

Риск возникновения инфекций от насекомоядных летучих мышей в Украине и Грузии

Обзор и вступление

Эпидемии новых инфекционных заболеваний в настоящее время находятся на подъеме. Новый штамм коронавируса SARS-CoV-2 (предварительно переданный от летучей мыши) привел к мировой пандемии, крупнейшему карантину в истории человечества, глобальному прекращению перевозок, международной политической нестабильности и изменениям в мировой экономике. Очевидно, что прогнозирование возникновения болезней в настоящее время представляет особый интерес. Однако возможности предвидеть, где и когда могут возникнуть новые болезни весьма ограничены.

Летучие мыши являются переносчиками широкого спектра зоонозных вирусных и бактериальных патогенов. Летучие мыши обладают уникальной биологией и могут играть определенную роль в поддержании и передаче инфекционных заболеваний другим позвоночным. На сегодняшний день содержащиеся в организмах летучих мышей вирусы и патогены, которые потенциально могут повлиять на население Украины и Грузии, практически не исследованы. Целями проекта являются оценка роли летучих мышей как естественного резервуара для патогенов, имеющих отношение к здоровью человека и животных на Украине и в Грузии. Изучение факторов, которые могут повлиять на скопление патогенов в популяциях летучих мышей и как эти общие изменения могут привести к возникновению заболеваний у людей и домашних животных. Нарращивание потенциала для создания устойчивой системы эпиднадзора (активные исследования летучих мышей на Украине не проводились), которые могут помочь выявлять, предотвращать и прогнозировать возникновение заболеваний в регионе. Проект будет направлен на выявление и определение географического диапазона вирусных (коронавирусы, филовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы, лизавирусы) и бактериальных (бруцеллез, лептоспироз, чума) агентов, циркулирующих в популяциях летучих мышей, а также определение их эволюционных взаимоотношений с патогенами, имеющими значение для здоровья человека и животных, и их связь с различными факторами окружающей среды. Эти исследования не только позволят идентифицировать патогенные микроорганизмы, оценить роль летучих мышей как источника зоонозных заболеваний на Украине и в Грузии, но также внесут значительный вклад в совершенствование систем эпиднадзора за болезнями в дикой природе.

Этот проект имеет потенциал для углубления нашего понимания того, как сообщества видов изменяют взаимодействия носителя и паразита и как урбанизация влияет на ослабление или усиление эффектов между

изменением биоразнообразия и возникновением болезней, а также на оценку рисков, основанную на данных. Ожидаемые результаты представляют интерес для: экологии и эволюции инфекционных бактериальных и вирусных заболеваний, систем раннего предупреждения и глобального здравоохранения. Ожидается, что этот проект позволит получить данные для выяснения эффективности (или ее отсутствия) сохранения биоразнообразия на местном уровне (например, вокруг населенных пунктов) для снижения уровня инфекционных заболеваний.

Создание исследовательской сети для наблюдения и раннего выявления известных и потенциальных патогенов с высокими последствиями для людей и домашних животных в Восточной Европе. Расширение возможностей Грузии и Украины по оценке вирулентности вирусных агентов, обнаруженных у летучих мышей, путем оценки эволюционных взаимосвязей нового вируса с известными патогенами. Разработка экологических моделей для прогнозирования патогенов с высокими последствиями в неисследованных регионах Грузии и Украины и соседних странах на основе изменений ландшафта.

Полученные результаты также будут способствовать разработке и реализации планов реагирования на чрезвычайные ситуации в будущем. Нарращивание потенциала будет сосредоточено на обучении местных специалистов безопасным и эффективным методам отлова летучих мышей, отбора проб и измерения биобезопасности на местах и в лаборатории. Наш проект создаст самодостаточную платформу в обеих странах для обнаружения основных патогенов в дикой природе с использованием современных технологий лабораторного скрининга при соблюдении международных требований биобезопасности.

Что является целью проекта?

Основными целями этого проекта являются: выявление вирусных и бактериальных агентов с высокой степенью воздействия в популяциях летучих мышей на Украине и в Грузии. Проведение исследования с целью установления влияния изменения биоразнообразия ландшафта (нетронутые, сельские, урбанизированные условия) местности на совокупность вирусных и бактериальных агентов с высокой степенью воздействия в популяциях летучих мышей и как эти общие изменения могут привести к возникновению заболеваний у людей и домашних животных. Отслеживание эволюционных взаимосвязей между возбудителями, переносимыми летучими мышами, и их известными близкими патогенными сородичами, вызывающими заболевания у людей и животных, также занимает центральное место в этом проекте. Создание устойчивой и согласованной сети эпиднадзора для раннего выявления, полного геномного описания, хранения данных и анализ вирусных и бактериальных агентов, связанных с популяциями летучих мышей на Украине и в Грузии.

В чем заключается проблема?

Биоразнообразие имеет важное значение для функционирования экосистем. Глобальная ускоренная утрата биоразнообразия из-за урбанизации и активного ведения сельского хозяйства, вероятно, приведет к неожиданным скоплениям видов и взаимодействиям в различных масштабах биоразнообразия. Возникающие инфекционные заболевания были связаны с изменениями биоразнообразия, где большинство недавних эпидемий имели подтвержденное происхождение из дикой природы. Тем не менее, точный момент, когда изменение биоразнообразия приводит к появлению патогенов, поражающих людей и животных, все еще остается неясным. Взаимосвязь между биоразнообразием и болезнями в течение последнего десятилетия подвергалась пристальному изучению в области экологии и эволюции.

Неопровержимые доказательства связывают появление патогенов с серьезными последствиями с сообществами летучих мышей и населенными пунктами. Примеры включают филловирусы (например, вирусы Марбурга, Эбола), Лизавирусы (например, бешенство, Лизавирус 2-ой европейской летучей мыши), Парамиксовирусы (например – Нипах, Хендра), Коронавирусы (например, SARS-CoV, SARS-CoV-2, Ближневосточный респираторный синдром), Буньявирусы (вирусы, подобные Конго-крымской геморрагической лихорадке) и ортомиксовирусы (2 новых подтипа: H17N10 и H18N11). Поразительно, что существует ограниченное количество всесторонних знаний об эволюционных и экологических взаимосвязях этих патогенов с отдельными видами летучих мышей или уровнями ухудшения среды обитания.

Кроме того, доступная информация относится к данным, полученным во время эпидемий, пренебрегая пониманием циркуляции патогенов и их характеристики до вспышек. Этот превентивный подход препятствует пониманию факторов, которые изменяют циркуляцию патогенов в дикой природе.

Поразительное обилие и разнообразие коронавирусов летучих мышей и их близкое сходство с теми, которые обнаруживаются при пандемических респираторных синдромах, поражающих людей и животных во всем мире, подтверждают ключевую роль, которую летучие мыши могут играть в качестве источника глобального распространения инфекций. Аналогичным образом, дополнительные доказательства, объясняющие необычайный таксономический масштаб вирусов летучих мышей, показывает, по крайней мере, 248 новых вирусов, принадлежащих к 24 вирусным семействам, выявленным в разных частях мира в период 1991-2016 гг. Кроме того, несколько переносимых летучими мышами патогенов с высокими последствиями, обнаруженных в Европе, Африке и Восточной Азии, также свидетельствуют о длительных эволюционных взаимосвязях, возможно, связанных с долгосрочным глобальным распространением. В качестве дополнительного примера глобального распространения вирусов у самих летучих мышей в Китае были обнаружены схожие филловирусы, которые, как

первоначально считалось, были ограничены Африкой. Парамиксовирус, Ортомиксовирус и Буньявирус также были обнаружены у летучих мышей из разных стран мира, что свидетельствует о риске возникновения заболеваний у людей.

Что делают другие люди?

Семейства летучих мышей «подковоносые» и «гладконосые» являются наиболее заразными. Западная Европа является основным местом скопления для этих семейств летучих мышей. Например, только в Грузии и на Украине насчитывается от 28 до 30 видов этих летучих мышей. Всего на долю этих стран приходится около 80% от общего числа зарегистрированных видов летучих мышей. В ходе наших недавних исследований в Грузии были выявлены циркуляции большого разнообразия патогенов, переносимых летучими мышами, включая поразительное многообразие коронавирусов. Украина также сообщила о стабильной циркуляции патогенов, переносимых летучими мышами. Расположение Грузии и Украины между Европой и Азией, а также масштабное распространение летучих мышей, делает эти страны естественным коридором для обмена патогенами и идеальным регионом для изучения эволюции паразитов-носителей.

Что вы собираетесь делать?

Задачи научного проекта: оценить таксономическое разнообразие потенциально эндемичных вирусных и бактериальных агентов, связанных с летучими мышами, обитающими в естественных природных и городских условиях на Украине и в Грузии (1-й, 2-ой, 3-й год). Исследовать эволюционные взаимосвязи между этими агентами и теми, которые, как известно, вызывают заболевания у людей и домашних животных, с использованием подходов сравнительной геномики (1-й, 2-ой, 3-й год). Мониторинг потенциальных сезонных колебаний показателей положительности, относительного состава или общих изменений разнообразия летучих мышей и связанных с ними бактериальных и вирусных агентов (1-й, 2-ой, 3-й год). Оценка потенциальных связей между переменными окружающей среды и разнообразием бактериальных/вирусных агентов в Грузии и на Украине для моделирования возможных рисков и возникновения болезней с использованием подходов к моделированию экологических ниш (1-й, 2-ой, 3-й год). Определение связей между особенностями ландшафта и разнообразием видов летучих мышей (2-ой, 3-й год). Определение влияния состава сообщества летучих мышей на возникновение опасных патогенов (2-ой, 3-й год).

Задачи ненаучного проекта: организация устойчивого обмена технологиями и научным опытом между учреждениями из всех стран-участниц для создания прочной региональной исследовательской сети. Развитие уровня биозащиты для улучшения уровня проведения полевых и лабораторных работ. Улучшение местного потенциала для расследования,

раннего выявления опасных вирусных и бактериальных агентов на основе высокопроизводительных согласованных стандартных операционных процедур в Центре по контролю заболеваний в Грузии. Создание самодостаточной сети пассивного эпиднадзора за болезнями больных или мертвых летучих мышей по всей Украине и Грузии в дополнение к полевым исследованиям. Развитие местных возможностей по хранению, управлению и анализу сложных геномных данных и их интерпретация.

Что же здесь нового?

Новая информация о наличии или отсутствии особо опасных патогенов у летучих мышей на Украине и в Грузии. Стандартизация и регулирование методов исследования особо опасных патогенов на Украине. Пространственное представление распределения изученных инфекций и их возбудителей в определенных областях на Украине и в Грузии. Презентация и публикация новых результатов. В рамках проекта будет организовано уведомление государственных органов (Государственной ветеринарной службы Украины, Министерства охраны здоровья Украины, Министерства охраны окружающей среды и природных ресурсов, Национального агентства продовольствия Грузии) о результатах исследований. Публикация практических рекомендаций по улучшению экологического и эпидемиологического надзора за болезнями летучих мышей на основе результатов, полученных всеми участниками проекта для их дальнейшего представления правительствам Украины и Грузии. Организация сотрудничества и совместной научной работы между различными научными и диагностическими учреждениями Украины, Грузии и США.

Кто мы?

Национальный научный центр Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины (ННЦ ИЭКВМ, Украина). Ведущее научное учреждение в области здравоохранения животных на Украине, координирует научные исследования особо опасных патогенов на Украине. ННЦ ИЭКВМ соответствует всем государственным санитарным правилам Украины для работы с особо опасными патогенами. ННЦ ИЭКВМ также соответствует государственному санитарному разрешению Украины для работы с особо опасными патогенами. ННЦ ИЭКВМ имеет аккредитацию Международной организации стандартизации. ННЦ ИЭКВМ уже успешно осуществил несколько международных научных проектов в области болезней животных, включая высокопатогенные вирусы птичьего гриппа и болезнь Ньюкасла. В этих проектах также принимали участие Министерство сельского хозяйства США, Агентство по сокращению угроз и швейцарский национальный научный фонд. Два проекта UP-4 и UP-10 в рамках Программы совместного биологического взаимодействия с Украиной проходили в 2016-2019 гг. Лаборатории имеют соответствующий уровень

биобезопасности и биозащиты: контроль доступа, видеонаблюдение, системы вентиляции воздуха с отрицательным давлением, возможность проведения ПЦР-тестирования, наличие наборов для очистки и подготовки ДНК-РНК, электрофорез, низкотемпературные камеры, оборудование для проведения тестов «ЭЛИСА», охлаждаемая центрифуга, водяные бани, автоклавы, сушильные камеры, оборудование для серологических исследований, компьютеры. Комиссия по биоэтике и обращению с животными осуществляет надзор за всеми проектами, связанными с животными или экспериментами над животными.

Национальный центр по контролю заболеваний и общественного здравоохранения имени Р.Лугара (НЦКЗ, Грузия) обеспечивает национальное руководство в области профилактики и борьбы с инфекционными и неинфекционными заболеваниями, эпиднадзора за заболеваниями, иммунизации, лабораторных работ, исследований и реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения. Центр является самым современным в лабораторной сети НЦКЗ и основной референс-лабораторией в системе общественного здравоохранения Грузии. Центр Лугара располагает помещениями биологического уровня BSL-3 и BSL-2 со следующими лабораториями: бактериологическая, вирусологическая, молекулярная биологическая/геномическая, культуры клеток, паразитологическая, энтомологическая, виварийная, а также национальное хранилище особо опасных патогенов человека и животных. Поскольку Центр Лугара является единственным объектом в Грузии, где проводятся работа с особо опасными патогенами, безопасность является нашей первостепенной задачей. У нас есть надежный инженерный контроль с двойным резервированием для всех основных систем объекта. У нас есть общие планы реагирования на чрезвычайные ситуации, запланированы учения и назначены лица, принимающие в них участие.

Международные партнеры: Центр по контролю и профилактике заболеваний (США), Национальный центр охраны дикой природы (США), Политехнический университет штата Виргиния (США).

Ожидаемые результаты

Ожидаемые научные результаты: получение информации о наличии или отсутствии возбудителей потенциально зоонозных инфекционных заболеваний для людей и животных у летучих мышей и оценка разнообразия патогенов в популяциях летучих мышей на Украине и в Грузии. Филогенетическая характеристика новых вирусов и бактерий насекомых летучих мышей на Украине и в Грузии. Ожидаемые ненаучные результаты: Обучение персонала безопасному отлову диких животных, обновление новых методов сбора образцов, внедрение высокопроизводительных лабораторных методов.

Результаты лабораторных исследований будут представлены Государственной ветеринарной службе Украины, а также Центру по

контролю заболеваний Министерства охраны здоровья Украины. Результаты лабораторных исследований в Грузии будут представлены Министерству сельского хозяйства Грузии и Государственной ветеринарной службе Грузии.

Международное, национальное, междисциплинарное, межсекторальное сотрудничество. К реализации проекта будут привлечены эксперты из различных областей (ветеринария, медицина, биология, молекулярная биология, зоология и т.д.) как на международном, так и на национальном уровнях. Это позволит создать устойчивую сеть экспертов по изучению летучих мышей и их патогенов.

Объем работы

- Улучшить практические навыки участников проекта и разработать/обновить/адаптировать стандартные оперативные процедуры (СОП) для полевых и лабораторных исследований. Тренинги будут проводиться специалистами Центра по контролю и профилактике заболеваний и Геологической службы Соединенных Штатов (1-й год).
- Выездные работы для отбора проб биологических материалов летучих мышей и сбора данных о месте исследования (1-й, 2-ой, 3-й год).
- Лабораторные исследования собранного биологического материала (ПЦР-тестирование) (1-й, 2-ой, 3-й год);
- Анализ, обобщение и сопоставление всех полученных выездных и лабораторных результатов и исследований (3-й год);
- Проверка научных гипотез (2-ой, 3-й год);
- Представление предварительных и окончательных результатов на научных конференциях (1-й, 2-ой, 3-й год). Публикация результатов в специальных журналах (1-й, 2-ой, 3-й год).

Технический подход и методология

Задание для выполнения №1. Обновить и усовершенствовать практические навыки местного персонала путем внедрения СОП для выездных работ, сбора и отбора проб летучих мышей, лабораторных процедур обнаружения, документирование и полное описание характеристики генома интересующих агентов. (1-й год).

Подзадача 1.1. Оценка объектов и имеющейся инфраструктуры Грузии и Украины, где будут внедрены лабораторные СОП. Необходимо проведение инвентаризация имеющегося оборудования на предмет его надлежащего функционирования, а также всей документации по его техническому обслуживанию. Наличие адекватных вычислительных мощностей информационных технологий. Учет цепей заморозки, складских помещений и образцов. Эта деятельность должна проводиться комиссией, в состав которой входят сотрудники учреждений, ответственных за внедрение, а также представители принимающего учреждения (Центр по контролю и профилактике заболеваний, Геологическая служба Соединенных Штатов,

ННЦ ИЭКВМ, Научно-технический центр Украины и НЦКЗ Грузии). Утвержденные «Комитетом по содержанию и использованию животных» протоколы должны быть представлены участвующими учреждениями, чтобы выездные мероприятия могли начаться как можно скорее.

Подзадача 1.2. После установочного совещания состоится краткий семинар по согласованию протоколов сбора животных для представления в «Комитет по содержанию и использованию животных», а также по тренингам по получению точных данных выездных работ. Краткое руководство по использованию некоторых инструментов, таких как ландшафтные объекты, полученные со спутника MERIS FR (Политехнический университет штата Виргиния).

Подзадача 1.3. Проведение специальных тренингов для сотрудников ННЦ ИЭКВМ и НЦКЗ под руководством специалистов Центра по контролю и профилактике заболеваний и Геологической службы Соединенных Штатов по передовым методам выездных исследований дикой природы, безопасному обращению с животными, сбору и транспортировке образцов, использованию средств индивидуальной защиты и управлению цепями заморозки.

Подзадача 1.4. Внедрение/обновление/согласование СОП в области биобезопасности и биозащиты, лабораторных испытаний и секвенирования.

Подзадача 1.5. Проведите первых скрининговых тестов образцов, извлеченных из мест обитания летучих мышей.

Подзадача 1.6. Начало полевых работ и сбор проб.

Задача для выполнения №2. Продолжение проведения выездных исследований, корректировка СОП, первичный анализ по положительным показателям и ввод данных (1-й, 2-ой, 3-й год).

Подзадача 2.1. Продолжение сбора летучих мышей и их биологических образцов (НЦКЗ, ННЦ ИЭКВМ, Центр по контролю и профилактике заболеваний и Геологическая служба Соединенных Штатов).

Подзадача 2.2. Контроль за качеством хранящихся данных, управление базами данных (Политехнический университет штата Виргиния и Центр по контролю и профилактике заболеваний).

Подзадача 2.3. Контроль за правильным выполнением СОП (мероприятий по обеспечению качества/контролю качества), анализ данных скрининговых тестов, проведенных в первый год, устранение неполадок в лабораторных процедурах (при необходимости). Предварительный анализ типизированных данных (мероприятия, координируемые Центром по контролю и профилактике заболеваний, НЦКЗ).

Выездные исследования будут включать в себя отлов летучих мышей, отбор проб, проведение выездных работ и транспортировку биоматериалов в лаборатории в соответствии с действующими протоколами биобезопасности, биозащиты и биоэтики. Летучие мыши будут пойманы в ловушку из разных городских мест обитания и в природных экосистемах в соответствии с практикой Центра по контролю и профилактике заболеваний и Геологической службы Соединенных Штатов. Ожидаемое количество обследованных животных за три года реализации проекта должно

составить около 850 особей на Украине и 650 в Грузии. Летучие мыши будут пойманы и отобраны: в брачный период (май-июль), во время миграции (август-сентябрь) и в начале зимней спячки (ноябрь-декабрь) в разных географических районах Украины и Грузии. Сбор материалов на Украине будут происходить в трех различных регионах: Карпатский горный регион (Западная Украина), лесные регионы (Северная Украина), степные и лесостепные регионы (Восточная и Центральная Украина). В Грузии будут охвачены три региона: Имерети и Самегрело в Западной Грузии, Кахети в Восточной Грузии и заповедник Гардабани в Восточной Грузии (рис. 1).

Взятие проб. В ходе этого расследования будут проведены два вида взятия проб (летальный и нелетальный). Всего в течение трех лет будут подвергнуты эвтаназии не более 120 летучих мышей в Грузии и не более 150 на Украине. Нелетальные пробы предполагают сбор фекалий, мочи или ректальных мазков, а также мазков из ротоглотки живых животных. В качестве альтернативы, может быть использован сбор свежих фекалий из пещер или полов насестов. В моновидных колониях для изучения будут использоваться только свежие фекалии. Все виды летучих мышей в отдельных колониях будут четко разделены. В случае наличия в колонии нескольких видов летучих мышей пробы отбираться не будут. В этом случае будут взяты несколько образцов, но рассматриваться они будут как образец одного животного. При использовании свежих фекалий, собранных из колонии, будет оцениваться процент положительных единичных образцов фекалий. Последний будет указывать на общую степень зараженности колоний. Также будут приняты во внимание размер колонии и общее количество животных. Ткани будут взяты в качестве биологических образцов у мертвых или подвергнутых эвтаназии животных. Также мы будем собирать данные о месте проведения исследования (данные о местоположении, месте отбора проб, городском или природном месте), особенностях окружающей среды (ландшафт, погодные условия, время года) и самих летучих мышах (количество животных, количество видов в этом месте обитания, их физиологическое состояние, возраст, пол и т.д.).

Транспортировка и хранение образцов. Общие СОП, касающиеся транспортировки, хранения, дезинфекции и утилизации образцов в соответствии со стандартами «Совместной программы биологического взаимодействия» и методикой Центра по контролю и профилактике заболеваний, будут разработаны до начала проекта. Соответствующие записи о поступающих биологических образцах будут храниться в системе PACS (система передачи и архивации изображений) в лабораториях. Собранные образцы будут транспортироваться в цистернах с жидким азотом для сухих перевозок. Замороженные образцы будут храниться в ультраморозильных камерах при температуре -800°C в помещениях биологического уровня BSL 2. Все образцы будут подвергнуты автоклавированию после завершения всех исследований (по крайней мере, через 12 месяцев после даты окончания проекта). Доступ (только для уполномоченных лиц) ко всем образцам

и собранным данным, сгенерированным в ходе проекта, будет осуществляться не позднее 12 месяцев после даты окончания проекта.

Характеристика ландшафта. Чтобы изучить закономерности ландшафтных характеристик в исследуемой области, мы получим 16-дневные составные изображения с улучшенным индексом растительности (EVI) с пространственным разрешением 250 м с датчика MODIS на спутнике Terra (https://lpdaac.usgs.gov/data_access/data_pool).

Оценка урбанизации. Мы будем использовать спутниковые данные о ночном освещении в качестве показателя уровня урбанизации. Уровни урбанизации будут охарактеризованы в виде спутникового изображения в ночное время с разрешением ~ 0,75 км, соответствующего нашему первому периоду выездных работ. Данные будут собираться датчиком VIIRS на спутнике АЭС Суоми (<http://1.usa.gov/1FQvs5r>).

Оценка разнообразия летучих мышей. Млекопитающие будут отлавливаться по всей Украине и Грузии на основе фенологии растительности и уровня урбанизации, начиная от городских районов и заканчивая густыми лесами, для достижения различных конфигураций видов и уровней биоразнообразия.

Задание для выполнения №3. Продолжить лабораторные исследования биологического материала (1-й, 2-ой, 3-й год).

Подзадача 3.1. Обработка образцов (фекалий, мочи и мазков) для выявления нуклеиновых кислот всех интересующих агентов при помощи ПЦР-тестирования.

Подзадача 3.2. Типирование положительных образцов путем секвенирования и филогенетического вывода.

Подзадача 3.3. Полная характеристика генома за счет данных секвенирования нового поколения, стандартизация аналитических данных (проведение тренингов специалистами Центра по контролю и профилактике заболеваний), филогенетический анализ и применение подходов сравнительной геномики для определения родства с ранее выявленными патогенами (Учебные мероприятия, проводимые специалистами Центра по контролю и профилактике заболеваний).

Подзадача 3.4. Внедрение приложений интеграции данных для специальной визуализации всех генерируемых данных (данные последовательности, переменные среды), сравнительного геномного обучения. Этим мероприятием будет руководить специалисты Центра по контролю и профилактике заболеваний.

Подзадача 3.5. Продолжение интеграции данных, разработка моделей экологических ниш (возглавляемая Политехническим университетом штата Виргиния и Центром по контролю и профилактике заболеваний).

Лабораторные исследования. Проект будет сосредоточен на выявлении (только ПЦР-методом) филовирусов, парамиксовирусов, лизавирусов, ортомиксовирусов, бруцеллеза, лептоспириоза чумы в обеих странах, а также дополнительных коронавирусов (только на Украине). Изучение коронавирусов в Грузии включено в другой текущий проект. В

ходе лабораторных исследований мы определим наличие патогенных микроорганизмов в собранных образцах. Наличие патогенов будет определяться путем обнаружения генома в биологическом материале. Для выявления всех патогенов (кроме ортомиксовирусов) мы будем использовать СОП и методологию, которые будут предоставлены командой НЦКЗ. СОП и методология выявления ортомиксовирусов будут предоставлены команде Геологической службы Соединенных Штатов.

Что касается вирусных агентов, то будет проведена автоматизированная общая экстракция РНК для твердых тканей (гранулы кала, мазки из прямой кишки, легкие, почки, селезенка, печень и кишечник) каждой отдельной летучей мыши. Общие данные по РНК, полученные путем смешивания образцов РНК 3-5 отдельных особей одного и того же вида и взятые из одного и того же места, будут подготовлены и впоследствии подвергнуты скринингу с помощью двух-четырех независимых ПЦР-тестов. Два анализа будут использоваться для коронавируса, два для филовирюсов, четыре для парамиксовирусов, два для лизавирусов и один для ортомиксовирусов.

Положительные образцы во всех пулах будут повторно проверены методом ПЦР в реальном времени, чтобы определить точное количество положительных особей в пуле. Последующее индивидуальное ПЦР-тестирование всех положительных особей будет нацелено на амплификацию высокоинформативных генов или локусов (от 2 до 3 кб), которые затем будут секвенированы по Сэнгеру для определения спектра разнообразия для каждого вирусного семейства. Наличие патогенных микроорганизмов будет рассчитано по результатам лабораторных исследований. Статистический анализ будет проводиться с использованием методов общей статистики. Статистический анализ будет проводиться с использованием программного обеспечения R (R Core Team 2019) или другого.

Затем будут разработаны соответствующие протоколы для геокодирования и импорта данных особо опасных патогенов, чтобы гарантировать, что данные будут записаны в электронную таблицу соответствующего формата или текстовый файл с разделителями через запятую. Как только массив данных о болезнях будет преобразован в цифровой формат, основное внимание будет уделено концепциям, касающимся пространственного анализа, картографии и методов создания различных типов карт для визуализации распределения заболеваний. Затронутые темы будут включать: картографические проекции, выбор данных, анализ векторных данных, растровый анализ, интеграцию данных, символику данных и дизайн карты.

Места проведения проекта и его техническое оснащение

На Украине проект будет реализован в Национальном научном центре «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» (г. Харьков, ул. Пушкинская, 83). Подразделения Национального научного

центра ННЦ ИЭКВМ, которые будут задействованы в проекте, оснащены базовым оборудованием для обычного ПЦР-тестирования, низкотемпературными холодильниками, помещениями биологического уровня класса BSL-2, центрифугами с охлаждением, водяными банями, автоклавами, сушильными камерами и компьютером для анализа данных. Кроме того, все помещения, участвующие в проекте, оснащены вентиляцией с фильтрами HEPA, обеспечивающими перепад давления в соответствии с классификацией BSL2 +.

В Грузии проект будет реализован Национальным центром по контролю заболеваний и общественного здравоохранения имени Р.Лугара (НЦКЗ) обеспечивает национальное руководство в области профилактики и борьбы с инфекционными и неинфекционными заболеваниями, эпиднадзор за заболеваниями, иммунизацией, лабораторными работами, исследованиями и реагированием на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения. Центр Лугара является высшим учебным заведением в лабораторной сети НЦКЗ и служит главной референс-лабораторией системы общественного здравоохранения Грузии. Центр Лугара располагает помещением биологического уровня класса BSL-3 и помещением BSL-2 со следующими лабораториями: бактериология, вирусология, молекулярная биология/геномика, культура клеток, паразитология, энтомология, виварий и национальное хранилище особо опасных патогенов человека и животных. Поскольку Центр Лугара является единственным объектом в Грузии, где проводится работа с особо опасными патогенами, безопасность являются нашей ключевой задачей. У нас есть надежный инженерный контроль с двойным резервированием для всех основных систем объекта. У нас есть общие планы реагирования на чрезвычайные ситуации, запланированы учения и назначены лица, принимающие в них участие.