

Закрытое акционерное общество «ЭКОлаб»

**Государственное образовательное учреждение
высшего образования Московской области
«Государственный гуманитарно-технологический университет»**

**ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и
биотехнологии» Роспотребнадзора**

**ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт
биологического приборостроения» Федерального медико-биологического
агентства России**

**ИССЛЕДОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА,
ПРОИЗВОДСТВО И РЕАЛИЗАЦИЯ
«КОМПЛЕКСА МЕТОДИЧЕСКИХ,
РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»**

**Электрогорск
2023**

УДК 616.9
ББК 55.14
И 63

Рецензенты:

Малеев В.В., д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора по научной работе «Центрального НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора;

Черепов В.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой управления в здравоохранении и индустрии спорта Государственного университета управления, Координатор Научно-экспертного Совета РСПП по борьбе с коронавирусом.

Коллектив авторов:

Акиншина Ю.А., к.б.н., начальник НПО ИХТС, ЗАО «ЭКОлаб»;

Бикетов С.Ф., к.б.н., заведующий отделом иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «ГНЦ ПМБ»;

Гашенко Т.Ю., к.б.н., генеральный директор ЗАО «ЭКОлаб»;

Дятлов И.А., д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФБУН «ГНЦ ПМБ»;

Марданлы С.Г., д.м.н. профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «ГГТУ»;

Жигалева О.Н., к.б.н., начальник участка разработки и производства НПО ПЦР, ЗАО «ЭКОлаб»;

Осин Н.С., д.б.н., начальник отдела биологического микроанализа ФГУП «ГосНИИ БП»;

Панфёров Е.А., к.м.н., с.н.с. отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «ГНЦ ПМБ»;

Помазанов В.В., д.т.н., профессор, профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «ГГТУ»;

Храмов М.В., к.м.н., заместитель директора по качеству и развитию ФБУН «ГНЦ ПМБ».

И63 Исследование, разработка, производство и реализация «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально значимых инфекционных заболеваний» / под общ. ред. С.Г. Марданлы и В.В. Помазанова. – Электрогорск : ЗАО «ЭКОлаб», 2023. – 324 с.
ISBN 978-5-87471-481-9

В монографии описаны работы по созданию комплекса медицинских изделий для приборной и визуальной индикации и регистрации в биологических жидкостях человека агентов, ответственных за инфицирование человека инфекциями TORCH-группы, вирусом SARS-CoV-2, а также другими инфекциями, имеющими большое социальное значение: ВИЧ, сифилис, гепатит, герпес, грипп и многие другие. Описанные реагенты, технологии, приборно-методические комплексы разработаны группой ведущих российских ученых и специалистов, серийно выпускаются промышленностью и внедрены в практику отечественного здравоохранения для широкомасштабного эпидемиологического обследования населения.

УДК 616.9
ББК 55.14

© Коллектив авторов, 2023
© ЗАО «ЭКОлаб», 2023
© Оформление. РИО ГГТУ, 2023

ISBN 978-5-87471-481-9

ОГЛАВЛЕНИЕ

РЕФЕРАТ.....	6
РЕФЕРАТ-ПРЕЗЕНТАЦИЯ.....	8
АННОТАЦИЯ	14
1. ГЛАВА ПЕРВАЯ. КОМПЛЕКС МЕТОДИЧЕСКИХ, РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ	20
2. ГЛАВА ВТОРАЯ. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ НЕПРЯМОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ТВЕРДОФАЗНОМ НОСИТЕЛЕ	32
3. ГЛАВА ТРЕТЬЯ. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGG» И «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGM» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА	41
4. ГЛАВА ЧЕТВЁРТАЯ. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ АНАЛИЗА	49
5. ГЛАВА ПЯТАЯ. КОМПЛЕКТ РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ.....	66
6. ГЛАВА ШЕСТАЯ. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕННОГО БИОКОМПОНЕНТА ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ COVID-19	83
7. ГЛАВА СЕДЬМАЯ. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАБОТЫ	89
7.1. НАУЧНАЯ НОВИЗНА.....	90
7.2. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ.....	93
7.3. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ РАЗРАБОТАННЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ	98
7.4. СРАВНЕНИЕ С ЗАРУБЕЖНЫМИ И ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ АНАЛОГАМИ	98
7.5. ПАТЕНТНО-ЛИЦЕНЗИОННАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК	99
7.6. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК. ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ	99
7.7. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ РАЗРАБОТКИ	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	104
ПРИЛОЖЕНИЯ. ИССЛЕДОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА, ПРОИЗВОДСТВО И РЕАЛИЗАЦИЯ «КОМПЛЕКСА МЕТОДИЧЕСКИХ, РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»	127
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. КОМПЛЕКС МЕТОДИЧЕСКИХ, РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ.....	128
Приложение 1.1. РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКТОВ НАБОРОВ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ ИНФЕКЦИЙ TORCH-ГРУППЫ.....	128
Приложение 1.1.1. ИСПЫТАНИЯ ТЕСТ-СИСТЕМ НА КЛИНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ И СРАВНЕНИЕ С НАБОРАМИ АНАЛОГАМИ	142

Приложение 1.1.2. РАЗРАБОТКА НАБОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТОКСОПЛАЗМОЗА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ И ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЙ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ.....	152
Приложение 1.1.3. РАЗРАБОТКА НАБОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТОКСОПЛАЗМОЗА, КРАСНУХИ, ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ ИММУННОГО БЛОТТИНГА В ФОРМАТЕ WESTERN BLOT.....	160
Приложение 1.2. ОПТИМИЗАЦИЯ И РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА ПРИБОРНЫХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ.....	167
Приложение 1.3. РАЗРАБОТКА НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ИММУНОЧИПОВ.....	176
Приложение 1.4. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК.....	185
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ НЕПРЯМОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ТВЕРДОФАЗНОМ НОСИТЕЛЕ	193
Приложение 2.1. РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ МЕТОДОМ НЕПРЯМОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ТВЕРДОФАЗНОМ НОСИТЕЛЕ	193
Приложение 2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМОЙ «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» СЫВОРОТОК ПАЦИЕНТОВ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РЕЗУЛЬТАТОМ ПЦР НА НАЛИЧИЕ РНК SARS-CoV-2.....	195
Приложение 2.3. СРАВНЕНИЕ АНАЛОГОВ С РАЗРАБОТАННОЙ ИФТС ЗАО «ЭКОЛАБ».....	196
Приложение 2.4. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ.....	212
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IgG» И «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IgM» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА.....	217
Приложение 3.1. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РАБОТОСПОСОБНОСТИ ТЕСТ-СИСТЕМ «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGG» И «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGM» В ПРАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ	218
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ.....	221
Приложение 4.1. ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV-2 В ОБРАЗЦАХ НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫХ МАЗКОВ ЧЕЛОВЕКА» «ИХА-SARS-COV-2-AG».....	221
Приложение 4.2. ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV-2 В ОБРАЗЦАХ СЛЮНЫ ЧЕЛОВЕКА» «ИХА-SARS-COV-2-AG SALIVA».....	230
Приложение 4.3. ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ IGM/IGG К КОРОНАВИРУСУ SARS-COV-2 В ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ (ПЛАЗМЫ) ИЛИ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА» «ИХА-COVID-19-IGM/IGG»	238
Приложение 4.4. СРАВНЕНИЕ С АНАЛОГОМ	247
Приложение 4.5. ПАТЕНТ. СПОСОБ ОДНОВРЕМЕННОГО ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ КЛАССОВ M И G К ВИРУСУ SARS-CoV-2 МЕТОДОМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ И УСТРОЙСТВО ДЛЯ ЕГО РЕАЛИЗАЦИИ.	259
Приложение 4.6. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ ИХА ТЕСТОВ	260

ПРИЛОЖЕНИЕ 5. КОМПЛЕКТ РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ	261
Приложение 5.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ДЛЯ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ	261
Приложение 5.2. ОЦЕНКА РАБОТОСПОСОБНОСТИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПРЯМОЙ ПЦР «КОВИДЭК ДИРЕКТ»	263
Приложение 5.3. СРАВНЕНИЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» С НАБОРАМИ, ПРЕДСТАВЛЕННЫМИ НА РЫНКЕ ПРЕДЛОЖЕНИЙ	266
Приложение 5.4. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК	271
Приложение 5.5. ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЕ В ПЦР	275
ПРИЛОЖЕНИЕ 6. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕННОГО БИОКОМПОНЕНТА ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ COVID-19.....	276
ПРИЛОЖЕНИЕ 7. ИНФОРМАЦИЯ, ПОДТВЕРЖДАЮЩАЯ ЭКОНОМИЧЕСКИЙ И (ИЛИ) СОЦИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ	278
ПРИЛОЖЕНИЕ 8. ПЕРЕЧЕНЬ РАЗРАБОТАННЫХ И ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, СЕРИЙНО ВЫПУСКАЕМЫХ ЗАО"ЭКОлаб"	286

РЕФЕРАТ

Представляемая на рассмотрение работа охватывает широкий спектр исследований группы ученых, специалистов, технологов, работающих на базе ЗАО «ЭКОлаб» совместно с коллегами из других научных, образовательных, здравоохранительных и производственных организаций за последние 30 лет («ГГТУ», ФБУН «ГНЦ ПМБ», ФГУП «ГосНИИ БП» и др.) Демонстрирует тернистый путь создания отечественных диагностикумов (медицинских изделий), начиная от тест-систем на ВИЧ, гепатиты, сифилис, инфекции TORCH-группы и др. и завершая наборами на COVID-19. Описывает новые иммунохимические и молекулярные технологии и реагенты диагностики социально значимых инфекций с процессом создания научно-производственной базы для их промышленного выпуска.

Результаты работы изложены более чем в 200 научных статьях, монографиях, учебных и методических пособиях, патентах, широко используемых для организации дальнейших научных исследований и технологий, а также обучения и подготовки высококвалифицированных специалистов.

Основная научно-техническая идея. Исследование и создание новых реакций, технологий, методов и способов для конструирования инновационных наборов реагентов и технических средств быстрого, высокочувствительного и высокоэффективного обнаружения инфекционного агента и организация их отечественного производства для нужд здравоохранения.

Описание результатов и их значение для практики. Исследован, разработан и внедрён в производство «Комплекс методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально значимых инфекционных заболеваний», включающий более 200 тест-систем. Разработаны, внедрены в производство и клинико-лабораторную практику видео-цифровые аппаратно-программные комплексы (как с использованием планшетов, так и иммуночипов), специализированные для иммунохимических

методов диагностики с целью регистрации результатов анализа, их интерпретации, передачи абонентам и хранения.

Объёмы внедрения. Регламенты производства более 200 разработанных в ходе исследования диагностических наборов и приборов внедрены в производственную практику предприятий ЗАО «ЭКОлаб», ФБУН «ГНЦ ПМБ», ФГУП «ГосНИИ БП», и др. Тест-системы широко используются в практике работы КДЛ учреждений здравоохранения во всех регионах страны и ближнего зарубежья. За последние три года выпущено более 364 250 наборов на общую сумму 1млрд 537 млн рублей.

Достигнутый экономический и (или) социальный эффект от внедрения. Каждое учреждение здравоохранения имеет возможность приобрести доступное и эффективное отечественное средство диагностики практически любого инфекционного заболевания, в среднем на 35-45 % дешевле зарубежных аналогов. Работа авторов и их организаций внесла свой вклад в обеспечение лекарственной безопасности страны. Медицинские изделия и лекарственные средства неоднократно и безвозмездно поставлялись жителям и воинам Донбасской и Луганской Республик.

РЕФЕРАТ-ПРЕЗЕНТАЦИЯ

Работа выполнена под научным руководством и непосредственном участии группы ученых и специалистов из профильных научно-исследовательских и производственных организаций различных форм собственности, занятых исследованием и разработкой новых диагностических медицинских изделий для нужд здравоохранения: закрытое акционерное общество «ЭКОлаб»; ГОУ МО «Государственный гуманитарно-технологический университет»; ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора; ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения» Федерального медико-биологического агентства России, а также в содружестве с другими профильными государственными и частными организациями.

Авторами представлены результаты научных исследований, выполненных за прошедшие 20-30 лет в области различных вариантов иммунохимического анализа и ПЦР диагностики. Описывается технология создания новых отечественных диагностикумов (медицинских изделий), начиная от тест-систем на ВИЧ, гепатиты, сифилис, инфекции TORCH-группы и др. и завершая диагностическими наборами на COVID-19. Представлены актуальные иммунохимические и молекулярные технологии и реагенты диагностики социально значимых инфекций, определяющие процессы создания современной научно-производственной базы для их промышленного выпуска.

Результаты работы изложены более чем в 200 научных статьях, монографиях, учебных и методических пособиях, патентах, широко используемых для организации дальнейших научных исследований и технологий, а также обучения и подготовки высококвалифицированных специалистов.

Научно-техническая идея заключалась в аналитическом и техническом исследовании существующих отечественных и зарубежных технологий

обнаружения биологических агентов в биологических жидкостях человека и создания на этой основе современных отечественных производств медицинских изделий для высокочувствительной и высокоэффективной диагностики *in vitro* социально значимых инфекционных болезней.

Научная значимость и практические достижения:

- определен оптимальный состав иммунохимических тест-систем для выявления видоспецифических антител к возбудителям актуальных для Российской Федерации инфекций TORCH-группы, а также других социально значимых инфекционных болезней;
- для повышения качества этиологической расшифровки инфекций TORCH-группы и реализации широкомасштабного мониторинга групп риска, разработан многофункциональный иммунохимический «Комплекс» реагентных и технических средств клинической лабораторной диагностики;
- принципы разработки и функционирования «Комплекса реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекции TORCH-группы» носят универсальный характер и применимы в иммунохимической и молекулярной диагностике любой иной инфекционной патологии, т.е. могут быть использованы для совершенствования лабораторной диагностики различных инфекций, в частности, COVID-19, сифилиса, вируса денге или оспы обезьян;
- разработаны, внедрены в производство и клинико-лабораторную практику аппаратно-программные комплексы "Эксперт-Лаб", "Диагем", «Рефлеком» специализированные для автоматической обработки результатов иммунохимических методов анализа. Системы обеспечивают компьютерную обработку результатов исследований, полученных в видеоцифровом формате, что позволяет формировать соответствующие компьютерные базы данных с возможностью передачи необходимой информации любым участникам надзора;
- зарегистрированы в Российской Федерации и успешно применяются в клинических лабораториях учреждений здравоохранения иммунохимические и

молекулярные наборы реагентов для диагностики социально значимых инфекционных заболеваний иммунохимическими и молекулярными методами, для которых разработаны производственные регламенты и организовано их промышленное производство;

- разработана и внедрена в практику биочип-технология для проведения исследований иммунофлуоресцентным методом «ФОСФАН» для социально значимых болезней;

- более чем на 35-45% улучшена доступность разработанных тест-систем по сравнению с импортными аналогами, что определяют их эффективность и социальную значимость.

Технологически «Комплекс» выполняет две основные задачи: (1) - аналитическую, связанную с получением иммунохимическими и молекулярными методами информации о наличии (или отсутствии) маркера инфекционного процесса и его характеристиках (при наличии), и (2) -клинико-диагностическую, связанную с интерпретацией полученных в лаборатории результатов. Первая задача решается с помощью специально разработанных для этого реактивных и технических средств, т.е. соответствующих комплектов наборов реагентов и аппаратуры, в том числе для автоматической регистрации результатов исследований.

Разработаны, произведены и внедрены в состав «Комплекса» и практику подразделений здравоохранения:

- комплекты наборов реагентов для иммуноферментного анализа;
- комплекты наборов реагентов для иммунохроматографического анализа;
- комплекты наборов реагентов для иммунофлуоресцентного анализа;
- комплекты наборов реагентов для ПЦР-диагностики;
- АПК «Эксперт-Лаб», иммунохимический анализатор;
- АПК «Диagem» иммунофлуоресцентный иммуно-чип анализатор (Рис.4.);
- «Рефлеком» - иммунохроматографический видеоцифровой анализатор;
- отечественное вспомогательное оборудование и материалы (полимерные изделия- кассеты, сорбенты, подложки, флаконы, наконечники), биоматериалы.

Разработанные и внедренные тест-системы позволяют проводить комплексное обследование людей - определение гена и антигена патогена, антител к нему различными методами с возможностью исследовать разнообразный биологический материал на большую группу инфекций, в том числе на COVID-19.



Рис.1. Набор реагентов «КовидЭк Директ» для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.
Арт. 100.03 комплект № 1 (100 определений) РУ РЗН 2022/17966 от 12.08.2022



Рис.2. Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения наличия антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа»
Арт.01.04.1 Комплект №1, 192.
Арт. 01.04.2 Комплект №2, 96 опр. РУ № ФСП 2010/07919 от 23.07.2018.



Рис.3. Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для выявления антител к Треропета pallidum» «ИФА- антипаллидум-скрин»
Арт. 03.15 Комплект №1, 192 опр.
Арт. 03.15.1 Комплект №2, 100 опр. РУ № ФСП 2011/12216 от 21.06.2019.

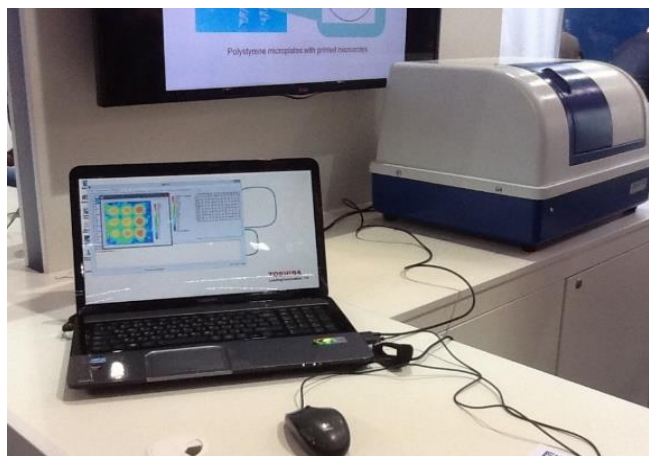


Рис.4. АПК «Диаген -TORCH» для учёта и регистрации иммунофлюоресцентных реакций с применением иммуночипов, с методическим и программным обеспечением. Входит в состав «Комплекса методических, реагентных и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы» и других социально значимых инфекционных болезней.

Актуальность, эффективность, результативность. Непосредственно по теме представленной работы авторами опубликовано: 110 научных статей; 40 учебных пособий и монографий, 45 тезисов докладов на Российских и Международных конференциях, 21 патент на изобретения и полезные модели, защищено 5 диссертаций.

Исследованы и разработаны новые технологии создания иммунохимических и амплификационных реагентов. За последние 5 лет прошли Госрегистрацию порядка 185 наборов тест-систем (Рис.1-3) различными методами с возможностью исследовать разнообразный биологический материал на большую группу социально значимых инфекционных болезней.

Разработанные и реализованные населению медицинские изделия внесли свой вклад в лекарственную безопасность страны.

Кроме регулярного обеспечения КДЛ Минздрава Российской Федерации, медицинские изделия и сопутствующие лекарственные средства неоднократно и безвозмездно направлялись населению и воинам Донецкой и Луганских Республик (Рис.5.)



Рис.5. Продукция «ЭКОлаб» - Донецку и Луганску, зима 2020 г.

За последние три года произведено и реализовано 218614 комплектов диагностических наборов для определения иммунохимическими методами:

- инфекций TORCH - группы - 37 902 набора;*
- сифилиса - 77 562 наборов;*
- ВИЧ - 40 250 наборов;*
- гепатитов - 50 022 набора (9 661 912 тестов);*
- грипп, парагрипп, РВИ - 5 054 набора (389 184 тестов).*

Произведено и реализовано комплектов диагностических наборов для определения инфекционного агента SARS-CoV-2:

- методом ПЦР - 28 329 наборов;*
- методом ИХА - 117 307 наборов.*

АННОТАЦИЯ

Организация эффективного контроля инфекционных заболеваний напрямую связана с наличием у государства доступных и качественных средств обнаружения инфекционного агента. Инфекционные заболевания – одна из глобальных проблем человечества, наглядный пример - коронавирусная пандемия 2020-2023гг., к диагностике, защите и лечению которой, несмотря на колоссальный опыт по борьбе с многочисленными эпидемиологическими вспышками, накопленный человечеством за прошедшие столетия, здравоохранение было недостаточно готово: традиционно отсутствовали средства и методология защиты, лечения, профилактики и диагностики. Все необходимое создавалось параллельно с распространением этой новой болезни.

Число известных науке инфекций ежегодно увеличивается. Если в середине прошлого века их насчитывалось немногим более одной тысячи, то за семьдесят лет их количество увеличилось более чем на четверть. Все инфекционные эпидемические и неэпидемические заболевания имеют социальную значимость, они наносят большой экономический ущерб и представляют угрозу жизни и здоровью населения.

Представляемая на рассмотрение работа охватывает широкий спектр исследований большой группы ученых, специалистов, технологов, работающих на базе ЗАО «ЭКОлаб» совместно с коллегами из других научных, образовательных, здравоохранительных и производственных организаций за последние 30 лет, демонстрирует тернистый путь создания отечественных диагностикумов, начиная от диагностики ВИЧ - «чумы XXI века», гепатитов, сифилиса, инфекций TORCH-группы и завершая тест-системами на COVID-19.

Китайская, декабря 2019 г. вспышка неизвестного инфекционного заболевания, определила дальнейшие чрезвычайные здравоохранительные, правовые, экономические и социальные начала и последствия коронавирусной пандемии в мире. Ровно через месяц Всемирная организация здравоохранения объявила вспышку чрезвычайной ситуацией, имеющей международное

значение. Уже 31 января в России зафиксированы первые случаи заражения новым вирусом, и сразу жестко встал вопрос не только как лечить, не только как предотвратить, но и как и чем диагностировать это новое опасное заболевание? Через год количество заболевших превысило 3,2 млн человек, еще через год – 10 млн. На 1 января 2023 г. в мире отмечено 666 млн случаев заражения и 6,7 млн случаев смертей. В России, соответственно, 21,8 млн заболеваний и 393 тыс. смертей.

2022 г. вселял надежду на завершение жестких карантинных мер и спад пандемии. Несмотря на снятие летом 2022 г. Большинства ограничительных мер, говорить об окончательном завершении пандемии преждевременно. Генеральный директор ВОЗ Т.А. Гебрейесус в середине 2022 г. сообщил, что уже порядка 90% населения мира имеет определенный уровень иммунитета к коронавирусу. Позднее он заявил, «Всемирная организация здравоохранения надеялась, что чрезвычайная фаза пандемии COVID-19 близка к завершению, но этого не произошло». Как итог, по заявлениям китайских чиновников, за последние три недели уходящего 2022 г. в стране заразились около 250 млн человек (примерно 37 млн в сутки!), что ставит мировую проблему пандемии в разряд наиболее тревожных. Остается неразрешенной ситуация с этим вирусным заболеванием и в России.

В связи с быстрым распространением и увеличением случаев заражения, вызванные вирусом SARS-CoV-2, появилась необходимость в использовании новых эпидемиолого-диагностических подходов, основанных на быстрой, точной, надежной и доступной технологии и средств обнаружении инфекционного агента, создании новых диагностических медицинских изделий с учётом их массового и крупномасштабного применения. Ранняя диагностика имеет большое социальное значение, необходима для своевременного проведения профилактических мероприятий. Сегодня количество сделанных тестов с целью диагностики коронавирусной инфекции, выполненных различными методами анализа, составило более 6,8 млрд, т.е. 0,85 млн на 1 млн населения. Аналогичные количества диагностикумов разработаны на другие

распространённые и социально значимые болезни. Также важным является унифицировать и автоматизировать технологию регистрации, учета и интерпретации результатов анализа.

Быстрое создание актуальных диагностикумов было бы невозможным, если бы специализированные организации не имели соответствующего опыта по разработке и выпуску современных диагностических медицинских изделий. Начавшиеся в 2020 г. единичные, затем в геометрической прогрессии увеличивающиеся случаи заражения необходимо было обнаружить и подтвердить объективными методами клинической лабораторной диагностики, что потребовало в практике здравоохранения наличия огромного количества необходимых и доступных диагностических медицинских изделий, способных в лабораторных и полевых условиях определить степень поражения минимум 40-60 % населения страны и её регионов. До середины 2020 г. таких средств в мире не было.

Первые тесты для диагностики COVID-19 появились во второй половине 2020 г. К этому времени в России и за рубежом был накоплен значительный опыт по лабораторной диагностике *in vivo* вирусных инфекций различной этиологии и степени патогенности. В основе используемых методик применялись различные серологические методы обнаружения, среди которых иммунохимические тест-системы имели преимущественное значение, выявление РНК SARS-CoV-2 с применением метода амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), что отразилось во «Временных методических рекомендациях. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», предназначенных Минздравом России для руководителей медицинских организаций и их структурных подразделений.

Многие профильные отечественные НИИ и предприятия включились в работы по производству диагностических медицинских изделий. При этом за основу диагностики COVID-19 в соответствии с «Временными рекомендациями...» рассматривались два основных методических направления:

- варианты иммунохимического (ИФА, ИХА, БЛОТ) метода анализа;

- варианты метода полимеразной цепной реакции.

ЗАО «ЭКОлаб» является одним из ведущих предприятий в России по разработке и производству медицинских изделий, предназначенных для диагностики и обнаружения многих опасных инфекций, в том числе имеющих большую социальную значимость: грипп, гепатиты, корь, краснуха, токсоплазмоз, герпес 1-7 типов, ветряная оспа, сифилис, бруцеллёз, сальмонеллёз, боррелиоз, брюшной тиф, ВИЧ и мн. др.

Необходимо отметить, что первые промышленные диагностикумы в стране на ВИЧ-инфекцию были разработаны и выпущены в 1986 г. специалистами ООО «Антиген» под руководством и при непосредственном участии основателя ЗАО «ЭКОлаб» Марданлы С.Г. За 30 лет работы предприятием накоплен большой научно-практический и производственный опыт, позволяющий в кратчайшие сроки разрабатывать и ставить на промышленные рельсы практически любой новый диагностикум. Все свои разработки ЗАО «ЭКОлаб» выполняет за счет собственных средств, преимущественно с использованием отечественного сырья, материалов и оборудования.

ЗАО «ЭКОлаб» работает в тесном контакте с ведущими отечественными и зарубежными научными, научно-исследовательскими, образовательными, здравоохранительными учреждениями и промышленными предприятиями в области медицины, санитарно-эпидемиологического благополучия, эпидемиологии, микробиологии, биотехнологии, химии, фармации. Например, ряд исследований выполнялись совместно со специалистами ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения», Института биохимии имени А.Н. Баха РАН, ООО

«Иммуноскрин», ООО «Синтэко-Комплекс», МИП «Унифарминвест» и др. Ряд ведущих учёных и специалистов «ЭКОлаб» читают лекции и участвуют в работе Диссертационных советов ведущих образовательных и исследовательских учреждений страны (Сеченовском университете, ЦНИИ Эпидемиологии, ФБУН ГНЦ ПМБ, ГГТУ и др.) Предприятие в своем составе имеет ряд исследовательских лабораторий, испытательных отделов и собственное производство, способное серийно выпускать до нескольких тысяч диагностических изделий в неделю каждого наименования.

Первые наборы на инфекции TORCH-группы были разработаны ЗАО «ЭКОлаб» в 2013 г. Первая иммунохроматографическая тест-система для качественного дифференцированного выявления антител «ИХА-COVID-19-IgM/gG» была разработана в середине 2020 г. (РЗН 2020/11955 от 14.09.2020), через полгода - вторая – для выявления антигена «ИХА-SARS-CoV-2-Ag» (РЗН 2021/13607 от 01.03.2021). Далее, иммуноферментная система «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» (РЗН 2020/12981 от 01.01.2022); «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M» (РЗН 2020/13045 от 01.01.2022).

Для развития методов обнаружения инфекционных агентов предприятием «ЭКОлаб» разработан новый вариант молекулярного метода амплификации нуклеиновых кислот, зарегистрирован 28 июля 2021 г. (РЗН 2021/14914) ПЦР-диагностикум «КовидЭк Директ».

ФБУН «ГНЦ ПМБ» в условиях пандемии в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации проведены экстренные разработки и внедрения в производство новых иммуноферментных и иммунохроматографических диагностических тест-систем. Получены собственные рекомбинантные белки, антитела, конъюгаты, что значительным образом снизило «импортную составляющую» наших разработок.

В содружестве с рядом специализированных предприятий и учреждений, ЗАО «ЭКОлаб» разработано и внедрено в медицинскую практику ряд технических средств (приборов) для обнаружения опасных биологических

агентов: аппаратно-программный комплекс АПК «Эксперт-лаб-TORCH; аппаратно-программный комплекс АПК «Диагем-TORCH», видеоцифровой анализатор «Рефлеком», вспомогательное оборудование.

В монографии представлена серия комплектов новых медицинских изделий и технических средств (приборов), разработанных и внедренных в медицинскую практику для диагностики инфекций TORCH-группы, COVID-19, других социально значимых заболеваний.

1. ГЛАВА ПЕРВАЯ. КОМПЛЕКС МЕТОДИЧЕСКИХ, РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

Основой эпидемиологического надзора являются высокочувствительные и высокоспецифичные методы лабораторной диагностики, позволяющие своевременно (в постоянном режиме) выявлять в биологических пробах человека маркеры активно текущей и латентной инфекции, с целью дальнейшей разработки комплекса адекватных профилактических мероприятий.

Разработка медицинских изделий для диагностики социально значимых инфекций на наших предприятиях является актуальной. В 2020-2022 гг. на основе теоретических и практических данных, были разработаны комплекты тест-наборов для диагностики COVID-19 (Приложения 2-5).

Наибольшие успехи были достигнуты при создании и регулярном дооснащении новыми медицинскими изделиями и приборами «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики заболеваний, входящих в инфекции TORCH – группы». (Приложение 1.1,1.1.2,1.6). Лабораторная диагностика была построена исключительно с использованием разнообразных иммунохимических методов анализа.

Разработка тест-систем для диагностики инфекций иммунофлуоресцентным методом позволила увеличить производительность и чувствительность обнаружения, а также значительным образом снизить стоимость скрининговых исследований. Подробное описание разработки изложено в Приложении 1.3.

Специалисты предприятия ЗАО «ЭКОлаб» под руководством и участия творческого коллектива настоящей работы усовершенствовало иммунохимические реагенты и технические средства «Комплекса», которые регулярно дополняются новыми тестами под вновь возникающие инфекционные ситуации. С 2020 г. «Комплекс» пополняется новыми разнообразными тестами для выявления коронавирусной инфекции. Разрабатываются реагенты под другие инфекции, например, новые виды коронавируса, вирус денге, оспы обезьян и др. Для оснащения «Комплекса» методическими, реактивными и техническими средствами клинической лабораторной диагностики COVID-19 разработаны и прошли государственную регистрацию диагностические медицинские изделия на основе иммунохимических (иммуноферментных, иммунохроматографических, иммунного блотинга) реакций (Приложение 2,3,4), а также на вариантах метода амплификации нуклеиновых кислот (Приложение 5).

1.1. СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ КОМПЛЕКСА

«Комплекс» оснащен реагентами для клинической диагностики инфекций TORCH-группы. В настоящее время, в связи с пандемией *COVID -19*, «Комплекс» дооснащён, в соответствии с основными положениями «Временных методических рекомендаций...» новыми иммунохимическими и амплификационными комплектами тест-систем для диагностики COVID -19 .

«Комплекс» обеспечен реагентами (медицинскими изделиями), аналитическим и вспомогательным оборудованием и материалами, транспортными средствами для хранения и перевозки биообразцов для исследования, позволяющий проводить:

1. - отбор проб биоматериала;
2. - скрининг и подтверждение заболеваний с использованием различных методов исследования (ИХА, ИФА, ИБ, ПЦР);
3. – методическое и техническое сопровождение.

ПЦР-диагностикум предназначен для выявления вируса в мазках, взятых из носоглотки. В отличие от аналогов, разработанный метод является одностадийным, исключая длительный этап выделения вируса. Амплификация и регистрация сигнала идет в течение 60-90 мин.

ИХА-диагностикум выпускается преимущественно с использованием отечественных комплектующих, выявляет антиген вируса SARS-CoV-2 в течение 5-8 мин. Дополнительно, методом ИХА можно определять не только антиген SARS-CoV-2, но и антитела к нему класса М и класса G, которые говорят о том, болеет ли пациент в настоящий момент, недавно перенес инфекцию или имел контакт с возбудителем в прошлом. Это позволяет дифференцировать стадию инфекции. Кроме этого, в арсенале лаборатории имеются тесты для лабораторной диагностики вируса иммуноферментным методом анализа – *ИФА*.

ЗАО «ЭКОлаб» поставляет ИФА-диагностикумы для определения антител класса М, который показывает недавно перенесенную инфекцию. Также на предприятии разработан и внедрен в производство иммуноферментный набор диагностикумов для количественного определения иммуноглобулина класса G. Как правило, ИФА-тесты ставятся в стационарных условиях при наличии соответствующего оборудования и подготовленных специалистов. Для этого предприятие, кроме диагностических медицинских изделий, поставляет необходимое аппаратное обеспечение, проводит обучение специалистов.

«Комплекс» адаптирован под разнообразные задачи клинической лабораторной диагностики и состоит из **17 блоков**, объединенных в 4 многофункциональных модуля – преаналитического, аналитического, постаналитического и вспомогательного (Рис. 1).

Преаналитический модуль (пре-АМ) включает три блока:

1. - отбора контингента, обследуемого на инфекции;
2. - анкетирования пациента (сбор анамнеза, клинические варианты и проявления болезни, классификация по степени тяжести, кожные сыпи,

особенности клинических проявлений у пациентов пожилого и старческого возраста (в соответствии с «Временными рекомендациями...»);

3. - отбора проб биоматериала.

Аналитический модуль (АМ) включает 5 блоков:

- 1.- скрининга и аналитического подтверждения заболеваний с использованием методов флуоресцентного анализа (иммуочипы), ИФА, ИХА, ИБ;
- 2.- лабораторного исследования на наличие нуклеиновой кислоты методом амплификации;
3. - повторного поствакцинального лабораторного исследования;
- 4.- программного обеспечения видеорегистрации результатов ИФА, ее хранения и передачи на расстояние, создания баз данных;
- 5.- колориметрической (визуальная и приборная) регистрации результатов анализа.

Разработанное и используемое аналитическое и вспомогательное оборудование приведено в Приложении 1.2.

На основе многофункционального аппаратно-программного комплекса (АПК) "Эксперт-Лаб», разработанного с участием специалистов Института биохимии им. А. Н. Баха РАН, был создан АПК "Эксперт-Лаб- ИФА-TORCH", в котором было использовано разработанное и запатентованное методическое и программное обеспечение, позволившее специализировать оборудование для регистрации и учета диагностических исследований с разработанными для этого медицинскими изделиями (Приложение 1.2).

Постаналитический модуль (пост-АМ):

– постановки окончательного диагноза врачом с использованием результатов лабораторного исследования и принятия соответствующих решений по проведению лечебно-профилактических мероприятий.

Вспомогательный модуль (ВМ) обеспечения клинико-лабораторных процессов. Состоит из семи блоков:

- 1.- разработки новых методов и средств диагностики (наборов реагентов и технических средств, аналитического, программного и вспомогательного обеспечения);
2. - предрегистрационных испытаний;
3. - регистрации средств диагностики;
4. - производства средств диагностики;
5. - поставки средств диагностики и технических средств в региональные КДЛ и другим потребителям;
- 6.- обучения;
- 7.- методического и технического сопровождения.

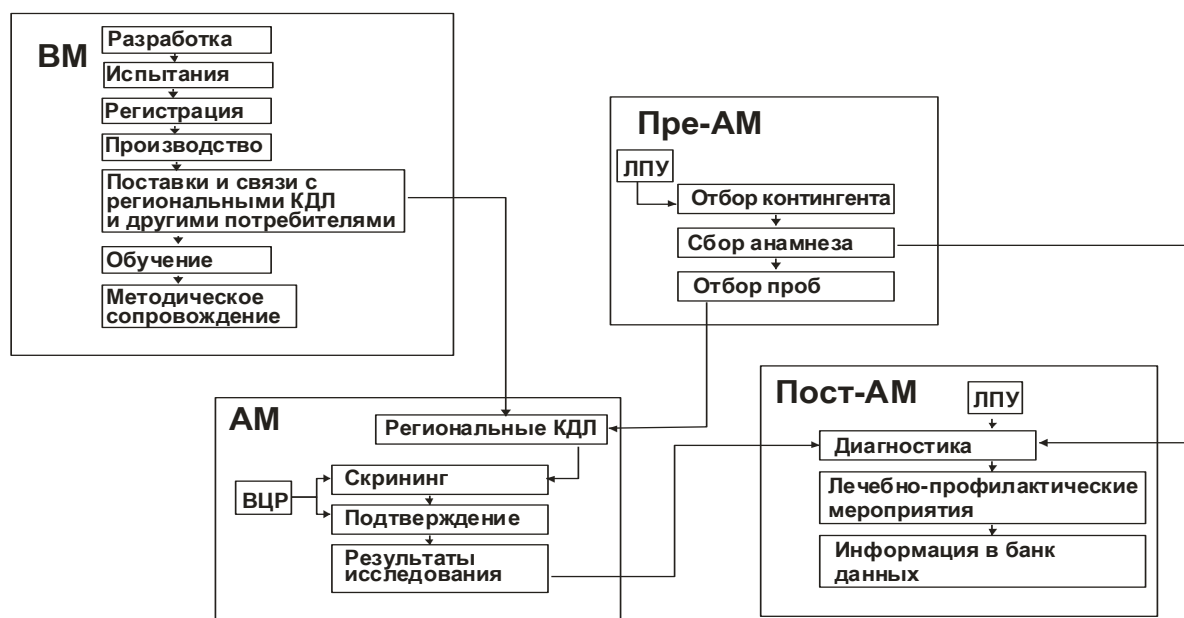


Рис.1. Блочно-модульная схема «Комплекс методических, реактивных и технических (приборных) средств клинической лабораторной диагностики инфекционных агентов, основанный на иммуноферментных и амплификационных методах обнаружения»

1.2. НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Разработанный «Комплекс методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально опасных инфекций» не имеет аналогов в отечественной и международной медицинской практике (Патент на полезную модель № 2013148129. RU. МПК G 01 N 33/50 «Система лабораторной клинической диагностики инфекций, 2013)

Впервые разработаны тест-системы для диагностики инфекций иммунофлуоресцентным методом, которые позволили снизить стоимость скрининговых исследований. Разработанная технология получения иммуночипов для диагностики различных инфекций универсальна.

Впервые разработаны реагенты для диагностики вируса на *SARS-CoV-2* с помощью иммунного линейного блоттинга, иммуноферментного, иммунохроматографического анализа.

Впервые исследован, разработан и зарегистрирован новый вариант диагностического препарата, новой, технически и экономически малозатратной технологии исследования биологических образцов методом прямой ПЦР в реальном времени, ускоряющий время анализа, исключая трудоемкий этап экстракция нуклеиновых кислот и опасность инфицирования персонала.

Впервые разработаны отечественные наборы реагентов для диагностики социально значимых инфекций с помощью реакций иммунофлуоресценции, иммунофлуоресценции (иммуночипы) и иммунного блоттинга с аппаратно-анализируемым обеспечением.

Повышена эффективность эпидемиологического надзора за рядом значимых инфекционных заболеваний с оценкой их реальной распространенности среди населения отдельных регионов Российской Федерации. Показано несоответствие статистических показателей заболеваемости социально значимыми инфекциями и их истинного распространения.

1.3. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Технологически «Комплекс» выполняет две основные задачи: (1) - аналитическую, связанную с получением иммунохимическими и молекулярными методами информации о наличии (или отсутствии) маркера инфекционного процесса и его характеристиках (при наличии), и (2) - клинко-диагностическую, связанную с интерпретацией полученных в лаборатории

результатов. Первая задача решается с помощью специально разработанных для этого реактивных и технических средств, т.е. соответствующих комплектов наборов реагентов и аппаратуры для автоматической регистрации результатов исследований.

Разработана биочип-технология для проведения исследований иммунофлуоресцентным методом «ФОСФАН» для социально значимых инфекций (Приложение 1.3).

Разработки завершены необходимой и достаточной для эффективного функционирования совокупности средств лабораторной диагностики созданием аппаратно-программных комплексов для видеоцифровой регистрации результатов всех проводимых иммунохимических исследований (Приложение 1.2):

- АПК «Эксперт-Лаб» - соразработчик ООО «Синтеко-Комплекс»;
- АПК «Диагем» - соразработчик ООО «Иммуноскрин»;
- «Рефлеком» - иммунохроматографический видеоцифровой анализатор соразработчик ООО «Синтеко-Комплекс».

Разработанное и запатентованное методическое и программное обеспечение позволяет специализировать оборудование для регистрации и учета диагностических исследований с разработанными наборами реагентов.

Разработанные и внедренные тест-системы позволяют проводить комплексное обследование людей - определение гена и антигена патогена, антител к нему различными методами с возможностью исследовать разнообразный биологический материал на большую группу инфекций, в том числе на COVID-19.

1.4. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Написаны соответствующие инструкции по эксплуатации. Эксплуатация предусмотрена для использования в стандартных диагностических лабораториях для работающего персонала. (Приложения 1-5).

1.5. СРАВНЕНИЕ С ЗАРУБЕЖНЫМИ И ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ АНАЛОГАМИ

В качестве доклинических испытаний были проведены исследования всех разработанных тест-систем в сравнении с их отечественными и зарубежными аналогами на ряде панелей сывороток, мазков и других биоматериалах. Подробное описание размещено в Приложениях 1.1.1, 1.1.2, 2.3, 4.5, 5.3.

1.6. ПАТЕНТНО-ЛИЦЕНЗИОННАЯ ЦЕННОСТЬ

По результатам работы получен 21 патент (Приложение 1.5), ссылки на которые приведены в Списке работ авторов. Разработанные патенты вошли в инновационные производства иммунохимических и молекулярных диагностикумов (медицинских изделий), более 185 которых, прошли Государственную регистрацию.

1.7. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК

На сегодняшний день разработан и промышленно выпускается полный набор тест-систем для организации лабораторной диагностики коронавирусной инфекции разными вариантами иммунохимического метода анализа антигенов в количественном, полуколичественном и качественном варианте и методом ПЦР. (Приложения 3-5). Кроме этого, разработан и поставляется в научных целях набор реагентов для линейного блоттинга, где одновременно определяются все антигены вируса для подтверждения или опровержения полученных результатов при скрининге. (Приложение 2). В достаточном количестве эти наборы производятся и поставляются в учреждения здравоохранения. Они позволяют обследовать по предложенному алгоритму пациентов на наличие искомой инфекции на любом этапе развития заболевания

Практическое использование разработанных технических средств не только полностью исключает субъективизм в оценке результатов иммунохимических реакций, приборы позволяют стандартизировать оценку результатов; исключают возможность ошибки персонала (на аналитическом этапе, при соотнесении результата реакции с пациентом, при соблюдении порядка считывания результатов, при составлении протокола и т.д.); получить результат реакции на бумажном носителе, удобном для помещения в журнал; вести базу данных; проводить ретроспективный контроль правильности проведения исследований; создать объективную основу для межлабораторного общения; предоставлять по результатам исследований документацию на уровне требований доказательной медицины.

Разработанные иммунохимические и амплификационные тест-системы предназначены как для индивидуального применения дома, в полевых условиях, так и в передвижных и стационарных пунктах учреждений здравоохранения.

1.8. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК

Практическая работоспособность «Комплекса» была показана в 2013-2016 гг. при организации лабораторного обследования групп риска на инфекции TORCH – группы, например, в г. Электрогорске Московской обл. При этом преаналитический и постаналитический модули были организованы и функционировали на базе ЛПУ – городской больницы, аналитический блок – на базе Электрогорского диагностического центра "El Clinic", созданного ЗАО «ЭКОлаб» для этих целей; вспомогательный модуль реализован на научной и производственной базе ЗАО "ЭКОлаб" совместно с аналогичными предприятиями, в том числе с ООО "Иммуноскрин", ООО "Синтеко-Комплекс" (Приложение 1, 2).

Комплекты реагентов для диагностики COVID-19 успешно внедрены в лабораторную практику здравоохранения во всех регионах страны. Подробно об этом описано в Главах 2-5 и Приложениях 2-5.

За последние три года произведено и реализовано 218614 комплектов диагностических наборов для определения иммунохимическими методами:

- ***инфекций TORCH - группы - 37 902 набора;***
- ***сифилиса - 77 562 наборов;***
- ***ВИЧ - 40 250 наборов;***
- ***гепатитов - 50 022 набора (9 661 912 тестов);***
- ***грипп, парагрипп, РВИ - 5 054 набора (389 184 тестов).***

Произведено и реализовано комплектов диагностических наборов для определения инфекционного агента SARS-CoV-2:

- ***методом ПЦР - 28 329 наборов;***
- ***методом ИХА - 117 307 наборов.***

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Разработан и внедрен в здравоохранительную практику «Комплекс методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально значимых инфекционных заболеваний» для широкомасштабного обследования населения на наличие/отсутствие биологического поражения в том числе инфекциями TORCH-группы и вирусом SARS-CoV-2.

2. Разработаны, произведены и внедрены в состав «Комплекса» и практику подразделений здравоохранения:

- комплекты наборов реагентов для иммуноферментного анализа;
- комплекты наборов реагентов для иммунохроматографического анализа;
- комплекты наборов реагентов для иммунофлюоресцентного анализа;
- комплекты наборов реагентов для ПЦР-диагностики;
- АПК «Эксперт-Лаб», иммунохимический анализатор;
- АПК «Диagem» иммунофлюоресцентный иммуно-чип анализатор;
- «Рефлеком» - иммунохроматографический видеоцифровой анализатор;
- отечественное вспомогательное оборудование и материалы (полимерные изделия- кассеты, сорбенты, подложки, флаконы, наконечники), биоматериалы.

3. Опубликовано и внедрено в технологическую и исследовательскую практику, а также учебно-образовательный процесс порядка 200 научных статей, учебных пособий, монографий, патентов.

2. ГЛАВА ВТОРАЯ. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ НЕПРЯМОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ТВЕРДОФАЗНОМ НОСИТЕЛЕ

Комплект реагентов разрабатывался для использования в составе «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики коронавирусной инфекции иммунохимическими и амплификационными методами», а также для оснащения КДЛ и индивидуального применения. Иммуноферментный анализ имеет наибольшую информативность при диагностике инфекционных заболеваний. Исследования, выполняемые для обнаружения антигенов возбудителя и специфических антител к ним при инфекциях, являются доступными методами лабораторной диагностики

2.1. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Задачи работы: создать тест-системы для качественного и количественного определения антител классов G и M к возбудителю *COVID-19* методом непрямого иммуноферментного анализа на твёрдофазном носителе;

- пройти государственную регистрацию и запустить в промышленное производство

Пути реализации задач:

- выбор оптимального антигена возбудителя для получения иммуносорбентов;

- подбор оптимальной композиции специфических и неспецифических компонентов наборов;

- оценка чувствительности и специфичности новых тест-систем - организация производства и реализация новых тест-систем.

2.1.1. Описание исследования

Антиген. Для получения иммуносорбента использованы рекомбинантные очищенные антигены SARS-CoV-2, полученные из *E. coli*: нуклеокапсидный антиген и *spike*-антиген, несущий рецептор-связывающий домен. Антигены в концентрациях от 0,5 до 2 мкг/мл в 0,5 М карбонат-бикарбонатном буфере (pH=9,6) по отдельности вносили в лунки полистиролового планшета, инкубировали в течение 18-22 ч при температуре 4°C. Затем в лунки планшетов вносили блокирующий раствор с целью предотвращения неспецифических реакций со свободными от антигена участками пластика. Планшеты с блокирующим раствором выдерживали в течение 1 ч при комнатной температуре, затем отмывали деионизированной водой и высушивали при температуре 25-27° С и относительной влажности не более 60% в течение 3 ч. Планшеты с влагопоглотителем упаковывали под вакуумом в фольгированные пакеты.

Исследуемые образцы. В исследовании использованы 56 образцов сыворотки крови пациентов с положительным результатом ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2, предоставленные диагностическим центром «El Clinic» (г. Электрогорск, ЗАО «ЭКОлаб»). В качестве отрицательных исследованы 90 образцов сыворотки здоровых доноров (донации 2018 г.), предоставленные ГБУЗ «Областная станция переливания крови» (г. Владимир). Данные образцы хранились при минус 70° С и до исследования не подвергались размораживанию.

Процедура. При проведении ИФА для разведения исследуемых образцов использован фосфатный буфер, содержащий казеинат натрия. В качестве конъюгата использованы моноклональные мышиные антитела к Ig человека, меченные пероксидазой хрена, разведенные в стабилизирующем растворе. На первой стадии ИФА антитела к SARS-CoV-2 при их наличии в исследуемых образцах взаимодействовали с рекомбинантным антигеном, иммобилизованным в лунке планшета. На второй стадии антивидовой конъюгат связывался с образовавшимися комплексами «антиген-антитело», в

результате чего формировались комплексы «антиген иммуносорбента – Ig к SARS-CoV-2 образца – анти-Ig конъюгата», которые далее выявлялись в цветной реакции с индикаторным раствором, содержащим 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Интенсивность окрашивания реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации Ig к SARS-CoV-2 в образце. Результаты ИФА регистрировали спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность содержимого лунок планшета при двух длинах волн (450 нм и 620 нм).

Специфичность полученных иммуносорбентов протестирована для ИФА при исследовании сывороток здоровых доноров. Все образцы показали отрицательный результат по наличию Ig к разным антигенам SARS-CoV-2. Поскольку специфичность полученных иммуносорбентов сопоставима, то по результатам анализа данных, в качестве наиболее иммуногенного антигена для конструирования тест-системы выбран нуклеокапсидный антиген.

Получены тест-системы, в состав которых входят:

- иммуносорбент – рекомбинатный очищенный нуклеокапсидный антиген SARS-CoV-2, сорбированный в лунках 96-луночного разборного полистиролового планшета для иммунологических реакций с плоским дном;
- контрольный положительный образец;
- контрольный отрицательный образец;
- конъюгат (антитела моноклональные мышинные против IgG и IgM человека, меченные пероксидазой хрена), готовый к применению или его 10-кратный концентрат;
- раствор для разведения конъюгата (при комплектации концентратом конъюгата);
- раствор для разведения образцов;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином;
- раствор индикаторный;
- стоп-реагент.

Диагностическая эффективность оценена при сравнительных испытаниях в сравнении с аналогичными ИФТС производства фирм «Vitrotest» (Украина) и

«Euroimmun AG» (Германия). Пример результатов исследования образцов пациентов в различных ИФТС представлен в Приложении 2.1, табл. 2.1.1

Данные демонстрируют высокую корреляцию оценок наличия Ig к SARS-CoV-2 всеми тремя использованными тест-системами и составили 0,97 и 0,87, соответственно, а коэффициент корреляции оценок, полученных в двух последних тест-системах, составил 0,86, что свидетельствует о высокой диагностической эффективности новых тест-систем.

С тест-системой «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» исследованы сыворотки пациентов с положительным результатом ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2 [1]. Результаты данного исследования приведены в Приложении 2.2. (Табл. 2.2.1.)

Полученные данные свидетельствуют о том, что главными иммуногенами выступают нуклеокапсидный и *spike*-антиген. При этом наилучшую активность проявил нуклеокапсидный антиген, который выявил на один положительный образец больше и показал большую оптическую плотность по положительным образцам.

2.2. НАУЧНАЯ НОВИЗНА

В результате выполнения работы показано:

- разработанные тест-системы расширили панель диагностических тестов при этиологической диагностике SARS-COV-2;
- в процессе разработки тест-систем для диагностики COVID-19 методом иммуноферментного анализа исследована чувствительность и специфичность иммуносорбентов для проведения иммуноферментного анализа с использованием всех известных антигенов SARS-CoV-2;
- качественные наборы содержат протокол для полуколичественного определения.

2.3. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

2.3.1. Назначение

ИФА-SARS-CoV-2-AT-M:

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M» предназначен для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

ИФА-SARS-CoV-2-AT-G:

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G», для качественного и полуколичественного выявления антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

ФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный:

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный», предназначен для количественного выявления антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов. Набор может быть использован для оценки гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19, а также после вакцинации

Функциональное назначение: наборы используются, как вспомогательное средство в диагностике.

2.3.2. Аналитические и диагностические характеристики

ИФА-SARS-CoV-2-AT-M:

Чувствительность набора определяется по стандартной панели положительных образцов предприятия, содержащих антитела класса М к SARS-CoV-2 (СОП⁺-SARS-CoV-2-316), как процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%. При исследовании клинических образцов диагностическая чувствительность для доверительной вероятности 0,95 составила 99,50%-100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных образцов предприятия, не содержащих антитела класса М к SARS-CoV-2 (СОП-SARS-CoV-2-316), как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%. При исследовании клинических образцов диагностическая специфичность для доверительной вероятности 0,95 составила 99,86% - 100%.

ИФА-SARS-CoV-2-AT-G:

Чувствительность набора определяется по стандартной панели положительных образцов предприятия, содержащих антитела класса G к SARS-CoV-2, как процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.

Специфичность набора определяется по стандартной панели отрицательных образцов предприятия, не содержащих антитела класса G к SARS-CoV-2, как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный:

Аналитическая чувствительность составляет не более 0,5 ВАУ/мл. При исследовании клинических образцов *диагностическая чувствительность* для доверительной вероятности 0,95 составила 98,2%-100%.

Основные потребительские характеристики:

- базовый вариант комплектации позволяет проводить исследование 96 образцов, включая контрольный положительный образец и калибровочные пробы;
- предусмотрена возможность проведения отдельных исследований с использованием необходимого количества стрипов;
- предусмотрена остановка для ручного пользования и для ИФА-анализаторов.

2.4. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Исследуемые образцы. Сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 10 мкл;

- не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом;
- образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин;
- постановка ИФА согласно инструкции.

Хранение. Замораживание не допускается. Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Допускается хранение ФСБ-Т(х25) и стоп-реагента при температуре 2-30 °С.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.

2.5. СРАВНЕНИЕ С ЗАРУБЕЖНЫМИ И ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ АНАЛОГАМИ

Сравнение проводили с зарегистрированными аналогичными наборами фирмы

АО «Вектор-Бест» - не прямой ИФА (Приложение 2.3, Табл. 2.3.1-, 2.3.3):

- **набор реагентов** «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M» сравнивали с Набором реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ». Отличия нашего набора заключается в *дополнительном полуколичественном определении, что увеличивает достоверность результатов определения:*

- **набор реагентов** «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» сравнивали с Набором реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ». Отличия нашего набора заключается в *дополнительном полуколичественном определении, что увеличивает достоверность результатов определения и упрощает ход определения:*

- **набор реагентов** «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный» сравнивали с Набором реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ)» по ТУ 21.20.23-140-23548172-2021, серии: 1, 2. Работа наборов и условия постановки *практически идентичны.*

2.6. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК

При масштабах диагностических и скрининговых исследований, необходимых для получения информации о фактическом состоянии

эпидемиологического процесса, разработка, производство и внедрение в практику новых отечественных ИФТС вместе с продукцией других отечественных фирм-производителей позволило решить задачу расширения и обеспечения отечественного здравоохранения отечественными же средствами этиологической диагностики. Приложение 2.4.

2.7. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК

ИФТС прошли государственную регистрацию:

Набор реагентов "Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к SARS-CoV-2" "ИФА-SARS-CoV-2-AT-M", РУ № РЗН 2020/13045 от 25.12.2020 г.

Набор реагентов "Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к SARS-CoV-2" "ИФА-SARS-CoV-2-AT-G", РУ № РЗН 2020/12981 от 17.12.2020 г.

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител «ИФА-SARS-Cov-2-AT-G-Количественный», РУ № РЗН 2021/15302 от 14.09.2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Промышленное производство иммуноферментных тест-систем для выявления антител к SARS-CoV-2 является значительным вкладом в решение проблемы борьбы с пандемией COVID-19.

С 01.01.2021 г по 23.01.2022 г. ЗАО «ЭКОлаб» поставлено для нужд здравоохранения Российской Федерации 59 700 наборов (22 000 наборов для выявления IgM и 37700 наборов для выявления IgG), включая комплекты на 480, 192 и 96 определений. (Приложение 2.4).

3. ГЛАВА ТРЕТЬЯ. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGG» И «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGM» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА

Комплект реагентов разрабатывался для использования в составе «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики вируса SARS-CoV-2 иммунохимическими методами», а также для оснащения КДЛ и индивидуального применения.

Иммуноблот. Применяется в качестве более точного, «подтверждающего» анализа на предмет наличия инфекций, в том числе смертельно опасных, в организме человека. Интерпретация результатов линейного блота не вызывает затруднений. Кроме того, дополнительные контрольные линии, нанесенные на стрип, позволяют проводить полуколичественную оценку уровня антител к отдельным иммунодоминантным белкам возбудителя.

3.1. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Задачи работы:

- создать тест-системы для *in vitro* диагностики на основе линейного иммуноблоттинга (ИБ);
- создать тест-системы одновременно к четырем антиген вируса SARS-COV-2, для повышения диагностической значимости;
- создать тест-системы на основе линейного иммуноблоттинга, определяющую наличие IgG или IgM к отдельным антигенам возбудителя.

Пути реализации:

- конструирование рекомбинантных антигенов; - оценка диагностической эффективности тест-систем для выявления антител классов М и G к отдельным антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга в формате "Лайн-блот";

- усовершенствовать условия нанесения антигенов на нитроцеллюлозную мембрану.

3.1.1. Описание исследования

Антигены. Для конструирования тест-систем были выбраны все 4 структурных антигена SARS-CoV-2: белок нуклеокапсида (N), шипа (S), мембраны (M) и оболочки (E). Рекомбинантные белки получены методом клонирования ДНК

in vivo в культуре *E.coli*.

Иммуносорбент. Отработка условий получения иммуносорбента была выполнена с использованием сорбционной машины, позволяющей в автоматическом режиме наносить отдельные линии на нитроцеллюлозную мембрану. Экспериментальным путем были подобраны следующие условия:

- предварительная 20-мин блокировка нитроцеллюлозных мембран перед сорбцией в фосфатно-солевом буферном растворе, что снижает появление неспецифических сигналов при исследовании заведомо отрицательных образцов сыворотки крови;
- оптимальная продолжительность сорбции антигенов и контрольных линий на мембрану (всего 22 ч - менее продолжительная сорбция приводит к снижению активности иммуносорбента, а более длительная – не даёт усиления сигнала);
- оптимальными условиями внешней среды для процесса сорбции являются температура воздуха 2-8 °C и влажность не более 60%. При повышении температуры и влажности ухудшается качество антигенных и контрольных линий;
- 60-мин блокирование мембран после сорбции в фосфатно-солевом буферном растворе, содержащем 10% бычьего сывороточного альбумина (БСА), значительно улучшает специфичность иммуносорбента.

С целью получения иммуносорбента были протестированы рекомбинантные антигены SARS-CoV-2 в различных конечных концентрациях (от 0,01 мг/мл до 0,1 мг/мл) и наносили полученные разведения в виде отдельных линий на нитроцеллюлозную мембрану. После сорбции мембраны

нарезали на отдельные тест-полоски (стрипы) и исследовали методом ИБ с использованием заведомо положительных и отрицательных сывороток крови человека.

Критерием выбора оптимальной сорбционной концентрации служила хорошая чувствительность при отсутствии неспецифических сигналов. Схема нанесения антигенов отображена в Приложении 3, Рис.1.

3.1.2. Компоненты тест-системы (реагенты)

Следующим этапом разработки стал подбор состава реагентов для проведения анализа методом ИБ. Были исследованы конъюгаты антител к IgG и IgM человека с разными ферментными метками (конъюгат козьих поликлональных антител со щелочной фосфатазой и конъюгат мышинных моноклональных антител с пероксидазой хрена) и соответствующие каждой метке субстратные растворы. По результатам проведенных испытаний значительной разницы по чувствительности и специфичности выявлено не было. Однако при использовании фосфатазного конъюгата в паре с субстратным раствором BCIP/NBT окрашивание антигенных и контрольных линий при исследовании положительных образцов было более четким, в связи с чем выбор был сделан в пользу данных реагентов.

Относительно состава разводящего и промывающего растворов было установлено, что использование в качестве основы трис-солевого буферного раствора (ТСБР) предпочтительнее, чем фосфатно-солевого буферного раствора по причине лучшей специфичности. При этом обязательным оказалось добавление в ТСБР белковых компонентов (сухого молока и лизата обработанных ультразвуком клеток *E. coli*) для снижения вероятности появления неспецифических сигналов.

Анализ. Был отработан протокол проведения анализа. Экспериментальным путем было установлено оптимальное время инкубации стрипов иммуносорбента с исследуемым образцом (1 ч 30 мин), с конъюгатом

(1ч), с субстратным раствором (10 мин). Было подобрано количество промывок между стадиями (3 раза по 5 мин). Было выбрано оптимальное разведение образца (1:50).

Чувствительность и специфичность разработанной тест-системы была исследована на клиническом материале. В качестве положительного по наличию маркеров *COVID-19* клинического материала использовали 104 сыворотки крови пациентов с *COVID-19*, проходивших лечение в Первой Городской больнице имени Н.И. Пирогова г. Москвы (диагноз был верифицирован путем обнаружения РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР).

В Приложении 3.1, Табл. 3.1.1, 3.1.2 приведены сводные данные исследования образцов сыворотки крови пациентов с *COVID-19* на наличие IgG к SARS-CoV-2 в ИФА и ИБ. Данные демонстрируют высокую корреляцию оценок образцов в ИФА с использованием обеих тест-систем, как по значениям ОП, так и по итоговым оценкам тестов (коэффициенты корреляции 0,75 и 0,74).

Показана высокая корреляция итоговых оценок в ИФА и ИБ (коэффициенты корреляции 0,87 и 0,91) и практически отсутствие каких-либо зависимостей между результатами ПЦР и ИФА, а также между результатами ПЦР и ИБ (коэффициенты корреляции 0,02–0,34). Все 100 образцов сыворотки крови здоровых доноров, отобранных в 2018 г., при исследовании в разработанной тест-системе показали отрицательный результат (отсутствие окрашивания антигенных линий), что свидетельствует о хорошей специфичности тест-системы.

3.1.3. Интерференция и перекрестные реакции

Интерференция и/или перекрестная реактивность не наблюдались при исследовании образцов, содержащих билирубин -10 мг/мл, триглицериды - 15 мг/мл; или гемоглобин -10 мг/мл.

3.2. НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые разработаны отечественные тест-системы для выявления антител классов М и G к SARS-COV-2 в формате "Лайн-блот" на основе четырех антигенов. Их использование позволит более детально исследовать динамику иммунологической перестройки в ходе инфекции и поствакцинального периода.

3.3. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

3.3.1. Назначение

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» "Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgM" предназначен для качественного подтверждения выявления антител класса М к отдельным антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга в образцах сыворотки (плазмы) крови человека при «ручной» постановке или с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» "Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG" предназначен для качественного подтверждения выявления антител класса G к отдельным антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга в образцах сыворотки (плазмы) крови человека при «ручной» постановке или с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

Чувствительность и специфичность. Диагностическая чувствительность наборов по выявлению антител класса G и М к SARS-COV-2, как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, составляет 100%. Диагностическая специфичность наборов, как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, составляет 100%.

Особенности новой технологии. Первая технология линейного иммуноблота с четырьмя рекомбинантными белками собственного производства для выявления SARS-COV-2.

3.4 УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Тест-система Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgM

Исследуемые образцы. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 20 мкл. Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С.

При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом. Образцы, содержащие осадок, перед анализом требуется центрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин. Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Хранение. Хранение наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. После вскрытия упаковок

неиспользованные реагенты допускается хранить герметично закрытыми в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Транспортирование. При температуре от 2 до 8 °С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 25 °С в течение 10 сут.

Тест-система Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG:

Исследуемые образцы. Нативная сыворотка, плазма (с гепарином, цитратом натрия, ЭДТА) крови человека объемом не менее 20 мкл. Образцы сыворотки (плазмы) крови до исследования можно хранить не более 7 сут при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости хранения образцов более 7 дней рекомендуется разделить их на аликвоты и хранить при температуре от минус 20 до минус 70 °С. Размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. При работе с размороженными образцами следует учитывать, что каждый цикл оттаивания-замораживания приводит к разрушению выявляемых антител, снижая качество исследуемого материала. С целью получения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом. Образцы, содержащие осадок, перед анализом отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин. Сбор биологического материала должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований».

Хранение. Хранение тест-наборов должно осуществляться в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентируемый

температурный режим, в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

Транспортирование. При температуре от 2 до 8 °С (от 9 до 25 °С в течение 10 сут.) транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается.

3.5. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК

Тест-системы Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG и Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgM позволяют:

- детально представить динамику иммунологической перестройки в ходе протекания заболевания COVID-19;
 - дать научно-практические данные для схемы диагностики и лечения;
 - повысить эффективность лабораторной диагностики этой инфекции,
- поскольку метод позволяет делать заключение о наличии/отсутствии соответствующих специфических иммуноглобулинов без обязательного использования дополнительных диагностических тестов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Разработанные впервые в Российской Федерации тест-системы Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG и Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgM позволят расширить диагностику новой коронавирусной инфекции, показав статистическую динамику появления антител к разным антигенам у разных штаммов вируса. Новый метод исследования на основе иммунного блоттинга существенно пополнил арсенал средств диагностики вируса COVID-19.

4. ГЛАВА ЧЕТВЁРТАЯ. КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ АНАЛИЗА

Комплект реагентов разрабатывался для использования в составе «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики COVID-19 иммунохимическими методами», а также для оснащения КДЛ и индивидуального применения.

Иммунохроматографический анализ (ИХА) – экспресс-диагностика инфекционных заболеваний. При достижении достаточной быстроты ответа, экспресс-методы приобретают важное ориентирующее значение для своевременного проведения комплекса противоэпидемических мероприятий.

4.1. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Задачи работы:

Создать комплект наборов реагентов для диагностики *COVID-19*, методом иммунохроматографии, включающих:

- набор для выявления антигена *SARS-COV-2* в назофарингеальном мазке человека;
- высокочувствительный набор для выявления антигена *SARS-COV-2* в слюне человека, доступный для самотестирования;
- набор для одновременного дифференцированного выявления антител классов М и G к *SARS-CoV-2* доступный для самотестирования с использованием отечественного специфического сырья;
- оценить диагностическую ценность наборов реагентов для экспресс-диагностики коронавирусной инфекции;
- внедрить в производство комплект наборов реагентов для экспресс-диагностики коронавирусной инфекции.

Пути реализации задач:

- выбор наиболее иммунодоминантных белков SARS-CoV-2 и отработки технологии их конъюгирования с наночастицами коллоидного золота;
- подбор состава буферных растворов для обработки мембран, разведения конъюгатов, образца;
- подбор условий сорбции биомолекул на мембрану или твердую фазу иммуносорбента.

4.1.1. Разработка набора реагентов «тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-COV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека» «ИХА-SARS-COV-2-AG»

На предприятии разработан и внедрен в производство экспресс-тест для диагностики COVID-19 «ИХА-SARS-CoV-2-Ag». В изделии тест-полоски использован *sandwich*-метод иммунодетекции. При наличии в исследуемом образце антигена SARS-CoV-2, он связывается с конъюгатом моноклональных антител к вирусу с наночастицами коллоидного золота, затем под действием капиллярных сил комплекс "антиген-антитело конъюгата" мигрирует к тестовой зоне тест-полоски, где связывается с иммобилизованными в этой области моноклональными антителами к SARS-CoV-2, образуя окрашенный комплекс "антитело конъюгата-антиген-антитело подложки".

Для достижения оптимальной чувствительности, исследуемый материал должен быть собран в первые дни болезни, когда концентрация вируса в рото- и носоглотке позволяет с наибольшей вероятностью определить его с помощью иммунохроматографического анализа.

Для разработки и производства таких тестов наиболее использовали моноклональные антитела именно к нуклеокапсидному белку (N-белку) SARS-CoV-2, поскольку этот белок обильно экспрессируется во время инфекции, в отличие от белка шипа *Spike* (S-белка). Благодаря природе аналита тест способен определять все варианты SARS-CoV-2 с мутациями в S-белке.

Технической задачей разработки явилось создание иммунохроматографической тест-системы для быстрого, визуального выявления антигена SARS-CoV-2 с целью высокоэффективной скрининговой и подтверждающей диагностики новой коронавирусной инфекции. Устройство представляет собой пластиковый картридж с двумя отверстиями: круглым, с маркировкой «S» образца и аналитического окна, с маркировкой «С», «Т». В картридж заключена тест-полоска, состоящая из:

- подложки из поливинилхлорида, размером 60х4 мм, толщиной 0,2-0,6 мм;
- иммуносорбента, представляющего собой полосу нитроцеллюлозной мембраны с большой пропускной способностью, размером 30х4 мм, толщиной 185 мкм $\pm$ 20%, с нанесёнными на тестовую линию мышинными моноклональными антителами к антигену N SARS-CoV-2 (тестовая линия) в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в трисовом и козьими антителами к IgG кролика (контрольная линия) в концентрации ≥ 1 мг/мл в трисовом буфере (pH 7,4);
- мембраны для нанесения конъюгата размером 6х4 мм, с нанесённым и высушенным конъюгатами кроличьих иммуноглобулинов класса G в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в фосфатном буфере (pH 7,4) и мышинными моноклональными антителами к антигену N SARS-CoV-2 в концентрации $\geq 0,75$ мг/мл в фосфатном буфере (pH 7,4) с коллоидными частицами золота (размер частиц 30 - 80 нм);
- впитывающей мембраны для нанесения образца, размером 20х4 мм, толщиной 0,6-0,8 мм, плотностью 270 ± 20 г/м²;
- мембраны для адсорбции, размером 16х4 мм, толщиной 0,3-0,5 мм, плотностью 179 ± 5 г/м².

Описание процедуры изготовления приведено в Приложение 4.1.

4.1.2. Набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-COV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva»

В разработан и разрешен к реализации на территории России (РЗН № РЗН 2022/19102 от 12.12.2022 г.) экспресс-тест для определения нуклеопротеина

SARS-CoV-2 в слюне «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva». Тест характеризуется высокой чувствительностью благодаря чему способен выявлять инфекцию задолго до начала клинических симптомов. Слюна имеет ряд преимуществ по сравнению с забором мазков из носоглотки, включая снижение риска для медицинских работников во время тесного контакта и потенциального образования аэрозолей при сборе образцов мазков, снижение дискомфорта пациента, отсутствие требований к специализированным расходным материалам и обученным медицинским работникам.

Использование слюны в качестве диагностического образца может предоставить возможности для тестирования методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией SARS-CoV-2 (ОТ-ПЦР) в отдаленных районах и странах с ограниченными ресурсами, а также сделать возможным масштабируемый скрининг на уровне населения. Принцип анализа аналогичен таковому в наборе для исследования образца мазка.

Технической задачей разработки явилось создание иммунохроматографической тест-системы для быстрого, визуального выявления антигена SARS-CoV-2 в слюне с целью высокоэффективной скрининговой и подтверждающей диагностики новой коронавирусной инфекции и самотестирования. В работе исследованы образцы биоматериала (слюна) в количестве 147 (n=147). Использованные материалы в Приложении 4, Табл. 1

Устройство представляет собой пластиковый картридж с двумя отверстиями: круглым, с маркировкой «S» образца и аналитического окна с маркировкой «С», «Т».

В картридж заключена тест-полоска, состоящая из:

- подложки из поливинилхлорида, размером 60х4 мм, толщиной 0,2-0,6 мм;
- иммуносорбента, представляющего собой полоску нитроцеллюлозной мембраны с большой пропускной способностью, размером 30х4 мм, толщиной 185 мкм $\pm$ 20%, с нанесёнными на тестовую линию мышинными моноклональными антителами к антигену N SARS-CoV-2 (тестовая линия) в концентрации ≥ 1 мг/мл в фосфатном буфере и козьими антителами к IgG

кролика (контрольная линия) в концентрации ≥ 1 мг/мл в фосфатном буфере (рН 7,4);

- мембраны для нанесения конъюгата, размером 6х4 мм, с нанесённым и высушенным конъюгатами кроличьих иммуноглобулинов класса G в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в фосфатном буфере (рН 7,4) и мышинными моноклональными антителами к антигену N SARS-CoV-2 в концентрации $\geq 1,5$ мг/мл в фосфатном буфере (рН 7,4) с коллоидными частицами золота (размер частиц 30 - 80 нм);

- впитывающей мембраны для нанесения образца, размером 17х4 мм, толщиной 0,6-0,8 мм, плотностью 270 ± 20 г/м²;

- мембраны для адсорбции, размером 16х4 мм, толщиной 0,3-0,5 мм, плотностью 179 ± 5 г/м².

Устройство тест-полоски, учет результатов и принцип анализа аналогично таковым в тесте «ИХА-SARS-CoV-2-Ag». Набор реагентов дополнительно включает пластиковый флакон с буферным раствором (БР), пробирку для экстракции с колпачком-капельницей, воронку, пакет для утилизации.

Способ приготовления иммунохроматографического набора реагентов обнаружения антигена SARS-CoV-2 в слюне подробно описано в Приложении 4.2).

4.1.3. Разработка набора реагентов «тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-COV-2 в образцах сыворотки (плазмы) или цельной крови человека» «ИХА-COVID-19-IGM/IGG»

Набор "ИХА-COVID-19-IgM/IgG" разработан в 2020 г. При его разработке были учтены рекомендации Минздрава России, сделанные на основе накопленной к тому времени информации о динамике антителообразования при этой инфекции.

Разработанные тесты ценны тем, что они позволяют лечащему врачу оперативно отслеживать динамику развития инфекции, с той ее стадии, когда

контроль с помощью ПЦР становится уже затруднительным, а информация о наличии и тем более содержании в крови пациента антител различных классов существенно более значима, нежели данные о наличии НК вируса в отделяемом носа и носоглотки.

В наборах реагентов для ИХА-тестов на антитела к SARS-CoV-2 в качестве захватывающих антител для тестовых зон соответствующих ИХА-тест-полосок используются мышинные моноклональные антитела к IgM и к IgG человека. Для зоны контроля обычно используют козы антитела к мышинным IgG. Антитела наносятся в виде линий на нитроцеллюлозную мембрану CN140 с помощью автоматического диспенсера. На стекловолоконную мембрану для конъюгата наносят смесь конъюгатов мышинных IgG и рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 (либо одного выбранного антигена) с наночастицами коллоидного золота. Наибольшая чувствительность теста достигается при использовании конъюгатов рекомбинантных аналогов N-белка и RBD-домена S-белка.

В ходе внутренних клинико-лабораторных испытаний разработанного набора реагентов было проанализировано 332 образцов сыворотки крови (из них - 113 образцов, содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2, и 209 образцов, не содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2, 300 проб плазмы и 150 образцов цельной венозной крови человека, содержащих различные антикоагулянты (из них - 75 образцов, содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2, и 75 образцов, не содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2), 60 образцов капиллярной крови человека ((из них - 30 образцов, содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2, и 30 образцов, не содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2)). В приложение 4 описаны использованные материалы. На Рис. 2 Приложения 4.3 представлено строение тест-полоски набора "ИХА-COVID-19-IgM/IgG".

Технической задачей разработки явилось создание тест-системы иммунохроматографической для быстрого, бесприборного, дифференцированного выявления антител классов М и G к SARS-CoV-2 с использованием наиболее иммунодоминантных белков коронавируса с целью

высокоэффективной скрининговой диагностики новой коронавирусной инфекции.

В разработанной тест-системе использован метод «захвата коллоидного золота», «непрямой метод коллоидного золота» и метод «сэндвича» с двойным антигеном коллоидного золота. Антиген представляет собой высокоактивный рекомбинантный антиген, экспрессируемый путем слияния фрагментов N-белка и доминирующих эпитопов S-белка, и используется непрямая маркировка коллоидным золотом. Подушка для образца предварительно обработана, поэтому влияние сложных компонентов крови на реакцию значительно снижается. Для разработанного диагностикума не требуется техническое устройство для обнаружения. Диагностикум прост, удобен и гибок в эксплуатации. Оператор может напрямую и вручную получать и интерпретировать (до 15 мин) результат обнаружения.

Тест-кассета представляет собой пластиковый картридж с тремя отверстиями: круглым, с маркировкой «В» для внесения буферного раствора, квадратным, с маркировкой «S» для внесения образца крови, сыворотки или плазмы крови, аналитического окна с маркировкой «С», «IgG», «IgM». В картридж заключена тест-полоска.

Тест-полоска состоит из:

- подложки из поливинилхлорида, размером 60х4 мм, толщиной 0,2-0,6 мм; - иммуносорбента, представляющего собой полосу нитроцеллюлозной мембраны с большой пропускной способностью, размером 30х4 мм, толщиной 185 мкм $\pm$ 20%, с нанесёнными на тестовые линии мышинными моноклональными антителами к IgM и мышинными моноклональными антителами к IgG человека в концентрации $\geq 0,5$ мг/мл в фосфатном буфере (pH 7,4) и козьими антителами к IgG мыши (контрольная линия) в концентрации ≥ 1 мг/мл в трисовом буфере (pH 7,4); - мембраны для нанесения конъюгата, размером 6х4 мм, с нанесёнными и высушенными конъюгатами рекомбинантного антигена коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации ≥ 1 мг/мл, в фосфатном буфере (pH 7,4) и мышинных иммуноглобулинов класса G в концентрации $\geq 0,5$

мг/мл в фосфатном буфере с коллоидными частицами золота (размер частиц 30 – 80 нм);- впитывающей мембраны для нанесения образца, размером 20х4 мм, толщиной 0,6-0,8 мм, плотностью 270 ± 20 г/м²;
- мембраны для адсорбции, размером 16х4 мм, толщиной 0,3-0,5 мм, плотностью 179 ± 5 г/м²).

Способ приготовления иммунохроматографического набора реагентов обнаружения антител к *COVID-19* включает подробное описание в Приложении 4.3.

Исследование интерференции в наборе реагентов «ИХА-*COVID-19*-IgM/IgG». Потенциальные интерферирующие вещества добавляли в пулы сывороток, содержащих и не содержащих антитела к *SARS-CoV-2*.

Образцы были испытаны с помощью набора реагентов «ИХА-*COVID-19*-IgM/IgG» в трех повторах с последующей визуальной интерпретацией, происходящей через 10-15 минут после внесения образцов. Результаты представлены в таблицах 4.4.1 и 4.4.2 Приложения 4.4.

4.2 НАУЧНАЯ НОВИЗНА РАБОТЫ

Впервые были созданы и промышленно произведены отечественные наборы реагентов из отечественного сырья, обеспечивающие всестороннее решение вопросов экспресс-диагностики *COVID-19*.

Впервые создан и внедрен набор реагентов с методом захвата коллоидного золота, непрямым методом коллоидного золота и методом сэндвича с двойным антигеном коллоидного золота, имеет короткое время обнаружения, может интерпретировать результат всего за 15 мин и является точным в результате обнаружения.

Разработан и внедрен комплекс ИХА тестов, позволяющий проводить исследования из различных биологических материалов с обнаружением различных и антител, и антигенов.

4.3. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Комплект набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» предназначен для одноэтапного быстрого качественного дифференцированного выявления IgM и/или IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека методом иммунохроматографического анализа с целью первичной диагностики коронавирусной инфекции COVID-19:

- исследуемые образцы- сыворотки плазмы или цельной крови человека, объёмом не менее 10 мкл;
- время достижения устойчивых результатов 10-15 мин;
- чувствительность диагностикума (определяется по стандартной панели положительных образцов предприятия, содержащих и не содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2, как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные) - 100%;
- специфичность диагностикума (определяется по стандартной панели отрицательных образцов предприятия, содержащих и не содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2, как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные) - 100%;
- диагностическая чувствительность в ходе настоящих испытаний для 50 положительных образцов, содержащих IgM/IgG - 98 % (94-100 %) с доверительной вероятностью 95 %;
- диагностическая чувствительность в ходе настоящих испытаний для 50 положительных образцов, содержащих IgM - 98 % (94-100 %) с доверительной вероятностью 95 %;
- диагностическая чувствительность в ходе настоящих испытаний для 50 положительных образцов, содержащих IgG - 98% (94-100 %) с доверительной вероятностью 95 %;

- диагностическая специфичность для 50 отрицательных образцов, не содержащих IgM/IgG - 100% (96 -100 %) с доверительной вероятностью 95 %.

Комплект набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека «ИХА-SARS-CoV-2-Ag» предназначен для одноэтапного быстрого качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки человека методом иммунохроматографического анализа с целью предварительного скринингового обследования и подтверждения при диагностике COVID – 19:

- исследуемые образцы- мазки, полученные из носоглотки пациента;
- время достижения устойчивых результатов 10-15 мин;
- чувствительность определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих и не содержащих антигены вируса SARS-CoV-2, как процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%;
- специфичность диагностикума определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих и не содержащих антигены вируса SARS-CoV-2 как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%;
- аналитическая чувствительность (порог обнаружения) - $2,5 \times 10^{1,8}$ ТЦД₅₀/мл SARS-CoV-2 выделенного у пациента с подтвержденной инфекцией COVID-19 в России;
- диагностическая чувствительность реагентов: 99,46 – 100% (с доверительной вероятностью 95%);
- диагностическая специфичность реагентов: 99,70 – 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Комплект набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva» предназначен для качественного обнаружения антигена коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале

человека (слюна), взятом у лиц с клиническими симптомами инфекции, вызванной SARS-CoV-2, методом иммунохроматографии:

- исследуемые образцы- слюна пациента в объёме около 500 мкл;
- время достижения устойчивых результатов 10-15 мин;
- чувствительность определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих и не содержащих антигены вируса SARS-CoV-2, как процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные, и составляет 100%.
- специфичность определяется по стандартной панели образцов предприятия, содержащих и не содержащих антигены вируса SARS-CoV-2 как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные, и составляет 100%.

4.4. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

4.4.1. Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека «ИХА-SARS-CoV-2-Ag»

Исследуемые образцы: мазки, полученные из носоглотки пациента. Для получения каждого мазка следует использовать отдельный стерильный тампон-зонд,

входящий в состав набора, и пробирку для экстракции

Проведение анализа:

1. Извлеките тест-кассету из индивидуальной упаковки, не касаясь окна для внесения образца «S». Промаркируйте тест-кассету фамилией или кодовым номером пациента и положите устройство на ровную горизонтальную поверхность.
2. Удерживая пробирку с ранее подготовленной пробой (п. Исследуемые образцы), внесите последовательно 3 капли (120 мкл) в круглое отверстие тест-

кассеты, промаркированное знаком «S» (рисунок 3). Для каждого образца необходимо использовать отдельную тест-кассету.

3. Запустите таймер.

4. Оцените результат реакции визуально через 10-15 минут. Не интерпретировать результаты позднее 20 мин после внесения пробы.

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2°C до 30°C. Подробнее описано в инструкции по применению набора реагентов Приложения 4.6

4.4.2. Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva»

Исследуемые образцы:

Слюна пациента в объеме около 500 мкл. Образец слюны следует собирать с помощью одноразовой воронки и пластиковой пробирки, входящих в состав набора, и хранить до 8 часов при комнатной температуре и до 24 час при 2–8 °C.

Проведение анализа:

1. Извлеките тест-кассету из индивидуальной упаковки, не касаясь окна для внесения образца «S». Положите устройство на ровную горизонтальную поверхность.

2. Удерживая пробирку с ранее подготовленной пробой, внесите последовательно 2 капли (80 мкл) в круглое отверстие тест-кассеты, промаркированное знаком «S». Для каждого образца необходимо использовать отдельную тест-кассету.

3. Запустите таймер.

4. Оцените результат реакции визуально через 8-15 минут. Не интерпретировать результаты позднее 20 минут после внесения пробы.

Хранение:

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2°C до 30°C. Подробнее описано в инструкции по применению набора реагентов Приложения 4.7

4.4.3. Комплект набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека»

Исследуемые образцы:

Образцы сыворотки, плазмы или цельной крови человека, объёмом не менее 10 мкл. Образцы сыворотки и плазмы (полученные с использованием гепарина, цитрата натрия, ЭДТА в качестве антикоагулянта) до проведения анализа можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более семи суток.

Проведение анализа:

1. Извлеките тест-кассету из индивидуальной упаковки. Промаркируйте тест-кассету фамилией или кодовым номером пациента и положите устройство на ровную горизонтальную поверхность.
2. Сожмите одноразовую пластиковую пипетку, входящую в набор, коснитесь поверхности исследуемого образца и медленно разжимая заполните пипетку исследуемым образцом до синей риски:
 - удерживая пипетку вертикально, нажатием внесите пробу в отверстие тест-кассеты, промаркированное знаком «S»;
 - удерживая флакон-капельницу вертикально над круглым отверстием тест-кассеты, позвольте 2 каплям буферного раствора упасть в отверстие тест-кассеты, промаркированное знаком «B»;
 - запустите таймер.

Хранение обеспечивается в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2°C до 30°C. Подробнее в инструкции по применению набора реагентов в Приложении 4.8.

4.5. СРАВНЕНИЕ С ЗАРУБЕЖНЫМИ И ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ АНАЛОГАМИ

Проводили сравнение набора реагентов «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» и оценку эквивалентности сыворотки крови человека к его плазме крови в сравнении с набором-аналогом. Сравнительные исследования по двум наборам показали идентичные результаты. (Приложение 4.5.)

4.6. ПАТЕНТО-ЛИЦЕНЗИОННАЯ ЦЕННОСТЬ

Патент на набор реагентов «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» и «Способ одновременного дифференцированного определения специфических антител классов М и G к вирусу SARS-CoV-2 методом иммунохроматографии и устройство для его реализации» прошел первичную экспертизу в ФИПС. Приложение 4.9

Изобретение определяет новый набор для обнаружения антител к SARS-CoV-2 (IgM/IgG) и относится к области биотехнологии. Набор применяет метод захвата коллоидного золота, непрямой метод коллоидного золота и метод сэндвича с двойным антигеном коллоидного золота. Антиген представляет собой высокоактивный рекомбинантный антиген, экспрессируемый путем слияния фрагментов N-белка и доминирующих эпитопов S-белка, и используется непрямая маркировка коллоидным золотом. Подушка для образца предварительно обработана, поэтому влияние сложных компонентов образца крови на реакцию значительно снижается. Для набора не требуется прибор для обнаружения, он прост, удобен и гибок в эксплуатации, может напрямую и вручную интерпретировать результат, имеет короткое время обнаружения, может интерпретировать результат всего за 15 минут и является точным в результате обнаружения.

Технической задачей разработки набора явилось создание иммунохроматографической тест-системы для быстрого, бесприборного, дифференцированного выявления антител классов М и G к SARS-CoV-2 с использованием наиболее иммунодоминантных белков коронавируса с целью высокоэффективной скрининговой диагностики новой коронавирусной инфекции.

Полезная модель представляет собой пластиковый картридж с тремя отверстиями: круглым отверстием с маркировкой «В» для внесения буферного раствора, квадратное отверстие с маркировкой «S» для внесения образца крови, сыворотки или плазмы крови, аналитическое окно с маркировкой «С», «IgG», «IgM». В картридж заключена тест-полоска.

4.7. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК

1. Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу в образцах сыворотки (плазмы) или цельной крови человека» «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» зарегистрирован в России и разрешен к применению в диагностической практике. Регистрационное удостоверение № РЗН 2020/11925 от 14.09.2020г.
2. Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag» зарегистрирован в Российской Федерации и разрешен к применению в диагностической практике. Регистрационное удостоверение № РЗН 2021/13607 от 01.03.2021г.
3. Разработан и проходит регистрационные испытания Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva», серия 01»

Результаты разработки иммунохроматографических тест-систем для качественного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 и антигена коронавируса в мазке внедрены в практику в реальных жизненных условиях и получили положительные отзывы об удобстве и качестве.

После выхода в свет «Временных методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению коронавирусной инфекции -15 версия» спрос за антигенные ИХА тесты значительно возрос. Это связано с тем, что в вышеуказанном документе иммунохимические тесты рекомендованы для этиологической диагностики COVID-19 наряду с молекулярными методами. Это было крайне важное решение правительства России, которое позволило в разы увеличить пропускную способность диагностических лабораторий, значительно ускорить выдачу результатов пациентам, когда это было жизненно необходимо. Кроме того, этот шаг значительно упростил работу сотрудникам лечебных учреждений, позволяя выдавать результат в течение 10 мин, а не 2-3 дней, как это было, когда только по ПЦР можно было диагностировать заболевание.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

В связи с тем, что COVID-19 приобретает статус сезонной ОРВИ-подобной инфекции, важным остается вопрос диагностики вируса, в том числе и по причине феномена антителозависимого усиления инфекции, когда анти-*Spike* IgG в крови тяжелобольных пациентов с COVID-19 вызывают гипервоспалительный ответ со стороны макрофагов человека, который впоследствии нарушает целостность легочного эндотелиального барьера и вызывает тромбоз микрососудов. В этой связи никогда не потеряют своей актуальности визуальные экспрессные методы диагностики, предназначенные как для лабораторной, так и домашней практики. Несмотря на то, что вирус порождает новых мутантов, нуклеопротеин остается высококонсервативным белком коронавирусов, в этой связи тесты, разработанные на основе этого

белка, остаются способны выявлять специфические антитела с высокой долей вероятности.

Разработанные и прошедшие госрегистрацию иммунохроматографические тест-системы широко используются в здравоохранительной практике. Тест для определения коронавируса в слюне является перспективным развитием ведущихся исследований. После завершающей стадии Государственной регистрации тест будет доступен во всех аптеках и маркетплейсах России. Отсутствие контакта с пациентом значительно упростит процедуру диагностики внутри лечебных учреждений, а простота теста позволит без трудностей производить самодиагностику и диагностику у постели больного. Тест для определения антигена коронавируса в мазке пользуется большим спросом у потребителя, поскольку является подтверждающим наряду с ПЦР.

Таким образом, разработчики подготовили высокопроизводительный и доступный комплект экспресс-тестов для диагностики *COVID-19* на разных этапах развития болезни, а также для мониторинга иммунного статуса реконвалесцента, когда необходимо учитывать уровень противовирусных антител.

5. ГЛАВА ПЯТАЯ. КОМПЛЕКТ РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Комплект реагентов разрабатывался для использования в составе «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики коронавирусной инфекции иммунохимическими и амплификационными методами», а также для оснащения КДЛ и индивидуального применения. Используемая при создании диагностикума полимеразная цепная реакция (ПЦР) - позволяет найти в исследуемом материале небольшой участок генетической информации любого организма и имеет большое значение в молекулярно-генетических исследованиях. позволяет добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале.

5.1. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Задачи работы:

- разработать универсальный набор реагентов для быстрого и удобного выявления РНК коронавируса SARS-COV-2, позволяющий сократить время исследования минимум в два раза путём, путём исключения длительного и трудоёмкого этапа выделения РНК из клеток биологических образцов;
- создать систему одновременного контроля правильности взятия образца, качества образца и прохождения всех этапов реакции: лизис клеток, обратная транскрипция, амплификация в одной пробирке;
- разработать набор реагентов, позволяющий исключить инфицирование персонала при проведении исследований биообразцов на SARS-COV-2, снизить риск контаминации между образцами для получения истинных результатов анализа;

- осуществить испытание и государственную регистрацию диагностикумов и запустить в промышленное производство комплект набора реагентов «КовидЭК Директ».

Пути реализации поставленных задач:

- выбор олигонуклеотидных праймеров, имеющих специфические области гибридизации с открытой рамкой считывания OFR и геном нуклеопротеина N коронавируса SARS-CoV-2, геном Рибонуклеазы Р (РНКаза Р) человека, с сигналом детекции олигонуклеотидных зондов;
- разработка состава реакционной смеси, содержащей энхансеры, позволяющие нуклеиновым кислотам сохранять свою целостность для ее накопления ферментами реакции;
- разработка программы проведения анализа;
- получение высокой чувствительности и воспроизводимости прямой ПЦР.
- выбор условий инаktivации биологических образцов, не влияющих на результат анализа прямой ПЦР;
- разработка транспортных сред для хранения мазков, не ингибирующих прямую ПЦР;
- определение интерферирующих вещества.

5.1.2. Описание исследования

Выбор олигонуклеотидов

На основе данных литературы и результатов анализа нуклеотидных последовательностей, представленных в базе данных GenBank, было использовано 870 полноразмерных геномов SARS-CoV-2, представляющих вирусные изоляты от пациентов, живущих в разных географических регионах. Для создания праймеров были выбраны две геномные области коронавируса SARS-2 - нуклеокапсид (N) и открытая рамка считывания (ORF1ab).

Праймеры были разработаны после определения условий реакции, таких как GC%, температура плавления (T_m), длина праймера и их взаимосвязи между собой,

В качестве гена-мишени контроля реакции был выбран ген человека эндорибонуклеаза (РНКаза Р). Человеческая рРНК проходит в методе ПЦР те же этапы, что и вирусная РНК, а именно: лизис клетки, обратную транскрипцию, амплификацию.

Выравнивание 200 нуклеотидных последовательностей гена Рибонуклеазы Р, взятых в базе данных GenBank, показало консервативные участки для расчета олигонуклеотидов.

Подбор реакционной смеси проводили на основе нескольких энхансеров, таких как бетаин, диметилсульфоксид (ДМСО), формамид и некоторых детергентов IGEPAL, додецилсульфат натрия (SDS) в разных концентрациях. Для создания реакционной смеси предлагаются следующие компоненты: 2х ПЦР буфер (0,5 М Tris Cl, pH 8.6, 0,05 М KCl, 15 mM MgCl₂, 1% Tween 20), рабочая концентрация Taq-полимеразы - 5 ед/мкл, рабочая концентрация каждого праймера и зондов составляет 1 pM/мкл, 5 % ДМСО, 0,5 % IGEPAL SA-630, 40 единиц ревертазы и 40 единиц ингибитора рибонуклеаз. Объем реакции 25 мкл. Объем пробы 5 мкл.

Подбор программы анализа. Оценка работоспособности набора реагентов проведена на биологических пробах от пациентов с подтвержденным клиническим диагнозом COVID-19 и с клиническими признаками ОРВИ. В качестве отрицательных образцов использовали штаммы из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США) и носо/ротоглотки мазки от клинически здоровых людей, не имеющих признаки ОРВИ (Приложение 5.1).

Подготовленные для проведения ПЦР пробирки помещали в амплификатор, который программировали по следующей схеме: обратная транскрипция – 55⁰ С, 10 мин, начальная денатурация 95⁰С 2 мин, основное циклирование 40 шагов при денатурации 95⁰С 5 сек. Отжиг 60⁰С 15 с, элонгация 67⁰С 15 с. Амплификацию и детекцию проводили как отдельно для выявления SARS-COV-2 по одному каналу (моноплексное выявление), так и одновременно выявляли SARS-COV-2 и ген человека по двум каналам (мультиплексное выявление) для оценки возможности конкуренции между

каналами для ВКО и спецификации. Включенный в тест ген РНКазы Р человека в качестве внутреннего контроля помогал оценивать качество проведенных исследований и достоверность результатов. Приборами для амплификации служили CFX-96 BIORAD, ДТ ДНК-технология, Quant Studio 5 Thermo Scientific и др.

Было проанализировано 229 образцов биологического материала пациентов с положительным результатом на SARS-CoV-2 (набор «РеалБест РНК SARS-CoV-2», АО «Вектор-Бест») и 100 мазков отрицательных по клиническим проявлениям и по ПЦР тесту (набор «РеалБест РНК SARS-CoV-2», АО «Вектор-Бест»). Результаты сравнительной детекции SARS-COV-2 и SARS-COV-2 + ген человека показаны на Рис. 1, 2, Приложения 5.2. Конкуренции между каналами не выявлено. Все результаты по выявлению положительных и отрицательных проб совпали с набором РеалБест РНК SARS-CoV-2», АО «Вектор-Бест», предусматривающих экстракцию РНК. Подобранная программа анализа (амплификации) позволяет проводить исследования методом прямой ПЦР, по двум канал детекции без конкуренции между ними за 60 мин.

Достижение высокой чувствительности и воспроизводимости. Специфичность обнаружения подтверждена методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей и доказана при исследовании РНК/ДНК микроорганизмов/штаммов из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США). При тестировании образцов ДНК/РНК вышеперечисленных микроорганизмов и ДНК человека неспецифических реакций выявлено не было. Используемые биоматериалы описаны в Приложении 5.1.

Аналитическая чувствительность. Для определения чувствительности были созданы искусственные положительные образцы на основе плазмид для двух SARS-CoV-2-специфичных фрагментов генов N и ORF, а также синтетическая ДНК - плазида со встройкой фрагмента гена РНКазы Р человека. На основе полученных плазмид при проведении испытаний для оценки аналитической чувствительности (предела обнаружения) готовили -

стандартный образец предприятия, концентрация 10^6 копий/мл, который последовательно разводили с шагом 10 от 10^6 ГЭ копий/мл до 10^2 ГЭ копий/мл. Подтверждение правильности синтеза нуклеотидной последовательности положительного контроля проводили методом циклического секвенирования по Сэнгеру на базе ООО «Евроген».

Искусственные положительные образцы были созданы путем добавления в отрицательные образцы рото/носоглоточных мазков, полученных от пациентов. Концентрацию приготовленного раствора искусственного защищенного специфического фрагмента гена определяли спектрофотометрически и методом построения калибровочной кривой в амплификации. Результаты по определению аналитической чувствительности набора реагентов «КовидЭк Директ» ЗАО «ЭКОлаб» приведены на Рис. 3, 4, Приложение 5.2

Повторяемость и воспроизводимость. Повторяемость и воспроизводимость определения РНК SARS-CoV-2 были установлены путем тестирования положительных и отрицательных носоглоточных мазков. Условия повторяемости включали в себя тестирование в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Коэффициент вариации для повторяемости рассчитывался по формуле: $CV_p, \% = Ct \text{ (стандотклон)} / Ct \text{ (ср.знач.)} \times 100 \%$ и не превышал 3 %.

Условия воспроизводимости – тестирование в разных лабораториях, разными операторами, в разные дни, на разных приборах, разных серий набора реагентов. Процедура проводилась двумя разными операторами с двумя разными наборами одной серии в разные дни. Коэффициент вариации для воспроизводимости рассчитывался по формуле: $CV_p, \% = Ct \text{ (стандотклон)} / Ct \text{ (ср.знач.)} \times 100 \%$ и не превышал 6 %.

Таким образом, воспроизводимость и повторяемость работоспособности набора реагентов «КовидЭК Директ» составляет 100%.

Подбор условий инактивации биологических образцов, не влияющих на результат анализа прямой ПЦР. Коронавирус SARS-COV-2 отнесен ко второй группе патогенности и представляет опасность инфицирования персонала лаборатории при проведении исследований. Был выбран режим инактивации при 70°C – в течение 5 мин. Носоглоточные мазки положительные на SARS-COV-2 в количестве 100 штук и в семи параллелях каждый анализированы параллельно с режимом инактивации и без него напрямую.

Результаты эксперимента показали, что нагревание мазков, содержащих коронавирус SARS-COV-2, при 70°C – в течение 5 мин не влияет на результат анализа. Результаты исследований влияния инактивации на носоглоточные мазки представлены в Табл. 5.22 и Рис. 5, 6, Приложения 5.2.

Влияние интерферирующих веществ. Содержание муцина или цельной крови, назального спрея, стероидов для кожи носа, средств для снятия аллергических симптомов, противовирусных препаратов, антибиотиков в мазках из носа, носоглотки и/или ротоглотки не влияют на результат анализа. Исследовали: назальный спрей - оксиметазолин 50% об/об, хлорид натрия (консервант); стероид для кожи носа - беклометазон 2,5 мг/мл, флунизолид 10 мг/мл, триамцинолона ацетонид 10 мг/мл, мометазон 10 мг/мл, флутиказон 5 мг/мл; средства для снятия аллергических симптомов - гистамина гидрохлорид 3 мг/мл; противовирусные препараты - альфа-интерферон 1000 МЕ/мл, занамивир 5 мг/мл, рибавирин 142 нг/мл, осельтамивир 0,15 мг/мл, лопинавир 4 мкг/мл, ритонавир 1 мкг/мл; антибиотики - левофлоксацин 0,1 г/мл, Азитромицин 0,25 г/мл; муцин (до 5% по объему); цельная кровь (до 5% по объему). Добавление мешающего вещества не оказало значительного влияния на результат теста.

5.2. НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые был создан и внедрен в отечественную практику набор реагентов на основе прямого варианта метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) исключая экстракцию РНК коронавируса SARS-COV-2, что позволило исключить возможность инфицирования персонала лаборатории и увеличить исследуемый поток проб.

Впервые внедрен набор реагентов прямой ПЦР, содержащий внутренний контрольный образец (ВКО), основанный на детекции гена человека наравне с детекцией искомого вируса, что впервые позволило выдавать достоверный результат исследования, ориентируясь, при оценке результата, на выявляемость гена самого пациента.

Впервые создан и внедрен в отечественную практику набор реагентов для прямой ПЦР с высокой чувствительностью анализа, позволяющий проводить исследования за 2 часа от момента поступления биоматериала в лабораторию до оформления результатов.

Впервые внедрён в отечественную практику набор реагентов для прямого мультиплексного варианта метода ПЦР, который позволил быстро и качественно оценивать результаты исследования

Впервые внедрен в лабораторную исследовательскую практику новый вариант метода ПЦР – прямая ОТ-ПЦР-РВ – который положил путь для изменения, ускорения, удешевления лабораторной диагностики молекулярно-диагностическим методом и для других патогенов.

5.3. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Назначение. Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-COV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-COV-2 в пробах клинического материала,

полученных при взятии мазка из носа, носоглотки и/или ротоглотки человека (без предварительного выделения РНК), методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени. Приложение 5.6

Для клинической лабораторной диагностики in vitro. Отличительные характеристики:

- амплификация проводится с нативными мазками, а не с очищенной вирусной РНК;
- клинические образцы (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки), помещенные в физиологический раствор, вносятся сразу (без этапа выделения РНК) в амплификационную смесь. Лизис вирусных частиц происходит в ходе процесса амплификации. ОТ-ПЦР реагент набора содержит ряд энхансеров ПЦР, которые позволяют нивелировать действие ингибиторов, содержащихся в мазках. Объем анализируемого образца для ОТ-ПЦР-РВ составляет 5 мкл;
- оценка результатов детекции происходит в связке с результатом детекции гена самого человека. Одновременный контроль качества отобранной исследуемой пробы, прохождение обратной транскрипции и амплификации происходит за счет обнаружения гена человека (РНКазы Р), который амплифицируется одновременно в реакции вместе с вирусными генами ORFlab и N, детекция которых происходит по двум разным каналам;
- набор реагентов позволяет быстро и надежно проводить тесты на вирус SARS-CoV-2 на основе метода прямой ПЦР, где все реакции-лизис клетки, обратная транскрипция, амплификация- протекают в одной пробирке.
- все реакции, происходящие в одной пробирке, проходят за 70 мин.
- исключает трудоемкий этап выделение, очищение нуклеиновой кислоты.

Аналитические и диагностические характеристики

Аналитическая чувствительность. Предел обнаружения РНК коронавируса человека SARS-CoV-2 составляет 1×10^3 геном-эквивалентов (ГЭ) в 1 мл анализируемого образца в реакции прямой мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ

из нативных мазков. Что сопоставимо с чувствительность наборов реагентов классической ПЦР с экстракцией РНК.

Диагностическая чувствительность реагентов прямой ОТ-ПЦ:

- РВ из нативных мазков: 99,64% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Диагностическая специфичность реагентов: прямой ОТ-ПЦР-РВ из нативных мазков: 99,77% - 100% (с доверительной вероятностью 95%).

Основные характеристики новой технологии:

- исследование на SARS-COV-2 проводится напрямую из нативных носо/ротоглоточных мазков;
- лизис клеток и вирусной оболочки, обратная транскрипция, амплификация проходят в одной пробирке за 70 мин;
- оценка результатов детекции происходит в связки с результатом детекции гена самого человека.

Клинические образцы (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки), помещенные в транспортную среду с муколитиком или физиологическим раствором, вносятся сразу в амплификационную смесь.

Амплификация. Подготовка ПЦР-смеси:

- разморозить все реагенты, перемешать и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования;
- в каждую постановку амплификации помимо исследуемых образцов (N) должны входить 2 контрольных образца: отрицательный контроль ПЦР (К-) и положительный контроль ПЦР (К+);

В пробирке объемом 1,5-2 мл приготовить «Мастер Микс»:

- 5*(N+1) мкл ОТ-ПЦР-реагента + 15*(N+1) мкл праймеров, где N -общее количество реакций амплификации с учетом контрольных образцов;
- перемешать «Мастер Микс» путем 5-ти кратного переворачивания пробирки, осадить кратковременным центрифугированием и внести по 20 мкл в пробирки для проведения ПЦР или в лунку планшета для проведения ПЦР;
- в подготовленные пробирки или лунки ПЦР планшета добавить по 5 мкл исследуемых мазков;

- поставить контрольные точки реакции амплификации:

К- – внести в пробирку (или лунку планшета) 5 мкл ОКО;

К+ – внести в пробирку (или лунку планшета) 5 мкл ПКО.

- герметично закрыть пробирки крышками, а ПЦР планшет заклеить полимерной пленкой, входящей в состав набора. В случае наличия пузырьков в растворе или капель на стенках пробирок – удалить кратковременным центрифугированием;

- поместить подготовленные для проведения ПЦР пробирки или ПЦР планшеты в амплификатор.

В соответствии с инструкцией, запрограммировать амплификатор согласно прописи: обратная транскрипция 55°C 10 мин 1 цикл; начальная денатурация 95°C 2 мин 1 цикл; денатурация 95°C 5 с, отжиг 60°C 15 с элонгация 67°C 15 с всего 5 слепых циклов; денатурация 95°C 5 сек, отжиг 60°C 15 с элонгация 67°C 15 с всего 40 циклов с детекцией;

Учет результатов проводится по анализу преодоления пороговой линии.

Хранение компонентов для амплификации:

- ОТ-ПЦР-реагента, праймеров COVID-19, положительного контрольного образца (ПКО), отрицательного контрольного образца (ОКО) должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24°C до -16°C в течение всего срока годности. Подробные условия эксплуатации прописаны в инструкции Приложения 5.7.

5.5. СРАВНЕНИЕ С ЗАРУБЕЖНЫМИ И ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ АНАЛОГАМИ

5.5.1. Сравнение результатов выявления SARS-COV-2 набором реагентов для прямой ПЦР “КовидЭК Директ” с наборами реагентов, предусматривающих экстракцию РНК

Проводили сравнительные исследования Наборов “АмплиСенс® COVID-19-FL” и “РеалБест РНК SAR-CoV-2”, которые в амплификации предусматривали использование выделенной очищенной вирусной РНК, а в качестве внутреннего контрольного образца применялась искусственная синтетическая нуклеотидная конструкция, добавляемая в каждую пробирку с образцами.

Мазки от клинически больных пациентов с подтвержденным диагнозом на коронавирус SARS-COV-2 были отобраны из носоглотки и ротоглотки. Экстракция РНК проведена с наборами фирм «Амплисенс» и «Вектор Бест» на основе преципитации. Для набора реагентов “КовидЭК Директ” экстракцию не проводили. Данные сравнительного выявления РНК коронавируса SARS-COV-2 тремя наборами для ПЦР-РВ представлены в Табл. 5.23. Приложение 5.2. Полученные результаты идентичны.

При оценке результатов контроля качества исследований и достоверности результатов по набору реагентов «КовидЭк Директ» визуально оценивалась каждая проба по эндогенному ВКО, так как каждый образец имел индивидуальную кривую детекции, характеризующее количество образца в пробе и уровень прохождения ОТ-ПЦР-РВ, в ОКО кривая отсутствует, в то время как экзогенное ВКО в наборах “АмплиСенс® COVID-19-FL” и “РеалБест РНК SARS-CoV-2” не давали возможность оценить каждую пробу по тем же критериям, так как наблюдался уровень сигнала и выход кривых детекции из одной точки по всем пробам, в ОКО кривая присутствует тоже.

Результаты регистрации внутреннего контрольного образца с набором «КовидЭк Директ» ЗАО «ЭКОлаб» и «АмплиСенс® COVID-19-FL» представлены на Рис. 7 и 8, Приложения 5.2.

5.5.2. Сравнение набора реагентов «КовидЭк Директ» с наборами, представленными на рынке предложений

Разработанный и охарактеризованный набор реагентов «КовидЭк Директ» сравнивали с наборами, используемыми сегодня в лабораторной практике от других производителей. Наборы реагентов производителей различных фирм и стран для диагностики *SARS-CoV-2* в различном исполнении представлены в Табл. 5.3.1, Приложения 5.3. Исследованные медицинские изделия выполнены под современный формат проведения ПЦР, который используется как в формате изотермической амплификации LAMP, так и широко используемого метода ПЦР с детекцией результатов в реальном времени. Обзор наборов для ОТ-ПЦР-РВ прямым методом, рассматриваемых в настоящем исследовании, представлен в Табл.5.3.2. Приложения 5.3.

Основные аналитические параметры, по которым проводилось сравнение:

- *аналитическая чувствительность* реагентов «КовидЭк Директ» не уступает реагентам, работающим с очищенной РНК, по сравнению с некоторыми из них обладает большей чувствительностью;
- *диагностическая чувствительность и специфичность*: диагностическая чувствительность реагентов «КовидЭк Директ» соответствует чувствительности реагентам, использующих в амплификации очищенную РНК, специфичность 100%;
- *внутренний контрольный образец*: наличие эндогенного ВКО в комплекте набора «КовидЭк Директ» и экзогенного для остальных наборов.
- *гены-мишени*. В качестве генетической мишени в наборах «КовидЭк Директ» используется несколько генов ORF1ab и N что увеличивает диагностическую значимость из-за изменчивости нуклеотидов.

- *время анализа.* У набора «КовидЭк Директ» время амплификации составляет 60 мин.

Таким образом, Комплект наборов реагентов для прямой ОТ-ПЦР-РВ «Ковидэк Директ», вышедшей первым на рынок диагностических медицинских изделий, отличается от аналогичных наборов тем, что имеет более эффективный эндогенный ВКО для качественного оценивания результатов и быстрым режимом амплификации, при сохранении высокой чувствительности.

5.6. ПАТЕНТНО-ЛИЦЕНЗИОННАЯ ЦЕННОСТЬ

Комплект наборов реагентов «КовидЭК Директ» имеет положительное решение на патент: «Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS -CoV-2 методом прямой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени». (Приложение 5)

Изобретение относится к области молекулярной биологии, вирусологии и биотехнологии, молекулярно-генетической диагностике, к разработке средств выявления и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний вирусной этиологии. Изобретение может быть использовано для выявления нуклеиновой кислоты (РНК) коронавируса SARS CoV-2 в биологических образцах, в частности, в назо- и орофарингеальных мазках пациентов с подозрением на респираторные инфекции, в том числе и на COVID-19.

Технический результат изобретения заключается в обнаружении РНК вируса SARS-COV-2 напрямую из назо- и орофарингеальных мазков без этапа экстракции: клетки человека, содержащие вирусный материал, подвергаются лизису на этапе обратной транскрипции и первоначальной денатурации в ходе процесса амплификации. ОТ-ПЦР смесь содержит ряд энхансеров ПЦР, которые позволяют нивелировать действие ингибиторов, содержащихся в мазках. Одновременный контроль качества отобранной исследуемой пробы, прохождение обратной транскрипции и амплификации происходит за счет обнаружения гена человека (РНКазы Р), который амплифицируется

одновременно в реакции вместе с вирусными генами ORFlab и N, детекция которых происходит по двум разным каналам.

Результаты представленных разработок внедрены в практику в реальных жизненных условиях и получили положительные отзывы об удобстве и качестве работоспособности диагностического препарата «КовидЭк Директ» ЗАО «ЭКОлаб».

Разработка носит также и прикладной характер, заключающийся в том, что она изменила подход в технологии ПЦР-исследований, в технологии разрабатываемых диагностических препаратах на основе ПЦР и оценки качества, получаемых результатов в лаборатории, повысить эффективность.

Практическая значимость разработок заключается в том, что новый диагностический препарат:

- позволил увеличить количество исследуемых проб на коронавирус SARS-COV-2 в короткий промежуток времени;
- позволил сократить время анализа на коронавирус SARS-COV-2;
- исключил возможность инфицирования персонала лаборатории при проведении исследовательской работы с биообразцами;
- изменил и упростил схему движения лабораторно-исследовательской деятельности при проведении полимеразной цепной реакции

Импортозамещение. В рамках Концепций «Фарма-2020», «Фарма -2030» - наши предприятия ведут работу по замещению импортной продукции конкурентоспособными продуктами отечественного производства, в частности, используя отечественные комплектующие и сырьё ФБУН «ГНЦ ПМБ». Доля импортного сырья и комплектующих не превышает в большинстве случаев 12-15%.

Предприятие ведет сотрудничество с отечественными разработчиками качественной и конкурентоспособной продукции в области молекулярной биологии и генетической инженерии: ФБУН «ГНЦ ПМБ», ФГУП «ГосНИИ БП», ООО «Иммуноскрин», ООО «Биолабмикс», ООО «Синтеко» и др. Базовые и вспомогательные реагенты и технические средства, используемые в

разработанном в клинико-лабораторном «Комплексе» и наборе реагентов «КовидЭк Директ», преимущественно отечественного производства (Табл. 5.5.1, Приложение 5.5.).

5.7. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК

Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» (Приложение 5.6), зарегистрирован в России и разрешен к применению диагностической практике. Первое регистрационное удостоверение на медицинское изделие получено 28 июля 2021 №РЗН 2021/14914.

Первая реализация 100 наборов «КовидЭК Директ» состоялась 29.07.2021 г. За месяцы его реализации диагностировано на коронавирус SARS-COV-2. более 5,5 млн людей в 2022 г. Для популяризации диагностики и вакцинации проведено 36 семинаров для потенциальных пользователей.

Реализация медицинских изделий проводится, в основном, тендерно - для поступления диагностикумов, как в государственные, так и в коммерческие лаборатории. (Табл.5.41, Приложение 5.4), но и по прямым продажам в лаборатории.

5.8. ПЕРСПЕКТИВЫ

В июле 2022 г. Всемирная организация здравоохранения признала чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения с оспой обезьян. В ЗАО «ЭКОлаб» разработан набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления и дифференциации ДНК вируса оспы обезьян и человека в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Предназначен для выявления ДНК вируса оспы обезьян (MPXV) и вирусов оспы, вызывающих заболевания человека (Variola, CPXV, MPXV) в пробах клинического

материала (препараты нуклеиновых кислот, выделенные из проб: содержимого кожных поражений (в зависимости от стадии болезни – везикул), мазков с задней стенки глотки и миндалин, цельной венозной крови (ЭДТА), аутопатов легких, печени и селезенки человека) методом полимеразной цепной реакции для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Комплект набора реагентов предназначен в качестве вспомогательного средства в диагностики инфицирования оспой обезьян при проведении диагностических исследований и эпидемиологического мониторинга. Диагностикум предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Разработан и внедрен в медицинскую практику высокоспециализированный и доступный набор реагентов для быстрого, чувствительного теста на основе лизиса клеточной стенки, обратной транскрипции и амплификации в режиме реального времени с применением эндогенного внутреннего контроля, где все реакции протекают в одной пробирке, выявляя два гена вируса: ген человека, который используется в качестве внутреннего контрольного образца, не требующий предварительной экстракции РНК, определяющий гены из предварительно инактивированных образцов.

2. Разработан новый вариант диагностического препарата, новую технологию исследования биологических образцов методом ПЦР, которая отличается тем, что впервые исключает трудоемкий этап в исследовании – экстракцию нуклеиновой кислоты; исключает возможность инфицирования персонала, проводящего исследования на коронавирус SARS-COV-2; вводит одновременную оценку качества взятия и хранения исследуемого биоматериала; ускоряет диагностические исследования в 2 раза по сравнению с используемыми классическими вариантами ПЦР; увеличивает поток проб для

исследований и несет экономическую эффективность как для лабораторий так и для пациентов.

3. Разработка и производство Комплекта набора реагентов «КовидЭК Директ» имеет научную и практическую значимость, открывающую новое направление в технологиях проведения клинических лабораторных исследований методом полимеразной цепной реакции.

6. ГЛАВА ШЕСТАЯ. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕННОГО БИОКОМПОНЕНТА ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ COVID-19

6.1. КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА НУКЛЕОКАП- СИДНОГО АНТИГЕНА ВИРУСА SARS-COV

Анализ гена *nc* SARS-CoV-2, проведенный с использованием пакета программ DNASTAR LASERGENE показал, что в его структуре достаточно много кодонов, которые неэффективно транслируются в клетках *E. coli*. Это может приводить к недостаточному синтезу рекомбинантного белка нуклеокапсида в клетках штаммов-продуцентов. В частности, в структуре белка - нуклеокапсида аминокислота пролин кодируется кодоном CCC, который плохо распознается т-РНК клетками штамма-продуцента *E. coli*.

Для оптимизации структуры гена *nc* следовало заменить кодон CCC на CCT(A). Для этого требовалось провести работу по направленному мутагенезу с последующим секвенированием. Учитывая ее избыточную трудоемкость, было принято решение синтезировать *de novo* ген, кодирующий синтез белка-нуклеокапсида, в котором кодон CCC заменен на CCT, способный эффективно транслироваться в клетках *E. coli*. Оптимизацию нуклеотидной последовательности гена *nc* проводили с использованием программы IDT Codon Optimization. Для удобства последующего клонирования на концах последовательности предусмотрели сайты рестрикции NcoI и BamHI. Синтез оптимизированной нуклеотидной последовательности, размером 1278 п.о. был произведен с помощью синтезатора.

6.2. КЛОНИРОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ГЕНА NC В СОСТАВЕ ВЕКТОРНОЙ ДНК PSE380

Поскольку в структуру синтезированного гена были включены сайты рестрикции NcoI и BamHI, процедура субклонирования синтезированного гена была проведена стандартным рестриктазно-лигазным методом по соответствующим сайтам векторной плазмиды pUC57Km. Затем ген *nc* был

переклонирован в состав экспрессирующего плазмидного вектора pSE380 под контроль сильного индуцибельного Trc- промотора. При этом, в нуклеотидную последовательность гена ps был включен фрагмент ДНК, кодирующий синтез полигистидинового домена, который в дальнейшем использовался для иммунодетекции и аффинной хроматографической очистки рекомбинантного белка. Таким образом, на основе синтетического ген-эквивалента, нами была создана рекомбинантная плазмидная ДНК pSENC, кодирующая синтез нуклеокапсидного антигена коронавируса в клетках *E. coli*. Штамм *E.coli* DH5 α / pSENC-продуцент рекомбинантного нуклеокапсида коронавируса SARS-CoV-2 был получен путем трансформации компетентных клеток *E.coli* DH5 α сконструированной плазмидной ДНК.

6.3. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЮЧЕВЫХ БИОКОМПОНЕНТОВ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ COVID-19

6.3.1. Выделение и хроматографическая очистка рекомбинантного белка NC коронавируса SARS-CoV-2

Для выделения белка NC46 из телец включения, клетки штамма-продуцента *E.coli* DH5 α / pSENC выращивали при температуре 37 °C в жидкой аэрируемой среде LB с добавлением 150мкг/мл ампициллина в лабораторном ферментере с рабочим объемом 2 л до оптической плотности OD₆₀₀=0,6-0,8. Затем добавляли IPTG до 1 мМ и продолжали культивирование 4 часа при 30 °C. Клеточную суспензию, полученную из 350 мл среды LB, центрифугировали при 7000g и температуре 4 °C в течение 10 мин. Супернатант аккуратно сливали, осажденные бактериальные клетки ресуспендировали в 20 мл 20 мМ Трис-HCl буферного раствора (pH 7,9), содержащего 8М мочевины, 2 мМ ЭДТА-Na и 5 мМ имидазола. Клетки разрушали с помощью ультразвукового дезинтегратора на льду. Эффективность озвучивания контролировали микроскопией. Клеточный лизат центрифугировали при 15000g и температуре +4°C в течение 25 мин. Полученный супернатант фильтровали через полиэфирсульфоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и с помощью

перистальтического насоса наносили на колонку с хроматографическим сорбентом для металлохелатной хроматографии. Скорость элюирования составляла не более 60 мл в час. Получение целевого белка осуществляли с помощью ступенчатой хроматографии имидазолом. Для контроля выхода белка измеряли оптическую плотность при 280 нм. Основную часть целевого белка элюировали при концентрации имидазола 300 мМ. Фракции, содержащие белок, объединяли и диализовали против 5 л 50 мМ натрий карбонатного буфера, pH 10,1 при 8 °С. Полученный препарат содержал 85 - 90 % целевого белка. Препарат хранили при -70 °С. Степень чистоты очищенного рекомбинантного белка NC46 контролировали при помощи электрофореза в 10% ПААГ.

6.3.2. Оптимизация наработки рекомбинантного белка NC SARS-CoV-2 и его иммуногенных вариантов

В процессе конструирования штаммов-продуцентов различных вариантов рекомбинантного белка NC SARS-CoV-2 отрабатывались условия культивирования штаммов в жидкой питательной среде на колбах с последующим масштабированием процесса в биореакторе. Наличие целевого белка в полученной из ферментера биомассы анализировали электрофорезом с целью оптимизации условий культивирования. В ходе масштабирования процесса очистки рекомбинантных белков были отработаны условия разрушения биомассы клеток на Френч-прессе, что существенно повысило выход целевого продукта и позволило максимально стандартизовать методику выделения и очистки рекомбинантных белков. При конструировании рекомбинантных плазмид были использованы векторные системы с сильными промоторами: T7 и Trx, позволяющие осуществлять высокоэффективную контролируемую экспрессию слитных белков TRX+нуклеокапсид-HisTag, MBP-нуклеокапсид- HisTag и GST-нуклеокапсид- HisTag. Созданные слитные NC-белки SARS-CoV-2 имеет в своем составе основные домены для иммунодетекции и аффинной хроматографической очистки антител. Применение новых высокоэффективных систем "Вектор-хозяин" позволило

значительно увеличить выход целевого продукта в форме максимально сохраняющей его антигенность.

Слитный Белок	Мол Масса
TRX+нуклеокапсид-HisTag	62 kD
TRX+С-конец нуклеокапсида- HisTag	42 kD
MBP-нуклеокапсид- HisTag	65 kD
TRX- N-конец нуклеокапсида - HisTag	34kD
С-конец нуклеокапсида - HisTag	25kD
GST-нуклеокапсид- HisTag	75kD
GST- С-конец нуклеокапсида - HisTag	55 kD
NC46	46kD

6.3.3. Разработка технологии получения поликлональных антител пригодных к использованию в ИХ тестах на антиген SARS CoV2. Получение вариантов рекомбинантного белка нуклеокапсида SARS CoV2 для иммунизации и аффинной хроматографии.

Пример1. Культивирование штамма-продуцента рекомбинантного белка нуклеокапсида SARS CoV2 – «GNC55» вели в качалочных колбах в среде LB выращивая 250 мл ночной культуры штамма в присутствии канамицина (50 мкг/мл и 0,2% глюкозы). Через 24 ч ночной культурой засеивали колбы (общий объем 2,5 л) в ту же среду 170 мл/колбу. Культивировали на шейкер-платформах 2 часа при 37С и 210 об/мин. Добавляли ИПТГ до 1мМ и культивировали еще 4 часа в этих же условиях. Далее культуру центрифугировали 15 минут при 15000 g. Биомассу хранили при -70С. Биомассу растворяли 1:20 по массе в растворе состава: 8М мочевины, 0,5М NaCl, ФБР 0,02М, 10 мМ имидазол, рН 8.0). Полученную суспензию обрабатывали ультразвуком на дезинтеграторе с зондом ТТ 13/FZ 3 раза (режим:15/30, 20 мин, 82%). Обработанный лизат осаждали на центрифуге при 15000 g, 20 мин. Супернатант фильтровали холодной фильтрацией на мембране с величиной пор 0,2 мкм. Фильтрат наносил на колонку объемом 100 мл с

сефарозой, предварительно уравновешенную буферным раствором для обработки биомассы. Примеси удаляли с колонки буферным раствором состава: 8М мочевины, 0,5М NaCl, ФБР 0,02М, 50 мМ имидазол, pH 8.0. Элюцию целевого белка проводил тем же буферным раствором, содержащим 300 мМ имидазола. (Приложение 6)

6.3.4. Получение антигенных аффинных сорбентов для выделения специфических иммуноглобулинов.

Для получения антигенных аффинных сорбентов рекомбинантные белки-варианты нуклеокапсидного антигена SARS CoV2 использовали 2 метода:

1. Белки сшивали с коммерческой BrCN- активированной «сефарозой CL-4B» по стандартной методике, приведённой в инструкции по применению сорбента.
2. Активировали сефарозу CL-4B бромцианом (BrCN). Затем рекомбинантные белки-варианты нуклеокапсидного антигена SARS CoV2 сшивали с BrCN- активированной сефарозой.

Смену буферного раствора после сшивки проводили методом гель-фильтрации на колонках, содержащих сефадекс G25, уравновешенных соответствующим буферным раствором.

6.3.5. Определение емкости сорбентов на основе сефарозы CL-4B сшитой с рекомбинантными белками.

Пример 2. Определение емкости сорбентов с «GNC 55» и «NC 46» проводили с применением сыворотки кролика, иммунизированного соответствующими белками. Сыворотку предварительно разбавляли раствором состава: 0,01 М натрий фосфат, 0,15 М натрий хлорид, pH 7,5, без внесения ингибиторов протеаз, центрифугировали 10000 об/мин и фильтровали мембранной фильтрацией с величиной пор 0,2 мкм. Для тестирования сорбентов использовали колонки с рабочим объемом 5 мл. Промывали колонки элюирующим раствором (0,2 М глицин pH 2,5) - 3 объемами, затем отмывочным раствором (0,01 М натрий фосфат, 0,15 М натрий хлорид, pH 7,5) – 6 объемами. Вносили на колонки по 5 мл раствора сыворотки кролика.

Инкубировали 10 мин. при комнатной температуре с перемешиванием. Промывали колонки 10 объемами отмывочного раствора состава: 0,01 М натрий фосфат, 0,15 М натрий хлорид, pH7,5. Элюировали антитела раствором, содержащим 0,2 М глицин pH 2,5. Для стабилизации антител pH раствора доводили до 8,0 раствором, содержащим 1М трис pH 9,0. Концентрацию антител и белка измеряли спектрофотометрически в режиме определения концентрации иммуноглобулинов и при 280 нм соответственно. Колонки промывали 5 объемами раствора, содержащего 0,01 М натрий фосфат, 0,15 М натрий хлорид, pH7,5 + 0,02% Na-азид.

6.3.6. Определение емкости вариантов антигенных сорбентов при очистке кроличьей иммунной сыворотки

Пример 3. Для получения антигенного сорбента рекомбинантный белок GNC55 был иммобилизован на коммерческой BrCN-активированной сефарозе CL-4B (обозначен как S1). Связывание белка составило 2,5 мг на 1 см³ сефарозы. Во втором варианте (S2) белок иммобилизовали на сефарозу CL-4B после ее обработки бромцианом. Связывание составило 3 мг на см³ сефарозы. Определение емкости сорбентов по антителам к нуклеокапсиду SARS CoV2 показало, что емкость сорбентов составляет для S1 – 8,7 мг, для S2 – 13,5 мг иммуноглобулинов соответственно.

6.3.7. Определение качества очищенных на антигенных сорбентах специфических иммуноглобулинов.

Качество иммуноглобулинов проверено методами электрофореза в ПААГ - ДСН иммуноблоте и иммуноферментным анализом (Приложение 6 (Рис 3)).

6.3.8. Проверка снижения емкости сорбентов при их многократном использовании.

Сохранение определенного уровня емкости антигенных сорбентов при их многократном использовании является важным требованием при масштабировании процесса очистки антител.

Пример 4. Получение данных по снижению емкости сорбентов «GNC55» в ходе 15 циклов очистки антител из сыворотки кролика. Данные приведены в Табл. 6.1., Приложения 6.

Максимальная емкость сорбентов S1 и S2 сохраняется на протяжении 4 циклов использования. Затем емкость падает в 2 раза, но остается неизменной вплоть до 15 цикла очистки, что, по-видимому, может быть допустимо при масштабном процессе получения иммуноглобулинов.

6.5. Экономическая эффективность от внедрения в производство антигена нуклеокапсида вируса SARS-CoV-2

Коллективом авторов. были созданы генно-инженерные конструкции и рекомбинантные штаммы-продуценты, обеспечивающие синтез антигена нуклеокапсида вируса SARS-CoV-2 в бактериях *E. coli* в количестве необходимом при масштабном производстве тест-систем для серодиагностики COVID19. Также с использованием данного антигена получены специфические высокоаффинные антитела, используемые в производстве экспресс-тестов на антиген SARS-CoV-2.

Всего для обеспечения потребностей медицинских учреждений России в средствах диагностики COVID-19 во ФБУН ГНЦ ПМБ произведено за 2020-2021гг. тестов и тест-систем на 11 250 032 определений. Для этого было использовано 6,5 грамм антигена SARS-CoV-2 на изготовление которого затрачено не более 140 млн руб. Средняя стоимость коммерческих препаратов-аналогов на сегодня составляет 600 долларов США за 1 мг («Shine Gene», КНР <http://www.shinegene.org.cn/English/genesynthesis.html> - COVP00104 Recombinant 2019-nCoV Nucleocapsid Protein *E.coli* \$600.00/mg). С учетом того, что в 20-21 гг. стоимость этого антигена с доставкой в Россию была еще выше, его покупка с целью использования при изготовлении тест-систем обошлась бы в сумму не менее 250 млн руб. Таким образом, отечественная разработка генно-инженерной технологии получения рекомбинантного нуклеокапсида SARS-CoV-2 для иммунохимических тест-систем позволила при производстве сэкономить не менее 100 млн руб.

7. ГЛАВА СЕДЬМАЯ. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАБОТЫ

7.1. НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Разработанный «Комплекс методических, реагентных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально опасных инфекций» не имеет аналогов в отечественной и международной медицинской практике (Патент на полезную модель № 2013148129. RU. МПК G 01 N 33/50 «Система лабораторной клинической диагностики инфекций» С.Г. Марданлы, Заявл. 30.10.13.)

Впервые разработаны тест-системы для диагностики инфекций иммунофлуоресцентным методом для TORCH – инфекций, которые позволяют снизить стоимость скрининговых исследований на основе биочип-технологий ФОСФАН. Разработанная технология получения иммуночипов для диагностики всех социально-значимых инфекций универсальна.

Впервые разработаны реагенты для диагностики коронавирусной инфекции с помощью иммунного линейного блота.

Впервые разработан диагностический комплект реагентов для иммуноферментного, иммунохроматографического анализа и полимеразной цепной реакции нуклеиновых кислот из различных биологических материалов для выявления различных патологических состояний.

Впервые исследован и разработан и зарегистрирован новый вариант диагностического препарата, технически и экономически малозатратной технологии исследования биологических образцов методом прямой ПЦР в реальном времени, исключая трудоемкий этап экстракции нуклеиновых кислот и опасность инфицирования персонала и в связи с этим уменьшающий стоимость проводимых исследований.

Впервые разработаны отечественные наборы реагентов для диагностики социально-значимых инфекций с помощью реакций иммунофлуоресценции,

иммунофлуоресценции (иммуночипы) и иммунного блоттинга с аппаратно-программным комплексом.

Повышена эффективность эпидемиологического надзора за рядом социально-важных инфекционных заболеваний с оценкой их реальной распространённости среди населения отдельных регионов Российской Федерации. Показано несоответствие статистических показателей заболеваемости социально-значимыми инфекциями и их истинного распространения.

7.1.1. Иммуноферментные методы анализа

Впервые в отечественной практике разработаны тест-системы для выявления антител классов М и G к *SARS-COV-2* в формате "Лайн-блот" на основе четырех антигенов. Их использование позволяет детально исследовать динамику иммунологической перестройки в ходе инфекции и поствакцинального периода. Расширена панель тестов при этиологической диагностике *COVID-19*.

7.1.2. Иммунохроматографические методы анализа

Впервые были созданы наборы реагентов из отечественного сырья, обеспечивающие всестороннее решение вопросов экспресс-диагностики *COVID-19*. Впервые создан и внедрен набор реагентов с методом захвата коллоидного золота, непрямой метод коллоидного золота и метод сэндвича с двойным антигеном коллоидного золота. Метод имеет короткое время обнаружения, может интерпретировать результат всего за 15 мин и обладает высокой достоверностью обнаружения.

Разработан и внедрен комплекс ИХА тестов, позволяющий проводить исследования из различных биологических материалов с обнаружением различных антител и антигенов.

7.1.3. Методы полимеразной цепной реакции

Впервые создан и внедрен в практику набор реагентов на основе прямого варианта метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) исключая экстракцию РНК коронавируса SARS-CoV-2, что позволило исключить возможность инфицирования персонала лаборатории и увеличить исследуемый поток проб.

Впервые внедрен набор реагентов прямой ПЦР, содержащий внутренний контрольный образец (ВКО), основанный на детекции гена человека наравне с детекцией искомого вируса, что впервые позволило выдавать достоверный результат исследования, ориентируясь при оценке результата на выявляемость гена самого пациента.

Впервые создан и внедрен в практику набор реагентов для прямой ПЦР с высокой чувствительностью анализа, позволяющий проводить исследования за 2 часа от момента поступления биоматериала в лабораторию до оформления результатов.

Впервые внедрён в отечественную практику набор реагентов для прямого мультиплексного варианта метода ПЦР, который позволил быстро и качественно оценивать результаты исследования

Впервые внедрен в лабораторную исследовательскую практику новый вариант метода ПЦР – прямая ОТ-ПЦР-РВ – который положил путь для изменения, ускорения, удешевления лабораторной диагностики молекулярно-диагностическим методом и для других патогенов.

7.1.4. Импортзамещение

Для снижения импортной нагрузки учеными предприятия ФБУН «ГНЦ ПМБ» был синтезирован ген нуклеокапсида вируса SARS-CoV-2. Для его экспрессии были созданы генно-инженерные конструкции и штаммы-продуценты *E. Coli*, обеспечивающие синтез рекомбинантного антигена в бактериях в количестве достаточном для масштабного производства.

Рекомбинантный вирусный антиген обладает способностью специфично взаимодействовать с иммуноглобулинами сывороток от пациентов с диагнозом *COVID19*, что открыло возможности создания иммунохимических тестов для серодиагностики без использования вирусного материала. Также на основе полученных к антигену специфических моноклональных и поликлональных антител были сконструированы экспресс-тесты для выявления антигена *SARS-CoV-2*.

Отсутствие на Российском рынке полимерных материалов компенсировалось созданием на базе «ЭКОлаб» собственных производств по выпуску нелюминесцирующих кассет, полимерных подложек, флаконов, лабораторной посуды, наконечников для автоматических пипеток и др.

По договору с Минпромторгом России, был разработан и запущен в производство Аппаратно-программный комплекс "Эксперт-Лаб-TORCH". В "Эксперт-Лаб-TORCH" использовано методическое и программное обеспечение, запатентованное авторами. Аналогично была использована отечественная программа «ФОСФАН», с использованием биочип-анализатора "Диагем-TORCH" – для учета результатов исследований с использованием микрочипов.

7.2. ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Технологически «Комплекс» выполняет две основные задачи: аналитическую, связанную с получением иммунохимическими и молекулярными методами информации о наличии (или отсутствии) маркера инфекционного процесса и его характеристиках (при наличии), и клинико-диагностическую, связанную с интерпретацией полученных в лаборатории результатов. Первая задача решается с помощью специально разработанных для этого реагентных и технических средств, т.е. соответствующих комплектов наборов реагентов и аппаратуры для автоматической регистрации результатов исследований.

Оснащение «Комплекса» тест-системами на основе иммунохимических методов анализа и процессы их создания широко освещены в прилагаемом «Списке работ авторов», Приложении 1, (Каталога предприятия ЗАО «ЭКОлаб»- 2022) и включает перечень из 185 зарегистрированных Росздравнадзором медицинских изделий в 2018-2021 гг.

7.2.1. Иммуноферментные технологии

ИФА-SARS-CoV-2-AT-M:

Комплект наборов реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M» предназначен для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

ИФА-SARS-CoV-2-AT-G:

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G», для качественного и полуколичественного выявления антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

ФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный:

Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный», предназначен для количественного выявления антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием

ИФА-анализаторов. Набор может быть использован для оценки гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19, а также после вакцинации

Функциональное назначение: наборы используются, как вспомогательное средство в диагностике.

Чувствительность – 98-100%

Специфичность – 100%

Комплект реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» "Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgM" предназначен для качественного подтверждения выявления антител класса М к отдельным антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга в образцах сыворотки (плазмы) крови человека при «ручной» постановке или с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

Комплект реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» "Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG" предназначен для качественного подтверждения выявления антител класса G к отдельным антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга в образцах сыворотки (плазмы) крови человека при «ручной» постановке или с использованием систем для автоматизации иммуноблоттинга.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Чувствительность и специфичность. Диагностическая чувствительность наборов по выявлению антител класса G и М к SARS-COV-2, как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные, составляет 100%

Диагностическая специфичность наборов, как процентное содержание образцов, определенных набором как отрицательные, составляет 100%.

Особенности новой технологии. Разработанная технология линейного иммуоблота с четырьмя рекомбинантными белками собственного

производства для выявления *SARS-CoV-2* является новой и не имеет отечественных и зарубежных аналогов.

7.2.2. Иммунохроматографические методы анализа

Комплект реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» предназначен для одноэтапного быстрого качественного дифференцированного выявления IgM и/или IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека методом иммунохроматографического анализа (ИХА) с целью первичной диагностики коронавирусной инфекции COVID-19.

Чувствительность 94 % – 100 %.

Специфичность 100 %.

Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag» предназначен для одноэтапного быстрого качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки человека методом иммунохроматографического анализа с целью предварительного скринингового обследования и подтверждения при диагностике COVID – 19.

Чувствительность 99 % – 100 %.

Специфичность 100 %.

Аналитическая чувствительность:

$2,5 \times 10^{1,8}$ ТЦД₅₀/мл SARS-CoV-2 выделенного у пациента с подтвержденной инфекцией COVID-19 в России;

20 пг/мл – по СОП-321 на основе рекомбинантного нуклеокапсида SARS-CoV-2.

Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva», серия 01, серия 02 предназначен для

качественного обнаружения антигена коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале человека (слюна), взятом у лиц с клиническими симптомами инфекции, вызванной SARS-CoV-2, методом иммунохроматографии.

Чувствительность 100 %.

Специфичность 100 %.

Аналитическая чувствительность (порог обнаружения) - 100 TCID₅₀/мл SARS-CoV-2 выделенного у пациента с подтвержденной инфекцией COVID-19 в России.

7.2.3. Методы полимеразной цепной реакции нуклеиновых кислот

Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-COV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-COV-2 в пробах клинического материала, полученных при взятии мазка из носа, носоглотки и/или ротоглотки человека (без предварительного выделения РНК), методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Отличительные характеристики:

- амплификация проводится с нативными мазками, а не с очищенной вирусной РНК;
- клинические образцы (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки), помещенные в физиологический раствор, вносятся сразу (без этапа выделения РНК) в амплификационную смесь. Лизис вирусных частиц происходит в ходе процесса амплификации. ОТ-ПЦР реагент набора содержит ряд энхансеров ПЦР, которые позволяют нивелировать действие ингибиторов, содержащихся в мазках. Объем анализируемого образца для ОТ-ПЦР-РВ составляет 5 мкл;
- оценка результатов детекции происходит в связке с результатом детекции гена самого человека. Одновременный контроль качества отобранной исследуемой пробы, прохождение обратной транскрипции и амплификации происходит за

счет обнаружения гена человека (РНКазы Р), который амплифицируется одновременно в реакции вместе с вирусными генами ORFlab и N, детекция которых происходит по двум разным каналам;

- набор реагентов позволяет быстро и надежно проводить тесты на вирус SARS-CoV-2 на основе метода прямой ПЦР, где все реакции-лизис клетки, обратная транскрипция, амплификация- протекают в одной пробирке.

- все реакции, происходящие в одной пробирке, проходят за 70 мин.

- исключает трудоемкий этап выделение, очищение нуклеиновой кислоты.

7.3. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ РАЗРАБОТАННЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Эксплуатация разработанного «Комплекса методических, реагентных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально значимых инфекций», разработанные медицинские изделия, приборы, вспомогательное оборудование, расходные и биологические материалы проводились в соответствии с СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней", разработанными инструкциями и методиками по использованию медицинских изделий, их производству, применению и хранению, отбору и утилизации биологических (инфекционных) материалов и отработанных диагностических реагентов (Приложениях 1-5) .

7.4. СРАВНЕНИЕ С ЗАРУБЕЖНЫМИ И ОТЕЧЕСТВЕННЫМИ АНАЛОГАМИ

Разработанные медицинские изделия, (реагенты, тест-системы, аналитическое и вспомогательное оборудование) имеют государственную регистрацию, патентно защищены. Оценку эффективности новых наборов реагентов проводили как на коммерческих стандартных панелях сывороток, содержащих и не содержащих специфические антитела к соответствующим возбудителям, так и на сыворотках больных и здоровых лиц. В обоих случаях

испытания проводили в сравнении с аналогичными наборами реагентов наиболее известных зарубежных и отечественных производителей. Аналогичные результаты были получены при испытании амплификационных тестов (Приложения 1.1.1, 1.1.2, 2.3, 4.5, 5.3).

Полученные сравнительные характеристики с зарубежными и отечественными аналогами приведены в соответствующих Главах и Приложениях. Перечень медицинских изделий и патентов авторов приведены в разделе «Список работ авторов».

7.5. ПАТЕНТНО-ЛИЦЕНЗИОННАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК

Перечень «Патентов на изобретения, способы, полезные модели, авторские свидетельства» приведен в разделе «Список работ авторов» и включает 21 наименование, из которых 8 относится к патентам на изобретения и 6 к патентам на полезную модель. В основном, все они касаются создания системы («Комплекса») клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы с последующим ее оснащением (дооснащением) медицинскими изделиями (реагентами, аналитическим и вспомогательным оборудованием) для высокоэффективной диагностики широкого перечня социально значимых инфекций, в том числе для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 методом прямой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Все последующие изобретения и/или тест-системы были запатентованы, а 185 внесены в Государственный реестр медицинских изделий Роспотребнадзора и промышленно выпускаются.

Являясь собственностью предприятий, полученные патенты не только защитили права патентообладателей, но и повысили капитализацию предприятия: закуплено производственное и аналитическое оборудование, построено 2 производственных корпуса.

7.6. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК. ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Экономическая эффективность от внедрения реализованных медицинских изделий, исходя из средней рыночной стоимости отечественных («ЭКОлаб», ФБУН «ГНЦ ПМБ» и импортных товаров, достигает 35-45%, что имеет большое и экономическое и социальное значение.

Например, за последние 3 года произведено и реализовано более 38 тыс. комплектов диагностических наборов (для определения инфекций TORCH-группы на общую сумму 139 млн руб., 10 наименований изделий для обнаружения инфекционного агента SARS-CoV-2 на общую сумму 257 млн руб.

Полный расчёт эффективности от внедрения, качественные и количественные показатели приведены в Приложении 7.

7.7. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ РАЗРАБОТКИ

Принципы разработки и функционирования «Комплекса» носят универсальный характер и применимы в серологической (иммунохимической) и молекулярной диагностике любой иной инфекционной патологии, т.е. могут быть использованы для совершенствования лабораторной диагностики различных инфекций. В связи с этим, успешно проведя широкомасштабное исследование по заболеваемости ряда регионов Российской Федерации на инфекции TORCH-группы (Марданлы и др. 2016), разработанный Комплекс с успехом обеспечил учреждения Минздрава России доступными диагностикумами на COVID-19 в 2020-2022 гг. В первом квартале 2023г. планируется осуществить государственную регистрацию диагностикума на вирус оспы обезьян, все виды гриппа и другие особо важные инфекции.

Развиваются работы по разработке и производству отечественных полимерных изделий (кассеты, наконечники, флаконы, посуда), использование сырья отечественного производства, совершенствования производства аналитической техники, разработанной ранее, и расширение её видового

ассортимента. Полученный экономический эффект (9 млн руб) от реализации выпущенной в 2022 г. продукции направлен на строительство новых производственных площадей и увеличение выпуска медицинской продукции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Впервые в отечественной эпидемиологической практике исследован, разработан и внедрен «Комплекс методических, реагентных и технических средств клинической лабораторной диагностики» социально значимых инфекционных болезней» для широкомасштабного обследования населения на наличие/отсутствие биологического поражения, в том числе, вирусом SARS-CoV-2. «Комплекс» постоянно пополняется новыми и перспективными медицинскими изделиями, расширяя спектр диагностируемых заболеваний, совершенствуя точность, специфичность, надежность обнаружения, одновременно снижая себестоимость изделий и зависимость их от импортных комплектующих.
2. Исследован и определен оптимальный состав иммуноферментных тест-систем для выявления видоспецифических антител к возбудителям актуальных для Российской Федерации инфекций TORCH-группы и коронавирусной инфекции.
3. Впервые для оснащения «Комплекса» разработаны отечественные наборы реагентов и приборов для диагностики COVID-19 с помощью иммунного блоттинга, иммуноферментного, иммунохроматографического анализа и полимеразной цепной реакции нуклеиновых кислот. Исследованы и разработаны новые технологии создания иммунохимических и амплификационных реагентов. Прошли Госрегистрацию более 185 диагностических медицинских изделий
4. Созданные наборы реагентов обеспечивают высокую диагностическую чувствительность и специфичность (более 95 %); наличие в «Комплексе» тест-систем для выявления IgM-антител и оценки avidности IgG антител, а также возможности контроля за динамикой их содержания, обеспечивают дифференциацию первичных активно текущих инфекций и реинфекций с состояниями после ранее перенесенных заболеваний.

5. По теме представленной работы авторами опубликовано: 110 научных статей; 40 учебных пособий и монографий, 45 тезисов докладов на Российских и Международных конференциях, 21 патент на изобретения и полезные модели, защищено 5 диссертаций.
6. Каждое учреждение здравоохранения имеет возможность приобрести доступное и эффективное отечественное средство диагностики практически любого инфекционного заболевания, в среднем на 35-45 % дешевле зарубежных аналогов. Работа авторов и их организаций внесла свой вклад в обеспечение лекарственной безопасности страны. Медицинские изделия и лекарственные средства неоднократно и безвозмездно поставлялись жителям и воинам Донбасской и Луганской Республик.
7. Экономическая эффективность от внедрения реализованных медицинских изделий, исходя из средней рыночной стоимости отечественных («ЭКОлаб», ФБУН «ГНЦ ПМБ» и импортных товаров, достигает 35-45%, что имеет большое и экономическое и социальное значение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Научные статьи

1. Марданлы С.Г., Васильева В.И., Рыбалкина Т.Н. Применение иммуноферментного метода в эпидемиологических исследованиях для выявления маркеров ВГА // Вирусные гепатиты: сб. науч. тр. ин-та вирусологии им. Д.И. Ивановского АМН СССР. М., 1984. № 1. С. 36-42.
2. Марданлы С.Г. Применение иммуноферментного метода для обнаружения вируса гепатита А и специфических антител // НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва, 1985.
3. Марданлы С.Г., Беднова В.Н., Дмитриева Г.А. и др. Новая тест-система иммуноферментного анализа для серодиагностики сифилиса / // ЦНИИ кожно-венерол. институт Минздравмедпрома. М.: Вестник Дерматол. и венерол., 1995.
4. Марданлы С.Г. Развитие рынка диагностических препаратов. Технологические и организационные проблемы // Фундаментальные и прикладные проблемы биотехнологии. 2003. С. 76.
5. Марданлы С.Г. Стандартизация требований к диагностическим препаратам для исследования *in vitro* и система их государственной регистрации// Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных болезней. Саратов, 2003.
6. Марданлы С.Г. Тест на неоптерин как критерий отбора потенциальных доноров крови // Лабораторная медицина. 2003. № 6. С. 41.
7. Марданлы С.Г., Доровская С.В. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека типа 1 методом иммуноблоттинга (Вестерн-Блот) // Клин. лаб. диагностика. 2004. № 4. С. 34.
8. Марданлы С.Г., Али Хоссейн А.М. Оптимизация состава моноклональных антител к HBs-антигену при получении специфического сорбента для иммуноферментной тест-системы // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2004. № 6. С. 80-83.
9. Старовойтова Т.А., Зайко В.В., Стериополо Н.А. и др. Видеоцифровой анализ для лабораторной диагностики: комплекс "Эксперт-Лаб" на основе сканера для документирования, объективизации и регистрации результатов латекс-агглютинационных, гемагглютинационных тестов, изосерологических и иммуноферментных исследований// Лаборатория. 2006. №1. С. 19-22.
10. Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Федотова И.Э. и др. ИФТС для лабораторной диагностики токсоплазмоза // Журн. зав. клинико-диагностич. лаб. 2006. № 6.

11. Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Федотова И.Э. и др. ИФТС для лабор. диагност. Краснухи // Журн. зав. клинико-диагност. лаб. 2006. № 7.
12. Марданлы С.Г. О необходимости совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями соц.-значимых инфекций // Вест. ВМА, 2006. № 1/15. С. 109.
13. Марданлы С.Г. Эпидемиологические особенности цитомегаловирусной инфекции, особенности патогенеза, диагностики, терапии // Журнал заведующего клинико- диагностической лаборатории. 2006. № 8.
14. Марданлы С.Г., Федотова И.Э. О необходимости совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями // Журн. Медицинский бизнес, 2007. №3(151). С. 48-49.
15. Марданлы, С.Г. Асратян А.А. Иммуноферментные тест-системы для диагностики цитомегаловирусной инфекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008. № 3. С. 98-100.
16. Марданлы, С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО "ЭКОлаб" для диагностики простого герпеса // Клин. лаб. диагностика. 2008. № 2. С. 35-38.
17. Марданлы С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО «ЭКОлаб» для диагностики простого герпеса // Журн. Мед. Бизнес. 2008. № 3(165). С. 66-68.
18. Марданлы, С.Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест-систем для диагностики токсоплазмоза // Клин. лаб. Диагн. 2009. № 2. С. 37-40.
19. Марданлы С.Г. Биологическое значение авидности антител и ее роль в иммунопатологии. Аффинность (авидность) антител, методы определения // Вестник Российской ВМА. 2009. № 2 (26). С. 217-223.
20. Марданлы С.Г. Сравнительные испытания новых отечественных тест-систем для диагностики цитомегаловирусной инфекции // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2009. № 2 (26). С. 149-153.
21. Марданлы С.Г., Федотова И.Э. О необходимости совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями TORCH-группы // Медицинский алфавит. 2010. Т. 4. № 20. С. 39-42.
22. Марданлы С.Г., Шепелин И.А. Иммуноферментные тест-системы ЗАО "ЭКОлаб" для диагностики ВИЧ-инфекции // Мед. алфавит. 2010. Т.4. №20. С. 19-20.
23. Марданлы, С.Г., Арсеньева В. А., Фриго Н.В. и др, Применение тест-системы "Лайн-Блот-Сифилис" в диагностике сифилиса методом линейного иммуноблотинга // Вестник дерматологии и венерологии. №3. 2011. С. 80-87.
24. Марданлы С.Г., Гафаров Р.Р., Амелина Е.А. Разработка иммуноферментных тест-систем для диагностики краснухи/ // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 5. С. 46-48.

25. Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Бахилина Н.В. Разработка отечественного нетрепонемного диагностикума на основе VDRL-антигена // II Конгр. Евроазиат. Асоц. Дерматовен., 21-23 марта. М., 2012. С. 119-120.

26. Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Гафаров Р.Р. Разработка иммуноферментных тест-систем для диагностики краснухи // Клин. лаб. диагност., №5 2012. С. 46-48.

27. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А., Амелина Е.А. Герпесвирусные инфекции: особенности патогенеза, диагностика, лечение // Медицинский алфавит. 2012. Т. 4. № 20. С. 48-50.

28. Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Гафаров Р.Р. Разработка иммуноферментных тест-систем для диагностики краснухи // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 5. С. 46-48.

29. Марданлы, С.Г. Комплекс средств лабораторной диагностики инфекций группы TORCH (материалы)//Клин. лаб. Диаг. 2013. № 9. С. 62.

30. Марданлы С.Г., Шершнева Н.Н., Кленяев И.Н. Испытания наборов реагентов для диагностики инфекций группы TORCH с помощью реакции иммунофлюоресценции на клинических материалах // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. № 9. С. 76.

31. Марданлы С.Г., Зайко В.В., Туголуков А.Е., Старовойтова Т.А. Лабораторная диагностика TORCH-инфекций с применением ИФА тест-систем фирмы "ЭКОлаб" и анализатора "ЭКСПЕРТ-ЛАБ" // Вестник современной клинической медицины. 2013. Т. 6. Вып.2. С. 10-22.

32. Марданлы С.Г. Задачи и перспективы совершенствования клинической лабораторной диагностики инфекций группы TORCH // Вестник службы крови 2013 № 2. С. 54.

33. Марданлы. С.Г., Арсеньева В.А., Анискова И.Н. и др. Отечественная тест-система "Лайн-Блот Сифилис-IgM" для определения IgM-антител к *Treponema pallidum* методом линейного иммуноблоттинга // Клиническая дерматология и венерология. 2013. № 5. С. 35-38.

34. Марданлы С.Г. Бахилина Н.В., Ермолаева И.А. и др. Видеоцифровая регистрация результатов реакции микропреципитации при диагностике сифилиса // Вестник современ. клин. медицины. 2013. Т.6. Вып. 5. С. 80-83.

35. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Анискова И.Н., Жигаленко А.Р. Отечественная тест-система Лайн-Блот Сифилис-IgM для определения IgM-антител к *Treponema pallidum* методом линейного иммуноблоттинга // Клин. дерматол. и венерол. 2013. Т. 11. (5). С. 40-43.

36. Марданлы С.Г., Туголуков А.Е., Старовойтова Т.А. и др. Видеоцифровая система на основе комплекса "ЭкспертЛаб" для автоматической регистрации результатов иммунного блоттинга при

диагностике сифилиса // Вестник современной клинической медицины. 2013. Т. 6. № 4. С. 62-67.

37. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А. Новая тест-система "Лайн-Блот Сифилис-IgM" для определения IgM-антител к *Treponema pallidum* методом линейного иммуноблоттинга // Вестник службы крови. 2014. № 1. С. 44-47.

38. Марданлы С.Г., Томашевская Н.А., Мухина А.И. и др. Опыт использования комплекса тест-систем для диагностики инфекций TORCH-группы. Эпидемиология и инфекционные болезни: Актуальные вопросы. 2014. № 5. С. 65 -69.

39. Марданлы С.Г., Авдоница А.С. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам цитомегаловируса методом иммунного блоттинга в формате Вестерн-Блот // Клиническая дерматология и венерология. 2014. № 1.

40. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А. Новая тест-система "Лайн-Блот сифилис-IgM" для определения IgM антител к *Treponema pallidum* методом линейного иммуноблоттинга // Вестн. службы крови России, 2014. №1. С. 44-47.

41. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Акиншина Ю.А., и др. Разработка нового набора реагентов для скрининговой диагностики с целью одновременного обнаружения антител к каждому из основных возбудителей инфекций методом линейного иммуноблоттинга // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы, 2014. № 6. С. 24-29.

42. Марданлы С.Г., Авдоница А.С. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам цитомегаловируса методом иммунного блоттинга в формате WESTERN BLOT // Клиническая дерматология и венерология. 2014. Т. 12. № 1. С. 18-24.

43. Марданлы С.Г., Бахилина Н.В., Ротанов С.В., Ермолаева И.А. Применение кардиолипидного антигена для диагностики сифилиса. // Журн. междунар. Мед.: Педиатрия / Неонатология 2015. Т. 6(17). С. 99-102.

44. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Захаров М.В. и др. Применение линейного иммуноблоттинга для скрининга антител класса G и M к основным возбудителям TORCH-инфекций // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2015. № 3(82). С.59-65.

45. Марданлы С.Г., Авдоница А.С., Ротанов С.В., Готвянская Е.П. Частота выявления серологических маркеров инфекций TORCH группы у жителей города Москвы // Эпидемиол. и инфекционные болезни: Актуал. вопросы 2015. № 4. С. 44-49.

46. Марданлы С.Г. К вопросу о стандартизации условий производства компонентов и постановки реакции иммунофлюоресценции на примере лабораторной диагностики сифилиса // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64. № 7. С. 409-412.

47. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Акиншина Ю.А. и др. Использование набора реагентов на основе метода линейного иммуноблоттинга для оптимизации скрининговой диагностики TORCH-инфекций // Terra Medica. 2015. №1/79. С.83-84.

48. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Захаров М.В. и др. Применение линейного иммуноблоттинга для скрининга антител классов G и M к основным возбудителям TORCH-инфекций // Эпидемиол. и вакцинопрофил. 2015. Т. 14. № 3 (82). С. 59-65.

49. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Амелина Е.А. и др. Применение метода линейного иммуноблоттинга для определения антител классов G и M к основным возбудителям инфекций TORCH-группы // Справ. зав. КДЛ. 2015. № 9. С. 3-12.

50. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С. и др. Мультиплексное выявление серологических маркеров основных герпесвирусных инфекций методом иммуноблоттинга // Мед. Алфавит. Том 1, № 7. 2017. С. 20-25.

51. Марданлы С. Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С. и др. Мультиплексное выявление серологических маркеров основных герпесвирусных инфекций методом иммуноблоттинга // Мед. Алфавит. 2017. 1(7). С. 35-40.

52. Марданлы С.Г., Попова Т.В. Разработка иммуноферментной системы для выявления специфических IgG к коронавирусу SARS-COV-2 методом иммунного блоттинга в формате "LINE BLOT" // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2022. Т. 21. № 4. С. 103-112.

53. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Фриго Н.В. и др. Применение тест-системы «Лайн-Блот Сифилис» в диагностике сифилиса методом линейного иммуноблоттинга // Вестник дерматологии и венерологии. 2011. № 3. С. 80-87.

54. Марданлы С. Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С. и др. Мультиплексное выявление серологических маркеров основных герпесвирусных инфекций методом иммуноблоттинга // Мед. Алфавит. Том 1, № 7. 2017. С. 20-25.

55. Марданлы С.Г., Авдоница А.С., Марданлы С.С. и др. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам вирусов простого герпеса первого и второго типов методом иммунного блоттинга в формате «Western-Line-Blot» // Мед.алфавит, 2017. № 4(38). С. 33-40.

56. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С., Ротанов С.В., Амелина Е.А. Мультиплексное выявление серологических маркеров основных герпесвирусных инфекций методом иммуноблоттинга // Мед. Алфав. 2017. Т. 1. № 7 (304). С. 20-25.

57. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot» // Клин. лаб. диагност. 2018, 63(11). С. 696-701.

58. Марданлы С.Г., Шершнева Н.Н., Амелина, Ротанов С.В. Значение реакции иммунофлюоресценции в алгоритме современной диагностики сифилиса // Мед. алфавит. 2018. Т.1. (№8 Эпидемиология и гигиена). С. 62-65.

59. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммуноферментная тест-система для диагностики герпесвирусной инфекции шестого типа // Медицинский алфавит. 2018. Т. 2. № 35 (372). С. 46-49.

60. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Помазанов В.В. Разработка набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 7 типа методом иммунного блоттинга в формате «Western blot» // Клин. лаб. Диагностика. 2020. 65(6). С. 362-367.

61. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Мамедова С.Г. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител класса IGG к возбудителю Covid-19 в сыворотке (плазме) крови человека // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65. № 11. С. 683-687.

62. Марданлы С.Г., Шершнева Н.Н., Амелина, Ротанов С.В. Значение реакции иммунофлюоресценции в алгоритме современной диагностики сифилиса // Медицинский алфавит. 2018. Т.1. (№8 Эпидемиол. и гигиена). С. 62-65.

63. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммуноферментная тест-система для диагностики герпесвирусной инфекции шестого типа // Медицинский алфавит. 2018. Т. 2. № 35 (372). С. 46-49.

64. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Помазанов В.В. Разработка набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 7 типа методом иммунного блоттинга в формате «Western blot» // Клин. лаб. диагностика, 2020. 65(6). С. 362-367.

65. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Мамедова С.Г. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител класса IGG к возбудителю Covid-19 в сыворотке (плазме) крови человека // Клин. лаб. диагностика. 2020. Т. 65. № 11. С. 683-687.

66. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С. и др. Синхронная детекция серологических маркёров основных герпесвирусных инфекций человека // Клин. лаб. диагностика, 2018, 63(1). С. 354-410.

67. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С. и др. Синхронная детекция серологических маркёров основных герпесвирусных инфекций человека // Клиническая лабораторная диагностика, 2018. № 1. С. 35-40.

68. Марданлы С.Г. Тест на С-реактивный белок в лабораторной диагностике COVID-19 // Справочник заведующего КДЛ. 2021. № 2. С. 25-29
69. Осин Н.С., Помелова В.Г., Быченкова Т.А. Фосфоресцентный микроанализ (ФОСФАН) как новая технология для диагностики инфекций. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции. - М.: Медицина, 2007. С. 79-87.
70. Авдониная А.С., Марданлы С.Г. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам вируса иммунодефицита человека II типа методом иммунного блоттинга в формате WESTERN-BLOT // Вестник службы крови России. 2014. № 3. С. 54-59.
71. Помазанов В.В., Ротанов С.В., Киселева В.А., Новиков В.А. Клиническая лабораторная диагностика: анализ - диагноз - лечение. // Компетентность. 2016. - Т. 1(132). С. 46-50.
72. Авдониная А.С., Марданлы С.Г., Юминова Н.В. Разработка иммунной тест-системы для выявления антител класса M к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга в формате «Wtstern blot» // Вестник современ. клинич. медицины, 2016, 9(5). С 7-14.
73. Ротанов С.В., Марданлы С.Г., Амелина Е.А. и др. Модификация выпуска кардиолипидного антигена для диагностики сифилиса // Медицинский алфавит. 2016. Т. 3. № 19 (282). С. 46-47.
74. Авдониная А.С., Юминова Н.В., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Разработка стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к цитомегаловирусу // Мед. алфавит. 2016. Т. 4. № 23 (286). С. 58-62.
75. Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Технология линейного иммунного блоттинга для диагностики сифилиса. // Медицинский алфавит 2017. Т. 2 (18). С. 34-37.
76. Асратян А.А., Даниленко Е.Д., Казарян С.М., Чубаров В.В., Марданлы С.Г. Выявление маркеров парентеральных гепатитов В и С и герпесвирусной инфекции у беременных женщин // Жур. Микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2009. № 5. С. 22-27.
77. Старовойтова Т.А., Зайко В.В., Стериополо Н.А. и др. Видеоцифровой анализ для лабораторной диагностики: комплекс "Эксперт-Лаб" на основе сканера для документирования, объективизации и регистрации результатов латекс-агглютинационных, гемагглютинационных тестов, изосерологических и иммуноферментных исследований// Лаборатория. 2006. № 1. С. 19-22.
78. Венгеров Ю.Ю. Иммунохимические "быстрые" тесты с компьютерной видеоцифровой регистрацией – эффективная лабораторная технология для массовых анализов // Клин. лаб. диагност. 2008. № 9. С. 19.

79. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Долгов В.В. О роли клинической лабораторной диагностики внутриутробных инфекций/ // Компетентность. 2013. № 7(108). С.50-53.

80. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А. и др. Завозные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012. № 1. С. 35-38.

81. Сайфуллин М.А., Ларичев В.Ф., Акиншина Ю.А., и др. Завозные случаи лихорадки денге в Москве в 2009-2011 гг.: особенности клиники и лабораторных показателей // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012. № 6. С. 29-35.

82. Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH-группы // Медицинский алфавит. 2017. Т. 2. № 20 (317). С. 43-48.

83. Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г., и др. Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH-группы // Мед. Алфавит. 2017. № 2(20). С 48-43.

84. Акиншина Ю.А., Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Марданлы С.Г. Определение диагностической ценности пробы жгута и выявления ранних IgG при развитии геморрагического синдрома Денге // Мед. алф. 2018. Т.1. №5 (342). С. 60-62.

85. Saifullin M.A., Laritchev V.P., Akinshina Y.A. et al. Two cases of dengue fever imported from egypt to russia, 2017 // Emerg. Infect. Dis. 2018. Т. 24. № 4. С. 813-814.

86. Малышев В.В., Сидорчик М.С., Марданлы С.Г. Эпидемиология, лабораторная диагностика и неврологические последствия герпесвирусной инфекции у взрослых // Вестник Росс. ВМА. 2018. № S3. С. 145-146.

87. Авдоница А.С., Марданлы С.С., Киселева В.А. Иммуноблоттинг в лабораторной диагностике герпесвирусных инфекций // Известия ГГТУ: Медицина-Фармация, Орехово-Зуева, РИО ГГТУ, 2019. С.29-35.

88. Акиншина Ю.А., Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Марданлы С.Г., Бутенко А.М. Сравнительное применение экспериментальной ИФА-тест-системы НИИ Вирусологии им. Д.И. Ивановского "ИФА-IgM-Денге" (Россия) и фирмы EUROIMMUN ANTI-DENGUE VIRUS ELISA IgM (Германия) для серодиагностики лихорадки Денге // Эпидемиол и инфекционные болезни. 2017. Т. 22. № 1. С. 4-8.

89. Акиншина Ю.А., Ларичев В.Ф., Марданлы С.Г. и др. Применение иммуноферментных тест-систем для диагностики лихорадки Денге // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. Т. 20. № 4. С. 8-12

90. Сайфуллин М.А., Келли Е.И., Базарова М.В. и др. Случай лихорадки денге с летальным исходом // Эпидем. и инфекцион. боле. 2015. Т. 20. № 2. С. 49-51.

91. Акиншина Ю.А., Никитина А.В., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммунохроматографический тест для определения Д-Димера // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64. № 11. С. 654-658.

92. Акиншина Ю.А., Марданлы С.С., Киселева В.А. Иммунохроматографическая тест-система для дифференцированного выявления антител классов М и G к коронавирусу SARS-COV-2 // Известия ГГТУ. Мед. фармация. 2020. № 3. С. 12-16.

93. Акиншина Ю.А., Марданлы С.С., Киселева В.А. Иммунохроматографический тест для дифференцированного выявления антител классов М и G к коронавирусу SARS-COV-2 // Клин. лаб. диагностика. 2020. Т. 65. № 11. С. 688-692.

94. Ротанов С.В., Фриго Н.В., Доля О.В., Сапожникова Н.А., Марданлы С.Г., Китаева Н.В. Оформление результатов скрининговых и верифицирующих иммунохимических исследований на сифилис // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65. № 8. С. 521-528.

95. Бикетов С.Ф., Баранова Е.В., Панферцев Е.А. и др. Разработка, внедрение в производство и перспективы усовершенствования иммунохимических экспресс-тестов для диагностики covid19 // Covid-19: научно-практические аспекты борьбы с пандемией в Российской Федерации / под ред. д.м.н., проф. А.Ю. Поповой. Саратов: Амирит, 2021 -С.155-164.

96. Панферцев Е.А, Решетняк Т.В, Горбатов А.А и др. Получение рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 в различных системах экспрессии // Бактериология. 2022. Т. 7, №4. С. 34–39.

97. Panferov, V.G.; Byzova, N.A.; Biketov, S.F. et al. Comparative Study of In Situ Techniques to Enlarge Gold Nanoparticles for Highly Sensitive Lateral Flow Immunoassay of SARS-CoV-2. Biosensors 2021. № 11. С. 229.

98. Жигалева О.Н., Ермолаев И.И., Марданлы С.Г., Гашенко Т.Ю., Помазанов В.В. Разработка набора реагентов для обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом прямой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // Клин. лабораторная диагностика. 2022. № 12. С. 739-743.

99. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Помазанов В.В., Киселева В.А. О количественном определении D-Димера в крови

иммунохроматографическим методом // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67. № 2. С. 91-96.

100. Безродный С.Л., Жигалева О.Н., Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Гашенко Т.Ю. Разработка набора реагентов для качественного выявления рнк вируса SARS-COV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67. № 11. С. 663-667.

101. Жигалева О.Н., Ермолаев И.И., Марданлы С.Г., Гашенко Т.Ю. Анализ отечественного рынка наборов для диагностики COVID-19 методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Том 67, № 11. С. 672-677.

102. Кошечкин С.И., Шевченко Г.В., Марданлы С.Г., Дёмкин В.В. Выявление маркера у-хромосомы в плазме беременных женщин методом ПЦР в реальном времени: диагностическая точность на разных сроках беременности // Клин. лаб. диагностика. 2022. Т. 67. № 7. С. 423-428.

103. Ермолаев И.И., Жигалева О.Н., Марданлы С.Г., Гашенко Т.Ю. Сравнение диагностических наборов для обнаружения РНК SARS-CoV-2 методом прямой полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени // Известия ГГТУ. Мед., фарм. 2022. № 3. С. 24-28.

104. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Помазанов В.В., Киселева В.А., Ермолаев И.И. Особенности гуморального иммунного ответа на вакцинацию "гам-ковид-вак" и у переболевших COVID-19 // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67. № 4. С. 227-233.

105. Потекаев Н.Н., Фриго Н.В., Дмитриев Г.А. и др. Лабораторная диагностика сифилиса. Современные подходы и перспективы. Часть II. Непрямые (серологические) методы диагностики // Клин дерматология и венерология. 2022. Т. 21. № 3. С. 271-280.

106. Потекаев Н.Н., Фриго Н.В., Дмитриев Г.А. и др. Лабораторная диагностика сифилиса. Современные подходы и перспективы. Часть I. Эпидемиология. Прямые методы диагностики // Клин. дерматология и венерология. 2021. Т. 20. № 6. С. 7-18.

107. Ротанов С.В., Фриго Н.В., Доля О.В и др. Оформление результатов скрининговых и верифицирующих иммунохимических исследований на сифилис // Клин. лабораторная диагностика. 2020. Т. 65, № 8. С. 521-528.

108. Осин Н.С. Инновационные методические разработки ЗАО "Иммуноскрин" (технология ФОСФАН) // Мед.-фарм. вестник. -№36 (510). 2011. 30 с.

109. Сайфуллин М.А., Ларичев В.Ф., Акиншина Ю.А. и др. Завозные случаи лихорадки денге в Москве в 2009-2011 гг.: особенности клиники и

лабораторных показателей // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012. № 6. С. 29-35.

110. Казарян С.М., Даниленко Е.Д., Мусина Е.Е., Марданлы С.Г. и др. Клинико-эпидемиологические особенности парентеральных гепатитов и оппортунистических инфекций у женщин с акушерско-гинекологической патологией // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2011. № 2. С. 23-28.

Учебные и методические пособия, монографии

1. Марданлы С.Г., Васильева, В.И., Рыбалкина Т.Н. и др. Применение иммуноферментного метода для обнаружения вируса гепатита А и специфических антител. Методические рекомендации для вирусологических лабораторий и научных работников. Москва, 1985. 10 с.

2. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Цитомегавирусная инфекция // Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лаб. диагностика, лечение: методическое пособие. Электрогорск: ЗАО «ЭКОлаб», 2005. 32 с.

3. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Токсоплазмоз // этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение, профилактика. Электрогорск, 2005. 48с.

4. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г. И., Неверов В.А. Герпетическая инфекция (простой герпес). Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение: методическое пособие. Электрогорск, 2005. 48 с.

5. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Краснуха // этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лаб. диагностика, вакцинопрофилактика. Электрогорск, 2005

6. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И. Неверов В.А. Токсоплазмоз Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, профилактика: метод. пособие. Электрогорск: ЗАО «ЭКОлаб», 2006. 44 с.

7. Марданлы С.Г. Куляш Г.Ю. Проблемы достоверности и объективной оценки результатов лабораторной диагностики гонореи, трихомониаза и урогенитального хламидиоза: метод. пособие. Электрогорск, 2007, 46 с.

8. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Герпетическая инфекция (простой герпес) // Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение. Электрогорск: ЗАО «ЭКОлаб» 2007. 48 с.

9. Марданлы С.Г., Дмитриев Г.А., Лабораторная диагностика сифилиса: методическое пособие. Электрогорск: ЗАО «ЭКОлаб», 2009. 28 с.

10. Марданлы С.Г., Куляш Г.Ю. Реакция пассивной гемагглютинации в серологической диагностике сифилиса: учебно-методическое пособие. 3 изд. Электрогорск: ЗАО «ЭКОлаб», 2011. 40 с.

11. Марданлы С.Г., Первушин Ю.В., Иванова В.Н. Спинномозговая жидкость, лабораторные методы исследования и их клинико-диагностическое значение: методическое пособие для специалистов по клинической лабораторной диагностике. Электрогорск, 2011. 72 с.

12. Марданлы С.Г., Симонов В.В., Помазанов В.В. Задачи и перспективы создания комплекса реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекций. Владимир; Электрогорск: Транзит-ИКС, 2012. 92 с.

13. Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Борисов В.Ю. Роль клинической лабораторной диагностики внутриутробных инфекций в охране материнства и детства. Владимир; Электрогорск: Транзит-ИКС, 2013. 28с.

14. Иммунохимические методы лабораторной диагностики инфекций TORCH-комплекса: учебное пособие / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, С.В. Ротанова, В.А. Киселевой. 2-е изд., стереотип. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2016. 216 с.

15. Иммунохимические методы лабораторной диагностики инфекций TORCH-комплекса: учебное пособие к лабораторным работам по микробиологии / под ред. С.Г. Марданлы. 2-е изд. стереотип. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2016. 171 с.

16. Марданлы С.Г., Симонов В.В., Авдоница А.С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2017. 240 с.

17. Марданлы С.Г. Герпесвирусные инфекции: уч. пособие. Орехово-Зуево, 2017

18. Применение методов ИФА-IgM (MAC-ELISA) и ОТ-ПЦР для определения этиологической роли типов вируса Денге в конкретных случаях заболевания / Ю.А. Акиншина, В.Ф. Ларичев, М.А. Сайфуллин и др. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2017. Т.22. № 3. С. 116-121.

19. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Инфекции TORCH-ГРУППЫ: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль. Москва, 2018. 240 с.

20. Марданлы С.Г., Авдоница А.С. Иммуноблоттинг в лабораторной диагностике инфекций и герпесвирусных инфекций. Метод. Рекомендации: Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2020, 44 с.

21. Опыт применения отечественной тест-системы для линейного иммуноблоттинга в лабораторной диагностике сифилиса / С.Г. Марданлы,

А.С. Авдониная, С.В. Ротанов, М.Ю. Иванова, В.В. Помазанов // Клин. венерология. 2020. Т. 19. № 1. С. 18-23

22. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Герпесвирусные инфекции: этиология и патогенез, клиника и лабораторная диагностика, эпидемиология и профилактика. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2020, 316 с.

23. Комплекс реактивных и технических средств клин. лабораторной диагностики / С.Г. Марданлы, В.В. Помазанов, С.В. Ротанов и др. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2020. 288 с.

24. Марданлы С.Г., Марданлы С.С. Вирус герпеса седьмого типа: обзор литературы. Орехово-Зуево, 2021.

25. Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Иммунохимическая диагностика COVID-19. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2022. 68 с.

26. Марданлы С.Г., Авдониная А.С. Иммунный блоттинг в лабораторной диагностике инфекций TORCH-группы и герпесвирусных инфекций: метод. рекомендации. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2020. 44 с.

27. Марданлы С.С., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Герпесвирусные инфекции человека: учебное пособие. 2-е издание, исправленное и дополненное. Орехово-Зуево, 2022.

28. Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Иммунохимическая диагностика COVID-19. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2021. 68 с.

29. Актуальные проблемы современной вирусологии / Н.А. Контаров, И.В. Круглов, С.Г. Маркушин С.Г. и др. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2021. 204 с.

30. Акиншина Ю.А. Применение иммунохроматографического анализа для дифференцированного выявления антител классов М и G к SARS-COV-2 // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. 2020. № 4. С. 42

31. Асратян А.А., Казарян С.М., Марданлы С.Г. Простой герпес и цитомегаловирусная инфекция: метод. пособие для врачей - эпидемиологов, инфекционистов, акушеров, гинекологов, урологов, венерологов, педиатров, гематологов, дерматологов, студентов мед. ВУЗов. Электрогорск, 2005.

32. Биотехнология в вопросах и ответах: учеб. Пособие / В.В. Помазанов, В.А. Киселева, С.Г. Марданлы и др. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2022. Том 1. 176 с.

33. Биотехнология в вопросах и ответах: учебное пособие / В.В. Помазанов, С.Н. Суслина, В.А. Киселева, С.Г. Марданлы и др. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2022. Т. 2. 244 с.

34. Биотехнология в вопросах и ответах: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Фармация». В 3 томах / В.В. Помазанов, С.Н. Суслина, В.А. Киселева, С.Г. Марданлы, Т.Е. Саматадзе Т.Е. и др. Орехово-Зуево, 2022. Том 2. 244 с.

35. Асратян А.А., Казарян С.М., Марданлы С.Г. Простой герпес и цитомегаловирусная инфекция: метод. пособие для врачей // М-во здравоохранения Российской Федерации, Моск. мед. акад. им. И. М. Сеченова, ГУ НИИ ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, ЗАО "ЭКОлаб". Электрогорск, 2005. 44 с.

36. Лабораторные методы диагностики сифилиса / Н.Н. Потекаев, С.В. Ротанов, Н.В. Фриго и др. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2020. 88 с.

37. Осин Н.С., Помелова В.Г., Быченкова Т.А. Фосфоресцентный микроанализ (ФОСФАН) как новая технология для диагностики инфекций / Арбовирусы и арбовирусные инфекции. - М.: Медицина, 2007. С. 79-87.

38. Ротанов С.В., Марданлы С.Г. Современные реалии лабораторных исследований для диагностики сифилиса. // Известия ГГТУ. Орехово-Зуево, 2020. № 2. С. 62-68

39. Биосенсорные технологии в диагностике инфекционных болезней / Д.В. Уткин, И.А. Дятлов, С.В. Бикетов и др.; под общ. ред. академика РАН, профессора В.В. Кутырева. Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. 112 с.

40. Дятлов И.А, Кутырев В.В., Храмов М.В. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы // Сб. информационных материалов, Москва, 2012. 415 с.

Тезисы докладов на Российских и Международных конференциях

1. Марданлы С.Г. ООО "ЭКОлаб" на рынке продукции медицинского назначения // тез. научно-практ. конф. «Современные инфо-коммуникацион. технол. в системе охраны здоровья». М., 2003.

2. Марданлы С.Г., Доровская С.В. Разработка ИФТС для выявления антител к индивидуальным белкам ВИЧ 1 типа методом иммуноблоттинга // материалы Всероссийской конференции, посвященной 100-летию филиала "Иммунопрепарат" Уфа, НПО "Микроген", 2005.

3. Марданлы С.Г. Проблемы государственного регулирования обращения медицинских изделий для *in vitro* диагностики // Материалы III съезда общества биотехнологов России. Москва, 2005.

4. Марданлы С.Г., Леонтьева О.Н. Определение титра IgG антител в иммуноферментных системах ЗАО «ЭКОлаб» для диагностики герпесвирусных и цитомегаловирусных инфекций // тез. Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вакцинология 2008». М., 2008. С. 76.

5. Серякова П.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для выявления суммарных антител к *T. Pallidum*: сборник научных материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (20 апреля 2022 года). / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В.Помазанова. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2022. 129-131.

6. Марданлы С.Г., Леонтьева О.Н. Определение титра IgG антител в иммуноферментных системах ЗАО «ЭКОлаб» для диагностики герпесвирусных и цитомегаловирусных инфекций // тез. Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вакцинология 2008». М., 2008. С. 76.

7. Марданлы С.Г. Разработка комплекса ИФТС для совершенствования системы эпидемиологического надзора за инфекциями // тезисы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вакцинология» 2008». М., 2008. С. 74.

8. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А. Тест-система для подтверждения ВГС-инфекции на основе Лайн-Блота // тез. Всеросс. научно-практической конференции с международным участием «Вакцинология» 2008». М., 2008. С. 75

9. Марданлы С.Г., Ермолаева И.А. Совершенствование лабораторной диагностики бруцеллеза // тезисы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вакцинология». М., 2008. С. 75.

10. Марданлы С.Г. Современные возможности лабораторной диагностики сифилиса с помощью серологических тестов // сборник тезисов международной научной конференции «Достижения здравоохранения Туркменистана в эпоху великого возрождения» 20-21 июля 2009 г. Ашгабат, 2009. С. 578-579.

11. Марданлы С.Г. О необходимости совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями // материалы III Ежегодного Конгресса по инфекцион. болезням, 28–30 марта 2011 г. М., 2011. С. 230.

12. Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Гафаров Р.Р. Разработка иммуноферментных тест-систем для диагностики краснухи // материалы III Ежегодн. Конгр. по инфекц. болезням, 28–30 марта 2011 г. М., 2011. С.229.

13. Разработка нового набора реагентов для линейного иммуноблоттинга с целью диагностики сифилиса / С.Г. Марданлы, С.В. Ротанов, Е.А. Амелина и др. // Материалы III Ежегодн. Конгр. по инфекц. болезням, 28-30.03.2011. М., 2011. С. 231.

14. Марданлы С.Г., Шершнева Н.Н. Разработка иммунофлуоресцентных диагностикумов для выявления антител классов G и M к *Treponema Pallidum* //

материалы III Ежегодн. Конгр. по инфекц. болезням, 28–30.03.11г. М., 2011. С. 232.

15. Марданлы С.Г., Ермолаева И.А. Набор реагентов для диагностики бруцеллеза с помощью реакции агглютинации // материалы III Ежегодного Конгресса по инфекционным болезням. М., 2011. С. 230

16. Усовершенствованный набор реагентов для диагностики сифилиса в реакции пассивной гемагглютинации и оценка его клинической эффективности / С.Г. Марданлы, Н.В. Фриго, С.В. Ротанов и др. // материалы III Ежегодн. Конгресса по инфекцион. болезням, 28–30 марта 2011 г. М., 2011. С. 231

17. Марданлы С.Г. Новые иммуноферментные тест-системы для диагностики простого герпеса // материалы III Ежегодного Конгресса по инфекционным болезням, 28–30 марта 2011 г. М., 2011. С. 229.

18. Марданлы С.Г., Шершнева Н.Н. Разработка иммунофлуоресцентных диагностикумов для выявления антител классов G и M к *Treponema Pallidum* // Сборник II Конференции дерматовенерологов Сибирского Федерального округ. Иркутск, 2012 г. С. 12.

19. Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Бахилина Н.В. Испытания нового состава набора реагентов «Сифилис-RPR-тест» с угольным реагентом собственного изготовления // сборник II Конференции дерматовенерологов Сибирского Федерального округа. Иркутск, 2012. С. 14.

20. Разработка нового набора реагентов для линейного иммуноблоттинга с целью диагностики сифилиса / С.Г. Марданлы, С.В. Ротанов, Е.А. Амелина и др. // II Конгресс Евро-Азиатской ассоц. дерматовенерологов, 21-23 марта 2012 г. М., 2012. С. 120.

21. Марданлы С.Г., Шершнева Н.Н. Разработка иммунофлуоресцентных диагностикумов для выявления антител классов G и M к *Treponema Pallidum* // II Конгресс Евро-Азиатс. Ассоц. Дерматовенерол. М.: 2012. С. 120.

22. Иммунохроматографическая тест-система для выявления антител к *T. Pallidum* / А.В. Никитина, Ю.А. Акиншина, Н.Е. Нищакowa и др. // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: материалы Всеросс. научно-практической конф. с международным участием / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселевой. 2017. С. 146-149.

23. Количественное определение D-Димера методом иммунохроматографии / С.Г. Марданлы, Ю.А. Акиншина, В.В. Помазанов и др. // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сборник материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий: под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселевой. Орехово-Зуево, 2021. С. 165-167.

24. Марданлы С.Г., Захаров М.В., Назарова Е.В. Усовершенствованный набор реагентов «О-комплекс сальмонелла РПГА» для серодиагностики сальмонеллезов // Материалы II интернет-конференции по инфекционным болезням "Покровские чтения": сб. тез. конференции. Москва, 2022. С. 32-33

25. Марданлы С.Г. О необходимости совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями // материалы II съезда военных врачей медико-профилактического профиля ВС РФ «Современные проблемы военной профилактической медицины, пути их решения и перспективы развития». СПб., 2006.

26. Марданлы С.Г., Марданлы С.С. COVID-19 инфекция и ее последствия // Наука, образование, производство, импортозамещение в медицине и фармации: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием / под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В. Помазанова. Орехово-Зуево; Электрогорск, 2022. С. 70-72.

27. Новая технология флуоресцентного иммуноанализа для обнаружения микроорганизмов и вирусов / Н.С. Осин, В.Г. Помелова, Т.А. Быченкова и др. // Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных заболеваний: материалы 4-й Межгосударственной науч.-практ. конф. стран СНГ (29 сент. - 2 окт. 2003 г., Саратов). Саратов, 2003. С. 138-142.

28. Особенности сочетания парентеральных вирусных гепатитов и герпесвирусных инфекций у женщин с акушерско-гинекологической патологией / А.А. Асратян, Е.Д. Даниленко, С.М. Казарян и др. // Мир вирусных гепатитов. №2 (март-апрель 2009). Тез. (ч.1) материал. VIII Российской научно-практич. конф. с международным участием «Вирусные гепатиты, эпидемиология, диагностика и профилактика» 26-28.05.2009 г. М., 2009. С. 7.

29. Фриго Н.В., Марданлы С.Г., Жданович А.В. Актуальные аспекты лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем // Наука, образование, производство, импортозамещение в медицине и фармации: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием / под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В. Помазанова. Орехово-Зуево; Электрогорск, 2022. С. 103-106.

30. Серякова П.В., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для качественного определения тропонина I в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека // Наука, образование, производство, импортозамещение в медицине и фармации: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием: под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В. Помазанова. Орехово-Зуево, 2022. С. 99-101.

31. Арсеньева В.А., Марданлы С.Г. Разработка набора реагентов для качественного выявления РНК-вируса гепатита С (HCV) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени // Наука, образование, производство, импортозамещение в медицине и фармации: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В. Помазанова. Орехово-Зуево, 2022. С. 20-23.

32. Акинина Е.А., Серякова П.В., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для качественного определения МВ-фракции креатинкиназы в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека // Наука, образование, производство, импортозамещение в медицине и фармации: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием / под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В. Помазанова. Орехово-Зуево4 Электрогорск, 2022. С. 18-20.

33. Серякова П.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для выявления антигенов SARS-COV-2 в образцах слюны человека // Медицина и фармация: прошлое, настоящее, будущее: сборник научных материалов III Всероссийской научно-практической конференции с междун. участием. Орехово-Зуево, 2022. С. 134-137.

34. Серякова П.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для полуколичественного определения простатического специфического антигена // Медицина и фармация: прошлое, настоящее, будущее: сб. научных материалов III Всероссийской научно-практической конференции с междун. участием. Орехово-Зуево, 2022. С. 132-134.

35. Серякова П.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для выявления суммарных антител к T. Pallidum // Медицина и фармация: прошлое, настоящее, будущее: сборник научных материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Орехово-Зуево, 2022. С. 129-131.

36. Серякова П.В., Акиншина Ю.А. Применение иммунохроматографического анализа для диагностики COVID-19 // Молекулярная диагностика и биобезопасность-2021. COVID-19: эпидемиология, диагностика, профилактика. сборник тезисов Онлайн-конгресса с международным участием / под ред. В.Г. Акимкина. Москва, 2021. С. 93.

37. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Гуморальный ответ на иммунизацию "ГАМ-КОВИД-ВАК" и у переболевших // Перспективы

внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сб. материалов VIII Всеросс. научно-практич. конф. с международным участием, посвященной Году науки и технологий / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселевой. Орехово-Зуево, 2021. С. 24-27.

38. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ларичев В.Ф. Особенности лабораторной диагностики лихорадки Денге // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации. Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселевой. 2017. С. 9-10.

39. Акиншина Ю.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Углеводный антиген СА19-9 и его роль в онкодиагностике // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сб. мат. V Всероссийской научно-практической конф. с международным участием / под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселёвой. 2018. С. 10-13.

40. Иммунохроматографическая тест-система для одновременного дифференцированного выявления ротавируса и аденовируса в кале / Ю.А. Акиншина, А.В. Никитина, Н.Е. Нищаклова, Е.А. Амелина, С.Г. Марданлы // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сб. материалов V Всероссийской научно-практ. конф. с международным участием / под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселёвой. 2018. С. 13-20

41. Клиническая значимость D-Димера и методы его определения в диагностике венозных тромбозов / Ю.А. Акиншина, А.В. Никитина, Е.А. Амелина, С.Г. Марданлы // Современные аспекты лабораторной диагностики и инноваций в медицине: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. Под общей редакцией С.Г. Марданлы. 2018. С. 6-7.

42. Акиншина Ю.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммуноферментная тест-система для диагностики антител к тиреоглобулину // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сб. мат. VI Всероссийской научно-практической конф. с международным участием. В 2 томах. 2019. С. 15-16

43. Акиншина Ю.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммунохроматографический тест для определения Д-Димера // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сб. материалов VI Всероссийской научно-практич. конф. с междунар. участием. В 2 Т. 2019. С. 10-14

44. Акиншина Ю.А. Разработка и характеристика иммуноферментных тест-систем для серологической диагностики лихорадки Денге // Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика: сборник трудов XII Ежегодного Всерос. интернет-конгресса по инфекционным болезням с международным участием / под ред. В.И. Покровского. Москва, 2020. С. 6-7

45. Асратян А.А., Казарян С.М., Марданлы С.Г. Простой герпес и цитомегаловирусная инфекция. Метод. пособие для врачей - эпидемиологов, инфекционистов, акушеров, гинекологов, урологов, венерологов, педиатров, гематологов, дерматологов, студентов мед. ВУЗов // М-во здравоохранения Российской Федерации, Моск. мед. акад. им. И. М. Сеченова, ГУ НИИ эпидем. и микробиол. им. Н.Ф. Гамалеи, ЗАО "ЭКОлаб". 2005. 44 с.

Патенты на изобретения, способы, полезные модели, авторские свидетельства

1. Патент RU № 2 528 896 С1. - Способ получения иммуносорбента для диагностики вируса простого герпеса 1 типа: Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Гашенко Т.Ю. и др., -19.07.13.

2. Патент RU № 13 2210 - Планшет "ИФА-ВПГ-2-IgG" для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса II типа: Марданлы С.Г., -14.12.2012.

3. Патент RU № 144 690 U1. - Система лабораторной клинической диагностики инфекций TORCH-группы: Марданлы С.Г. - 30.10.2013.

4. Патент RU № 134 328. - Тест-набор для иммунологического анализа антител класса M возбудителей инфекций TORCH-группы - Марданлы. С.Г., Помазанов В.В...Гашенко Т.Ю. и др. - 17.07.13.

5. Патент RU № 134 329 U1 -Тест-набор для иммунологического анализа антител класса G на наличие возбудителей инфекций TORCH-группы - Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Гашенко Т.Ю. и др. -17.01.2013.

6. Патент RU № 2 724 897 С1. - Тест-система для одновременной детекции гуморальных маркеров инфицирования герпесвирусами человека: Марданлы С.Г, Арсеньева В.А., Ротанов С.В., и др. - 24.04.2019.

7. Патент RU № 2 545 785 С2 Способ получения тест-системы для диагностики цитомегаловирусной инфекции методом иммуноблоттинга - Авдоница А.С., Марданлы С.Г. - 11.12.13.

8. Патент RU на изобретение № 2616245. С2 - Композиция для профилактики заболеваний, вызываемых цитомегаловирусной инфекцией. Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Ротанов С.В. и др. - 04.12.2017.

9. Патент RU № 2545792 C2 Способ одновременного детектирования антител класса G к антигенам возбудителей TORCH-инфекций с использованием иммуночипа: Марданлы С.Г., Никитина А.В., Осин Н.С. и др. - 04.10.2014.

10. Патент RU 2339953 C1, - Способ многоаналитного анализа с использованием микрочастиц - Осин Н.С. – 2007.

11. Патент RU. 2379691 Способ многоаналитного анализа с использованием микрочастиц - Осин Н.С – 2008.

12. Патент RU № 2013116455 А - Способ автоматизированной оценки и документирования результатов реакции микропреципитации для диагностики сифилиса: Венгеров Ю.Ю., Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Гашенко Т.Ю. и др. -20.10. 2014.

13. Патент RU 2 633 087 C2 - Стабилизированный кардиолипидный антиген для реакции преципитации при диагностике сифилиса – Марданлы С.Г. Бахилина Н.В. Ермолаева Е.А. 23.02.26.

14. Патент RU № 2 681 229 - Нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид DBPAG, перспективный для серодиагностики клещевого боррелиоза, рекомбинантная плазмидная ДНК pETdbpagNH, кодирующая слитный полипептид DBPAG, рекомбинантный штамм бактерий *Escherichia coli* BL21(DE3)/pETdbpagNH - продуцент полипептида DBPAG, полипептид DBPAG и способ его получения - Панферцев Е.А., Баранова Е.В., Мочалов В.В., Бикетов С.Ф. и др.; 03.11.2017.

15. Патент RU 2261 279 - Способ приготовления аффинных поверхностей на основе химически прошитого белка А. Вирясов С.Н., Голутвин И.А., Бикетов С.Ф., 10.02.2004;

16. Патент RU 2 703 803 - Набор олигонуклеотидных праймеров Ft 101 и способ определения бактерий *Francisella tularensis*(варианты) - Щит И.Ю., Бикетов С.Ф., Дятлов И.А. - 02.2019;

17. Патент RU № 2 738 358 - Набор олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов и способ выявления ДНК возбудителей сапа и мелиоидоза методом ПЦР с детекцией продукта в режиме реального времени - Щит И.Ю., Бикетов С.Ф.; 11.12.2019.

18. Свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2014612150 – Марданлы С.Г., Туголуков А.Е., Кутвицкий В.А. и др. - 20.02.2014.

19. Свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2022612817 – Дислепидемия-скрин: Марданлы С.Г., Безродный С.А., Помазанов В.В. – 28.02.2022.

20. Положительное решение по заявке на изобретение: Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 методом прямой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени/ от Жигалева О.Н., Марданлы С.Г., Гашенко Т.Ю и др. - № 2022121917/10(046584) от 12.08.2022 г.

21. Положительное решение по заявке на изобретение: Способ одновременного дифференцированного определения специфических антител классов М и G к вирусу SARS-CoV-2 методом иммунохроматографии и устройство для его реализации - Акиншина Ю.А. и др. - 07.11.2022г.

Диссертации

1. Марданлы С.Г. Эпидемиологический надзор за инфекциями TORCH- группы на основе современных технологий лабораторной диагностики: дис. ... д.м.н., ЦНИИ Эпидемиологии, (14.02.02. - Эпидемиология; 14.03.10. Клин. лаб. диагностика) М., 2016. 269 с.
2. Гафаров Р.Р. Совершенствование лабораторной диагностики краснухи в условиях проведения массовой вакцинопрофилактики: дис. ... к. б. н., НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, (03.02.02 – Вирусология, 03.02.02 – Вирусология, 14.03.10 - Клиническая лабораторная диагностика), 2014. 127 с.
3. Акиншина Ю.А., Разработка и характеристика ИФА тест-систем для серологической диагностики лихорадки денге: дисс. ... к.б.н., ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», (03.02.02. Вирусология; 14.03.10. Клин. лаб. диагност.) 2021. 115 с.
4. Игнатов С.Г. Разработка и применение современных методов изучения и идентификации микроорганизмов с использованием бионанотехнологических подходов: дис. ... д.б.н., ФГУН «ГНЦ ПМБ», (03.02.03 -микробиол.), 2010. 50с.
5. Горбатов А.А. Изучение антигенов *Francisella ssp.*, перспективных для использования в диагностике туляремии, Дисс. к.м.н., ФГУН «ГНЦ ПМБ», (03.02.03, микробиология), 06.06.2019.

П Р И Л О Ж Е Н И Я

**ИССЛЕДОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА,
ПРОИЗВОДСТВО И РЕАЛИЗАЦИЯ
«КОМПЛЕКСА МЕТОДИЧЕСКИХ,
РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»**

КОМПЛЕКС МЕТОДИЧЕСКИХ, РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ

Приложение 1.1.

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКТОВ НАБОРОВ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ ИНФЕКЦИЙ TORCH- ГРУППЫ

Теория конструирования ИФТС достаточно разработана, тем не менее, в решении задачи создания новых систем для диагностики группы инфекций, различных по природе их возбудителей, естественно, существует ряд вопросов, ранее не рассматриваемых в клинико-лабораторной практике.

Определение общих принципов конструирования тест-систем (на примере тест-системы для выявления *igg* к *toxoplasma gondii*)

Для выявления специфических антител в составе сыворотки или плазмы крови человека уместно использовать непрямой вариант иммуноферментного анализа с использованием антивидовых антител к иммуноглобулинам человека того же класса, который необходимо выявить в составе комплекса антиген – антитело.

В качестве конъюгатов использовать препараты собственного приготовления. Сформировать внутреннюю панель образцов с различным содержанием в них специфических антител.

Для определения характера зависимости ОП образца от концентрации IgG к *Toxoplasma gondii* в нем были исследовать сыворотки с концентрацией указанных антител к в диапазоне от 10 МЕ/мл до 800 МЕ/мл. За нижнюю границу исследованного диапазона принять пороговую концентрация IgG т.е. минимальную концентрацию, достоверно свидетельствующую о наличии соответствующей иммунной реакции организма пациента.

Каждую сыворотку оценить не менее 5 раз. В данном случае средние значения ОП, полученные при этом, составили для концентрации IgG 10 МЕ/мл – 0,21; для 20 МЕ/мл – 0,33; для 40 МЕ/мл – 0,46; для 80 МЕ/мл – 0,63; для 200 МЕ/мл – 0,82; для 400 МЕ/мл – 0,85 и для 800 МЕ/мл – 0,874 (Рис. 1).

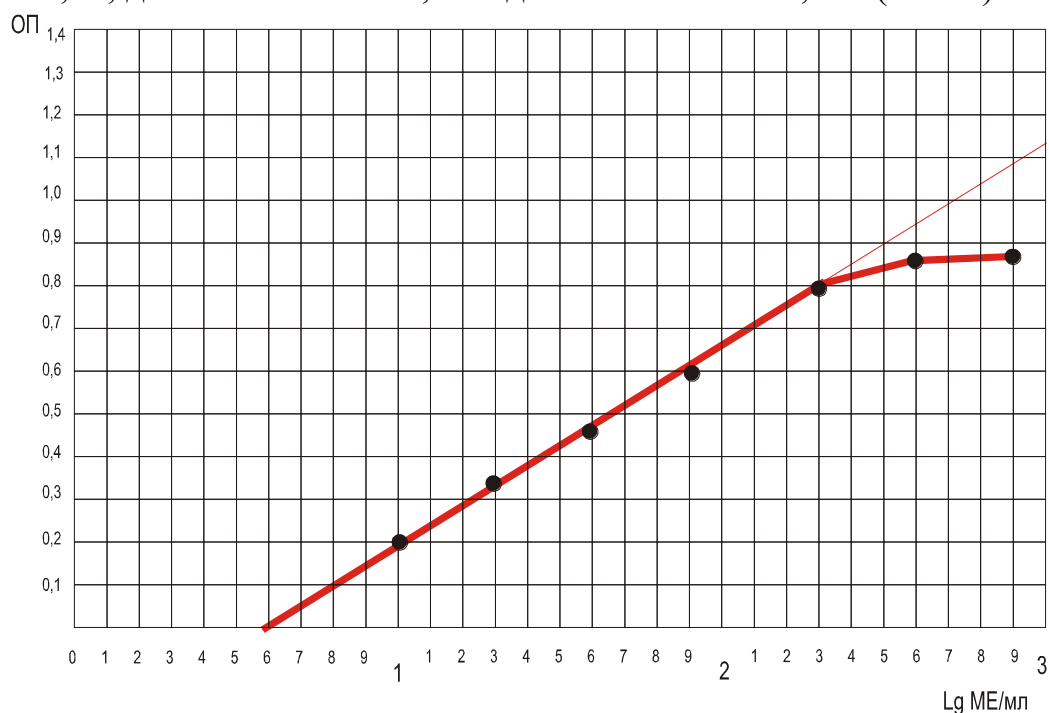


Рис. 1. График зависимости ОП исследуемых образцов от концентрации в них IgG к *Toxoplasma gondii*

Аналогично исследовать зависимости ОП исследуемых образцов от содержания в них IgG к вирусу краснухи, ЦМВ, ВПГ-1, ВПГ-2 *др.* Во всех случаях необходимо установить наличие линейных зависимостей ОП от логарифма содержания (титра или концентрации в МЕ/мл) соответствующих антител. Эти диапазоны затем используются при выборе заданных концентраций положительных контрольных образцов, а соответствующие значения их ОП - как критерии зачетности результатов ИФА.

Наличие указанной зависимости позволяет рассчитывать на возможность оценки содержания антител непосредственно по графику этой зависимости, для построения которого было достаточно определение ОП двух контрольных образцов с известным содержанием антител. Для проверки указанной возможности необходимо провести исследование, в котором в рядах сывороток с известным содержанием антител (число исследованных образцов по каждому возбудителю не менее 30), дается его оценка указанным графическим методом. Коэффициенты корреляции этих оценок с оценками фактического содержания антител, полученными прямым титрованием должны составлять не менее 0,94-0,95.

Наличие прямолинейных зависимостей ОП исследуемого образца от логарифма содержания соответствующих антител в нем позволяет также решить задачу оценки аналитической чувствительности соответствующих наборов с использованием методики оценки, регламентированной ГОСТ Р 51352-99 "Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Методы испытаний", т.е. определения по абсциссе значения логарифма концентрации, соответствующей среднему значению ОП контрольного отрицательного образца, увеличенному на 2 среднеквадратичных отклонения этого значения.

Исходя из полученных результатов, принимается решение о комплектации всех тест-систем для определения как IgG, так и IgM контрольными положительными образцами с содержанием антител на уровне верхней границы диапазона линейности и контрольными образцами уровня "среза" с известным содержанием соответствующих антител. Такой подход, во-первых, позволяет в одной постановке оценивать не только наличие, но и концентрацию антител, т.е. не требует проведения дополнительного исследования для определения этого содержания, а во-вторых, при оценке наличия антител IgM позволяет обходиться без специального расчета "порогового" значения ОП, соответствующего "пороговому" содержанию антител.

В качестве остальных (неспецифических) компонентов тест-систем – буферных растворов для отмывки планшетов и для разведения образцов, субстратно-индикаторного раствора, останавливающего раствора (стоп-реагента) предполагается использование хорошо известных в практике универсальных ИФА реагентов и их композиций.

Выбор оптимального состава тест-систем

Первым этапом экспериментального обоснования состава набора реагентов является оценка возможности реализации указанных общих универсальных принципов при конструировании всех тест-систем разрабатываемого комплекса. С этой целью были подготовлены экспериментальные ИФТС, построенные по единой схеме:

Иммуносорбент – очищенный инактивированный антиген возбудителя, сорбированный в лунках планшета для ИФА;

K⁺ – контрольный положительный образец;

K_{пор} – контрольный образец уровня "среза";

K⁻ – контрольный отрицательный образец;

ОР_{x25} – отмывающий раствор (25-кратный концентрат);

РРО – раствор для разведения образцов;

РИ – раствор индикаторный;

Стоп - реагент.

Приготовление иммуносорбента было выполнено по модифицированной технологии. При этом в процессе приготовления иммуносорбента были использованы по три концентрации растворов соответствующих антигенов для выбора оптимальных концентраций.

Оценку соответствия результатов выполняли по значениям коэффициентов корреляции рангов (при качественном учете результатов исследования, т.е. при оценке наличия/отсутствия антител) или коэффициентов корреляции величин, характеризующих содержание антител – титров или концентраций (при количественном или полуколичественном учете результатов). Значения полученных коэффициентов корреляции приведены в Табл. 1.

Таблица 1

Значения коэффициентов корреляции оценок сывороток рабочих панелей различными вариантами экспериментальных ИФТС с паспортными характеристиками сывороток

Панель	Концентрация антигена (мкг/мл)					
	2		5		8	
	оценка наличия	оценка содержан ия	оценка наличия	оценка содержан ия	оценка наличия	оценка содержания
IgM-Tg	0,48	-	0,69	-	0,57	-
IgG-Tg	1	0,98	1	≈ 1	1	≈ 1
IgM-Ru	0,48	-	0,61	-	0,87	-
IgG-Ru	1	≈ 1	1	≈ 1	1	≈ 1
IgM-CMV	0,48	-	0,74	-	1	-
IgG-CMV	0,87	≈ 1	1	1	1	1
IgM-Hs	0,48	-	0,68	-	1	-
IgG-Hs-1	0,90	≈ 1	1	1	1	0,91
IgG-Hs-2	0,82	0,98	1	≈ 1	1	≈ 1

Примечания:

1. "≈ 1" использовано при значениях коэффициента корреляции, начиная с 0,999.... 2. "1" использовано при полном совпадении качественных оценок

Результаты оценок экспериментальных тест-систем на сыворотках собственных рабочих панелей позволили выбрать оптимальные концентрации антигена для приготовления иммуносорбентов в ИФТС для выявления IgM к цитомегаловирусу, ВПГ-1 и ВПГ-2, а также IgG ко всем исследованным вирусным возбудителям. Но в то же время они показали, что решение об использовании антигенного иммуносорбента при конструировании ИФТС для выявления IgM к *Toxoplasma gondii* и вирусу краснухи оказалось ошибочным. В

связи с этим при конструировании указанных тест-систем было решено испытать методику "capture", т.е. использовать для приготовления иммуносорбента не видоспецифические антигены, а антитела к IgM человека, видоспецифические же антигены, меченые пероксидазой хрена, использовать в качестве конъюгата.

Видоизмененные таким образом тест-системы были вновь испытаны в тех же условиях, и полученные при этом результаты подтвердили верность принятого решения. Оценки сывороток панелей IgM-Tg и IgM-Ru, полученные в ИФА с измененными экспериментальными тест-системами, полностью совпали с оценками, полученными при предварительных исследованиях этих сывороток - все положительные сыворотки рабочих панелей были оценены как положительные, все отрицательные сыворотки – как отрицательные и, все сыворотки с содержанием антител на пороговом уровне – как сомнительные.

Полученные результаты позволили также предположить, что оценки содержания IgG к *Toxoplasma gondii* и вирусу краснухи будут более надежны, если ввести в эти тест-системы не 2, а 4 контрольных положительных образца с разным содержанием антител, что позволяло строить калибровочный график уже не по 2, а по 4 точкам. При этом представлялось, что калибраторы с максимальным и минимальным содержанием антител (K^+_1 и K^+_4) будут соответствовать K^+ и $K_{\text{пор}}$, а в двух других (K^+_2 и K^+_3) будут, соответственно, промежуточные уровни содержания антител.

Модифицированные таким образом тест-системы были вновь испытаны на сыворотках рабочих панелей IgG-Tg и IgG-Ru; коэффициенты корреляции полученных при этом оценок содержания антител в исследуемых образцах с оценками, полученными при формировании рабочих панелей, составили для обеих тест-систем 0,999 и 1,0, соответственно. В этом же цикле исследований были определены оптимальные параметры постановки ИФА и оценена воспроизводимость результатов ИФА с использованием экспериментальных образцов тест-систем.

Исходя из протокола постановки непрямого ИФА на твердой фазе требовалось определить:

- оптимальную температуру и продолжительность инкубации планшетов с внесенными в лунки образцами, а также планшетов с внесенным конъюгатом;
- оптимальный режим удаления избытков реакционных смесей из лунок, т.е. режим промывки планшетов после соответствующей инкубации перед внесением очередного реагента,
- оптимальные условия остановки ферментативной реакции и учета ее результатов.

Выбор указанных параметров были выполнен по величинам коэффициентов вариации значений ОП, рассчитанных по результатам испытаний 5 серий каждой экспериментальной тест-системы при трех значениях каждого оптимизируемого параметра, с каждым из которых было выполнено по 10 постановок. Оптимальными считались условия постановки, при которых были получены минимальные значения коэффициентов вариации.

Таковыми условиями явились:

- инкубация планшетов после внесения образцов 60 мин при 37°C;
- инкубация планшетов после внесения конъюгата 30 мин при 37°C;
- инкубация планшетов после внесения субстратно-индикаторного раствора 10-15 мин при 21-25 °C при определении IgG и 30 мин при определении IgM;
- четырехкратная промывка планшетов после первых двух инкубаций;
- учет результатов ИФА не позднее 15 мин после внесения в реакционную смесь стоп-реагента.

Оценку воспроизводимости результатов проводили по значениям коэффициентов вариации значений ОП контрольных образцов в 10 параллельных постановках, выполненных в один день с использованием одного и того же набора, с использованием разных наборов одной серии и с использованием наборов разных серий, а также в 5 последовательных постановках, выполненных с интервалом в 1 сутки также с использованием одного и того же набора, с использованием разных наборов одной серии и с использованием наборов разных серий. Для тест-систем для выявления IgM к *Toxoplasma gondii*, вирусу краснухи, ЦМВ и ВПГ, при постановках, выполненных в один день с использованием одного и того же набора, коэффициенты вариации составили 4,0- 4,5- 4,8- и 5,0%, соответственно, при аналогичных постановках с использованием наборов разных серий коэффициенты вариации составили 4,8- 4,9- и 5,0%, соответственно. Пять последовательных постановок с интервалом в 1 сутки с использованием одного и того же набора, с использованием разных наборов одной серии и с использованием наборов разных серий дали коэффициенты вариации 5,5- 5,6- 5,4- 5,0- 6,1- 6,3- 6,6% и 6,0- 6,9- 7,0- 6,8- 7,0%, соответственно. Иначе говоря, во всех проведенных испытаниях коэффициенты вариации значений ОП контрольных образцов при параллельных постановках не превышали 5%, а при последовательных постановках – 7%, т.е. была показана высокая воспроизводимость результатов ИФА с разработанными тест-системами.

Результаты лабораторных испытаний экспериментальных образцов 10 тест-систем – "ИФА-Токсо-IgM", "ИФА-Токсо-IgG", "ИФА-Краснуха-IgM", "ИФА-Краснуха-IgG", "ИФА-ЦМВ-IgM", "ИФА-ЦМВ-IgG", "ИФА-ВПГ 1,2-IgM", "ИФА-ВПГ-1-IgG", "ИФА-ВПГ-2-IgG", позволили перейти к

последующей их апробации при более широких исследованиях на различных коммерческих панелях сывороток и на клинических материалах, полученных из различных ЛПУ, в сравнении с известными аналогичными наборами других фирм.

Сравнительные доклинические испытания тест-систем

В качестве доклинических испытаний были проведены исследования всех разработанных тест-систем в сравнении с их аналогами на ряде коммерческих панелей сывороток.

Испытания тест-систем "ИФА-Токсо-IgM" и "ИФА-Токсо-IgG"

Тест-система "ИФА-Токсо-IgM" была испытана, прежде всего, на 48 сыворотках панели Viro-Immun QC panel vs с параллельной оценкой этих сывороток в РИФ. При этом оценки всех сывороток по наличию или отсутствию IgM к *Toxoplasma gondii* обоими методами полностью совпали с их паспортными характеристиками, т.е. все положительные по паспорту сыворотки были оценены и в РИФ, и в ИФА с экспериментальной ИФТС как положительные, а отрицательные по паспорту, соответственно, как отрицательные. Соответственно, диагностическая чувствительность (доля положительных оценок при исследовании заведомо положительных образцов) и диагностическая специфичность (доля отрицательных результатов при исследовании заведомо отрицательных образцов) тест-системы "ИФА-Токсо-IgM", рассчитанные с учетом как паспортных характеристик сывороток, так и результатов РИФ, составили 100%.

На 24 сыворотках этой же панели было проведено параллельное исследование с использованием тест-систем "ИФА-Токсо-IgM", "Bioelisa Toxo IgM" (фирма Biokit, Испания) и "Enzygnost Toxoplasmosis IgM" (фирма Behring Diagnostics, INC, Германия) (Рис. 2).

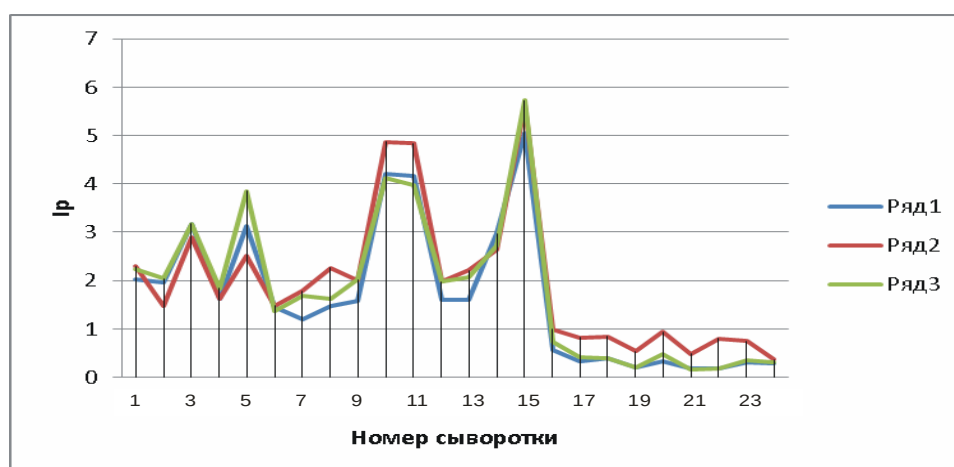


Рис. 2. Распределения значений индекса позитивности ($I_p = 0P_{\text{сыв}} / 0P_{\text{Кпор}}$) при сравнительных испытаниях "ИФА-Токсо-IgM" и тест-систем "Bioelisa Toxo IgM" и "Enzygnost Toxoplasmosis IgM"

Ряд 1-"Bioelisa Toxo IgM", Ряд 2-"Enzygnost Toxoplasmosis IgM", Ряд 3-"ИФА-Токсо-IgM".

Качественные оценки исследованных образцов, т.е. их дискриминация по наличию-отсутствию специфических IgM, были одинаковы при использовании всех трех ИФТС. Кроме того, была получена высокая корреляция оценок содержания IgM (по величине отношения ОПсыв/ОПКпор или индекса позитивности, т.е. по величине, пропорциональной соответствующему титру) – коэффициент корреляции между результатами, полученными с ИФТС Bioelisa Toxo IgM и ИФА-Токсо-IgM-capture, составил 0,99; между результатами, полученными с ИФТС Enzygnost Toxoplasmosis IgM и ИФА-Токсо-IgM-capture – 0,95.

Аналогичные результаты были получены также при испытании тест-системы "ИФА-Токсо-IgG" на 28 сыворотках панели Viro-Immun QC panel vs в сравнении с тест-системой "Bioelisa Toxo IgG" (фирма Biokit, Испания) (Рис. 3).



Рис. 3. Распределения концентрации IgG, полученные в сравнительных испытаниях "ИФА-Токсо-IgG" и тест-системы "Bioelisa Toxo IgG"
Ряд 1 – "Bioelisa Toxo IgG "; Ряд 2 – "ИФА-Токсо-IgG"

Качественные оценки образцов (дискриминация по пороговому значению концентрации IgG, равному 10 МЕ/мл), полученные в этом исследовании, совпали полностью с паспортными при использовании обеих тест-систем, а коэффициент корреляции полученных в испытании значений концентрации антител составил $0,99 \pm 0,01$.

Испытания тест-систем "ИФА-Краснуха-IgM" И "ИФА-Краснуха-IgG"

Тест-система "ИФА-Краснуха-IgM" была испытана в сравнении с тест-системами "Abbott Labs EIA Rubazyme-M" и "Gull Labs ELISA Rubella IgM" на сыворотках сероконверсионных панелей 55003 и 57001 фирма ABI. Каждая из них включала 20 сывороток, номера которых соответствовали определенному сроку наблюдения за инфекционным процессом (Табл.2).

Таблица 2.

Распределения значений сывороток сероконверсионных панелей 55003 и 57001 по срокам наблюдения за инфекционным процессом

№ сыворотки	День наблюдения	№ сыворотки	День наблюдения	№ сыворотки	День наблюдения	№ сыворотки	День наблюдения
1	0	6	19	11	39	16	57
2	3	7	24	12	43	17	60
3	9	8	27	13	46	18	64
4	12	9	31	14	50	19	67
5	16	10	36	15	53	20	71

Как следует из представленных на Рис. 4. и 5. результатов, все три тест-системы дали практически идентичную картину нарастания и последующего снижения содержания IgM в исследованных образцах. На панели 55033 между результатами Abbott Labs EIARubazyme-M и Gull Labs ELISA Rubella IgM по показателям качественной оценки был получен коэффициент корреляции 0,90, а по значениям индексов позитивности 0,98; между результатами Abbott Labs EIARubazyme-M и ИФА-Краснуха IgM (capture) по показателям качественной оценки – 0,76, а по значениям индексов позитивности – 0,98 и между результатами ИФА-Краснуха IgM (capture) и Gull Labs ELISA Rubella IgM: по показателям качественной оценки – 0,95, а по значениям индексов позитивности – 0,98. Аналогично на панели 57001 коэффициент корреляции между результатами Abbott Labs EIARubazyme-M и Gull Labs ELISA Rubella IgM по показателям качественной оценки составил 0,80, а по значениям индексов позитивности – 0,99; между результатами Abbott Labs EIARubazyme-M и ИФА-Краснуха IgM (capture) по показателям качественной оценки – 0,74, а по значениям индексов позитивности – 0,99 и между результатами ИФА-Краснуха IgM (capture) и Gull Labs ELISA Rubella IgM по показателям качественной оценки – 0,97, а по значениям индексов позитивности – 0,9.

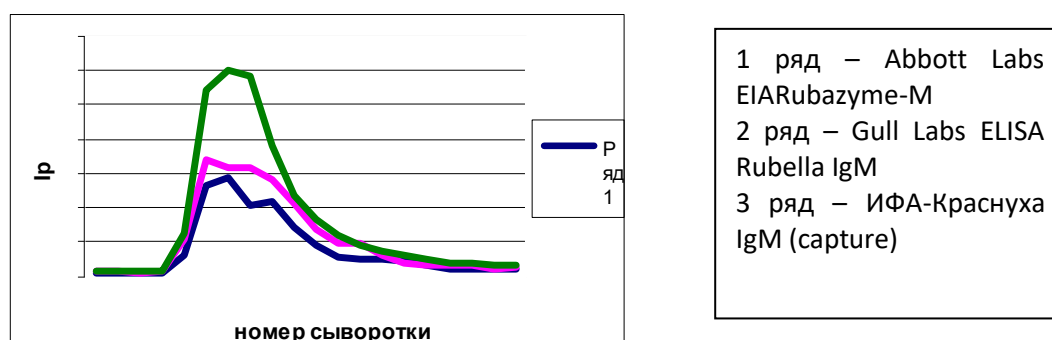


Рис. 4. Распределения индексов позитивности ($I_p = \text{ОП}_{\text{сыв}}/\text{ОП}_{\text{крит}}$) в сравнительных испытаниях ИФТС Abbott Labs EIA Rubazyme-M, Gull Labs ELISA Rubella IgM и ИФА-Краснуха IgM (capture) на сероконверсионной панели 55003

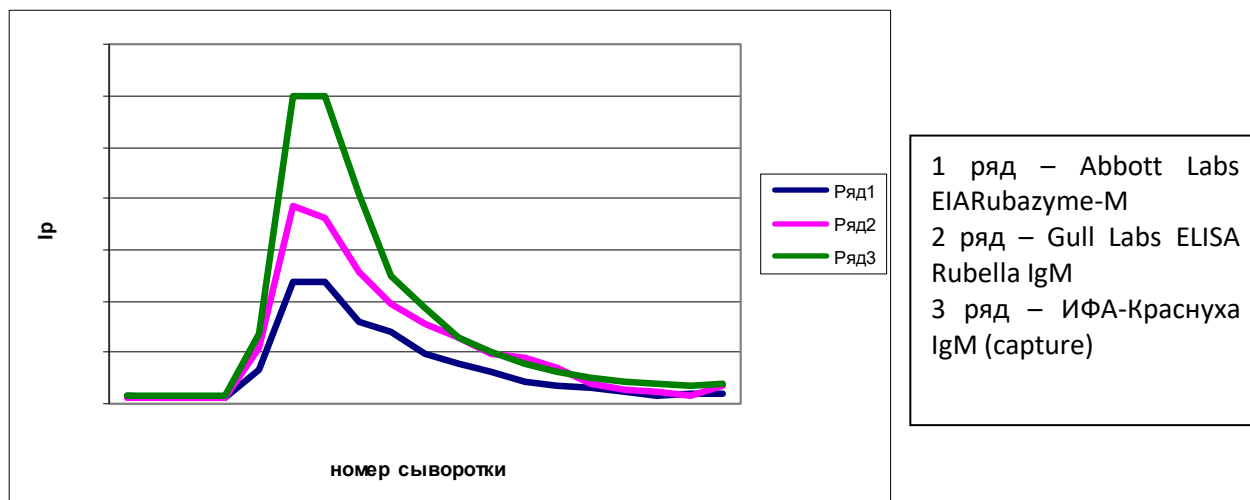


Рис. 5. Распределения индексов позитивности ($I_p = \text{ОП}_{\text{сыв}}/\text{ОП}_{\text{крит}}$) в сравнительных испытаниях ИФТС Abbott Labs EIA Rubazyme-M, Gull Labs ELISA Rubella IgM и ИФА-Краснуха IgM (capture) на сероконверсионной панели 57001

При этом показатели как качественного (наличие-отсутствие антител), так и количественного учета (индекс позитивности, т.е. отношение $\text{ОП}_{\text{сыв}}/\text{ОП}_{\text{кпор}}$) в тест-системе "ИФА-Краснуха-IgM" были выше по сравнению с двумя другими, что позволяет предполагать ее более высокую чувствительность.

Тест-система "ИФА-Краснуха-IgG" была испытана на сыворотках тех же панелей в сравнении с тест-системами Abbott Labs EIA Rubazyme-G, Gull Labs ELISA Rubella IgG (Рис. 6 и 7).

В этих испытаниях все тест-системы также показали практически однотипную динамику как качественных показателей, так и содержания IgG (коэффициенты корреляции качественных показателей – 0,97-1, а значений $\text{ОП}_{\text{сыв}}/\text{ОП}_{\text{кпор}}$ – 0,97-0,98). При этом показатели и качественного, и количественного учета в тест-системе "ИФА-Краснуха-IgG" также были выше по сравнению с двумя другими.

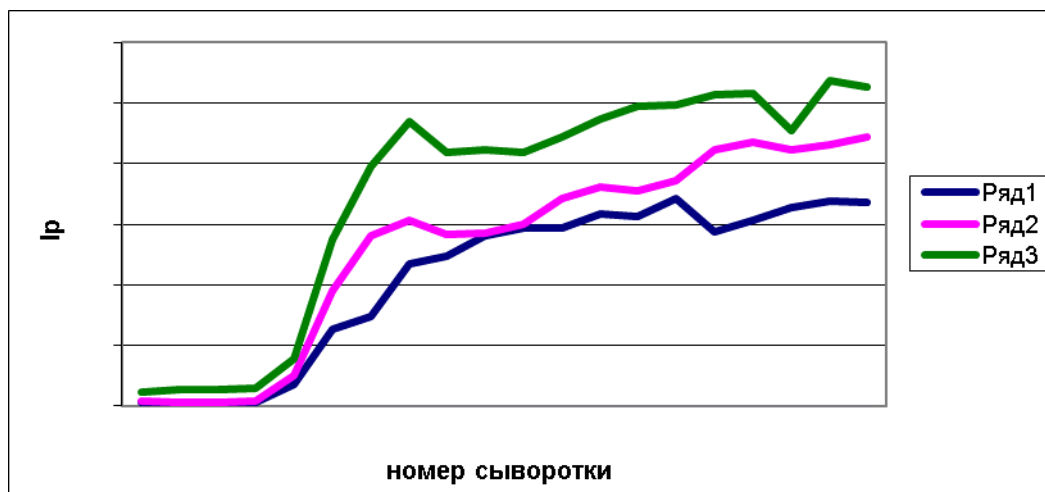


Рис. 6. Распределения индексов позитивности ($I_p = \text{ОП}_{\text{сыт}}/\text{ОП}_{\text{Кпор}}$) в сравнительных испытаниях ИФТС Abbott Labs EIARubazyme-G, Gull Labs ELISA Rubella IgG и ИФА-Краснуха IgG на сероконверсионной панели 55003

1 ряд – Abbott Labs EIARubazyme-G, 2 ряд – Gull Labs ELISA Rubella IgG

3 ряд – ИФА-Краснуха IgG

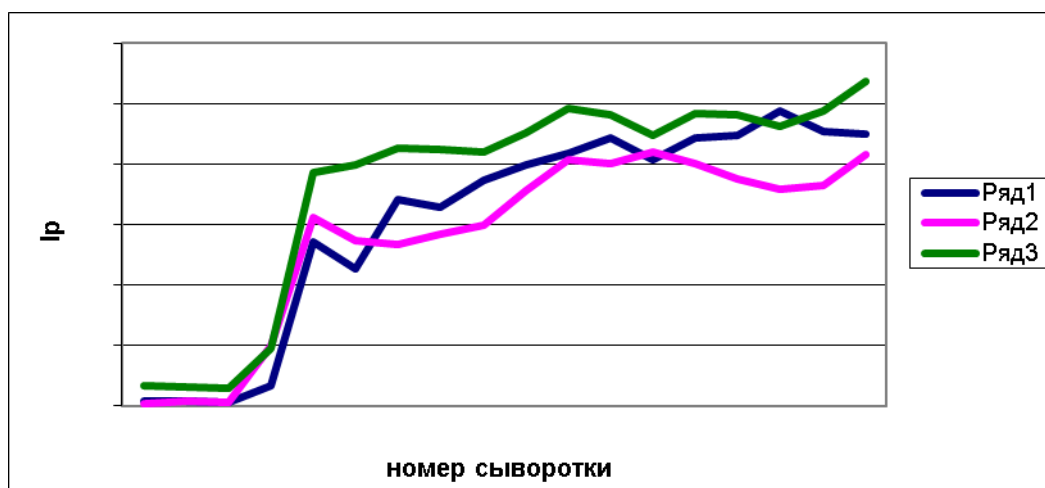


Рис. 7. Распределения индексов позитивности ($I_p = \text{ОП}_{\text{сыт}}/\text{ОП}_{\text{Кпор}}$) в сравнительных испытаниях ИФТС Abbott Labs EIARubazyme-G, Gull Labs ELISA Rubella IgG и ИФА-Краснуха IgG на сероконверсионной панели 57001

1 ряд – Abbott Labs EIARubazyme-G,

2 ряд – Gull Labs ELISA Rubella IgG

3 ряд – ИФА-Краснуха IgG

Испытания тест-систем "ИФА-ЦМВ-IgM" и "ИФА-ЦМВ-IgG"

Тест-система "ИФА-ЦМВ-IgM" была испытана на 30 сыворотках панели С1-С30 института Пастера (Афины) в сравнении с оценками в РИФ и ИФТС Human CMV IgM PLUS (Германия) (Рис. 8).

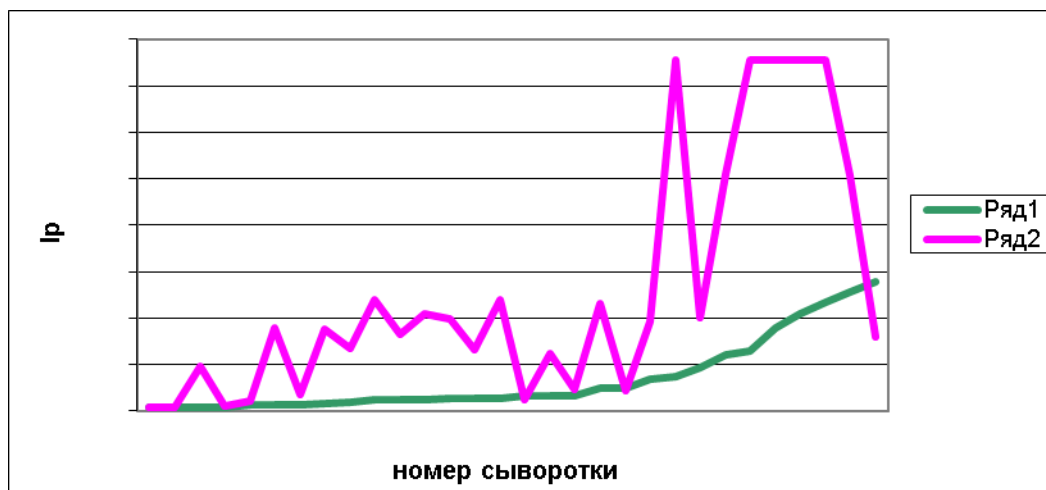


Рис.8. Распределения индексов позитивности ($I_p = \frac{ОП_{сыв}}{ОП_{Кпор}}$) в сравнительных испытаниях ИФТС ИФА-ЦМВ-IgM и Human CMV IgM PLUS на сыворотках панели С1-С30 института Пастера (Афины)
Ряд 1 – "ИФА-ЦМВ-IgM"; Ряд 2 – Human CMV IgM PLUS

В этих исследованиях оценка сывороток в ИФТС Human CMV IgM PLUS совпала с результатами ИФА с ИФТС "ИФА-ЦМВ-IgM" только в 17 случаях из 30, соответственно, расчет коэффициента корреляции качественных оценок дал всего 0,28, т.е. практическое отсутствие связи, хотя связь между значениями индекса позитивности все же прослеживается (коэффициент корреляции - 0,68). В то же время оценки по результатам ИФА с "ИФА-ЦМВ-IgM" совпали с результатами исследования тех же сывороток в РИФ в 29 случаях из 30 (коэффициент корреляции - 0,98), что позволяет относиться к данным, полученным при использовании "ИФА-ЦМВ-IgM", как к более надежным оценкам, сравнительно с оценками, полученными при использовании ее аналога.

Тест-система "ИФА-ЦМВ-IgG" была испытана на 52 сыворотках панели Viro-Immun QC panel в параллельной оценке в РИФ и ИФА в ИФТС Human CMV IgG PLUS (Рис. 9).

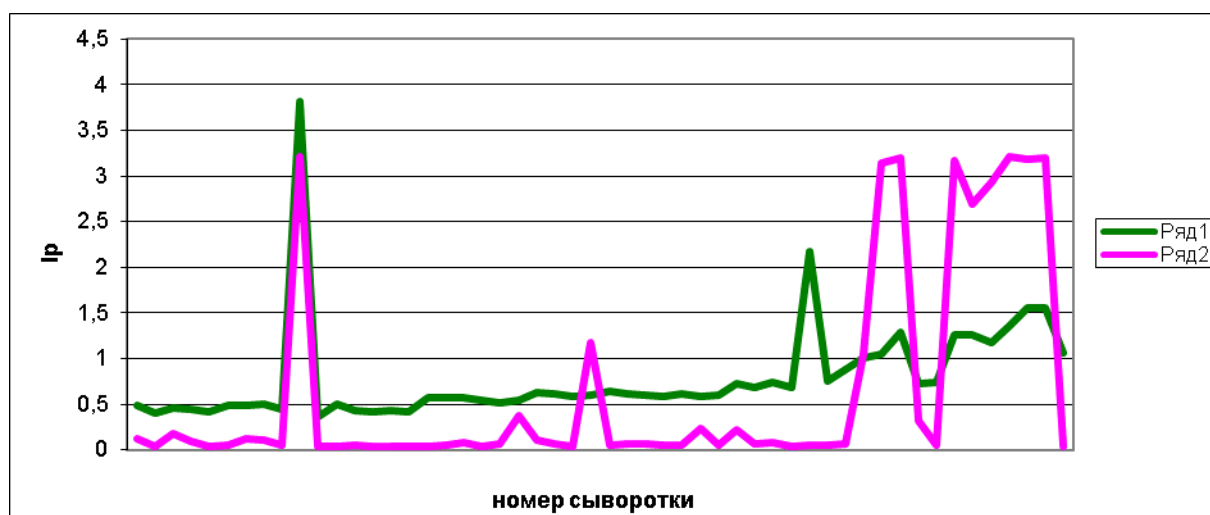


Рис. 9. Распределения индексов позитивности ($I_p = \text{ОП}_{\text{сыв}} / \text{ОП}_{\text{кпор}}$) в сравнительных испытаниях ИФТС ИФА-ЦМВ-IgG и Human CMV IgG PLUS на сыворотках Viro-Immun QC panel

Ряд 1 – "ИФА-ЦМВ-IgG"; Ряд 2 – Human CMV IgG PLUS

Из представленных результатов следует, что в этих испытаниях результаты ИФА с обеими тест-системами дали удовлетворительное совпадение качественных оценок как между собой (коэффициент корреляции 0,83), так и с оценками в РИФ (коэффициенты корреляции - 0,78 и 0,68, соответственно). Удовлетворительной была также связь значений индексов позитивности, полученных при использовании сопоставляемых ИФТС (коэффициент корреляции 0,66).

Испытания тест-систем "ИФА-ВПП-1-IgG" и "ИФА-ВПП-2-IgG"

Тест-системы "ИФА-ВПП-1-IgG" и "ИФА-ВПП-2-IgG" были, прежде всего, испытаны на панели сывороток ОСО 42-28-373-04, в которой из 36 сывороток 16 не содержали антител к ВПП-1 и ВПП-2, 17 содержали IgG к ВПП-1 и 3 содержали антитела к ВПП-2.

Оценки сывороток в обеих тест-системах полностью совпали с паспортными характеристиками использованных образцов – все 16 отрицательных по паспорту образцов были оценены как отрицательные в обеих тест-системах, 17 образцов, положительных по IgG к ВПП-1, были оценены как положительные в ИФТС "ИФА-ВПП-1-IgG" и как отрицательные в ИФТС "ИФА-ВПП-2-IgG", а 3 положительных по IgG к ВПП-2 образца были оценены как положительные в ИФТС "ИФА-ВПП-2-IgG" и как отрицательные в ИФТС "ИФА-ВПП-1-IgG", т.е. была показана 100 % специфичность и чувствительность тест-систем. В исследованных образцах при предварительном исследовании были выявлены IgM к *Toxoplasma gondii*, а 255

образцов не содержали указанных антител и составили контрольную группу, в которую вошли 53 здоровых донора крови, 66 беременных женщин, 53 лица с антителами к тканевым гельминтам, 10 онкологических больных, 10 больных системными заболеваниями, 23 больных с астматическими и аллергическими клиническими проявлениями, 40 лиц с повышенным содержанием иммуноглобулинов класса G к токсоплазме и 10 – с антителами к цитомегаловирусу.

ИСПЫТАНИЯ ТЕСТ-СИСТЕМ НА КЛИНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ И СРАВНЕНИЕ С НАБОРАМИ-АНАЛОГАМИ

Результаты доклинических исследований позволили перейти к более масштабным испытаниям тест-систем на базе различных медицинских учреждений России и на материалах (образцах сыворотки), предоставленных ими.

Чувствительность и специфичность тест-системы ИФА-Токсо-IgM-capture" была оценена нами при исследовании 252 образцов сывороток, полученных из Павлово-Посадской ЦРБ. При предварительной оценке этих образцов в РИФ и ИФА другими коммерческими тест-системами 100 образцов были оценены обоими методами как положительные и 152 – как отрицательные. При использовании ИФТС "ИФА-Токсо-IgM-capture" все положительные, по предварительной оценке, образцы были также оценены как положительные, а из 152 отрицательных, по предварительной оценке, образцов 3 образца были оценены в ИФТС "ИФА-Токсо-IgM-capture" как сомнительные, т.е. ее чувствительность составила 100 %, а специфичность – 98 %.

Аналогичные испытания тест-системы "ИФА-Токсо-IgM-capture" были проведены также на базе лаборатории иммунологии ИМП и ТМ им. Е.И. Марциновского Первого МГМУ им. И.М.Сеченова. Всего было проанализировано 317 сывороток крови, которые были предварительно исследованы на наличие IgM к *Toxoplasma gondii*. Из 317 образцов в 62 образцах при предварительном исследовании были выявлены IgM к *Toxoplasma gondii*, а 255 образцов не содержали указанных антител и составили контрольную группу, в которую вошли 53 здоровых донора крови, 66 беременных женщин, 53 лица с антителами к тканевым гельминтам, 10 онкологических больных, 10 больных системными заболеваниями, 23 больных с астматическими и аллергическими клиническими проявлениями, 40 лиц с повышенным содержанием иммуноглобулинов класса G к токсоплазме и 10 – с антителами к цитомегаловирусу.

В качестве тест-системы сравнения в этом исследовании была использована тест-система "ВектоТоксо-IgM-Стрип" (производства ЗАО "Вектор-Бест", г. Новосибирск). Полученные результаты проиллюстрированы на Рис. 10.

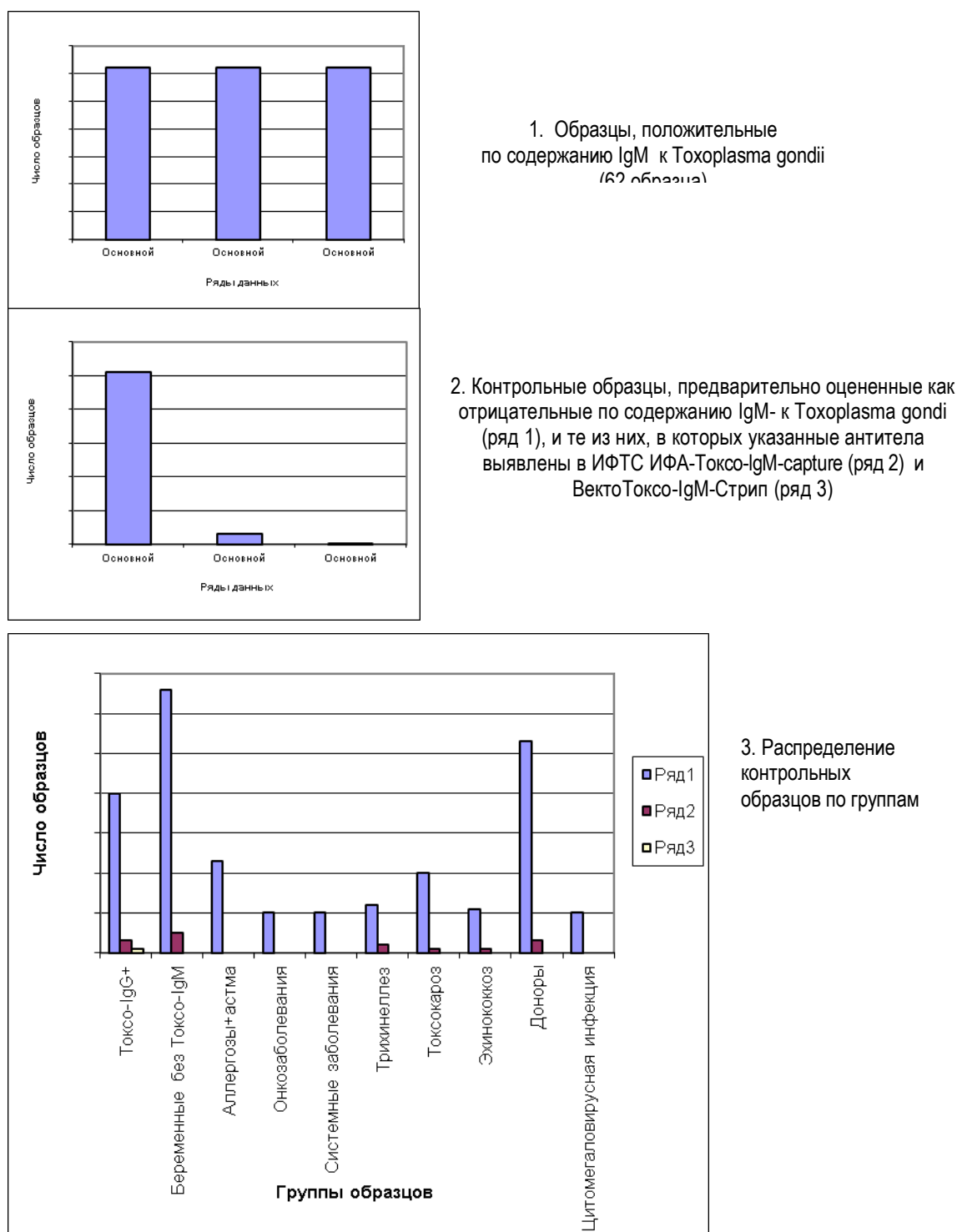


Рис.10. Диаграммы распределения оценок образцов, исследованных в ИФТС ИФА-Токсо-IgM-capture (ЗАО «ЭКОлаб») и ВектоТоксо-IgM-Стрип (ЗАО "Вектор-Бест") после их предварительной оценки на наличие IgM к *Toxoplasma gondii*

Ряд 1 – число предварительно оцененных образцов (55 положительных, 252 отрицательных).Ряд 2 – число образцов, оцененных как положительные в ИФТС ИФА-Токсо-IgM-capture.Ряд 3 – число образцов, оцененных как положительные в ИФТС ВектоТоксо-IgM-Стрип.

Все 62 сыворотки, предварительно оцененные как положительные, получили такую же оценку как в ИФТС "ИФА-Токсо-IgM-capture", так и в тест-

системе сравнения, т.е. получено подтверждение 100 % чувствительности испытываемой тест-системы.

При исследовании 255 образцов контрольной группы, т.е. отрицательных, по предварительной оценке, в ИФТС "ИФА-Токсо-IgM-capture" 15 образцов были оценены как положительные. В это число вошли 3 сыворотки из 40, содержавших IgG к *Toxoplasma gondii*, 5 из 66 сывороток от беременных, 4 из 43 сывороток от пациентов с гельминтозами и 3 сыворотки из 53 от доноров. В тест-системе сравнения положительный результат при исследовании образцов контрольной группы был получен только в 1 случае - в группе с наличием IgG. В итоге специфичность "ИФА-Токсо-IgM-capture" по данным этого исследования составила 95 %.

В испытаниях этой тест-системы на базе Павлово-Посадской лаборатории "СПИД" и Егорьевской лаборатории "СПИД", проведенных на 280 сыворотках, полученных в этих же лабораториях (80 образцов с предварительно установленным наличием IgM к токсоплазме и 200 образцов от здоровых доноров крови), в группе сывороток, содержащих IgM к токсоплазме, доля положительных результатов с использованием тест-системы "ИФА-Токсо-IgM" также составила 100%. В контрольной группе положительные результаты анализа отсутствовали.

Испытания тест-системы "ИФА-Токсо-IgG" на клинических материалах были начаты на базе лаборатории иммунологии ИМПитМ им. Е.И.Марциновского Первого МГМУ им. И.М.Сеченова, где с использованием в качестве референсной тест-системы "ВектоТоксо-стрип" (фирма ЗАО "Вектор-Бест") были оценены 24 сыворотки от лиц, 15 из которых имели клиническое подтверждение токсоплазмоза и 9 были здоровыми донорами крови. В обеих тест-системах все сыворотки от больных токсоплазмозом были оценены как положительные, а сыворотки от доноров крови - как отрицательные, т.е. было получено полное совпадение результатов ИФА.

Далее чувствительность и специфичность тест-системы "ИФА-Токсо-IgG" была оценена нами при исследовании 213 сывороток, полученных из Павлово-Посадской лаборатории "СПИД" и предварительно охарактеризованных в РИФ (набор IFA TOXO-IgG фирмы Viro Immun Diagnostics, Германия) и ИФА (ИФТС DRG *Toxoplasma gondii* IgG ELISA фирмы DRG Diagnostics, Германия). При этом 100 образцов были предварительно оценены как положительные и 113 – как отрицательные. В ИФТС "ИФА-Токсо-IgG" как положительные были оценены 99 образцов из 100 положительных, по предварительной оценке, и как отрицательные – 111 из 113 отрицательных, по предварительной оценке, т.е. ее чувствительность по результатам этих испытаний составила 99 %, а специфичность 98,5%.

Кроме этого, с использованием тест-систем "ИФА-Токсо-IgM" и "ИФА-Токсо-IgG" в различных медицинских учреждениях Московской области (Электрогорской городской больнице, Павлово-Посадской ЦРБ, Орехово-Зуевской СПК) в 2005-2006 г.г. были обследованы 323 человека, из них – 103 здоровые беременные женщины, 40 беременных с выкидышем в анамнезе, 40 женщин с выкидышем, 40 женщин с диагнозом "бесплодие" и 100 здоровых доноров крови (50 мужчин и 50 женщин).

При этом IgM к *Toxoplasma gondii* были обнаружены у 1 здоровой беременной женщины (0,97 %), у 5 женщин с выкидышем (12,5%), у 4 женщин с диагнозом "бесплодие" (10%) и у 2 здоровых доноров крови – у 1 мужчины и у 1 женщины (2%). Полученные данные еще раз подтверждают роль токсоплазмоза в патогенезе выкидышей и бесплодия.

IgG к *Toxoplasma gondii* были выявлены у 46 (из 103) здоровых беременных женщин (44,7%), у 13 беременных женщин с выкидышем в анамнезе (32,5%), у 16 женщин с выкидышем (40%), у 15 женщин с диагнозом "бесплодие" (37,5%) и у 58 здоровых доноров крови – 32 женщин (64%) и 26 мужчин (52%).

Наличие IgG к *Toxoplasma gondii* у столь высокого процента обследованных лиц подтверждает факт широкой распространенности токсоплазмоза и явную заниженность показателей официально регистрируемой заболеваемости, тем более что при высоком проценте серопозитивных по IgG лиц среди женщин-доноров крови, у одной из них были выявлены и IgM, т.е. маркер активно текущего токсоплазмоза.

Тест-система "ИФА-Краснуха-IgM" была испытана на базе СПб ГУЗ "Городской диагностический центр (вирусологический) Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга" при исследовании 45 сывороток, предварительно оцененных с помощью тест-системы "Rubella IgM EIA resomb" фирмы Roche (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas Core II (при этом 24 сыворотки были оценены как положительные и 21 - как отрицательная). Результаты исследования представлены на Рис. 11.

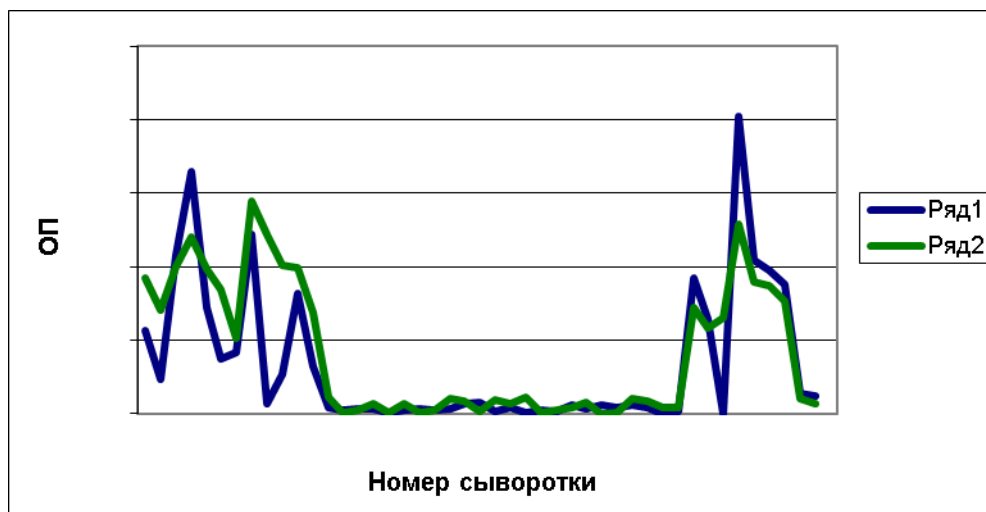


Рис. 11. Распределения значений ОП образцов исследованных в ИФТС Rubella IgM EIA resomb (фирма «Roche») и ИФА-Краснуха-IgM (ЗАО «ЭКОлаб»)
Ряд 1 – Rubella IgM EIA resomb; Ряд 2 – ИФА-Краснуха-IgM

Качественная оценка исследованных сывороток, т.е. их дифференциации на положительные и отрицательные, в ИФТС "ИФА-Краснуха-IgM" полностью совпала с их предварительной оценкой. При этом коэффициент корреляции значений ОП, полученных при использовании обеих тест-систем, составил 0,82.

Тест-система "ИФА-Краснуха-IgG" была также испытана на базе СПб ГУЗ "Городской диагностический центр (вирусологический) Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга" при исследовании 26 сывороток, предварительно оцененных с помощью тест-системы "Rubella IgG EIA resomb" фирмы Roche (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas Core II (Рис. 12).



Рис. 12. Распределения значений ОП образцов исследованных в ИФТС Rubella IgM EIA resomb (фирма «Roche») и ИФА-Краснуха-IgG (ЗАО «ЭКОлаб»)
Ряд 1 – Rubella IgG EIA resomb; Ряд 2 – ИФА-Краснуха-IgG

Приведенные данные свидетельствуют о полном совпадении качественных оценок сывороток на наличие IgG в обеих тест-системах, коэффициент корреляции оценок содержания антител в МЕ/мл составил 0,76.

Тест-система "ИФА-ЦМВ-IgM" была испытана на базе СПб ГУЗ "Городской диагностический центр (вирусологический) Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга" при исследовании 61 сыворотки, предварительно оцененные с помощью тест-системы "CMV IgM EIA resomb" фирмы Roche (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas Core II как положительные (6 образцов) и отрицательные (55 образцов) (Рис. 13).



Рис. 13. Распределения значений ОП образцов, исследованных в ИФТС "CMV IgM EIA resomb" (фирма «Roche») и "ИФА-ЦМВ-IgM" (ЗАО «ЭКОлаб»)
Ряд 1 – "CMV IgM EIA resomb"; Ряд 2 – "ИФА-ЦМВ-IgM"

Представленные данные свидетельствуют о хорошем совпадении оценок наличия IgM к ЦМВ в ИФТС "ИФА-ЦМВ-IgM" с предварительной оценкой образцов — из 6 образцов, предварительно оцененных как положительные, и из 55 образцов, предварительно оцененных как отрицательные, аналогичные оценки в ИФТС "ИФА-ЦМВ-IgM" получили 5 и 54 образца, соответственно, что дало коэффициент корреляции качественных оценок, равный 0,70, а коэффициент корреляции соответствующих значений ОП, равный 0,88.

Тест-система "ИФА-ЦМВ-IgG" была испытана также на базе СПб ГУЗ "Городской диагностический центр (вирусологический) Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга" при исследовании 38 сывороток, предварительно оцененных с помощью тест-системы "CMV IgG EIA resomb" фирмы Roche (Швейцария) как положительные (31 образец) и отрицательные (7 образцов) (Рис. 14).



Рис. 14. Распределения значений ОП образцов, исследованных в ИФТС "CMV IgG EIA resomb" (фирма «Roche») и "ИФА-ЦМВ-IgG" (ЗАО «ЭКОлаб»)
Ряд 1 – "CMV IgG EIA resomb"; Ряд 2 – "ИФА-ЦМВ-IgG"

В этих испытаниях качественные оценки, т.е. дифференциация образцов с использованием "ИФА-ЦМВ-IgG" на 31 положительный и 7 отрицательных полностью совпала с предварительными оценками сывороток в ИФТС "CMV IgG EIA resomb", а коэффициент корреляции значений ОП составил 0,78.

Тест-система "ИФА-ВПП-1+2-IgM" была исследована на 50 образцах сывороток пациентов с подозрением на острую герпетическую инфекцию, полученных в Павлово-Посадской ЦРБ; указанные образцы параллельно были также исследованы в ИФТС "DRG HSV 1,2 IgM ELISA" фирмы DRG Diagnostics (Германия).

38 образцов из этих 50 были оценены в обеих тест-системах как отрицательные, 8 - как положительные, 2 - как сомнительные; 2 образца, оцененные в тест-системе сравнения как сомнительные, получили в ИФТС "ИФА-ВПП-1+2-IgM" положительную оценку, что может быть связано с более высокой чувствительностью этой тест-системы, т.к. для этих образцов индексы позитивности в ИФТС "DRG HSV 1,2 IgM ELISA" и "ИФА-ВПП-1+2-IgM" составили 1,050 и 0,995, а также 1,500 и 1,150, соответственно, что говорит об относительно низком содержании в них специфических IgM, которое для тест-системы сравнения оказалось недостаточно высоким. При этом коэффициенты корреляции как ранговых оценок образцов, так и значений индексов позитивности составили 0,96.

Тест-системы "ИФА-ВПП-1-IgG" и "ИФА-ВПП-2-IgG" были исследованы далее на 99 сыворотках больных, у которых был диагностирован простой герпес 1 типа. Сыворотки были получены из Павлово-Посадской ЦРБ, где все они были также предварительно оценены с помощью тест-систем "DRG HSV 1 IgG ELISA" и "DRG HSV 2 IgG ELISA" фирмы DRG Diagnostics (Германия).

При сравнении результатов оценки этих образцов в испытываемых тест-системах с результатами предварительной оценки установлено, что в паре "ИФА-ВПП-1-IgG" и "DRG HSV 1 IgG ELISA" получены одинаковые отрицательные оценки 12 образцов и одинаковые положительные оценки 84 образцов. По 3 образцам из 99 оценки не совпали - из 2 образцов, предварительно оцененных как сомнительные, в ИФТС "ИФА-ВПП-1-IgG" 1 был оценен как отрицательный и 1 - как положительный, 1 образец, предварительно оцененный как положительный, в ИФТС "ИФА-ВПП-1-IgG" был оценен как сомнительный. В паре "ИФА-ВПП-2-IgG" и "DRG HSV 2 IgG ELISA" были получены одинаковые отрицательные оценки 95 образцов, 1 образец был оценен в обеих тест-системах как сомнительный и 3 - как положительные.

Из полученных данных следует также, что разработанные тест-системы "ИФА-ВПП-1-IgG" и "ИФА-ВПП-2-IgG" обеспечивают высокую надежность дифференциации типоспецифичности вируса герпеса. Так, из 84 образцов, положительных в тест-системе "ИФА-ВПП-1-IgG", во второй тест-системе оценены как положительные только 3 образца. Причем указанные оценки говорят не о недостаточной специфичности анализа, а о присутствии в указанных образцах антител к обоим типам ВПП, о чем свидетельствуют их аналогичные оценки в тест-системах сравнения.

Таким образом, результаты испытаний, разработанных ИФТС показали, что они могут быть использованы в лабораторной диагностике токсоплазмоза, краснухи, ЦМВИ и простого герпеса. Однако поскольку, как было показано ранее, необходимым элементом алгоритма лабораторной диагностики этой группы инфекций должна быть также оценка авидности IgG к их возбудителям, указанный комплекс ИФТС был дополнен четырьмя тест-системами, которые были разработаны нами для оценки авидности – "ИФА-антиТоксо-IgG-авидность", "ИФА-антиКраснуха-IgG-авидность", "ИФА-антиЦМВ-IgG-авидность", "ИФА-антиВПП-1+2-IgG-авидность". От соответствующих скрининговых тест-систем они отличаются только наличием высокоавидных и низкоавидных контрольных положительных образцов и диссоциирующего раствора, а протокол постановки ИФА – дополнительной операцией диссоциации комплекса антиген-антитело, которая проводится с планшетами, отмытыми после их инкубации с контрольными и исследуемыми образцами. Четыре дополнительных ИФТС и по составу, и по технологии производства, и по методике применения вполне органично вписывались в общий комплекс ИФТС.

Диагностическая эффективность тест-систем была оценена в сравнительных испытаниях с аналогичными тест-системами ЗАО "Вектор-Бест". Полученные при этом результаты проиллюстрированы Рис. 15 – 18.



Рис. 15. Распределения значений индекса avidности IgG к Toxoplasma gondii, определенного в ИФТС "ИФА-антиТоксо-IgG-авидность" (ЗАО "ЭКОлаб") и "ВектоТоксо-IgG-авидность" (ЗАО "Вектор-Бест")
Ряд 1 – "ИФА-антиТоксо-IgG-авидность". Ряд 2 – "ВектоТоксо-IgG-авидность"



Рис. 16. Распределения значений индекса avidности IgG к вирусу краснухи, определенного в ИФТС "ИФА-антиКраснуха-IgG-авидность" (ЗАО "ЭКОлаб") и "ВектоРубелла-IgG-авидность" (ЗАО "Вектор-Бест")
Ряд 1 – "ИФА-антиКраснуха-IgG-авидность". Ряд 2 – "ВектоРубелла-IgG-авидность"



Рис. 17. Распределения значений индекса авидности IgG к ЦМВ, определенного в ИФТС "ИФА-антиЦМВ-IgG-авидность" (ЗАО "ЭКОлаб") и "ВектоЦМВ-IgG-авидность" (ЗАО "Вектор-Бест")
Ряд 1 – "ИФА-антиЦМВ-IgG-авидность". Ряд 2 – "ВектоЦМВ-IgG-авидность"



Рис. 18. Распределения значений индекса авидности IgG к ВПГ, определенного в ИФТС "ИФА-антиВПГ-1+2-IgG-авидность" (ЗАО "ЭКОлаб") и "ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность" (ЗАО "Вектор-Бест")
Ряд 1 – "ИФА-антиВПГ-1+2-IgG-авидность". Ряд 2 – "ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность"

Приведенные на Рис. 15-18 данные наглядно свидетельствуют о высокой согласованности оценок авидности обеими группами тест-систем, что подтверждается значениями коэффициентов корреляции индексов позитивности (от 0,97 до 0,99), полученных в этих исследованиях. Все 13 ИФТС зарегистрированы в Росздравнадзоре.

РАЗРАБОТКА НАБОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТОКСОПЛАЗМОЗА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ И ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЙ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

Комплект "Токсоплазма-флюороген-IgG/IgM"

Принцип действия: при наличии в исследуемых образцах антител к *Toxoplasma gondii* они связываются с антигеном, фиксированном на стекле. После введения в реакционную смесь ФИТЦ-конъюгата образуются комплексы "антиген-антитело к *Toxoplasma gondii*-антитело конъюгата", наличие которых определяется по флюоресценции (желто-зеленое свечение *Toxoplasma gondii*) при просмотре стекол в люминесцентном микроскопе (Рис. 19).

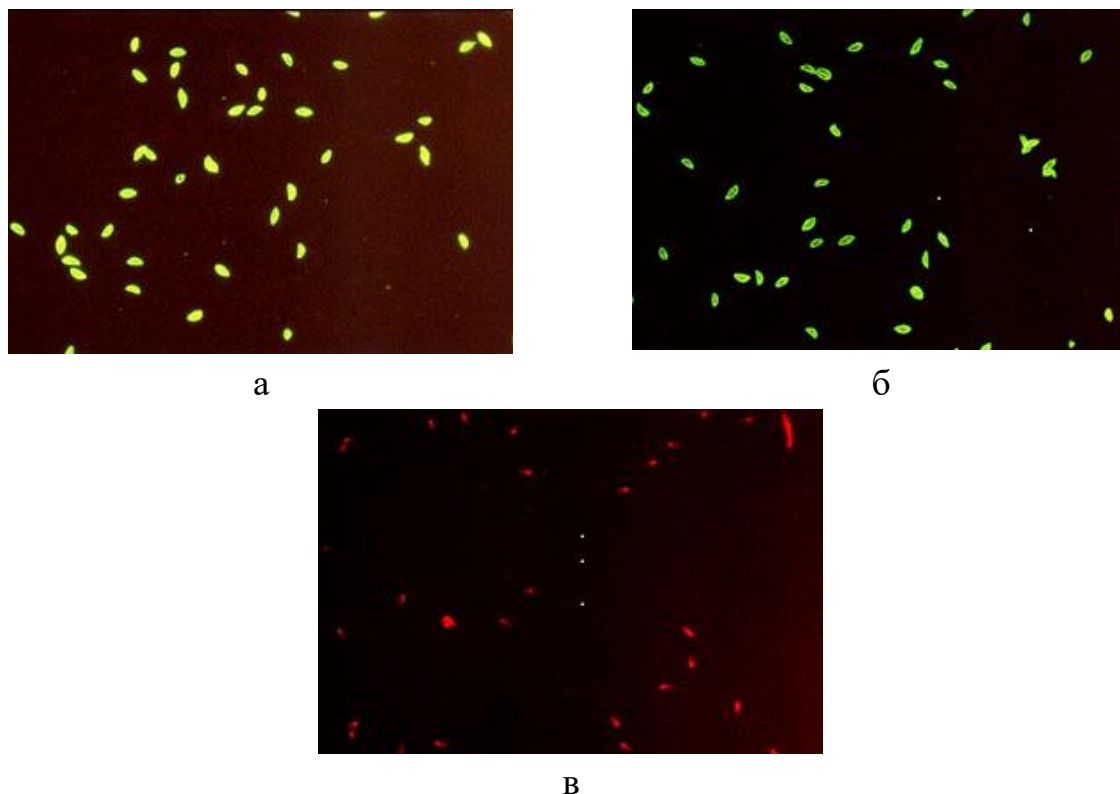


Рис. 19. Микроскопическая картина, наблюдаемая при положительных (а, б) и отрицательных (в) результатах выявления антител к *Toxoplasma gondii*

Интенсивность свечения ранжировали следующим образом:

- (4+) – максимально яркое (сверкающее) желто-зеленое свечение;
- (3+) – яркое желто-зеленое свечение;

- (2+) – менее яркое желто-зеленое свечение;
- (1+) – ясно различимое, но слабое желто-зеленое свечение;
- (+) – очень слабое (тусклое) желто-зеленое свечение;
- (–) – едва различимое свечение или его полное отсутствие.

Положительным результатом считали флюоресценцию от (1+) до (4+) ядра, клеточной мембраны и всей клетки у более чем 70 % токсоплазм в поле зрения. Отрицательным результатом считали отсутствие свечения ядра, цитоплазмы и клеточной мембраны (–) у более чем 70 % токсоплазм в поле зрения. К отрицательным результатам относили также случаи фонового свечения поля зрения. Все прочие варианты микроскопической картины расценивали как сомнительные результаты РИФ.

Для оценки диагностической эффективности нового набора было проведено исследование в РИФ группы образцов (155 образцов), которые были случайным образом отобраны из 207 образцов, предварительно исследованных на наличие и концентрацию (в МЕ/мл) IgG к *Toxoplasma gondii* в ИФТС "ИФА-Токсо-IgG", в том числе:

- 1) 34 образца брака плазмы (СПК г. Владимир);
- 2) 33 образца крови доноров (из СПК г. Павловский-Посад);
- 3) 15 образцов крови доноров (из СПК г. Орехово-Зуево);
- 4) 125 образцов сыворотки крови от пациентов с подозрением на токсоплазмоз (ЦРБ Павлово-Посадской и Электрогорская городская больница).

Полученные п качественные оценки образцов представлены в Табл. 3.

Таблица 3.

Результаты качественного исследования образцов сыворотки (плазмы) в ИФА

Группа исследованных образцов	Число исследованных образцов	Результат исследования	
		положительный	отрицательный
1	34	21	13
2	33	14	19
3	15	0	15
4	125	103	22
Всего	207	138	69

Таким образом, из 207 образцов в ИФА были оценены как положительные 138 образцов и как отрицательные – 69 образцов; в том числе в группах 1-3 было выявлено 35 положительных образцов и 47 отрицательных, а в группе 4 – 103 положительных и 22 отрицательных. 155 отобранных образцов

были исследованы затем в РИФ, полученные при этом качественные оценки в сравнении с оценками в ИФА представлены в Табл. 4.

Таблица 4.

Сравнительные результаты качественного исследования образцов сыворотки (плазмы) в ИФА и РИФ

Оценка в ИФА	Число образцов	Оценка в РИФ		
		положительная	отрицательная	сомнительная
положительная	90	82	1	7
отрицательная	65	1	64	0

Из данных Табл. 4 видно, что из 90 образцов, оцененных в ИФА как положительные, аналогичную оценку в РИФ получили 82 образца, один образец был оценен в РИФ как отрицательный и 7 – как сомнительные. Отрицательную оценку получил образец, в котором по результатам ИФА было выявлено антитела в концентрации 16,3 МЕ/мл, среди сомнительных в РИФ в одном образце было обнаружено антитела в концентрации 36,0 МЕ/мл, в остальных она составила от 10,6 до 22,6 МЕ/мл, т.е. находилась в зоне минимальных значений (максимальные значения концентрации антител превышали 1000 МЕ/мл при "пороговой", т.е. минимальной диагностической концентрации – 10 МЕ/мл). Из 65 образцов, оцененных в ИФА как отрицательные, 64 были оценены как отрицательные также и в РИФ, и только один образец получил в РИФ слабоположительную оценку (светимость на уровне 1+). Коэффициент корреляции ранговых оценок составил $0,83 \pm 0,09$.

СРАВНЕНИЕ С АНАЛОГАМИ

Для того чтобы полученные соответствия оценок не могли быть связаны только с особенностями продукции одного производителя, 49 образцов из числа клинических были дополнительно исследованы в ИФТС "ВектоТоксо-IgG" производства ЗАО "Вектор-Бест" (г. Новосибирск). Из них 43 образца были оценены в обеих тест-системах как положительные, 4 образца – как отрицательные и по двум образцам были получены противоположные оценки (в ИФТС ЗАО "ЭКОлаб" они были оценены как отрицательные, в ИФТС "Вектор-Бест" – как положительные, хотя и с невысоким содержанием антител (30 и 33,43 МЕ/мл). Коэффициент корреляции между значениями IgМЕ/мл, полученными в обеих тест-системах на 43 образцах, оцененных в них обеих как положительные, составил 0,77, т.е. показал хорошее совпадение количественных оценок.

Комплект "ЦМВ-флюороген- IgG/IgM"

Принцип действия: при наличии в исследуемых образцах антител к ЦМВ они связываются с антигеном на предметном стекле. После введения в реакционную смесь ФИТЦ-конъюгата образуются комплексы "антиген-антитело к ЦМВ-антитело конъюгата", наличие которых определяется по флюоресценции (желто-зеленое свечение клеток, зараженных ЦМВ) при просмотре стекол в люминесцентном микроскопе (рис. 20-23).

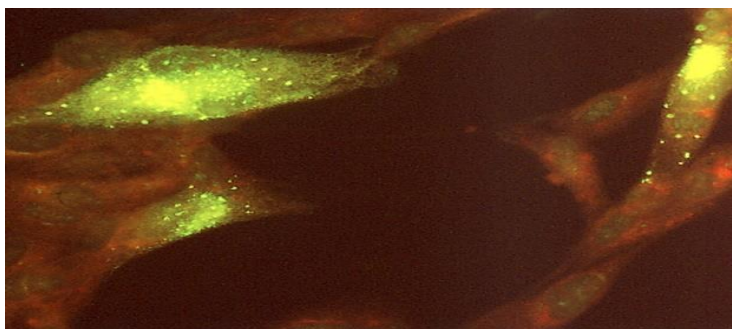


Рис. 20. Отрицательная РИФ с ЦМВ-Флюороген-IgG
Светятся Fc-рецепторы в ядрах клеток

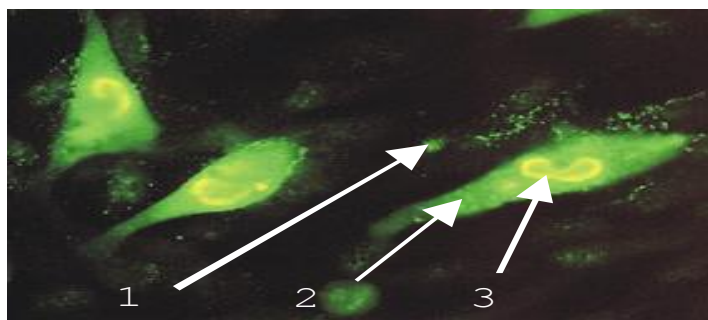


Рис. 21. Положительная РИФ с ЦМВ-Флюороген-IgG

1 – Реакция с Fc-рецепторами ядер.

2 – Слабая и сильная реакция в цитоплазме и характерная специфическая реакция с включениями в ядре

3 – Гомогенное окрашивание включений в ядре в форме фасоли

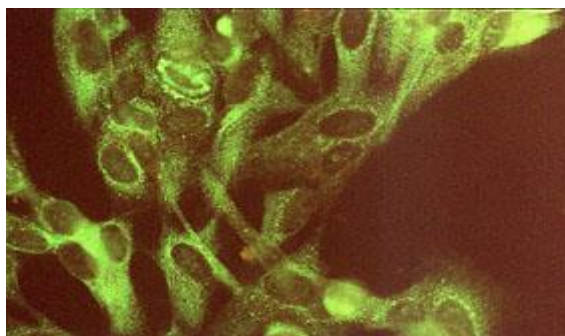


Рис. 22. Положительная РИФ с ЦМВ-Флюороген-IgM

Слабая и сильная реакция в цитоплазме и характерная специфическая реакция с включениями в ядре; гомогенное окрашивание включений в ядре в форме фасоли.

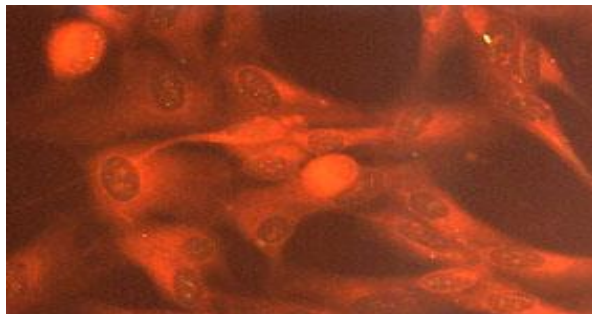


Рис. 23. Отрицательная РИФ с ЦМВ-Флюороген-IgM
Слабое свечение цитоплазмы всей клетки

Положительным результатом считали флюоресценцию цитоплазмы, включений и Fc-рецепторов клеток, зараженных ЦМВ, отрицательным – отсутствие флюоресценции цитоплазмы и включений; при исследовании на IgG; к отрицательным результатам относили также флюоресценцию одних только Fc-рецепторов, а при исследовании на IgM к отрицательным результатам относили также слабоположительную флюоресценцию цитоплазмы всех клеток.

СРАВНЕНИЕ С АНАЛОГАМИ

Комплект "ЦМВ-флюороген-IgM" был испытан на сыворотках панели C1-C30 (Pasteur), а комплект "ЦМВ-флюороген-IgG" на сыворотках панели Viro-Immun QC panel. В качестве референс-наборов использовали наборы IFA CMV-IgM и IFA CMV-IgG фирмы Viro Immun Labour Diagnostics (Германия).

Результаты испытаний показали, что оба комплекта дали одинаковые результаты с наборами сравнения. Так, при исследовании сывороток на наличие IgM и комплект "ЦМВ-флюороген-IgM", и набор сравнения оценили, как отрицательные 18 образцов, и как положительные 12 образцов. Соответственно, при исследовании на наличие IgG и комплект "ЦМВ-флюороген-IgG", и набор сравнения оценили, как отрицательные 6 образцов, и как положительные 24 образца.

Аналогичные результаты дало исследование на наличие IgG к ЦМВ 52 образцов сыворотки крови, полученных из Электрогорского диагностического центра после их предварительной оценки в ИФА с помощью ИФТС "ИФА-ЦМВ-IgG". В качестве набора сравнения был использован набор IFA CMV-IgG

фирмы Viro Immun Labour Diagnostics (Германия). 9 из 52 образцов были оценены как положительные и в ИФА, и в РИФ (как в испытываемом комплекте, так и в наборе сравнения), 3 образца, оцененные в ИФА как сомнительные, в РИФ были оценены как слабоположительные обоими наборами, остальные 40 образцов получили отрицательную оценку и в ИФА, и в РИФ (также в обоих наборах).

Комплекты "ВПГ-1-Флюороген-IgG", "ВПГ-2-Флюороген-IgG"

Принцип действия: при наличии в исследуемых образцах антител к ВПГ они связываются с антигеном на предметном стекле. После введения в реакционную смесь ФИТЦ-конъюгата образуются комплексы "антиген-антитело к ВПГ-антитело конъюгата", наличие которых определяется по флюоресценции (желто-зеленое свечение клеток, зараженных ВПГ) при просмотре стекол в люминесцентном микроскопе (рис. 24-27).

Интенсивность свечения ранжировали как при использовании комплектов "Токсо-флюороген-IgM/IgG". Свечение цитоплазмы и включений интенсивностью от (3+) до (4+) в колониях из 1-3 клеток оценивали как положительный результат (выявление соответствующих антител к ВПГ); полное отсутствие флюоресценции оценивали как отрицательный результат (соответствующие антитела к ВПГ не выявлены); при исследовании на IgG к отрицательным результатам относили также флюоресценцию одних только Fc-рецепторов, а при исследовании на IgM к отрицательным результатам относили также слабоположительную флюоресценцию цитоплазмы всех клеток; все прочие варианты микроскопической картины оценивали как сомнительные результаты.

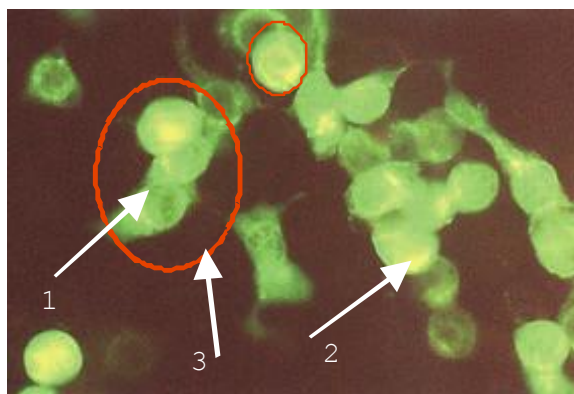


Рис. 24. Положительная РИФ с ВПГ-1-Флюороген-IgG

1 – Реакция в цитоплазме и ядре. 2 – Реакция в ядре. 3 – Большие, круглые гомогенные колонии, состоящие, как минимум, из 1-3 инфицированных вирусом клеток

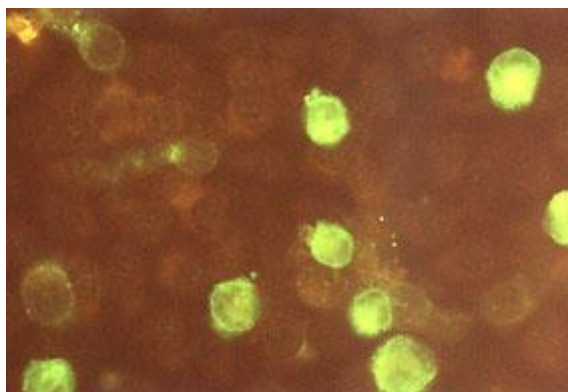


Рис. 25. Отрицательная РИФ с ВПГ-1-Флюороген-IgG Светятся Fc-рецепторы в ядрах клеток

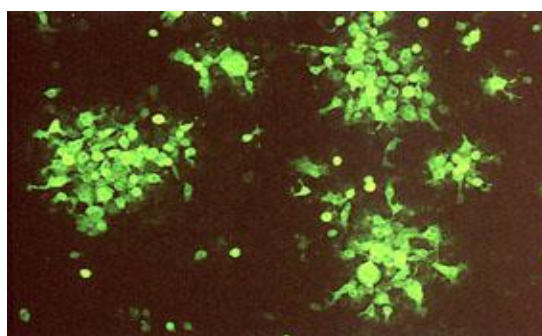


Рис. 26. Положительная реакция с ВПГ-2-IgG

Наблюдаются большие круглые гомогенные колонии более чем из 10-30 инфицированных вирусом клеток. Реакция в ядре, цитоплазме, реакция с внутриклеточными включениями

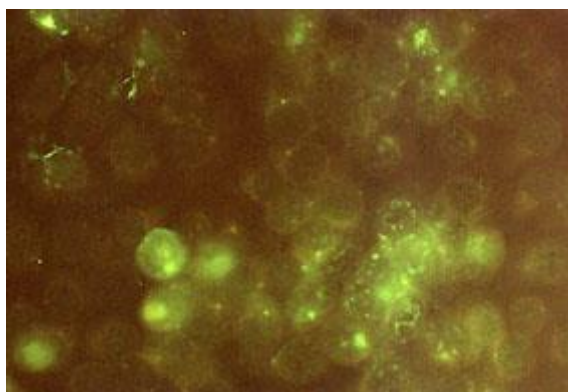


Рис. 27. Отрицательная реакция с ВПГ-2-Флюороген-IgG Светятся Fc-рецепторы в ядрах

Комплекты "ВПГ-1-Флюороген-IgG" и "ВПГ-2-Флюороген-IgG" были испытаны при исследовании 98 образцов сыворотки крови, полученных из инфекционного отделения Павлово-Посадской городской больницы и Электрогорского диагностического центра.

СРАВНЕНИЕ С АНАЛОГАМИ

В качестве референс-наборов были использованы наборы IFA HSV 1-IgG и IFA HSV 2-IgG фирмы Viro Immun Labour Diagnostics (Германия). Все образцы предварительно были обследованы в ИФТС "ИФА-ВПГ-1-IgG" и "ИФА-ВПГ-1-IgG".

При оценке наличия IgG к ВПГ-2 и комплект "ВПГ-1-Флюороген-IgG", и набор сравнения оценили, как отрицательные 12 образцов, как сомнительные - 2 образца, как положительные - 81 образец, 1 образец, оцененный в комплекте "ВПГ-1-Флюороген-IgG" как положительный, в наборе сравнения был оценен как сомнительный, а 2 образца, оцененные в комплекте "ВПГ-1-Флюороген-IgG" как сомнительные, в наборе сравнения были оценены как отрицательные. Коэффициент корреляции ранговых оценок составил 0,97.

Аналогично, при оценке наличия IgG к ВПГ-2 и комплект "ВПГ-2-Флюороген-IgG", и набор сравнения оценили, как отрицательные 15 образцов, как сомнительные - 6 образцов, как положительные - 73 образца; 2 образца, оцененные в "ВПГ-2-Флюороген-IgG" как отрицательные, в наборе сравнения оценены как сомнительные и 2 образца, оцененные в "ВПГ-2-Флюороген-IgG" как сомнительные, в наборе сравнения оценены как положительные. Коэффициент корреляции ранговых оценок и в этом случае составил 0,97.

Следует отметить также, что была получена высокая корреляция оценок титров в РИФ и соответствующих значений коэффициентов позитивности (отношение $ОП_{сыв}/ОП_{Кпор}$) в ИФА (коэффициенты корреляции - 0,94 и 0,90 соответственно).

Столь же высокой оказалась связь титров антител, полученных в РИФ и к ВПГ-1, и к ВПГ-2 (коэффициент корреляции – 0,91), при умеренной степени связи качественных оценок наличия антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 в РИФ (коэффициент корреляции 0,77, при этом необходимо отметить практически двукратное различие средних титров антител, выявленных в РИФ к ВПГ-1 и ВПГ-2) и полном отсутствии связи качественных оценок образцов по содержанию указанных антител, полученном в ИФА, а также качественных оценок наличия антител к ВПГ-2, полученных в ИФА и РИФ (коэффициенты корреляции - 0,11 и 0,12). Иначе говоря, РИФ, в отличие от ИФА, позволяет дифференциацию серотипов ВПГ только по среднему титру антител.

РАЗРАБОТКА НАБОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТОКСОПЛАЗМОЗА, КРАСНУХИ, ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ ИММУННОГО БЛОТТИНГА В ФОРМАТЕ WESTERN BLOT

При разработке этих наборов были использованы следующие традиционные для Western blot методы:

1. Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (SDS) (денатурирующие условия по Laemmli), приводящий к разделению по молекулярному весу смеси биологических макромолекул.

2. Электроперенос разделенных белков из геля на твердую подложку (нитроцеллюлозную мембрану) – блоттинг.

3. Выявление перенесенных на мембрану белков с помощью иммуноферментного анализа с последующей визуальной оценкой результатов исследования.

Разработка тест-системы потребовала решения следующего круга вопросов:

- выбор оптимальной концентрации вирусного лизата;
- подбор условий его электрофореза и электрофоретического переноса белковых комплексов на нитроцеллюлозную мембрану;
- определение условий последующей обработки мембраны;
- выбор конъюгата и окрашивающего раствора;
- оптимизация состава буферных растворов для отмывки стрипов, разведений сывороток и конъюгата;
- определение оптимальных условий инкубации иммуносорбента с сыворотками и конъюгатом.

Тест-система методом иммунного блоттинга антител к ЦМВ.

Были определены оптимальные условия культивирования ЦМВ, в частности сроки, к которым вирус достигает максимальной цитопатической активности в ростовых клетках, режим обработки ультразвуком культуры зараженных клеток, условия очистки полученного лизата, составы вспомогательных растворов. Анализ молекулярного состава лизата показал наличие в нем белков pp150, pp130, gp75, pp65, gp55, pp52, p38, pp28. Для изготовления самого иммуносорбента были подобраны оптимальная концентрация полиакриламидного геля, выбран оптимальный метод его

заливки – двухфазный гель (верхняя фаза разделяющая, нижняя – концентрирующая), подобрана оптимальная загрузка лизата на поверхность геля, подобран и подготовлен агент для блокирования неспецифического связывания на полученных мембранах.

Определен оптимальный состав реагентов для проведения иммуноферментного анализа (раствор для разведения сывороток, промывочный раствор, конъюгат) и проведена собственно отработка схемы постановки ИФА. Было установлено оптимальное время инкубации стрипов с сывороткой, конъюгатом и окрашивающим раствором.

Итогом разработки явилась тест-система "ИФА-Блот-ЦМВ- IgG" следующего состава:

Иммуносорбент – полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны с сорбированными на них методом электропереноса индивидуальными белками (антигенами) ЦМВ: pp 150, pp 130, gp 75, pp 65, gp 55, pp52, p 38, pp 28; в виде контрольной линии нанесены антитела против IgG человека – для контроля правильности проведения реакции (стрипы – в пластиковом контейнере с крышкой).

Конъюгат – козы антитела против иммуноглобулинов G человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой; непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета.

Окрашивающий раствор – 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий; прозрачная светло-зеленого цвета жидкость.

5-кратный концентрат промывочного раствора – непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании.

Раствор для разведения сывороток – непрозрачная пенящаяся жидкость светло-желтого цвета; возможно выпадение осадка, растворяющегося при встряхивании. Референс-стрип (или его фотография) – стрип с проявленным белковым профилем антигена ЦМВ.

Диагностическая эффективность новой тест-системы была оценена вначале на сыворотках панели "Стандарт АТ-G (+/-) ЦМВ" ЗАО "Медико-биологический союз" (г. Новосибирск). Результаты этого фрагмента исследования приведены в % Табл. 5.

Приведенные результаты показывают полное совпадение дифференциации сывороток панели на положительные и отрицательные, полученной в исследовании, с их паспортными характеристиками.

Таблица 5

Результаты исследования сывороток панели МБС"Стандарт АТ-G (+/-) ЦМВ"

№ п/п	Паспортная характеристик а образца (наличие антител к ЦМВ)	Наличие антител к антигенам...									Результат
		pp 150	pp 130	gp 78	pp 65	gp 55	pp 52	p 42	p 38	pp 28	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
2	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
3	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
4	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
5	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
6	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
7	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
8	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
9	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
10	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
11	отрицат.	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	отрицат.
12	положит.	+	+	+	+	-	-	-	+	-	положит.
13	положит.	+	+	-	+	-	-	-	-	-	положит.
14	положит.	+	-	-	+	-	-	-	-	-	положит.
15	положит.	+	+	-	+	-	+	+	-	-	положит.
16	положит.	+	+	+/-	+	-	+	+	+	+	положит.
17	положит.	+	+	-	+	-	-	-	+	-	положит.
18	положит.	+	+/-	+/-	+	-	+/-	-	-	-	положит.
19	положит.	+	+/-	+/-	+	-	+/-	-	-	-	положит.
20	положит.	+	+/-	+/-	+	+/-	-	-	-	-	положит.
21	положит.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	положит.
22	положит.	+	+	+	+	+	+/-	+	+	-	положит.

Далее, для оценки диагностической эффективности новой тест-системы исследовали 30 сывороток, полученных из коммерческой лаборатории "ИНВИТРО" (Москва), предварительно оцененных в ИФА с помощью ИФТС "ИФА-ЦМВ- IgG" производства ЗАО "ЭКОлаб" и в РИФ с помощью набора "Цитомегаловирус-IgG-РИФ" фирмы ViroImmune (Германия). Образцы с 1 по 26 в обеих указанных тест-системах (и в ИФА, и в РИФ) показывали положительный результат, а образцы с 27 по 30 – отрицательный (Табл. 6.).

Таблица 6

Результаты иммунного блоттинга сывороток

№ п/п	Оценка образца в ИФА и РИФ	Наличие антител к антигенам...									Результат ИБ
		pp 150	pp 130	gp 78	pp 65	gp 55	pp 52	p 42	p 38	pp 28	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
4	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
5	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+/-	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+/-	+	-	+	-	+/-	-	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+
14	+	+	+	-	+	+/-	-	+/-	+/-	+	+
15	+	+	+/-	+/-	+	-	+	+/-	+	+/-	+
16	+	+	+	+/-	+	-	+	+	+	+	+
17	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+
19	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+/-	-	+	-	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-

Из приведенных данных следует, что результаты ИБ полностью подтвердили оценки исследованных образцов, полученные в ИФА и РИФ.

СРАВНЕНИЕ С АНАЛОГАМИ

Для сравнения диагностической эффективности новой тест-системы с аналогичным импортным набором 15 образцов из указанных 30 были исследованы в ней и в тест-системе "Anti-CMV (IgG) WESTERBLOT" фирмы Euroimmun AG (Германия). Полученные при этом результаты представлены в Табл. 7.

Таблица 7

Результаты сравнительных испытаний тест-систем "Anti-CMV (IgG) WESTERBLOT" (Euroimmun AG, Германия) и "ИФА-Блот-ЦМВ- IgG" (ЗАО "ЭКОлаб")

Тест-система фирмы	№ образца	Наличие антител к антигенам...								Результат ИБ
		pp 150	pp 130	gp 75	pp 65	gp 55	pp 52	p 38	pp 28	
Euroimmun	1	-	+	-	-	-	-	-	+	+
ЭКОлаб		-	+	-	-	-	-	-	+	+
Euroimmun	2	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
ЭКОлаб		-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Euroimmun	3	-	+	-	+	+	+	+	+	+
ЭКОлаб		-	+	-	+	+	+	+	+	+
Euroimmun	4	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
ЭКОлаб		-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Euroimmun	5	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
ЭКОлаб		-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Euroimmun	6	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
ЭКОлаб		-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Euroimmun	7	-	+	-	+/-	-	-	+/-	+	+
ЭКОлаб		-	+	-	+/-	-	-	+/-	+	+
Euroimmun	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ЭКОлаб		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Euroimmun	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ЭКОлаб		+/-	+	+	+	+	+	+	+	+
Euroimmun	10	-	+	+/-	+	+	+	+	+	+
ЭКОлаб		+	+	+	+	+	+	+	+/-	+
Euroimmun	11	-	+	+/-	+	+	+	+/-	+	+
ЭКОлаб		+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+
Euroimmun	12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ЭКОлаб		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Euroimmun	13	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+
ЭКОлаб		+	+	+	+	+	+	+/-	+	+
Euroimmun	14	-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-
ЭКОлаб		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Euroimmun	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ЭКОлаб		-	-	-	-	-	-	-	-	-

Для наглядности часть стрипов с результатами ИБ представлена на Рис. 28.

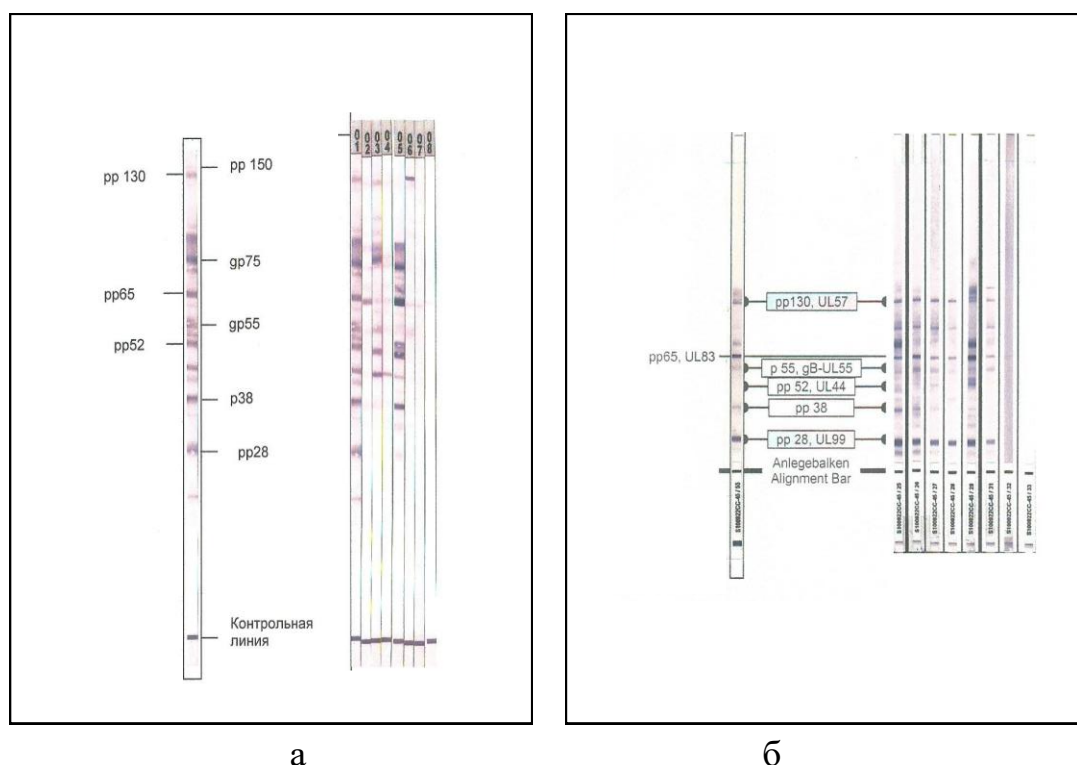


Рис. 28. Внешний вид стрипов с результатами ИБ в тест-системах "ИФА-Блот-ЦМВ-IgG" (а) и "Anti-CMV (IgG) WESTERBLOT" (б).

В левой части каждой фотографии приведен контрольный стрип с результатами ИБ положительного контрольного образца, в правой части – стрипы с результатами ИБ исследуемых образцов.

Таким образом, в проведенных испытаниях было получено полное совпадение дифференциации исследованных образцов на положительные и отрицательные и высокая степень корреляции оценок наличия антител к отдельным антигенам ЦМВ, в том числе и по антигену gp75, учет наличия антител к которому не предусмотрен инструкцией по применению набора фирмы Euroimmun (коэффициенты корреляции полученных оценок составили 0,94-1,00). Несколько меньшим (с коэффициентом корреляции, равным 0,66) было соответствие оценок наличия антител к антигену pp150, которые также не учитываются при использовании набора сравнения.

Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что новая тест-система для проведения подтверждающих исследований на ЦМВИ методом ИБ имеет высокую диагностическую эффективность, не уступающую использованному импортному аналогу. Более того, с учетом данных последних лет, согласно которым антигены pp150 и gp75 играют важную роль в процессе взаимодействия ЦМВ с организмом хозяина [255], выявление антител к ним, несомненно, повышает диагностическую эффективность исследования и может

рассматриваться как очевидное преимущество новой тест-системы перед ее аналогом.

Кроме более низкой стоимости новой тест-системы (стоимость набора "Anti-CMV (IgG) WESTERBLOT" – 440 евро, т.е. 18000-19000 руб.; планируемая стоимость набора "ИФА-Блот-ЦМВ-IgG" – 9000-10000 руб.) отечественная тест-система превосходит свой импортный аналог и по ряду чисто потребительских характеристик. Так, при ее использовании не требуется операция блокирования иммуносорбента, что сокращает длительность анализа на 15 мин, в 1,5 раза меньше необходимый для исследования объем образца, отсутствует необходимость его предварительного разведения и, наконец, стрипы иммуносорбента упакованы в стерильную пробирку, а не наклеены, как в аналоге, на картонную подложку, от которой их необходимо отделять перед использованием, сами стрипы в тест-системе "ИФА-Блот-ЦМВ-IgG" существенно длиннее, чем в наборе сравнения (10-12 см против 8,5 см), что облегчает оценку результатов ИБ.

Аналогичные подходы были реализованы при разработке тест-системы для выявления антител класса М к ЦМВ – "ИФА-Блот-ЦМВ-IgM" , а также соответствующих тест-систем для ИБ в формате Вестерн-Блот для диагностики токсоплазмоза, краснухи и простого герпеса – "ИФА-Блот-Токсо-IgM, IgG", "ИФА-Блот-Краснуха-IgM, IgG", "ИФА-Блот-ВПГ-1,2-IgM, IgG".

Их диагностическая эффективность, которая оценивалась в том числе и в сравнительных исследованиях с соответствующими аналогами фирм Euroimmun (Германия) и Microgen (Германия), зарегистрированными в РФ, характеризуется следующими показателями: диагностическая чувствительность для всех наборов составила 100%, диагностическая специфичность для "ИФА-Блот-ЦМВ-IgM" составила 95%, для "ИФА-Блот-Токсо-IgM, IgG" - 98%, для "ИФА-Блот-Краснуха-IgM, IgG" - 96 % и для "ИФА-Блот-ВПГ-1,2-IgM, IgG" - 98 %.

Разработанные тест-системы по диагностической чувствительности и специфичности не уступают лучшим импортным аналогам, будучи в то же время существенно дешевле последних.

ОПТИМИЗАЦИЯ И РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА ПРИБОРНЫХ СРЕДСТВ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ

Совершенствование технологии регистрации и учета результатов иммунохимических исследований

Завершающим этапом совершенствования технологии лабораторной диагностики явилось внедрение в практику иммунохимических исследований видеоцифровой регистрации их результатов с последующей компьютерной обработкой оцифрованных изображений результатов реакции с использованием соответствующих специализированных программ.

Для приборного обеспечения учета и регистрации результатов традиционных иммунохимических исследований (ИФА, ИБ) нами были применены узлы и блоки многофункционального аппаратно-программного комплекса (АПК) "Эксперт-Лаб», разработанного на базе Института биохимии им. А. Н. Баха РАН коллективом авторов. На его основе был создан аппаратно-программный комплекс "Эксперт-Лаб- ИФА-TORCH", в котором было использовано разработанное с нашим участием и запатентованное методическое и программное обеспечение, позволившее специализировать оборудование для регистрации и учета диагностических исследований с разработанными нами же наборами реагентов.

АПК "Эксперт-Лаб " состоит из стандартного сканерного модуля получения изображения и компьютера с программным обеспечением (Рис. 29).



Рис. 29. Внешний вид аппаратно-программного комплекса «Эксперт-Лаб»

Сканированное изображение объекта передается в компьютер и обрабатывается специальной программой. В окне программы наряду с первичным и схематическим изображением объекта при необходимости отражается калибровочная кривая, представляются результаты в интересующем формате. Результаты можно распечатать или сохранить в памяти компьютера. Для автоматической обработки результатов анализа было разработано специализированное программное обеспечение (ПО), позволяющее интерпретировать получаемые данные на все исследованные инфекции. Преимущества разработанной программы состоит в ее гибкой адаптации для любых диагностических наборов.

Настройки программы предполагают возможность использования различных видов контролей (положительных, отрицательных, пороговых и других), для которых можно задать определенные интервалы, позволяющие оценить правильность/успешность постановки и возможность учета результатов анализа, что важно для тестов, в которых применяется не обычная дискриминация положительных и отрицательных образцов, а присутствует несколько видов контролей. Программа предупреждает пользователя в случае несоответствия значений оптических плотностей контролей заданным условиям, приведенным в инструкциях по применению на конкретный набор. Адаптированные для наших целей устройства анализа изображений результатов ряда иммунохимических реакций позволили обеспечить следующие функциональные возможности:

- планирование проведения тестов в ячейках носителя;
- получение изображения носителя с сохранением изображения в памяти;
- автоматическую дискриминацию положительных и отрицательных образцов;
- автоматическое формирование отчетов в базе данных;
- возможность повторной обработки исходного изображения;
- представление результатов на бумажном носителе.

Поскольку АПК "Эксперт-Лаб" изначально был зарегистрирован как ИФА-ридер, использование его в ИФА с использованием разработанных нами ИФТС для диагностики инфекций TORCH-группы требовало приборной и методической адаптации ПО к особенностям соответствующих тест-систем. Результатом адаптации явилось специализированное программное приложение - программа "Эксперт-Лаб-ИФА-TORCH". Разработанная нами программа позволяет в автоматическом режиме интерпретировать результаты анализа как на инфекции TORCH-группы, так и на другие инфекции. Преимущества программы состоит также в ее гибкой адаптации для любых диагностических наборов. Программное обеспечение защищено патентом.

Настройки программы предполагают возможность использования различных видов контролей (положительных, отрицательных, пороговых и др.) Для каждого контроля можно задать определенные интервалы, позволяющие оценить правильность/успешность постановки и возможность учета результатов ИФА. В особенности это важно для тестов, рассчитанных не на обычную дискриминацию положительных и отрицательных образцов, а на оценку содержания соответствующих антител. Программа предупреждает пользователя в случае несоответствия значений оптических плотностей контролей заданным условиям. Поскольку во всех разработанных нами тест-системах, где проводилась адаптация программного обеспечения, используется единый протокол постановки ИФА, результаты адаптации продемонстрированы применительно к ИФТС одной из них, в частности к "ИФА-Токсо-IgG".

На Рис. 30. приведено окно программы с настройками анализа для определения IgG антител к *Toxoplasma gondii*. Установлены ограничения для контрольных образцов и коэффициенты для интерпретации результатов.

Рис. 30. Окно программы с предустановленными настройками анализа для определения IgG антител к *Toxoplasma gondii*.

Пороговое значение для скрининговых тестов может быть представлено как в виде фиксированного числа, так и рассчитано с помощью формул, использующих значения оптических плотностей в лунках с различными контрольными образцами с заданными коэффициентами. Программа предлагает пользователям установку и возможность настройки параметров, так называемой, "серой зоны", используемой при учете результатов (Рис.3). Такая гибкая система позволяет установить все параметры каждой тест-системы согласно инструкции фирмы-изготовителя.

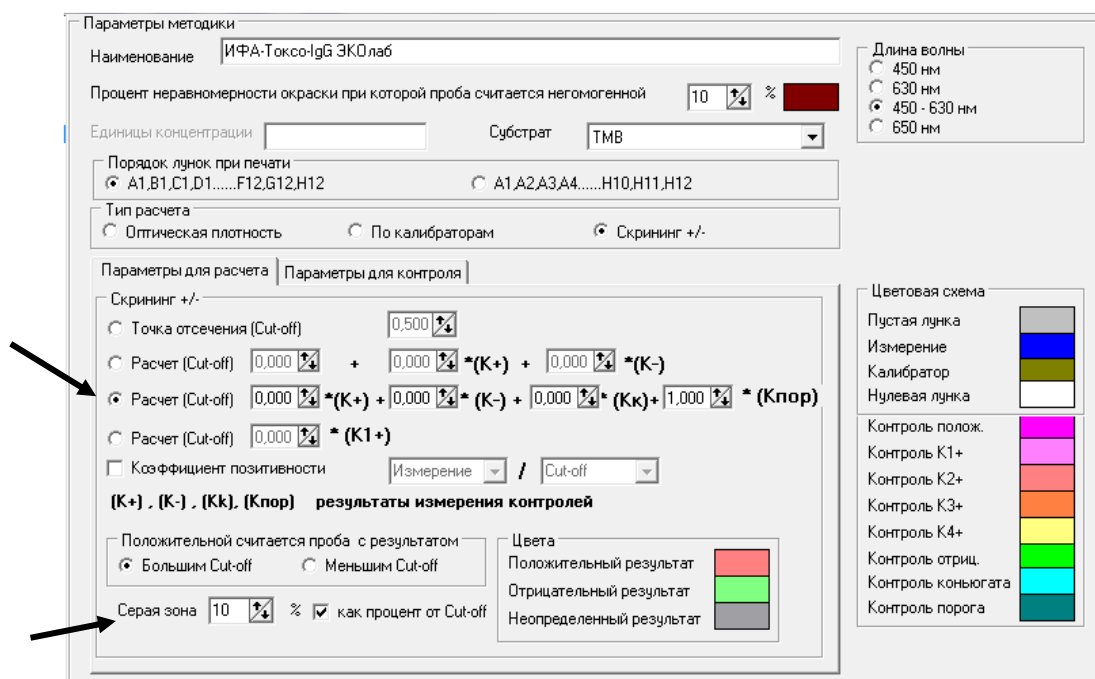


Рис. 31. Окно программы с настройками параметров для расчета порогового значения

На Рис.32. показано основное окно программы. В левой части окна расположено схематическое изображение планшета, над ним - функциональные кнопки, в правой - таблица значений оптических плотностей и рассчитанных концентраций или титров. В верхней центральной части открыт выпадающий список с названиями тест-систем и их фирм-производителей.

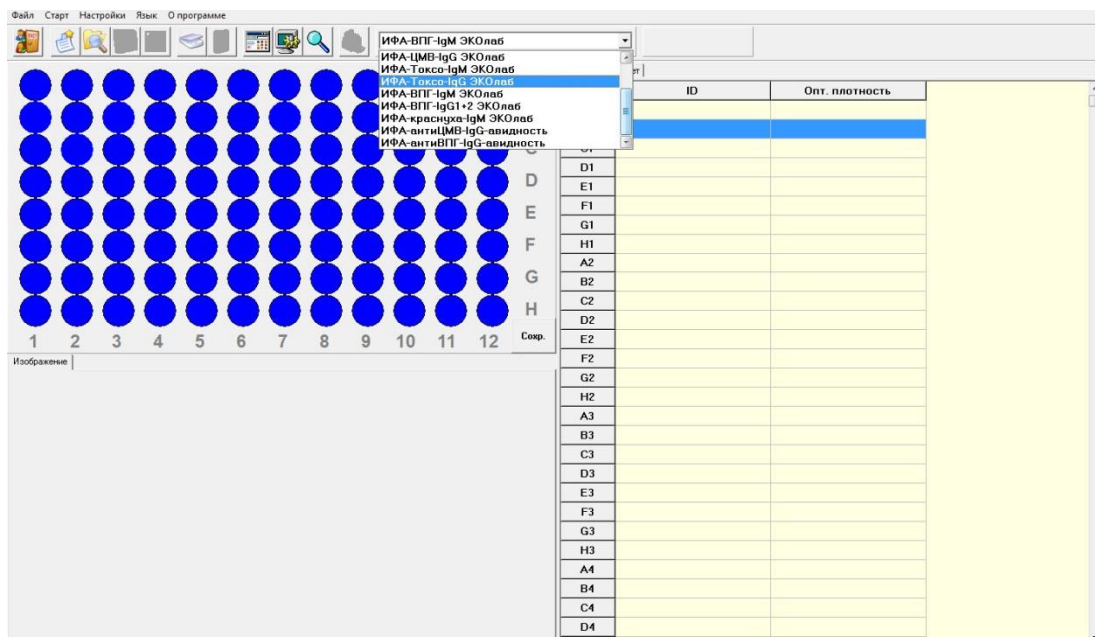


Рис. 32. Основное окно программы "ЭкспертЛаб-ИФА-TORCH" с выпадающим списком исследований.

После выбора названия исследования из выпадающего списка в основном окне программы открывается схема постановки анализа, предложенная производителем наборов (Рис. 33). По желанию эту схему можно корректировать, определяя наиболее удобное для пользователя положение контрольных и исследуемых образцов.

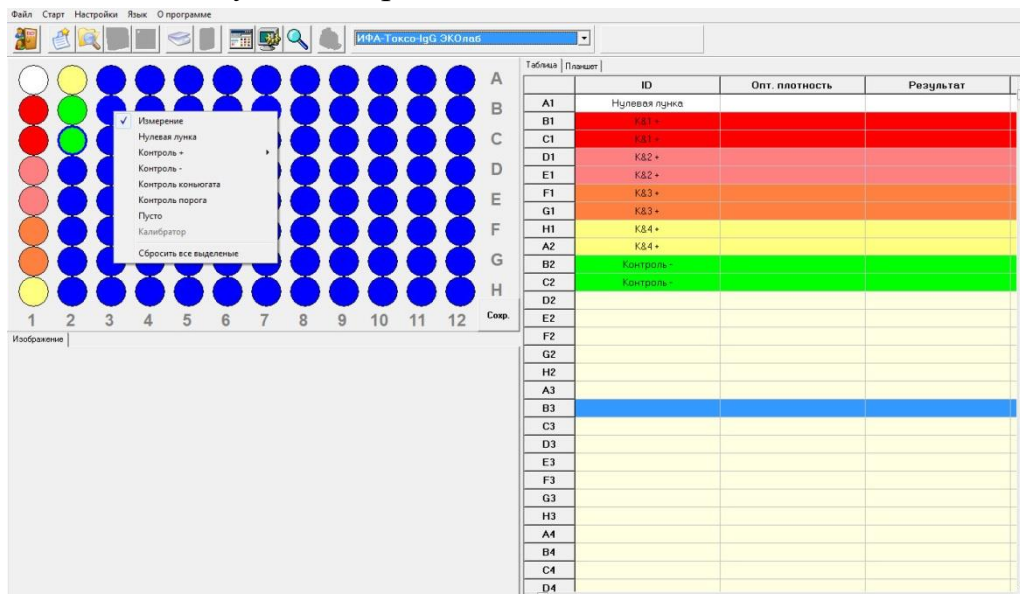


Рис. 33. Схемы размещения контрольных и исследуемых образцов для тест-системы для выявления антител класса G к *Toxoplasma gondii*

Каждой анализируемой сыворотке присваивается свой идентификационный номер, вводятся паспортные данные пациента. После проведения анализа и получения изображения планшета программа обрабатывает результаты, автоматически вычитая оптическую плотность разводящего раствора, выводит на экран данные оптической плотности, при наличии дублей контролей вычисляет их среднее значение. Далее программа либо рассчитывает пороговое значение и графически отражает результаты исследования, выделяя различным цветом положительные и отрицательные образцы, либо строит калибровочную кривую и определяет концентрации или титры иммуноглобулинов. Все данные отражаются в таблице результатов и могут быть распечатаны и сохранены в памяти компьютера, также сохраняется первичное изображение и схема расположения контрольных и исследуемых образцов.

На Рис. 34, в качестве примера, показаны окна программы с результатами анализа после обработки. Для оценки адекватности проведенной адаптации программного обеспечения было выполнено исследование содержания IgG к *Toxoplasma gondii* в 91 образце сывороток, полученных от пациентов Электрогорского диагностического центра и от доноров Орехово-Зуевской

СПК, в иммуноферментной тест-системе "ИФА-Токсо-IgG" (ЗАО "ЭКОлаб") с использованием АПК "Эксперт-Лаб" и ПО "Эксперт-Лаб-ИФА-TORCH".

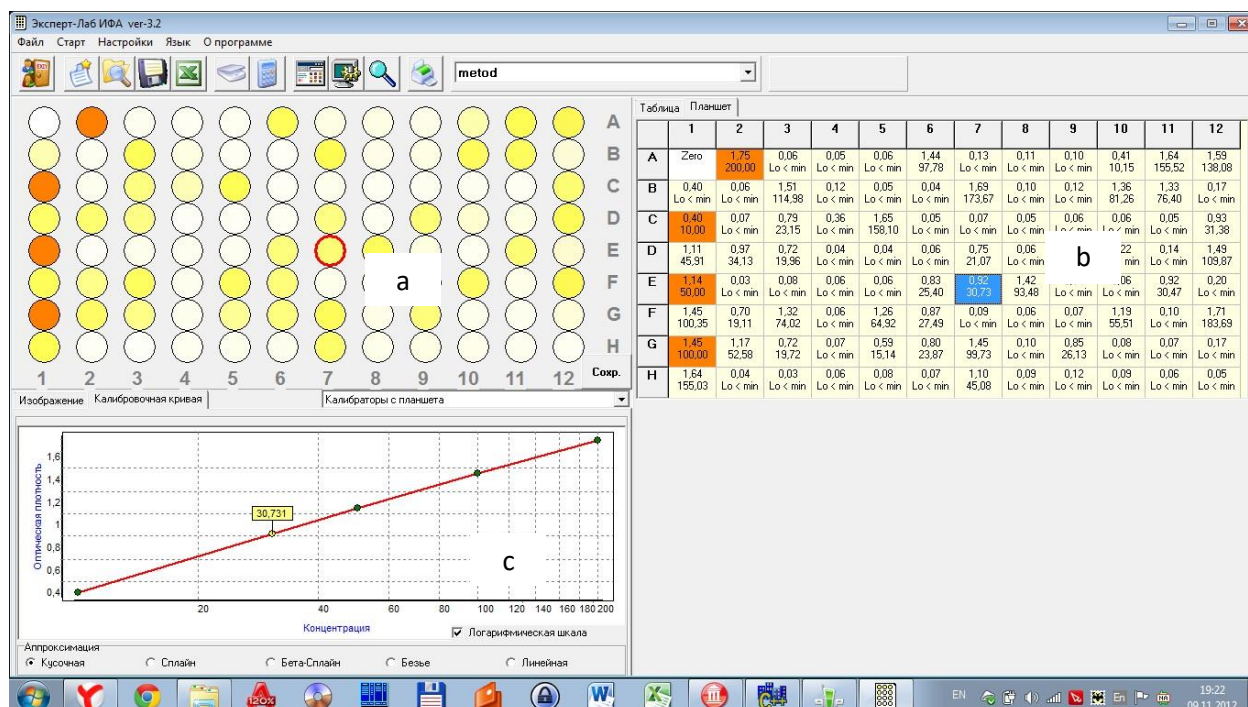


Рис. 34. Окна программы с результатами анализа

a - схема расположения контролей и образцов, выделение с помощью цвета лунок с положительными и отрицательными образцами;
в- результаты анализа, выраженные в виде оптической плотности и соответствующих значений ЕД/мл;
с - построенная калибровочная кривая)

Параллельно все эти образцы были исследованы в той же тест-системе с использованием ИФА-анализатора Sunrise. В Табл. 1 представлены значения ОП в лунках с исследованными образцами и соответствующие им значения концентрации в них IgG к *Toxoplasma gondii* (МЕ/мл), выданные "Эксперт-Лаб" и Sunrise.

Таблица 10

Результаты исследования образцов сыворотки на наличие и содержание IgG к *Toxoplasma gondii*, полученные в ИФА при их регистрации с помощью АПК "Эксперт-Лаб" и ИФА-анализатора Sunrise

ЭкспертЛАб		Sunrise		ЭкспертЛАб		Sunrise	
ОП	МЕ/мл	ОП	МЕ/мл	ОП	МЕ/мл	ОП	МЕ/мл
1	2	3	4	5	6	7	8
0,027	< min	0,020	< min	0,133	< min	0,116	< min
0,034	< min	0,017	< min	0,139	< min	0,124	< min
0,035	< min	0,032	< min	0,144	< min	0,118	< min
0,037	< min	0,042	< min	0,168	< min	0,151	< min

0,038	< min	0,036	< min	0,171	< min	0,147	< min
0,040	< min	0,041	< min	0,200	< min	0,147	< min
0,043	< min	0,044	< min	0,223	< min	0,205	< min
0,044	< min	0,036	< min	0,359	< min	0,336	< min
0,049	< min	0,053	< min	0,400	< min	0,401	< min
0,051	< min	0,041	< min	0,410	10,12	0,389	< min
0,052	< min	0,042	< min	0,596	15,12	0,585	14,89
0,055	< min	0,051	< min	0,704	19,08	0,686	18,63
0,055	< min	0,052	< min	0,720	19,73	0,699	19,18
0,057	< min	0,05	< min	0,722	19,85	0,725	20,32
0,057	< min	0,037	< min	0,747	20,94	0,754	21,67
0,058	< min	0,050	< min	0,789	22,94	0,781	23,01
0,058	< min	0,034	< min	0,809	23,91	0,802	24,11
0,059	< min	0,052	< min	0,833	25,20	0,826	25,43
0,060	< min	0,054	< min	0,851	26,23	0,847	26,64
0,060	< min	0,044	< min	0,872	27,44	0,868	27,91
0,061	< min	0,051	< min	0,894	28,74	0,915	30,99
0,062	< min	0,045	< min	0,917	30,24	0,906	30,37
0,062	< min	0,052	< min	0,921	30,51	0,907	30,44
0,063	< min	0,047	< min	0,926	30,82	0,934	32,32
0,064	< min	0,044	< min	0,971	33,94	0,987	36,36
0,064	< min	0,048	< min	1,105	45,40	1,124	40,29
0,069	< min	0,055	< min	1,109	45,80	1,145	54,45
0,070	< min	0,05	< min	1,175	52,93	1,17	54,59
0,072	< min	0,051	< min	1,197	55,55	1,185	56,44
0,073	< min	0,059	< min	1,267	65,02	1,264	67,26
0,074	< min	0,066	< min	1,324	74,07	1,305	73,67
0,074	< min	0,054	< min	1,332	75,36	1,355	82,33
0,078	< min	0,053	< min	1,357	79,68	1,384	87,80
0,080	< min	0,053	< min	1,425	93,01	1,398	90,57
0,084	< min	0,059	< min	1,443	96,88	1,444	100,32
0,085	< min	0,081	< min	1,459	100,38	1,445	102,23
0,085	< min	0,070	< min	1,465	101,65	1,439	99,21
0,087	< min	0,073	< min	1,493	108,61	1,491	111,35
0,099	< min	0,073	< min	1,508	112,28	1,547	126,10
0,100	< min	0,076	< min	1,586	134,70	1,549	126,66
0,100	< min	0,092	< min	1,646	154,84	1,647	157,46

0,103	< min	0,094	< min	1,647	155,03	1,683	170,56
0,116	< min	0,102	< min	1,649	155,70	1,717	191,65
0,117	< min	0,111	< min	1,684	168,96	1,727	188,07
0,121	< min	0,108	< min	1,719	183,51	1,659	161,71
0,125	< min	0,113	< min				

В Табл.10 намеренно приведены негруппированные данные для того, чтобы продемонстрировать очевидное исключительно высокое соответствие значений обоих показателей, полученных в разных системах регистрации результатов, а расчет коэффициентов корреляции по этим же негруппированным данным дал 0,999 для значений ОП и 0,98 для значений МЕ/мл. Расчет коэффициента корреляции значений МЕ/мл, полученных обоими способами, дал при этом 0,98, т.е. почти функциональную связь, что позволяет говорить об эффективности адаптации программного обеспечения АПК "Эксперт-Лаб-TORCH" ко всем разработанным и производимым на предприятии "ЭКОлаб" тест-системам.

Таким образом, на примере *Toxoplasma gondii* получены убедительные доказательства возможности полноценной замены спектрофотометрической регистрации результатов ИФА их видеоцифровой регистрацией.

Для учета и регистрации результатов иммунофлуоресцентных исследований с использованием иммуночипов использовался биочип-анализатор «Диагем», разработанный на предприятии ЗАО «Иммуноскрин». Нами, совместно со специалистами ЗАО «Иммуноскрин» и ЗАО «ЭКОлаб» было разработано необходимое методическое и программное обеспечение, позволившее создать аппаратно-программный комплекс «Диагем-TORCH» (Рис 35), который и был применен при проведении исследований с ИЧ, описанных в Приложении 1.3. Основные характеристики АПК «Диагем-TORCH» приведены в Табл. 11.

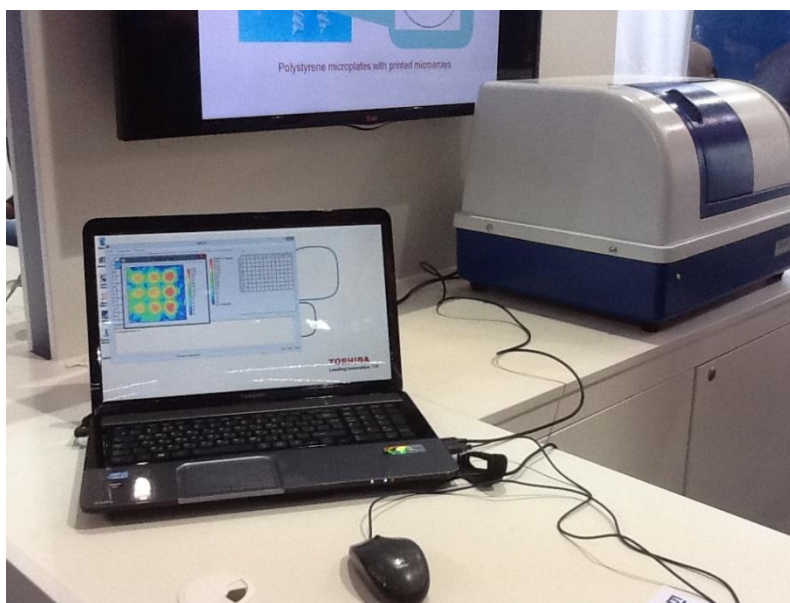


Рис.35. Внешний вид АПК «Диагем-TORCH».

**Основные технические и эксплуатационные характеристики АПК
«Диагем-TORCH»**

Биочип-анализатор «Диагем-TORCH»	<i>Предназначен для проведения иммунохимических клинических лабораторных исследований: определение маркеров инфекционных заболеваний (инфекций TORCH-группы) в биологических образцах (цельная кровь, плазма, сыворотка, образцы крови, высушенной на фильтровальной бумаге.</i> Принцип анализа: твердофазный мультиплексный микроанализ (иммуночипы) в формате 96 луночного планшета. Выявление маркеров с помощью специфических биотинилированных реагентов и универсального проявляющего реагента стрептавидина, маркированного фосфоресцентным метчиком. Регистрация сигнала фосфоресценции при сканировании дна лунок микропланшета. Технические характеристики: время сканирования 96 луночного микропланшета - 18 мин; пространственное разрешение - 0,05 мм; режим временного разрешения фосфоресценции: время задержки, 10-6с - 20-400; время регистрации строба эмиссии, 10-6 с - 40-1000; длина волны возбуждения – 375 нм; длина волны регистрации – 615 нм, 645 нм, 665 нм; чувствительность – 1молекула метчика/мкм² Дополнительные опции: 1. Регистрация люминесценции ионов европия в объеме пробы в режиме временного разрешения: время сканирования 96-луночного планшета - 2 мин; время задержки, 10-6с - 400; время регистрации строба эмиссии, 10-6 с - 400; длина волны возбуждения - 365 нм; длина волны регистрации - 615 нм; чувствительность - 10-13 М; 2. Регистрация флуоресценции в объеме пробы: время сканирования 96-луночного микропланшета - 2 мин; длина волны возбуждения - 365 нм; длины волн регистрации – 435 нм, 480 нм. <i>Разработчик: ЗАО «Иммуноскан», ЗАО «ЭКОлаб»</i>
---	---

РАЗРАБОТКА НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ИММУНОЧИПОВ

**Разработка тест-систем для диагностики инфекций
иммунофлуоресцентным методом**

Задачу принципиального снижения стоимости скрининговых исследований позволила решить разработка тест-систем для диагностики инфекций иммунофлуоресцентным методом с использованием технологии ФОСФАН, которая позволяет определять наличие/отсутствие антител в исследуемой сыворотке, как к совокупности антигенов, так и к отдельным иммунодоминантным антигенам каждого возбудителя, которые «напечатаны» на биочипе в виде точек (спотов, микроэрреев) на дне лунок микропланшетов. Иначе говоря, эта технология позволяет в одной постановке (в одной лунке) оценивать наличие в исследуемом образце антител к каждому из нескольких возбудителей, но в отличие от других иммунохимических методов – с использованием очень малых количеств дорогостоящих реагентов. Все это существенно снижает стоимость анализа. Дополнительные преимущества иммуночипов на основе технологии ФОСФАН связаны с высокой стабильностью флуоресцентной метки, позволяющей использовать для анализа даже высушенные на фильтровальной бумаге образцы клинических материалов, что существенно упрощает сбор и хранение этих образцов до исследования, а также позволяет выполнять эти исследования в специализированных центрах.

В отличие от других приложение осуществляется аналогично постановке ИФА, то есть имеет ту же последовательность процедур и стадий иммуноанализа. На дне каждой лунки микропланшета с помощью наноплоттера «напечатаны» от 4 до 16 микропятен диаметром 0,5 мм. Микрозоны содержат иммобилизованные иммунореагенты (антигены), улавливающие специфические антитела из исследуемой пробы. Кроме того, в каждую лунку дополнительно иммобилизованы человеческие IgG в трёх концентрациях (10, 25 и 50 мг/мл) или IgM также в трех концентрациях (2, 5, 10 мг/мл) для внутреннего контроля реакции и оценки работы компонентов тест-системы. Антивидовые моноспецифические антитела, меченные биотином (конъюгат-1), связываются с образующимся комплексом. В качестве проявителя иммунной реакции (конъюгата-2) используется конъюгат стрептавидина с флуоресцентной меткой (Pt-копропорфирин).

В работе по созданию тест-систем в формате иммуночипов на основе технологии ФОСФАН кроме стандартного лабораторного оборудования были использованы:

- 96 луночные микропланшеты Combiplate 12 EB (ThermoLabsystems, Финляндия);
- 96 луночные планшеты для предварительного разведения (Медполимер, Россия);
- флуоресцентный биочип-анализатор «Диагем», ГосНИИ БП, Москва, ЗАО «Иммуноскрин»;
- наноплоттер для сорбции биореагентов, ГосНИИ БП, Москва (Рис.36).



Рис.36. Наноплоттер для бесконтактной «печати» микропятен на дне лунки микропланшета (скорость нанесения – 1 мин/планшет), ГосНИИ БП, Москва.

Для приготовления иммуносорбентов использовали рекомбинантные аналоги иммунодоминантных антигенов возбудителей инфекций TORCH-группы:

- аналоги антигенов p30 [SAG1], p29 [GRA7], p35[GRA8] *Toxoplasma gondii*;
- аналоги антигенов Pp28, Pp65, Pp150 ЦМВ;
- аналоги антигенов gG-1, gD-1 ВПГ-1;
- аналоги антигенов gG-2, gD-2 ВПГ-2;
- аналоги антигенов core, E1, E2 вируса краснухи.

В качестве конъюгата-1 использовали биотинилированные антитела в концентрации 750 нг/мл. В качестве конъюгата-2 использовали комплекс Рт-копропорфирина III со стрептавидином в концентрации 333,3 нг/мл.

В качестве вспомогательных растворов готовили:

- буферный раствор для сорбции (0,01 М фосфатно-солевой буферный раствор, pH 7,0-7,4; с 5% глицерина);
- буферный раствор для блокировки (0,05 М раствор соляной кислоты в трис-гидрохлориде, трис-HCl, pH 7,75; 1% БСА);
- буферный раствор для разведения исследуемых образцов и конъюгатов (0,05 М трис-HCl, pH 7,75, 0,87% хлорида натрия, 0,5% БСА, 0,05 азиды натрия, 0,01% ТВИН-20, 0,0008% диэтилентриаминпентауксусной кислоты);
- промывочный фосфатно-солевой буферный раствор, 15-кратный концентрат (pH 6,4, 0,0023% натрия фосфорно-кислого 1-замещённого 2-водного, 0,03331% натрия 2-замещённого 12-водного, 0,2125% хлорида натрия, 0,0125% ТВИН-20);
- блокирующий раствор (анти-IgG, «ЭКОлаб» в Antibody Enhancer, Kem-En-TecDiagnostics).

Приготовление иммуносорбента. Рекомбинантные антигены и человеческие IgG в буферном растворе наносили в виде микрозон (микропятен) диаметром 0,4 мм на дно лунок микропланшета с помощью наноплоттера для бесконтактной печати (Рис.29). Для исключения ошибок при иммобилизации (пропуск печати) или в процессе проведения анализа на иммуночипе наносили по два-три микропятна каждого отдельного антигена или их смеси. Сорбцию проводили в течение 24 ч при 4 °С, затем обрабатывали иммуносорбент буферным раствором для блокировки в течение 1 ч при 37 °С и подсушивали в течение 2 ч при комнатной температуре.

Исследование образцов. Исследуемые образцы разводили 1:100 буферным раствором для разведения образцов и по 100 мкл вносили в лунки планшета иммуносорбента. Выдерживали планшет в течение 2 ч на шейкере при 25°C и 720 об/мин, после чего лунки 3 раза промывали промывочным буферным раствором и в них вносили раствор конъюгата-1 (биотинилированных антител с концентрацией 750 нг/мл), выдерживали планшет 1 ч при 25°C на шейкере (720 об/мин), затем лунки 3 раза промывали промывочным буферным раствором и в них вносили по 30 мкл 333нг/мл раствора конъюгата-2 (стрептавидина, меченного Pt-копропорфирином). Планшет 15 мин встряхивали на шейкере (720 об/мин) при 25°C, после чего лунки 3 раза промывали промывочным буферным раствором и 3 раза дистиллированной водой. Планшет подсушивали в течение 1 ч при комнатной температуре и регистрировали результаты с помощью флуоресцентного биочип-анализатора в режиме возбуждения на длине 532 нм с линейным разрешением 15-20 мкм и постоянной времени затухания сигнала 80 мкс непосредственно с твёрдой фазы дна лунок микропланшета. Детекция сигнала

осуществлялась путём пошагового сканирования площадки диаметром около 1 мм.

При наличии в исследуемом образце антител к антигенам иммуносорбента они во время первой экспозиции образуют комплекс "антиген-антитело", который связывается затем с конъюгатом-1 и конъюгатом-2, а комплекс "антиген-антитело-конъюгат-1-конъюгат-2" выявляется флуоресценцией при сканировании в биочип-анализаторе; интенсивность флуоресценции при этом соответствует концентрации антител в исследуемой пробе.

После компьютерной обработки результатов сканирования каждой микрозоны, как числа фотоимпульсов, итоговая картина анализа приводится в виде объёмных гистограмм или окрашенных пятен с приведённой шкалой интенсивности свечения.

С учетом опыта использования ИЧ при диагностике ряда других инфекций в состав соответствующих наборов реагентов должны входить:

- иммуносорбент (планшеты с сорбированными на поверхности лунок антигенами);
- промывающий буферный раствор;
- буферный раствор для разведения исследуемых образцов и конъюгатов;
- блокирующий раствор, конъюгат-1, конъюгат-2;
- контрольный положительный и контрольный отрицательный образец;
- контрольный образец уровня "среза".

Применение иммуночипов с использованием лизатных антигенов на данном этапе исследования не позволило в полной мере выполнить требования по чувствительности и специфичности обнаружения. Имелись трудности и в достижении необходимой воспроизводимости анализа. В связи с этим, дальнейшее получение коммерческих наборов, например, для экспресс-диагностики TORCH-инфекций, определило использование рекомбинантных антигенов. В связи с крайне небольшими количествами рекомбинантных антигенов, применяемых для создания тест-наборов, их относительно высокая стоимость не сказалась на потребительских свойствах диагностической продукции.

Разработанная технология получения ИЧ для диагностики всех инфекций TORCH-группы универсальна, в связи с чем ниже приводится ее описание только для тестов диагностики ЦМВИ.

Технология приготовления и применения иммуночипов для выявления IgG к антигенам возбудителей инфекций TORCH-группы

Для выявления IgG к антигенам *Toxoplasma gondii*, ЦМВ, ВПГ-1, ВПГ-2, вируса краснухи была разработана технология получения и применения иммуночипов, схематически представленная на Рис. 37.



Рис. 37. Технологическая схема получения и применения иммуночипов при монотестовом определении IgG.

Учёт результатов. Регистрация результатов анализа осуществляется с помощью фосфоресцентного биочип-анализатора в режиме возбуждения на длине 532 нм с линейным разрешением 15-20 мкн и постоянной времени затухания сигнала 80 мкс непосредственно с твёрдой фазы дна лунок планшета. Детекция сигнала осуществляется путём пошагового сканирования площадки диаметром около 1 мм. Сканирование всего планшета занимает приблизительно 20 мин. После компьютерной обработки результатов сканирования каждой микрозоны как числа фотоимпульсов итоговая картина анализа приводится в виде объёмных гистограмм или окрашенных пятен с приведённой шкалой интенсивности свечения (Рис. 38). Интенсивность сигнала соответствует концентрации IgG к смеси антигенов искомого возбудителя в исследуемой пробе.

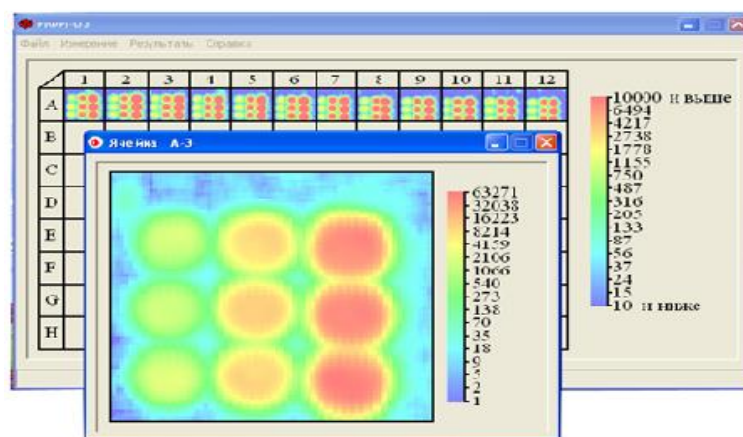


Рис. 38. Результаты флуоресцентного анализа в виде окрашенных пятен (по 3 пятна каждого антигена ЦМВ - pp28, pp65, pp150)

Диагностическая эффективность использования ИЧ была оценена на 173 образцах сыворотки крови, полученных из ЦРБ г. Павловский Посад и предварительно оцененных в ИФТС "ИФА-ЦМВ-IgG". Иммунофлуоресцентный анализ провели с использованием экспериментального образца ИЧ, иммуносорбент которого был получен нанесением микропятен трех антигенов ЦМВ – pp 28, pp65 и pp150 в трёх повторях (по 3 пятна на каждый антиген). Соответственно, результаты исследования учитывали как средний уровень флуоресценции по трём микрозонам для каждого антигена. Пороговый уровень (Cut_{off}) рассчитывался по формуле:

$$Cut_{off} = ИФ(K^-)_{cp} + 3\sigma$$

где $ИФ(K^-)_{cp}$ – средняя величина флуоресценции по выборке отрицательных сывороток, измеренная в импульсах;

σ – среднее квадратичное отклонение величины флуоресценции.

Образец считали положительным при положительной реакции как минимум на два антигена (или резко положительной реакции только на антиген pp150), отрицательным – при отрицательной реакции на все антигены или хотя бы на два из них, и сомнительным – во всех остальных случаях (Табл. 12).

Обобщенные результаты качественного исследования образцов сыворотки на IgG к ЦМВ в ИФА и ИЧ

Оценка образцов в ИЧ	Число образцов, оцененных в ИФА как		
	Отрицательный	сомнительный	положительный
Отрицательный	7	2	3

Сомнительный	0	0	3
Положительный	0	1	157

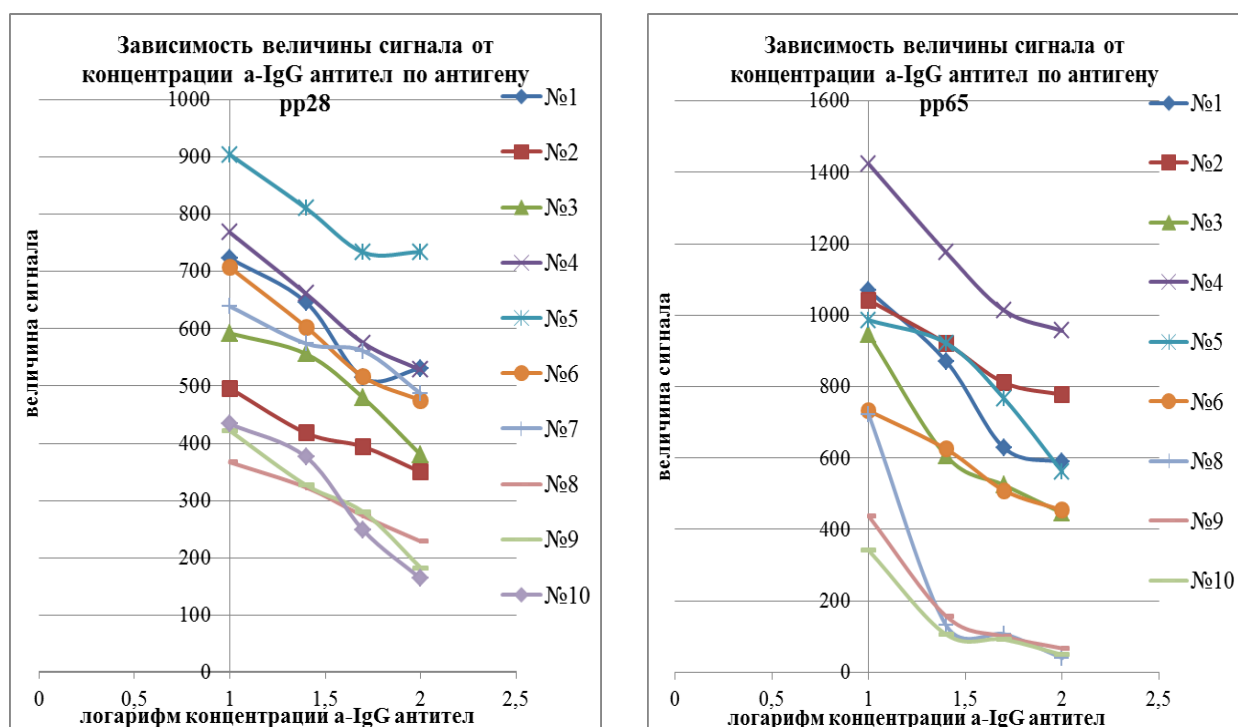
Диагностическая чувствительность ИЧ составила 96%, диагностическая специфичность - 100%. Коэффициент корреляции оценок образцов при исследовании в ИФА и ИЧ составил 0,95. Столь же высокая диагностическая эффективность иммунофлуоресцентного анализа была показана при выявлении IgG к возбудителям токсоплазмоза, краснухи и простого герпеса.

Технология приготовления и применения иммуночипов для выявления *igm* к антигенам возбудителей инфекций TORCH-группы

Технологическая схема приготовления и применения иммуночипов для выявления IgM отличается от схемы выявления IgG только по операциям, описывающим порядок подготовки исследуемых проб, и операцией этапа постановки реакции.

Предварительная обработка исследуемых образцов (сывороток и бумажных бланков крови) блокирующим раствором необходима для удаления специфических IgG из исследуемого материала, поскольку антитела класса G препятствуют связыванию IgM с антигеном (антигенами) иммуносорбента, что в конечном итоге искажает результаты исследования вследствие занижения люминесцентного сигнала (интенсивности свечения).

Для оценки зависимости степени истощения пула IgG в образце от концентрации анти-IgG в блокирующем растворе образцы, обработанные этим раствором с разной концентрацией анти-IgG, исследовались в системе «ИЧ-СМV-IgG». Было протестировано 10 сывороток, предварительно исследованных в ИФТС «ИФА-ЦМВ-IgG» и «ИФА-ЦМВ-IgM», причем 7 образцов (№ 1-7) были оценены в обеих тест-системах как «положительные», а 3 образца (№ 8-10) - как «отрицательные». Они проиллюстрированы графиками зависимости величины сигнала флуоресценции исследуемых образцов от концентрации анти-IgG антител в блокирующем растворе (Рис. 39).



Зависимость величины сигнала от концентрации

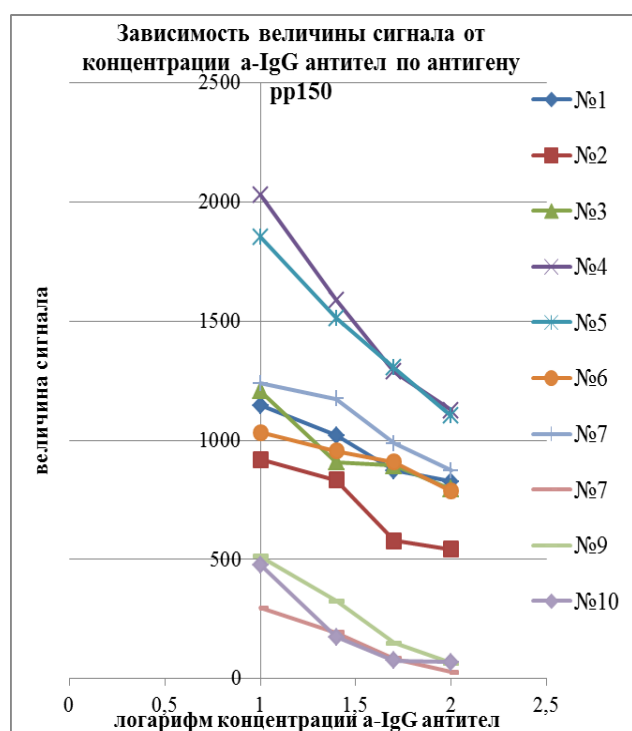


Рис. 39. График зависимости величины сигнала от концентрации антивидовых IgG-антител в блокирующем растворе

Полученные результаты наглядно свидетельствуют о том, что при уменьшении концентрации IgG в сыворотке снижается конкуренция между собственными IgG и IgM за связывание с антигеном (антигенами)

иммуносорбента, а также неспецифическое связывание комплекса антиген – IgG с конъюгатом, что обеспечивает увеличение интенсивности свечения (флуоресценции) IgM-положительных сывороток и, в некоторых случаях, снижение величины сигнала образцов, не содержащих IgM.

Приложение 1.4

РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК

Выигранные аукционы по наборам для диагностики torch-инфекций за 2022г.

	Город	Организация	Дата	Тип набора	Кол-во наборов
1	Иркутск	ОДКБ	09.03.2022	ЦМВ IgM и авидность	30
2	Орел	ЦСПИД	24.03.2022	Токсо, ЦМВ	26
3	Владивосток	Арсеньевская ГБ	31.03.2022	Токсо, ЦМВ	35
4	Тверь	ЦСПИД	08.04.2022	Токсоплазма	35
5	Астрахань	ГП 8 им Пирогова	27.04.2022	TORCH	32
6	Мегион	ГБ	17.08.2022	герпес, ЦМВ	16
7	Хасавюрт	ЦРБ	18.08.2022	краснуха, герпес, токсо	30
8	Чегем	ЦРБ им Хацукова	27.09.2022	краснуха, ЦМВ	38
9	Екатеринбург	ОКБ№1	22.12.2022	герпес, ЦМВ	4
10	Ижевск	КБ	30.12.2022	токсо, краснуха, герпес	7
11	Тверь	ЦСМП им.Аваева	11.01.2022	токсо, ЦМВ, краснуха	26
12	Волгодонск	ГПЗ	13_14_17.01.2022	токсо	10
13	Москва	ГНЦРФ МБЦ им Бурназяна	13_14_17.01.2022	герпес, ЦМВ	18
14	Хабез 9:00	ЦРБ	30_30.03.2022	краснуха	2
15	Тула	КВД	26_26.04.2022	TORCH	110
16	Кизляр	ЦГБ	30_30.05.2022	TORCH	35
17	Новосибирск	ГКБ №25	09_09.06.2022	TORCH	14
18	Теплоозерск	ЦРБ	14_14.06.2022	TORCH	6
19	Биробиджан	КВД	16_16.06.2022	TORCH	10
20	Барнаул	ГБ им.Литвиненко	05_05.07.2022	ЦМВ	9
21	Тюмень	МСЧ№72	19_19.0.2022	ЦМВ, токсо	28
22	Тюмень 10:00	ОКБ 1	05_05.08.2022	TORCH	700
23	Снежинск	МСЧ №15	05_05.10.2022	TORCH	55
24	Брянск	ОСПК	21_21.10.2022	TORCH	33
25	Якутск	РКБ	21_21.11.2022	TORCH	55
26	Михайловка	ЦРБ	02_02.12.2022	TORCH	12

	4:00				
27	Владивосток	ДП 25	26_28.12.2022	TORCH	22
28	Владивосток	П № 3	27_29.12.2022	ЦМВ, герпес	100

Выигранные аукционы по наборам для диагностики вич за 2022г.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во наборов
1	Якутск	ЦСПИД	11.01.2022	БЛОТ ВИЧ 1,2	15
2	Воронеж	ЦСПИД	28.03.2022	БЛОТ ВИЧ1, Лайн Блот ВИЧ 1,2	5+15
3	Ростов-на-Дону	ЦСПИД	04.04.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	25
4	Южно-Сахалинск	ЦСПИД	30.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	40
5	Ижевск	МЗ	30.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	28
6	Санкт-Петербург	КИБ Боткина	01.04.2022	«ИФА-БЛОТ- ВИЧ 1»	100
7	Волгоград	ЦСПИД	07.04.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	70
8	Волгоград	ЦСПИД	13.04.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	35
9	Чебоксары	ЦСПИД	14.04.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	5
10	Южно-Сахалинск	ЦСПИД	27.04.2022	Блот Вич-1	40
11	Якутск	ЦСПИД	29.04.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2; ИФА-АГ-ВИЧ-1	9+8
12	Пенза	ОКЦ СВМП	05.05.2022	ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1	10
13	Саранск	Ц СПИД	30.05.2022	ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1; ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	7+9
14	Санкт_Петербург	Ц СПИД	16.06.2022	ИФА-БЛОТ- ВИЧ 1	50
15	Новосибирск	Облфармация	20.06.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	150
16	Волгоград	ЦСПИД	07.07.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	30
17	Самара	ЦСПИД	20.07.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	100
18	Тула	ЦСПИД	28.07.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	183
19	Тула	ЦСПИД	01.08.2022	ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1	30
20	Махачкала	Ц СПИД	27.07.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	21
21	Челябинск	МЗ	29.07.2022	ИФА-АГ-ВИЧ-1	15
22	Тамбов	ИКБ	09.08.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	10
23	Краснодар	МЗ	12.08.2022	АГАТ, ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2 , ИФА-АГ-ВИЧ-1	250+20+8
24	Красноярск	ЦСПИД	27.09.2022	ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1	8
25	Пермь	К ЦСПИД	10.03.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	20
26	Ижевск	МЗ УР	30.03.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	82
27	Красноярск	ЦСПИД	18.04.2022	ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	180
28	Саратов	ЦСПИД	13.04.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	50
29	Кемерово	ГКУЗ Агенство	11.04.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	90
30	Кемерово	ГКУЗ	11.04.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	38

		Агенство			
31	Тверь	МЗ	26.05.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	11
32	Москва	ДЕЗ	05.10.2022	ИФА-Блот-ВИЧ-1,2	19
33	Вологда	ЦСПИД	11.10.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	12
34	Челябинск	Ц СПИД	28.10.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	34
35	Челябинск	МЗ	07.11.2022	ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2	14
36	Санкт-Петербург	КИБ Боткина	18.11.2022	ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1	76
37	Санкт-Петербург	КИБ Боткина	18.11.2022	ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1	23
38	Нурлат	ЦРБ	20.12.2021	АГАТ-ВИЧ-1,2	10
39	Чита	Сретенская ЦРБ	13.01.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	33
40	Электрогорск	ГБ	08.02.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	2
41	Мегион	ГБ	03.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	20
42	Воронеж	ЦСПИД	30.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	50
43	Черкесск	ЦГиЭ	25.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	20
44	Воронеж	Ц СПИД	28.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	50
45	Воронеж	Ц СПИД	30.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	30
46	Ижевск	МЗ	28.03.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	55
47	Челябинск	Ц СПИД	04.04.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	292
48	Тверь	Мин-во	13.04.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	108
49	Анадырь	Департамент	15.04.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	80
50	Когалым	ГБ	14.06.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	10
51	Астрахань	ЦСПИД	27.06.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	100
52	Махачкала	ЦСПИД	24.06.2022	Лайн-Блот ВИЧ-1,2	5
53	Красноярск	Таймырская МБ	30.06.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2, ИФА- БЛОТ-ВИЧ-1	10+12
54	Челябинск	Ц СПИД	05.07.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	100
55	Рязань	Мин-во	08.07.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	100
56	Южно-Сахалинск	Углегорская ЦРБ	10.08.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	4
57	Омск	ЦСПИД	24.08.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	100
58	Казань	ЦСПИД	22.08.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	136
59	Пойковский	РБ	18.10.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	35
60	Челябинск	Мин-во	05.12.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	23
61	Михайловка	ЦРБ	07.12.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	35
62	Челябинск	Мин-во	07.12.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	20
63	Челябинск	Мин-во	01.12.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	108
64	Холмск	ЦРБ	30.12.2022	АГАТ-ВИЧ-1,2	2

Выгранные аукционы по наборам для диагностики гепатитов за 2022г.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во наборов
1	Ульяновск	ДГКБ	14.01.2022	гепатиты В и С	37
2	Тверь	КБ СМП	14.01.2022	гепатиты В и С	155
3	Сургут	СПК	17.01.2022	гепатит В	341
4	Брянск	СПК	20.01.2022	гепатит В	12
5	Электрогорск	ГБ	08.02.2022	гепатиты В и С	16
6	Омск	КОД	10.02.2022	гепатит В	28
7	Томск	МУ	18.02.2022	гепатиты В и С	31
8	Челябинск	ОКВД№3	22.02.2022	гепатиты В и С	13
9	Омск	КПБ	02.03.2022	гепатиты В и С	28
10	Москва	Агентство по закупкам	04.03.2022	гепатиты В и С	205
11	Мегион	ГБ	03.03.2022	гепатиты В и С	36
12	Омск	МСЧ №4	05.03.2022	гепатиты В и С	52
13	Тула	ККВД	05.03.2022	гепатиты В и С	199
14	Ефремов, Тула	РБ	10.03.2022	гепатиты В и С	26
15	Киров	Я ЦРБ	11.03.2022	гепатиты В и С	42
16	Сатка	РБ	11.03.2022	гепатиты В и С	120
17	Нальчик	ГП 3	14.03.2022	гепатит С	2
18	Красноярск	Канская МБ	16.03.2022	гепатит В	188
19	Улан-Удэ	Кабанская ЦРБ	16.03.2022	гепатит В	60
20	Кемерово	Кузбасский КФМЦ	16.03.2022	гепатиты В и С	164
21	Брянск	Жуковская МБ	17.03.2022	гепатиты В и С	20
22	Улан-Удэ	Кабанская ЦРБ	21.03.2022	гепатит С	50
23	Казань	ЦСПИД	23.03.2022	гепатит В	270
24	Тула	ГБ №11	23.03.2022	гепатит С	54
25	Орел	ЦСПИД	24.03.2022	гепатит В	2
26	Ефремов, Тула	РБ	24.03.2022	гепатиты В и С	140
27	Энгельс	СОК КВД	30.03.2022	гепатит В	15
28	Энгельс	СОК КВД	30.03.2022	гепатит С	15
29	Тверь	Бежецкая ЦРБ	14.04.2022	гепатиты В и С	120
30	Анадырь	Департамент	15.04.2022	гепатиты В и С	112
31	Севастополь	ГИБ	18.04.2022	гепатиты В и С	60
32	Баргузин, Бурятия	ЦРБ	20.04.2022	гепатит В	25
33	Баргузин, Бурятия	ЦРБ	21.04.2022	гепатит С	30
34	Брянск	ГДБ №1	22.04.2022	гепатиты В и С	50
35	Брянск	Погарская ЦРБ	26.04.2022	гепатиты В и С	43
36	Смоленск	МСЧ №135	26.04.2022	гепатиты В и С	168
37	Томск, Северск	НКЦ ФМБА	06.05.2022	гепатиты В и С	26

38	Воркута	ВБСМП	06.05.2022	гепатиты В и С	240
39	Волгоград	ОКБ 1	20.05.2022	гепатиты В и С	175
40	Балашов	РБ	09.06.2022	гепатиты В и С	40
41	Воронеж	ОКБ№1	28.07.2022	гепатиты В и С	4
42	Абакан	Аскизская МБ	27.03.2022	гепатиты В и С	46
43	Южно-Сахалинск	Углегорская ЦРБ	10.08.2022	гепатиты В и С	5
44	Иркутск	ГКБ №10	18.08.2022	гепатиты В и С	172
45	Красноярск	ЦСПИД	25.08.2022	гепатит В	32
46	Черкесск	ГКБ	07.09.2022	гепатиты В и С	50
47	Куйбышев	ЦРБ	03.10.2022	гепатиты В и С	32
48	Чебоксары	РНД	10.10.2022	гепатиты В и С	36
49	Белгород	Центр закупок	17.10.2022	гепатит В	126
50	Великий Новгород	МСЧ	19.10.2022	гепатиты В и С	26
51	Кандалакша	ЦРБ	24.10.2022	гепатиты В и С	14
52	Армавир	КВД	24.10.2022	гепатиты В и С	11
53	Красноярск	ЦСПИД	25.10.2022	гепатиты В и С	112
54	Липецк	МСЧ	07.11.2022	гепатиты В и С	4
55	Орловка	ОКПД	09.11.2022	гепатиты В и С	10
56	Уфа	ПД	15.11.2022	гепатиты В и С	24
57	Сочи	ГП 2	01.12.2022	гепатиты В и С	28
58	Рубцовск	ГБ 3	02.12.2022	гепатиты В и С	90
59	Новосибирск	ГБ2	08.12.2022	гепатит В	52
60	Сыктывкар	Центр крови	21.12.2022	гепатиты В и С	30
61	Ставрополь	К СПК	22.12.2022	гепатиты В и С	38
62	Воронеж	ПРБ	22.12.2022	гепатиты В и С	52
63	Тюмень	ОИКБ	28.12.2022	гепатиты В и С	212
64	Ижевск	КБ	30.12.2022	гепатит В	1
65	Холмск	ЦРБ	30.12.2022	гепатиты В и С	77

Выигранные аукционы по ифа наборам для диагностики сифилиса за 2022г.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во наборов
1	Нововоронеж	КБ№33	12.01.2022	Сифилис ИФА, РПГА	43
2	Красноярск	Норильская МБ №1	13.01.2022	Сифилис	104
3	Москва	Центр ДВ	13.01.2022	Сифилис РПГА	4000
4	Сургут	СПК	18.01.2022	Сифилис РПГА	90
5	Электрогорск	ГБ	08.02.2022		10
6	Чайковский	ЦГБ	03.02.2022	сифилис	90
7	Хабез	ЦРБ	14.02.2022	Сифилис РПГА	19
8	Новосибирск	ККВД	18.02.2022	Сифилис	75
9	Челябинск	ОКВД№3	22.02.2022	сифилис	80
10	Ростов на Дону	СПК	24.02.2022	Сифилис ИФА	90

11	Мурманск	ОЦС	25.02.2022	сифилис	39
12	Омск	КПБ	02.03.2022	сифилис ИФА	10
13	Южно-Сахалинск	Холмская ЦРБ	04.03.2022	Сифилис РПГА, RPR	66
14	Омск	МСЧ №4	05.03.2022	Сифилис ИФА	18
15	Уфа	КВД	04.03.2022	Сифилис ИФА	40
16	Энгельс	КВД	04.03.2022	БЛОТ сифилис	35
17	Красноярск	КВД №1	05.03.2022	сифилис	1269
18	Миасс	ГБ№1	09.03.2022	Сифилис ИФА	36
19	Тюмень	ОКВД	09.03.2022	торрч, сифилис	10
20	Владимир	Александровская РБ	16.03.2022	Сифилис РПГА	9
21	Улан-Удэ	Кабанская ЦРБ	16.03.2022	Сифилис IgM	12
22	Улан-Удэ	Кабанская ЦРБ	21.03.2022	Сифилис ИФА	60
23	Ярославль	Даниловская ЦРБ	23.03.2022	сифилис РМП	3
24	Ефремов, Тула	РБ	24.03.2022	Сифилис ИФА	70
25	Якутск	Мирнинская ЦРБ	30.03.2022	Сифилис ИФА, РПГА	61
26	Тверь	ЦСПИД	08.04.2022	Сифилис ИФА	25
27	Белгород	Яковлевская ЦРБ	15.04.2022	сифилис ИФА и РПГА	25
28	Москва	Центр Дерматовенерологи и	28.04.2022	сифилис	357
29	Брянск	Погарская ЦРБ	26.04.2022	Сифилис ИФА	4
30	Вологда	ОКВД	06.05.2022	сифилис	168
31	Южно-Сахалинск	ОКВД	13.05.2022	сифилис	113
32	Тула	ККВД	13.05.2022	сифилис	350
33	Новосибирск	ОККВД	20.05.2022	сифилис	135
34	Саранск	КВД	20.05.2022	БЛОТ сифилис	7
35	Саранск	КВД	25.05.2022	Сифилис	40
36	Мурманск	ОЦ	26.05.2022	сифилис ИФА	150
37	Воронеж	ГП№3	01.06.2022	сифилис ИФА, РМП	44
38	Когалым	ГБ	14.06.2022	РПР,РПГА,Сифилис	44
39	Тверь	МЗ	24.06.2022	сифилис	64
40	Таловая	РБ	15.06.2022	сифилис ИФА, РМП	14
41	Верхнеуральск	РБ	17.06.2022	Сифилис ИФА	4
42	Екатеринбург	ОКВД	27.06.2022	РПГА, сифилис Блот G	67
43	Владимир	ГКБ №5	30.06.2022	сифилис	160
44	Тюмень	КВД	06.07.2022	сифилис РПГА, блот	55
45	Омск	ККВД	14.07.2022	сифилис	23
46	Иркутск	ОКПБ	25.07.2022	сифилис РМП	10

47	Воронеж	ОКБ№1	28.07.2022	сифилис РМП	4
48	Москва	Центр ДВ	08.08.2022	Блот Сифилис	360
49	Москва	Центр ДВ	03.08.2022	Блот Сифилис	
50	Усть-Кут	РБ	04.08.2022	сифилис	25
51	Орел	СПК	04.08.2022	Сифилис РМП	4
52	Владимир	ГКБ №5	11.08.2022	сифилис	120
53	Иркутск	ГКБ №10	18.08.2022	гепатиты, сифилис	60
54	Тула	КВД	18.08.2022	сифилис IgG	100
55	Сибай	ЦРБ	09.08.2022	Сифилис РМП	10
56	Севастополь	КВД	31.08.2022	Сифилис	30
57	Одинцово	ОБ	05.09.2022	Сифилис	103
58	Омск	ККВД	02.09.2022	сифилис	27
59	Липецк	ОКВД	12.09.2022	сифилис	92
60	Москва	ДЦ	16.09.2022	сифилис IgM	300
61	Великий Новгород	МСЧ	19.10.2022	Сифилис ИФА	12
62	Армавир	КВД	24.10.2022	сифилис	14
63	Уфа	ДП 5	26.10.2022	сифилис РМП	4
64	Орловка	ОКПД	09.11.2022	сифилис ИФА	5
65	Самара	ЦСПИД	18.11.2022	БЛОТ сифилис	6
66	Тюмень	ОКВД	18.11.2022	сифилис ИФА и RPR	7
67	Ростов-на-Дону	СПК	21.11.2022	сиф	25
68	Тюмень	ОКВД	21.11.2022	сифилис РИФ	53
69	Южно-Сахалинск	О КВД	25.11.2022	Сифилис ИФА и VDRL	32
70	Москва	Центр ДВ	21.12.2022	БЛОТ сифилис	1300
71	Москва	Центр ДВ	16.12.2022	сифилис VDRL	4
72	Сыктывкар	Ц крови	21.12.2022	Сифилис ИФА	170
73	Ставрополь	К СПК	22.12.2022	Сифилис ИФА, РМП	112
74	Воронеж	ПРБ	22.12.2022	сифил, сыворотки, геп	4
75	Энгельс	О КВД	14.01.2022	рпга	8
76	Ижевск	РКВД	17.01.2022	рпга	42
77	Южно-Сахалинск	Охинская ЦРБ	24.03.2022	РПГА	90
78	Энгельс	СОК КВД	25.03.2022	РПГА	45
79	Санкт-Петербург	КВД№1	06.04.2022	РПГА	14
80	Йошкар-Ола	РКВД	26.04.2022	РПГА	39
81	Псков	КВД	06.06.2022	РМП,РИФ,РПГА	139
82	Владимир	ГКБ №5	22.07.2022	РПГА	36
83	Ялта	ГБ2	05.09.2022	РПГА 50 наб	50
84	Надым	ЦРБ	06.10.2022	РПР, РПГА	25

5	Москва	Центр ДВ	28.11.2022	РПГА	1060
86	Чара	Каларская ЦРБ	01.12.2022	РПГА РМП	27
87	Ижевск	КВД	05.12.2022	РПГА	73

Выигранные аукционы по ифа-наборам для диагностики гриппа и РСВ за 2022г.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во
1	Санкт-Петербург	Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина	25.04.2022	Парагрипп и РСВ	176
2	Санкт-Петербург	Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина	25.04.2022	Парагрипп и РСВ	176
3	Санкт-Петербург	Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина	25.04.2022	Парагрипп и РСВ	176
4	Санкт-Петербург	Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина	21.04.2022	Парагрипп и РСВ	176
5	Санкт-Петербург	Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина	08.12.2022	Парагрипп и РСВ	320
6	Санкт-Петербург	Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина	08.12.2022	Парагрипп	530

Приложение 2.

КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ МЕТОДОМ НЕПРЯМОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ТВЕРДОФАЗНОМ НОСИТЕЛЕ

Приложение 2.1

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ МЕТОДОМ НЕПРЯМОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ТВЕРДОФАЗНОМ НОСИТЕЛЕ

Оценка диагностической эффективности тест-систем при сравнительных испытаниях в сравнении с аналогичными ИФТС производства фирм «Vitrotest» (Украина) и «EUROIMMUN AG» (Германия).

Таблица 2.1.1

Результаты исследования образцов пациентов в различных ИФТС

№ образца	Индекс позитивности при исследовании в ИФТС производства фирмы		
	Vitrotest	ЭКОлаб	EUROIMMUNAG
1	11.30	25.34	8.00
2	11.30	25.11	6.39
3	0.09	0.06	0.06
4	11.12	24.84	5.88
5	10.57	18.20	5.59
6	11.79	15.66	7.46
7	9.59	12.54	6.63
8	1.71	2.35	0.06
9	11.47	25.31	5.86
10	11.26	19.27	4.98
11	11.41	25.53	6.69
12	11.51	25.03	7.40
13	11.33	25.63	8.93
14	2.71	8.59	0.09
15	10.70	18.07	2.96
16	6.85	12.54	1.56
17	0.13	0.07	0.05
18	11.18	24.01	4.02
19	0.88	1.67	1.52
20	10.23	18.39	7.70

21	11.24	25.91	7.23
22	0.50	1.76	2.02
23	11.12	25.05	1.81
24	0.77	0.04	0.20
25	0.12	0.01	0.08
26	0.07	0.05	0.10
27	10.11	17.19	6.64
28	0.51	0.27	0.03
29	9.10	6.33	0.93
30	11.24	25.10	6.88
31	8.49	19.57	3.04
32	10.58	14.83	5.07
33	11.25	24.21	3.24
34	0.26	0.04	0.38
35	0.17	0.03	0.04
36	11.08	24.84	8.26
37	2.38	5.52	2.61
38	0.21	0.05	0.10
39	10.93	11.6	5.58
40	1.58	2.34	0.78
41	11.44	24.35	3.82
42	11.33	24.02	3.39
43	11.32	24.35	78.05
44	0.25	0.11	0.14
45	1.03	5.67	4.72
46	0.28	0.03	0.07
47	11.40	25.36	6.06
48	3.33	5.75	3.08
49	10.79	20.71	5.60
50	0.13	0.06	0.07
51	11.48	24.78	4.98
52	0.44	0.07	0.18
53	0.23	0.05	0.13
54	11.52	25.93	7.38
55	5.57	7.77	5.22
56	1.00	0.01	0.05

Приложение 2.2

Исследование тест-системой «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» сывороток пациентов с положительным результатом ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2

Таблица 2.2.1

Результаты исследования образцов пациентов (с РНК позитив) на наличие антител к IgG к разным антигенам SARS-COV-2 в ИФА

№ образца	Клинические проявления	Результаты ИФА (ОП* образцов)		
		Nucleocapsid-антител (ОПкр = 0,25)	Spike-антител (ОПкр = 0,25)	Envelope-антител (ОПкр = 0,25)
1.	Лёгкое течение. Субфебрилитет. Вирусовыделение более 1 мес	3,801	2,987	3,235
2.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка. Вирусовыделение более 1 мес	3,767	2,954	2,811
3.	Бессимптомное течение	0,003	0,007	0,009
4.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,726	2,845	1,015
5.	Средне-тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка. Вирусовыделение более 1 мес	2,73	2,698	1,215
6.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,915	2,996	2,314
7.	Лёгкое течение. Потеря обоняния. Вирусовыделение более 1 мес	1,881	1,516	1,114
8.	Тяжёлое течение, фебрильная лихорадка более 8 суток	0,352	0,015	0,005
9.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,797	2,814	2,304
10.	Лёгкое течение. Субфебрилитет Вирусовыделение более 1 мес	2,891	2,817	1,013
11.	Тяжёлое течение. Пневмония. Вирусовыделение более 1 мес	3,829	3,765	2,489
12.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	3,754	2,897	1,108
13.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,844	2,989	2,581
14.	Бессимптомное течение	1,288	0,511	0,014
15.	Потеря обоняния	2,711	2,055	0,518
16.	Без симптомов	1,881	1,003	0,002
17.	Без симптомов	0,011	0,005	0,008
18.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,602	3,011	1,298
19.	Субфебрилитет	1,25	1,614	0,019
20.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	2,759	2,914	1,674
21.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,886	2,961	2,518
22.	Без симптомов	0,44	1,301	0,001
23.	Без симптомов	3,758	2,199	0,01
24.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	0,006	0,008	0,004
25.	Без симптомов	0,001	0,003	0,001
26.	Средне-тяжелое течение. Фебрильная лихорадка	0,008	0,003	0,013
27.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	2,578	2,874	1,305
28.	Без симптомов	0,04	0,01	0,008
29.	Тяжёлое течение. Пневмония	0,949	1,004	0,015
30.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	3,765	3,412	2,360
31.	Без симптомов	2,936	2,678	0,514
32.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	2,224	2,519	0,611
33.	Без симптомов	3,631	3,369	1,258
34.	Без симптомов	0,006	0,003	0,001
35.	Без симптомов	0,003	0,004	0,006
36.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,726	3,914	2,159
37.	Без симптомов	0,828	1,147	0,02
38.	Без симптомов	0,008	0,004	0,012
39.	Без симптомов	2,901	2,932	1,357
40.	Без симптомов	0,485	0,963	0,007
41.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,652	3,123	1,654
42.	Лёгкое течение. Кожные проявления	3,603	3,489	1,023
43.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,653	3,657	2,036
44.	Без симптомов	0,017	0,007	0,013
45.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	0,851	0,412	1,321
46.	Без симптомов	0,004	0,003	0,002
47.	Без симптомов	3,804	3,698	1,314
48.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	0,863	0,58	0,003
49.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,106	2,654	1,641
50.	Без симптомов	0,009	0,005	0,06
51.	Без симптомов	3,717	3,145	1,105
52.	Без симптомов	0,011	0,005	0,007
53.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	0,008	0,005	0,006
54.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,89	3,650	2,014
55.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	1,165	1,023	0,632
56.	Без симптомов	0,001	0,001	0,001

Примечание. * – ОП – оптическая плотность; ** – ОПкр – оптическая плотность критическая.

СРАВНЕНИЕ АНАЛОГОВ С РАЗРАБОТАННОЙ ИФТС ЗАО «ЭКОЛАБ»

Таблица 2.3.1

Сравнение тест-системы «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M» с аналогом

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
Название	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M»	Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ»
Фирма-производитель, страна	ЗАО «ЭКОлаб», Россия	АО «Вектор-Бест», Россия
Сфера применения изделия	Клиническая лабораторная диагностика	Клиническая лабораторная диагностика
№ РУ	№ РЗН 2020/13045 от 25.12.2020	№ РЗН 2020/10389 от 18.05.2020
Назначение	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-M», (далее по тексту – набор) предназначен для качественного и полуколичественного выявления антител класса М (IgM) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов. Функциональное назначение: набор используется, как вспомогательное средство в диагностике. Результаты	Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к SARS-CoV-2 в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа. Набор можно использовать при диагностике COVID-19.

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	тестирования на антитела не должны использоваться в качестве единственного основания для подтверждения или исключения инфицирования SARS-CoV-2 или для информирования о статусе инфекции. Применение изделия не имеет популяционных и демографических ограничений.	
Используемый метод	Двухстадийный твердофазный ИФА, основанный на принципе «IgM-захвата» (формат «capture»).	Двухстадийный «capture» вариант твердофазного иммуноферментного анализа
Способ постановки анализа	В лунках планшета засорбированы мышинные моноклональные антитела к IgM человека. Во время первого этапа инкубации исследуемых образцов в лунках ИФА-планшета антитела класса М, при условии присутствия в образцах, связываются с моноклональными антителами на твердой фазе. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляется смесь конъюгатов рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с пероксидазой хрена, которые связываются со специфическими IgM в составе образованных иммунных комплексов на твердой фазе. Несвязанные компоненты удаляются во время отмывания. Иммунные комплексы выявляются добавлением раствора индикаторного, содержащего 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ), в результате чего меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунках планшета. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству IgM к SARS-CoV-2 в образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются путем измерения	На первой стадии анализа происходит связывание содержащихся в анализируемом образце IgM с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к IgM человека. На второй стадии связавшиеся IgM к SARS-CoV-2 взаимодействуют с конъюгатом рекомбинантного антигена SARS-CoV-2 с пероксидазой хрена. При инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся иммунные комплексы. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgM к SARS-CoV-2 в анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности в лунках планшета.

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	оптической плотности на спектрофотометре.	
Способ интерпретации результатов	Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-655 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-655 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм. Результаты ИФА учитываются при следующих условиях: среднее значение $ОП_{K^+}$ – не менее 0,5; среднее значение $ОП_{K^-}$ – не более 0,2. В противном случае исследование необходимо повторить. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.K^-}$). Вычислить критическое значение оптической плотности $ОП_{крит}$ по формуле: $ОП_{крит.} = ОП_{ср.K^-} + A$ где A – коэффициент, который указывается для каждой серии набора. Вычислить коэффициент позитивности (КП) по формуле: $КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.}$, где $ОП_{обр.}$ – значение оптической плотности в лунке с контрольным или исследуемым образцом. Образец учитывают как положительный, если $КП_{обр.} \geq 1,1$. Образец учитывают как отрицательный, если $КП_{обр.} < 0,8$. Образец учитывают как сомнительный, если $0,8 \leq КП_{обр.} < 1,1$. При получении сомнительного	Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.K^-}$). Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий: - среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2; - значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,5. Вычислить критическое значение оптической плотности $ОП_{крит.}$ по формуле: $ОП_{крит.} = ОП_{ср.K^-} + 0,2$ Вычислить коэффициент позитивности (КП) по формуле: $КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.}$, где $ОП_{обр.}$ – значение ОП в лунке с контрольным или анализируемым образцом. Результат анализа считается положительным, если $КП_{обр.} \geq 1,1$. Результат анализа считается отрицательным, если $КП_{обр.} <$

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	результата рекомендуется исследовать сыворотку пациента через 2-5 дней одновременно с первым образцом. Полуколичественный учет результатов (определение титра) Тест-система позволяет выполнить определение титра антител в выявленном положительном образце. Для этого, на отдельном стрипе необходимо провести ИФА с соответствующим образцом в последовательных двукратных разведениях его раствором РРО от 1:100 до 1:12800 при постановке по протоколу № 1 на шейкере или раствором РПРО от 1:10 до 1:1280 при постановке по протоколу № 2. Протокол № 1 (шейкер). Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 180 мкл раствора РРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл выявленного положительного образца, предварительно разведенного в РПРО 1:10 (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов»), тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:100) во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:200) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:12800) и слить его в дезинфицирующий раствор. Протокол № 2. Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 180 мкл раствора	0,8. Результат анализа считается пограничным, если $0,8 \leq \text{КП}_{\text{обр.}} < 1,1$. В случае пограничного результата рекомендуется повторно исследовать эти образцы параллельно с образцами данных пациентов, взятыми через 2-5 дней.

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог																											
	РПРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РПРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл неразведенного выявленного положительного образца, тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:10) во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:20) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:1280) и слить его в дезинфицирующий раствор. Рекомендуемая схема титрования положительного образца: <table border="1"> <thead> <tr> <th></th><th>Титр IgM (протокол № 1, шейкер)</th><th>Титр IgM (протокол № 2)</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>A</td><td>1:100</td><td>1:10</td></tr> <tr><td>B</td><td>1:200</td><td>1:20</td></tr> <tr><td>C</td><td>1:400</td><td>1:40</td></tr> <tr><td>D</td><td>1:800</td><td>1:80</td></tr> <tr><td>E</td><td>1:1600</td><td>1:160</td></tr> <tr><td>F</td><td>1:3200</td><td>1:320</td></tr> <tr><td>G</td><td>1:6400</td><td>1:640</td></tr> <tr><td>H</td><td>1:12800</td><td>1:1280</td></tr> </tbody> </table> Далее провести ИФА как указано в п. Проведение ИФА ("ручная" постановка) в соответствии с выбранным протоколом. Титром IgM к SARS-CoV-2 считается максимальное разведение, при котором в соответствующей лунке значение КПобр. $\geq 1,1$.		Титр IgM (протокол № 1, шейкер)	Титр IgM (протокол № 2)	A	1:100	1:10	B	1:200	1:20	C	1:400	1:40	D	1:800	1:80	E	1:1600	1:160	F	1:3200	1:320	G	1:6400	1:640	H	1:12800	1:1280	
	Титр IgM (протокол № 1, шейкер)	Титр IgM (протокол № 2)																											
A	1:100	1:10																											
B	1:200	1:20																											
C	1:400	1:40																											
D	1:800	1:80																											
E	1:1600	1:160																											
F	1:3200	1:320																											
G	1:6400	1:640																											
H	1:12800	1:1280																											
Целевое назначение	Для учреждений здравоохранения	Для учреждений здравоохранения																											
Время анализа	1 ч 25 мин	1 ч 25 мин																											
Условия применения	Для диагностики «in vitro»	Для диагностики «in vitro»																											

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
Условия хранения	При температуре +2-8°C, 2 года.	При температуре +2-8°C, 12 месяцев.

Таблица 2.3.2

Сравнение тест-системы «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» с аналогом

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
Название	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G»	Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ»
Фирма-производитель, страна	ЗАО «ЭКОлаб», Россия	АО «Вектор-Бест», Россия
Сфера применения изделия	Клиническая лабораторная диагностика	Клиническая лабораторная диагностика
№ регистрационного удостоверения	№ РЗН 2020/12981 от 17.12.2020	№ РЗН 2020/10388 от 18.05.2020
Назначение	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G» предназначен для качественного и полуколичественного выявления видоспецифических антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов.	Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» предназначен для качественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к SARS-CoV-2 в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа. Набор можно использовать при диагностике COVID-19.
Используемый метод	Метод непрямого иммуноферментного анализа на твердофазном носителе	Двухстадийный «непрямой» вариант твердофазного иммуноферментного анализа

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
Способ постановки анализа	При наличии в исследуемом образце антител класса G к SARS-CoV-2 происходит связывание их с антигеном, сорбированным в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс «антиген-антитело» реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgG человека, мечеными пероксидазой хрена. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с раствором индикаторным, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству антител в образце.	На первой стадии анализа содержащиеся в исследуемых образцах специфические антитела (в том числе IgG) связываются с иммобилизованным на поверхности лунок планшета рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2. На второй стадии конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена взаимодействует с комплексами «антиген-IgG». при инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-IgG-конъюгат». Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к SARS-CoV-2 в анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности в лунках планшета.
Способ интерпретации результатов	Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 450 нм и 620-655 нм. При отсутствии референс-фильтра на 620-655 нм оптическую плотность (ОП) измерять при длине волны 450 нм. Результаты ИФА учитываются при следующих условиях: среднее значение ОП_{к+} – не менее 0,5; среднее значение ОП_{к-} – не более 0,2. В противном случае исследование	Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. Допускается измерение при одной длине волны – 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин. Рассчитать среднее арифметическое значение

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	необходимо повторить. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.К^-}$). Вычислить критическое значение оптической плотности $ОП_{крит}$ по формуле: $ОП_{крит} = ОП_{ср.К^-} + A$ где A – коэффициент, который указывается для каждой серии набора. Вычислить коэффициент позитивности (КП) по формуле: $КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.},$ где $ОП_{обр.}$ – значение оптической плотности в лунке с контрольным или исследуемым образцом. Образец учитывают как положительный, если $КП_{обр.} \geq 1,1$. Образец учитывают как отрицательный, если $КП_{обр.} < 0,8$. Образец учитывают как сомнительный, если $0,8 \leq КП_{обр.} < 1,1$. При получении сомнительного результата рекомендуется исследовать сыворотку пациента через 2-5 дней одновременно с первым образцом. Полуколичественный учет результатов (определение титра) Тест-система позволяет выполнить определение титра антител в выявленном положительном образце. Для этого, на отдельном стрипе необходимо провести ИФА с соответствующим образцом в	оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом ($ОП_{ср.К^-}$). Результаты исследований учитывать только при соблюдении следующих условий: - среднее значение ОП в лунках с K^- не более 0,2; - значение ОП в лунке с K^+ не менее 0,5. Вычислить критическое значение оптической плотности $ОП_{крит.}$ по формуле: $ОП_{крит.} = ОП_{ср.К^-} + 0,2$ Вычислить коэффициент позитивности (КП) по формуле: $КП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.},$ где $ОП_{обр.}$ – значение ОП в лунке с контрольным или анализируемым образцом. Результат анализа считается положительным, если $КП_{обр.} \geq 1,1$. Результат анализа считается отрицательным, если $КП_{обр.} < 0,8$. Результат анализа считается пограничным, если $0,8 \leq КП_{обр.} < 1,1$. В случае пограничного результата рекомендуется повторно исследовать эти образцы параллельно с образцами данных пациентов, взятыми через 2-5 дней. При определении титра в выявленных положительных образцах за титр IgG к SARS-CoV-2 принимается последнее разведение исследуемого образца, при котором в соответствующей лунке

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	последовательных двукратных разведениях его раствором РРО от 1:100 до 1:12800 при постановке по протоколу № 1 на шейкере или от 1:10 до 1:1280 при постановке по протоколу № 2. Протокол № 1 (шейкер). Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 180 мкл раствора РРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл выявленного положительного образца, предварительно разведенного в РПРО 1:10 (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов»), тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:100) во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:200) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:12800) и слить его в дезинфицирующий раствор. Протокол № 2. Для приготовления указанных разведений в верхнюю лунку стрипа внести 180 мкл раствора РПРО, в остальные лунки стрипа – по 100 мкл раствора РПРО. Затем в верхнюю лунку стрипа внести 20 мкл неразведенного выявленного положительного образца, тщательно перемешать пипетированием и перенести 100 мкл полученного разведения (1:10)	значение $KP_{обр.} \geq 1,1$.

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог	
	во вторую лунку, тщательно перемешать пипетированием, перенести 100 мкл полученного разведения (1:20) в третью лунку и так – до последней лунки стрипа. Из последней лунки стрипа отобрать 100 мкл разведения (1:1280) и слить его в дезинфицирующий раствор. Рекомендуемая схема титрования положительного образца:		
		Титр (протокол № 1, шейкер)	Титр (протокол № 2, термостат)
	A	1:100	1:10
	B	1:200	1:20
	C	1:400	1:40
	D	1:800	1:80
	E	1:1600	1:160
	F	1:3200	1:320
	G	1:6400	1:640
	H	1:12800	1:1280
	Далее провести ИФА как указано в п. Проведение ИФА ("ручная" постановка). Титром IgG к SARS-CoV-2 считается максимальное разведение, при котором в соответствующей лунке значение $KP_{обр.} \geq 1,1$.		
Целевое назначение	Для учреждений здравоохранения	Для учреждений здравоохранения	
Время анализа	Протокол № 1 (шейкер): 1 ч 25 мин Протокол № 2 (термостат): 50 мин.	1 ч 25 мин	
Условия применения	Для диагностики «in vitro»	Для диагностики «in vitro»	
Условия хранения	При температуре +2-8°С, 2 года.	При температуре +2-8°С, 12 месяцев.	

Таблица 2.3.3

Сравнение тест-системы «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный» с аналогом

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
Название	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный»,	Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ)» по ТУ 21.20.23-140-23548172-2021, серии: 1, 2
Фирма-производитель, страна	ЗАО «ЭКОлаб», Россия	АО «Вектор-Бест», Россия
Сфера применения изделия	Клиническая лабораторная диагностика	Клиническая лабораторная диагностика
№ регистрационного удостоверения	РЗН 2021/15302 от 14.09.2021	№ РЗН 2021/14458 от 28.05.2021
Назначение	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный» предназначен для количественного выявления антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2), вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке и с использованием ИФА-анализаторов. Набор может быть использован для оценки гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19, а также после вакцинации.	Набор реагентов для иммуноферментного количественного определения иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» предназначен для количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S SARS-CoV-2 (включая рецептор-связывающий домен – RBD) в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа. Набор может быть использован для оценки гуморального иммунитета на текущую или перенесенную инфекцию, вызванную вирусом SARS-CoV-2, а также для определения уровня поствакцинального иммунитета, сформированного на S-белок (включая RBD) вируса SARS-CoV-

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
		2.
Используемый метод	Метод непрямого иммуноферментного анализа на твердофазном носителе	Двухстадийный «непрямой» вариант твердофазного иммуноферментного анализа
Способ постановки анализа	При наличии в исследуемом образце антител класса G к SARS-CoV-2 происходит связывание их с антигеном, сорбированным в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс «антиген-антитело» реагирует с внесенным в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgG человека, мечеными пероксидазой хрена. Образовавшийся комплекс "антиген-антитело-конъюгат" выявляется в реакции с раствором индикаторным, содержащим хромоген – тетраметилбензидин, в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству антител в образце. Концентрацию антител класса G к SARS-CoV-2 в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови человека определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антител класса G к SARS-CoV-2 в	На первой стадии анализа содержащиеся в исследуемых образцах специфические антитела (в том числе IgG) связываются с иммобилизованным на поверхности лунок планшета рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2 (полноразмерный тримеризованный поверхностный гликопротеин S, включающий рецептор-связывающий домен – RBD). На второй стадии конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена взаимодействует с комплексами «антиген-IgG». При инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках, содержащих образовавшиеся комплексы «антиген-IgG-конъюгат». Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgG к SARS-CoV-2 в анализируемом образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты анализа регистрируются измерением оптической плотности в лунках планшета.

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	калибровочных пробах.	
Способ интерпретации результатов	1. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при двух длинах волн – 405 нм и 620-655 нм. <i>Примечание. При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. При отсутствии в спектрофотометре референс-фильтра на 620-655 нм оптическую плотность (ОП) измерять при одной длине волны – 405 или 450 нм.</i> 2. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости значения оптической плотности от концентрации IgG к SARS-CoV-2 в калибровочных пробах (BAU/мл). 3. Результаты ИФА учитываются при следующих условиях: <i>При измерении ОП при основной длине волны 405 нм:</i> - $ОП\ КП_0 < 0,05$; - $ОП\ КП_{10} / ОП\ КП_0 \geq 1,5$, где ОП $КП_{10}$ и ОП $КП_0$ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными пробами 10 и 0 BAU/мл; - $ОП\ КП_{500} > 1,5$, где ОП $КП_{500}$ – значение оптической плотности в лунке с калибровочной пробой 500 BAU/мл; - рассчитанное по калибровочному графику значение концентрации IgG к	Измерить величину оптической плотности (ОП) растворов в лунках на спектрофотометре в двухволновом режиме: при основной длине волны 405 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм. <i>При отсутствии в спектрофотометре фильтра на 405 нм измерение результатов анализа проводить при длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм.</i> Допускается измерение при одной длине волны – 405 либо 450 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости значения оптической плотности от концентрации IgG к SARS-CoV-2 в калибровочных образцах (BAU/мл). Определить концентрацию IgG к SARS-CoV-2 (BAU/мл) в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Результаты анализа исследуемых образцов подлежат учету, если будут выполнены следующие условия: <u>При измерении ОП на основной длине волны 405 нм:</u> - $ОП_0 < 0,05$; - $ОП_{10} / ОП_0 \geq 1,5$, где ОП₁₀ и ОП₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами 10 и 0 BAU/мл; - $ОП_{500} > 1,5$, где ОП₅₀₀ – значение

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	SARS-CoV-2 в контрольном положительном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона. При измерении ОП при основной длине волны 450 нм: - ОП КР₀ < 0,1; - ОП КР₁₀ / ОП КР₀ ≥ 1,5, где ОП КР₁₀ и ОП КР₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными пробами 10 и 0 ВАУ/мл; - ОП КР₁₂₅ > 1,5, где ОП КР₁₂₅ – значение оптической плотности в лунке с калибровочной пробой 125 ВАУ/мл; - рассчитанное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном положительном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона. 4. Если ОП_{обр.} > ОП КР₅₀₀ (при измерении при основной длине волны 405 нм) или ОП_{обр.} > ОП КР₁₂₅ (при измерении при основной длине волны 450 нм), где ОП_{обр.} – значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 500 ВАУ/мл» или «более 125 ВАУ/мл» соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов») необходимо их дополнительно развести в 10 раз. Для этого в две парные лунки планшета для	оптической плотности в лунке с калибровочным образцом 500 ВАУ/мл; - вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона. <u>При измерении ОП на основной длине волны 450 нм:</u> - ОП₀ < 0,1; - ОП₁₀ / ОП₀ ≥ 1,5, где ОП₁₀ и ОП₀ – значения оптической плотности в лунках с калибровочными образцами 10 и 0 ВАУ/мл; - ОП₁₂₅ > 1,5, где ОП₁₂₅ – значение оптической плотности в лунке с калибровочным образцом 125 ВАУ/мл; - вычисленное по калибровочному графику значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в контрольном образце соответствует пределам, указанным на этикетке флакона. Если ОП_{обр.} > ОП₅₀₀ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или ОП_{обр.} > ОП₁₂₅ (при измерении на основной длине волны 450 нм), где ОП_{обр.} – значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом, результат анализа следует выражать «более 500 ВАУ/мл» или «более 125 ВАУ/мл» соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (п.7.6.) необходимо провести <u>дополнительное разведение</u> в 10 раз. Для этого в две парные лунки планшета для предварительного разведения

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
	предварительного разведения исследуемых образцов (например, А1 и В1) внести по 90 мкл РПРО. В лунку А1 внести 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) и тщательно перемешать пипетированием до изменения цвета с розового на желтовато-оранжевый (получено разведение 1:10). Отобрать из этой лунки 10 мкл образца, перенести в лунку В1 и тщательно перемешать пипетированием (получено разведение 1:100). Провести анализ согласно разделу «Проведение ИФА». Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в данном случае следует умножить на 10. Если вновь $ОП_{обр.} > ОП_{КП_{500}}$ (при измерении при основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр.} > ОП_{КП_{125}}$ (при измерении при основной длине волны 450 нм), результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 1250 BAU/мл» соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах при их подготовке для анализа (см. раздел «Предварительное разведение исследуемых образцов») необходимо их дополнительно развести в 100 раз в соответствии с вышеописанным алгоритмом. Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в данном случае следует умножить на 100. Если $ОП_{обр.} < ОП_{КП_{10}}$, результат анализа следует выражать «менее 10 BAU/мл».	исследуемых образцов (например, А-1 и В-1) внести по 90 мкл РПРС. В лунку А-1 внести 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) и тщательно перемешать круговым движением наконечника дозатора до изменения цвета с красного на желтый. Отобрать из этой лунки 10 мкл образца, перенести в лунку В-1 и тщательно перемешать. В лунке В-1 получено разведение образца в 100 раз. Дальнейшие действия выполнить в соответствии с п.8. Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в этом случае следует умножить на коэффициент 10. Если вновь $ОП_{обр.} > ОП_{500}$ (при измерении на основной длине волны 405 нм) или $ОП_{обр.} > ОП_{125}$ (при измерении на основной длине волны 450 нм), результат анализа следует выражать «более 5000 BAU/мл» или «более 1250 BAU/мл» соответственно. Для определения концентрации IgG к SARS-CoV-2 в таких образцах необходимо повторить анализ с <u>дополнительным разведением</u> образца в 100 раз в соответствии с вышеописанным алгоритмом. Вычисленное значение концентрации IgG к SARS-CoV-2 в этом случае следует умножить на коэффициент 100. Если $ОП_{обр.} < ОП_{10}$, результат анализа следует выражать «менее 10 BAU/мл».

Основные данные	Новая ИФТС	Зарегистрированный аналог
Целевое назначение	Для учреждений здравоохранения	Для учреждений здравоохранения
Время анализа	1 ч 25 мин	1 ч 25 мин
Условия применения	Для диагностики «in vitro»	Для диагностики «in vitro»
Условия хранения	При температуре +2-8°С, 1 год.	При температуре +2-8°С, 10 месяцев.

Приложение 2.4.

РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ

Таблица 2.4.1

Выигранные аукционы по наборам для диагностики COVID-19 методом ИФА в 2021г.

	Город	Организация	Дата	Тип набора	Кол-во наборов
1	Москва	Центр крови	12.01.2021	IgM+IgG	157
2	Новосибирск	ФИЦФиТМ	15.01.2021	IgM+IgG	40
3	Кемерово	Кузбасская ОКБ им. Беляева	14.01.2021	IgM+IgG	60
4	Владимир	Ковровская МГБ №1	19.01.2021	IgM+IgG	12
5	Кемерово	Беловская ГБ №2	21.01.2021	IgM+IgG	46
6	Краснодар	"МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА" ИМ.АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА"	20.01.2021	IgM+IgG	170
7	Соликамск	ГБ	25.01.2021	IgM+IgG	200
8	Усть-Илимск	ГП №1	25.01.2021	IgM+IgG	20
9	Лесной	МСЧ №91	28.01.2021	IgM+IgG	20
10	Саранск	СПК	28.01.2021	IgM+IgG	150
11	Санкт - Петербург	МСЧ	29.01.2021	IgM+IgG	80
12	Сыктывкар	РКБ	29.01.2021	IgM+IgG	21
13	Пенза	МСЧ 58	03.02.2021	IgM+IgG	2
14	Георгиевск	Г РБ	03.02.2021	IgM+IgG	15
15	Новосибирск	Ордынская ЦРБ	03.02.2021	IgM+IgG	20
16	Иркутск	ОККДЦ	09.02.2021	IgM+IgG	240
17	Златоуст	ГБ	04.02.2021	IgM+IgG	10
18	Костомукша	МБ №1	04.02.2021	IgM+IgG	100
19	Владимир	ОКБ	04.02.2021	IgM+IgG	14
20	Ковров	ЦГБ	44235	IgM+IgG	30
21	Москва	ЦКБ ГА	11.02.2021	IgM+IgG	28
22	Пермь	К КВД	15.02.2021	IgM+IgG	62
23	Медвежьегорск	МСЧ №91	17.02.2021	IgM+IgG	30
24	Рязань	ОДКБ	15.02.2021	IgM+IgG	8
25	Саранск	СПК	18.02.2021	Ig G	300
26	Брянск	ЦСПИД	20.02.2021	IgM+IgG	230

27	Орел	ПД	19.02.2021	IgM+IgG	8
28	Лодейное Поле	МБ	24.02.2021	IgM+IgG	8
29	Томск	Стрежевская ГБ	01.03.2021	IgM+IgG	70
30	Вологда	ГБ №1	03.03.2021	IgM+IgG	180
31	Якутск	Усть-Янская ЦРБ	05.03.2021	IgM+IgG	38
32	Надым	ЦГ	05.03.2021	IgM+IgG	60
33	Краснодар	КВД	10.03.2021	IgM+IgG	28
34	Новосибирск	ГКБ	10.03.2021	IgM+IgG	80
35	Йошкар-Ола	П 1	10.03.2021	IgM+IgG	100
36	Уфа	КБ 2	11.03.2021	Ig G	13
37	Сланцы	МБ	11.03.2021	IgM+IgG	36
38	Киров	ЦРБ им Прохорова	15.03.2021	IgM+IgG	24
39	Салехард	ЦГ	11_15.03.2021	IgM+IgG	110
40	Евпатория	ГБ	15.03.2021	IgM	139
41	Тюмень	ОКБ№2	16.03.2021	IgM+IgG	436
42	Северодвинск	ГБ№1	16.03.2021	IgM+IgG	98
43	Екатеринбург	ОКВД	15.03.2021	IgM+IgG	30
44	Винзили	ОКПБ	16.03.2021	IgM+IgG	200
45	Якутск	ЦСПИД	17.03.2021	IgM+IgG	84
46	Горнозаводск	РБ	19.03.2021	IgM+IgG	40
47	Новокузнецк, Кемерово	НПЦ	22.03.2021	IgM+IgG	60
48	Орел	Колпаянская ЦРБ	23.03.2021	IgM+IgG	4
49	Санкт-Петербург	П№4	23.03.2021	IgM+IgG	15
50	Новодвинск	НЦГБ	25.03.2021	IgM+IgG	40
51	Тюмень	ОПД	25.03.2021	IgM+IgG	20
52	Сортавала	ЦРБ	26.03.2021	IgM+IgG	40
53	Омск	КДЦ	22.03.2021	IgM+IgG	1425
54	Новосибирск	ОГ №2	31.03.2021	IgM+IgG	30
55	Горно-Алтайск	РБ	05.04.2021	IgM+IgG	40
56	Иваново	МСЧ	05.04.2021	IgM+IgG	7
57	Владивосток	Черниговская ЦРБ	06.04.2021	IgM+IgG	40
58	Омск	КМХЦ	06.04.2021	IgM+IgG	50
59	Саров	КБ 50	06.04.2021	Ig G	21
60	Саранск	Ц ГиЭ	06.04.2021	IgM+IgG	35
61	Тюмень	ЦРеабилитации	06.04.2021	IgM+IgG	483
62	Екатеринбург	ОЦ СПИД	14.04.2021	IgM+IgG	60
63	Новый Торъял	ЦРБ	16.04.2021	Ig G	15
64	Владивосток	Лесозаводская ЦГБ	19.04.2021	IgM+IgG	180
65	Омск	КМХЦ	19.04.2021	IgM+IgG	12

66	Махачкала	ЦСПИД	21.04.2021	IgG	53
67	Оренбург	ЦГиЭ	20.04.2021	IgM+IgG	50
68	Кисловодск	Г СИБ	21.04.2021	IgM+IgG	20
69	Самара	О КОД	22.04.2021	IgM+IgG	235
70	Владивосток	Анучинская РБ	26.04.2021	IgM+IgG	36
71	Красноармейск	КРБ	26.04.2021	IgM+IgG	20
72	Краснодар	КИБ МЗ	27.04.2021	IgM+IgG	100
73	Сосновоборск	УБ	28.04.2021	IgM+IgG	14
74	Челябинск	ОКВД	30.04.2021	IgM+IgG	44
75	Якутск	ДИКБ	11.05.2021	IgM+IgG	37
76	Саранск	ЦГиЭ	11.05.2021	Ig G	50
77	Симферополь	РКБ им.Семашко	11.05.2021	IgM+IgG	16
78	Омск	Называевская ЦРБ	18.05.2021	IgM+IgG	40
79	Чита	ГМА	18.05.2021	IgM+IgG	70
80	Кемерово	Новокузнецкая ГКБ №29	21.05.2021	IgM+IgG	200
81	Якутск	Оймяканская ЦРБ	26.05.2021	IgM+IgG	20
82	Омск	ОКБ	28.05.2021	IgM+IgG	80
83	Тюмень	МСЧ№72	04.06.2021	IgM+IgG	16
84	Махачкала	РДЦ	01.06.2021	Ig G	64
85	Казань	КП 18	15.06.2021	IgM+IgG	11
86	Тюмень	РД№3	11.06.2021	IgM	30
87	Омск	ГКБ №17	15.06.2021	IgM+IgG	130
88	Ставрополь	КСПБ 1	17.06.2021	IgM+IgG	10
89	Ессентуки	С-К ФН-К ЦФМБА	18.06.2021	IgM+IgG	14
90	Новосибирск	Мин-во	23.06.2021	IgM+IgG	40
91	Березники	КБ им Вагнера	22.06.2021	Ig M	20
92	Улан-Удэ	КБ	30.06.2021	IgM+IgG	100
93	Котлас	ЦГБ	06.07.2021	IgM+IgG	75
94	Новосибирск	Госпиталь№2	05.07.2021	IgM+IgG	30
95	Элиста	ЦГиЭ	09.07.2021	IgM+IgG	65
96	Ульяновск	ГБ 2	16.07.2021	IgG	40
97	Ижевск	Балезинская РБ	15.07.2021	IgM+IgG	10
98	Кирово-Чепецк	МСЧ 52	16.07.2021	IgM+IgG	31
99	Курган	КОКБ	20.07.2021	IgM+IgG	100
100	Кызыл	РБ №1	16.07.2021	IgM+IgG	38
101	Туапсе	Центр Гигиены	16.07.2021	IgM+IgG	10
102	Киров	ОКБ	21.07.2021	IgM+IgG	50
103	Калининград	ЦГКБ	23.07.2021	IgM+IgG	80
104	Емва	Княжпогостская ЦРБ	23.07.2021	Ig G	10
105	Киров	ОКБ	02.08.2021	Ig G	140
106	Соликамск	ГБ	03.08.2021	IgM+IgG	200
107	Саранск	ЦГиЭ	05.08.2021	IgM+IgG	122

108	Владивосток	Пожарская ЦРБ	06.08.2021	IgM+IgG	20
109	Омск	КМХЦ	06.08.2021	IgM+IgG	35
110	Абакан	МБ	10.08.2021	IgM+IgG	3
111	Омск	КДЦ	10.08.2021	Ig G	735
112	Ростов на Дону	РНИИ МиП	10.08.2021	IgM+IgG	28
113	Волгоград	ГМУ	11.08.2021	IgM+IgG	48
114	Сальск	ЦРБ	17.08.2021	IgM+IgG	16
115	Горно-Алтайск	ЦСПИД	23.08.2021	IgM+IgG	26
116	Омск	КМХЦ	08.09.2021	IgM+IgG	60
117	Кемерово	НГКИБ 8 им Бессоненко	29.09.2021	IgM+IgG	40
118	Армавир	ПЦ	29.09.2021	IgM+IgG	30
119	Уфа	БСМП	29.09.2021	Ig G	20
120	Чита	КИБ	04.10.2021	IgM+IgG	23
121	Пудож	ЦРБ	06.10.2021	IgM+IgG	11
122	Брянск	ЦСПИД	15.10.2021	IgM+IgG	50
123	Уфа	РМГЦ	18.10.2021	IgM+IgG	11
124	Якутск	Мирнинская ЦРБ	22.10.2021	IgM+IgG	90
125	Саранск	СПК	27.10.2021	IgM+IgG	60
126	Омск	Исилькульская ЦРБ	26.10.2021	IgM+IgG	51
127	Ижевск	ПРКБ	12.11.2021	IgM+IgG	10
128	Ижевск	ГКБ6	10.11.2021	IgM+IgG	62
129	Кемерово	ГКИБ №8	12.11.2021	IgM+IgG	30
130	Омск	ЦГиЭ	12.11.2021	IgM+IgG	50
131	Котлас	ГБ	22.11.2021	IgM+IgG	60
132	Лангепас	ГБ	29.11.2021	IgM+IgG	15
133	Чебоксары	РКВД	01.12.2021	IgG	300
134	Улан-Удэ	РКИБ	10.12.2021	IgM+IgG	70
135	Нижневартовск	ГДП	13.12.2021	IgM+IgG	60
136	Якутск	Таттинская ЦРБ	14.12.2021	IgM+IgG	24
137	Якутск	Таттинская ЦРБ	14.12.2021	IgM+IgG	24

Таблица 2.4.2

Выгранные аукционы по наборам для диагностики коронавируса методом ИФА за 2022г.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во наборов
1	Пермь	КМСЧ№1	12.01.2022	IgM+IgG	48
2	Якутск	Верхневиллюйская ЦРБ	14.01.2022	IgM+IgG	40
3	Ярославль	ГП №3	17.01.2022	IgG колич.	21
4	Якутск	РКБ №3	04.02.2022	IgM+IgG	60

5	Улан-Удэ	СПК	03.03.2022	IgM+IgG	34
6	Курган	ОКБ	28.02.2022	IgM+IgG	20
7	Биробиджан	МСЧ МВД	05.03.2022	IgM+IgG	20
8	Томск	РБ	18.03.2022	IgM+IgG	85
9	Орел	ОКБ	24.03.2022	IgG колич.	100
10	Ижевск	КИБ	04.04.2022	IgM+IgG	20
11	Якутск	НПЦ Ф	04.04.2022	IgM+IgG	40
12	Петрозаводск	КВД	04.04.2022	IgM+IgG	40
13	Якутск	Нюрбинская ЦРБ	05.04.2022	IgM+IgG	80
14	Кемерово	МСЧ МВД	06.04.2022	IgM+IgG	30
15	Якутск	Таттинская ЦРБ	02.06.2022	IgG колич.	24
16	Чебоксары	ГДБ №2	30.06.2022	IgM+IgG	12
17	Омск	КДЦ	30.06.2022	ИФА Ковид	2
18	Уфа	КБСМП	26.07.2022	IgG	10
19	Уфа	КБ СМП	16.09.2022	IgG колич.	50
20	Таганрог	КДЦ	02.11.2022	IgM+IgG	120

КОМПЛЕКТ ТЕСТ-СИСТЕМ ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IgG» И «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IgM» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА

Иммуносорбент. Стандартная схема нанесения антигенов SARS-CoV-2 и контрольных линий на стрип

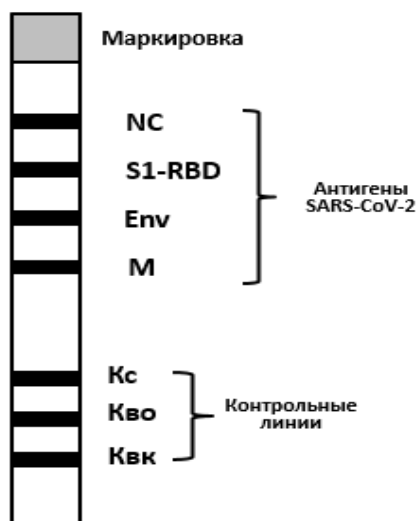


Рис. 1. Обозначение нанесения антигенов и положительных контролей

ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РАБОТОСПОСОБНОСТИ ТЕСТ-СИСТЕМ «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV-2-IGG» И «ЛАЙН-БЛОТ SARS-COV- 2-IGM» В ПРАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ

Таблица 3.1.1

Результаты исследования образцов сыворотки крови на наличие IgG к SARS-CoV-2 в ИФА и ИБ

«SARS- COV-2 – ОТ- ПЦР»	ИФА с использованием:				ИБ Антитела к антигену				Σ
	«Vitrotest SARS- COV-2 igG»		«ИФА-SARS-COV- AT-G»						
	ОП _{кр} =0,313		ОП _{кр} =0,250						
	ОП	Σ	ОП	Σ	N	S	Env	M	
+	3,536	+	3,064	+	+	+	+	-	+
+	3,536	+	3,047	+	+	+	+	-	+
+	0,029	-	0,048	-	-	-	-	-	-
+	3,482	+	2,173	+	+	+	+	-	+
+	3,309	+	2,085	+	+	+	+	-	+
+/-	3,691	+	3,615	+	+	+	+	-	+
+	3,001	+	0,789	+	+	+	+	+	+
+	0,534	-	0,064	-	+	-	-	+	+
+	3,591	+	2,363	+	+	+	+	-	+
+	3,523	+	2,537	+	+	+	+	-	+
+	3,575	+	2,438	+	+	+	+	+	+
+	3,602	+	2,722	+	+	+	+	+	+
+	3,584	+	2,101	+	+	+	+	+	+
+	3,546	+	3,920	+	+	+	+	+	+
+	0,498	-	0,291	+	+	+	-	-	+
+	3,350	+	0,971	+	+	+	+	+	+
+	2,145	+	1,614	+	+	+	+	-	+
+	0,041	-	0,045	-	-	-	-	-	-
+	3,499	+	1,323	+	+	+	+	+	+
+	0,277	-	0,714	+	+	+	-	-	+
+	3,203	+	3,663	+	+	+	+	+	+
+	3,518	+	3,176	+	+	+	+	+	+
+	0,156	-	0,629	+	+	+	-	+	+
+	3,481	+	0,342	+	+	+	-	+	+

+	0,242	+	0,161	-	-	-	-	-	-
+	0,038	-	0,110	-	-	-	-	-	-
+	0,023	-	0,082	-	-	-	-	-	-
+	3,165	+	2,332	+	-	-	+	+	+
+	0,159	-	0,079	-	-	-	-	-	-
+	2,848	+	0,825	+	+	+	+	+	+
+	3,517	+	2,460	+	+	+	+	+	+
+	2,657	+	1,204	+	+	+	+	+	+
+	3,311	+	2,435	+	+	+	+	+	+

Таблица 3.1.2

Результаты исследования образцов сыворотки крови на наличие IgM к SARS- CoV-2 в ИФА и ИБ

«SARS- COV-2 – ОТ- ПЦР»	ИФА с использованием:				ИБ Антитела к антигену				Σ
	«Vitrotest SARS- COV-2 igM»		«ИФА-SARS-COV- AT-M»						
	ОП _{кр} =0,312		ОП _{кр} =0,245		N	S	Env	M	
	ОП	Σ	ОП	Σ					
+	3,522	+	1,731	+	+	+	+	+	+
+	0,081	-	0,098	-	-	-	-	-	-
+	0,052	-	0,044	-	-	-	-	-	-
+	3,468	+	3,890	+	+	+	+	+	+
+	0,744	+	0,730	+	+	+	-	+	+
+	0,066	-	0,149	-	-	-	-	-	-
+	3,424	+	1,843	+	+	+	+	+	+
+	0,495	+	0,265	+	+	+	-	-	+
+	3,580	+	1,722	+	+	+	+	+	+
+	3,545	+	1,515	+	+	+	+	+	+
+	3,544	+	3,330	+	+	+	+	-	+
+	0,078	-	0,131	-	-	-	-	-	-
+	0,323	+	1,790	-	-	-	-	-	-
+	0,087	-	0,058	-	-	-	-	-	-
+	3,567	+	2,705	+	+	+	+	+	+
+	1,042	+	1,193	+	+	+	-	+	+
+	3,378	+	2,725	+	+	+	+	+	+
+	0,042	-	0,054	-	-	-	-	-	-
+	3,592	+	1,804	+	+	+	+	+	+
+	0,138	-	0,132	-	-	-	-	-	-
+	0,073	-	0,103	-	-	-	-	-	-
+	3,606	+	3,753	+	+	+	+	-	+
+	1,743	+	1,845	+	+	+	+	+	+

+	0,313	+/-	0,036	-	-	-	-	-	-
+	1,569	+	1,199	+	+	+	-	-	+
+	0,147	-	0,288	+	+	+	-	-	+
+	0,112	-	0,142	+	+	+	-	-	-
+	1,169	+	0,355	+	+	+	-	-	+
+	3,634	+	3,733	+	+	+	-	-	+
+	3,627	+	3,775	+	+	+	-	+	+
+	0,184	-	0,294	+	-	+	-	-	+
+	2,705	+	1,629	+	+	+	-	-	+
+	1,876	+	1,608	+	+	+	-	-	+
+	0,234	-	0,098	-	-	-	-	-	-
+	3,507	+	1,622	+	+	+	-	+	+

Примечания: ОПкр – критическая оптическая плотность; Σ – итоговый результат исследования образца в ИФА и ИБ; «+» – положительный результат исследования: для ОТ-ПЦР– в образце выявлена ДНК возбудителя; для ИБ наличие антител к конкретному антигену и общий положительный результат исследования; «+/-» – сомнительный результат исследования; «-» – отрицательный результат исследования.

ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ

Приложение 4.1

ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV-2 В ОБРАЗЦАХ НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫХ МАЗКОВ ЧЕЛОВЕКА» «ИХА-SARS-COV-2-AG»

1. Приготовления коллоидного золота

Приготовление раствора цитрата натрия: 0,2300 г цитрата натрия развести в 10 мл деионизованной воды.

Приготовление раствора хлорида золота: 0,1 г хлорида золота (III) развести в 10 мл деионизованной воды.

Приготовление коллоидного золота: 500 мл деионизованной воды поместить в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, поставить на магнитную мешалку со скоростью 700 об/мин и нагреть до температуры 96-98⁰С. Контроль температуры вести по ртутному термометру. Внести 10 мл раствора хлорида золота (III). Довести температуру до 96-98⁰С. Контроль температуры вести по ртутному термометру. Внести 10 мл раствора цитрата натрия (одной порцией), перемешивать 8 минут. Снять колбу с коллоидным золотом с мешалки, дать остыть до комнатной. На спектрофотометре снять спектр поглощения в диапазоне от 450 нм до 620 нм с шагом в 1 нм относительно воздуха, определить максимум поглощения. Для снятия спектра коллоидное золото развести деионизованной водой 1:10. Хранить коллоидное золото при температуре 2 – 8⁰С в защищенном от света месте не более 6 месяцев от даты изготовления.

1.1. Приготовление конъюгата антител с НКЗ.

Приготовление 0,1 М раствора карбоната натрия: 1,059 г карбоната натрия развести в 100 мл деионизованной воды.

Определение рН изоэлектрической точки антигенов: В эппендорфах приготовить ряд растворов коллоидного золота с добавлением различного количества 0,1М карбоната натрия по Табл.1:

Расчет приготовления растворов коллоидного золота

Кол-во коллоидного золота, мкл	Объем на 1000	Объем на 995	Объем на 990	Объем на 985	Объем на 950
Кол-во 0,1 м Na_2CO_3 , мкл	0	5	10	15	50

В каждый из этих растворов добавить по 10 мкг антител, перемешать, через 20 мин сравнить цвет. Первая пробирка, в которой не наблюдается изменения окраски относительно исходного цвета коллоидного золота, указывает на количество карбоната натрия, которое следует добавлять при конъюгации для достижения рН изоэлектрической точки.

Приготовление конъюгата антител с коллоидным золотом.

К требуемому количеству коллоидного золота добавить 0,1М раствор карбоната натрия, необходимый для достижения рН изоэлектрической точки для данного вида антител (антигенов). Перемешивать на магнитной мешалке в течение 3 минут. Добавить антитела (антигены) из расчета 10 мкг на 1 мл коллоидного золота. Перемешивать на магнитной мешалке в течении 15 минут. Добавить 10% раствор БСА из расчета 0,02 мл на 1 мл коллоидного золота. Перемешивать на магнитной мешалке в течении 10 минут. Центрифугировать при 12000g, 4°C в течение 30 минут. Осторожно пипеткой удалить надосадочную жидкость. Добавить деионизованную воду в количестве, равном изначальному количеству коллоидного золота, перемешать при помощи вортекса. Центрифугировать при 12000g, 40C в течение 30 минут. Осторожно пипеткой удалить надосадочную жидкость. Добавить деионизованную воду в количестве, в 20 раз меньшем изначального количества коллоидного золота. Полученный конъюгат перенести во флакон из темного стекла. На спектрофотометре измерить оптическую плотность конъюгата при разведении его деионизованной водой 1:100 относительно воды при длине волны, равной максимуму поглощения данной серии коллоидного золота. В качестве консерванта добавить азид натрия до 0,1 % к объему конъюгата. Хранить конъюгаты с коллоидным золотом при температуре 2 – 8°C в защищенном от света месте не более 12 месяцев от даты изготовления.

2. Подготовка мембраны для образца.

Приготовление буферного раствора для пропитки мембраны для образца

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Трис-оксиметил аминметан	1%
Трис оксиметил аминметан гидрохлорид	0,1%
Казеинат натриевая соль	1%
Поливинилпирролидон	0,1%
Азид натрия (раствор 10%)	0,2%
Твин-20 (раствор 10%)	0,1%
Мышинные антитела к эритроцитам человека	0,2мг/мл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $8,0 \pm 0,1$. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1,0 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

2.2. Обработка мембраны для образца

Работа с мембранами проводится в перчатках. Необходимо выложить лист мембраны размером 20,4*25,4 см в чистый и сухой пластиковый лоток с размером по дну не более 25*30 см. Мерным цилиндром отмерить 50 мл буферного раствора для пропитки мембраны для образца и влить в лоток. Небольшим покачиванием распределить буферный раствор по всей поверхности мембраны в лотке. Качать на шейкере 15 минут с каждой стороны (режим 13 оборотов в минуту). Переворачивать, используя металлические или пластиковые пинцеты. Повторить операцию для необходимого количества мембран.

2.3. Сушка мембраны для образца

Сушка мембран для образца осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

2.4. Нарезка мембраны для образца

Необходимое количество пропитанных мембран для образца сложить в стопку и поместить в автоматический резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран для образца по 1,9 см. Произвести нарезку мембран. Нарезанные

мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

3. Подготовка мембраны для конъюгата.

Приготовление буферного раствора для пропитки мембраны для конъюгата

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Натрий гидрофосфат безводный	1,5%
Поливиниловый спирт	0,5 %

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку с нагревом и перемешивать в течение 1-2 ч. Охладить полученный раствор до комнатной температуры. Взвесить и добавить в полученный раствор следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Альбумин бычий сывороточный	1%
Тритон-Х-100	0,1%
Азид натрия (раствор 10%)	2%

Измерить рН полученного раствора. Значение рН должно соответствовать $7,4 \pm 0,1$. При необходимости провести корректировку рН. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

Хранить раствор для пропитки мембран при температуре 2-8°C в течение 14 суток.

3.1. Обработка мембраны для конъюгата

Работа с мембранами проводится в перчатках. Необходимо выложить мембрану в чистый и сухой лоток. Мерным цилиндром отмерить 20 мл буферного раствора для пропитки мембран и влить в лоток. Небольшим покачиванием распределить буферный раствор по всей поверхности мембраны в лотке. Качать на шейкере 15 минут с каждой стороны (режим 13 оборотов в минуту).

Повторить операцию для необходимого количества мембран.

3.2. Сушка мембраны для конъюгата

Сушка мембран для образца осуществляют при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

3.3. Нарезка мембраны для конъюгата

Необходимое количество мембран сложить в стопку и поместить в резак. Произвести нарезку мембран по 0,9 см.

4. Подготовка мембраны для адсорбции

Нарезка мембраны для адсорбции

Мембраны для адсорбции не требуют обработки. Необходимое количество мембран сложить в стопку и поместить в резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран. Произвести нарезку мембран по 1,5 см. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

5. Приготовление рабочих разведений антител

5.1. Приготовление буферного раствора для нанесения тестовой и контрольной линий

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 200 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 100 мл раствора для сорбции)
Натрий гидрофосфат безводный	0,116 г
Натрий дигидрофосфат дигидрат	0,032 г
Натрий хлористый	0,9 г
Азид натрия (раствор 10%)	200 мкл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,4 \pm 0,1$. Хранить раствор для сорбции при температуре 2-8°C в течение 14 суток.

5.2. Приготовление рабочего раствора антител для сорбции тестовой линии

В буфер для сорбции внести моноклональные антитела к нуклеопротеину SARS-CoV-2 в концентрации 1, 5 мг/мл. Тщательно перемешать полученные растворы на вортексе или магнитной мешалке в зависимости от объема серии.

5.3. Приготовление рабочего раствора антител для сорбции контрольной линии

В буфер для сорбции контрольной линии внести козьи антитела к IgG кролика до конечной концентрации 0,5 мг/мл. Объем раствора и антител рассчитать, исходя из концентрации, указанной в спецификации к реагенту. Тщательно перемешать полученный раствор на вортексе или магнитной мешалке в зависимости от объема серии.

6. Сорбция антител

Сорбцию проводят с помощью диспенсера «AUTOKUN», HGS510.

На подложку наклеить нитроцеллюлозную мембрану CN140, отклеив защитный слой с этой зоны (см схему 1). На каждую подложку наносится рабочий раствор антител для тестовой и контрольной линии в объеме 2 мкл на см.

6.1. Сушка подложек с нанесенными антителами.

Сушка подложки с нанесенными антителами осуществляют при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные подложки хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте.

7. Приготовление рабочего разведения конъюгата

Приготовление буферного раствора для разведения конъюгата.

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 200 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 100 мл раствора для сорбции)
Трис оксиметил аминотетан гидрохлорид	10,096 г
Трис оксиметил аминотетан	3,174 г
Альбумин бычий сывороточный	1 г
Азид натрия (раствор 10%)	200 мкл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $8 \pm 0,1$.

Взвесить и добавить Сахарозу 20%, трегалозу 5%. Перемешивать раствор на магнитной мешалке до полного растворения компонентов. Разбавить раствор очищенной водой до конечного объема 100 мл.

7.1. Приготовление рабочего раствора конъюгата

Определить рабочее разведение конъюгата. В качестве рабочего разведения принимается то, при котором достигаются устойчивые результаты со стандартным образцом предприятия СОП-312 «Стандартная панель отрицательных образцов предприятия содержащих и не содержащих антиген коронавируса SARS-CoV-2». В соответствии с заданием на приготовление конъюгата и результатами определения рабочего разведения рассчитать количество, необходимое для сорбции.

Расчет произвести по формуле:

$\frac{OD \times V}{ОП}$

ОП — , где

OD – рабочее разведение конъюгата;

V – количество рабочего разведения конъюгата необходимое для сорбции;

ОП - оптическая плотность конъюгата указанная в паспорте.

В буфер для разведения конъюгата внести конъюгаты антигенов (антител) с НКЗ.

7.2. Сорбция конъюгата

Нанесение конъюгата

Обработанные листы мембран выложить в чистый и сухой лоток размером не более 25*30 см по дну так, чтобы лист мембраны строго горизонтально лежал на дне лотка. Нанести на каждый лист необходимый объем конъюгата из расчёта 20 мкл на см². Качать на шейкере 10 минут, не переворачивая (режим 13 оборотов в минуту).

7.3. Сушка и нарезка нанесенного конъюгата

Сушка листов с нанесенным конъюгатом осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны с нанесенным конъюгатом хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте. Необходимое количество пропитанных мембран для конъюгата (не более 20 шт) сложить в стопку и поместить в резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран для конъюгата по 0,9 см. Произвести нарезку мембран. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте.

8. Сборка и нарезка иммуносорбента (мастершита)

Сборка мастершита осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%. Для сборки мастершита использовать предварительно обработанные (при необходимости) и нарезанные мембраны. С подложки с наклеенной мембраной CN140 снять (отклеить) защитный слой в зоне мембраны для адсорбции (см. схему 1). Наклеить полоску мембраны для адсорбции, выровняв ее по наружному краю с краем подложки. При этом на противоположном крае образуется нахлест на CN140 1-2 мм. Далее освободить от защитного слоя зону конъюгата (см. схему 1), наклеить мембрану с конъюгатом, выровняв ее по нижнему краю со стороны зоны для образца, при этом на противоположном крае образуется нахлест на CN140 1-2 мм. В последнюю очередь освободить подложку от оставшегося защитного слоя в нижней зоне и наклеить мембрану для образца, выровняв ее по нижнему краю с краем подложки.

Сборка мастершита состоит из:

- Мембрана для адсорбции;*
- Нитроцеллюлозная мембрана с нанесенными тестовой и контрольной линиями;*
- Мембрана с нанесенным конъюгатом;*
- Мембрана для образца, обработанная буферным раствором.*

Произвести нарезку собранного мастершита на тест-полоски по 4 мм на высокоскоростном резаке HGS210, «AUTOKUN». Выбрать нужную программу для нарезки тест-полосок (ширина тест-полоски 4 мм).

9. Приготовление буферного раствора для разведения образцов.

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 1000 мл раствора для пропитки)
Трис-оксиметил аминотетан	0,61 г
Трис оксиметил аминотетан гидрохлорид	6,94 г
Азид натрия 10-% раствор	9 мл
БСА	1г

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить рН полученного раствора. Значение рН должно соответствовать $7,2 \pm 0,1$. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1,0 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

Сырье состоит из моноклональных антител к антигену N SARS-CoV-2, иммуноглобулинов козы к IgG кролика, IgG кролика, мышинных моноклональных антител. На рис. 1 представлен вид тест-полоски для ИХА

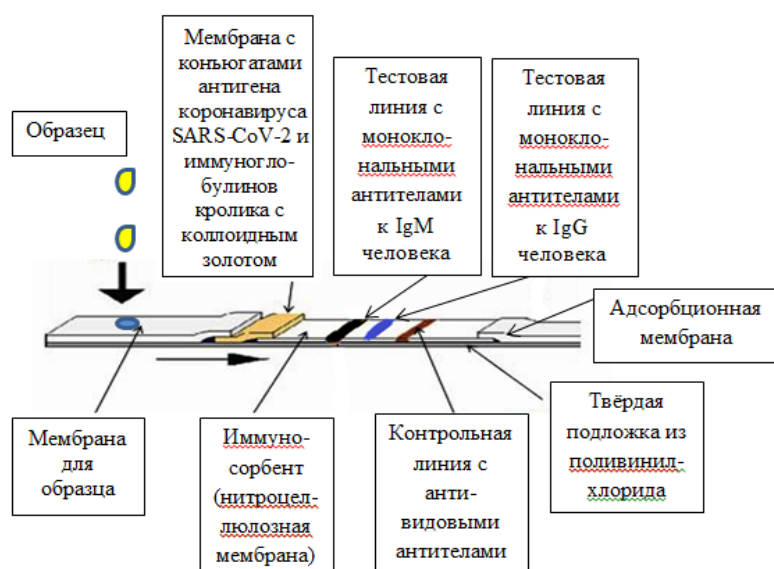


Рис. 1. Устройство готовой тест-полоски

ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV-2 В ОБРАЗЦАХ СЛЮНЫ ЧЕЛОВЕКА» «ИХА-SARS- COV-2-AG SALIVA»

1. Приготовления коллоидного золота

Приготовление раствора цитрата натрия: 0,2300 г цитрата натрия развести в 10 мл деионизованной воды.

Приготовление раствора хлорида золота: 0,1 г хлорида золота (III) развести в 10 мл деионизованной воды.

Приготовление коллоидного золота: 500 мл деионизованной воды поместить в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, поставить на магнитную мешалку со скоростью 700 об/мин и нагреть до температуры 96-98⁰С. Контроль температуры вести по ртутному термометру. Внести 10 мл раствора хлорида золота (III). Довести температуру до 96-98⁰С. Контроль температуры вести по ртутному термометру. Внести 10 мл раствора цитрата натрия (одной порцией), перемешивать 8 минут. Снять колбу с коллоидным золотом с мешалки, дать остыть до комнатной. На спектрофотометре снять спектр поглощения в диапазоне от 450 нм до 620 нм с шагом в 1 нм относительно воздуха, определить максимум поглощения. Для снятия спектра коллоидное золото развести деионизованной водой 1:10. Хранить коллоидное золото при температуре 2 – 8⁰С в защищенном от света месте не более 6 месяцев от даты изготовления.

1.1. Приготовление конъюгата антител с НКЗ.

Приготовление 0,1 М раствора карбоната натрия: 1,059 г карбоната натрия развести в 100 мл деионизованной воды.

Определение рН изoeлектрической точки антигенов: В эппендорфах приготовить ряд растворов коллоидного золота с добавлением различного количества 0,1М карбоната натрия по Табл. 3.

Таблица 3

Расчет приготовления растворов коллоидного золота

Кол-во коллоидного золота, мкл	Объем на 1000	Объем на 995	Объем на 990	Объем на 985	Объем на 950
Кол-во 0,1 м Na ₂ CO ₃ ,мкл	0	5	10	15	50

В каждый из этих растворов добавить по 10 мкг антител, перемешать, через 20 мин сравнить цвет. Первая пробирка, в которой не наблюдается изменения окраски относительно исходного цвета коллоидного золота, указывает на количество карбоната натрия, которое следует добавлять при конъюгации для достижения рН изоэлектрической точки.

Приготовление конъюгата антител с коллоидным золотом.

К требуемому количеству коллоидного золота добавить 0,1М раствор карбоната натрия, необходимый для достижения рН изоэлектрической точки для данного вида антител (антигенов). Перемешивать на магнитной мешалке в течение 3 минут. Добавить антитела (антигены) из расчета 10 мкг на 1 мл коллоидного золота. Перемешивать на магнитной мешалке в течении 15 минут. Добавить 10% раствор БСА из расчета 0,02 мл на 1 мл коллоидного золота. Перемешивать на магнитной мешалке в течении 10 минут. Центрифугировать при 12000g, 4⁰С в течение 30 минут. Осторожно пипеткой удалить надосадочную жидкость. Добавить деионизованную воду в количестве, равном изначальному количеству коллоидного золота, перемешать при помощи вортекса. Центрифугировать при 12000g, 40С в течение 30 минут. Осторожно пипеткой удалить надосадочную жидкость. Добавить деионизованную воду в количестве, в 20 раз меньшем изначального количества коллоидного золота. Полученный конъюгат перенести во флакон из темного стекла. На спектрофотометре измерить оптическую плотность конъюгата при разведении его деионизованной водой 1:100 относительно воды при длине волны, равной максимуму поглощения данной серии коллоидного золота. В качестве консерванта добавить азид натрия до 0,1 % к объему конъюгата. Хранить конъюгаты с коллоидным золотом при температуре 2 – 8⁰С в защищенном от света месте не более 12 месяцев от даты изготовления.

2. Подготовка мембраны для образца.

Приготовление буферного раствора для пропитки мембраны для образца

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Трис-оксиметил аминотетан	1%
Трис оксиметил аминотетан гидрохлорид	0,1%
Казеинат натриевая соль	1%
Поливинилпирролидон	0,1%
Азид натрия (раствор 10%)	0,2%
Твин-20 (раствор 10%)	0,1%
Мышиные антитела к эритроцитам человека	0,2мг/мл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $8,0 \pm 0,1$. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1,0 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

2.2. Обработка мембраны для образца

Работа с мембранами проводится в перчатках. Необходимо выложить лист мембраны размером 20,4*25,4 см в чистый и сухой пластиковый лоток с размером по дну не более 25*30 см. Мерным цилиндром отмерить 50 мл буферного раствора для пропитки мембраны для образца и влить в лоток. Небольшим покачиванием распределить буферный раствор по всей поверхности мембраны в лотке. Качать на шейкере 15 минут с каждой стороны (режим 13 оборотов в минуту). Переворачивать, используя металлические или пластиковые пинцеты. Повторить операцию для необходимого количества мембран.

2.3. Сушка мембраны для образца

Сушка мембран для образца осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

2.4. Нарезка мембраны для образца

Необходимое количество пропитанных мембран для образца сложить в стопку и поместить в автоматический резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран для образца по 1,9 см. Произвести нарезку мембран. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

3. Подготовка мембраны для конъюгата.

Приготовление буферного раствора для пропитки мембраны для конъюгата

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Натрий гидрофосфат безводный	1,5%
Поливиниловый спирт	0,5 %

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку с нагревом и перемешивать в течение 1-2 ч. Охладить полученный раствор до комнатной температуры. Взвесить и добавить в полученный раствор следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Альбумин бычий сывороточный	0,5%
Тритон-X-100	0,1%
Азид натрия (раствор 10%)	2%

Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,4 \pm 0,1$. При необходимости провести корректировку pH. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

Хранить раствор для пропитки мембран при температуре 2-8°C в течение 14 суток.

3.1. Обработка мембраны для конъюгата

Работа с мембранами проводится в перчатках. Необходимо выложить мембрану в чистый и сухой лоток. Мерным цилиндром отмерить 20 мл буферного раствора для пропитки мембран и влить в лоток. Небольшим покачиванием распределить буферный раствор по всей поверхности мембраны в лотке. Качать на шейкере 15 минут с каждой стороны (режим 13 оборотов в минуту).

Повторить операцию для необходимого количества мембран.

3.2. Сушка мембраны для конъюгата

Сушка мембран для образца осуществляют при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

3.3. Нарезка мембраны для конъюгата

Необходимое количество мембран сложить в стопку и поместить в резак. Произвести нарезку мембран по 0,9 см.

4. Подготовка мембраны для адсорбции

Нарезка мембраны для адсорбции

Мембраны для адсорбции не требуют обработки. Необходимое количество мембран сложить в стопку и поместить в резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран. Произвести нарезку мембран по 1,5 см. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

5. Приготовление рабочих разведений антител

5.1. Приготовление буферного раствора для нанесения тестовой и контрольной линий

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 200 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 100 мл раствора для сорбции)
Натрий гидрофосфат безводный	0,116 г
Натрий дигидрофосфат дигидрат	0,032 г
Натрий хлористый	0,9 г
Азид натрия (раствор 10%)	200 мкл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,4 \pm 0,1$. Хранить раствор для сорбции при температуре 2-8°C в течение 14 суток.

5.2. Приготовление рабочего раствора антител для сорбции тестовой линии

В буфер для сорбции внести моноклональные антитела к нуклеопротеину SARS-CoV-2 в концентрации 2 мг/мл. Тщательно перемешать полученные растворы на вортексе или магнитной мешалке в зависимости от объема серии.

5.3. Приготовление рабочего раствора антител для сорбции контрольной линии

В буфер для сорбции контрольной линии внести козы антитела к IgG кролика до конечной концентрации 0,5 мг/мл. Объем раствора и антител рассчитать, исходя из концентрации, указанной в спецификации к реагенту. Тщательно перемешать полученный раствор на вортексе или магнитной мешалке в зависимости от объема серии.

6. Сорбция антител

Сорбцию проводят с помощью диспенсера «AUTOKUN», HGS510.

На подложку наклеить нитроцеллюлозную мембрану CN140, отклеив защитный слой с этой зоны (см схему 1). На каждую подложку наносится рабочий раствор антител для тестовой и контрольной линии в объеме 2 мкл на см.

6.1. Сушка подложек с нанесенными антителами.

Сушка подложки с нанесенными антителами осуществляют при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные подложки хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте.

7. Приготовление рабочего разведения конъюгата

Приготовление буферного раствора для разведения конъюгата.

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 200 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 100 мл раствора для сорбции)
Трис оксиметил аминметан гидрохлорид	10,096 г
Трис оксиметил аминметан	3,174 г
Альбумин бычий сывороточный	1 г
Азид натрия (раствор 10%)	200 мкл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $8 \pm 0,1$.

Взвесить и добавить Сахарозу 20%, трегалозу 5%. Перемешивать раствор на магнитной мешалке до полного растворения компонентов. Разбавить раствор очищенной водой до конечного объема 100 мл.

7.1. Приготовление рабочего раствора конъюгата

Определить рабочее разведение конъюгата. В качестве рабочего разведения принимается то, при котором достигаются устойчивые результаты со стандартным образцом предприятия СОП-329 «Стандартная панель отрицательных образцов предприятия содержащих и не содержащих антиген коронавируса SARS-CoV-2». В соответствии с заданием на приготовление конъюгата и результатами определения рабочего разведения рассчитать количество, необходимое для сорбции.

Расчет произвести по формуле:

$$\frac{OD \times V}{OP}, \text{ где}$$

OD – рабочее разведение конъюгата;

V – количество рабочего разведения конъюгата необходимое для сорбции;

OP - оптическая плотность конъюгата указанная в паспорте.

В буфер для разведения конъюгата внести конъюгаты антигенов (антител) с НКЗ.

7.2. Сорбция конъюгата

Нанесение конъюгата

Обработанные листы мембран выложить в чистый и сухой лоток размером не более 25*30 см по дну так, чтобы лист мембраны строго горизонтально лежал на

дне лотка. Нанести на каждый лист необходимый объем конъюгата из расчёта 20 мкл на см². Качать на шейкере 10 минут, не переворачивая (режим 13 оборотов в минуту).

7.3. Сушка и нарезка нанесенного конъюгата

Сушка листов с нанесенным конъюгатом осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны с нанесенным конъюгатом хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте. Необходимое количество пропитанных мембран для конъюгата (не более 20 шт) сложить в стопку и поместить в резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран для конъюгата по 0,9 см. Произвести нарезку мембран. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте.

8. Сборка и нарезка иммуносорбента (мастершита)

Сборка мастершита осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%. Для сборки мастершита использовать предварительно обработанные (при необходимости) и нарезанные мембраны. С подложки с наклеенной мембраной CN140 снять (отклеить) защитный слой в зоне мембраны для адсорбции (см. схему 1). Наклеить полоску мембраны для адсорбции, выровняв ее по наружному краю с краем подложки. При этом на противоположном крае образуется нахлест на CN140 1-2 мм. Далее освободить от защитного слоя зону конъюгата (см. схему 1), наклеить мембрану с конъюгатом, выровняв ее по нижнему краю со стороны зоны для образца, при этом на противоположном крае образуется нахлест на CN140 1-2 мм. В последнюю очередь освободить подложку от оставшегося защитного слоя в нижней зоне и наклеить мембрану для образца, выровняв ее по нижнему краю с краем подложки. Схема сборки мастершита состоит из:

- Мембрана для адсорбции

- Нитроцеллюлозная мембрана с нанесенными тестовой и контрольной линиями

- Мембрана с нанесенным конъюгатом

- Мембрана для образца, обработанная буферным раствором

Произвести нарезку собранного мастершита на тест-полоски по 4 мм на высокоскоростном резаке HGS210, «AUTOKUN». Выбрать нужную программу для нарезки тест-полосок (ширина тест-полоски 4 мм).

9. Приготовление буферного раствора для разведения образцов.

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 1000 мл раствора для пропитки)
Трис-оксиметил аминметан	0,61 г
Трис оксиметил аминметан гидрохлорид	6,94 г
Азид натрия 10-% раствор	9 мл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,2 \pm 0,1$. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1,0 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л. Сырье специфическое содержит: моноклональные антитела к антигену N SARS-CoV-2, иммуноглобулины козы к IgG кролика, IgG кролика, мышинные моноклональные антитела. Устройство готовой тест-полоски представлено на Рис. 2

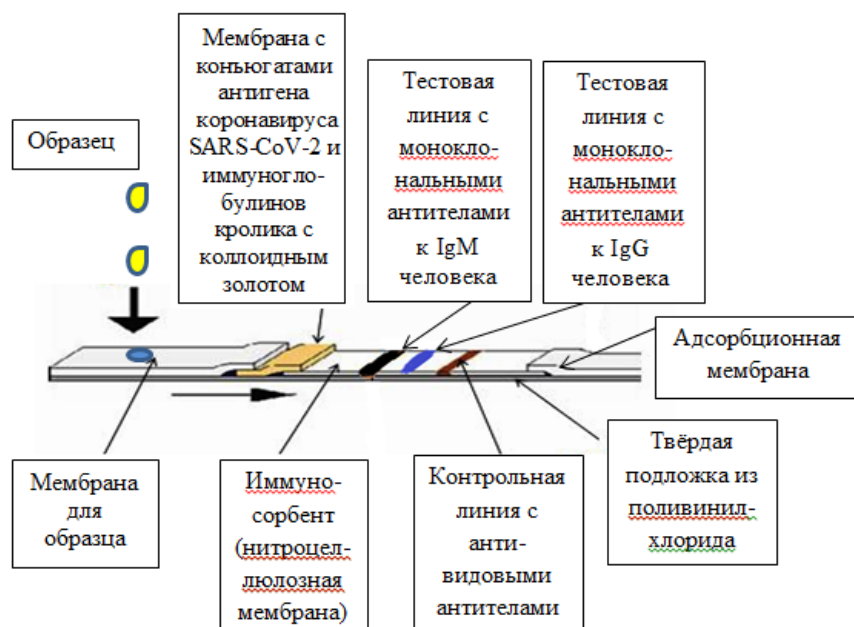


Рис. 2. Устройство готовой тест-полоски

**ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
«ТЕСТ-СИСТЕМА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ДЛЯ
КАЧЕСТВЕННОГО ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ
АНТИТЕЛ IGM/IGG К КОРОНАВИРУСУ SARS-COV-2 В
ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ (ПЛАЗМЫ) ИЛИ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ
ЧЕЛОВЕКА» «ИХА-COVID-19-IGM/IGG»**

1. Приготовления коллоидного золота

Приготовление раствора цитрата натрия: 0,2300 г цитрата натрия развести в 10 мл деионизованной воды.

Приготовление раствора хлорида золота: 0,1 г хлорида золота (III) развести в 10 мл деионизованной воды.

Приготовление коллоидного золота: 500 мл деионизованной воды поместить в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, поставить на магнитную мешалку со скоростью 700 об/мин и нагреть до температуры 96-98⁰С. Контроль температуры вести по ртутному термометру. Внести 10 мл раствора хлорида золота (III). Довести температуру до 96-98⁰С. Контроль температуры вести по ртутному термометру. Внести 10 мл раствора цитрата натрия (одной порцией), перемешивать 8 минут. Снять колбу с коллоидным золотом с мешалки, дать остыть до комнатной. На спектрофотометре снять спектр поглощения в диапазоне от 450 нм до 620 нм с шагом в 1 нм относительно воздуха, определить максимум поглощения. Для снятия спектра коллоидное золото развести деионизованной водой 1:10. Хранить коллоидное золото при температуре 2 – 8⁰С в защищенном от света месте не более 6 месяцев от даты изготовления.

1.1. Приготовление конъюгата антигенов с НКЗ.

Приготовление 0,1 М раствора карбоната натрия: 1,059 г карбоната натрия развести в 100 мл деионизованной воды.

Определение рН изоэлектрической точки антигенов: В эппендорфах приготовить ряд растворов коллоидного золота с добавлением различного количества 0,1М карбоната натрия, по табл. 4:

Расчет приготовления растворов коллоидного золота

Кол-во коллоидного золота, мкл	Объем на 1000	Объем на 995	Объем на 990	Объем на 985	Объем на 950
Кол-во 0,1 м Na_2CO_3 , мкл	0	5	10	15	50

В каждый из этих растворов добавить по 12-18 мкг антигенов 9 или антител, перемешать, через 20 мин сравнить цвет. Первая пробирка, в которой не наблюдается изменения окраски относительно исходного цвета коллоидного золота, указывает на количество карбоната натрия, которое следует добавлять при конъюгации для достижения рН изоэлектрической точки.

Приготовление конъюгата антител (антигенов) с коллоидным золотом.

К требуемому количеству коллоидного золота добавить 0,1М раствор карбоната натрия, необходимый для достижения рН изоэлектрической точки для данного вида антител (антигенов). Перемешивать на магнитной мешалке в течение 3 минут. Добавить антитела (антигены) из расчета 12-18 мкг на 1 мл коллоидного золота. Перемешивать на магнитной мешалке в течении 15 минут. Добавить 10% раствор БСА из расчета 0,02 мл на 1 мл коллоидного золота. Перемешивать на магнитной мешалке в течении 10 минут. Центрифугировать при 12000g, 4°C в течение 30 минут. Осторожно пипеткой удалить надосадочную жидкость. Добавить деионизованную воду в количестве, равном изначальному количеству коллоидного золота, перемешать при помощи вортекса. Центрифугировать при 12000g, 40C в течение 30 минут. Осторожно пипеткой удалить надосадочную жидкость. Добавить деионизованную воду в количестве, в 20 раз меньшем изначального количества коллоидного золота. Полученный конъюгат перенести во флакон из темного стекла. На спектрофотометре измерить оптическую плотность конъюгата при разведении его деионизованной водой 1:100 относительно воды при длине волны, равной максимуму поглощения данной серии коллоидного золота. В качестве консерванта добавить азид натрия до 0,1 % к объему конъюгата. Хранить конъюгаты с коллоидным золотом при температуре 2 – 8°C в защищенном от света месте не более 12 месяцев от даты изготовления.

2. Подготовка мембраны для образца.

Приготовление буферного раствора для пропитки мембраны для образца

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Трис-оксиметил аминотетан	1%
Трис оксиметил аминотетан гидрохлорид	0,1%
Казеинат натрия соль	1%
Поливинилпирролидон	0,1%
Азид натрия (раствор 10%)	0,2%
Твин-20 (раствор 10%)	0,1%
Мышиные антитела к эритроцитам человека	0,2мг/мл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить рН полученного раствора. Значение рН должно соответствовать $8,0 \pm 0,1$. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1,0 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

2.2. Обработка мембраны для образца

Работа с мембранами проводится в перчатках. Необходимо выложить лист мембраны размером 20,4*25,4 см в чистый и сухой пластиковый лоток с размером по дну не более 25*30 см. Мерным цилиндром отмерить 50 мл буферного раствора для пропитки мембраны для образца и влить в лоток. Небольшим покачиванием распределить буферный раствор по всей поверхности мембраны в лотке. Качать на шейкере 15 минут с каждой стороны (режим 13 оборотов в минуту). Переворачивать, используя металлические или пластиковые пинцеты. Повторить операцию для необходимого количества мембран.

2.3. Сушка мембраны для образца

Сушка мембран для образца осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

2.4. Нарезка мембраны для образца

Необходимое количество пропитанных мембран для образца сложить в стопку и поместить в автоматический резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран для образца по 1,9 см. Произвести нарезку мембран. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

3. Подготовка мембраны для конъюгата.

Приготовление буферного раствора для пропитки мембраны для конъюгата

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Натрий гидрофосфат безводный	1,5%
Поливиниловый спирт	0,5 %

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку с нагревом и перемешивать в течение 1-2 ч. Охладить полученный раствор до комнатной температуры. Взвесить и добавить в полученный раствор следующие компоненты:

Наименование компонента	Концентрация
Альбумин бычий сывороточный	1%
Тритон-X-100	0,1%
Азид натрия (раствор 10%)	2%

Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,4 \pm 0,1$. При необходимости провести корректировку pH. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л.

Хранить раствор для пропитки мембран при температуре 2-8°C в течение 14 суток.

3.1. Обработка мембраны для конъюгата

Работа с мембранами проводится в перчатках. Необходимо выложить мембрану в чистый и сухой лоток. Мерным цилиндром отмерить 20 мл буферного раствора для пропитки мембран и влить в лоток. Небольшим покачиванием распределить буферный раствор по всей поверхности мембраны в лотке. Качать на шейкере 15 минут с каждой стороны (режим 13 оборотов в минуту).

Повторить операцию для необходимого количества мембран.

3.2. Сушка мембраны для конъюгата

Сушка мембран для образца осуществляют при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

3.3. Нарезка мембраны для конъюгата

Необходимое количество мембран сложить в стопку и поместить в резак. Произвести нарезку мембран по 0,9 см.

4. Подготовка мембраны для адсорбции

Нарезка мембраны для адсорбции

Мембраны для адсорбции не требуют обработки. Необходимое количество мембран сложить в стопку и поместить в резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран. Произвести нарезку мембран по 1,5 см. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%.

5. Приготовления рабочих разведений антител

5.1. Приготовление буферного раствора для нанесения тестовой и контрольной линий

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 200 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 100 мл раствора для сорбции)
Натрий гидрофосфат безводный	0,116 г
Натрий дигидрофосфат дигидрат	0,032 г
Натрий хлористый	0,9 г
Азид натрия (раствор 10%)	200 мкл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить pH полученного раствора. Значение pH должно соответствовать $7,4 \pm 0,1$. Хранить раствор для сорбции при температуре 2-8°C в течение 14 суток.

5.2. Приготовление рабочего раствора антител для сорбции тестовой линии

В буфер для сорбции внести моноклональные антитела к IgM, IgG человека в концентрации 0, 5 мг/мл. Тщательно перемешать полученные растворы на вортексе или магнитной мешалке в зависимости от объема серии.

5.3. Приготовление рабочего раствора антител для сорбции контрольной линии

В буфер для сорбции контрольной линии внести козьи антитела к IgG кролика до конечной концентрации 0,5 мг/мл. Объем раствора и антител рассчитать, исходя из концентрации, указанной в спецификации к реагенту. Тщательно перемешать полученный раствор на вортексе или магнитной мешалке в зависимости от объема серии.

6. Сорбция антител

Сорбцию проводят с помощью диспенсера «AUTOKUN», HGS510.

На подложку наклеить нитроцеллюлозную мембрану CN140, отклеив защитный слой с этой зоны (см схему 1). На каждую подложку наносится

рабочий раствор антител для тестовой и контрольной линии в объеме 1 мкл на см.

6.1. Сушка подложек с нанесенными антителами.

Сушка подложки с нанесенными антителами осуществляют при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные подложки хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте.

7. Приготовление рабочего разведения конъюгата

Приготовление буферного раствора для разведения конъюгата.

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 200 мл следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 100 мл раствора для сорбции)
Трис оксиметил аминметан гидрохлорид	10,096 г
Трис оксиметил аминметан	3,174 г
Альбумин бычий сывороточный	1 г
Азид натрия (раствор 10%)	200 мкл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 90 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить рН полученного раствора. Значение рН должно соответствовать $8 \pm 0,1$.

Взвесить и добавить Сахарозу 20%, трегалозу 5%. Перемешивать раствор на магнитной мешалке до полного растворения компонентов. Разбавить раствор очищенной водой до конечного объема 100 мл.

7.1. Приготовление рабочего раствора конъюгата

Определить рабочее разведение конъюгата. В качестве рабочего разведения принимается то, при котором достигаются устойчивые результаты со стандартным образцом предприятия СОП-300 «Стандартная панель отрицательных образцов предприятия содержащих и не содержащих антитела к коронавирусу SARS-CoV-2». В соответствии с заданием на приготовление конъюгата и результатами определения рабочего разведения рассчитать количество, необходимое для сорбции.

Расчет произвести по формуле:

$$\frac{OD \times V}{OP}$$

ОП , где

OD – рабочее разведение конъюгата;

V – количество рабочего разведения конъюгата необходимое для сорбции;

ОП - оптическая плотность конъюгата указанная в паспорте.

В буфер для разведения конъюгата внести конъюгаты антигенов (антител) с НКЗ.

7.2. Сорбция конъюгата

Нанесение конъюгата

Обработанные листы мембран выложить в чистый и сухой лоток размером не более 25*30 см по дну так, чтобы лист мембраны строго горизонтально лежал на дне лотка. Нанести на каждый лист необходимый объем конъюгата из расчёта 14 мкл на см². Качать на шейкере 10 минут, не переворачивая (режим 13 оборотов в минуту).

7.3. Сушка и нарезка нанесенного конъюгата

Сушка листов с нанесенным конъюгатом осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в течение 24 часов. Высушенные мембраны с нанесенным конъюгатом хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте. Необходимое количество пропитанных мембран для конъюгата (не более 20 шт) сложить в стопку и поместить в резак. Выбрать нужную программу для нарезки мембран для конъюгата по 0,9 см. Произвести нарезку мембран. Нарезанные мембраны хранятся при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30% в бумажном конверте.

8. Сборка и нарезка иммуносорбента (мастершита)

Сборка мастершита осуществляется при комнатной температуре (18-25°C) и относительной влажности не более 30%. Для сборки мастершита использовать предварительно обработанные (при необходимости) и нарезанные мембраны. С подложки с наклеенной мембраной CN140 снять (отклеить) защитный слой в зоне мембраны для адсорбции (см. схему 1). Наклеить полоску мембраны для адсорбции, выровняв ее по наружному краю с краем подложки. При этом на противоположном крае образуется нахлест на CN140 1-2 мм. Далее освободить от защитного слоя зону конъюгата (см. схему 1), наклеить мембрану с конъюгатом, выровняв ее по нижнему краю со стороны зоны для образца, при этом на противоположном крае образуется нахлест на CN140 1-2 мм. В последнюю очередь освободить подложку от оставшегося защитного слоя в нижней зоне и наклеить мембрану для образца, выровняв ее по нижнему краю с краем подложки. Сборка мастершита состоит из:

- Мембрана для адсорбции

- Нитроцеллюлозная мембрана с нанесенными тестовой и контрольной линиями

- Мембрана с нанесенным конъюгатом

- Мембрана для образца, обработанная буферным раствором

Произвести нарезку собранного мастершита на тест-полоски по 4 мм на высокоскоростном резаке HGS210, «AUTOKUN». Выбрать нужную программу для нарезки тест-полосок (ширина тест-полоски 4 мм).

9. Приготовление буферного раствора для разведения образцов.

Взвесить и добавить в сухой мерный стакан объемом 1 л следующие компоненты:

Наименование компонента	Масса (в расчете на 1000 мл раствора для пропитки)
Трис-оксиметил аминметан	0,61 г
Трис оксиметил аминметан гидрохлорид	6,94 г
Азид натрия 10-% раствор	9 мл
Проклин 150	1 мл

С помощью мерного цилиндра отмерить и внести в стакан 900 мл очищенной воды. Поместить стакан на магнитную мешалку и перемешивать в течение 15 минут. Измерить рН полученного раствора. Значение рН должно соответствовать $7,2 \pm 0,1$. Полученный раствор перенести в цилиндр и разбавить очищенной водой до конечного объема 1,0 л. Перенести раствор в колбу объемом 1 л. Сырье состоит из следующих компонентов: антигены рекомбинантные вируса SARS-COV-2, мышинные моноклональные антитела к IgM человека, мышинные моноклональные антитела к IgG человека, иммуноглобулины козы к IgG кролика, IgG кролика, мышинные моноклональные антитела.

Внешний вид устройства представлено на Рис. 3.

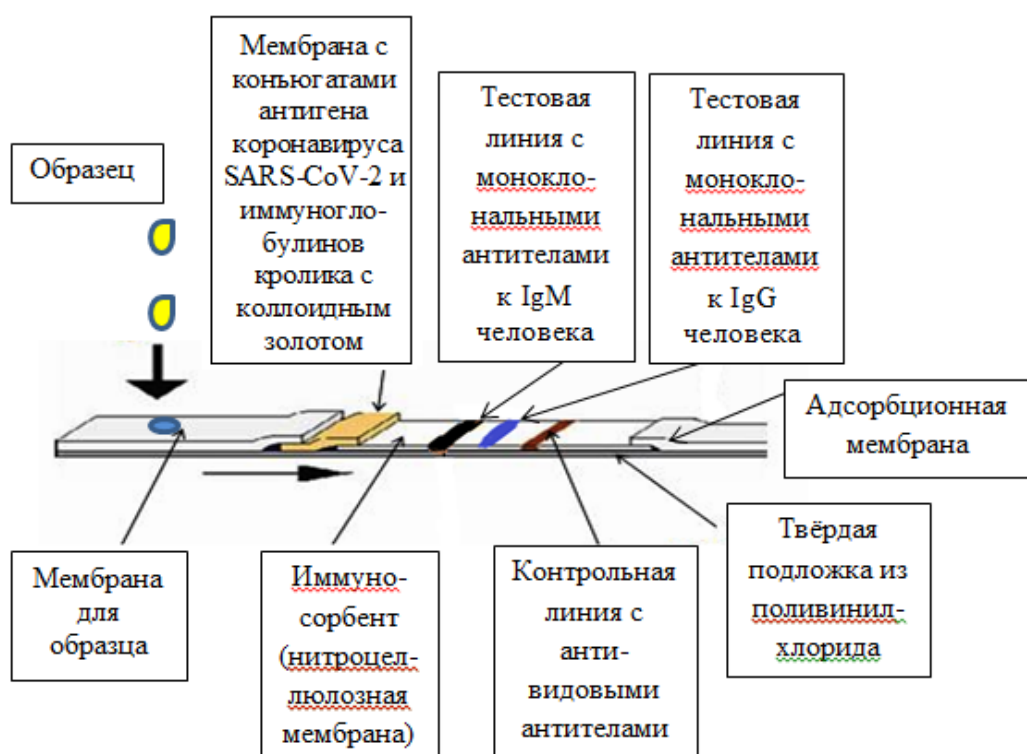


Рис. 3. Устройство готовой тест-полоски

СРАВНЕНИЕ С АНАЛОГОМ

Таблица 4.5.1

Сравнение Набора реагентов «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» и оценка эквивалентности сыворотки крови человека к плазме крови человека в сравнении с набором-аналогом.

№ образца	Пол/г.р.	Диагноз	Тип исследуемого образца	Набор реагентов «ИХА-COVID-19-IgM/IgG»		Набор реагентов «COVID-19 IGG/IGM» BIOZEK
				С.01 годен до 2022.05.	С.04 годен до 2022.05	С.BNCP40200082 годен до 2022.03
1	ж/ 1989	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	***	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
2	ж/ 1994	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
3	м/ 1969	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом с	+	+	+

			натрия			
			ЭДТА	+	+	+
4	м/ 1971	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
5	м/ 1986	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
6	м/ 1989	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
7	м/ 1981	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
8	м/ 1969	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в	Сыворотка	+	+	+
			Плазма с	+	+	+

		анамнезе (по ПЦР)	гепарином			
			Плазма с цитратом натрия	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
9	ж/ 1992	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма с гепарином	+	+	+
			Плазма с цитратом натрия	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
10	ж/ 1979	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма с гепарином	+	+	+
			Плазма с цитратом натрия	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
11	м/ 1976	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма с гепарином	+	+	+
			Плазма с цитратом натрия	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
12	м/ 1993	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма с гепарином	+	+	+
			Плазма с цитратом натрия	+	+	+

			ЭДТА	+	+	+
13	м/ 1958	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
14	м/ 1978	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
15	ж/ 1999	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
16	ж/ 1994	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
17	м/ 1957	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+

		ПЦР)	Плазма цитратом натрия	с	+	+	+
			ЭДТА		+	+	+
18	м/ 1950	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка		+	+	+
			Плазма гепарином	с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия	с	+	+	+
			ЭДТА		+	+	+
19	ж/ 1969	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка		+	+	+
			Плазма гепарином	с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия	с	+	+	+
			ЭДТА		+	+	+
20	м/ 1977	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка		+	+	+
			Плазма гепарином	с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия	с	+	+	+
			ЭДТА		+	+	+
21	м/ 1980	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка		+	+	+
			Плазма гепарином	с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия	с	+	+	+
			ЭДТА		+	+	+

22	ж/ 1985	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
23	ж/ 1993	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА			
24	ж/ 1987	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
25	ж/ 1986	Инфицирование коронавирусом SARS-CoV- 2 в анамнезе (по ПЦР)	Сыворотка	+	+	+
			Плазма гепарином с	+	+	+
			Плазма цитратом натрия с	+	+	+
			ЭДТА	+	+	+
1	м/ 1990	здоров	Сыворотка	-*	-	-
			Плазма гепарином с	-	-	-

			Плазма цитратом натрия	с	-	-	-
			ЭДТА		-	-	-
2	м/ 1988	здоров	Сыворотка		-	-	-
			Плазма гепарином	с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия	с	-	-	-
			ЭДТА		-	-	-
3	м/ 1970	здоров	Сыворотка		-	-	-
			Плазма гепарином	с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия	с	-	-	-
			ЭДТА		-	-	-
4	м/ 1971	здоров	Сыворотка		-	-	-
			Плазма гепарином	с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия	с	-	-	-
			ЭДТА		-	-	-
5	м/ 1999	здоров	Сыворотка		-	-	-
			Плазма гепарином	с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия	с	-	-	-
			ЭДТА		-	-	-

6	м/ 1982	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма гепарином с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия с	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
7	м/ 1991	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма гепарином с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия с	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
8	м/ 1960	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма гепарином с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия с	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
9	ж/ 1973	здоровая	Сыворотка	-	-	-
			Плазма гепарином с	-	-	-
			Плазма цитратом натрия с	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
10	ж/ 1983	здоровая	Сыворотка	-	-	-
			Плазма гепарином с	-	-	-
			Плазма цитратом с	-	-	-

			натрия			
			ЭДТА	-	-	-
11	м/ 1990	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
12	м/ 1984	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
13	м/ 1988	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
14	м/ 1975	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
15	м/ 1979	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с	-	-	-

			гепарином			
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
16	ж/ 1984	здоровая	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
17	м/ 1986	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
18	м/ 1975	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
19	м/ 1981	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-

			ЭДТА	-	-	-
20	ж/ 1974	здоровая	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
21	м/ 1961	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
22	м/ 1986	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
23	м/ 1952	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
24	ж/ 1985	здоровая	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-

			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-
25	м/ 1958	здоров	Сыворотка	-	-	-
			Плазма с гепарином	-	-	-
			Плазма с цитратом натрия	-	-	-
			ЭДТА	-	-	-

Патент. Способ одновременного дифференцированного определения специфических антител классов М и G к вирусу SARS-CoV-2 методом иммунохроматографии и устройство для его реализации.

Формула способа и устройства

Набор для выявления антител классов М и G к нуклеокапсиду (Nc) и рецептор-связывающему домену спайк белка коронавируса SARS - CoV -2, в образце биологической жидкости человека, характеризующаяся тем, что он содержит картридж с отверстием для внесения буферного раствора, отверстием для внесения образца, аналитическим окном для детекции результата, внутри которого размещена тест-полоска, состоящая из подложки, на поверхности которой последовательно расположены мембраны в следующем порядке: впитывающая мембрана для нанесения образца, мембрана для нанесения конъюгата с нанесёнными и высушенными конъюгатами рекомбинантного антигена коронавируса SARS-CoV-2, нитроцеллюлозная мембрана-иммуносорбент с нанесёнными тестовыми линиями мышинных моноклональных антител к IgM и IgG человека и контрольной линией с нанесёнными козьими антителами к IgG мыши, адсорбирующая мембрана, причем мембрану для образца пропитывают раствором трис-оксиметил аминаметан 1%, трис оксиметил аминаметан гидрохлорид 0,1%, казеинат натрия соль 1%, поливинилпирролидон 0,1%, азид натрия 2%, твин-20 1%, мышинные антитела к эритроцитам человека, мембрану для конъюгата пропитывают раствором натрий гидрофосфат безводный 1,5%, поливиниловый спирт 0,5 %, альбумин бычий сывороточный 1%, тритон-X-100 0,1%, азид натрия 2%.

Приложение 4.6.

Результаты внедрения ИХА-тестов

Выигранные аукционы по наборам «ИХА-SARS-CoV-2-Ag» в 2021г.

	Город	Организация	Дата	Кол-во тестов
1	Челябинск	ГКБ№1	19.03.2021	1600
2	Камышлов	ЦРБ	29.03.2021	2000
3	Кушва	ЦГБ	03.04.2021	880
4	Нижний Тагил	ПБ№7	13.04.2021	400
5	Нижняя Салда	ЦГБ	14.04.2021	500
6	Санкт-Петербург	НИИФ	15.04.2021	250
7	Сосновоборск	УБ	28.04.2021	500
8	Керчь	ГБ 3	14.05.2021	850
9	Всеволожск	ВКМБ	18.05.2021	4000
10	Екатеринбург	ПБ№6	21.06.2021	300
11	Тамбов	ТИКБ	17.06.2021	1000
12	Волжский	НМИЦТиИО им. Шумакова	21.07.2021	100
13	Чита	Петровск-Забайкальская ЦРБ	31.08.2021	1250
14	Москва	ЦК	01.10.2021	7000
15	Якутск	ГБ №3	10.11.2022	6000
16	Иваново	МСЧ МВД	15.11.2021	1075
17	Калуга, Обнинск	НМИЦ	44511	1250

Выигранные аукционы по наборам «ИХА-SARS-CoV-2-Ag» в 2022г.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во тестов
1	Томск	РБ	17.01.2022	«ИХА-SARS-CoV-2-Ag»	21298
2	Кинель-Черкассы Самара	ЦРБ	06.10.2022	«ИХА-SARS-CoV-2-Ag»	200

**КОМПЛЕКТ РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» ДЛЯ
ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ПРЯМОЙ
ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**

Приложение 5.1

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ДЛЯ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ
«КОВИДЭК ДИРЕКТ» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА SARS-
COV-2 МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**

Штаммы из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США): *Streptococcus pneumoniae* (ATCC® 49619™), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, Strain Seattle 1945 (ATCC® 25923™), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 9027™), *Moraxella catarrhalis* (ATCC® 8193™), *Neisseria mucosa* (ATCC® 19693™), *Enterococcus faecalis* (ATCC® 19433™), *Mycoplasma pneumoniae*, Strain PI 1428 (ATCC® 29085™), *Chlamydophila pneumoniae*, Strain CM-1 (ATCC® VR-1360™), *Legionella pneumophila* subsp. *pneumophila*, Strain Philadelphia 1 (ATCC® 33152™), *Staphylococcus epidermidis*, FDA Strain PCI 1200 (ATCC® 12228™), *Bacillus cereus*, Strain FDA 5 (ATCC® 10702™), *Human Respiratory Syncytial Virus*, Strain 9320 (ATCC® VR-955™), *Human Respiratory Syncytial Virus*, Strain A-2 (ATCC® VR-1540™), *Human Parainfluenza Virus 1*, Strain C35 (ATCC® VR-94™), *Human Parainfluenza Virus 2*, Strain Greer (ATCC® VR-92™), *Human Parainfluenza Virus 3*, Strain C243 (ATCC® VR-93™), *Human Rhinovirus 17*, Strain 33342 (ATCC® VR-1663™), *Human Adenovirus 1*, Strain Adenoid 71 (ATCC® VR-1™), *Human Coronavirus*, Strain OC43 (ATCC® VR-1558™), *Human Coronavirus*, Strain 229E (ATCC® VR-740™), *Human Coxsackievirus B1*, Strain Conn-5 (ATCC® VR-28™), *Human Echovirus 4*, Strain Pesascek (ATCC® VR1734™), *Human Herpesvirus 1*, Strain HF (ATCC® VR-260™)

Биологический материал:

- получен из 7 регионов России: Белгородской, Ростовской, Томской, Московской, Курской, Владимирской, Ульяновкой областей с 2020 по 2021гг. У людей были клинические признаки ОРВИ.
- 229 образцов биологического материала (мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки) получен от пациентов с подтвержденным клиническим диагнозом COVID-19;

Единовременное секвенирование фрагментов амплификации с целью подтверждения специфичности образцов выполняли на базе ООО «Евроген» методом циклического секвенирования по Сэнгеру с набором ABI PRISM Big Dye™ Terminator v.1.1 («Applied Biosystems», США), с разработанными праймерами с использованием капиллярного автоматического секвенатора Applied Biosystems 3500XL Genetic Analyzer или Applied Biosystems 3130x1 Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США).

Экстракцию НК для сравнительных наборов проводили методом осаждения изопропанолом («Рибо-преп», Амписенс, Россия) и на микроцентрифужных колонках («QIAamp Viral RNA mini kit» и «QIAamp DNA mini kit», Qiagen, Германия)

Олигонуклеотиды. Анализ нуклеотидных последовательностей, представленных в базе данных GenBank, проводили с помощью программы VectorNTI Suite 9.0.0 (AlignX). Специфичность выбранных олигонуклеотидов изучали с помощью компьютерной программы BLAST on-line.

Контрольные образцы набора. Для конструирования рекомбинантных контролей использовали те же праймеры, что и для разработки тест-систем. Проводили клонирование кДНК в плазмиду pGEM-t. Копийность клонированных препаратов ДНК/кДНК оценивали методом лимитирующих разведений с использованием программы Quality.

ОЦЕНКА РАБОТОСПОСОБНОСТИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПРЯМОЙ ПЦР “КОВИДЭК ДИРЕКТ”

Результаты сравнительной детекции SARS-COV-2 и SARS-COV-2+ген человека

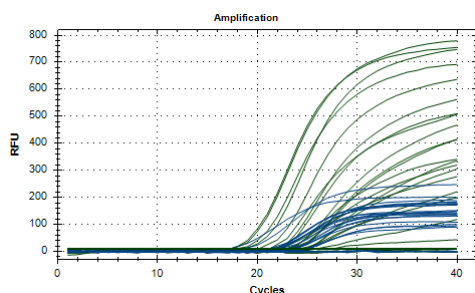


Рис. 1 Результаты детекции по двум каналам в прямой ПЦР в одной пробирке (SARS-COV-2 +ВКО)

Примечание: зеленые кривые – это выявления РНК коронавируса (специфика), синие кривые – это выявление РНК гена человека (ВКО)

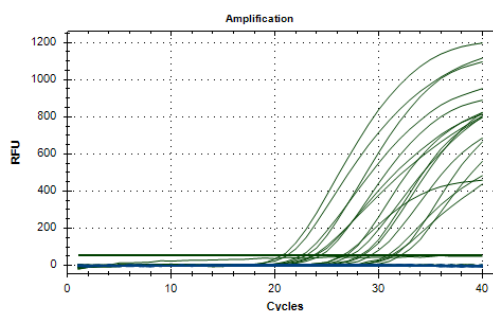


Рис. 2 Результаты детекции по одному каналу в прямой ПЦР в одной пробирке SARS-COV-2)

Результаты аналитической чувствительности набора реагентов «КовидЭк Директ» ЗАО «ЭКОлаб»

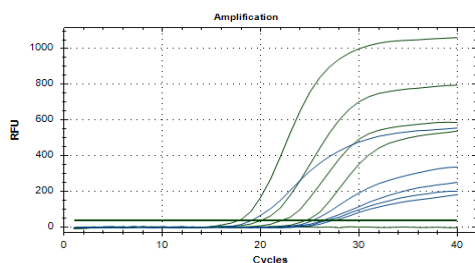


Рис.3 Данные титрования плазмидной конструкции гена ORF в носоглоточных мазках

Примечание: зеленые кривые – выявление генов SARS-COV-2, синие кривые – это выявление РНК гена человека (ВКО)

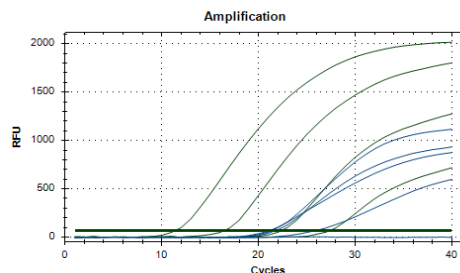


Рис.4 Данные титрования плазмидной конструкции гена N в носоглоточных мазках

Таблица 5.2.2

Результаты исследований влияния инактивации на носоглоточные мазки

Материал	Инактивация при 70 °С – в течение 5 минут		Без инактивации	
	ВКО	SARS-COV-2	ВКО	SARS-COV-2
Образец 1/1	25,0	20,5	25,1	20,6
Образец 1/2	25,3	20,5	25,4	20,7

Образец 1/3	26,2	21,9	26,4	22,0
Образец 1/4	26,7	24,9	26,9	24,8
Образец 1/5	25,7	26,3	26,2	26,6
Образец 1/6	27,6	23,1	26,9	23,1
Образец 1/7	28,9	25,4	28,4	25,3

Сигнал детекции ВКО

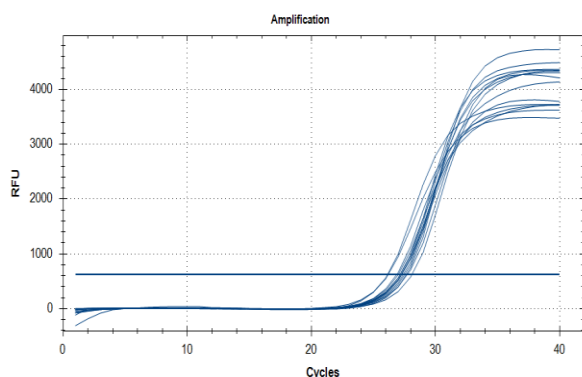


Рис 5 Результаты исследований влияния инактивации на носоглоточные мазки при выявлении гена человека (ВКО). 7 проб с инактивацией и 7 проб без инактивации

Сигнал детекции SARS-COV-2

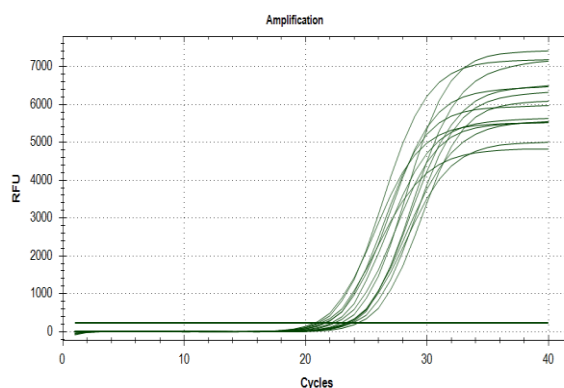


Рис 6 Результаты исследований влияния инактивации на носоглоточные мазки при выявлении SARS-COV-2 (специфика). 7 проб с инактивацией и 7 проб без.

Таблица 5.23

Данные сравнительного выявления РНК коронавируса SARS-COV-2 тремя наборами для ПЦР-РВ

Материал	КОЛИЧЕСТВО		РЕЗУЛЬТАТ		
			АмплиСенс® COVID-19-FL	«КовидЭк Директ ЭКОлаб»	РеалБест РНК SARS-CoV-2
Соскоб из носоглотки	100		100	100	100
Соскоб из/ротоглотки	100		100	100	98

Результаты детекции внутреннего контрольного образца с набором «КовидЭк Директ ЭКОлаб» и «АмплиСенс® COVID-19-FL»

«КовидЭк Директ ЭКОлаб»

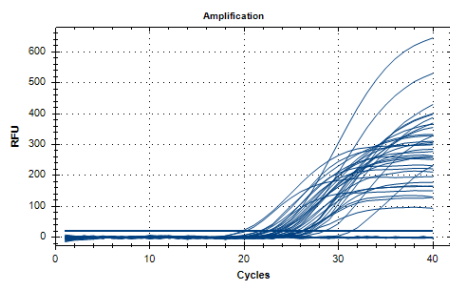


Рис 7. Выход кривых детекции и флюоресцирующий сигнал ВКО (ген человека). Наблюдается для каждой пробы свой.

«АмплиСенс® COVID-19-FL»

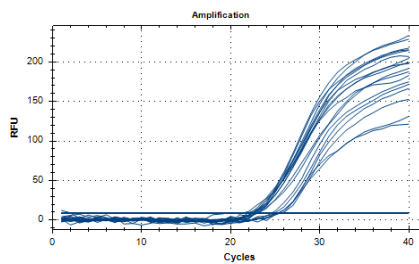


Рис 8. Выход кривых детекции и флюоресцирующий сигнал ВКО (искусственная конструкция). Наблюдаются одинаковыми во всех пробах.

СРАВНЕНИЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «КОВИДЭК ДИРЕКТ» С НАБОРАМИ, ПРЕДСТАВЛЕННЫМИ НА РЫНКЕ ПРЕДЛОЖЕНИЙ

Таблица 5.3.1.

Наборы реагентов различных фирм и стран производителей для диагностики SARS-CoV-2 в различном исполнении, июль 2021 г.

Организация держатель удостоверения, производитель медицинского изделия	Наименование медицинского изделия	Метод исполнения ПЦР	Биоматериал	Аналитическая и диагностическая чувствительность
ЗАО "ЭКОлаб" Ручной и автоматический вариант, Россия	Набор реагентов <i>«КовидЭк Директ»</i> для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени	Прямая ОТ-ПЦР- РВ	назо- и орофарингеальные мазки	1x10 ³ ГЭ/мл И 100%
ООО "Современные лабораторные технологии"	Набор реагентов для выделения РНК коронавируса SARS-CoV-2 из клинического материала на	Классическая ОТ-ПЦР в реальном времени	мазок рото/носоглоточный, кровь, фекалии	Нет данных

и", Россия	магнитных частицах "SLT-NAMg-SARS-96"	Магнитная адсорбция		
АО "Вектор-Бест", Россия	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени РеалБест РНК SARS-CoV-2		мазок со слизистой носа и задней стенки глотки, мокрота, бронхоальвеолярный лаваж	1x10 ³ ГЭ/мл И 100%
ЗАО "ЭКОлаб", Россия	Набор реагентов «КовидЭк Магнит» для выделения и выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени		мазок эпителиальных клеток, полученных из носа, носоглотки и/или ротоглотки	5x10 ² ГЭ/мл И 100 %
ООО "Биолабмикс", Россия	Набор реагентов для выделения РНК коронавируса SARS-CoV-2 из мазка/соскоба эпителиальных клеток на магнитных частицах "M-SARS-CoV-2-100"		мазок или соскоб эпителиальных клеток, полученных из носоглотки и/или ротоглотки	1,0x10 ⁴ ГЭ/мл И 100 %
ООО НПФ "Литех", Россия	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом изотермической амплификации с		мазок эпителиальных клеток, полученных из носа, носоглотки и/или ротоглотки	10 ⁴ ГЭ/мл И

	обратной транскрипцией IsoAmp SARS-CoV-2, Вариант исполнения: <i>IsoAmp SARS-CoV-2</i>	Петлевая изотермическая амплификация		100 %
ООО "ТестГен", Россия	Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 методом колориметрической петлевой изотермической амплификации <i>CoV-2-COLOR-test</i>		мазок эпителиальных клеток, полученных из носоглотки и/или ротоглотки	2,5x10 ⁴ ГЭ/мл И Нет данных
ООО "ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС", Россия	Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени в вариантах исполнения		мазок эпителиальных клеток, полученных из носоглотки и/или ротоглотки	1x10 ⁴ ГЭ/мл И 100 %
ЗАО "ЭКОлаб", Россия	Набор реагентов «КовидЭк Экстракт» для выделения и выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени	Классическая ОТ-ПЦР в реальном времени на основе преципитации	мазок эпителиальных клеток, полученных из носа, носоглотки и/или ротоглотки	1x10 ³ ГЭ/мл И 100%

OSANG Healthcare Co., Ltd., "ОСАНГ Хэлскеа Ко., Лтд.", республика Корея	Набор реагентов выявления РНК коронавирусов SARS/COVID-19 методом ПЦР GeneFinder COVID-19 RealAmp Plus Kit (IFMR-45)		мазок из носо- и ротоглотки, передней части носа и средней носовой раковины, бронхоальвеолярный лаваж и мокроты	1,8x10 ⁵ ГЭ/мл И 100%
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия	Набор реагентов для выявления и количественного определения РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР АмплиСенс® COVID-19-FL		мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, аспират из зева, бронхоальвеолярный лаваж /промывные воды бронхов, плазма крови, фекальный/ректальный мазок, аутопсийный материал	от 5x10 ² до 1x10 ³ ГЭ/мл (различный биологический материал)

Таблица 5.3.2.

Обзор наборов для ОТ-ПЦР-РВ прямым методом, рассматриваемых в исследовании

№ п/п	Характеристики наборов	Производители / название набора		
		ЗАО «ЭКОлаб» КовидЭк Директ <i>РЗН 2021/14914</i> <i>От 28.07.2021</i>	ООО «ДНК-Технология ТС» SARS-CoV-2 Лайт <i>РЗН 2021/15854</i> <i>от 25.11.2021</i>	ООО «ТестГен» Cito-CoV-2-Test <i>РЗН 2021/16181</i> <i>от 27.12.2021</i>
1	Аналитическая чувствительность	1 000 ГЭ/мл	1 000 ГЭ/мл	500 ГЭ/мл

2	Диагностическая специфичность	100%	100%	94,5%
3	Диагностическая чувствительность	100%	100%	96,9%
4	ВКО	Эндогенный, не требует ручного внесения	Экзогенный, требует ручного внесения	Экзогенный, требует ручного внесения
5	Генетические мишени	Гены ORF1ab и N	Гены E и RdRP	Ген N
6	Время амплификации	От 60 мин	От 90 мин	От 90 мин
7	Разморозка/заморозка	до 10 раз	нет данных	нет данных

Приложение 5.4

РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ РАЗРАБОТОК

Таблица 5.4.1

Выигранные аукционы по набору «КовидЭк Директ» за 2021-2022гг.

	Город	Организация	Дата	Наборы	Кол-во наборов	Фирма-победитель
1	Кемерово	Междуреченская ГБ	31.08.2021	ДИРЕКТ	150	Имбио
2	Белая Калитва	ЦРБ	09.09.2021	ДИРЕКТ	228	ВитаРос
3	Липецк	КВД	22.09.2021	ДИРЕКТ	165	Эколаб-черноземье
4	Ставрополь	КП 6	13.10.2021	ДИРЕКТ	20	Дармед-СК (Эколаб-Кавказ)
5	Саратов	ГКБ 8	14.10.2021	ДИРЕКТ	80	Иволга (Букина)
6	Магнитогорск	ГБ№2	12.10.2021	ДИРЕКТ	48	Атлас
7	Псков	ПОИБ	15.10.2021	ДИРЕКТ	600	Профилаб (Киселев)
8	Енотаевка	РБ	21.10.2021	ДИРЕКТ	43	Медград
9	Брянск	ЦСПИД	26.10.2021	ДИРЕКТ	100	Эколаб-Центр
10	Магнитогорск	ГБ№2	28.10.2021	ДИРЕКТ	250	Атлас
11	Ставрополь	КИБ	25.10.2021	ДИРЕКТ	20	Дармед-СК (Эколаб-Кавказ)
12	Белая Калитва	ЦРБ	10.11.2021	ДИРЕКТ	48	ВитаРос
13	Всеволожск	МКБ	12.11.2021	ИХА ков аг+ ПЦР директ	2	атлас
14	Ульяновск	ГП5	19.11.2021	ДИРЕКТ	20	Букина
15	Краснодар	КДИБ	11.11.2021	ДИРЕКТ	20	Эра
16	Краснодар	КДИБ	11.11.2021	ДИРЕКТ	22	Эра
17	Ульяновск	ККВД	23.11.2021	ДИРЕКТ	57	Букина
18	Якутск	ЦСПИД	24.11.2021	ДИРЕКТ	88	Медиумс
19	Владимир	Гусь-Хрустальная ГБ	26.11.2021	ДИРЕКТ	100	Имбио

20	Орел	ЦСПИД	29.11.2021	ДИРЕКТ	32	Имбио
21	Краснодар	ККБ 2	30.11.2021	ДИРЕКТ	18	Эталон
22	Краснодар	ККБ 2	30.11.2021	ДИРЕКТ	22	Эталон
23	Краснодар	ККБ 2	30.11.2021	ДИРЕКТ	21	Эталон
24	Петропавловс к-Камчатский	ДИБ	29.11.2021	ДИРЕКТ	200	Имбио
25	Краснодар	ДКБ	02.12.2021	ДИРЕКТ	19	Эталон
26	Краснодар	ДКБ	02.12.2021	ДИРЕКТ	20	Эталон
27	Краснодар	ДКБ	02.12.2021	ДИРЕКТ	22	Эталон
28	Краснодар	ДКБ	01.12.2021	ДИРЕКТ	20	Эталон
29	Краснодар	ДКБ	01.12.2021	ДИРЕКТ	22	Эталон
30	Краснодар	ДКБ	01.12.2021	ДИРЕКТ	21	Эталон
31	Краснодар	ДКБ	06.12.2021	ДИРЕКТ	22	Эталон
32	Краснодар	ДКБ	06.12.2021	ДИРЕКТ	19	Эталон
33	Краснодар	ДКБ	06.12.2021	ДИРЕКТ	21	Эталон
34	Ирбит	ЦРБ	02.12.2021	ДИРЕКТ	260	ОМТ
35	Песочный	ПЦ	06.12.2021	ДИРЕКТ	21	Профилаб (Киселев)
36	Брянск	ЦСПИД	07.12.2021	ДИРЕКТ	300	имбио
37	Краснодар	ДКБ	08.12.2021	ДИРЕКТ	15	Эталон
38	Краснодар	ДКБ	08.12.2021	ДИРЕКТ	12	Эталон
39	Краснодар	ДКБ	08.12.2021	ДИРЕКТ	16	Эталон
40	Тольятти	КБ5	13.12.2021	ДИРЕКТ	350	Аналитика
41	Орел	ЦСПИД	13.12.2021	ДИРЕКТ	49	Имбио
42	Брянск	ЦСПИД	15.12.2021	ДИРЕКТ	50	Имбио
43	Орск	ГБ5	08.12.2021	ДИРЕКТ	15	Аналитика
44	Астрахань	ОКВД	10.12.2021	ДИРЕКТ	50	Артмед
45	Донское	РБ	21.12.2021	ДИРЕКТ	10	АРТУС (Эколаб-Кавказ)
46	Астрахань	ОКВД	27.12.2021	ДИРЕКТ	50	Медград (Байрамов)
47	Москва	МКН-ПЦ им. Логинова	04.02.2022	ДИРЕКТ	100	Биотех
48	Гусь- Хрустальный	ГБ	07.02.2022	ДИРЕКТ	12	Имбио
49	Астрахань	О КВД	08.02.2022	ДИРЕКТ	400	ВЕГА (Байрамов)

50	Магнитогорск	ГБ№2	11.02.2022	ДИРЕКТ	100	Звезда
51	Якутск	ЦСПИД	18.02.2022	уточнить наборы	200	Медиус
52	Владимир	Гусь-Хрустальная ГБ	16.02.2022	ДИРЕКТ	61	Имбио
53	Магнитогорск	ГБ2	22.02.2022	ДИРЕКТ	350	Звезда
54	Енотаевка	РБ	17.02.2022	ДИРЕКТ	120	Медград (Байрамов)
55	Зеленоград	КБ им Кончаловского	21.02.2022	ДИРЕКТ	200	Биотех
56	Знаменск	ГБ	25.02.2022	ДИРЕКТ	25	Вега (Байрамов)
57	Санкт- Петербург	КНЦ	14.03.2022	ДИРЕКТ	229	Профилаб (Киселев)
58	Краснодар	СКДИБ	22.03.2022	ДИРЕКТ	10	Эталон
59	Краснодар	СКДИБ	22.03.2022	ДИРЕКТ	12	Эталон
60	Краснодар	СКДИБ	21.03.2022	ДИРЕКТ	14	Эталон
61	Краснодар	ДКИБ	23.03.2022	ДИРЕКТ	14	Эталон
62	Краснодар	ДКИБ	23.03.2022	ДИРЕКТ	9	Эталон
63	Курган	МСЧ	24.03.2022	ДИРЕКТ	40	ИП Самарина
64	Москва	ГБУЗ МКНЦ им. Логинова	25.03.2022	ДИРЕКТ	300	Биотех
65	Краснодар	СКДИБ	31.03.2022	ДИРЕКТ	15	Эталон
66	Краснодар	СКДИБ	31.03.2022	ДИРЕКТ	5	Эталон
67	Астрахань	О КВД	28.03.2022	ДИРЕКТ	35	ВЕГА (Байрамов)
68	Краснодар	ДКИБ	06.04.2022	ДИРЕКТ	16	Эталон
69	Брянск	ЦСПИД	07.04.2022	ДИРЕКТ	300	Имбио
70	Нижний Ломов	МБ	27.04.2022	ДИРЕКТ	40	Букина
71	Самара	ЦСПИД	12.05.2022	ДИРЕКТ	800	Аналитика
72	Краснодар	КДИБ	27.05.2022	ДИРЕКТ	16	Эталон
73	Краснодар	КДИБ	27.05.2022	ДИРЕКТ	16	Эра
74	Киров	ИКБ	02.06.2022	ДИРЕКТ	40	Букина
75	Ульяновск	ОКДБ им Горячева	06.07.2022	ДИРЕКТ	26	Букина
76	Самара	ЦСПИД	18.08.2022	ДИРЕКТ	300	Аналитика

77	Ульяновск	ОКДБ им Горячева	11.08.2022	ДИРЕКТ	400	Букина
----	-----------	---------------------	------------	--------	------------	--------

ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЕ В ПЦР

Таблица 5.5.1

Материалы, используемые в работе

№	материал	Фирма
1	Праймеры олигонуклеотидные	ЗАО «Евроген», Россия, Москва
2	Зонды олигонуклеотидные	ЗАО «Евроген», Россия, Москва
3	Буфер для ПЦР	ЗАО "ЭКОлаб, Россия, Электрогорск
4	Hot Start Taq ДНК полимеразы	ООО «Биолабмикс», Россия, Новосибирск
5	RNAscribe RT – генетически модифицированная обратная транскриптаза (ревертаза)	ООО «Биолабмикс», Россия, Новосибирск
6	Упаковочная тара (пакет с замком zip-lock (гриппер))	ООО «ПакПром», Росси, г. Бердск
7	Упаковочная тара (коробки)	«Павлово-Посадского гофрокомбинат» , Россия, Павлово-Посад
8	Пластиковые флаконы (микропробирки)	«Sovtech», Россия, г. Бердск

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕННОГО БИОКОМПОНЕНТА ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ COVID-19

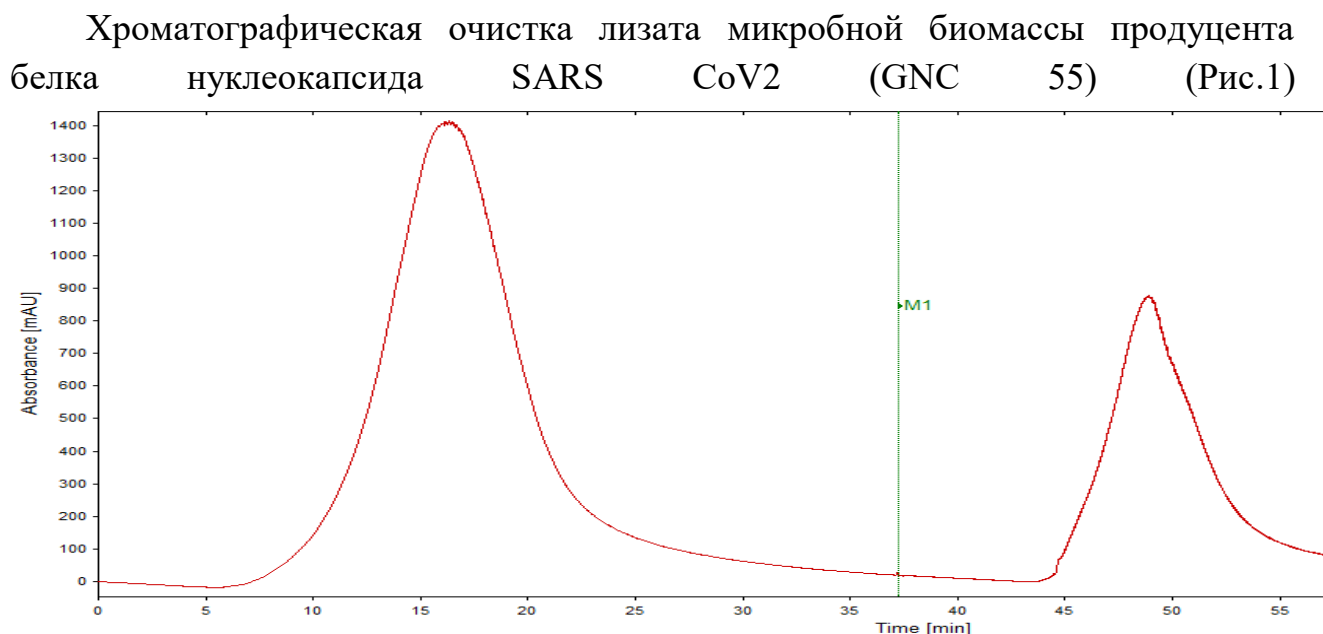


Рис. 1 Профиль элюции при хроматографической очистке варианта рекомбинантного белка «GNC 55» нуклеокапсида SARS CoV2.

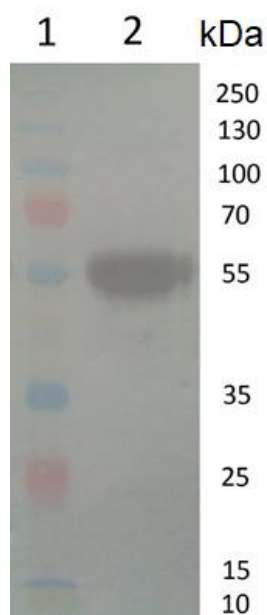


Рис. 2. Результат электрофоретического анализа очищенного рекомбинантного белка «GNC 55» в 12 % ПААГ-ДСН. 1 – маркерные белки. 2 – белок GNC 55

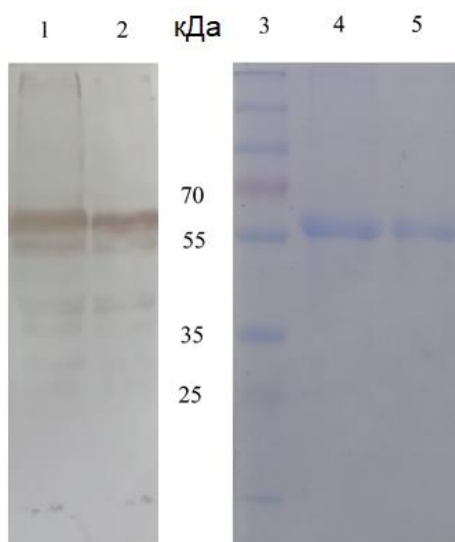


Рис. 3. Электрофорез поликлональных кроличьих антител к нуклеокапсиду SARS CoV2 в 12 % ПААГ-ДСН (справа). Иммуноблот поликлональных кроличьих антител к нуклеокапсиду SARS CoV2. 1 – поликлональные антитела полученный аффинной хроматографией на сорбенте S2. 2 – поликлональные антитела полученный аффинной хроматографией на сорбенте S1. 3 – маркерные белки. 4 – поликлональные антитела полученный аффинной хроматографией на сорбенте S2. 5 – поликлональные антитела полученный аффинной хроматографией на сорбенте S1.

Примечание: В иммуноблоте легкие цепи не видны так как использован конъюгат к Fc фрагменту антител. Из Рис.3 видно, что образцы иммуноглобулинов не содержат значимых фрагментов продуктов гидролиза антител и белка GNC55.

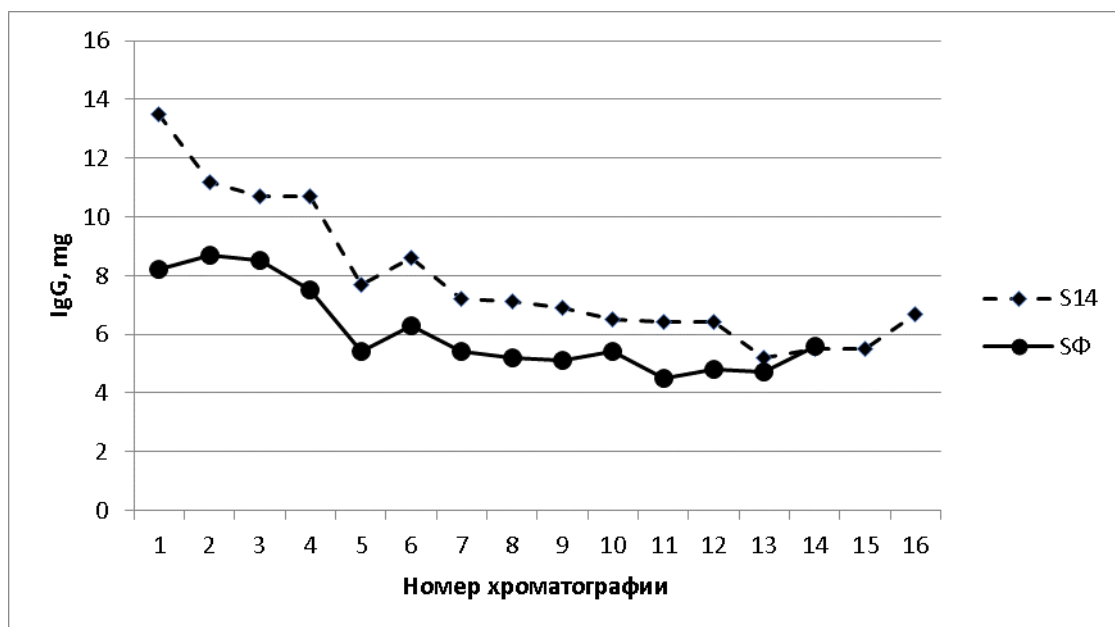


Рис.4 Динамика падения емкости сорбентов при их многократном использовании.

ИНФОРМАЦИЯ, ПОДТВЕРЖДАЮЩАЯ ЭКОНОМИЧЕСКИЙ И (ИЛИ) СОЦИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ

Закрытое акционерное общество «ЭКОлаб»

(полное наименование головной выдвигающей организации по Уставу)

Исследование, разработка, производство и реализация «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально значимых инфекционных заболеваний»

(наименование работы)

2020 год	
Объемы отгруженной продукции (оказанных услуг) с использованием разработанных коллективом технологий	Доход от предоставления права использования/отчуждения прав на результаты интеллектуальной деятельности, получивших правовую охрану в Российской Федерации и (или) за рубежом
622 331 тыс. руб.	150 000 тыс. руб.

2021 год	
Объемы отгруженной продукции (оказанных услуг) с использованием разработанных коллективом технологий	Доход от предоставления права использования/отчуждения прав на результаты интеллектуальной деятельности, получивших правовую охрану в Российской Федерации и (или) за рубежом
990 647 тыс. руб.	250 000 тыс.руб.

В том числе для диагностики социально значимых инфекционных заболеваний

наименование тест-системы	2020		2021	
	кол-во-наборов	Выручка в руб.	кол-во-наборов	Выручка в руб.
Диагностика коронавирусной инфекции и ОРВИ				
"ИХА-COVID-19-IgM/IgG" комплект №1 (1 опред.)	4852	2 717 138,05	3222	1 551 853,52
"ИХА-COVID-19-IgM/IgG" комплект №2 (25 опред.)	81	1 310 478,25	137	1 722 096,07
"ИХА-COVID-19-IgM/IgG" комплект №3 (50 опред.)	20	1 002 500,00	24	681 853,08
количество определений	7 877	5 030 116,30	7 847	3 955 802,67
"ИХА-SARS-CoV-2-Ag" комплект №1 (25 опред.)			8629	94 113 527,49
"ИХА-SARS-CoV-2-Ag" комплект №2 (50 опред.)			140	2 703 634,50
количество определений			222 725	96 817 161,99
"ИХА-Грипп А и В" комплект №1 (10 опред.)			43	124 460,00Р
"ИХА-Грипп А и В" комплект №2 (25 опред.)	47	393 983,05	226	1 506 225,00
количество определений	1 175	393 983,05	6 080	1 630 685,00
«КовидЭк Директ» (100 образцов)			9942	145 292 773,04
«РНК Магнит» комплект № 2 (100 образцов)			491	5 918 000,00
«РНК Экстракт» комплект № 1 (100 образцов)			647	6 044 815,35
количество определений			1 108 000	157 255 588,39
ИФА-SARS-CoV-2-AT-A комплект №1 (96 опр)			21	191 509,50
ИФА-SARS-CoV-2-AT-G комплект №1 (96 опр)	28	218 000,00	7127	46 556 311,79
ИФА-SARS-CoV-2-AT-G комплект №2 (480 опр)			170	5 015 780,10
ИФА-SARS-CoV-2-AT-G Количественный (96 опр)			1304	9 641 448,52
ИФА-SARS-CoV-2-AT-M комплект №1 (96 опр)	28	218 000,00	4456	29 109 350,31
ИФА-SARS-CoV-2-AT-M комплект №2 (480 опр)			66	1 830 895,22
количество определений	5 376	436 000,00	1 352 448	92 345 295,44
ИФА-Грипп А-IgA	14	66 636,00	12	44 400,00
ИФА-Грипп А-IgG	6	25 200,00	4	16 800,00
ИФА-Грипп Б-IgA	13	62 436,00	12	44 400,00

ИФА-Грипп Б-IgG	5	21 000,00	4	16 800,00
ИФА-Парагрипп 1-IgA	213	580 701,00	44	162 800,00
ИФА-Парагрипп 1-IgG	191	489 290,00	25	99 300,00
ИФА-Парагрипп 2-IgA	211	570 875,00	42	151 800,00
ИФА-Парагрипп 2-IgG	190	482 790,00	22	79 800,00
ИФА-Парагрипп 3-IgA	211	570 875,00	33	122 300,00
ИФА-Парагрипп 3-IgG	192	495 790,00	24	92 800,00
ИФА-РСВ-IgG	195	464 400,00	18	61 000,00
ИФА-РСВ-IgM	236	595 055,00	92	288 250,00
количество определений	160 992	4 425 048,00	31 872	1 180 450,00
Диагностика инфекций ToRCH-группы				
ИФА-Токсо-IgG	685	2 236 469,23	630	2 008 266,17
ИФА-антиТоксо-IgG-авидность	339	1 197 711,05	453	2 094 308,81
ИФА-Токсо-IgM	702	2 560 595,12	727	2 861 555,79
ИФА-Краснуха-IgG	796	2 682 696,39	873	3 060 205,02
ИФА-антиКраснуха-IgG-авидность	354	1 200 607,00	445	1 992 703,47
ИФА-Краснуха-IgM	608	3 783 936,08	377	2 386 238,47
ИФА-ЦМВ-IgG	604	1 893 054,64	503	1 742 436,10
ИФА-антиЦМВ-IgG-авидность	281	911 785,30	246	802 249,72
ИФА-ЦМВ-IgM	581	1 916 239,72	504	1 752 190,68
ИФА-ВПГ 1+2-IgG	619	1 923 179,79	411	1 363 602,48
ИФА-антиВПГ-1+2-IgG-авидность	282	885 969,55	218	737 098,50
ИФА-ВПГ 1+2-IgM	803	2 560 937,42	602	2 086 954,65
ИФА-ВПГ-1-IgG	318	1 201 565,00	304	1 146 642,00
ИФА-ВПГ-2-IgG	306	1 050 421,00	309	1 173 437,14
ИФА-ВГЧ-6-IgG	4	18 850,00	151	422 757,61
ИФА-ВГЧ-8-IgG	2	8 400,00	2	9 475,76
количество определений	638976	26 032 417,29	583104	25 640 122,37
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG к.№1	6	101 000,00	1	10 500,00
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM к.№2	5	82 000,00	1	10 500,00
количество определений	264	183 000,00	48	21 000,00
Диагностика Вирусного Гепатита В				
ИФА-НВеAg	68	135 369,34	8	20 287,00
ИФА-НВsAg ком. №1, 192 опр.	2301	5 736 390,70	2609	7 483 024,42
ИФА-НВsAg ком. №1/2, 480 опр.	1757	8 768 836,69	1719	8 814 394,47
ИФА-НВsAg ком. №2, 96 опр.	1554	2 492 101,30	2045	3 277 431,52
ИФА-НВsAg ком. №3, 48 опр.	889	1 876 689,78	951	2 105 336,03
ИФА-НВsAg ком. №3/1, 200 опр.	27	56 300,00	19	43 785,05

ИФА-НВsAg-0,01 ком. № 1, 192 опр.	37	100 627,50	256	679 231,00
ИФА-НВsAg-0,01 ком. № 2, 96 опр.	98	272 144,00	106	283 784,61
ИФА-НВsAg-0,01 ком.№ 3, 48 опр.	97	246 725,79	96	234 406,61
ИФА-НbsAg-0,01 ком. №1/2, 480 опр.	69	368 573,98	139	653 828,65
ИФА-антиНВscore	252	404 812,63	149	357 229,30
ИФА-антиНВscore-IgM	75	147 227,87	48	133 814,00
итог:		20 605 799,58		24 086 552,66
Диагностика Вирусного Гепатита С				
Лайн-Блот ВГС	30	549 474,50	34	368 500,00
ИФА-антиВГС-IgM, 96 опр.	185	357 691,45	243	510 465,57
ИФА-ВГС ком. 1/2, 480 опр.	1929	9 583 306,79	2021	10 947 253,23
ИФА-ВГС ком. №1, 192 опр.	2855	6 931 283,54	2715	7 564 913,26
ИФА-ВГС ком. №1/1, 96 опр.	1885	3 110 458,37	1784	3 022 125,97
ИФА-ВГС ком. №2, 32 опр.	15	36 300,00	28	65 585,00
ИФА-ВГС ком. №2/1, 24 опр.	383	816 832,32	401	875 704,49
ИФА-ВГС ком. №2/2, 120 опр.	39	246 045,00	9	72 192,00
ИФА-ВГС ком. №3, 48 опр.	1885	3 768 700,95	2030	4 465 940,84
итог:		25 400 092,92		27 892 680,36
Диагностика Сифилиса				
Лайн-Блот Сифилис-IgG	201	2 934 889,09	271	4 130 735,80
Лайн-Блот Сифилис-IgM	47	713 698,28	85	1 277 801,80
ИФА-антипаллидум-IgG к. № 1, 192 опр.	411	915 108,00	485	1 347 834,80
ИФА-антипаллидум-IgG к.№ 2, 96 опр.	614	1 292 176,42	851	1 807 651,63
ИФА-антипаллидум-IgM к. № 1, 192 опр.	83	234 187,50	130	387 680,00
ИФА-антипаллидум-IgM к. №2, 96 опр.	472	1 156 742,78	447	1 118 953,85
ИФА-антипаллидум- одностадийный к. № 1, 192 опр.	2985	7 388 423,04	2904	7 845 607,81
ИФА-антипаллидум- одностадийный к. № 2, 96 опр.	1643	3 147 231,57	1828	3487973,34
ИФА-антипаллидум- одностадийный к. № 3, 480 опр.	2217	3 673 845,65	2776	17 198 965,78
ИФА-антипаллидум-скрин к.№1, 192 опр.	132	308 280,00	52	218 050,00
ИФА-антипаллидум-скрин к. №2, 96 опр.	85	176 000,00	17	31 475,00
ИФА-антипаллидум-скрин к.	151	955 500,00	139	964 997,15

№3, 480 опр.				
Сифилис-РПГА-тест комплект 1/1 качественный анализ-100	10809	29 266 136,83	11719	35 345 078,70
Сифилис-РПГА-тест к. 1/2-качественный анализ-200			2	11 760,00
Сифилис-РПГА-тест к. №2/1-полуколич анализ-100	2811	9 113 016,73	2832	10 847 031,35
Сифилис-РПГА-тест к. №2/3-полуколич анализ-500	9	90 000,00	38	293 633,88
Антипаллидум-Флюороген IgG Комплект №2, 100 опр.	215	950 460,00	219	930 082,80
Антипаллидум-Флюороген IgG Комплект №2, 80 опр.	326	1 168 900,00	266	1 105 626,03 Р
Антипаллидум-Флюороген IgM комплект №1, 100 опр.	16	71 120,00	34	143 617,51
Сифилис-АгКЛ-РМП к-т №1, 1000 опр.	7813	24 737 610,71	6364	20 926 775,60
Сифилис-АгКЛ-РМП к-т №1, 1000 опр. с контр	555	1 922 214,30	478	1 788 139,00
Сифилис-АгКЛ-РМП к-т №2, 500 опр.	3493	6 412 174,18	3258	6 562 665,68
Сифилис-АгКЛ-РМП к-т №2, 500 опр. с контр.	1820	3 596 443,50	1925	3 910 010,50
Сифилис-АгКЛ-РМП к-т №2, 2000 опр.	12416	45 413 084,98	10314	40 892 996,93
Сифилис-АгКЛ-РМП к-т №2, 2000 опр. с контр.	1948	7 488 727,25	1 877,000	7 812 785,20
Сифилис-RPR-тест, к-т№1, 100 опр.	186	271 090,50	223	308 895,85
Сифилис-RPR-тест к-т №3, 100 опр.	118	116 906,00	218	109 776,00
Сифилис-RPR-тест,к-т№2, 500 опр.	1269	2 913 260,70	1917	4 942 660,39
Сифилис-RPR-тест к-т №4, 500 опр.	2357	4 594 443,23	2647	5 152 369,10
03.24 Сифилис-VDRL-тест	20	43 253,50	32	79 861,66
итог:		171064924,74		180981493,14
Диагностика ВИЧ-инфекции				
АГАТ-ВИЧ 1,2 комплект №1/2, 480 опр.	1753	25 914 085,03	2 149	32 793 429,51
АГАТ-ВИЧ-1,2 комплект №1, 192 опр.	2926	13 931 445,34	2 109	12 073 602,37
АГАТ-ВИЧ-1,2 комплект №2, 96 опр.	1920	3 072 348,06	157	745 148,00

ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2	897	14 013 427,91	551	8 855 435,65
ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2 комплект №2 (36 опред.)	31	537 815,50	54	1 446 629,22
ИФА Лайн-Блот ВИЧ-1,2 комплект №3 (48 опред.)	100	2 200 000,00	90	1 980 000,00
ИФА-АГ-ВИЧ-1 комплект №1, 192 опр.	28	298 780,09	9	102 270,00
ИФА-АГ-ВИЧ-1 комплект №2, 96 опр.	143	976 899,47	30	231785,84
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1 комплект 1/1, 18 опр.	68	2 294 054,01	242	6 984 000,00
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1 комплект 2/1, 18 опр.	84	2 376 825,05	38	1 007 000,00
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1 комплект №1/2, 24 опр.	1	25 000,00	1	50 000,00
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1 комплект №2/2, 24 опр.	219	6 344 650,00	213	6 187 000,00
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2 комплект №1, 18 опр.			256	6 525 000,00
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1,2 комплект №2, 24 опр.			10	270 000,00
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-2	7	225 320,00	3	94 800,00
ИФА-ВИЧ-1,2-Ат комплект №1, 192 опр.	642	1 772 703,80	211	611 946,00
ИФА-ВИЧ-1,2-Ат комплект №2, 96 опр.	108	218 431,00	38	70 638,00
ИФА-ВИЧ-1,2-Ат комплект №1/2, 480 опр.	38	274 410,00	64	466 718,00
Лайн-Блот ВИЧ-1,2	2	48 400,00	65	1 102 375,00
	8967	74 524 595,26	6 290	81 597 777,59

Экономическая эффективность работы группы ученых по исследованию, разработке, производству и реализации «Комплекса методических, реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики социально значимых инфекционных заболеваний» может быть оценена по нескольким параметрам.

Во-первых, это вклад в здравоохранение Российской Федерации – сохранение здоровья нации путем разработки и внедрения в кратчайшие сроки новых наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики, косвенное увеличение продолжительности жизни населения: комплекс тест-систем частично покрывает потребность в эпидемиологическом надзоре путем диагностирования населения в рамках действующего СанПиН 3.3686-21

"Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" от 28 января 2021 года N 4.

Во-вторых, в процессе работы были внедрены в систему здравоохранения абсолютно новые, уникальные технологии ПЦР-диагностики для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени – набор реагентов «КовидЭк Директ», производства ЗАО «ЭКОлаб». уникальность технологии в том, что впервые было предложено выявление РНК вируса без стадии выделения, что сокращает время анализа не менее чем на 1 час рабочего времени. Данный показатель был немаловажен в период пандемии, когда врачи клинической лабораторной диагностики были на острие борьбы с «новой» коронавирусной инфекцией. И сейчас, когда уже появился коллективный иммунитет и количество вновь зараженных сократилось в разы, экономический эффект от увеличения КПД работника лаборатории, весьма важен. Здесь стоит отметить, что внедрение в лабораторную практику здравоохранения Российской Федерации проходило в рамках государственных контрактов по Федеральным законам "О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд" от 05.04.2013 N 44-ФЗ и "О закупках товаров, работ, услуг отдельными видами юридических лиц" от 18.07.2011 N 223-ФЗ, что гарантирует предложение минимальной цены за определение поставщиками, с соблюдением технических характеристик объекта закупок, в том числе диагностической чувствительности, специфичности, и минимальной концентрации определения аналита.

В третьих, разработанные и зарегистрированные приборы отечественного производства для регистрации и автоматической интерпретации результатов иммунологических исследований в свою очередь так же позитивно влияют на экономическую эффективность работы: нивелируется ошибка восприятия человеческого глаза, тем самым уменьшая количество неопределенных результатов при исследовании на различные социально-значимые инфекции. Уменьшенное количество неопределенных результатов в свою очередь гарантирует сокращение повторных исследований проб, и, как следствие, экономия и расходных материалов, и наборов реагентов, и трудовых ресурсов. Экономическую эффективность для бюджета РФ можно оценить на примере нескольких наборов производства ЗАО «ЭКОлаб» и других производителей, поставляемых в бюджетные учреждения здравоохранения.

ЭКОлаб		Другие производители	
Наименование	Цена (руб)	Наименование	Цена (руб.)
Набор реагентов «Лайн-Блот Сифилис-IgG Тест-система для выявления антител к отдельным антителам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов	50373,40	Набор реагентов для подтверждения наличия антител к антигенам <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке или плазме крови человека методом линейного иммуноферментного анализа «ИННО-ЛИА Сифилис усовершенствованный» (Бельгия)	116855,24
«КовидЭк Директ»	12000,00	Набор реагентов для выявления SARS-CoV-2 методом полимерной цепной реакции с обратной транскрипцией ПОЛИВИР SARS-CoV-2 вариант исполнения ПОЛИВИР SARS-CoV-2 «Express@	35000.10
ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1	29000,00	Нью ЛАВ-БЛОТ 1,3х6 тестов ВИЧ 1 антитела ИВД, набор, иммуноблот (Франция)	84220,00

ПЕРЕЧЕНЬ РАЗРАБОТАННЫХ И ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, СЕРИЙНО ВЫПУСКАЕМЫХ ЗАО "ЭКОлаб"

ПЦР ДИАГНОСТИКА

Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
	Набор реагентов «КовидЭк» для выделения и качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени	№ РЗН 2022/18013 от 17.08.2022
100.01	«РНК Экстракт» комплект № 1, 100 определений	
100.01.1п	«РНК Экстракт» комплект № 1п, 100 определений (планшет, пленка)	
100.02	«РНК Магнит» комплект № 2, 100 определений	
100.01.2п	«РНК Магнит» комплект № 2п 100 определений (планшет, пленка)	
	Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени	№ РЗН 2021/15722 от 08.11.2021 (серия 07) № РЗН 2022/17557 от 22.06.2022 г. (серия 08) № РЗН 2022/17966 от 12.08.2022
100.03	комплект № 1 (100 определений)	
100.03.2	комплект № 2 (100 определений, включая транспортную среду, планшет, пленка)	№ РЗН 2022/17966 от 12.08.2022
100.03.1	Набор реагентов «КовидЭк Директ» для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени 50 образцов	Для научной деятельности
	Набор реагентов «ОспаЭК» для качественного выявления и дифференциации ДНК вируса оспы обезьян и человека в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.06.1	комплект № 1 (100 определений)	
100.06.2	комплект № 2 (100 определений, включая планшет, пленка)	

	Набор реагентов «ГепаВ/С Эк» для качественного выявления ДНК вируса гепатита В (HBV) и/или РНК вируса гепатита С (HCV) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.07.1/1	комплект № 1 «ГепаВ/С Эк-В+С», (форма 1, 100 определений)	Для научной деятельности
100.07.1/2	комплект № 1 «ГепаВ/С Эк-В+С», (форма 2, 100 определений, включая планшеты, пленка)	
100.07.2/1	комплект № 2 «ГепаВ/С Эк-В», (форма 1, 100 определений)	
100.07.2/2	комплект № 2 «ГепаВ/С Эк-В», (форма 2, 100 определений, включая планшеты, пленка)	
100.07.3/1	комплект № 3 «ГепаВ/С Эк-С», (форма 1, 100 определений)	
100.07.3/2	комплект № 3 «ГепаВ/С Эк-С», (форма 2, 100 определений, включая планшеты, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ» для качественного выявления и дифференциации ДНК микроорганизмов урогенитальных инфекций в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени	Для научной деятельности
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Мульти» для качественного выявления ДНК микроорганизмов урогенитальных инфекции (<i>Mycoplasma genitalium</i> + <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma parvum</i> + <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> + <i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> + <i>Chlamydia trachomatis</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	
100.08.1/1	комплект № 1 «УроЭК Директ-Мульти», (форма 1, 100 определений)	
100.08.1/2	комплект № 1 «УроЭК Директ-Мульти», (форма 2, 100 определений, включая планшеты, пленка)	Для научной деятельности
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Мус» для качественного выявления и дифференциации ДНК урогенитальных микоплазм (<i>Mycoplasma genitalium</i> + <i>Mycoplasma hominis</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	
100.08.2/1	комплект № 2 «УроЭК Директ-Мус», (форма 1, 100 определений)	
100.08.2/2	комплект № 2 «УроЭК Директ-Мус», (форма 2, 100 определений, включая планшеты, пленка)	Для научной деятельности
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Ure» для качественного выявления и дифференциации ДНК урогенитальных уреоплазм (<i>Ureaplasma parvum</i> + <i>Ureaplasma urealyticum</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	

100.08.3/1	комплект № 3 «УроЭК Директ-Ure», (форма 1, 100 определений)	
100.08.3/2	комплект № 3 «УроЭК Директ-Ure», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-TU» для качественного выявления ДНК трихомонад и возбудителя урогенитального уреоплазмоза (<i>Trichomonas vaginalis</i> + <i>Ureaplasma parvum/ urealyticum</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.08.4/1	комплект № 4 «УроЭК Директ-TU», (форма 1, 100 определений)	
100.08.4/2	комплект № 4 «УроЭК Директ-TU», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	Для научной деятельности
	Набор реагентов «УроЭК Директ-NCh» для качественного выявления ДНК возбудителя гонореи и урогенитального хламидиоза (<i>Neisseria gonorrhoeae</i> + <i>Chlamydia trachomatis</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	
100.08.5/1	комплект № 5 «УроЭК Директ-NCh», (форма 1, 100 определений)	
100.08.5/2	комплект № 5 «УроЭК Директ-NCh», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	Для научной деятельности
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Mg» для качественного выявления ДНК возбудителя урогенитального микоплазмоза (<i>Mycoplasma genitalium</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	
100.08.6/1	комплект № 6 «УроЭК Директ-Mg», (форма 1, 100 определений)	
100.08.6/2	комплект № 6 «УроЭК Директ-Mg», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	Для научной деятельности
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Mh» для качественного выявления ДНК возбудителя урогенитального микоплазмоза (<i>Mycoplasma hominis</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	
100.08.7/1	комплект № 7 «УроЭК Директ-Mh», (форма 1, 100 определений)	
100.08.7/2	комплект № 7 «УроЭК Директ-Mh», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Up» для качественного выявления ДНК возбудителя урогенитального уреоплазмоза (<i>Ureaplasma parvum</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.08.8/1	комплект № 8 «УроЭК Директ-Up», (форма 1, 100 определений)	
100.08.8/2	комплект № 8 «УроЭК Директ-Up», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Uu» для качественного выявления ДНК возбудителя урогенитального уреоплазмоза (<i>Ureaplasma urealyticum</i>) в клиническом	Для научной

	материале методом ПЦР в режиме реального времени	деятельности
100.08.9/1	комплект № 9 «УроЭК Директ-Uu», (форма 1, 100 определений)	
100.08.9/2	комплект № 9 «УроЭК Директ-Uu», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Т» для качественного выявления ДНК трихомонад (<i>Trichomonas vaginalis</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.08.10/1	комплект № 10 «УроЭК Директ-Т», (форма 1, 100 определений)	
100.08.10/2	комплект № 10 «УроЭК Директ-Т», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Up/u» для качественного общего выявления ДНК урогенитальных уреapлазм (<i>Ureaplasma parvum/ urealyticum</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.08.11/1	комплект № 11 «УроЭК Директ-Up/u», (форма 1, 100 определений)	
100.08.11/2	комплект № 11 «УроЭК Директ-Up/u», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Ng» для качественного выявления ДНК возбудителя гонореи (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.08.12/1	комплект № 12 «УроЭК Директ-Ng», (форма 1, 100 определений)	
100.08.12/2	комплект № 12 «УроЭК Директ-Ng», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
	Набор реагентов «УроЭК Директ-Ch» для качественного выявления ДНК возбудителя урогенитального хламидиоза (<i>Chlamydia trachomatis</i>) в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени	Для научной деятельности
100.08.13/1	коплект № 13 «УроЭК Директ-Ch», (форма 1, 100 определений)	
100.08.13/2	комплект № 13 «УроЭК Директ-Ch», (форма 2, 100 определений, включая планшет, пленка)	
ТРАНСПОРТНЫЕ СРЕДЫ		
100.05	Транспортная среда с муколитиком «ТСМ-Эколаб» 100 пробирок – 0,5 мл	Для научной деятельности

ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА (ИХА) КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-COVID-19-IgM/IgG»	№ РЗН 2020/11955 от 14.09.2020
98.01.1	Комплект №1 (1 опред.) набор	
98.01.2	Комплект №2 (25 опред.) набор	
98.01.3	Комплект №3 (50 опред.) набор	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag»	серия 03, 04, 05 № РЗН 2022/18195 от 07.09.2022
99.01.1	Комплект №1 (1 опред.) набор	
99.01.2	Комплект №2 (25 опред.) набор	
99.01.3	Комплект №3 (50 опред.) набор	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva»	Для научной деятельности
99.02.1	Комплект №1 (1 опред.) набор	

ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА (ИФА) КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ COVID-19

Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G»	серия №05, серия №06 № РЗН 2020/12981 от 17.12.2020
22.06.1	Комплект №1, 96 определений	
22.06.2	Комплект №2, 480 определений	серия № 07, серия № 08 № РЗН 2022/18047 от 18.08.2022

	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-АТ-М»	серия № 05, серия № 06 № РЗН 2020/13045 от 25.12.2020
22.07.1	Комплект №1, 96 определений	
22.07.2	Комплект №2, 480 определений	серия № 07, серия № 08 № РЗН 2022/18051 от 19.08.2022

	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса А к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-АТ-А»	№ РЗН 2021/15689 от 02.11.2021
22.08.1	Комплект №1, 96 определений	
22.08.2	Комплект №2, 480 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-Анти-G»	№ РЗН 2022/18156 от 31.08.2022
22.11.1	Комплект №1, 96 определений	
22.11.2	Комплект №2, 480 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для качественного и полуколичественного выявления антител класса М к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-Анти-М»	№ РЗН 2022/18809 от 17.11.2022
22.12.1	Комплект №1, 96 определений	
22.12.2	Комплект №2, 480 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного выявления антител класса G к SARS-CoV-2» «ИФА-SARS-CoV-2-АТ-G-Количественный»	№ РЗН 2022/18450 от 05.10.2022
22.13.1	96 определений	

ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ

ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления суммарных антител к вирусам иммунодефицита человека типов 1 и 2 на основе рекомбинантных антигенов» «ИФА-ВИЧ-1,2-Ат»	№ ФСР 2012/13262 от 28.03.2022

01.03.1/2	Комплект №1/2, 480 определений	
01.03.1	Комплект №1, 192 определения	
01.03.2	Комплект №2, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1» «АГАТ-ВИЧ-1,2»	№ РЗН 2017/6146 от 24.08. 2017
01.07.1/2	Комплект №1/2, 480 определений	
01.07	Комплект №1, 192 определения	
01.08	Комплект №2, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1» «АГАТ-ВИЧ-1,2+О»	№ РЗН 2022/18755 от 09.11.2022
01.09.1	Комплект №1, 96 определений (с концентратами конъюгатов-1,2 и ТМБ)	
01.09.2	Комплект №2, 192 определения (с концентратами конъюгатов-1,2 и ТМБ)	
01.09.3	Комплект №3, 480 определений (с концентратами конъюгатов-1,2 и ТМБ)	
01.09.4	Комплект №4, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором)	
01.09.4а	Комплект №4а, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором; для дробного использования)	
01.09.5	Комплект №5, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором)	
01.09.5а	Комплект №5а, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором; для дробного использования)	
01.09.6	Комплект №6, 480 определений (с готовыми к применению конъюгатами-1,2 и индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения наличия антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа» «ИФА-АГ-ВИЧ-1»	№ ФСР 2010/07919 от 29.09.2021
01.04.1	Комплект №1, 192 определения	
01.04.2	Комплект №2, 96 определений	

	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества исследований сыворотки (плазмы) крови человека методом ИФА»	
01.20	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества иммуноферментных исследований сыворотки (плазмы) крови человека на наличие (содержание) антител к вирусу иммунодефицита человека 1 типа» «ВЛК-анти-ВИЧ-1», Комплект №2 (сухой): для «АГАТ-ВИЧ-1,2» 120 определений для «ИФА-ВИЧ-1,2-Ат» 160 определений	№ РЗН 2013/454 от 01.10.2018
	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества исследований сыворотки (плазмы) крови человека методом ИФА	
01.20.1	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества иммуноферментных исследований сыворотки (плазмы) крови человека на наличие (содержание) антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа» «ВЛК-р24-ВИЧ-1» для «ИФА-АГ-ВИЧ-1» 240 определений для «АГАТ-ВИЧ-1,2» 340 определений	№ РЗН 2013/454 от 01.10.2018
	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества исследований сыворотки (плазмы) крови человека методом ИФА	
01.20.2	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества иммуноферментных исследований сыворотки (плазмы) крови человека на наличие (содержание) антител к вирусу иммунодефицита человека 1 типа и антигена р24 ВИЧ-1 «ВЛК-АГАТ-ВИЧ-1» для «АГАТ-ВИЧ-1,2» 120 определений	№ РЗН 2013/454 от 01.10.2018
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека 1 типа методом иммунного блоттинга» «ИФА-БЛОТ-ВИЧ-1»	
01.05	Комплект №1/1, 18 определений (концентрат конъюгата)	№ РЗН 2014/1704 от 30.05.2018
01.05.1	Комплект №1/2, 24 определения (концентрат конъюгата)	
01.05.2	Комплект №2/1, 18 определений (конъюгат, готовый к применению)	
01.05.3	Комплект №2/2, 24 определения (конъюгат, готовый к применению)	
01.21	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека 2 типа методом иммунного блоттинга» «ИФА-БЛОТ-ВИЧ-2» 24 определения	№ РЗН 2015/2972 от 26.04.2018
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к антигенам вируса иммунодефицита человека типов 1 и 2 методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» «ИФА-Лайн-Блот ВИЧ-1,2»	№ ФСР 2012/13332 от 10.05.2018

01.19	Комплект №1, 24 определения	
01.19.1	Комплект №2, 36 определений	
01.19.3	Комплект №3, 48 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к антигенам вируса иммунодефицита человека типов 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-2) методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» "Лайн-Блот ВИЧ-1,2" (конъюгат, готовый к применению)	№ РЗН 2016/5195 от 26.12.2016
01.22.1	Комплект №1, 24 определения	
01.22.2	Комплект №2, 36 определений	
01.22.3	Комплект №3, 48 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типа (ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2) методом иммунного блоттинга» "ИФА-Блот-ВИЧ-1,2"»	№ РЗН 2021/13542 от 19.02.2021
01.23.1	Комплект №1, 18 определений (конъюгат, готовый к применению)	
01.23.2	Комплект №2, 24 определения (конъюгат, готовый к применению)	
01.11.3	Набора реагентов «Стандартная панель сывороток, содержащих антиген р24 вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) в различных концентрациях» "ВИЧ-1-р24-Стандарт-АГ(+)" 8 флаконов	Не требует регистрации
01.11.2	Набора реагентов «Стандартная панель сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека второго типа (ВИЧ-2) в различных концентрациях» "ВИЧ-2-Стандарт-АТ(+)" 8 флаконов	Не требует регистрации
01.11.1	Набора реагентов «Стандартная панель сывороток, содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) в различных концентрациях» "ВИЧ-1-Стандарт-АТ(+)" 16 флаконов	Не требует регистрации
01.11.4	Набор реагентов «Стандартная панель сывороток, не содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1» "ВИЧ-Стандарт (-)" 20 флаконов	№ РЗН 2019/8388 от 21.05.2019

ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ

ГЕПАТИТ «А»		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
02.15	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к вирусу гепатита А» «ИФА-антиВГА-IgM» 96 определений	№ ФСР 2009/06382 от 20.04.2021
ГЕПАТИТ «В»		
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBsAg»	№ ФСР 2008/02609 от 18.04.2022
02.03.1/2	Комплект №1/2, 480 определений	
02.03.2/2	Комплект №2/2, 480 определения (конъюгат, готовый к применению)	
02.04.1/1	Комплект №1/1, 192 определения	
02.04.2/1	Комплект №2/1, 192 определения (конъюгат, готовый к применению)	
02.05.1/2 р	Комплект №1/2р, 96 определений	
02.05.2/2 р	Комплект №2/2р, 96 определений (конъюгат, готовый к применению)	№ ФСР 2008/02609 от 18.04.2022
02.05.1/2 а	Комплект №1/2а, 96 определений	
02.05.2/2 а	Комплект №2/2а, 96 определений (конъюгат, готовый к применению)	
02.06.1/3	Комплект №1/3, 48 определений	
02.06.2/3	Комплект №2/3, 48 определений (конъюгат, готовый к применению)	
02.13	Комплект №3.1, 200 определений	
02.13.1	Комплект №3.1, 240 определений	№ ФСР 2009/06381 от 10.03.2022
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0,01 МЕ/мл» «ИФА-HBsAg-0,01»	
02.03.01	Комплект №1/2, 480 определений	
02.04.01	Комплект №1, 192 определения	
02.05.01	Комплект №2, 96 определений	
02.06.01	Комплект №3, 48 определений	№ РЗН2013/249 от 10.05.2018
02.21	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления HBe-антигена вируса гепатита В» «ИФА-HBeAg» 96 определений	

02.18	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества исследований сыворотки (плазмы) крови человека методом ИФА	№ РЗН 2013/454 от 01.10.2018
	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества иммуноферментных исследований сыворотки (плазмы) крови человека на наличие (содержание) HBsAg «ВЛК-HBsAg», 240 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к core-антигену вируса гепатита В» «ИФА-антиHBcore»	№ ФСР 2012/13190 от 12.07.2021
02.07.1	Комплект № 1, 96 определений (двухкомпонентные растворы конъюгата и ТМБ)	
02.07.2	Комплект № 2, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM к core-антигену вируса гепатита В» «ИФА-антиHBcore-IgM»	№ ФСР 2011/12043 от 17.03.2021
02.12	Комплект № 1, 96 определений (концентрат конъюгата)	
02.12.1	Комплект № 2, 96 определений (конъюгат, готовый к применению)	
02.08	Набор реагентов «Стандартный образец (СО) поверхностного антигена вируса гепатита В» ИФА-СО-HBsAg	Для научной деятельности
ГЕПАТИТ «С»		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и подтверждения наличия антител к вирусу гепатита С» «ИФА-ВГС»	№ ФСР 2010/09794 от 05.05.2022
02.10	Комплект №1/1, 96 определений	
02.09	Комплект №1, 192 определения	
02.14	Комплект №1/2, 480 определений	
02.11	Комплект №2, 32 определения	
02.11.2	Комплект №2/1, 24 определения	
02.11.3	Комплект №2/2, 120 определений	
02.11.2a	Комплект №2/3, 24 определения	
02.11.2б	Комплект №2/4, 120 определений	
02.11.1	Комплект №3, 48 определений	
02.11.1a	Комплект №3/1, 48 определений	
02.10a	Комплект №1/1a, 96 определений	
02.16	Комплект №1R, 192 определения	
02.16.1	Комплект №1/1R, 96 определений	
02.16.2	Комплект №1/2R, 480 определений	
02.16.3	Комплект №3R, 48 определений	

02.25	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к отдельным антигенам вируса гепатита С методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» «ИФА-Лайн-Блот ВГС» Содержит рекомбинантные аналоги антигенов ВГС (core, NS3, NS4, NS5) 24 определения	№ ФСР 2008/03303 от 14.05.2018
02.20	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С» «ИФА-антиВГС-IgM» Основой тест-системы являются рекомбинантные антигены, соответствующие участкам белков, кодируемых структурной (core) и неструктурной (NS3, NS4, NS5) областью генома ВГС 96 определений	№ ФСР 2011/11752 от 26.10.2021
02.19	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества исследований сыворотки (плазмы) крови человека методом ИФА Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества иммуноферментных исследований сыворотки (плазмы) крови человека на наличие (содержание) антител к вирусу гепатита С «ВЛК-антиВГС» 600 определений	№ РЗН 2013/454 от 01.10.2018
02.22	Набор реагентов «Стандартная панель сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С» «Анти-ВГС – Стандарт (+/-)» 8 флаконов	Для научной деятельности и

СИФИЛИС		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к <i>Treponema pallidum</i> » «ИФА-антипаллидум-скрин»	№ ФСР 2011/12216 от 21.06.2018
03.15	Комплект №1, 192 определения	
03.15.1	Комплект №2, 96 определений	
03.15.4	Комплект №3, 480 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител всех классов к <i>Treponema pallidum</i> » «ИФА-антипаллидум-одностадийный»	№ ФСР 2009/05560 от 29.09.2021
03.15.2	Комплект №1, 192 определений	
03.15.3	Комплект №2, 96 определений	
03.15.5	Комплект №3, 480 определений	
	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества исследований сыворотки (плазмы) крови человека методом ИФА	№ РЗН

	Набор реагентов для внутрилабораторного контроля качества иммуноферментных исследований сыворотки (плазмы) крови человека на наличие (содержание) антител к <i>Treponema pallidum</i> «ВЛК-Антипаллидум»,	2013/454 от 01.10.2018
03.23	Комплект №1 (лиофилизированный) 2400 определений	
03.23.1	Комплект №2 (жидкий) 2400 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к <i>Treponema pallidum</i> » «ИФА-антипаллидум-IgM»	№ ФСР 2010/06926 от 13.08.2021
03.21.1/1	Комплект №1/1, 192 определения	№ ФСР 2010/06926 от 13.08.2021
03.21.2/1	Комплект №2/1, 96 определений	
03.21.1/2	Комплект №1/2, 192 определения (с готовым индикаторным раствором)	
03.21.2/2	Комплект №2/2, 96 определения (с готовым индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к <i>Treponema pallidum</i> » "ИФА-антипаллидум-IgM PLUS"	Для научной деятельност и
03.23.1/1	Комплект №1/1, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
03.23.2/1	Комплект №2/1, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
03.23.1/2	Комплект №1/2, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатом и 2-х компонентным индикаторным раствором)	
03.23.2/2	Комплект №2/2, 96 определения (с готовыми к применению конъюгатом и 2-х компонентным индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к <i>Treponema pallidum</i> » «ИФА-антипаллидум-IgG»	№ ФСР 2008/03536 от 20.09.2021
03.20.1/1	Комплект №1/1, 192 определения	
03.20.1/2	Комплект №1/2, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
03.20.2/1	Комплект №2/1, 96 определений	
03.20.2/2	Комплект №2/2, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к отдельным антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» «Лайн-Блот Сифилис-IgM»	№ РЗН 2014/1657 от 25.03.2022
03.22.2/1	Комплект 2/1, 24 определения	
03.22.2/2	Комплект 2/2, 36 определений	
03.22.2/3	Комплект 2/3, 48 определений	

	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к отдельным антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов» «Лайн-Блот Сифилис-IgG»	
03.22.1/1	Комплект 1/1, 24 определения	
03.22.1/2	Комплект 1/2, 36 определений	
03.22.1/3	Комплект 1/3, 48 определений	
	Набор реагентов для определения антител к <i>Treponema pallidum</i> в реакции пассивной гемагглютинации «Сифилис-РПГА-тест»	
03.06.1/1	Комплект №1/1, 100 определений (для качественного анализа)	№ ФСР 2010/08228 от 07.09.2021
03.09.2/1	Комплект №2/1, 100 определений (для качественного и полуколичественного анализа)	
03.06.1/2	Комплект №1/2, 200 определений (для качественного анализа)	
03.09.2/2	Комплект №2/2, 200 определений (для качественного и полуколичественного анализа)	
03.06.1/3	Комплект №1/3, 500 определений (для качественного анализа)	
03.09.2/3	Комплект №2/3, 500 определений (для качественного и полуколичественного анализа)	
	Набор реагентов для выявления антител к кардиолипину в реакции флоккуляции «Сифилис-RPR-тест»	№ ФСР 2007/00406 от 08.10.2019
03.13	Комплект №1, 100 определений (укомплектован флаконом-диспенсером и иглой дозирующей)	
03.14	Комплект №2, 500 определений (укомплектован флаконом-диспенсером и иглой дозирующей)	
03.13.1	Комплект №3, 100 определений	
03.14.1	Комплект №4, 500 определений	
	Набор реагентов «Антиген кардиолипидный для реакции микропреципитации» «Сифилис-АгКЛ-РМП»	
03.07	Комплект № 1 исполнение 1, 1000 определений АгКл - 10 ампул по 2 мл, раствор холин-хлорида – 1 флакон по 10 мл	№ ФСР 2011/09957 от 27.06.2022
03.07к	Комплект № 1 исполнение 2, 1000 определений Набор укомплектован сыворотками контрольными для диагностики сифилиса (положительной и отрицательной)	
03.07.1	Комплект №2/1 исполнение 1, 500 определений Взвесь АгКл готовая - 3 флакона по 5 мл (готов к применению)	
03.07.1к	Комплект №2/1 исполнение 2, 500 определений Набор укомплектован сыворотками контрольными для диагностики сифилиса (положительной и отрицательной), (готов к применению)	

03.07.2	Комплект №2/2 исполнение 1, 1000 определений Взвесь AgКл готовая - 6 флаконов по 5 мл (готов к применению)	
03.07.2k	Комплект №2/2 исполнение 2, 1000 определений Набор укомплектован сыворотками контрольными для диагностики сифилиса (положительной и отрицательной), (готов к применению)	
03.07.3	Комплект №2/3 исполнение 1, 2000 определений Взвесь AgКл готовая - 7 флаконов по 10 мл (готов к применению)	
03.07.3k	Комплект №2/3 исполнение 2, 2000 определений Набор укомплектован сыворотками контрольными для диагностики сифилиса (положительной и отрицательной) , (готов к применению)	
03.24	Набор реагентов для выявления антител к <i>Treponema pallidum</i> в реакции микропреципитации на стекле «Сифилис-VDRL-тест» 1000 определений	№ ФСР 2012/13075 от 25.07.2018
03.08	Набор реагентов «Антиген кардиолипидный для РСК» 10 ампул по 2 мл	Для научной деятельност и
03.12	Кровь баранья консервированная для реакции связывания комплемента 5 флаконов по 10 мл	№ ФСР 2011/12209 от 01.08.2018
03.16	Сыворотка диагностическая гемолитическая кроличья жидкая для РСК 10 ампул по 2 мл	№ ФСР 2007/00098 от 24.09.2018
	Набор реагентов «Сыворотки контрольные для диагностики сифилиса»	№ ФСР 2009/05912 от 02.07.2018 № ФСР 2009/05912 от 02.07.2018
03.17	Комплект № 1/1 набора реагентов представляет жидкие сыворотки крови кролика, содержащие антитела к <i>Treponema pallidum</i> (положительные), 10 флаконов по 1 мл	
03.17.1	Комплект № 1/2 набора реагентов представляет жидкие сыворотки крови кролика, содержащие антитела к <i>Treponema pallidum</i> (слабоположительные), 10 флаконов по 1 мл	
03.17.2	Комплект № 1/3 набора реагентов представляет жидкие сыворотки крови кролика, не содержащие антитела к <i>Treponema pallidum</i> (отрицательные), 10 флаконов по 1 мл	
03.18	Комплект № 2/1 набора реагентов представляет собой жидкие сыворотки крови человека, содержащие антитела к <i>Treponema pallidum</i> (положительные), 5 флаконов по 0,3 мл	
03.18.1	Комплект № 2/2 набора реагентов представляет собой жидкие сыворотки крови человека, содержащие антитела к <i>Treponema pallidum</i> (слабоположительные),	

	5 флаконов по 0,3 мл	
03.18.2	Комплект № 2/3 набора реагентов представляет собой жидкие сыворотки крови человека, не содержащие антитела к <i>Treponema pallidum</i> (отрицательные), 5 флаконов по 0,5 мл	
03.04.03	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса М к <i>Treponema pallidum</i> в реакции иммунофлюоресценции» «Антипаллидум-Флюороген IgM» 100 определений	№ РЗН 2013/247 от 23.07.2018
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса G к <i>Treponema pallidum</i> в реакции иммунофлюоресценции» «Антипаллидум-Флюороген IgG»	
03.05.02	80 определений	
03.05.03	100 определений	
03.19.1	Набор реагентов «Стандартная панель сывороток, содержащих и не содержащих антитела к <i>Treponema pallidum</i> » «Антипаллидум-Стандарт (+/-)» 8 флаконов	Не требует регистрации
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител всех классов к <i>Treponema pallidum</i> » «ИФА-антипаллидум-одностадийный PLUS»	№ РЗН 2022/17542 от 22.06.2022
03.25.1/1	Комплект № 1/1, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
03.25.1/2	Комплект № 1/2, 192 определения (с готовыми к применению конъюгатом и 2-х компонентным индикаторным раствором)	
03.25.2/1	Комплект № 2/1, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
03.25.2/2	Комплект № 2/2, 96 определений (с готовыми к применению конъюгатом и 2-х компонентным индикаторным раствором)	
03.25.3/1	Комплект № 3/1, 480 определений (с готовыми к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
03.25.3/2	Комплект № 3/2, 480 определений (с готовыми к применению конъюгатом и 2-х компонентным индикаторным раствором)	
МИКОПЛАЗМОЗ		
	Набор реагентов «ИФА-Мико-гоминис-IgA/IgM/IgG» Тест-система иммуноферментная для выявления антител классов А, М и G к <i>Mycoplasma hominis</i>	№ ФСР 2012/13564 от 26.04.2022
10.05	Комплект № 1 «ИФА-Мико-гоминис-IgA», 96 определений	
10.07	Комплект № 2 «ИФА-Мико-гоминис-IgM», 96 определений	
10.06	Комплект № 3 «ИФА-Мико-гоминис-IgG», 96 определений	
10.08	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител классов А, М и G к <i>Mycoplasma hominis</i> » «ИФА-Мико-гоминис-IgA/ IgM/ IgG» 96 определений	№ ФСР 2012/13564 от 26.04.2022

	Набор реагентов «Мико-Уреа-Хлами-флюороген» Диагностикум для выявления антигенов <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Mycoplasma pneumonia</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Chlamydia trachomatis</i> в реакции иммунофлюоресценции»	№ ФСР 2010/09793 от 10.05.2018
10.04	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антигенов <i>Mycoplasma hominis</i> в реакции иммунофлюоресценции» «Мико-гоминис-флюороген» Комплект № 1, 50 определений	
УРЕАПЛАЗМОЗ		
	Набор реагентов «ИФА-антиУреаплазма», тест-система иммуноферментная для одновременного и/или раздельного выявления иммуноглобулинов классов А и G к <i>Ureaplasma Urealyticum</i>	№ ФСР 2011/10176 от 10.05.2018
13.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления иммуноглобулинов классов А и G к <i>Ureaplasma Urealyticum</i> » «ИФА-антиУреаплазма IgA/IgG» 96 определений	
13.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов только класса А к <i>Ureaplasma Urealyticum</i> » «ИФА-антиУреаплазма IgA» 96 определений	
13.04	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов только класса G к <i>Ureaplasma Urealyticum</i> » «ИФА-антиУреаплазма IgG» 96 определений	
13.05	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к <i>Ureaplasma urealyticum</i> » «ИФА-антиУреаплазма-IgM» 96 определений	№ ФСР 2011/12494 от 30.09.2022
	Набор реагентов «Мико-Уреа-Хлами-флюороген» Диагностикум для выявления антигенов <i>Micoplasma hominis</i> , <i>Micoplasma pneumonia</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> и <i>Chlamydia trachomatis</i> в реакции иммунофлюоресценции	№ ФСР

13.01	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антигенов <i>Ureaplasma urealyticum</i> в реакции иммунофлюоресценции» «Уреаплазма-флюороген» Комплект № 3, 50 определений	2010/09793 от 10.05.2018
ХЛАМИДИОЗ		
	Набор реагентов «ИФА-антиХламидия» Тест-система иммуноферментная для выявления антител к <i>Chlamydia trachomatis</i>	№ РЗН 2014/1697 от 27.06.2022
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса А к <i>Chlamydia trachomatis</i> » «ИФА-антиХламидия-IgA»	
04.01.1/1	Комплект № 1/1, 92 определения (с готовым к применению индикаторным раствором)	
04.01.1/2	Комплект № 1/2, 92 определения (с готовым к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к <i>Chlamydia trachomatis</i> » «ИФА-антиХламидия-IgM»	№ РЗН 2014/1697 от 27.06.2022
04.01.2/1	Комплект № 2/1, 92 определения (с готовым к применению индикаторным раствором)	
04.01.2/2	Комплект № 2/2, 92 определения (с готовым к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к <i>Chlamydia trachomatis</i> » «ИФА-антиХламидия-IgG»	
04.01.3/1	Комплект № 3/1, 92 определения (с готовым к применению индикаторным раствором)	
04.01.3/2	Комплект № 3/2, 92 определения (с готовым к применению конъюгатом и индикаторным раствором)	

ИНФЕКЦИИ TORCH ГРУППЫ

Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
50.01.1	Набор реагентов для одновременного мультиплексного выявления антител классов G и M к антигенам возбудителей TORCH-комплекса: токсоплазма, краснухи, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом линейного иммуноблоттинга "Лайн-Блот TORCH -профиль" "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG" 24 определения	№ РЗН 2017/5248 от 13.01.2017
50.01.2	Набор реагентов для одновременного мультиплексного выявления антител классов G и M к антигенам возбудителей TORCH-комплекса: токсоплазма, краснухи, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1 и 2 типов методом линейного иммуноблоттинга "Лайн-Блот TORCH -профиль" "Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM" 24 определения	
ТОКСОПЛАЗМОЗ		
05.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса M к <i>Toxoplasma gondii</i> » «ИФА-Токсо-IgM» 96 определений	№ ФСР 2011/12068 от 14.02.2018
05.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к <i>Toxoplasma gondii</i> » «ИФА-Токсо-IgG» 96 определений	№ ФСР 2011/12071 от 28.03.2022
05.04.1/1 05.04.1/2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения индекса авидности видоспецифических иммуноглобулинов класса G к <i>Toxoplasma gondii</i> » «ИФА-антиТоксо-IgG-авидность» Комплект №1, 48 определений	№ ФСР 2011/12217 от 19.07.2022
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса G к <i>Toxoplasma gondii</i> в реакции иммунофлюоресценции "Токсоплазма - Флюороген-IgG"	№ РЗН 2015/3536 от 28.02.2018
05.06.1	Комплект № 1, 50 определений	
05.06.2	Комплект № 2, 100 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса M к <i>Toxoplasma gondii</i> в реакции» иммунофлюоресценции "Токсоплазма - Флюороген-IgM"	№ РЗН 2015/3486 от 28.12.2015
05.07.1	Комплект № 1, 50 определений	

05.07.2	Комплект № 2, 100 определений	
КРАСНУХА		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
06.01.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам вируса краснухи методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-Краснуха-IgG» 24 определения	Для научной деятельности
06.01.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса M к индивидуальным белкам вируса краснухи методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-Краснуха-IgM» 24 определения	Для научной деятельности
06.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса M к вирусу краснухи» «ИФА-Краснуха-IgM» 96 определений	№ ФСР 2012/13239 от 29.11.2021
06.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения антител класса G к вирусу краснухи» «ИФА-Краснуха-IgG» 96 определений	№ ФСР 2010/08229 от 24.05.2022
06.03.2/1 06.03.2/2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения индекса avidности видоспецифических иммуноглобулинов класса G к вирусу краснухи» «ИФА-антиКраснуха-IgG-авидность» Комплект № 2, 48 определений	№ ФСР 2011/12217 от 19.07.2022
ЦИТОМЕГАЛОВИРУС		
	Набор реагентов «Диагностикум выявления антител класса M к цитомегаловирусу в реакции иммунофлюоресценции» «ЦМВ-Флюороген-IgM»	№ РЗН 2017/5677 от 20.04.2017
07.04.1	Комплект №1, 50 определений	
07.04.2	Комплект №2, 100 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса G к цитомегаловирусу в реакции иммунофлюоресценции» «ЦМВ-Флюороген-IgG»	№ РЗН 2017/5512 от 22.03.2017
07.05.1	Комплект №1, 50 определений	
07.05.2	Комплект №2, 100 определений	

	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к цитомегаловирусу» «ИФА-ЦМВ-IgM»	№ ФСР 2007/01444 от 10.09.2021
07.01.1	Комплект №1, 96 определений	
07.01.2	Комплект №2, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу» «ИФА-ЦМВ-IgG»	№ ФСР 2008/03911 от 01.09.2021
07.02.1	Комплект №1, 96 определений	
07.02.2	Комплект №2, 96 определений	
07.03.3/1 07.03.3/2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения индекса avidности видоспецифических иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу» «ИФА-антиЦМВ-IgG-авидность» Комплект №3, 48 определений	№ ФСР 2011/12217 от 19.07.2022
07.06.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга» (формат «Вестерн-Блот»-тест подтверждающий) «ИФА-Блот-ЦМВ-IgM» 24 определения	№ РЗН 2016/4542 от 28.07.2016
07.06.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-ЦМВ-IgG» 24 определения	№ РЗН 2016/5067 от 30.11.2016
ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ИНФЕКЦИЯ		
08.01.3	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам вируса простого герпеса первого типа и специфическому гликопротеину G2 вируса простого герпеса второго типа методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-ВПГ-1,2-IgG» 24 определения	Для научной деятельност и
08.01.4	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к индивидуальным белкам вируса простого герпеса первого типа и специфическому гликопротеину G2 вируса простого герпеса второго типа методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-ВПГ-1,2-IgM» 24 определения	Для научной деятельност и

08.01.5	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к индивидуальным белкам вируса простого герпеса второго типа методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-ВПП-2-IgG» 24 определения	Для научной деятельности
08.01.6	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса M к индивидуальным белкам вируса простого герпеса второго типа методом иммунного блоттинга» «ИФА-Блот-ВПП-2-IgM» 24 определения	Для научной деятельности
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса M к вирусу простого герпеса I и II типа» «ИФА-ВПП 1+2-IgM»	№ ФСР 2007/01443 от 29.07.2021
08.01.1	Комплект №1, 96 определений	
08.01.2	Комплект №2, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса M к вирусам простого герпеса 1 и 2 типов» «ИФА-ВПП-1,2 Capture-IgM»	№ РЗН 2021/16115 от 21.12.2021
08.12	Комплект №1, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса I типа» «ИФА-ВПП-1-IgG»	№ ФСР 2011/11263 от 03.12.2020
08.02.1	Комплект №1, 96 определений	
08.02.2	Комплект №2, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 2 типа» «ИФА-ВПП-2-IgG»	№ ФСР 2009/06108 от 26.02.2021
08.03.1	Комплект №1, 96 определений	
08.03.2	Комплект №2, 96 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса I и II типов» «ИФА-ВПП-1+2-IgG»	№ ФСР 2011/11321 от 04.10.2021
08.04.1	Комплект №1, 96 определений	
08.04.2	Комплект №2, 96 определений	
08.05.4/1 08.05.4/2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения индекса avidности видоспецифических иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса простого I и II типов «ИФА-антиВПП-1+2-IgG-avidность» Комплект №4, 48 определений	№ ФСР 2011/12217 от 19.07.2022

	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса М к вирусу простого герпеса 1 типа в реакции иммунофлюоресценции» «ВПГ-1-Флюороген-IgM»	№ РЗН 2016/5017 от 17.11.2016
08.06.1	Комплект №1, 50 определений	
08.06.2	Комплект №2, 100 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса 1 типа в реакции иммунофлюоресценции» «ВПГ-1-Флюороген-IgG»	№ РЗН 2016/5227 от 10.01.2017
08.07.1	Комплект №1, 50 определений	
08.07.2	Комплект №2 100 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса М к вирусу простого герпеса 2 типа в реакции иммунофлюоресценции» «ВПГ-2-Флюороген-IgM»	№ РЗН 2015/3500 от 31.12.2015
08.08.1	Комплект №1/1, 50 определений	
08.08.2	Комплект №1/2, 100 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса 2 типа в реакции иммунофлюоресценции» «ВПГ-2-Флюороген-IgG»	
08.09.1	Комплект №2/1, 50 определений	
08.09.2	Комплект №2/2, 100 определений	
08.10	Набора реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 6 типа» «ИФА-ВГЧ6-IgG» 96 определений	№ РЗН 2020/9555 от 21.01.2020
08.11	Набора реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 8 типа» «ИФА-ВГЧ8-IgG» 96 определений	№ РЗН 2020/9556 от 21.01.2020
ВЕТРЯНАЯ ОСПА		
27.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса А к вирусу ветряной оспы» «ИФА - Ветряная оспа – IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/6461 от 09.11.2017

27.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления видоспецифических иммуноглобулинов класса М к вирусу ветряной оспы» «ИФА - Ветряная оспа – IgM» 96 определений	№ РЗН 2017/6460 от 09.11.2017
27.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и определения титра видоспецифических иммуноглобулинов класса G к вирусу ветряной оспы» «ИФА-Ветряная оспа-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/6141 от 23.08.2017
ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР		
26.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к капсидному антигену вируса Эпштейн-Барр» «ИФА-Эпштейн-Барр-IgM» 96 определений	Для научной деятельност и
26.02	Набор реагентов. «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к капсидному антигену вируса Эпштейн-Барр» «ИФА-Эпштейн-Барр-IgG» 96 определений	РЗН 2017/5571 от 01.02.2018

МИКОЗЫ

КАНДИДОЗ		
14.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса А к антигенам рода Кандида» «ИФА-Кандида-IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/6183 от 28.08.2017
14.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к антигенам рода Кандида» «ИФА-Кандида-IgM» 96 определений	№ РЗН 2017/6129 от 23.08.2017
14.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и определения титра антител класса G к антигенам рода Кандида» «ИФА-Кандида-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/6218 от 07.09.2017

ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫЕ И ЗООНОЗНЫЕ ИНФЕКЦИИ

БОРРЕЛИОЗ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
20.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов» Комплект №1, «ИФА-Лайм-боррелиоз-IgM», 96 определений	№ ФСР 2012/13211 от 30.09.2022
20.04	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов» Комплект №2, «ИФА-Лайм-боррелиоз-IgG», 96 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса М к <i>Borrelia burgdorferi</i> в реакции иммунофлюоресценции» «Боррелия-Флюороген-IgM»	№ РЗН 2016/3561 от 25.01.2016
20.05.1	Комплект №1/1, 50 определений	
20.05.2	Комплект №1/2, 100 определений	
	Набор реагентов «Диагностикум для выявления антител класса G к <i>Borrelia burgdorferi</i> в реакции иммунофлюоресценции» «Боррелия-Флюороген-IgG»	
20.05.3	Комплект №2/1, 50 определений	
20.05.4	Комплект №2/2, 100 определений	
БРУЦЕЛЛЕЗ		
24.02	Набор реагентов для определения антител к антигенам бактерий тифопаратифозной группы, бруцеллам и протею в реакции агглютинации «Анти-Бактантиген-Тест» «Brucella-реагент» 1000 определений	№ ФСР 2008/02480 от 02.07.2018

ВАКЦИНОУПРАВЛЯЕМЫЕ ИНФЕКЦИИ

ПАРОТИТ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
18.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу паротита» Комплект № 1, «ИФА-Паротит-IgM», 96 определений	№ ФСР 2012/13216 от 18.04.2022
18.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу паротита» Комплект № 2, «ИФА-Паротит-IgG», 96 определений	
КОРЬ		
19.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу кори» «ИФА-Корь-IgM» 96 определений	№ ФСР 2011/11322 от 13.05.2022
19.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения иммуноглобулинов класса G к вирусу кори» «ИФА-Корь-IgG» 96 определений	№ ФСР 2010/07674 от 24.05.2022
КОКЛЮШ и ПАРАКОКЛЮШ		
	Набор реагентов для выявления антител к возбудителям коклюша и паракоклюша в реакции агглютинации. «Коклюш-паракоклюш-РА»	№ ФСР 2011/11798 от 31.08.2018
53.01	Комплект №1: диагностикум коклюшный жидкий для реакции агглютинации, 40 определений	
53.02	Комплект №2: диагностикум паракоклюшный жидкий для реакции агглютинации, 50 определений	
53.03	Комплект №3: диагностикум коклюшный жидкий для реакции агглютинации, диагностикум паракоклюшный жидкий для реакции агглютинации, 40 определений	

ИНФЕКЦИИ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА

РЕСПИРАТОРНЫЙ МИКОПЛАЗМОЗ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
10.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> » «ИФА-Мико-пневмо-IgM» 96 определений	№ ФСР 2007/00330 от 30.07.2018
10.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> » «ИФА-Мико-пневмо-IgG» 96 определений	№ ФСР 2009/04111 от 27.06.2022
РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ		
22.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к респираторно-синцитиальному вирусу» «ИФА-РСВ-IgM» 96 определений	№ РЗН 2017/5933 от 10.07.2017
22.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к респираторно-синцитиальному вирусу» «ИФА-РСВ-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/6094 от 10.08.2017
ГРИПП И ПАРАГРИПП		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
29.06.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу гриппа Б» «ИФА-Грипп Б-IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/5998 от 20.07.2017
29.06.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу гриппа Б» «ИФА-Грипп Б-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/6261 от 19.09.2017
29.05.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу гриппа А» «ИФА-Грипп А-IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/5996 от 20.07.2017

29.05.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу гриппа А» «ИФА-Грипп А-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/6332 от 06.10.2017
29.01.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу парагриппа 1 типа» «ИФА-Парагрипп 1-IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/5602 от 11.04.2017
29.02.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу парагриппа 2 типа» «ИФА-Парагрипп 2-IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/5636 от 12.04.2017
29.03.1	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса А к вирусу парагриппа 3 типа» «ИФА-Парагрипп 3-IgA» 96 определений	№ РЗН 2017/5559 от 23.03.2017
29.01.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу парагриппа 1 типа» «ИФА-Парагрипп 1-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/5767 от 22.05.2017
29.02.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу парагриппа 2 типа» «ИФА-Парагрипп 2-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/5809 от 31.05.2017
29.03.2	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу парагриппа 3 типа» «ИФА-Парагрипп 3-IgG» 96 определений	№ РЗН 2017/5688 от 24.04.2017

ПАРАЗИТАРНЫЕ ИНВАЗИИ

ЛЯМБЛИОЗ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
17.02	Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к антигенам рода <i>Lamblia intestinalis</i> «ИФА-Лямблиоз- IgM» 96 определений	Для научной деятельности
17.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления суммарных иммуноглобулинов к антигенам рода <i>Lamblia intestinalis</i> » «ИФА-Лямблиоз-антитела» 96 определений	№ РЗН 2016/4962 от 11.06.2021

АСКАРИДОЗ		
17.04	Набор реагентов «Тест-система для выявления иммуноглобулинов класса G к <i>Ascaris lumbricoides</i> » «ИФА-Аскаридоз-IgG» 96 определений	№ РЗН 2016/4998 от 06.08.2021
ОПИСТОРХОЗ		
17.05	Набор реагентов «Тест-система для выявления антител класса G к антигенам рода <i>opisthorchis</i> » «ИФА-Описторхоз-IgG» 96 определений	№ РЗН 2016/4997 от 20.04.2021
ТОКСОКАРОЗ		
17.07	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к возбудителю токсокароза» «ИФА-Токсокароз-IgG» 96 определений	РЗН 2018/6964 от 13.10.2021
ЭХИНОКОККОЗ		
17.06	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к возбудителю эхинококкоза» «ИФА-Эхинококкоз-IgG» 96 определений	РЗН 2019/9525 от 16.01.2020
ТРИХИНЕЛЛЁЗ		
17.08	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам трихинелл» «ИФА-Трихинеллёз-IgG» 96 определений	№ РЗН 2022/18567 от 18.10.2022

ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

ХЕЛИКОБАКТЕРНАЯ ИНФЕКЦИЯ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация, РУ
09.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса A к антигену <i>CagA Helicobacter pylori</i> » «ИФА-Хеликобактер-IgA» 96 определений	№ ФСР 2010/08509 от 24.05.2022
09.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к антигену <i>CagA Helicobacter pylori</i> » «ИФА-Хеликобактер-IgG» 96 определений	№ ФСР 2010/08510 от 18.04.2022

09.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов классов А, М и G к <i>Helicobacter pylori</i> «ИФА-хеликобактер CagA-антитела» 96 определений	№ РЗН 2022/16322 от 17.01.2022
АДЕНОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ		
28.02	Набор реагентов «Тест система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к аденовирусу «ИФА-Аденовирус-IgM» 96 определений	Для научной деятельности
28.03	Набор реагентов «Диагностикум латексный для выявления аденовирусного антигена» «Аденоскрин-латекс-тест» 50 определений	№ РЗН 2013/248 от 10.05.2018
28.04	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для выявления и определения титра иммуноглобулинов класса G к аденовирусу» «ИФА-Аденовирус-IgG» 96 определений	РЗН 2018/7019 от 09.04.2018
РОТАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ		
55.01	Набор реагентов «Диагностикум латексный для выявления ротавирусного антигена» «Ротаскрин-латекс-тест» 50 определений	№РЗН 2013/248 от 10.05.2018
КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ		
	Набор реагентов для определения антител к антигенам бактерий тифопаратифозной группы, бруцеллам и протее в реакции агглютинации «Анти-Бактантген-Тест»	№ ФСР 2008/02480 от 02.07.2018
23.01	<i>Salmonella paratyphi</i> АН-реагент 250 определений	
23.02	<i>Salmonella paratyphi</i> АО-реагент 250 определений	
23.03	<i>Salmonella paratyphi</i> ВН-реагент 250 определений	
23.04	<i>Salmonella paratyphi</i> ВО-реагент 250 определений	№ ФСР 2008/02480 от 02.07.2018
23.07	<i>Salmonella typhi</i> Н – реагент 250 определений	
23.08	<i>Salmonella typhi</i> О –реагент 250 определений	
	«Иерсиния РПГА» «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам иерсиний, <i>Y.enterocolitica</i> О3, <i>Y.enterocolitica</i> О9 и <i>Y. Pseudotuberculosis</i> , в реакции пассивной гемагглютинации»	№ РЗН 2020/13147 от 12.01.2021
42.12	«Иерсиния РПГА» Комплект энтероколита О3 «Набор реагентов для определения антител к индивидуальному О-антигену <i>Y.enterocolitica</i> О3 в реакции пассивной гемагглютинации»	

	12 анализов	
42.13	«Иерсиния РПГА» Комплект энтероколита О9 «Набор реагентов для определения антител к индивидуальному О-антигену <i>Y.enterocolitica</i> О9 в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
42.14	«Иерсиния РПГА» Комплект псевдотуберкулез «Набор реагентов для определения антител к индивидуальному О-антигену <i>Y. Pseudotuberculosis</i> в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
42.15	«Иерсиния РПГА» Комплект общий «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам иерсиний, <i>Y.enterocolitica</i> ОЗ, <i>Y.enterocolitica</i> О9 и <i>Y. Pseudotuberculosis</i> , в реакции пассивной гемагглютинации» 36 анализов	
	«Иерсиния РПГА лиофилизат» «Диагностикум эритроцитарный иерсиниозный для РПГА, лиофилизат»	
42.17	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 1 Диагностикум иерсиниозный общий 72 анализа	
42.18	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 2/1 Диагностикум кишечной иерсиниозный ОЗ 72 анализа	
42.19	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 2/2 Диагностикум кишечной иерсиниозный ОЗ 144 анализа	№ РЗН 2021/15255 от 07.09.2021
42.20	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 3/1 Диагностикум кишечной иерсиниозный О9 72 анализа	
42.21	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 3/2 Диагностикум кишечной иерсиниозный О9 144 анализа	
42.22	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 4/1 Диагностикум псевдотуберкулезный 72 анализа	
42.23	«Иерсиния РПГА лиофилизат» Комплект 4/2 Диагностикум псевдотуберкулезный 144 анализа	
	«Шигелла РПГА» Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера в реакции пассивной гемагглютинации»	
42.24	«Шигелла РПГА» Комплект общий Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Зонне и Флекснера в реакции пассивной гемагглютинации» 36 анализов	№ РЗН 2022/17953 от 11.08.2022

42.25	«Шигелла РПГА» Комплект Флекснер 1-5 Набор реагентов для определения антител к О-антигенам шигелл Флекснера 1-5 в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	№ РЗН 2022/17953 от 11.08.2022
42.26	«Шигелла РПГА» Комплект Флекснер 6 Набор реагентов для определения антител к О-антигену шигеллы Флекснера 6 в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
42.27	«Шигелла РПГА» Комплект Зонне Набор реагентов для определения антител к О-антигену шигеллы Зонне в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
БРЮШНОЙ ТИФ		
42.01	«Vi-сальмонелла РПГА» Набор реагентов для выявления антител к Vi-антигену возбудителя брюшного тифа в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), в формате качественного и полуколичественного тестов. 64 определения (качественный анализ) 12 определений (полуколичественный анализ)	№ РЗН 2016/4924 от 24.10.2016
САЛЬМОНЕЛЛЁЗЫ		
42.03	«О-комплекс Сальмонелла РПГА» Набор реагентов для определения антител к комплексу О-антигенов сальмонелл групп А, В, С1, С2, D, Е в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) 24 анализа	№ РЗН 2018/6973 от 21.09.2021
	«О-группа Сальмонелла РПГА» «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл групп А (1,2,12), В (1,4,12), С1 (6,7), С2 (6,8), D (1,9,12), Е (3,10) в реакции пассивной гемагглютинации»	№ РЗН 2020/10116 от 29.04.2020
42.11	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект общий «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл групп А (1,2,12), В (1,4,12), С1 (6,7), С2 (6,8), D (1,9,12), Е (3,10) в реакции пассивной гемагглютинации» 72 анализа	
42.05	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект А «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл группы А (1,2,12) в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
42.06	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект В «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл группы В (1,4,12) в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	

42.07	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект С1 «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл группы С1 (6,7) в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
42.08	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект С2 «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл группы С2 (6,8) в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	№ РЗН 2020/10116 от 29.04.2020
42.09	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект D «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл группы D (1,9,12) в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
42.10	«О-группа Сальмонелла РПГА» Комплект E «Набор реагентов для определения антител к индивидуальным О-антигенам сальмонелл группы E (3,10) в реакции пассивной гемагглютинации» 12 анализов	
ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ОЦЕНКА ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ		
60.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения общего трийодтиронина (Т3)» «ИФА-Трийодтиронин общий» 96 определений	№ РЗН 2016/3608 от 06.08.2021
60.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения общего тироксина (Т4)» «ИФА-тироксин-общий» 96 определений	№ РЗН 2015/2752 от 06.08.2021
60.03	Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для количественного определения тиреотропного гормона» "ИФА-ТТГ" 96 определений	№ РЗН 2015/3484 от 28.03.2022
60.05	Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для количественного определения свободного тироксина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Тироксин-свободный" 96 определений	РЗН 2021/14441 от 27.05.2021
60.06	Набор реагентов «Тест- система иммуноферментная для количественного определения свободного трийодтиронина в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-Трийодтиронин-свободный" 96 определений	№ РЗН 2022/17526 от 14.06.2022 г.

60.07	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения аутоантител к тиреопероксидазе в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-ат-ТПО" 96 определений	Для научной деятельности
60.08	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения аутоантител к тиреоглобулину в сыворотке (плазме) крови человека» "ИФА-ат-ТГ" 96 определений	Для научной деятельности
ОЦЕНКА ФУНКЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ		
64.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения тестостерона в сыворотке крови человека» «ИФА-Тестостерон» 96 определений	РЗН 2021/14496 от 01.06.2021

ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ

ОНКОЗАБОЛЕВАНИЯ		
61.01	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения общего простатического антигена» «ИФА-общий ПСА» 96 определений	№ РЗН 2015/2753 от 27.01.2022
61.02	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения раково-эмбрионального антигена в сыворотке крови человека» «ИФА-РЭА» 96 определений	№ РЗН 2017/5594 от 31.05.2021
61.03	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения альфа-фетопротеина в сыворотке крови человека» «ИФА-АФП» 96 определений	№ РЗН 2017/5430 от 31.05.2021
61.04	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения СА19-9 в сыворотке крови человека» «ИФА-СА19-9» 96 определений	РЗН 2018/7104 от 28.04.2018
61.05	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения антигена СА-125 в сыворотке крови человека» «ИФА-СА-125» 96 определений	РЗН 2018/7659 от 02.10.2018

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

1 ТРИМЕСТР		
60.04	Набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для количественного определения свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина человека в сыворотке крови человека» «ИФА-свободная β -ХГЧ» 96 определений	РЗН 2018/7272 от 31.05.2021

ДИАГНОСТИКА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРОБОВ

Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
СТАФИЛОКОККИ		
52.01	Плазма кроличья цитратная сухая 10 флаконов по 1мл	№ ФСР 2008/03336 от 11.07.2022
52.02	Набор реагентов для диагностики вирусных и бактериальных инфекций с помощью реакции агглютинации латекса «Стафи-латекс-тест» 50 определений	№РЗН 2013/248 от 10.05.2018
СТРЕПТОКОККИ		
54.01	Набор реагентов для диагностики вирусных и бактериальных инфекций с помощью реакции агглютинации латекса «Стрепто-латекс-тест» 50 определений	№РЗН 2013/248 от 10.05.2018

АУТОИМУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

РЕВМАТОИДНЫЙ ФАКТОР		
11.01	Набор реагентов для определения ревматоидного фактора в реакции агглютинации латекса «РФ латекс-тест» 250 определений	№ ФСР 2008/02109 от 20.04.2021
АНТИСТРЕПТОЛИЗИН-О		
	Набор реагентов для определения антистрептолизина-О в реакции агглютинации латекса «АСО латекс-тест»	№ ФСР 2007/00069 от 29.07.2021
11.02.1	100 определений	
11.02.2	250 определений	

ЗАБОЛЕВАНИЯ ОСТРОЙ ФАЗЫ

С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА		
12.01	Набор реагентов для определения С-реактивного белка в реакции агглютинации латекса «СРБ латекс-тест» 250 определений	№ ФСР 2011/12205 от 24.05.2021
12.02	Набор реагентов «Сыворотка диагностическая к С-реактивному белку» 50 определений	№ ФСР 2012/13221 от 10.10.2018

ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА (ИХА)

ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
	Набор реагентов "Тест-система иммунохроматографическая для выявления гемоглобина в образцах кала" "ИХА-Скрытая кровь"	№ РЗН 2019/9244 от 02.12.2020
71.01.1	Комплект №1, 1 определение (для самотестирования)	
71.01.2	Комплект №2, 25 определений	
71.01.3	Комплект №3, 100 определений	
	Набор реагентов "Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения раково-эмбрионального антигена (РЭА) в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека" "ИХА-РЭА"	№ РЗН 2020/12728 от 30.11.2020
76.01.1	Комплект №1, 10 определений	
76.01.2	Комплект №2, 25 определений	
76.01.3	Комплект №3, 40 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для полуколичественного определения простатического специфического антигена (ПСА) в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-ПСА»	№ РЗН 2022/16698 от 18.03.2022
80.01.1	Комплект №1, 10 определений	
80.01.2	Комплект №2, 25 определений	
80.01.3	Комплект №3, 40 определений	
КАРДИОМАРКЕРЫ		
	Набор реагентов "Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения Д-димера в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека" "ИХА-Д-димер"	№ РЗН 2019/8987 от 07.10.2019
72.01.1	Комплект №1, 10 определений	
72.01.2	Комплект №2, 25 определений	

	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения тропонина I в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-Тропонин I»	№ РЗН 2019/9077 от 21.10.2019
73.01.1	Комплект №1, 10 определений	
73.01.2	Комплект №2, 25 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения МВ-фракции креатинкиназы в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-КК-МВ»	№ РЗН 2019/9078 от 21.10.2019
74.01.1	Комплект №1, 10 определений	
74.01.2	Комплект №2, 25 определений	
	«Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения миоглобина в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-Миоглобин»	№ РЗН 2019/9412 от 19.12.19
75.01.1	Комплект №1, 10 определений	
75.01.2	Комплект №2, 25 определений	
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ		
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления Helicobacter pylori в образцах кала человека» «ИХА-Хелико-антиген»	№ РЗН 2019/9188 от 07.11.19
86.01.1	Комплект №1, 10 определений	
86.01.2	Комплект №2, 25 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антител к Helicobacter pylori в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-Хелико-антитела»	№ РЗН 2022/16366 от 21.01.2022
88.01.1	Комплект №1, 10 определений	
88.01.2	Комплект №2, 25 определений	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления Lamblia intestinalis в образцах кала человека» «ИХА-Лямблии»	№ РЗН 2020/12636 от 23.11.20
87.01.1	Комплект №1, 10 определений	
87.01.2	Комплект №2, 20 определений	
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРОБЫ		
	Набор реагентов "Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов стрептококка группы А в образцах фарингеальных мазков человека" "ИХА-СтрептоА"	№ РЗН 2019/9307 от 02.12.2019
78.01.1	Комплект №1, 10 определений	
78.01.2	Комплект №2, 25 определений	
ИНФЕКЦИИ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА		
	Набор реагентов "Тест-система иммунохроматографическая для выявления антигенов вируса гриппа типов А и В образцах назальных мазков человека" "ИХА-Грипп А и В"	№ РЗН 2020/9860 от 03.04.2020
77.01.1	Комплект №1, 10 определений	

77.01.2	Комплект №2, 25 определений	
	Набор реагентов "Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления респираторно-синцитиального вируса в образцах назальных и фарингеальных мазков человека" "ИХА-PCB"	№ РЗН 2020/10180 от 14.05.2020
79.01.1	Комплект №1, 10 определений	
79.01.2	Комплект №2, 25 определений	
КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ		
Кат. №	Наименование, краткая характеристика	Информация , РУ
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека» «ИХА-COVID-19-IgM/IgG»	№ РЗН 2020/11955 от 14.09.2020
98.01.1	Комплект №1 (1 опред.) набор	
98.01.2	Комплект №2 (25 опред.) набор	
98.01.3	Комплект №3 (50 опред.) набор	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах назофарингеальных мазков человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag»	№ РЗН 2022/18810 от 16.11.2022
99.01.1	Комплект №1 (25 опред.) набор	
99.01.2	Комплект №2 (50 опред.) набор	
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления антигенов вируса SARS-CoV-2 в образцах слюны человека» «ИХА-SARS-CoV-2-Ag saliva»	Для научной деятельност и
99.02.1	Комплект №1 (1 опред.) набор	
Витамин D		
	Набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для полуколичественного определения множественных форм 25-гидроксивитамина D в цельной капиллярной крови человека» «ИХА-Витамин D-полуколичественный»	Для научной деятельност и
85.01.1	Комплект №1 (1 опред.)	



ДОМ
МОЛОДЕЖИ



Благодарственное



ПИСЬМО

Муниципальное учреждение по работе с молодёжью
«Молодёжный центр городского округа Электрогорск
Московской области»

БЛАГОДАРИТ

ЗАО «ЭКОлаб

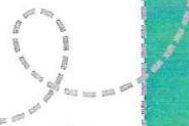
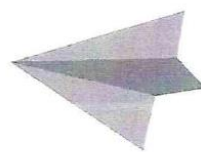
за регулярную, безвозмездную помощь лекарственными
средствами и медицинскими изделиями, для военнослужащих
в зоне СВО и гражданского населения и больниц
ДНР, ЛНР, Херсонской и Запорожской областей

Директор
МУ по работе с молодёжью
«Молодёжный центр
г.о.Электрогорск МО»



Е.А.Черналова

декабрь 2022г.



Научное издание

**ИССЛЕДОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА, ПРОИЗВОДСТВО
И РЕАЛИЗАЦИЯ «КОМПЛЕКСА МЕТОДИЧЕСКИХ,
РЕАКТИВНЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ»**

Подписано в печать 13.04.2023.
Формат 60х84/8. Усл. печ. л. 37.67.

ЗАО «ЭКОлаб»