

DOI 10.35264/1996-2274-2020-2-188-195

ОБЗОР ОТЕЧЕСТВЕННОГО И ЗАРУБЕЖНОГО ОПЫТА СОЗДАНИЯ СРЕДСТВ КОНТРОЛЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

А.Б. Логунов, директор Центра ФГБНУ НИИ РИНКЦЭ, канд. воен. наук, ст. науч. сотр., logunov@extech.ru

Д.Б. Изюмов, нач. отдела ФГБНУ НИИ РИНКЦЭ, izyumov@extech.ru

Д.В. Ольшевский, нач. отдела ФГБНУ НИИ РИНКЦЭ, olsh@extech.ru

А.В. Гренчихин, зам. нач. отдела ФГБНУ НИИ РИНКЦЭ, agseaman@extech.ru

Е.Л. Кондратюк, зам. нач. отдела ФГБНУ НИИ РИНКЦЭ, kel@extech.ru

Рецензент: **А.И. Гаврюшин**

В статье дается обзор актуального опыта отечественных и зарубежных разработок средств мониторинга и контроля распространения вирусных инфекций в общественных местах.

Ключевые слова: вирусные инфекции, биоаэрозоли, мониторинг и контроль, биосенсоры, COVID-19, метод ПЦР.

REVIEW OF DOMESTIC AND FOREIGN EXPERIENCE IN CREATING MEANS TO CONTROL THE SPREAD OF VIRAL INFECTIONS

A.B. Logunov, Director of Centre, SRI FRCEC, Doctor of Military Sciences, Senior Researcher, logunov@extech.ru

D.B. Izumov, Head of Department, SRI FRCEC, izyumov@extech.ru

D.V. Olshevsky, Head of Department, SRI FRCEC, olsh@extech.ru

A.V. Grenchikhin, Deputy Head of Department, SRI FRCEC, agseaman@extech.ru

E.L. Kondratyuk, Deputy Head of Department, SRI FRCEC, kel@extech.ru

The article provides an overview of the current experience of domestic and foreign developments in monitoring and control of the spread of viral infections in public places.

Keywords: viral infections, bioaerosols, monitoring and control, biosensors, COVID-19, PCR method.

Одной из наиболее острых научно-технических проблем обеспечения биобезопасности и здоровья населения является разработка автоматизированных и автоматических средств контроля вирусов в различных средах, в том числе для систем мониторинга биоугроз (патогенов). Цель построения средств контроля вирусов состоит в том, чтобы с помощью прямого анализа аэрозоля, сточных вод и поверхностных проб выявить возбудителей до момента заражения людей. Техничко-технологические решения для создания средств контроля вирусов основываются в целом на молекулярном и иммунологическом методах (таблица). В настоящее время к ним относятся компьютерная томография, RT-qPCR (reverse transcription polymerase chain reaction – ПЦР с применением обратной транскрипции, или ПЦР-ОТ); метод амплификации специфического фрагмента РНК и LFICS на основе коллоида Au NPs (метод коллоидного золота). В ряде стран разрешено использование различных диагностических наборов и полосок для обнаружения SARS-CoV-2.

**Сравнительные данные различных методов тестирования COVID-19
(данные в соответствии с полевыми исследованиями 2020 г.)**

Методы	Оборудование	Время считывания (весь протокол)	Стоимость (каждый образец)	Чувствительность/специфичность (избирательность), %	Уровень детализации (LOD)
Компьютерная томография	Аппарат КТ	–	–	97/25	–
RT-qPCR – тест с полимеразной цепной реакцией с обратной транскрипцией (ПЦР-ОТ)	ПЦР-машина	~4 часа	~150 руб.	71/–	–
MNPs based RT-qPCR – тест с ПЦР-ОТ на основе метода извлечения вирусной РНК на основе магнитных наночастиц		Извлечение 30 мин.		–	10 копий
RT-digital PCR – тест с цифровой ПЦР-ОТ	ПЦР-термоциклер (усилитель ДНК)	–		90/100	–
LAMP-based colorimetric – изотермическая амплификация с помощью обратной транскрипционной петли для выявления геномной РНК SARS-CoV-2	ПЦР-термоциклер (усилитель ДНК)	20–30 мин.		97,6	–
	Водяная баня	30 мин.		97,6	100 копий
LFICS-Au NPs colloid – (IgM + IgG) – иммуноанализ (иммунохроматографическая полоска с боковым потоком, lateral flow immunochromatographic strip) на основе наночастиц коллоидного золота (антитела IgM + IgG)	Полоски	15 мин.		88,66/90,63	–
ELISA (IgM + IgG) – твердофазный иммуноферментный анализ (enzyme linked immunosorbent assay) на антитела	Считыватель флуоресцентных пластин	~2 ч	–	87,3/100,0	–
Хемилюминесцентный анализ (все антитела)	Автоматический анализатор	–		86,9/99,2	–
ELISA (все антитела) – твердофазный иммуноферментный анализ (enzyme linked immunosorbent assay) на антитела		~2 ч		94,8/100,0	–
LFICS-Au NPs colloid (IgM) – иммуноанализ (иммунохроматографическая полоска с боковым потоком) на основе наночастиц коллоидного золота (антитела IgM)	Полоски	≤15 мин.		96,2/95,2	–
LFICS – флуоресцентный метод (иммунохроматографическая полоска с боковым потоком) путем обнаружения нуклеокапсидного белка (nucleocapsid protein)	Флуоресцентный анализатор	~10 мин.		73,6	–

Исходя из опыта эксплуатации национальной системы мониторинга биоугроз США BioWatch (ее 1-е поколение развернуто в 2003 г.), можно заключить, что мониторинговые средства контроля должны быть построены на основе сети биодатчиков (биосенсоров) на различных принципах детектирования-тестирования, работающих в автоматическом режиме и реальном масштабе времени. Базовыми требованиями к ним, помимо перечисленных, являются: специфичность, чувствительность, автономность функционирования, высокая скорость тестирования [1].

В зависимости от участия персонала, его квалификации, условий проведения, автоматизации средства контроля можно разделить на следующие четыре группы: традиционные методы – лабораторные условия проведения и квалифицированный персонал; экспресс-методы – возможно проведение «на месте» и вне лаборатории (ПОСТ, Point of Care Testing) с минимизацией труда квалифицированного персонала; методы на основе работы автоматизированных устройств с минимизацией труда персонала вообще; автономные мониторинговые комплексы непрерывной работы.

Для ранней диагностики большой потенциал имеют быстрые и сверхчувствительные биосенсоры «на месте», нацеленные на обнаружение антигенов вируса и построенные с применением наноматериалов и нанотехнологий. Их можно использовать в больницах, клиниках, испытательных лабораториях и даже дома, в аэропортах или других местах с интенсивным движением. Для повышения точности диагностики одной из альтернативных стратегий может быть комбинированное обнаружение различных биомаркеров с использованием мультиплексных биосенсоров. Для повышения надежности и воспроизводимости (репродуктивности) биосенсора необходимо разработать процесс обработки сигналов на основе машинного обучения и прямого считывания результатов. Существует острая потребность в домашнем биосенсоре, который должен быть легко доступен (колориметрические полоски и биосенсоры для смартфонов) для внелабораторного тестирования, в том числе в домашних условиях. Перечисленные направления развития биосенсоров для детектирования SARS-CoV-2 востребованы в самых сложных средствах контроля – аппаратуре мониторинга.

Требование автономной работы аппаратуры мониторинга в полностью автоматическом режиме в течение длительного времени накладывает ограничения на применяемые методы детектирования: они должны содержать минимальное количество этапов; сохранять приемлемые чувствительность (не менее 1000 патогенов/мл) и специфичность в сочетании с экспресс-пробоподготовкой; обеспечивать максимально короткое время получения результата. Средства мониторинга должны обладать соответствующими массогабаритными характеристиками и сохранять готовность к немедленной работе после транспортировки, устойчиво работать в неблагоприятных внешних условиях.

Реализованные проекты и прототипы

Для мониторинга состояния зараженности помещений и пространств при скоплении людей в настоящее время используются двухступенчатые методы, совмещающие применение тепловизоров (например, широко применяемые разработки российского концерна «Швабе») и лабораторных приборов-анализаторов класса *in vitro* (в основном методом ПЦР) [12]. Такие традиционные методы обеспечивают достаточную точность, однако не отличаются скоростью получения результата из-за необходимости второго (лабораторного) этапа и, соответственно, не годятся для мониторинговых целей.

Единственное и не имеющее аналогов комплексное решение по мониторингу химической и биологической безопасности для мест массового пребывания людей представлено российскими разработчиками. «Узлами» этой системы стали приборы экспресс-диагностики: «Детектор-Био» (разработчики – входящий в Корпорацию «Ростех» концерн «Швабе» в сотрудничестве с НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи) и «Индикатор-Био» (разработчик – «Троицкий инженерный центр» Корпорации «РОСНАНО» в кооперации с Российским государственным медицинским университетом (РГМУ) им. Н.И. Пирогова).

Компоненты комплекса позволяют как выявить в окружающем воздухе токсичные и отравляющие вещества, биологические токсины и болезнетворные микроорганизмы, так и не допустить проникновения в охраняемые зоны предметов и веществ, содержащих опасные химические и биологические агенты.

Исходя из существующих моделей угроз, разработанное оборудование подразделяется на две группы: «Досмотр» и «Мониторинг» (рисунок) [2].



Комплексное решение по мониторингу химической и биологической безопасности для мест массового пребывания людей

В «Досмотр» входит оборудование, предназначенное для выявления и предотвращения несанкционированного проноса (провоза) на охраняемые объекты опасных химических веществ и биологических агентов, в том числе идентификатор биологических агентов «Индикатор-Био» – для индикации возбудителей инфекционных заболеваний в чрезвычайно низких концентрациях по пробе, взятой с поверхностей различных предметов или непосредственно у пассажира. В «Мониторинг» входит оборудование, предназначенное для обнаружения факта появления и распространения на объекте опасных химических веществ и патогенных биологических агентов, мониторинга воздуха в местах массового скопления людей на транспортных объектах, в том числе автоматический обнаружитель биоаэрозолей «Сегмент-Био» – для непрерывного экспресс-анализа воздуха в целях выявления биологических угроз – и автоматические биологические лаборатории «Детектор-Био» и «Эфир-Био» для выявления и распознавания в воздухе широкого спектра (до 86) опасных биологических агентов.

Параллельно с предыдущей мониторинговой системой, готовой к производству, коллаборация в составе специалистов Университета ИТМО, Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Физического института имени П.Н. Лебедева РАН (ФИАН) и Московского физико-технического института (МФТИ) разрабатывает оптический биосенсор класса point-of-care для экспресс-диагностики инфекций (декларируемое время – единицы секунд) путем выявления бактерий и вирусов в ИК-диапазоне [3]. Прибор может найти широкое применение на крупных транспортных узлах, в учебных заведениях, на производствах, где требуется постоянный мониторинг инфекционной обстановки. Исследование проводилось в тесном сотрудничестве с Инфекционной клинической больницей № 2 в Москве. Биосенсор обладает высокой чувствительностью и обнаруживает даже очень малые количества бактерий.

Ни одно из коммерчески доступных зарубежных средств контроля в настоящее время не может дать результаты в реальном времени (базовые для подавляющего большинства средств такого рода работают на методе ПЦР, требующего времени для получения результата). Единственная из известных в настоящее время попытка решения этой проблемы была предпринята в Швейцарском федеральном технологическом институте (ETH Zurich) и Швейцарских федеральных лабораториях материаловедения и технологии (Empa). Работающие в них китайские специалисты Цзин Ван И и Гуаньюй Цю разрабатывают плазмонный фототермический биосенсор, который может обнаруживать присутствие SARS-CoV-2 без необходимости проведения ПЦР. Разработчики сообщают, что такой биосенсор может обеспечить результаты в течение 15 мин. – 1 ч. При этом ведется работа по упрощению прототипа до лаборатории на чипе [9].

В отличие от российских мониторинговых систем известные из доступных источников решения зарубежных разработчиков не выдают результаты в реальном времени и в подавляющем большинстве представляют собой фактически воздухозаборники с дальнейшей транспортировкой проб для анализа в лабораторных условиях, как правило с помощью ПЦР-метода. Несмотря на то что время получения результата оценивается в несколько часов, в таких «полумониторинговых» устройствах, по мнению разработчиков, есть смысл и коммерческая оправданность.

1. Компания PhysIQ, США, при поддержке Министерства обороны США, Фонда Генри М. Джексона по развитию военной медицины, дирекции (исполнительного офиса) межведомственной программы США по РХБЗ разрабатывает персональные носимые датчики состояния здоровья, которые устанавливаются на груди или на запястье. Цель проекта – отслеживать прогрессирование COVID-19 у тех, кто знает, что инфицирован. Отмечается, что датчик по совокупности отслеживаемых параметров может также указать своему носителю, который не считает себя заболевшим, на то, что он может быть инфицирован коронавирусом. На основе таких датчиков, а также с внедрением технологий искусственного интеллекта компания PhysIQ реализовала так называемое масштабируемое решение для непрерывного удаленного мониторинга состояния пациентов [11].

2. PathogenDx, США, разработала мобильную систему обнаружения SARS-CoV-2, объединив свои возможности ПЦР-тестирования с пробоотборником воздуха Coriolis от компании Bertin Instruments¹, Франция. Собранные образцы направляются в лабораторию, а результаты обнаружения SARS-CoV-2 могут быть получены менее чем за 10 ч. Предназначение такого средства контроля – прежде всего офисные помещения и иные внутренние помещения длительного плотного пребывания людей [4].

3. Sartorius, Германия, разработала пробоотборники воздуха MD8, MD8 Airscan[®] и Airport MD8. Устройства предназначены для обнаружения мельчайших вирусов и микроорганизмов в воздухе с помощью специально разработанных желатиновых мембранных фильтров (GMF) и агаровых пластин VastairTM. Устройство запатентовано и прошло полевые испытания в двух больницах в г. Ухань, Китай [5].

4. Assured Bio Labs, США, анонсировала собственные алгоритмы и организационно-методические решения для мониторинга воздуха промышленных предприятий и общественных объектов с применением специально разработанной системы непрерывного мониторинга воздуха WhisperCare[®] на основе детекции РНК. При этом время получения результатов – 48–72 ч с времени доставки взятых проб в лабораторию компании – свидетельствует о том, что совершенствование и автоматизация только организационной составляющей, без совершенствования методов анализа реальных проб, дают слишком общие либо «просроченные» результаты [6].

¹ Bertin Instruments – транснациональная приборостроительная компания со штаб-квартирой во Франции. Специализируется на оборудовании РХБЗ и медицинском приборостроении.

5. InnovaPrep, США, предлагает портативные устройства отбора проб для проведения экспресс-мониторинга воздуха, сточных вод и поверхностей. Для этого предлагаются портативный прибор отбора проб воздуха ADC-200 Vobcat и концентрирующая пипетка (CP) Select для получения проб сточных вод и материала с поверхностей. Дальнейший анализ проб проходит в лаборатории методом ПЦР [7].

6. Eurofins Scientific, Люксембург, разработала и внедряет тест ПЦР-ОТ в реальном масштабе времени для обнаружения коронавируса, а также идентификации SARS-CoV-2 (COVID-19) на поверхностных мазках [8].

7. Экзотические методы детектирования. Правительство Великобритании выделило группе специалистов-исследователей более 0,5 млн фунтов стерлингов, чтобы выяснить, можно ли использовать специально обученных собак-биодетекторов в качестве новой меры быстрого тестирования COVID-19 [10].

Патентные и иные источники информации в области создания средств контроля и мониторинга патогенных биоагентов COVID-19 позволяют сформировать мнение о наличии ограниченного количества подходящих технико-технологических решений для построения на их основе интегрированных универсальных приборов автономного типа в интересах контроля биопатогенов в различных средах. Приведенные выше примеры свидетельствуют о доминировании разработок приборов анализа биоаэрозолей. Анализ сточных вод, поверхностей уделяется гораздо меньше внимания.

Таким образом, из ряда уже существующих прототипов и готовых к производству устройств, тем или иным способом используемых для детектирования вирусов (в том числе COVID-19) и в целом идентификации патогенных биоагентов, только единицы представляют полностью автономные системы, способные оперативно срабатывать (но не в реальном масштабе времени!), показывая присутствие патогенов в воздухе. Ни одного комплексного решения, имеющего устойчиво работоспособные прототипы, на настоящее время не существует, за исключением российских разработок «Детектор-Био», «Индикатор-Био» и «Эфир-Био». Эти разработки действительно не имеют мировых аналогов и демонстрируют высочайший уровень российской науки и технологий.

Отсутствие комплексных проектов зарубежных научно-исследовательских коллабораций и компаний объясняется слабой заинтересованностью коммерческих структур (например, в сфере общественного транспорта) в покупке и эксплуатации таких мониторинговых приборов, не говоря о распределенных системах наблюдения и контроля. Заинтересованность в создании и развертывании таких систем могут проявлять только крупные (ведущие) государства мира.

Статья выполнена в ФГБНУ НИИ РИНКЦЭ при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации по результатам работ в рамках Государственного задания № 075-01394-20-02.

Список литературы

1. США создает новую систему быстрого предупреждения о применении биологического оружия. URL: <https://tehnovar.ru/87519-ssha-sozdaet-novuju-sistemu-bystrogo-preduprezhdenija-o-primenenii-biologicheskogo-oruzhija.html> (дата обращения: 02.11.2020).

2. Мониторинг атмосферного воздуха, индикация и идентификация опасных химических веществ, биологических агентов и продуктов их жизнедеятельности. URL: <http://www.analizator.ru/directions/khimicheskaya-i-biologicheskaya-bezopasnost> (дата обращения: 02.11.2020); Как остановить распространение коронавируса с помощью эффективных средств диагностики? URL: <https://security.wekey.ru/blog/kak-ostanovit-rasprostranenie-koronavirusa-s-pomoshchyu-effektivnykh-sredstv-diagnostiki.html> (дата обращения: 02.11.2020).

3. Vaikova T.V., Danilov P.A., Gonchukov S.A., et al. Diffraction microgratings as a novel optical biosensing platform // Laser Physics Letters. 2016.

4. Сайт Bertin Instruments. URL: <https://www.bertin-instruments.com/coriolis-combined-with-envirox-rv-tests-for-environmental-monitoring-for-sars-cov-2-detection> (дата обращения: 02.11.2020).
5. Сайт Sartorius. URL: <https://www.sartorius.com/en/pr/covid-19-solutions/covid-19-research-products/covid-19-air-monitoring> (дата обращения: 02.11.2020).
6. Сайт AssuredBio. URL: <https://assuredbio.com/covid-19-environmental-testing-program> (дата обращения: 02.11.2020).
7. Сайт InnovaPrep. URL: <https://www.innovaprep.com/covid-19> (дата обращения: 02.11.2020).
8. Сайт EuroFins. URL: <https://www.eurofins.com/covid-19-response/surface-testing-services> (дата обращения: 02.11.2020).
9. Швейцарские исследователи создали биосенсор для обнаружения вируса COVID-19 в воздухе. URL: <https://news.sputnik.ru/progress/eea9c522d739f0ec6749ef88a682a5366878cdc3> (дата обращения: 02.11.2020).
10. В Великобритании собак обучают находить больного COVID-19 даже в толпе. URL: <https://www.1tv.ru/news/2020-05-23/386387-v-velikobritanii-sobak-obuchayut-nahodit-bolnogo-covid-19-dazhe-v-tolpe> (дата обращения: 02.11.2020).
11. PhysIQ is leading the way during the COVID-19 crisis by offering a massively scalable solution for continuous remote patient monitoring. URL: <https://www.physiq.com/covid-19> (дата обращения: 02.11.2020).
12. Технологии против COVID-19. URL: <https://www.comnews.ru/content/209415/2020-10-06/2020-w41/tehnologii-protiv-covid-19> (дата обращения: 02.11.2020).

References

1. *SShA sozdaet novuyu sistemu bystrogo preduprezhdeniya o primenenii biologicheskogo oruzhiya* [The United States is creating a new rapid warning system for the use of biological weapons]. Available at: <https://tehnowar.ru/87519-ssha-sozdaet-novuju-sistemu-bystrogo-preduprezhdeniya-o-primenenii-biologicheskogo-oruzhiya.html> (date of access: 02.11.2020).
2. *Monitoring atmosfernogo vozdukh, indikatsiya i identifikatsiya opasnykh khimicheskikh veshchestv, biologicheskikh agentov i produktov ikh zhiznedeyatel'nosti* [Monitoring of atmospheric air, indication and identification of hazardous chemicals, biological agents and products of their vital activity. Available at: <http://www.analizator.ru/directions/khimicheskaya-i-biologicheskaya-bezopasnost> (date of access: 02.11.2020)] *Kak ostanovit' rasprostranenie koronavirusa s pomoshch'yu effektivnykh sredstv diagnostiki?* [How to stop the spread of coronavirus with effective diagnostic tools?]. Available at: <https://security.wekey.ru/blog/kak-ostanovit-rasprostranenie-koronavirusa-s-pomoshchyu-effektivnykh-sredstv-diagnostiki.html> (date of access: 02.11.2020).
3. Baikova T.V., Danilov P.A., Gonchukov S.A., et al. (2016) Diffraction microgratings as a novel optical biosensing platform. *Laser Physics Letters*.
4. *Sayt Bertin Instruments* [Bertin Instruments website]. Available at: <https://www.bertin-instruments.com/coriolis-combined-with-envirox-rv-tests-for-environmental-monitoring-for-sars-cov-2-detection> (date of access: 02.11.2020).
5. *Sayt Sartorius* [Sartorius website]. Available at: <https://www.sartorius.com/en/pr/covid-19-solutions/covid-19-research-products/covid-19-air-monitoring> (date of access: 02.11.2020).
6. *Sayt AssuredBio* [AssuredBio website]. Available at: <https://assuredbio.com/covid-19-environmental-testing-program> (date of access: 02.11.2020).
7. *Sayt InnovaPrep* [InnovaPrep website]. Available at: <https://www.innovaprep.com/covid-19> (date of access: 02.11.2020).
8. *Sayt EuroFins* [EuroFins website]. Available at: <https://www.eurofins.com/covid-19-response/surface-testing-services> (date of access: 02.11.2020).
9. *Shveytsarskie issledovateli sozdali biosensor dlya obnaruzheniya virusa COVID-19 v vozdukh* [Swiss researchers have created a biosensor to detect the COVID-19 virus in the air]. Available at: <https://news.sputnik.ru/progress/eea9c522d739f0ec6749ef88a682a5366878cdc3> (date of access: 02.11.2020).

10. *V Velikobritanii sobak obuchayut nakhodit' bol'nogo COVID-19 dazhe v tolpe* [In the UK, dogs are trained to find a patient with COVID-19, even in a crowd]. Available at: https://www.1tv.ru/news/2020-05-23/386387_v_velikobritanii_sobak_obuchayut_nahodit_bolnogo_covid_19_dazhe_v_tolpe (date of access: 02.11.2020).

11. PhysIQ is leading the way during the COVID-19 crisis by offering a massively scalable solution for continuous remote patient monitoring. Available at: <https://www.physiq.com/covid-19> (date of access: 02.11.2020).

12. *Tekhnologii protiv COVID-19* [Technologies against COVID-19]. Available at: <https://www.comnews.ru/content/209415/2020-10-06/2020-w41/tekhnologii-protiv-covid-19> (date of access: 02.11.2020).