

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Водопьянов А.С.¹, Хомяков Ю.Н.², Писанов Р.В.¹, Фурина А.Ю.², Лопатин А.А.², Носков А.К.¹

¹ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Противочумный центр Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Разработка программы автоматизированного учёта результатов ПЦР-исследований в режиме реального времени в условиях массового поступления биологического материала в период пандемии COVID-19

В связи со стремительным распространением новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в Российской Федерации в 2020 г. на базе ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора были организованы 70 рабочих мест и прикомандированы специалисты научно-исследовательских противочумных институтов Роспотребнадзора. Однако круглосуточный трёхсменный режим работы существенно затрудняет организацию и учёт проведённых исследований и увеличивает риск возникновения ошибок.

В связи с этим на базе ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора была проведена работа по автоматизации наиболее проблемных этапов выполнения исследований на новую коронавирусную инфекцию методом полимеразной цепной реакции и разработан новый алгоритм отслеживания результатов в режиме реального времени.

Разработку собственных программных решений проводили на языке Python 3.8.2.

Исходными данными для автоматизации явились файлы *xlsx*, автоматически генерируемые программным обеспечением амплификатора, и типовые табличные шаблоны, заполняемые на этапах разбора проб и выделения РНК.

Разработанное нами программное обеспечение проводило консолидацию данных в единый файл-реестр с одновременным выявлением возможных ошибок (наличие дублей, различия в перечнях проб на разных этапах и т.п.). Использование скриптового языка Python обеспечивает возможность работы в любой операционной системе и позволяет легко и быстро модифицировать систему при изменении каких-либо параметров или структуры входных файлов. Так, на разработку и ввод в эксплуатацию данного программного комплекса было затрачено 7 дней, что особенно актуально при работе в условиях чрезвычайной ситуации и режима повышенной готовности на фоне текущей пандемии COVID-19.

Таким образом, использование разработанного нами подхода обеспечило возможность более быстрого выявления технических ошибок, дискордантных результатов и проб, требующих повторного исследования, что в свою очередь сократило время выдачи результатов.

Ключевые слова: COVID-19, полимеразная цепная реакция, лабораторная информационная система, Python, информационная система.

Для цитирования: Водопьянов А.С., Хомяков Ю.Н., Писанов Р.В., Фурина А.Ю., Лопатин А.А., Носков А.К. Разработка программы автоматизированного учёта результатов ПЦР-исследований в режиме реального времени в условиях массового поступления биологического материала в период пандемии COVID-19 // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020;25(2): 102-108. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID46555>

Vodopyanov A.S.¹, Khomyakov Yu.N.², Pisanov R.V.¹, Furina A.Y.², Lopatin A.A.², Noskov A.K.¹

¹ Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

² Antiplague Center of Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

Development of a program for automated recording of the results of polymerase chain reaction studies in real time in the conditions of a massive intake of biological material during the COVID-19 pandemic

With regard to the rapid spread of the latest coronavirus infection (COVID-19) in the Russian Federation in 2020, 70 workplaces were organized in Antiplague Center of Rospotrebnadzor and were seconded by specialists from the Rospotrebnadzor research antiplague institutes. However, the round-the-clock three-shift mode of operation significantly complicates the organization and documentation of the studies and increases the risk of errors.

Subsequently in Antiplague Center of Rospotrebnadzor, we have conducted the work to automate the most problematic stages of conducting polymerase chain reaction (PCR) studies for the latest coronavirus infection and to develop an algorithm for real-time monitoring of the results.

The development of our own software solutions was carried out in Python 3.8.2.

The initial data for automation were *xlsx* files automatically generated by the thermocycler software and typical tabular templates filled in at the sample analysis and RNA extraction stages. The software we developed consolidated the data into a single "file register" to detect potential errors simultaneously (e.g., the presence of duplicates, differences in the lists of samples at different stages, etc.). Using the Python scripting language provides cross-platform functionality (the ability to

work in any operating system) and allows you to easily and quickly modify the system when changing any parameters or input file structure. Thus, 7 days were spent on the development and commissioning of this software complex, which is particularly important when working in an emergency and high alert mode.

Therefore, using the approach we developed made it possible to more quickly detect technical errors, discordant results, and samples requiring re-examination, which in turn reduced the time for issuing results.

Keywords: COVID-19, polymerase chain reaction, laboratory information system, Python, information system.

For citation: Khomyakov YuN, Vodopyanov AS, Khomyakov YN, Pisanov RV, Furina AY, Lopatin AA, Noskov AK. Development of a program for automated recording of the results of polymerase chain reaction studies in real time in the conditions of a massive intake of biological material during the COVID-19 pandemic. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2020;25(2):102-108. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID46555>

Введение

Одной из важнейших задач обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями, особенно в острый период эпидемического распространения, является оперативность лабораторной диагностики. В режиме массового поступления образцов клинического материала на исследование оперативность и корректность регистрации, учёта и представления результатов является сложной организационно-технической задачей, особенно при экстренном перепрофилировании организаций на проведение лабораторных исследований в количестве, превышающем расчётные показатели в десятки раз.

По состоянию на 8 сентября 2020 г., число лабораторно подтверждённых случаев заражения новым коронавирусом в мире составило 27 248 331 (из них 1 030 690 в Российской Федерации), в том числе 891 153 с летальным исходом (из них 17 871 в Российской Федерации).

31 декабря 2019 г. Муниципальная комиссия здравоохранения г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика) опубликовала сообщение о выявлении 27 случаев пневмонии неясной этиологии. Дальнейшее стремительное развитие эпидемической вспышки новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в г. Ухань продемонстрировало высокий эпидемический потенциал инфекционной болезни, в связи с чем были введены жёсткие ограничительные мероприятия. С января 2020 г. в мире началось широкое распространение вируса SARS-CoV-2 — возбудителя COVID-19, затронувшее порядка 186 стран. 30 января 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения. К концу февраля 2020 г. наблюдалось резкое осложнение эпидемической обстанов-

ки по COVID-19 в Южной Корее, Иране, Италии и ряде других стран, и уже 11 марта 2020 г. ВОЗ объявила о начале пандемии новой коронавирусной инфекции. На основании информации по эпидемиологии, клинике и патогенезу и в соответствии с санитарным законодательством Российской Федерации вирус SARS-CoV-2 — возбудитель COVID-19 — отнесён ко II группе патогенности.

В связи с этим в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации было начато проведение комплекса противоэпидемических мероприятий в рамках санитарной охраны территории Российской Федерации, в частности усиление санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу, направленных на предупреждение завоза и распространения COVID-19 на территории Российской Федерации (Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 24.01.2020 № 2).

Особенности работы лаборатории в период пандемии COVID-19

С 25 января 2020 г. на базе лабораторий ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора были развернуты исследования по диагностике COVID-19 в поступающих образцах клинического материала от больных, контактных и с подозрением на заболевание COVID-19, а с 7 февраля 2020 г. для обеспечения бесперебойной работы штат был усилен прикомандированными сотрудниками ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»», и работа лабораторий была организована уже в круглосуточном режиме.

В этот период среднесуточное поступление составляло порядка 200 проб, что соответствовало пропускной способности лаборатории. Однако с 15 марта в связи с ухудшением эпидемиологиче-

ской обстановки в г. Москве были начаты масштабные мероприятия по материально-техническому доукомплектованию лабораторной базы Противочумного центра, которые были завершены в кратчайшие сроки. Также для обеспечения бесперебойной круглосуточной работы в условиях массового поступления образцов биологического материала на исследование по приказу руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора были организованы 70 рабочих мест и оперативно прикомандированы специалисты противочумных институтов Роспотребнадзора, имеющие допуск и опыт работы с возбудителями I–IV групп патогенности, с развёртыванием мобильных лабораторных модулей СПЭБ (специализированные противоэпидемические бригады) ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт».

Только за 17 дней марта 2020 г. во ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора поступило 35 245 проб биологического материала. Среднесуточное поступление составило 2073 пробы. За указанный период было выявлено 29 793 отрицательных и 1025 положительных результатов. За период с 15 марта по 31 августа в лабораторию ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора поступило более 200 тыс. проб биологического материала, из них доля положительных составила 53 740, или 27,5% от общего числа.

Сложившаяся ситуация являлась уникальной: впервые за много лет Российская Федерация столкнулась с глобальным распространением опасной инфекционной болезни, потребовавшей внесения существенных корректив в работу лабораторной службы.

Основными проблемными вопросами, с которыми столкнулись специалисты лабораторного звена, являлись:

- непрогнозируемое одномоментное поступление однотипных по составу проб биологического материала (носо- и ротоглоточные мазки, патологоанатомический материал) в количестве, значительно превышающем расчётную суточную мощность лаборатории;
- необходимость строгого временного учёта проведения каждого этапа лабораторного исследования конкретной пробы;

- отслеживание каждой пробы от момента поступления до выдачи результата.

Для их решения в ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора оперативно были проведены организационно-структурные мероприятия, направленные на обеспечение непрерывной поточности в условиях массового поступления биологического материала, а именно: проведено кадровое перераспределение для усиления этапов разбора поступивших проб, пробоподготовки, выделения РНК, постановки, учёта и выдачи результатов исследований на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Анализ работы в сложившейся ситуации выявил несколько отличительных особенностей. С одной стороны, переход лаборатории в режим диагностики моноинфекции формально упрощает проведение работ. С другой стороны, переход на круглосуточный режим работы приводит к тому, что различные этапы одного и того же анализа проводятся специалистами разных смен, что в свою очередь существенно затрудняет организацию и учёт проводимых исследований и увеличивает риск возникновения ошибок. В этой связи особую роль приобретает автоматизация процесса учёта поступления проб и выдачи результатов с целью как предотвращения, так и раннего выявления возможных ошибок.

В настоящее время для решения схожих вопросов на рынке присутствует большое количество автоматизированных лабораторных информационных систем (ЛИС), созданных для облегчения учёта проводимых исследований [1]. Использование готовых коммерческих продуктов несёт в себе целый ряд положительных аспектов. Так, многие ЛИС предусматривают автоматизацию всех этапов выполнения исследований, начиная от поступления материала и заканчивая выдачей ответа. Не менее актуальным является наличие профессиональной поддержки пользователей и постоянное обновление программного обеспечения с учётом изменяющихся потребностей лаборатории. Однако использование таких ЛИС несёт в себе и ряд недостатков, одним из которых является достаточно длительный период интеграции и персонализации, а также высокую стоимость специфического оборудования и расходных материалов. Существенные коррективы при автоматизирован-

ном учёте вносит также работа в режиме диагностики моноинфекции, при этом многие стандартные функции ЛИС, направленные на организацию многопрофильной лаборатории, становятся неоправданно избыточными.

В ряде случаев для организации лабораторной работы создаются собственные ЛИС [2], что требует наличия в штате IT-специалистов, а также значительных затрат времени на создание и развёртывание системы, однако в этом случае можно более полно учесть все особенности конкретной лаборатории. Разработка собственных программных решений в этом случае позволяет сконцентрировать усилия на автоматизации наиболее проблемных мест.

В связи с вышеизложенным на базе ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора была проведена работа по автоматизации наиболее проблемных этапов выполнения ПЦР-исследований на новую коронавирусную инфекцию и разработке нового алгоритма отслеживания результатов в режиме реального времени.

Исследования на новую коронавирусную инфекцию проводили методом ПЦР с помощью набора реагентов «РеалБест РНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест», Россия) с использованием амплификаторов в режиме реального времени C1000 Touch с оптическим модулем CFX96 (BioRad, США). Для контроля режима амплификации и учёта результатов применяли программный комплекс «Реал Бест Диагностика» (АО «Вектор-Бест», Россия). Разработку собственных программных решений проводили на языке Python 3.8.2.

ПЦР-исследование на новую коронавирусную инфекцию от момента поступления материала до выдачи ответа занимает, как правило, 5–7 ч. Как уже указывалось, в условиях круглосуточной трёхсменной работы лаборатории это требует конвейерной работы, при которой постановку ПЦР и учёт результатов могут выполнять разные специалисты в разных сменах. Весьма значимым является фактор гетерогенности материала, поступающего на исследование: так, секционный материал требует больше времени на первичную обработку по сравнению с носоглоточным мазком. Немаловажным является необходимость повторного исследования ряда проб при получении сомнительного результата, что также может выполняться сотрудниками

другой смены. Всё это приводит к увеличению времени исследования ряда проб и является потенциальным источником ошибок. В связи с этим было решено сконцентрировать свои усилия на разработке алгоритма, позволяющего отслеживать получение результатов по каждой пробе в режиме реального времени.

Важным требованием, предъявляемым к разрабатываемому алгоритму, явилась необходимость работы с большого числа компьютеров, как непосредственно подключённых к амплификаторам, так и находящихся в «чистой зоне» и предназначенных для контроля выдачи результатов.

Довольно актуальным является вопрос выбора языка программирования для реализации разрабатываемого алгоритма. Очевидно, что разрабатываемый программный продукт должен обеспечивать возможность быстрого внесения правок в исходный код в случае изменения требований к программе.

Ранее аналогичное программное обеспечение разрабатывалось нами на базе Microsoft Excel на языке программирования VBA (Visual Basic for Applications), однако на данный момент ввиду перехода на отечественное программное обеспечение такой вариант является неприемлемым.

В связи с вышеизложенным мы остановили свой выбор на языке программирования Python, что позволяет работать в любой операционной системе и обеспечивает независимость от наличия пакета Microsoft Office, даже при работе с файлами в формате *xlsx* (Microsoft Excel). Использование данного формата позволяет работать с программным комплексом широкому кругу лиц без необходимости дополнительного обучения. С этой целью нами были разработаны типовые шаблоны для заполнения на этапах разбора проб и выделения РНК с последующей загрузкой на сетевой диск. На этапе постановки ПЦР и учёта амплификации для последующей работы программы используются файлы *xlsx*, автоматически генерируемые программой «Реал Бест Диагностика», что согласуется с требованиями, предъявляемыми к организации менеджмента качества лабораторных исследований.

После загрузки всех исходных файлов на сетевой диск пользователем проводится запуск программного модуля. В процессе работы программа

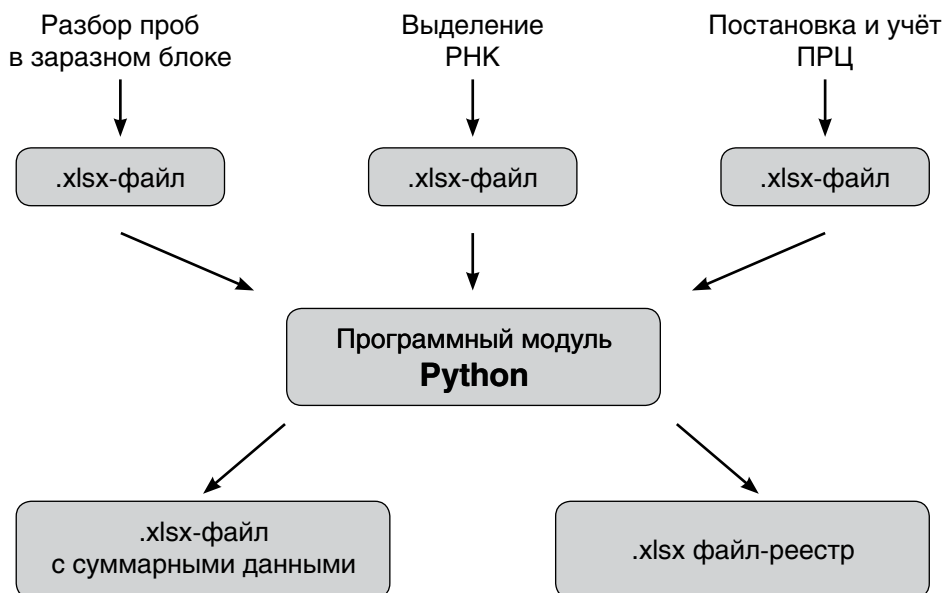


Рис. Схема работы программного комплекса по автоматической обработке данных.

сводит все получаемые данные воедино (**рис.**), проводя проверку как на корректность обозначения проб (буква и цифровой код от 0 до 9999), так и на наличие дублей. Согласно используемой системе менеджмента качества, в одной постановке не может быть двух проб с одинаковой нумерацией, поэтому наличие дубликатов является ошибкой, требующей немедленного исправления.

По итогам работы программы формируются два файла: общий файл, содержащий суммарные данные всех постановок, и файл-реестр, содержащий перечень всех проб с указанием результатов по завершённым исследованиям. Именно файл-реестр позволяет получать оперативную информацию о пробах, по которым ещё не получены результаты и на которые нужно обратить особое внимание.

Важно отметить, что генерация общего файла и файла-реестра каждый раз происходит заново, что весьма актуально при исправлении исходных протоколов после выявления ошибок и обеспечивает наличие в итоговых файлах только актуальных данных. Время на генерацию таких файлов при загрузке 500 протоколов составляет около 5 сек.

Заключение

Анализ генерируемых файлов направлен на поиск возможных ошибок. Стоит отметить, что одной из них является ошибка в нумерации проб,

особенно при наличии повторяющихся цифр (например, обозначение 6886 вместо 6686). Однако при возникновении подобной ошибки, с одной стороны, происходит возникновение дубля, что возможно выявить в процессе работы программы на этапе формирования общего файла. С другой стороны, при этом в файле-реестре будет отсутствовать результат по данной пробе, что хорошо видно при визуальном анализе. Всё это позволяет быстро выявлять и исправлять ошибки подобного типа — практически сразу после их возникновения.

Использование скриптового языка Python для выполнения задач отслеживания результатов в режиме реального времени в условиях проведения большого объёма моноисследований на новую коронавирусную инфекцию обеспечивает кроссплатформенность (возможность работы в любой операционной системе) и позволяет легко и быстро модифицировать систему при изменении каких-либо параметров или структуры входных файлов. Так, на разработку и ввод в эксплуатацию данного программного комплекса было затрачено 7 дней, что особенно актуально при работе в условиях чрезвычайной ситуации и режима повышенной готовности. При этом использование файлов Microsoft Excel и возможность переноса их с помощью флеш-накопителей обеспечивает возмож-

ность одновременной работы с неограниченного числа компьютеров даже при отсутствии доступа к внутренней сети.

Таким образом, в ходе проведённой работы нами был разработан новый алгоритм выявления ошибок, возникающих при проведении большого числа ПЦР-исследований на новую коронавирусную инфекцию. Разработано программное обеспечение на языке программирования Python, реализующее данный алгоритм. Созданное программное обеспечение успешно внедрено в практику лабораторной работы ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора и впоследствии успешно использовано во ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора при проведении ПЦР-исследований на новую коронавирусную инфекцию в 2020 г.

Использование разработанного нами подхода обеспечило возможность более быстрого выявления технических ошибок, дискордантных результатов и проб, требующих повторного исследования, что в свою очередь сократило время выдачи результатов.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Участие авторов. А.С. Водопьянов — концепция и дизайн исследования; А.С. Водопьянов, Ю.Н. Хомяков, Р.В. Писанов — сбор и обработка материала; А.С. Водопьянов, Ю.Н. Хомяков, А.Ю. Фурина — написание текста; А.С. Водопьянов, Ю.Н. Хомяков, Р.В. Писанов, А.А. Лопатин, А.К. Носков — редактирование; А.А. Лопатин, А.К. Носков — утверждение окончательного варианта статьи; А.С. Водопьянов, Ю.Н. Хомяков — ответственность за целостность всех частей статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Благодарность. Авторы выражают благодарность заместителю директора ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора С.М. Ивановой за ценные замечания по оформлению и содержанию статьи.

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest

Authors contribution. A.S. Vodopyanov — concept and design of the study; A.S. Vodopyanov, Yu.N. Khomyakov, R.V. Pisanov — collection and processing of material; A.S. Vodopyanov, Yu.N. Khomyakov, A.Yu. Furina — writing text; A.S. Vodopyanov, Yu.N. Khomyakov, R.V. Pisanov, A.A. Lopatin, A.K. Noskov — editing; A.A. Lopatin, A.K. Noskov — approval of the final version of the article; A.S. Vodopyanov, Yu.N. Khomyakov is responsible for the integrity of all parts of the article. All authors made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Acknowledgments. The authors is grateful to the Deputy Director of the FKUZ “Antiplague Center” of Rospotrebnadzor S.M. Ivanova for valuable comments on the design and content of the article.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев А.В., Новицкий Р.Э. Обзор отечественных лабораторных информационных систем // *Врач и информационные технологии*. — 2008. — №2. — С. 24–32.
2. Андрияков Б.Г., Андрияков И.Б., Гельман Е.А., и др. Опыт создания и внедрения лабораторной информационной си-

стемы в практику клинко-диагностической лаборатории многопрофильного ведомственного лечебного учреждения // *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. — 2015. — №5. — С. 62–68.

REFERENCES

1. Gusev AV, Novitskiy RE. Obzor otechestvennykh laboratornykh informatsionnykh sistem. *Vrach i informacionnye tehnologii*. 2008;(2):24–32. (In Russ).
2. Andryukov BG, Andryukov IB, Gelman EA, et al. Experience creation and implementation of laboratory information systems

in the practice clinical diagnostic laboratories the multidisciplinary departmental medical centers. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka*. 2015;(5):62–68. (In Russ).

Водопьянов Алексей Сергеевич, к.м.н. [**Alexey S. Vodopyanov**, MD, PhD]; **e-mail:** alexvod@gmail.com, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

***Хомяков Юрий Николаевич**, к.м.н., д.б.н., ст.н.с. [**Yuri N. Khomyakov**, MD, PhD, Dr. Sci. Biol.]; **адрес:** 127490, Россия, Москва, ул. Мусоргского, д. 4 [**address:** 4 Mussorgsky street, Moscow, 127490, Russia]; **e-mail:** khomyakov_yuri@mail.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0540-252X>

Писанов Руслан Вячеславович, к.б.н., [**Ruslan V. Pisanov**]; **e-mail:** pisanov.ruslan@yandex.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

Фурина Ангелина Юрьевна [**Angelina Yu. Furina**, MD]; **e-mail:** gelishey@mail.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0801-0655>

Лопатин Антон Александрович, к.м.н. [**Anton A. Lopatin** MD, PhD]; **e-mail:** lopatin2734@yandex.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4526-3311>

Носков Алексей Кимович, к.м.н. [**Alexey K. Noskov**, MD, PhD]; **e-mail:** pisanov.ruslan@yandex.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

** Для корреспонденции / For correspondence*

Поступила 08.10.20

Принята к печати 13.10.20

Received 08.10.20

Accepted 13.10.20