

RECEȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____
_____ 2021

AVIZAT

Secția AȘM _____
_____ 2021

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

**privind implementarea Ofertei de soluții de cercetare-inovare privind combaterea și
atenuarea impactului pandemiei COVID-19**
**„Elaborarea dispozitivelor pentru dezinfectarea vestimentației și echipamentului personalului
care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2 (TEHMED COVID)”**
20.70086.07/COV(70105)

Prioritatea Strategică 5. Competitivitate economică și tehnologii inovative

Conducătorul proiectului dr. Nica Iurie _____

Directorul organizației dr. Ghimpu Lidia _____

Consiliul științific dr. Ghimpu Lidia _____

L.Ș.

1. Scopul ofertei de soluții depuse la concurs

Elaborarea dispozitivelor pentru dezinfectarea vestimentației și echipamentului personalului care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2

2. Obiectivele ofertei de soluții

1. Studiul influenței radiației ultraviolete bactericide (UVC) cu lungimea de undă 255 nm emisă de LED – uri asupra virusilor de SARS-CoV-2 și a unităților structurale din componența lui.
2. Elaborarea și construirea unei boxe care separă „zona infectată” de „zona curată” destinată dezinfectării vestimentației personalului medical care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2.
3. Elaborarea și construirea unui dispozitiv care dezinfectează cu radiație ultravioletă bacterică (UVC) echipamentul și instrumentele personalului care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivele ofertei de soluții

1. Studiul literaturii științifice, tehnice și de patentare care se referă la dispozitivele de iradiere. Analiza informației accesibile pentru determinarea cerințelor către obiectul elaborării (caracteristicile obiectelor destinate iradierii; valorile parametrilor-țintă până la interacțiune; parametrii acțiunii; analiza sistemică a problemei) pentru selectarea variantelor de construcție și tehnologiilor de fabricare. Efectuarea experiențelor necesare formulării sarcinilor proiectului și realizării lui. Procurarea pieselor și ansamblelor.
2. Determinarea dozelor energetice de anihilare a virusilor de SARS-CoV-2 și componentelor structurale ale lui într – un laborator care efectuează testele de reacții în lanț a polimerazei în timp real (RT PCR).
3. Lucrările experimentale de elaborare și construcție a mostrelor experimentale. Proiectarea, asamblarea mostrelor machetă ale circuitelor modulelor cu microcontroloare de dirijare a puterii emise de LED – uri și de tuburi cu vapori de mercur la presiune joasă. Proiectarea, fabricarea standurilor de testari. Testarea mostrelor experimentale ale dispozitivelor de iradiere.

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivele ofertei de soluții

1. Pentru determinarea dozelor energetice ale radiației UVC necesare pentru anihilarea virușilor de SARS-CoV-2, în laboratorul de diagnostică INVITRO DIAGNOSTICS SRL, care efectuează testele de detectare a virușilor utilizând metoda reacțiilor în lanț a polimerazei în timp real cu transcripție inversă (RT qPCR) am cercetat influența radiației asupra a trei unități structurale ale genomului SARS-CoV-2: genele N și E (specifice coronavirusului SARS-CoV-2) și Like coronavirus SARS-CoV- segment conservativ al genei E comun grupei coronavirusurilor similari, inclusiv, SARS-CoV și SARS-CoV-2. Etapele transcripției inverse a ARN și PCR– amplificarea cADN se efectuează într-o eprubetă (godeu). Mostrele de preparat care conțin viruși SARS-CoV-2 se iradiază cu diferite doze de UVC și se depun în eprubete care se instalează în dispozitivul care efectuează PCR–amplificarea. Apriori în eprubete este depus produsul de control intern (RNA–IC) destinat să evalueze calitatea extracției ARN și a reacției în lanț a polimerazei. RNA–IC este un produs sintetic. Gena E este responsabilă de codificarea E–proteinei, care este o proteină structurală ce ajută la formarea veziculei uleioase a virusului, contribuie la asamblarea virusului și, interacționând cu proteina M, face ca membrana să se înfășoare în jurul nucleocapsidei. Este esențială în formarea particulelor virale mature. În plus, cercetătorii au descoperit că această proteină poate schimba în mod activ ordinea de activare a genelor organismului infectat.

Gena N codifică proteina capsidică N, din care este construită mantaua proteică pentru ARN-ul viral replicat. Un număr mare de aceste proteine se combină între ele într-o spirală lungă, înfășurându-se și învelind monocatena virală a ARN, formând împreună cu acesta o nucleocapsidă.

Pentru iradierea materialului care conține COVID-19, a fost elaborată și fabricată o instalație care include: 1. O masă pentru plasarea de diapozitive sau cutii Petri cu probe, un suport pentru o matrice LED și un obturator electromagnetic, asamblate într-un singur bloc.

2. Unitatea de control, care include un temporizator pentru controlul obturatorului, un stabilizator de curent prin matricea LED. Alimentarea dispozitivului de la ~ 220V AC și stabilizarea modurilor de funcționare a circuitelor electrice interne este asigurată de un adaptor AC / DC 220V / 30V 2A și de convertoare de stabilizare DC / DC.

Fiecare experiment s-a petrecut în felul următor: a) selectarea materialului care conținea viruși SARS-CoV-2; b) prepararea probelor împărțind materialul selectat în părți egale și fiecare parte se depune într – un strat subțire pe sticla special pregătită sau pe fundul cutiilor Petri; c) iradierea probelor cu diferite doze energetice de radiație UVC. d) efectuarea procedurilor de amplificare numerică a componentelor structurale ale virușilor prin metoda reacțiilor în lanț a polimerazei în timp real cu transcripție inversă RT qPCR.

2. Au fost efectuate lucrările experimentale de elaborare, proiectare și construcție a mostrelor experimentale ale boxei care separă „zona infectată” de „zona curată” destinată dezinfectării vestimentației personalului medical pe baza tuburilor cu vapori de mercur la presiune joasă și a dispozitivului care dezinfectează cu radiație ultravioletă bactericidă (LED) echipamentul și instrumentele personalului care intră în contact cu bolnavii.

5. Rezultatele obținute

Pentru inactivarea virușilor SARS-CoV-2 am utilizat LED-uri cu emisia maximală pe lungimea de undă $255 \pm 5\text{nm}$. Această sursă de radiație bactericidă UVC are maximul de emisie în vecinătatea maximului spectrului de absorbție a ADN și ARN și poate sta la baza dispozitivelor și terapiilor de întrerupere a proceselor de răspândire a infecției. Inactivarea virușilor SARS-CoV-2 am studiat-o prin anihilarea componentelor structurale ale virușilor care se manifestă în procesul de amplificare în procedura RT qPCR (Real-time reverse-transcription polymerase chain reaction).

Prezentăm rezultatele procedurilor RT qPCR cu mostre de SARS-CoV-2 tratate cu radiații UVC cu diferite doze energetice.

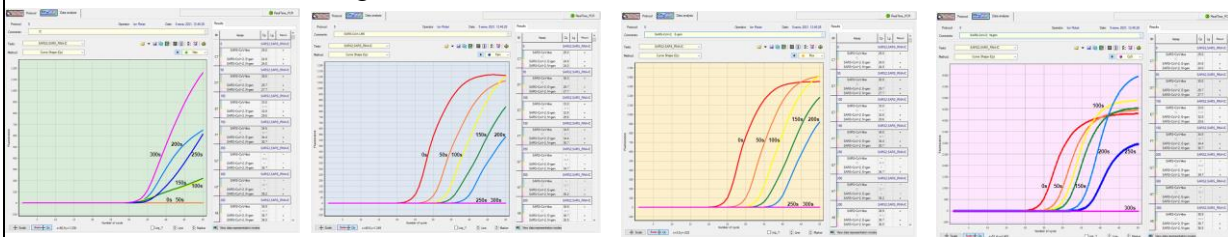


Fig. 1 Internal control Fig. 2 Like coronavirus Fig. 3 Gena E Fig. 4 Gena N

Pe figuri este prezentată dependența fluorescenței de numărul ciclurilor de amplificare pentru mostrele iradiate cu diferite doze energetice (0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 mJ/cm^2). Axa verticală prezintă intensitatea fluorescenței (numărul de fluorofori atașați componentelor structurale ale virușilor), iar axa orizontală – numărul ciclurilor de amplificare.

Observăm, că odată cu mărirea dozei energetice cu care sunt tratate mostrele, pentru probele Like coronavirus SARS-CoV, Gena E și Gena N crește numărul ciclurilor după care începe să se manifeste amplificarea numărului genelor. La doza corespunzătoare iradierii $1,0 \text{ J}/\text{cm}^2$ și mai mult, gena E și Like coronavirus SARS-CoV (care este un segment al genei E) sunt complet anihilate (curbele corespunzătoare dozelor 1 și $1,2 \text{ J}/\text{cm}^2$ sunt amplasate pe orizontală). Pentru gena N amplificarea nu se mai manifestă începând cu doza energetică de $1,2 \text{ J}/\text{cm}^2$.

Datele obținute în timpul experimentelor au arătat că iradierea probelor cu lumină ultravioletă la 255 nm cu o densitate de energie $280 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ reduce conținutul genei E de 100 ori. Pentru a reduce cantitatea acestei gene cu un factor de ~ 1000 , este necesară o expunere cu $1,2 \text{ J}/\text{cm}^2$. Iar expunerea la radiații cu $\sim 1,6 \text{ J}/\text{cm}^2$ va reduce cantitatea genei E de 10 000 ori. (Fig 5)

Reeșind din valorile dozelor energetice letale de radiație s-a ales regimul de iradiere din boxa destinată dezinfectării vestimentației și a dispozitivului care dezinfectează cu radiație ultravioletă bactericidă (UVC) echipamentul și instrumentele personalului medical care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2.

Mostrele experimentale ale dispozitivelor de dezinfectare a vestimentației și instrumentelor medicale sunt prezentate în Anexele 1 și 2.

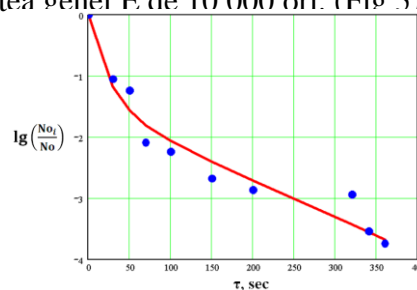


Fig 5 Dependența logaritmului raportului dintre concentrațiile inițiale și concentrația după iradiere pentru gena E a virusului SARS-CoV-2

6. Diseminarea rezultatelor obținute în formă de publicații

7. Diseminarea rezultatelor obținute în formă de prezentări

În cadrul delegației la București rezultatele studiilor influenței UVC asupra componentelor structurale ale SARS-CoV-2 au fost prezentate (Nica Iurie) la o ședință la care au participat cercetători de la Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau”, Institutul de Boli Infecțioase „Matei Balș”, Institutul Național de Fizica Laserilor, Plasmei și Radiațiilor, SC „Apel Laser”.

8. Protecția rezultatelor obținute în formă de obiecte de proprietate intelectuală

9. Materializarea rezultatelor obținute

Materializarea rezultatelor cercetărilor constă în elaborarea și construirea mostrelor experimentale ale unei boxe care separă „zona infectată” de „zona curată” destinată dezinfectării vestimentației personalului medical și a unui dispozitiv care dezinfectează cu radiație ultravioletă bactericidă echipamentul și instrumentele personalului care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2.

10. Dificultățile în realizarea proiectului

Finanțarea proiectului a fost extrem de întârziată: în anul 2020 finanțarea a fost deschisă de către MECC la mijlocul lui septembrie (deci am avut finanțare 3,5 luni) iar în 2021 – la data de 28 aprilie 2021 (deci am avut finanțare – 2 luni). În total din 12 luni am avut finanțare 5,5 luni.

11. Concluzii

Au fost proiectate și fabricate mostrele experimentale ale boxei de separare a „zonei infectate” de „zona curată” destinată dezinfectării vestimentației și a dispozitivului care dezinfectează cu radiație ultravioletă bactericidă (UVC) echipamentul și instrumentele personalului medical care intră în contact cu purtătorii de SARS-CoV-2.

Pentru selectarea regimurilor de iradiere cu radiație ultravioletă bactericidă au fost determinate dozele letale pentru virușii SARS-CoV-2. Dozele letale au fost determinate iradiind cu diferite doze energetice probe care conțin viruși. Mostrele iradiate au fost supuse procesului de amplificare a numărului de componente structurale (genele E și N) prin procedura reacțiilor în lanț a polimerazei în timp real cu transcripție inversă (RT qPCR). Considerăm, că dozele energetice mai mari decât cele de la care nu se mai observă amplificarea numărului genelor E și N sunt dozele letale ale virușilor. Această supoziție ar trebui verificată prin experimente în care mostrele cu viruși iradiate ar fi supuse metodelor clasice de multiplicare a virușilor în celulele Vero. Dar astfel de experimente trebuie efectuate în laboratoare cu nivelul de securitate biologică de nivelul cel puțin trei, care nu ne sunt accesibile.

S – ar părea că rezultatele proiectului sunt cam întârziate, dar aceasta este explicabilă prin întârzierea finanțării în ambii ani. Pe de altă parte, pandemia de COVID19 se desfășoară în valuri și bolnavi vor mai fi mult timp, așa că necesitatea de separare a zonelor „curate” și „infectate” și dezinfectare v-a persista.

Conclusions

The experimental samples of the separation box of the „infected area” from the „clean area”- designated to disinfection of clothing and the apparatus that disinfects using UV bactericidal radiation (UVC) the equipment and tools for the medical workers who come into contact with SARS-CoV-2, have been designed and assembled.

For the selection of radiation schemes/regimes with UV bactericidal radiation, the lethal doses for the viruses SARS-CoV-2 have been determined. The lethal doses have been determined by radiation with different energetic dosage of the samples containing viruses.

The radiated samples have, afterwards, been subject to the process of amplification of structural components numbers (genes E and N) through the procedure of Real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT qPCR).

We consider that the energetic doses bigger than the ones after which the amplification of number for E and N genes does not occur, are the lethal ones for the virus. This assumption should be verified through experiments in which samples of irradiated viruses would then undergo classic methods of virus multiplication in Vero cells. But these sorts of experiments can only happen in, at least, Level 3 security laboratories – that are out of our current reach.

It might seem that the findings of the current research come in a bit late, but this can be explained by the tardiness of the financing that occurred in both years. On another hand, the COVID19 pandemic is progressing in waves which means the infected cases are still a current reality, making thus the separation of 'clean' and 'infected' areas an ongoing need.

Conducătorul de proiect dr. Nica Iurie

Data: _____

LS



Boxa destinată dezinfectării vestimentației



Dispozitivul de dezinfectare a echipamentului și instrumentelor medicale

Executarea devizului de cheltuieli, conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare
Cifrul proiectului: 20.70086.07/COV(70105)

Cheltuieli, mii lei						
Denumirea	Cod	Anii de gestiune 2020-2021				
	Eco (k6)	Aprobat 2020	Aprobat 2021	Precizat 2020-2021	Executat 2020-2021	Sold
Cheltuieli	2	291,1	317,5			
Cheltuieli de personal	21		246,0			
Remunerarea muncii	211		190,7			
Remunerarea muncii temporare	211200		190,7			
Contribuții și prime de asigurări obligatorii	212		55,3			
Contribuții de asigurări sociale de stat obligatorii	212100		55,3			
Bunuri și servicii	22	15,2	37,7	52,9	52,7	0,2
Deplasări de serviciu peste hotare	222720		16,7	16,7	16,7	
Servicii de cercetări științifice contractate	222930	0,0	0,0	14,4	14,4	
Servicii neatribuite altor aliniate	222990	15,20	21,0	21,8	21,6	0,2
Alte cheltuieli	28	275,9	33,8	555,7	555,7	
Alte cheltuieli curente	281	275,9	33,8			
Alte cheltuieli în bază de contract cu persoane fizice	281600	275,9	33,8	555,7	555,7	
Active nefinanciare	3	58,9	32,5	91,4	91,3	0,1
Mijloace fixe	31	17,7	32,5	17,7	17,7	
Procurarea mașinilor și utilajelor	314110	17,7		17,7	17,7	
Stocuri de materiale circulare	33	41,2	32,5	73,7	73,6	0,1
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110	41,20	32,5	73,7	73,6	0,1
Total		350,0	350,0	700,0	699,7	0,3

Conducătorul organizației dr. Ghimpu Lidia _____

Contabil șef Colos Natalia _____

Conducătorul de proiect dr. Nica Iurie _____

Data: _____

LȘ

Componenta echipei proiectului

Cifrul proiectului 20.70086.07/COV(70105)

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului) 2020						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Nica Iurie	1951	dr	1	01 07 2020	30 06 2021
2.	Pogorelischii Leonid	1946	dr	0,75	01 07 2020	30 06 2021
3.	Zavrajnii Serghei	1953	f/g	0,75	01 07 2020	30 06 2021
4.	Dimitriu Valeriu	1957	f/g	0,5	01 07 2020	30 06 2021
5.	Peev Leonid	1957	f/g	0,5	01 07 2020	30 06 2021
6.	Sidorenko Anatolie	1953	dr.h	0,5	01 07 2020	30 06 2021
7.	Cebotari Valeriu	1950	dr	0,5	01 07 2020	30 06 2021

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2020-2021 – nu au fost modificări

Conducătorul organizației dr. Ghimpu Lidia

Contabil șef

Colos Natalia

Conducătorul de proiect dr. Nica Iurie

Data: _____

LS