

УТВЕРЖДАЮ
Врио генерального директора
ФБУН ГИИ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора

Р.А. Максютов
20/6 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для выявления генетического материала вируса
Зика методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме
реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика»

2016

1 ПАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Полное название набора

«Набор реагентов для выявления генетического материала вируса Зика методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика» по ТУ 9398-063-05664012-2016.

1.2 Предназначение набора и его диагностическая роль

Медицинское изделие для *in vitro* диагностики «Набор реагентов для выявления генетического материала вируса Зика методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика» по ТУ 9398-063-05664012-2016 предназначено для выявления РНК вируса Зика методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени на приборе Rotor-Gene 6000 или Rotor-Gene Q (“Corbett Life Science”, Австралия) или аналогичных приборах других производителей.

Диагностическая роль набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика» заключается в возможности его использования в поддержке диагностики специфических патологий (лихорадка Зика) 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 flavivirusных заболеваний человека, специфическая индикация патогенных биологических агентов, эпидемиологический мониторинг, научные исследования.

Набор может быть использован в лабораториях специализированных противоэпидемических бригад Роспотребнадзора (без накопления возбудителя вирусологическими методами), а также в изолированных лабораториях специализированных учреждений других министерств и ведомств, в том числе Министерства Обороны.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Компоненты набора являются одноразовыми.

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

2.1 Состав набора

Набор реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика» состоит из 4 реагентов:

№	Реактив	Описание	Объем	Кол-во
1.	Реагент-1-ЗИКА	прозрачная бесцветная жидкость	140 мкл	1 пробирка
2.	Реагент-2-ЗИКА	прозрачная бесцветная жидкость	10 мкл	1 пробирка

3.	ПКО-ЗИКА	прозрачная бесцветная жидкость	100 мкл	1 пробирка
4.	ОКО-ЗИКА	прозрачная бесцветная жидкость	100 мкл	1 пробирка

Реакционная смесь, **Реагент-1-ЗИКА**, расфасована в пробирку из полипропилена объемом 1,5 мл, состав: эквимольная смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, ПЦР-буфер, хлорид магния, два олигонуклеотидных праймера, флуоресцентный зонд.

Реакционная смесь, **Реагент-2-ЗИКА**, расфасована в пробирку из полипропилена объемом 1,5 мл, состав: смесь ферментов для обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

Положительный контрольный образец, **ПКО-ЗИКА** расфасован в пробирку из полипропилена объемом 1,5 мл, состав: рекомбинантная плазида, несущая видоспецифическую вставку для вируса Зика.

Отрицательный контрольный образец, **ОКО-ЗИКА**, расфасован в пробирку из полипропилена объемом 1,5 мл, состав: буфер ТЕ.

Примечание: Ингредиентами, которые могут влиять на измерения, являются праймеры и флуоресцентный зонд, основной характеристикой которых для конечного пользователя является температура отжига, составляющая 60 °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 10 определений, включая контрольные образцы.

2.3 Метод исследования

Метод основан на многократном увеличении числа копий фрагмента вирусных нуклеиновых кислот с одновременной гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, что позволяет обнаружить специфичный участок генома возбудителя с целью его идентификации.

Для детекции генетического материала вируса Зика в ОТ-ПЦР в режиме реального времени подобрана система, состоящая из видоспецифической пары праймеров и одного видоспецифического флуоресцентно-меченого зонда, несущего на 5'-конце флуоресцентный краситель FAM, на 3'-конце – гаситель BHQ1. Праймеры обеспечивают специфичную амплификацию фрагментов ДНК, которые соответствуют нуклеотидной последовательности участка генома вируса Зика. Гибридизованный к матрице флуоресцентный зонд во время элонгации цепи ДНК разрушается за счет 5'-эксонуклеазной активности полимеразы, при этом происходит расхождение в пространстве флуорофора и гасителя, что ведет к накоплению сигнала флуоресценции. Накопление флуоресцентного сигнала, фиксируемого прибором, соответствует накоплению продуктов амплификации в реакции. При наличии

вирусной РНК будет специфически накапливаться соответствующий флуорофор (FAM) и можно будет сделать вывод о наличии или отсутствии вируса Зика в исходном образце.

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 ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» (г. Москва) в рамках исследования эффективности набора и проведения технических испытаний. При проведении исследований наблюдалась полная внутривыставочная, межвыставочная и межсерийная воспроизводимость для всех исследуемых образцов

3.1.1 Чувствительность

Набор реагентов должен выявлять 1×10^3 копий РНК вируса Зика в 25 мкл реакционной смеси.

3.1.2 Специфичность

Набор реагентов не должен давать положительных результатов с образцами здоровых доноров или образцами, содержащими генетический материал вирусов клещевого энцефалита, желтой лихорадки, японского энцефалита, Западного Нила, денге.

3.2 Диагностические характеристики

Клинические исследования набора проведены на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (р.п. Кольцово, Новосибирской области). При проведении исследований наблюдалась полная внутривыставочная, межвыставочная и межсерийная воспроизводимость для всех положительных образцов.

3.2.1 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность – при исследовании 216 положительных образцов, содержащих РНК вируса Зика в концентрации не менее 1×10^4 копий/мл (соответствует 10^3 копий в 25 мкл реакционной смеси), положительный результат в ПЦР получен для всех 216 образцов. Диагностическая чувствительность – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.

3.2.2 Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность – при исследовании наборами двух серий 180 отрицательных образцов, содержащих НК гетерологичных микроорганизмов (вирус клещевого энцефалита, вирус Западного Нила, вирус желтой лихорадки, вирус японского энцефалита, вирус денге DENV-1, DENV-2, DENV-4), 10 отрицательных образцов, содержащих ДНК человека и 10 проб неинфицированной культуральной суспензии клеток Vero, отрицательный результат в ПЦР получен для 200 образцов. Диагностическая специфичность – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Работу с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность вирусом Зика, проводят в соответствии с требованиями санитарно-эпидемиологических правил по безопасности работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) (СП 1.3.3118-13), методических указаний «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

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 группы 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 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности». 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 пробами 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

Прибор для ПЦР в реальном времени – имеющий канал детекции, соответствующий красителю FAM (либо его спектральный аналог), например, Rotor-Gene 6000 или Rotor-Gene Q (“Corbett Life Science”, Австралия).

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).

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;

штатив для данных пипеток.

5.4 Другое используемое оборудование

Микроцентрифуга (например, «Centrifuge 5415D» (“Eppendorf”, Германия));

Встряхиватель пробирок (например, «Vortex-genie2» (“Scientific Industries”, США));

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

Холодильник, 2-8 °С.

5.5 Лабораторная посуда

Емкости для сброса наконечников и микропробирок.

5.6 Материалы и реагенты, не входящие в состав набора

Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 10 мкл, 20 мкл, 100 мкл, 200 мкл;

набор реагентов для выделения РНК;

отдельный халат и одноразовые медицинские перчатки;

комплект средств для обработки рабочего места.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.1 Тип исследуемых образцов

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

6.2 Процедура получения биологического материала

Процедура взятия проб должна выполняться в соответствии с правилами противозидемического 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 различный биологический материал (плазма крови, моча, слюна, культуральная жидкость, комары, биопсийный материал).

Взятие крови осуществляют из локтевой вены с помощью систем взятия крови типа Vacuette, Vacutainer или подобных, содержащих ЭДТА в качестве антикоагулянта (фиолетовая маркировка), в объеме 6-9 мл.

Сбор мочи для исследования осуществляют в стерильный пластиковый контейнер объемом 50-60 мл. В случае необходимости длительного хранения, в пробу добавляют глицерин до конечной концентрации 10 % и хранят при минус 20 °С.

Биопсийный материал массой 1 - 3 г отбирают стерильным хирургическим инструментом и помещают в пробирку объемом 15 мл типа Falcon или в стерильный пластиковый контейнер с плотно закручивающейся крышкой.

Сразу после взятия пробы пробирки маркируют, указывая фамилию и инициалы больного, возраст, день болезни, вид материала (например, кровь, моча и т.д.) и дату его взятия. Остальные сведения о больном (предполагаемый диагноз, дату поступления, вакцинальный статус и прочие) указывают в сопроводительной карточке.

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)».

6.3 Условия транспортирования и возможного хранения анализируемых образцов

Транспортирование материала в лабораторию для исследований проводят при

температуре от 2 °С до 8 °С в течение одних 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.

В случае замораживания клинического материала его транспортировка также должна осуществляться в замороженном состоянии. Допускается только однократное замораживание-оттаивание образцов для исследования.

6.4 Меры предосторожности к материалу исследования

Учет, хранение, передача и транспортирование биологического материала, подозрительного на наличие вируса Зика, 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)».

6.5 Обеззараживание проб и выделение РНК

Обеззараживание проб проводят в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Выделение РНК из клинических образцов проводят с соблюдением 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». Процедуру выделения РНК осуществляют с соблюдением правил работы с использованием коммерческих наборов реагентов для выделения РНК вируса из клинических образцов и секционного материала в соответствии с инструкциями производителей наборов. Температурный режим и длительность хранения РНК осуществляется в соответствии с рекомендациями производителя набора для выделения нуклеиновых кислот. В каждую партию выделения наряду с исследуемым материалом необходимо включать отрицательный контроль выделения (ОКО-выд), который погом

обязательно анализируется в ПЦР. Это позволяет контролировать возможную контаминацию на этапе выделения НК.

7 ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИИ АМПЛИФИКАЦИИ

7.1 Расход каждого реагента (минимальный)

На одно определение расходуются:

- 14 мкл Реагент-1-ЗИКА; 1 мкл Реагент-2-ЗИКА.

На каждый анализ расходуются:

- 10 мкл ПКО-ЗИКА; 10 мкл ОКО-ЗИКА;

7.2 Последовательность проведения этапов анализа

Общий объем реакционной смеси 25 мкл, объем РНК-пробы – 10 мкл.

Порядок работы на амплификаторе Rotor-Gene 6000 или Rotor-Gene Q (“Corbett Life Science”, Австралия) приведен ниже. Порядок работы на аналогичном приборе другого производителя осуществляется в соответствии с инструкцией к прибору.

Подготовка пробирок для проведения ПЦР:

Отобрать необходимое количество пробирок объемом 0,2 мл в соответствии с количеством исследуемых и контрольных образцов и промаркировать.

Извлечь из холодильника реактивы для проведения ПЦР. Разморозить пробирки с реагентами при комнатной температуре, встряхнуть пробирки на встряхивателе пробирок и осадить капли на дно пробирок кратковременным центрифугированием.

Все реакционные компоненты добавлять отдельными наконечниками с аэрозольным барьером с помощью дозаторов переменного объема: 0,5-10, 2-20, 10-100 и 20-200 мкл.

Проведение амплификации:

Приготовить реакционную смесь для проведения ПЦР и внести в пробирки.

В пробирке объемом 1,5 мл приготовить смесь компонентов следующего состава (из расчета на одну пробу):

Реагент-1-ЗИКА 14 мкл

Реагент-2-ЗИКА 1 мкл

перемешивают смесь пипетированием.

Внести по 15 мкл смеси компонентов в заранее промаркированные пробирки.

Внести в пробирки отдельным наконечником с аэрозольным барьером по 10 мкл препарата выделенной РНК.

Поставить контрольные реакции амплификации:

- отрицательный контроль – вместо препарата выделенной РНК в пробирку внести 10 мкл ОКО-ЗИКА.
- отрицательный контроль выделения НК – вместо препарата выделенной РНК в пробирку внести 10 мкл ОКО-выд.
- положительный контроль (вносят в последнюю очередь) – вместо препарата выделенной РНК в пробирку внести 10 мкл ПКО-ЗИКА.

Общий (конечный) объем реакционной смеси в каждой пробирке должен составить 25 мкл.

Rotor-Gene 6000 или Rotor-Gene Q (“Corbett Life Science”, Австралия)

Поставить пробирки в ячейки ротор амплификатора, зафиксировать стопорным кольцом и задать программу амплификации со следующими параметрами в соответствующих диалоговых окнах:

- канал детекции FAM;
- объем реакционной смеси – 25 мкл;
- температурно-временные режимы:

Температура (°C)	Время (минуты: секунды)	Количество циклов
45	10:00	1
95	10:00	1
95	00:10	45
60	00:15	
72	00:15	

- детекцию проводят при шаге циклирования 60 °C по каналу детекции FAM.

Далее запускают программу амплификации и вносят данные в таблицу исследуемых образцов.

7.3 Процедура измерения и оценки результатов анализа

Анализ результатов амплификации при использовании амплификатора Rotor-Gene 6000 или Rotor-Gene Q (“Corbett Life Science”, Австралия) проводят по каналу FAM с использованием программного обеспечения прибора. Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналу FAM (Green).

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией, установленной на уровне 0,03 (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла C_t в соответствующей графе в таблице результатов) и включенными алгоритмами «Динамический фон», «Коррекция уклона», устранением выбросов, установленном на значении 20 %.

Учет результатов анализа (толкование характера реакций)

Результаты анализа не подлежат учету:

отсутствие пересечения кривых флуоресценции с пороговой линией на канале FAM в пробах с положительным контрольным образцом ПКО-ЗИКА;

наличие положительного сигнала на канале FAM в пробе с отрицательными контрольными образцами (ОКО-ЗИКА и ОКО-выд).

Результаты анализа подлежат учету:

появление пересечения кривых флуоресценции с пороговой линией на канале FAM в пробе с положительным контрольным образцом ПКО-ЗИКА;

отсутствие положительного сигнала на канале FAM в пробе с отрицательным контрольным образцом (ОКО-ЗИКА и ОКО-выд).

Отсутствие положительного сигнала в образцах ПКО-ЗИКА может свидетельствовать о неправильно выбранной программе амплификации и о других ошибках, допущенных на этапе анализа. В таком случае необходимо провести анализ ещё раз.

Если для отрицательного контроля ОКО-ЗИКА по каналу для флуорофора FAM определено значение порогового цикла C_t , необходимо повторить анализ всех образцов, в которых обнаружена РНК *Zika virus*, начиная с этапа экстракции РНК.

Результат считать положительным в случае, если кривая накопления флуоресценции для соответствующего образца для канала FAM 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 считать отрицательным, если значение C_t на канале FAM отсутствует. Если значение C_t больше 40, то ПЦР необходимо повторить и считать положительным в случае повторения результата или при значении C_t не больше 40.

При наличии положительного сигнала на канале FAM образец идентифицируется как вирус Зика.

Анализ результатов при использовании амплификаторов другого производителя проводят, руководствуясь инструкцией производителя к прибору.

8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1 Условия хранения набора

В соответствии с ТУ 9398-063-05664012-2016 в холодильнике при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С.

8.2 Условия транспортирования набора

Транспортирование набора реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика» должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) не более трех суток в соответствии с ТУ 9398-063-05664012-2016 при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С в термоконтейнере.

8.3 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.

8.4 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).

8.5 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}-Зика» направлять на предприятие-изготовитель Федеральное бюджетное учреждение «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора), 630559, Россия, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Кольцово, 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» по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию в соответствии с действующим законодательством.

Зав. лабораторией особо опасных вирусных инфекций
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора

Зав. ОБТК ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора

Согласовано:

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

 С.А. Боднев

 М.П. Богрянцева



 П.К. Варнавичус

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ Набор реагентов для выявления генетического материала вируса Зика методом ОТ-ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Вектор-ПЦР_{РВ}-Зика» по ТУ 9398-063-05664012-2016 на базе (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

Всего было исследовано 216 пробы, содержащих РНК вируса Зика и 200 проб, не содержащих РНК вируса Зика (160 проб, содержащих гетерологичные вирусы, 20 проб, содержащих ДНК человека и 20 проб суспензии клеток Vero). Результаты приведены в таблице:

Образец	Положительные образцы*	Подтверждённые Положительные образцы	Отрицательные образцы*	Подтверждённые отрицательные образцы
Пробы, содержащие РНК вируса Зика	216	216	160 образцов, содержащих РНК гетерологичных вирусов (2 по 20 проб вируса клещевого энцефалита, 2 по 10 проб вируса Западного Нила, 2 по 10 проб вирус желтой лихорадки, 2 по 10 проб вирус японского энцефалита, 2 по 30 проб вирус денге); 20 образцов, содержащих ДНК человека и 20 образцов суспензии клеток Vero	200

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

Диагностическая чувствительность – при исследовании 216 положительных образцов, содержащих РНК вируса Зика в концентрации не менее 3×10^4 копий/мл концентрации (соответствует 10^5 копий в 25 мкл реакционной смеси), положительный результат в ПЦР получен для всех 216 образцов. Диагностическая чувствительность – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.

Внутристановочная, межстановочная и межсерийная воспроизводимость для всех положительных образцов - 100 %.

Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность – при исследовании 200 отрицательных проб (2 по 10 проб ДНК человека, 2 по 10 проб неинфицированной суспензии клеток Vero, 2 по 20 проб для вируса клещевого энцефалита, 2 по 10 проб для вируса Западного Нила, 2 по 10 проб для вируса желтой лихорадки, 2 по 10 проб для вируса японского энцефалита, 2 по 30 проб для вируса денге) отрицательный результат получен в 200 случаях. Диагностическая специфичность - не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %.



В данном документе
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 13 листов

Принимать шест

прописью

Вав. СВК

[Signature]

Богданов А.И.

должность, подпись