ჯილეხის კერების დეკონტამინაციის შეფასება საქართველოში

მარინა ნიკოლაიშვილი, ანა გულბანი, ირმა ბერაძე,
მარინა ზაქარეიშვილი, ელისო მამისაშვილი, ანა კაპანაძე,
სსიპ სოფლის მეურნეობის სახელმწიფო ლაბორატორია, თბილისი, საქათველო.
E-mail:marina.nikolaishvili@lma.gov.ge; ana.gulbani@lma.gov.ge;
irma.beradze@lma.gov.ge; marina.zakareishvili@lma.gov.ge;
eliso.mamisashvili@lma.gov.ge; ana_kapanadze@ymail.com.

ანოტაცია ჯილეხი საქართველოში საუკუნეების განმავლობაში გავრცელებული ინფექციური ზოონოზური დაავადებაა.

ჯილეხის გამომწვევი ბაქტერია - *B.athracis*, წარმოქმნის სპორებს, რომლებიც რჩებიან ნიადაგში ათეული წლების განმავლობაში არააქტიურ მდგომარეობაში და ინარჩუნებენ ინფექციის გამოწვევის უნარს. აღნიშნულიდან გამომდინარე ჯილეხის გავრცელების შეზღუდვისათვის უმნიშვნელოვანესია ნიადაგის დეკონტამინაცია. სურსათის ეროვნული სააგენტოს მიერ ჯილეხის ნიადაგობრივი კერების დეზინფექცია ხორციელდება კალციუმის ჰიპოქლორიტით, თუმცა უკანასკნელმა კვლევებმა აჩვენა, რომ დაავადების წარსულში დეკონტამინირებული კერებიდან აღებული ნიადაგის ნიმუშების ნაწილი კვლავ შეიცავდა *B.anthracis* სპორებს. აღნიშნულიდან გამომდინარე წამოწყებულ იქნა სამეცნიერო პროექტი, საქართველოში ჯილეხის ნიადაგობრივი კერების დეკონტამინაციის არსებული მეთოდის ეფექტურობის შეფასების მიზნით, მიკრობიოლოგიური და მოლეკულურ-ბიოლოგიური მეთოდების გამოყენებით. კვლევის შედეგები ხელს შეუწყობს ქვეყანაში დაავადების გავრცელების საწინააღმდეგო ღონისძიებების წარმატებით განხორციელებას.

საკვანძო სიტყვები: ჯილეხი, *B.anthracis*, ნიადაგის დეკონტამინაცია, მიკრობიოლოგიური კვლევა, მეთოდის განახლება.

ჯილეხი (ციმბირის წყლული, ანტრაქსი) მწვავე ინფექციური ზოონოზური დაავადებაა, რომელსაც იწვევს გრამდადებითი, ენდოსპორის წარმომქმნელი, უძრავი, ჩხირისებრი ბაქტერია - *B.Anthracis*. დაავადება ვრცელდება ტრანსმისიული, ალიმენტური და ასპირაციული გზებით. ჯილეხით ძირითადად ავადდებიან გარეული და შინაური ბალახისმჭამელი ცხოველები, *B.Anthracis* სპორების ნიადაგიდან ინჰალაციის, კონტამინირებული ბალახის და წყლის მოხმარებით და/ან ქვედა კიდურებზე არსებული ჭრილობების კონტაქტით სპორებთან. რაც შეეხება ჯილეხით ადამიანის ავადობის შემთხვევებს, უმეტესწილად გამოწვეულია ინფიცირებულ ცხოველთან და ცხოველურ პროდუქტთან პირდაპირი და არაპირდაპირი კონტაქტის გზით, თუმცა არსებობს *B.anthracis* ადამიანებში ინჰალაციური გზით გავრცელების

შემთხვევები ბიოლოგიური თავდასხმის (*B.anthracis* როგორც ბიოლოგიური იარაღის გამოყენების) შედეგად. დაავადება მანიფესტირდება კანის, ფილტვისმიერი და გასტროინტესტინური ფორმით, ინფექციური აგენტის ორგანიზმში მოხვედრის გზის შესაბამისად.

ჯილეხის ბაცილები ინფიცირებული ცხოველის შარდის, ფეკალიების და ჯილეხით დაცემული ცხოველის სისხლის და სხვა ბიოლოგიური სითხეების გამოთავისუფლების შედეგად ხვდებიან გარემოში. მკბენარა მწერები რომლებიც იკვებებიან დაავადებული ცხოველის ლეშით ასევე შესაძლოა ასრულებდნენ მექანიკური ვექტორების როლს დაავადების გამომწვევი აგენტის გავრცელებაში. მოხვდებიან რა გარემოში ჯილეხის ბაცილები თავისუფალ ჟანგბადთან ექსპოზიციისას წარმოქმნიან სპორებს, რომლებიც მიძინებულ (არავეგეტატიურ) მდგომარეობაში რეზისტენტულნი არიან გარემო პირობების მიმართ და ინარჩუნებენ ინფექციურობასა და სიცოცხლისუნარიანობას ნიადაგში, ცხოველის ბეწვის საფარში, წყალში და მცენარეებზე ათწლეულების განმავლობაში. ტუტე გარემო, კალციუმის მაღალი შემცველობა, ტენიანობა და ორგანული ნივთიერებების არსებობა განსაკუთრებით ხელსაყრელს ხდის ნიადაგს სპორების გადარჩენისათვის. ჯილეხის შემთხვევები ფიქსირდება მსოფლიოს მასშტაბით, დედამიწის ყველა კონტინენტზე. დაავადების აფეთქებები ხშირად მოსდევს გარკვეულ კლიმატურ მოვლენებს მათ შორის წყალდიდობას, ძლიერი წვიმებს; ასევე ადამიანების მიერ *B.anthracis* სპორებით დაბინძურებული ნიადაგის დამუშავებას და სამშენებლო პროცესებს, ვინაიდან ხდება ნიადაგის სიღრმეში კონცენტრირებული სპორების რელოკაცია მიწის ზედაპირზე.

საქართველოში ჯილეხი მიიჩნევა ენდემურ დაავადებად. პირველად იგი აღწერილი იყო სულხან-საბა ორბელიანის 1697 წლით დათარიღებულ ხელნაწერ მონოგრაფში. ჯილეხის სპორადიული შემთხვევები ფიქსირდება საქართველოს ყველა რეგიონში; მათ შორის ყველაზე მაღალი ინციდენტობით კახეთში, შიდა ქართლსა და ქვემო ქართლში. ჯილეხით დაავადების მუდმივი რისკის არსებობა განპირობებულია ინფექციური აგენტის ნიადაგური კერების არსებობით. საქართველოში დღეისათვის იდენტიფიცირებულია 2000-ზე მეტი ჯილეხით დაავადებული და დაცემული ცხოველის ნიადაგობრივი კერა.

1881 წლიდან სურსათის ეროვნული სააგენტო აგროვებს მონაცემებს და ახორციელებს ჯილეხის გავრცელების აქტიურ და პასიურ ზედამხედველობას. დაავადების კონტროლის და ერადიკაციის მიზნით ხდება, დაცემული ცხოველის ლეშის გაუვნებელყოფა, ინფექციის ტერიტორიის, სასაკლაოების და ლაბორატორიულად დადასტურებული ჯილეხით დაცემული ცხოველების სამარხების დეკონტამინაცია, საქართველოს "სურსათის/ცხოველის საკვების უვნებლობის, ვეტერინარიისა და მცენარეთა დაცვის" კოდექსის, "ვეტერინარულ-სანიტარული უსაფრთხოების წესების" მიხედვით. კერძოდ ნიადაგი მუშავდება კომერციულად არსებული კალციუმის ჰიპოქლორიტით [Ca(OCL)2] ორ ეტაპად. პირველ ეტაპზე გამოიყენება 5% ქლორის ხსნარი (10 ლ $1მ^2$-ზე) 20-25 სმ სიღრმეზე გადაბრუნებული ნიადაგის დასამუშავებლად. მეორე ეტაპზე კი გადაბრუნებულ ნიადაგზე იყრება 25%-იანი ქლორის მადენზიფიცირებელი ფხვნილი (დაახ. 5კგ 1მ2 ფართობზე). როგორც წესი ნიადაგის pH-ის შემცირება 6.1-ს ქვევით განაპირობებს

სპორების სიცოცხლისუნარიანობის დაკარგვას, თუმცა ნიადაგი წარმოადგენს კომპლექსურ მატრიცას და უცნობია ახდენს თუ არა გავლენას მისი შემადგენელი კომპონენტების ფარდობა დეკონტამინაციის ეფექტურობაზე. ზემოთ ხსენებული რეგულაციები არ ითვალისწინებს დეკონტამინაციის პროცედურის წარმატებით განხორციელების და ეფექტურობის დადასტურების აუცილებლობას და აქამდე არ მომხდარა ამ მეთოდის შედეგიანობის მეცნიერული შესწავლა. ამასთან კოოპერატიული ბიოლოგიური კვლევის (CBR) TAP7 პროექტის ფარგლებში განხორციელებული კვლევის (Identification and Mapping of Anthrax foci in Georgia) მიხედვით *B.anthracis* სპორებზე საეჭვო წარსულში დეკონტამინირებული 302 ნიადაგობრივი კერიდან 24 (8%) აღმოჩნდა კვლავ დადებითი ჯილეხზე. აღნიშნული ეჭქვეშ აყენებს დეკონტამინაციის სქემის ეფექტურობას.

ამერიკის შეერთებული შტატების (აშშ) თავდაცვისა და საფრთხის შემცირების სააგენტოს (DTRA) დაფინანსებით ერთობლივი ბიოლოგიური ჩართულობის პროგრამის (CBEP) ფარგლებში წამოწყებულ იქნა პროექტი, რომელიც პასუხობს მასობრივი განადგურების ბიოლოგიური იარაღის წარმოების შესაძლებლობის შემცირებას, *B.anthracis* სპორებზე საეჭვო ნიადაგების ეფექტური დეკონტამინაციის შესახებ სამეცნიერო ინფორმაციის დაგროვების გზით. კვლევის მთავარი მიზანია, საქართველოში ჯილეხის ნიადაგობრივი კერების დეკონტამინაციის მეთოდის სქემის ეფექტურობის შეფასება და რაოდენობრივი ანალიზი, ჯილეხის განმეორებითი დეზინფექციის და პოსტ-დეკონტამინირებულ ნიადაგში *B.anthracis* ლაბორატორიული ანალიზის საშუალებით. პროექტი ხორციელდება სოფლის მეურნეობის სახელმწიფო ლაბორატორიის (სმსლ), სურათის ეროვნული სააგენტოს (სეს) და გერმანიის ჰოჰენჰაიმის ვეტერინარული უნივერსიტეტის (University of Hohenheim für Nutztierwissenschaften) მეცნიერებს შორის თანამშრომლობით. წლების განმავლობაში სმს ლაბორატორიის და სურსათის ეროვნული სააგენტოს სპეციალისტებმა გაიარეს ტრენინგები აშშ-ს მრავალი სააგენტოს, მათ შორის DTRA, CBEP, ამერიკის დაავადებათა კონტროლისა და პრევენციის (CDC) და აშშ სოფლის მეურნეობის დეპარტამენტის სპეციალისტებისგან განსაკუთრებით საშიში პათოგენებთან მუშაობის მეთოდებზე.

პროექტის საწყის ეტაპზე მოხდა სმს ლაბორატორიის მოლეკულური ბიოლოგიის ლაბორატორიის თანამშრომლების გადამზადება პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდის (pjr) დიაგნოსტიკური სენსიტიურობის და სპეციფიურობის გაუმჯობესების მიზნით. ასევე გადამზადდნენ სმს ლაბორატორიის რეგიონალურ ლაბორატორიების სპეციალისტები. სეს-ის სპეციალისტების მიერ განხორციელდა ნიმუშების შეგროვების სტრატეგიის შემუშავება, სამიზნე ლოკაციების დეკონტამინირება საქართველოში არსებული რეგულაციების მიხედვით, პოსტ-დეკონტამინირებული ნიადაგის ნიმუშების აღება და ტრანსპორტირება სმს ლაბორატორიაში, მიკრობიოლოგიური და ბიოსამედიცინო ლაბორატორიების ბიოუსაფრთხოების მანუალის მე-5 გამოცემაში (BMBL Manual 5th edition) გაწერილი ბიოუსაფრთხოების წესების დაცვით. სმს ლაბორატორია პასუხისმგებელია შეგროვებულ ნიადაგის ნიმუშებში, *B.anthracis* მიკრობიოლოგიურ და მოლეკულურ-ბიოლოგიურ კვლევაზე. მონაცემთა ანალიზის საფუძველზე შესაძლებელი გახდება არსებული დეკონტამინაციის სქემის ეფექტურობის შეფასება და საჭიროების შემთხვევაში მოდიფიკაცია/ოპტიმიზაცია, ისევე როგორც დეკონტამინაციის

ალტერნატიული მეთოდების შესაძლო უპირატესობის განხილვა და ახალი პროტოკოლის შემუშავება.

პროექტის მიმდინარეობის პერიოდში სმს ლაბორატორიაში განხორციელდა რაოდენობრივი პჯრ (qPCR) მეთოდის დანერგვა, რომელიც პირდაპირი გზით *B.anthracis* სპორების ნიადაგში რაოდენობრივ ანალიზის საშუალებას იძლევა. მეცნიერები მუშაობენ სადიაგნოსტიკო მეთოდის სენსიტიურობის და სპეციფიურობის გაუმჯობესებაზე, ქრომოსომული მარკერების გამოყენებით.

პროექტის წარმატებით განხორციელება ხელს შეუწყობს, *B.anthracis* სპორების შემცველი ნიადაგის დეკონტამინაციის შესახებ სამეცნიერო ინფორმაციის შევსებას; საქართველოში ჯილეხის ზედამხედველობის და ერადიკაციის ღონისძიებების ეფექტურობის გაზრდას და შესაბამისად ავადობის შემცირებას ცხოველებსა და ადამიანებში. კვლევის შედეგების მიხედვით გარკვეული რეკომენდაციები გაიცემა საქართველოს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს მიმართ, რამაც ასევე შესაძლოა გარკვეული როლი ითამაშოს საერთაშორისო სტანდარტების განვითარებაში.

გამოყენებული ლიტერატურა.

1. Chikerema, S.M., et al., Isolation of Bacillus anthracis from soil in selected high-risk areas of Zimbabwe. J Appl Microbiol, 2012. 113(6): p. 1389-95;

2. Blackburn, J.K., et al., Modeling the Geographic Distribution of Bacillus anthracis, the Causative Agent of Anthrax Disease, for the Contiguous United States using Predictive Ecologic Niche Modeling. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2007. 77(6): p. 1103-1110;

3. Kracalik, I., et al., Changing patterns of human anthrax in Azerbaijan during the post-Soviet and preemptive livestock vaccination eras. PLoS Negl Trop Dis, 2014. 8(7): p. e298;.

4. Kracalik, I.T., et al., Evidence of local persistence of human anthrax in the country of Georgia associated with environmental and anthropogenic factors. PLoS Negl Trop Dis, 2013. 7(9): p. e2388.

5. Kukhalashvili, T., Anthrax foci in Georgia. 2007, National Center for Disease Control and Public Health: Tbilisi, Georgia;

6. Christensen, D.R., et al., Detection of biological threat agents by real-time PCR: comparison of assay performance on the R.A.P.I.D., the LightCycler, and the Smart Cycler platforms. Clin Chem, 2006. 52(1): p. 141-5;

7. Holland, P.M., et al., Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of Thermus aquaticus DNA polymerase. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. 88(16): p. 7276-80;

8. Livak, K.J., et al., Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. PCR Methods Appl, 1995. 4(6): p. 357-62;

9. Marras, S.A., F.R. Kramer, and S. Tyagi, Efficiencies of fluorescence resonance energy transfer and contact-mediated quenching in oligonucleotide probes. Nucleic Acids Res, 2002. 30(21): p. 122;

10. Wang, L., et al., Fluorescence resonance energy transfer between donor-acceptor pair on two oligonucleotides hybridized adjacently to DNA template. Biopolymers, 2003. 72(6): p. 401-12;

11. Abravaya, K., et al., Molecular beacons as diagnostic tools: technology and applications. Clin Chem Lab Med, 2003. 41(4): p. 468-74;

12. Tyagi, S. and F.R. Kramer, Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization. Nat Biotechnol, 1996. 14(3): p. 303-8;

13. Vet, J.A., B.J. Van der Rijt, and H.J. Blom, Molecular beacons: colorful analysis of nucleic acids. Expert Rev Mol Diagn, 2002. 2(1): p. 77-86;

14. Whitcombe, D., et al., Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. Nat Biotechnol, 1999. 17(8): p. 804-7;

15. Bedecarrats, G.Y., et al., Regulation of gonadotropin gene expression by Mullerian inhibiting substance. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. 100(16): p. 9348-53;

ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF SOIL DECONTAMINATION OF BACILLUS ANTHRACIS IN GEORGIA

M. Nikolaishvili, A.Gulbani, I. Beradze, M. Zakareishvili, E.Mamisashvili; A.kapanadze

State Laboratory of Agriculture, Tbilisi Georgia.

E-mail:marina.nikolaishvili@lma.gov.ge; ana.gulbani@lma.gov.ge; irma.beradze@lma.gov.ge; marina.zakareishvili@lma.gov.ge; eliso.mamisashvili@lma.gov.ge; ana_kapanadze@ymail.com.

Summary

Anthrax is a zoonotic infectious disease that has been endemic in Georgia for centuries. *Bacillus anthracis*, the causative agent of anthrax, produces endospores that can infect both humans and animals. These spores can survive in dormant state in the soil for many years, which means that effective decontamination is important to prevent the spread of anthrax. Specialists from Georgia's National Food Agency currently use calcium hypochlorite to disinfect animal slaughter and burial sites that are linked to laboratory-confirmed anthrax cases. However, recent studies have shown that soil in disease foci can continue to harbor B. *anthracis* after decontamination. Therefore, we initiated a research project to evaluate and quantitate the efficacy of the current disinfection scheme of soil decontamination in Georgia and provide baseline data against which to assess alternative decontamination approaches in the future. The proposed project provides a better understanding of soil decontamination dynamics in Georgia, as well as an opportunity to ensure that appropriate control measures are being deployed. These efforts ultimately reduce the risk of soil-borne anthrax infections in Georgia by ensuring that affected sites are effectively decontaminated.

Key words: *B.anthracis*, Anthrax eradication, soil decontamination, Bacteriology, Molecular biology.