

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"

Роспотребнадзора

Р.А. Максютлов



2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению "Набора реагентов
для выявления кДНК вируса желтой лихорадки
методом полимеразной цепной реакции
в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
по ТУ 9398-051-05664012-2015

2017

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное название набора

Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» по ТУ 9398-051-05664012-2015.

1.2. Предназначение набора и его диагностическая роль

Набор реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» предназначен для выявления кДНК вируса Желтой лихорадки, предварительно синтезированных на матрице РНК вируса Желтой лихорадки в реакции обратной транскрипции, и гибридационно-флуоресцентной детекции продуктов амплификации в режиме реального времени на приборах Rotor-Gene 6000/3000 (Corbett Research, Австралия), CFX96 (BioRad, США) или аналогичных приборах других производителей.

Диагностическая роль набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» заключается в возможности его использования для ранней диагностики желтой лихорадки (конец инкубационного периода и начальная стадия заболевания) и индикации патогенных биологических агентов (ПБА); как ускоренного предварительного теста при выполнении культурального и биологического методов исследования и идентификации подозрительных культур; для эпидемиологического мониторинга.

1.3. Область применения набора

Область применения набора – клиническая лабораторная диагностика вируса желтой лихорадки, специфическая индикация патогенных биологических агентов, эпидемиологический мониторинг.

Набор реагентов может быть использован в учреждениях медицины и здравоохранения, вирусологических лабораториях Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, в эпидемиологических службах, имеющих Лицензию на деятельность в области использования возбудителей

инфекционных заболеваний человека и животных I-IV групп патогенности, для расшифровки вспышек арбовирусных инфекций, а также, стационарных и мобильных лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на проведение работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Компоненты набора являются одноразовыми.

Набор реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» не требует технического обслуживания и калибровки.

2.1. Состав набора

Набор реагентов состоит из 4 реагентов.

№	Состав комплекта	Описание	Объем (мл)	Кол-во
1.	Реагент-1-YFV	прозрачная бесцветная жидкость	0,20	1 пробирка
2.	Реагент-2-YFV	прозрачная бесцветная жидкость	0,20	1 пробирка
3.	Положительный контроль-ный образец, ПКО- YFV	прозрачная бесцветная жидкость	0,20	1 пробирка
4.	Отрицательный контроль-ный образец, ОКО- YFV	прозрачная бесцветная жидкость	0,20	1 пробирка

Реагент-1-YFV расфасован по 200 мкл в микропробирку с завинчивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл. Состав: 10хПЦР-буфер; 5 мМ дНТФ – водный раствор дезоксирибонуклеозид-трифосфатов; 100мМ MgCl₂; Праймеры PrF и PrR ;зонд флуоресцентно-меченный.

Реагент-2-YFV расфасован по 200 мкл в микропробирку с завинчивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл. Состав: 10хПЦР-буфер; Smart Taq ДНК-полимераза.

Положительный контрольный образец расфасован по 200 мкл в микропробирку с завинчивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл. Состав:

раствор рекомбинантной бактериальной плазмиды в ТЕ-буфере, несущей вирусспецифическую вставку.

Отрицательный контрольный образец расфасован по 200 мкл в микропробирку с завинчивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл. Состав: деионизованная вода.

Набор реагентов упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой. Вторичной упаковкой может быть пакет с застежкой или пакет, вложенный в коробку. В этом случае пакет и инструкцию по применению вкладывают в коробку.

Примечание: Ингредиентами, которые могут влиять на измерения, являются праймеры и флуоресцентные зонды, основной характеристикой которых для конечного пользователя является температура отжига, составляющая 54 °С. Данная характеристика реализуется с помощью температурно-временного режима амплификации, следовательно, его соблюдение является строго обязательным.

2.2. Количество анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на проведение 20 определений, включая контроли.

2.3. Метод исследования

Обнаружение фрагментов нуклеиновых кислот вируса желтой лихорадки основано на использовании метода обратной транскрипции, и гибридационно-флуоресцентной детекции продуктов амплификации в режиме реального времени.

Метод основан на многократном увеличении числа копий фрагмента вирусных нуклеиновых кислот (комплементарной ДНК – кДНК) с одновременной гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, что позволяет обнаружить специфичный участок генома возбудителя с целью его идентификации. Для проведения ПЦР в режиме реального времени используют специфические праймеры (прямой и обратный)

и флуоресцентно-меченый зонд. Специфические праймеры обеспечивают амплификацию фрагментов кДНК, предварительно синтезированной на матрице РНК, соответствующих нуклеотидной последовательности участка генома вируса желтой лихорадки.

2.3. Ограничения метода

В инфицированном материале РНК вирусов может быть не обнаружена по причине ингибирования обратной транскрипции, ПЦР-РВ и/или недостаточной эффективности выделения нуклеиновых кислот. Для достижения показателей аналитической чувствительности используемый набор для выделения должен обеспечивать эффективность выделения НК на уровне не менее 20 %.

Причиной получения ложноположительного результата является контаминация на этапе выделения НК либо проведения реакций ОТ, ПЦР-РВ. Ложноположительный результат выявляется с помощью отрицательных контрольных образцов выделения и ОТ-ПЦР-РВ (п. 8.3 настоящей инструкции).

Причиной получения ложноотрицательного результата является ингибирование ОТ-ПЦР-РВ и/или недостаточная эффективность выделения НК. Ложноотрицательный результат выявляется с помощью положительных контрольных образцов выделения РНК и ОТ-ПЦР-РВ (п. 8.3 настоящей инструкции).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Исследования аналитических характеристик набора проведены на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (р.п. Кольцово, Новосибирской области) и в испытательной лаборатории ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» (г. Москва) в рамках исследования эффективности набора и проведения технических испытаний.

При проведении исследований наблюдалась полная внутривыпускная, межвыпускная и межсерийная воспроизводимость для всех исследуемых образцов.

3.1.1. Чувствительность

Набор реагентов должен выявлять 1×10^3 копий кДНК вируса желтой лихорадки в 30 мкл реакционной смеси.

3.1.2. Специфичность

Набор реагентов не должен давать положительных результатов с образцами здоровых доноров или образцами, содержащими генетический материал гетерологичных вирусов.

3.2. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Исследования аналитических характеристик набора проведены на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (р.п. Кольцово, Новосибирской области) и в испытательной лаборатории ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» (г. Москва) в рамках исследования эффективности набора и проведения технических испытаний.

При проведении исследований наблюдалась полная внутрипостановочная, межпостановочная и межсерийная воспроизводимость для всех исследуемых образцов.

3.2.1. Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность - не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %. При исследовании 448 положительных образцов, содержащих РНК вируса желтой лихорадки в концентрации $1,0 \times 10^3$ копий кДНК в 30 мкл реакционной смеси, положительный результат в ПЦР получен для 448 образцов.

3.2.2. Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.

При исследовании 448 отрицательных образцов, содержащих НК гетерологичных микроорганизмов отрицательный ответ в ПЦР получен во всех 100 % случаях.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Вирус желтой лихорадки относится ко II группе патогенности (СП 1.3.3118-13).

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

В соответствии с п.2.1.6 СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»:

– диагностика молекулярно-генетическими методами (без накопления возбудителя) по детекции в клиническом материале возбудителей инфекционных болезней могут проводиться в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III группы патогенности в соответствии с требованиями санитарных правил "Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности и гельминтами", утвержденных постановлением Главного государственного врача Российской Федерации от 28.01.2008 N 4 (зарегистрировано Минюстом России 21 февраля 2008 г. N 11197);

– исследования по детекции нуклеиновых кислот проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

Материал для исследований подлежит предварительной обработке в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные.

- Инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (п. 9 приложения № 2 к приказу Минздрава России от 06.06.2012 № 4н).

4.1. Необходимость обучения персонала

Для выполнения анализа с помощью данного набора реагентов необходимо участие специалистов не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим или иным образованием, окончивших соответствующие курсы специальной подготовки с освоением методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I-II групп патогенности, не имеющих противопоказаний к применению средств профилактики и лечения и к работе в средствах индивидуальной защиты.

Персонал должен иметь навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

4.2. Меры безопасности, позволяющие предохранять оператора

При работе с набором соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными, вредного влияния на организм оператора не оказывают. При работе с набором следует соблюдать обычные меры предосторожности для лабораторий:

- пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты;
- не принимать пищу, пить или курить в лабораторных помещениях;

- после работы с пробам и реактивами следует тщательно вымыть руки водой с мылом.

Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками, при попадании на них компонентов набора промыть большим количеством воды. При приеме внутрь компонентов набора реагентов за медицинской помощью следует обратиться немедленно.

4.3. Необходимые меры предосторожности в отношении влияния физических факторов

При использовании набора реагентов нет необходимости принимать меры предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения.

4.4. Необходимые меры предосторожности против специальных рисков

При использовании набора реагентов нет необходимости принимать меры предосторожности против любых специальных рисков при использовании или реализации, поскольку в состав изделия не входят вещества человеческого или животного происхождения с учетом их потенциальной инфекционной природы.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

5.1. Рекомендуемое измерительное оборудование

Амплификатор для проведения ПЦР в режиме реального времени: RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия), CFX96 (BioRad, США) или DTlite (НПФ "ДНК-Технология", Россия) или аналогичные приборы;

Приборы должны быть зарегистрированы в РФ как медицинское изделие.

5.2. Указания о необходимости использования специального оборудования

Работу с набором следует проводить в настольном боксе с бактерицидной лампой (например, БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», г. Миасс, Россия), установленном в рабочей зоне 3 (МУ 1.3.2569-09).

5.3. Дозирующие устройства

Набор автоматических пипеток переменного объема на 0,5-10 мкл, 2-20 мкл, 10-100 мкл и на 20-200 мкл.

5.4. Другое используемое оборудование

Центрифуга для микропробирок до 12000 об/мин;

Микроцентрифуга-вортекс ;

Штативы для наконечников, микропробирок на 0,5 и 1,5 мл;

Холодильник на 2-8 °С.

5.5. Лабораторная посуда

Емкости для сброса наконечников и микропробирок.

Наконечники с аэрозольным барьером.

5.6. Материалы и реагенты, не входящие в состав набора

Набор реагентов для выделения РНК (например, «Рибо-сорб» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) или аналогичные наборы реагентов других производителей);

Набор реагентов для проведения реакции обратной транскрипции (например, «Реверта-L» ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) или аналогичные наборы реагентов других производителей);

Очищенная вода;

Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 10 мкл;

Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 20 мкл;

Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл;

Отдельный халат и одноразовые медицинские перчатки;

Комплект средств для обработки рабочего места.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Получение и обработка биологического материала, зараженного или подозрительного на зараженность возбудителем желтой лихорадки не являются частью процедуры анализа с использованием набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ} YFV».

6.1. Тип исследуемых образцов

Материалом для исследований служат препараты нуклеиновых кислот, выделенные из проб: клинических образцов крови, вируссодержащей суспензии, биопсийного и аутопсийного материала.

6.2. Процедура получения биологического материала

Процедура взятия проб должна выполняться в соответствии с правилами противоэпидемического режима: работа в защитной одежде, маске, очках и перчатках, соблюдение мер личной и общественной безопасности и др. (см. СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»).

В качестве проб для диагностического исследования используют:

- кровь;
- в случае смерти кусочки органов умерших.

Для проведения реакции забор проб крови проводят в ранние сроки болезни (в период вирусемии). Кровь для обнаружения вируса берут из локтевой вены в количестве 4,5 мл шприцем, в который предварительно набирают 0,5 мл стерильного антикоагулянта (ЭДТА, цитрат натрия). Использовать гепарин запрещается. Кровь выливают в пробирку, которую осторожно встряхивают, чтобы предотвратить свёртывание крови и герметично закрывают.

Сразу после взятия пробы пробирки маркируют, указывая фамилию и инициалы больного, возраст, день болезни, вид материала (например, кровь, т.д.) и дату его взятия. Остальные сведения о больном (предполагаемый

диагноз, дату поступления, вакцинный статус и пр. указывают в сопроводительной карточке (см. ниже раздел 5).

После завершения сбора образцов от больного (больных) все инструменты и подсобные материалы, а также использованные средства индивидуальной защиты (перчатки, халат и пр.) дезинфицируют согласно требованиям СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

Выделение РНК из клинических образцов осуществляют при соблюдении требований МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)». Работа по выполнению стадии выделения РНК проводится в BSL-3 с использованием наборов реагентов для выделения РНК вируса из клинических образцов и секционного материала, например, «Рибо-сорб» (ЦНИИЭ, Россия) или аналогичных, в соответствии с инструкциями производителей наборов.

Отбор проб насекомых осуществляют в соответствии с МУ 3.1.1027-01 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций».

6.3. Ограничения по использованию анализируемого материала

Для выделения РНК используют зарегистрированные наборы реагентов. Для достижения показателей аналитической чувствительности объем аликвоты исходного материала (пробы) должен составлять не менее 100 мкл. Для получения кДНК используют зарегистрированные наборы реагентов и полученный препарат РНК. Полученную кДНК используют для проведения анализа с помощью набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV ».

6.4. Условия транспортирования и возможного хранения анализируемых образцов

Транспортирование материала в лабораторию для исследований проводят при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 1 суток в соответствии с СП 1.2.036-

95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

Исследуемые пробы хранят при температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 суток, при температуре от минус 16 °С до минус 20 °С не более одного месяца, при температуре минус 70 °С или в жидком азоте в течение 1 года, не допуская его оттаивания до проведения исследования.

При замораживании клинического материала его транспортировка также должна проводиться в замороженном состоянии. Допускается только однократное замораживание-оттаивание образцов.

6.5. Меры предосторожности к материалу исследования

Учет, хранение, передача и транспортирование биологического материала, подозрительного на наличие вируса желтой лихорадки, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами по безопасности работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) (СП 1.3.3118-13) и действующими санитарными правилами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности.

Клинический материал утилизируют по классу В, как чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами (СанПиН 2.1.7.2790-10) и СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

7.1. Процедура приготовления образцов

7.1.1. Приготовление реакционной смеси: в отдельной микропробирке объемом 1,5 мл готовят смесь компонентов следующего состава (из расчета на одну пробу):

Реагент-1-YFV 10 мкл

Реагент-2-YFV 10 мкл

Смесь перемешивают пипетированием. Все реакционные компоненты добавляют отдельными наконечниками с помощью дозаторов переменного объема: 0.5-10, 5-40 и 40-200 мкл.

7.2. Разведение препарата кДНК (при необходимости)

Образцы кДНК, полученные в реакции обратной транскрипции, разбавляют равным объемом деионизованной воды (деионизованная вода не поставляется) или, в случае использования наборов «Реверта-L», ДНК-буфером, как это указано в инструкции к набору «Реверта-L» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия).

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Расход каждого реагента (минимальный)

На одно определение расходуются:

Реагент-1-YFV 10 мкл

Реагент-2-YFV 10 мкл

На каждый анализ расходуются:

- 10 мкл **ПКО**- YFV;

- 10 мкл **ОКО**- YFV;

-20 мкл реакционной смеси;

-10 мкл исследуемого образца.

8.2. Последовательность проведения этапов анализа

Включают прибор, запускают программу в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

Реактивы для проведения ПЦР извлекают из холодильника. Перед использованием встряхивают пробирки с реагентами на микроцентрифуге-вортекс в течение 5 секунд при $3000 \text{ об} \cdot \text{мин}^{-1}$ и осаждают капли на дно пробирки кратковременным центрифугированием.

Для проведения амплификации используют прозрачные микропробирки объемом 0,2 мл в соответствии с количеством исследуемых образцов.

Помещают микропробирки в штатив и маркируют в соответствии с протоколом исследования на боковой стенке пробирки.

Внимание! При использовании амплификатора планшетного типа следует избегать нанесения маркировки на крышки микропробирок.

Открывают крышки микропробирок и вносят в них по 20 мкл реакционной смеси.

Используя наконечники с аэрозольным барьером, в микропробирки последовательно вносят соответственно порядку исследования образцов по 10 мкл ОКО-YFV, и далее по 10 мкл растворов исследуемых образцов, закрывают крышки данных микропробирок.

Вносят (в последнюю очередь) по 10 мкл ПКО-YFV в микропробирки соответственно маркировке, закрывают крышки данных микропробирок.

- Общий (конечный) объем реакционной смеси в каждой пробирке должен составить 30 мкл.

- Перемешивают содержимое микропробирок на вортексе и центрифугируют 5 секунд при $3000 \text{ об} \cdot \text{мин}^{-1}$.

ВНИМАНИЕ! После смешивания компонентов микропробирки сразу устанавливают в амплификатор и запускают реакцию.

Помещают микропробирки в прибор в соответствии с протоколом исследования (таблица 1);

Таблица 1 - Рекомендуемый порядок исследования образцов

№ ячейки	Образец
1	ПКО-YFV
2	ОКО-YFV
3	исследуемый образец 1
4	исследуемый образец 2
5	

*Примечание: До начала работы штатив рекомендуется охладить в бытовом холодильнике до температуры 2-8 °С

Закрывают крышку прибора, и при использовании прибора Rotor Gene 6000/3000 (Corbett Research, Австралия) или Rotor Gene Q (QIAGEN) задают программу амплификации со следующими параметрами:

- объем реакционной смеси – 30 мкл;
- температурно-временные режимы:

Температура (°C)	Время (минуты:секунды)	Измерение флуоресценции	Количество циклов
95	05:00	-	1
94	00:10	-	5
54	00:20	-	
72	00:20	-	
94	00:10	-	
54	00:20	JOE/Yellow/HEX/R6G	45
72	00:20	-	

- измерение флуоресценции при шаге 54 °C на канале JOE/Yellow/HEX/R6G;

- выполнение калибровки (оптимизации) по каналу JOE/Yellow/HEX/R6G при первом шаге детекции;

- калибровка канала JOE/Yellow/HEX/R6G от 5 Fl до 10 Fl.

После чего запускают программу амплификации и фиксируют в рабочем журнале название файла с результатом работы прибора, расчетное время анализа составляет в среднем 1,5 часа.

При использовании прибора планшетного типа (например, CFX96 (BioRad, США)) задают следующую программу амплификации: удержание температуры 95°C – 5 минут; 5 циклов без измерения флуоресценции, каждый из которых включает 94°C – 5 секунд, 54°C – 20 секунд, 72°C – 20 секунд; далее 45 циклов, каждый из которых включает 94°C – 10 секунд, 54°C – 20 секунд, 72°C – 20 секунд с измерением флуоресценции при шаге 54°C на канале HEX.

8.3. Процедура измерения и оценки результатов анализа

8.3.1. Анализ результатов при использовании амплификаторов Rotor Gene 6000/3000 (Corbett Research, Австралия) или Rotor Gene Q (QIAGEN).

Анализ результатов амплификации кДНК вируса желтой лихорадки проводят по каналу JOE/Yellow, для этого:

1. нажать в меню кнопку «Analysis»/«Анализ», выбрать режим анализа «Quantitation»/«Количественный», нажать кнопку «Cycling A. JOE»/ «Cycling A. Yellow»;
2. отменить автоматический выбор Threshold/Порог;
3. в меню основного окна (Quantitation analysis/Количественный анализ) должны быть нажаты две кнопки «Dynamic tube»/«Динамический фон» и «Slope Correct»/«Коррекция уклона»;
4. в меню основного окна «More setting»/«Outlier Removal»/«Устранение выбросов» установить значение NTC threshold/Порог Фона — ПФ (NTC) 10 %;
5. в меню «CT Calculation»/«Вычисление СТ» (в правой части окна) выставить Threshold/Порог=0,03;
6. в таблице результатов (окно «Quant. Results»/ Количественные Результаты») появятся значения Ct.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла “Ct” в соответствующей графе в таблице результатов).

8.3.2. Анализ результатов при использовании амплификаторов планшетного типа проводят по каналу JOE/Yellow/HEX/R6G, руководствуясь инструкцией производителя к прибору. Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла “Ct” в соответствующей графе в таблице результатов).

8.3.3 Результаты анализа подлежат учету:

- появления пересечения кривых флуоресценции с пороговой линией на канале JOE/Yellow/ HEX/R6G в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО);

-отсутствия положительного сигнала на канале JOE/Yellow/HEX/R6G в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО).

Результат считать положительным в случае, если кривая накопления флуоресценции для соответствующего образца имеет характерную «сигмовидную» форму и пересекает пороговую линию. При этом значение C_t для данного образца должно быть не больше 40. Амплитуда сигнала при этом не имеет значения.

Результат считают отрицательным, если значение C_t на канале JOE/Yellow/HEX/R6G отсутствует. Если значение C_t больше 40, то ПЦР_{РВ} необходимо повторить и считать положительным в случае повторения результата или при значении C_t не больше 40.

8.3.4 Результаты анализа не подлежат учету:

- отсутствие пересечения кривых флуоресценции с пороговой линией хотя бы на канале JOE/Yellow/HEX/R6G в пробах с положительными контрольными образцами ПКО;
- наличие положительного сигнала хотя бы на одном из каналов JOE/Yellow/HEX/R6G в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО).

9. РАСЧЕТЫ

9.1. Используемые компьютерные программы

Для проведения ПЦР-РВ и оценки её результатов используют специализированное программное обеспечение, поставляемое производителем прибора. Работу с программным обеспечением осуществляют согласно руководству по эксплуатации прибора.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1 Условия хранения набора

В соответствии с ТУ 9398-051-05664012-2015 в холодильнике при температуре от 2 до 8 °С.

10.2. Условия транспортирования набора

Транспортирование набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) в соответствии с ТУ 9398-051-05664012-2015 при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С в термоконтейнере.

10.3. Срок годности набора

Срок годности набора реагентов составляет 12 месяцев со дня изготовления предприятием-изготовителем. Серии наборов реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов.

10.4. Информация по безопасной утилизации

Использованные пробирки с ампликонами, наконечники, перчатки, ветошь для обработки поверхностей в ПЦР-боксе, собирают в пластиковые закрывающиеся емкости, выносят с целью последующей инактивации согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

Наборы с истекшим сроком годности, вскрытые, но не использованные наборы, а также наборы с поврежденной упаковкой, утилизируют по классу А, как эпидемиологически безопасные отходы, по составу приближенные к ТБО (СанПиН 2.1.7.2790-10).

10.5. Гарантийные обязательства производителя

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности (12 месяцев) при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» в течение срока годности направлять на предприятие-изготовитель: 630559, Россия, рабочий поселок Кольцово Новосибирской области, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, тел. (383) 336-60-10, факс(383) 336-74-09.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении набора реагентов, рекомендуется направить сообщение на предприятие-изготовитель ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию в соответствии с действующим законодательством.

Зам. Генерального директора
по научной работе
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора
Зав. ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора



А.П. Агафонов



М.П. Богрянцева

Согласовано:

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ набора реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» по ТУ 9398-051-05664012-2015 на базе (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

Всего было исследовано 448 проб, содержащих кДНК вируса желтой лихорадки и 448 проб, не содержащих кДНК вируса желтой лихорадки (352 пробы, содержащих гетерологичные вирусы, 32 пробы неинфицированной культуральной суспензии клеток Vero, 32 отрицательных образца, содержащих ДНК человека и 32 пула комаров). Результаты приведены в таблице:

Образец	Положительные образцы*	Подтвержденные Положительные образцы	Отрицательные образцы*	Подтвержденные отрицательные образцы
Пробы, содержащие кДНК вируса желтой лихорадки	448	448	352 образцов, содержащих кДНК гетерологичных вирусов (4 по 24 проб вируса клещевого энцефалита, 4 по 16 проб вируса Западного Нила, 4 по 8 проб вируса Зика, 4 по 16 проб вируса японского энцефалита, 4 по 16 проб вируса денге, 4 по 8 проб вируса Повассан); 32 образца, содержащих ДНК человека, 32 пула комаров и 32 образца неинфицированной суспензии клеток Vero	448

*Согласно интерпретации результатов инструкции по применению «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»

Диагностическая чувствительность—при исследовании 448 положительных образцов, содержащих кДНК вируса желтой лихорадки в концентрации не менее 3×10^5 копий/мл концентрации (соответствует 10^4 копий в 30 мкл реакционной смеси), положительный результат в ПЦР получен для всех 448 образцов. Диагностическая чувствительность – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.

Внутрипостановочная, межпостановочная и межсерийная воспроизводимость для всех положительных образцов - 100 %.

Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность – при исследовании 448 отрицательных проб (4 по 8 образцов, содержащих ДНК человека, 4 по 8 гомогенатов пула комаров и 4 по 8 образца неинфицированной суспензии клеток Vero, 4 по 24 проб вируса клещевого энцефалита, 4 по 16 проб вируса Западного Нила, 4 по 8 проб вируса Зика, 4 по 16 проб вируса японского энцефалита, 4 по 16 проб вируса денге, 4 по 8 проб вируса Повассан) отрицательный результат получен в 448 случаях. Диагностическая специфичность - не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 21 ЛИСТОВ

«13» нояб 2011 год

Ген. Директор
ООО «ВИМКАЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Т.К.



В данном документе
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 21 листов

Двадцать один лист

Зав. СВТК В.В. Богданов
пропись
должность, подпись

ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
Отдел молекулярной вирусологии
флавивирусов и вирусных гепатитов
(отд. 03.01.00), лаборатория молекулярной
эпидемиологии ООИ

630559, рабочий поселок Кольцово
Новосибирской области
Телефон ОБТК: 8(383)-336-73-16

П А С П О Р Т № 51 от 04.05.2017

Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной
цепной реакции в режиме реального времени

«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
(комплектация V20)

по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Номер серии Ж001-05-2017

Контрольный номер ОБТК № 51

Количество наборов в серии 20

Дата изготовления 03.05.2017

Дата выпуска 04.05.2017

Анализ выполнен по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
1	2	3
Внешний вид	Реагент-1-YFV, Реагент-2-YFV, ПКО-YFV и ОКО-YFV – прозрачные бесцветные жидкости. При переворачивании микропробирок не должно наблюдаться протечек веществ.	Реагент-1-YFV, Реагент-2- YFV, ПКО-YFV и ОКО- YFV – прозрачные бесцветные жидкости. Не наблюдается
Подлинность, специфичность	Наличие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX (530 нм/555 нм) в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО- YFV). Отсутствие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО-YFV и СОП ДНК человека).	Соответствует (протокол № 1ЖЛ от 04 мая 2017 г.) Наличие положительного сигнала на канале Yellow в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО-YFV) и СОП ПКО YFV серия №01-05.17. Отсутствие флуоресцентного сигнала в ОКО-YFV и СОП ДНК человека серия №01-10.16.
Чувствительность	Набор реагентов должен выявлять в ПЦР 10 ³ копий рекомбинантной плазмиды, содержащей вставку ДНК, комплементарную участку РНК вируса желтой лихорадки.	Выявляет в ПЦР 1,24×10 ¹ копий. Использовали последовательные разведения СОП ПКО YFV №01-05.17 с шагом 10 от исходного (0,056 мкг/мл) до 10 ⁻¹⁰

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
Повторяемость	Коэффициент вариации для повторяемости не должен превышать 3 %	0,49 %
Воспроизводимость	Коэффициент вариации для воспроизводимости не должен превышать 6 %.	1,48 %
Биологические препараты для производства и контроля	ПКО-YFV с концентрацией плазмидной ДНК – не менее 10 пг/мл	45 пг/мл
Комплектность	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.3	Соответствует
Упаковка	В микропробирках с завинчивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл (полипропиленовые, "Ахуген", США Кат. № МСТ-060 или аналогичные). Набор реагентов упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой ("Медиген", Россия, кат. № 170107 или аналогичный). Вторичной упаковкой может быть пакет с застежкой или пакет, вложенный в коробку. В этом случае пакет и инструкцию по применению вкладывают в коробку.	Соответствует
Маркировка	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.5	Соответствует

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере.

Хранение при температуре от 2 °С до 8 °С.

Срок годности – 1 год.

Заключение: соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015.

Зав. ОБТК

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора



М.П. Богрянцева

ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
Отдел молекулярной вирусологии
флавивирусов и вирусных гепатитов
(отд. 03.01.00), лаборатория молекулярной
эпидемиологии ООИ

630559, рабочий поселок Кольцово
Новосибирской области
Телефон ОБТК: 8(383)-336-73-16

П А С П О Р Т № 53 от 04.05.2017

Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной
цепной реакции в режиме реального времени

«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»

(комплектация V20)

по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Номер серии Ж002-05-2017

Контрольный номер ОБТК № 53

Количество наборов в серии 20

Дата изготовления 03.05.2017

Дата выпуска 04.05.2017

Анализ выполнен по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
1	2	3
Внешний вид	Реагент-1-YFV, Реагент-2-YFV, ПКО-YFV и ОКО-YFV – прозрачные бесцветные жидкости. При переворачивании микропробирок не должно наблюдаться протечек веществ.	Реагент-1-YFV, Реагент-2- YFV, ПКО-YFV и ОКО- YFV – прозрачные бесцветные жидкости. Не наблюдается
Подлинность, специфичность	Наличие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX (530 нм/555 нм) в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО- YFV). Отсутствие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО-YFV и СОП ДНК человека).	Соответствует (протокол № 2ЖЛ от 04 мая 2017 г.) Наличие положительного сигнала на канале HEX в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО-YFV) и СОП ПКО YFV серия №01-05.17. Отсутствие флуоресцентного сигнала в ОКО-YFV и СОП ДНК человека серия №01-10.16.
Чувствительность	Набор реагентов должен выявлять в ПЦР 10 ³ копий рекомбинантной плазмиды, содержащей вставку ДНК, комплементарную участку РНК вируса желтой лихорадки.	Выявляет в ПЦР 1,24×10 ¹ копий. Использовали последовательные разведения СОП ПКО YFV №01-05.17 с шагом 10 от исходного (0,056мкг/мл) до 10 ⁻¹⁰

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
Повторяемость	Коэффициент вариации для повторяемости не должен превышать 3 %	1,08 %
Воспроизводимость	Коэффициент вариации для воспроизводимости не должен превышать 6 %.	1,45 %
Биологические препараты для производства и контроля	ПКО-YFV с концентрацией плазмидной ДНК – не менее 10 пг/мл	45 пг/мл
Комплектность	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.3	Соответствует
Упаковка	В микропробирках с закручивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл (полипропиленовые, "Axygen", США Кат. № МСТ-060 или аналогичные). Набор реагентов упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой ("Медиген", Россия, кат. № 170107 или аналогичный). Вторичной упаковкой может быть пакет с застежкой или пакет, вложенный в коробку. В этом случае пакет и инструкцию по применению вкладывают в коробку.	Соответствует
Маркировка	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.5	Соответствует

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере.

Хранение при температуре от 2 °С до 8 °С.

Срок годности – 1 год.

Заключение: соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015.

Зав. ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора



М.П. Богрянцева

ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
Отдел молекулярной вирусологии
флавивирусов и вирусных гепатитов
(отд. 03.01.00), лаборатория молекулярной
эпидемиологии ООИ

630559, рабочий поселок Кольцово
Новосибирской области
Телефон ОБТК: 8(383)-336-73-16

П А С П О Р Т № 52 от 04.05.2017

Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной
цепной реакции в режиме реального времени

«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»

(комплектация V20)

по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Номер серии Ж003-05-2017

Контрольный номер ОБТК № 52

Количество наборов в серии 20

Дата изготовления 03.05.2017

Дата выпуска 04.05.2017

Анализ выполнен по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
1	2	3
Внешний вид	Реагент-1-YFV, Реагент-2-YFV, ПКО-YFV и ОКО-YFV – прозрачные бесцветные жидкости. При переворачивании микропробирок не должно наблюдаться протечек веществ.	Реагент-1-YFV, Реагент-2- YFV, ПКО-YFV и ОКО- YFV – прозрачные бесцветные жидкости. Не наблюдается
Подлинность, специфичность	Наличие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX (530 нм/555 нм) в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО- YFV). Отсутствие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО-YFV и СОП ДНК человека).	Соответствует (протокол № 1ЖЛ от 04 мая 2017 г.) Наличие положительного сигнала на канале Yellow в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО-YFV) и СОП ПКО YFV серия №01-05.17. Отсутствие флуоресцентного сигнала в ОКО-YFV и СОП ДНК человека серия №01-10.16.
Чувствительность	Набор реагентов должен выявлять в ПЦР 10 ³ копий рекомбинантной плазмиды, содержащей вставку ДНК, комплементарную участку РНК вируса желтой лихорадки.	Выявляет в ПЦР 1,24×10 ¹ копий. Использовали последовательные разведения СОП ПКО YFV №01-05.17 с шагом 10 от исходного (0,056мкг/мл) до 10 ⁻¹⁰

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
Повторяемость	Коэффициент вариации для повторяемости не должен превышать 3 %	1,45 %
Воспроизводимость	Коэффициент вариации для воспроизводимости не должен превышать 6 %.	1,65 %
Биологические препараты для производства и контроля	ПКО-YFV с концентрацией плазмидной ДНК – не менее 10 пг/мл	45 пг/мл
Комплектность	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.3	Соответствует
Упаковка	В микропробирках с закручивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл (полипропиленовые, "Ахуген", США Кат. № МСТ-060 или аналогичные). Набор реагентов упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой ("Медиген", Россия, кат. № 170107 или аналогичный). Вторичной упаковкой может быть пакет с застежкой или пакет, вложенный в коробку. В этом случае пакет и инструкцию по применению вкладывают в коробку.	Соответствует
Маркировка	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.5	Соответствует

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере.

Хранение при температуре от 2 °С до 8 °С.

Срок годности – 1 год.

Заключение: соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015.

Зав. ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

М.П. Богрянцева



ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
Отдел молекулярной вирусологии
флавивирусов и вирусных гепатитов
(отд. 03.01.00), лаборатория молекулярной
эпидемиологии ООИ

630559, рабочий поселок Кольцово
Новосибирской области
Телефон ОБТК: 8(383)-336-73-16

П А С П О Р Т № 54 от 04.05.2017

Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной
цепной реакции в режиме реального времени

«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
(комплектация V20)

по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Номер серии Ж004-05-2017
Количество наборов в серии 20
Дата выпуска 04.05.2017

Контрольный номер ОБТК № 54
Дата изготовления 03.05.2017

Анализ выполнен по проекту ТУ 9398-051-05664012-2015

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
1	2	3
Внешний вид	Реагент-1-YFV, Реагент-2-YFV, ПКО-YFV и ОКО-YFV – прозрачные бесцветные жидкости. При переворачивании микропробирок не должно наблюдаться протечек веществ.	Реагент-1-YFV, Реагент-2-YFV, ПКО-YFV и ОКО-YFV – прозрачные бесцветные жидкости. Не наблюдается
Подлинность, специфичность	Наличие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX (530 нм/555 нм) в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО- YFV). Отсутствие положительного сигнала на канале R6G/Yellow/HEX в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО-YFV и СОП ДНК человека).	Соответствует (протокол № 2ЖЛ от 04 мая 2017 г.) Наличие положительного сигнала на канале HEX в пробах с положительными контрольными образцами (ПКО-YFV) и СОП ПКО YFV серия №01-05.17. Отсутствие флуоресцентного сигнала в ОКО-YFV и СОП ДНК человека серия №01-10.16.
Чувствительность	Набор реагентов должен выявлять в ПЦР 10 ³ копий рекомбинантной плазмиды, содержащей вставку ДНК, комплементарную участку РНК вируса желтой лихорадки.	Выявляет в ПЦР 1,24×10 ² копий. Использовали последовательные разведения СОП ПКО YFV №01-05.17 с шагом 10 от исходного (0,056мкг/мл) до 10 ⁻¹⁰

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
Повторяемость	Коэффициент вариации для повторяемости не должен превышать 3 %	1,47 %
Воспроизводимость	Коэффициент вариации для воспроизводимости не должен превышать 6 %.	1,62 %
Биологические препараты для производства и контроля	ПКО-YFV с концентрацией плазмидной ДНК – не менее 10 пг/мл	45 пг/мл
Комплектность	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.3	Соответствует
Упаковка	В микропробирках с завинчивающейся крышкой объемом 1,0-2,0 мл (полипропиленовые, "Ахуген", США Кат. № МСТ-060 или аналогичные). Набор реагентов упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой ("Медиген", Россия, кат. № 170107 или аналогичный). Вторичной упаковкой может быть пакет с застежкой или пакет, вложенный в коробку. В этом случае пакет и инструкцию по применению вкладывают в коробку.	Соответствует
Маркировка	В соответствии с требованиями ТУ п. 1.5	Соответствует

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере.

Хранение при температуре от 2 °С до 8 °С.

Срок годности – 1 год.

Заключение: соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015.

Зав. ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

М.П. Богрянцева



ПРОТОКОЛ № 1ЖЛ (от 04 мая 2017 г.)

лабораторного испытания набора реагентов для амплификации кДНК вируса желтой лихорадки с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»

серия Ж001-05-2017, дата изготовления 03.05.2017

серия Ж003-05-2017, дата изготовления 03.05.2017

1. Принцип метода.

Набор реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» предназначен для проведения амплификации фрагментов кДНК вируса желтой лихорадки, предварительно синтезированных на матрице РНК вируса желтой лихорадки в реакции обратной транскрипции, и гибридизационно-флуоресцентной детекции продуктов амплификации в режиме реального времени.

Метод основан на многократном увеличении числа копий фрагмента вирусных нуклеиновых кислот (комплементарной ДНК – кДНК) с одновременной гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, что позволяет обнаружить специфичный участок генома возбудителя с целью его идентификации. Для проведения ПЦР в режиме реального времени используют специфические праймеры (прямой и обратный) и флуоресцентно-меченый зонд. Специфические праймеры обеспечивают амплификацию фрагментов кДНК, предварительно синтезированной на матрице РНК, соответствующих нуклеотидной последовательности участка генома вируса желтой лихорадки.

2. Меры предосторожности.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. ПЦР-анализ выполнялся в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I - IV групп патогенности».

3. Анализируемые образцы.

В ПЦР-анализе не использовался вирусосодержащий материал.

В качестве анализируемых образцов использовали: положительный контрольный образец (ПКО-YFV), представляющий собой раствор рекомбинантной плазмиды рСР 2.1, содержащей вирусоспецифическую вставку; СОП ДНК человека серия №01-10.16, представляющий собой ДНК человека выделенную из крови здоровых доноров. СОП ПКО YFV серия №01-05.17 представляющий собой раствор рекомбинантной плазмиды рСР 2.1, содержащей вирусоспецифическую вставку (длина 4,2 kb);

В качестве отрицательного контрольного образца использовали деионизованную воду.

4. Протокол ПЦР амплификации

Набор реагентов включает в себя пару праймеров, обеспечивающую специфичную амплификацию фрагментов ДНК и флуоресцентно меченый зонд.

Постановку ПЦР проводили в объеме 30 мкл реакционной смеси следующего состава:

<u>Компоненты</u>	<u>Объем</u>
Реагент 1-YFV	10 мкл
Реагент 2-YFV	10 мкл
Контрольный образец	10 мкл

ПЦР и детекцию результатов в режиме реального времени проводили на приборе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Перед началом амплификации пробы прогревались при 95 °С в течение 5 мин. Затем 5 циклов без измерения флуоресценции,

каждый из которых включает 94°C – 5 секунд, 54°C – 20 секунд, 72°C – 20 секунд; далее 45 циклов, каждый из которых включает 94°C – 10 секунд, 54°C – 20 секунд, 72°C – 20 секунд с измерением флуоресценции при шаге 54°C на канале Yellow.

5. Учет полученных результатов.

ПЦР в режиме реального времени и регистрацию результатов по каналу Yellow проводили в приборе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия).

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла “Ct” в соответствующей графе в таблице результатов).

6. Результаты

6.1 Контроль аналитической чувствительности

Контроль аналитической чувствительности осуществляли проведением ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, где в качестве исследуемых образцов использовали последовательные разведения ПКО-YFV с шагом 10 от исходного до 10^{-10} . После учета и анализа результатов ПЦР пересчитывали концентрацию плазмидной ДНК последнего разведения, детектируемого как положительный образец, в количество копий в исследуемом образце.

Результат оценки специфичности и аналитической чувствительности представлен в таблице:

образец	значение Ct	
	Серия Ж001-05-2017	Серия Ж003-05-2017
СОП ДНК человека	N/A	N/A
ОКО-YFV	N/A	N/A
ПКО-YFV	23,43	23,05
СОП ПКО-YFV($1,24 \times 10^8$ копий в реакции)	12,38	11,74
-1 ($1,24 \times 10^7$ копий в реакции)	14,63	14,80
-2 ($1,24 \times 10^6$ копий в реакции)	18,40	18,66
-3 ($1,24 \times 10^5$ копий в реакции)	21,98	22,01
-4 ($1,24 \times 10^4$ копий в реакции)	25,83	25,49
-5 ($1,24 \times 10^3$ копий в реакции)	29,22	28,49
-6 ($1,24 \times 10^2$ копий в реакции)	32,07	31,42
-7 ($1,24 \times 10^1$ копий в реакции)	34,94	34,08
-8	N/A	N/A
-9	N/A	N/A
-10	N/A	N/A

6.2 Контроль повторяемости, воспроизводимости.

Контроль повторяемости и воспроизводимости осуществляли проведением ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, где в качестве положительных образцов использовали СОП ПКО-YFV разведенный до концентрации $1,24 \times 10^5$ копий/мл. Исследования проводили по 10 повторов двумя операторами в разные дни (всего 20 повторов).

Серия Ж001-05-2017

Повторяемость

День/оператор	№ обр	СОП ПКО-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)		Стандартное отклонение	Повторяемость
		Ct Yellow	Сред Ct Yellow		
День 1 Оператор 1	1	28,20	28,07	0,14	0,49
	2	27,95			
	3	27,98			
	4	28,01			
	5	28,04			
	6	28,23			
	7	28,10			
	8	28,18			
	9	28,22			
	10	27,81			
День 2 Оператор 2	1	28,29	28,75	0,32	1,11
	2	28,98			
	3	28,95			
	4	28,83			
	5	28,62			
	6	29,13			
	7	28,62			
	8	28,84			
	9	29,04			
	10	28,17			

Воспроизводимость

Образцы	СОП ПКО-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)
Всего повторов*	20
Среднее значение величины Ct	28,41
стандартное отклонение	0,42
коэффициент вариации CV, % (между тестами)	1,48

* общее число результатов, полученных в разные дни, разными операторами и т.д.

Серия Ж003-05-2017

Повторяемость

		СОП ПКО-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)			

День/оператор	№ обр	Ct Yellow	Сред Ct Yellow	Стандартное отклонение	Повторяемость
День 1 Оператор 1	1	28,84	28,73	0,42	1,45
	2	28,43			
	3	28,37			
	4	28,62			
	5	28,73			
	6	29,79			
	7	28,46			
	8	28,40			
	9	28,84			
	10	28,84			
День 2 Оператор 2	1	27,30	28,24	0,39	1,40
	2	28,28			
	3	28,72			
	4	28,11			
	5	28,51			
	6	28,07			
	7	28,63			
	8	28,35			
	9	28,34			
	10	28,12			

Воспроизводимость

Образцы	СОП ПКО-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)
Всего повторов *	20
Среднее значение величины Ct	28,49
стандартное отклонение	0,47
коэффициент вариации CV, % (между тестами)	1,65

* общее число результатов, полученных в разные дни, разными операторами и т.д.

Коэффициент вариации для повторяемости по ТУ не должен превышать 3 %.
Серии Ж001-05-2017 и Ж003-05-2017 соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015 по повторяемости.

Коэффициент вариации для воспроизводимости по ТУ не должен превышать 6 %.
Серии Ж001-05-2017 и Ж003-05-2017 соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015 по воспроизводимости.

6.3 Контроль концентрации плазмидной ДНК.

Концентрацию плазмидной ДНК определяли с использованием набора реагентов Quant-iT dsDNA, HS (Invitrogen, США) и флуориметра QUBIT (Invitrogen, США).
Результаты анализа концентрация ПКО-YFV:

Серия Ж001-05-2017 45 пг/мл ($1,0 \times 10^7$ копий/мл).
Серия Ж003-05-2017 45 пг/мл ($1,0 \times 10^7$ копий/мл).

Пересчет концентрации ДНК в количество копий произведен в программе-конвертере :

http://molbiol.ru/scripts/01_07.html по формулам:

$$m[g] = Q[mol] \times Mw^{олиг}[kDa] \times 10^3$$

$$m[g] = Q[mol] \times \langle Mw \rangle [Da] \times L[kb] \times 10^3$$

$$N[штук] = Q[mol] \times N_A$$

$$c[M] \times V[L] = Q[mol],$$

где

m [g] - вес нуклеиновой кислоты;

Mw^{олиг} [kDa] - молекулярный вес олигонуклеотида.

<Mw> [Da] - средний молекулярный вес одного/пары оснований.

base= 324.5 Da

base pair = 649 Da

ribo base = 340.5 Da

Q [mol] - количество нукл. кислоты;

N [копий] - количество молекул нукл. кислоты;

c [M] - молярная концентрация нукл. кислоты;

V [L] - объём, в котором растворена нукл. кислота;

L [kb] - длина нукл. кислоты;

N_A - Число Авогадро = 6.022045x10²³[1/моль]

ПКО-YFV - рекомбинантная бактериальная плазмида, содержащая вставку ДНК, комплементарную участку РНК вируса желтой лихорадки, в соответствии с проектом ТУ 9398-051-05664012-2015 имеет концентрацию плазмидной ДНК более 10 пг/мл. Концентрация плазмидной ДНК в ПКО-YFV в сериях Ж001-05-2017 и Ж003-05-2017 - не менее 10 пг/мл, что соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015.

6.4 Контроль аналитической чувствительности наборов реагентов

Аналитическая чувствительность набора реагентов:

Серия Ж001-05-2017..... $1,24 \times 10^1$.

Серия Ж003-05-2017..... $1,24 \times 10^1$.

Аналитическая чувствительность набора реагентов по ТУ должна составлять не более 1×10^3 копий ДНК в ПЦР. Серии Ж001-05-2017 и Ж003-05-2017 соответствуют проекту ТУ 9398-051-05664012-2015 по чувствительности.

Зав. лабораторией молекулярной
эпидемиологии особо опасных инфекций

В.А. Терновой

Н.с. отдела молекулярной вирусологии
флавивирусов и вирусных гепатитов

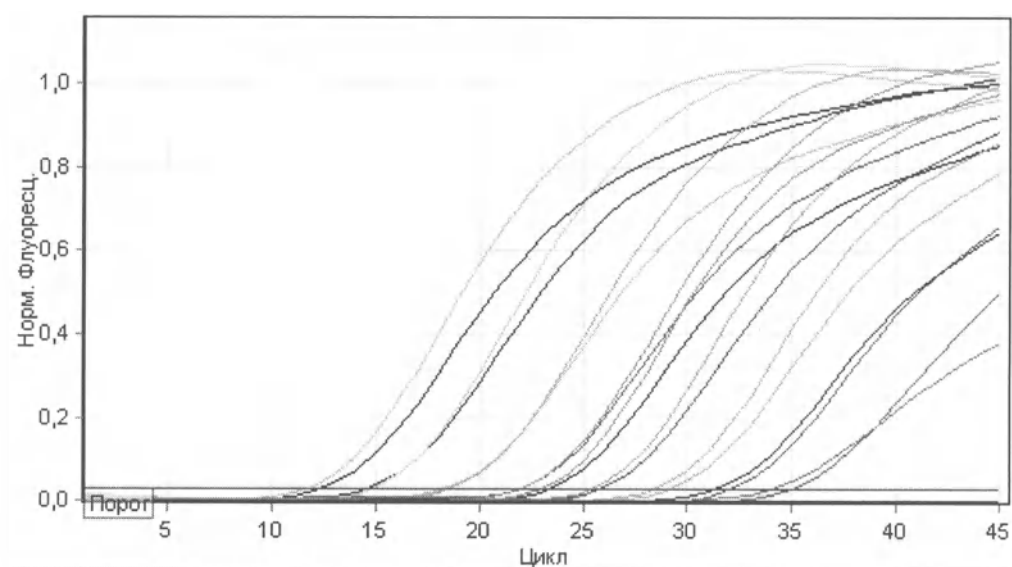
Е.В. Чуб

Зав. отделом биологического
и технологического контроля

М.П. Богрянцева



Канал Yellow



№	Цвет	Имя	СТ
1	■	СОП ДНК человека	
2	■	ОКО	
3	■	СОП	12,38
4	■	-1	14,63
5	■	-2	18,40
6	■	-3	21,98
7	■	-4	25,83
8	■	-5	29,22
9	■	-6	32,07
10	■	-7	34,94
11	■	-8	
12	■	-9	
13	■	-10	
14	■	пко	23,43
15	■	СОП ДНК человека	
16	■	ОКО	
17	■	СОП	11,74
18	■	-1	14,80
19	■	-2	18,66
20	■	-3	22,01

№	Цвет	Имя	СТ
21		-4	25,49
22		-5	28,49
23		-6	31,42
24		-7	34,08
25		-8	
26		-9	
27		-10	
28		ПКО	23,05

ПРОТОКОЛ № 2ЖЛ (от 4 мая 2017 г.)

лабораторного испытания набора реагентов для амплификации кДНК вируса желтой лихорадки с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»

серия Ж002-05-2017, дата изготовления 03.05.2017

серия Ж004-05-2017, дата изготовления 03.05.2017

1. Принцип метода.

Набор реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV» предназначен для проведения амплификации фрагментов кДНК вируса желтой лихорадки, предварительно синтезированных на матрице РНК вируса желтой лихорадки в реакции обратной транскрипции, и гибридационно-флуоресцентной детекции продуктов амплификации в режиме реального времени.

Метод основан на многократном увеличении числа копий фрагмента вирусных нуклеиновых кислот (комплементарной ДНК – кДНК) с одновременной гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, что позволяет обнаружить специфичный участок генома возбудителя с целью его идентификации. Для проведения ПЦР в режиме реального времени используют специфические праймеры (прямой и обратный) и флуоресцентно-меченый зонд. Специфические праймеры обеспечивают амплификацию фрагментов кДНК, предварительно синтезированной на матрице РНК, соответствующих нуклеотидной последовательности участка генома вируса желтой лихорадки.

2. Меры предосторожности.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. ПЦР-анализ выполнялся в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I - IV групп патогенности».

3. Анализируемые образцы.

В ПЦР-анализе не использовался вирусосодержащий материал.

В качестве анализируемых образцов использовали: положительный контрольный образец (ПКО-YFV), представляющий собой раствор рекомбинантной плазмиды pCR 2.1, содержащей вирусоспецифическую вставку; СОП ДНК человека серия №01-10.16, представляющий собой ДНК человека выделенную из крови здоровых доноров. СОП ПКО YFV серия №01-05.17 представляющий собой раствор рекомбинантной плазмиды pCR 2.1, содержащей вирусоспецифическую вставку (длина 4,0 kb);

В качестве отрицательного контрольного образца использовали деионизованную воду.

4. Протокол ПЦР амплификации

Набор реагентов включает в себя пару праймеров, обеспечивающую специфичную амплификацию фрагментов ДНК и флуоресцентно меченый зонд.

Постановку ПЦР проводили в объеме 30 мкл реакционной смеси следующего состава:

<u>Компоненты</u>	<u>Объем</u>
Реагент 1-YFV	10 мкл
Реагент 2-YFV	10 мкл
Контрольный образец	10 мкл

ПЦР и детекцию результатов в режиме реального времени проводили на приборе CFX96 (BioRad, США) используя следующую программу:

Температура (°C)	Время (минуты:секунды)	Измерение флуоресценции	Количество циклов
95	05:00	-	1
94	00:10	-	5
54	00:20	-	
72	00:20	-	
94	00:10	-	
54	00:20	HEX	45
72	00:20	-	

5. Учет полученных результатов.

ПЦР в режиме реального времени и регистрацию результатов проводили в приборе CFX96 (BioRad, США) по каналу HEX.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла “Ct” в соответствующей графе в таблице результатов).

6. Результаты

6.1 Контроль аналитической чувствительности

Контроль аналитической чувствительности осуществляли проведением ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, где в качестве исследуемых образцов использовали последовательные разведения ПКО-YFV с шагом 10 от исходного до 10^{-10} . После учета и анализа результатов ПЦР пересчитывали концентрацию плазмидной ДНК последнего разведения, детектируемого как положительный образец, в количестве копий в исследуемом образце.

Результат оценки специфичности и аналитической чувствительности представлен в таблице:

образец	значение Ct	
	Серия Ж002-05-2017	Серия Ж004-05-2017
СОП ДНК человека	N/A	N/A
ОКО-YFV	N/A	N/A
ПКО-YFV	21,80	21,31
СОП ПКО-YFV($1,24 \times 10^8$ копий в реакции)	12,93	11,90
-1 ($1,24 \times 10^7$ копий в реакции)	15,13	14,45
-2 ($1,24 \times 10^6$ копий в реакции)	19,12	18,22
-3 ($1,24 \times 10^5$ копий в реакции)	23,39	21,51
-4 ($1,24 \times 10^4$ копий в реакции)	26,47	24,51
-5 ($1,24 \times 10^3$ копий в реакции)	29,42	27,94
-6 ($1,24 \times 10^2$ копий в реакции)	32,36	34,76
-7 ($1,24 \times 10^1$ копий в реакции)	36,36	N/A
-8	N/A	N/A

-9	N/A	N/A
-10	N/A	N/A

6.2 Контроль повторяемости, воспроизводимости.

Контроль повторяемости и воспроизводимости осуществляли проведением ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, где в качестве положительных образцов использовали СОП ПКО-YFV разведенный до концентрации $1,24 \times 10^5$ копий/мл. Исследования проводили по 10 повторов двумя операторами в разные дни (всего 20 повторов).

Серия Ж002-05-2017

Повторяемость

День/оператор	№ обр	СОП ПКО-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)		Стандартное отклонение	Повторяемость
		Ст HEX	Сред Ст HEX		
День 1 Оператор 1	1	28,70	29,48	0,32	1,08
	2	29,49			
	3	29,64			
	4	29,64			
	5	29,53			
	6	29,35			
	7	29,85			
	8	29,31			
	9	29,53			
	10	29,74			
День 2 Оператор 2	1	30,04	29,98	0,39	1,28
	2	29,67			
	3	31,02			
	4	29,73			
	5	29,99			
	6	29,76			
	7	29,80			
	8	29,84			
	9	30,04			
	10	29,91			

Воспроизводимость

Образцы	СОП ПКО-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)
Всего повторов *	20
Среднее значение величины Ct	29,73
стандартное отклонение	0,43
коэффициент вариации CV, % (между тестами)	1,45

* общее число результатов, полученных в разные дни, разными операторами и т.д.

Повторяемость

		СОП ПК0-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)			
День/оператор	№ обр	Сt HEX	Сред Сt HEX	Стандартное отклонение	Повторяемость
День 1 Оператор 1	1	28,00	28,14	0,41	1,47
	2	28,03			
	3	28,56			
	4	28,10			
	5	29,16			
	6	27,95			
	7	27,83			
	8	27,97			
	9	27,80			
	10	28,02			
День 2 Оператор 2	1	27,40	27,51	0,18	0,66
	2	27,70			
	3	27,45			
	4	27,15			
	5	27,48			
	6	27,51			
	7	27,54			
	8	27,73			
	9	27,74			
	10	27,40			

Воспроизводимость

Образцы	СОП ПК0-YFV ($1,24 \times 10^5$ копий/мл)
Всего повторов*	20
Среднее значение величины Сt	27,83
стандартное отклонение	0,45
коэффициент вариации CV, % (между тестами)	1,62

* общее число результатов, полученных в разные дни, разными операторами и т.д.

Коэффициент вариации для повторяемости по ТУ не должен превышать 3 %.
Серии Ж002-05-2017 и Ж004-05-2017 соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015 по повторяемости.

Коэффициент вариации для воспроизводимости по ТУ не должен превышать 6 %.
Серии Ж002-05-2017 и Ж004-05-2017 соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015 по воспроизводимости.

6.3 Контроль концентрации плазмидной ДНК.

Концентрацию плазмидной ДНК определяли с использованием набора реагентов Quant-iT dsDNA, HS (Invitrogen, США) и флуориметра QUBIT (Invitrogen, США). Результаты анализа концентрации ПКО-YFV:

Серия Ж002-05-2017	45 пг/мл ($1,0 \times 10^7$ копий/мл).
Серия Ж004-05-2017	45 пг/мл ($1,0 \times 10^7$ копий/мл).

Пересчет концентрации ДНК в количество копий произведен в программе-конвертере :

http://molbiol.ru/scripts/01_07.html по формулам:

$$m[g] = Q[mo] \times Mw^{олиг}[kDa] \times 10^3$$

$$m[g] = Q[mo] \times \langle Mw \rangle [Da] \times L[kb] \times 10^3$$

$$N[штук] = Q[mo] \times N_A$$

$$c[M] \times V[L] = Q[mo],$$

где

$m[g]$ - вес нуклеиновой кислоты;

$Mw^{олиг}[kDa]$ - молекулярный вес олигонуклеотида.

$\langle Mw \rangle [Da]$ - средний молекулярный вес одного/пары оснований.

base= 324.5 Da

base pair = 649 Da

ribo base = 340.5 Da

$Q[mo]$ - количество нукл. кислоты;

$N[копий]$ - количество молекул нукл. кислоты;

$c[M]$ - молярная концентрация нукл. кислоты;

$V[L]$ - объём, в котором растворена нукл. кислота;

$L[kb]$ - длина нукл. кислоты;

N_A - Число Авогадро = 6.022045×10^{23} [1/моль]

ПКО-YFV - рекомбинантная бактериальная плазмида, содержащая вставку ДНК, комплементарную участку РНК вируса желтой лихорадки, в соответствии с проектом ТУ 9398-051-05664012-2015 имеет концентрацию плазмидной ДНК более 10 пг/мл. Концентрация плазмидной ДНК в ПКО-YFV в сериях Ж002-05-2017 и Ж004-05-2017 - не менее 10 пг/мл, что соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015.

6.4 Контроль аналитической чувствительности наборов реагентов

Аналитическая чувствительность набора реагентов:

Серия Ж002-05-2017..... $1,24 \times 10^1$.

Серия Ж004-05-2017..... $1,24 \times 10^2$.

Аналитическая чувствительность набора реагентов по ТУ должна составлять не более 10^3 копий ДНК в ПЦР. Серии Ж002-05-2017 и Ж004-05-2017 соответствует проекту ТУ 9398-051-05664012-2015 по чувствительности.

Зав. лабораторией молекулярной
эпидемиологии особо опасных инфекций

В.А. Терновой

Н.с. отдела молекулярной вирусологии
флавивирусов и вирусных гепатитов.

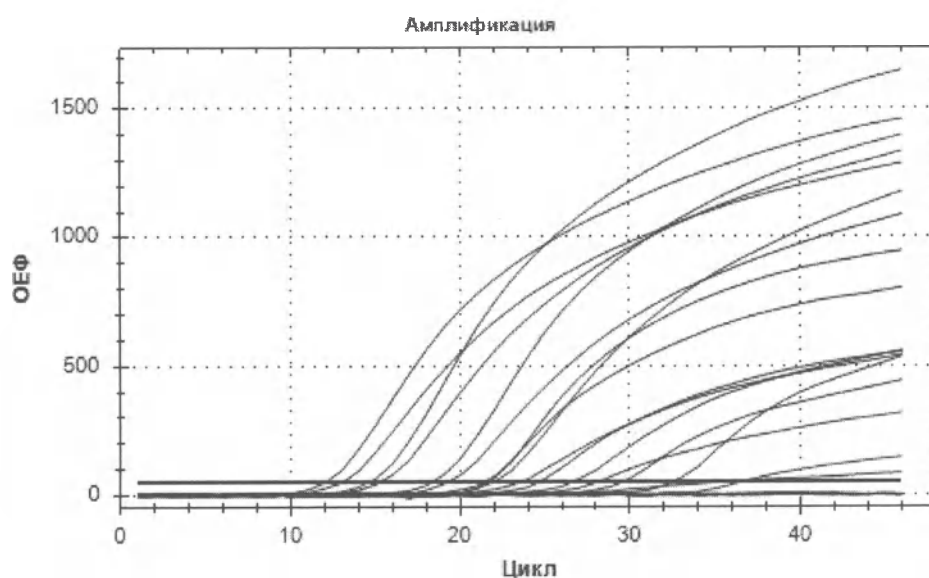
Е.В. Чуб

Зав. отделом биологического и
технологического контроля

М.П. Богрянцева



Канал HEX



№	Поз	Тип	Описание	С _t HEX
1	A01	ИО	СОП ДНК человека	N/A
2	B01	ИО	ОКО-YFV	N/A
3	C01	ИО	ПКО-YFV	21,80
4	D01	ИО	СОП ПКО-YFV($1,24 \times 10^{10}$ копий/мл)	12,93
5	E01	ИО	-1	15,13
6	F01	ИО	-2	19,12
7	G01	ИО	-3	23,39
8	H01	ИО	-4	26,47
9	A02	ИО	-5	29,42
10	B02	ИО	-6	32,36
11	C02	ИО	-7	36,36
12	D02	ИО	-8	N/A
13	E02	ИО	-9	N/A
14	F02	ИО	-10	N/A
15	G02	ИО	СОП ДНК человека	N/A
16	H02	ИО	ОКО-YFV	N/A
17	A03	ИО	ПКО-YFV	21,31
18	B03	ИО	СОП ПКО-YFV($1,24 \times 10^{10}$ копий/мл)	11,90
19	C03	ИО	-1	14,45
20	D03	ИО	-2	18,22
21	E03	ИО	-3	21,51

22	F03	ИО	-4	24,51
23	G03	ИО	-5	27,94
24	H03	ИО	-6	34,76
25	A04	ИО	-7	N/A
26	B04	ИО	-8	N/A
27	C04	ИО	-9	N/A
28	D04	ИО	-10	N/A



В данном экспонате
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 24 листов
Подпись члена комиссии
пронисью
Зав. ОТК М.П. Буфеев
должность, подпись

Москва Д-98
1-й Щукинский проезд, 24.

Академия медицинских
наук СССР
ИНСТИТУТ ВИРУСОЛОГИИ
им. Д. И. Ивановского
Музей вирусов

ПАСПОРТ ШТАММА ПКВ №139

V-156

Штамм Вируса табачной мозаики
Особое название штамма 17D (вакцинированный)
(см. литературу)

Получен из Англии из научной лаборатории
Вейкелли

Дата получения 6 июля 1960 г. Выделен 6.1927 г. Род
Кореи и Вьетнама в Западном Афганистане от
высокой температуры на осеях машин и оборудования.

После воздействия табачной мозаики 18
насаждений на Табачные культуры в на-
учном институте + 50 насаждений в Табач-
ном саду дачи дачи-пригородных культур
насаждений 17D насаждений на развешиваемых
проверен 1960 г.

Штамм перед отпуском проверил _____

Научный сотрудник Лавренко Е.В.

Отпуск штамма разрешил _____

Зав. музеем вирусов Григорьев С.А.

Тушинская типография. Зак. 1229

П А С П О Р Т

на культуру вируса желтой лихорадки

ШТАММ

- ЕВАНЖА 1441 NYAMANDÉ 207

ПАССАЖ

- второй

ВИД ПРЕПАРАТА

- 10% суспензия мозга белых мышей сосунков на 10% сахарозе с 10% желтка, лиофильно высушенная в ампулах под вакуумом.

КОЛИЧЕСТВО
(объем в ампуле)

- 0,5 мл

ТЕМПЕРАТУРА ХРАНЕНИЯ

- от минус 18 до минус 22°C

ДАТА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

- 26.05.92 г.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ- 5,1 lg БОЕ/мл

БАКТЕРИАЛЬНАЯ И ГРИБКО-
ВАЯ ФЛОРА

- отсутствует

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА НЕКОНТАГИОЗНЫХ
ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

 - В.ДОНЧЕНКО

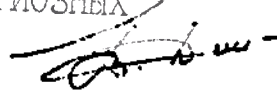
РУКОВОДИТЕЛЬ ГРУППЫ МУЗЕЯ

 В.МАРКИН

П А С П О Р Т
на культуру вируса желтой лихорадки

Штамм	- Кинтампо
Пассаж	- пятый
Вид препарата	- 10% суспензия мозга белых мышей- сосунков на 10% сахарозе с 10% желтка лиофильно высушенная в ампулах под вакуумом
Количество (объем в ампуле)	- 0,5 мл
Температура хранения	- от минус 18 до минус 22°C
Дата приготовления	- 14.01.82 г.
Биологическая активность	- $5,0 \cdot 10^6$ титр $LD_{50} \cdot \text{мл}^{-1}$ для белых мышей
Бактериальная и грибковая флора	отсутствуют.

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА НЕКОНТАГИОЗНЫХ
ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ



В.Донченко

РУКОВОДИТЕЛЬ ГРУППЫ МУЗЕЯ



Н.Квашнина

V-159

П А С П О Р Т

на культуру вируса желтой лихорадки

ШТАММ	- Asibi M.R. 1052/161
ПАССАЖ	- второй
ВИД ПРЕПАРАТА	- 10% суспензия мозга белых мышей сосунков на 10% сахарозе с 10% желтка, лиофильно высушенная в ампулах под вакуумом.
КОЛИЧЕСТВО (объем в ампуле)	- 0,5 мл
ТЕМПЕРАТУРА ХРАНЕНИЯ	- от минус 18 до минус 22°C
ДАТА ПРИГОТОВЛЕНИЯ	- 26.05.92 г.
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	- 6,6 лг БОЕ/мл
БАКТЕРИАЛЬНАЯ И ГРИБКОВАЯ ФЛОРА	- отсутствует

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА НЕКОНТАГИОЗНЫХ
ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ



В. ДОНЧЕНКО

РУКОВОДИТЕЛЬ ГРУППЫ МУЗЕЯ



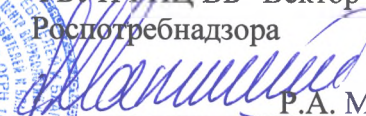
В. МАРКИН



В данном документе
пронумеровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 4 листов
Четыре листа
прописью
Зав. ОТМ М.П. Бурякина
должность, подпись



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора


Р.А. Максютлов

"13" ноября 2017 г.

Маркировка медицинского изделия

**Федеральное бюджетное учреждение науки
«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

**Набор реагентов для амплификации кДНК вируса желтой лихорадки с гибридизационно-
флуоресцентной детекцией в режиме реального времени
«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
по ТУ 9398-051-05664012-2015**

Внутренняя упаковка

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

**«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
Наименование реагента**

Объем (мл)

Серия:

Дата изготовления:

Годеи до:

Хранить при температуре от 2 °C до 8 °C

Только для диагностики ин витро



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
В.А. Максютков

13 ноября 2017 г.

Маркировка
внешней упаковки
(коробка)



Стр.1 из 2

Этикетка для коробки (пакета)



Федеральное бюджетное учреждение науки
«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
630559, рабочий поселок Кольцово, Новосибирской области,
Тел. (383) 336-60-10, Тел./факс (383) 336-74-09

**Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени
«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
по ТУ 9398-051-05664012-2015**

Регистрационный номер.....Дата регистрации.....

Серия: Дата изготовления: Годен до:

Хранить при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере.

«Только для диагностики ин витро»

Комплектация V20

Состав набора:

1. **Реагент-1-YFV**, прозрачная бесцветная жидкость, 0,2 мл, 1 пробирка.
2. **Реагент-2-YFV**, прозрачная бесцветная жидкость, 0,2 мл, 1 пробирка.
3. **ПКО-YFV**, прозрачная бесцветная жидкость, 0,2 мл, 1 пробирка.
4. **ОКО-YFV**, прозрачная бесцветная жидкость, 0,2 мл, 1 пробирка.

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора



Р.А. Максют

В" ноябрь 2014г.

**Маркировка групповой упаковки
(транспортной тары)**



**Федеральное бюджетное учреждение науки
«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
630559, рабочий поселок Кольцово, Новосибирской области,
Тел. (383) 336-60-10, Тел./факс (383) 336-74-09**

**Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени
«Вектор-ПЦР_{РВ}-YFV»
по ТУ 9398-051-05664012-2015**

Серия: _____ Дата изготовления: _____ Годен до: _____

Хранить при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере.

«Только для диагностики in vitro»

"Верх, не кантовать" "Боится нагревания",

"Боится сырости"

"Соблюдение интервала температур" "Вскрыть по получении".

Масса нетто _____ Масса брутто _____ Масса нетто набора _____

Количество наборов _____



В данном документе
пронумеровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 4 листов

Четыре листа
прописью
Зав. ОТК М.П. Буфеев
должность, подпись