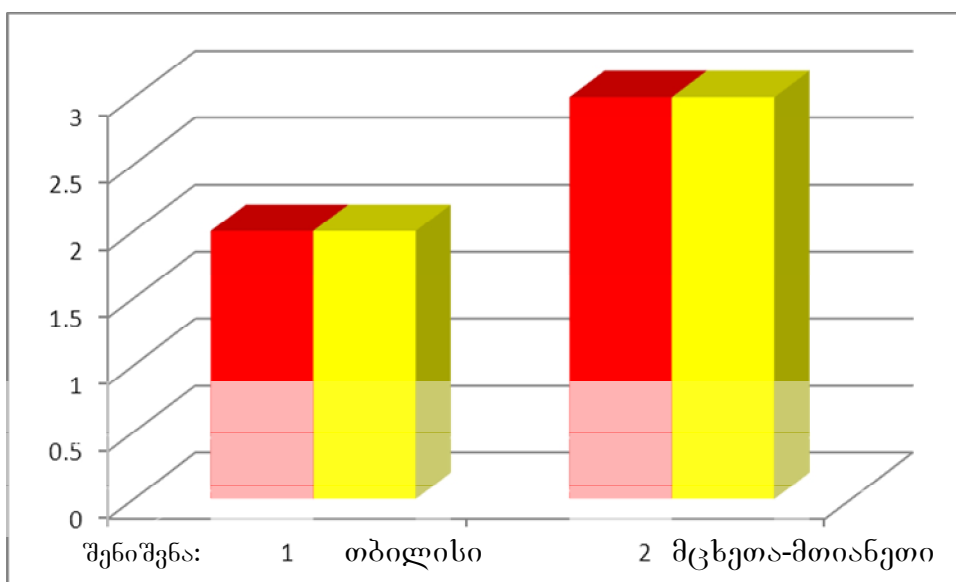
დიაგრამა 4

2008 წელს ღორის აფრიკულ ცხელების კვლევების დიაგრამული გამოსახულება დასავლეთ საქართველოს რეგიონები.



დიაგრამა 5

2008 წელს ღორის აფრიკულ ცხელების კვლევების დიაგრამული გამოსახულება აღმოსავლეთ საქართველოს რეგიონები.



გამოკვლეული. შედეგები ნაჩვენებია ცხრილი 9. საიდანაც 2009 წელს დეკემბრის თვეში თბილისსა და მცხეთა-მთიანეთის რეგიონში გამოკვლეულია 52 ნიმუში, ხოლო 2010 წელს 948 შრატის ნიმუშები იქნა გამოკვლეული მარტის და აპრილის თვეში. მიღებული შედეგები უარყოფითია. თუმცა, ეს არ ნიშნავს რომ, შეგვიძლია ვთქვათ რეგიონები თავისუფალია დაავადებისგან. ვინაიდან, ამავე, პერიოდშივე ფიქსირდება ინფექცია ქვეყნის მასშტაბით როგორც PCR-ის, ისე ანტიგენის იმუნოფერმენტული ანალიზის კვლევების შედეგად. 2010 წლის ანტიგენზე იმუნოფერმენტული კვლევის შედეგები მოცემულია ცხრილი 10-ი. გამოკვლეულია საქართველოს 9 რეგიონი ეს იმ პერიოდში როდესაც იმუნოფერმენტული ანტისხეულების ტესტი უარყოფითია, ხოლო ანტიგენის კვლევების დროს დაავადება ფიქსირდება იმავდროულად თითქმის ყველა ანტისხეულებზე გამოკვლეულ შესაბამის რეგიონებში. გამოკვლეული იქნა 360 ნიმუში საიდანაც, დადებითია 111 ნიმუში. მაღალი მაჩვენებლით ხასიათდება და თბილისის, გურიის, კახეთის და რაჭა-სვანეთის რეგიონები. დაავადება ფიქსირდება როგორც ივნისის, ივლისის, აგვისტოს, სექტემბრის, ისე ოქტომბრის, ნოემბრის და დეკემბრის თვეებშიც. რაც კიდევ უსვავს ხაზს ინფექციის არა სეზონურობას.

ცხრილი 9

2010 წელს ანტისხეულების კვლევის შედეგები

№	რეგიონი	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი	%
1	მცხეთა მთიანეთი	62	0	0
2	თბილისი	10	0	0
3	სამცხეთ ჯავახეთი	40	0	0
4	რაჭა	32	0	0
5	გურია	42	0	0

6	იმერეთი	254	0	0
7	სვანეთი	20	0	0
8	შიდა ქართლი	95	0	0
9	ქვემო ქართლი	155	0	0
10	კახეთი	180	0	0
11	სამეგრელო	110	0	0
სულ		1000	0	0

ცხრილი 10

2010 წელს ანტიგენის კვლევის შედეგები

№	რეგიონი	ნიმუშების რაოდენობა	დადებითი	%
1	თბილისი	97	39	40.2
2	გურია	8	5	62.5
3	იმერეთი	27	2	7.4
4	კახეთი	54	28	51.6
5	მცხეთა მთიანეთი	100	20	20
6	რაჭა-სვანეთი	24	13	54.16
7	ქვემო ქართლი	29	0	0
8	სამცხეთ ჯავახეთი	17	0	0
9	შიდა ქართლი	4	4	100
	სულ	360	111	30.83%

ჩვენი კვლევების შედეგად დადგინდა, რომ ELISA საკმაოდ სპეციფიური ტესტია და ხასიათდება 96%-99 % ეფექტურობით. აღსანიშნავია ღორის აფრიკულ ცხელებაზე იმუნოფერმენტული ანალიზით მიღებული შედეგები ნაწილობრივ (იმ შემთხვევაში როცა სახეზეა ვირუსი) იდენტურია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით მიღებული შედეგების.

რაც შეეხება იმუნოფერმენტული ანალიზის ტესტს ღორის აფრიკული ცხელების ანტისხეულების აღმოსაჩენად ეფექტური ტესტია. ლიტერატურული წყაროებისა და საკუთარი გამოკვლევების შედეგებით დაყრდნობით შეიძლება დავასკვნათ, რომ დაავადებას არ ახასიათებს სეზონურობა, ის წლის ყველა პერიოდში ვრცელდება ქვეყნის ტერიტორიაზე. დაკვირვების შედეგად შეიძლება ითქვას, რომ დაავადებას ახასიათებს სპორადიული აფეთქებები. ინფექციის გავრცელების, განვითარების მიხედვით და შემდგომი ჩატარებული კვლევების საფუძველზე საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელება გამოწვეულია მაღალი ვირულენტობის მქონე ვირუსით, რაც, სიკვდილიანობის მაღალი მაჩვენებლით არის გამოხატული.

ღორის აფრიკული ცხელების სადიაგნოსტიკოდ მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება იმუნოფერმენტულ ანალიზს (ELISA), როგორც კვლევის შედეგების, ასევე, როგორც დამადასტურებელი ტესტი პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციასთან ერთად.

### **3.5. ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვიზუალიზაცია**

#### **ჰემადსორბციის რეაქციით.**

ASF ვირუსის ნიმუშები შემდგომი დიაგნოსტიკისა და სამეცნიერო კვლევებისთვის, რომელიც მიზნად ისახავდა ატენუირებული ვაქცინის შექმნას, გადაგზავნილი იქნა ა.შ.შ ცხოველთა ეპიზოტიკურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის ცენტრში (PIADC PLUM ISLAND ANIMAL CENTER), სადაც კვლევები მიმდინარეობდა უშუალოდ ჩემი მონაწილეობით. გამოყენებული იქნა სადიაგნოსტიკო ტესტი კერძოდ, ჰემადსორბციის რეაქცია, რომლის საშუალებით მოხდა ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვიზუალიზაცია. ASF ვირუსის მთავარი სამიზნე უჯრედებია მაკროფაგები და მონოციტები, კერძოდ ანტიგენის წარმდგენი უჯრედები, რომლებშიც ვირუსის რეპლიკაცია მიმდი-

ნარეობს ციტოპლაზმიშიდა "ვირუსის ქარხნებში" რომელთა მიმართაც ASF ვირუსს ძლიერი ტროპიზმი ახასიათებს. სწორედ ეს თვისება წარმატებით გამოიყენება ASFV ინ ვიტრო კვლევებისთვის.

საქართველოდან გაგზავნილი პათ-მასალების იზოლანტებიდან ვირუსის ვიზუალიზაცია შესრულებული იქნა ღორის პირველადი უჯრედების კულტურაზე ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა ცენტრში (აშშ) გადაგზავნილი ASF ვირუსის ოცი PCR-ზე დადებითი ნიმუშის დნმ-ბი. (ცხრილი11)

ცხრილი 11.

აშშ-ში გადაგზავნილი ნიმუშების PCR-ითგამოკვლევის შედეგები

№	რეგიონები	ნიმუშის სახე	შემოსვლის თარიღი	საიდენტიფიკაციო №	ტესტი PCR
					პირველადი კვლევის შედეგები
1	სვანეთი	1. ღვიძლი	8/9/2007	5023-3	CP-22.35
		2. სისხლი	8/9/2007	5017-1	CP-2235
		3. სისხლი	8/20/2007	6060-1	CP-21.72
2	კახეთი	4. ელენთა	4/13/2009	5257-6	CP-22.60
		5. ელენთა	8/14/2007	5625-6	CP-23.61
		6. ლიმფ.ჯირკვალი	4/13/2009	9-1593-7	CP-22.35
		7 სისხლი	2/5/2009	9-150-1	CP-20.07
3	სამცხეთ-ჯავახეთი	8. ელენთა	9/5/2007	6760-6	CP-21.76
		9. სისხლი	9/13/2007	7079-1	CP-21.40
4	რაჭა	10. ღვიძლი	9/4/2007	6717-3	CP-21.82
5	თბილისი	11. ელენთა	11/13/2007	9799-6	CP-18.36
		12. სისხლი	12/5/2007	10030-1	CP-20.58
6	მცხეთა-მთიანეთი	13. ელენთა	11/27/2007	9912-6	CP-18.94
7	იმერეთი	14. ელენთა	12/28/2007	10291-6	CP-19.58
		15. სისხლი	11/22/2007	9907-1	CP-18.08

		16. სისხლი	11/23/2007	9906-1	CP-20.75
		17. სისხლი	5/4/2009	9-1852-1	CP-20.77
8	გურია	18. სისხლი	11/5/2007	9373-1	CP-19.93
		19. სისხლი	11/5/2007	9353-1	CP-19.13
9	ქვემო ქართლი	20. ელენთა	8/6/2007	4749-6	CP-21.06

საქართველოში დადგენილი ღორის აფრიკლი ცხელების ვირუსის პათოლოგიურ იზოლატებში, აღმოჩენილია, როგორც მოსალოდნელი იყო T-ლიმფოციტების ზედაპირული ანტიგენი CD-2, რომლებიც მდებარეობს ღია წაკითხულ ჩარჩოში (ORF-8DR-გენი) ეს არის გვიანი ანტიგენი, რომელიც განაპირობებს და პასუხობს ჰემადსორბციის გამოვლენას ASFV დაინფიცირებულ უჯრედებში. სამუშაოები შესრულებული იყო შემდეგი თამიმდევრობით: 1) მაკროფაგების მომზადება. 2) უჯრედების დაინფიცირება (Georgia) იზოლატებით. 3) რეზულტატი: ციტოპათოლოგიური ეფექტი და ჰემადსორბცია. მიმოვიხილავთ უჯრედოვანი კულტურების მომზადებას. ძირითადად ღორის სისხლის მაკროფაგის უჯრედოვანი კულტურები მზადდებოდა დეფიბრინებული ღორის სისხლიდან, ჰეპარინიანი ღორის სისხლი ინკუბირებული იყო 37 გრადუსიან წყლის აბაზანაში 1 საათის განმავლობაში, რათა ხდებოდა ერითროციტების ფრაქციების სედიმენტაცია. მონონუკლეარული ლეიკოციტები გამოიყოფოდა (Fikoll-Paque) ფლოტაციით ფიკოლ სიმკვრივის გრადიენტით.(სურათი 28 1,2, 3, 4, 5) მონოციტურ-მაკროფაგული უჯრედების ფრაქციები კულტივირებული იყო პლასმასის პირველადი უჯრედის კულტურის ბოთლებში (Flasks-T75), რომელიც შეიცავდა RPMI 1640 მედიუმს 30%-იანი L929 სუპერნატანტს და 20 % FBS ხარის შრატს, 48 სთ ინკუბაცია 37°C 5%

CO2 ინკუბატორში. მჭიდრო უჯრედები გამოყოფილი იყო 10 mM EDTA გამოყენებით ფოსფატ-ბუფერული ნიადაგიდან და შემდეგ



შეტანილი იქნა ისევ T75 ბოთლებში- ინკუბაცია 37<sup>0</sup>C. ჩვეულებრივ 1-2 დღის შემდეგ ფლაკონის ქვედა კედელი, დაფარულია უჯრედების განუწყვეტლი მონოშრით.

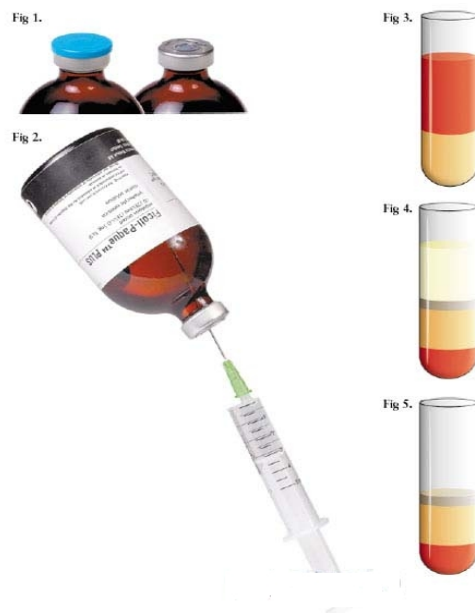
სურათი 27

მონოციტი



სურათი 28

ფიკოლი (1,2) და ნახვენებია სელიმენტაცია.(3,4,5.)



პათოლოგიური მასალა გამოყენებული იქნა, როგორც, სისხლი ასევე ღვიძლი, ელენთა, ლიმფური ჯირკვალი. მომზადდა სუსპენზია 1:10 განზავებით, გამოყენებული იქნა განზავებისთვის რეგულარული

მედია, 10% Fetal bovine Serum შემცველობით. მაკროფაგები დასნებოვნდა 1 მლ ოდენობის (საქართველოდან გაგზავნილი) ვირუსებით. ინკუბაციის მეორე დღეს დამატებული იქნა უკვე მომზადებული 20% სისხლის წითელი უჯრედები. და გაგრძელდა ინკუბაცია მანამ, სანამ, არ განვითარდა შედეგი, კერძოდ, ციტოპათოლოგიური ეფექტი (CPE) და ჰემადსორბცია. გამოკვლეული იყო 20-ვე საქართველოში დაფიქსირებული (GEO) ნიმუშების პათ-მასალა და შედეგები მოცემული არის ქვემოთ (ცხრილი12). ნიმუშები არჩეულია საქართველოს რამოდენიმე რეგიონიდან: სვანეთი, კახეთი, სამცხეთ-ჯავახეთი, რაჭა, თბილისი, მცხეთა-მთიანეთი და იმერეთიდან 2007 წლის, 2008 და 2009 წლის აფეთქებების დროს. გამოკვლევებმა აჩვენა პრაქტიკულად დადებითი შედეგი, მხოლოდ ორ ნიმუშში არ აღმოჩნდა № 20 და №14-ი ცოცხალი ვირუსი. ანუ თითქმის ყველა იზოლატში განვითარდა ციტოპათოლოგიური ეფექტი და ჰემადსორბცია.

ცხრილი 12

ჰემადსორბციის კვლევის შედეგები.

№	რეგიონები	ნიმუშის სახე	შემოსვლის თარიღი	ჰემადსორბცია (HAD)
1	სვანეთი	1. ღვიძლი	8/9/2007	დადებითი
		2. სისხლი	8/9/2007	დადებითი
		3. სისხლი	8/20/2007	დადებითი
2	კახეთი	4. ელენთა	4/13/2009	დადებითი
		5. ელენთა	8/14/2007	დადებითი
		6. ლიმფ.ჯირკვალი	4/13/2009	დადებითი
		7 სისხლი	2/5/2009	დადებითი
3	სამცხეთ-	8. ელენთა	9/5/2007	დადებითი

	ჯავახეთი	9. სისხლი	9/13/2007	დადებითი
4	რაჭა	10. ღვიძლი	9/4/2007	დადებითი
5	თბილისი	11. ელენთა	11/13/2007	დადებითი
		12. სისხლი	12/5/2007	დადებითი
6	მცხეთა-მთიანეთი	13. ელენთა	11/27/2007	დადებითი
7	იმერეთი	14. ელენთა	12/28/2007	უარყოფითი
		15. სისხლი	11/22/2007	დადებითი
		16. სისხლი	11/23/2007	დადებითი
		17. სისხლი	5/4/2009	დადებითი
8	გურია	18. სისხლი	11/5/2007	დადებითი
		19. სისხლი	11/5/2007	დადებითი
9	ქვემო ქართლი	20. ელენთა	8/6/2007	უარყოფითი

შემდეგ დამუშავდა, გაუკეთდა ალიკვოტირება და შენახული იქნა (-80°C-ზე საყინულეში) შემდგომი სამეცნიერო კვლევებისთვის ქსოვილოვანი კულტურიდან მიღებული ASF ვირუსის ნიმუშების სუპერნატანტი. რეაქცია იყო საკმაოდ მკვეთრად გამოხატული. რაც, გვიდასტურებს ცოცხალი ვირუსის არსებობას ნიმუშებში. შეგვიძლია განვსაზღვროთ რამდენად ძლიერია ASF ვირუსი, რომელიც წლების მანძილზე, საკმაოდ დიდხანს ინარჩუნებს დაბალ ტემპერატურაზე სიცოცხლის უნარობას პათოლოგიურ ნიმუშებში.

### **3.6. საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვირულენტობის განსაზღვრა**

კვლევები ჩატარდა აშშ-ში ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა ცენტრში. იმისათვის, რომ განვსაზღვროთ საქართველოში დაფიქსირ-

ებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვირულენტობა და ვირუსის ტიტრი, ჩატარდა ვირუსის ტიტრაცია-ჰემადსორბციის რეაქციის გამოყენებით. კერძოდ, მოვახდინეთ ვირუსის ათჯერადი განზავებით მისი ტიტრაცია ღორის პირველადი მაკროფაგების უჯრედების კულტურაზე. ვირუსის ინფეციურობა უმაღლეს ტიტრებს აღწევს დაინფიცირებიდან მე 6-7 დღეს. მაქსიმალური ტიტრების გამოვლენისას ვირუსის ინფექციურობა მცირდება. ქსოვილის პირველად კულტურაში ვირუსის გამრავლების სიჩქარე დამოკიდებული არის დასნებოვნების დოზაზე, თუმცა, ვირუსის მაქსიმალური ტიტრი არ იცვლება. ტიტრის გამოთვლა ხდება სპერმან- კარბერის მეთოდით. ვირუსის ტიტრად ითვლება მისი მინიმალური დოზა მოცულობის ერთეულზე, რომელიც იწვევს 50% ციტოპათოგენურ ეფექტსა და დაზიანებებს დასნებოვნებულ უჯრედში. მაკროფაგების უჯრედებში დაავადების გამომწვევი დოზაა, სადაც ჰემადსორბცია ვითარდება ღორის ინფიცირებული ლეიკოციტების მიერ ერითროციტების წითელი უჯრედების აღსორბციისას.

გატიტრული იქნა 18 პათოლოგიური ნიმუში, რომელიც აღებული იქნა საქართველოს სხვა და სხვა რეგიონში 2007-2009 წლებში. შერჩეული იყო სვანეთის, კახეთის, სამცხეთ-ჯავახეთის, რაჭის, თბილისის, მცხეთა-მთიანეთი, გურიისა და იმერეთის რეგიონებში დაფიქსირებული ASFV ნიმუშები. ტიტრაციისთვის მომზადდა უჯრედოვანი კულტურები: ძირითადად ღორის სისხლის მაკროფაგის უჯრედოვანი კულტურები მზადდება დეფიბრინებული ღორის სისხლიდან, ჰეპარინიანი ღორის სისხლი, რომელიც ინკუბირებული იყო 37<sup>0</sup>C წყლის აბაზანაში 1 საათის განმავლობაში, სადაც, ხდებოდა ერითროციტების ფრაქციების სელიმენტაცია. მონონუკლეარული ლეიკოციტები გამოიყოფოდა (Fikoll-Paque) ფლოტაციით ფიკოლ სიმკვრივის გრადიენტით. მონოციტურ-მაკროფაგული უჯრედების ფრაქციები კულტივირებული იყო პლასმა-

სის პირველადი უჯრედის კულტურის ბოთლებში (Flasks-T75), რომელიც შეიცავდა RPMI 1640 მედიუმს 30%-იანი L 929 სუპერნატანტ და 20 % FBS ხარის შრატს, 48 სთ ინკუბაცია 37°C 5% CO<sub>2</sub> ინკუბატორში. მჭიდრო უჯრედები გამოყოფილი იყო 10 mM EDTA გამოყენებით ფოსფატ-ბუფერული ნიადაგიდან და ცენტრიფუგირების შემდეგ უჯრედები აღდგენილი იქნა რეგულარულ მედიაში და შეტანილი იქნა მიკროტიტრაციის 96-ფოსოიან Falcon-ის პლანშეტებში  $\times 10^6$  სიმჭიდროვის უჯრედები. ინკუბაცია 37°C 5% CO<sub>2</sub> ინკუბატორში. ნიმუშის განზავება: ყოველი ვირუსის ნიმუში განზავებული იქნა 10-ჯერადად  $10^{-8}$  ხარისხამდე, RPMI მედიას გამოყენებით, რომელიც შეიცავდა 20%-ან Fetal Bovine Serum-ს. და განზავებული ვირუსი დამატებული იქნა 96-ფოსოიან პლანშეტებზე.

გაუკეთდა ინკუბაცია 37°C 5% CO<sub>2</sub> მთელი ღამით. მერე დღეს ვამატებთ 20%-იან სისხლის ერიტროციტებს და 7 დღის განმავლობაში ვკითულობთ რეაქციას, ვირუსის ტიტრი გამოთვლილი იყო, როგორც უკვე ზემოთ ვახსენეთ სპერმან-კარბერის მეთოდის ფორმულით გამოყენებით. (ცხრილი13)

ცხრილი13.

ტიტრის გამოთვლა სპერმან-კარბერის მეთოდი

განზავება	პლანშეტის ფოსო №	დადებითი ფოსოს რაოდენობა
0	0	6
10	1	6
10	2	6
10	3	6
10	4	6
10	5	6

10	6	6
10	7	6
10	8	6
	9	0
	10	0
	ლოგ10TCID50/მლ	
	9.8	+/-

ზემოთ ნაჩვენებია ვირუსის ტიტრის გამოთვლის მეთოდი, სადაც პირველ სვეტში მოცემულია პლანშეტის 10 ფოსო, ხოლო მეორე სვეტი აღნიშნავს ფოსოებს, რომელშიც შეტანილია 10-ჯერადად გნზავებული საკვლევი მასალა 6 ფოსოში. ხოლო დადებითი ნიშნავს იმ ნიმუშებს, რომელ პლანშეტის ფოსოშიც ჰემადსორბცია დაფიქსირდა. გამოთვლილი მაგალითი: № 10 ვირუსის ტიტრაციის შედეგი 9.80.

შედეგები მოცემულია ცხრილი 14-ში და დიაგრამა 6-ში. ვირუსის ტიტრაციის შედეგები რეგიონების მიხედვით — (ლოგ10TCID 50/მლ). კვლევებში გამოყენებულია ინფიცირებული ღორების იმ ორგანოების პათოლოგიური მასალები, სადაც ძირითადად დიდი რაოდენობით ლოკალიზებულია ვირუსი – ღვიძლის, სისხლის, ელენთის და ლიმფური ჯირკვლის ნიმუშები. ნათლად ვხედავთ შედეგებს. კვლევებმა აჩვენა, რომ თითქმის ყველა ვირუსის ტიტრი

ცხრილი 14

ვირუსის ტიტრაციის შედეგები რეგიონების  
მიხედვით(ლოგ10TCID50/მლ)

რეგიონი	მასალა	ტიტრაციის შედეგი
სვანეთი	1. ღვიძლი	9.63

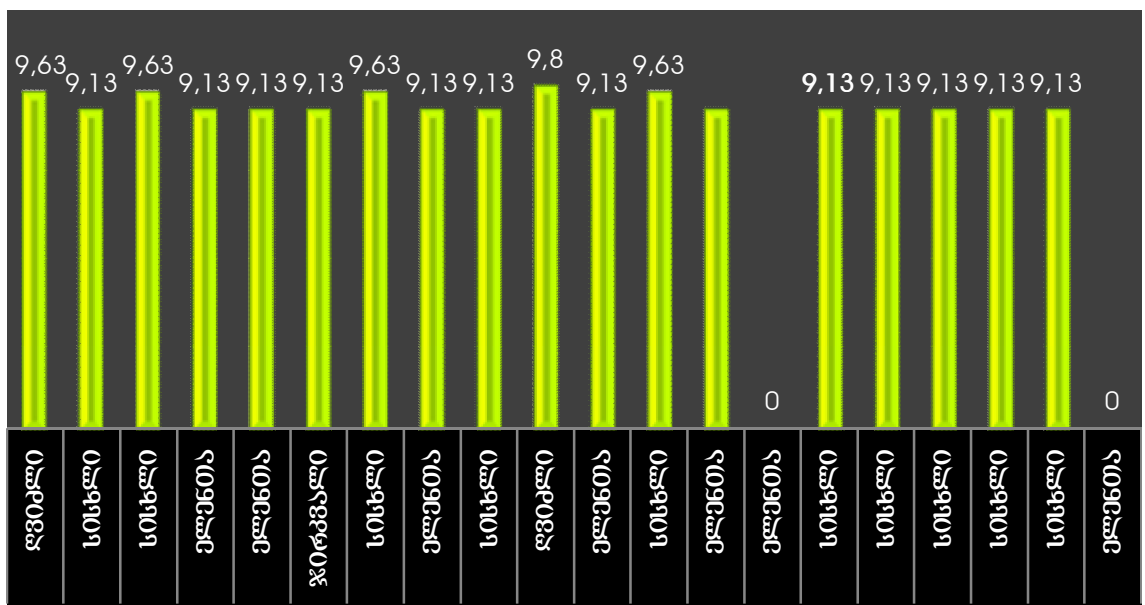
	2. სისხლი	9.13
	3. სისხლი	9.63
კახეთი	4. ელენთა	9.13
	5. ელენთა	9.13
	6.ღიმფური კვანძი	9.13
	7. სისხლი	9.63
სამცხეთ ჯავახეთი	8. ელენთა	9.13
	9. სისხლი	9.13
რაჭა	10. ღვიძლი	9.13
თბილისი	11. ელენთა	9.13
	12. სისხლი	9.63
მცხეთა მთიანეთი	13. ელენთა	9.13
იმერეთი	14. ელენთა	უარყოფითი
	15. სისხლი	9.13
	16. სისხლი	9.13
	17. სისხლი	9.13
გურია	18. სისხლი	9.13
	19. სისხლი	9.13
ქვემო ქართლი	20. ელენთა	უარყოფითი

მსგავსია, ყველაზე მაღალი ტიტრი შედარებით აქვს №10 ნიმუშს—(რაჭა), ასევე სვანეთის, კახეთის და თბილისის №1, №3, №7 და №12 ნიმუშებშიც შედარებით მაღალი ტიტრია. თუმცა, ზოგადად შედეგები განისაზღვრება მაღალი მაჩვენებლით და მერყეობს 9.13 და 9.80 ერთეულს შორის. ასევე მიღებული იყო მაკროფაგებზე პასაჟირებით №10 ვირუსის მერე პასაჟი, რომლის ტიტრი შემცირებული იყო 8.80 ლოგ<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/მლ-10<sup>8</sup>. რომელზეც გაკეთდა ტიტრა-

ცია (ზემოთ აღწერილი მეთოდით) და შედარებული იყო რამოდენიმე სხვადასხვა ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის შტამებს, კერძოდ, ესპანურ ბუნებრივ ორიგინალ ვირუსს და აფრიკულ კერძოდ, მაღავის და პრეტორიას რეკომბინანტ ვირუსებს Δ9GL — შედეგები მოცემულია ცხრილი 15-ში და დიაგრამა 7 და 8-ში. მონაცემებზე დაყრდნობით, საკმაოდ მაღალი ტიტრით ხასიათდებიან ესპანური (E)70, ესპანური (E)75 და საქართველოს 2-ე პასაჟის ბუნებრივი ვირუსები, ვიდრე მაღავის და პრეტორიას რეკომბინანტი ვირუსები. ცხრილ 15-ში ნახვენებია ინფექციის შემდგომი პირველი და მეშვიდე დღის შედეგები, რომელიც გამოხატულია 7 და 8 დიაგრამების საშუალებით. საკმაოდ მაღალი

დიაგრამა 6

ვირუსის ტიტრაციის შედეგები რეგიონების მიხედვით გამოხატული დიაგრამით — (ლოგ<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/მლ).



ტიტრით ხასიათდება ბუნებრივი ვირუსის შტამები, ვიდრე რეკომბინანტი ვირუსების ტიტრი.



ტიტრაციის შედეგები პოსტინფექციის პირველ და მე-7-ე დღეს  
(ლოგ<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/მლ-ში.)

№	ნიმუშები	პოსტინფექციის პირველი დღე	პოსტინფექციის მეშვიდე დღე
1	საქართველო პასაჟი 2#10	6.63	7.13
2	მაღაღი Δ9GL	5.3	6.47
3	პრეტორია Δ9GL	3.63	4.97
4	ესპანეთი (E)70	5.63	8.13
5	ესპანეთი (E)75	6.13	7.13

მაღალია ესპანეთში 1970 წელს დაფიქსირებული E70 ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსი, რომლის ტიტრი 8.13 ლოგ<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/მლ. რაც შეეხება რეკომბინანტ გენებს, მათი ტიტრი საკმაოდ შემცირებულია როგორც ვხედავთ. (M Rodriguez et al. 1994; Yozavwa et al. 1994). მონაცემებზე დაყრდნობით საქართველოში რეგისტრირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ინფექციური მაქსიმალური ტიტრია 10<sup>9</sup>.

დიაგრამა 7.

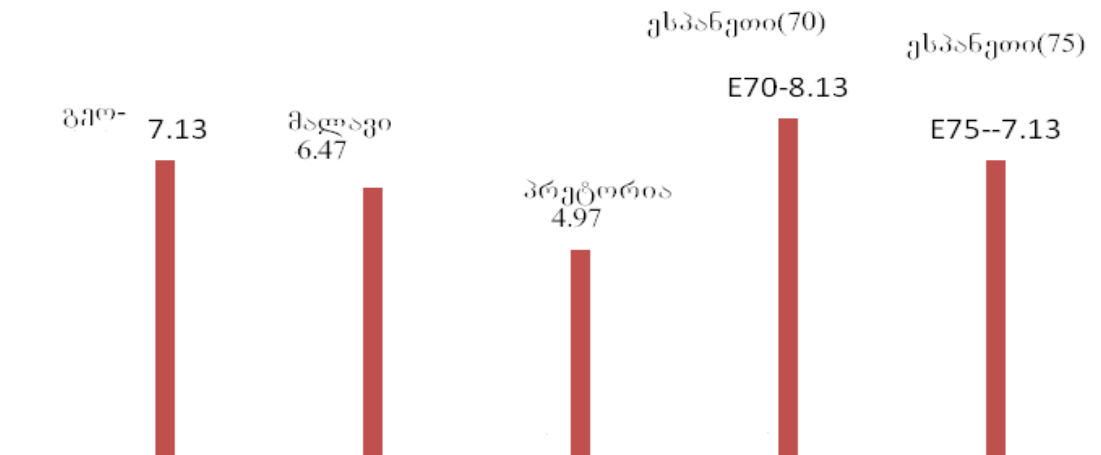
ვირუსის ტიტრაციის შედეგებით შედეგები პოსტინფექციიდან პირველ დღეს გამოხატული დიაგრამით



ვირუსი ამჟღავნებს ვირულენტობას ინ ვიტრო ლაბორატორიული კვლევებისას. რაც საშუალებას გვაძლევს, ვთქვათ, რომ საქართველოში ღორების მასიური დახოცვა 2007-2009 წლებში გამოწვეული იყო მაღალი ვირულენტობის მქონე ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის შტამებით

დიაგრამა 8

ვირუსის ტიტრაციის შედარებითი შედეგები პოსტინფექციიდან მეშვიდე დღეს გამოხატული დიაგრამით.



### 3.7. იორკშირის ჯიშის ღორების ინოკულაცია საქართველოში დაფიქსირებული ASF ვირუსით, ტიტრაცია და შედეგები.

კვლევები ჩატარებულია აშშ-ში ცხოველთა ეპიზოტიკური დაავადებათა ცენტრში. ქსოვილოვანი კულტურას ვამზადებდით მკაცრ ასეპტიკურ პირობებში, მე-2 დონის ბიოუსაფრთხოების ბოქსებში, რომლის დროსაც ვხმარობთ ავტოკლავირებულ მინის ჭურჭელს, სტერილურ ეპენდორფის სინჯარებს.

საექსპერიმენტოდ ღორების ინოკულაციისათვის გვყავდა იორკშირის ჯიშის 30-35 კგ წონის 4 ბურვაკი, რომლებიც დავყავით ორ ჯგუფად: ორ-ორი ბურვაკი თითოეულში. ცხოველთა პირველი ჯგუფის

დასნებოვნება მოხდა საქართველოში დაფიქსირებული ვირუსით, ხოლო 2-ე ჯგუფის ორი ბურვაკის, დასნებოვნება მოვახდინეთ ესპანური ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის შტამით.

მოვამზადეთ ტიტრაციის შედეგად მიღებული GEO-მე-10-ე ნომერი ვირუსი (რაჭა, ონი, 6717-3 9.04.2007) რომლის ტიტრი 9.80ლოგ<sub>10</sub> იყო, ხოლო მეორე პასაჟირების შემდეგ 8.80. გვაქვს ორი ვირუსი GEO-10 და ესპანეთში დაფიქსირებული 1975 წელს გამოყოფილი ვირუსი E75. მოვამზადეთ მათი სუსპენზიები დაგანვაზავეთ 1:10-ზე 0.9მლ RPMI მედია დავამატეთ 100μl ვირუსი და შესაბამისად მოვამზადეთ საინექციოდ, ინოკულაცია ბურვაკებში გაკეთდა 10.06.2010-ში. ყოველ-დღე ვახდენდით დაკვირვებას ბურვაკებზე, ვზომავდით ტემპერატურას, ვაკვირდებოდით კლინიკურ ნიშნებს. დასნებოვნებიდან მე-4 დღეს ოთხივე ბურვაკს განუვითარდათ გარკვეული კლინიკური ნიშნები აეწიათ ტემპერატურა 37<sup>0</sup>C (102F)-38<sup>0</sup>C (107F), თუმცა უხასიათობა მე-4 დღეს დიდათ არ ეტყობოდათ. ჩვენ სადიაგნოსტიკოდ ბურვაკებიდან ავიღეთ ნიმუშები: ნაცხი ნუშისებური ჯირკვლებიდან, ცხვირის ძგიდიდან, ასევე სისხლი და სისხლის შრატები სულ 16 ნიმუში 4-4-ი ნიმუში თითო ბურვაკიდან. აღებული ნიმუშები შევინახეთ -20<sup>0</sup>C-ზე რეფრიჟერატორში. დაკვირვების შედეგად მე-6 დღეს პირველი ჯგუფის ბურვაკებს, რომლებიც დანფიცირებული იყვნენ ესპანური აფრიკული ცხელების ვირუსის შტამით აეწიათ ტემპერატურა 42<sup>0</sup>C, განუვითარდათ ციანოზი, ცხელების გამო უმოძრაოდ იწვნენ ერთად, ქონდათ სისხლიანი გამონადენი და უკვე შეხებაზეც აღარ რეაგირებდნენ №27692 იყო მკვდარი ხოლო №27690 ბურვაკი, რომელსაც ჯერ კიდევ სიცოცხლის ნიშნები აღენიშნებოდა ავიღეთ სისხლი და შრატის ნიმუშები. დავამუშავეთ ნიმუშები და -20<sup>0</sup>C შევინახეთ. რაც, შეეხებათ მეორე ჯგუფის ბურვაკებს, რომლებიც GEO-10 ნიმუშით იყვნენ

დაინფიცირებული პოსტინფექციიდან მე-6 დღეს აღენიშნებოდათ უკვე კარგად განვითარებული კლინიკური ნიშნები: მაღალი ტემპერატურა 41-42<sup>0</sup> C, სისხლიანი გამონადენი, განვითარებული ციანოზით. ავიღეთ ნიმუშები ნუშისებური ჯირკვლებიდან და ცხვირიდან ნაცხი, სისხლი და შრავტი. აღებული ნიმუშები შევინახეთ -20<sup>0</sup>C-ზე. №27692 ბურვაკიც დაიღუპა დასნებოვნებიდან მე-6 დღეს. ხოლო №27693 ბურვაკი დაიღუპა დაინფიცირებიდან მე-8 დღეს, რომლისგანაც შევძელით და ავიღეთ სისხლის ნიმუში და შევინახეთ -20<sup>0</sup> C. სულ შეგროვდა 27 ნიმუში: საიდანაც 6 ნიმუში იყო ნუშისებრი ჯირკვალის ნაცხები, 6 ნაზალური, 7 შრავტი და 8 სისხლი. რეაქციის შედეგები გამოვთვალეთ დასნებოვნებიდან 4-ე, 6-ე და 7-ე დღეს სპერმან-კაპბერის მეთოდით.

ნიმუშებს ჰემადსორბციის რეაქციით ჩაუტარდა ტიტრაცია (შედეგები მოცემულია (ცხრილი16).

ცხრილი16

ტიტრაციის შედეგები

ოთახი		მე-4დღე- პოსტინფექციიდან 6.14.10				მე-6 დღე - პოსტინფექციიდან 6.16.10				მე-8-დღე პოსტინფექციიდან-6.18.10				რეაქცია იკითხება 7 დღის განმავლობაში	
№		ტიტრი log10TCDS0/ml-7 დღე				ტიტრი log10TCDS0/ml-7დღე				ტიტრი log10TCDS0/ml--7დღე				ტიტრი 6 ნიმუში -01.07.10	
ნომერი		ტიტრი	ნაზალური	შრავტი	სისხლი	ტიტრი	ნაზალური	შრავტი	სისხლი	ტიტრი	ნაზალური	შრავტი	სისხლი	ტიტრი 6 ნიმუში 9.07.10	
189-ა-12	1	4.47	0	6.8	9.8	.	.	6.8	8.3	.	.	.	8.8	ნაზალური 6 ნიმუში 22.07.10	
	2	4.97	2.13	6.8	9.8	.	.	.	.	.	.	.	.		
181-ა-12	3	4.8	0	2.8	9.13	4.63	0	6.3	8.63	.	.	.	8.8		
	4	4.8	0	5.63	8.8	4.97	0	6.47	8.8	.	.	.	.		
რაოდენობა		4	4	4	4	2	2	3	3	0	0	0	1		
		16				10				1					
სულ		27													
შენიშვნა		--- სიკვდილი 6.16.10													
		-- სიკვდილი 6.15.10													
		--- სიკვდილი 6.18.10													

თუ დავაკვირდებით მონაცემებს ვირუსი არ აღმოჩნდა ნაზალურ ნიმუშებში გარდა ერთი ბურვაკისა №27691, რომელიც მოკვდა მეწ-დღეს. ნუშისებრ ჯირკვალშიც ვირუსის ტიტრი შედარებით დაბალია ასევე შრატისა და სისხლის ნიმუშებში, საკმაოდ მაღალი ტიტრი აღინიშნება ვირემიის დროს სისხლის ნიმუშებში. მიღებული კვლევების საფუძველზე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ აღებულიორივე ვირუსი მაღალი ვირულენტობითა და ტიტრით ხასიათდებიან.

**3.8. ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის დნმ-ის ექსტრაქცია, PCR, ელექტროფორეზი, პურიფიკაცია, სეკვენსის შედეგები.**

კვლევები ჩატარებულია ცხოველთა ევზოტიკურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის ცენტრში, აშშ-ში. საქართველოდან გაგზავნილი 20-ე ნიმუში, რომლებიც გამოვიკვლიეთ ჰემადსორბციის რეაქციით, მოვამზადეთ მოლეკულური ბიოლოგიური კვლევებისთვის. კვლევები მიზნად ისახავდა აფრიკული ცხელების 9GL-ის და CD2 ფრაგმენტების ამპლიფიკაციას და შედარებას რეფერენს მაღავის შტამის 9GL და CD2-ს ფრაგმენტებთან. შენიშვნა: ვირუსის ჰემადსორბციის ვიზუალიზაციისას მიღებული ნიმუშებიდან დნმ-ის ექსტრაქცია ვერ მოხერხდა. რისთვისაც გამოვიყენეთ ორიგინალი ნიმუშები. პირველი ეტაპი: გავაკეთეთ ორიგინალი 20-ე ნიმუშის ექსტრაქცია (DNA Blood&Tissue Extraction Kit)-ის ნაკრების დახმარებით. ნიმუშებიდან გამოყოფილი დნმ-ის აქტივობა გაზომილი იქნა სპექტროფოტომეტრის საშუალებით, რომელთა შედეგები მოცემულია ცხრილ 17-ში.

ცხრილი 17

პირველადი ნიმუშებიდან ექსტრაგირებული ASFV დნმ-ის შედეგები

№	ნიმუშის №	ანალიზის თარიღი	დრო	ნგ/მკლ	A260	A280	260/280
1	4749-6	15.09.2010	2.52	198.43	0.393	0.197	1.99

2	5017-1	15.09.2010	2.53	22.18	0.454	0.276	1.69
3	5023-3	15.09.2010	2.54	136.19	0.237	0.120	1.97
4	6760-6	15.09.2010	2.55	165.75	0.543	0.277	1.96
5	9906-1	15.09.2010	2.56	14.90	0.248	0.144	1.72
6	9907-1	15.09.2010	2.57	30.49	0.610	0.340	1.79
7	10030-1	15.09.2010	2.58	16.05	0.321	0.188	1.70
8	9-150-1	15.09.2010	2.59	12.91	0.249	0.152	1.63
9	10291-6	15.09.2010	3	180.23	0.827	0.419	1.97
10	9353	15.09.2010	3.01	98.44	0.732	0.395	1.85
11	18	15.09.2010	3.02	52.22	1.155	0.560	1.69
12	17	15.09.2010	3.03	21.02	0.584	0.230	1.97
13	13	15.09.2010	3.04	1468.71	2.125	1.215	1.99
14	11	15.09.2010	3.05	3064.03	3.822	1.821	2.09
15	10	15.09.2010	3.06	2473.69	3.038	1.621	1.87
16	9	15.09.2010	3.07	71.07	1.411	0.780	1.80
17	6	15.09.2010	3.08	1174.16	2.117	1.634	1.84
18	5	15.09.2010	3.09	898.67	2.989	1.297	2.30
19	4	15.09.2010	3.10	284.72	1.982	0.930	2.13
20	3	15.09.2010	3.11	113.13	2.014	0.857	2.35

თუ დაგაკვირდებით ცხრილ 17-ს, პირველადი ნიმუშებიდან მიღებული დნმ-ის აქტივობა რამოდენიმე ნიმუშში საკმაოდ მაღალია, რამოდენიმეში ნაკლები. მაგალითად №15(10) ნიმუშში დნმ-ის

რაოდენობა 2473.69 ნგ-ია მკლ-ში, რაც საკმაოდ მაღალი მაჩვენებელია, თუმცა, დნმ-ის გასუფთავების შემდეგ მისი რაოდენობა მცირდება ხოლმე. ხოლო ყველაზე ნაკლები აქტივობა დნმ-ის №8 (9-150) სისხლის ნიმუშია. გასუფთავების შემდეგ სუფთა დნმ-ის რაოდენობა ასევე, შეიძლება შეიცვალოს. აბსორბციის/შეწოვის განსაზღვრა/გაზომვა ხდება სპექტროფოტომეტრზე, ასევე ნებისმიერ თერმო სამეცნიერო NanoDrop სპექტროფოტომეტრზე, რომელიც ახდენს ნიმუშიდან ყველა მოლეკულის შეწოვას. ვინაიდან ნუკლეოტიდები, RNA, ssDNA და dsDNA შეიწოვება 260 ნმ, ხელს უწყობს ნიმუშის სრულ შეწოვას. ამიტომ NanoDrop™ სპექტროფოტომეტრის გამოყენების დროს ზუსტი შედეგების მისაღებად ნუკლეინის მჟავის შემცველი ნიმუშები მოითხოვენ გაწმენდას პურიფიკაციას გაზომვამდე. 260ნმ/280ნმ გამოიყენება DNA-სა და RNA-ის სისუფთავის შეფასებისათვის. 2,0-ის მაჩვენებელი ზოგადად მიჩნეულია, როგორც „სუფთა“ დნმ-ის შემცველობა. რომელიმე შემთხვევაში, თუ მაჩვენებელი საგრძნობლად დაბალია, ის პროტეინის, ფენოლის ან სხვა კონტამინანტის არსებობის მაჩვენებელია, რომელიც შეწოვას ახდენს ზუსტად ან დაახლოებით 280ნმ-ით. დაახლოებით ნუკლეინის მჯავების 50 ნგ/მკლ ოდენობის ნიმუშები კარგია სეკვენსისთვის.

მოვამზადეთ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციისთვის მასტერ მიქსი 9GL ფრაგმენტის პრაიმერების გამოყენებით. (ცხრილი 18). PCR-ის რეაქციისთვის საჭიროა 50 მკლ მასტერ მიქსის რაოდენობა. რეაქციას ვკითხულობთ PCR Thermal Cycler მანქანის დახმარებით შემდეგი ტემპურ რატურული რეჟიმით (ცხრილი 19). რეაქცია იკითხება 3სთ განმავლობაში, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ამპლიფიკაციის შედეგების ვიზუალიზაცია ხდება ელექტროფორეზის გამოყენებით.

მასტერ მიქსში გამოყენებული რეაგენტები 1 რეაქციისთვის

	გამოყენებული რეაგენტები	რაოდენობა მკლ-ში
1	10X ბუფერი	5
2	რნა-სუფთა წყალი	37
3	წინა პრაიმერი-9GL-armF1	2
4	უკანა პრაიმერი-9GL-armR1	2
5	ნუკლეოტიდების მიქსი	1
6	პოლიმერაზა	1
7	ნიმუშის დნმ	2
	სულ	50

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ტემპერატურული რეჟიმი

PCR- ტემპერატურული რეჟიმი	
გრადუსები	დრო
95	1წთ
95	50 წამი
52	50 წამი
68	2წთ
4	0
35 ციკლი	



მიღებული დნმ-ბის აქტივობას გამოწმობთ სპექტროფოტომეტრის დახმარებით. მიღებული შედეგებმა მოგვცა საშუალება გაუკეთოდ სეკვენსი ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის დნმ-ს.

ცხრილი 20.

დნმ-ის რაოდენობის შედეგები 9GL ფრაგმენტისთვის ნგ/მკლ-ში

№	ნიმუშის №	ანალიზის თარიღი	დრო	ნგ/მკლ	A260	A280	260/280
1	4749-6	22.09.2010	9:51	52.47	1.010	0.531	1.90
2	5017-1	17.09.2010	9:52	54.09	1.012	0.536	1.89
3	5023-3	17.09.2010	9:53	50.48	0.885	0.417	2.12
4	6760-6	17.09.2010	9:54	50.62	0.944	0.494	1.91
5	9906-1	17.09.2010	9:55	44.23	1.059	0.503	2.11
6	9907-1	17.09.2010	9:56	47.18	0.640	0.334	1.91
7	10030-1	17.09.2010	9:57	52.95	0.876	0.474	1.85
8	9-150-1	17.09.2010	9:58	31.88	0.745	0.380	1.96
9	10291-6	17.09.2010	9:59	43.78	1.066	0.585	1.82
10	9353	17.09.2010	10:00	37.25	1.297	0.731	1.77
11	3	17.09.2010	10:01	53.28	1.409	0.758	1.94
12	4	17.09.2010	10:02	64.84	0.808	0.440	1.97
13	5	17.09.2010	10:03	73.44	1.137	0.608	1.87
14	6	17.09.2010	10:04	43.26	1.068	0.575	1.86
15	9	17.09.2010	10:05	56.84	0.790	0.399	1.98
16	10	17.09.2010	10:06	53.40	1.206	0.618	1.95
17	11	17.09.2010	10:07	39.52	1.275	0.667	1.91
18	13	17.09.2010	10:08	60.32	1.115	0.568	1.90
19	17	17.09.2010	10:09	63.73	1.121	0.583	1.92
20	18	17.09.2010	10:10	55.76	1.117	0.576	1.93

იგვე პროცედურებით გაგაკეთეთ CD2 ფრაგმენტის ნიმუშების მომზადება სეკვენსირებისათვის. თუმცა, PCR-მა არ მოგვცა შედეგი, მიუხედავად რამოდენიმე ცდისა. ამის შემდეგ მოვამზადეთ 12 რეაქცია ერთი და იგივე ნიმუშზე, PCR- პროგრამის ცვალებადობით, შევცვალეთ ანილირების ტემპერატურა 51<sup>0</sup>-დან 65<sup>0</sup> გრადუსამდე. PCR-მა იმუშავა მე-3-ე ნიმუშიდან მე-12-ე ნიმუშის ჩათვლით. შემდეგი კვლევებისთვის ავირჩიეთ 61.5<sup>0</sup>C ანილირების ტემპერატურად. გამოვიყენეთ შესაბამისი CD2 პრაიმერები და რეაგენტები. გამოყენებული პრაიმერები (ცხრილი 21).

ცხრილი 21

გამოყენებული CD2 პრაიმერების სეკვენსი

	დასახელება პრაიმერის	სეკვენსი 5'-3'	პოლარობა
1	CD2aF2	GAGTCAGTACTATTACGCAATAGTGG	ფორვარდი
2	CD2aR2	TGCTTGATTCTAGGAGAGCTG	რევერსი

მოვამზადეთ სუფთა ოთახში მასტერ მიქსი და ვკითხულობთ რეაქციას თერმო ციკლერის დახმარებით. გამოყენებული მასტერ მიქსის რეაგენტები და PCR პროგრამა (ცხრილი 22 და 23).

PCR-ზე მიღებული შედეგების ვიზუალიზაცია მოვახდინეთ ელექტროფორეზის საშუალებით 1%-იანი აგარის გელში.

ცხრილი 22

მასტერ მიქსში გამოყენებული რეაგენტები 1 რეაქციისთვის

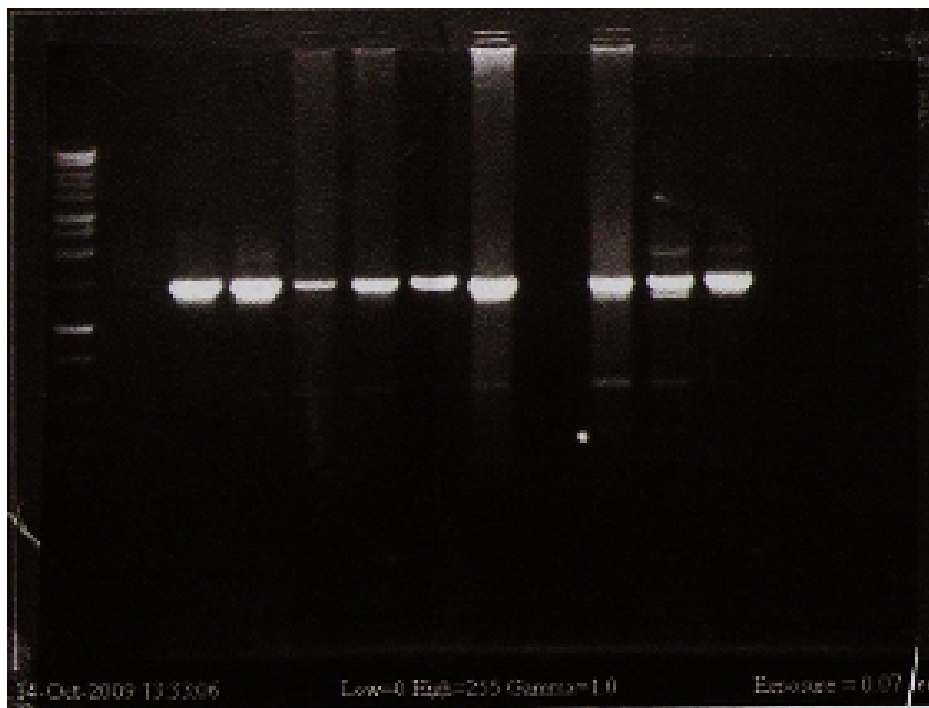
გამოყენებული რეაგენტები	რაოდენობა მკლ-ში
10x ბუფერი	5
რნა-სუფთა წყალი	37
წინა პრაიმერი-CD2aF2	2
უკანა პრაიმერი-CD2aR2	2
ნუკლეოტიდების მიქსი	1
Taq პოლიმერაზა	1
ნიმუშის დნმ	2
სულ	50

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ტემპერატურული რეჟიმი CD2  
ფრაგმენტისთვის

PCR- ტემპერატურული რეჟიმი	
გრადუსები	დრო
95	1წთ
95	50 წამი
61.5	50 წამი
68	4წთ
4	0
35 ციკლი	

1გრ აგაროზას ვამატებთ 100 მლ 1x TBE ბუფერს. წამოვადუღებთ ელექტრო ღუმელში, დაუმატებთ დაახლოებით 5 მკლ ეთიდიუმის ბრომიდს ვიზუალიზაციისთვის. და ჩამოვასხავთ შესაბამის ელექტროფორეზის დაფაზე, რომელზედაც დამაგრებულია „სავარცხელი“ ფოსფორების მისაღებად, რომელის თითო ფოსოში შეგვაქვს თითო რეაქცია ამპლიფიცირებული ნიმუშის. ვკითხულობთ რეაქციას 60 წუთი 100V ქვეშ. (სურათი 29). ჩვენი სასურველი ბენდის ზომა დაახლოებით 1500 ფუძე წყვილია, ამოვჭერთ გამოსაკვლევი პროდუქტი ულტრა ვიოლეტის ნათების საშუალებით და ექსტრაქცია მოვახდინეთ DNA blood&Tissue Gelextraction Kit-ის დახმარებით, აქტივობა ნიმუშების დნმ-ის გაზომილი იქნა სპექტროფოტომეტრის საშუალებით-ნგ/მკლ. (ცხრილი24).

ამპლიფიცირებული ნუკლეინის მჟავის CD2 ნიმუშების  
ვიზუალიზაცია ელექტროფორეზით



ცხრილი 24

დნმ-ის სპექტროფოტომეტრის შედეგები CD2 გენის ფრაგმენტისთვის

№	ნიმუშის №	ანალიზის თარიღი	დრო	ნგ/მკლ	260	280	260/280
1	4749-6	17.09.2010	2.18	88.17	1.763	0.917	1.92
2	5017-1	17.09.2010	2.19	38.2	0.724	0.377	1.93
3	5023-3	17.09.2010	2.20	69.17	1.383	0.728	1.91
4	6760-6	17.09.2010	2.21	63.39	1.268	0.649	1.95
5	9906-1	17.09.2010	2.22	56.32	1.126	0.553	2.04
6	9907-1	17.09.2010	2.23	45.72	0.914	0.479	1.91
7	10030-1	17.09.2010	2.24	21.29	0.426	0.224	1.90.
8	9-150-1	17.09.2010	2.25	46.79	0.936	0.478	1.96

9	10291-6	17.09.2010	2.26	84.57	1.477	0.714	2.06
10	9353	17.09.2010	2.27	55.57	1.175	0.608	1.95
11	3	17.09.2010	2.28	78.73	1.575	0.814	1.93
12	4	17.09.2010	2.29	78.75	1.575	0.808	1.95
13	5	17.09.2010	2.30	37.88	0.758	0.371	2.04
14	6	17.09.2010	2.31	66.13	1.323	0.67	1.97
15	9	17.09.2010	2.32	26.33	0.527	0.259	2.04
16	10	17.09.2010	2.33	76.08	1.522	0.761	2.00.
17	11	17.09.2010	2.34	36.32	0.726	0.376	1.93
18	13	17.09.2010	2.35	57.56	1.151	0.602	1.91
19	17	17.09.2010	2.36	75.45	1.509	0.795	1.90.
20	18	17.09.2010	2.37	69.09	1.382	0.732	1.89

მიღებული დნმ-ის რაოდენობრივი შედეგები გვაძლევს საშუალებას, რომ ამ ნიმუშებს გაუკეთდეს გენური ანალიზი-სეკვენსი. ყველა გაწმენდილი ASF-ის დნმ-ების ნიმუშები მომზადდა სეკვენსისთვის. შევარჩიეთ სეკვენსის რეაქციისთვის 9GL და CD2 ფრაგმენტის სეკვენსის პრაიმერები. როგორც ზემოთ ავლინებთ მომზადებული იქნა სეკვენსირებისთვის საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების 20-ი ნიმუში, (ცხრილი 25).

კერძოდ, მომზადებული იქნა ASF ვირუსის CD2 და 9 GL-იგენომის ფრაგმენტები სეკვენსისთვის.

შესაბამისი რაოდენობის დნმ-ის(ნგ/მკლ) მქონე ნიმუშები იგზავნება სეკვენსირებაზე (ცხრილი 26). (გამოყენებულია ხიტაჩის აპარატი).

სეკვენსის შედეგები დამუშავებულია BioEdit პროგრამების დახმარებით. ვინაიდან, დღემდე არ არსებობს დაავადების საწინააღმდეგო ვაქცინა, მიუხედავად მრავალი მცდელობის და შედეგად. მრავალი

კვლევების და ექპერიმენტების საფუძველზე მოელი რიგი მკვლევარები მიიჩნევენ და თვლიან რომ მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ე.წ. 9GL-ისგენის დელეცია(წაშლა) და რეპორტიორ გენის  $\beta$   $gus72$  ჩასმა ატენუირებული საექსპერიმენტო ვაქცინის შექმნაში აფრიკული ცხელების გენომის ღია წაკითხულ ჩარჩოში. სწორედ, ამიტომ იყო სეკვენსირებული ASF ვირუსის გენომის ეს უბნები.

ცხრილი 25

საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში დაფიქსირებული საკვლევი მასალა

№	რეგიონი	ნიმუშის სახე	შემოსვლის თარიღი	ქალაქი	საიდენტიფიკაციო №
1	სვანეთი	1.ღვიძლი	8/9/2007	მესტია	5023-3
		2.სისხლი	8/10/2007	მესტია	5017-1
		3.სისხლი	8/11/2007	მესტია	6060-1
	კახეთი	4.ელენთა	4/13/2009	თელავი	5257-6
		5.ელენთა	8/14/2007	ყვარელი	5625-6
		6.ღიმფ.კვ.	4/13/2009		9.1593.7
		7.სისხლი	2/5/2009		9-150-1
3	სამცხეთ-ჯავახეთი	8.ელენთა	9/5/2007	ახალციხე	6760-6
		9.სისხლი	9/6/2007	ახალციხე	7079-1
4	რაჭა	10.ღვიძლი	9/7/2007	ონი	6717-3
5	თბილისი	11.ელენთა	9/8/2007	თბილისი	9799-6
		12.სისხლი	9/9/2007	ფონიჭალა	10030-1
6	მცხეთა მთიანეთი	13.ელენთა	9/10/2007	ყაზბეგი	9912-6
7	იმერეთი	14.ელენთა	9/11/2007	საჩხერე	10291-6
		15.სისხლი	9/12/2007	წყალტუბო	9907-1
		16.სისხლი	9/13/2007	წყალტუბო	9906-1
		17.სისხლი	5/4/2009	ქუთაისი	9-1852-1
8	გურია	18.სისხლი	11/5/2007	ოზურგეთი	9373-1
		19.სისხლი	11/6/2007	ჩოხატაური	9353-1
9	ქვემო ქართლი	20.ელენთა	11/7/2007	გარდაბანი	4749-6

მიღებული სეკვენსის შედეგები შედარებულია აფრიკული მაღალ ვირულენტობის მაღავის შტამის ვირუსის გენომის CD2 და 9GL –ს ფრაგმენტებს. კვლევების საფუძველზე საქართველოში სვადასხვა რეგიონებში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ნიმუშების ნუკლეინის მჟავის თანმიმდევრობები მსგავსია, რაიმე ცვლილებები მათ შორის არ არის. თუმცა განსხვავებები გვხვდება რეფერენს გენოტიპი I-ის ტიპის მაღავის შტამის ვირუსის ნუკლეინის მჟავებს და შესაბამისად ამინომჟავებს შორის. ჩვენს მიერ გამოყენებულ მეთოდებს დიდი სადიაგნოტიკო მნიშვნელობა აქვს. რის საფუძველზეც განისაზღვრება და სწორად იქნება შერჩეული

ცხრილი 26

სეკვენსირებისთვის გამოყენებული პრაიმერები

პრაიმერის დასახელება	სეკვენსი 5'-3'	პოლარობა
9GI arm F1	CAACATGCGCTCAAGCATC	ფორვარდი
9GI arm R1	GACAACGATGTTAAGCGA	რევერსი
9GL F1-seq	TCTTGTGCTCAGCGGGTACG	ფორვარდი
9GL R1—seq	GTTATAAATGTTGCATTGGGGACCT	რევერსი
9GLF2seq	CGGGAAGGTCCAGTACTGAAG	ფორვარდი
9GL R2 seq	CTTTCAGTACTGGACCTTCGCG	რევერსი
9GL arm F200	CTGTCGTCCTTCCACTAAAATAATG	ფორვარდი
9GL arm R200	GACAACACTAACAGAGCCTTGCTC	რევერსი
9GL -F200 seq	GGGTACAAATAACCGAGCG	ფორვარდი
9GL R200 seq	GATGACATTAAGGACCATGACAC	რევერსი
CD2bF2	GAGTCAGTACTATTACGCAATAGTGG	ფორვარდი
CD2bR2	TGCTTGATTTCTAGGAGAGCTG	რევერსი

სვადასხვა იზოლატებიდან მსგავსი კონსერვირებული უბნები, რომელთა სინთეზირებული პრაიმერებიც გამოყენებული იქნება როგორც სადიაგნოსტიკოდ, ასევე, გარკვეული გენომის ფრაგმენტების სეკვენსირებისთვის, სრული ვირუსის გენომის თანმიმდევრობების განსასაზღვრად და შემდგომი სამეცნიერო კვლევებისთვის.

### **3.9. რეკომბინანტი გენის მიღება ინფექცია/ტრანსფექციის გამოყენებით. 9GL გენის დელეცია და რეპორტიორი β GUS გენის ჩასმა ატენუირებული შტამის შექმნისთვის.**

აშშ ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა ცენტრში ექსპერიმენტისთვის გეყავდა 2 ჯანმრთელი ცხოველი (ღორი), რომელთაგან ორშაბათობით კვირაში მონაცვლეობით ვიღებდით 1ლ სისხლს, პრაქტიკულად ყოველ კვირას ვამზადებდით ღორის პირველადი ქსოვილის კულტურას ASFV-ის კვლევებისთვის. ვინაიდან, მაკროფაგის უჯრედები გვჭირდება ინფექცია/ტრანსფექციისათვის. I-ეტაპი: მაკროფაგების მომზადება ხდებოდა ისე, როგორც ეს ზემოთ თავშია აღწერილი. ინკუბაციის შემდეგ ვამოწმებთ უჯრედებს მიკროსკოპის საშუალებით. უჯრედები არის კარგი. ტრანსფექცია/ინფექციის შესამოწმებლად ვიღებთ 4 ცალი ეპენდორფის სინჯარას და შეგვაქვს პლანშეტიდან ინკუბაციის შემდეგ 300მკლ ოდენობით უჯრედები და ვამატებთ 3 მკლ X გლუ (5მკლ პლაზმიდი, 10 მკლ პლაზმიდი და 20 მკლ პლაზმიდი) ხოლო 4-ე ტუბში კონტროლი, სადაც არ შევიტანეთ პლაზმიდი, ტრანსფექცია/ინფექციის შესამოწმებლად. პარალელურად ვიღებთ 96 ფოსოიან პლანშეტს და შეგვაქვს 100 მკლ ოდენობით ტრანსფექცია/ინფექციისთვის მოსამზადებელი უჯრედები რამოდენიმე ფოსოში და ვამატებთ 20%-იან ერითროციტებს(სისხლის წითელ უჯრედებს) რათა შევამოწმოთ ვირუსის არსებობა, ჰემადსორბციის განვითარებით. და ინკუბაციას უკეთებთ +37°C 5% CO<sub>2</sub> მთელი ღამით ეპენდორფის



სინჯარებს და პლანშეტს. პირველ 3 ტუბში უნდა განვითარდეს დამახასიათებელი ლურჯი ფერი, რაც ნიშნავს ტრანსფექციის განვითარებას, ხოლო კონტროლი, რომელშიც არ გვაქვს შეტანილი პლაზმიდი დარჩება ვარდისფერ ფერში. ანუ მომზადებული ტრანსფექცია შედეგიანია, ხოლო პლანშეტზე მიკროსკოპულად ვხედავთ განვითარებულ ე.წ. "როზეტებს", რაც დასტურია ინფექციის არსებობის. შედეგების მიღების შემდეგ ავტოკლავირებას უკეთებთ სინჯარებს და პლანშეტებს. მეორე დღეს ჩვენს მიერ მიღებული  $10^6$ - $10^7$  მაკროფაგის უჯრედებს კი აღვადგენთ 30 მლ RPMI complete მედიაში, რომელსაც დამატებული აქვს გაფილტრული შრატი. რესუსპენდირებული უჯრედები ქსოვილოვანი კულტურის სამ პლანშეტის (maltiwell PRIMERIA™ 6well, SterileIR) ყოველ 3 ფოსოში. გაუკეთეთ ინკუბაცია  $37^{\circ}$  C თ-ზე  $5\%CO_2$ . იმავე დღეს მიღებული ახალი სისხლიდან გამზადებთ  $20\%$ -იან ერთროციტებს. (აღწერილია წინა თავში), ვინახავთ გამოყენებამდე  $+4^{\circ}C$ -ზე ტემპერატურაზე. მესამე დღეს ვამოწმებთ მაკროფაგის უჯრედებს ელექტრო მიკროსკოპის დახმარებით, თუ მიღებულია სპეციფიური დამახასიათებელი უჯრედები, ვაგრძელებთ კვლევას და გამზადებთ უჯრედებს ინფექცია/ტრანსფექციისთვის. IV ეტაპი: ვახდენთ უჯრედების დაინფიცირებას. გამზადებთ №10 ვირუსის 1 მლ ალიკოტს, რომლის ტიტრიც  $9.80 \log_{10}TCID_{50}/\text{მლ}$ . ვანზავებთ 1:10 და გაუკეთეთ სონიკაცია ვირუსის განზავებას.

გამოგვაქვს ინკუბირებული პლანშეტები გადავღვრით მედიას და შევიტანთ 2 მლ ოდენობით განზავებულ ვირუსის სუსპენზიას ყოველ ფოსოში. გაუკეთეთ ინკუბაცია  $37^{\circ}C$ -ზე  $5\% CO_2$  2სთ-ის განმავლობაში. პლანშეტების ინკუბაციის პერიოდში გამზადებთ 3 ტრანსფექციას და ერთი ტრანსფექციის უარყოფით კონტროლს: ა) ვიღებთ ავტოკლავირებულ მინის 4 სინჯარას, შეგვაქვს  $100\mu\text{l}$  ოპტი-მემ თითოეულში, ვამატებთ  $5\mu\text{l}$ ,  $10\mu\text{l}$  და  $20\mu\text{l}$  შესაბამის სინჯარებში რეკომბინანტი

პლაზმიდის დნმ-ს, რომელიც დაახლოებით 1313 $\mu$ გ/მლ. ბ) აქვე გამზადებთ 4 სხვადასხვა ავტოკლავირებულ მინის სინჯარას და შეგვაქვს 20 $\mu$ ლ ლიპოფექტამინი, რომელსაც ვამატებთ ოპტი-მემ-ს. შემდეგ ა) სინჯარების ნაზავი გადამაქვს ბ) სინჯარებში და მოვახდინეთ ინკუბაცია 20 წუთი ბიოუსაფრთხოების კაბინეტში.

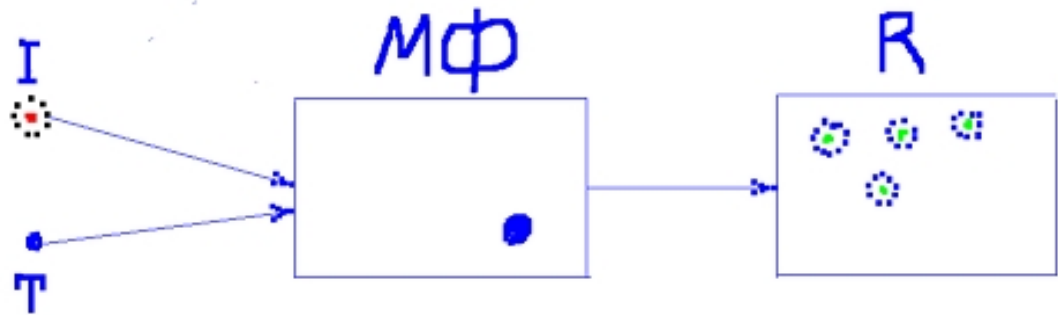
შევიტანთ 20 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ ვამატებთ ბ) ვამატებთ ოპტი-მემს, შევანჯღრევთ ნაზად. ვამატებთ ტრანსფექციებს ინფიცირებული უჯრედების ფოსოებში შესაბამისი დაინფიცირებული უჯრედების ფოსოებში. მოვახდენინეთ ინკუბაცია 37<sup>0</sup> C-ზე 5% CO<sub>2</sub> 3-4 სთ-ის ხანგრძლივობით. 3 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ პლანშეტებიდან გადავღვრით სითხეს და შევიტანთ რეგულარ მედიას. ინკუბაციას უკეთებთ ინფექცია/ტრანსფექციის პლანშეტებს 24-48 სთ, მანამ, სანამ არ განვითარდება ციტოპათოლოგიური ეფექტი.

ინკუბაციის პერიოდში გამზადებთ აგარის მიქს, აგაროზას ვიყენებთ რათა დაგაფიქსიროთ ინფექცია/ტრანსფექცია იმისათვის, რომ არ მოხდეს დიფუზია გარეულ ვირუსს და  $\Delta$ 9GLვირუსებს შორის. გელი აფიქსირებს და აღარ დიფუზირებენ ვირუსები. რაც, ხელს უწყობს ინფექცია/ტრანსფექციის მიღებულ რეკომბინანტი ვირუსის ფიქსაციას. გამოვიყენეთ 2X DMEM 3%-იანი ანტი-ანტი შემცველობით 20% FBS 8 მლ და 2%-იანი აგაროზა, 40მლ ნარევეს ვამატებთ 40  $\mu$ ლ X-Glu substrate, სუბსტრატი, რომელიც ინახება -20<sup>0</sup>C და შემაქვს პლანშეტის ფოსოებში 3მლ ოდენობით ნარევი სწრაფად, ვმუშაობთ ბიოკაბინეტში. ველოდებით აგარის გამყარებას ფოსოებში და შემდეგ უკეთებთ ინკუბაციას 37<sup>0</sup> C თ-ზე 5% CO<sub>2</sub> დაახლოებით ორი კვირის განმავლობაში მანამ, სანამ არ ვნახავთ ე.წ „მწვანე“ უჯრედებს.მე-5-7 დღეს ელ. მიკროსკოპის ქვეშ ვნახეთ მიღებული რეკომბინანტი ვირუსის უჯრედები (სურათი 30). I-ეს არის ინფიცირებული ვირუსი, რომლითაც დავაინფიცირეთ მაკროფაგის უჯრედები, T- ეს არის ტრანსფექციის უჯრედები,

რომლებიც შეგვყავს ინფიცირებულ მაკროფაგის უჯრედებში. MF ეს არის მაკროფაგის უჯრედი და R –მიღებული რეკომბინანტი გენი. (სურათი30)

სურათი 30

რეპორტორი გენი ვექტორის ტრანსფერი



მივიღეთ 5მკლ პლაზმიდის გამოყენებით რეკომბინანტი, ხოლო მე-15 დღეს მივიღეთ 20μl პლაზმიდის რეკომბინანტის ინფექცია/ტრანსფექციიდან მწვანე უჯრედები. მოვნიშნავთ დაახლოებით რეკომბინანტების ადგილს პლანშეტზე რათა გაადვილდეს მწვანე უჯრედების შეგროვება გელიდან, რომელსაც ვხსნით 1მლ ოდენობის მედიაში ე.ი ეს არის პირველი ტრანსფექცი/ინფექციის შედეგად მიღებული უჯრედები T.I.-1-5μl და T.I.-1-20μl, რომელთაც ვინახავთ -20°C მაცივარში შემდგომი პასაჟისთვის. დაახლოებით უნდა მოხდეს ხუთი პასაჟი უკვე მიღებული ტრანსფექცია ინფექციის უჯრედების იგვე პროცედურების გამოყენებით. სწორედ, ამის შედეგად მიღებული რეკომბინანტი შტამი, რომელიც შესუსტებულია, გამოყენებული იქნება ღორების ინოკულაციისთვის და მოხდება დაკვირვება საექსპერიმენტო ცხოველებზე. რომელიც იდიაში გამოყენებული უნდა იქნეს ატენუირებული საექსპერიმენტო ვაქცინის შექმნაში. (გრძელდება კვლევები აშშ).

### 3.10. საქართველოში დაფიქსირებული ASF ვირუსის იზოლაცია

#### ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპით.

კვლევები ჩატარებულია აშშ-ში ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა კვლევის ცენტრში. საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის, (№10, რაჭა) მომზადება და იზოლაცია ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპის საშუალებით. ვმუშაობთ ბიოუსაფრთხოების 2-ე დონის კაბინეტებში ანტისეპტიკის დაცვით. მომზადება მაკროფაგების, როგორც ზემოთაა აღწერილი, გამოწმებით მაკროფაგის უჯრედებს მიკროსკოპის საშუალებით. მომზადებული მაქვს T25 პირველადი ქსოვილოვანი კულტურის მატრასები, რომელიც მოვამზადეთ უარყოფითი კონტროლისთვის, მეორე დავაინფიცირეთ ვირუსით და მესამე დაინფიცირებულ უჯრედებს ჰემადსორბციის გამოსავლენად დაუმატეთ ერიტროციტები. ვუკეთებთ ინკუბაციას  $+37^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  რამოდენიმე საათი. ინკუბაციის შემდეგ ისევ გამოწმებით ელექტრო მიკროსკოპის საშუალებით მატრასებს. მატრასში უჯრედები არაინფიცირებულია და გამოიყურება შესაბამისად, მეორეში შესაბამისად განვითარებული ცპმ და მესამეში განვითარდა ციტო პათოლოგიური მოქმედება და გვაქვს ჰემადსორბცია ე.წ. „როზეტების“ წარმოქმით.

ვამზადებ საფიქსაციო ხსნარს, რათა დავაფიქსიროთ ვირუსი, რომელსაც შენარჩუნებული ექნება მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური თვისებები/ფუნქციები. ჰეპეს ბუფერის, კალციუმის ქლორიდი და გლუტარალდეჰიდის მომზადებულ საფიქსაციო ხსნარს ვამატებთ ჩვენ ნიმუშებს რა რაოდენობაც გვაქვს T25 ბოთლებში შესაბამისად. უკეთებდით ინკუბაციას საფიქსაციო ხსნართან ერთად 1 საათის განმავლობაში  $+37^{\circ}\text{C}$   $\text{CO}_2$  ინკუბაციის შემდეგ ვაცენტრიფუგებთ 1200 rpm 10 წუთი. ცენტრიფუგის შემდეგ ვრეცხავთ უჯრედებს (HEPES) ბუფერით. ვაცენტრიფუგებთ 1200 rpm 10 წუთი. ამ პერიოდში მოვამ-

ზადებთ 2% ოსმიუმის ტეტროქსიდს – პოსტ ფიქსაციის შემდეგ ოსმიუმის ტეტროქსიდს ( $O_5O_4$ ) კალიუმის ფერიციანიდთან ერთად, რომელიც უჯრედში აფიქსირებს ლიპიდებსა და მემბრანის ლორწოს. ვუკეთებთ 45 წუთი ან 1 საათი ინკუბაციას ნეიტრალიზაციისათვის, დაფიქსირებული ვირუსის უჯრედები შეიფერებიან შავ ფერში, ვინაიდან იღებება უჯრედის პლაზმური ნაწილის მემბრანა (ლიპიდური შრე, მერე უკვე უჯრედის მთლიანი ნაწილი) ლიპიდი შეიცავს  $O_5O_4$ .

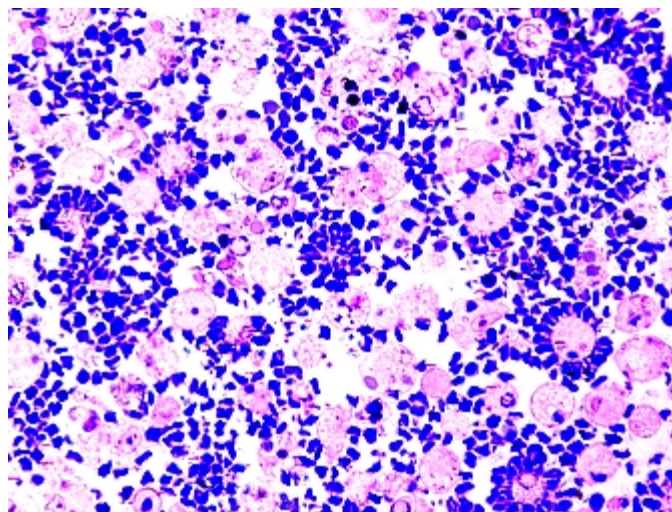
ინკუბაციის შემდეგ ვრეცხავთ უჯრედებს გამოსდილი წყლით, ვაცენტრიფუგებთ 1200 rpm 5 წუთი და ვიმეორებთ პროცედურას.

ურანილ აცეტატი (Uranyl acetate)–ის მომზადება: არის რადიოაქტიური რეაგენტი, რომელიც მოითხოვს ფრთხილ მომზადებას, შესაბამისი გამოყენებით, და ავლნიშნავთ რადიოაქტიური ნიშნით მის საიდენტიფიკაციოდ. 45 წუთის ინკუბაციის შემდეგ დაგამატებთ ურანილ აცეტატს და ვუკეთებთ ინკუბაციას  $4^{\circ}C$  მთელი ღამის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ ვამზადებთ 2% აგარს და ვინახავთ  $45^{\circ}C$  წყლის აბაზანაში და ასევე წყლის აბაზანაში ვათავსებთ ეპენდორფის სინჯარებს; როდესაც მათი ტემპერატურა გათანაბრდება თითოეულ ეპენდორფის სინჯარაში შეგვაქვს დაახლოებით 1 მლ ოდენობის აგარი. დავაცენტრიფუგებთ ვერტიკალური ბრუნის მქონე ცენტრიფუგაში ვინაიდან, გვინდა რომ ეპენდორფის ბოლოში დავაფიქსიროთ უჯრედები. ვახდენთ ნიმუშების დეჰიდრატაციას, ვამზადებთ აცეტონს 50%, 60%, 70%, 80%, 90% და 100% აცეტონს დეჰიდრატაციისთვის. შემდეგ ვამზადებთ გამაგრების ბუფერს. ვათავსებთ ნიმუშებს საჰიდრატაციო მინის სინჯარაში. ვათავსებთ მრგვალი ვაკუუმის ბოქსში, ჩავრთავთ სწორედ ეს ვაკუუმი ეხმარება ერიტროციტებს, ვინაიდან ჰემოგლობინი მძიმე ცილაა, რომ კარგად შეერიოს რეზინის გამაგრების სითხე, უჯრედებს და დაუკავშიროს ერთმანეთს. ნიმუშებს ვათავსებთ  $65^{\circ}C$  ღუმელში (isotempX vacuum Rumli) ერთი დღე პოლიმერიზაციისათვის. ვამატებთ  $CO_2$ -გან

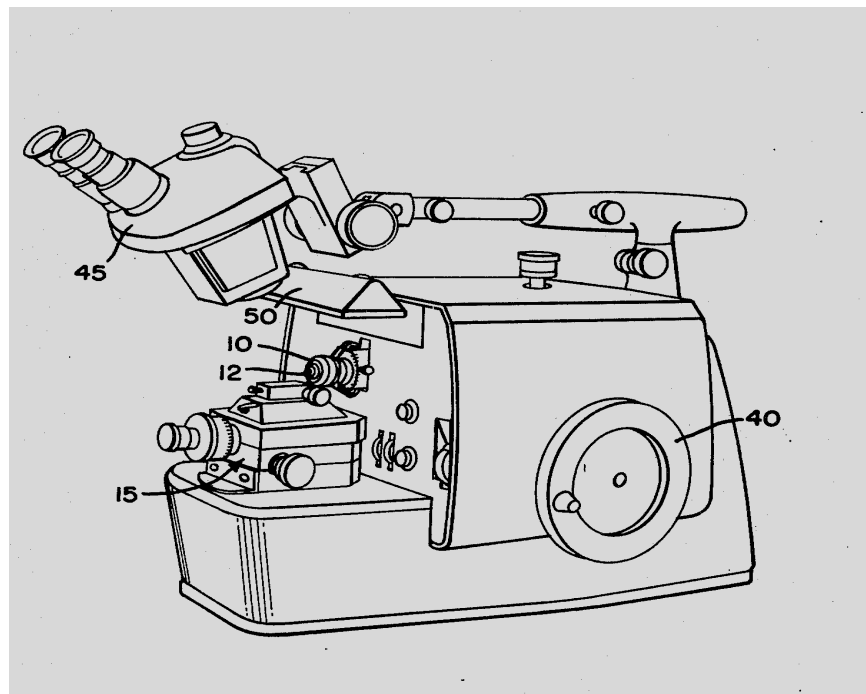
თავისუფალი წყალს, ციტრატს, ნიტრატს, ნატრიუმის ციტრატს და ნატრიუმის ჰიდროქსიდს. გამოვიღებთ გამაგრებულ კაფსულებს, რომლებშიც ჩვენი უჯრედია დაფიქსირებული მოვაცილებთ პოლიმერიზაციის ბლოკს. მოვათავსებთ კაფსულას ლეისა ულტრამიკროტომში (სურათი 32) და სამართებლის საშუალებით მოვამზადებთ მცირე ზომის ანათლებს სასაგნე მინაზე და პირველად ვღებავთ 1% ტოლუიდინის ლურჯი საღებავით და გამოწმებთ ელექტრო მიკროსკოპის საშუალებით შეღებილ უჯრედებს, გამოწმებთ ტრანსმისიული მიკროსკოპის გამოყენებამდე ვირუსის არსებობას. (სურათი 31) ვირუსის არსებობის შემთხვევაში ვამზადებთ ნიმუშების თხელი ანათლებს შეგვაქვს ნიკელის და სპილენძის ელექტრო მიკროსკოპის ბადეებზე გრიდებზე. ვაშრობთ ბადეზე მოთავსებულ ნიმუშებს. ბადეებს ვათავსებთ Hitachi-ის ტრანსმისიულ ელექტრო მიკროსკოპში. და ვნახულობთ სამივე ნიმუშს, რომლებიც მოვამზადეთ ა) არაინფიცირებული (სურათი 33), ბ) ინფიცირებული (სურათი 34 ა,ბ; 35) და გ) ინფიცირებული უჯრედები ერთორციტებთან ერთად რომლებიც წარმოქმნიან ე.წ. როზეტებს. სურათი 36, 37, 38).

სურათი 31

ტოლუიდინის ლურჯი საღებავით შეღებილი მაკროფაგები ვირუსის არსებობისას-განვითარებული ჰემადსორბციით

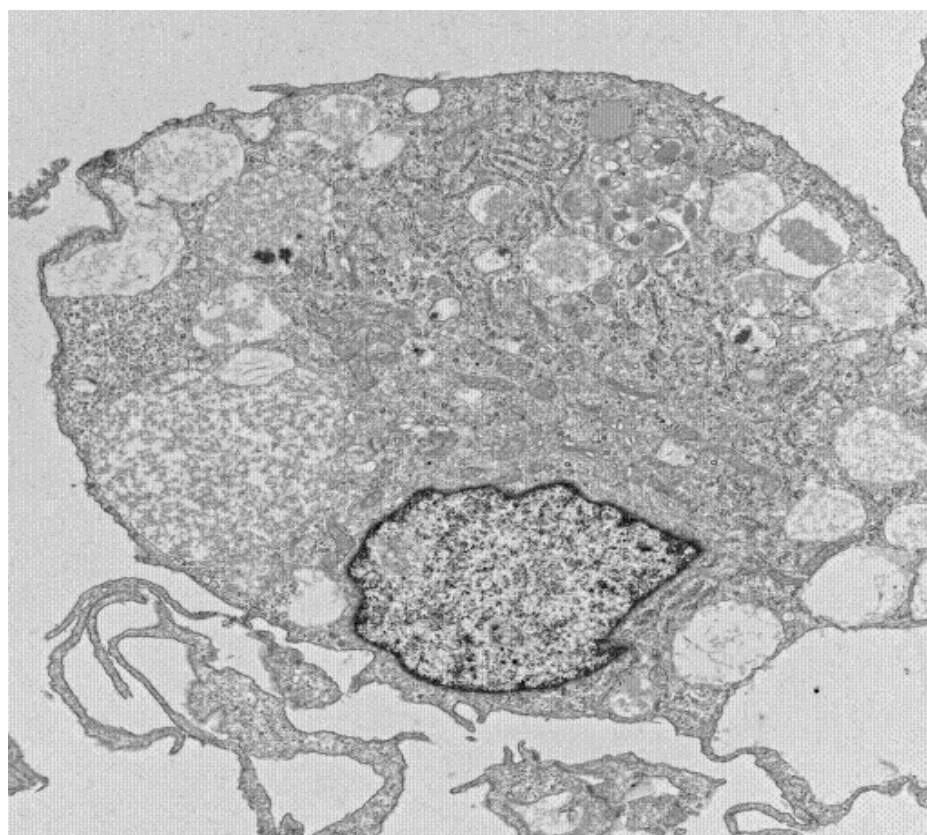


ულტრამიკროტომის ხელსაწყო:



სურათი 33 ა

ა) არაინფიცირებული მაკროფაგის უჯრედები

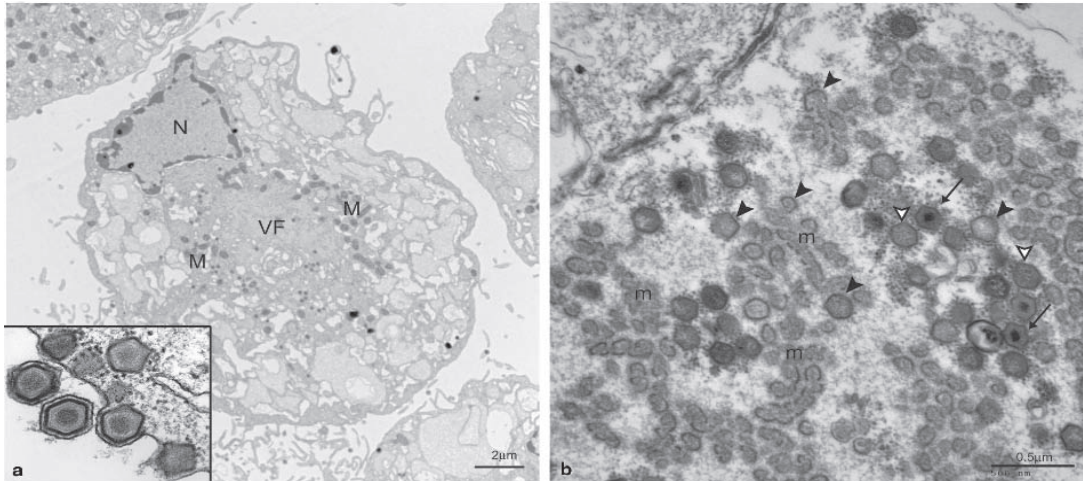




ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის მაკროფაგის

ა)

ბ)



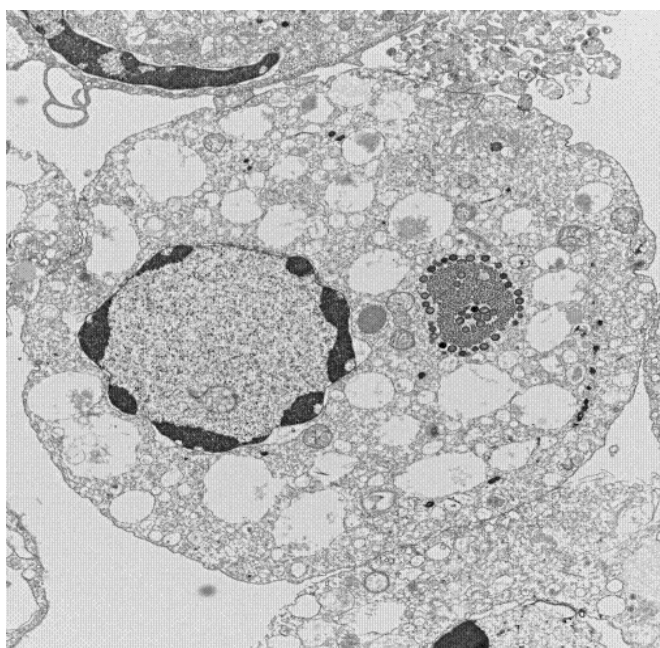
სურათი 34, ბ ASFV-ით ინფიცირებული ღორის მაკროფაგების მიკროგრაფია. ღორის მაკროფაგების პირველადი უჯრედული კულტურა დაინფიცირებული იყო ASF-ის იზოლატით (საქართველოდან გაგზავნილი ნიმუში) კულტურა შესწავლილ იქნა ინფიცირებიდან 24 საათის შემდეგ. ა –ინფიცირებული მაკროფაგი ბირთვის (N) მიმდებარე ვირუსის ციტოპლაზმური ქარხნით და მიტოქონდრიით (M). ჩანართი: უჯრედის მემბრანიდან გამომავალი მომწიფებული ვირიონი. ბ–ვირუსის ქარხანა (VF) და მორფოგენეზის სხვადასხვა ეტაპზე მყოფი ვირიონები დიდ გადიდებაზე. მოჩანს მემბრანის წინამორბედი მასალა (მ), ნაწილობრივ ჩამოყალიბებული შუალედური კაფსიდები (შევსებული ისრის წვერი), ნუკლეოიდის შემცველი ვირიონები (ისრები). მომზადებულია ჩემს მიერ, დოქტორი თომას ბურაჯის დახმარებით. ვირუსის იზოლაცია წარმოადგენს ძირითად და სარწმუნო „ოქროს სტანდარტულ“ მეთოდს. გვაძლევს უნიკალურ და უტყუარ სურათს ვირუსის არსებობისა საექვო ნიმუშებში.მაღალი რეზოლუციის გადიდებისას საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის მაკროფაგია. სადაც, ნათლად მოჩანს მაკროფაგის უჯრედი,“ვირუსის ქარხანა”,



უჯრედის ბირთვის მომრგვალებული ფორმა და ერთად თავმოყრილი ქრომატინი, ასეთი სურათის ნახვა გვაძლევს საფუძველს ვთქვათ, რომ უჯრედი ინფიცირებული იყო ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსით T-ლიმფოციტების ზედაპირული ანტიგენი CD2, რომელიც განაპირობებს და პასუხობს ჰემადსორბციის გამოვლენას.

სურათი 35

ინფიცირებული მაკროფაგის უჯრედი

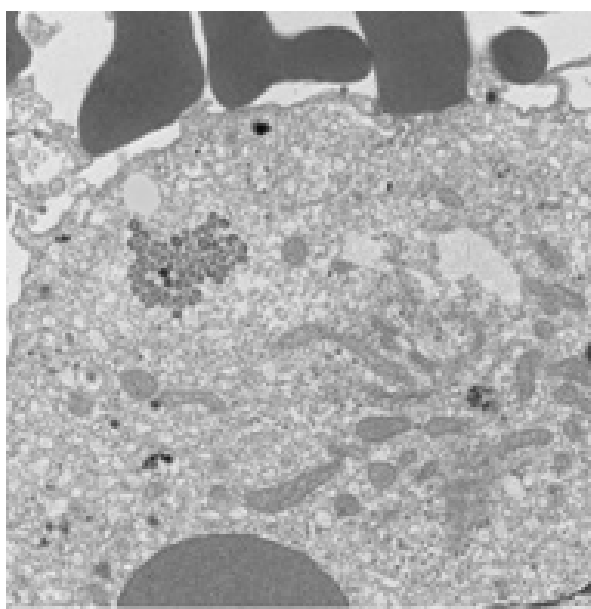
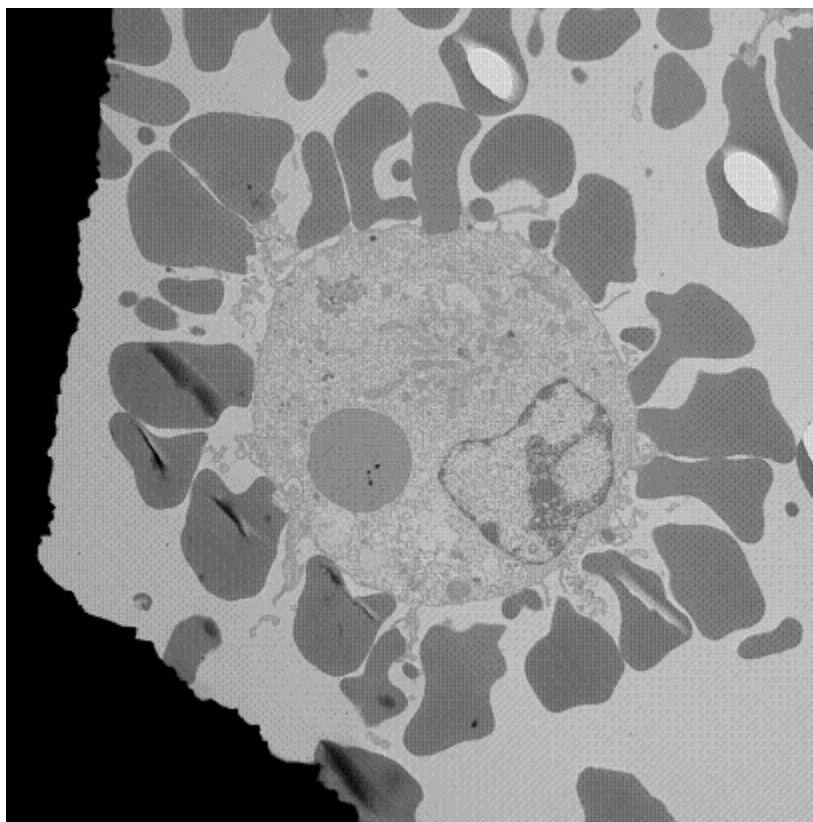


სურათი 36

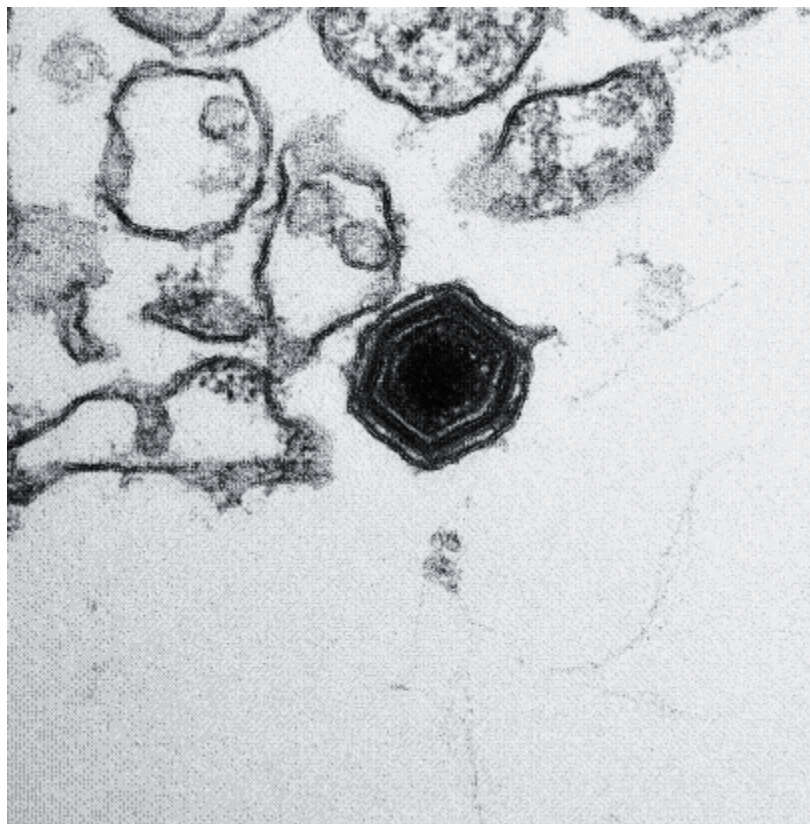
ინფიცირებულ უჯრედთან ერითროციტების ადსორბცია



ერიტროციტების მიერთება ინფიცირებულ უჯრედთან



## მომწიფებული ASF ვირუსი უჯრედის გარეთ



ვირიონი შედგება 5 კონცენტრული შრისგან ცენტრალური ნუკლეოპროტეინის ბირთვის, შიგნითა სქელი ცილოვანი გარსი, ლიპიდური გარსის, გარეთა ცილოვანი კაპსიდური შრით, რომელსაც იკოსაედრის სიმეტრია აქვს და გარედან დაფარულია ლიპიდური შრით, რომელიც იქმნება ვირიონის პლაზმური მემბრანიდან გამოსვლისას.

ამ მეთოდით უჯრედთა სტრუქტურების შესწავლა გასცილდა მორფოლოგიის ფარგლებს. ელექტრო მიკროსკოპიის საშუალებით მორფოლოგია უახლოვდება უჯრედთა კომპონენტების მოლეკულური ორგანიზაციის შესწავლას, რაც საშუალებას გვაძლევს ანალიზი გაუკეთოთ მორფოლოგიურ მონაცემებს ქიმიისა და ფიზიკური ქიმიის დონეზე. ამ მეცნიერებათა დაახლოების გამო უჯრედის შენების შესახებ სწავლება ღებულობს ფუნქციურ ხასიათს. რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს იმდენად, რამდენადაც ცოცხალ სისტემაში მიმდინარე

პროცესები, როგორც ცნობილია განპირობებულია უჯრედთა სტრუქტურების მოლეკულური ორგანიზაციის თავისებურებებით. მისი დახმარებით შესწავლილი იქნა სუბმიკროსკოპული წარმონაქმნების შენების და მათი ულტრასტრუქტურული ცვლილებების თავისებურებანი ფიზიოლოგიისა და პათოლოგიის პირობებში.

#### 4. გამოკვლევის შედეგების განხილვა

ვირუსული წარმოშობის დაავადებებს შორის განსაკუთრებული ადგილი ღორის აფრიკულმა ცხელებამ დაიკავა, რომელიც მსოფლიო მეცნიერების (მკვლევარების) კვლევის აქტუალურ საგანს წარმოადგენს თავისი პრობლემატური თვისებების გამო, ვინაიდან დღემდე არ არსებობს დაავადების საწინააღმდეგო ვაქცინა და რაიმე ეფექტური სამკურნალო საშუალება (ან მკურნალობა). უკვე, მრავალი წელიამეცნიერთა და მკვლევართა ძალისხმევა მიმართულია შეიმუშავონ ღორის აფრიკული ცხელების საწინააღმდეგო ატენუირებული ექსპერიმენტალური ვაქცინა. (Dixon L.K. at all 2000; Vinuela E. 1985; Tulman E.R&Rock D.L 2009; Wilkinson P.J. 1989,2000).

ღორის აფრიკული ცხელება საოფლო-სამეურნეო, კერძოდ, ღორის სახეობრივი დაავადებაა. მასზე მრავალი ნაშრომი და პუბლიკაციები მოიპოვება ადრეული და თანმედროვე მსოფლიო ღონის მეცნიერების.

დაავადების გავრცელების ისტორია მასშტაბურია, იგი პირველად დაფიქსირებულია აფრიკაში, საიდანაც გავრცელდა ევროპაში, ამერიკის სხვადასხვა ქვეყნებში. ( R.E.MontgomerieArias M.&Sanchez-Vizcaino J.M. 2002; Bastos M.L. 2003; Penrith M.L.2007; Boshoff C.I. 2007; Coggins L. 1974; Detray D.E. 1963;) 2007 წელს პირველად დაავადება დაფიქსირდა და გავრცელდა საქართველოს მთელ ტერიტორიაზე. დაავადება აღმოჩენილი იყო გურიის, სამეგრელოს, შემდგომ კი იმერეთის რეგიონებში, საიდანაც ინფექციამ სწრაფად დაიწყო გავრცელება და მოიცვა

რაჭა-ლეჩხუმი, ზემო სვანეთის, სამცხეთ-ჯავახეთის, მცხეთა-მთიანეთის, კახეთის, ქვემო ქართლის, შიდა ქართლის რეგიონები. (Dixon L.K. 2007; ყურაშვილი თ. & ვეფხვაძე ნ.გ. 2010.)

სადისერტაციო ნაშრომის მიზანია ვირუსის სწრაფი აღმოჩენა და პრეკლინიკური დიაგნოსტიკა. ვირუსის იზოლაცია, მოლეკულური ეპიდემიოლოგიის, ნუკლეინის მჟავის თანმიმდევრობების –სეკვენსირება.

თემით გათვალისწინებული სამუშაოების ნაწილი შესრულებულია საქართველოს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში ხოლო, ნაწილი-ცხოველთა ევზოტიკური დაავადებათა კვლევის ცენტრში, აშშ-ში.

როდესაც არ არსებობს დაავადების საწინააღმდეგო ვაქცინა და მკურნალობა განსაკუთრებით, დიდი როლი ლაბორატორიულ კვლევებს ენიჭება. ღორის აფრიკული ცხელების სადიაგნოსტიკოდ 2007 წლიდან ღორის აფრიკულ ცხელებაზე გამოვიკვლიეთ საქართველოს თითქმის ყველა რეგიონი (ზემოთ აღნიშნული რეგიონები) პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით და იმუნოფერმენტული ანალიზით. რომელებიც, პრიორიტეტს წარმოადგენს ლაბორატორიაში ჩვენ ხელთ არსებული თანამედროვე მეთოდებს შორის. რამაც მოგვცა საშუალება შეგვესწავლა დაავადების ეპიდემიოლოგია საქართველოს რეგიონების და მიხედვით, ასევე ჩვენი კვლევების საფუძველზე შევადარეთ PCR და ELISA კვლევის შედეგები. (ყურაშვილი თ. & ვეფხვაძე ნ.გ. 2009, 2010.)

2007 წელს ჩვენს მიერ გამოკვლეულია ლაბორატორიაში შემოსული 1151 ნიმუში, მათგან ღორის აფრიკულ ცხელებაზე დადებითი აღმოჩნდა 187, 16.2%. 2008 წელს შემოვიდა 47 ნიმუში და დადებითია 26 ნიმუში, 55.31%. იმუნოფერმენტული ანალიზით ანტისხეულებზე (ELISA-Ab). 2009 წელს შემოსული 102 ნიმუშიდან 26 ნიმუში 25.5%-ი დადებითია ანტისხეულებზე. 2007-2008 წლებში შემოსული 112 ნიმუში დაიდგა იმუნოფერმენტული რეაქციით ანტიგენზე (ELISA-Ag), საიდა-

ნაც, დადებითი იყო 52 ნიმუში 46.4%. 2010 წელს (აპრილი-დეკემბერი) შემოვიდა 57 ცხოველის 436 პათოლოგიური მასალა (ღვიძლი, ელენთა, ლიმფური ჯირკვავი, სისხლი, შრატ) საიდანაც, დადებითი იყო 85 ნიმუში. ხოლო ELISA-Ag-ით გამოკვლეული 104 ნიმუშიდან დადებითია 37 ნიმუში 35.5%. 2011 წელს (იანვარი-მარტი) შემოვიდა 93 ცხოველის 229 ნიმუში საიდანაც დადებითია 30 ნიმუში 13.1%. ხოლო ELISA-Ag დადებითი აღმოჩნდა 7-ი ნიმუში 3%. 2007 წელის გამოკვლეული შედეგები ასევე, შევადარეთ თვეების მიხედვით, პრაქტიკულად, შეგვიძლია ლიტერატურული წყაროებისა და ხელთ არსებული ჩატარებული კვლევების მონაცემებზე დაყრდნობით, დავასკვნათ, რომ ღორის აფრიკული ცხელება ფიქსირდება წლის ყველა დროის პერიოდში როგორც, ცხელ ზაფხულზე, ასევე გაზაფხულზე, შემოდგომაზე და ზამთარში. რაც კიდევ ადასტურებს ვირუსის თავისებურებას, რომ იგი გამძლე, სტაბილური ვირუსია დროსა და სივრცეში. ეს მონაცემები ემთხვევა (Escribano J.M. 1990; Mebus C.A. 1988; Moulton J. 1968; Plowright W. 1968, 1969, 1981, 1994; Dixon L.K; Wilkinson P.J. 1989) კვლევის შედეგებს. ლაბორატორიულმა კვლევებმა ჰემადსორბციის ინჰიბირების გამოყენებით, აჩვენა, რომ ASF ვირუსებს შორის არსებობს იმუნოლოგიური ვარიაციები. (Escribano J.M., 1987; Forman A.J., 1982; Galiardo C., 2006) ინჰიბირება ხდება ღორის ჰომოლოგიური ვირუსით ინფიცირებული ღორის შრატით, ჰეტეროლოგიური ინფექციის მქონე ღორის შრატით ინჰიბირება იშვიათად ხდება. რეაქციები არ არის მუდმივი, რაც არ იძლევა სეროტიპების დადგენის საშუალებას. ამდენად არსებობს ASF ვირუსის მხოლოდ ერთი სეროტიპი. ცნობილია მრავალი ASF ვირუსული პროტეინი, რომლებიც მონაწილეობენ ჰუმორული იმუნური პასუხის ჩამოყალიბებაში, ანუ მათ აქვთ ანტიგენური თვისებები, რომელთაგან მნიშვნელოვანია სტრუქტურული პროტეინი Vp72 (ზოგიერთის

მონაცემებით Vp73), რომელიც გამოიყენება სადიაგნოსტიკოდ.(Gomez-Puertas P., 1998; Borca MV., 1994; Bastos AD., 2003; Vigarío JD., 1974; Simon-Mateo C., 1997; Ruiz-Gonzalvo F., 1986b).

რაც, შეეხება იმუნოფერმენტული ანალიზის ტესტს ღორის აფრიკული ცხელების ანტისხეულების აღმოსაჩენად, რომლის კვლევების დროს ვიყენებთ სისხლის შრატს ეფექტური ტესტია. ანტისხეულების ტესტირება რეკომენდებულია ქვემწვავე და ქრონიკული ფორმების კვლევისას და განსაკუთრებით სასარგებლოა ერადიკაციის პრობლემების განხორციელებისას. მნიშვნელოვანია ზედამხედველობის აქტიური პროგრამების საკონტროლოდ, რომელიც გვაძლევს დაავადების და ინფექციის არ არსებობის დადასტურების საშუალებას. მისი საშუალებით შეგვიძლია განვსაზღვროთ რამდენად თავისუფალია ტერიტორია დაავადებისაგან. ის აგრეთვე გვაძლევს იმპორტ-ექსპორტი კონტროლის საშუალებას.(Hamdy F.M. 1984; Malmquist W.A 1963; Mendosa C. 1991; Norley S.G. 1983; Pan I.C. 1974, Sanz A. 1985; Sanchez Vizcaino J.M. 1983; Sanchez Botija C. 1970; Goodbourn S., 2000; Gomez-Puertas P., 1996; Hess WR., 1982, 1989).

ჩავატარეთ სერო მონიტორინგი და გამოკვლეული იქნა 1000 ნიმუში იმუნოფერმენტული ანალიზით, სადაც ანტისხეულებზე მორეაგირე ნიმუშები არ აღმოჩნდა, თუმცა ეს არ ნიშნავს, რომ ქვეყანა თავისუფალია ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსისგან. ასევე, ჩვენს მიერ აღმოჩენილი ანტისხეულები ნიმუშებში, არ გვაძლევს სრულყოფილ სურათს, ვინაიდან, ასეთი ღორები მალევე კვდებიან და განმეორებითი ანალიზის საშუალებას არ იძლევიან. რაც ართულებს დაავადებასთან ბრძოლისა და შემდგომი კვლევის გაგრძელების პერსპექტივას.

ძირითად, დამადასტურებელ რეაქციას ASFV დიაგნოსტიკური კვლევების დროს მიაკუთვნებენ PCR-ს, რაც, ჩვენმა კვლევებმაც

დადასტურა. კვლევებისთვის ვიყენებდით პათოლოგიურ მასალას, ვირუსის ლოკალიზაციის ადგილებიდან აღებულ ნიმუშებს ელენთას, ღვიძლს, ლიმფურ ჯირკვალს, სისხლს. მისი საშუალებით შეგვიძლია პრეკლინიკური დიაგნოსტიკის განსაზღვრა, რომელიც გვაძლევს საშუალებას დაავადების გამოვლენამდე 3-4 დღით ადრე აღმოვაჩინოთ ინფექცია. ნათელი მაგალითია, ჩვენს მიერ გამოკვლეული სვანეთიდან შემოსული ჯერ კიდევ ცოცხალი ღორების სისხლის მასალები, რომლებიც დადებითი იყო ASF-ზე, რომელთა PCR-ის კვეთის წერტილები, საკმაოდ მაღალი იყო CP=36,77; 38,57; 40,00; და სიგმოიდური მრუდების ფლუორესცენციაც გამოსახული იყო მკვეთრად. აქ, ამ შემთხვევაში გვაქვს ვირუსის დნმ-ის დაბალი კონცენტრაცია, თუმცა, ლაბორატორიული კვლევის, ეპიზოოტიური მონაცემების გათვალისწინებით, ვივარაუდებთ, სიკვდილი ამ ღორების, დიაგნოსტიკებიდან 3-4 დღის შემდეგ ყველა გამოკვლეული დადებითი ღორი მოკვდა. აქვე ავღნიშნავთ და შევადარებთ PCR-ზე და ELISA-Ag მიღებულ ლაბორატორიული კვლევის შედეგებს: PCR-ზე ზემოთ მიღებული შედეგების დროს, როდესაც, კვეთის წერტილები არის მაღალი (Cp) PCR-ი გვაძლევს საშუალებას გავაკეთოთ დასკვნები მიკრობის და კერძოდ, ASF ვირუსის შემთხვევაში დაავადების არსებობის შესახებ, მიუხედავად იმუნოფერმენტული ანალიზის სპეციფიურობისა ELISA-Ag-ის ტესტი ამ შემთხვევაში ვერ იჭერს ვირუსის ანტიგენს. ამ დროს ტესტის ნიმუშების ოპტიკური სიმკვრივე საშუალოდ არის დაახლოები  $OD \Rightarrow 0.150 - 0.9$  მათედს შორის. ხოლო თუ OD არის 1.0-ი და ზემოთ, ამ დროს PCR-ზე მიღებული შედეგების მერყეობს 22-დან 28-მდე კვეთის წერტილებს შორის. ასეთი შედეგები გვაძლევს დავდასტუროთ ELISA-თი მიღებული კვლევის შედეგები PCR-ის კვლევებით. PCR არის მყარი და უტყუარი ტესტი ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკაში. ამასთან იმუნოფერმენტული ანალიზისთვის აუცილებელია საკვლევი



მასალის დროული და სწორად აღება, სადაც ჯერ კიდევ გვაქვს ვირუსისგარკვეული კონცენტრაცია, ხოლო ანტიგენის სტრუქტურა არ არის დარღვეული. ხოლო მოლეკულური ბიოლოგიის PCR-ის ტესტების უპირატესობა განისაზღვრება სწორედ იმით, რომ შეუძლია აღმოაჩინოს დაავადება მაშინაც კი, როცა, სახეზე არ გვაქვას ცოცხალი ვირუსი და თავისუფლად მოახდინოს ვირუსული დნმ-ის გამოყოფა იმ ნიმუშებიდან, რომლებიც უვარგისია იმუნოფერმენტული კვლევებისთვის. ასევე, PCR-ის ტესტი სწრაფია, გამოირჩევა მაღალი სენსიტიურობითა და მგრძობელობით. (ყურაშვილი თ. ვეფხვაძე ნ.გ. 2010; Rebecca J, Rowlands 2008; Wardley R.C. 1979)

კვლევის მონაცემებზე დაყრდნობით არსებობს ადგილები სადაც, პერიოდულად ხდება აფეთქებები, გვაქვს დაავადების რეციდივები, ამ პერიოდისთვის დაფიქსირებულია დაავადების გამომჩენის მრავალი ტალღის შემთხვევები. დღეისათვის უცნობია გარეული ღორის როლი დაავადების გავრცელებაში, კვლევების დროს დაფიქსირდა მხოლოდ ერთი შემთხვევა იმერეთის, კერძოდ საჩხერის მთიან ზონაში, რომელიც დადებითი იყო ASF-ზე PCR-ის კვლევით, საკმაოდ დაბალი კვეთის წერტილით 22.97; თუმცა, ვირუსის გამოყოფა ვერ მოხერხდა ჰემად-სორბციის ტესტის საშუალებით (აშშ-ში). ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევების, არსებული პრაქტიკის და ლიტერატურული მონაცემების საფუძველზე დავასკვნათ, რომ მოსალოდნელი იქნება მრავალი აფეთქებები და ვივარაუდოთ, რომ საქართველო ჩამოყალიბდეს ენდემურ ზონად, როგორც ეს მოხდა პირენეის ნახევარკუნძულზე ან როგორც ეს ხდება სარდინიაზე(იტალია). სწორედ, ამიტომ ძალზედ მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკის აღმოჩენის თვალსაზრისით.(Escribano J.M. 1987; Forman A.J. 1982; Gallardo C. 2006; Heuschele W.P. 1969; Mebus C.A. 1981; Wilkinson P. J. 1981; Agüero M. 2003, 2004).

სადისერტაციო კვლევების ნაწილი ჩატარდა აშშ-ში, სადაც გამოკვლეული იქნა საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების 20 დადებითი ნიმუში, რომლებიც პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით და იმუნოფერმენტული ანალიზით იყო გამოკვლეული. შერჩეული იქნა მრავალფეროვნებისთვის და ფილოგენეტიკური სახესხვაობების დასადგენად სვადასხვა რეგიონებიდან და სხვადასხვა წლების 2007, 2008 და 2009 პათოლოგიური მასალები (სისხლი, ელენთა, ღვიძლი, ლიმფური ჯირკვალი). 20-ვე ნიმუში გამოკვლეული იქნა ჰემადსორბციის რეაქციის გამოყენებით.

ჰემადსორბციის ტესტი გამოყენებული იყო ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის იზოლაციისთვის ღორის სისხლის პირველადი უჯრედების კულტურაში, საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის პათ-იზოლატებში, როგორც მოსალოდნელი იყო აღმოჩენილია T-ლიმფოციტების ზედაპირული ანტიგენი CD2, რომლებიც მდებარეობს ღია წაკითხულ ჩარჩოში (ORF(open reading frame)–8DR გენი) არის გვიანი ანტიგენი, რომელიც განაპირობებს და პასუხობს ჰემადსორბციის გამოვლენას ASF ვირუსით დაინფიცირებულ უჯრედებში. რის საფუძველზეც შეგვიძლია განვსაზღვროთ და დავადასტუროთ ცოცხალი ვირუსის არსებობა საექვო ნიმუშებში. (Norley S.G. 1982,1983;Zsak L. 2001;Genovezi E.V. 1990; Esparza I. 1988; Moigeon P. 1989; Miller G.T 1993; Carrillo C. 1994; Casal I. 1984; Cogginns L. 1968; Vallee I.2001; Rabin E.M.1993; Sanchez Botija C. 1979; Enjuanes L. 1976). გამოკვლეული ნიმუშებიდან მხოლოდ ორ ნიმუშში არ აღმოჩნდა ცოცხალი ვირუსი. დანარჩენი 18-ვე ASF-ის ვირუსის ნიმუშს გაუკეთდა ტიტრაცია და განვსაზღვრეთ პირველად, ვირუსის ვირულენტობის ტიტრი სპერმან-კაპბერის მეთოდით (ლოგ10TCID50/მლ). გამოკვლევის შედეგებმა ნათლად აჩვენა, რომ საქართველოში დაფიქსირებული

ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ნიმუშები მაღალი ვირულენტობით ხასიათდებიან, დაახლოებით მათი ტიტრი  $10^9$  ხარისხია.

მოვამზადეთ საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის პასაჟი 2-ი №10 ვირუსის(რაჭა, 2007წ) და ესპანური შტამის E75 ვირუსი სუსპენზია 1მლ ოდენობით და დავაინფიცირეთ იოკშირის ჯიშის ბურვაკები. საექპერიმენტო ოთხივე ბურვაკი მოკვდა დაინფიცირებიდან 4-8 დღის განმავლობაში. საექსპერიმენტო ბურვაკებიდან ვიდებდით სისხლის, ნაზალურ, ტონზილის (ნუშისებური ჯირკვლიდან), და სისხლის შრატის ნიმუშებს პოსტინფექციიდან მე-4, მე-6, და მე-8 დღეს. კვლევებმა გვიჩვენა საკმაოდ მაღალი ვირუსის ტიტრი სისხლის ნიმუშებში, ვირემიის დროს, დანარჩენ საკვლევ ნიმუშებთან შედარებით. კვლევის შედეგებმა კიდევ ერთხელ აჩვენა, რომ საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსი ისევე როგორც E75 მაღალი ვირულენტობის ვირუსის შტამებს მიეკუთვნებიან და სიკვდილიანობის მაღალი მაჩვენებლით ხასიათდებიან. (Neilen J.G. & Burrage T.G. 1997; Neilen J.G & Rock D.L. 1997;)

საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის გენოტიპის შესასწავლად სეკვენსირება-გამოკვლევები ჩავატარეთ ცხოველთა ეგზოტიკურ დაავადებათა ცენტრში, აშშ. ვირუსის გენომის 8DR (CD2) და 9GL უბნის ფრაგმენტებზე. რომელიც შედარებული იქნებოდა გენოტიპი I ჯგუფის მაღაგის ვირუსის რეფერანს შტამს.(Phologane S. B. 2005; Rabin E. M. 1993; Rodriguez J.M. 1993; Prased R. 1998; Tamura K. 2007; Thompson J.D. 1994;

გამოვიკვლიეთ სხვადასხვა რეგიონებიდან შეგროვილი 20 პათოლოგიური ნიმუში, მათ შორის ის ორი ნიმუში, რომელშიც არ აღმოჩნდა ცოცხალი ვირუსი ჰემადსორბციის კვლევის შედეგად. გაუკეთდა ექსტრაქცია და გამოვყავით ვირუსული დნმ-ი. მოვამზადეთ დნმ-ის ნიმუშები სეკვენსირებისთვის. ამპლიფიკაცია გაუკეთდა ღორის

აფრიკული ცხელების ვირუსის 8DR (CD2) და 9GL-ის გენომის ფრაგმენტებს. მიღებული სეკვენსის შედეგებმა ნათლად გვიჩვენა რომ, გვაქვს გარკვეული ცვლილებები ნუკლეინის მუავეებსა და შესაბამისად ამინო მუავეებს შორის. PCR-თვის გამოყენებული იყო სეკვენსის 9GL და 8DR (CD2) ფორვარდი და რევერს პრაიმერები:

9GLarmF1 CAACATGCGCTCAAGCATAC; 9GLarmR1 GACAACGATGTTAAGCGGCGA;

9GLF1-seqTCTTGTGCTCAGCGGGTACG; 9GLR1seqGTTATAAATGTTGCATTGGGGACCT;

9GLF2seqCGGGAAGGTCCAGTACTGAAG; 9GLR2seqCTTTCAGTACTGGACCTTCGCG;

9GLarmF200CTGTCGTCTTCCACTAAAATAATG; 9GLarmR200GACAACACTAACAGAGCCTTGCTC;

9GLF200seqGGGTACAAATAACCGAGCG; 9GLR200seqGATGACATTAAGGACCATGACAC;

CD2bF2GAGTCAGTACTATTACGCAATAGTGG, CD2bR2TGCTTGATTTCTAGGAGAGCTG.

ცვლილებები ძირითადად აღმოჩნდა მაღავის და საქართველოში დაფიქსირებული ვირუსის შტამებს შორის. შემდეგ ნუკლეინის მუავეებს შორის: ადენინი-გუანინით (A-G), გუანინი-ადენინით (G-A), თიმინი-ადენინით (T-A), ადენინი-ტიმინით (A-T), თიმინი-გუანინით (T-G), თიმინი-ციტოზინით (T-C), გუანინი-ადენინით (G-A), თიმინი-ციტოზინით (T-C), თიმინი-ციტოზინით (T-C), გუანინი-თიმინით (G-T), თიმინი-ციტოზინით (T-C), თიმინი-ციტოზინით (T-C), თიმინი-ციტოზინით (T-C), ადენინი-გუანინი (A-G), თიმინი-ციტოზინით (T-C), ციტოზინი-ადენინით (C-A), თიმინი-ადენინით (T-A), ადენინი-ციტოზინით (A-C). ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევები კიდევ ერთხელ ადასტურებს, რომ ვირუსი მიეკუთვნება გენოტიპი II ჯგუფის ვირუსებს, რომელშიც შედიან მოზამბიკის, ზიმბაბუვესა და მადაგასკარის ვირუსის გენომის შტამები. (Dixon L.K. 2007; Penrith M.L. 2007; Cleland W.W. 1964) ხოლო, რაც შეეხება საქართველოში დაფიქსირებული ღორის არიკული ცხელების ვირუსის პათოლოგიურ ნიმუშებს შერჩეული რეგიონების და მიხედვით მსგავსი გენომური თანმიმდევრობები აქვთ და რაიმე არსებითი ცვლილებები არ ახასიათებთ, რამაც მოგვცა საფუძველი დავასკვნათ, რომ 2007 წელს

საქართველოს რეგიონებში ღორების მასობრივი სიკვდილიანობა გამოწვეული იყო ერთი და იგივე მოციროკური ვირუსის შტამებით, რომლებიც მიეკუთვნება გენოტიპი II-ის ჯგუფის ვირუსებს და მაღალი ვირულენტობით ხასიათდება.(Ren.B. 2009; Sanger F. 1977; Saitou N. 1987; Takezaki N. 1995; Dixon L.K. 2007; Penrith M.L. 2007; )

ვირუსული დაავადებების კვლევების დროს მნიშვნელოვანია მოვასდინოთ ვირუსის იზოლაცია, რომელიც უტყუარ დამადასტურებელ მეთოდს წარმოადგენს ვირუსის არსებობისას პათოლოგიურ ნიმუშებში. იგი ითვლება „ოქროს სტანდარტ“ ტესტად. თუმცა, ტრანსმისიული ელექტრო მიკროსკოპი ძვირად ღირებული და ხელმიუწვდომელი სიამოვნებაა მთელი რიგი ლაბორატორიებისთვის. გამოვიკვლიეთ №10 ნიმუში (რაჭა-2007), რისი საშუალებით გამოკვლეული და შესწავლილი იქნა პირველად ვირუსის ვირუსულ-მოლეკულური ეპიდემიოლოგია საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკულ ცხელებაზე. (Breese S.S. 1966; Burrage T. 1994; Vinuela E. 1987).

კვლევები ასევე მიმართული იყო სამეცნიერო სამუშაოებზე, მცდელობები იმისა, რომ შეგვექმნა საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების ატენუირებული ვირუსის შტამი. (Coggins L. 1968) ამ მიზნით გამოვიყენეთ მაღალი ასლების შემცველი პლაზმიდი, რომელიც შეიცავდა β ბეტა გლუკო (GUS) და ASFv-ის p72 გვიანი პროტეინის პრომოუტერ დნმ-ის 500ფუ მხარის ფრაგმენტის 9GL გენს საქართველოს იზოლატებიდან. მრავალი მეცნიერთა კვლევების საფუძველზე 9GL დელეცია (წაშლა) ახდენს ბუნებრივი ვირუსის შტამების მოდუნებას, რამაც საშუალება შეიძლება მოგვცეს ატენუირებული შტამების შექმნის, რაც გამოყენებული იქნება საექსპერიმენტო, მოდიფიცირებული ცოცხალი, ატენუირებული ვაქცინის შესაქმნელად. (Felgner P.L. 1987; Garcia-Escudero R.G. 1998; Lewis T. 2000; Rodriguez J.M. 1992; Sambrook J. 1989; Wilson S.H. 1998).

## 5. დასკვნები

1. ღორის აფრიკული ცხელება ძლიერ კონტაგიოზური ვირუსული ინფექციაა, რომლის გამომწვევია ახლად შექმნილი Asfaviroidae-ს ოჯახის წამომადგენელი ერთადერთი დნმ შემცველი არბოვირუსი.
2. ASFV სახეობრივი ინფექციაა, რომელიც იწვევს 100% სიკვდილიანობას ევროპულ და შინაური ჯიშის ღორებში.
3. კვლევების საფუძველზე დადგინდა, რომ დაავადებას არ ახასიათებს სეზონურობა, იგი წლის ყველა პერიოდში ფიქსირდება.
4. იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELISA) ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკაში სპეციფიკური და მგრძობიარე ტესტია.
5. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (PCR) ერთერთი მოლეკულური ბიოლოგიის მძლავრი სტანდარტული რეაქციაა ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკაში, რომელიც გამოირჩევა სწრაფი, მარტივი გზა დნმ-ის მასალის მისაღებად უმნიშვნელო რაოდენობის დნმ-ის ფრაგმენტიდან
6. ჰემადსორბციის რეაქცია მაღალ მგრძობიარე მეთოდია ASF ვირუსის აღმოსაჩენად ღორის პირველად ქსოვილოვან კულტურაში. მისი საშუალებით განისაზღვრება ასევე, ვირუსის ვირულენტობის ტიტრი.
7. საქართველოში პირველად მოხდა ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის გენომის ნუკლეინის მუაგების თანმიმდევრობის განსაზღვრა-სეკვენსირება. ASF ვირუსის გენომის 9GL და CD2 ფრაგმენტის უბნების გამოკვლევის საფუძველზე, განისაზღვრა, საქართველოს რეგიონებში მოციროკურირე ვირუსის შტამის ერთგვარობა. დადგინდა, რომ 2007 წელს ღორების მასიური სიკვდილიანობა გამოწვეული იყო მაღალ ვირულენტური

გენოტიპი II ჯგუფის ვირუსით, რომელიც ცირკულირებს მოზამბიკის, ზიმბაბვეს და მადაგასკარის ტერიტორიაზე.

8. უკანასკნელ წლებში გამოყოფილი ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის რეპლიკაციის და მასპინძელთან ურთიერთობის შესახებ მიღებული მონაცემები შემდგომ ხელს შეუწყობს დნმ-შემცველი ვირუსების და მასპინძლის ურთიერთობების უკეთ გარკვევას.
9. OIE-ის მიერ შემოთავაზებული კლასიფიკაციის მიხედვით ღორების აფრიკული ცხელების ვირუსი მიეკუთვნება მე-2 რისკის მქონე „ეპიზოტიურ და ენზოტიურ“ ჯგუფს, რომელიც ექვემდებარება ოფიციალურ კონტროლს.
10. ღორების აფრიკული ცხელებას ახასიათებს სპორადიული აფეთქებები, რაც დაავადების ტალღისებური გავრცელებით გამოიხატება.
11. ღორების აფრიკული ცხელების კვლევის საფუძველზე დადგინდა, რომ თუ დროულად არ გატარდა დაავადების საწინააღმდეგო ღონისძიებები საქართველო შეიძლება ჩამოყალიბდეს ენდემურ ქვეყნად, როგორც ეს მოხდა იტალიაში სარდინიაზე.

## 6. პრაქტიკული რეკომენდაციები

1. ღორების აფრიკული ცხელების სადიაგნოსტიკო მასალის ნიმუშების აღების და ლაბორატორიაში გადაგზავნის წესი ბიოუსაფრთხოების ნორმების დაცვით.
2. იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELISA) პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (PCR)-ის მეთოდები ღორების აფრიკული ცხელების ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის მიზნით
3. შესწავლილი იქნეს ტკიპების და გარეული ღორის როლი დაავადების გავრცელებაში

## 7. გამოყენებული ლიტერატურა

1. African swine fever, Georgia. Promed. 2007 Jun 7 [cited 2007 Jun 7]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20070607.1845.
2. African swine fever, Georgia Abkhazia Autonomous Republic. Promed. 2007 Aug 21 [cited 2007 Aug 19]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20070821.2737
3. African swine fever, NagoroKarabagh. Promed. 2007 Nov 4 [cited 2007 Nov 3]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20071104.3589.
4. African swine fever, Russia Chechnya. Promed. 2008 Jan 29 [cited 2008 Jan 27]. Available from <http://www.promedmail.org>, archive no. 20080129.0370.
5. African Swine Fever Virus Multigene Family 360 and 530 Genes Affect Host Interferon Response C. L. Afonso, M. E. Piccone, K. M. Zaffuto, J. Neilan, G. F. Kutish, Z. Lu, C. A. Balinsky, T. R. Gibb, T. J. Bean, L. Zsak, and D. L. Rock J Virol. 2004 February; 78(4): 1858–1864. doi: 10.1128/JVI.78.4.1858-1864.2004.PMCID: PMC369441
6. Alcaraz, A. Brun, M. D. Sussman, D. V. Onisk, J. M. Escribano, and D. L. Rock. 1992. Characterization of p30, a highly antigenic membrane and secreted protein of African swine fever virus. *Virology* 189:368–373.
7. Aguado, B., E. Viñuela, and A. Alcamí. 1991. African swine fever virus fatty acid acylated proteins. *Virology* 185:942-945.
8. Alcamí, A., A. L. Carrascosa, and E. Viñuela. 1989. Saturable binding sites mediate the entry of African swine fever virus into Vero cells. *Virology* 168:393-398.
9. Alcamí, A., A. L. Carrascosa, and E. Viñuela. 1989. The entry of African swine fever virus into Vero cells. *Virology* 171:68-75.
10. Alcamí, A., A. L. Carrascosa, and E. Viñuela. 1990. Interaction of African swine fever virus with macrophages. *Virus Res.* 17:93-104.



11. Alejo, A., G. Andrés, and M. L. Salas. 2003. African swine fever virus protease is essential for core maturation and infectivity. *J. Virol.* 77:5571-5577.
12. Andrés, G., A. Alejo, J. Salas, and M. L. Salas. 2002. African swine fever virus polyproteins pp220 and pp62 assemble into the core shell. *J. Virol.* 76:12473-12482.
13. Andrés, G., R. García-Escudero, M. L. Salas, and J. M. Rodríguez. 2002. Repression of African swine fever virus polyprotein pp220-encoding gene leads to the assembly of icosahedral core-less particles. *J. Virol.* 76:2654-2666.
14. Andrés, G., R. García-Escudero, C. Simón-Mateo, and E. Viñuela. 1998. African swine fever virus is enveloped by a two-membraned collapsed cisterna derived from the endoplasmic reticulum. *J. Virol.* 72:8988-9001.
15. Andrés, G., R. García-Escudero, E. Viñuela, M. L. Salas, and J. M. Rodríguez. 2001. African swine fever virus structural protein pE120R is essential for virus transport from assembly sites to plasma membrane but not for infectivity. *J. Virol.* 75:6758-6768.
16. Andrés, G., C. Simón-Mateo, and E. Viñuela. 1997. Assembly of African swine fever virus: role of polyprotein pp220. *J. Virol.* 71:2331-2341.
17. Angulo, A., E. Viñuela, and A. Alcamí. 1993. Inhibition of African swine fever virus binding and infectivity by purified recombinant virus attachment protein p12. *J. Virol.* 67:5463-5471.
18. Afonso, C. L., L. Zsak, C. Carrillo, M. V. Borca, and D. L. Rock. 1998. African swine fever virus *NL* gene is not required for virus virulence. *J. Gen. Virol.* 79:2543-2547.
19. Alcaraz, C., B. Pasamontes, G. F. Ruiz, and J. M. Escribano. 1989. African swine fever virus-induced proteins on the plasma membranes of infected cells. *Virology* 168:406-408.
20. AGÜERO M., FERNÁNDEZ J., ROMERO L., SANCHEZ C., ARIAS M. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2003). Highly sensitive PCR assay for the routine

- diagnosis of African swine fever virus in clinical samples, *J. Clin. Microbiol.*, 41(9), 4431–4434.
- 21 . AGÜERO M., FERNÁNDEZ J., ROMERO L., ZAMORA M.J., SANCHEZ C., BELÁK S., ARIAS M. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2004) A highly sensitive and specific gel-based multiplex RT-PCR assay for the simultaneous and differential diagnosis of African swine fever and Classical swine fever. *Vet. Res.*, 35, 1–13.
  22. ARIAS M. & SANCHEZ VIZCAINO J.M. (1992). Manual de diagnóstico serológico de la peste porcina africana. (Manual of diagnostic serology for African swine fever.) Ministry of Agriculture, CISA-INIA, Valdeolmos-28130 Madrid, Spain, 1–44.
  23. ARIAS M. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2002). African swine fever. *In: Trends in Emerging Viral Infections of Swine*, Iowa State University press, pp 119–124. ISBN 0813803837.
  24. ARIAS M. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2002). African swine fever eradication: the Spanish model. *In: Trends in Emerging Viral Infections of Swine*, Iowa State University Press, pp 133–139. ISBN 0813803837.
  25. Almazan F, Rodriguez JM, Andres G, Perez R, Vinuela E, Rodriguez JF (1992) Transcriptional analysis of multigene family 110 of African swine fever virus. *J Virol* 66:6655-6667
  26. Almazan F, Rodriguez JM, Angulo A, Vinuela E, Rodriguez JF (1993) Transcriptional mapping of a late gene coding for the p12 attachment protein of African swine fever virus. *J Virol* 67:553-556
  27. ALMENDRAL, J. M., BLASCO, R., LEY, V., BELOSO, A., TALAVERA, A., and VIQUELA, E. (1984). Restriction site map of African swine fever virus DNA. *Virology* 133, 258-270.
  28. AGOERO, M., BLASCO, R., WILKINSON, P. and VIQUELA, E. (1990). Analysis of naturally occurring deletion variants of African swine fever virus: Multi-

- gene family 1 10 is not essential for infectivity or virulence In pigs. *Virology* 176, 195-204
29. Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215:403–410.
  30. Andre's, G., García-Escudero, R., Salas, M. L., and Rodríguez, J. M. (2002) *J. Virol.* 76, 2654–2666
  31. Andre's, G., Alejo, A., Simo'n-Mateo, C., and Salas, M. L. (2001) *J. Biol. Chem.* 276, 780–787
  32. Baylis SA, Dixon LK, Vydelingum S, Smith GL,(1992) African swine fever virus encodes A gene with extensive Homology to type II DNA topoisomerases. *J Vmol boil* 228:1003-1010
  33. Baylis SA, Banham AAH., Vydelingum S, Dixon LK, Smith GL,(1993a) African swine fever virus encodes a serine protein kinase which is packaged into virions. *J Virol* 67:4549-4556
  34. Baylis SA, Twigg SR, Vydelingum S, Dixon LK, Smith GL,(1993b) Three African swine fever virus genes encodes proteins with homology to putative helicases of vaccinia virus. *J Gen Virol* 74:1969-1974
  35. Breese, S. S., Jr., and Pan, I. C. (1978) *J. Gen. Virol.* 40, 499–502
  36. Beard, W. A., and Wilson, S. H. (2006) *Chem. Rev.* 106, 361–382
  37. Bernardes, C., Valdeira, M. L., Ramalho-Santos, J., and de Lima, M. C. (1995) *Biochem. Mol. Biol. Int.* 37, 481–488
  38. Bairoch, A., P. Bucher, and K. Hofmann. 1997. The PROSITE database, its status in 1997. *Nucleic Acids Res.* 25:217-221.
  39. Bastos ADS, Penrith ML, Macome F, Pinto F, Thomson GR. Co-circulation of two genetically distinct viruses in an outbreak of African swine fever in Mozambique: no evidence for individual co-infection. *Vet Microbiol.* 2004;103:169–82. [PubMedDOI](#)
  40. Breese, S. S., Jr., and C. J. DeBoer. 1966. Electron microscope observations of African swine fever virus in tissue culture cells. *Virology* 28:420-428.

41. Brookes, S. M., A. D. Hyatt, T. Wise, and R. M. Parkhouse. 1998. Intracellular virus DNA distribution and the acquisition of the nucleoprotein core during African swine fever virus particle assembly: ultrastructural in situ hybridisation and DNase-gold labelling. *Virology* 249:175-188.
42. Bastos AD, Penrith ML, Cruciere C, Edrich JL, Hutchings G, Roger F, et al. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. *Arch Virol.* 2003;148:693–706
43. Brookes, S. M., H. Sun, L. K. Dixon, and R. M. E. Parkhouse. 1998. Characterization of African swine fever virion proteins j5R and j13L: immuno-localization in virus particles and assembly sites. *J. Gen. Virol.* 79:1179-1188.
44. BALL, L. A. (1987). High frequency homologous recombination *Invaccinia* virus DNA. *J. Viral.* 61, 1788-1795.
45. BLASCO, R., DE LAVEGA, I., ALM&N, F., AGOERO, M., and VI~LJELA, E.(1989). Genetic variation of African swine fever virus: Variable regions near the end of the viral DNA. *Virology* 173, 251-257.
46. Bastos et al., 2003 A.D. Bastos, M.L. Penrith, C. Crucière, J.L. Edrich, G. Hutchings, F. Roger, E.R. Couacy-Hymann and G. Thomson, Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation, *Arch. Virol.* 148 (2003), pp. 693–706
47. BASTO A.P., PORTUGAL R.S., NIX R.J., CARTAXEIRO C., BOINAS F., DIXON L.K., LEITAO A. & MARTINS C. (2006). Development of a nested PCR and its internal control for the detection of African swine fever virus (ASFV) in *Ornithodoros erraticus*. *Arch. Virol.*, 151 (4), 819–826.
48. BLASCO R., AGÜERO M., ALMENDRAL J.M. & VIÑUELA E. (1989). Variable and constant region in African swine fever virus DNA. *Virology*, 168, 330–338.
49. Borca, M. V., P. M. Irusta, G. F. Kutish, C. Carrillo, C. L. Afonso, T. Burrage, J. G. Neilan, and D. L. Rock. 1996. A structural DNA binding protein of African swine fever virus with similarity to bacterial histone-like

proteins. *Arch. Virol.* 141:301–313.

50. Brown, F. 1986. The classification and nomenclature of viruses: summary of results of meetings of the International Committee on Taxonomy of Viruses in Sendai, September 1984. *Intervirology* 25:141–143.
51. Beyers, A. D., A. N. Barclay, D. A. Law, Q. He, and A. F. Williams. 1989. Activation of T lymphocytes via monoclonal antibodies against rat cell surface antigens with particular reference to CD2 antigen. *Immunol. Rev.* 111:59–77.
52. Bierer, B. E., and S. J. Burakoff. 1989. T-lymphocyte activation: the biology and function of CD2 and CD4. *Immunol. Rev.* 111:267–294.
53. Borca, M. V., G. F. Kutish, C. L. Afonso, P. Irusta, C. Carrillo, A. Brun, M. Sussman, and D. L. Rock. 1994. An African swine fever virus gene with similarity to the T-lymphocyte surface antigen CD2 mediates hemadsorption. *Virology* 199:463–468.
54. BOOL P.H., ORDAS A. & SANCHEZ BOTIJA C. (1969). El diagnóstico de la Africanapesteporcina in immunofluorescencia. (The diagnosis of African swine fever by immunofluorescence). *Bull. OIE*, 72, 819–839.
55. BOSHOFF C.I., BASTOS A.D., GERBER L.J. & VOSLOO W. (2007). Genetic characterisation of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973–1999). *Vet. Microbiol.*, 121 (1–2), 45–55.
56. BLASCO, R., LOPEZ-OT~N, C., Mutioz, M., BOCKAMP, E-O., SIMONMA-TEO, C., and VI~UELA, E. (1990). Sequence and evolutionary relationships of African swine fever virus thymidine kinase. *Virology* 178, 301-304.
57. Borca, M.V., Irusta, P., Carrillo, C., Afonso, C.L., Burrage, T., Rock, D.L., 1994. African swine fever virus structural protein p72 contains a conformational neutralizing epitope. *Virology* 201 (2), 413– 418.
58. Bournnell M, Shaw K, Yanez RJ, Vinuela E, Dizon L (1991) The sequences of the ribonucleotide reductase genes from African swine fever virus show considera-

ble homology with those of the orthopoxvirus, vaccinia virus. *Virology* 184:411-416

59. CARRASCOSA, J. L., CARAZO, J. M., CARRASCOSA, A. L., GARCIA, N., SANTISTEBAN, A., and WWELA, E. (1984). General morphology and capsid fine structure of African swine fever virus particles. *Virology* 132, 160-172.
60. Carrascosa, A. L., M. J. Bustos, M. L. Nogal, G. González de Buitrago, and Y. Revilla. 2002. Apoptosis induced in an early step of African swine fever virus entry into Vero cells does not require virus replication. *Virology* 294:372-382.
61. Carrascosa, A. L., M. del Val, J. F. Santarén, and E. Viñuela. 1985. Purification and properties of African swine fever virus. *J. Virol.* 54:337-344.
62. Cortes, H. J., Pfeiffer, C. D., Richter, B. E., and Stevens, T. S. (1987) *J. High Res. Chromatogr.* 10, 446–448
63. Colgrove, G. S., E. O. Haelterman, and L. Coggins. 1969. Pathogenesis of African swine fever in young pigs. *Am. J. Vet. Res.* 30:1343–1359.
64. Costa, J. V. 1990. African swine fever virus, p. 247–270. *In* G. Darai (ed.), *Molecular biology of iridoviruses*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Mass.
65. Canals, A., F. Alonso, J. Tomillo, and J. Domínguez. 1992. Analysis of T lymphocyte subsets proliferating in response to infective and UV-inactivated African swine fever virus. *Vet. Microbiol.* 33:117–127.
66. Camacho A, Vinuela E (1991) Protein p22 of African swine fever virus: an early structural protein that is incorporated into the membrane of infected cells. *Virology* 181:251-257.
67. Carrillo, C., M. V. Borca, C. L. Afonso, D. V. Onisk, and D. L. Rock. 1994. Long-term persistent infection of swine monocytes/macrophages with African swine fever virus. *J. Virol.* 68:580–583.
68. Casal, I., L. Enjuanes, and E. Viñuela. 1984. Porcine leukocyte cellular subsets sensitive to African swine fever virus in vitro. *J. Virol.* 52:37–46.
69. Coggins, L. 1968. Segregation of a nonhemadsorbing African swine fever virus in tissue culture. *Cornell Vet.* 58:12–20.

70. Coggins, L., J. E. Moulton, and G. S. Colgrove. 1968. Studies with hinde attenuated African swine fever virus. *Cornell Vet.* 58:525–540.
71. Cleland, W. W. (1964) *Biochemistry* 3, 480–482
72. Cobbold, C., Windsor, M., Parsley, J., Baldwin, B., and Wileman, T. (2007) *J. Gen. Virol.* 88, 77–85
73. Chen et al., 2008a H.T. Chen, J. Zhang, D.H. Sun, Y.F. Chu, X.P. Cai, X.T. Liu, X.N. Luo, Q. Liu and Y.S. Liu, Rapid detection of porcine circovirus type 2 by loop-mediated isothermal amplification, *J. Virol. Methods* 149 (2008), pp. 264–268.
74. Chen et al., 2008a H.T. Chen, J. Zhang, D.H. Sun, Y.F. Chu, X.P. Cai, X.T. Liu, X.N. Luo, Q. Liu and Y.S. Liu, Rapid detection of porcine circovirus type 2 by loop-mediated isothermal amplification, *J. Virol. Methods* 149 (2008), pp. 264–268
75. Chen et al., 2008b H.T. Chen, J. Zhang, D.H. Sun, L.N. Ma, X.T. Liu, K. Quan and Y.S. Liu, Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the detection of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus, *J. Virol. Methods* 153 (2008), pp. 266–268
76. Coggins, L., 1974. African swine fever virus. *Pathogenesis. Prog. Med. Virol.* 18, 48–63.
77. DeTray, D.E., 1957. Persistence of viremia and immunity in African swine fever. *Am. J. Vet. Res.* 18, 811–816.
78. De la Vega I, Vinuela E, Blasco R (1990) Genetic variation and multigene families in African swine fever virus. *Virology* 179:234-246
79. De la Vega I, Gonzalez A, Blasco R, Calvo V, Vinuela E (1994) Nucleotide sequence and variability of the inverted terminal repetitions of African swine fever virus DNA. *Virology* 201:152-156
80. Dixon, L. K., S. R. F. Twigg, S. A. Baylis, S. Vydelingum, C. Bristow, J. M. Hammond, and G. L. Smith. 1994. Nucleotide sequence of a 55 kbp region from the right end of the genome of a pathogenic African swine fever virus

- isolate (Malawi LIL20/1). *J. Gen. Virol.* 75:1655–1684.
81. Date, T., Yamamoto, S., Tanihara, K., Nishimoto, Y., Liu, N., and Matsukage, A. (1990) *Biochemistry* 29, 5027–5034
82. DeKock, G., E. M. Robinson, and J. J. G. Keppel. 1994. Swine fever in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.* 14:31–93.
83. Dixon, L. K., D. L. Rock, and E. Vinuela. 1995. African swine fever-like viruses. *Arch. Virol.* 10(Suppl.):92–94.
84. Dixon, L. K., Abrams, C. C., Bowick, G., Goatley, L. C., Kay-Jackson, P. C., Chapman, D., Liverani, E., Nix, R., Silk, R., and Zhang, F. (2004) *Vet. Immunol. Immunopathol.* 100, 117–134
85. DeTray, D. E. 1963. African swine fever. *Adv. Vet. Sci.* 8:299–333.
86. Dixon, L. K., J. V. Costa, J. M. Escribano, D. L. Rock, E. Vinuela, and P. J. Wilkinson. 2000. Family *Asfarviridae*, p. 159–165. *In* M. H. V. van Regenmortel, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, and S. M. Lemon (ed.), *Virus taxonomy. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Academic Press, San Diego, Calif.
87. Dixon LK, Escribano JM, Martins C, Rock DL, Salas ML, Wilkinson PJ. *Asfarviridae*. *In*: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger, U, Ball LA, editors. *Virus taxonomy, VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London: Elsevier/Academic Press; 2005. p. 135–43.
88. Dixon, L.K., Costa, J.V., Escribano, J.M., Rock, D.L., Vinuela, E., Wilkinson, P.J., 2000. The *Asfarviridae*. *In*: Van Regenmortel, C.M.F.M.H.V., Bishop, D.H.L., Carsten, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R., Wickner, R.B. (Eds.), *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses.* Academic Press, New York, NY, pp. 116–159.
89. Escribano, J. M., and E. Tabare's. 1987. Proteins specified by African swine fever virus. V. Identification of immediate early, early and late proteins. *Arch. Virol.* 92:221–238.



90. Enjuanes, L., A. L. Carrascosa, M. A. Moreno, and E. Viñuela. 1976. Titration of African swine fever (ASF) virus. *J. Gen. Virol.* 32:471-477.
91. Epifano, C., J. Krijnse-Locker, M. L. Salas, J. M. Rodríguez, and J. Salas. 2006. The African swine fever virus non-structural protein pB602L is required for the formation of the icosahedral capsid of the virus particle. *J. Virol.* 80:12260-12270.
92. Epifano, C., J. Krijnse-Locker, M. L. Salas, J. Salas, and J. M. Rodríguez. 2006. Generation of filamentous instead of icosahedral particles by repression of African swine fever virus structural protein pB438L. *J. Virol.* 80:11456-11466.
93. Estevez, A., M. I. Marquez, and J. V. Costa. 1986. Two-dimensional analysis of African swine fever virus proteins and proteins induced in infected cells. *Virology* 152:192-206.
94. ESCRIBANO J.M., PASTOR M.J., ARIAS M. & SANCHEZ VIZCAINO J.M. (1990). Confirmación de sueros positivos a ELISA-pesteporcina africana, mediante la técnica de 'Immunoblotting'. Utilización de las proteínas inducidas por el virus con pesos moleculares comprendidos entre 23 y 35 kilodaltons, en el desarrollo de un 'kit' diagnóstico. (Confirmation of sera positive by ASF ELISA with the immunoblotting technique. Use of virus induced proteins of 23-25 kDa in the development of a diagnostic kit.) *Med. Vet.*, 7, 135-141.
95. ESCRIBANO J.M., PASTOR M.J. & SANCHEZ VIZCAINO J.M. (1989). Antibodies to bovine serum albumin in swine sera: implications for false positive reactions in the serodiagnosis of African swine fever. *Am. J. Vet. Res.*, 50, 1118-1122.
96. EVANS, D. H., STUART, D., and MCFADDEN, G. (1988). High levels of recombination among cotransfected plasmid DNAs in poxvirus-infected mammalian cells. *J. Virol.* 62, 367-375.
97. FELGNER, P. L., GADEK, T. R., HOLM, M., ROMAN, R., CHAN, H. W., WENZ, M., NORTHROP, J. P., RINGOLD, G. M., and DANIELSEN, M. (1987). Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection

- procedure. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 7413-7417.
98. Forman, A.J., Wardley, R.C., Wilkinson, P.J., 1982. The immunological response of pigs and guinea pigs to antigens of African swine fever virus. Arch. Virol. 74 (2–3), 91–100.
99. Freije JM, Lain S, Vinuela E, Lopez-otin C(1993) Nucleotide sequence of a nucleoside triphosphate phosphohydrolase gene from African swine fever virus. Virus Res 30:63-72
100. GALLARDO C., BLANCO E., RODRÍGUEZ M.J., CARRASCOSA A. & SANCHEZ-VIZCAINO J.M. (2006). Antigenic properties and diagnostic potential of African swine fever virus protein pp62 expressed in insect cells. *J. Clin. Microbiol.*, 44 (3), 1489–1495.
101. GONZAGUE M., PLIN C., BAKKALI-KASSIMI L., BOUTROUILLE A. & CRUCIERE C. (2002). Development of an internal control for the detection of the African swine fever virus by PCR. *Mol. Cell. Probes*, 16, 237–242.
102. Gonzague M, Roger F, Bastos A, Burger C, Randriamparany T, Smondack S, et al. Isolation of a non-haemadsorbing, non-cytopathic strain of African swine fever virus in Madagascar. *Epidemiol Infect.* 2001;126:453–9. [PubMedDOI](#)
103. García-Escudero, R., G. Andrés, F. Almazán, and E. Viñuela. 1998. Inducible gene expression from African swine fever virus recombinants: analysis of the major capsid protein p72. *J. Virol.* 72:3185-3195.
104. Gómez-Puertas, P., F. Rodríguez, J. M. Oviedo, A. Brun, C. Alonso, and J. M. Escribano. 1998. The African swine fever virus proteins p54 and p30 are involved in two distinct steps of virus attachment and both contribute to the antibody-mediated protective immune response. *Virology* 243:461-471.
105. García-Escudero, R., García-Díaz, M., Salas, M. L., Blanco, L., and Salas, J. (2003) *J. Mol. Biol.* 326, 1403–1412
106. Genovesi, E. V., F. Villinger, D. J. Gerstner, T. C. Whyard, and R. C. Knudsen. 1990. Effect of macrophage-specific colony-stimulating factor (CSF-1) on swine monocyte/macrophage susceptibility to in vitro infection by

- African swine fever virus. *Vet. Microbiol.*25:153–176.
107. Gonzalez, A., V. Calvo, F. Almazan, J. M. Almendral, J. C. Ramirez, I. de la Vega, R. Blasco, and E. Vinuela. 1990. Multigene families in African swine fever virus: family 360. *J. Virol.* 64:2073–2081.
108. Goodbourn, S., L. Didcock, and R. E. Randall. 2000. Interferons: cell signaling, immune modulation, antiviral response and virus countermeasures. *J. Gen. Virol.* 81:2341–2364.
109. Gonzalez, A., A. Talavera, J. M. Almendral, and E. Vinuela. 1986. Hairpinloop structure of African swine fever virus DNA. *Nucleic Acids Res.* 14:6835–6844.
110. Gonzalez, S., C. Mendoza, J. M. Sanchez-Vizcaino, and F. Alonso. 1990. Inhibitory effect of African swine fever virus on lectin-dependent swine lymphocyte proliferation. *Vet. Immunol. Immunopathol.*26:71–80.
111. Grzesiek, S., and Bax, A. (1992) *J. Am. Chem. Soc.* 114, 6291–6293
112. Grzesiek, S., and Bax, A. (1992) *J. Magn. Reson.*96, 432–440
113. Giorda, R., M. Hagiya, T. Seki, M. Shimonishi, H. Sakai, J. Michaelson, A. Francavilla, T. E. Starzl, and M. Trucco. 1996. Analysis of the structure and expression of the augumenter of liver regeneration (ALR) gene. *Mol. Med.*2:97–108.
114. Grzesiek, S., and Bax, A. (1993) *J. Biomol. NMR* 3, 185–204
115. Grzesiek, S., Stahl, S. J., Wingfield, P. T., and Bax, A. (1996) *Biochemistry* 35, 10256–10261
116. García-Beato, R., Salas, M. L., Vinuela, E., and Salas, J. (1992) *Virology* 188,637–649
117. Grzesiek, S., and Bax, A. (1993) *J. Am. Chem. Soc.* 115, 12593–12594
118. Gomez-Puertas, P., Rodriguez, F., Oviedo, J.M., Ramiro-Ibanez, F., Ruiz-Gonzalvo, F., Alonso, C., Escribano, J.M., 1996. Neutralizing antibodies to different proteins of African swine fever virus inhibit both virus attachment and internalization. *J. Virol.* 70 (8),5689– 5694.

119. Hamdy, F.M., Dardiri, A.H., 1984. Clinical and immunologic responses of pigs to African swine fever virus isolated from the Western Hemisphere. *Am. J. Vet. Res.* 45 (4), 711–714.
120. Hess, W.R., 1982. African swine fever: a reassessment. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 25, 39–69.
121. KUZNAR, J., SALAS, M. L., and VI~UELA, E. (1980). DNA-dependent RNA polymerase in African swine fever virus. *Virology* 101, 169-175.
122. Haresnape, J. M., P. J. Wilkinson, and P. S. Mellor. 1988. Isolation of African swine fever virus from ticks of the *Ornithodoros moubata* complex (Ixodoidea: Argasidae) collected within the African swine fever enzootic area of Malawi. *Epidemiol. Infect.* 101:173–185.
123. Hess, W. R., R. G. Endris, A. Lousa, and J. M. Caiado. 1989. Clearance of African swine fever virus from infected tick (Acari) colonies. *J. Med. Entomol.* 26:314–317.
124. Hawes, P. C., C. L. Netherton, T. E. Wileman, and P. Monaghan. 2008. The envelope of intracellular African swine fever virus is composed of a single lipid bilayer. *J. Virol.* 82:7905-7912.
125. Hutchings GH, Ferris NP. Indirect sandwich ELISA for antigen detection of African swine fever virus: comparison of polyclonal and monoclonal antibodies. *J Virol Methods.* 2006;131:213–7. [PubMedDOI](#)
126. Heuschele, W. P., and L. Coggins. 1969. Epizootiology of African swine fever in warthogs. *Bull. of Epizoot. Dis. Afr.* 17:179–183.
127. Irusta PM, Borca MV, Kutish GF, Lu Z, Caler E, Carrillo C, et al. Amino acid tandem repeats within a late viral gene define the central variable region of African swine fever virus. *Virology.* 1996;220:20–7. [PubMedDOI](#)
128. Johnson, P. E., Tomme, P., Joshi, M. D., and McIntosh, L. P. (1996) *Biochemistry* 35, 13895–13906
129. Kihm, U., Ackerman, M., Mueller, H., Pool, R., 1987. Approaches to vaccination. In: Becker, Y. (Ed.), African Swine Fever. Martinus Nijhoff

Publishing, Boston, pp. 127– 144.

130. Kleiboeker, S.B., Burrage, T.G., Scoles, G.A., Fish, D., Rock, D.L., 1998.

African swine fever virus infection in the argasid host. *Ornithodoros porcinusporcinus*. *J. Virol.* 72 (3), 1711– 1724.

131. Knudsen, R.C., Genovesi, E.V., Whyard, T.C., 1987. In vitro immune serum-mediated protection of pig monocytes against African swine fever virus. *Am. J. Vet. Res.* 48 (7), 1067–1071.

132. KING D.P., REID S.M., HUTCHINGS G.H., GRIERSON S.S., WILKINSON P.J., DIXON L.K., BASTOS A.D.S. & DREW T.W. (2003). Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J. Virol. Methods*, 107, 53–61.

133. Kleiboeker, S. B., G. F. Kutish, J. G. Neilan, Z. Lu, L. Zsak, and D. L. Rock. 1998. A conserved African swine fever virus right variable region gene, 111L, is nonessential for growth *in vitro* and virulence in domestic swine. *J. Gen. Virol.* 79:1189–1195.

134. Konno, S., W. D. Taylor, and A. H. Dardiri. 1971. Acute African swine fever. Proliferative phase in lymphoreticular tissue and the reticuloendothelial system. *Cornell Vet.* 61:71–84.

135. Konno, S., W. D. Taylor, W. R. Hess, and W. P. Heuschele. 1971. Liver pathology in African swine fever. *Cornell Vet.* 61:125–150. 10663–10665.

136. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J MolEvol.* 1980;16:111–20. PubMedDOI

137. Kuznar J, Salas ML, Vinuela E (1980) DNA-dependent RNA polymerase in African swine fever virus. *Virology* 101:169-175

138. Kuznar J, Salas ML, Vinuela E (1981) Nucleoside triphosphate phosphohydrolyase activities in African swine fever. *Arch Virol* 69:307-310

139. ყურაშვილი თ.კ. , ვეფხვაძე ნ.გ. „ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით(PCR)” საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის შრომათა კრებული ტომი2, №3 (48) 122-125, 2009
140. ყურაშვილი თ. კ., ვეფხვაძე ნ.გ. „ღორის აფრიკული ცხელების დიაგნოსტიკა იმუნოფერმენტული ანალიზით (ELISA) საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის შრომათა კრებული ტომი2, №4 (49) 2009. 3. მოამბე102-104, 2010.
141. ყურაშვილი თ. კ. „ღორის აფრიკული ცხელების კონტროლისათვის საქართველოში” თ.ყურაშვილი, მ.სოხაძე, ც.მაჩიტაძე, ნ.გ. ვეფხვაძე. საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე, ტომი 27, 247-252, 2010, სექტემბერი.
142. Lamarche, B. J., Kumar, S., and Tsai, M. D. (2006) *Biochemistry* 45,14826–14833
143. LEY, V., ALMENDRAL, J. M., CARBONERO, P., VIRUELA, E., and TALLAVERA, R., RODRIGUEZ ET ALA. (1984). Molecular cloning of African swine fever virus DNA. *Virology* 133, 249-257.
144. LOPEZ-OTIN, C., FREIJE, J. M. P., PARRA, F., MENDOZA, E., and VIRUELA, E. (1990). Mapping and sequence of the gene coding for the major capsid protein of African swine fever virus. *Virology* 175, 477-484.
145. Lewis, T., Zsak, L., Burrage, T.G., Lu, Z., Kutish, G.F., Neilan, J.G., Rock, D.L., 2000. An African swine fever virus ERV1-ALR homologue, 9GL, affects virion maturation and viral growth in macrophages and viral virulence in swine. *J. Virol.* 74 (3), 1275– 1285.
146. LUBISI B.A., BASTOS A.D., DWARKA R.M. & VOSLOO W. (2005). Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa. *Arch Virol.*, 150(12), 2439–2452.

147. MALMQUIST W.A. & HAY D. (1960). Haemadsorption and cytopathic effect produced by African swine fever virus in swine bone marrow and buffy coat cultures. *Am. J. Vet. Res.*, 21, 104–108. *Chapter 2.8.1. - African swine fever* 1082  
OIE *Terrestrial Manual* 2008
148. Martin Hernandez Am, Tabares E, (1991) Expression and characterization of the thymidine kinase gene of African swine fever virus. *J virol* 65:1046-1052
149. Meireles M, Costa JV (1994) Nucleotide sequence of the telomeric region of the African swine fever virus genome. *Virology* 203:193-196
150. Mebus, C. A. 1988. African swine fever. *Adv. Virus Res.* 35:251–269.
151. Mebus, C. A., J. W. McVicar, and A. H. Dardiri. 1981. Comparison of the pathology of high and low virulence African swine fever virus infections, p. 183–194. *In* P. J. Wilkinson (ed.), *Proceedings of CEC/FAO expert consultation in African swine fever research, Sardinia, Italy, September 1981*. Commission of the European Communities, Luxemburg, Belgium.
152. Miller, G. T., P. S. Hochman, W. Meier, R. Tizard, S. A. Bixler, M. D. Rosa, and B. P. Wallner. 1993. Specific interaction of lymphocyte function-associated antigen 3 with CD2 can inhibit T cell responses. *J. Exp. Med.* 178:211–222.
153. Moingeon, P., H.-C. Chang, B. P. Wallner, C. Stebbins, A. Z. Frey, and E. L. Reinherz. 1989. CD2-mediated adhesion facilitates T lymphocyte antigen recognition function. *Nature (London)* 339:312–314.
154. Moulton, J., and Coggins, L. (1968) *Am. J. Vet. Res.* 29, 219–232
155. Moulton, J., and L. Coggins. 1968. Comparison of lesions in acute and chronic African swine fever. *Cornell Vet.* 58:364–388.
156. Moura Nunes, J. F., and J. L. Nunes-Petisca. 1983. Replication of African swine fever virus in lymph nodes of experimentally infected swine, p. 132–141.
157. Martínez-Pomares, L., C. Simón-Mateo, C. López-Otín, and E. Viñuela. 1997. Characterization of the African swine fever virus structural protein p14.5: a DNA binding protein. *Virology* 229:201-211.

- 158.MALMQUIST, W. A. (1963). Serologic and immunologic studies with African swine fever virus. *Am. J. Vet. Res.* 24, 450-459.
- 159.Maurer, F.D., Greisemer, R.A., Jones, T.C., 1958. The pathology of African swine fever—A comparison with hog cholera. *Am. J. Vet. Res.* 19 (72), 517–539.
- 160.Mebus, C. A., and A. H. Dardiri. 1980. Western hemisphere isolates of African swine fever virus: asymptomatic carriers and resistance to challenge inoculation. *Am. J. Vet. Res.* 41:1867–1869.
- 161.Mendoza, C., S. P. Videgain, and F. Alonso.1991. Inhibition of natural killer activity in porcine mononuclear cells by African swine fever virus. *Res. Vet. Sci.* 51:317–321.
- 162.Montgomery, R. E. (1921) *J. Comp. Pathol.* 34, 243–264
- 163.Moulton, J., and L. Coggins. 1968. Comparison of lesions in acute and chronic African swine fever. *Cornell Vet.* 58:364–388.
- 164.Neilan, J. G., Z. Lu, G. F. Kutish, L. Zsak, T. G. Burrage, M. V. Borca, C.Carrillo, and D. L. Rock. 1997. A BIR motif containing gene of African swine fever virus, *4CL*, is nonessential for growth *in vitro* and viral virulence. *Virology* 230:252–264.
- 165.Neilan, J. G., Z. Lu, G. F. Kutish, L. Zsak, T. L. Lewis, and D. L. Rock. 1997.A conserved African swine fever virus IκB homolog, 5EL, is nonessential for growth *in vitro* and virulence in domestic pigs. *Virology* 235:377–385.
- 166.NIX R.J., GALLARDO C., HUTCHINGS G, BLANCO E. & DIXON L.K. (2006). Molecular epidemiology of African swine fever virus studied by analysis of four variable genome regions. *Arch Virol.*,151 (12), 2475–2494.Epub 2006 Jul 3.
- 167.Neilan, J. G., L. Zsak, Z. Lu, G. F. Kutish, C. L. Afonso, and D. L. Rock. 2002. Novel swine virulence determinant in the left variable region of the African swine fever virus genome. *J. Virol.* 76:3095–3104.



168. Hajduk, P. J., Dinges, J., Miknis, G. F., Merlock, M., Middleton, T., Kempf, D. J., Egan, D. A., Walter, K. A., Robins, T. S., Shuker, S. B., Holzman, T. F., and Fesik, S. W. (1997) *J. Med. Chem.* 40, 3144–3150
169. Norley, S.G., Wardley, R.C., 1982. Complement-mediated lysis of African swine fever virus-infected cells. *Immunology* 46 (1), 75–82.
170. Norley, S.G., Wardley, R.C., 1983. Effector mechanisms in the pig. Antibody-dependent cellular cytolysis of African swine fever virus infected cells. *Res. Vet. Sci.* 35 (1), 75–79.
171. Onisk, D. V., M. V. Borca, G. Kutish, E. Kramer, P. Irusta, and D. L. Rock. 1994. Passively transferred African swine fever virus antibodies protect swine against lethal infection. *Virology* 198:350–354.
172. Ortin, J., L. Enjuanes, and E. Vínuela. 1979. Cross-links in African swine fever virus DNA. *J. Virol.* 31:579–583.
173. Ordasalvarez, A., Marcotegui, M.A., 1987. Developments in veterinary virology. In: Becker, Y. (Ed.), *African Swine Fever*. Nijhoff, Boston, pp. 11 –20.
174. Urzaingui A, Tabares E, Carrasco L. 1987. Proteins Synthesized in Afrika Swine Fever Virus-infected cells analyzed by two-dimensional gel electrophoresis. Vol.160, 286-291.
175. Plowright, W., J. Parker, and M. A. Pierce. 1969. The epizootiology of African swine fever in Africa. *Vet. Rec.* 85:668–674.
176. Penrith ML, Pereira CL, Da Silva M, Quembo C, Nhamusso A, Banze J. African swine fever in Mozambique: review, risk factors and considerations for control. *Onderstepoort J Vet Res.* 2007;74:149–60.
177. Prasad, R., Beard, W. A., Strauss, P. R., and Wilson, S. H. (1998) *J. Biol. Chem.* 273, 15263–15270
178. Pini, A., and G. Wagenaar. 1974. Isolation of a non-haemadsorbing strain of African swine fever (ASF) virus from a natural outbreak of the disease. *Vet. Rec.* 94:2.

179. Plowright, W., J. Parker, and R. F. Staple. 1968. The growth of a virulent strain of African swine fever virus in domestic pigs. *J. Hyg. (Cambridge)*66:117–134.
180. Plowright, W. 1981. African swine fever, p. 178–190. *In* J. W. Davis, L. H. Karsstad, and D. O. Trainer (ed.), *Infectious diseases of wild mammals*, 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
181. Plowright, W., G. R. Thomson, and J. A. Naser. 1994. African swine fever, p.568–599. *In* J. A. W. Coetzer, G. R. Thomson, and R. C. Tustin (ed.), *Infectious diseases in livestock with special reference to South Africa*.vol. 1. Oxford University Press, Capetown, South Africa.
182. Powell, P. P., L. K. Dixon, and R. M. Parkhouse. 1996. An IκB homolog encoded by African swine fever virus provides a novel mechanism for downregulation of proinflammatory cytokine responses in host macrophages. *J. Virol.* 70:8527–8533.
183. PAN I.C., DE BOER C.J. & HESS W.R. (1972). African swine fever: application of immuno-electro-osmophoresis for the detection of antibody. *Can. J. Comp. Med.*, 36, 309–316.
184. PAN I.C., TRAUTMAN R., HESS W.R., DE BOER C.J., TESSLER J., ORDAS A., SANCHEZ BOTIJA C., OVEJERO J. & SANCHEZ M.C. (1974). African swine fever: comparison of four serotests on porcine serums in Spain. *Am. J. Vet. Res.*, 35, 787–790.
185. PASTOR M.J., ARIAS M. & ESCRIBANO J.M. (1990). Comparison of two antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay to detect African swine fever antibody. *Am. J. Vet. Res.*, 51, 1540–1543.
186. Powell, P. P., L. K. Dixon, and R. M. E. Parkhouse. 1996. An IB homolog encoded by African swine fever virus provides a novel mechanism for downregulation of proinflammatory cytokine responses in host macrophages. *J. Virol.* 70:8527–8533.

187. PASTOR M.J., LAVIADA M.D., SANCHEZ VIZCAINO J.M. & ESCRIBANO J.M. (1989). Detection of African swine fever virus antibodies by immunoblotting assay. *Can. J. Vet. Res.*, 53, 105–107.
188. PHOLOGANE S.B., BASTOS A.D. & PENRITH M.L. (2005). Intra- and intergenotypic size variation in the central variable region of the 9RL open reading frame of diverse African swine fever viruses. *Virus Genes.*, 31 (3), 357–360.
189. Plowright, W., Parker, J., Pierce, M.A., 1969. African swine fever virus in ticks (*Ornithodoros moubata*, Murray) collected from animal burrows in Tanzania. *Nature (London)* 221, 1071–1073.
190. Polatnick J, Pan IC, Gravell M (1974) Protein kinase activity in African swine fever virus. *Arch Gesamte Virusforsch* 44:156-159.
191. Rabin, E. M., K. Gordon, M. H. Knoppers, M. A. Luther, E. A. Neidhardt, J. F. Flynn, C. A. Sardonini, T. M. Sampo, M. F. Concino, M. A. Recny, E. L. Reinherz, and D. S. Dwyer. 1993. Inhibition of T cell activation and adhesion functions by soluble CD2 protein. *Cell Immunol.* 149:24–38.
192. Roberts PC, Lu Z, Kutish GF, Rock DL (1993) Three adjacent genes of African swine fever virus with similarity to essential poxovirus genes. *Arch Virol* 132: 331-342.
193. Rodríguez, J. M., R. J. Yañez, F. Almaza'n, E. Vinuela, and J. F. Rodríguez. 1993. African swine fever virus encodes a CD2 homolog responsible for the adhesion of erythrocytes to infected cells. *J. Virol.* 67:5312–5320.
194. Ruiz-Gonzalvo, F., and J. M. Coll. 1993. Characterization of a soluble hemagglutinin induced in African swine fever virus-infected cells. *Virology* 196: 769–777.
195. Ruiz-Gonzalvo, F., F. Rodríguez, and J. M. Escribano. 1996. Functional and immunological properties of the baculovirus-expressed hemagglutinin of African swine fever virus. *Virology* 218:285–289.
196. Ruiz-Gonzalvo, F., Carnero, M.E., Bruyel, V., 1981. Immunological responses of pigs to partially attenuated ASF and their resistance to virulent homologous and

- heterologous viruses. In: Wilkinson, P.J. (Ed.), *FAO/CEC Expert Consultation in ASF Research*, pp. 206–216. Rome, Italy.
197. Ruiz-Gonzalvo, F., Caballero, C., Martinez, J., Carnero, M.E., 1986a. Neutralization of African swine fever virus by sera from African swine fever-resistant pigs. *Am. J. Vet. Res.* 47 (8), 1858–1862.
  198. Ruiz-Gonzalvo, F., Carnero, M.E., Caballero, C., Martinez, J., 1986b. Inhibition of African swine fever infection in the presence of immune sera in vivo and in vitro. *Am. J. Vet. Res.* 47 (6), 1249–1252.
  199. Ren, B., Duan, X., and Ding, H. (2009) *J. Biol. Chem.* 284, 4829–4835
  200. Redrejo-Rodríguez, M., R. García-Escudero, R. J. Yáñez-Muñoz, M. L. Salas, and J. Salas. 2006. African swine fever virus protein pE296R is a DNA repair apurinic/aprimidinic endonuclease required for virus growth in swine macrophages. *J. Virol.* 80:4847-4857.
  201. Rodríguez, F., V. Ley, P. Gómez-Puertas, R. García, J. F. Rodríguez, and J. M. Escribano. 1996. The structural protein p54 is essential for African swine fever virus viability. *Virus Res.* 40:161-167.
  202. Rodríguez, J. M., F. Almazán, E. Viñuela, and J. F. Rodríguez. 1992. Genetic manipulation of African swine fever virus: construction of recombinant viruses expressing the beta-galactosidase gene. *Virology* 188:67-76.
  203. Rodríguez, J. M., R. García-Escudero, M. L. Salas, and G. Andrés. 2004. African swine fever virus structural protein p54 is essential for the recruitment of envelope precursors to assembly sites. *J. Virol.* 78:4299-4313.
  204. Roger F, Ratovonjato J, Vola P, Uilenberg G. *Ornithodorosporcinus* ticks, bushpigs, and African swine fever in Madagascar. *ExpApplAcarol.* 2001;25:263–9
  205. Rouiller, I., S. M. Brookes, A. D. Hyatt, M. Windsor, and T. Wileman. 1998. African swine fever virus is wrapped by the endoplasmic reticulum. *J. Virol.* 72:2373-2387.

206. Rodriguez, F., C. Alcaraz, A. Eiras, R. J. Ya'n~ez, J. M. Rodriguez, C. Alonso, J. F. Rodriguez, and J. M. Escribano. 1994. Characterization and molecular basis of heterogeneity of the African swine fever virus envelope protein p54. *J. Virol.* 68:7244–7252.
207. Rojo, G., M. Chamorro, M. L. Salas, E. Vinuela, J. M. Cuezva, and J. Salas. 1998. Migration of mitochondria to viral assembly sites in African swine fever virus-infected cells. *J. Virol.* 72:7583–7588.
208. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method. A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 1987;4:406–25.
209. Santare'n, J. F., and E. Vin~uela. 1986. African swine fever virus-induced polypeptides in Vero cells. *Virus Res.* 5:391–405.
210. Sogo, J. M., J. M. Almendral, A. Talavera, and E. Vin~uela. 1984. Terminal and internal inverted repetitions in African swine fever virus DNA. *Virology* 133:271–275.
211. Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 5463– 5467.
212. Santurde G, Ruiz Gonzalvo F, Carnero ME, Tabares E (1988) Genetic stability of African swine fever virus grown in monkey kidney cells. Brief report. *Arch Virol* 98:117-122
213. Sun H, Jenson J, Dizon LK, Parkhouse ME (1996) Characterization of the African swine fever virus protein j18L. *J Gen Virol* 77:941-946
214. Schlafer, D.H., Mebus, C.A., McVicar, J.W., 1984a. African swine fever convalescent sow: subsequent pregnancy and the effect of colostral antibody on challenge inoculation of their pigs. *Am. J. Vet. Res.* 45, 1361– 1366.
215. Salas, M. L. 1999. African swine fever virus, p. 30-38. *In* R. G. Webster and A. Granoff (ed.), *Encyclopedia of virology*, 2nd ed. Academic Press, London, United Kingdom.

216. Sanz, A., B. García-Barreno, M. L. Nogal, E. Viñuela, and L. Enjuanes. 1985. Monoclonal antibodies specific for African swine fever virus proteins. *J. Virol.* 54:199-206.
217. Senkevich, T. G., S. Ojeda, A. Townsley, G. E. Nelson, and B. Moss. 2005. Poxvirus multiprotein entry-fusion complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:18572-18577.
218. Senkevich, T. G., C. L. White, E. V. Koonin, and B. Moss. 2002. Complete pathway for protein disulfide bond formation encoded by poxviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:6667-6672.
219. Simón-Mateo, C., G. Andrés, F. Almazán, and E. Viñuela. 1997. Proteolytic processing in African swine fever virus: evidence for a new structural polyprotein, pp62. *J. Virol.* 71:5799-5804.
220. Simón-Mateo, C., G. Andrés, and E. Viñuela. 1993. Polyprotein processing in African swine fever virus: a novel gene expression strategy for a DNA virus. *EMBO J.* 12:2977-2987.
221. SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., and MANIATIS, T. (1989). 'Molecular Cloning: A Laboratory Manual,' 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
222. SANCHEZ BOTIJA C., ORDAS A. & GONZALES J.G. (1970). La inmunofluorescencia indirecta aplicada a la investigación de anticuerpos de la peste porcina africana. Su valor para el diagnóstico. (Indirect immunofluorescence for the investigation of African swine fever antibodies. Its value for diagnosis). *Rev. Patron. Biol. Anim.*, 14, 159–180.
223. SANCHEZ VIZCAINO J.M. (1987). African swine fever diagnosis. *In: African Swine Fever*, Becker Y., ed. Martinus Nijhoff, Boston, USA, 63–71.
224. SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2006). African swine fever. *In: Diseases of Swine*, Ninth Edition, Straw B., D'Allaire S., Mengeling W., Taylor D., eds. Iowa State University, USA, pp. 291–298.

225. SANCHEZ VIZCAINO J.M., CROWTHER J.R. & WARDLEY R.C. (1983). A collaborative study on the use of the ELISA in the diagnosis of African swine fever. *In: African Swine Fever. (CEC/FAO Research Seminar, Sardinia, Sept. 1981). Wilkinson P.J., ed. Commission of the European Communities Publication EUR 8466 EN, 297–325.*
226. Simpson, V. R., and N. Drager. 1979. African swine fever antibody detection in warthogs. *Vet. Rec.* 105:61.
227. Shuker, S. B., Hajduk, P. J., Meadows, R. P., and Fesik, S. W. (1996) *Science* 274, 1531–1534
228. Sharma, D., and Rajarathnam, K. (2000) *J. Biomol. NMR* 18, 165–171
229. Showalter, A. K., Byeon, I. J., Su, M. I., and Tsai, M. D. (2001) *Nat. Struct. Biol.* 8, 942–946
230. Showalter, A. K., and Tsai, M. D. (2001) *J. Am. Chem. Soc.* 123, 1776–1777
231. Smith, S. A., and G. J. Kotwal. 2002. Immune response to poxvirus infections in various animals. *Crit. Rev. Microbiol.* 28:149–185.
232. Sumption KJ, Hutchings GH, Wilkinson PJ, Dixon LK, (1990) Variable regions on the genome of Malawi isolates of African swine fever virus. *J Gen Virol* 71:2331-2340
233. Sussman MD, Lu Z, Kutish GF, Afonso CL, Roberts P, Rock DL (1992) identification of an African swine fever virus gene with similarity to a myeloid differentiation primary response gene and a neurovirulence-associated gene of herpes simplex virus. *J Virol* 66:5586-5589
234. Thomson, G. R. 1985. The epidemiology of African swine fever: the role of free-living hosts in Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 52:201–209.
235. Tulman, E. R., and D. L. Rock. 2001. Novel virulence and host range genes of African swine fever virus. *Curr. Opin. Microbiol.* 4:456–461.
236. Thomson, G. R., M. D. Gainaru, and A. F. Van Dellen. 1980. Experimental infection of warthog (*Phacochoerus aethiopicus*) with African swine fever virus. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 47:19–22.

237. Thomson, G. R., M. Gainaru, A. Lewis, H. Biggs, E. Nevill, M. Van DerPypekamp, L. Gerbes, J. Esterhuysen, R. Bengis, D. Bezuidenhout, and J. Condy. 1983. The relationship between ASFV, the warthog and *Ornithodoros* species in southern Africa, p. 85–100. *In* P. J. Wilkinson (ed.), ASF, EUR 8466 EN, proceedings of CEC/FAO Research Seminar, Sardinia, Italy, September 1981. Commission of the European Communities, Luxemburg, Belgium.
238. Tsai, Y. C., and Johnson, K. A. (2006) *Biochemistry* 45, 9675–9687
239. Tabare's, E. 1987. Characterization of African swine fever virus proteins, p.51–61. *In* Y. Becker (ed.), African swine fever. MartinusNijhoff, Boston, Mass.
240. Takezaki, N., A. Rzhetsky, and M. Nei. 1995. Phylogenetic test of the molecular clock and linearized trees. *Mol. Biol. Evol.* 12:823–833.
241. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *MolBiolEvol.* 2007;24:1596–9. PubMedDOI
242. Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22:4673–4680.
243. VIIQUELA, E. (1987). Molecular biology of African swine fever virus. *In* “African Swine Fever” (Y. Becker, Ed.), pp 31-49. Nijoff. Boston.
244. VINUELA E. (1985). African swine fever. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 116, 151–170.
245. Vigario, J. D., A. M. Terrinha, and J. F. Moura Nunes. 1974. Antigenic relationships among strains of African swine fever virus. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 45:272–277.
246. Vallee, I., S. W. Tait, and P. P. Powell. 2001. African swine fever virus infection of porcine aortic endothelial cells leads to inhibition of inflammatory responses, activation of the thrombotic state, and apoptosis. *J. Virol.* 75:10372–10382.



247. Valdeira, M. L., and A. Geraldes. 1985. Morphological study on the entry of African swine fever virus into cells. *Biol. Cell* 55:35-40.
248. Valdeira, M. L., C. Bernardes, B. Cruz, and A. Geraldes. 1998. Entry of African swine fever virus into Vero cells and uncoating. *Vet. Microbiol.*60:131-249.
249. ვეფხვაძე ნ.გ. „საქართველოში რეგისტრირებული ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვირულენტობის განსაზღვრა.“ საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის შრომათა კრებული ტომი № (55) 131-135, 2011.
250. ვეფხვაძე ნ.გ. „2007 წელს საქართველოში დაფიქსირებული ღორის აფრიკული ცხელების იზოლატების ვირუსულ-მოლეკულური დახასიათება“. საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის შრომათა კრებული ტომი № (54) 126-132, 2011.
251. ვეფხვაძე ნ.გ. „ღორის აფრიკული ცხელების ვირუსის ვიზუალიზაცია ჰემადსორბციის რეაქციით“ საქართველოს სასოფლო-სამეურნეო აკადემიის, ჟურნალი „მოამბე“ ტომი 29, ივლისი 2011.
252. Vydelingum S, Baylis SA, Bristow C, Smith GL, Dixon LK, (1993) Duplicated genes within the variable right end of the genome of a pathogenic isolate of African swine fever virus. *J Gen Virol* 74:2125-2130
253. Whittall, J. T., and R. M. Parkhouse. 1997. Changes in swine macrophage phenotype after infection with African swine fever virus: cytokine production and responsiveness to interferon-gamma and lipopolysaccharide. *Immunology* 91:444–449.
254. Wardley, R. C. 1982. Effect of African swine fever on lymphocyte mitogenesis. *Immunology* 46:215–220.
255. Wambura PN, Masambu J, Msami H (2006) Molecular diagnosis and epidemiology of African swine fever outbreaks in Tanzania. *Vet Res Commun* 30:667-672
256. Wilson, S. H. (1998) *Mutat. Res.* 407, 203–215
257. In P. J. Wilkinson (ed.), ASF, EUR 8466 EN, proceedings of CEC/FAO

- Research Seminar, Sardinia, Italy, September 1981. Commission of the European Communities, Luxemburg, Belgium.
258. Wilkinson, P. J. 1989. African swine fever virus, p. 17–35. *In* M. B. Pensaert (ed.), *Virus infections of porcines*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands
259. Wardley, R. C., S. G. Norley, C. V. Martins, and M. J. Lawman. 1987. The host response to African swine fever virus. *Prog. Med. Virol.* 34:180–192.
260. Wesley, R. D., and I. C. Pan. 1982. African swine fever DNA: restriction endonuclease cleavage patterns of wild-type, Vero cell-adapted and plaquepurified virus. *J. Gen. Virol.* 63:383–391.
261. Wilkinson, P. J. (2000) *in Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (Van Regenmortel, M. H. V., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., Carsten, E. B., Estes, M. K., Lemon, S. M., Maniloff, J., Mayo, M. A., McGeoch, D. J., Pringle, C. R., Wickner, R. B., International Committee on Taxonomy of Viruses, and International Union of Microbiological Societies, Virology Division, eds) 1st Ed., pp. 159–165, Academic Press, San Diego
262. Walowsky, C., Fitzhugh, D. J., Castañõ, I. B., Ju, J. Y., Levin, N. A., and Christman, M. F. (1999) *J. Biol. Chem.* 274, 7302–7308
263. WARDLEY R.C., ABU ELZEIN E.M.E., CROWTHER J.R. & WILKINSON P.J. (1979). A solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of African swine fever antigen and antibody. *J. Hyg.*, 83, 363–369.
264. Wishart, D. S., and Sykes, B. D. (1994) *J. Biomol. NMR* 4, 171–180
265. WILKINSON, P. J. (1989). African swine fever. *In* "Virus Infections of Porcines" (M. B. Pensaert, Ed.), pp 17-35. Elsevier Science, Amsterdam
266. Webb JH, Mayer RJ, Dixon LK, (1999) A lipid modified ubiquitin is packaged into particles of several enveloped viruses. *FEBS Lett* 444:136-139
267. Yamazaki, T., Lee, W., Arrowsmith, C. H., Muhandiram, D. R., and Kay, L. E. (1994) *J. Am. Chem. Soc.* 116, 11655–11666

268. Yáñez, R. J., J. M. Rodríguez, M. L. Nogal, L. Yuste, C. Enriquez, J. F. Rodríguez, and E. Viñuela. 1995. Analysis of the complete nucleotide sequence of African swine fever virus. *Virology* 208:249-278.
269. Yozawa, T., G. F. Kutish, C. L. Afonso, Z. Lu, and D. L. Rock. 1994. Two novel multigene families, 530 and 300, in the terminal variable regions of African swine fever virus genome. *Virology* 202:997–1002.
270. Zsak, L., Z. Lu, G. F. Kutish, J. G. Neilan, and D. L. Rock. 1996. An African swine fever virus virulence-associated gene *NL-S* with similarity to the herpes simplex virus *ICP34.5* gene. *J. Virol.* 70:8865–8871.
271. Zsak, L., E. Caler, Z. Lu, G. F. Kutish, J. G. Neilan, and D. L. Rock. 1998. A nonessential African swine fever virus gene *UK* is a significant virulence determinant in domestic swine. *J. Virol.* 72:1028–1035
272. ZSAK L., BORCA M.V., RISATTI G.R., ZSAK A., FRENCH R.A., LU Z., KUTISH G.F., NEILAN J.G., CALLAHAN J.D., NELSON W.M. & ROCK D.L. (1995). Preclinical diagnosis of African swine fever in contact-exposed swine by areal-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.*, 43 (1), 112–119.
273. Zsak, L., Z. Lu, T. G. Burrage, J. G. Neilan, G. F. Kutish, D. M. Moore, and D. L. Rock. 2001. African swine fever virus multigene family 360 and 530 genes are novel macrophage host range determinants. *J. Virol.* 75:3066–3076.
274. Zsak, L., Onisk, D.V., Afonso, C.L., Rock, D.L., 1993. Virulent African swine fever virus isolates are neutralized by swine immune serum and by monoclonal antibodies recognizing a 72-kDa viral protein. *Virology* 196 (2), 596– 602.
275. Zsak et al., 2005 L. Zsak, M.V. Borca, G.R. Risatti, A. Zsak, R.A. French, Z. Lu, G.F. Kutish, J.G. Neilan, J.D. Callahan, W.M. Nelson and D.L. Rock, Preclinical diagnosis of African swine fever in contact-exposed swine by a real-time PCR assay, *J. Clin. Microbiol.* 43 (2005), pp. 112–119

### აბრევიატურის გამმარტებები:

ASF --African Swine Fever-ლორის აფრიკული ცხელება

ASFV—African Swine Fever Virus- ლორის აფრიკული ცხელების ვირუსი

Bp—base pair--წყვილი ფუძე

CO<sub>2</sub>-Carbon Dioxide–კარბოქსიდ დიოქსიდი

CSF—Classical Swine Fever- ლორის კლასიკური ცხელება

CVR-Central Variable Region- ცენტრალური ვარიაბელური რეგიონი

DR—direct repeat– პირდაპირი განმეორებები

D<sub>s</sub>DNA—Double stranded DNA- ორმაგ ჯაჭვიანი დნმ-ი

ELISA—Enzyme linked immunosorbent Assay-ენზიმთან დაკავშირებული იმუნოსორბენტის ანალიზი.

EDTA—ეთილენდიამინტეტრამუავა

FAO—Food and agriculture organization--კვების და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაცია

MGF—Multigene family- მულტიგენი ოჯახი

OIE—Office international of Epizootis-მსოფლიო საერთაშორისო ეპიზოოტიური ბიურო

ORF—Open Reading Frame – ღია წაკითხული ჩარჩო

PBS—Phosphate buffered saline-ფოსფატ ბუფერული ხსნარი

PCR—Polymerase chain reaction- პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია

PFU/mg-s—Plaque Forming Frame-დაფა ფორმირების ერთეული-საზომი, რომელიც განსაზღვრავს და მიუთითებს რამდენი ვირუსის ნაწილაკია საჭირო დაავადებისას ერთ უჯრედში.

HAD—Hemadsorption- ჰემადსორბცია

Rpm—Rotations per minute-ბრუნვათა წუთი

TIR—Terminal inverted repetition- ტერმინალური ინვერტირებული განმეორებები

VR—variabel region- ვარიაბელური რეგიონი

GEO—Georgia-საქართველო

TCID--tissue culture infectious dose- ქსოვილოვანი კულტურის დაინფიცირების დოზა

RPMI--Roswell Park Memorial Institute medium, commonly referred to as RPMI, is a form of medium used in cell culture and tissue culture- მედიუმი უჯრედული და ქსოვილოვანი კულტურებისთვის

DPI --Days Post-Infection-პოსტინფექციის შემდეგი დღე

DMEM-Modified eagle medium-მოდულირებული იგლის მედია

SDS-PAGE—Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis- ელექტროფორეზი ნატრიუმ დოდეცილსულფატის პოლიაკრილამიდის გელში, რომელიც გამოიყენება მოლეკულურ ბიოლოგიაში პროტეინების განცალკავებისთვის.

MAB-Monoclonal antibodies-სპეციფიური მონოკლონური ანტისხეულები

DNA Molecular Weight Markers 1 kb Ladder-მოლეკულური წონის მარკერი 1კილო ფუძე.

LVR-Left Variabel Region-მარცხენა ვარიაბელური რეგიონი

RVR- Right Variabel region-მარჯვენა ვარიაბელური რეგიონი

PCV2-ციტოკოვირუსები

ცპმ--ციტო პათოლოგიური მოქმედება

PRRS- ღორის რეპროდუქციული და რესპირატორული სინდრომი.

TAE buffer solution -pH 8.0 Tris base(hydroxymethyl)aminomethane, acetic acid and

EDTA –ბუფერული სითხე