

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Ротанов С.В.^{1,2}, Марданлы С.Г.^{1,3}, Акиншина Ю.А.¹, Марданлы А.Г.⁴

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ У ЧЕЛОВЕКА АНТИГЕНОВ КОРОНАВИРУСА И ВИРУСОВ ГРИППА А И В НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

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

²ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), 142279, г. о. Серпухов, п. Оболенск, Россия

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

⁴«Нахчыванский государственный университет», AZ7012, Нахчыван, Азербайджан

Представлены результаты разработки и апробации с клиническими образцами нового отечественного набора реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для качественного определения антигена коронавируса SARS-CoV-2 и антигенов вирусов гриппа А и В в биологическом материале человека «ИХА-КОВИГРИПП» по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024». Представлен композитный состав иммунохроматографических (ИХ) тест-полосок и указания по использованию. В расширенных доклинических испытаниях показаны высокие характеристики клинической чувствительности, специфичности, воспроизводимости (по 100%), установлена аналитическая чувствительность набора (предел обнаружения) по отношению к стандартным образцам предприятия и ряду международных вирус- и антиген-содержащих стандартов. В серии испытаний оценён ряд потенциально интерферирующих лекарственных веществ и перекрёстно реагирующих культур микроорганизмов, содержащихся в клинических пробах у обследуемых лиц с подозрением на ОРВИ. Не установлено влияния интерферирующих средств в изученных концентрациях и циркулирующих в популяции микроорганизмов на положительные или отрицательные результаты ИХ исследования с новым набором. Набор ИХ реагентов представлен к официальной регистрации в Российской Федерации.

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

Для цитирования: Ротанов С.В., Марданлы С.Г., Акиншина Ю.А., Марданлы А.Г. Дифференцированное качественное определение у человека антигенов коронавируса и вирусов гриппа А и В на основе технологии иммунохроматографического анализа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (10): 536-547.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-10-536-547>

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

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.08.2024

Принята к печати 23.08.2024

Опубликовано 00.10.2024

Rotanov S.V.^{1,2}, Mardanly S.G.^{1,3}, Akinshina Yu.A.¹, Mardanly A.G.⁴

DIFFERENTIATED QUALITATIVE DETERMINATION OF CORONAVIRUS AND INFLUENZA A AND B VIRUS IN HUMANS BASED ON IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ANALYSES TECHNOLOGY

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

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

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

⁴"Nakhchivan State University", AZ7012, Nakhchivan, Azerbaijan

The article presents the results of the development and testing with clinical samples of a new domestic reagent kit «Immunochromatographic test system for the qualitative determination of the SARS-CoV-2 coronavirus antigen and influenza A and B virus antigens in human biological material «ИХА-КОВИГРИПП» according to TU 21.20.23-379-70423725-2024». The composition of immunochromatographic test strips and instructions for use are presented. Extended preclinical trials showed high characteristics of clinical sensitivity, specificity and reproducibility (100% each), the analytical sensitivity of the kit (detection limit) in relation to standard samples of the enterprise and a number of international virus- and antigen- containing standards was established. A series of tests evaluated a number of potentially interfering drugs and cross-reacting cultures of microorganisms contained in clinical samples of individuals suspected of having acute respiratory inflammatory infection. No effect of interfering agents in the studied concentrations and microorganisms circulating in the population on positive or negative results of the IHCA study with the new kit was established. The reagent kit is submitted for official registration in the Russian Federation.

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

For citation: Rotanov S.V., Mardanly S.G., Akinshina Yu.A., Mardanly A.G Differentiated qualitative determination of coronavirus and influenza A and B virus antigens in humans based on immunochromatographic analysis technology. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (10): 536-547 (in Russ.)
DOI: https://doi.org/10.15620/0869-2084-2024-69-10-536-547

For correspondence: Akinshina Yulia Aleksandrovna, specialist of the Innovative Development Department CJSC “EKOlabor”;
e-mail: akinshina.opr@mail.ru

Information about authors:

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

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

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

Mardanly A.G., <https://orcid.org/0009-0001-1591-1849>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 17.08.2024

Accepted 23.08.2024

Published 00.10.2024

Введение. По данным официальной статистической отчётности острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) в настоящее время занимают первое место в структуре всех инфекционных заболеваний человека, что определяет эту патологию как одну из самых актуальных медицинских проблем [1]. Пандемия новой коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, которую наблюдали с 2019 г. по май 2023 г., внесла изменение в структуру эпидемиологических показателей ОРВИ. На пике эпидемии коронавирусной инфекции в Российской Федерации (2020-2021 гг.) циркуляция всех типов вирусов гриппа в популяции большинства регионов практически прекратилась. В следующие эпидемические сезоны (2021-2022 и 2022-2023 гг.) наблюдалось постепенное возвращение вирусов гриппа в человеческую популяцию: преимущественно подтипа A(H₃N₂), с небольшим участием подтипа вируса гриппа B Викторианской линии и при отсутствии подтипа A(H₁N₁)pdm09. К концу 2023 года соотношение и выявление типов вирусов гриппа вновь претер-

пело изменение и составило: 3,3, 30,3, 66,5% соответственно [2].

Эпидемиологические показатели заболеваемости населения Российской Федерации различными типами ОРВИ систематически отслеживаются и публикуются на страницах электронного ресурса ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава РФ [3]. В структуре заболеваемости населения ОРВИ в настоящее время помимо COVID-19 и гриппа представлены инфекции, вызываемые вирусами парагриппа 1-4 типов, аденовирусами, респираторно-синцитиальными (RS) и другими риновирусами, сезонными коронавирусами, метапневмовирусами и др. Интенсивные эпидемиологические показатели суммарной заболеваемости ОРВИ и гриппом в России довольно высокие (рис. 1).

По статистическим показателям Роспотребнадзора в России в 2022 г. ОРВИ переболело 29,1% населения страны, в 2023 г. этот показатель снизился до 23,6%. Одновременно постоянно сообщается о регистрации на территории РФ новых случаев COVID-19 инфекции.

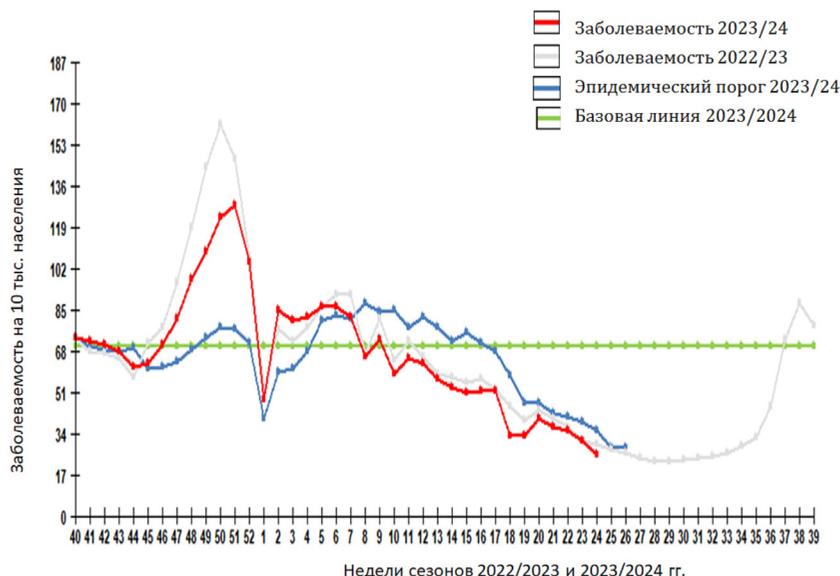


Рис. 1. Сравнительные данные по заболеваемости гриппом и ОРВИ в городах России в сезоны 2022/23 и 2023/24 гг. (цит. по электронному ресурсу ФГБУ НИИ гриппа» Минздрава РФ [3]).

Клиническая картина ОРВИ не имеет чётко выраженных признаков, позволяющих чётко осуществлять дифференциальную диагностику заболевания. Для этого необходимо проводить клинические лабораторные исследования с применением молекулярно-генетических тестов. Для ранней клинической диагностики типа ОРВИ (особенно в случаях тяжёлых острых респираторных инфекций - ТОРИ), и своевременного принятия решения по началу оказания пациентам необходимой лечебной помощи, организации и проведения противоэпидемиологических мероприятий в очагах инфекции в настоящее время регламентируется применение диагностических лабораторных исследований на основе иммунохроматографического анализа (ИХА).

На сайтах ведущих отечественных производителей диагностических средств широко представлены комплекты для проведения ИХА исследований, как в формате обследования с качественным определением антигенов вируса гриппа (типа А и В), RS-вируса, вируса SARS-CoV-2 и других, а также специфических иммуноглобулинов по отношению к большинству этих возбудителей [4-6]. Преимуществами применения технологии ИХА является доступность проведения такого исследования при отсутствии необходимости использования дорогостоящего лабораторного оборудования, при небольших затратах времени на выполнение теста и получении при этом высокоспецифичного и высокочувствительного достоверного результата, длительные сроки годности наборов без снижения аналитических характеристик. Несколько снижает ценность ИХА теста то обстоятельство, что при проведении значительного количества ИХА-тестов исследователь получает только качественный результат, подтверждающий или исключающий содержание определяемого анализата в изучаемой пробе.

Цель исследования: разработка нового отечественного набора реагентов в формате комбинированной иммунохроматографической тест-кассеты для одновременного качественного дифференцированного определения в образцах биоматериала человека (мазках из носо- и ротоглотки или в слюне) антигенов коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А и В для дифференциации этих заболеваний у пациента, и расширенная клиническая оценка разработанного нового медицинского изделия.

Материал и методы. При конструировании новой тестовой ИХ полоски применены технологические подходы и опыт практического создания сложных композитных ИХ мембран, дискретно содержащих различные специфические реагенты для определения нескольких изучаемых вирусных антигенов одновременно, поскольку это обеспечивает возможность выполнения диагностического исследования в рамках одной лабораторной постановки [7-10].

В работе использованы разные виды биологического материала человека: мазки-соскобы со слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки, слюна пациентов.

В соответствии с разработанным дизайном применена техника конструирования многослойной ИХ тест-полоски, состоящей из композитов различного предназначения:

подложку полилита формировали бумагой силико-

низированной размером 60x4,0 мм и толщиной 0,2-0,6 мм (фирма ООО «ПКФ Современные технологии», Россия, кат. № ИНА-100);

в качестве иммуносорбента применяли полоску нитроцеллюлозной мембраны, характеризующуюся высокой пропускной способностью, размером 60x4,0 мм и толщиной 185 мкм ± 20% (фирма «MDI», Индия, Type CNPC-SS12, 15 мкм), с нанесёнными реагентами:

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

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

- на тестовую линию «Т» - моноклональными антителами к антигену N SARS-CoV-2 (в концентрации ≥0,5 мг/мл в трисовом буфере; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3CV4);

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

на стрип размещали мембрану для нанесения конъюгата размером 9x4,0 мм (фирма «MDI», Индия, Type PT-R1), с нанесёнными и высушенными конъюгатами: антител к вирусу гриппа типа В (в концентрации ≥1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3BH9), антител к вирусу гриппа типа А (в концентрации ≥1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. № 3IN5, клон InA224), антител к вирусу SARS-CoV-2 (в концентрации ≥1 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; ООО «Хайтест», Россия, кат. №3CV4), иммуноглобулинами мыши класса IgG (в концентрации ≥0,5 мг/мл в фосфатном буфере с pH 7,4; АО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 264.1) с коллоидными наночастицами золота (размер - 30-80 нм);

в участке для внесения образца размещали впитывающую мембрану размером 20x4,0 мм, толщиной 0,6-0,8 мм и плотностью 270±20 г/м² (фирма «MDI», Индия, Type GFB-R7L);

для адсорбции жидкой фазы с растворами и реагентами, не вступившими в реакцию веществами, применяли мембраны размером 16x4,0 мм, толщиной 0,2-0,5 мм и плотностью 179±5 г/м² (фирма «MDI», Индия, Type AP110).

Для приготовления буферных растворов и растворов реагентов применяли деионизованную воду с удельным сопротивлением 18,2 Ом·м при 25° С (набор сорбирующих колонок «Simplicity System», фирмы «Millipore», США). Стерилизующую фильтрацию неионизированной воды и солевых растворов обеспечивали их пропусканием через фильтрующую колонку со стандартным набором (предфильтр и фильтры с калиброванной величиной пор - 0,45 и 0,22 мкм; фирмы «Millipore», США).

С учётом особого вида биоматериала, применяемого для диагностического исследования с разрабатываемым изделием, в комплектацию набора реагентов включили необходимые комплектующие:

- пластиковую микропробирку с буферным раствором для приготовления образца со встроенной ка-

пельницей (Cangzhou ShengFeng Plastic Product Co., Ltd., Китай), содержащий 0,3 мл 0,01 М фосфатного буфера (pH-7,2-7,4) с твин-20 2,5% (фирмы «ROTH», Германия, кат. № 9127.2) и азидом натрия 0,1% (фирмы ДИА-М, Россия, кат. № 3402);

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

Лабораторные исследования в процесс разработки и проведения внутренних клинических испытаний по оценке диагностических показателей с новым набором реагентов обеспечены клиническими образцами биологических материалов, предоставленными из нескольких медицинских организаций (в соответствии с договорами о безвозмездном сотрудничестве):

ООО «ИНВИТРО» (лицензия ЛО-77-01-012556 от 22.06.2016 г.);

ГБУЗ МО «Электрогорская клиническая больница» (лицензия Л041-01162-50/00344915 от 19 февраля 2015 г.);

Диагностического Центра «El Clinic» АО «ЭКОлаб» (лицензия № Л041-01162-50/00365571 от 08.04.15 г.);

ГБУЗ Орехово-Зуевская станция переливания крови (Лицензия ЛО-50-01-005260 от 02.04.14 г.).

Всего использовано 600 охарактеризованных и заведомо подтвержденных образцов клинического материала (аттестованных на содержание антигенов изучаемых вирусов с помощью наборов реагентов «КовидЭк Директ» (АО «Эколаб», Россия) и ГриппКомплекс А/В (ООО «НПО ДНК-Технология ТС», Россия); из них:

450 мазков из носоглотки, ротоглотки или образцов слюны, полученных от пациентов с диагнозом «COVID-19» или грипп А/В, которые при верификации показывали положительные результаты лабораторных исследований; в том числе 225 проб, одновременно взятых из трёх разных локусов (носоглотка, ротоглотка, слюна);

150 мазков из носоглотки, ротоглотки и образцов слюны, взятых от условно-здоровых людей, не имевших в анамнезе симптомов ОРВИ и верифицированных с референсными наборами реагентов как отрицательные, то есть не содержавшие вирусов коронавируса SARS-CoV-2 и антигенов вирусов гриппа А и В; в

том числе 75 проб, одновременно взятых из трёх разных локусов (носоглотка, ротоглотка, слюна).

Для изучения возможной интерференции различных эндогенных веществ и лекарственных препаратов на результаты ИХА с набором «ИХА-КОВИГРИПП» смоделированы различные варианты биологических проб (на основе образцов слюны), содержавших и не содержавших один из определяемых антигенов (вируса SARS-CoV-2 или вирусов гриппа типов А и В) и дополнительно содержавших цельную кровь или мочи (n=3) противовирусные препараты (n=9), антибиотики (n=18) или стероидные гормоны (n=9), назальные спреи, мази и муколитики (n=12), анестетики, антипиретики и анальгетики (n=5), витамины (n=4), прочие (n=1); всего смоделировано 244 опытных образца (4 варианта по содержанию одного антигена вирусов или их отсутствию x 61 испытанное лекарственное средство).

Определение вероятной перекрёстной антигенной реактивности и выявление возможности регистрации ложных результатов в ИХА с набором «ИХА-КОВИГРИПП» проведены исследования с 55 клиническими образцами слюны, в которую в условиях лаборатории внесены образцы сопутствующей микрофлоры, наиболее часто циркулирующей в человеческой популяции, в препаративных количествах, позволяющих выявлять эти микроорганизмы лабораторными методами (в ИФА или ПЦР).

Для проведения внутренних доклинических испытаний в стандартных производственных условиях по разработанному ТУ 21.20.23-368-70423725-2024 выпущены 6 опытных серий разработанного набора реагентов «ИХА-КОВИГРИПП»: серии 1, 2, 3 со сроком годности до 01.04.27 г., серии 4, 5, 6 со сроком годности до 10.06.26 года.

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

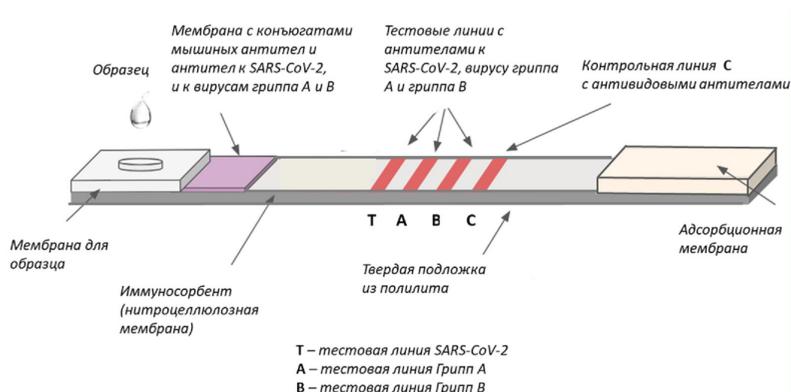


Рис. 2. Структура разработанной комбинированной ИХА тест-полоски набора реагентов по одновременному качественному определению антигенов SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А и В.

В качестве референтных тест-систем для верификации результатов ИХА и решения спорных результатов исследований использованы результаты ПЦР-РВ по детекции РНК изучаемых вирусов:

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

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

Все оперативные манипуляции, связанные с забором образцов биологического материала от пациента, их подготовкой и процедурой лабораторного исследования, выполняли с точным соблюдением предписаний, содержащихся в прилагаемых к наборам и приборам инструкциях по применению.

Результаты и обсуждение. Опираясь на имеющийся производственный опыт разработки сложных многопараметрических ИХ тест-полосок [7, 10] решено использовать формат размещения всех тестовых линий на одной удлиненной композитной мембране в следующем порядке: для определения антигена SARS-CoV-2 (Т), для вируса гриппа А (А) и для вируса гриппа В (В), а также зоны общего контроля (С) (рис. 2).

Разработанный композитный ИХ стрип после мастирита вкладывали в индивидуальную пластиковую кассету (контейнер из пластика размером 70x20 мм) с окончатными отверстиями: круглым - для внесения исследуемого образца и прямоугольным - для аналитической зоны (маркирована литерами Т, А, В, зоны контроля, С - Control)). Собранная пластиковая тест-кассета является неразборной, тестовые и контрольные линии на мембране визуально не определяются (рис. 3). Каждую кассету вместе с пакетиком силикагеля помещали в индивидуальную упаковку из фольги алюминиевой 120x70 мм (ООО «ПКФ Современные технологии», Россия).

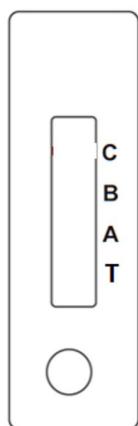


Рис. 3. Внешний вид и маркировка на ИХ тест-кассете для нового набора реагентов по одновременному качественному определению антигенов SARS-CoV-2 и вирусов гриппа А и В.

Для обеспечения процедур внутреннего контроля на этапах производства ИХА набора реагентов, получившего наименование «ИХА-КОВИГРИПП» по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024), осуществлена разработка панели стандартных образцов предприятия (СОП-379), содержащих и не содержащих изучаемые ана-

литы (антигены SARS-CoV-2, вируса гриппа А и В) в разных концентрациях:

- образец № 1 содержит антиген коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 20 пг/мл;
- образец № 2 содержит антиген коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 10 пг/мл;
- образец № 3 содержит антиген коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 5 пг/мл;
- образец № 4 содержит антиген коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 2,5 пг/мл;
- образец № 5 содержит антиген коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 1 пг/мл;
- образец № 6 содержит антиген коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 5 мкг/мл;
- образец № 7 содержит антиген вируса гриппа А в концентрации 1 нг/мл;
- образец № 8 содержит антиген вируса гриппа А в концентрации 0,3 нг/мл;
- образец № 9 содержит антиген вируса гриппа А в концентрации 0,1 нг/мл;
- образец № 10 содержит антиген вируса гриппа А в концентрации 0,3 мг/мл;
- образец № 11 содержит антиген вируса гриппа В в концентрации 1 нг/мл;
- образец № 12 содержит антиген вируса гриппа В в концентрации 0,3 нг/мл;
- образец № 13 содержит антиген вируса гриппа В в концентрации 0,1 нг/мл;
- образец № 14 содержит антиген вируса гриппа В в концентрации 0,3 мг/мл;
- образцы № 15-17 не содержат антигены коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А и гриппа В.

Учитывая высокую вариабельность циркулирующих в популяции мутантных штаммов SARS-CoV-2, подготовлена «Панель мутантных штаммов «SARS-CoV-2 антиген», содержащая рекомбинантные антигены коронавируса различных модификаций:

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

Наличие подобной панели позволяет контролировать производственный продукт и с высокой степенью уверенности гарантировать качество результатов лабораторных исследований.

Лабораторные испытания опытно-производственный серий набора реагентов, «ИХА-КОВИГРИПП», проведённые со всеми образцами СОП-379 и образцами «Панели мутантных штаммов «SARS-CoV-2 антиген», позволили подготовить необходимые нормативные технические документы: технические условия ТУ 21.20.23-379-60423725-2024 и инструкцию по применению набора.

Оценка сроков сохранения специфической активности всех компонентов опытно-производственных серий наборов в условиях их хранения при контролируемой повышенной температуре (искусственное моделирование условий старения) позволила установить гарантируемый срок годности набора, который составил 37 мес. (при хранении медицинского изделия при рекомендуемой температуре от -30 до +30° С).

Принцип действия теста. В основе работы набора реагентов применяется метод качественного ИХА. При наличии в исследуемом образце хотя бы одного из определяемых веществ (антигена вируса SARS-CoV-2 или антигенов вируса гриппа А и В) в области внесения исследуемой пробы происходит их взаимодействие со специфичным конъюгатом (представляющим собой антитела к нуклеокапсидному антигену SARS-CoV-2, антитела к антигенам вируса гриппа А (подтипы H_1N_1 и H_3N_2) или В соответственно), меченные частицами индикатора (наночастицы коллоидного золота). При этом формируются иммунные комплексы «антиген-антитело конъюгата», которые мигрирует с током жидкости вдоль тест-полоски. В тестовой зоне происходит взаимодействие образовавшихся иммунных комплексов с соответствующими им по специфичности антителами иммобилизованными на мембране (к антигену вируса SARS-CoV-2 – в тестовой зоне Т или к вирусу гриппа А – тестовая зона А или вируса гриппа В – зона В) с образованием окрашенного комплекса «антитело подложки-антиген-антитело конъюгата». Появление цветной линии в тестовой зоне указывает на положительный результат (выявление в пробе соответствующего анализатора), а её отсутствие - на отрицательный (отсутствие в пробе этого анализатора). Не вступивший во взаимодействие конъюгат соединяется с антигеновыми антителами в области контрольной зоны (С) с образованием окрашенного иммунного комплекса; эта цветная контрольная линия формируется всегда, независимо от наличия антигенов исследуемых вирусов в образце (свидетельство работоспособности теста и соблюдения условий проведения исследования).

Подготовительные процедуры и порядок исследования.

Исследуемые образцы. Для определения вирусов с помощью разработанного набора используются мазки, полученные из носоглотки, ротоглотки пациента и слюны. Протоколы взятия, транспортировки, хранения исследуемого материала регламентируются в соответствии с МУ¹. Образцы биологического материала следует брать до еды или через 2-3 часа после приёма пищи. Для взятия каждого мазка используют отдельный стерильный зонд-тампон и пробирку для экстракции (входят в комплектацию набора). Буферный раствор содержит натрия азид в безопасной концентрации.

¹МУ 4.2.2039-05. «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортировки биоматериала в микробиологические лаборатории»

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки. Все образцы, собранные для лабораторных исследований, должны рассматриваться как потенциально инфицированные, и медицинский персонал, собирающий или перевозящий их, должен строго соблюдать требования биологической безопасности как при работе с микроорганизмами II группы патогенности.

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

Рекомендуемый способ получения назофарингеальных мазков представлен на рис. 4.

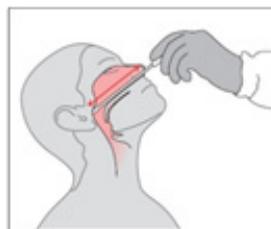


Рис. 4. Взятие мазка из носоглотки.

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

Рекомендуемый способ получения орофарингеальных мазков представлен на рис. 5.



Рис. 5. Взятие мазка из ротоглотки.

Пациенту после полоскания рта тёплой кипячённой водой аккуратно введите тампон-зонд между дужками миндалин и язычком. Движением тампона вперед и назад соберите материал с задней поверхности глотки, миндалин и участков воспаления или изъязвления на слизистой оболочке. При взятии пробы не следует касаться щёк, языка, дёсен, а также собирать слюну.

Рекомендуемый способ получения образца слюны представлен на рис. 6.

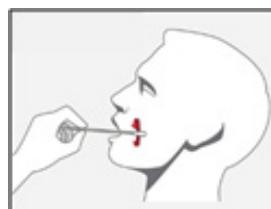


Рис. 6. Взятие образца слюны.

Введите тампон-зонд в ротовую полость на глубину 2-3 см и вращательным движением соберите мазок с внутренней стороны щёк, под языком, затем обильно пропитайте слюной тампон-зонд в течение 2 минут.

Подготовка образцов. Тампон с биологическим материалом поместите в микропробирку с буферным раствором. Тщательно смойте образец с тампона путём его вращения зонда круговыми движениями в содержимом пробирки (не менее 10 раз). Выдержите тампон в пробирке в течение 1 минуты, приподнимите и отожмите его о внутренние стенки пробирки. Утилизируйте тампон. Закройте пробирку колпачком-капельницей и

перемешайте содержимое пробирки вращательными движениями. Использование зондов, не поставляемых в наборе, может повлиять на качество отбора пробы и результат анализа.

Проведение исследования:

Перед использованием все компоненты набора и исследуемые образцы доводят до комнатной температуры от 18 до 25 °С (пакет с тест-кассетой выдерживают при указанной температуре до вскрытия!). Все реагенты готовы к применению.

Тест-кассету извлекают из индивидуальной упаковки, не касаясь круглого окна для внесения образца; маркируют тест-кассету фамилией или кодовым номером пациента и кладут её на ровную горизонтальную

поверхность.

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

Запускают таймер.

Результат реакции оценивают визуально через 1-7 минут. Не следует учитывать и интерпретировать результаты позднее 20 минут после внесения пробы.

Учёт и интерпретация результатов. Интенсивность окраски линий зависит от концентрации определяемых антигенов в исследуемом образце; при этом учёту подлежат розовые и красные линии. Интерпретацию результата осуществляют по критериям табл. 1.

Таблица 1

Критерии учета и интерпретации результатов ИХА

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

В случае получения недействительного результата исследование следует повторить с использованием другой тест-кассеты набора.

Результаты внутренних доклинических испытаний разработанного набора.

Определение аналитических характеристик набора. В серии лабораторных исследований образцов из состава СОП-379, «Панели мутантных штаммов «SARS-CoV-2 антиген» и образцов, приготовленных на основе международных стандартов, проведенных с шестью опытно-производственными сериями набора человека «ИХА-КОВИГРИПП» по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024» установлены аналитические характеристики разработанного набора:

- клиническая чувствительность (по СОП-379)
- процентное содержание положительных образцов, определенных набором как положительные - 100%;
- клиническая специфичность (по СОП-379)
- процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором как отрицательные - 100%;
- клиническая чувствительность выявления штаммов SARS-CoV-2 (по панели мутантных штаммов «SARS-CoV-2») - 100%;
- аналитическая чувствительность выявления антигена SARS-CoV-2 - 5 пг/мл (образец № 3 из состава СОП-379);
- аналитическая чувствительность выявления

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

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

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

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

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

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

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

- аналитическая чувствительность выявления антигена вируса гриппа типа В - 1000 ед./мл (по «Working Standard Winter respiratory panel: Influenza B

Таблица 2

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

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

Примечание. n - количество образцов; пол. – положительный результат; отр. – отрицательный результат.

NIBSC code 20/184»).

Хук-эффект (эффект воздействия избыточного количества антигена, когда как захватывающие, так и детектирующие антитела насыщаются высокой концентрацией, что приводит к ложноотрицательному результату) отсутствует при концентрациях антигена SARS-CoV-2 до 5 мкг/мл (образец № 6 в панели СОП-379) и до 20 тыс МЕ/мл (по образцу NIBSC code: 21/368), при концентрациях антигена вируса гриппа типа А - до 0,3 мг/мл (образец № 10 в панели СОП-379) и до 1000000 ед./мл (по образцам NIBSC code 20/180 и NIBSC code 20/182), антигена вируса гриппа типа В - до 0,3 мг/мл (образец № 14 в СОП-379) и 1000000 ед./мл по образцу NIBSC code 20/184).

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

Внутрисерийная и межсерийная повторяемость результатов (воспроизводимость) - 100%

Изучение клинической информативности результатов тестирования. В сравнительных испытаниях исследованы по 25 образцов биологического материала (мазки из носоглотки, ротоглотки, слюна), содержащих антиген коронавируса SARS-CoV-2 или гриппа А или гриппа В и не содержащих антигены ни одного из изучаемых вирусов; каждый образец тестирован с использованием шести опытно-производственных серий нового набора реагентов «ИХА-КОВИГРИПП» и набора реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА». Дополнительно все образцы подвергнуты референсному исследованию в полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с целью детекции вирусной РНК.

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

Все продемонстрированные в ИХА данные полностью подтверждены результатами исследования вирусной РНК в ОТ-ПЦР (табл. 2).

Полученные данные позволили определить показатели клинической информативности нового набора (с учётом результатов исследования с набором сравнения и с исследованиями референсным методом):

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

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

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

Изучение информативности разных видов биологического материала. Для изучения сравнительной информативности результатов ИХА в зависимости от используемых для диагностики видов анализа органи-

зовано одномоментное взятие трёх проб от пациента (соскобы из носоглотки, ротоглотки и слюны). Комплекты из трёх проб представлены от больных с клиническим лабораторным подтверждением в отношении инфекции SARS-CoV-2 ($n=25$), гриппа А ($n=25$) или В ($n=25$) (положительные результаты в ОТ-ПЦР) и от условно здоровых людей без COVID-19, гриппа А/В в анамнезе ($n=25$) (отрицательные результаты ОТ-ПЦР); всего получено 100 комплектов образцов каждого клинического варианта ($n=25 \times 4$) или 300 клинических образцов для исследования ($n=100 \times 3$).

Лабораторное исследование 300 образцов выполнено с каждой из шести опытно-производственных серий набора «ИХА-КОВИГРИПП» и набором реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА». Всего получено 2100 результатов. Анализ полученных данных позволил установить полное соответствие результатов, полученных с разными наборами и сериями реагентов, и видами анализа, что позволило высоко оценить клиническую специфичность и чувствительность исследований с новым ИХ набором, воспроизводимость результатов теста с разными сериями реагентов. Показана эквивалентность результатов, полученных при исследовании образцов, взятых со слизистой оболочки из разных локусов: носо-, ротоглотки или слюны.

Изучение потенциального интерферирующего воздействия. В серии из 3172 исследований (244 образцов исследованы с набором реагентов сравнения «COVINFLUENZA-ИМБИАН-ИХА» до внесения интерферентов и с шестью сериями набора «ИХА-КОВИГРИПП» как до, так и после внесения интерферентов) установлено полное отсутствие интерферирующего влияния на результаты ИХА исследований с набором «ИХА-КОВИГРИПП» разнообразных эндогенных факторов и лекарственных средств ($n=61$) в представленной концентрации (табл. 3). Не получено расхождений в результатах исследования с изучаемым набором и набором сравнения, а также межсерийных вариаций результатов.

Изучение перекрёстного реагирования. В рамках внутренних доклинических испытаний изучаемого набора реагентов «ИХА-КОВИГРИПП» определено возможное перекрёстное воздействие на процесс исследования антигенных эпитопов ряда микроорганизмов, поражающих или колонизирующих носоглотку и ротоглотку человека. Не определено такого влияния с образцами, содержащими вирусы, бактерии, грибы: эндемические коронавирусы человека (HKU₁, OC₄₃, NL₆₃, 229E, SARS-CoV, MERS-CoV (Florida/USA Saudi Arabia 2014), аденовирус (типы 1-5, 7, 8, 11, 18, 21, 23, 55, В, С, Е), бокавирус, ВГА, ВГС, HBsAg, вирус Коксаки (типы В₂, В₃, В₄, В₅), вирус краснухи, норовирус, ревматоидный фактор, ротавирус, эховирус, вирус парагриппа 1-4 типа, метапневмовирус человека, энтеровирусы 68-71, RS-вирус (А и В), риновирус, вирус эпидемического паротита, кори, герпесвирусы (ветряной оспы, Эпштейна-Барра, цитомегаловирус, HHV-6), *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae* (Mutant 22, FH strain of Eaton Agent (NCTC 101191), *Chlamydia pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* (Typing strain T₁ [NCIB 11841] SF 1301), *Haemophilus influenzae* (серотипы А,

B, C, D, E, F), *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila* (Bloomington-2, Los Angeles-1,82A3 105), *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Corynebacterium Diphtheriae*, *E. coli*, *Fusobacterium necrophorum*, *Haemophilus parahaemolyticus*, *Mycobacterium tuberculosis* (K, Erdman, HN878, CDC155UH37RV), *Neisseria spp.* (*Neisseria lactamica*), *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus*

saprophyticus, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus salivarius*, *Toxoplasma gondii*.

Заключение. На предприятии АО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск Московской обл.) при выполнении плана научных исследований и в целях обеспечения учреждений здравоохранения России доступными диагностическими медицинскими изделиями для оказания медицинской помощи населению разработан новый отечественный набор реагентов «ИХА-КОВИ-ГРИПП» Тест-система иммунохроматографическая

Таблица 3

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

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

для качественного определения антигена коронавируса SARS-CoV-2 и антигенов вирусов гриппа А и В в биологическом материале человека» по ТУ 21.20.23-379-70423725-2024».

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

Аттестована аналитическая чувствительность нового набора «ИХА-КОВИГРИПП» в отношении стандартных образцов предприятия (СОП-379) и международных вирусосодержащих стандартов.

Изучение разных видов биологического материала (мазки из носо-, ротоглотки, слюна), одновременно полученные от пациентов с разными клиническими формами инфекции и без неё, продемонстрировало полную эквивалентность результатов исследования в ИХА с новым набором.

Изучены разнообразные факторы и лекарственные средства ($n=61$), которые могут присутствовать в исследуемой пробе у пациентов с подозрением на ОРВИ, не установлено их интерферирующего влияния в изученных концентрациях, на положительные и отрицательные результаты в ИХА с набором «ИХА-КОВИГРИПП».

Не выявлено и перекрёстного реагирования с микрофлорой ($n=55$), способной колонизировать или поражать носоглотку, ротоглотку, полость рта человека при ОРВИ.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Заболеваемость населения Российской Федерации по основным классам болезней. Федеральная служба государственной статистики. Официальная статистика. Здравоохранение. Электронный ресурс. <https://rosstat.gov.ru/folder/13721> (Дата обращения 02.08.2024).
2. Еропкин М.Ю., Коновалова Н.И. Грипп в постковидную эру в России с точки зрения вирусолога. В сб.: IV Международный форум Дни вирусологии. СПб: ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России; 2023: 16-18.
3. Еженедельный национальный бюллетень по гриппу и ОРВИ за 24 неделю 2024 года. (10.06.24 - 16.06.24). Электронный ресурс ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава РФ. https://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/laboratory_diagnostics/ (Дата обращения 03.08.2024).
4. АО «ЭКОлаб» - Производитель диагностических наборов и лекарственных препаратов. Каталог продукции. Быстрые тесты ИХА. Электронный ресурс. <https://ekolab.ru/catalog/bystrye-testy-ikha/ekspress-diagnostika-ikha/diagnostika-respiratornogo-trakta> (Дата обращения 03.08.2024).
5. АО «Вектор-Бест». Каталог. Иммунохимия. Экспресс-диагностика. Электронный ресурс. <https://www.vector-best.ru/catalog/ifa/nabory/ekspress-diagnostika/#> (Дата обращения 03.08.2024).
6. ООО "РЭД" – Российская экспресс диагностика. Продукция. Электронный ресурс. <https://red-test.ru/catalog/> (Дата обращения 03.08.2024).
7. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Малышев В.В., Змеева Т.А., Гумилевский Б.Ю. и др. Разработка иммунохроматографического набора реагентов для выявления ротавирусов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (11): 672-9. DOI: <https://doi.org/10.15620/0869-2084-2024-68-11-672-679>.
8. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Ханина М.А. Об иммунохроматографическом выявлении *Helicobacter pylori* у человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (4): 123-30. DOI: <https://doi.org/10.15620/0869-2084-2024-69-4-123-130>.
9. Ротанов С.В., Марданлы С.Г., Попова Т.В., Акиншина Ю.А. О распространении *Helicobacter pylori* среди населения Павлово-Посадского района Московской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (2): 82-9. DOI: [10.51620/3034-1981-2024-29-2-82-89](https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-82-89).
10. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Гашенко Т.Ю. Одноэтапное выявление маркеров возбудителей острых кишечных вирусных инфекций у человека. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (2): 97-106. DOI: [10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106](https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106).

REFERENCES

1. Morbidity of the population of the Russian Federation by main classes of diseases. Federal State Statistics Service. Official Statistics. Healthcare. [Zabolevaemost' naseleniya Rossiyskoy Federatsii po osnovnym klassam bolezney. Federal'naya sluzhba gosudarstvennoy statistiki. Ofitsial'naya statistika. Zdravookhranenie]. Web resource: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>. (date of the application: 02.08.2024). (in Russian)
2. Eropkin M.Yu., Konovalova N.I. Influenza in the post-COVID era in Russia from the point of view of a virologist. In the collection: IV International Forum Days of Virology 2023. - St. Petersburg: Research Institute of Influenza named after A.A. Smorodintsev of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2023. 16-18. (in Russian)
3. Weekly national bulletin on influenza and acute respiratory viral infections for the 24th week of 2024. (10.06.24 - 16.06.24). [Ezhenedel'nyy natsional'nyy byulleten' po grippu i ORVI za 24 nedelyu 2024 goda. (10.06.24 - 16.06.24)]. Web resource: https://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/laboratory_diagnostics/ (date of the application: 03.08.2024). (in Russian)
4. JSC "ECOlab" - Manufacturer of diagnostic kits and medicinal products. Product catalog. Rapid ICHA tests. [AO «EKOlab» - Proizvoditel' diagnosticheskikh naborov i lekarstvennykh preparatov. Katalog produktsii. Bystrye testy IKhA]. Web resource: <https://ekolab.ru/catalog/bystrye-testy-ikha/ekspress-diagnostika-ikha/diagnostika-respiratornogo-trakta> (date of the application: 03.08.2024). (in Russian)
5. JSC Vector-Best. Catalog. Immunochemistry. Express diagnostics. [AO «Vektor-Best». Katalog. Immunokhimiya. Ekspress-diagnostika]. <https://www.vector-best.ru/catalog/ifa/nabory/ekspress-diagnostika/#> (date of the application: 03.08.2024). (in Russian)
6. LLC "RED" - Russian express diagnostics. Products. [ООО "RED" – Rossiyskaya ekspress diagnostika. Produktsiya.] Web resource: <https://red-test.ru/catalog/> (date of the application: 03.08.2024). (in Russian)
7. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Malyshev V.V., Zmeeva T.A., Gumilevskiy B.Yu. et al. Development of an immunochromatographic kit of reagents for the detection of rotaviruses. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (11): 672-9. DOI: [http://doi.org/10.15620/0869-2084-2024-68-11-672-679](https://doi.org/10.15620/0869-2084-2024-68-11-672-679). (in Russian)

8. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Chanina M.A. On the immunochromatographic detection of *Helicobacter pylori* in humans. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69 (4): 123-130. DOI: <https://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2024-69-4-123-130>. (in Russian.)
9. Rotanov S.V., Mardanly S.G., Popova T.V., Akinshina Yu.A. On the spread of *Helicobacter pylori* among the population of the Pavlovo-Posad district of the Moscow region. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2024; 29 (2): 82-89. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-82-89>. (in Russian)
10. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Gashenko T.Yu. One-stage detection of markers of causes of acute intestinal viral infection in humans. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2024; 29 (2): 97-106. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-97-106>. (in Russian)