ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту ветеринарної медицини НААН
(посада)
Сергій НИЧИК
(Власне ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
_____
(підпис)
М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
«Вивчення можливої ролі домашніх тварин як резервуару SARS-CoV-2»

Назва конкурсу: «Наука для безпеки людини та суспільства»
Реєстраційний номер Проєкту: 2020.01/0121

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) **2020.01/0121 «Вивчення можливої ролі домашніх тварин як резервуару SARS-CoV-2»**
Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Наука для безпеки людини та суспільства» протокол від «16–17» вересня 2021року № 21, рішення наукової ради Грантонадавача про продовження надання грантової підтримки (протокол № 40 від 22 грудня 2020 року) та про надання гранту у 2021 році (протокол № 12 від 29 квітня 2021 року).

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Загальна тривалість виконання проєкту 2020–2021 роки
Початок – 21 жовтня 2020
Закінчення – 15 грудня 2021 року

Загальна вартість Проєкту, грн. 9 333 400,0 грн
Вартість Проєкту по роках, грн.:
1-й рік 3000000,0 грн
2-й рік 6333400,0 грн
3-й рік -

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

До виконання Проєкту залучено 8 виконавців, з них:
доктори наук 3;
кандидати наук 3;
інші працівники 2.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Інститут ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України; ЄДРПОУ 05510830; КВЕД: 72.19 Дослідження й експериментальні розробки у сфері інших природничих і технічних наук (основний).

Керівник – директор Ничик С.А.

Адреса: м. Київ, вул. Донецька, 30;

Тел./факс: (044) 245-78-05;

Електронна пошта: ivm_naan@ukr.net.

Субвиконавець не залучався.

4. ОПИС ПРОЄКТУ

Епідеміологічний аналіз поширення збудника Covid-19 Україні та відбір зразків від домашніх тварин в різних за рівнем захворюваності регіонах. Лабораторний аналіз зразків на виявлення специфічних фрагментів геному SARS-CoV-2 з використанням різних технологій ампліфікації. Сіквенс геному штамів коронавірусу, що циркулює в Україні, та їх біоінформаційний аналіз. Просвітницька робота.

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Встановлення можливості домашніх тварин бути резервуаром/джерелом коронавірусу SARS-CoV-2, розроблення нового методу детекції вірусу, аналіз мінливості геному вірусу, та вдосконалення нормативно-правової бази з питань біобезпеки і біозахисту.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

- Провести аналіз поширення Covid-19 в Україні та визначити пункти відбору проб;
- Здійснити відбір зразків від домашніх тварин та дослідити їх на наявність вірусу SARS-CoV-2 методом RT-PCR в реальному часі;
- Оптимізувати умови реакції LAMP для швидкого і ефективного діагностування вірусу SARS-CoV-2 та встановити чутливість та відтворюваність методу;
- Здійснити сіквенс геному штамів вірусу SARS-CoV-2;
- Провести просвітницьку роботу.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Як відомо, коронавіруси (CoV) традиційно викликають гострі респіраторні і кишкові вірусні захворювання у тварин і людей. При цьому, як правило, коронавіруси викликають легкі форми інфікування у людей з симптомами застуди (ГРВІ).

Однак нещодавно з'явився новий штам коронавірусу – SARS-CoV-2 (COVID-19), який генетично відрізняється від будь-якого іншого людського коронавирусу, виявленого до цього часу. Назву SARS-CoV-2 було вибрано тому, що цей новий вірус генетично об'єднується з сотнями CoV-вірусів всередині свого виду.

За час поточної пандемії, офіційно тільки один раз на голландській норковій фермі був зареєстрований спалах зоонозної вторинної інфекції, коли виник ризик переходу збудника від тварин до людини. Цей одиничний факт, сьогодні, привів до дуже серйозних наслідків. Так, на початку листопада 2020 року влада тієї ж Данії оголосили про те, що в країні вб'ють всіх норок, які утримуються на фермах, це – 15–17 мільйонів тварин. Це пов'язано з тим, що, поки тільки теоретично, але нова мутація вірусу від людини до тварини або навпаки може істотно знизити ефективність майбутніх вакцинувань для боротьби з пандемією. До цього в Іспанії та Нідерландах вирішили вбити в загальній кількості 1 100 000 норок. При цьому у знайденого вірусу не було зафіксовано такої мутації, але влада боялась, що вірус почне передаватися від норок людям.

Існуючі дані світових досліджень говорять про те, що ризик заразитися від домашньої тварини слабко вивчений. Сьогодні відомо лише те, що працівники хутряних ферм заразились від норок. Тому в США, наприклад, рекомендують тестувати разом з хворою людиною і контактних тварин. При цьому виявили 54 кішки і собак, які містили SARS-CoV-2.

Тому дослідження потенційної ролі домашніх тварин як резервуару SARS-CoV-2, і розробка правил поводження з ними є питанням надзвичайно актуальним для всього нашого суспільства.

- Новизна Проєкту (до 400 знаків)

- Основним результатом виконання проєкту стала відповідь на питання про те, чи можуть свійські тварини (корови, свині, кози, вівці, коні, кролі) та одомашнені тварини (коти і собаки) бути проміжним господарем для вірусу SARS-CoV-2.
- Під час виконання проєкту також вдосконалено метод діагностики коронавірусу SARS-CoV-2 з використанням методу LAMP, який попередньо апробований авторами проєкту.
- Проведено сіквенс геному вірусу SARS-CoV-2 для встановлення філогенезу та мутаційних змін.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Здійснено виїзди в 6 областей України, відібрано 1214 проб від домашніх тварин, в тому числі від тварин приватного зоопарку, для виявлення наявності SARS-CoV-2.

Детектування вірусної НК проведено з використанням LAMP-технології (RT-LAMP) та методом RT-qPCR, який є стандартом діагностики коронавірусу SARS-CoV-2.

РНК вірусу секвенована методом NGS для встановлення можливих мутацій та для визначення філогенетичного зв'язку з іншими варіантами SARS-CoV-2.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

Протягом звітного періоду 2020 року розроблено наступні нормативні документи:

- Стандартна операційна процедура: Збір, транспортування, зберігання, знищення зразків біологічного матеріалу від тварин з метою дослідження на наявність специфічних фрагментів геному коронавірусу SARS-CoV-2;
- Стандартна операційна процедура: Екстракція тотальної РНК та ДНК з мазків, суспензії тканин, супернатанту культури тканин;
- Стандартна операційна процедура: Екстракція зразків з мазків для детектування коронавірусу SARS-CoV-2;
- Стандартна операційна процедура: Виявлення вірусу SARS-CoV-2 методом петлевої ізотермічної ампліфікації (LAMP);
- Інструкція щодо проведення дезінфекції для ліквідації та профілактики захворювань, що викликаються коронавірусом, при виявленні тварин, інфікованих SARS-CoV-2;
- Методичні рекомендації з порядку дезінфекції присадибних територій та будівель в господарствах, де виявлені інфіковані тварини;
- Проєкт Інструкції з профілактики та елімінації поширення коронавірусу серед домашніх тварин.

Протягом звітного періоду 2021 року здійснено наступні види робіт:

- проведено епідеміологічний аналіз поширення захворювання COVID-19 в Україні та визначено населені пункти в 6 областях для відбору проб (згідно відкритих даних);
- здійснено виїзди та відібрано 1214 проб у 6 областях України: Львівський, Тернопільський, Хмельницький, Полтавський, Чернігівський та Житомирський від цільових видів тварин;
- методом RT-qPCR з застосуванням комерційної тест-системи Allplex SARS-CoV-2 Assay (Seegene) досліджено 1214 проб від тварин та не виявлено специфічних фрагментів геному вірусу SARS-CoV-2.

- оптимізовано умови проведення петлевої ізотермічної ампліфікації (LAMP, loop-mediated amplification) для швидкого і ефективного діагностування вірусу SARS-CoV-2 з урахуванням останніх даних літератури методом RT-LAMP в реальному часі та RT-LAMP з колориметричною оцінкою результату реакції за кінцевою точкою (зміна кольору реакційної суміші). Загальна специфічність RT-LAMP тесту для N-гену склала 99,4%, а чутливість для зразків з КТ < 30 на RT-qPCR була 98,5%. Для S-гену загальна специфічність склала 92,8%, чутливість для зразків з КТ < 30–96,8%. Загальна специфічність RT-LAMP з колориметричною оцінкою результатів тесту для гену N склала 85,7%, чутливість – 98,5%. Загальна специфічність RT-LAMP з колориметричною оцінкою результатів тесту для гену S склала 75%, а також чутливість – 98,5%.
- проведено повногеномне секвенування 8 ізолятів вірусу SARS-CoV-2 та серед секвенованих ізолятів виявлено п'ять субліній варіанту Дельта: два AY.33 (B.1.617.2.33), один AY.36 (B.1.617.2.36), один AY.122 (B.1.617.2.122), один B.1.617.2 та два AY.4.2 (B.1.617.2.4.2). Один із восьми ізолятів віднесено до варіанту Альфа, який є представником лінії B.1.1.7;
- актуалізовані СОПи щодо відбору і зберігання зразків, лабораторної діагностики, поводження з інфікованими тваринами, дезінфекції забруднених приватних господарств і приміщень;
- проведено просвітницьку роботу з місцевим населенням у Львівській, Тернопільській, Хмельницькій, Полтавській, Чернігівській та Житомирській областях (в 120 населених пунктах);
- проведено тендер, закуплено та отримано необхідні матеріали для проведення секвенування, систему для секвенування (секвенатор) Ion torrent S5 (ThermoFisher Scientific) та ампліфікатор BioRad1000 із модулем SFX96. Матеріали та обладнання були використані для виконання завдань проекту, передбачених календарним планом.

Отримані в результаті виконання проекту дані будуть використовуватись в лабораторіях, які проводять детекцію вірусу SARS-CoV-2, а також господарствами різних форм власності та домогосподарствами, які утримують домашніх і продуктивних тварин, для запобігання поширення коронавірусу SARS-CoV-2.

Представлені результати засвідчують, що дослідження, заплановані на 2020–2021 роки, виконані в повному обсязі.

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

Під час виконання проєкту вдосконалено метод діагностики коронавірусу SARS-CoV-2 з використанням нециклічної петлевої ізотермічної ампліфікації (LAMP), який вже був розроблений та попередньо апробований авторами проєкту. Доступність, простота і висока чутливість цього методу дозволить впровадити його в ветеринарних та медичних діагностичних лабораторіях.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Протягом звітного періоду була розроблена наступна науково-технічної продукція:
- Стандартна операційна процедура: Збір, транспортування, зберігання, знищення зразків біологічного матеріалу від тварин з метою дослідження на наявність специфічних фрагментів геному коронавірусу SARS-CoV-2;
- Стандартна операційна процедура: Екстракція тотальної РНК та ДНК з мазків, суспензії тканин, супернатанту культури тканин;
- Стандартна операційна процедура: Екстракція зразків з мазків для детектування коронавірусу SARS-CoV-2;
- Стандартна операційна процедура: Виявлення вірусу SARS-CoV-2 методом петлевої ізотермічної ампліфікації (LAMP);
- Інструкція щодо проведення дезінфекції для ліквідації та профілактики захворювань, що викликаються коронавірусом, при виявленні тварин, інфікованих SARS-CoV-2;
- Методичні рекомендації з порядку дезінфекції присадибних територій та будівель в господарствах, де виявлені інфіковані тварини;
- Проєкт Інструкції з профілактики та елімінації поширення коронавірусу серед домашніх тварин.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Новим і важливим результатом виконання проєкту вбачається розроблення та впорядкування нормативно-правих актів з біобезпеки, що стосуються правил поводження з інфікованими SARS-CoV-2 тваринами, їх ізолювання, вимог до відбору і зберігання зразків, протоколів для лабораторної діагностики.

Розроблені і опрацьовані практичні рекомендації, процедури та інструкції (настанови), що впорядковують роботу зі зразками, які містять коронавірус, запровадять правила поводження з інфікованими тваринами та убезпечать людей, що контактують з такими тваринами на зараження збудником SARS-CoV-2.

Розроблені рекомендації для застосування сучасних наукових підходів до дезінфекції та поводження із зараженими та потенційно небезпечними домашніми тваринами, в тому числі господарств різних форм власності та домогосподарствами, де утримуються домашні і продуктивні тварини, для запобігання поширення коронавірусу SARS-CoV-2.

Отримані в результаті виконання проекту дані будуть використовуватись в лабораторіях, які проводять детекцію вірусу SARS-CoV-2, для проведення скринінгових досліджень з метою своєчасного виявлення та ізолювання інфікованих тварин, що дозволить знизити небезпеку поширення вірусу та зменшити витрати на карантинні заходи щодо SARS-CoV-2 в Україні та для прогнозування поширення SARS-CoV-2 серед людей та тварин.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Отримані результати будуть використані для прогнозування поширення SARS-CoV-2 серед людей та тварин. Результати проєкту будуть використані для рекомендації вибору тест-систем для детектування цього вірусу.

Розроблений LAMP метод, інструкції та методичні рекомендації будуть використані для проведення скринінгових досліджень в Україні з метою виявлення та ізолювання інфікованих тварин, що дозволить знизити небезпеку поширення вірусу SARS-CoV-2.

Результати повногеномного секвенування ізолятів коронавірусу будуть використані для оцінки превалентності різних варіантів вірусу в Україні та удосконалення стратегії вакцинопрофілактики Covid-19 серед населення України.

Результати проєкту будуть використані для розроблення заходів контролю та спостереження за поширенням вірусу SARS-CoV-2, дезінфекції та поводження із зараженими та потенційно небезпечними домашніми тваринами.

Науковий керівник Проєкту

Директор Інституту ветеринарної медицини НААН
(посада)

Сергій НИЧИК
(Власне ім'я та ПРІЗВИЩЕ)

(підпис)