

**ზოონოზური პათოგენები და მათი მოლეკულურ ეპიდემიოლოგიური  
დახასიათება საქართველოს ხელფრთიანებში**

**ლელა ურუშაძე**

*სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის  
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტზე, სიცოცხლის  
შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის ხარისხის მინიჭების მოთხოვნის შესაბამისად*

საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტის, სიცოცხლის,  
შემსწავლელ მეცნიერებათა სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი  
რევაზ სოლომონია

**ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი**

**თბილისი, 2018**

## ***Abstract***

The most infectious diseases in the world are caused by zoonotic pathogens. Such as; Rabies, Tularemia, Yersinia, Brucellosis and etc. They represent a huge problem for Georgia as well.

Main reservoirs for these pathogens are Bats. In the last decades some of the largest outbreaks have implicated bat-associated viruses, such as; Ebola outbreak and pandemic caused by Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV). It is an accepted view that Rabies in Europe and USA are transmitted by bats. Till present no data were available about the zoonotic pathogens in bats in Georgia. Therefore we have decided to study Georgian bats on the presence of some significant zoonosis, particularly; Lyssa virus, Corona, Bartonella, Leptospira, Yersinia and Brucella.

One of the main objectives of our research was, to define the role of bats in maintaining these agents in nature, with the aid of phylogenetic and epidemiological analysis.

In total we have captured 450 bats using nets and hand nets from eight different roosts.

The experimental material was collected twice in 2012 and 2014. They were transported in field laboratory or BSL 3 Laboratory for further processing and research for presence of above-mentioned pathogens.

DFA Direct Fluorescent Antibody assay was used for the detection of Lyssavirus.

Bartonella detection assay consisted of two steps: 1. Bacteria was isolated from the corresponding culture and 2. conventional PCR reaction was performed with target gene primers, followed by further sequencing and phylogenetic analysis.

For Leptospira, Brucella and Yersinia we used sufficient target genes and positive samples by PCR where further analyzed by Sanger sequencing.

Coronaviruses were tested by one-step pan-coronavirus assay, positive samples were analyzed by sequencing and according to the phylogenetic tree analyses, phylogenetic relationship

among sequences from Georgian bats and already known Coronaviruses strains were estimated..

Our research, is the first complex study of multiple pathogens in Georgian bats. Using molecular approaches, sequencing and Phylogenetic analysis we convincingly confirmed the presence of Lyssa, Corona Viruses, Leptospira and Bartonella in Georgian bats. First time in the world we demonstrated the existence *Brucella* DNA in bats.

We are discussing factors which make bats so unique - their physiology and immunity as well.

On the basis of the obtained data three publications were published in international, peer-reviewed journals.

**Key words :** Zoonotic pathogens, bats, viruses, bacterial pathogens

#### 1.4. მადლობა



- დკსჯეც - ლ. საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, პროფესორი გურამ კაციტაძე, პროფესორ პაატა იმნაძე, პროფესორი ამირან გამყრელიძე



-ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი, პროფესორი რევაზ სოლომონია, იოსებ ნატრაძე



- ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრი, ფორტ კოლინსი

დოქტორი მიხაილ კოსოი, დოქტორი იან ბაი, ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისა და გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის



-ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრი, ატლანტა დოქტორი ივან კუზმინი, ანდრეს ველასკო ვილა, რებეკა ტილერი ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისათვის.



M H T II- ISTC საერთაშორისო სამეცნიერო ტექნოლოგიების ცენტრს

გაწეული მატერილური დახმარებისათვის



- DTRA საფრთხის შემცირების სააგენტოს გაწეული მატერილური დახმარებისათვის

--	--	--	--	--	--	--	--

**ცხრილი 9. ბართონელას ინფექციის პრევალანტობა ღამურის სახეობებში, კოინფექციები, ლოკაციების მიხედვით, სქესის მიხედვით**

## 5. დისკუსია

ჩვენი კვლევის საფუძველზე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ ღამურები საქართველოში არიან ისეთი ბაქტერიული და ვირუსული პათოგენის მტარებლები, როგორცაა: ბართონელა, კორონავირუსი, ლეპტოსპირა და ბრუცელა, რომელთაც სავარაუდოდ გააჩნიათ პანდემიური პოტენციალი. აქედან გამომდინარე, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ღამურები თამაშობენ გარკვეულ როლს პათოგენური აგენტების შენარჩუნებისთვის ბუნებაში.

ღამურების უნიკალურობა და მათი სოციალური ქცევები ისეთი როგორცაა: დიდ მანძილზე მიგრაციის უნარი, ატარონ რამდენიმე პათოგენი ერთდროულად და თვითონ არ დაინფიცირდნენ, იცხოვრონ ჯგუფურად ჰიბერნაციის პერიოდში მჭიდროდ მიკრული სხეულებით, როდესაც ხდება პათოგენების აქტიური გაცვლა როგორც ექტოპარაზიტების საშუალებით, ასევე ინჰალაციურად, შეიძლება იყოს იმის მიზეზი, რომ აღმოჩენილი პათოგენები ასეთი მაღალი პრევალენტობით იქნა ნაპოვნი საქართველოს ხელფრთიანებში.

ფილოგენეტიკური ხის ანალიზმა ცხადჰყო, რომ საქართველოში აღმოჩენილია როგორც ალფა ისე ბეტა ჯგუფის კორონავირუსები. საქართველოში, ისევე როგორც ევროპასა და აზიაში, მხოლოდ *M. Schreibersii* ში აღმოჩნდა CoV მხოლოდ ერთ გენის-ალფა კორონავირუსის მტარებელი (Tamura K, et al. 1989)

ალფა და ბეტა კორონავირუსები ერთად აღმოჩენილი იქნა *Myotis emarginatus*-ში (აღმოსავლეთ საქართველო, დავით გარეჯი, თეთრი სენაკები), *Rhinolophus ferrequinum*-ში, (სამხრეთ საქართველო გარდაბანის ალკვეთილი), *Rhinolophus euryale*-სა და *Myotis blythii*-ში (წყალტუბოს ღლიანას მღვიმე). ნიშანდობლივია, რომ 100 კილომეტრით ერთმანეთისგან დაშორებული თაროკლდეს და მარტვილის მღვიმეებში აღებულ რამდენიმე *Rhinolophus euryale*-ს ნიმუშშიც აღმოჩნდა ალფა და ბეტა კორონავირუსების თანხვედრა.

ფილოგენეტიკური ხის ანალიზით საყურადღებოა წყალტუბოს ღლიანას მღვიმეში, სამი სხვადასხვა ხელფრთიანის ნიმუშებიდან სექვენირების შედეგად მიღებული ბეტა კორონავირუსები, რომლებიც ძალიან ახლოს დგანან საუდის არაბეთის ადამიანის ლეტალური ინფექციის შემთხვევიდან გამოყოფილ MERS ბეტაკორონავირუსთან, ასევე მსგავსია საუდის არაბეთის, დუბაი ერთკუჩიანი აქლემიდან გამოყოფილ CoV სექვენსთან და შემდეგი დამურებიდან გამოყოფილ კორონავირუსებთან *Eptesicus isabellinus* ესპანეთი *Nyctalus noctula* და *Eptesicus serotinus* იტალია და *Vespertilio superans* ჩინეთი (Falcón A, et al. 2011, Tang XC, et al. 2006, Lelli D, et al. 2013)

წყალტუბოს მღვიმეები *Rhinolophus euryale* დან, გარდაბანის ალკვეთილი *Myotis emarginatus* დან და ხჩოროწყუს ლეწურწუმეს მღვიმე *Myotis blythii*, *Rhinolophus ferrumequinum*-დან მიღებული ბეტაკორონავირუსები, კლასტერულად დაჯგუფდნენ ბულგარეთიდან და იტალიიდან მიღებულ *Rhinolophus euryale*, *Rhinolophus ferrumequinum* and *Rhinolophus blasii* დამურებიდან გამოყოფილ ბეტაკორონავირუსებთან (Lelli D, et al. 2013)

ანალიზის შედეგად გამოვლინდა ჭიათურის თაროკლდეში დაჭერილი, *Rhinolophus euryale* დან მიღებული ორი ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა, რომლებიც ახლოს დგანან როგორც ბულგარეთიდან *Rhinolophus ferrumequinum* და *Rhinolophus blasii* დან გამოყოფილ კორონავირუსთან, ასევე პანდემიურ SARS ალფა კორონავირუსთან, ამ უკანასკნელის მიერ გამოწვეული დაავადებების შემთხვევები ფატალურად დასრულდა ამსტერდამში, ჩინეთში და ფლორიდასა და კოლორადოს შტატებში (Dominguez SR, et al. 2012). აღსანიშნავია ისიც, რომ ზემოთ აღნიშნული

ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა მსგავსი აღმოჩნდა SARS ის მსგავს ალფაკორონავირუსთან, რომელიც ცირკულირებს *Rhinolophus*, *Rousettus* and *Myotis* დამურებში ჩინეთში და *Miniopterus*ში ტაილანდში.

ლეპტოსპირას გამომწვევები მნიშვნელოვანი პრევალენტობით აღმოჩნდა შესწავლილ ხელფრთიანებში, ყველა ლეპტოსპირას გამომწვევი გამოვლინდა *Miniopterus schreibersii* და *Myotis blythii* სახეობებში. მოულოდნელია, რომ ლეპტოსპირა ვერ იქნა ნაპოვნი საკმაოდ ხშირად გავრცელებულ ადგილობრივ სახეობა *Myotis emarginatus* ში. ლიტერატურაზე დაყრდნობით, ბაქტერიული ინფექციის სახეობა სპეციფიური მაჩვენებლების განხილვამ გვაჩვენა, რომ *Miniopterus schreibersii* და *Myotis blythii* ბევრად უფრო მიმდებარეები არიან ლეპტოსპირას მიმართ (Fennestad and Borg-Petersen, 1972; Matthias et al. 2005; Bessa et al. 2010). განხილული სახეობების ხელფრთიანებში აღმოჩენილი მაღალი პრევალენტობა, გვადლევს იმის ვარაუდის საფუძველს, რომ მათ აქვთ გარკვეული როლი ლეპტოსპირას პათოგენურობის შესარჩუნებისთვის გარემოში (Everard et al.1983). საგულისხმოა, რომ *Myotis blythii*-ს სახეობაში აღმოჩენილი ერთ-ერთი შტამი ძალიან ახლოს დგას კარგად ცნობილ *L. Interrogans* ზოონოზურ სახეობასთან (1.4% დისტანცია), რომელიც ხშირად გვხვდება მდრღნელებში. აღნიშნული შტამი 25 დამურიდან ნაპოვნია 11 ში, მიღებული მაღალი პრევალენტობის მაჩვენებელი იძლევა იმის ვარაუდის საფუძველს, რომ *Myotis blythii* შეიძლება წარმოადგენდეს დამატებითი რეზერვუარს *L. Interrogans* ისთვის და შესაბამისად იზრდება პათოგენის ადამიანზე გადასვლის რისკი.

საინტერესოა ხელფრთიანებში ბართონელას იმ შტამების აღმოჩენა რომელიც მსგავსია ადრე ადამიანში და ძაღლებში მოცირკულირე შტამის. საზოგადოებრივი ჯანმრთელობისთვის ხელფრთიანებთან ასოცირებულ ბართონელა აქტუალური გახდა მას შემდეგ რაც ეს ბაქტერია ნახეს კენიის დამურაში ( Kosoy MY, et al. 2010). ასევე რამდენიმე საქართველოში ნაპოვნი ბართონელას სექვენსი კლასტერდება B. Mayotimonensis - თან მაგრამ, როგორც ზემოთაა აღწერილი, გენეტიკური მანძილი საკმაოდ შორია. შეიძლება ვივარაუდოთ რომ ადამიანურ შემთხვევის შტამთან უფრო ახლოს მდგომი ბართონელა ცირკულირებს უფრო ჩრდილო და სამხრეთ ამერიკის