

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Ротанов С.В.^{1,2}, Акиншина Ю.А.¹, Марданлы С.Г.^{1,3}

ТЕХНОЛОГИЯ КАЧЕСТВЕННОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ КОРОНАВИРУСА И ВИРУСОВ ГРИППА А И В С ЦЕЛЬЮ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВЫЗЫВАЕМЫХ ЭТИМИ ВИРУСАМИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

¹ АО «ЭКОлаб», 142530, Электрогорск, Россия;

² Федеральное бюджетное учреждение науки «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), 142279, Серпухов, Оболенск, Россия;

³ ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГГТУ»), 142611, Орехово-Зуево, Россия

Представлены результаты разработки и доклинической апробации нового отечественного набора реагентов «ИХА-КОВИ-ГРИПП» Тест-система иммунохромато-графическая для качественного определения антигена коронавируса SARS-CoV-2 и антигенов вирусов гриппа А и В в биологическом материале человека». В расширенных доклинических испытаниях продемонстрированы высокие характеристики клинической чувствительности, специфичности и воспроизводимости (по 100%) нового набора, установлена аналитическая чувствительность (предел обнаружения) по отношению к стандартным образцам предприятия и ряду международных вирус- и антиген-содержащих стандартов. Изучены потенциально интерферирующие вещества и лекарственные средства, а также перекрестно реагирующие культуры микроорганизмов, содержащиеся в клинических пробах у обследуемых лиц с подозрением на ОРВИ. Не установлено влияния интерферирующих средств в изученных концентрациях и циркулирующих в популяции микроорганизмов на положительные или отрицательные результаты ИХА исследования с новым набором. Набор реагентов представлен к официальной регистрации в Российской Федерации.

Ключевые слова: дифференциальная лабораторная диагностика; набор реагентов; иммунохроматография; коронавирус SARS-CoV-2; вирусы гриппа А и В

Для цитирования: Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Технология качественного иммунохроматографического определения антигенов коронавируса и вирусов гриппа А и В с целью дифференциальной диагностики вызываемых этими вирусами заболеваний. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (3):149-160.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-149-160>

Для корреспонденции: Акиншина Юлия Александровна, руководитель научно-производственного отдела иммунохроматографических тест-систем АО «ЭКОлаб»; e-mail: akinshina.opr@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено в соответствии с научным производственным планом предприятия при полном финансировании АО «ЭКОлаб».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.06.2024

Принята к печати 13.08.2024

Опубликовано 01.10.2024

Rotanov S.V.^{1,2}, Akinshina Yu.A.¹, Mardanly S.G.^{1,3}

TECHNOLOGY OF QUALITATIVE IMMUNOCHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF ANTIGENS OF CORONAVIRUS AND INFLUENZA A AND B FOR THE PURPOSE OF DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF DISEASES CAUSED BY THESE VIRUSES

¹ JSC «EKOLab», 142530, Elektrogorsk, Russia;

² Federal budgetary institution of Science «State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор (FSBI "SSC PMB" of Rosпотребнадзор), 142279, Serpukhov, Obolensk, Russia;

³ State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia

The article presents the results of the development and preclinical testing of a new domestic reagent kit "ИХА-КОВИГРИПП" Immunochromatographic test system for the qualitative determination of the SARS-CoV-2 coronavirus antigen and influenza A and B virus antigens in human biological material". Extended preclinical trials demonstrated high characteristics of clinical sensitivity, specificity and reproducibility (100% each) of the new kit, established analytical sensitivity (detection limit) in relation to the enterprise's standard samples and a number of international virus- and antigen-containing standards. Potentially interfering substances and drugs, as well as cross-reacting cultures of microorganisms contained in clinical samples of subjects with suspected acute respiratory viral infections, were studied. No effect of interfering agents in the studied concentrations and microorganisms circulating in the population on the positive or negative results of the IHA study with the new kit was established. The reagent kit is submitted for official

registration in the Russian Federation.

Key words: differential laboratory diagnostics; reagent kit; immunochromatography; SARS-CoV-2 coronavirus; influenza A and B viruses

For citation: Rotanov S.V., Akinshina Yu.A., Mardanly S.G. Technology of qualitative immunochromatographic determination of antigens of coronavirus and influenza A and B for the purpose of differential diagnostics of diseases caused by these viruses. *Epidemiologiya I Infektsionnye bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases)*. 2024; 29 (0): 149-160 (in Russ.)
DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-149-160>

For correspondence: Yulia A. Akinshina, specialist of the Innovative Development Department CJSC "EKOLab"; e-mail: akinshina.opr@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Financing. The study was carried out in accordance with the scientific production plan of the enterprise with full financing from JSC ECOLab.

Information about authors:

Rotanov S.V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>;

Akinshina Yu.A., <https://orcid.org/0000-0002-9223-3455>;

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>.

Received 21.06.2024

Accepted 13.08.2024

Published 01.10.2024

Введение. Население всех стран мира в период с 11 марта 2020 года по 5 мая 2023 года перенесло глобальную пандемию новой коронавирусной инфекции COVID-19. По официальному утверждению Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) общая длительность пандемии, охарактеризованной как чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, имеющая международное значение (ЧСЗМЗ), составила 3 года, 1 месяц и 3 недели - 1 150 дней [1]. За этот период времени по данным статистического учета, осуществлявшегося Университетом Джонса Хопкинса (США, Мериленд, Балтимор) на основе официальных сведений, представляемых федеральными и местными органами здравоохранения разных стран, общее число зарегистрированных случаев заражения COVID-19 достигло 676 млн, что соответствовало 8,4% населения Земли.

Рекомендации ВОЗ о возможности отмены чрезвычайных ограничительных мероприятий, связанных с эпидемической ситуацией распространения нового коронавируса SARS-CoV-2 не означают, что вирус перестал циркулировать в человеческой популяции и не вызывает новые случаи заболевания; просто ситуация перестала быть оцениваема как чрезвычайная. По обновленной ежемесячной эпидемиологической информации ВОЗ (по состоянию на 23 июня 2024 года) в мире с начала пандемии было зарегистрировано более 775 миллионов подтвержденных случаев заболевания и более семи миллионов смертей [2].

Вирус SARS-CoV-2 относится к семейству *Coronaviridae*, является оболочечным одноцепочным (+)РНК-вирусом, кодирующим экспрессию предположительно 10 белков.

Как было установлено, вирус SARS-CoV-2 обладает высокой мутагенной изменчивостью, и каждый новый штамм возбудителя характеризуется возрастанием сложности строения внутренней части генома, в то время как внешняя часть меняется практически мало [3]. ВОЗ в 2021 году установила обозначение основных вариантов вируса буквами греческого алфавита; в настоящее время использовано 13 букв. Появление нового штамма всякий раз приводило к измене-

ниям эпидемической обстановки в регионах его распространения. Нередко новые штаммы возбудителя, благодаря множественным мутационным заменам в структуре спайкового белка, проявляли большую патогенность и контагиозность, способность вызывать заболевание у людей вакцинированных или уже переболевших COVID-19 [4, 5].

Тем не менее, общая тенденция течения эпидемиологического процесса при COVID-19 привела к тому, что в настоящее время это заболевание многие специалисты стали относить к сезонным заболеваниям, таким как острые респираторные заболевания (ОРЗ) или острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) [5]. Такое мнение поддерживает и Руководитель Роспотребнадзора Анна Попова, которая отметила, что со временем новый коронавирус SARS-CoV-2 лишился одного из рецепторов и утратил способность проникать в легочную ткань, в настоящее время он в основном поражает ткани нижних дыхательных путей, вызывая клинику трахеита или бронхита. При этом в весенний сезон 2024 года подъем регистрации коронавирусной инфекцией был незначительным, но предполагается более выраженное его распространение в популяции в предстоящий осенний сезон [6]. В то же время Министр здравоохранения Российской Федерации М. Мурашко заявил, что прогнозируемый прирост заболеваемости новой коронавирусной инфекцией в стране несколько опережает сезонные прогнозы. Так, в июне 2024 года более 20 000 человек уже находились на лечении в российских медицинских учреждениях и всего более 80 000 человек были инфицированы коронавирусом варианта «омикрон» [7].

Структура ОРВИ человека представлена такими нозологическими формами как грипп, парагрипп, аденовирусная, респираторно-синцитиальная, риновирусная, реовирусная инфекции. В последние годы спектр возбудителей дополнился человеческими коронавирусами, бокавирусами и метапневмовирусами. До пандемии новой коронавирусной инфекции вирусы гриппа, как этиологические факторы, занимали первое место среди ОРВИ по приносимому экономическому ущер-

бу, что определяет актуальность вопросов контроля и регулирования этого заболевания. За годы пандемии COVID-19 благодаря доминированию SARS-CoV-2в популяции, императивному проведению противоэпидемиических мероприятий органами здравоохранения и широкому применению населением средств индивидуальной защиты доля больных гриппом среди больных ОРЗ значительно уменьшилась; но начиная с 2023 года он вновь постепенно отвоевывает свое первенство [5, 8].

Как известно вирус гриппа относят к семейству *Orthomyxoviridae*, где он представлен тремя родами: А, В и С; геном вирусов содержит сегментированную минус-нитевую РНК (т.е. в клетке хозяина необходимо образование комплементарной информационной мРНК для воспроизводства вирусных белков). В эпидемическом плане для человека наибольшее значение имеют вирусы А и В. По предложению ВОЗ с 1980 года применяется обозначение антигенного подтипа вируса гриппа А (по содержанию варианта поверхностно расположенных антигенов: гемагглютинина – Н и фермента нейраминидазы – N). В человеческой популяции чаще встречаются варианты А(Н1N1) и А(Н3N2) [9-11].

Вирионы гриппа имеют сферическую форму и состоят из нуклеокапсида, покрытого липопротеиновой оболочкой, имеющей шипики в виде тримера - трех молекул гемагглютинина или тетрамера - четырех молекул нейраминидазы; причем в количественном отношении шипики из тримеров гемагглютинина существенно преобладают. Оба типа шипиков участвуют в механизмах прикрепления вируса к рецепторам чувствительных клеток организма хозяина или отщепления от них [11-13].

Необходимо иметь в виду, что картина клинических проявлений ОРВИ разной этиологии имеет много общих признаков, что затрудняет или делает невозможным осуществлять дифференциальную диагностику заболевания только на основании жалоб пациента и данных физикального осмотра специалистом. Для уточнения этиологического фактора требуется проводить клинические лабораторные исследования на основе молекулярно-генетических технологий. Одним из вариантов получения достоверных лабораторных данных для ускоренной постановки этиологического диагноза и начала оказания больному адекватной лечебной помощи, а также осуществления в очагах инфекции комплекса противоэпидемиологических мероприятий в настоящее время является использование лабораторных эспресс-тестов на основе иммунохроматографического анализа (ИХА).

Отечественные производители диагностических наборов реагентов имеют в своем арсенале комплекты для ИХА исследований вирусных патогенов, вызывающих ОРВИ, как в формате определения моно агента, а также би- и мультивариантов (качественное определение антигенов вируса гриппа типа А и В, респираторно-синцитиального вируса, вируса SARS-CoV-2 и других) [14-16]. Определение специфических иммуноглобулинов по отношению к большинству возбудителей ОРВИ методом ИХА для целей этиологической диагностики не информативно, так как эффект иммунной памяти не позволяет дифференцировать результаты тестов с учетом давности контакта больного с патогеном.

Привлекательностью внедрения технологии ИХА является возможность проведения диагностического

исследования одномоментно, без применения дорогостоящего лабораторного оборудования, с получением высокоспецифичного и достоверного результата в короткие сроки, а также длительные сроки годности используемых наборов без снижения их аналитических характеристик. Ценность ИХА тестов несколько ограничена отсутствием на настоящий момент разработанных технологий для количественной характеристики определяемого аналита в изучаемой пробе.

Цель исследования: разработка, регистрация и обеспечение условий производства нового отечественного иммунохроматографического набора реагентов для одновременного качественного дифференцированного определения в образцах биоматериала от человека (мазках из носоглотки, ротоглотки или в слюне) антигенов нового коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А и В для этиологической верификации этих заболеваний, а также оценка аналитических характеристик нового разработанного медицинского изделия.

Материалы и методы. В качестве рабочих вариантов при разработке дизайна новой иммунохроматографической тестовой полоски были использованы наработанные ранее технологические подходы и практический опыт конструирования многослойных иммунохроматографических мембран, содержащих различные дисперсно распределенные и локально иммобилизованные специфические реагенты для одновременного определения нескольких вирусных антигенов; такая модель позволяет дифференцировать этиологический агент в процессе одного лабораторного исследования [17-19].

В соответствии с наработанным практическим опытом конструирование макета многослойной иммунохроматографической тест-полоски для набора проводили на основе коммерческих материалов различного предназначения и свойств:

- для подложки полилита брали бумагу силиконизированную размером 60x4,0 мм и толщиной 0,2-0,6 мм (фирма ООО «ПКФ Современные технологии», Россия, кат. № ИНА-100);
- для иммуносорбента использовали нитроцеллюлозную мембрану, характеризующуюся высокой пропускной способностью, размером 60x4,0 мм и толщиной 185 мкм ± 20% (фирма «MDI», Индия, Type CNPC-SS12, 15 мкм);
- на стрипе размещали мембрану для нанесения конъюгата размером 9x4,0 мм (фирма «MDI», Индия, Type PT-R1);
- в начале стрипа на участке для внесения образца размещали впитывающую мембрану размером 20x4,0 мм, толщиной 0,6-0,8 мм и плотностью 270±20 г/м² (фирма «MDI», Индия, Type GFB-R7L);
- в конце стрипа для адсорбции жидкой фазы с растворами и реагентами, не вступившими в реакцию веществами, применяли мембраны размером 16x4,0 мм, толщиной 0,2-0,5 мм и плотностью 179±5 г/м² (фирма «MDI», Индия, Type AP110).

Рабочие буферные растворы и растворы реагентов готовили на деионизированной воде с удельным сопротивлением 18,2 Ом·м при 25 °С, которую готовили с помощью набора сорбирующих колонок («Simplicity System», фирмы «Millipore», США). Стерилизующую фильтрацию неионизированной воды и солевых рас-

творов проводили через колонку для фильтрации с набором префильтр и фильтры (имеющие калиброванную величину пор - 0,45 и 0,22 мкм; фирмы «Millipore», США).

В состав набора реагентов включили необходимые комплектующие для получения и обработки используемого в исследовании особого вида биоматериала:

- микропробирку пластиковую со встроенной в крышку капельницей (Cangzhou ShengFeng Plastic Product Co., Ltd., Китай), содержащую 0,3 мл 0,01 М фосфатного буфера для приготовления образца (pH-7,2-7,4) с твин-20 2,5% (фирмы «ROTH», Германия, кат. № 9127.2) и азидом натрия 0,1% (фирмы ДИА-М, Россия, кат. № 3402);

- зонд-тампон из полиамид-нейлона медицинский одноразовый стерильный (длиной 146,0 мм ± 10% и диаметром 2,5 мм ± 10%; длина наконечника – 17,0 ± 5,0 мм; масса зонда 0,5 ± 0,15 г) по РУ №РЗН 2021/13989 от 09.12.2022 (ООО «Фарммедполис РТ»; Россия).

В работе использованы разные виды биологических материалов человека: мазки на ватных туфферах со слизистой оболочки носо- и/или ротоглотки, а также образцы слюны пациентов. Проведение доклинических лабораторных испытаний по определению показателей клинической эффективности с разрабатываемым медицинским набором было обеспечено сбором и предоставлением клинических образцов из медицинских организаций, с которыми заключены договоры о безвозмездном научном сотрудничестве:

- ГБУЗ "Орехово-Зуевская станция переливания крови (Лицензия ЛО-50-01-005260 от 02 апреля 2014 года);

- ГБУЗ МО «Электрогорская клиническая больница» (лицензия ЛО41-01162-50/00344915 от 19 февраля 2015 года);

- Диагностического Центра «El'Clinic» АО «ЭКОлаб» (лицензия № ЛО41-01162-50/00365571 от 08 апреля 2015 года);

- ООО «ИНВИТРО» (лицензия ЛО-77-01-012556 от 22 июня 20 июня 2016 года).

Всего для использования в работе было получено 600 образцов клинического материала, которые были охарактеризованы по содержанию в них антигенов изучаемых вирусов с помощью соответствующих наборов реагентов «КовидЭк Директ» (АО «Эколаб», Россия) и ГриппКомплекс А/В (ООО «НПО ДНК-Технология ТС», Россия); по результатам их аттестации на предприятии АО «ЭКОлаб» установлено, что:

- 450 мазков из носоглотки, ротоглотки или образцов слюны, полученные от пациентов с диагнозом «COVID-19» или грипп А/В, показывали положительные результаты лабораторных исследований (содержали антигены изучаемых вирусов); в том числе имелось 225 проб, одновременно взятых из 3 разных очагов (носо-, ротоглотки и слюны);

- 150 мазков из носоглотки, ротоглотки и образцов слюны, взятые от условно-здоровых лиц, не имевших симптомов ОРВИ и показавших с референтными наборами реагентов отрицательные результаты (то есть они не содержали антигенов коронавируса SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А и В); в том числе было 75 проб, одновременно взятых из 3 разных очагов (носо-,

ротоглотка и слюны).

Для оценки возможного влияния (интерференции) на результаты ИХА с набором «ИХА-КОВИГРИПП» эндогенных веществ и различных лекарственных препаратов были смоделированы различные варианты проб (на основе образцов слюны), содержавшие и не содержавшие один из определяемых антигенов (вируса SARS-CoV-2 или вирусов гриппа типов А и В) и дополнительно содержавшие цельную кровь или муцин (n=3) противовирусные препараты (n=9), антибиотики (n=18), стероидные гормоны (n=9), назальные спреи, мази и муколитики (n=12), анестетики, антипиретики и анальгетики (n=5), витамины (n=4), прочие (n=1); всего было подготовлено 244 модельных образца (по 4 варианта содержания или отсутствия одного вирусного антигена x 61 испытанное потенциально интерферирующее вещество).

Определение перекрестной антигенной реактивности и выявления при этом ложных результатов исследования с набором «ИХА-КОВИГРИПП» были изучено с 55 образцами слюны, в которую в условиях лаборатории были дополнительно внесены образцы микрофлоры (которая наиболее часто сопутствует в очагах сбора клинических образцов для исследования) в препаративных количествах, позволяющих выявлять эти микроорганизмы лабораторными методами (в ИФА или в ПЦР).

Для внутренних доклинических испытаний были выпущены 6 опытных производственных серий разработанного набора реагентов «ИХА-КОВИГРИПП» по разработанному ТУ 21.20.23-368-70423725-2024: серии 1, 2 и 3 со сроком годности до 01.04.27 г., серии 4, 5 и 6 со сроком годности до 04.04.27 г.

Набором сравнения при изучении показателей диагностической информативности нового набора служил «Экспресс-тест для качественного иммунохроматографического определения антигенов коронавируса SARS-CoV-2 и вируса гриппа А/В в биологическом материале «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА» по ТУ 21.20.23-064-39271034-2023, Россия (зарегистрированный в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения - РУ № РЗН 2024/22600 от 08.05.2024), серия 231111 со сроком годности до 24.05.2027 г.

Для верификации результатов исследований в ИХА и решения спорных вопросов в качестве референтных использовали результаты ПЦР-РВ по выявлению РНК изучаемых вирусов с тест-системами:

- «Набор реагентов «КовидЭк Директ» для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени», РУ №РЗН 2022/17966 от 12.08.2022 (АО «Эколаб», Россия), серия 1025, срок годности до 24.12.2024;

- «Набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А и гриппа В методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени «ГриппКомплекс А/В», РУ № РЗН 2023/19809 от 15 марта 2023 (ООО «НПО ДНК-Технология ТС», Россия), серия 823, срок годности до 12.01.2025.

Все процедуры получения образцов биологического материала от пациентов, их предварительной подготовки и манипуляции лабораторного исследования, выполняли с точным соблюдением рекомендаций, содержащихся в прилагаемых к наборам и приборам ин-

струкциях по применению.

Результаты разработки и их обсуждение. В результате проведенных исследований, базируясь на полученном ранее опыте разработки и производства многопараметрических иммунохроматографических тест-полосок [17, 19], был избран формат последовательного раздельного нанесения иммобилизованных тест-реагентов в виде поперечных линий на одну удлиненную мембрану в следующем порядке: тест-линия для определения антигена SARS-CoV-2 (Т), потом - для вируса гриппа А (А), вслед за тем - для вируса гриппа В (В), и в завершение – линия контроля (С) (рис. 1-а):

- на тестовую линию «Т» - моноклональные антитела к антигену N SARS-CoV-2 (в концентрации $\geq 0,5$

мг/мл в трисовом буфере; ООО «Хайтест», Россия, кат. №3CV4);

- на тестовую линию «А» - моноклональные антитела к вирусу гриппа типа А (в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3IN5, клон InA108);

- на тестовую линию «В» - моноклональные антитела к вирусу гриппа типа В (в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3IF18);

- на контрольную линию - козьи антитела к иммуноглобулину класса G (IgG) мыши (в концентрации ≥ 1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; АО «ЭКОлаб», Россия, кат. №264.4).

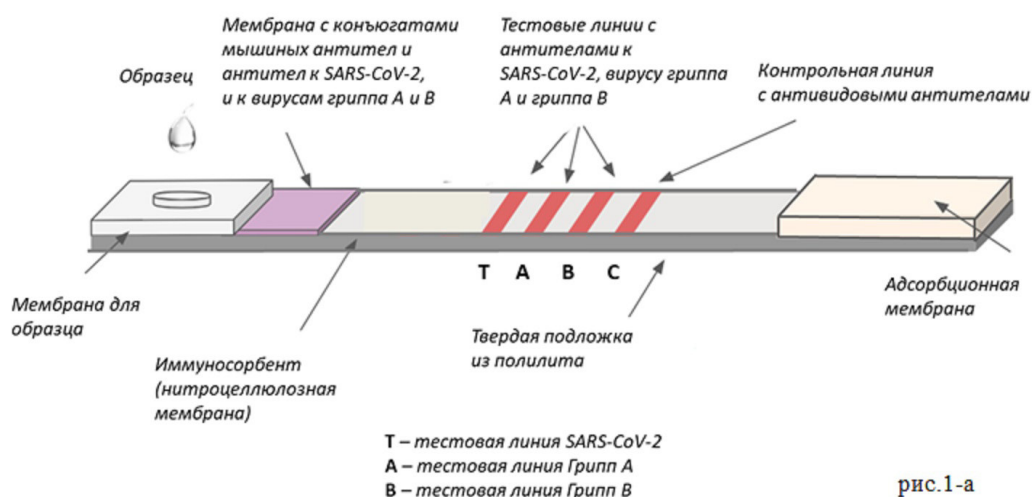


рис.1-а

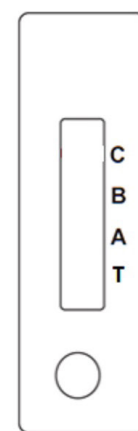


рис.1-б

Рис. 1. Структура разработанной композитной иммунохроматографической тест-полоски (1-а) и схема кассеты (1-б) для набора реагентов по одноэтапному качественному определению антигенов SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А и В.

На мембрану для конъюгатов наносили конъюгаты (с коллоидными наночастицами золота размером 30-80 нм): антител к вирусу SARS-CoV-2 (в концентрации ≥ 1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. №3CV4), антител к вирусу гриппа типа А (в концентрации ≥ 1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3IN5, клон InA224), антител к вирусу гриппа типа В (в концентрации ≥ 1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3ВН9) и мышиных иммуноглобулинов класса G (в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; АО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 264.1). Мембрану для конъюгатов тщательно высушивали перед сборкой (мастершито) иммунохроматографической тест-полоски.

Каждый иммунохроматографический стрип закрепляли в индивидуальную пластиковую кассету размером 70x20 мм, на верхней рабочей поверхности которой имеются два отверстия: круглое, маркированное знаком S (sample) - для внесения на поверхность стрипа исследуемого образца и прямоугольное - для визуальной оценки изменений в области аналитической зоны стрипа (маркирована Т, А, В и С соответственно). Собранная пластиковая тест-кассета является неразборной, тесто-

вые и контрольные линии на мембране визуально не определяются (рис. 1-б). Готовую к использованию кассету вместе с пакетиком силикагеля помещали в индивидуальную упаковку из фольги алюминиевой 120x70 мм (ООО «ПКФ Современные технологии», Россия).

Разработанный новый ИХА набор реагентов получил наименование «ИХА-КОВИГРИПП», к нему были подготовлены необходимые нормативные документы: технические условия ТУ 21.20.23-379-60423725-2024 и Инструкция по применению набора.

В соответствии с ТУ 21.20.23-379-70423725-2024 для процедур внутреннего и выпускающего контроля качества на этапах производства была разработана и соответствующим образом зарегистрирована Панель стандартных образцов предприятия (СОП-379 «Кови-Грипп А/В-Ag»), которая включала образцы, содержавшие и не содержавшие изучаемые антигены (коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А и В) в разных концентрациях:

- антиген коронавируса SARS-CoV-2:
- в концентрации 20 пг/мл образец №1;
- в концентрации 10 пг/мл образец №2;
- в концентрации 5 пг/мл образец №3;
- в концентрации 2,5 пг/мл образец №4;

- в концентрации 1 пг/мл образец №5;
- в концентрации 5 мкг/мл образец №6;
- антиген вируса гриппа А:
- в концентрации 1 нг/мл образец №7;
- в концентрации 0,3 нг/мл образец №8;
- в концентрации 0,1 нг/мл образец №9;
- в концентрации 0,3 мг/мл образец №10;
- содержит антиген вируса гриппа В:
- в концентрации 1 нг/мл образец №11;
- в концентрации 0,3 нг/мл образец №12;
- в концентрации 0,1 нг/мл образец №13;
- в концентрации 0,3 мг/мл образец №14;
- не содержат антигены коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А и гриппа В

образцы №15-17.

По причине высокой вариабельности SARS-CoV-2 и циркуляции среди населения нескольких мутантных штаммов одновременно, была подготовлена «Панель мутантных штаммов «SARS-CoV-2 антиген», содержащая рекомбинантные антигены коронавируса разных модификаций, что позволяет оперативно осуществлять контрольные исследования по чувствительности и специфичности набора в отношении этих вариантов патогена:

- содержат нуклеокапсидный антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Альфа (B.1.1.7) образцы №1 и №2;
- содержат нуклеокапсидный антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Бета (B.1.351) образцы №3 и №4;
- содержат нуклеокапсидный антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Гамма (линия PANGO P.1) образцы №5 и №6;
- содержат рекомбинантный спайк антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Дельта (B.1.617.2) образцы №7 и №8;
- содержат нуклеокапсидный антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Омикрон (B. 1.1.529) образцы №9 и №10;
- содержат рекомбинантный спайк антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Стелс-Омикрон (BA.2) образцы №11 и №12;
- содержат рекомбинантный спайк антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Эпсилон (B.1.427, B. 1.429) образцы №13 и №14;
- содержат рекомбинантный спайк антиген вируса SARS-CoV-2 штамма Эта (B.1.525) образцы №15 и №16.

Необходимым этапом разработки нового набора реагентов являлись исследования с определением гарантируемых сроков и условий его хранения, что обусловлено применением ранее не использовавшихся реагентов с иммунной активностью. С этой целью была изучена динамика специфической активности ИХА-кассет с иммунохроматографическими полосками из состава 6 опытно-производственных серий наборов при их хранении в условиях контролируемой повышенной температуры (моделирование искусственных условий ускоренного старения), что позволило определить гарантируемый срок годности набора реагентов в 37 месяцев (рекомендуемая температура для хранения медицинского изделия в учреждениях системы здравоохранения - от -30 до +30 °С).

Принцип осуществления исследования с набором «КОВИГРИПП».

Принцип работы нового набора реагентов основан на использовании технологии качественного иммунохроматографического анализа. При содержании в исследуемых образцах хотя бы одного из определяемых вирусных антигенов (коронавируса SARS-CoV-2 и/или вирусов гриппа А и/или В) на участке мембраны для внесения пробы происходит взаимодействие антигена с соответствующим специфичным конъюгатом (представляющим собой антигеном к нуклеокапсидному антигену SARS-CoV-2, антитела к антигенам вируса гриппа А (подтипы H1N1 и H3N2) или гриппа В соответственно), меченным окрашенными наночастицами коллоидного золота (HЧ-КЗ - индикатор образования иммунных комплексов). Сформированные иммунные комплексы «антиген - антитело конъюгата-HЧ-КЗ» продвигаются с током жидкости за счет сил капиллярного смачивания вдоль тест-полоски. В тестовой зоне происходит дополнительное взаимодействие образовавшихся иммунных комплексов с соответствующими по специфичности антителами, иммобилизованными на мембране (к антигену вируса SARS-CoV-2 – в тестовой зоне Т или к вирусу гриппа А – в тестовой зоне А или вируса гриппа В – в зоне В), с образованием и накоплением на этом участке окрашенного продукта «антитело подложки - антиген - антитело конъюгата-HЧ-КЗ». Проявление цветной линии в тестовой зоне указывает на выявление в пробе соответствующего анализата (положительный результат), а ее отсутствие - на отсутствие в пробе этого анализата (отрицательный результат). Свободный конъюгат (мышинные иммуноглобулины класса G и HЧ-КЗ) в области контрольной зоны (С) соединяется с антивидами антителами также с образованием окрашенного иммунного комплекса; эта цветная контрольная линия должна формироваться независимо от наличия антигенов исследуемых вирусов в образце (образование окрашенной линии С - свидетельство работоспособности теста и правильного соблюдения всех условий проведения лабораторного исследования).

Подготовительные процедуры и порядок исследования.

Исследуемые образцы.

В исследовании используют мазки, полученные из носоглотки, ротоглотки пациента или слюну. Техника взятия, условия транспортировки и хранения исследуемого материала регламентируются в соответствии с МУ 4.2.2039-05. «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортировки биоматериала в микробиологические лаборатории». Образцы клинического материала необходимо брать до еды или через 2-3 часа после приема пищи. Для взятия каждого мазка используют отдельный стерильный зонд-тампон и пробирку для экстракции (они входят в комплектацию набора). Буферный раствор в пробирке содержит консервант натрия азид в безопасной концентрации.

При работе с набором реагентов необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки. С образцами, собранными для лабораторных исследований, необходимо обращаться как с потенциально инфицированным биоматериалом, и медицинский

персонал, который собирает или перевозит их, должен строго соблюдать требования биологической безопасности, соответствующие уровню работы с микроорганизмами II группы патогенности.

Если мазок не используют в день взятия, то рекомендуется его хранить при температуре +2 - +8 °С не более 2 суток или при температуре -20 °С не более 2 месяцев.



Рис. 4. Взятие мазка из носоглотки.

Рекомендуемый способ получения назофарингеальных мазков (рис. 2).

Осторожно ввести тампон по наружной стенке ноздри параллельно нёбу (но не вверх носовой пазухи), пока не почувствуете сопротивление (или на расстояние равное расстоянию от уха до ноздри пациента); мягкими вращательными движениями пальцев несколько раз поверните ручку зонда вокруг своей оси; извлеките тампон. Образцы можно собирать с обеих сторон одним и тем же тампоном, но не обязательно, если тампон пропитан выделениями от первого сбора.

Рекомендуемый способ получения орофарингеальных мазков (рис. 3).

Пациенту после полоскания рта теплой кипяченной водой аккуратно ввести зонд-тампон в полость рта, пройти между дужками миндалин и язычком; осторожным движением тампона вперед и назад собрать материал с задней поверхности глотки, миндалин и участков воспаления или изъязвления на видимых участках слизистой оболочки. При взятии пробы не следует касаться щек, языка, десен, а также собирать слюну.

Рекомендуемый способ получения образца слюны (рис. 4)

Осторожно ввести зонд-тампон в ротовую полость на глубину 2-3 см и вращательным движением собрать мазок с внутренней стороны щек и под языком, затем обильно пропитать слюной зонд-тампон в течение 2 минут.



Рис. 3. Взятие мазка из ротоглотки

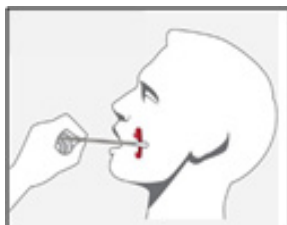


Рис. 4. Взятие образца слюны

Подготовка образцов.

Тампон с полученным биологическим материалом поместить в микропробирку с буферным раствором. Тщательно смыть образец с тампона путём его вращения ручки зонда круговыми движениями в содержимом пробирки (не менее 10 раз). Выдержать тампон в пробирке в течение 1 минуты, затем приподнять и отжать его о внутренние стенки пробирки. Утилизировать там-

пон. Закрывать пробирку колпачком-капельницей и перемешать содержимое пробирки вращательными движениями. Использование других типов зондов, не поставляемых в составе набора, может повлиять на качество отбора пробы и результат исследования.

Проведение исследования с набором «КОВИ-ГРИПП».

1. Все компоненты набора и исследуемые образцы довести до комнатной температуры от 18 до 25 °С, при этом пакет с тест-кассетой вскрывают только перед проведением исследования! Все реагенты готовы к применению.

2. Тест-кассету извлечь из индивидуальной упаковки, не касаясь круглого окна для внесения образца; промаркировать тест-кассету фамилией или кодовым номером пациента и разместить ее на ровной горизонтальной поверхности.

3. Из пробирки с ранее подготовленной пробой в отверстие для внесения образца на тест-кассете последовательно внести по 3 капли (около 100 мкл). Для каждого образца использовать отдельную тест-кассету.

4. Запустить таймер на 1-7 минут.

5. Учесть результат при появлении окрашенных линий.

Учет и интерпретация результатов

Результат исследования оценить визуально через 1-7 минут; не следует учитывать и интерпретировать позднее 20 минут после внесения пробы. Интенсивность окраски тест-линий зависит от концентрации определяемых антигенов в исследуемой пробе, учету подлежат и розовые и красные оттенки. Интерпретацию результата провести по следующим критериям (таблица 1).

При получении недействительного результата исследование повторить с использованием другой тест-кассеты из этого или другого набора.

Результаты внутренних доклинических испытаний разработанного набора.

Изучение клинической информативности результатов тестирования.

В сравнительных доклинических испытаниях были исследованы по 25 образцов биологического материала (мазки из носоглотки, ротоглотки и слюна), содержащих антиген коронавируса SARS-CoV-2 или гриппа А или гриппа В и не содержащих антигены ни одного из изучаемых вирусов (n=100). Каждый образец был исследован с использованием иммунохроматографических кассет 6 опытно-производственных серий нового набора реагентов «ИХА-КОВИГРИПП» и набора реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА». Дополнительно все образцы были подвергнуты референтному исследованию в полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с целью выявления вирусной РНК.

Результаты иммунохроматографических исследований с использованными наборами реагентов полностью совпадали: при визуальной регистрации получены однозначно положительные или отрицательные результаты, недействительных результатов ни в одном случае получено не было. Не было выявлено так же и межсерийной вариации результатов при применении нового набора «КОВИГРИПП».

Данные, полученные в ИХА, были полностью подтверждены результатами исследования вирусной РНК в ОТ-ПЦР (таблица 2).

Критерии учета и интерпретации результатов ИХА

Результат исследования с набором «ИХА-КОВИГРИПП»		
Положительный	Отрицательный	Недействительный
Проявляются две или более четкие красные или розовые линии (одна из них - в контрольной зоне С, другая (другие) - в тестовой): - в зоне Т - выявлены антигены SARS-CoV-2; - в зоне А - выявлены антигены вируса гриппа А; - в зоне В - выявлены антигены вируса гриппа В. При смешанных инфекциях окрашиваются нескольких тестовых зон.	В контрольной зоне С проявляется красная линия, в тестовых зонах (В, А, Т) окрашивания не происходит.	В контрольной зоне С не появляется окрашенной линии независимо от наличия линий в тестовых зонах (В, А, Т).

Полученные в испытаниях результаты позволили определить показатели клинической информативности нового набора (с учетом комплекса результатов исследования с набором сравнения и референтным методом):

- *клиническая чувствительность* (определяемая как процент положительных результатов с аттестуемым набором «ИХА-КОВИГРИПП» по отношению к соответствующему количеству результатов, полученных с набором реагентов сравнения и подтвержденных референс-методом) - 100%;

- *клиническая специфичность* (определяемая как процент отрицательных результатов с аттестуемым набором «ИХА-КОВИГРИПП» по отношению к соответствующему количеству результатов, полученных с набором реагентов сравнения и подтвержденных референс-методом) - 100%;

- *воспроизводимость* как положительных, так и отрицательных результатов исследований с 6 сериями набора так же оценена в 100%.

Изучение информативности разных видов биологического материала.

Для изучения сравнительной информативности результатов ИХА в зависимости от используемых для диагностики видов биологических материалов было организовано одномоментное взятие 3 проб от каждого пациента (соскобы из носоглотки, ротоглотки и слюны). Комплекты из 3 проб были представлены от больных с клиническими лабораторно подтвержденными диагнозами в отношении инфекции SARS-CoV-2 (n=25), гриппа А (n=25) или В (n=25) (положительные результаты в ОТ-ПЦР) и от условно здоровых людей без COVID-19, гриппа А/В в анамнезе (n=25) (отрицательные результаты по ОТ-ПЦР); всего представлено 100 комплектов образцов каждого клинического варианта (n = 25x4), а с учетом вида биологического материала - 300 клинических образцов (n = 100x3).

Каждый из 300 образцов исследован с 6 опытно-производственными сериями набора «ИХА-КОВИГРИПП» и набором реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА»; получено при этом 2 100 результатов. Анализ представленных данных продемонстрировал полное соответствие результатов, полученных с разными наборами и сериями реагентов, а также ви-

дами исследуемого биологического материала. Это позволило высоко оценить клиническую специфичность и чувствительность исследований с новым набором, а также воспроизводимость результатов теста с разными сериями реагентов. Кроме того, показана эквивалентность результатов исследования образцов каждого пациента, взятых со слизистой оболочки из разных участков: носо-, ротоглотки или слюны.

Определение аналитических характеристик набора.

С 6 опытно-производственными сериями набора человека «ИХА-КОВИГРИПП» (по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024) были организованы лабораторные исследования стандартных образцов из состава СОП-379 и «Панели мутантных штаммов «SARS-CoV-2 антиген», а также образцов, приготовленных на основе дополнительно приобретенных фирмой международных стандартов. Установлены клинические и аналитические характеристики разработанного набора:

- *клиническая чувствительность* (по СОП-379) - процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные - 100%;

- *клиническая специфичность* (по СОП-379) - процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные - 100%;

- *клиническая чувствительность выявления штаммов SARS-CoV-2* (по панели мутантных штаммов «SARS-CoV-2») - 100%;

- *аналитическая чувствительность выявления антигена SARS-CoV-2* - 5 пг/мл (образец № 3 из состава СОП-379);

- *аналитическая чувствительность выявления антигена SARS-CoV-2* - 0,1 МЕ/мл (при использовании «1st WHO International Standard for SARS-CoV-2 antigen NIBSC code: 21/368»);

- *аналитическая чувствительность выявления антигена SARS-CoV-2* - 100 TCID₅₀/мл (при использовании «SARS-CoV-2 infectious virus (B.1.1.7. lineage) NIBSC code: 101019»);

- *аналитическая чувствительность выявления антигена SARS-CoV-2* - 300 БОЕ/мл (при использовании «HEK293T-ACE2-TMPRSS2 NIBSC code: 101008»);

- *аналитическая чувствительность выявления*

вируса гриппа типа А - 0,3 нг/мл (образец № 8 из состава СОП-379 «КовиГрипп А/В-Аг»);

- аналитическая чувствительность выявления антигена вируса гриппа типа А – 1000 ед./мл (по «Working Standard Winter respiratory panel: Influenza A H1N1 NIBSC code 20/180»);

- аналитическая чувствительность выявления антигена вируса гриппа типа А – 1000 ед./мл (по «Working Standard Winter respiratory panel: Influenza A H3N2 NIBSC code 20/182»);

- аналитическая чувствительность выявления

вируса гриппа типа В - 0,3 нг/мл (образец № 12 из состава СОП-379 «КовиГрипп А/В-Аг»);

- аналитическая чувствительность выявления антигена вируса гриппа типа В – 1000 ед./мл (по «Working Standard Winter respiratory panel: Influenza B NIBSC code 20/184»).

Хук-эффект (эффект воздействия избыточного количества антигена в исследуемой пробе, когда захватывающие и детектирующие антитела насыщаются высокой концентрацией, и это приводит к ложноотрицательному результату) отсутствует при концентрации

Таблица 3

Эндогенные и экзогенные вещества (n=61), в отношении которых не установлено интерферирующего влияния в указанных дозах на результаты ИХА при определении антигенов коронавируса SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А и В с набором «ИХА-КОВИГРИПП»

Эндогенные интерферирующие вещества (концентрация)	
Муцин в концентрации до 5%	Образцы, полученные от беременных - 100%
Цельная кровь в концентрации до 5%	
Экзогенные интерферирующие вещества (концентрация)	
Противовирусные препараты	
Альфа-интерферон 40 мг/мл	Занамивир 282 нг/мл
Рибавирин 30 мг/мл	Осельтамивир 30 мг/мл
Перамивир 2 мг/мл	Лопинавир 40 мг/мл
Ритонавир 30 мг/мл	Арбидола гидрохлорида моногидрат 30 мг/мл
Перамивир 40,0 мг/л	
Антибактериальные препараты	
Меропенем 30 мг/мл	Цефтриаксон 40 мг/мл
Левифлоксацин 40 мг/мл	Налидиксовая кислота 3 мг/мл
Азитромицин 3 мг/мл	Ванкомицина гидрохлорид 1 мг/мл
Метронидазол (таблетки) 1 мг/мл	Тобрамицин 24 мг/мл
Цефрадин 50 мг/мл	Цефалексин 10мг/мл
Ампициллин 152,0 мкмоль/л	Амоксициллин (капсулы) 1 мг/мл
Бензилпенициллин 3,0 мг/мл	Гваякол глицериновый эфир 20,0 мг/мл
Мупирицин 12,0 мг/мл	Стрептомицин 3,0 мг/мл
Доксициклина гиклат 67,5 мкмоль/л	Тетрациклин 3,0 мг/мл
Стероидные препараты	
Дексаметазона ацетат 0,8 мг/мл	Триамцинолон 1,5 мг/мл
Будесонид 200 мкг/мл	Флунизол 6,8 нг/мл
Мометазон 2 мг/мл	Гидрокортизон 1 мг/мл
Флутиказон 2,5 нг/мл	Дифенгидрамин 5,0 мг/мл
Мометазон 1,28 нг/мл	
Назальные спреи, мази, муколитики	
Беклометазон 4,79 мг/мл	Натрия хлорид с консервантами 4,44 мг/мл
Оксиметазолин 10 мг/мл	Фенилэфрина гидрохлорид 0,002мг/мл
Бромгексина гидрохлорид 0,016 мг/мл	Амброксола гидрохлорид 0,003 мг/мл
Гистамина гидрохлорид 30,0 мг/л	Декстрометорфан 20,0 мг/мл
Ксилометазолин 10,0 мг/мл	Фенилэфрин 100,0 мг/мл
Хлорфенирамина Малеат 5,0 мг/мл	Эфедрина гидрохлорид 20,0 мг/мл
Анестетики, анальгетики, антипиретики	
Бензокаин 1 мг/мл анестетик	Витамин В12, гранулы 1 мг/мл
Ацетаминофен 10 мг/мл	Пантотеновая кислота 0,3 мг/мл
Ацетилсалициловая кислота 20 мг/мл	Аскорбиновая кислота 0,3 мг/мл
Ибупрофен 0,04 мг/мл	Пиридоксина гидрохлорид 0,3 мг/мл
Парацетамол 0,065 мг/мл	
Прочие	
Фенилпропаноламин 20,0 мг/мл	

ях антигена SARS-CoV-2 до 5 мкг/мл (образец № 6 в панели СОП-379) и до 20 000 МЕ/мл (по образцу NIBSC code: 21/368), при концентрациях антигена вируса гриппа типа А - до 0,3 мг/мл (образец № 10 в панели СОП-379) и до 1 000 000 ед./мл (по образцам NIBSC code 20/180 и NIBSC code 20/182), антигена вируса гриппа типа В - до 0,3 мг/мл (образец №14 в СОП-379) и 1 000 000 ед./мл по образцу NIBSC code 20/184).

Время достижения устойчивых результатов исследования составила 1-7 минут; хроматографическая скорость потока по тест-полоске - не менее 1 мм/сек.

Внутрисерийная и межсерийная повторяемость результатов (воспроизводимость) - 100%

Изучение потенциального интерферирующего воздействия.

В серии из 3172 исследований: 244 образцов бы-

ли исследованы с набором реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА» (до внесения интерферентов) и 488 образцов - с 6 сериями набора «ИХА-КОВИГРИПП» (как до, так и после внесения интерферентов, n=61). Было установлено полное отсутствие интерферирующего влияния на результаты ИХА исследований с набором «ИХА-КОВИГРИПП» разнообразных эндогенных факторов и лекарственных средств в представленной концентрации (таблица 3). При этом не получено расхождений в результатах исследования с изучаемым набором и набором сравнения, а также межсерийных вариаций результатов.

Изучение перекрестного реагирования.

В рамках внутренних доклинических испытаний набора реагентов «ИХА-КОВИГРИПП» было изучено возможное перекрестное воздействие на результаты

Таблица 2

Результаты доклинических испытаний по определению антигенов коронавируса SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А/В методом иммунохроматографии с разработанным набором «ИХА-КОВИГРИПП» (серии 1-6), набором реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА» (серия 231111) и верифицирующего определения РНК вируса SARS-CoV-2 с набором реагентов «КовидЭк Директ» методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. (серия 1025) и вирусов гриппа А и В методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с набором реагентов «ГриппКомплекс А/В»» (серия 823).

Исследованные образцы биологического материала	n =	Результаты исследований с наборами реагентов (n =)																	
		«ИХА-КОВИГРИПП»												«COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА» серия 231111		«КовидЭк Директ», серия 1025		«Грипп-Комплекс А/В» серия 823	
		серия 01		серия 02		серия 03		серия 04		серия 05		серия 06		пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.
		пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.								
мазки из носоглотки, содержавшие антигены SARS-CoV-2	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
мазки из носоглотки, содержавшие антигены вируса гриппа А	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
мазки из носоглотки, содержавшие антигены гриппа В	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
мазки из носоглотки, не содержавшие антигены SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А/В	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25
мазки из ротоглотки, содержавшие антигены SARS-CoV-2	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
мазки из ротоглотки, содержавшие антигены вируса гриппа А	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
мазки из ротоглотки, содержавшие антигены гриппа В	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
мазки из ротоглотки, не содержавшие антигены SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А/В	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25
образцы слюны, содержавшие антигены SARS-CoV-2	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
образцы слюны, содержавшие антигены вируса гриппа А	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
образцы слюны, содержавшие антигены гриппа В	25	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0
образцы слюны, не содержавшие антигены SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А/В	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25
Всего	300	225	75	225	75	225	75	225	75	225	75	225	75	225	75	225	75	225	75

Примечание: пол. – положительный результат,

отр. – отрицательный результат.

исследования антигенных эпитопов ряда микроорганизмов, поражающих или колонизирующих носоглотку человека. Нами не было определено такого влияния с образцами, содержащими следующие вирусы, бактерии и грибы: эндемические коронавирусы человека (HKU1, OC43, NL63, 229E, SARS-CoV, MERS-CoV (Florida/USA Saudi Arabia 2014), аденовирус (типы 1-5, 7, 8, 11, 18, 21, 23, 55, В, С, Е), бокавирус, ВГА, ВГС, HBsAg, вирус Коксаки (типы В2, В3, В4, В5), вирус краснухи, норовирус, ревматоидный фактор, ротавирус, эховирус, вирус парагриппа 1-4 типа, человеческий метапневмовирус, энтеровирусы 68-71, респираторно-синтициальный вирус (А и В), рино-вирус, вирус эпидемического паротита, кори, герпесвирусы (ветряной оспы, Эпштейна-Барра, цитомегаловирус, HHV-6), Bordetella pertussis, Mycoplasma pneumoniae (Mutant 22, FH strain of Eaton Agent (NCTC 101191), Chlamydia pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pyogenes (Typing strain T1 [NCIB 11841] SF 1301), Haemophilus influenzae (серотипы А, В, С, D, E, F), Moraxella catarrhalis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Legionella pneumophila (Bloomington-2, Los Angeles-1,82A3 105), Acinetobacter baumannii, Acinetobacter calcoaceticus, Candida albicans, Aspergillus niger, Corynebacterium Diphtheriae, E. coli, Fusobacterium necrophorum, Haemophilus parahaemolyticus, Mycobacterium tuberculosis (K, Erdman, HN878, CDC155UH37RV), Neisseria spp. (Neisseria lactamica), Proteus Mirabilis, Proteus vulgaris, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus pneumonia, Streptococcus salivarius, Toxoplasma gondii.

Выводы:

1. При выполнении плана научных исследований и в целях обеспечения учреждений здравоохранения страны доступными диагностическими медицинскими изделиями для оказания медицинской помощи населению на предприятии АО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск Московской обл.) был разработан новый отечественный набор реагентов «ИХА-КОВИГРИПП». Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигена коронавируса SARS-CoV-2 и антигенов вирусов гриппа А и В в биологическом материале человека» по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024».

2. Проведенными внутренними доклиническими испытаниями с новым иммунохроматографическим набором реагентов «ИХА-КОВИГРИПП» при исследовании 300 клинических образцов (в том числе 225 - содержащих антиген коронавируса SARS-CoV-2 или вирусов гриппа А и В в биологическом материале человека (мазки из носоглотки, ротоглотки и слюне), и 75 аналогичных образцов, не содержащих ни один изучаемый вирус), было показано полное совпадение результатов исследования с реагентами 6 производственных серий изучаемого набора, набора реагентов сравнения и в референс-методе. Это позволило высоко оценить клиническую чувствительность, специфичность и воспроизводимость результатов (по 100%) с новым разработанным медицинским изделием. Установленные показатели были аналогичны тест-системе сравнения.

3. В дополнительном разделе испытаний была аттестована аналитическая чувствительность нового на-

бора «ИХА-КОВИГРИПП» как в отношении стандартных образцов предприятия (СОП-379), так и международных вирус- и антиген-содержащих стандартов.

4. Изучение разных видов биологического материала (мазки из носоглотки, ротоглотки или слюна), одномоментно полученных от пациентов с разными клиническими формами инфекции и без нее, продемонстрировало полную эквивалентность результатов исследования в ИХА с новым набором.

5. Изучены разнообразны факторы и лекарственные средства (n=61), которые могут присутствовать в исследуемой пробе от пациентов с подозрением на ОРВИ, при этом не было установлено их интерферирующего влияния в изученных концентрациях, как на положительные, так и отрицательные результаты в ИХА с набором «ИХА-КОВИГРИПП».

6. Не было выявлено перекрестного реагирования с разными видами микрофлоры (n=55), которые могут колонизировать или поражать носоглотку, ротоглотку или полость рта человека в период ОРВИ.

7. Полученные в доклинических испытаниях данные позволили в установленном законом порядке начать процедуру государственной регистрации в Российской Федерации в отношении Набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигена коронавируса SARS-CoV-2 и антигенов вирусов гриппа А и В в мазках из биологического материала человека «ИХА-КОВИГРИПП» по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024».

ЛИТЕРАТУРА

1. ВОЗ. Чрезвычайные ситуации. Пандемия коронавирусной инфекции (COVID-19). Электронный ресурс. <https://www.who.int/europe/emergencies/situations/covid-19>. Available 12.08.2024].
2. ВОЗ. Дом. Публикации. Обзор. Обновленная эпидемиологическая информация по COVID-19 – 15 июля 2024 г. <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update-edition-169>. Available 12.08.2024].
3. Макаров Л.М., Иванов Д.О., Поздняков А.В. Сравнительный анализ штаммов коронавируса. *European science*. 53 (4): 61-66.
4. Miyakawa K., Jeremiah S.S., Yamaoka Y. et al. Molecular and Epidemiological Characterization of Emerging Immune-Escape Variants of SARS-CoV-2. *Frontiers in Medicine*. 2022; 9. Accessed: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.815389>.
5. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Полежаева Н.А., Мионов А.Ю. и др. Грипп и другие ОРВИ в постпандемический период. Вакцинопрофилактика и лечение: пособие для врачей. М.: Спецкнига 2023.
6. РИА «Новости». Интервью Анны Поповой на ПМЭФ. <https://ria.ru/20230618/popova-1878984594.html?ysclid=lzqvm6py1c737809912>
7. Коммерсантъ. Пандемия коронавируса. 09.06.2024, 03:46 и 22.05.2024 01:12. <https://www.kommersant.ru/doc/6760486>.
8. Заболеваемость населения Российской Федерации по основным классам болезней. Федеральная служба государственной статистики, Официальная статистика, Здравоохранение. <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>
9. Influenza virus characterization: summary report, Europe, March 2024. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe and Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2024. Licence: CC BY 3.0 IGO. Available at <http://apps.who.int/iris>.
10. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) у взрослых. Клинические рекомендации. Минздрав РФ: Национальное научное общество инфекционистов, Российское научное медицинское общество терапевтов, 2021. – 65 с. Лигусов Н.В. Вирусы гриппа. Иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: УГМУ, 2018.

11. Жуматов К.Х. Вирусы гриппа А: Классификация, структура и распространение в биосфере. *Вестник КазНМУ*. 2014; 2(2): 25-36.
12. Морозова М.И., Мельников В.Л., Митрофанова Н.Н. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций: учебное пособие. Пенза: Изд-во ПГУ, 2015.
13. АО «ЭКОлаб» - Производитель диагностических наборов и лекарственных препаратов. Каталог продукции. Быстрые тесты ИХА. (Электронный ресурс). Режим доступа: <https://ekolab.ru/catalog/bystrye-testy-ikha/ekspress-diagnostika-ikha/diagnostika-respiratornogo-trakta>
14. АО «Вектор-Бест». Каталог. Иммунохимия. Экспресс-диагностика. (Электронный ресурс) <https://www.vector-best.ru/catalog/ifa/nabory/ekspress-diagnostika/#>
15. ООО "Российская экспресс диагностика". Продукция. (Электронный ресурс) <https://red-test.ru/catalog/>
16. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. и др. Разработка иммунохро-матографического набора реагентов для выявления ротавирусов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (11): 672-679.
17. Ротанов С.В., Марданлы С.Г., Попова Т.В., Акиншина Ю.А. О распространении *Helicobacter pylori* среди населения Павлово-Посадского района Московской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (2): 82-89. DOI: <http://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-82-89>.
18. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Гашенко Т.Ю. Одноэтапное выявление маркеров возбудителей острых кишечных вирусных инфекций у человека. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (2): 97-106. DOI: <http://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106>.
19. pandemic period. *Vaccination and treatment: a manual for doctors. Moscow: Spetskniga* 2023. (in Russ.).
20. RIA «Novosti». Interv'yu Anny Popovoy na PMEF. [RIA Novosti. Interview with Anna Popova at PMEF. (in Russ.)]. Accessed: <https://ria.ru/20230618/popova-1878984594.html?ysclid=lzqvm6py1c737809912>. Available 12.08.2024.
21. Kommersant". Pandemiya koronavirusa. 09.06.2024. 03:46 i 22.05.2024 01:12. [Kommersant. Coronavirus pandemic. 06.09.2024. 03:46. and 22.05.2024 01:12. (in Russ.)]. Accessed: <https://www.kommersant.ru/doc/6760486>.
22. Morbidity of the population of the Russian Federation by main classes of diseases. Federal State Statistics Service, Official Statistics, Healthcare. (Electronic resource <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>). (in Russ.) (Accessed 02.08.2024).
23. Influenza virus characterization: summary report, Europe, March 2024. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe and Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2024. Licence: CC BY 3.0 IGO. Available at <http://apps.who.int/iris>.
24. Acute respiratory viral infections (ARVI) in adults. Clinical guidelines. Ministry of Health of the Russian Federation: National Scientific Society of Infectious Diseases Specialists, Russian Scientific Medical Society of Therapists, 2021. (in Russ.). Litusov N.V. Virusy grippa. Illyustrirovannoe uchebnoe posobie. Ekaterinburg: UGMU, 2018.
25. Zhumatov K.Kh. Virusy grippa A: Klassifikatsiya, struktura i rasprostranenie v biosfere. *Vestnik KazNMU*, 2014; 2(2): 25-36. (in Russ.).
26. Morozova M.I., Melnikov V.L., Mitrofanova N.N. Pathogens of acute respiratory viral infections: a tutorial. Penza: Publishing house of PSU, 2015. (in Russ.). ISBN 978-5-906831-10-1
27. JSC "ECOLab" - Manufacturer of diagnostic kits and medicinal products. Product catalog. Rapid ICHA tests. (Electronic resource). (in Russ.) (Accessed 03.08.2024).
28. JSC Vector-Best. Catalog. Immunochemistry. Express diagnostics. (Electronic resource): <https://www.vector-best.ru/catalog/ifa/nabory/ekspress-diagnostika/#> (in Russ.) (Accessed 03.08.2024).
29. JSC "Russian express diagnostics". Catalog. Express diagnostics. (Electronic resource): <https://red-test.ru/catalog/> (in Russ.) (Accessed 03.08.2024).
30. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V. et al. Development of an immunochromatographic kit of reagents for the detection of rotaviruses. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2023; 68 (11): 672-679 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2024-68-11-672-679>.
31. Rotanov S.V., Mardanly S.G., Popova T.V., Akinshina Yu.A. On the spread of *Helicobacter pylori* among the population of the Pavlovo-Posad district of the Moscow region. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2024; 29 (2): 82-89 (in Russ.). DOI: <http://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-82-89>.
32. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Gashenko T.Yu. One-stage detection of markers of causes of acute intestinal viral infection in humans. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni* (in Russ.). DOI: <http://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106>.

REFERENCES

1. WHO. Emergencies. Coronavirus disease (COVID) pandemic. Electronic resource Accessed: <https://www.who.int/europe/emergencies/situations/covid-19>. Available 12.08.2024. (in Russ.)
2. WHO. Federal meeting report: COVID-19 Epidemiological Update. Edition 169; published 15 July 2024. Electronic resource Accessed: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update-edition-169>. Available 12.08.2024. (in Russ.)
3. Makarov L.M., Ivanov D.O., Pozdnyakov A.V. Sravnitel'nyy analiz shtammov koronavirusa. *European science*. 53 (4): 61-66. DOI: 10.24411/2410-2865-2020-10402. (in Russ.)
4. Miyakawa K., Jeremiah S.S., Yamaoka Y. et al. Molecular and Epidemiological Characterization of Emerging Immune-Escape Variants of SARS-CoV-2. *Frontiers in Medicine*. 2022; 9. Accessed: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.815389>.
5. Nikiforov V.V., Suranova T.G., Polezhaeva N.A., Mironov A.Yu. i dr. Gripp i drugie ORVI v postpandemicheskiy period. Vaksinoprofilaktika i lechenie: posobie dlya vrachev. M.: Spetskniga – 2023.- 60 s. [Nikiforov V.V., Suranova T.G., Polezhaeva N.A., Mironov A.Yu. et al. Influenza and other acute respiratory viral infections in the post-