

**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

1.2. განაცხადი

ვაცხადებ, რომ წარმოდგენილი დისერტაცია “ზოონოზური პათოგენები და მათი მოლეკულურ ეპიდემიოლოგიური დახასიათება საქართველოს ხელფრთიანებში“ ჩემი დამოუკიდებელი კვლევის შედეგია და იგი არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ლელა ურუშაძე

თარიღი 23.04.18

1.3. აბსტრაქტი

მსოფლიოში ინფექციური დაავადებების დიდი ნაწილის გამომწვევებს წარმოადგენენ ზოონოზური პათოგენები. მათ მიერ გამოწვეული დაავადებები, როგორცაა, ცოფი, ტულარემია, შავი ჭირი, ბრუცელოზი და სხვა მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენენ საქართველოსთვისაც.

ცნობილია რომ, ხელფრთიანები ამ გამომწვევების ერთერთი, ძირითადი რეზერვუარები არიან ბუნებაში. ბოლო ათწლეულების მანძილზე რამდენიმე სერიოზული ეპიდემიოლოგიური აფეთქება ხელფრთიანებთან ასოცირებულ ვირუსებთანაა დაკავშირებული, მაგალითად: ებოლას ეპიდ აფეთქება, (Meadle east respiratory sindrom), MERS CoV ით გამოწვეული ეპიდემია, ასევე ცოფის გადაცემის ერთერთ გზად ამერიკასა და ევროპაში ღამურები განიხილება.

აქედან გამომდინარე ჩვენ გადავწყვიტეთ საქართველოს ხელფრთიანები შეგვესწავლა ისეთი საყურადღებო ზოონოზური პათოგენების არსებობაზე როგორცაა ლისა და კორონა ვირუსები, ბართონელა, ლეპტოსპირა, იერსინიები და ბრუცელები.

სამეცნიერო ნაშრომის ერთერთ მიზანს ასევე წარმოადგენდა, ამ გამომწვევების ფილოგენეტიკური და ეპიდემიოლოგიური ანალიზი, რათა განსაზღვრულიყო ხელფრთიანების შესაძლო როლი ბუნებაში პათოგენის გავრცელებაზე.

ამ კვლევის ფარგლებში, ზოოლოგების რეკომენდაციის გათვალისწინებით 2012 და 2014 წლის ზაფხულში, ხელბადით და გასაკრავი ბადის საშუალებით, მოხდა 8 სხვადასხვა წერტილიდან 450 ღამურის შეგროვება. შემდგომში საველე და BSL3 (ბიოუსაფრთხოების მე-3 დონის) ლაბორატორიაში მათი დამუშავება და შესწავლა ზემოთ ჩამოთვლილ პათოგენებზე.

კერძოდ; ლისავირუსის კვლევა მოხდა DFA (Direct Florescent Atibody Test) მეთოდით

ბართონელაძის გამოიყო კულტურა და შემდგომში გაკეთდა პოლიმერაზულ ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ), სპეციფიკური სამიზნე გენების პრაიმერებით, ასევე მოხდა ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრა და ფილოგენეტიკური ანალიზი.

ლეპტოსპირას, იერსინიას და ბრუცელას კვლევისთვის გამოყენებული იყო, შესაბამისი სამიზნე გენები, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მიხედვით დადებითი ნიმუშებში განხორციელდა ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრა, სანგერ სექვენსის მეთოდის გამოყენებით.

კორონავირუსის გამოკვლევა მოხდა, პანკორონავირუსის ერთსაფეხურიანი პჯრ რეაქციით, მიღებული დადებითი ნიმუშები შემდგომში გაანალიზდა მოლეკულური ფილოგენეტიკური მეთოდების გამოყენებით. ფილოგენეტიკური ხის საფუძველზე დადგინდა ღამურიდან გამოყოფილი პათოგენების ეპიდემიოლოგიური კავშირები სხვა ცნობილ შტამებთან.

ამ კვლევის ფარგლებში, პირველად მოხდა საქართველოს ხელფრთიანების შესწავლა სხვადასხვა პათოგენების არსებობაზე. სექვენირების და ფილოგენეტიკური ანალიზის საშუალებით ლაბორატორიულად დადასტურდა ამ ძუძუმწოვრებში კორონა ვირუსის, ლეპტოსპირის და ბართონელის არსებობა და ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარე, მსოფლიოში პირველად გაკეთდა განცხადება ხელფრთიანებში ბრუცელას პათოგენის არსებობის შესახებ.

ნაშრომში ასევე მიმოხილულია ხელფრთიანთა უნიკალური ფიზიოლოგია და იმუნიტეტი, წარმოდგენილია ის მოლეკულურ ეპიდემიოლოგიური მეთოდები რომლითაც მოხდა ხელფრთიანების შეგროვება, თითოეული პათოგენის გამოკვლევა, კვლევის შედეგები, შედეგების განხილვა და დასკვნები

კვლევაზე დაყრდნობით გამოქვეყნდა 3 პუბლიკაცია საერთაშორისო ჟურნალებში.

ძირითადი საძიებო სიტყვები: ზოონოზური პათოგენები, ხელფრთიანები, ვირუსული და ბაქტერიული პათოგენები.

Abstract

The most infectious diseases in the world are caused by zoonotic pathogens. Such are; 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 those agents in nature, with the aid of the 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 was 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 კუმინი, ანდრეს ველასკო ვილა, რებეკა ტილერი

ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისათვის.

I S T C



M H T II- ISTC საერთაშორისო სამეცნიერო ტექნოლოგიების ცენტრს

გაწეული მატერილური დახმარებისათვის



- DTRA საფრთხის შემცირების სააგენტოს გაწეული მატერილური დახმარებისათვის

1.5. სარჩევი

1.2. განაცხადი.....	2
1.3. აბსტრაქტი.....	3
Abstract	Error! Bookmark not defined.
1.4. მადლობა	7
1.5. სარჩევი	9
1.6. სურათების ჩამონათვალი	11
1.7. ცხრილების ჩამონათვალი	11
1.8. დიაგრამების ჩამონათვალი.....	12
1.9. შემოკლებების ჩამონათვალი	12
2. ძირითადი ნაწილი	14
2.1. შესავალი.....	14
2.2. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	15
2.2.1. ლისავირუსი	15
.....	17
2.2.2. ბართონელა.....	18
2.2.3. ბრუცელოზი	19
2.2.4. ლეპტოსპირა.....	20
2.2.5. იერსინია.....	21
2.2.6. კორნავირუსი.....	22
2.2.7. ჰანტავირუსი	23
2.3. ხელფრთიანთა უნიკალურობა.....	24
3. მეთოდოლოგია	36
3.1. ხელფრთიანების პირველი შეგროვება და კვლევა საქართველოში.....	36
3.1.1. დამურის სახეობები ლოკაციის მიხედვით	44
3.2. კვლევის ლაბორატორიული მეთოდები	45
3.2.1. ლისა ვირუსი	45
3.2.2. ჰანტა ვირუსი	46
3.2.3. ბართონელას კვლევა.....	47
ა) კულტურის გამოყოფა.....	47
ბ) ბართონელას ფილოგენეტიკური ანალიზი.....	48

გ) ბართონელას რეფერენს შტამების მულტი ლოკუს ტიპირება MLST.....	49
3.2.4. მულტიბაქტერიული კვლევა ; ბართონელა, ლეპტოსპირა, ბრუცელა, იერსინია	50
ა) ბართონელას და ლეპტოსპირას სახეობების სექვენსი და ფილოგენეტიკური ანალიზი	53
3.2.5. კორონავირუსის კვლევა.....	54
ფეკალის პირველადი დამუშავება	54
ა) კორონავირუსის ფილოგენეტიკური ანალიზი	58
4. შედეგები	59
4.1. კორონავირუსის კვლევის შედეგები.....	59
4.2. ბაქტერიოლოგიური კვლევის შედეგები.....	65
4.2.1. ბაქტერიული კვლევისას გამოვლენილი შერეული კო-ინფექციები	67
4.2.2. ბაქტერიული კვლევის თანამიმდევრობის ანალიზი.....	67
4.3. საქართველოს დამურებში აღმოჩენილი ბართონელას ინფექციები	73
4.3.1. ბართონელას კოინფექციები.....	74
4.3.2. ბართონელას ფილოგენეტიკა gltA სექვენსის საფუძველზე	74
4.3.3. ბართონელას ფილოგენეტიკა მრავლობითი ლოკუსების გათვალისწინებით	80
4.3.4. ბართონელას კვლევის ზოგადი შედეგები	84
5. დისკუსია	91
6. დასკვნები.....	97
7. გამოყენებული ლიტერატურა.....	98

1.6. სურათების ჩამონათვალი

სურათი 1. წყალტუბოს მღვიმე - ხელფრთიანების ლივლივი	26
სურათი 2. Nyctalus leisleri მიგრაციული ღამურა რომელიც საქართველოშია გავრცელებული და ჩვენ კვლევაში იყო ჩართული	30
სურათი 3. ხელფრთიანების შეგროვება, გარდაბნის ალკვეთილი, მიტოვებულ სახლში	32
სურათი 4. ზოოლოგები წინასწარ არჩევენ შესაძლო ლოკაციებს სხავდასხვა სახეობების შესაგროვებლად	33
სურათი 5. GIS რუკა სადაც აღნიშნულია 2012 წელს ღამურების შესაგროვებლად შერჩეული 5 რეგიონი	37
სურათი 6. ღამურების შენახვა და ტრანსპორტირება ბამბის ნაჭრის ჩანთებით	38
სურათი 7 მღვიმეში ღამურის შეგროვება სპეციფიური აღჭურვილობით	39
სურათი 8. ხელფრთიანების დამუშავება საველე ლაბორატორიაში 2012	41
სურათი 9. საველე ლაბორატორიაში ეუთანაზია და ნაცხების აღება	41
სურათი 10. ხელფრთიანების დამუშავება და ეუთანაზია ლუგარის ლაბორატორიაში 2014 წელი	43
სურათი 11. კვლევისთვის დამზადებული ეუთანაზიის ყუთი	43
სურათი 12. ღამურების განაწილება სახეობების მიხედვით GIS რუკა	44
სურათი 13. ჰანტას კვლევაში ჩართული ქვეყნები	46
სურათი 14 კორონავირუსის პჯრ პროდუქტების	56
სურათი 15. Rhinolophus Euryale- მასში მაღალი პრევალენტობით აღმოჩნდა კორონავირუსი	62
სურათი 16. კორონავირუსის გავრცელება სახეობებისა და ლოკაციის მიხედვით GIS რუკა	65
სურათი 17. წყალტუბო, კოლონიებად მცხოვრები ხელფრთიანები	66
სურათი 18. წითლად აღნიშნულია ღამურების იზოლატების 16s ის სექვენსური თანმიმდევრობა რომელიც ემთხვევა B. suis 513 biovar 5	71

1.7. ცხრილების ჩამონათვალი

ცხრილი 1 . საქართველოში გავრცელებული ხელფრთიანების ჩამონათვალი	33
ცხრილი 2. კვლევაში ჩართული პრაიმერების ჩამონათვალი	52
ცხრილი 3. სახეობების მიხედვით კორონავირუსის პრევალენტობა საქართველოს ხელფრთიანებში	60
ცხრილი 4. კორონავირუსის პრევალენტობა ლოკაციის მიხედვით	61
ცხრილი 5. ფაგების ტიპირება	70
ცხრილი 6. ბართონელას, ბრუცელას, ლეპტოსპირას და იერსინიას პრევალენტობა ღამურებში	73
ცხრილი 7. საქართველოს ხელფრთიანებიდან გამოყოფილ ბართონელების თანმიმდევრობის ჰომოლოგიის განსაზღვრა, ცნობილ gltA თანმიმდევრობებთან	79
ცხრილი 8. MLST ით გაანალიზების შემდეგ მიღებული გენბანკის ნომერები	84

ცხრილი 9. ბართონელას ინფექციის პრევალანტობა ღამურის სახეობებში , კონინფექციები, ლოკაციების მიხედვით, სქესის მიხედვით.....91

1.8. დიაგრამების ჩამონათვალი

დიაგრამა 1. ფილოგენეტიკური ხე, კორონავირუსის განაწილება სხვა რეფერენს შტამებთან	63
დიაგრამა 2. ალფა და ბეტა კორონავირუსების ფილოგენეტიკური ხე.	64
დიაგრამა 3. საქართველოს ღამურებში ITS თანამიმდევრობაზე დაყრდნობით აღმოჩენილი ბართონელას ვარიანტების კლეიდების კავშირები	68
დიაგრამა 4. საქართველოს ხელფრთიანებში LipL 32 თანამიმდევრობაზე დაყრდნობით 5 ლეპტოსპირას ვარიანტის ფილოგენეტიკური კავშირი	69
დიაგრამა 5. Multi-locus Sequence Typing (MLST).....	72
დიაგრამა 6. 5 გენეტიკური ლოკუსის გამოყენებით (ftsZ, gltA, groEL, nuoG da rpoB). საქართველოს ხელფრთიანებში გამოყოფილ ბართონელას გენოჯგუფებს, სხვა ხელფრთიანების გენოჯგუფებსა და არსებულ, ბართონელას სახეობებს შორის ფილოგენეტიკური კავშირი, ხე გაკეთებულია Bayesian MCMC და BEAST ის გამოყენებით	81
დიაგრამა 7. ბართონელას გენოჯგუფების ფილოგენეტიკური ხე.....	82

1.9. შემოკლებების ჩამონათვალი

WCBV-(West Caucasus Bat Virus)-დასავლეთ კავკასიის ღამურის ვირუსი

CoV-(Corona virus) კორონავირუსი

SARS-(Severe Acute Respiratory Sindrom)მძიმე მწვავე რესპირატორული სინდრომი

MERS-(Meadle East Respiratory Sindrom)შუა აღმოსავლეთის რესპირატორული სინდრომი

IFN-ინტერფერონი

DFA- (Direct Florescence Assay) პირდაპირი ფლურესცენტული ანტისხეულების ტესტი

RFFIT- (Rapid Fluorescent Foci Inhibition Test)სწრაფი ფლოურესცენტული ინჰიბიციის ტესტი

პჯრ-PCR – (Polymerase Chain Reaction) პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია.

Real-Time PCR – ფლოურესცენტული ზონდებით მიმდინარე პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია რეალურ დროში.

Bp-(Base pair) – ნუკლეოტიდური წყვილი.

Kb-(kilo base) – კილობაზა - 10^3 ნუკლეოტიდი.

Mb-(Mega base) – მეგაბაზა - 10^6 ნუკლეოტიდი

ITS- (Internal transcribed spacer)-შიდა ტრანსკრიპციული უბნები

Sequencing by sanger method - სექვენირება სანგერის მეთოდით

ML Maximum Likelihood -ფილოგენეტიკური ანალიზის ერთ-ერთი ალგორითმი

JC Jukes-Cantor -ჯუკს-ქენტორის მოდელი

SNP (Single-nucleotide polymorphism) -ერთ-ნუკლეოტიდური პოლიმორფიზმი

Rdrp (RNA depended Rna Polieraze) - რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზა

CDC(Center for Disease Control , USA)-აშშ დაავადებათა კონტროლის ცენტრი

Elignmemnt-შეპირისპირება, ურთიერთსწორება

Bayesian analysis-შეცდომების სისტემური ანალიზი

Maxsmum likelihood- მაქსიმალური ალბათობა

PBS-(Phosphate-buffered saline)-ფოსფატური ბუფერი

VTM(Virus Transport Media)-ვირუსის სატრანსპორტო ნიადაგი

BSL (biosafety level) -ბიოსაფრთხოების დონე

Pla-peptidoglycan-associated lipoprotein

MLST- Multi Locus Sequence Typing -მულტი ლოკუსური შტამების ტიპირება

2. ძირითადი ნაწილი

2.1. შესავალი

გადამდები ინფექციური დაავადებების უმეტეს ნაწილს ზოონოზური პათოგენები იწვევენ, ამ დაავადებების გამომწვევების რეზერვუარს/ინფექციის წყაროს ცხოველები წარმოადგენენ (Nitin Sekar, et al. 2011). საქართველო წარმოადგენს ბუნებრივი კერას ისეთი ზოონოზური გამომწვევებისთვის როგორცაა ჯილეხი, ბრუცელოზი, ტულარემია, ცოფი, შავი ჭირი და სხვა. მათ რეზერვუარი საქართველოში ისე როგორც მთელს მსოფლიოში სხვადასხვა ხერხემლიანი ცხოველები არიან მაგ; მსხვილფეხა რქოსანი საქონელი, მღრღნელები, ძაღლი, კატა და ა.შ.

ხელფრთიანებთან ასოცირებული ზოონოზური პათოგენების მიერ; მათ შორის ებოლას, მარბურგის, ცოფის და კორონავირუსების, გამოწვეული ეპიდემიები და შემთხვევები ბოლო ათწლეულების მანძილზე უმნიშვნელოვანეს გამოწვევად ითვლება მსოფლიოსთვის.

საკითხი საბოლოოდ შესწავლილი არ არის მაგრამ, შეიძლება ითქვას რომ ხელფრთიანების რადენიმე სახეობა წარმოადგენს ერთადერთ რეზერვუარს ყველა ტიპის ლისავირუსისთვის. შესაბამისად ბოლო ათწლეულების მანძილზე ცოფის გადაცემის ყველაზე აქტიური გზად დასავლეთ ევროპასა და ამერიკაში ღამურები განიხილება. ასევე საინტერესოა ის ფაქტიც, რომ საქართველოს რუსეთის საზღვრიდან 300 კმ ში ნაპოვნია, დასავლეთ კავკასიის ღამურის ვირუსი West Caucasus Bat Lyssa Virus (WCBV) შედის ლისავირუსების იმ ჯგუფში, რომლის შტამიც არ შედის ცოფის საწინააღმდეგო ვაქცინაში (Kuzmin I, et al 2005). მოსალოდნელია რომ იგივე ვირუსი ცირკულირებდეს საქართველოში.

2005 წელს დაფიქსირებული კორონავირუსის ახალი ქვეტიპის (CoVs) რეზერვუარად, რომელიც ადამიანში "მძიმე მწვავე რესპირატორული დაავადების სინდრომს" (SARS) იწვევს, ცხვირნალა ხელფრთიანი განიხილება. ასევე 2012 წელს აღმოჩენილი შუა აღმოსავლეთის რესპირატორული სინდრომის, MERS CoV-ის გამომწვევიც ფილოგენეტიკურად ყველაზე ახლოს დგას ხელფრთიანიდან გამოყოფილ CoVs თან.

საქართველო სამხრეთ აღმოსავლეთიდან ესაზღვრება თურქეთს, რომელსაც 2014 წელს ჰქონდა MERS-CoV ის დადასტურებული შემთხვევა (Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Turkey 2014). ასევე, ირანშიც 2014-2015 წლებში დაფიქსირდა 6 შემთხვევა. მართალია ჩვენ ირანთან საზღვარი არ გვაქვს, მაგრამ მასთან ახლოს მყოფი ორი ქვეყანა, სომხეთი და აზერბაიჯანი საქართველოდან 175 კმ ის მანძილის დაშორებით არიან და ამ ქვეყნებში არასოდეს ჩატარებულა CoV-ის კვლევა. (De Groot R.J. et al. 2011).

ზემოთ ხსენებული ჰიპოთეზებიდან გამომდინარე, ასევე გათვალისწინებული იქნა, რომ საქართველოში ცოფი აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს, წელიწადში 500000 ადამიანი სარგებლობს პოსტ ექსპოზიციური ვაქცინაციით და იმაზე დაყრდნობით რომ ღამურასთან ასოცირებული კორონავირუსის მტარებელი ცხვირნალა ღამურა საქართველოში ფართოდაა გავრცელებული. რისკ ფაქტორების განხილვის შემდეგ, გადაწყდა რომ ჩვენს ქვეყანაში პირველად ჩატარებულიყო ხელფრთიანების გამოკვლევა ლისა და კორონა ვირუსების არესობაზე, რაც ამ ნაშრომის თემას დაედო საფუძვლად

ასევე მათი ტესტირება სხვადასხვა ბაქტერიულ ზოონოზურ პათოგენებზე როგორცაა: ბართონელა, ლეპტოსპირა, იერსინია, ბრუცელა და იერსინია და ჰანტა ვირუსი (Whitaker et al. 2009; Wibbelt et al. 2009).

2.2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.2.1. ლისავირუსი

ფილოგენეტიკური კვლევების საფუძველზე, ლისავირუსის გვარი იყოფა შვიდ გენოტიპად და ორ ფილოჯგუფად. პირველ ჯგუფში შედის ცოფის ვირუსი (RABV), დუვენჰაგის ვირუსი (DUVV), ევროპული ღამურის ლისავირუსის ტიპები 1 და 2 (EBLV-1 და 2), ეს უკანასკნელი ნაპოვნია ნაპოვნია მწერიჭამია ღამურებში ესპანეთსა

და უკრაინაში. ცნობილია, ლაბორატორიულად დადასტურებული ორი ადამიანის დაავადების შემთხვევა (Serra-Cobo J, et al. 2002).

ავსტრალიური ღამურის ლისავირუსი (ABLV) ცირკულირებს ავსტრალიაში მწერიჭამია და ხილის მჭამელ ხელფრაიანებში (Si D, Marquess J, et al. 2016), არავანის ვირუსი (ARAV), ცნობილია სამი ადამიანის დაავადების შემთხვევა.

ხუგანდის ვირუსი (KHUV), ირკუტის ვირუსი (IRKV) იზოლირებულია სამი შტამი აღმოსავლეთ აზიაში მწერიჭამია ხელფრაიანებში. ლაბორატორიულად დადასტურებულია ადამიანის დაავადების შემთხვევა.

II ფილოჯგუფში შედის ლაგოს ღამურის ვირუსი (LBV), მოკოლას ვირუსი (MOKV), შიმონის ღამურის ვირუსი (SHIBV) .დასავლეთ კავკასიის ღამურის ვირუსი, ნაპოვნია ერთი იზოლატი *Miniopterus schreibersi* (Kuzmin ., at al. 2005). ადამიანის დაავადების შემთხვევა ცნობილი არ არის (WCBV).

კვლევებმა გვაჩვენეს რომ ლისავირუსის მხოლოდ ის შტამები შედის ცოფის საწინააღმდეგო ვაქცინაში, რომელიც ეკუთვნის პირველ ფილოჯგუფს. (Badrane H, et al. 2001).

ცოფი (ჰიდროფობია), ვირუსული დაავადებაა, რომელიც იწვევს მწვავე ენცეფალიტებს თბილსისხლიან ცხოველებში. ყოველწლიურად მსოფლიოში ფიქსირდება ცოფის ვირუსით გამოწვეული 55000 ადამიანის ლეტარული შემთხვევები. აქედან 95% აზიასა და აფრიკაზე მოდის. ადამიანის ცოფის შემთხვევათა ყველაზე დიდი წილი ინდოეთზეა, სადაც ადამიანებში ცოფის შემთხვევის მთავარი მიზეზი მოხეტიალე ძაღლებია (Imnadze P, et al. 2008).

2000-2015 წლებში საქართველოში აღირიცხა ჰიდროფობიის 110 შემთხვევა, აქედან 46,7 %-ში პატრონიანი ძაღლთან, 38,9% მოხეტიალე ძაღლთან, 2,2%- პატრონიან კატასთან, 2,2% -მგელთან, 1,1 % მოხეტიალე კატასთან 1,1 % -მაჩვს, ტურასა და მელასთან ექსპოზიციის შემდეგ. 2015 წლიდან დღემდე საქართველოში ადამიანის ცოფის ლაბორატორიულად დადასტურებული შემთხვევა არ

დარეგისტრირებულა, რაც შეიძლება აიხსნას ვეტერანარული სამსახურის მიერ ჩატარებული ცხოველების მასობრივის ვაქცინაციის რამდენიმე რაუნდით.

მას შემდეგ, რაც ვირუსი მოხვდება ადამიანის სხეულში, ის პირდაპირი ან არაპირდაპირი გზით აღწევს პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში და ნერვების გავლით აღწევს ცენტრალურ ნერვულ სისტემას (ცნს). პირველი კლინიკური სიმპტომია ნეიროპათიური ტკივილი, რომელიც გამოწვეულია ვირუსის სწრაფი რეპლიკაციით. ვირუსი შემდეგ მრავლდება ცნს-ში, შვანის უჯრედების ენდონერვიუმში. ბოლო სტადიაში ვირუსით მოცულია უკვე მთელი ცნს, მაგრამ მხოლოდ რამდენიმე ინფიცირებულ ნეირონში ფიქსირდება სტრუქტურული დარღვევები. ცოფი აზიანებს თავის და ზურგის ტვინს. (პათოლოგიის საწყისი სიმპტომებია; გრიპისმაგვარი დაავადებისთვის დამახასიათებელი შემცვივება, თავის ტკივილი, დაავადება პროგრესირდება სწრაფად და იწყება ჰალუცინაციები, კიდურების და საყლაპავის დამბლა - საბოლოოდ დგება სიკვდილი (Cotran RS, et al. 2005).

კლინიკური დიაგნოზი ცოფი, იყოფა 3 სტადიად: პროდრომალური, აგზნებული და დამბლა. დაავადების მიმდინარეობისას, ყველა სტადია შეიძლება არ შეიმჩნეოდეს. ვირუსი დაავადებულ ცხოველში განთავსებულია ნერვულ დაბოლოებებზე და ნერწყვში. ცოფის ვირუსი ადამიანის ორგანიზმში შეიძლება მოხვდეს დაავადებული ცხოველის ნერწყვიდან და არა მხოლოდ თვალით შესამჩნევი ჭრილობებიდან (ნაკბენი, ნაკაწრი), არამედ მიკროტრავმებიდანაც (დადორბვლისას), ინკუბაციური პერიოდი შეიძლება გაგრძელდეს 4 დღიდან – 6 წლამდე (Smith JS, et al. 1991). დიდი მნიშვნელობა აქვს ნაკბენის და ნერწყვის კანზე მოხვედრის ხარისხს და ლოკალიზაციას.

როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ დღემდე არსებული მონაცემებით ხელფრთაინები წარმოადგენენ ძირითად და შეიძლება ითქვას ერთადერთ რეზერვუარს ყველა ტიპის ლისავირუსისთვის, გარდა, MOKVისა (ჯერ ჯერობით რეზერვუარი არ არის დადგენილი) (John S. Mackenzie, et al. 2016).

დღესდღეობით შეიძლება ითქვას, რომ დაავადება ცოფის, გადადების ერთერთ ინფექციის წყაროდ ამჟამად ევროპასა და ამერიკაში ღამურები განიხილება.

ცოფის ვირუსით გამოწვეულ დაავადებას ადამიანებში 100% ლეტალობა ახასიათებს, თუმცა სწორედ ხეფრთიანთანაა დაკავშირებული 2005 წელს აშშ-ში დაფიქსირებული უნიკალური შემთხვევა. 15 წლის გოგონას ღამურასთან ექსპოზიციის შემდეგ დაუდგინდა ცოფი და იგი ვაქცინაციის გარეშე სრულიად განიკურნა. მკურნალობის მეთოდის თანახმად, გოგონა გადაიყვანეს ხელოვნურ კომის მდგომარეობაში, რაც ემყარებოდა მოსაზრებას, რომ ვირუსი კი არ ანადგურებს ცენტრალურ ნერვულ სისტემას, არამედ იწვევს მისი ფუნქციის დროებით მოშლას. თავის ტვინის ფუნქციონირების ხელოვნური კომით დროებითი შეჩერებით, ტვინის დაცვა მოხდა დაზიანებისაგან, ხოლო ორგანიზმმა კი ამ პერიოდის განმავლობაში შეძლო ანტისხეულების გამომუშავება და ვირუსის დამარცხება. ერთი კვირა კომაში ყოფნისას და რამდენიმე თვიანი მკურნალობის შემდეგ ჯინა სრულიად გამოჯანმრთელდა. ეს შემთხვევა მედიცინაში ცნობილია, როგორც “ჯინას მკურნალობა”. მიუხედავად წარმატებისა მეთოდმა შემდეგი დაახლოებით 200 მდე მცდელობისას, მხოლოდ ორ შემთხვევაში გაამართლა (Willoughby RE, et al. 2005).

2.2.2. ბართონელა

Bartonella-ს ინფექცია გავრცელებულია მსოფლიოს ბევრ ქვეყანაში და სხვადასხვა ცხოველებში იგი წარმოადგენს პატარა, ნელა ზრდად, გრამ უარყოფით აერობულ ბაცილას. ის პარაზიტობს ერითროციტებში და ენდოთელიალურ უჯრედებში. ცნობილია როგორც კატის ნაკაწრის დაავადება, იწვევს ლიმფადენიტებს და ენდოკარდიტებს ბავშვებში და მოზრდილებში (Norman AF, et al., 1995).

ბოლო 6 წლის განმავლობაში სხვადასხვა ბართონელას შტამები იქნა გამოყოფილი ღამურებიდანაც: ევროპაში (Concannon R, et al. 2005- Lilley TM, et al., 2015). აფრიკა (Kosoy MY, et al. 2015, Dietrich M, et al. 2016). აზია (Lin J-W, et al. 2102- Anh PH, et al. 2015). ლათინური ამერიკა (Bai Y, et al. 2011 - Reeves WK, et al. 2016). დაახლ. 30 სახეობაა უკვე აღწერილი და ეს რაოდენობა იზრდება (Carrasco et al. 2014). ნიშანდობლივია რომ, ჩრდილოეთ ნახევარსფეროში, ღამურები ცნეს *B. mayotimonensis* რეზერვუარად რომელიც იდენტიფიცირებული იქნა ამერიკაში

ადამიანის ენდოკარდიტის შემთხვევიდან. ამ შემთხვევამ აჩვენა ღამურასთან ასოცირებული ბართონელის ზოონოზური პოტენციალი (Lin et al. 2010; Veikkolainen et al. 2014)

ჩვენს ქვეყანაში ჩატარებული უახლესი კვლევებით აღწერილია ბართონელას გავრცელება ველურ მღრღნელებში (Malaria et al. 2016) და თავთან ასოცირებული ბართონელის შემთხვევა ადამიანში. 2012 წელს 18 წლის ქალის დაავადება მოხდა ბართონელოზით და ეს იყო პირველი ლაბორატორიულად დადასტურებული ადამიანის შემთხვევა საქართველოში (Kandelaki et al. 2016).

2.2.3. ბრუცელოზი

ბრუცელოზის გამომწვევია გრამ უარყოფითი კოკობაცილა ბაქტერია *Brucella*. რომელიც იწვევს მაღალ კონტაგიოზურ ზოონოზურ დაავადებას ძუძუმწოვრებში, უმეტესად ჩლიქოსნებში. ბრუცელოზი ხასიათდება ზოგადი ინტოქსიკაციით, საყრდენ-მამოძრავებელი აპარატის, ნერვული და სასქესო სისტემების დაზიანებით. ცხოველებში ბრუცელოზით დაავადება შეიძლება უსიმპტომოდ მიმდინარეობდეს ან გამოვლინდეს ცხელებით, მასტიტებით (განსაკუთრებით თხებში), ართრიტებით, თვითნებური აბორტებით (Akhvlediani T, et al. 2017). ადამიანის ბრუცელოზის შემთხვევა უმეტესად დაკავშირებულია ინფიცირებული ცხოველის არაპასტერიზებული რძის პროდუქტების მიღებასთან, ან ამავე ცხოველის დაუმუშავებელ ხორცთან პირდაპირი კონტაქტით კანთან და ლორწოვან გარსთან, ძალიან იშვიათად, ინფექციური ნაწილაკების სასუნთქ სისტემაში მოხვედრისას აეროზოლიზაციის გზითაც (ინჰალაციით ან კონიუნქტივაში ინოკულაციის გზით). (Seleem, et al. 2010). ლიტერატურაში აღწერილია ადამიანიდან ადამიანზე გავრცელების შემთხვევებიც, სავარაუდოდ, ინფიცირება მოხდა სქესობრივი გზით (B.Ruben MD, et al. 1991).

ველურ ბუნებაში ბრუცელას არსებობის შესახებ მონაცემები მწირია, თუმცა ცალკეული სახეობები აღწერილია მღრღნელებში, მელიებში და ზღვის ძუძუმწოვრებში

ბრუცელოზი ენდემურია საქართველოსთვის და გვხვდება *B. melitensis* და *B. Abortus*. პირველი უფრო მძიმე კლინიკურ ფორმებით გამოიხატება ადამიანებში და მის ძირითად რეზერვუარს წვრილფეხა საქონელი წარმოადგენს, ხოლო *B. Abortus* უფრო მსუბუქ დაავადებას იწვევს (Sanodze et al., 2015). საქართველოში ყოველწლიურად 150-დან 200 ლაბორატორიულად დადასტურებული შემთხვევა ფიქსირდება. რეგისტრირებული და ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა ძირითადად ეფუძნება თვისობრივ და რაოდენობრივი აგლუტინაციის ტესტებს (Stoenner et al. 1957; Ewalt et al. 1994; Hubalek et al. 2007; Scholz et al. 2010; Tiller et al. 2010)

ხელფრთიანებში ბრუცელა არასოდეს ყოფილა იდენტიფიცირებული, თუმცა ვამპირ ღამურებში, ბრაზილიაში ნაპოვნია ანტი-ბრუცელას აგლუტინინი (Ricciardi et al. 1976) .

2.2.4. ლეპტოსპირა

ლეპტოსპიროზის გამომწვევი ორგანიზმები არიან სპიროქეტები, რომლებიც *Leptospiraceae* ოჯახსა და *Leptospira* გვარს მიეკუთვნებიან. იგი მოიცავს დაახლ. 20 სხვადასხვა სახეობას რომელთა შორის არის ზოონოზური პათოგენებიც.

ადამიანი შეიძლება დაინფიცირდეს ნებისმიერ ადგილას, სადაც შესაძლოა კონტაქტი ქონდეთ ინფიცირებული ცხოველების შარდთან და შარდით დაბინძურებულ გარემოსთან.

საქართველოში ლეპტოსპიროზი ფართოდაა გავრცელებული და ყოველწლიურად შეინიშნება შემთხვევათა მატების ტენდენცია (Mamuchishvili et al. 2014) ადამიანის დაავადება ლეპტოსპიროზით მე 20 საუკუნის 50 იანი წლებიდან აღირიცხებოდა, უფრო ხშირად მცირე აფეთქებებით და ძირითადი გადაცემის ფაქტორი როგორც წესი ინფიცირებული წყალი იყო. უპირატესად დაავადება გამოწვეული იყო *L. canicola*-ს სეროტიპით. მაგალითად 2010 წელს საქართველოში დაფიქსირდა ლეპტოსპიროზის 72 შემთხვევა და ლაბორატორიულად დადასტურდა 58. დაავადებას ახასიათებს 5-15 % ლეტალობა.

ლეპტოსპიროზის გავრცელებაზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს კლიმატური პირობები, ტენიანი ტროპიკული კლიმატის დროს ინციდენტობის მაჩვენებელი

გაცილებით მაღალია ზომიერ კლიმატთან შედარებით. იგი ასევე ვრცელდება წყალთან და ნიადაგთან კონტაქტისას. კლინიკური ნიშნებია საერთო ინტოქსიკაცია, ცხელება, კუნთების მკვეთრი ტკივილი, ღვიძლის, თირკმელების, ნერვული და სისხლძარღვოვანი სისტემის დაზიანება, მძიმე შემთხვევაში-სიყვითლე, ჰემორაგიული სინდრომი, თირკმელების მწვავე უკმარისობა და მენინგიტი. *Leptospira spirochete*-თი გამოწვეული ლეპტოსპიროზი აავადებს სხვადასხვა ძუძუმწოვრებს მსოფლიოში.

ხელფრთიანებში ეს ინფექცია ნაპოვნია აფრიკაში, სამხრეთ ამერიკასა და ავსტრალიაში ასევე ევროპის ნაწილში (Cox et al. 2005; Matthias et al. 2005; Dietrich et al. 2015)

2.2.5. იერსინია

იერსინით გამოწვეულ ინფექციებს შორის ყველაზე ცნობილი არის შავი ჭირი (*Y. pestis*) რომელიც დაავადებას იწვევს როგორც ადამიანში, ასევე სხვა ძუძუმწოვრებში. იერსინიოზი მიჩნეულია ნაწლავურ დაავადებად ადამიანებში. ბაქტერიის რეზერვუარული მასპინძლებია მღრღნელები, ხოლო გადამტანები - რწყილები. შავი ჭირით ადამიანის დაავადებისას ინფექციის კარიბჭე შეიძლება იყოს კანი ან/და თვალის, პირ-ხახის, სასუნთქი გზების, კაუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ლორწოვანი გარსები. ინფექციის შეჭრის ლოკაციის ადგილიდან დამოუკიდებლად დაავადება ყოველთვის ავლენს პროცესის გენერალიზაციის მკაფიო ტენდენციას, რაც ხშირად სეფსისით მთავრდება. დაინფიცირების კონტაქტური და ტრანსმისიული გზების შემთხვევებში ვითარდება შავი ჭირის ბუბონური ფორმა, ინფექციის ჰაერ-წვეთოვანი გზით გადაცემისას კი ფილტვის ფორმა, რომელიც გამოირჩევა ძალზე მაღალი ლეტალობით. ავადმყოფობისათვის ტიპურია ძლიერი ინტოქსიკაცია, გულის უკმარისობა, მაღალი ტემპერატურა და სხვ. ავადმყოფი ილუპება გულის მწვავე უკმარისობით. ფილტვის ფორმა გამოწვეულია *Y. pseudotuberculosis* და *Y. Enterocolitica* მიერ და ფართოდაა გავრცელებული (Higuchi R., et al. 1998), რომელიც ხშირადაა გამოყოფილი სხვადასხვა ველური და შინაური ცხოველებიდან (Mair et al. 1968; 1973).

შავი ჭირის ეპიზოოტია საქართველოში ფიქსირდება ძველთაგან, (Revazishvili T, et al. 2007). საქართველოს ტერიტორიაზე რეგისტრირებულია შავიჭირის რამდენიმე ბუნებრივი მეზო კერა, ნინო წმინდას და დედოფლისწყაროს რაიონებში, მაგრამ მათი ველურ ბუნებაში გავრცელება არ არის სრულყოფილად შესწავლილი. შავი ჭირი გამოვლენილია მღრღნელების 200-ზე მეტ სახეობაში აგრეთვე სხვა ცხოველებში (სპილო, კამეჩი, აქლემი, დათვი, თხა, ძაღლი და სხვა. ხელფრთიანებში იერსინიას გამომწვევი ნაპოვნია გერმანიასა და ეგვიპტეში (Childs-Sanford et al. 2009; Muhldorfer et al. 2010).

2.2.6. კორონავირუსი

კორონავირუსი ეკუთვნის *Coronaviridae*-ს ოჯახს და ერთმაგ, დადებით ჯაჭვიანი რნმ-ის შემცველი ვირუსია. წარმოდგენილია 4 გვარით *Alphacoronavirus* (α -CoV), *Betacoronavirus* (β -CoV), *Gammacoronavirus* (γ -CoV) *Deltacoronavirus* (δ -CoV). იგი იწვევს რესპირატორულ ინფექციებს, ჰეპატიტებს, გასტროენტერიტებს და ენცეფალომიელიტს. გენომის ზომა 26-36 კილოწყვილია, რის გამოც ადვილად განიცდის მუტაციებს და არის ვარიანტული, შესაბამისად შესაძლებელია ახალი შტამების წარმოქმნა, რომელთაც შესაძლოა შემდეგში ქონდეთ გავრცელების და სახეობიდან სახეობაზე გადასვლის მაღალი პოტენციალი (Decaro, N. et al. 2008). მტკიცებულება იმის შესახებ, რომ კორონავირუსი პათოგენურია ადამიანებისთვისაც პირველად გაცხადდა დაახლოებით 15 წლის წინ, იმ დრომდე კორონავირუსები ითვლებოდა ნაკლებად საშიშ რესპირატორულ ვირუსებად (McIntosh K. et al. 1967). 1930 წელს ვირუსის ტაქსონომიის საერთაშორისო კონგრესმა განაცხადა ოთხი კორონავირუსის შესახებ (ფრინველის ბრონქიტული ინფექციის ვირუსი, ადამიანის რესპირატორული ვირუსი, თაგვის ჰეპატიტის ვირუსი და გადამდები გასტროენტერიტის ვირუსი) ყველა ეკუთვნის კორონავირუსის გვარს, ბოლო ათწლეულის განმავლობაში ტაქსონომია მნიშვნელოვნად შეიცვალა და გამოცხადდა 4 ახალი გვარი *Alphacoronavirus* (α -CoV), *Betacoronavirus* (β -CoV), *Gammacoronavirus* (γ -CoV) *Deltacoronavirus* (δ -CoV) რომელიც მხოლოდ ფრინველებშია (De Groot, et al. 2011).

ტაქსონომიის ჩამოყალიბება მნიშვნელოვანი გახდა განსაკუთრებით SARS-CoVs და MERS CoV ით გამოწვეული პანდემიებს შემდეგ

SARS-CoVs-ს მძიმე მწვავე რესპირატორული დაავადების რომელმაც 2005 ში გამოიწვია გლობალური ეპიდემია ჩინეთში და გავრცელდა როგორც ახლად აღმოცენებული SARS-CoVs, მასპინძლად განისაზღვრა ცხვირნალა ღამურა (*Rhinolophus sinicus*).

მის მიმართ ინტერესი განახლდა 2012 წელს რაც აღმოაჩინეს შუა აღმოსავლეთის რესპირატორული სინდრომი, (MERS CoV) 110 დაავადებული პაციენტიდან (ევროპა, აფრიკა, შუა აღმოსავლეთი) იყო 52 გარდაცვალების შემთხვევა გამომწვევი იყო MERS CoV რომელიც ყველაზე ახლოს დგას ფილოგენეტიკურად *Pipistrellus bat CoVs* და შედის β -CoV ის 2c ჯგუფში (კლეიდი), ის ნაპოვნია რამდენიმე ქვეყანაში როგორცაა ჰოლანდია, ესპანეთი, რუმინეთი უკრაინა (Annan, A et al. 2013- Reusken, C.B, et al. 2010). აქედან ცხადი გახდა, რომ ხელფრთიანები წარმოადგენენ ნაკლებად საშიშ რესპირატორულ კორონავირუსების ბუნებრივ წყაროს და ასევე თამაშობენ მნიშვნელოვან როლს ამ ვირუსის გარემოში შენარჩუნებისთვის.

2.2.7. ჰანტავირუსი

Hantavirus, წარმოადგენს Bunyaviridae ოჯახს. უარყოფითი, ერთჯაჭვიან რნმ ის შემცველი ვირუსია, მოიცავს დიდ, საშუალო და პატარა ნაწილებს რომელიც აკოდირებს რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზას (RdRp) შემორტყმულია გლიკოპროტეინით და ნუკლეოკაფსიდური პროტეინით. დღესდღეობით 20 განსხვავებული ჰანტავირუსია ნაპოვნი მღრღნელებში ამიტომ იგი მღრღნელებთან ასოცირებულ, მწვავე, სიცხით მიმდინარე ფებრილურ დაავადებაა, რომელიც მწვავე ჰემორაგიული და კარდიოპულმონარული სინდრომით მიდის. (Jonsson C, et al. 2010, Se Hun Gu, et al. 2014) ჰანტავირუსი ასევე ნაპოვნია ფართოდაა გავრცელებული მთელ მსოფლიოში თხუნელებში (Klempa B, et al. 2017)

მსოფლიოს სხვადასხვა რეგიონში გავრცელებულია, სხვადასხვა ჰანტავირუსი: ჰანტაანი, რომელიც კლასიკურ თირკმლის სინდრომით მიმდინარე ჰემორაგიულ

ცხელებას იწვევს, და სეულის ვირუსები სამხრეთ აღმოსავლეთ აზიასა და აღმოსავლეთ რუსეთშია გავრცელებული. ვეროპასა და რუსეთში გავრცელებულია Puumala (PUUV) და Dobrava-Belgrade (DOBV) ვირუსები, რომლებიც იწვევენ როგორც მსუბუქ ისე მძიმე კლინიკურ ფორმებს.

საქართველოში დადასტურებულია ორი პაციენტის შემთხვევა, რომელთაც ცხელების ფონზე განუვითარდათ თირკმლის მწვავე უკმარისობა ჰემორაგიული სინდრომის გარეშე და დაფიქსირდა დადებითი სეროლოგიური პასუხი ჰანტავირუსზე (Kuchuloria T, et al. 2015). ლიტერატურის მიმოხილვით ჰანტა ვირუსი ნაპოვნია ცხვირნალა ღამურებში *Rhinolophus affinis* ჩინეთში, იაპონიასა, ვიეტნამში (Guo W, et al. 2013).

2.3. ხელფრთიანთა უნიკალურობა

როგორც ზემოთ ავლინებთ ბოლო ათწლეულების მანძილზე უდიდესი ეპიდემიოლოგიური აფეთქებები ხელფრთიანებთანაა ასოცირებული, მათ შორის SARS ვირუსის აფეთქება რომელმაც დაახლოებით 50 მილიონის ზარალი მოუტანა მსოფლიო ეკონომიკას 2003-2004 წლებში და 2014-ში სამხრეთ აფრიკაში დაწყებული ებოლას ვირუსის აფეთქება, რომელმაც გამოიწვია დაახლოებით 10 000 ადამიანის გარდაცვალება (Wang and Couwled 2015)

ისტორიულად პირველი ვირუსი, რომელიც აღმოაჩინეს ხელფრთიანში იყო ლისავირუსი, პირველი შემთხვევა ხელფრთიანის ცოფის შესახებ დაფიქსირდა პენსილვანიაში 1953 წელს (Wang and Couwled 2015).

1967 წელს გერმანიაში ლაბორატორიის მუშაკებს შორის მოხდა, ჰემორაგიული ცხელებით მიმდინარე დაავადების აფეთქება, რომელიც როგორც შემდეგ დადგინდა იყო უგანდიდან ევროპაში გადმოსული აფრიკული მწვანე მაიმუნის დაავადება მარბურგის ვირუსი, 1976 წელს სუდანში მსგავსი აფეთქების შემდეგ გამოყვეს ვირუსი და უწოდეს ებოლას ვირუსი, ამ შემთხვევაშიც მარბურგის მსგავსად მთავარი პათოგენის წყარო ვერ იპოვეს, მხოლოდ 2001-2003 წლებში ლეროიმ და კოლეგებმა პრიმატების მასიური დაცემის ადგილას შეაგროვეს მცირე ზომის

ძუძუმწოვრები და მათ შორის ხელფრთიანებიდან აღებული ნიმუშების სექვენირების შედეგად ხილისმჭამელ ხელფრთიანში იპოვეს ებოლას ვირუსი (Wang & Christopher couwled 2015)

აქ შევეცდებით მიმოვიხილოთ ლიტერატურა და ჰიპოთეზები რაც ახსნის ხელფრთიანთა უნიკალურ თვისებას იმის შესახებ, რომ მათ შეუძლიათ ატარებდნენ ათეულობით პათოგენს და თვითონ არ ავადდებოდნენ.

ხელფრთიანები წარმოადგენენ ძუძუმწოვრების 5-დან ერთერთ სახეობას რომელთაც შეუძლია ფრენა (Petauridae, Acrobatidae) possums, strange colugos. დანარჩენი სახეობები მხოლოდ პლანირებენ, მაგალითად მფრინავ ციყვს მხოლოდ ხიდან ხეზე ნახტომის გაკეთებისას შეუძლია მცირე მანძილზე ფრენა ხელის და ფეხის (ზოგჯერ კუდის) შემაერთებელი ფრთისმაგვარი აპკის საშუალებით.

ხოლო ხელფრთიანთა ჩონჩხი სწორედ ფრენისთვისაა ადაპტირებული, საფრენი აპარატის შექმნაში მონაწილეობს ოთხი თითი, მათ შორის ჩართული აქვთ ფრთები ამიტომაც ეძახიან მათ ხელფრთიანებს (Chiroptera), ცერა თითი (ბრჭყალი) არის თავისუფალი (Christian, Helversen, Nill 2015) სადაც აპკი ხელის მეოთხე ფალანგიდან (დანარჩენი თითები თავისუფალია) ფეხამდგა განვითარებული. ხელფრთიანთა ფრენა ვიზუალურად ბევრად უფრო მოუხერხებელი მაგრამ ლაბილურია ფრინველებთან შედარებით, მათ ფრინველებზე სწრაფად შეუძლიათ ფრენის შენელება და მიმართულების შეცვლა- ისინი ლივლივებენ.



სურათი 1. წყალტუბოს მღვიმე - ხელფრთიანების ლივლივი

როგორ წარმოიშვა ხელფრთიანები ჯერ კიდევ სადავო საკითხია, პირველი ნამარხი ღამურა *Icaronycteris index* ნაპოვნია 50 მილიონი წლის წინ ჩრდილოეთ ამერიკაში (Green river formation, Wyoming) (Wang and Christopher cowled 2015). ღამურების უმეტესობა არიან მცირე ზომის და წონის ძუძუმწოვრები, ფრთამოკეცილი თავისუფლად ეტევა ადამიანის ხელის გულზე, მსოფლიოში ერთ-ერთი ყველაზე პატარა ძუძუმწოვარი არის ხელფრთიანი *Craseonycteris thong-longy* რომლის წონაც დაახლოებით ორი გრამია და ბინადრობს სამხრეთ აღმოსავლეთ აზიაში. თუმცა ძველი სამყაროდან ცნობილია დიდი ზომის ხელფრთიანები, მაგალითად, მფრინავი მელიების გვარის წარმომადგენლები *Pteropus* რომელიც წონით 1,6 კილოგრამამდე და გაშლილი ფრთებით 1,6 მეტრამდე აღწევენ (Christian, Helversen, Nill 2015) . ხელფრთიანთა სიცოცხლის ხანგრძლივობა საშუალოდ 10-20 წელია.

ხელფრთიანთათვის დამახასიათებელია ეკოლოგიური ნიშის მრავალფეროვნება მაგ; საქართველოში გავრცელებულია მწერიჭამია ხელფრთიანები, ამიტომ ისინი აქტიურად ანადგურებენ მწერებს და ჩართულნი არიან კვების ჯაჭვში, არსებობს ხილის და ფოთლის მჭამელი ხელფრთიანები ტროპიკულ ქვეყნებში,

მტაცებლები რომლებიც წვრილ ძუძუმწოვრებზე და თევზებზე ნადირობენ. ქვეოჯახი Desmodontidae-ს წარმომადგენელი სამი სახეობა წარმოდგენენ ვამპირ ხელფრთიანებს და გავრცელებული არიან მექსიკიდან არგენტინამდე. ეს ხელფრთიანები იკვებებიან სისხლით და მიუხედავად იმისა რომ, სისხლის დანაკარგი არ არის დამლუპველი ცხოველისთვის, არსებობს ინფექციის შეჭრის საშიშროება რაც ითვლება ნიფა ვირუსის გადაცემის გზადაც. ასევე ტროპიკულ ქვეყნებში არსებობენ ღამურები, რომლებიც მნიშვნელოვან და აქტიურ მონაწილეობას ღებულობენ მცენარეთა დამტვერვის პროცესში.

კვლევების შედეგად დადგენილია, რომ ხელფრთიანები წარმოადგენენ ბუნებრივ რეზერვუარს მაღალპათოგენური ზოონოზებისთვის (Messenger et al., 2003; Calisher et al., 2006; Turmelle and Olival, 2009), რომელთაც შეუძლიათ დაავადებების გამოწვევა როგორც ცხოველებში ასევე ადამიანებში. ამავე დროს ხელფრთიანები თავად ძირითადად არ ავადდებიან, რა შეიძლება იყოს ამის მიზეზი?

ერთ-ერთი ჰიპოთეზის თანახმად რადგან ისინი არიან ძუძუმწოვრები რომლებთაც აქვთ ფრენის უნარი, ფრენისას ივითარებენ სხეულის ტემპერატურას 40°C-მდე. ამ ტემპერატურაზე ბევრი ვირუსი კარგავს ქმედით უნარიანობას, სხეულის შედარებით მაღალი ტემპერატურის გამო, ამ დროს გაძლიერებულია მეტაბოლიზმის პროცესიც, ამიტომ ხელფრთიანთა ვირუსები, შედარებით დაბალტემპერატურიან ძუძუმწოვრებზე გადასვლისას იწყებენ გამრავლებას (Thomas J, et al. 2014).

ასევე ერთ-ერთი ჰიპოთეზის თანახმად ისევ ფრენის გამო ხელფრთიანებს ინტერფერონი α -ს დონე (რომელსაც გააჩნია ანტივირუსული მოქმედება) მუდმივად მაღალი აქვთ ორგანიზმში. სექვენსით შეისწავლეს პირველი ტიპის ინტერფერონის ლოკუსი აღმოჩნდა, რომ ხელფრთიანთა IFN- α -ს გენი მუდმივად ექპრესირდება მის ქსოვილებში, რომელიც ხელს უშლის დნმ-ის დაზიანებას უჯრედებში, ეს თავისთავად მოქმედებს ხელფრთიანების უნიკალური იმუნიტეტის ჩამოყალიბებაზე და იმ შესაძლებლობაზე, რომ იყვნენ რამდენიმე ვირუსის ერთდროულად მატარებლები და არ დაავადდნენ (Zhoua, et al. 2015). გენეტიკური ცვლილებები,

რომელიც ფრენასთან შეგუებით ჩამოყალიბდა ხელფრთიანების იმუნიტეტის ვირუსთან ადაპტირებას უწყობს ხელს (Zhang G, et al. 2013).

მათი უნიკალურობის მიზეზს ქმნის კიდევ რამდენიმე დამატებითი ფაქტორი კერძოდ კი მათი სოციალური ყოფისა და ქცევის თავისებურებები, მაგალითად ექოლოგაცია, რომელიც წარმოადგენს სმენის თავისებურებას. ულტრაბგერის გამოცემის საშუალებით ხელფრთიანი აღიქვამს წინ მყოფ დაბრკოლებას და ბგერის ანარეკლი უკან ბრუნდება ექოს პრინციპით, რის საშუალებითაც ხელფრთიანი იქმნის ერთგვარ პერიმეტრის სურათს, რაც მათ ეხმარება თავი აარიდონ არა მხოლოდ უმცირეს წინაღობას არამედ დამის საათებში გაარჩიონ მწერები და გამოიყენონ საკვებად. ხელფრთიანები ექოლოგაციური ხმების გარდა გამოსცემენ რამდენიმე განსხვავებული უფრო დაბალი სიხშირის ხმას რომელიც ძალიან მნიშვნელოვანია მათი სოციალური კომუნიკაციისათვის. მაგალითად: საფრთხის შემცველი, შეწყვილების, დაშორების, კომუნიკაციის ხმას. ასევე სპეციფიურია ხმა რომელსაც გამოსცემს დედისგან შორს მყოფი რომლითაც დედას შეუძლია თავისი ნაშიერი და გამოარჩიოს მღვიმეში მყოფი ათასობით ხელფრთიანისგან (Balcombe J.P, et al. 1992)

მიუხედავად იმისა რომ ხელფრთიანები დაავადებებისადმი მდგრადი უნიკალურ ცხოველები არიან ერთერთი მიზეზი რომელიც იწვევს მათ მასიურ განადგურებას არის სოკო *Fseudogimnoascus destructans*, რომელიც პირველად დაფიქსირდა ჩრდილოეთ ამერიკაში და იწვევს ხელფრთიანებში თეთრი ცხვირის სინდრომს. ეს არის სიცივესთან კარგად ადაპტირებული სოკო, ამიტომ ჰიბერნაციის შემდეგ გამოღვიძებული ხელფრთიანებს რომლებიც ცხიმის მარაგს აღარ შეიცავენ სოკო ადვილად ერევათ და ილუპებიან (Bleher DS, et al. 2014). ლიტერატურაში ასევე ცნობილია სამხრეთ აფრიკაში 90 იანებში დაფიქსირებული შემთხვევა ხელფრთიანებში, მასიური დაცემის შემდეგ ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენეს რომ 10-15 % ინფიცირებული იყო ლისა ვირუსით კერძოდ ხელფრთიანის ლოგოსის ვირუსი (Lagos bat virus). სამხრეთ საფრანგეთში კი აღინიშნა ჩვეულებრივი ფრთაგრძელის (*Minipoterus schreibersii*) მასიური დახოცვა, სიკვდილიანობა გაგრძელდა ესპანეთში და პორტუგალიაშიც რამაც პოპულაცია 60-65 % ით შეამცირა, მათი მოლეკულურ ფილოგენეტიკური კვლევის შემდეგ დადგინდა რომ გამომწვევი იყო ებოლასთან და

მარბურგთან ახლო მდგომი არა ზოონოზური პოტენციალის მქონე Lloviu ვირუსი (Roue & Nemoz 2004).

მიუხედავად იმისა რომ ხელფრთიანები ატარებენ ორჯერ მეტ ვირუსებს ვიდრე მღრღნელები (Luis AD, et al. 2013) ხელფრთიანების სიცოცხლის ხანგრძლივობა 10-20 წელია (თაგვები საშუალოდ 2 წელს ცოცხლობენ) (Hayman, et al. 2016). რაც ერთგვარად განპირობებულია მათი ცხოვრების წესით ისინი ძირითადად ფრენენ ღამით და შესაბამისად მტრები და მტაცებლები ნაკლებად ყავთ და ნაკლებ ერჩიან (Christian, Helversen, Nill 2015).

მსოფლიოში ხელფრთიანის 1300-ზე მეტი სახეობა არსებობს, ისინი დიდ როლს ასრულებენ ეკოსისტემის მუდმივობის შენარჩუნებაში, რამეთუ მათი ზოგიერთი წარმომადგენელი მონაწილეობას იღებს მცენარეების დამტვერვაში და თესლების გავრცელებაში ასევე კლიმატურ პირობებთან ერთად ისინი აფერხებენ მწერების პოპულაციის უკონტროლო გამრავლებას და ფართოდ გავრცელებას.

ხელფრთიანთა სახეობების დაახლოებით 7% მიგრირებს ყოველწლიურად. შესადარებლად ფრინველების 40 % მიგრირებს. ამათგან ნაწილი იცვლის ადგილს კლიმატური პირობების გამო, ნაწილი ჩვეულებრივი რეგიონული მიგრანტები ანუ მომთაბარეები არიან რომლებიც 10 დან 100 კილომეტრამდე გადაადგილდებიან და იცვლიან ადგილს ზამთრობისთვის. ხშირად მათი ზაფხულის და ზამთრის თავშესაფრები განსხვავდება.

ცნობილია რომ ხელფრთიანებმა მიგრაციისას შეიძლება დაფარონ 1000 -2000 კმ მდე მანძილი (Christian, Helversen, Nill 2015). 53 ევროპული სახეობიდან მხოლოდ 6 მიგრირებს ასე შორს (Wang and Christopher couwled 2015). დღემდე აუხსნელია როგორ ბრუნდებიან ამ მანძილიდან უკან, ფიქრობენ რომ ეს არის გენეტიკურად განსაზღვრული მიგრაციის უნარი სხვა ვერსიით კი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს იმპრინტინგი.



სურათი 2. Nyctalus leisleri მიგრაციული ღამურა რომელიც საქართველოშია გავრცელებული და ჩვენ კვლევაში იყო ჩართული

ხელფრთიანები ძალიან დიდი პოპულაციებით თანაცხოვრობენ ერთად. ცნობილია აფრიკული (Straw-coloured) ხელფრთიანის *Eidolon helvum* უდიდესი კოლონია, ისინი ყოველი წლის ოქტომბერში გადაფრინდებიან ველური ხილით საკვებად, მათი რაოდენობა პიკს აღწევს ნომებერში როცა რვა მილიონამდე ინდივიდია ერთად.

ხელფრთიანებს შეუძლიათ მაკეობის ხანგრძლივობის რეგულირება. სხვა მუქუმწოვრებისგან განსხვავებით მდედრის ორგანიზმში სპერმა ქმედითუნარიანია რამდენიმე თვის განმავლობაში, ისინი შეწყვილებას იწყებენ ზაფხულის ბოლოს ან ადრეულ შემოდგომაზე (ზოგჯერ შეწყვილება შესაძლოა მოხდეს ზამთარშიც), ოვულაცია და ფერტილური პერიოდი კი ხელფრთიანებს უმეტესად ეწყება გვიან გაზაფხულზე. აქედან გამომდინარე ჰიბერნაციის (როცა ხელფრთიანთა ორგანიზმში შენელებული ან შეჩერებულია უმეტესი პროცესები, ნივთიერებათა ცვლა,

განაყოფიერების უნარი) პერიოდში მდედრის საშვილოსნოში სპერმა რჩება ცოცხალი და ასთენიურ მდგომარეობაში, ამიტომ გამოღვიძებისას პარტნიორის ძეგნა არ სჭირდება იგი მყისვე ნაყოფიერდებიან (Christian, Helversen, Nill 2015). შესაძლებელია განაყოფიერება მოხდეს შემოდგომაზე და შემდგომ შეჩერდეს პროცესები. ასევე გაზაფხულზეც შუძლიათ პროცესების რეგულირება, რათა მშობიარობა მოხდეს ოპტიმალურ კლიმატურ პირობებში.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ ხელფრთიანებს ახასიათებთ ჰიბერნაციული (ზამთრის ძილის) მდგომარეობა; რომლის დროსაც ხდება მეტაბოლიზმის უკიდურესი შემცირება ასევე გულის ცემის, სუნთქვის პროცესების შეწყვეტა, რითაც მათ საშუალება ეძლევათ რომ გადარჩნენ საკვების გარეშე დიდი ხნის განმავლობაში. მაგალითად პულსი 200-300 დარტყმიდან წუთში ჩამოდის 10 ან ნაკლებ დარტყმაზე და რამდენიმე წუთი სუნთქვა მცირდება ნულოვან ნიშნულამდე. ასევე ნელდება თითოეული ორგანოს ფუნქციონირება, რასაც საბოლოოდ მივყავართ ენერჯის დიდ აკუმულირებამდე, იხარჯება დაახლოებით 2%.

ჰიბერნაციის მდგომარეობაში ანუ ტორპორში (ჰიბერნაცია მცირე პერიოდის განმავლობაში) ხელფრთიანებს შეუძლიათ გადავიდნენ ჩვეულებრივი ცივი დღისას, მაკობისას და ლაქტაციის პერიოდში, ისინი ზაფხულში იწყებენ ცხიმის დაგროვებას და აცივებისას ნელნელა გადადიან ჯერ ერთდღიან ტორპორზე შემდეგ თვეზე და მერე მთელი ზამთრის ჰიბერნაციაზე. ამ მდგომარეობისთვის ირჩევენ ისეთ ლოკაციებს როგორცაა მღვიმეები ან სხვა მიწისქვეშა თავშესაფრები. ხელფრთიანები ცხოვრობენ ჯგუფურად, როგორც ავლნიშნეთ უმეტესად ცხოვრობენ დიდ ჯგუფებად რასაც ორმაგი სარგებელი აქვს. ერთი ის რომ ღამურები როცა გადადიან ძილის მდგომარეობაში და სხეულის ტემპერატურა ეცემათ მაგრამ ერთმანეთთან მჭიდროდ ყოფნის გამო ათბობენ ერთმანეთს და არ ნადგურდებიან, ასევე სანადიროდაც ერთად გადიან და ცვლიან ინფორმაციას სანადირო ადგილების შესახებ, რაც ძნელი იქნება ცალკეული ინდივიდისთვის.

ასევე ხელფრთიანები წარმოადგენენ კლიმატის ცვლილების ერთგვარ ინდიკატორს. შესწავლილი იქნა ტემპერატურის ცვლილების გავლენა საჭმლის მოპოვებაზე, მაკობაზე და სპერამტოგენეზის პროცესზე, მაგალითად ჩვენთან გავრცელებული *Rhinolophus ferrumequinum* რომელთა ნაშიერები ჩნდებოდნენ

ზაფხულის შუა პერიოდში, ტემპერატურის სწრაფი აწევის გამო მათი მშობიარობის დრომ გადაიწია გაზაფხულზე. 2006 წელს ავსტრალიაში ტემპერატურის სწრაფ დაცემას მოყვა *Minipoterus schreibersii bassanii* ასობით კოლონიის დაღუპვა და საპირისპიროდ ჩრდილოეთ ნეუ სოუთ ველში უჩვეულო 42 გრადუსმა ერთბაშად ღამურის 3500 ინდივიდი გაანადგურა (Bourne and Hamilton-smith, et al. 2007). საქართველოს ხელფრთიანებში ჯერჯერობით არაფერი შეცვლილა კლიმატის ცვლილებასთან დაკავშირებით



სურათი 3. ხელფრთიანების შეგროვება, გარდაბნის ალკვეთილი, მიტოვებულ სახლში

=



სურათი 4. ზოოლოგები წინასწარ არჩევენ შესაძლო ლოკაციებს სხავდასხვა სახეობების შესაგროვებლად

ცხრილი 1. საქართველოში გავრცელებული ხელფრთიანების ჩამონათვალი

	სახელწოდება ლათინური	ქართული	პოპულარული
1.	<i>Rhinolophus hipposideros</i> ,	მცირე ცხვირნალა	<i>Lesser Horseshoe Bat</i>
2.	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	დიდი ცხვირნალა	<i>Greater Horseshoe Bat</i>
3.	<i>Rhinolophus euryale</i>	სამხრეთული ცხვირნალა	<i>Mediterranean Horseshoe Bat</i>

4.	<i>Rhinolophus mehelyi</i>	მეჰელის (სათვალეებიანი) ცხვირნალა	<i>Mehely's Horseshoe Bat</i>
5.	<i>Rhinolophus blasii</i>	ბლასის ცხვირნალა	<i>Blasius's Horseshoe Bat</i>
6.	<i>Myotis daubentonii</i>	წყლის მლამიობი	<i>Daubenton's Bat</i>
7.	<i>Myotis brandtii</i>	ბრანდტის მლამიობი	<i>Brandt's Bat</i>
8.	<i>Myotis mystacinus</i>	ულვაშა მლამიობი	<i>Whiskered Bat</i>
9.	<i>Myotis aurascens</i>	ოქროსფერი მლამიობი	<i>Steppe Whiskered Bat</i>
10.	<i>Myotis alcaethoe</i>	ალკათოეს მლამიობი	<i>Alcaethoe Whiskered Bat</i>
11.	<i>Myotis nattereri</i>	ნატერერის (ტყის) მლამიობი	<i>Natterer's Bat</i>
12.	<i>Myotis emarginatus</i>	სამფერი მლამიობი	<i>Geoffroy's Bat</i>
13.	<i>Myotis bechsteinii</i>	ბეხშტეინის (გრძელყურა) მლამიობი	<i>Bechstein's Bat</i>
14.	<i>Myotis blythii</i>	ყურწვეტა (წვეტყურა) მლამიობი	<i>Lesser Mouse-eared Bat</i>
15.	<i>Nyctalus noctula</i>	წითური მეღამურა	<i>Noctule Bat</i>
16.	<i>Nyctalus lasiopterus</i>	გიგანტური მეღამურა	<i>Greater Noctule Bat</i>
17.	<i>Nyctalus leisleri</i>	მცირე მეღამურა	<i>Leisler's Bat</i>
18.	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	ჯუჯა ღამორი	<i>Common Pipistrelle</i>
19.	<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	პაწია ღამორი	<i>Soprano Pipistrelle</i>
20.	<i>Pipistrellus nathusii</i>	ტყის ღამორი	<i>Nathusius's Pipistrelle Bat</i>
21.	<i>Pipistrellus kuhlii</i>	ხმელთაშუაზღვიური (კულის) ღამორი	<i>Kuhl's Pipistrelle Ba</i>
22.	<i>Hypsugo savii</i>	სავის ღამორი	<i>Savi's Pipistrelle</i>

			<i>Bat</i>
23.	<i>Vespertilio murinus</i>	ჩვეულებრივი დამურა	<i>Parti-coloured Bat</i>
24.	<i>Eptesicus serotinus</i>	ჩვეულებრივი მეგვიანე	<i>Serotine Bat</i>
25.	<i>Eptesicus bottae</i>	უდაბნოს მეგვიანე *	Botta's serotine bat
26	<i>Eptesicus nilssonii</i>	ჩრდილოური მეგვიანე	<i>Northern Bat</i>
27.	<i>Barbastella barbastellus</i>	ევროპული მაჩქათელა	<i>Western Barbastelle Bat</i>
28.	<i>Barbastella darjelingensis</i> (<i>was leucomelas</i>)	აზიური (აღმოსავლური) მაჩქათელა *	<i>Eastern Barbastelle Bat</i>
29.	<i>Plecotus auritus</i>	რუხი ყურა	<i>Brown Long-eared Bat</i>
30.	<i>Plecotus macrobullaris</i>	კავკასიური ყურა	<i>Alpine Long-eared Bat</i>
31.	<i>Miniopterus schreibersii</i>	ჩვეულებრივი ფრთაგრძელი	<i>Schreiber's Bent- winged Bat</i>
32.	<i>Tadarida teniotis</i>	ევროპული ტადარიდა *	<i>European Free- tailed Bat</i>

* ნიშნით აღნიშნულია საქართველოში სავარაუდოდ გავრცელებული სახეობები.

25 და 28 ნაპოვნია საქართველოს საზღვრებთან.

#32 მხოლოდ სპეციალური ხელსაწყოთ ყავთ მოსმენილი და ვიზუალურად დანახული.ჯერ მოპოვებული არ არის, ამიტომ აღინიშნება როგორც სავარაუდოდ გავრცელებული.

3. მეთოდოლოგია

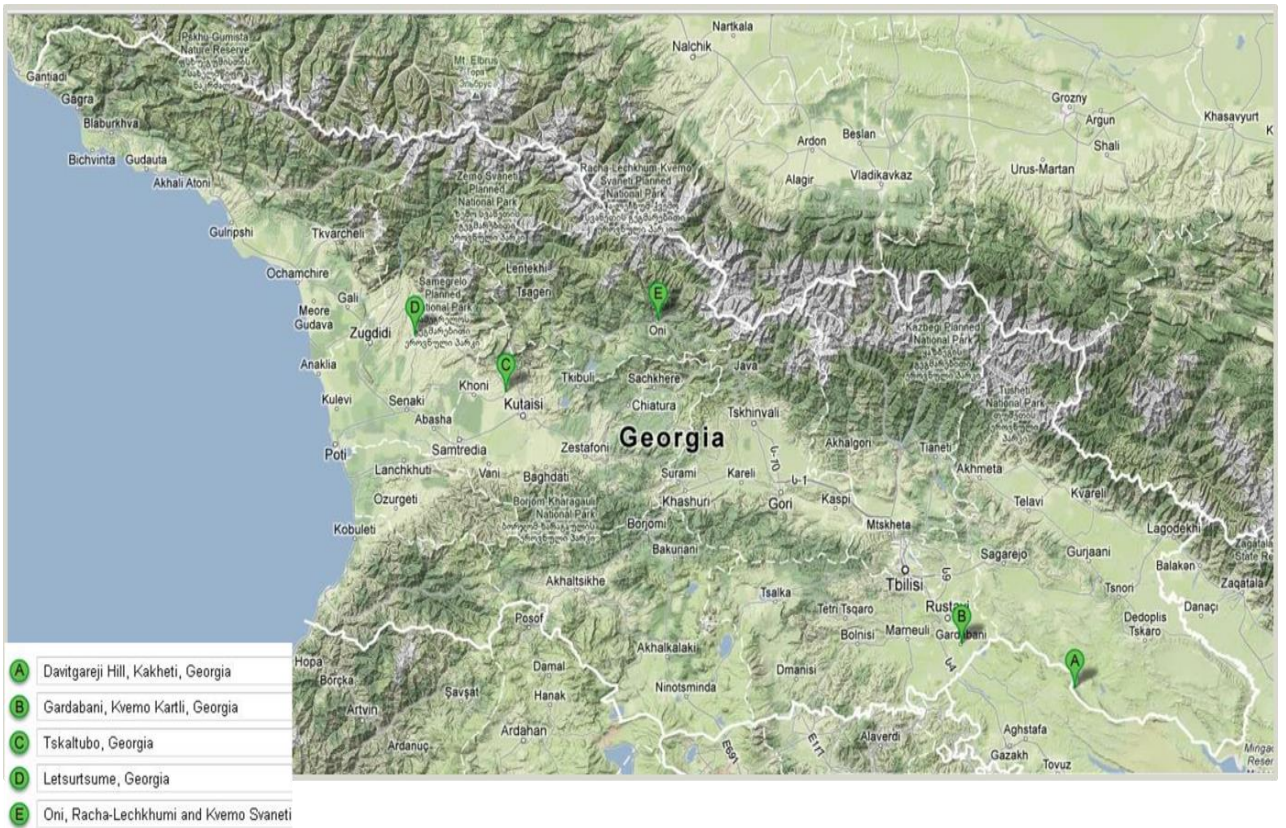
3.1. ხელფრთიანების პირველი შეგროვება და კვლევა საქართველოში

საქართველოში ბოლო 15 წელია ტარდება აქტიური საველე სამუშაოები თანამედროვე სტანდარტული მეთოდების გამოყენებით როგორცაა; ხელფრთიანთა კვლევა დეტექტორებით, ბადეებით, მიწისქვეშა და მიწისზედა თავშესაფრების დათვალიერება. ხელფრთიანთა თავშესაფრების კვლევით ქვეყნის მასშტაბით დაახლოებით 8 სხვადასხვა წერტილში, ნაპოვნია დაახლოებით 30 სხვადასხვა სახეობა (Natradsze I, et al. 2016) ცხრილი1.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ ექსპერიმენტებმა აჩვენეს რომ ლისავირუსის მხოლოდ ის შტამები შედის ცოფის საწინააღმდეგო ვაქცინაში, რომელიც ეკუთვნის I ფილოჯგუფს, II ფილოჯგუფში შედის დასავლეთ კავკასიის ღამურის ვირუსი (WCBV). რადგან ეს ვირუსი ნაპოვნია საქართველოს რუსეთის საზღვრიდან 300 კმ მოშორებით მოსალოდნელია რომ იგივე ვირუსი ცირკულირებდეს საქართველოში, პირველად საქართველოში CDC Atlanta-დან მოწვეულ კოლეგასთან მეცნიერ ივან კუზმინთან ერთად ვინც იყო *Miniopterus schreibersi*-ში დასავლეთ კავკასიის ღამურის ვირუსის (WCBV) აღმომჩენი (Kuzmin I, et al. 2005). ჩატარდა ღამურების პირველი შეგროვება საქართველოს ხუთი სხვადასხვა რეგიონის რვა წერტილში.

კვლევაში ასევე მონაწილეობას იღებდნენ, ილიაუნის უნივერსიტეტის ზოოლოგი ანდრეი ყანდაუროვი, მან დაგეგმა და შეადგინა კვლევის დიზაინი, ისე რომ არ დაზიანებულიყო ხელფრთიანთა განსაკუთრებული და იშვიათი სახეობები.

2012 წლის ივნისში საველე გასვლა მოხდა საქართველოს 8 სხვადასხვა წერტილში: იმერეთი; კერძოდ ჭიათურის და წყალტუბოს მღვიმეები, დავით გარეჯის და თეთრი სენაკების გამოქვაბულები, სამეგრელოს და რაჭის მღვიმეები ასევე გარდაბნის აღკვეთილი და შეგროვილი იქნა ერთი კოლონია მარტვილი (სამეგრელო-ზემო სვანეთი), სამი კოლონია წყალტუბო (იმერეთ), ერთი კოლონია გარდაბნის დაცული ტერიტორიები (ქვემო ქართლი), და სამი კოლონია დავით გარეჯი (კახეთი). ღამურების შეგროვება ხდებოდა სპეციალური გასაჭიმი ბადეების და ხელით საჭერი ბადეების მეშვეობით.



სურათი 5. GIS რუკა სადაც აღნიშნულია 2012 წელს ღამურების შესაგროვებლად შერჩეული 5 რეგიონი



*სურათი 6. ღამურების შენახვა და ტრანსპორტირება
ბამბის ნაჭრის ჩანთებით*

ხელფრთიანთა შეგროვების მეორე საველე გასვლა განხორციელდა 2014 წლის ივლისში და ოქტომბერში საველე სამუშაოებისას ხელფრთიანთა შეგროვება მოხდა ხელით, ხელბადით ან გასაკრავი ბადით შესწავლილ იქნა დამატებით ორი ლოკაცია. ნიმუშების შეგროვების სახეობების და რაოდენობის შესახებ ნებართვა აღებული იყო საქართველოს გარემოს დაცვის სამინისტროდან.

საველე გასვლებისას, დაჭერილი სახეობების იდენტიფიცირება ხდებოდა გარეგანი მორფოლოგიური მახასიათებლების მიხედვით. ღამურები სათითაოდ ან რამდენიმე სახეობების მიხედვით ლაგდებოდა ზამბის ნაჭრის ჩანთებში, (სახეობების ერთად ჩადება მნიშვნელოვანი იყო, რადგანაც ჩანთიდან ასევე გროვდებოდა ფეკალია კორონავირუსზე გასატესტად).

ნიმუშების აღება ხდებოდა საველე პირობებში შესაბამისი ბიოუსაფრთხოების



სურათი 7. მღვიმეში ღამურის შეგროვება სპეციფიური აღჭურვილობით

პირობების დაცვით .

კერძოდ შეგროვების დროს გამოიყენებოდა შემდეგი პირადი დაცვის აჭურვილობა: საწვიმარი გრძელი ლაზადა, რეზინის ჩექმები, ჩაფხუტი, სახის დამცავი ფარი, ნილაბი.

ღამურათა ნიმუშების სინჯებად განაწილების ფორმაში შეტანილი ინფორმაციის მიხედვით (რომელიც შეიქმნა ამ კვლევის ფარგლებში) - სქელი ტყავის ხელთათმანით და შემდგომში კორცანგის ან პინცეტის საშუალებით ხდებოდა ღამურების ამოღება და დალაგება დაფენილ ჰიგროსკოპიულ საფენზე, სახეობის დადგენა, სქესის, მხრის სიგრძის გაზომვა, აწონვა და შესაბამისი

ჩანაწერების გაკეთება. საველე ლაბორატორიაში დამუშავება ხდებოდა პლასტიკით მოპირკეთებულ მაგიდაზე, პროცედურა იწყებოდა ეუთანაზიით, 5 % იანი კეტამინით დაძინების შემდეგ, ნიმუშების აღება ხდებოდა შემდეგი თანმიმდევრობით

დამურების გაკვეთა:

დამურას არ ჭირდებოდა წინასწარი ხსნარებით დამუშავება,

- მუშაობისას საჭიროა მინიმუმ 2 წყვილი ინსტრუმენტის გამოყენება რათა დაცული ყოფილიყო დეკონტამინაციის დრო 30 წუთი.
- მაკრატელი და პინცეტი სუფთავდებოდა სველი ბამბის ტამპონით, 0,5 % იანი Bleach-ის ხსნარით 30 წთ. და 70⁰ სპირტით.
- სისხლის აღება: ხელფრთიანს დაფიქსირება ხდებოდა ფრთებით, გულმკერდის მხრიდან და ინსულინის ნემსის საშუალებით ვულვებით დაახლოებით 1 მლ სისხლს გულიდან, სისხლი მაშინვე გადაიტანებოდა, შრატის სეპარაციის წითელთავიან სინჯარაში.
- ნაცხების აღება ხდებოდა პირიდან და ანუსიდან. თავსდებოდა PBS იან VTM იან, შესაბამისად მარკირებულ სინჯარებში.
- შპრიცი ნემსით და სხვა ბასრი საგანი თავსდება ბასრი საგნების კონტეინერში.
- თავის ქალის გაკვეთისთვის დამურები ლაგდება ზურგით ზემოთ, მაკრატლითა და პინცეტით თავისუფლდებოდა კეფის ნაწილს კანისაგან და თმისგან. ინსტრუმენტები იწმინდებოდა სველი ბამბის ტამპონით, 0,5 % იანი Bleach-ს ხსნარით 30 წთ. და 70⁰ სპირტით. განივი განაკვეთი კეთდებოდა კეფის არეში, თავის ქალაზე და მოგრძო ტვინის არიდან , რუხ ნივთიერების გადაწვევის შემდეგ, ხდებოდა თეთრ ნივთიერების აღება და მოთავსება სპეციალურად მარკირებულ სინჯარაში.

სხეულის გაკვეთა:

დამურას ვათავსებთ პენოპლასტზე დაფენილ ცისფერ საფენზე, ფიქსირდება და იწყება გაკვეთა სხეულის ქვედა ნაწილიდან ზევით.

- ხდებოდა შემდეგი ორგანოების ამოღება: ფილტვები, თირკმელი, ელენთა, ღვიძლი, სწორი ნაწლავი, მკერდის კუნთი. თითოეულს თავსდებოდა,, შესაბამისად მარკირებულ სინჯარებში

შენიშვნა: მინდორში ნაპოვნი, უცნობი მიზეზით მკვდარი დამურის ლემის შემთხვევაში პროცედურები სრულდება ინდივიდუალურად.



სურათი 8. ხელფრთიანების დამუშავება საველე ლაბორატორიაში 2012



სურათი 9.საველე ლაბორატორიაში ეუთანაზია და ნაცხების აღება

2012 წელს სულ შეგროვდა 236 ღამურა

ნიმუშებიდან თავისუფალი ღამურის სხეული ინახებოდა 96° სპირტში, თავდახურულ კონტეინერში. კონტეინერს იმავე დღეს გადავცემდით ილიას სახელწიფო უნივერსიტეტის ზოოლოგებს, შემდგომი გენტიკური კვლევისთვის.

2012 წელს შეგროვილი ნიმუშები, მშრალი ყინულის საშუალებით ტრანსპორტირდებოდა ლუგარის ლაბორატორიის მიმღებში

2014 წლის საველე სამუშაოების დროს შეგროვდა 210 ხელფრთიანი, ამ შემთხვევაში მათი ტრანსპორტირება და ეუთანაზია ხდებოდა განსხვავებულ პირობებში. მშრალ ყინულზე მოთავსებული ღამურები სადაც ისინი დაბალ ტემპერატურაზე იძინებდნენ ტრანსპორტირდებოდა ლუგარის BSL3 ლაბორატორიაში პროცედურაში შეიცვალა ეუთანაზიის მეთოდი , პროცესი ხორციელდება ბიოუსაფრთხოების კაბინაში. სპეციალურად კვლევისთვის დამზადდა პლასტმასის ხუფიან ჭურჭელი, სადაც თავსდება დაახლოებით 5 ღამურა, ხუფი ონკანის საშუალებით მიერთებული იყო CO₂ -ის წყაროსთან . მოცემულ ჭურჭელს მილის ონკანის ჩამკეტით მიეწოდება აირი 5 წუთის განმავლობაში, 10 წუთის შემდეგ ღამურა იძინებდა, რის შემდეგაც იწყებოდა სისხლის ადების და გაკვეთის პროცედურები ისევე როგორც ზემოთ არის აღწერილი .



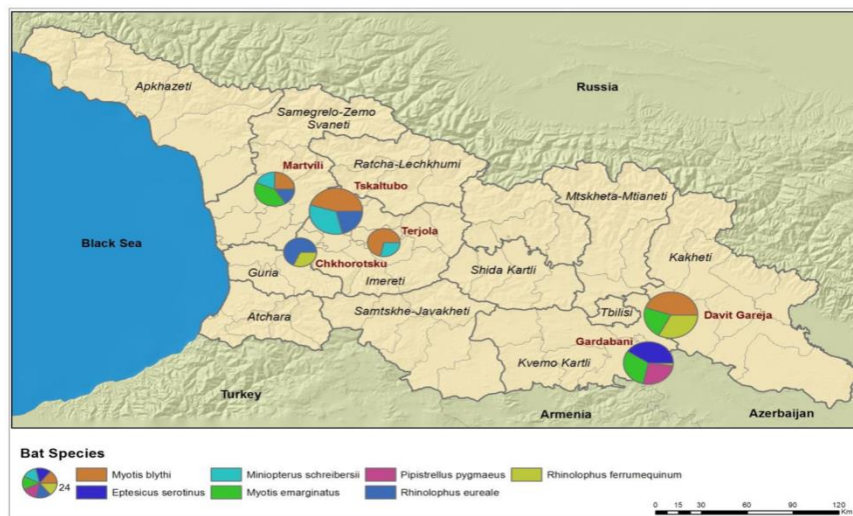
სურათი 10. ხელფრთიანების დამუშავება და ეუთანაზია ლუგარის ლაბორატორიაში 2014 წელი



სურათი 11. კვლევისთვის დამზადებული ეუთანაზიის ყუთი

3.1.1. ღამურის სახეობები ლოკაციის მიხედვით

ორივე საველე გასვლისას სულ შეგროვდა 446 ღამურა, რომელიც მოიცავდა 8 სხვადასხვა სახეობას; ჩვეულებრივი მეგვიანე-*Eptesicus serotinus* (*Vespertilionidae*; n = 20); ჩვეულებრივი ფრთაგრძელი-*Miniopterus schreibersii sensu lato* (*Miniopteridae*; n = 29); ყურწვეტა (წვეტყურა) მღამიობი-*Myotis blythii* (*Vespertilionidae*; n = 75); სამფერი მღამიობი-*Myotis emarginatus* (*Vespertilionidae*; n = 42); ულვაშა მღამიობი-*Myotis mystacinus* (*Vespertilionidae*; n = 1); პაწია ღამორი-*Pipistrellus pygmaeus* (*Vespertilionidae*; n = 13); სამხრეთული ცხვირნალა-*Rhinolophus euryale* (*Rhinolophidae*; n = 29); დიდი ცხვირნალა-*Rhinolophus ferrumequinum* (*Rhinolophidae*; n = 27). სახეობები ადგილმდებარეობის მიხედვით მოცემულია სურათი 12. GIS რუკაზე.



სურათი 12. ღამურების განაწილება სახეობების მიხედვით GIS რუკა

ეს ნიმუშები განაწილდა შესაბამის ლაბორატორიებში კვლევისათვის, ლისა და კორონავირუსზე და ნაწილობრივ ბართონელაზე კვლევა ჩატარდა დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრის ლუგარის ლაბორატორიაში, ხოლო ბრუცელას, იერსინიას, ლეპტოსპირას და ბართონელაზე კვლევის ნაწილი ჩატარდა ფორტ

კოლინსის და ატლანტის ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ლაბორატორიაში, ჰანტავირუსზე კვლევა განხორციელდა ჰავაის უნივერსიტეტის ლაბორატორიაში.

3.2. კვლევის ლაბორატორიული მეთოდები

3.2.1. ლისა ვირუსი

რადგანაც ცოფი ნეიროტროპული ვირუსია და სხვა ვირუსების მსგავსად, მისი პოვნა სისხლში არ შეიძლება, ამიტომ იდეალურ საკვლევ მასალას წარმოადგენდა ტვინის ქსოვილი.

ხელფრთიანთა ნიმუშების ცოფზე დიაგნოსტიკისთვის გაკეთდა ლისავირუსის კვლევის ოქროს სტანდარტი, dFA პირდაპირი ფლოურესცენტული ანტისხეულების ტესტი. იგი დაფუძნებულია ინფიცირებულ ცხოველში ცოფის ვირუსის ანტიგენის კვლევაზე. dFA ტესტის ერთ ერთი მნიშვნელოვანი რეაგენტია ფლოურესცენტულად მონიშნული ანტი ცოფის ანტისხეული. როცა მონიშნული ანტისხეული ინკუბირებს ცოფზე საექვო ტვინის ქსოვილთან, ხდება ანტიგენტან ბმის წარმოქმნა. ბმის გარეშე მყოფი ანტისხეულები გამოირეცხება, ანტიგენ ანტისხეულის კომპლექსი კი ფლოურესცენტული მიკროსკოპით ვიზუალიზდება მწვანე ნათებით. ცოფის ვირუსი არ არსებობის შემთხვევაში შედეგა არ მოხდება. ცოფის ვირუსი მრავლდება უჯრედის ციტოპლაზმაში, აინფიცირებს უჯრედს, და შეიძლება შეიცავდეს ნუკლეოპროტეინ N -ის დიდი რაოდენობის ოვალურ ჩანართებს, რომელთაც dFA ტესტისას, იმუნოფლოურესცენტული მიკროსკოპით დაკვირვებისას, აქვთ მტვრის ნაწილაკების მაგვარი მწვანე ნათება .

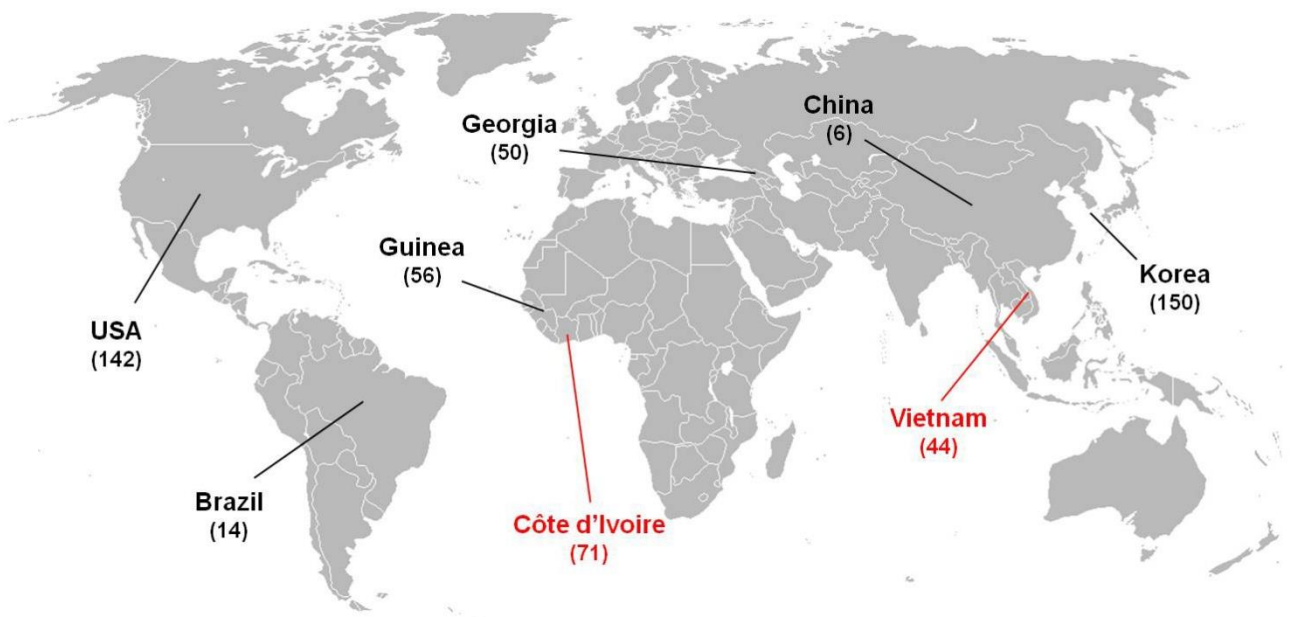
მონიშნული ანტისხეულები რიბონუკლეოპროტეინში სადაც ვირუსული ჩანართებია, გამოიცნობენ რნპ-ს ეპიტოპებს, წარმოიქმნება ანტიგენ ანტისხეულის

კომპლექსი. ვირუსულ ჩანართებს ახასიათებთ +4 ინტენსივობის მწვანე ვაშლის ნათება

აღნიშნული მეთოდით შესწავლილი იქნა 200 ხელფრთიანის ტვინი სადაც არ აღმოჩნდა არცერთი ლისავირუსის აქტიურ ინფექციასთან, მათ შორის დასავლეთ კავკასიის დამურის ვირუსთან ასოცირებული ანტიგენი.

3.2.2. ჰანტა ვირუსი

საქართველოს დამურების დაარქივებული 50 ფილტვის ნიმუში შესწავლილი იქნა ჰანტა ვირუსისი არსებობაზე RT-PCR ით. ნიმუშები არჩეული იყო შემთხვევითი პრინციპით (Yanagihara R., et al. 2014) ეს კვლევა იყო ჰავას უნივერსიტეტში ჩატარებული კვლევისა ნაწილი სადაც გამოკვლეულ იქნა საქართველოდან, ჩინეთი კორეა, გვინეა, ამერიკა, ბრაზილია, კოტ დიუარი, ვიეტნამიდან ჩატანილი ნიმუშები, რაოდენობები ასახულია რუკაზე 533 ნიმუშიდან უმეტესობა 310 იყო ფილტვი, დანარჩენი თირკმელი და რექტალური ნაცხი. ჰანტავირუსი რნმ გამოიყოფოდა PureLink Micro-to-Midi total RNA purification kit ით (Invitrogen, San Diego, CA) RT-PCR ის ანალიზისთვის გამოიყენებოდა ახლად დიზაინირებული ოლიგონუკლეოტიდური პრაიმერები.



სურათი 13. ჰანტას კვლევაში ჩართული ქვეყნები

არცერთი ღამურის რნმ-ში არ იქნა ნაპოვნი ჰანტავირუსი, რაც შეიძლება გამოწვეული იყოს მათი გენომის უკიდურესი ვარიაციებით, ან ნიმუშების მცირე რიცხოვნობით, არა შესაბამისი პრაიმერებით ან ნიმუშების არაშესაბამის პირობებში შენახვით ან ტრანსპორტირებით (ინახებოდა CDC ლაბორატორიაში ორი წელი და გადაიგზავნა ჰავაის ლაბორატორიაში)

შესაძლებელია იმის ვარაუდიც, რომ მღრღნელებისა და მიწისქვეშა მღრღნელებისგან (თხუნელა) განსხვავებით სადაც 50 % დადებითი იყო ჰანტა ვირუსზე, ღამურები მდგრადნი არიან ჰანტავირუსული ინფექციების მიმართ (Yanagihara, R. et al. 2014)

3.2.3. ბართონელას კვლევა

ა) კულტურის გამოყოფა

ხელფრთიანთა სისხლი ზავდებოდა BHI Brain Heart Infusion ით გულტვინოვანი ინფუზიური აგარის, 5% ფუნგიზონით სოკოს მოსაშორებლად (ამფოტერცინ B) (Kosoy MY, et al. 1997) ში აღწერილი პროტოკოლის მიხედვით ნიმუშის 100 მკლ ითესებოდა შოკოლადის აგარზე, ერთ თეფშზე სამი სხვადასხვა ნიმუში. შემდეგ თავსდებოდა ინკუბაციაზე 35 °Cზე და 5% CO₂ . შემდეგი ხუთი კვირის განმავლობაში ხდებოდა დაკვირვება ბართონელასთვის მორფოლოგიურად დამახასიათებელ ნაზარდაზე, რომელიც შემდეგ გადაითესებოდა ახალ ფინჯანზე სუფთა კულტურის მისაღებად მნიშვნელოვანი იყო რომ მესამე დღესვე აღინიშნა საინტერესო და გადასათესი კოლონიები. საბოლოოდ ყველა აღებული იზოლატი თავსდებოდა და ინახებოდა 10 % იან გლიცეროლის ხსნარში.

ნედლი დნმ-ს ექსტრაქცია ხდებოდა მიკროორგანიზმების სუსპენზიის გაცხელებით 25 წუთი 95°ზე. შემდეგნაირად

- 500 მკლ TE ბუფერს ვასხამდით 1.5 მლ მიკრო ცენტრიფუგის სინჯარებში
- ფინჯნიდან გადაგვქონდა კულტურა
- ვორტექსის საშუალებით ვანჯღრევდით 15 წამის განმავლობაში და ვახდენდით ინკუბაცია 95°C –ზე 25 წუთის განმავლობაში. იმისათვის რომ, სინჯარების

გახსნისგან დაგვეცვა თავი, სინჯარებზე ვაფიქსირებდით გამათბობელი ბლოკის თავსახურს

- ვაცენტრიფუგებდით (10000 x g (14000 rpm) 5 წუთის განმავლობაში
- გადაგვექონდა 400მკლ სუპერნატანტი ახალ 1.5 მლ მიკრო ცენტრიფუგის სინჯარებში. მიღებულ დნმ ნიმუშზე ტარდებოდა სტერილობის ტესტი

პოლიმერაზულ ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ) განხორციელდა PCR Thermal Cycler Dice აპარატზე, gltA პრაიმერებით; BhCS781.p (5'-GGGGACCAGCTCATGGTGG-3') და BhCS1137.n (5'-AATGCAAAAAGAACAGTAAACA-3') (Takara Bio Inc., Japan) and C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Berkeley, CA). თითოეული პჯრ ცდაში დადებით კონტროლად, აღებული იყო B. Doshiae რათა შეფასებულ ყოფილიყო შესაბამისი ზომის ამპლოკონის არსებობა, ხოლო უარყოფითი კონტროლი ნუკლეაზებისგან თავისუფალი წყალი რათა გამორიცხული ყოფილიყო რეაგენტების კონტამინაცია.

დადებითი პჯრ პროდუქტების გაწმენდა ხდებოდა QIAquick PCR purification Kit (Qiagen, Valencia, CA) და სექვენსის რეაქცია ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). ფორვარდ და რევერს თანმიმდევრობების რიდები აწყობილ იქნა SeqMan Pro program in Lasergene v. 11 (DNASTAR, Madison, WI)

ბ) ბართონელას ფილოგენეტიკური ანალიზი

ბართონელას არსებობის ვერიფიკაციისთვის ხდებოდა თითოეული შესაბამისი gltA სექვენსის A BLAST ში თანმიმდევრობის ჰომოლოგიების განსაზღვრა (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) გენბაკის მონაცემთა ბაზაში დადებითი სექვენსების შეპირისპირება და ურთიერთსწორება მოწმდებოდა გენბანკში არსებულ იმ ბართონელას შტამებთან, რომლებიც მოიცავდა სხვადასხვა ადრეული კვლევებისას ხელფრთიანებიდან მიღებულ რეფერენს შტამებს.

ურთიერთსწორება ხდებოდა MAFFT v7.187 მაქსიმალური სიზუსტით L-INS მეთოდით (Bai Y, et al. 2010).

ოპტიმალური შესაფასებელი მოდელი შეპირისპირებული სექვენსებისთვის განისაზღვრებოდა ModelTest2 v2.1.6.(Podsiadly E, et al. 2010) (AICc) მოდელის შესარჩევად გენეტიკური კავშირების დადგენის მიზნით, Akaike Information (AIC) და Bayesian Information (BIC) შემფასებელი კრიტერიუმების გამოყენებით, საუკეთესო მოდელად შერჩეულ იქნა ML ალგორითმი. ამ მოდელის დანერგვა მოხდა სისტემური შეცდომების საპოვნად BEAST v1.8.3 (Drummond AJ, Rambaut A, 2007, Drummond AJ, et al. 2012) არჩეულ იქნა ზუსტი მოლეკულური საათი რადგან ბართონელას სექვენსები საქართველოს ხელფრთიანებიდან გამოყოფილი იყო ერთი და იგივე დროს. ეს ხე შემდგომში იყო ვიზუალიზირებული და გარედაქტირებული FigTree v1.4.2 ის გამოყენებით (Rambaut A, et al. 2014) სექვენსის შეპირისპირება მოხდა MAFFT და ფილოგენეტიკური ანალიზი BEASTით გაშვება მოხდა XSEDE ის გამოყენებით (Townes J, et al. 2014). შეფასება კი CIPRES Science Gateway-ს სისტემით (Miller MA, et al. 2010).

გ) ბართონელას რეფერენს შტამების მულტი ლოკუს ტიპირება MLST

ბართონელას დახასიათებისთვის დამატებით იქნა გამოკვეთილი ხუთი გენეტიკური ლოკუსი (ftsZ, gltA, nuoG, rpoB, and groEL) gltA გენის ვარიაციაზე დაყრდნობით გამოკვლეულ 21 იზოლატში რომელიც 19 სხვადასხვა გენოჯგუფში დაჯგუფდა. გენოჯგუფები Vesp-7, Vesp-13 და Rhin-3 არ იყო გაანალიზებული MLST . Vesp-6 ჯგუფის სამი იზოლატი კი შეირჩა ანალიზისთვის გენოჯგუფებს შიგნით ვარიაციების შესამოწმებლად. გამოქვეყნებული პუბლიკაციებიდან იქნა შერჩეული პრაიმერები და ციკლების პირობები (Bai Y, et al. 2015) (La Scola B, et al. 2003) (Piksa K, et al. 2006). მიღებული სექვენსები შეპირისპირდა ბართონელას რეფერენს შტამებთან და სხვა ხელფრთიანებიდან მიღებულ ბართონელას შტამებთან MAFFTით v7.187 L-INS-i მეთოდის გამოყენებით (Bai Y. et al. 2011) თითოეული მარკერისთვის მოხდა ევოლუციური მოდელის შერჩევა კონკატენანტური სექვენსებისთვის jModelTest2 v2.1.6 გამოყენებით (Bai Y, et al. 2012) AICcზე დაყრდნობით (Kosoy MY, et al. 2004) ბაიაზური ხე შეიქმნა BEAST v1.8.3 (Anh PH et al. 2015). პროგრამით და იგივე რესურსებით როგორც ზემოთ არის აღწერილი gltA

სექვენსის ხისთვის. ასევე მაქსიმალურად მსგავსების ალბათობით შეიქმნა ფილოგენეტიკური ხე GTRCAT მოდელის გამოყენებით RaxML ში (Bogdanowicz W. et al. 2013). ფილოგენეტიკური დაჯგუფებები შეიქმნა NeighborNet ალგორითმის გამოყენებით SplitsTree v4.13.1 ში (Mannerings AO, et al. 2016). გენოჯგუფებში რეკომბინციული მტკიცებულების საპოვნელად მოხდა წყვილი ჰომოპლაზიური ინდექსის გამოთვლა (Jaenson TG, et al. 1994) ყველა უნიკალური სექვენსები იქნა ატვირთული გენბანკში მისაღები საწვდომი ნომრით accession numbers KX300105-KX300201 ცხრილი 5.

3.2.4. მულტიბაქტერიული კვლევა : ბართონელა, ლეპტოსპირა, ბრუცელა, იერსინია

სხვადასხვა ბაქტერიებზე კვლევისთვის მოსამზადებლად ხდებოდა თითოეული ხელფრთიანის ელენთის, თირკმლის და სწორი ნაწლავიდან მოჭრილი მცირე ზომის ქსოვილის დაახლ 10 მილიგრამის, ჰომოგენიზაცია Bullet Blender® Gold homogenizer (Next Advance, Averill Park, NY)-თი, ჰომოგენატიდან დნმ-ის ექსტრაქცია ხდებოდა QIAextractor (Qiagen, Valencia, CA)-ით ქსოვილის დამუშავების ოქმის გამოყენებით.

თირკმლიდან გამოყოფილი დნმ გაანალიზებული იყო ბართონელაზე და ლეპტოსპირაზე, ელენთიდან გამოყოფილი დნმ ბრუცელაზე და იერსინიაზე, ნაწლავის დნმ კი მხოლოდ *Yersinia* ზე.

ამ პათოგენების მოლეკულური კვლევისთვის გამოყენებული იქნა ჩვეულებრივი პჯრ-ს მეთოდი C1000 თერმოციკლერით (Bio-Rad, Hercules, CA). პჯრ მყისიერ დროში მეთოდით ჩატარდა CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, Hercules, CA.) აპარატზე.

ბართონელასთვის სამიზნე გენების ზომა იყო 16S – 23S internal transcribed spacer (ITS). ბრუცელასთვის IS711, რადგან ამ ბაქტერიის ყველა გენი შეიცავს 10 დან 40 ნუკლეოტიდამდე ჩართულ კონსენსუსურ თანმიმდევრობას, insertion sequence (IS711), და მისი ლოკაციის მიხედვით შეიძლება განვასხვავოთ ბრუცელას სახეობა.

ლეპტოსპირასთვის, სამიზნე გენი იყო ლიპოპროტეინი (lipL32) იგი ლეპტოსპირას ვირულენტურობის და პათოგენურობის განმსაზღვრელი 423 bp ზომის სამიზნე გენია. იერსინიასთვის, პეპტიდოგლიკან-ასოცირებული ლიპოპროტეინის გენი peptidoglycan-associated lipoprotein (pla) რადგან, ამ გენს უკავშირდება ამ პათოგენის ვირულენტობის უნარი.

ITS (შიდა ტრანსკრიპციული უბნები) განისაზღვრა ჩვეულებრივი პჯრ მეთოდით. IS711, pla და lipL32 მალტიპლექს პჯრ-ით რეალურ დროში პროტოკოლების მიხედვით (Halling et al., 1993; Stoddard, 2009; Diniz et al., 2007). შედეგი დადებითად ითვლებოდა, როდესაც დნმ ფლოურესცენტული მრუდი კვეთდა 36 ციკლის ჩათვლით ზღურბლს (Threshold), Ct<36

ბრუცელაზე მულტი ბაქტერიული კვლევისას პჯრ-თი დადებითი 4 ბრუცელას ნიმუში შემდგომი იზოლაციისთვის და ღრმა მოლეკულური ანალიზისთვის გადაიგზავნა ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრის ლაბორატორიაში, ატლანტა რებეკა ტილერის მიერ.

საიდანაც მივიღეთ კვლევის შემდეგი თანმიმდევრობა და შედეგები

ჰომოგენიზებული ელენთას პატარა ქსოვილები გრინდერში მუშავდებოდა და ითესებოდა გულის ინფუზიურ ბულიონში; ინკუბაცია 37°C ზე 5% CO₂ 3 დღის განმავლობაში. შემდეგ ხდებოდა გადათესვა 100 მკლ ბულიონის ზრდაზე შერჩეულ და SBA აგარის ნიადაგზე; ინკუბაცია 37°C ზე 5% CO₂ 3 დღე. გამოიყო ბრუცელაზე სავარაუდო კოლონიები სუფთა კულტურების მისაღებად.

მათზე ჩატარადა სხვადასხვა მგრძნობელობის ტესტებიმათ შორის: სრული გენომის სნეპ SNP (single nucleotide polymorphism) ასევე Multi-locus Sequence Typing (MLST)

ლეპტოსპირას დნმ ზე (lipL32) რეალურ დროის პჯრ-ით ამპლიფიცირებული ნიმუშები, შემდგომში დაიდგა ჩვეულებრივ პჯრ-ზე სადაც სამიზნე გენი ისევ LipL32 იყო, მაგრამ გამოყენებული იქნა ნუკლეოტიდების თანამიმდევრობის (სექვენსის) განსაზღვრისათვის საჭირო პრაიმერები. (D'AndreaI, et al. 2014). ყველა პრაიმერის თანამიმდევრობა და პრობის შესახებ ინფორმაცია არის მოცემული ცხრილი .2

აგენტი	სამიზნე გენი	პჯრ-ის ტიპი	პრაიმერის/პრობის თანამიმდევრობები
<i>Bartonella</i>	ITS	ჩვეულებრივი	პირდაპირი: CTT CAG ATG ATG ATC CCA AGC CTT CTG GCG
			შებრუნებული: GAA CCG ACG ACC CCC TGC TTG CAA AGC A
			Forward: GCT TGA AGC TTG CGG ACA GT
<i>Brucella</i>	IS711	რეალური დროის	Reverse: GGC CTA CCG CTG CGA AT
			Probe: AAG CCA ACA CCC GGC CAT TAT GGT
			Forward: CGC AAA TAA TGA CCA ATC TGG
<i>Yersinia</i>	Pal	რეალური დროის	Reverse: CGT GGC CTT CAA CAA CAA C
			Probe: CGG TTC TGA CTT CGC TCA AAT GCT GG
			Forward: AAG CAT TAC CGC TTG TGG TG
<i>Leptospira</i>	lipL32	რეალური დროის	Reverse: GAA CTC CCA TTT CAG CGA TT
			Probe: AA AGC CAG GAC AAG CGC CG
<i>Leptospira</i>	lipL32	ჩვეულებრივი	Forward: CGC TGA AAT GGG AGT TCG TAT GAT T
			Reverse: CCA ACA GAT GCA ACG AAA GAT CCT TT

ცხრილი 2. კვლევაში ჩართული პრაიმერების ჩამონათვალი

ამ კვლევაში იერსინიას დეტექციისთვის შეიქმნა სპეციფიური Pla გენისათვის სპეციფიკური პრაიმერები და პრობები (M. Diaz, unpublished data). პჯრ პროდუქტებში ამპლიკონების არსებობა გაანალიზებული იყო ელექტროფორეზით 1,5 % აგარის გელზე GelGreen stain (Biotium, Hayward, CA). პოტენციურ დაბინძურების

განსასაზღვრად თითოეული პჯრ -სთვის იდგმებოდა უარყოფითი და დადებითი კონტროლი

ა) ბართონელას და ლეპტოსპირას სახეობების სექვენსი და ფილოგენეტიკური ანალიზი

Bartonella (ITS) და Leptospira (lipL32) ზე დადებითი ხელფრთიანებიდან აღებული ნიმუშებში შემდგომში მოხდა ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის განსაზღვრა (სექვენსი). პჯრ პროდუქტის გაწმენდა მოხდა QIAquick PCR Purification Kit-ით მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით და ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა განისაზღვრა ორივე მიმართულებით ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) ის გამოყენებით.

ფორვარდ და რევერს თანამიმდევრობა აეწყო SeqMan Pro program in Lasergene v12 ით. ამ კვლევიდან მიღებული თანამიმდევრობები შეედარა ერთმანეთს და გენბანკში არსებულ თანამიმდევრობების მონაცემებს. შეფარდების და თანხვედრის შეფასება მოხდა გლუსტალის ალგორითმით და მეგალაინის პროგრამით ლაზერჯინზე. შედეგები აიტვირთა გენბანკში.

თანამიმდევრობის განსაზღვრა განხორციელდა სანგერის მეთოდით (როგორც ამშემთხვევაში ასევე კორონავირუსის კვლევისთვის). ეს მეთოდი, პირველად გამოყენებული და შემუშავებული იქნა ფრედ სანგერის (Fred Sanger) მიერ 1977 წელს. მაღალი სიზუსტისა და სიმარტივის გამო ეს მეთოდი ათწლეულების მანძილზე წარმატებით გამოიყენებოდა. მიუხედავად იმისა, რომ ტექნოლოგიები იხვეწება და დღეისათვის ახალი თაობის სექვენირება სულ უფრო და უფრო წამყვან როლს იკავებს ბიოლოგიურ მეცნიერებაში, სანგერის მეთოდით თანამიმდევრობის განსაზღვრა კლასიკური მეთოდია. ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობის განსაზღვრა ლაბორატორიული კვლევების ფუნდამენტური მიდგომაა და ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მეთოდს წარმოადგენს ორგანიზმებს შორის ფილოგენეტიკური კავშირებისა და განსხვავებების დასადგენად. იგი გულისხმობს ფლორესცენტული საღებავებით მონიშნული ნუკლეოტიდების ქიმიური ანალოგების

(დიდეზოქსინუკლეოტიდები A, C, T, G) გამოყენებას ფერმენტ დნმ-პოლიმერაზას ინჰიბირებისთვის. ამ გზით კი იწვევენ დნმ-ის სხვადასხვა ზომის ფრაგმენტების დიდი რაოდენობით მიღებასა და მისივე მზარდი ჯაჭვის ტერმინაციას. თანამიმდევრობის განსაზღვრა იწყება პჯრ-ის სტანდარტული ციკლებით, რასაც მოსდევს მიღებული პროდუქტების ქიმიური გაწმენდა და რეაქციის გაგრძელება კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემაზე, სადაც მაღალი ძაბვის ქვეშ მიმდინარეობს დნმ ფრაგმენტების განცალკავება. პროდუქტები ზომების შესაბამისად განლაგდებიან და კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემაში გავლის შემდეგ მათ ბოლოზე არსებული ფლუორესცენტული სიგნალი ლაზერის ABI კაპილარული სექვენატორი (Rambaut A, et al. 2014) მეშვეობით აღიქმება. მიღებული შედეგები მუშავდება სპეციალური პროგრამული უზრუნველყოფით

3.2.5. კორონავირუსის კვლევა

რნმ ის გამოსაყოფად შერჩეულ იქნა 140 მკლ ვირუსის სატრანსპორტო ნიადაგში ჩადებული 162 ანალური ნაცხის ნიმუში და 26 ფეკალია, რომელიც წინასწარ შემდეგი გზით იყო დამუშავებული

ფეკალიის პირველადი დამუშავება

- თითოეულ სინჯარას ემატებოდა 1 მლ PBS, 0.3გ მინის ბურთულები და 0.2მლ ქლოროფორმის ხსნარი.
- თავდახურულ ცენტრიფუგის სინჯარები ძლიერად ინჯღრეოდა მექანიკური სანჯღრევით, 20 წუთი.
- ცენტრიფუგირება 20 წუთი 1500 გ-ზე+4⁰
- ნალექზედა სითხე გადაგვექონდა შესაბამისად დანომრილ კრიოსინჯარაში. (თუ ნალექზედა სითხე არ იყო საკამარისად სუფთა, ისევ ვამუშავებდით ქლოროფორმით)

სინჯარას ვინახავდით -20⁰-ზე, ან პირდაპირ ვამზადებდით რნმ-ის გამოსაყოფად.

ექსტრაქციის მიზნით გამოიყენებოდა რნმ-ის გამომყოფი ნაკრები – QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) .

პროცედურა ტარდებოდა შემდეგი თანმიმდევრობით

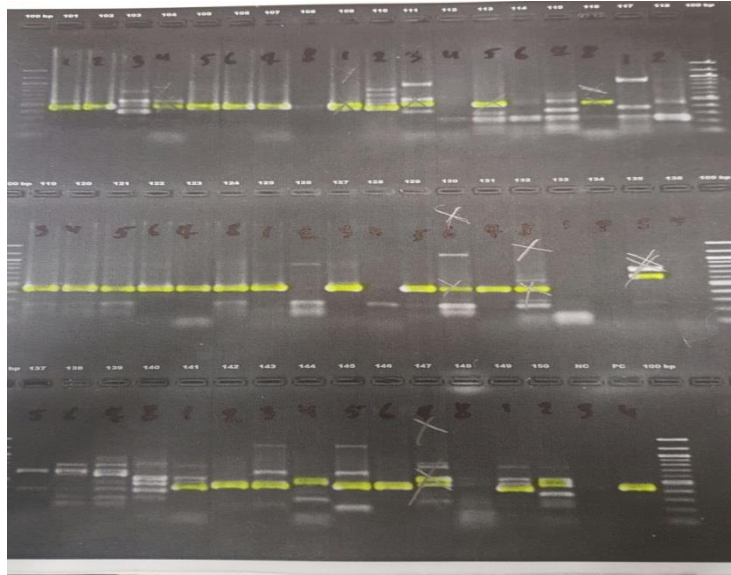
- 140 მკლ სუსპენზიის ნიმუშს ემატებოდა 20 მკლ პროტეინაზა-K და იდებოდა 560 მკლ ლიზისის ბუფერში (AVL);
- ნარევის შენჯღრევის შემდეგ ხდებოდა მისი ინკუბაცია 56°C-ზე 10წთ-ის განმავლობაში.
- ინკუბაციის შენდეგ ნარევის ემატებოდა 500 მკლ ეთილის სპირტი
- ხდებოდა მისი გადატანა მემბრანაიან სვეტზე და ცენტრიფუგირება 8000 ბრ/წთ, 1 წთ. ამის შედეგად საკვლევი ნიმუშის რნმ რჩებოდა დაკავშირებული სვეტის მემბრანასთან;

ლიზატის მინარევების მოშორების მიზნით სვეტს ემატებოდა 500 მკლ პირველი გამრეცხი ბუფერი (AW1) და ხდებოდა ცენტრიფუგირება 8000 ბრ/წთ, 1 წთ;

- შემდეგ ეტაპზე სვეტს ემატებოდა 500 მკლ მეორე გამრეცხი ბუფერი (AW2) და
- ცენტრიფუგირდებოდა მაქსიმალურ სიჩქარეზე 14000 ბრ/წთ, 3 წთ;
- 5 სუფთა სინჯარში გადატანის შემდეგ სვეტს ემატებოდა 60მკლ ელუციის
- (გამხსნელი) ბუფერი (AE), ინკუბირდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე 1 წთ და
- ცენტრიფუგირდებოდა 8000 ბრ/წთ, 1 წთ; მიღებული ექსტრაქტი შეიცავდა სუფთა რნმ-ს, რომელიც ხანგრძლივად ინახებოდა -200C-ზე.

კორონავირუსის არსებობა ღამურების ნიმუშებში დადგინდა RdRp სამიზნე გენით 180 bp ფრაგმენტის ამპლიფიცირების რეაქციით [Lelli D, et al. 2013) ის პუბლიკაციის მიხედვით. პან კორონავირუსის ერთსაფეხურიანი RT-PCR მეთოდით დეგენერატიული, სპეციფიკურად დიზაინირებული პრაიმერებია (IZS-CoV forward 5'-CDCAYGARTTYTGYYTCNCARC-3' და IZS-CoV reverse 5'-RHGGRTANGCRTCWATDGC-3') (Lelli D, et al., 2013)

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ RdRp გენი იყო გამოყენებული კორონავირუსის სპეციფიკური გენის შესასწავლა და მასთან ერთად გამოვიყენეთ უფრო დიდი სამიზნე 440 bp იანი ფრაგმენტი (Dominguez, S.R. et al. 2007) ამპლიფიკაცია ტარდებოდა თერმოციკლერში TC-5000, Techne, შემდეგი პირობებით: 1 ციკლი 50 °C ზე 30წთ უკუ ტრანსკრიპცია, საწყისი პჯრ აქტივაციის საფეხური 1 ციკლი 95 °C ზე



სურათი 14. კორონავირუსის კვლევის, გელი ელექტროფორეზის სურათი.

დენატურაცია 50 ციკლი 30 წ 94 °Cზე, პრაიმერ სუბსტრატის დაკავშირება 50 ციკლი 30წთ 48 °C ზე და ამპლიფიკაცია 50 ციკლი 1 წთ 72 °Cზე და საბოლოო ელონგაცია 72 °C ზე 10 წთ. დაყოვნება 4 °C .

მიღებული პროდუქტის ხარისხის შესამოწმებლად ხდებოდა მისი ვიზუალიზაცია გელ ელექტროფორეზის მეშვეობით ნიმუშები ითვლებოდა პჯრ დადებითად რომლებიც 385-440-bp თან იყო ახლოს.

გელიდან მიღებული პროდუქტის გაწმენდა ხდებოდა შესაბამისი დადებითი ხაზების ამოჭრა გელიდან QIAGEN MiniElute® Gel Extraction Kit (250) -ით

- სკალპელის საშუალებით იჭრებოდა შესაბამისი ზომის ხაზი გელიდან
- გელი ამოჭრილ ნაწილის აწონის შემდეგ, ემატებოდა 3 მოცულობა QG 1 მოცულობა გელს

- ინკუბაცია 50° 10 წუთი, პარალელურად ყოველ 2 წუთში ხდებოდა დავორტექსება გელის სრულად გახსნამდე შემდეგ ემატებოდა ერთ მოცულობა იზოპროპანოლი ფრთხილად დაპიპეტირებით ესხმებოდა ფილტრიან სვეტზე, 2მლ შესაგროვებელ სინჯარაში და ცენტრიფუგირდებოდა 1 წთ 13000 rpm ზე
- დაცენტრიფუგების შემდეგ შესაგროვებელი სინჯარიდან სითხე იღვრებოდა და იდებოდა ფილტრიანი სვეტში და თუ მოცულობა 600 მკლ ზე მეტია ორჯერ ვატრიალებდით
- თუ დნმ-ის თანამიმდევრობის განსაზღვრისათვის გასუფთავებული პროდუქტი სწრაფად უნდა გამოგვეყენებინა ვამატებდით 500 მკლ ბუფერ QG ს და ვაცენტრიფუგირებდით 1 წთ 1300 rpm ზე
- შემდეგ ირეცხებოდა 750 მკლ PE ბუფერის დამატებით, ისევ ცენტრიფუგირდებოდა
- სუფთა სინჯარაში გადატანის შემდეგ დნმ-ის ელუციისთვის სვეტს ემატებოდა ჩამოსახნელი EB 50 მკლ

ამპლიკონების გაწმენდა წარმოებდა საცინულეში გაციებული ჯერ 100%, ხოლო შემდგომ 70% იზოპროპანოლით პრეციპიტაციით: პლანშეტის ყველა ფოსოში მრავალარხიანი პიპეტით შეგვეკონდა 150 მკლ 100%, ხოლო შემდგომ 70% იზოპროპანოლი. პლანშეტს ზემოდან ეფარებოდა ფირი და თითოეულ ჯერზე ხდებოდა ცენტრიფუგირება 4100 rpm ბრუნზე 30 წთ-ის განმავლობაში +4°C ზე. ბოლოს ხდებოდა ცარიელი პლანშეტის ამობრუნებულ მდგომარეობაში დატრიალება 1 წთ 185 გ ბრუნზე. გასუფთავების ამ ბოლო ეტაპის შემდეგ ამპლიკონები იხსნებოდა 10 მკლ ნუკლეაზასგან გასუფთავებულ წყალში. შემდეგ ეტაპზე ხდებოდა ორი Big Dye სარეაქციო არეს მომზადება ცალკე ფორვარდ და ცალკე რევერს პრაიმერისთვის შემდეგნაირად: Big Dye Terminator v3 -1 მკლ, პრაიმერების ნარევი (10 პმოლ/მკლ) - 0,3 მკლ და 5,7 მკლ H₂O. ამპლიფიკაცია ტარდებოდა თერმოციკლერში TC-5000, Techne, შემდეგი პირობებით: საწყისი დენატურაცია 96 °C 1 წთ დენატურაცია 96 °C 10 წმ ამპლიფიკაცია 50 25 ციკლი °C 5 წმ ელონგაცია 60 °C 4 წთ დაყოვნება 4 °C მიღებული პროდუქტის გაწმენდა წარმოებდა ისევ იზოპროპანოლის მეშვეობით იგივენაირად, როგორც ეს ამპლიკონების პირველი გაწმენდისას ხდებოდა. თუმცა

განსხვავდებოდა ბოლო ეტაპი, კერძოდ, ამპლიკონების გახსნა ხდებოდა 10 მკლ (Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T, 2010) ფორმამიდში, რომლის შემდეგაც პლანშეტს ვათავსებდით თერმოციკლერში 2 წთ 94°C - ზე შემდგომი დენატურაციისთვის. დენატურირებული ამპლიკონები გადაგვქონდა ახალ, სპეციალურ 96 ფოსოიან ABI პლანშეტზე და ვიწყებდით თანამიმდევრობის განსაზღვრას Hi-di გელისა და 50 სმ სიგრძის კაპილარების გამოყენებით. ანალიზი ABI Prism 3130 XL პლატფორმაზე მიღებული მონაცემების პროგრამული დამუშავება და კონტიგების აწყობა ხდებოდა Sequencher 5.0 ში

პან კორონავირუსის, ერთ საფეხურიანი (უკუ ტრანსკრიპტაზა) RT PCR ით დადებითი კორონავირუსის, ნიმუშები გაიწმინდა და თანამიმდევრობის განსაზღვრა მოხდა ორივე მიმართულებით რომ დარწმუნებულიყავით თანამიმდევრობის სიზუსტეში. შესწორებების შეტანა მოხდა Sequencher® ის პროგრამით (ვერსია 5.3; Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA). თანამიმდევრობის ჰომოლოგიის განსაზღვრა განხორციელდა NCBI BLAST ში რათა გვეპოვა CoV შესაბამისი თანამიმდევრობა და შემდეგ გაიგზავნა გენბანკში დეპოზიტ ნომრის მისაღებად.

ა) კორონავირუსის ფილოგენეტიკური ანალიზი

ყველა თანამიმდევრობების მონაცემი შევიდა NCBI გენ ბანკის ბაზაში. ბლასტ (BLAST) ოფციის გამოყენებით, შერჩეულ იქნა ამ კვლევიდან მიღებული 46 თანამიმდევრობა და 70 გენბანკიდან გადმოტანილი ის რეფერენს თანამიმდევრობა , რომლებიც საუკეთესო კანდიდატები აღმოჩნდნენ ქართულ იზოლატებთან, ძირითადი მსგავსების კრიტერიუმის და GenBank ში NCBI's MOLE-BLAST მრავლობითი შეთავსებადი (MUSCLE) ის გამოყენებით (Dominguez, S.R et al. 2007) (Altschul SF, et al. 1997)

მოლეკულურ მონაცემთა ევოლუციური შეფასებისთვის, ასევე შეპირისპირდა *Alphacoronavirus* და *Betacoronavirus* ების 116 თანამიმდევრობა, 70 გენბანკიდან აღებული რეფერენს კანდიდატების თანამიმდევრობებთან, რომლებიც შეიცავდნენ ორივე გვარის წარმომადგენლებს, რომლებიც ყველაზე ხშირად გვხვდება ლამურებში.

საბოლოო ურთიერთსწორება მოხდა 411 ნწ სიგრძეზე, ბოლოები ჩამოიჭრა და ჩაითვალა დაკარგულ მონაცემებად, შეპირიპირების ანალიზი მოხდა PAUP* (v4; Swofford and MrModelTest2 მოდელის გამოყენებით (Maddison WP., et al. 1989) გენეტიკური კავშირების დადგენის მიზნით, Akaike Information (AIC) და Bayesian Information (BIC) შესაფასებელი კრიტერიუმების გამოყენებით, საუკეთესო მოდელად შერჩეულ იქნა ML ალგორითმი. ამავე შესაფასებელი კრიტერიუმების მიერ, შერჩეულ იქნა JC მოდელი. უბნებს შორის, სექვენსის ვარიაციების სისწრაფის არაერთგვაროვნება, გამოთვლილ იქნა დისკრეტული გამა განაწილების მეთოდის მეშვეობით (Gamma distribution (+G)). ხოლო მიკროსატელიტების ანალიზი და ფილოგენეტიკური ხის აწყობა მოხდა MEGA 6 პროგრამის გამოყენებით (e Muscle algorithm in MEGA6 ის პროგრამით (Tamura K, et al. 2013)

მაქსიმალურ მსგავსებაზე დამყარებული ფილოგენეტიკური ანალიზი, ჩატარდა MEGA6 with GTR+I+G მოდელის და ბუტსტრაპის (bootstrap) მეთოდის (1000 რეპლიკა) გამოყენებით. ნუკლეოტიდებზე დაფუძნებული ფილოგენეტიკური ანალიზი, ჩატარდა Neighbor joining (NJ) და Maximum Likelihood (ML) მეთოდების ალგორითმებით (Kuhls K, et al. 2005). უბნებს-შორისი ვარიაციები მოდელირებულ იქნა გამა განაწილების მეშვეობით (Gamma distribution shape parameter = 1) წყვეტილი უბნების ნაწილობრივი დელეციით.

4. შედეგები

4.1. კორონავირუსის კვლევის შედეგები

რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზას გენი - *RdRp* გენი 188 ხელფრთიანის ნიმუშიდან ნაპოვნია 46 ნიმუშში ანუ 24% ში. დადებითი ნიმუშები აღმოჩნდა 5 სხვადასხვა სახეობის ღამურებში (*Miniopterus schreibersii*, *Myotis blythii*, *Myotis emarginatus*, *Rhinolophus euraeale*, *Rhinolophus ferrumequinum*) დადებითი ღამურები შეგროვილი იყო 5 სხვადასხვა წერტილიდან

სახეობა	ოჯახი	სულ	დადებითი	დადებითი (%)
<i>Eptesicus serotinus</i>	Vespertilionidae	6	0	
<i>Miniopterus schreibersii</i>	Miniopteridae	24	5	20.8
<i>Myotis blythii</i>	Vespertilionidae	52	19	36.5
<i>Myotis emarginatus</i>	Vespertilionidae	10	2	2
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	Vespertilionidae	7	0	
<i>Rhinolophus euryale</i>	Rhinolophidae	40	14	35
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Rhinolophidae	38	7	18.4
<i>Rhinolopus blasii</i>	Rhinolophidae	5	0	
<i>Myotis mystacinus</i>	Vespertilionidae	3	0	
<i>Nyctalus leisleri</i>	Vespertilionidae	2	0	
<i>Myotis Alcatlue</i>	Vespertilionidae	1	0	

ცხრილი 3. სახეობების მიხედვით კორონავირუსის პრევალენტობა საქართველოს ხელფრთიანებში

ადგილი	Habitat Log Lat	სულ	დადებითი	დადებითი(%)
დავით გარეჯი თეთრი სენაკები	41.53603 45.25705	10	2	2.0
გარდაბანის აღკვეთილი	41.37699 45.0791	50	7	14.0
წყალტუბო, ღლიანას მღვიმე	42.37302 42.59748	91	32	35.2

ჭიათურა თაროკლდეს მღვიმე	42.34528 43.30863	6	2	33.0
მარტვილი ლეწურწუმე	42.52927 42.10283	21	4	19.0
საადამიო, სენაკი	42.32454 42.10375	5	0	
თეთრიწყარო, საბნელეთი	41.58184 44.58241	4	0	
სვერის ქვაბები	42.22497 43.30202	1	0	

ცხრილი 4. კორონავირუსის პრევალენტობა ლოკაციის მიხედვით

ხელფრთიანებში კორონავირუსების გეოგრაფიული განაწილება შემდეგნაირია; 71% ანუ 32- 45 ნიმუშიდან შეგროვებული იყო დასავლეთ საქართველოში, 8,70%, 4-45 დან სამეგრელოში, დარჩენილი 10 CoV ზე პჯრ დადებითი ნიმუში შეგროვილი იყო სამხრეთ აღმოსავლეთ საქართველოდან, ქვემო ქართლი 7-46 15,2% იყო და 1 % 3-45 დან კახეთის რეგიონიდან აღმოსავლეთ საქართველო.

კონსესუსით ხის აგების შემდეგ მივიღეთ მაქსიმალური შესაბამისობის ორი შტო, (ბუტოსტრაპის მხარდაჭერა 99%) წარმოდგენილი იზოლატები მიეკუთვნება ალფა და ბეტა კორონავირუსების გვარს.

ამ კვლევით მიღებული სექვენსები დაჯგუფდა ორივე გენის კორონავირუსებთან ალფაკორონავირუსი (n=17), ბეტაკორონავირუსი (n=19). ქართული კორონავირუსების მიღებული თანმიმდევრობები, დაჯგუფდა 5

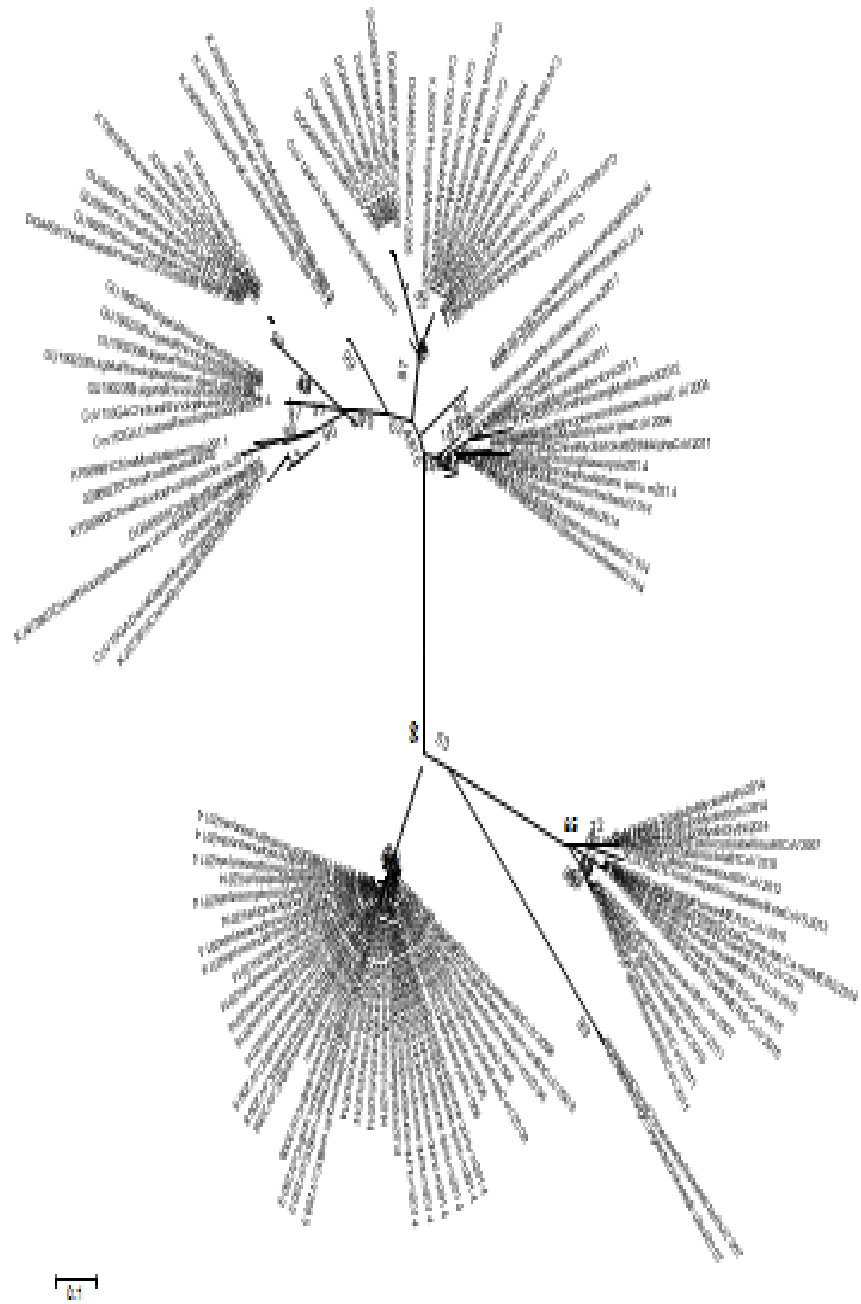
მაქსიმალური მსგავს მონოფილური ანუ საერთო წინაპრის მქონე ჯგუფად (ბუტსტრაპის მაჩვენებელი>75) აქედან 3 ალფაკორონავირუსისთვის და 2 ბეტაკორონავირუსისთვის.



სურათი 15. *Rhinolophus Euryale*- მასში მაღალი პრევალენტობით აღმოჩნდა კორონავირუსი

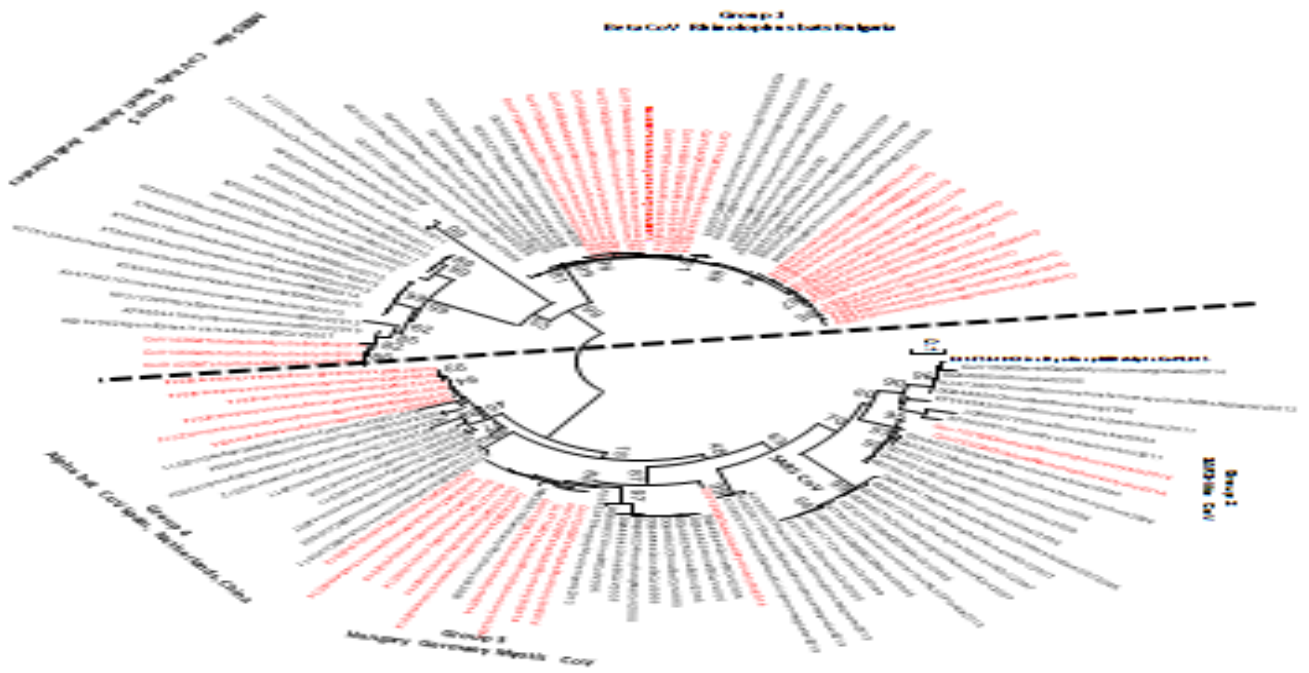
წყალტუბოს ღლიანას მღვიმეებში *Myotis blythii*, *Miniopterus schreibersii* and *Rhinolophus euryale* დან მიღებული თანამიმდევრობები შეესაბამება გერმანიიდან და უნგრეთიდან მიღებულ *Myotis myotis* დან მიღებულ თანამიმდევრობებს.

ასევე საყურადღებოა რომ წყალტუბოს ღლიანას მღვიმეში და გარდაბანში *Miniopterus schreibersii*, *Rhinolophus ferrumequinun*, *Rhinolophus euryale* და *Myotis blythii* სახეობებიდან მიღებული ალფაკორონავირუსები რომელიც დაჯგუფდნენ მეოთხე კლასტერში არ გავს აქამდე მიღებულ არცერთ ღამურის კორონავირუსს.



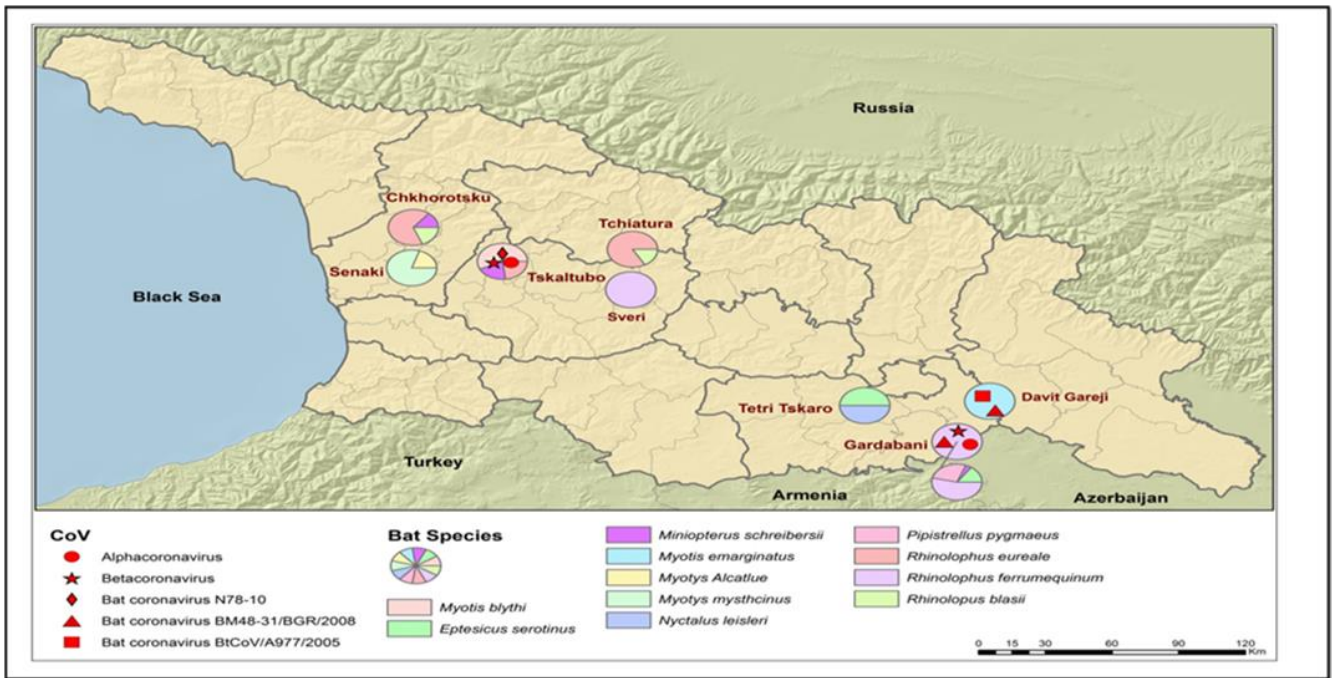
დიაგრამა 1. ფილოგენეტიკური ხე, კორონავირუსის განაწილება სხვა რეფერენს მტამებთან

Betacoronaviruses



Alphacoronaviruses

დიაგრამა 2. ალფა და ბეტა კორონოვირუსების ფილოგენეტიკური ხე.



სურათი 16. კორონავირუსის გავრცელება სახეობებისა და ლოკაციის მიხედვით GIS რუკა

4.2. ბაქტერიოლოგიური კვლევის შედეგები

236 შეგროვილი ღამურიდან კვლევიდან გამოირიცხა ის ნიმუშები რომელზეც არ გაგვაჩნდა სრული ინფორმაცია. ასე რომ სულ გამოკვლეულ იქნა 218 ღამურა აქედან 8 სახეობის, 5 სხვადასხვა გვარი.

გამოკვლეული ღამურების სახეობრივი განაწილება შემდეგია: *Eptesicus serotinus* ($n=17$), *Miniopterus schreibersii* ($n=27$), *Myotis blythii* ($n=68$), *Myotis emarginatus* ($n=42$), *Myotis mystacinus* ($n=1$), *Pipistrellus pygmaeus* ($n=11$), *Rhinolophus euryale* ($n=28$), and *R. ferrumequinum* ($n=24$)



სურათი 17. წყალტუბო, კოლონიებად მცხოვრები ხელფრთიანები

გამოკვლეული ღამურების ნახევარზე მეტი იყო *Myotis* სახეობა სხვა სახეობები წარმოდგენილი იყო ნაკლები ინდივიდებით 0.4% დან 13% მდე.

სახეობები ლოკაციის მიხედვით ასე იყო განაწილებული სამი-წყალტუბო, ოთხი-გარდაბანი, ხუთი-დავით გარეჯი, და 3 მარტვილი. ყველა *Miniopterus schreibersii* (n=27), ნაპოვნი იყო წყალტუბოში, *Myotis blythii* უმეტესად განაწილებული იყო წყალტუბო და დავით გარეჯში

218 გამოკვლეული ღამურის თირკმელდან 77 -ში ბართონელას დნმ ნაპოვნი იყო. საშუალო პრევალენტობით 35%. ბართონელას დნმ ნაპოვნი იყო გამოკვლეული ღამურების ყველა სახეობაში *Myotis mystacinus* გარდა , რომელიც მხოლოდ ერთი ღამურით იყო წარმოდგენილი.

სახეობებს შორის პრევალენტობა ვარიირებდა 5% *Eptesicus serotinus* დან 50% *R. Ferrimequinum* მდე

ბრუცელას დნმ ვიპოვეთ 4 დამურის ელენთაში აქედან ორი- *Miniopterus schreibersii* და ორი *Myotis blythii*. ოთხივე ბრუცელა დადებითი ღამურა იყო წყალტუბოდან. ამათგან სამი ერთი გამოქვაბულის კოლონიიდან და ერთი მეზობელი კოლონიიდან.

ლეპტოსპირას დნმ ამპლიფიცირდა 25 დამურის თირკმლიდან. საბოლოოდ პრევალენტობა იყო 11% , ოთხი- *Miniopterus schreibersii* და 21 *Myotis*. ლეპტოსპირაზე დადებითი ღამურები ნაპოვნი იყო 4 სხვადასხვა კოლონიაში ორი სხვადასხვა ლოკაციიდან დავით გარეჯი და წყალტუბო. ცხრილი 6.

4.2.1. ბაქტერიული კვლევისას გამოვლენილი შერეული კო-ინფექციები

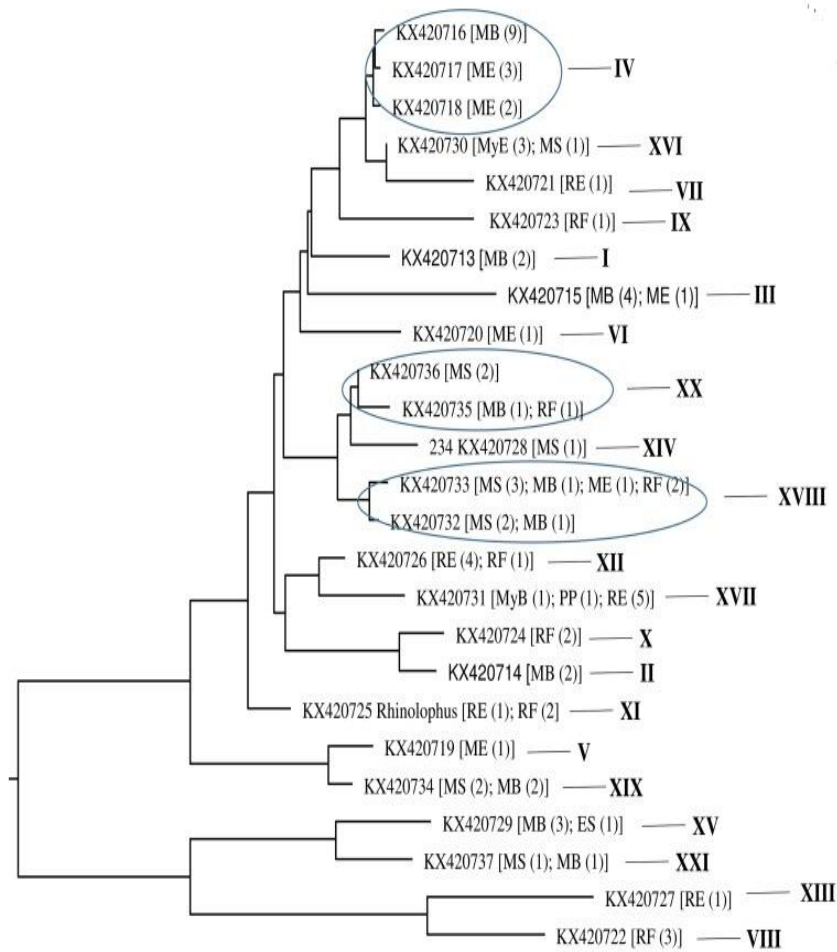
წყალტუბოში სხვადასხვა კოლონიებში დაჭერილი ორი ღამურა ერთი *Miniopterus schreibersii* და ერთი- *Myotis blythii* კონფიცირებული იყვნენ სამივე პათოგენით *Bartonella*, *Brucella*, და *Leptospira*. ორი ღამურა ერთი-*Miniopterus schreibersii* და ერთი-*Myotis blythii* დაჭერილი ერთ კოლონიაში წყალტუბოში იყვნენ კონფიცირებული ორ პათოგენით *Bartonella* და *Brucella* .

თვრამეტი ღამურა; თხუთმეტი *Myotis blythii* და სამი *Miniopterus schreibersii* დაჭერილი დავით გარეჯის ერთ კოლონიაში და წყალტუბოს ორ კოლონიაში კონფიცირებული იყო *Bartonella* და *Leptospira* თი. სხვა ღამურებში კონფექცია არ აღინიშნებოდა

4.2.2. ბაქტერიული კვლევის თანამიმდევრობის ანალიზი

ხელფრთიანის თირკმლიდან ამპლიფიცირებული დნმ-ზე განხორციელდა თანამიმდევრობის განსაზღვრა - ბართონელაზე ITS სექვენსი და ლეპტოსპირაზე lipL32 .

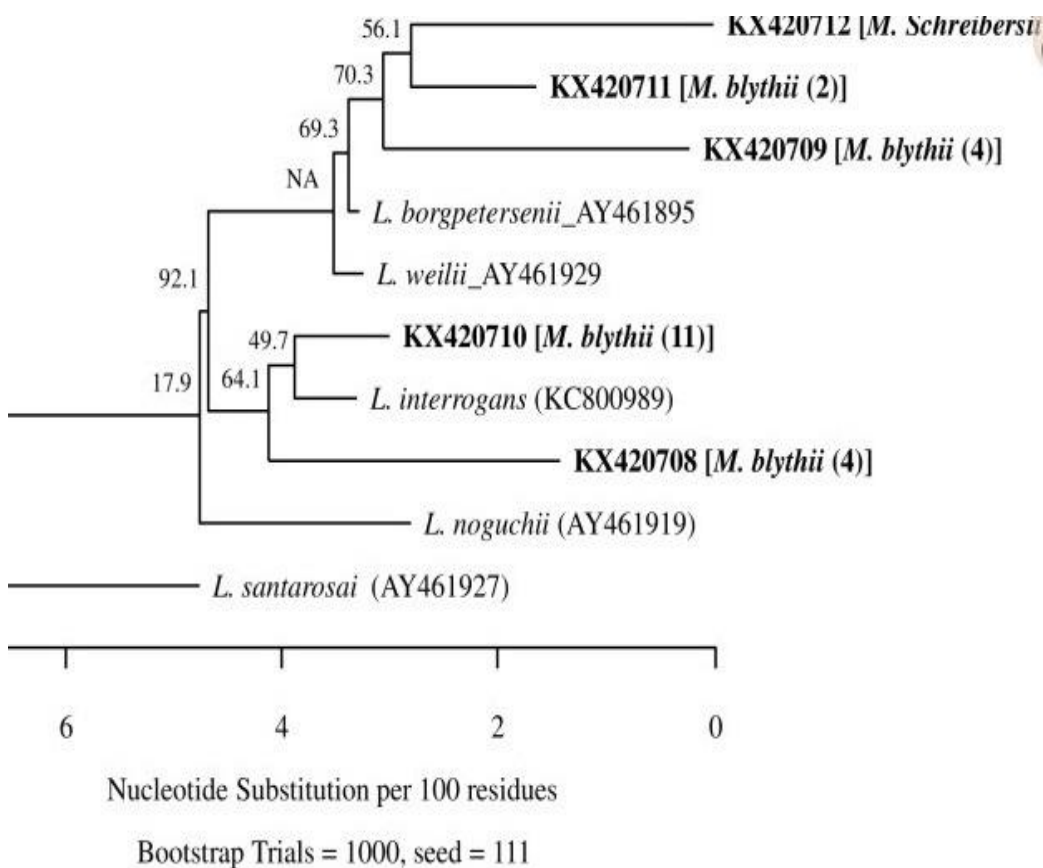
ბართონელა ITS სექვენსმა გვიჩვენა შემდეგი ჰეტეროგენურობა



დიაგრამა 3. საქართველოს ლამურებში ITS თანამიმდევრობაზე დაყდრნობით აღმოჩენილი ბართონელას ვარიანტების კლედების კავშირები

77 ბართონელას ITS თანამიმდევრობიდან 25 ვარიანტს მიენიჭა უნიკალური ნომერი გენბანკში. რამდენიმე ვარიანტს ჰქონდა მსგავსება. 96.3% უმეტეს ჯგუფებს შორის დაფიქსირდა დიდი მანძილი და დაკლასტერდა 21 ჯგუფად (სქემაზე რომაული ციფრებითაა აღნიშნული) neighboring-joining მეთოდის გამოყენებით. ხელფრთიანთა აღნიშვნა შემდეგნაირადაა; *ES*: *Eptesicus serotinus*; *MB*: *Myotis blythii*; *ME*: *Myotis emarginatus*; *MS*: *Miniopterus schreibersii*; *PP*: *Pipistrellus pygmaeus*; *RE*: *Rhinolophus euryale*; *RF*: *Rhinolophus ferrimequinum*.

ლეპტოსპირას 25 *LipL32* თანმიმდევრობა დამურებში წარმოდგენილი იქნა 5 გენეტიკური დაშორებით 3.7%-7.3%. ყველა ვარიანტი იყო ახალი და შეტანილი გენბანკში ნომრით KX420708 – KX420712. 25 თანმიმდევრობიდან 4 თანმიმდევრობა *Miniopterus schreibersii*-დან არის იდენტური KX420712 როცა 21 სხვა თანმიმდევრობა *Myotis blythii* -დან იყო 4 ვარიანტი, რომელთაგან თითოეული ნაპოვნი იყო 11, 4, 2 ინდივიდუალებში შესაბამისი რიგითობით: ვარიანტი# KX420710 (#103) რომელიც აღმოჩენილ იქნა *Myotis blythii* -ში ახლოსაა ზოონოზურ პათოგენტან *L. interrogans* (KP032210) გენეტიკური იდენტურობით 98.6%, რამდენიმე სხვა ვარიანტი ახლოს იყო *L. Borgpetersenii* თან გენეტიკური მსგავსებით 96%-97%



დიაგრამა 4. საქართველოს ხელფრთიანებში *LipL 32* თანმიმდევრობაზე დაყრდნობით 5 ლეპტოსპირას ვარიანტის ფილოგენეტიკური კავშირი

ბრუცელას ფაგების რეაქციით აღმოჩნდა რომ თბილისის TB ფაგის ლიზისი შეესაბამება ბრუცელა სუისს. ლიტური ფაგების მოქმედება არ იძლევა სხვა ბრუცელა სპეციფიური ფაგებისთვის დამახასიათებელ სურათს

Nl-არ არის ლიზისი, PL-ნაწილობრივი ლიზისი, L-ლიზისი

		ფაგი								
შტამი	ტიპი	R/C	Wb	lz	R	BK2	R/O	Fi	Tb RTD	Tb RTD ⁴
3000496868	bat 48- spleen	NL	PL	L	NL	L	PL	NL	NL	L
3000496869	bat 207- spleen	NL	PL	L	NL	L	PL	NL	NL	L
<i>B. abortus</i> S19	control	NL	L	L	NL	L	L	PL	L	L
<i>B. melitensis</i> 16M	control	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
<i>B. suis</i> 1330	control	NL	L	L	NL	L	L	NL	NL	L

ცხრილი 5. ფაგების ტიპირება.

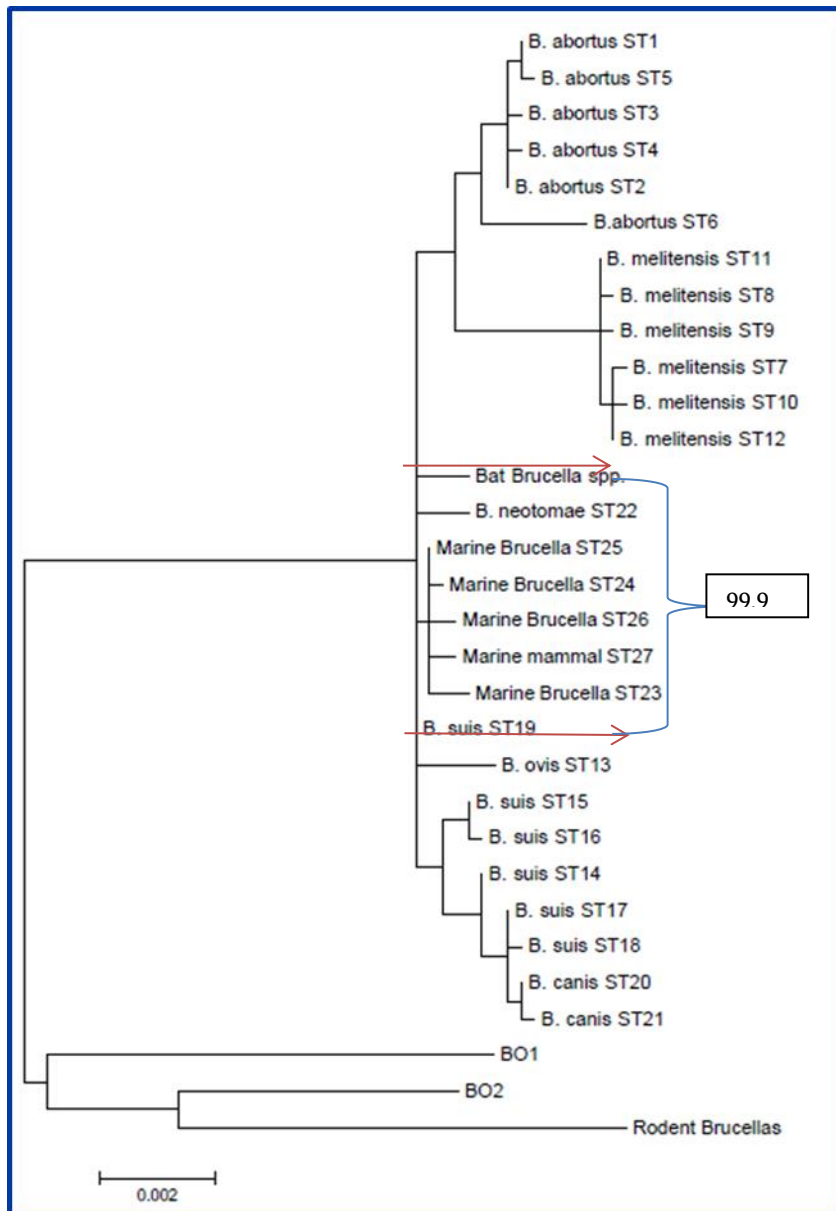
ცხრილი 5 ის მიხედვით, ღამურის იზოლატები ფენოტიპურად არ შეესაბამება არცერთ ამჟამად აღწერილ სახეობას.

Species/Abbrv	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*				
1. Bat 48 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	T	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
2. Bat 207 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	T	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
3. B.suis 513 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	T	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
4. B. melitensis 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
5. B. abortus 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
6. B. suis 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
7. B. canis 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
8. B. ovis 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
9. B. neotomae 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
10. B. microti 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
11. BO1 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
12. BO2 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
13. Brucella sp. NF 2653	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
14. B. vulpis F60 16s	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A
15. O. anthropi 16S	C	A	A	G	T	C	G	A	G	C	G	C	C	C	C	G	C	A	A	G	G	G	G	A

სურათი 18. წითლად აღნიშნულია დამურების იზოლატების 16s ის სექვენსური თანმიმდევრობა, რომელიც ემთხვევა B. suis 513 biovar 5

სრული გენომის სნეპ SNP (single nucleotide polymorphism) ანალიზითაც ეს ორი დამურის იზოლატი არის ყველაზე ახლოს B. suis biovar 5 თან რომელიც გამოყოფილია თავის მსგავსი მღრღნელისგან 1960-1980 სსრკ.

ასევე Multi-locus Sequence Typing (MLST) ანალიზითაც ახლოს არის ST19: B. suis biovar 5. დიაგრამა 5.



φωσφράδα 5. *Multi-locus Sequence Typing (MLST)*

Bat species	# Tested	Bartonella		Brucella		Leptospira		Yersinia	
		# Pos	Prevalence (%)	# Pos	Prevalence (%)	# Pos	Prevalence (%)	# Pos	Prevalence (%)
<i>Eptesicus serotinus</i>	17	1	6	0	0	0	0	0	0
<i>Miniopterus schreibersii</i>	27	13	48	2	7	4	15	0	0
<i>Myotis blythii</i>	68	26	38	2	3	21	31	0	0
<i>Myotis emarginatus</i>	42	12	29	0	0	0	0	0	0
<i>Myotis mystacinus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	11	1	9	0	0	0	0	0	0
<i>Rhinolophus euryale</i>	28	12	43	0	0	0	0	0	0
<i>Rhinolophus ferrimequinum</i>	24	12	50	0	0	0	0	0	0
Total	218	77	35	4	2	25	11	0	0

ცხრილი 6. ბართონელას, ბრუცელას, ლეპტოსპირას და იერსინიას პრევალენტობა ღამურებში

4.3. საქართველოს ღამურებში აღმოჩენილი ბართონელას ინფექციები

სულ 212 ღამურის 7 სხვადასხვა სახეობა იქნა გამოკვლეული ბართონელაზე. 7 რადგან *My. Mystacinus* იდან აღებული სისხლის მცირე რაოდენობა არ იყო საკმარისი კულტურის გამოსაყოფად. ბართონელას კოლონიების ფინჯანზე დაკვირვება ხდებოდა 3-28 დღის განმავლობაში. ყველა დათესილი ფინჯანი შენარჩუნდა კონტამინაციის გარეშე სრული 5 კვირის განმავლობაში ვაკვირდებოდით მხოლოდ ბართონელას მსგავს კოლონიებს. უმეტესობა აღმოჩენილი კოლონიების მორფოლოგიურად გამოიყურებოდა როგორც მცირე ზომის, მრგვალი, ამობურცული, გლუვი ან უხეში ზედაპირით კოლონიების დათვლა ხორციელდებოდა ერთიდან TNTC too numerous to count დათვლა შეუძლებელია მდე;) ყველა გადათესილი კოლონიებში და მტკიცდა რომ იყო ბართონელა პჯრ რეაქციით. და *gltA* ფრაგმენტის სექვენსით. ბართონელას კულტურის პრევალენტობა ღამურებში იყო 49,5 % (105/212) იზოლატები მივიღეთ 8 ვე რეგიონიდან . კულტურა დადებითი ღამურები 16,7% ია ლავრაში, დავით გარეჯში და 64,6% ღლიანას გამოქვაბული

წყალტუბო.პრევალენტობა ვარირებს 16,7% დან P. Pygmaeus ში 88.9% მდე Mn. Schreibersii ში

Wald test ზე დაყრდნობით ბართონელას პრევალენტობაში ხელფრთიანთა სახეობებს შორის შეიმჩნეოდა მნიშვნელოვანი განსხვავება($\chi^2 = 26.9$, $df = 6$, $p\text{-value} = 1.5E4$). ბართონელის პრევალენტობა My. blythii (odds ratio = 3.4, 95% CI = [1.1, 13], $p\text{-მაჩვენებელი} = 0.044$), Mn. schreibersii (odds ratio = 30.7, 95% CI = [6.9, 188.4], $p\text{-მნიშვნელობა} = 3.7E-5$), and R. euryale (odds ratio = 9, 95% CI = [2.4, 40], $p\text{-მნიშვნელობა} = 0.0017$)

4.3.1. ბართონელას კოინფექციები

16 ღამურის კულტურაზე დაკვირვებით გამოვლინდა მორფოლოგიურად განსხვავე ბული ბაქტერიული კოლონიები. ისინი განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისგან ზომით, ზედაპირის სიგლუვით და ტექსტურით. ვიზუალურად განსხვავებული კოლონიების დათვლა ხორციელდებოდა ერთიდან TNTC too numerous to count უთვლადი, დათვლა შეუძლებელია;) მდე კოინფექცია დამტკიცდა სექვენსის ანალიზით დადასტურდა რომ 16 ღამურის ნიმუშის სექვენსში იყო ორი განსხვავებული ბართონელას ინფექციის თანხვედრა. ამათგან შვიდი იქნა გამოვლენილი Mn. schreibersii, სამი My. blythii, ერთი My. emarginatus, ორი R. euryale, და სამი R. ferrumequinum

4.3.2. ბართონელას ფილოგენეტიკა *gltA* სექვენსის საფუძველზე

ბაიაზიურ-შეცდომების სისტემურ ანალიზზე დაყრდნობით ქართულ ღამურებში *gltA* სექვენსის დიდი ნაწილი კლასტერები ახლოსაა ერთმანეთთანაც და ცნობილ, განსხვავებული გენოჯგუფის ბართონელას სახეობებთანაც.

ფილოგენეტიკური კავშირებით ქართული ღამურების *gltA* სექვენსს, სხვა ხელფრთიანების სახეობებს და ცნობილ ბართონელას სახეობებს შორის, 96% სექვენსის იდენტურობის ზღვარზე დაყრდნობით, ჩვენ განვასხვავეთ 22 განსხვავებული გენოჯგუფი. განსაზღვრულ გენოჯგუფებში ნუკლეოტიდური სექვენსის იდენტურობის მაჩვენებელი ვარირებს 97-100% ს შორის. ცხრილი 7.

საქართველოს ღამურები			გენბანკიდან აღებული შესაბამისი შტამები			
გენოჯგუფები	სულ	მასპინძელი (n)	გენბანკის ნომერი	წყარო	ადგილი	ნუკლეოტიდური შესაბამისობა (%)
Mini-1	14	<i>Mn. schreibersii</i> (11)	HM54513 9, KT751153	<i>Miniopterus</i> sp., <i>Penicillidia leptothrinax</i> collected from <i>Miniopterus griveaudi</i>	Kenya, Madagascar	100, 96
		<i>E. serotinus</i> (1)				
		<i>My. blythii</i> (1)				
		<i>P. pygmaeus</i> (1)				
Mini-1.1	8	<i>Mn. schreibersii</i> (7)	FJ946852, JF500511	Dog, <i>Miniopterus schreibersii</i>	Thailand, Taiwan	99, 98
		<i>Rh. euryale</i> (1)				
Mini-2	7	<i>Mn. schreibersii</i> (7)	KT751143	<i>Penicillidia leptothrinax</i> collected from <i>Miniopterus aelleni</i>	Madagascar	98
Mini-3	6	<i>Mn. schreibersii</i> (6)	KT751152, FJ946854, HM54514	<i>Nycteribia stylidiopsis</i> collected from	Madagascar, Thailand,	100, 99, 99

			0	<i>Miniopterus gleni</i> , dog, <i>Miniopterus</i> sp.	Kenya	
Rhin-1	4	<i>R. ferrumequinum</i> (3)	AF470616	<i>Spermophilus beecheyi</i>	US	95
		<i>My. emarginatus</i> (1)				
Rhin-2	2	<i>R. ferrumequinum</i> (2)	KP100344, KP100345	<i>Rhinolophus sinicus</i> , <i>Rhinolophus acuminatus</i>	Vietnam	98, 97
Rhin-3	5	<i>My. blythii</i> (2)	KP100342, KP100344	<i>Rhinolophus sinicus</i> , <i>Rhinolophus acuminatus</i>	Vietnam	96, 95
		<i>R. euryale</i> (1)				
		<i>R. ferrumequinum</i> (2)				
Rhin-4	17	<i>R. euryale</i> (13)	JX416255, JX416239, KP100350	<i>Cyclopodia simulans</i> collected from <i>Ptenochirus jagori</i> , <i>Leptocyclopodia</i> sp. collected from <i>Harpionycteris whiteheadi</i> ,	Philippines , Philippines , Vietnam	92, 92, 91
		<i>R. ferrumequinum</i> (3)				
		<i>Mn. schreibersii</i> (1)				

				<i>Rhinolophus acuminatus</i>		
Rhin-5	9	<i>R. euryale</i> (6)	KP100355	<i>Hipposideros larvatus</i>	Vietnam	95
		<i>R. ferrumequinum</i> (3)				
Vesp-1	2	<i>My. emarginatus</i> (2)	KF003137, AJ871614	Bat flea collected from vespertilionid bat, <i>Pipistrellus</i> sp.	Finland, UK	99, 98
Vesp-2	1	<i>My. blythii</i> (1)	KF003122	<i>Myotis daubentonii</i>	UK	99
Vesp-3	1	<i>E. serotinus</i> (1)	KF003115, AJ871612	<i>Eptesicus nilsoni</i> , <i>Myotis mystacinus</i>	Finland, UK	99, 98
Vesp-4	5	<i>My. blythii</i> (5)	KJ816667	<i>Anatrichobius scorzai</i> collected from <i>Myotis keaysi</i>	Costa Rica	94
Vesp-5	1	<i>My. blythii</i> (1)	KJ816667	<i>Anatrichobius scorzai</i> collected from <i>Myotis keaysi</i>	Costa Rica	94
Vesp-6	18	<i>My. blythii</i> (15)	JQ695834, KR822802, HM11678	<i>Myotis myotis</i> , <i>Myotis daubentonii</i> ,	Poland, Finland, Poland	100, 99, 99
		<i>E. serotinus</i>				

		(1)	5	human		
		<i>My. emarginatus</i>				
		(2)				
Vesp-7	4	<i>E. serotinus</i>	JQ695834,	<i>Myotis myotis</i> ,	Poland,	99, 97, 98
		(1)	KR822802,	<i>Myotis</i>	Finland,	
		<i>My. emarginatus</i>	HM11678	<i>daubentonii</i> ,	Poland	
		(3)	5	human		
Vesp-8	4	<i>My. blythii</i> (3)	JQ695834,	<i>Myotis myotis</i> ,	Poland,	96, 96, 96
		(1)	KR822802,	<i>Myotis</i>	Finland,	
		<i>My. emarginatus</i>	HM11678	<i>daubentonii</i> ,	Poland	
		(1)	5	human		
Vesp-9	8	<i>My. emarginatus</i>		<i>Myotis</i>	Finland,	93, 91
		(6)	KF003129,	<i>daubentonii</i> ,	Costa Rica	
		<i>Mn. schreibersii</i>	KJ816689	<i>Basilisa</i> sp.		
		(1)		collected from		
		<i>My. blythii</i> (1)		<i>Myotis keaysi</i>		
Vesp-10	3	<i>My. blythii</i> (3)	JX416246,	<i>Basilisa</i>	Malaysia,	98, 98, 97
		(1)	JX416241,	<i>coronata</i>	Slovenia,	
		(1)	KT751152	collected from	Madagascar	
				<i>Tylonycteris</i>		
				sp., <i>Basilisa</i>		
				<i>nattereri</i>		
				collected from		
				<i>Myotis</i>		

				<i>nattereri</i> , <i>Nycteribia</i> <i>styliidiopsis</i> collected from <i>Miniopterus</i> <i>gleni</i>		
Vesp-11	2	<i>My. blythii</i> (2)	KT751154	<i>Penicillidia</i> cf. <i>fulvida</i> collected from <i>Miniopterus</i> <i>griveaudi</i>	Madagascar	92
Vesp-12	1	<i>My.</i> <i>emarginatus</i> (1)	KM030517 , GU056189	<i>Eidolon</i> <i>helvum</i> , human	Africa, Thailand	91, 92
Vesp-13	1	<i>P. pygmaeus</i> (1)	KT751145, JX416252	<i>Penicillidia</i> <i>leptothrinax</i> collected from <i>Miniopterus</i> <i>manavi</i> , <i>Phthiridium</i> sp. <i>scissa</i> group collected from <i>Rhinolophus</i> <i>pearsoni</i>	Madagascar, Laos	97, 95

ცხრილი 7. საქართველოს ხელფრთიანებიდან გამოყოფილ ბართონელების თანმიმდევრობის ჰომოლოგიის განსაზღვრა, ცნობილ *gltA* თანმიმდევრობებთან

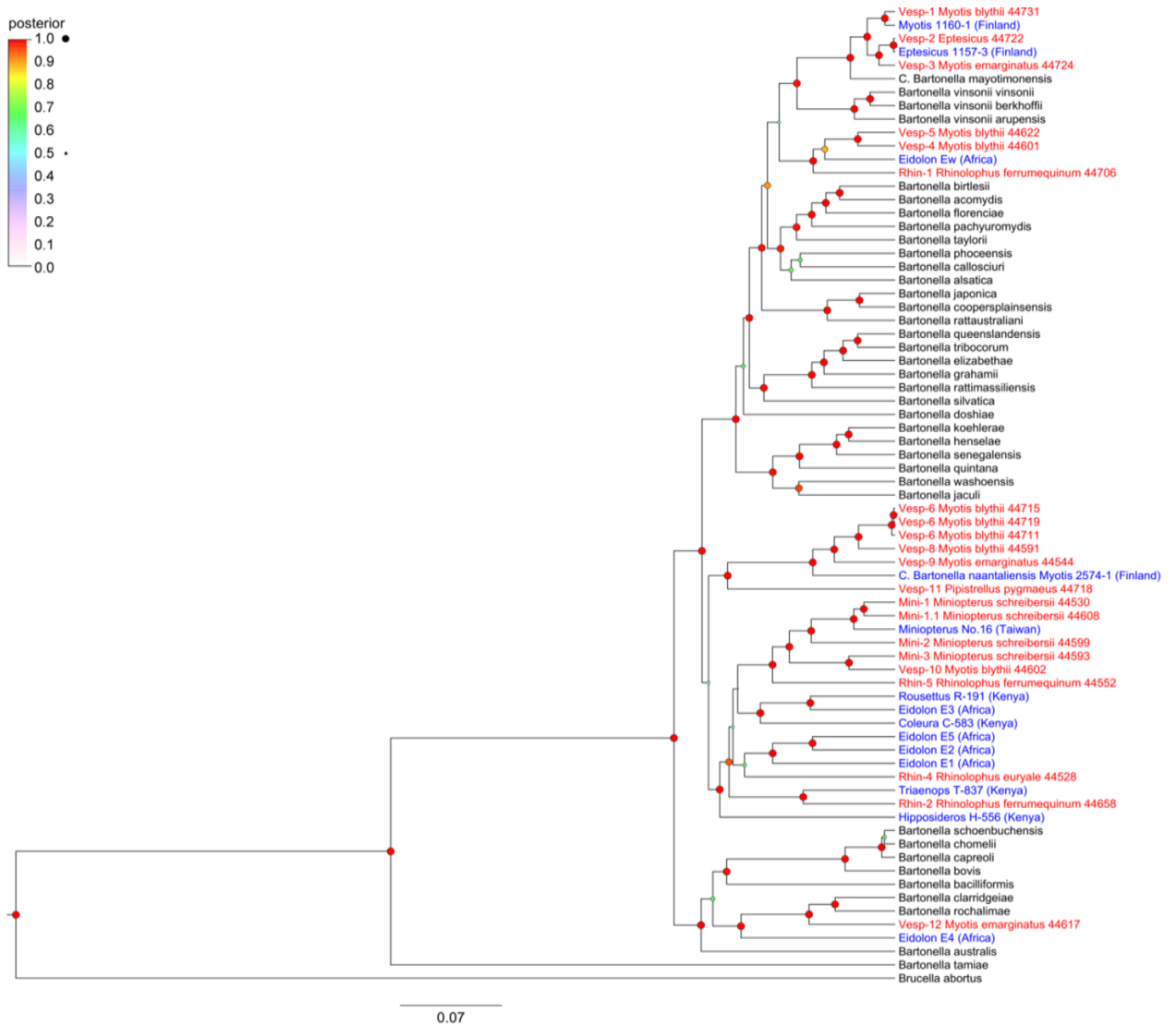
ზოგ შემთხვევაში ქართული ხელფრთიანებიდან გამოყოფილი ბართონელას სექვენსები ძალიან ახლოსაა სხვა მონათესავე ღამურის სექვენსებთან (იგივე გვარი ან ოჯახი) მაგრამ განსხვავებული ადგილებიდან. სხვა სექვენსები განსაკუთრებით გენოჯგუფებიდან Mini-1.1, Mini-3, and Vesp-6, დაკლასტერდა ბართონელას

თანმიმდევრობასთან რომელიც ნაპოვნია ტაილანდურ ძაღლში (Bai Y, et al. 2010). და პოლონელი ტყის მუშებში (Podsiadly E, et al. 2010).

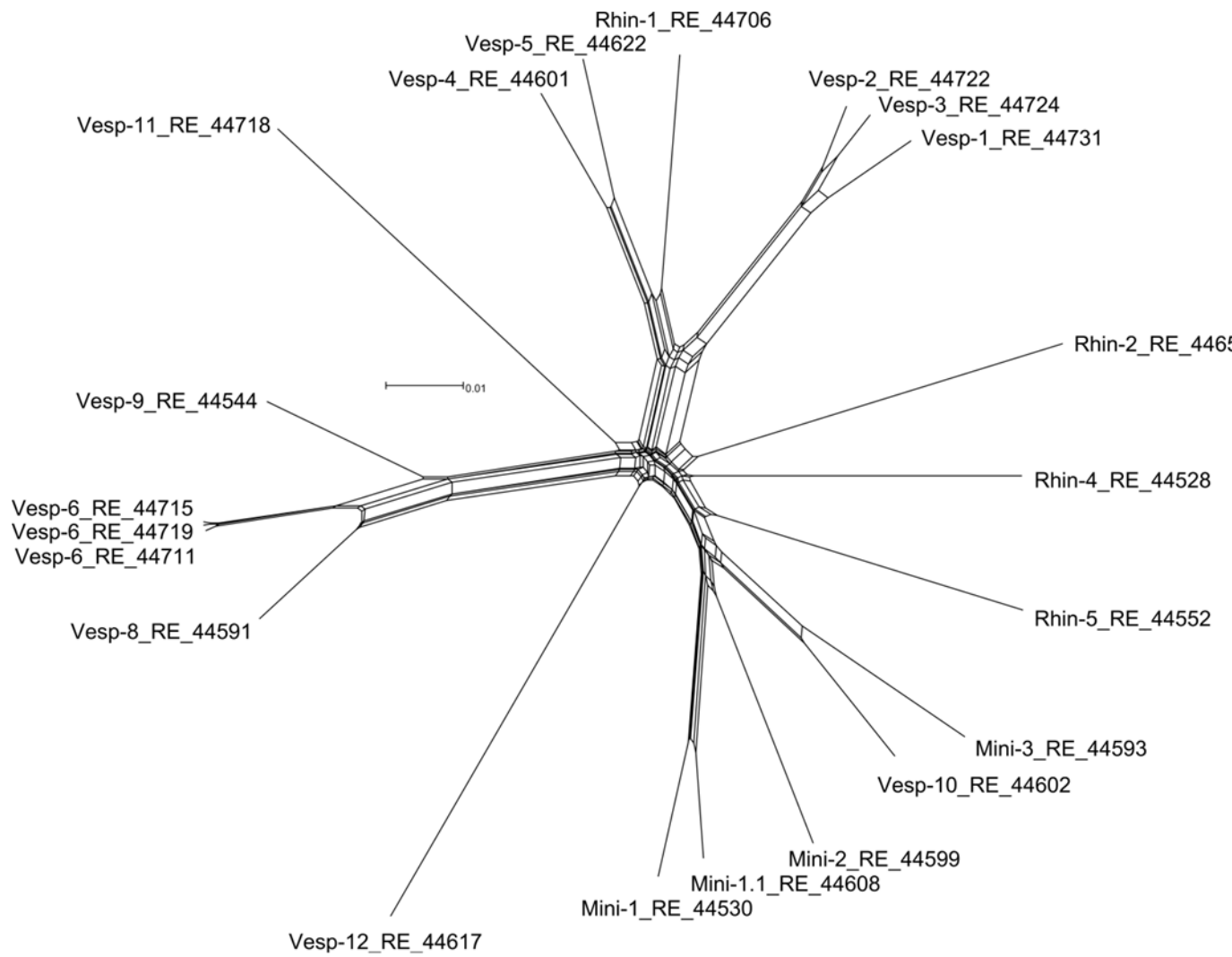
4.3.3. ბართონელას ფილოგენეტიკა მრავლობითი ლოკუსების გათვალისწინებით

ხუთი გენეტიკური ლოკუსიდან (ftsZ, gltA, nuoG, rpoB, and groEL) თანმიმდევრობაზე დაყრდნობით მიღებულმა ფილოგენეტიკურმა ანალიზმა დაამტკიცა რომ უმეტესობა ბართონელას გენოჯგუფები წარმოქმნის მკვეთრად გამოყოფილ ჯგუფებს, კლეიდებს (ალბათობა >90%). ფილოგენეტიკური ანალიზით საქართველოს ღამურების 5 გენეტიკური ლოკუსის გამოყენებით მიღებული ბართონელას გენოჯგუფები Mini-1, Mini-1.1, Mini-2, Mini-3, Rhin-2, Rhin-4, Rhin-5, and Vesp-10 დაჯგუფდნენ აფრიკის პტეროპოდებში ნაპოვნ ბართონელას გენოჯგუფებთან (*Eidolon helvum* and *Rousettus aegyptiacus*) (Kosoy MY, et al. 2010, Bai Y, et al. 2015).

გენოჯგუფები Mini-1 და Mini-1.1 დაკლასტერდა ტაივანის *Miniopterus schreibersii* ში ნაპოვნ ბართონელას გენოჯგუფთან (Lin J-W et al. 2012). გენოჯგუფები Vesp-6, Vesp-8, Vesp-9, და Vesp-11 შექმნა მეორე კლეიდი რომელიც ასოცირებულია *Candidatus Bartonella naantaliensis*- თან ფინეთში ნაპოვნ *Myotis daubentoni*- თან (Veikkolainen V et al. 2014). ეს ორი კლეიდი დაკავშირებულია ერთმანეთთან ფილოგენეტიკური კვანძით, დაბალი ალბათობით 53% ით გენოჯგუფები Rhin-1, Vesp-4, და Vesp-5 დაკლასტერდა გენოჯგუფთან Ew *Eidolon helvum* დან. ასევე გენოჯგუფები Vesp-1, Vesp-2, და Vesp-3 დაჯგუფდა *Bartonella mayotimonensis* რომელიც გამოყოფილი იყო ადამიანის ენდოკარდიტის შემთხვევიდან (Lin EY, et al. 2010). ეს ორი კლეიდი დაკავშირებულია კვანძით, *Bartonella vinsonii* სუბჯგუფების ჩათვლით დაბალი ალბათობით (50%) საბოლოოდ გენოჯგუფი Vesp-12 დაკლასტერდა გენოჯგუფ E4 თან *Eidolon helvum* დან (Bai Y et al. 2011). ისევე როგორც *Bartonella clarridgeiae* და *Bartonella rochalimae* თან



დიაგრამა 6. 5 გენეტიკური ლოკუსის გამოყენებით (*ftsZ*, *gltA*, *groEL*, *nuoG* და *rpoB*). საქართველოს ხელფრთიანებში გამოყოფილ ბართონელას გენოჯგუფებს, სხვა ხელფრთიანების გენოჯგუფებსა და არსებულ, ბართონელას სახეობებს შორის ფილოგენეტიკური კავშირი, ხე გაკეთებულია Bayesian MCMC და BEAST ის გამოყენებით



დიაგრამა 7. ბართონელას გენოჯგუფების ფილოგენეტიკური ხე

გამოყოფილი შტამი B#	მასპინძელი	<i>gltA</i> genotype	<i>ftsZ</i> accession	<i>gltA</i> accession	<i>groEL</i> accession	<i>nuoG</i> accession	<i>rpoB</i> accession
44718	<i>Pipistrellus</i>	Vesp-11	KX300177	KX300179	KX300180	KX300178	KX300181

	<i>pygmaeus</i>						
44617	<i>Myotis emarginatus</i>	Vesp-12	KX300148	KX300149	KX300150	KX300151	KX300152
44724	<i>Myotis emarginatus</i>	Vesp-3	KX300153	KX300154	KX300155	KX300156	KX300157
44731	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-1	KX300139	KX300140	KX300141	KX300142	KX300143
44722	<i>Eptesicus serotinus</i>	Vesp-2	KX300199	KX300200	KX300201	KX300202	KX300203
44530	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Mini-1	KX300175	KX300183	KX300184	KX300185	KX300186
44608	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Mini-1 .1	KY679153	KX300195	KX300196	KX300197	KX300198
44599	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Mini-2	KX300191	KX300192	KY679156	KX300193	KX300194
44593	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Mini-3	KX300187	KY679154	KX300189	KX300190	KX300188
44602	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-10	KX300116	KX300117	KX300118	KX300119	KX300120
44715	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-6	KX300130	KX300131	KY679157	KX300132	KX300133
44719	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-6	KX300134	KX300136	KX300137	KX300138	KX300135
44711	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-6	KX300126	KX300127	KY679158	KX300128	KX300129
44591	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-8	KX300106	KX300107	KX300108	KX300109	KX300110
44544	<i>Myotis emarginatus</i>	Vesp-9	KX300176	KX300145	KX300146	KX300144	KX300147
44528	<i>Rhinolophus euryale</i>	Rhin-4	KX300105	KX300158	KX300159	KX300160	KX300161
44658	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Rhin-2	KX300174	KX300165	KX300166	KX300167	KX300170
44552	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Rhin-5	KX300182	KY679155	KX300162	KX300163	KX300164

44706	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Rhin-1	KX300168	KX300169	KX300171	KX300172	KX300173
44601	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-4	KX300111	KX300112	KX300113	KX300114	KX300115
44622	<i>Myotis blythii</i>	Vesp-5	KX300121	KX300123	KX300124	KX300125	KX300122

ცხრილი 8. MLST-ით გაანალიზების შემდეგ მიღებული გენბანკის ნომერები.

4.3.4. ბართონელას კვლევის ზოგადი შედეგები

ამ კვლევიდან შეგვიძლია რამდენიმე საინტერესო დასკვნის გამოტანა პირველ რიგში რომ ბართონელას ინფექცია ფართოდაა გავრცელებული ხელფრთიანებში და იგი გამოვლინდა შვიდივე გამოკვლეულ სახეობაში. თუ ამ კვლევას შევადარებთ სხვადასხვა გეორგაფიულ რეგიონებში მაგალითად (კენია, გვატემალა და პერუში (Bai Y, et al. 2011; Bai Y, et al. 2012; Kosoy MY, et al. 2010). ჩატარებულ კვლევებს საქართველოს ღამურებში ბართონელას პრეველენტობა გაცილებით მაღალია და შტამები მრავალფეროვანი. ასევე ჩვენს კვლევაში მრავალფეროვანია ინფექციის პრევალენტობა სახეობების და ლოკაციის მიხედვით. დაახლ 89% *Mn. Schreibersii* ში 17% მდე *P. Pygmaeus* ში, რაც ალბათ უფრო აიხსნება ხელფრთიანთა კონკრეტული სახეობების არსებობებით ცალკეულ ადგილებში. მაგ *P. Pygmaeus* დაჭერილი იყო მხოლოდ ერთ ადგილას მაშინ როცა *Mn. Schreibersii* რამდენიმე წერტილიდანაა აღებული. ასევე იოანე ნთლისმცემლის გამოქვაბულში დავით გარეჯში აღებულია მხოლოდ *My. blythii*. ამიტომ როცა ვლასპარაკობთ ბართონელას გავრცელებაზე ლოკაციის მიხედვით გათვალისწინებული უნდა იყოს სახეობების განაწილების დეტალები. ასევე გვერდს ვერ აუვლით ექტოპარაზიტების რაოდენობას რამაც შეძლება გავლენა მოახდინოს ბართონელას გავრცელებაზე რეგიონის და სახეობის მიხედვით.

ამ კვლევით დადასტურდა რამდენიმე კონფექციის არსებობა გამოკვლეულ ღამურებში. მსგავსი შემთხვევები ორი ან სამი ბართონელას სახეობის არსებობის შესახებ ადრე აღწერილია თავგებში (Kosoy MY, et al. 2004.) საინტერესოა რომ კონფექციის ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი ორი სხვადასხვა ბართონელას გენოტიპით დაფიქსირდა *Mn. Schreibersii* ში 27 დან 7 სახეობაში (26%).

საქართველოს ღამურებში ნაპოვნ ბართონელას გენოჯგუფებს შორის გვარის და ოჯახის დონეზე, გამოვლინდა რამდენიმე, ძირითადი მასპინძელ სპეციფიური ხაზი. Mn. Schreibersii -დან გამოყოფილი თითქმის ყველა იზოლატი (33 დან 35) gltA გენის მიხედვით დაჯგუფდა Mini-1, Mini-1.1, Mini-2, ან Mini-3 გენოჯგუფებში. ყველა ეს ჯგუფი ახლოს დგას მადაგასკარის *Miniopterus* spp.-ების (Mn. griveaudi, Mn. aelleni, and Mn. gleni) სექვენსთან (Wilkinson DA et al. 2016). დიაგრამა 7.

Rhinolophus spp. (*R. euryale* or *R. ferrumequinum*)-დან მიღებული 38 იზოლატიდან ოცდაჩვიდმეტი ეკუთვნის Rhin-1, Rhin-2, Rhin-3, or Rhin-4 გენოჯგუფებს. Rhin-2, Rhin-3 კლასტერდება ბართონელას სექვენსებთან *Rhin. acuminatus* და *Rhin. Sinicus* ვიეტნამიდან (Anh PH, et al. 2014). *Vespertilionid* ღამურებიდან მიღებული უმეტესობა იზოლატი (*Eptesicus*, *Myotis*, and *Pipistrellus* spp.) გენოჯგუფები Vesp-1 და Vesp-12 ახლოს არიან სხვა vespertilionid ღამურებიდან გამოყოფილ სექვენსებთან (Morse SF, et al. 2012, Judson S, et al. 2015).

როგორც ზემოთ ავლინებთ ბართონელას მასპინძელთა სპეციფიურობა გვარის და ოჯახის დონეზე მკაცრად იყო განსაზღვრული, გარდა რამდენიმე შემთხვევისა, სადაც ვიპოვეთ ბართონელის გავრცელება ატიპიურ მასპინძელში. მაგალითად ბართონელას გენოჯგუფები Mini-1 ნაპოვნია *E. serotinus*, *My. Blythii* და *P. Pygmaeus*-ში და ბართონელას გენოჯგუფები Rhin-1 და Rhin-3 შესაბამისად ნაპოვნია *My. emarginatus* და *My. Blythii*-ში რაც შეიძლება აიხსნას ამ სახეობების ერთ ადგილას ცხოვრების წესით, სადაც ინფექციის გადაცემას შეიძლება ხელს უწყობდნენ ვექტორები. საყურადღებოა რომ 2012 ში საველე გასვლიდან შეგროვილი ექტოპარაზიტები ჯერ კიდევ არ არის შესწავლილი.

ლიტერატურაში აღწერილია ჩვენთვის საინტერესო შვიდ ლოკაციაზე მყოფი ექტოპარაზიტები. მათგან ნაწილი იკვებება სპეციფიური ღამურა მასპინძლიდან, მაგრამ საყურადღებოა რომ იგივე ვექტორები არც თუ იშვიათად უპოვნიათ სხვა სახეობებზე რამაც შესაძლოა ხელი შეუწყო ბაქტერიის გავრცელებას. მაგ ღამურის მწერები (Diptera: Nycteribiidae) *Basilina nana* სპეციფიურად ასოცირდება *Myotis bechsteinii* სახეობებთან (van Schaik, et al. 2015) *Nycteribia schmidlii* და *Penicillidia conspicua* ,*Miniopterus schreibersii*-თან (Lourenço S et al. 2008) მაგრამ ლიტერატურაში

ასევე აღწერილია ამ მწერების სხვა ღამურის სახეობებთან პოვნის შემთხვევები მაგ. *Basilina nana* -*My. Blythii*-სა და *My. Emarginatus*-თან. (Frank R, et al. 2015) *Nycteribia schmidlii* ნაპოვნია *My. blythii*, *My. emarginatus*, *R. euryale*, და *R. Ferrumequinum*-თან (Frank R at al. 2015, Vanin S, et al. 2009). კიდევ უფრო ფართო გავრცელება ახასიათებს სხა ექტოპარაზიტებს მაგ. *Argas vespertilionis* (*Ixodida: Argasidae*) შეაგროვეს სხვადასხვა ღამურა მასპინძლებში, *E. serotinus*, *My. blythii*, *P. pygmaeus*, და *R. ferrumequinum*-დან (Frank R et al. 2015) მართალია ეს მიმოხილვა არ არის ამომწურავ იმდენად აღწერს შესაძლო მიზეზს რომ ექტოპარაზიტების არასაეხობასპეციფიური პარაზიტიზმი შეიძლება წარმოადგენდეს ბაქტერიის სახეობებს შორის გავრცელების მიზეზს.

ხუთი მოურავი (housekeeping) გენის (ნაკლებად ვარიაციული გენები, რომელიც განსაზღვრავს პათოგენის იდენტურობას) *ftsZ*, *gltA*, *nuoG*, *rpoB*, და *groEL* სექვენსი ფილოგენეტიკურ ანალიზთან ერთად ცხადყოფს რომ ბართონელას გენოჯგუფები ცალკეულ ლოკუსების გათვალისწინებით დადგენილი დემარკაციული კრიტერიუმებზე დაყრდნობით შეიძლება განხილული იყოს როგორც ბართონელას ახალი სახეობა (La Scola B, et al.2003) მაგ. გენოჯგუფები *Vesp-1* /92% ით, *Vesp-2*/ 93% და *Vesp-3*/92% ით ინაწილებენ და ნუკლეოტიდებით იდენტურია ამერიკელი პაციენტის ნიმუშში ნაპოვნ *Bartonella mayotimonensis*- თან (Lin EY et al. 2010). თუმცა თავად *B.mayotimonensis* ძალიან ახლოს დგას (95%) კოსტარიკაში *Myotis keaysi* ღამურიდან აღებულ მწერ *Anatrichobius scorzai*-ში ნაპოვნ *gltA* ლოკუსთან. (Judson S et al. 2015) სავარაუდოა რომ *Vesp-1*, *Vesp-2*, *Vesp-3* ჯგუფები და ღამურის მწერის შტაში კოსტა რიკიდან შეიძლება მივაკუთვნოთ *B.mayotimonensis* სახეობას მაგრამ ცალკე *gltA* ლოკუსის გამოყენება გენოჯგუფებად არტეფაქტულ გაყოფას იწვევს .

მაშინ როცა ხუთივე კოკატენტური ლოკუსით გაშიფვრის გამოყენებით *Vesp-1*, *Vesp-2*, *Vesp-3* გენოჯგუფები ინაწილებენ წყვილების თანმიმდევრობებს შემდეგი იდენტურობით 96.9-98.11%. ასევე თუ გავითვალისწინებთ *vespertilionid* ღამურების ნათესაურად ახლოს დგომას (Veikkolainen V, et al. 2014), ყველა ეს გენოჯგუფი შეიძლება ჩაითვალოს ერთ სახეობად. დაწყვილების იდენტურობა ამ გენოჯგუფებისთვის *B.mayotimonensis*-თან არის 95.1-95.5%, რაც ახლოს არის

ბართონელას სახეობების იდენტიფიცირებისთვის დადგენილ მინიმალურ ზღვართან (95,4% rpoB სექვენსისთვის), ვვარაუდობთ რომ ის უნდა განიხილებოდეს სინონიმად Vesp-1, Vesp-2, Vesp-3 გენოჯგუფებისთვის. Vesp-6 და Vesp-8 ჯგუფები 95.9% იდენტურია და განიხილება მათი სპეციფიურობა ხელფრთიანებთან (*Eptesicus* და *Myotis*) (Veikkolainen V, et al. 2014) ისინიც ასევე შეიძლება წარმოადგენდნენ ერთი ბართონელას სახეობას. ასევე იქნება ერთ სახეობაში ნაპოვნ Vesp-4 და Vesp-5 *My. blythii* (96.3% სექვენსის იდენტურობა) და გენოჯგუფები Mini-1 and Mini-1.1 ნაპოვნი *Mn. Schreibersii* (96.6% სექვენსის იდენტურობა). დიაგრამა 6, 7.

კიდევ უფრო მოულოდნელი აღმოჩნდა რომ ქართული ღამურის ბართონელას შტამები ძალიან ახლოსაა თითქმის იდენტურია პოლონეთში ტყის მუშაკებში ნაპოვნ ბართონელას შტამებთან. კვლევა ჩატარდა პოლონეთში 129 ტყის მუშაკზე, რათა შეეფასებინათ მათი ტკიპისმიერ პათოგენებთან ექსპოზიციის რისკი და ხარისხი (Podsiadly E, et al. 2010). კვლევისას ბართონელას ანტისხეულები იპოვნეს გამოკვლეული პაციენტების დაახლოებით 30% ში, მაგრამ ყველაზე საყურადღებო იყო სამი სეროლოგიურად დადებითი ნიმუში რომელიც ასევე პჯრ-თაც იყო დადებითი. ამ კვლევაში *gltA* სექვენს ანალიზით დადგინდა რომ ადრე ინფორმირებული შემთხვევებისგან განსხვავებით ისინი 90% ით მსგავსია *B. koehlerae*, *B. Clarridgeiae* და გენოტიპურად პერუს ართროპოდებთან. გენბანკში მათი ნომრებია HM116784, HM116785 და HM116786 როგორც “ვერ იზოლირებული” ბართონელა (Podsiadly E et al. 2010). ყველა ჩვენს კვლევაში იდენტიფიცირებული გენოტიპი Vesp-6 *gltA* სექვენსით 100 % იდენტურია HM116785 სექვენსთან.

საქართველოში დადგენილი გენოჯგუფებს შორის Vesp-6 უდიდესია რომელიც შეიცავს 18 ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობას, გამოყოფილს შემდეგი სახეობებიდან *My. blythii* ($n = 15$), *My. emarginatus* ($n = 2$), და *E. serotinus* ($n = 1$). ცნობილია რომ ყველა ზემოთ ჩამოთვლილ ხელფრთიანთა სახეობა აღწერილია პოლონეთში ტყის მუშაკების კვლევის ჩატარებისას მიღებულ შედეგებში (Piksa K, et al. 2006, Mannerings AO, et al. 2016).

კიდევ ერთი საყურადღებო აღმოჩენა იყო ისეთი ბართონელას შტამების პოვნა რომელიც ახლოსაა ტაილანდურ ძაღლში იდენტიფიცირებულ ბართონელასთან (Bai

Y, et al. 2010). პუბლიკაციაში აღწერილია ბანგკოკის და ხონ კაენის (ტაილანდის პროვინცია) ქუჩის ძაღლებში ნაპოვნი რამდენიმე ბართონელის ინფექცია. ასევე ორი ბართონელას სახეობა (*B. elizabethae* and *B. taylorii*) რომელიც აღმოჩენილია ხონ კაენის ქუჩის ძაღლებში. ამ კვლევაშივეა გამოქვეყნებული ორი გენოტიპი KK20 and KK61 რომლებიც პოტენციურად შეიძლება წარმოადგენდნენ ახალ სახეობებს. ქართულ დამურებში ნაპოვნი ბართონელას სახეობების ანალიზით შეგვიძლია დავასკვნათ რომ სექვენსი Mini-1.1 გენოჯგუფის შტამიდან მიღებულია *Mn. schreibersii* ($n = 7$) and *R. euryale* ($n = 1$) და 99% ით იდენტურია ზემოთ აღწერილი ტაილანდური ძაღლის სექვენსთან (შტამი KK61, GenBank accession FJ946852). ანალოგიურად შვიდი სექვენსი *Mn. schreibersii* (გენოჯგუფი Mini-3) 99% მსგავსია ხონ კაენის, ტაილანდური ქუჩის ძაღლის შტამთან KK20 (GenBank accession FJ946854) დამურის სახეობები რომელიც ეკუთვნის *Miniopterus* (ე.წ. *Mn. magnater* and *Mn. pusillus*) არის ტაილანდიდან.

სახეობა	გვარი	შეგროვილი რაოდენობა	განალიზებული	დადებითი	დადებითი(%)	95% CI	კონფიქცია
<i>Eptesicus serotinus</i>	Vespertilionidae	20	20	4	20.0	[7.5, 42.2]	0
<i>Miniopterus schreibersii</i>	Miniopteridae	29	27	24	88.9	[71.1, 97]	7
<i>Myotis blythii</i>	Vespertilionidae	75	67	32	47.8	[36.2, 59.5]	3
<i>Myotis emarginatus</i>	Vespertilionidae	42	38	15	39.5	[25.6, 55.3]	1
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	Vespertilionidae	13	12	2	16.7	[3.5, 46]	0

Rhinolophus euryale	Rhinolophidae	29	26	18	69.2	[49.9, 83.7]	2
Rhinolophus ferrumequinum	Rhinolophidae	27	22	10	45.5	[26.9, 65.4]	3
ადგილი	Log Lat	შეგროვილი რაოდენობა	განალიზებული	დადებითი	დადებითი (%)	95% CI	სახეობის განაწილება
დავით გარეჯი, თეთრი სენაკები	41.53603 45.257048	25	21	11	52.4	[32.4, 71.7]	13 ME, 12 RF
დავით გარეჯი, იოანე ნათლისმცემლის მღვიმე	41.298611 45.704722	25	24	15	62.5	[42.6, 78.9]	25 MB
დავით გარეჯი, ლავრა	41.447472 45.376472	8	6	1	16.7	[1.1, 58.2]	1 MB, 7 RF
დავით გარეჯი, სულ		58	51	27	52.9	[39.5, 65.9]	26 MB, 13 ME, 19 RF
გარდაბანი, ალკვეთილი	41.37699 45.0791	50	46	14	30.4	[19, 44.9]	20 ES, 15 ME, 1 MM, 13 PP, 1 RF

მარტვილი, ლესხულუხი	42.52927 42.10283	22	21	13	61.9	[40.8, 79.3]	15 RE, 7 RF
თერჯოლა, ბზები	42.183333 42.983333	20	18	10	55.6	[33.7, 75.5]	5 MS, 15 MB
წყალტუბო, დლიანას მღვიმე	42.37302 42.59748	53	48	31	64.6	[50.4, 76.6]	18 MS, 26 MB, 9 RE
ჩხოროწყუ, ლეწურწუმე	42.10375 42.32454	33	28	10	35.7	[20.6, 54.2]	6 MS, 8 MB, 14 ME, 5 RE
დასავლეთ საქართველო სულ		106	94	51	54.3	[44.2, 64]	29 MS, 49 MB, 14 ME, 14 RE
სქესი		შეგრო ვილი	განა ლიზე ბული	დადე ბითი	დადებ ითი(%)	95% CI	
მდედრობითი		177	160	73	45.6	[38.1, 53.4]	
მამრობითი		59	50	30	60.0	[46.2, 72.4]	
სულ		236	212	105	49.5	[42.9, 56.2]	

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

ცხრილი 9. ბართონელას ინფექციის პრევალანტობა ღამურის სახეობებში , კონფექციები, 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.

ვილოგენეტიკური 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 ერთკუზიანი აქლემიდან გამოყოფილ CoV სექვენსთან და შემდეგი ღამურებიდან 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 blassii* ღამურებიდან 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* ღამურებში 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 მიმღებლები 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 მღრღნელებში. აღნიშნული შტამი 25 ღამურიდან 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 ღამურაში (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

Vespertilionid ღამურებში, ვიდრე ევროპულ სახეობებთან. კიდევ უფრო მოულოდნელი აღმოჩნდა რომ საქართველოში აღმოჩენილი ხელფრთიანების ბართონელას შტამები ძალიან ახლოს არის და თითქმის იდენტურია პოლონეთში ტყის მუშაკებში ნაპოვნ ბართონელას შტამებთან.

მიღებული შედეგები ხაზს უსვამს ხელფრთიანებში ბართონელაზე ზედამხედველობის მნიშვნელობას, რადგან ის ეხმარება განისაზღვროს ადამიანის შემთხვევის პოტენციური რეზერვუარი ველურ ბუნებაში. ამ კვლევის შედეგად საქართველოს ხელფრთიანებში ბართონელას იმ სახეობების იდენტიფიკაცია, რომელიც იდენტური ან მასგავსი იყო ადრე აღწერილ ცხოველურ და ადამიანის შტამთან რომელიც გამოავლინეს განსხვავებულ არეალში სამომავლო კვლევებისთვის იმსახურებს განსაკუთრებულ ყურადღებას, რაც მნიშვნელოვანი იქნება ბართონელას როგორც პოტენციური ზოონოზური აგენტის როლის შესაფასებლად (Mannerings AO, et al. 2016, Veikkolainen V, et al. 2014). ასევე ცნობილია რამდენიმე ღამურის ექტოპარაზიტების სახეობა რომლებიც კბენენ ადამიანებსაც *Argas vespertilionis* და *Cimex pipistrelli* (Jaenson TG, et al. 1994) (Socolovschi C, et al. 2010). აქედან გამომდინარე, ბართონელას შემდგომი კვლევა საქართველოში უნდა მოიცავდეს არა მხოლოდ ძუძუმწოვრებს, ასევე მის ვექტორებს რომლებიც შესაძლოა წარმოადგენდნენ დაავადების გადაცემის რისკს.

რადგან გამოკვლეული 200 ნიმუშიდან DFA ტესტით არ აღმოჩნდა ლისავირუსთან ასოცირებულ აქტიურ ინფექციის ანტიგენი, WCBV ს არსებობის გამოსარიცხად აუცილებელია გაკეთდეს RFFIT, როგორც დამადასტურებელი ტესტი, რომელიც წარმოადგენს ცოფის ვირუსის ნეიტრალიზაციის რეაქციას უჯრედულ კულტურაზე, რათა განისაზღვროს ცოფის ვირუსის გამანეიტრალბელი ანტისხეულების ხარისხი ღამურაში. ნიშანდობლივია რომ იგივე ტესტის გამოყენება შეიძლება ადამიანებში აცრის შემდგომი სტატუსის შესამოწმებლად რათა თავიდან ავიცილოთ განმეორებითი აცრა როცა ანტისხეულები ისევ არის ორგანიზმში.

ყველაზე მნიშვნელოვანია ბრუცელას აღმოჩენა საქართველოს ხელფრთიანებში. ადრინდელ ლიტერატურაში მხოლოდ ერთხელ არის ნახსენები

ბრუცელას აგლუტინინის არსებობა *Desmodus rotundus* დამურაში ბრაზილიაში (Ricciardi ID, et al. 1976)

ჩვენი კვლევის საფუძველზე პირველად ხდება ლაბორატორიული კვლევებით დადასტურებული განცხადების გაკეთება იმის შესახებ რომ ბრუცელა აღმოჩენილია დამურებში. ისე როგორც ლეპტოსპირას ინფექცია ბრუცელა დამურებში ნაპოვნია *Miniopterus schreibersii* და *Myotis blythii*-ს სახეობებში. საინტერესოა რომ ყველა დადებითი დამურა მხოლოდ წყალტუბოს მღვიმეების ლოკაციიდანაა. გეოგრაფიული წარმოშობა და შერჩეული საცხოვრებელი ადგილი გავლენას ახდენს დამურების კოლონიზაციაზე. რაც ყველაზე შესამჩნევი იყო *Miniopterus schreibersii* სთვის, რადგან ყველა ეს სახეობის დამურა დაჭერილი იყო წყალტუბოს მღვიმეში. ბრუცელა დადებითი *Myotis blythii*-ს არარსებობამ დავით გარეჯში შეიძლება ახსნას რომ *Myotis blythii* ინფიცირებული იქნა *Miniopterus schreibersii* დან. როგორც დაკვირვების შედეგადა აღმოჩნდა *Miniopterus schreibersii* და *Myotis blythii* იკავებდნენ ერთი და იგივე საცხოვრებელ არეალს და მჭიდროდ ეხებოდნენ სხეულებით ერთმანეთს და იკვებებოდნენ ერთნაირად.

ცნობილია, რომ ბრუცელას ყველა შესწავლილი სახეობა გენეტიკურად იმდენად გავს ერთმანეთს (*B. melitensis*, *B. abortus*, და *B. suis*) რომ მკვლევარების ნაწილი თვლის, რომ ისინი ერთ სახეობას ეკუთვნიან (Olsen SC, et al. 2014). ხელფრთიანთა იზოლატების ფენოტიპური ხაზები არ უთავსდება არცერთ ამჟამად აღწერილ სახეობას, ამ იზოლატების განსხვავებულობა ინდივიდუალიზმი საკმაოდ შესაბამისია იმისთვის რომ განხილული იყვნენ ახალ ბრუცელას სახეობად.

დამურებში ბრუცელას საშუალო პრევალენტობა არის ძალიან დაბალი, 1.8% 218 შეგროვილი დამურადან (n=218), 4% წყალტუბოში შეგროვილი დამურადან (n=100). რაც გვაძლევს ჰიპოთეზის ვარაუდს, რომ ბრუცელის ეს სახეობა უფრო მღრღნელისთვისაა სახეობა სპეციფიური. ამ კვლევაში ჩვენ მხოლოდ ვადასტურებთ დამურაში ბრუცელას არსებობას და რადგან ბრუცელას სახეობები უმეტესად მაღალი პათოგენურობით ხასიათდება, დამატებით შესწავლილი უნდა იქნას

- არის თუ არა საქართველოს დამურასთან ასოცირებული სახეობა პათოგენური.
- უნდა გადაიხედოს ამ სახეობის განსაზღვრება-B. suis biovar 5-ად

- საჭიროა დამატებითი კვლევა სრული გენომის ანალიზისთვის
- ტრანსკრიპტომების კვლევა
- ზოონოზური პოტენციალის შესაფასებლად პათოგენურობის შესწავლა
- დამატებითი შესწავლა ღამურების და მღრღნელების კავკასიის რეგიონში

ჩატარებულ კვლევაში ჩვენ ვერ ვიპოვეთ *Yersinia* -ს გამომწვევი რადგან გამოვიყენეთ ზემოთ აღწერილი, ახლად შექმნილი პრაიმერები. იერსინიას ყველა სახეობის იდენტიფიცირებისათვის სავსე ნიმუშებში სანამ სათანადოდ არ არის შეფასებული უტილიზებული პრაიმერების მგრძობელობა, უარყოფითი შედეგი არ გამორიცხავს იერსინიას ინფექციის პოტენციურ არსებობას ღამურებში და შესაბამისად, შესაძლოა ეს მიდგომა გაუმჯობესდეს უფრო მგრძობიარე პრაიმერების შექმნის შემთხვევაში.

არცერთი ღამურის რნმ ში არ იქნა ნაპოვნი ჰანტავირუსი, რაც შეიძლება გამოწვეული იყოს მათი გენომის უკიდურესი ვარიაციებით, ან ნიმუშების მცირე რიცხოვნობით, პრაიმერებით ან ნიმუშების არა სწორ პირობებში შენახვით ან ტრანსპორტირებით (ინახებოდა CDC ლაბორატორიაში ორი წელი და გადაიგზავნა ჰავაის ლაბორატორიაში)

შესაძლებელია იმის ვარაუდიც, რომ მღრღნელებისა და მიწისქვეშა მღრღნელებისგან (თხუნელა) განსხვავებით სადაც 50 % დადებითი იყო ჰანტავირუსზე, ღამურები მდგრადნი არიან ჰანტავირუსული ინფექციების მიმართ (Yanagihara, R. et al.

6.დასკვნები

1.საქართველოში ხელფრთიანების მოლეკულური მეთოდებით დეტალურმა შესწავლამ აჩვენა რომ ისინი წარმოადგენენ რიგი პათოგენების მტარებლებს

2. საქართველოს ხელფრთიანების Lyssa virus-ზე შესწავლამ გამოავლინა, რომ გამოკვლეულ ნიმუშებში ამ ვირუსის არც ერთი სახეობა არ აღმოჩნდა და მათ შორის WCBV-ც რომელიც შედის II ფილოჯგუფში. შესაბამისად ღამურასთან ექსპოზიციის შემდეგ აცრა ვაქცინით რომელშიც მხოლოდ I ფილოჯგუფის ლისავირუსების შტამებითაა კომბინირებული, შედეგიანი იქნება.

3. ხელფრთიანთა სხვადასხვა სახეობებში აღმოჩენილი ლეპტოსპირას მაღალი პრევენტობა გვამლევს იმის ვარაუდის საფუძველს, რომ მათ ეკუთვნით გარკვეულ როლი ლეპტოსპირას გარემოში შესარჩუნებისთვის

4. ხელფრთიანებში ბართონელას შტამების გამოყოფამ, მათი გენომის სექვენირებამ და ფილოგენეტიკურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ ეს შტამები ახლოსაა ადამიანში და ძაღლში ადრე აღმოჩენილ ბართონელას დნმ-ის თანმიმდევრობებთან. ჩვენი შედეგები ხაზს უსვამს ღამურებში ბართონელებზე ზედამხედველობის მნიშვნელობას, რადგან ეს ეხმარება განისაზღვროს, ადამიანის ბართონელოზით დაავადების პოტენციური რეზერვუარი ველურ ბუნებაში.

5. ფილოგენეტიკური ხის ანალიზმა ცხადჰყო რომ საქართველოს ხელფრთიანებში აღმოჩენილია როგორც ალფა ისე ბეტა ჯგუფის კორონავირუსები. წყალტუბოს ღლიანას მღვიმეში, სამი სხვადასხვა ხელფრთიანის ნიმუშებიდან დასექვენირებული ბეტაკორონავირუსები ძალიან ახლოს დგანან საუდის არაბეთში დაფიქსირებულ ადამიანის ლეტალური შემთხვევიდან აღებული ლაბორატორიული ნიმუშების კვლევისას გამოყოფილ MERS ბეტაკორონავირუსთან.

6. ჩვენს მიერ ჩატარებულმა კვლევებმა მსოფლიოში პირველად, გამოავლინა ხელფრთიანებში ბრუცელას პათოგენის მტარებლობა. გამოყოფილი იზოლატების ფენოტიპური ხაზები არ უთავსდება არცერთ ამჟამად აღწერილ სახეობას და საჭიროებს შემდგომ დრმა მოლეკულურ კვლევას.

7. გამოყენებული ლიტერატურა

1. Annan, A.; Baldwin, H.J.; Corman, V.M.; Klose, S.M.; Owusu, M.; Nkrumah, E.E.; Badu, E.K.; Anti, P.; Agbenyega, O.; Meyer, B.; et al. Human betacoronavirus 2c EMC/2012-related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, 19, 456–459.

2. Aleco D'AndreaI; Yarelys Zamora MartinezII; Rosa AlduinaIII; Vincenzo Monteverdel; Carmen Fernandez MolinaII; Maria Vitale, Comparison of two PCR methods for detection of *Leptospira interrogans* in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue.

3. Anh PH, Van Cuong N, Son NT, Tue NT, Kosoy MY, et al. (2015) Diversity of *Bartonella* spp. in bats, southern Vietnam. *Emerg Infect Dis* 21: 1266–1267

4. Akhvlediani T, Bautista CT, Garuchava N, Sanodze L, Kokaia N, et al. (2017) Epidemiological and Clinical Features of Brucellosis in the Country of Georgia. *PLOS ONE* 12(1): e0170376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170376>

5. Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 1997 Sep 1;25(17):3389-402.
6. Negri A, 'Ueber Filtration des Vaccinevirus', *Z. Hyg. InfektKrankh.*, 1906, 54: 327-346, see pp. 332-333.
7. Badrane, H.; Bahloul, C.; Perrin, P.; Tordo, N. (2001). "Evidence of Two Lyssavirus Phylogroups with Distinct Pathogenicity and Immunogenicity". *Journal of Virology* 75 (7): 3268–3276. doi:10.1128/JVI.75.7.3268-3276.2001. PMC 114120. PMID 11238853
8. Bai Y, Kosoy MY, Recuenco S, Alvarez Castillo D, Moran D, et al. (2011) *Bartonella* spp. in bats, Guatemala. *Emerg Infect Dis* 17: 1269–1272.
9. B.RubenMD J.D.BandMDaP.WongMDaJ.ColvilleMDb 1991 Person-to-person transmission of *Brucella melitensis*
10. Blehert DS1, Hicks AC, Behr M, Meteyer CU, Berlowski-Zier BM, Buckles EL, Coleman JT, Darling SR, Gargas A, Niver R, Okoniewski JC, Rudd RJ, Stone WB. Bat white –nose syndrome: emerging fungal pathogen? [*Science* 323, 327
11. Bai Y, Kosoy MY, Boonmar S, Sawatwong P, Sangmaneedet S, et al. (2010) Enrichment culture and molecular identification of diverse *Bartonella* species in stray dogs. *Vet Microbiol* 146: 314–319.
12. Bessa, TA, Spichler A, Chapola EG, Husch AC, de Almeida MF et a. (2010) The contribution of bats to leptospirosis transmission in São Paulo City, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 82: 315-317.
13. Bai Y, Hayman DT, McKee CD, Kosoy MY (2015) Classification of *Bartonella* strains associated with straw-colored fruit bats (*Eidolon helvum*) across Africa using a multi-locus sequence typing platform. *PLoS Negl Trop Dis* 9: e0003478
14. Bai Y, Recuenco S, Gilbert AT, Osikowicz LM, Gomez J, et al. (2012) Prevalence and diversity of *Bartonella* spp. in bats in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 87: 518–523.
15. Bogdanowicz W, Lesiński G, Sadkowska-Todys M, Gajewska M, Rutkowski R (2013) Population Genetics and Bat Rabies: A Case Study of *Eptesicus serotinus* in Poland. *Acta Chiropterologica* 15: 35–56.

16. Balcombe, J.P.&McCracken,G.F.(1992) Vocal recognition in Mexican free-tailed bats: do pups recognize mothers? *Anim behave* 43,79-88
17. Bourne & hamilton-smith (2007) *Minipoterus shreibersii bassanii & climate change*, Australian Bat Soc Newsl 28, 67-69
18. Bai Y, Kosoy MY, Recuenco S, Alvarez Castillo D, Moran D, et al. (2011) Bartonella spp. in bats, Guatemala. *Emerg Infect Dis* 17: 1269–1272.
19. Bai Y, Hayman DT, McKee CD, Kosoy MY (2015) Classification of Bartonella strains associated with straw-colored fruit bats (*Eidolon helvum*) across Africa using a multi-locus sequence typing platform. *PLoS Negl Trop Dis* 9: e0003478.
20. Concannon R, Wynn-Owen K, Simpson V, Birtles RJ (2005) Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. *Parasitology* 131: 489–496.
21. Cotran RS, Kumar V, Fausto N (2005). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease (7th ed.). St. Louis: Elsevier/Saunders. p. 1375. ISBN 0-7216-0187-1
22. Christian Dietz, Otto vo helversen, Dietmar Nill “Barts of Britain Europe and Nortwest africa”, life histore of bats, page.10, 12 EPUB ISBN: 9781408105325, February 2016
23. Childs-Sanford SE, Kollias GV, Abou-Madi N, McDonough PL, Garner MM, Mohammed HO Yersinia pseudotuberculosis in a closed colony of Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*).
24. De Groot, R.J.; Baker, S.C.; Baric, R.; Enjuanes, L.; Gorbalenya, A.; Holmes, K.V.; Perlman, S.; Poon, L.; Rottier, P.J.; Talbot, P.J.; et al. Coronaviridae. In *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses*; Elsevier Academic Press: Philadelphia, PA, USA, 2011; pp. 806–828.
25. Decaro, N.; Buonavoglia, C. An update on canine coronaviruses: Viral evolution and pathobiology. *Vet. Microbiol.*2008, 132, 221–234
26. Diniz PP, Maggi RG, Schwartz DS, Cadenas MB, Bradley JM et al. (2007) Canine bartonellosis: serological and molecular prevalence in Brazil and evidence of co-infection with *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*. *Vet Res* 38: 697-710.

27. Davide Lelli, Alice Papetti , Cristiano Sabelli , Enrica Rosti , Ana Moreno and Maria B. Boniotti, Detection of Coronaviruses in Bats of Various Species in Italy. 2013. *Viruses*, 5(11), 2679-2689.
28. Dominguez, S.R.; O'Shea, T.J.; Oko, L.M.; Holmes, K.V. Detection of group 1 coronavirus in bats in north America. *Emerg. Infect. Dis.* 2007, 13, e9.
29. Dominguez SR, Sims GE, Wentworth DE, Halpin RA, Robinson CC, Town CD, et al. Genomic analysis of 16 Colorado human NL63 coronaviruses identifies a new genotype, high sequence diversity in the N-terminal domain of the spike gene and evidence of recombination. *J Gen Virol.* Nov. 2012 93(Pt 11):2387-98.
30. Dietrich M, Tjale MA, Weyer J, Kearney T, Seamark EC, et al. (2016) Diversity of Bartonella and Rickettsia spp. in bats and their blood-feeding ectoparasites from South Africa and
31. Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMEvolBiol* 7: 214.
32. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A (2012) Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol Biol Evol* 29: 1969–1973.
33. Everard CO, Fraser-Chanpong GM, Bhagwandin LJ, Race MW, James AC (1983) Leptospirae in wildlife from Trinidad and Grenada. *J Wildl Dis* 19: 192-199.
34. Edgar RC. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics.* Aug. 2004 5:113.
35. Finke S, Conzelmann KK (August 2005). "Replication strategies of rabies virus". *Virus Res.* 111 (2): 120–31. doi:10.1016/j.virusres.2005.04.004. PMID 15885837
36. Frank R, Kuhn T, Werblow A, Liston A, Kochmann J, et al. (2015) Parasite diversity of European Myotis species with special emphasis on Myotis myotis (Microchiroptera, Vespertilionidae) from a typical nursery roost. *Parasit Vectors* 8: 101.
37. Falcón A, Vázquez-Morón S, Casas I, Aznar C, Ruiz G, Pozo F, et al. Detection of alpha and betacoronaviruses in multiple Iberian bat species. *Arch Virol.* Oct. 2011 156(10):1883-90.

38. Fennestad KL, Borg-Petersen C (1972) Leptospirosis in Danish wild mammals. *J Wildl Dis*.
39. Guo, W.-P.; Lin, X.-D.; Wang, W.; Tian, J.-H.; Cong, M.-L.; Zhang, H.-L.; Wang, M.-R.; Zhou, R.-H.; Wang, J.-B.; Li, M.-H.; Xu, J.; Holmes, E.C.; Zhang, Y.-Z. Phylogeny and origins of hantaviruses harbored by bats, insectivores and rodents. *PLoS Pathog.* 2013, 9, e1003159
40. Hayman, David T.S., "As the bat flies," *Science* 02 Dec 2016: Vol. 354, Issue 6316, pp. 1099-1100 <http://science.sciencemag.org/content/354/6316/1099>
41. Halling SM, Tatum FM, Bricker BJ (1993) Sequence and characterization of an insertion sequence, IS711, from *Brucella ovis*. *Gene* 133: 123-127.
42. Hayman DT, McDonald KD, Kosoy MY (2013) Evolutionary history of rat-borne *Bartonella*: the importance of commensal rats in the dissemination of bacterial infections globally. *Ecol Evol* 3: 3195–3203.
43. Higuchi, R., C. Flocker, G. Dollinger & R. Watson, 1993. Kinetic PCR: Real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 11, 1026–1030
44. Heaton PR, Johnstone P, McElhinney LM, Cowley R, O'Sullivan E, Whitby JE
45. NCBI Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses.
46. Imnadze P., P., Surguladze, V., Tushishvili, T. and Baidoshvili, L. 2008. Control and Prevention in Georgia: Current Status and Perspectives.
47. Jaenson TG, Tälleklint L, Lundqvist L, Olsen B, Chirico J, et al. (1994) Geographical distribution, host associations, and vector roles of ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) in Sweden. *J Med Entomol* 31: 240–256.
48. Jonsson, C.B.; Figueiredo, L.T.; Vapalahti, O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010, 23, 412-441.
49. Judson S, Frank H, Hadly E (2015) Bartonellae are prevalent and diverse in Costa Rican bats and bat flies. *Zoonoses Public Health* 62: 609–617
50. John S. Mackenzie, James E. Childs, Hume E. Field, Lin-Fa Wang, and Andrew C. Bree. The role of bats as reservoir host of emerging neurological viruses, *academia.edu* 2016

51. Jordan Lite (2008-10-08). "Medical Mystery: Only One Person Has Survived Rabies without Vaccine--But How?". Scientific American. Retrieved 2008-10-16
52. Klempa, B.; Fichet-Calvet, E.; Lecompte, E.; Auste, B.; Aniskin, V.; Meisel, H.; Barriere, P.; Koivogui, L.; ter Meulen, J.; Krüger, D.H. (2007) Novel hantavirus sequences in shrew, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2007, 13, 520-522.
53. Kosoy MY, Regnery RL, Tzianabos T, Marston EL, Jones DC, et al. (1997) Distribution, diversity, and host specificity of *Bartonella* in rodents from the Southeastern United States. *Am J Trop Med Hyg* 57: 578–588.
54. Kosoy MY, Bai Y, Lynch T, Kuzmin I V, Niezgod M, et al. (2010) *Bartonella* spp. in bats, Kenya. *Emerg Infect Dis* 16: 1875–1881.
55. Kosoy MY, Mandel E, Green D, Marston E, Jones DC, et al. (2004) Prospective studies of *Bartonella* of rodents. Part II. Diverse infections in a single rodent community. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 4: 296–305.
56. Kuchuloria T, Clark DV, Hepburn MJ, Tsertsvadze T, Pimentel G, Imnadze P. Hantavirus Infection in the Republic of Georgia. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;15(9):1489-1491. doi:10.3201/eid1509.090617.
57. Kuzmin, I.; Hughes, G.; Botvinkin, A.; Orciari, L.; Rupprecht, C. (2005). "Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within the genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition". *Virus Research* 111 (1): 28–25. doi:10.1016/j.virusres.2005.03.008. PMID 15896400. edit
58. Mühldorfer K. ,Bats and Bacterial Pathogens: A Review First published: 2 August 2012 <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01536.x>
59. Lin J-W, Hsu Y-M, Chomel BB, Lin L-K, Pei J-C, et al. (2012) Identification of novel *Bartonella* spp. in bats and evidence of Asian gray shrew as a new potential reservoir of *Bartonella*. *Vet Microbiol* 156: 119–126.
60. Urushadzel L., Ying Bai, Lynn Osikowicz, Clifton McKee, Ivan Kuzmin, Andrei Kandaurov, Giorgi Babuadze, Ioseb Natradze, Paata Imnadze, Michael Kosoy, Molecular

Survey of Bacterial Zoonotic Agents in Bats from the Country of Georgia (Caucasus) Published: January 27, 2017 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171175>

61. Urushadze L., Ying Bai, Lynn Osikowicz, Clifton McKee, Ketevan Sidamonidze, Davit Putkaradze, Paata Imnadze, Andrei Kandaurov, Ivan Kuzmin, Michael Kosoy, Prevalence, diversity, and host associations of Bartonella strains in bats from Georgia (Caucasus) Published: April 11, 2017 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005428>

62. Luis AD, Hayman DTS, O'Shea TJ, Cryan PM, Gilbert AT, Pulliam JRC, et al. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proc Royal Soc B Biol Sci.* 2013;280:20122753. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2012.2753>

63. Lourenço S, Palmeirim JM (2008) Which factors regulate the reproduction of ectoparasites of temperate-zone cave-dwelling bats? *Parasitol Res* 104: 127–134.

64. La Scola B, Zeaiter Z, Khamis A, Raoult D (2003) Gene-sequence-based criteria for species definition in bacteriology: the Bartonella paradigm. *Trends Microbiol* 11: 318–321.

65. Lin EY, Tsigrelis C, Baddour LM, Lepidi H, Rolain J-M, et al. (2010) Candidatus Bartonella mayotimonensis and endocarditis. *Emerg Infect Dis* 16: 500–503

66. Lelli D, Papetti A, Sabelli C, Rosti E, Moreno A, Boniotti MB., Detection of coronaviruses in bats of various species in Italy. *Viruses.* Oct. 2013 5(11):2679-89.

67. Lilley TM, Veikkolainen V, Pulliainen AT (2015) Molecular detection of Candidatus Bartonella hemsundetiensis in bats. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 15: 706–708.

68. Michael Niezgoda, Andrés Velasco-Villa,† Sarah Cleaveland,* Eblate Ernest,‡ and Charles E. Rupprecht† Direct, Rapid Immunohistochemical Test for Rabies Diagnosis Tiziana Lembo.

69. Morse SF, Olival KJ, Kosoy MY, Billeter SA, Patterson BD, et al. (2012) Global distribution and genetic diversity of Bartonella in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae). *Infect Genet Evol* 12: 1717–1723.

70. Mannerings AO, Osikowicz LM, Restif O, Nyarko E, Suu-Ire R, et al. (2016) Exposure to bat-associated Bartonella spp. among humans and other animals, Ghana. *Emerg Infect Dis* 22: 922–924.

71. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Turkey, <http://www.who.int/csr/don/24-october-2014-mers/en/>
72. McIntosh, K. Dees, J.H. , Becker, W.B. Kapikian, A.Z. and Chanock, R., 1967, Recovery in Tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease, *proc. Natl. Acad. Sci. USA* 57-933.
73. Maddison WP, Maddison DR. Interactive analysis of phylogeny and character evolution using the computer program MacClade. *Folia Primatol (Basel)*. 1989;53(1-4):190-202.
74. Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. pp. 1
75. Messenger, S. L., Smith, J. S., Orciari, L. A., Yager, P. A. & Rupprecht, C. E. (2003). Emerging pattern of rabies deaths and increased viral infectivity. *Emerg Infect Dis* 9, 151–154.
76. Mamuchishvili N, Kuchuloria T, Mchedlishvili I, Imnadze P (2014) Leptospirosis in Georgia. *Georgian Med News* 228: 63-66.
77. Matthias MA, Díaz MM, Campos KJ, Calderon M, Willig MR et al. (2005) Diversity of bat-associated *Leptospira* in the Peruvian Amazon inferred by bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. *Am J Trop Med Hyg* 73: 964-974.
78. Norman AF, Regnery R, Jameson P, Greene C, Krause DC. Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. 1995
79. Norman AF, Regnery R, Jameson P, Greene C, Krause DC. Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. *J Clin Microbiol*. 1995;33:1797–803 .[PMC free article] [PubMed]

80. Nitin Sekar, Naman K. Shah, Syed Shahid Abbas, Manish Kakkar , on behalf of the Roadmap to Combat Zoonoses in India (RCZI) Initiative Research Options for Controlling Zoonotic Disease in India, 2010–2015 Published: February 25, 2011 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017120>

81. Natradze I, S. Gazaryan², A. Bukhnikashvili¹, A. Kandaurov¹, L. Urushadze^{3,1}, D. Putkaradze³ Institute of Zoology of Ilia State University, 2-UNEP/EUROBATS Secretariat, 3-National Center for Disease Control Lugar Center, Georgia Challenges of bat research and conservation in Georgia

82. Turmelle AS, Olival KJ. Correlates of viral richness in bats (order Chiroptera). 2010

83. Olsen SC, Palmer MV (2014) Advancement of knowledge of Brucella over the past 50 years. Vet Pathol 51: 1076-1089.

84. Piksa K (2006) First record of *Myotis blythii* in Poland (Chiroptera: Vespertilionidae). Lynx 37: 197–200.

85. Podsiadly E, Chmielewski T, Karbowski G, Kedra E, Tylewska-Wierzbanowska S (2010) The occurrence of spotted fever rickettsioses and other tick-borne infections in forest workers in Poland. Vector-Borne Zoonotic Dis 11: 985–989

86. Revazishvili T, C. Rajanna L, Bakanidze B, N. Tsertsvadze B, P. Imnadze B, K. O'Connell C, D. A. Kreger D, O. C. Stine J, G. Morris Jr A, Sulakvelidze A “ Characterisation of Yersinia pestis isolates from natural foci of plague in the Republic of Georgia, and their relationship to Y. pestis isolates from other countries panel

87. Roue, s.y. & Nemoz, M (2004) unusual mortality in screech bat at several nurseries. Wild Dis Assoc News 14,4

88. Reusken, C.B.; Lina, P.H.; Pielaat, A.; de Vries, A.; Dam-Deisz, C.; Adema, J.; Drexler, J.F.; Drosten, C.; Kooi, E.A. Circulation of group 2 coronaviruses in a bat species common to urban areas in Western Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010, 10, 785–791.

89. Rambaut A (2014) FigTree v1.4.2. Available: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.

90. Ricciardi ID, Nunes MP, Andrade CM, Da Silva AG (1976) Anti-brucella agglutinins in bats and "Callithrix" monkeys. J Wildl Dis 12: 52-54.

91. Reeves WK, Beck J, Orlova M V, Daly JL, Pippin K, et al. (2016) Ecology of bats, their ectoparasites, and associated pathogens on Saint Kitts Island. *J Med Entomol*: tjw078.
92. Richard Yanagihara ,Se Hun Gu 1, Burton K. Lim 2, Blaise Kadjo 3, Satoru Arai 4, Jeong-Ah Kim 5, Violaine Nicolas 6, Aude Lalis 6, Christiane Denys 6, Joseph A. Cook 7, Samuel R. Dominguez 8, Kathryn V. Holmes⁸, Lela Urushadze 9,10, Ketevan Sidamonidze 9, Davit Putkaradze 9, Ivan V. Kuzmin 11, Michael Y. Kosoy 12, Jin-Won Song 5 Molecular Phylogeny of Hantaviruses Harbored by Insectivorous Bats in Côte d'Ivoire and Vietnam
93. Socolovschi C, Kernif T, Raoult D, Parola P (2012) *Borrelia*, *Rickettsia*, and *Ehrlichia* Species in Bat Ticks, France, 2010. *Emerg Infect Dis* 18: 1966–1975.
94. Siuda K, Stanko M, Piksa K, Górz A (2009) Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing bats in Poland and. *Wiad Parazytol* 55: 39–45.
95. Serra-Cobo J, Amengual B, Abellán C, Bourhy H. European Bat Lyssavirus Infection in Spanish Bat Populations. *Emerging Infectious Diseases*. 2002;8(4):413-420. doi:10.3201/eid0804.010263.
96. Si D., Marquess J., Donnan E., Harrower B., McCall B., Bennett S., Lambert S. Potential Exposures to Australian Bat Lyssavirus Notified in Queensland, Australia, 2009–2014 (2016) *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10 (12) , art. no. e0005227
97. Smith JS, Fishbein DB, Rupprecht CE, Clark K. Unexplained rabies in three immigrants in the United States: a virologic investigation. *N Engl J Med* 1991;324:205--11.
98. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N (2010). Brucellosis: A reemerging zoonosis *Veterinary Microbiol.*, 140: 392-398
99. Sanodze L, Bautista CT, Garuchava N, Chubinidze S, Tsertsvadze E et al. (2015) Expansion of brucellosis detection in the country of Georgia by screening household members of cases and neighboring community members. *BMC Public Health* 15: 459
100. Stoddard RA (2009) Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through real-time PCR (qPCR) targeting the *LipL32* gene. *Methods Mol Biol* 943: 257-66
101. Srivastava AK, Sardana V, Prasad K, Behari M (March 2004). "Diagnostic dilemma in flaccid paralysis following anti-rabies vaccine". *Neurol India* 52 (1): 132–3. PMID 150692

102. Thomas J. O'Shea, Paul M. Cryan, Andrew A. Cunningham, Anthony R. Fooks, David T.S. Hayman, Angela D. Luis, Alison J. Peel, Raina K. Plowright, and James L.N. WoodBat Flight and Zoonotic Viruses, NCBI 2014
103. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013; 30: 2725-2729.
104. Tang XC, Zhang JX, Zhang SY, Wang P, Fan XH, Li LF, et al. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China. *J Virol.* Aug. 2006 80(15):7481-90.
105. Towns J, Cockerill T, Dahan M, Foster I, Gaither K, et al. (2014) XSEDE: accelerating scientific discovery. *Comput Sci Eng* 16: 62–74.
106. Veikkolainen V, Vesterinen EJ, Lilley TM, Pulliainen AT (2014) Bats as reservoir hosts of human bacterial pathogen, *Bartonella mayotimonensis*. *Emerg Infect Dis* 20: 960–967.
107. Vanin S, Vernier E (2009) Contribution to the knowledge of the Nycteribiidae (Diptera) from Venetian Region. *Parassitologia* 51: 61–64.
108. Van Schaik J, Dekeukeleire D, Kerth G (2015) Host and parasite life history interplay to yield divergent population genetic structures in two ectoparasites living on the same bat species.
109. Wilkinson DA, Duron O, Cordonin C, Gomard Y, Ramasindrazana B, et al. (2016) The bacteriome of bat flies (Nycteribiidae) from the Malagasy region: a community shaped by host ecology, bacterial transmission mode, and host-vector specificity. *Appl Environ Microbiol* 82: 1778–1788.
110. Willoughby, RE; Tieves, KS; Hoffman, GM; Ghanayem, NS; Amlie-Lefond, CM; Schwabe, MJ; Chusid, MJ; Rupprecht, CE (June 2005). "Survival after treatment of rabies with induction of coma" (PDF). *New England Journal of Medicine* 352 (24): 2508–14. doi:10.1056/NEJMoa050382. PMID 15958806
111. Wang Li-Fa & Christopher couwled, *Bats and Viruses, A new Frontier of Emerging Infectious Diseases* ISBN: 978-1-118-81872-5, Jun 2015, Wiley-Blackwell 384 pages
112. Yanagihara, R.; Gu, S.H.; Arai, S.; Kang, H.J.; Song, J.-W. Hantaviruses: rediscovery and new beginnings. *Virus Res.* 2014 (in press).

113. Zhoua,b,, Mary Tachedjiana , James W. Wynnea , Victoria Boyda , Jie Cuib , Ina Smitha , Christopher Cowleda , Justin H. J. Nga,b, Lawrence Moka , Wojtek P. Michalski , Ian H. Mendenhallb, Gilda Tachedjiand,e,f,g, Lin-Fa Wanga,b, and Michelle L. Bakera,1
Contraction of the type I IFN locus and unusual constitutive expression of IFN- α in bats
Peng

114. Zhang G1, Cowled C, Shi Z, Huang Z, Bishop-Lilly KA, Fang X, Wynne JW, Xiong Z, Baker ML, Zhao W, Tachedjian M, Zhu Y, Zhou P, Jiang X, Ng J, Yang L, Wu L, Xiao J, Feng Y, Chen Y, Sun X, Zhang Y, Marsh GA, Cramer G, Broder CC, Frey KG, Wang LF, Wang J. Comparative analysis of bat genomes provides insight into the evolution of flight and immunity Science 2013