

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023
УДК 614.2**Беспятых Ю. А.^{1,2,3}, Каныгин А. П.¹, Худжадзе Р. Т.¹, Прусаков К. А.¹, Мингазова Э. Н.³, Басманов Д. В.¹****НОВЫЙ ПОДХОД К ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМУ КОНТРОЛЮ ЗА РАСПРОСТРАНЕНИЕМ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ**¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю. М. Лопухина», 119435, Москва, Россия;²Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, 125047, Москва, Россия;³ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н. А. Семашко» Минобрнауки России, 105064, г. Москва

В статье описаны разработка, относящаяся к области медицинской диагностики, — портативный анализатор «Исаскрин-8» и возможности его применения для экспресс-диагностики новой коронавирусной инфекции с использованием коммерчески доступных наборов «IsoAmp SARS-CoV-2» (НПФ «Литех»), а также собственной разработки «ТБ-ИЗАТЕСТ» для диагностики возбудителя туберкулеза. Предлагаемый подход может быть использован для быстрого (менее чем за 20 мин) выявления в биологических образцах генетического материала (ДНК/РНК) *Mycobacterium tuberculosis* и SARS-CoV-2 с помощью метода петлевой изотермической амплификации, а также как универсальная платформа для выявления генетического материала иных возбудителей в биологическом образце. С помощью предложенного подхода можно решать различные научно-исследовательские задачи по эпидемиологическому мониторингу туберкулеза и новой коронавирусной инфекции, проводить качественный и количественный анализы бактериальной и вирусной нагрузки в образцах, в том числе для оценки эффективности назначенной схемы антибиотикотерапии. Преимуществом является возможность применения данного способа не только в диагностических лабораториях, но и в условиях полевых лабораторий при соблюдении необходимых санитарно-эпидемиологических требований. При достаточном распространении предлагаемый подход может помочь обеспечить эпидемиологический контроль распространения данных социально значимых инфекций.

Ключевые слова: изотермическая амплификация; LAMP; экспресс-диагностика; туберкулез; *M. tuberculosis*; SARS-CoV-2; COVID-19; портативный анализатор; «Исаскрин-8»

Для цитирования: Беспятых Ю. А., Каныгин А. П., Худжадзе Р. Т., Прусаков К. А., Мингазова Э. Н., Басманов Д. В. Новый подход к эпидемиологическому контролю за распространением инфекционных заболеваний среди населения России. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2023;31(специальный выпуск 1):846—851. DOI: <http://dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2023-31-s1-846-851>

Для корреспонденции: Беспятых Юлия Андреевна; e-mail: juliabespyatykh@gmail.com

Bespyatykh Yu. A.^{1,2,3}, Kanygin A. P.¹, Khudjadze R. T.¹, Prusakov K. A.¹, Mingazova E. N.³, Basmanov D. V.¹**A NEW APPROACH TO THE EPIDEMIOLOGICAL CONTROL OF INFECTIOUS DISEASES IN THE RUSSIAN POPULATION**¹Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, 119435, Moscow, Russia;²Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047, Moscow, Russia;³N. A. Semashko National Research Institute of Public Health, 105064, Moscow, Russia

The article describes a development related to the field of public health and molecular biology, in particular, medical diagnostics. We present the Isascreen-8 portable analyzer (Registration Certificate No. RZN 2022/17322, May 24, 2022) and its application for rapid diagnostics of a new coronavirus infection with the use of commercially available sets IsoAmp SARS-CoV-2 (Lytech Co. Ltd., Russia), and also our own development TB-IZATEST (Invention Application No. 2022133809, December 22, 2022) for diagnostics of tuberculosis pathogen. The approach proposed in this article can be used for rapid detection of genetic material (DNA/RNA) of *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 in biological samples using the method of loop isothermal amplification in less than 20 minutes, and also as a universal platform for detection of genetic material of other pathogens in a biological sample. Using the proposed approach, various research tasks for epidemiological monitoring of tuberculosis and new coronavirus infection, qualitative and quantitative analysis of bacterial and viral load in samples, including evaluation of the effectiveness of the prescribed antibiotic therapy regimen, can be solved. The advantage is that this method can be used not only in diagnostic laboratories, but also in field laboratories in the most remote regions of Russia if the mandatory sanitary and epidemiological requirements are observed. With sufficient distribution, the proposed approach could help ensure epidemiological control of the prevalence of these socially significant infections.

Keywords: isothermal amplification; LAMP; express diagnostics; tuberculosis; *M. tuberculosis*; SARS-CoV-2; COVID-19; portable analyzer; Isascreen-8

For citation: Bespyatykh Yu. A., Kanygin A. P., Khudjadze R. T., Prusakov K. A., Mingazova E. N., Basmanov D. V. A new approach to the epidemiological control of infectious diseases in the Russian population. *Problemi socialnoi gigieni, zdravookhraneniya i istorii meditsini*. 2023;31(Special Issue 1):846—851 (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2023-31-s1-846-851>

For correspondence: Yulia A. Bespyatykh; e-mail: juliabespyatykh@gmail.com

Source of funding. The work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 20-75-10144).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Received 27.02.2023

Accepted 28.04.2023

Введение

Усилия многих стран, направленные на снижение уровня заболеваемости туберкулезом (ТБ; МКБ

A15-A16) и поддерживаемые Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), оказались в значительной степени недостаточными в последние не-

Вопросы общественного здоровья

сколько лет. В ежегодном отчете ВОЗ по ТБ приводятся сведения о том, что в 2019—2020 гг. из-за глобальной нагрузки на системы здравоохранения, вызванной новой коронавирусной инфекцией, смертность от ТБ выросла на более чем 100 тыс. случаев¹. По самым последним данным ТБ стал причиной смерти примерно 1,6 млн человек в 2021 г., среди которых было 187 тыс. ВИЧ-инфицированных пациентов; в 2020 г. зарегистрировано до 1,5 млн смертей от ТБ; тогда как в 2019 г. этот показатель был на уровне 1,4 млн случаев; таким образом, к настоящему времени количество случаев смерти от ТБ возвратилось к показателям 2017 г.² Россия входит в число 10 лидирующих стран, на долю которых приходится более 90% глобального сокращения числа случаев впервые диагностированного ТБ в 2020—2021 гг. по сравнению с 2019 г. Дальнейшее сокращение заболеваемости и, как следствие, смертности от ТБ во многом зависит от эффективности мер, направленных на повышение доступности и качества диагностических процедур.

Принятым «золотым стандартом» в диагностике ТБ является комплекс классических микробиологических методов [1], включающих бактериологический посев отделяемого верхних дыхательных путей и культивирование *M. tuberculosis* на селективной плотной питательной среде Левенштейна—Йенсена (не менее 30 дней), окраску микроскопических препаратов по методу Циля—Нильсена, а также определение спектра лекарственной устойчивости полученного изолята микобактерий. Внедрение новых способов культивирования *M. tuberculosis* на жидких питательных средах с помощью автоматизированной системы на основе технологии «ВАСТЕС MGIT» («BD») позволило сократить длительность исследования до 2 нед [2].

Несмотря на ценность классических методов, в диагностике ТБ часто оказывается востребованным ряд молекулярно-генетических исследований, позволяющих выявить возбудителя и определить лекарственную устойчивость в течение 1 дня.

Напротив, в отношении диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19 ситуация развивалась крайне стремительно и исключительно в области молекулярно-диагностических методов. Исследователи и разработчики в условиях глобальной пандемии и в кратчайшие сроки разрабатывали способы выявления РНК вируса в биоматериале. «Золотым стандартом» в определенный момент стал метод диагностики с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Первым диагностическим набором для того, чтобы выявить вирус, требовалось не менее 4—5 ч, дальнейшее совершенствование тест-систем привело к тому, что в настоя-

щее время постановка анализа занимает не более 2 ч с учетом выделения генетического материала из пробы.

В то же время очевидно, что есть потребность выявлять такие инфекционные агенты с еще меньшими временными затратами. Прорывной технологией в этой области стала разработка метода изотермической петлевой амплификации (Loop-mediated isothermal amplification — LAMP). В отношении COVID-19 использование данной технологии позволило сократить время постановки анализа до 30—40 мин. Первый известный способ идентификации *M. tuberculosis* методом LAMP был описан в 2003 г. [3] и усовершенствован в 2007 г. [4]. При этом время анализа составляло около 90 мин. Этот способ стал одной из первых попыток сократить длительность стадии амплификации для сокращения выявления возбудителя ТБ, однако он не полностью раскрывает все возможности экспресс-метода LAMP. Предложенный авторами новый способ амплификации с использованием набора реагентов «ТБ-ИЗАТЕСТ»³ позволяет выявлять ДНК возбудителя ТБ уже менее чем за 20 мин.

Опыт показывает, что основными преимуществами тест-систем на основе метода LAMP являются высокая скорость реакции и отсутствие необходимости применять сложное дорогостоящее оборудование для термоциклирования. Благодаря этому появляется возможность, во-первых, упростить конструкцию анализатора для LAMP и сделать его портативным и, во-вторых, значительно уменьшить время анализа, доведя его до уровня «прикроватного» теста. Эти преимущества ранее были реализованы авторами в анализаторе для проведения изотермической амплификации нуклеиновых кислот «Изаскрин-8»⁴. При совместном использовании с набором реагентов «IsoAmp SARS-CoV-2 Express» полное время проведения анализа, включая процедуру выделения генетического материала возбудителя, с помощью этого прибора составляет не более 35 мин, а время амплификации — 17,5 мин.

Цель данной работы — адаптация диагностического набора «ТБ-ИЗАТЕСТ» для использования с анализатором «Изаскрин-8». В таком случае появляется возможность направить выигрыш во времени на планирование схемы терапии пациента, его раннее информирование о статусе инфицирования и заблаговременную изоляцию от здоровых людей. Такие меры могут значительно улучшить эпидемиологическую обстановку по ТБ в конкретном населенном пункте и снизить рост заболеваемости в мире.

³ Российский научный фонд. Создание новых микрофлюидных биосенсоров для диагностики и типирования туберкулезной инфекции. URL: <https://rscf.ru/project/20-75-10144/>

⁴ «Амплификатор изотермический Изаскрин-8 для выявления нуклеиновых кислот с детекцией флуоресценции в реальном времени по ТУ 21.51.53-001-01532685-2021», производства ФГБУ ФНЦ ФХМ ФМБА России, регистрационное удостоверение № РЗН 2022/17322 от 24.05.2022.

¹ Global tuberculosis report 2021. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>

² Global tuberculosis report 2022. URL: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>

Материалы и методы

Клинические испытания анализатора «Изаскрин-8»

Клинические испытания анализатора «Изаскрин-8» проводились в ООО «Лаборатория «Литех» с набором реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 «IsoAmp SARS-CoV-2 Express» (ПУ № РЗН 2020/9904 от 27.03.2020). Основными критериями правильности и эффективности работы прибора при проведении клинических испытаний считали совпадение (корреляцию) результатов выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, полученных методом изотермической амплификации с обратной транскрипцией на исследуемом приборе «Изаскрин-8», с результатами, полученными с помощью верифицированной методики сравнения. В качестве методики и прибора сравнения выступал прибор «CFX96 Touch» («BioRad», ПУ № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016). Все действия производили согласно инструкциям и нормативным документам.

Конфигурация термостатов анализатора «Изаскрин-8»

Прецизионное поддержание температуры во время проведения анализа с помощью LAMP является ключевым фактором, влияющим на успешность проведения реакции. Однако для различных наборов реагентов точное значение оптимальной температуры и времени необходимого термостатирования может различаться. Анализатор «Изаскрин-8» позволяет пользователям создавать различные конфигурации (профили) работы термостатов. Так, для набора реагентов «IsoAmp SARS-CoV-2 Express» ранее были экспериментально подобраны следующие оптимальные время и температура: 10 мин на экстракцию генетического материала при температуре 95°C; 5 мин на обратную транскрипцию РНК вируса SARS-CoV-2 при температуре 50°C; 12,5 мин на амплификацию нуклеиновых кислот при температуре 65°C. Для разработанного авторами набора реагентов «ТБ-ИЗАТЕСТ», предназначенного для выявления возбудителя ТБ, исходя из теоретических предпосылок и экспериментальных данных, нами были определены оптимальные температура и время амплификации на анализаторе «Изаскрин-8»: 15 мин на амплификацию нуклеиновых кислот при температуре 67°C. Во время амплификации анализатор каждые 30 с производит детекцию уровня флуоресцентного сигнала от интеркалирующего красителя, что позволяет пользователю наблюдать за ходом исследования в реальном времени. Калибровка термостатов анализатора происходит на заводе-изготовителе с помощью специальных электронных калибровочных модулей и пробирок с прецизионными, заранее калиброванными температурными датчиками. В ходе этой процедуры в программное обеспечение анализатора вносятся необходимые значения поправочных коэффициентов. В результате во время работы прибора температура реактивов в слотах поддерживается на уров-

нях, точно соответствующих тем, что задает пользователь. Данный подход позволяет конечным пользователям использовать «Изаскрин-8» без дополнительной настройки и калибровки.

Формирование коллекций биоматериала

При проведении клинических испытаний анализатора «Изаскрин-8» была использована коллекция биологического материала, предоставленного ООО Лаборатория «Литех». Материал был получен после проведения клинически значимых исследований в ходе лечебно-диагностического процесса. Было отобрано 200 образцов клинического материала, который представлял собой объединенные мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки, взятые у лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания с подозрением на инфекцию COVID-19. Также мазки были отобраны у лиц, не имеющих признаков простудных заболеваний и не являющихся контактными с больными COVID-2019.

Независимо была сформирована собственная коллекция клинического биоматериала, представленная мазками из носо- и ротоглотки пациентов ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина с подозрением на COVID-19. Сбор коллекции проводился в период с сентября 2021 г. по сентябрь 2022 г. Всего в исследование были включены 53 образца. Непосредственное участие пациентов в процессе проведения клинических испытаний анализатора «Изаскрин-8» не требовалось.

Собранная коллекция штаммов возбудителя ТБ включала 10 образцов геномной ДНК различных генетических линий *M. tuberculosis*, выделенных ранее [5].

Используемые реактивы

Для выявления РНК коронавируса использовался коммерчески доступный и зарегистрированный ранее набор реагентов «IsoAmp SARS-CoV-2 Express» (ООО НПФ «Литех»). В состав данного набора входят реагент для выделения генетического материала методом термокоагуляции (термолиза), реакционные смеси для процессирования пробы, содержащие праймеры и фермент, растворы внутреннего контроля образца и положительного контроля образца, интеркалирующий краситель и все необходимые вспомогательные компоненты.

«ТБ-ИЗАТЕСТ» имел следующий состав реакционной смеси и конечные концентрации всех компонентов (на объем реакции 25 мкл): 1× Isothermal Amplification Buffer («NEB»); 5 мМ MgSO₄ («NEB»); 1,4 мМ дНТФ («Биосан»); 0,5× раствор интеркалирующего красителя EvaGreen («Biotium»); по 1,6 мкМ внутренних праймеров (FIP и BIP; «Евроген»); по 0,2 мкМ внешних праймеров (F3 и B3; «Евроген»); по 0,8 мкМ петлевых праймеров (LF и LB; «Евроген»); 8 ед. акт. ДНК-полимеразы Bst 2.0 WarmStart («NEB»). Доводили оставшийся объем реакционной смеси добавлением стерильной деионизованной воды, свободной от нуклеаз («Евроген»).

Вопросы общественного здоровья

Для проведения реакции использовали следующие праймеры (5'→3'):

- FIP TAGCTGCCGGTCCAGGTCTGGTGGTGC GGCCACTGA;
- VIP SAACCCAGTCCGGTGGTGTCTTCGTGACCGTGAACC;
- F3 ACCGGACCCCTCGTGT;
- V3 GATAGACCTGATCGACGCTG;
- LF ACCCGTTGCCGTTGATC;
- LB GTGGACCTGCAACTTCC.

Готовую реакционную смесь раскапывали по тонкостенным ПЦР-пробиркам объемом 200 мкл (SSI-3111, «Scientific Specialties Incorporated»). Амплификацию проводили при параметрах, описанных выше.

В качестве сравнительного референтного набора для верификации идентификации образцов ДНК *M. tuberculosis* использовали набор реагентов для ПЦР-амплификации «ПОЛИТУБ» (ООО НПФ «Литех») на термоциклируемом амплификаторе с детекцией амплификации в режиме реального времени «CFX96 Touch» («Bio-Rad»).

Технические характеристики анализатора «Изаскрин-8»

«Изаскрин-8» является медицинским прибором для *in vitro* диагностики, предназначенным для выделения генетического материала из пробы, амплификации и флуоресцентного выявления нуклеиновых кислот. Анализатор представляет собой компактный прибор, состоящий из 3 функциональных частей: слот для выделения генетического материала из биологической пробы, слот(ы) для проведения изотермической амплификации с одновременной оптической детекцией процесса наработки ампликонов, сенсорного дисплея и комплекса электроники, управляющей рецептами проведения молекулярно-генетического тестирования. Слот экстракции анализатора представляет собой управляемый термостат для двух 1,5 мл пробирок, где выделение генетического материала из биологической пробы может осуществляться методом термокоагуляции (термолизиса). Два независимых слота амплификации состоят из двух управляемых прецизионных термостатов для 4 стандартных ПЦР пробирок (200 мкл) в каждом с индивидуальной высокочувствительной системой детекции флуоресценции в канале FAM для каждой пробирки. Сенсорный дисплей и нативный графический интерфейс позволяют создавать произвольные рецепты проведения анализа: задавать время и температуру экстракции генетического материала из биологической пробы, задавать профили температур и время для каждого этапа амплификации, выбирать частоту сбора оптического сигнала флуоресценции, наблюдать в реальном времени за графиками изменения значений сигнала флуоресценции для каждой пробирки, сохранять и отправлять на персональный компьютер результаты анализа, получать результаты автоматической интерпретации результатов. Такая конфигурация прибора идеально подходит для проведения экспресс-анализов методом LAMP с детекцией флуоресценции в реальном времени по сигналу от интеркалирующего флуорофора. Внутренний контроллер ана-

лизатора позволяет с точностью 0.2°C поддерживать температуру в термостатах в течение всех стадий анализа. Оптическая система детекции анализатора разработана в расчете на использование наиболее распространенных флуорофоров, которые имеют максимумы поглощения в диапазоне 460—500 нм, а максимумы излучения — в диапазоне 520—570 нм. Основными преимуществами конструкции данного анализатора являются компактность, мобильность, простота использования, возможность программирования термостата и системы детекции для работы по произвольным сценариям и с различными тест-системами.

Результаты и обсуждение

Пандемия COVID-19 резко снизила эффективность мер, принимаемых системами здравоохранения разных стран для борьбы с ТБ. Особенно трудной стала ситуация в странах с высоким бременем ТБ. По оценкам ВОЗ, возросшая нагрузка на медицинские учреждения в период пандемии привела к возвращению количества вновь выявленных случаев ТБ к показателям 2017 г. По всей видимости, в эту негативную статистику внесли вклад меры профилактики распространения коронавирусной инфекции, такие как карантин, снизившие для многих людей возможность доступа к тестированию на наличие возбудителя ТБ и его последующего лечения.

Непрерывное выявление новых случаев COVID-19 и ТБ является трудным для первичной идентификации, поскольку оба заболевания имеют общие симптомы, способы передачи и социально-демографические факторы, способствующие распространению этих инфекционных заболеваний. Необходимость различной терапии этих заболеваний стала проявляться особенно остро после появления данных о том, что применение кортикостероидов для лечения COVID-19 привело к появлению у некоторых пациентов симптомов или обострения активной фазы ТБ [5].

Перекрываются также способы быстрой молекулярной диагностики этих заболеваний, основанные на методе ПЦР, что на практике приводило к существенной нагрузке на персонал и оборудование, проявлялось в виде нехватки реагентов для пробоподготовки и постановки анализа [6]. Нехватка реагентов заставила многие лаборатории, не справляющиеся с возрастающим потоком образцов, применять различные методики пулирования [7], что позволило также значительно сократить время, необходимое на проведение анализов.

Таким образом, актуальной задачей для диагностических центров стала диверсификация технологий для выявления генетического материала SARS-CoV-2 и *M. tuberculosis*, внедрение в практику тест-систем на основе изотермической амплификации [8]. Скорость и простота эксплуатации таких тестов позволили проводить скрининговые исследования COVID-19 и ТБ [9], в более короткие сроки выявлять инфицированных.

В свою очередь, нами была предложена новая технология диагностики наиболее социально значимых для нашей страны инфекционных агентов. Так, в самом начале пандемии, был разработан анализатор «Изаскрин-8», для которого проведены клинические испытания, а также собственная совместимая с прибором тест-система экспресс-выявления ДНК *M. tuberculosis*. В ходе клинических испытаний прибора, предшествующих мероприятиям по регистрации медицинского изделия, были проанализированы 200 клинических образцов, полученных от пациентов, из которых 111 имели подтвержденную инфекцию COVID-19, 89 — отрицательный статус. Кроме того, 200 образцов (объединенные мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки) после тестирования их на исследуемой тест-системе были проанализированы на тест-системе сравнения. Результаты исследования сопоставимы с результатами, полученными в ходе клинического обследования больных. Совпадение результатов между исследуемым набором и набором сравнения — 200 образцов из 200 исследованных. Несовпадений не выявлено. Во всех исследованных образцах адекватно сработал внутренний контроль, что свидетельствует о проведении качественной пробоподготовки. В 111 образцах зарегистрировано наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2, в 89 образцах зарегистрировано их отсутствие. Таким образом, в ходе испытаний подтверждена правильность работы анализатора «Изаскрин-8». Разработанный авторами анализатор прошел клинические и технические испытания и был зарегистрирован как медицинское изделие для *in vitro* диагностики, допущенный к использованию на территории России. Это доказывает заявленные разработчиками и производителем анализатора необходимых функциональных и аналитических характеристик, эффективности, качества и безопасности. Кроме того, было подтверждено соответствие характеристик анализатора требованиям стандартов устойчивости материалов к воздействиям, электробезопасности, электромагнитной совместимости.

В условиях клиничко-диагностической лаборатории Центра молекулярной медицины и диагностики ФГБУ ФНКЦ ФХМ им Ю. М. Лопухина проведена апробация прибора «Изаскрин-8» на клинических образцах, полученных от пациентов с подозрением на COVID-19. На момент проведения исследования на рынке отсутствовали аналоги анализатора «Изаскрин-8», все анализы на выявление генетического материала вируса SARS-CoV-2 для постановки диагноза проводились методом ПЦР в 96-лучном планшетном формате. Активная фаза пандемии COVID-19 продемонстрировала необходимость получения результатов в максимально короткие сроки. Все пациенты ($n = 53$), включенные в исследование, требовали немедленной выдачи заключения о наличии или отсутствии возбудителя COVID-19. Использование метода LAMP и анализатора «Изаскрин-8» позволило получить результат для указанной выборки пациентов менее чем за 1 час с учетом этапа забора биоматериала, доставки его в лабора-

торию и непосредственной выдачи заключения лечащим врачом. Стоит отметить, что, безусловно, все данные были верифицированы стандартной зарегистрированной в РЗН методикой, которая подтвердила результаты, полученные на «Изаскрин-8».

Своевременное получение результатов может помочь в выборе не только правильной терапии и/или своевременной изоляции пациента, но и тактики действия врача в случае необходимости, например, хирургического вмешательства; оперативной маршрутизации пациента между медицинскими организациями. В выборке, анализируемой в условиях клиничко-диагностической лаборатории ЦММиД ФГБУ ФНКЦ ФХМ им Ю. М. Лопухина, 12 из 53 образцов были отрицательными, что позволило оказать своевременную необходимую плановую госпитализацию пациентам; 8 образцов были положительными и получены от пациентов с тяжелой клинической картиной, что позволило маршрутизировать их в медицинскую организацию, оказывающую соответствующую помощь; 33 образца были положительными и получены от пациентов без клинической картины COVID-19, что позволило своевременно изолировать их и предотвратить контакт с потенциально здоровым контингентом. Стоит отметить, что в последнем случае 5 образцов были получены от медицинского персонала. Таким образом, очевидно, что использование экспресс-диагностики описанным нами способом на анализаторе «Изаскрин-8» для тестирования медицинского персонала является крайне актуальным, перспективным и здоровьесберегающим.

Для расширения возможностей использования анализатора «Изаскрин-8» в качестве способа диагностики наиболее актуальных инфекционных заболеваний была рассмотрена разработанная ранее тест-система «ТБ-ИЗАТЕСТ». Проведение реакции с помощью разработанной тест-системы для выявления геномной ДНК *M. tuberculosis* было сопряжено с необходимостью увеличения объема реакционной смеси до 25 мкл. Длительность стадии амплификации удалось оптимизировать до 15 мин. В качестве исходного материала для проведения амплификации использовали 2 мкл образца очищенной геномной ДНК различных штаммов *M. tuberculosis* ($n = 10$).

Заключение

Предложен новый подход к экспресс-выявлению ДНК/РНК возбудителей различных заболеваний, основанный на использовании портативного медицинского изделия «Изаскрин-8» и соответствующего набора реагентов для амплификации методом изотермической амплификации. Эффективность данного подхода продемонстрирована на примерах валидации портативного амплификатора совместно с двумя наборами: «IsoAmp SARS-CoV-2 Express» (НПФ «Литех») для выявления РНК SARS-CoV-2 в биологическом материале и тест-системы «ТБ-ИЗАТЕСТ», предназначенной для выявления возбудителя ТБ. Разработанный и производимый амплифика-

Вопросы общественного здоровья

тор с детекцией флуоресцентного сигнала в реальном времени представляет актуальную платформу для дальнейших разработок, что было доказано в ходе адаптации под него тест-системы «ТБ-ИЗ-ТЕСТ». Вышесказанное позволяет заключить, что предложен новый способ эффективной экспресс-диагностики инфекционных агентов, наиболее распространённых и актуальных для населения нашей страны. Портативность, компактность амплификатора, а также возможность длительной автономной работы с питанием от внешнего аккумулятора позволяют говорить об актуальности его использования в прикроватной диагностике и, что наиболее значимо, в полевых условиях. Не вызывает сомнения перспектива использования представленного способа диагностики в сфере контроля распространения инфекционных заболеваний среди населения России

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-75-10144).

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Благодарности

Авторы выражают благодарность врачу клинической лабораторной диагностики, Худжадзе Русудан Тамазовне за помощь в проведении анализов по диагностике SARS-CoV-2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wallace E., Hendrickson D., Tolli N. et al. Culturing Mycobacteria / *Methods Mol. Biol.* 2021. Vol. 2314. P. 1—58.
2. Kontos F., Maniati M., Costopoulos C. et al. Evaluation of the fully automated Bactec MGIT 960 system for the susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to first-line drugs: a multicenter study // *J. Microbiol. Methods.* 2004. Vol. 56, N 2. P. 291—294.
3. Iwamoto T., Sonobe T., Hayashi K. Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex, M. avium, and M. intracellulare in sputum samples // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41, N 6. P. 2616—2622. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2616—2622.2003
4. Boehme C. C., Nabeta P., Henostroza G. et al. Operational feasibility of using loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of pulmonary tuberculosis in microscopy centers of developing countries // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45, N 6. P. 1936—1940. DOI: 10.1128/JCM.02352—06
5. Gopalaswamy R., Subbian S. Corticosteroids for COVID-19 therapy: potential implications on tuberculosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22, N 7. P. 3773. DOI: 10.3390/ijms22073773

6. Kalnina L., Mateu-Regué À., Oerum S. et al. A simple, safe and sensitive method for SARS-CoV-2 inactivation and RNA extraction for RT-qPCR // *APMIS.* 2021. Vol. 129, N 7. P. 393—400. DOI: 10.1111/apm.13123
7. Lagopati N., Tsioli P., Mourkioti I. et al. Sample pooling strategies for SARS-CoV-2 detection // *J. Virol. Methods.* 2021. Vol. 289. P. 114044. DOI: 10.1016/j.jviromet.2020.114044
8. Augustine R., Hasan A., Das S. et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, sensitive, specific, and cost-effective point-of-care test for coronaviruses in the context of COVID-19 pandemic // *Biology (Basel).* 2020. Vol. 9, N 8. P. 182. DOI: 10.3390/biology9080182
9. Sharma G., Tewari R., Dhatwalia S. K. et al. A loop-mediated isothermal amplification assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis // *Lett. Appl. Microbiol.* 2019. Vol. 68, N 3. P. 219—225. DOI: 10.1111/lam.13115

Поступила 27.02.2023
Принята в печать 28.04.2023

REFERENCES

1. Wallace E., Hendrickson D., Tolli N. et al. Culturing Mycobacteria. *Methods Mol. Biol.* 2021;2314:1—58.
2. Kontos F., Maniati M., Costopoulos C. et al. Evaluation of the fully automated Bactec MGIT 960 system for the susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to first-line drugs: a multicenter study. *J. Microbiol. Methods.* 2004;56(2):291—294.
3. Iwamoto T., Sonobe T., Hayashi K. Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex, M. avium, and M. intracellulare in sputum samples. *J. Clin. Microbiol.* 2003;41(6):2616—2622. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2616—2622.2003
4. Boehme C. C., Nabeta P., Henostroza G. et al. Operational feasibility of using loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of pulmonary tuberculosis in microscopy centers of developing countries. *J. Clin. Microbiol.* 2007;45(6):1936—1940. DOI: 10.1128/JCM.02352—06
5. Gopalaswamy R., Subbian S. Corticosteroids for COVID-19 therapy: potential implications on tuberculosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(7):3773. DOI: 10.3390/ijms22073773
6. Kalnina L., Mateu-Regué À., Oerum S. et al. A simple, safe and sensitive method for SARS-CoV-2 inactivation and RNA extraction for RT-qPCR. *APMIS.* 2021;129(7):393—400. DOI: 10.1111/apm.13123
7. Lagopati N., Tsioli P., Mourkioti I. et al. Sample pooling strategies for SARS-CoV-2 detection. *J. Virol. Methods.* 2021;289:114044. DOI: 10.1016/j.jviromet.2020.114044
8. Augustine R., Hasan A., Das S. et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, sensitive, specific, and cost-effective point-of-care test for coronaviruses in the context of COVID-19 pandemic. *Biology (Basel).* 2020;9(8):182. DOI: 10.3390/biology9080182
9. Sharma G., Tewari R., Dhatwalia S. K. et al. A loop-mediated isothermal amplification assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Lett. Appl. Microbiol.* 2019;68(3):219—225. DOI: 10.1111/lam.13115