

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

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора



 Р.А. Максютлов

«21» декабря 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих к вирусу
Крым-Конго геморрагической лихорадки (КГЛ)
«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное название набора

Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки (КГЛ) «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» по ТУ 21.10.60-038-05664012-2016, далее – иммуноглобулины флуоресцирующие.

Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» представляют собой очищенный гель-фильтрацией водный раствор моноклональных антител (МАТ) класса G мыши, специфично связывающихся с вирусом КГЛ, меченных ФИТЦ методом конъюгирования, с консервантом Proclin 300 в конечной концентрации 0,25%.

1.2. Предназначение набора и его диагностическая роль

Данный метод диагностики основан на реакции антиген-антитело. Суть метода заключается в специфической индикации вирусных антигенов непосредственно в клиническом материале, содержащем вирус КГЛ с помощью специфических антител, меченных флуоресцеин изотиоцианатом (ФИТЦ). Образующийся при этом комплекс антиген-антитело обнаруживается по характерной ярко-зеленой флуоресценции в синевioletовых лучах люминесцентного микроскопа.

1.3. Область применения набора

Область применения иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» - клиническая лабораторная диагностика. Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие могут быть использованы в лабораториях специализированных противозидемических бригад Роспотребнадзора (без накопления возбудителя вирусологическими методами), а также в изолированных лабораториях специализированных учреждений других министерств и ведомств, в том числе министерства обороны.

Только для профессионального использования.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО

2.1. Внешний вид - желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка.

Состав иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»

1 флакон (1 мл) содержит: очищенный гель-фильтрацией водный раствор моноклональных антител (МАТ) мыши, специфично связывающихся с вирусом КГЛ,

меченных ФИТЦ в молярном соотношении ФИТЦ/белок от 5,0 до 14,0 методом конъюгирования, с консервантом ProClin 300 в конечной концентрации 0,25 %.

2.2. Иммуноглобулины флуоресцирующие расфасованы по 1 мл во флаконы с навинчивающейся крышкой из пластмассы, по 1 флакону в коробке картонной, с инструкцией по применению.

Титр рабочего разведения серии иммуноглобулинов флуоресцирующих указан на этикетке флакона и в паспорте серии.

2.3 Количество анализируемых проб

1 флакон (1 мл) с иммуноглобулинами диагностическими флуоресцирующими к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» рассчитан на проведение не менее 50 исследований.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Нижний порог обнаружения. Результат анализа любого инфицированного вирусом КГЛ клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть положительным (наличие в препарате 3 целых клеток с характерным свечением, для оценки препарата достаточно иметь во всем мазке 30 клеток).

3.2. Специфичность. Результат анализа любого не инфицированного вирусом КГЛ (при возможном инфицировании другими буньявирусами или возбудителями инфекционных заболеваний лихорадочной этиологии) клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть отрицательным.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Работу с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность вирусом КГЛ, проводят в соответствии с требованиями санитарно-эпидемиологических правил по безопасности работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) (СП 1.3.3118-13), санитарных правил «Профилактика Крымской геморрагической лихорадки» (СП 3.1.7.3148-13) и методических указаний «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней» (МУК 4.2.3007-12).

Потенциальный риск применения набора класса 2б (Приказ Министерства Здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012).

Организации, осуществляющие лабораторные исследования на КГЛ, должны соответствовать требованиям действующих нормативных документов и иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами

II-IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими Санитарными правилами о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных болезней человека I-IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами.

4.1 Необходимость обучения персонала

Исследования материала, зараженного или подозрительного на заражение вирусом КГЛ, могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним профессиональным образованием, окончившие соответствующие курсы профессиональной переподготовки по специальности "Вирусология" и/или "Бактериология" с основами безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I-II групп, не имеющие противопоказаний к лечению специфическими препаратами и имеющие допуск к работе с ПБА II-IV групп на основании приказа руководителя учреждения. Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет. Специалисты, проводящие исследования, должны иметь необходимые профессиональные навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

4.2 Меры безопасности, позволяющие предохранять оператора

Иммуноглобулины флуоресцирующие содержат в своем составе в качестве консерванта ProClin 300, который может абсорбироваться через кожу и является сенсibiliзирующим агентом. При попадании на кожу или в глаза, необходимо немедленно промыть водой эти участки тела.

Для проведения исследования используется монтировочно-иммерсионная жидкость (в состав набора не входит), содержащая азид натрия в концентрации 0,01 % (CAS № 26628-22-8). В используемой концентрации данный реагент не является опасным. Однако при работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды. В случае недомогания обратиться к врачу и вызвать рвоту. Азид натрия может реагировать с лабораторными водопроводными системами с образованием азидов свинца и меди. Данные соединения взрывоопасны. Для предотвращения реакции образования азидов после выливания инактивированных растворов, содержащих азид, ополосните сливные трубы большим количеством воды.

4.3 Необходимые меры предосторожности в отношении влияния физических факторов

При использовании иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих 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

В соответствии с требованиями санитарных правил «Профилактика Крымской геморрагической лихорадки» (СП 3.1.7.3148-13) исследования по выделению из материала от больных лихорадкой вызванной вирусом КГЛ жизнеспособного возбудителя проводятся в лабораториях, имеющих лицензию на работу с возбудителями II группы патогенности.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

5.1. Рекомендуемое оборудование

Микроскоп инвертированный, либо микроскоп люминесцентный с водно-иммерсионным объективом, с системой светофильтров, пропускающей лучи сине-фиолетовой части спектра (для ФИТЦ 495-515 нм), общее увеличение должно составлять до $\times 1000$.

Аппарат универсальный для встряхивания жидкости или шейкер-термостат планшетный.

Шкаф вытяжной.

5.2 Дозирующие устройства

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

5.3. Лабораторная посуда

Колба мерная вместимостью 0,5 - 1,0 л;

стёкла предметные или планшет 96-луночный плоскодонный с прозрачным дном;
стёкла покровные.

5.4. Материалы и реагенты, не входящие в состав набора

Камера влажная или чашки Петри с увлажнённым слоем фильтровальной бумаги;
бумага фильтровальная;

вода очищенная;

фиксирующая жидкость – 80 % раствор ацетона в воде;

мантировочно-иммерсионная жидкость для не инвертированного микроскопа, включающая 90 % глицерин, 0,1 % ТРИС-НСl буферный раствор, рН 8,5, и 0,1 % азид натрия;

ФСБ - фосфатно-солевой буферный раствор, рН 7,2 - 7,4, содержащий 0,1 % натрия фосфорнокислого двузамещенного, 0,04 % однозамещенный калия фосфорнокислого однозамещенного и 0,9 % натрия хлорида;

спирт этиловый ректифицированный;

перчатки резиновые и пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Работу с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность вирусом КГЛ, 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 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней» (МУК 4.2.3007-12) и санитарно-эпидемиологических правил «Профилактика Крымской геморрагической лихорадки» (СП 3.1.7.3148-13).

6.2. Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, а также взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям санитарно-эпидемиологических правил по безопасности работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) (СП 1.3.3118-13) и методических указаний «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней» (МУК 4.2.3007-12).

6.3. При исследовании секционного материала кусочки иссекают из наиболее поражённых участков в соответствии с обычными правилами взятия материала для микробиологических исследований и помещают каждый кусок отдельно в стерильную посуду. Прежде чем сделать отпечатки, кусочек освобождают от излишков крови с помощью фильтровальной бумаги, после чего тщательным притиранием куска к предметному стеклу делают отпечатки.

6.4. Для получения мазков из культур клеток или мозговой ткани мышей после пассажа инфекционного материала, делают взвесь осадка. Полученную взвесь при температуре от 18 до 25 °С центрифугируют в течение 10 мин при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляют, осадок ресуспендируют в небольшом количестве (0,3 мл) ФСБ.

6.5. Ресуспендированные клетки наносят по 50 мкл на предметное стекло или в лунки 96-луночного планшета с прозрачным дном из расчета образования не плотного слоя.

6.6. Препарат высушивают при температуре от 18 до 25 °С и фиксируют в охлаждённом 80 % ацетоне нанося 0,1 мл охлаждённого до температуры 2 - 8 °С ацетона (фиксирующей жидкости) на 10 - 15 мин, после чего избыток ацетона удаляют и препарат подсушивают до полного испарения ацетона.

6.7. Полученные препараты пригодны для обработки иммуноглобулинами флуоресцирующими и должны быть подвергнуты исследованию как можно скорее. При необходимости стёкла с фиксированными препаратами можно хранить в плотно закупоренной посуде при температуре от 2 до 8 °С в сухом тёмном месте не более 1 мес.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка к анализу.

Непосредственно перед применением иммуноглобулины флуоресцирующие следует выдержать 30 мин при температуре от 17 °С до 27 °С, отобрать необходимую для проведения ПИФ аликвоту и развести ее раствором ФСБ для получения указанного на этикетке рабочего разведения.

Хранение: разведенные иммуноглобулины флуоресцирующие не более 72 часов до использования при температуре от 2 °С до 8 °С, неиспользованные иммуноглобулины в закрытых флаконах в течении срока годности при температуре от 2 °С до 8 °С.

7.2. Проведение ПИФ.

7.2.1. Фиксированные на стекле препараты поместить во влажную камеру (герметично закрывающийся бокс с увлажненной водой полоской фильтровальной бумаги на дне), фиксированные на планшете готовы к использованию. На каждый препарат нанести 50 мкл рабочего разведения иммуноглобулинов флуоресцирующих, желательно при перемешивании (шейкировании).

7.2.2. Окрашивать в течение 30 - 40 мин при температуре от 2 °С до 8 °С или в течение 15 - 20 мин при температуре 37 °С.

7.2.3. Препарат на стекле ополоснуть водой очищенной. Для этого нанести по 250 мкл воды. Препарат в лунке планшета осушить аспирацией жидкости и залить 250 мкл раствора ФСБ.

7.2.4. Препарат на стекле выдержать 15 мин во влажной камере, а препарат в лунке планшета выдержать в термошейкере при перемешивании при температуре от 2 °С до 8 °С.

- 7.2.5.** Препарат на стекле ополоснуть водой очищенной и промыть раствором ФСБ при встряхивании (желательно покачивание на аппарате для встряхивания жидкостей), препарат в лунке планшета осушить аспирацией жидкости.
- 7.2.6.** Повторить процедуры 7.2.4. и 7.2.5. еще 2 раза по 10 - 15 мин при температуре 37 °С со сменой раствора ФСБ).
- 7.2.7.** Стёкла ополоснуть дистиллированной водой и высушить. Планшет с 250 мкл раствора ФСБ в лунке готов к микроскопическому анализу.
- 7.2.8.** На высушенные препараты на стекле нанести по капле монтировочно-иммерсионной жидкости, покровные стёкла и просмотреть их с помощью не инвертированного люминесцентного микроскопа.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Антигены вируса КГЛ обнаруживаются в виде яркого зеленого диффузного (или зернистого) свечения всей цитоплазмы или её отдельных участков на бледном фоне окружающих клеток, не поражённых вирусом. На поздних стадиях возможно гранулярное зеленое свечение, преимущественно в краевой зоне цитоплазмы.

Положительным результатом считать наличие в препарате 3 целых клеток с характерным свечением. Для оценки препарата достаточно иметь во всем мазке 30 клеток.

Наличие в таком препарате менее 3 светящихся клеток считать отрицательным результатом.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» - 12 месяцев. Хранение иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих в упаковке производителя должно осуществляться при температуре от 2 °С до 8 °С. Серии иммуноглобулинов флуоресцирующих с истекшим сроком годности применению не подлежат. Срок годности вскрытых флаконов – в течение срока годности при температуре от 2 °С до 8 °С, разведенных иммуноглобулинов флуоресцирующих - не более 72 часов до использования при температуре от 2 °С до 8 °С

Транспортировать иммуноглобулины флуоресцирующие следует крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) в соответствии с ТУ 21.10.60-038-05664012-2016 при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере. Допускается транспортирование при температуре до 27 °С не более 10 суток. Не допускать замораживания.

10. ИНФОРМАЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ

Использованные флаконы, наконечники, перчатки, ветошь для обработки поверхностей собирают в пластиковые закрывающиеся емкости, выносят с целью последующей инактивации согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 и СП 1.3.3118-13.

Иммуноглобулины флуоресцирующие с истекшим сроком годности, вскрытые, но не использованные наборы, а также наборы с поврежденной упаковкой, утилизируют по классу Б, как эпидемиологически опасные отходы СанПиН 2.1.7.2790-10 и СП 1.3.3118-13.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик иммуноглобулинов флуоресцирующих 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 иммуноглобулинов флуоресцирующих 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, рабочий поселок Кольцово, тел. (383) 336-60-10, факс (383) 336-74-09.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению иммуноглобулинов флуоресцирующих, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении иммуноглобулинов флуоресцирующих, 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.

«Только для диагностики ин витро».

Зав лабораторией
производства средств иммунодиагностики
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

С.А. Пьянков

Зав ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

М.П. Богрянцева

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

" 18 АЕК 2017 201 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ МИ

Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки (КГЛ) «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» по ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

В ходе клинических испытаний с использованием 288 положительных проб, содержащих суспензии клеток инфицированные вирусом Крым-Конго геморрагической лихорадки (каждая на 2-х сериях набора), и на отрицательных пробах, не содержащих суспензии клеток инфицированные вирусом Западного Нила (96 проб на двух сериях МИ, содержащих суспензии клеток инфицированные гетерологичным вирусом Западного Нила штамм Eg-101; 96 проб на двух сериях МИ, содержащих суспензии клеток инфицированные гетерологичным вирусом Западного Нила штамм А-72; 96 проб на двух сериях МИ, содержащих суспензии клеток инфицированные гетерологичным вирусом Западного Нила штамм ВЛГ27924) – суммарно на 288 пробах (каждая на 2-х сериях набора), доказана диагностическая эффективность МИ «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»:

- при исследовании 576 положительных проб (288 проб, содержащих вирус Крым-Конго геморрагической лихорадки, на 2-х сериях набора) положительный результат получен в 576 случаях. Диагностическая чувствительность – не менее 99 % с доверительной вероятностью 90 %;

- при исследовании 576 отрицательных проб не содержащих суспензии клеток инфицированные вирусом Крым-Конго геморрагической лихорадки (96 проб на двух сериях МИ, содержащих суспензии клеток инфицированные гетерологичным вирусом Западного Нила штамм Eg-101; 96 проб на двух сериях МИ, содержащих суспензии клеток инфицированные гетерологичным вирусом Западного Нила штамм А-72; 96 проб на двух сериях МИ, содержащих суспензии клеток инфицированные гетерологичным вирусом Западного Нила штамм ВЛГ27924) – суммарно на 288 пробах (каждая на 2-х сериях набора) отрицательный результат получен в 576 случаях. Диагностическая специфичность – не менее 99 % с доверительной вероятностью 90 %.



ПРОШУ
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ
« 18 ДЕК 201 1 год
Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Н.К.



В данном документе
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 10 листов
Десять листов
прошью
Зав. отд. В.Т. Вязников
должность, подпись

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от 20.06.2016 № 5403

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Синтол»
_____ А.В. Кузубов

«06» ноября 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению «Набора реагентов для выявления и идентификации НК
вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя
лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени
(ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ)»

2015

Вер. 061115

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Полное название набора

«Набор реагентов для выявления и идентификации НК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ)».

1.2 Предназначение набора и его диагностическая роль

Набор реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ» предназначен для качественного определения (скрининг, мониторинг) РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и ДНК возбудителя лихорадки Ку (бактерия *Coxiella burnetii*) в препаратах НК, выделенных из проб: объектов окружающей среды, насекомых, клинических образцов, вируссодержащей суспензии, биопсийного и аутопсийного материала.

Диагностическая роль набора реагентов заключается в возможности его использования в поддержке диагностики специфических патологий (Крымской-Конго геморрагической лихорадки и лихорадки Ку) при исследовании материала от больного (подозрительного на заболевание) и индикации патогенных биологических агентов (ПБА), в объектах окружающей среды; 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 Крымской-Конго геморрагической лихорадки и лихорадки Ку, специфическая индикация патогенных биологических агентов, эпидемиологический мониторинг, научные исследования. Набор может быть использован в учреждениях медицины и здравоохранения, лабораториях Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, в эпидемиологических службах для расшифровки вспышек экзотических инфекций, а также в стационарных и мобильных лабораториях

специализированных учреждений других министерств и ведомств, в том числе Министерства Обороны.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Компоненты набора являются одноразовыми.

Набор реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ» не требует технического обслуживания и калибровки.

2.1 Состав набора

Набор реагентов состоит из 5 реагентов.

№	Состав комплекта	Описание	Объем	Кол-во
1.	Реакционная смесь в стрипованных микропробирках, РС-ККГЛ/Ку	сухое вещество белого цвета	1 мг	6 стрипов по 8 микропробирок
2.	Разбавитель, РБ	прозрачная бесцветная жидкость	0,8 мл	1 пробирка
3.	Положительный контрольный образец, ПКО-ККГЛ/Ку	сухое вещество белого цвета	2 мг	3 пробирки
4.	Раствор для разбавления ПКО, ОКО	прозрачная бесцветная жидкость	1 мл	1 пробирка
5.	Внутренний положительный контроль выделения, ВПК-В-РНК	сухое вещество белого цвета	2 мг	1 пробирка

Реакционная смесь в стрипованных микропробирках, РС-ККГЛ/Ку, расфасована в микропробирки в стрипах (по 8 штук в каждом) объемом 0,2 мл, упакованные в непрозрачный полиэтиленовый пакет Zip-Lock размером 9×12 см, состав: эквимольная смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, десять олигонуклеотидных праймеров, пять флуоресцентных зондов, фермент Taq ДНК-полимераза; фермент MMLV-ревертаза; синтетическая РНК ВПК, трегалоза.

Разбавитель, РБ, расфасован в пробирку из полипропилена объемом 1,5 мл с закручивающейся крышкой, упакованную в полиэтиленовый пакет Zip-Lock размером 4×7 см, состав: ПЦР-буфер; хлорид магния; глицерол; вода для ПЦР.

Раствор для разбавления ПКО, ОКО, расфасован в пробирку из полипропилена объемом 1,5 мл с завинчивающейся крышкой, упакованную в полиэтиленовый пакет Zip-Lock размером 4×7 см, состав: ТЕ буфер.

Положительный контрольный образец, ПКО-ККГЛ/Ку, расфасован в пробирку из полипропилена объемом 0,5 мл с завинчивающейся крышкой, упакованную в полиэтиленовый пакет Zip-Lock размером 6×7 см, состав: смесь синтетической РНК, полученной с помощью *in vitro* транскрипции с рекомбинантной плазмиды рGem-T с встроенным специфическим фрагментом НК L-сегмента генома вируса ККГЛ и ДНК рекомбинантной плазмиды рGem-T с встроенным специфическим фрагментом гена супероксиддисмутазы бактерии *C. burnetii*.

Внутренний положительный контроль, ВПК-В-РНК, расфасован в пробирку из полипропилена объемом 0,5 мл с завинчивающейся крышкой, упакованную в полиэтиленовый пакет Zip-Lock размером 4×7 см, состав: синтетическая РНК, полученная с помощью *in vitro* транскрипции с рекомбинантной плазмиды рGem-T со встроенным специфическим фрагментом ДНК.

Примечание: Ингредиентами, которые могут влиять на измерения, являются праймеры и флуоресцентные зонды, основной характеристикой которых для конечного пользователя является температура отжига T_a , 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 48 определений, включая контрольные образцы.

2.3 Метод исследования

Обнаружение фрагментов нуклеиновых кислот возбудителей опасных инфекций основано на использовании метода мультиплексной одностадийной реакции обратной транскрипции, совмещенной с полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) в одной микропробирке.

При амплификации с помощью ОТ-ПЦР-РВ используют четыре олигонуклеотидных праймера, фланкирующих фрагмент нуклеиновых кислот (НК) L-сегмента генома вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, два олигонуклеотидных праймера, фланкирующих фрагмент гена супероксиддисмутазы бактерии *S. burnetii*, два олигонуклеотидных праймера, фланкирующих НК внутреннего положительного контроля ОТ-ПЦР-РВ, два олигонуклеотидных праймера, фланкирующих НК внутреннего положительного контроля выделения, а также пять флуоресцентных зондов. Процесс амплификации специфичных фрагментов заключается в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройке полинуклеотидных цепей с этих праймеров ДНК-полимеразой с детекцией результатов в режиме реального времени. Постановка ОТ-ПЦР-РВ осуществляется на специальных приборах, например, «АНК-32 (32М, 48)» (ИАП РАН, г. Санкт-Петербург), CFX-96 (BioRad, США), или эквивалентных по характеристикам (см. п. 5.1 настоящей инструкции).

Набор реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ» реализует преимущества мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ в части одновременного выявления в одной пробе РНК вируса ККГЛ и ДНК бактерии *S. burnetii*, а также двух контролей анализа: ОТ-ПЦР-РВ и выделения РНК, по разным каналам детекции флуоресценции. Сигналы флуоресценции регистрируются независимо друг от друга по следующим каналам: FAM – внутренний положительный контроль выделения РНК; R6G – вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки; ROX – возбудитель лихорадки Ку; Cy5 – внутренний положительный контроль ОТ-ПЦР-РВ.

Положительный результат теста означает, что исследуемый материал содержит РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и/или ДНК бактерии *S. burnetii*. Отрицательный результат теста означает, что исследуемый материал не содержит РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и ДНК бактерии *S. burnetii*.

2.3 Ограничения метода

В инфицированном материале НК микроорганизмов может быть не обнаружена по причине ингибирования ОТ-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 реакции 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 внутренних положительных контрольных образцов выделения РНК (ВПК-В-РНК) и ОТ-ПЦР-РВ (ВПК) (п. 8.3 настоящей инструкции).

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Исследования аналитических характеристик набора проведены на базах ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Сергиев Посад Московской области) и ООО Синтол (г. Москва) в рамках исследования эффективности набора и проведения технических испытаний.

3.1.1 Чувствительность

Чувствительность – не более $1,0 \cdot 10^3$ копий НК в 1 миллилитре пробы (копий·мл⁻¹). Данный показатель достигается при условии объема аликвоты исходного материала (пробы) не менее 100 мкл.

3.1.2 Специфичность

Специфичность – ложноположительные и ложноотрицательные результаты при анализе образцов РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и ДНК лихорадки Ку (4 заведомо положительных

образцов), а также НК вирусов Марбург, Эбола, Ласса, Мачупо, Хунин, ВЭЛ, Западного Нила, денге, желтой лихорадки, лихорадки долины Рифт, клещевого и японского энцефалитов, ККГЛ, ТОРС; бактериях *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Coxiella burnetti*, ДНК человека и грызунов, культур клеток Vero, GMK и ВНК, а также РКЭ (27 заведомо отрицательных образцов) отсутствовали.

При проведении исследований наблюдалась полная внутримышечная, межмышечная и межсерийная воспроизводимость для всех положительных образцов.

3.2 ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клинические исследования набора проведены на базе и ФБУН ГНЦ ВБ Вектор (р.п. Кольцово, Новосибирской области).

3.2.1 Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность МИ «Набор реагентов для выявления и идентификации НК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ» при исследовании 400 положительных проб (160 проб содержащих вирус ККГЛ с концентрацией 1×10^3 копий/мл и 160 проб содержащих возбудитель лихорадки Ку с концентрацией 1×10^3 копий/мл, а также а также 80 мультиплексных проб, содержащих вирус ККГЛ и возбудитель лихорадки Ку с концентрацией 1×10^3 копий/мл) положительный результат получен в 400 случаях.

3.2.2 Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность – при исследовании 64 отрицательных образцов, содержащих гетерологичные микроорганизмы (вирусы клещевого энцефалита, японского энцефалита, желтой лихорадки, денге, Западного Нила, лихорадки долины Рифт, венесуэльского энцефаломиеелита лошадей) в концентрации не менее $1,0 \cdot 10^7$ копий/мл, отрицательный ответ в ПЦР получен во всех 64 случаях.

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

Диагностические характеристики применительно к каждому из анализов, а также каждому из типов образцов материала отдельно приведены в Приложении.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Работу с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность возбудителями Крымской-Конго геморрагической лихорадки и лихорадки Ку 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), методических указаний «Организация и проведение профилактических и противоэпидемических мероприятий против Крымской геморрагической лихорадки» (МУ 3.1.3.2488-09) и санитарно-эпидемиологических правил "Профилактика коксиеллеза (лихорадка Ку)" (СП 3.1.7.2811-10).

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 3 (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 специалиста с высшим медицинским образованием, прошедшего обучение на лицензированных курсах специализации по работе с ПБА I-II групп патогенности и по ПЦР-диагностике, а также лаборанта со средним

специальным медицинским образованием. 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-РВ – зарегистрированный в РФ как медицинское изделие и имеющий каналы детекции, соответствующие красителям FAM, R6G, ROX, Cy5 (либо их спектральным аналогам) со следующими характеристиками – $\lambda_{\text{макс.возб.}}/\lambda_{\text{макс.эм.}}$ (№1 – 490нм/520нм, №2 – 525нм/550нм, №3 – 550нм/580нм, №4 – 630нм/665нм), например, «АНК-32 (32М, 48)», CFX-96.

5.2 Указания о необходимости использования специального оборудования

Работу с набором следует проводить в настольном боксе с бактерицидной лампой (например, БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ООО «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

Микроцентрифуга-вортекс (например, «Циклотемп-901»);
микроцентрифуга для стрипов (например, «Циклотемп-903»);
штатив типа «IsoFreeze»;
штативы для наконечников, микропробирок на 0,5 и 1,5 мл;
штатив для работы со стрипами (кат. номер СТ-15, ООО Синтол);
холодильник на 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;

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

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

набор реагентов для выделения ДНК/РНК;

ТЕ-буфер (кат. номер В-014, ООО «Синтол»);

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 возбудителями Крымской-Конго геморрагической лихорадки и лихорадки Ку, не являются частью процедуры анализа с использованием набора реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ».

6.1 Тип исследуемых образцов

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

6.2 Процедура получения биологического материала

Для проведения ОТ-ПЦР-РВ забор проб крови проводят в ранние сроки болезни (в период вирусемии). Для предотвращения свертывания кровь отбирают с ЭДТА либо цитратом натрия, использовать гепарин запрещается.

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 НК используют зарегистрированные наборы реагентов сообразно происхождению проб. Для достижения показателей аналитической чувствительности объем аликвоты исходного материала (пробы) должен составлять не менее 100 мкл. Полученный препарат НК используется для проведения анализа с помощью набора реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ».

В каждую партию выделения наряду с исследуемым материалом необходимо включать отрицательный контроль выделения (**ОКО-В**), который потом обязательно анализируется в ОТ-ПЦР-РВ. Это позволяет контролировать возможную контаминацию на этапе выделения НК.

Для контроля выделения нуклеиновых кислот используют пробирку с **ВПК-В-РНК** из состава набора реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ». Сухое содержимое **ВПК-В-РНК** разводят* 500 мкл элюента из состава наборов реагентов для выделения и 10 мкл полученного раствора добавляют в пробирку с пробой непосредственно перед внесением сорбента. Регистрация роста сигнала по каналу **FAM** свидетельствует об успешном выделении РНК.

6.4 Условия транспортирования и возможного хранения анализируемых образцов

Пробы объектов окружающей среды, плазму и сыворотку крови хранят при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С не более 2 суток, при температуре от минус 16 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. Образцы тканей хранят при температуре минус 70 °С или в жидком азоте в течение 1 года.

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 возбудителей Крымской-Конго геморрагической лихорадки и лихорадки Ку, 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.

Примечание* Разведенный **ВПК-В-РНК** хранить при температуре не выше минус 20 °С.

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).

7 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1 Процедура приготовления контрольных образцов

В пробирку с сухим содержимым **ПКО-ККГЛ/Ку** добавляют 200 мкл **ОКО**, перемешивают на вортексе до полного растворения, центрифугируют 5 секунд при 3000 об·мин⁻¹. Хранение разведенных препаратов **ПКО-ККГЛ/Ку** допускается при температуре не выше минус 20 °С.

7.2 Разведение препарата ДНК/РНК (при необходимости)

Для выявления и идентификации РНК вируса ККГЛ и ДНК бактерии *S. burnetii* необходимо внести в реакцию 20 мкл препарата ДНК/РНК. В случае необходимости, раствор препарата НК разводят с помощью ТЕ-буфера (кат. номер В-014, ООО «Синтол»).

8 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Анализ проводят в рабочей зоне 3, не подразумевающей контакта с биоматериалом (МУ 1.3.2569-09).

8.1 Расход каждого реагента (минимальный)

На одно определение расходуются:

- одна микропробирка с **РС-ККГЛ/Ку**;
- 15 мкл **РБ**.

На каждый анализ расходуются:

- 20 мкл **ПКО-ККГЛ/Ку**;
- 20 мкл **ОКО**.

8.2 Последовательность проведения этапов анализа

Анализ с помощью набора реагентов проводится в один этап:

- включают прибор, запускают программу в соответствии с инструкцией по эксплуатации;

- вводят параметры температурно-временного режима амплификации согласно таблице 1 и вводят красители **FAM, R6G, ROX** и **Sy5**;

Таблица 1 – Температурно-временной режим амплификации

№ п/п	Температурно-временной режим	Число циклов
1	50 °С – 900 секунд	1
2	95 °С – 300 секунд	1
3	60 °С – 40 секунд Считывание сигнала флуоресценции	50
4	95 °С – 15 секунд	

- вводят сведения об образцах по всем красителям и активируют прибор в соответствии с руководством по эксплуатации;

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

- набор реагентов извлекают из холодильника, **РБ** и **ОКО** перемешивают на вортексе и центрифугируют в течение 5 секунд при 3000 об·мин⁻¹;

- помещают микропробирки в стрипах (**РС-ККГЛ/Ку**) в штатив для стрипов типа «IsoFreeze»** и маркируют в соответствии с протоколом исследования на боковой стенке пробирки; открывают крышки микропробирок и вносят в них по 15 мкл **РБ**;

- используя наконечники с аэрозольным барьером, последовательно вносят в микропробирки соответственно порядку исследования образцов по 20 мкл **ОКО, ОКО-В** и далее по 20 мкл растворов исследуемых образцов в необходимой повторности***, закрывают крышки данных микропробирок;

- вносят в микропробирки соответственно маркировке по 20 мкл **ПКО-ККГЛ/Ку**, закрывают крышки данных микропробирок;

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

***Примечание: каждый образец рекомендуется анализировать в двух повторях.

- перемешивают содержимое микропробирок на вортексе и центрифугируют 5 секунд при 3000 об·мин⁻¹.

ВНИМАНИЕ! После смешивания РС-ККГЛ/Ку, разбавителя и препарата РНК, микропробирки сразу установить в амплификатор и запустить ОТ-ПЦР-РВ.

Помещают микропробирки в прибор в соответствии с протоколом исследования (таблица 2) и прикатывают крышки микропробирок;

Таблица 2 - Рекомендуемый порядок исследования образцов

№ ячейки	Образец
1	ПКО-ККГЛ/Ку
2	ПКО-ККГЛ/Ку
3	ОКО
4	ОКО
5	ОКО-В
6	ОКО-В
7	исследуемый образец 1
8	исследуемый образец 1
9	исследуемый образец 2
10	исследуемый образец 2
11	*****

- закрывают крышку прибора, запускают реакцию ОТ-ПЦР-РВ и фиксируют в рабочем журнале название файла с результатом работы прибора, расчетное время анализа составляет в среднем 2 часа.

8.3 Процедура измерения и оценки результатов анализа

Оценку результатов проводят с помощью приборов для ПЦР-РВ, например, «АНК-32 (32М, 48)», CFX-96 или эквивалентные им (см. п. 5.1 настоящей инструкции).

Кинетическая кривая роста сигнала флуоресценции (регистрация роста сигнала) означает любую величину порогового цикла C_t менее 50. Отсутствие регистрации роста сигнала прибором описывается программой прибора, например, как величина порогового цикла ($C_t \geq 50$ в приборах АНК), либо как

ее отсутствие (N/A в приборах фирмы BioRad) и т.п. Подробная информация приведена в руководстве по эксплуатации конкретного прибора.

Кинетическая кривая роста сигнала флуоресценции по каналу **R6G** либо **ROX** относительно отрицательного контроля означает регистрацию роста сигнала и свидетельствует о наличии специфических фрагментов НК вируса ККГЛ или бактерии *C. burnetii* в данной микропробирке.

Кинетическая кривая роста сигнала флуоресценции по каналу **Cy5** в случае отсутствия положительной динамики по каналам **R6G** и **ROX** означает регистрацию роста сигнала и свидетельствует об успешном прохождении реакций ОТ и ПЦР-РВ, и подтверждает отсутствие специфических фрагментов НК вируса ККГЛ и бактерии *C. burnetii* в данной микропробирке.

Кинетическая кривая роста сигнала флуоресценции по каналу **FAM** в случае отсутствия положительной динамики по каналам **R6G** и **ROX** означает регистрацию роста сигнала и свидетельствует об успешном выделении РНК из пробы, и дополнительно подтверждает отсутствие специфических фрагментов вируса ККГЛ и бактерии *C. burnetii* в данной микропробирке.

Учет результатов анализа (толкование характера реакций)

Результаты анализа не подлежат учету:

- в случае регистрации роста сигнала **ОКО** по каналам **R6G** или **ROX** (ложноположительный результат всего эксперимента). Величина порогового цикла **Ct** при этом не имеет значения;
- в случае отсутствия регистрации роста сигнала **ПКО-ККГЛ/Ку** по каналам **R6G** или **ROX** (ложноотрицательный результат всего эксперимента);
- в случае отсутствия регистрации роста сигнала по каналу **Cy5****** (ложноотрицательный результат в конкретной микропробирке).

**** Примечание: в пробирках, имеющих регистрацию роста сигнала по каналам **R6G** или **ROX** с пороговым циклом реакции менее 30,0, допускается отсутствие регистрации роста сигнала либо низкая амплитуда кинетической кривой по каналам **Cy5** и **FAM**.

Результаты анализа подлежат учету:

- в случае отсутствия регистрации роста сигнала **ОКО** по каналам **R6G** и **ROX**;
- в случае регистрации роста сигнала по каналу **Cy5******, с любой величиной порогового цикла **Ct**;
- в случае регистрации роста сигнала **ПКО-ККГЛ/Ку** по каналам **R6G** и **ROX**, с любой величиной порогового цикла **Ct**.

Регистрация роста сигнала по каналу **R6G** в пробирках с препаратом НК свидетельствует о наличии в образце специфических фрагментов РНК генома вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки. Величина порогового цикла **Ct** при этом не имеет значения.

Регистрация роста сигнала по каналу **ROX** в пробирках с препаратом НК свидетельствует о наличии в образце специфических фрагментов ДНК генома возбудителя лихорадки Ку (*C. burnetii*). Величина порогового цикла **Ct** при этом не имеет значения.

Регистрация роста сигнала по каналу **Cy5****** с пороговым циклом **Ct** менее 37,0 свидетельствует об успешном прохождении обратной транскрипции и ПЦР-РВ в каждой конкретной микропробирке, большие значения **Ct** свидетельствуют о некотором ингибировании ОТ-ПЦР-РВ.

В случае добавления **ВПК-В-РНК** на этапе выделения НК:

- регистрация роста сигнала по каналу **FAM** с пороговым циклом менее 37,0, свидетельствует об успешном выделении ДНК/РНК из пробы, большие значения **Ct** свидетельствуют о некоторых потерях на этапе выделения НК.

Интерпретация результатов анализа осуществляется в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3 – Интерпретация результатов анализа проб с помощью набора реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ»

Результат ПЦР по каналу				Образец	Интерпретация
FAM	R6G	ROX	Cy5		
Результаты всего анализа не подлежат учёту в любом из следующих случаев					
—	—	—	—	ПКО	Ложноотрицательный результат, ингибирование ОТ-ПЦР-РВ
любой	любой	+	любой	ОКО-В	Ложноположительный результат, контаминация в процессе выделения НК
	+	любой			
	любой	любой		+	ОКО
	+	любой			
Результаты анализа не подлежат учёту для конкретной пробы					
—	—	—	—	проба	Ложноотрицательный результат, ингибирование ОТ-ПЦР-РВ
—*	—	—	+		Ложноотрицательный результат, недостаточная эффективность выделения
Результаты анализа подлежат учёту при получении следующих результатов					
—	+	+	любой	ПКО	Набор реагентов специфичен в отношении НК вируса ККГЛ и бактерии <i>Coxiella burnetii</i>
++	—	—	+	ОКО-В	Контаминация отсутствует
—	—	—	+	ОКО	
++	—	—	+	проба	В пробе не обнаружены НК вируса ККГЛ и бактерии <i>Coxiella burnetii</i>
любой	+	—	любой		В пробе присутствует РНК вируса ККГЛ
	—	+			В пробе присутствует ДНК <i>Coxiella burnetii</i>
	+	+			В пробе присутствуют НК вируса ККГЛ и бактерии <i>Coxiella burnetii</i>
*Примечание: в случае добавления ВПК-В-РНК на этапе выделения НК					

9 РАСЧЕТЫ

9.1 Используемые компьютерные программы

Для проведения ОТ-ПЦР-РВ и оценки её результатов используют специализированное программное обеспечение, поставляемое производителем прибора, например программа АНК_Shell версия 33 и выше, поставляемая с приборами «АНК-32М», «АНК-48» или Bio-Rad CFX Manager 2.0 и выше, поставляемая с прибором CFX-96. 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 9398-008-46395995-2013 - в сухом, защищенном от света месте, при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Суммарный срок хранения при температуре от плюс 9 до плюс 20 °С не должен превышать 14 суток в течение срока годности набора реагентов.

10.2 Условия транспортирования набора

Транспортирование набора реагентов «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ» должно производиться в соответствии с ТУ 9398-008-46395995-2013 крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Допускается транспортирование до 14 суток при температуре до плюс 20 °С.

10.3 Срок годности набора

Срок годности набора реагентов составляет 12 месяцев с даты выпуска 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, если в инструкции не указано иное. Срок годности разведенных препаратов **ПКО-ККГЛ/Ку** и **ВПК-В-РНК** не более месяца при температуре хранения не выше минус 20 °С.

10.4 Информация по безопасной утилизации

Использование набора происходит в рабочей зоне 3, не подразумевающей контакта с биоматериалом (МУ 1.3.2569-09). Использованные наборы после анализа препаратов РНК собирают в пластиковые закрывающиеся емкости и выносят в рабочую зону 4-1 либо специально предназначенное вспомогательное помещение (МУ 1.3.2569-09) с целью последующей утилизации по классу Б (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Наборы с истекшим сроком годности, а также в случае повреждения упаковки, утилизируют по классу А (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 «ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ» направлять на предприятие-изготовитель ООО «Синтол» (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42, тел. (495) 984-69-93, факс. (499) 977-74-55 E.mail: syntol@syntol.ru).

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 ООО «Синтол» по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию в соответствии с действующим законодательством.

Научный директор ООО «Синтол»

Я.И. Алексеев

СОГЛАСОВАНО:

И.о. генерального директора
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
к.м.н., доцент

В.Н. Михеев

Приложение

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «Набор реагентов для выявления и идентификации НК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ)» на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»)

Всего каждой серией набора реагентов было исследовано 80 проб, содержащих вирус ККГЛ (STV и NU-100) и 80 проб, содержащих 2 полевых изолята *C. burnetii* (№ 1 и № 2); а также 80 проб, содержащих одновременно вирус ККГЛ и *C. burnetii*. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Образец		Положительные образцы*	Подтверждённые положительные образцы	
			серия 030914	серия 100914
Данные по моделированию нагрузки проб вирусом ККГЛ				
Клеточные культуры (вируссодержащая жидкость), содержащие вирус ККГЛ	16	16	16	
Кровь, содержащая вирус ККГЛ	16	16	16	
Мозговая суспензия мышей, содержащая вирус ККГЛ	16	16	16	
Пул клещей, содержащих вирус ККГЛ	16	16	16	
Пробы окружающей среды, содержащие вирус ККГЛ	16	16	16	
Итого проб, содержащих вирус ККГЛ	80	80	80	
Данные по моделированию нагрузки проб возбудителем лихорадки Ку (<i>C. burnetii</i>)				
Клеточные культуры (вируссодержащая жидкость), содержащие <i>C. burnetii</i>	16	16	16	
Кровь, содержащая <i>C. burnetii</i>	16	16	16	
Мозговая суспензия мышей, содержащая <i>C. burnetii</i>	16	16	16	
Пул клещей, содержащих <i>C. burnetii</i>	16	16	16	
Пробы окружающей среды, содержащие <i>C. burnetii</i>	16	16	16	
Итого проб, содержащих <i>C. burnetii</i>	80	80	80	
Данные по моделированию нагрузки проб одновременно вирусом ККГЛ и <i>C. burnetii</i>				
Клеточные культуры (вируссодержащая жидкость), содержащие вирус ККГЛ и <i>C. burnetii</i>	16	8 из 8	8 из 8	
Кровь, содержащая вирус ККГЛ и <i>C. burnetii</i>	16	8 из 8	8 из 8	

*Согласно интерпретации результатов инструкции по применению

Продолжение таблицы 1

Образец	Положительные образцы*	Подтверждённые положительные образцы	
		серия 030914	серия 100914
Мозговая суспензия мышей, содержащая вирус ККГЛ и <i>S. burnetii</i>	16	8 из 8	8 из 8
Пул клещей, содержащих вирус ККГЛ и <i>S. burnetii</i>	16	8 из 8	8 из 8
Пробы из окружающей среды, содержащие вирус ККГЛ и <i>S. burnetii</i>	16	8 из 8	8 из 8
Итого проб, содержащих вирус ККГЛ и <i>S. burnetii</i>	80	40 из 40	40 из 40
Итого			
Итого по вирусу ККГЛ отдельно	80	80	80
Итого по <i>S. burnetii</i> отдельно	80	80	80
Итого по вирусам ККГЛ и <i>S. burnetii</i> одновременно	80	40 из 40	40 из 40
Итого по сериям набора реагентов		200 из 200	200 из 200
Итого		400	

Диагностическая чувствительность МИ «Набор реагентов для выявления и идентификации НК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ)» при исследовании наборами двух серий 400 положительных проб (160 проб содержащих вирус ККГЛ с концентрацией 1×10^3 копий/мл и 160 проб содержащих возбудитель лихорадки Ку с концентрацией 1×10^3 копий/мл, а также 80 мультиплексных проб, содержащих вирус ККГЛ и возбудитель лихорадки Ку с концентрацией 1×10^3 копий/мл) положительный результат получен в 400 случаях.

Диагностическая специфичность МИ «Набор реагентов для выявления и идентификации НК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ)» при исследовании 64 отрицательных образцов, содержащих гетерологичные микроорганизмы (вирусы клещевого энцефалита, японского энцефалита, желтой лихорадки, денге, Западного Нила, лихорадки долины Рифт, венесуэльского энцефаломиелита лошадей) в концентрации не менее $1,0 \cdot 10^7$ копий/мл, отрицательный ответ в ПЦР получен во всех 64 случаях.



В данном документе
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 22 листов
двадцати два листа
прописью
Зав. СВК И.В. Богданов И.П.
должность, подпись

КОПИЯ

г. Москва, ул. Тимирязевская, д.42, к. 352
Тел/факс: (495) 977-7455 Тел.: (495) 984-69-93
e-mail: syntol@iab.ac.ru www.syntol.ru

ЗАО «СИНТОЛ»
ПАСПОРТ КАЧЕСТВА
«ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ»

«НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ НК ВИРУСА КРЫМСКОЙ-КОНГО
ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ И ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛИХОРАДКИ КУ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ
ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ (ОМ-СКРИН-ККГЛ/КУ-РВ)»

Серия 250817

Наборов в серии 10 шт.

Дата изготовления 250817

Пункт ТУ	Наименование показателя	Требования ТУ 9398-008-46395995-2013	Результаты контроля (соответствует/не соответствует/значение полученной величины (по применимости))
1.3	Комплектность, состав	Комплект включает набор реагентов, инструкцию по применению и паспорт Состав: 6 стрипов по 8 микропробирок объемом 0,2 мл, две пробирки объемом 1,5 мл, четыре пробирки объемом 0,5 мл	Соответствует Комплект включает набор реагентов, инструкцию по применению и паспорт Состав: 6 стрипов по 8 микропробирок объемом 0,2 мл, две пробирки объемом 1,5 мл, четыре пробирки объемом 0,5 мл
1.5, 1.6	Упаковка и маркировка	Полипропиленовые пробирки 0,2 мл (в стрипах), 0,5 и 1,5 мл (с резьбовой крышкой), пакеты типа Zip-lock, этикетки из клеящей бумаги	Соответствует Полипропиленовые пробирки 0,2 мл (в стрипах), 0,5 и 1,5 мл (с резьбовой крышкой), пакеты типа Zip-lock, этикетки из клеящей бумаги
1.2, табл. 1, п. 1, 2	Реакционная смесь в стрипованных микропробирках, РС-ККГЛ/Ку*	Сухое вещество белого цвета	Соответствует Сухое вещество белого цвета
	Разбавитель, РБ**	Прозрачная бесцветная жидкость, pH 8,8	Соответствует Прозрачная бесцветная жидкость, pH
	Внутренний положительный контроль выделения. ВПК-В-РНК	Сухое вещество белого цвета	Соответствует Сухое вещество белого цвета
	Положительный контрольный образец, ПКО-ККГЛ/Ку	Сухое вещество белого цвета	Соответствует Сухое вещество белого цвета
	Раствор для разбавления ПКО, ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость, pH 8,0	Соответствует Прозрачная бесцветная жидкость, pH
1.2, табл. 1, п. 3	Положительный результат ОТ-ПЦР-РВ.	Регистрация роста сигнала с любой величиной порогового цикла Ct в пробирках с ПКО-ККГЛ/Ку по каналам R6G и ROX. Регистрация роста сигнала с Ct менее 37,0 в пробирках с ПКО-ККГЛ/Ку по каналам FAM и Cy5	Соответствует Зарегистрирован рост сигнала в пробирках с ПКО-ККГЛ/Ку по каналам R6G и ROX. Зарегистрирован рост сигнала в пробирках с ПКО-ККГЛ/Ку по каналам FAM и Cy5 с Ct менее 37,0
	Отрицательный результат ОТ-ПЦР-РВ	Регистрация роста сигнала с Ct менее 37,0 в пробирках с ОКО по каналам FAM и Cy5. Отсутствие регистрации роста сигнала в пробирках с ОКО по каналам R6G и ROX	Соответствует Зарегистрирован рост сигнала в пробирках с ОКО по каналам FAM и Cy5 с Ct менее 37,0. Не зарегистрирован рост сигнала в пробирках с ОКО по каналам R6G и ROX
	Аналитическая чувствительность	Регистрация роста сигнала с любой величиной порогового цикла Ct в пробирках с СКО-Ку по каналу ROX; СКО-ККГЛ по каналу R6G. Регистрация роста сигнала с Ct менее 37,0 во всех пробирках по каналам FAM и Cy5	Соответствует Зарегистрирован рост сигнала в пробирках с СКО-Ку по каналу ROX; СКО-ККГЛ по каналу R6G. Зарегистрирован рост сигнала во всех пробирках по каналам FAM и Cy5 с Ct менее 37,0

Примечания:

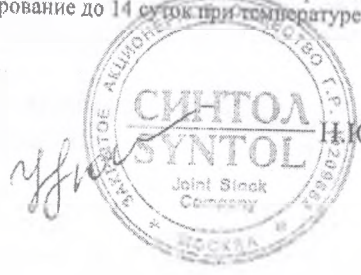
*Содержит дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, специфические праймеры, флуоресцентные зонды, Taq-полимеразу, MMLV-ревертазу, РНК внутреннего положительного контроля, трегалозу для проведения ОТ-ПЦР-РВ.

**Содержит ПЦР буфер (KCl, TrisHCl (pH 8,8), MgCl₂, глицерол).

Заключение ОБТК: «Набор реагентов для выявления и идентификации НК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-ККГЛ/Ку-РВ)» серии 250817 по своим показателям соответствует требованиям ТУ 9398-008-46395995-2013.

Хранить в сухом, защищенном от света месте при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Суммарный срок хранения при температуре от плюс 9 до плюс 20 °С не должен превышать 14 суток в течение срока годности набора реагентов.
Транспортировать крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Допускается транспортирование до 14 суток при температуре до 20 °С.

Голен до: 09.2018г.
Начальник отдела ОБТК



Н.Ю. Минакова
Паспорт № 21/118/2017
«21» август 2017г.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА**

**ПАСПОРТ
штамма вируса**

Номер В-655

Дата поступления 15.05.2014

1	Вид (русская и английская транскрипция)	вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV)
2	Род, семейство	Nairovirus, Bunyaviridae
3	Наименование штамма	ROS/TI28017
4	Особое обозначение	Субтип Европа 1 (или Europe/Turkey)
5	Выделен (дата)	2000
6	Объект выделения и способ выделения	Штамм выделен из клеща H.marginatum
7	Место выделения (место взятия биопробы)	Ростовская область
8	Способ получения штамма (организация, дата, способ, авторы)	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск, р.п. Кольцово Штамм выделен с использованием культуры клеток линии SW13 в 2012 году Плясунов И.В., Пьянков О.В., Зайковская А.В.
9	Способ идентификации штамма (организация, дата, способ, авторы)	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск, р.п. Кольцово, 2012 год Анализ генома вируса показал, что нуклеотидная последовательность S-сегмента совпадает с последовательностями данного участка генома штамма STV/HU29223 вируса ККГЛ, зарегистрированного в банке данных GenBank: AF481802. Яшина Л. Н., Шиков А.Н., Нетесова ИА.
10	Пассажная история штамма	2 пассажа на культуре клеток линии SW-13.
11	Литературная(ые) ссылка(и) на работы, в которых опубликованы данные по выделению и идентификации штамма	нет
12	Характеристика штамма	
12.1	Культурально— морфологические особенности штамма	Культивирование на монослойной культуре клеток SW-13 или Vero. Не обладает цитопатическим действием. Репликация вируса определяется: - непрямым ИФА с помощью моно- или поликлональных сывороток через 24-48 часов после заражения; - количественным реал-тайм ПЦР по нарастанию копийности на 5-7 сутки после заражения.
12.2	Способ, условия и состав сред для размножения	Заражение монослоя культур клеток SW-13 или Vero, питательная среда ДМЭМ с 2 % эмбриональной сыворотки коров и а/б. 5-7 сут. культивирования при температуре 37°С, относительной влажности 85 % и 5 % концентрации CO2

12.3	Активность (продуктивность) штамма (с указанием условий культивирования)	
12.4	Биохимическая активность	
12.5	Серологические свойства	Штамм находится в близком антигенном родстве со штаммом Дроздов
12.6	Генетические характеристики штамма [установленные нуклеотидные последовательности генома штамма (указать длину и позиции генома, литературные ссылки на публикацию установленных нуклеотидных последовательностей (номер в GeneBank, статья и пр.))]	Нуклеотидные последовательности фрагмента S-сегмента генома (позиции 1209-1395) депонированы в базе данных GenBank #AF401648
12.7	Вирулентность (патогенность)	
12.7.1	Группа патогенности для человека по российской классификации	
12.7.2	Патогенность для животных	Не изучена
12.7.3	Патогенность для растений	Нет
12.8	Способ, условия и состав сред для длительного хранения штамма	Вирусодержащая культуральная жидкость температура хранения минус 70°C. Среда DMEM с 2% сыворотки плодов крупного рогатого скота
12.9	Дата и результат последней проверки жизнеспособности культуры (указать результат, метод и биосистему титрования)	
12.10	Дата предполагаемого пересева (указать необходимые для этого метод, биосистему и условия культивирования)	2015 год. Размножение. Заражение монослоя культур клеток SW-13 или Vero, питательная среда ДМЭМ с 2 % эмбриональной сыворотки коров и а/б. 5-7 сут. культивирования при температуре 37 °С, относительной влажности 85% и 5% концентрации CO ₂
13	Вид депонирования: хранение, гарантийное хранение, патентное депонирование	Патентное депонирование
14	Автор просит информировать о запросах на штамм (да, нет):	Да. Выдача штамма из коллекции возможна только с письменного согласия О.В Пьянкова
15	Информация о штамме включается в каталог коллекции до получения патента (да, нет):	Да
16	Автор информирован о том, что штамм будет исследован и включен в общую коллекцию, образцы культуры будут распространяться в соответствии с правилами, регламентируемыми Будапештским договором за плату, покрывающую расходы коллекции. Авторы обязаны восстановить штамм в коллекции в случае утраты им жизнеспособности. Автор письменно информирует о получении патента до истечения 3 лет со дня депонирования (да, нет):	Да

17	Данные депозитора	
17.1	Организация, адрес, факс, телестайп, телефон депозитора, автор или авторский коллектив	ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор", 630559, р.п. Кольцово, Новосибирского р-на, Новосибирской обл., тел./факс. (383)336-60-10/(383)363-48-00 Плясунов И.В., Пьянков О.В., Шиков А.Н., Зайковская А.В. Яшина Л.Н., Петесова Н.А.
18.	Патент	
18.1	Номер и дата поданной заявки	
18.2	Номер и дата выдачи патента	
18.3	Патентодержатель	
19	Особые отметки	
Авторы штамма		Подпись
Шиков Андрей Николаевич		05.2014
Пьянков Олег Викторович		05.2014
Плясунов Игорь Владимирович		05.2014
Петесова Нина Александровна		05.2014
Яшина Людмила Николаевна		05.2014
Зайковская Анна Владимировна		05.2014

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА**

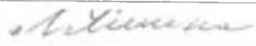
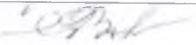
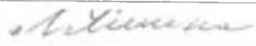
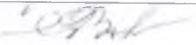
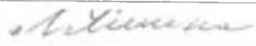
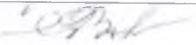
**ПАСПОРТ
штамма вируса**

Номер » V-656

Дата поступления 15.05.2014

1	Вид (русская и английская транскрипция)	вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV)
2	Род, семейство	Nairovirus, Bunyaviridae
3	Наименование штамма	ROS/TI28044
4	Особое обозначение	Субтип Европа 1 (или Europe/Turkey)
5	Выделен (дата)	2000
6	Объект выделения и способ выделения	Штамм выделен из клеща H.marginatum
7	Место выделения (место взятия биопробы)	Ростовская область
8	Способ получения штамма (организация, дата, способ, авторы)	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск, р.п. Кольцово Штамм выделен с использованием культуры клеток линии SW13 в 2012 году Пьянков О.В., Зайковская А.В.
9	Способ идентификации штамма (организация, дата, способ, авторы)	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск, р.п. Кольцово, 2012 год Анализ генома вируса показал, что нуклеотидная последовательность S-сегмента совпадает с последовательностями данного участка генома штамма STV/HU29223 вируса ККГЛ, зарегистрированного в банке данных GenBank: AF481802. Яшина Л. Н., Шиков А.Н.
10	Пассажная история штамма	2 пассажа на культуре клеток линии SW-13.
11	Литературная(ые) ссылка(и) на работы, в которых опубликованы данные по выделению и идентификации штамма	нет
12	Характеристика штамма	
12.1	Культурально—морфологические особенности штамма	Культивирование на монослойной культуре клеток SW-13 или Vero. Не обладает цитопатическим действием. Репликация вируса определяется: - непрямым ИФА с помощью моно- или поликлональных сывороток через 24-48 часов после заражения; - количественным реал-тайм ПЦР по нарастанию копийности на 5-7 сутки после заражения.
12.2	Способ, условия и состав сред для размножения	Заражение монослоя культур клеток SW-13 или Vero, питательная среда ДМЭМ с 2 % эмбриональной сыворотки коров и а/б. 5-7 сут. культивирования при температуре 37°С, относительной влажности 85 % и 5 % концентрации CO2

12.3	Активность (продуктивность) штамма (с указанием условий культивирования)	
12.4	Биохимическая активность	
12.5	Серологические свойства	Штамм находится в близком антигенном родстве со штаммом Дроздов
12.6	Генетические характеристики штамма [установленные нуклеотидные последовательности генома штамма (указать длину и позиции генома, литературные ссылки на публикацию установленных нуклеотидных последовательностей (номер в GeneBank, статья и пр.))]	Нуклеотидные последовательности фрагмента S-сегмента генома (позиции 1209-1395) депонированы в базе данных GenBank #AF401651
12.7	Вирулентность (патогенность)	
12.7.1	Группа патогенности для человека по российской классификации	
12.7.2	Патогенность для животных	Не изучена
12.7.3	Патогенность для растений	Нет
12.8	Способ, условия и состав сред для длительного хранения штамма	Вирусодержащая культуральная жидкость температура хранения минус 70°C. Среда DMEM с 2% сыворотки плодов крупного рогатого скота
12.9	Дата и результат последней проверки жизнеспособности культуры (указать результат, метод и биосистему титрования)	
12.10	Дата предполагаемого посева (указать необходимые для этого метод, биосистему и условия культивирования)	2015 год. Размножение. Заражение монослоя культур клеток SW-13 или Vero, питательная среда ДМЭМ с 2 % эмбриональной сыворотки коров и а/б. 5-7 сут. культивирования при температуре 37 °С, относительной влажности 85% и 5% концентрации CO ₂
13	Вид депонирования: хранение, гарантийное хранение, патентное депонирование	Патентное депонирование
14	Автор просит информировать о запросах на штамм (да, нет):	Да. Выдача штамма из коллекции возможна только с письменного согласия О.В. Пьянкова
15	Информация о штамме включается в каталог коллекции до получения патента (да, нет):	Да
16	Автор информирован о том, что штамм будет исследован и включён в общую коллекцию, образцы культуры будут распространяться в соответствии с правилами, регламентируемыми Будапештским договором за плату, покрывающую расходы коллекции. Авторы обязаны восстановить штамм в коллекции в случае утраты им жизнеспособности. Автор письменно информирует о получении патента до истечения 3 лет со дня депонирования (да, нет):	Да

17	Данные депозитора																
17.1	Организация, адрес, факс, телетайп, телефон депозитора, автор или авторский коллектив	ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор", 630559, р.п. Кольцово, Новосибирского р-на, Новосибирской обл., тел./факс. (383)336-60-10/(383)363-48-00 Плясунов И.В., Пьянков О.В., Шиков А.Н., Зайковская А.В. Яшина Л.Н., Нетесова Н.А.															
18.	Патент																
18.1	Номер и дата поданной заявки																
18.2	Номер и дата выдачи патента																
18.3	Патентодержатель																
19	Особые отметки																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Авторы штамма</th> <th>Подпись</th> <th>Дата</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Шиков Андрей Николаевич</td> <td></td> <td>05.2014</td> </tr> <tr> <td>Пьянков Олег Викторович</td> <td></td> <td>05.2014</td> </tr> <tr> <td>Яшина Людмила Николаевна</td> <td></td> <td>05.2014</td> </tr> <tr> <td>Зайковская Анна Владимировна</td> <td></td> <td>05.2014</td> </tr> </tbody> </table>			Авторы штамма	Подпись	Дата	Шиков Андрей Николаевич		05.2014	Пьянков Олег Викторович		05.2014	Яшина Людмила Николаевна		05.2014	Зайковская Анна Владимировна		05.2014
Авторы штамма	Подпись	Дата															
Шиков Андрей Николаевич		05.2014															
Пьянков Олег Викторович		05.2014															
Яшина Людмила Николаевна		05.2014															
Зайковская Анна Владимировна		05.2014															

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
«ВЕКТОР»**

**ПАСПОРТ
штамма вируса**

Номер V-658

Дата поступления 15.05.2014

1	Вид (русская и английская транскрипция)	вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV)
2	Род, семейство	<i>Nairovirus, Bunyaviridae</i>
3	Наименование штамма	STV/HU100
4	Особое обозначение	Субтип Европа 1 (или Europe/Turkey)
5	Выделен (дата)	Октябрь 2012
6	Объект выделения и способ выделения	Штамм выделен из плазмы крови больного ККГЛ
7	Место выделения (место взятия биопробы)	Июнь 2011 г., Ипатовский район Ставропольского края
8	Способ получения штамма (организация, дата, способ, авторы)	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск, р.п. Кольцово Штамм выделен с использованием культуры клеток линии SW-13 в 2012 году Плясунов И.В., Пьянков О.В., Зайковская А.В.
9	Способ идентификации штамма, (организация, дата, способ, авторы)	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск, р.п. Кольцово, 2014 год Анализ генома вируса показал, что нуклеотидная последовательность S-сегмента совпадает последовательностями данного участка генома штамма STV/HU29223 вируса ККГЛ, зарегистрированного в банке данных GenBank: AF481802. Яшина Л. Н., Шиков А.Н., Нетесова Н.А.
10	Пассажная история штамма	2 пассажа на культуру клеток линии SW-13
11	Литературная(ые) ссылка(и) на работы, в которых опубликованы данные по выделению и идентификации штамма	нет
12	Характеристика штамма	
12.1	Культурально-морфологические особенности штамма	Культивирование на монослойной культуре клеток SW-13 или Vero. Не обладает цитопатическим действием. Репликация вируса определяется: - непрямым ИФА с помощью моно- или поликлональных сывороток через 24-48 часов после заражения; - количественным реал-тайм ПЦР по нарастающей копийности на 5-7 сутки после заражения.
12.2	Способ, условия и состав сред для размножения.	Заражение монослоя культур клеток SW-13 или Vero, питательная среда ДМЭМ с 2 % эмбриональной сыворотки коров и а/б. 5-7 сут. культивирования при температуре 37°C, относительной влажности 85% и 5% концентрации CO ₂
12.3	Активность (продуктивность) штамма (с указанием условий культивирования).	

12.4	Биохимическая активность	-
12.5	Серологические свойства	Штамм находится в близком антигенном родстве штаммом Дроздов
12.6	Генетические характеристики штамма [установленные нуклеотидные последовательности генома штамма (указать длину и позиции генома, литературные ссылки на публикацию установленных нуклеотидных последовательностей (номер в GeneBank, статья и пр.))]	Нуклеотидные последовательности фрагмента сегмента генома (позиции 1209-1395) депонированы в базе данных GenBank #
12.7	Вирулентность (патогенность)	
12.7.1	Группа патогенности для человека по российской классификации	II
12.7.2	Патогенность для животных	Не изучена
12.7.3	Патогенность для растений	Нет
12.8	Способ, условия и состав сред для длительного хранения штамма	Вирусосодержащая культуральная жидкость температура хранения минус 70°C. Среда DMEM с 2% сыворотки плодов крупного рогатого скота
12.9	Дата и результат последней проверки жизнеспособности культуры (указать результат, метод и биосистему титрования)	
12.10	Дата предполагаемого пересева (указать необходимые для этого метод, биосистему и условия культивирования)	2015 год. Размножение. Заражение монослоя культур клеток SW-13 или Vero, питательная среда ДМЭМ с 2% эмбриональной сыворотки коров и а/б. 5-7 сут. культивирования при температуре 37°C, относительной влажности 85% и 5% концентрации CO ₂
13	Вид депонирования: хранение, гарантийное хранение, патентное депонирование.	Патентное депонирование
14	Автор просит информировать о запросах на штамм (да, нет):	Да. Выдача штамма из коллекции возможна только при письменного согласия О.В Пьянкова
15	Информация о штамме включается в каталог коллекции до получения патента (да, нет):	Да
16	Автор информирован о том, что штамм будет исследован и включён в общую коллекцию, образцы культуры будут распространяться в соответствии с правилами, регламентируемыми Будапештским договором за плату, покрывающую расходы коллекции. Авторы обязаны восстановить штамм в коллекции в случае утраты им жизнеспособности. Автор письменно информирует о получении патента до истечения 3 лет со дня депонирования (да, нет):.	Да
17	Данные депозитора	
17.1	Организация, адрес, факс, телетайп, телефон депозитора, автор или авторский коллектив	ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор", 630559, р.п. Кольцово Новосибирского р-на, Новосибирской обл., тел/факс (383)336-60-10/(383)363-48-00. Плясунов И.В., Пьянков О.В., Шиков А.Н., Зайковская А.В., Яшина Л.Н., Негесова Н.А.
18.	Патент	
18.1	Номер и дата поданной заявки	

18.2	Номер и дата выдачи патента	
18.3	Патентодержатель	
19	Особые отметки	
Авторы штамма		
		Подпись
		Дата
Плясунов Игорь Владимирович		05.05.2014
Пьянков Олег Викторович		05.05.2014
Шиков Андрей Николаевич		05.05.2014
Зайковская Анна Владимировна		05.05.2014
Яшина Людмила Николаевна		05.05.2014
Нетесова Нина Александровна		05.05.2014



В данном документе
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 9 листов
Десяти листов

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

КОПИЯ

ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
Отдел разработки, производства и
применения средств иммунодиагностики
вирусных и риккетсиозных заболеваний
(отд. 03.13.00)

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

П А С П О Р Т № 126 от 05.12.2017
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие
к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки
«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»
по ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

Номер серии: 01.12.2017

Количество в серии 20

Дата выпуска продукции 05.12.2017

Контрольный номер ОБТК № 126

Дата изготовления 01.12.2017

Анализ выполнен по проекту ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
1 Внешний вид	Желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка При переворачивании флаконов не должно наблюдаться протечек веществ	Желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка. При переворачивании флаконов протечек веществ не наблюдалось.
2 Технические характеристики		
Нижний порог обнаружения	Результат анализа любого инфицированного вирусом КГЛ клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть положительным (наличие в препарате 3 целых клеток с характерным свечением, для оценки препарата достаточно иметь во всем мазке 30 клеток).	Соответствует, протокол испытания № 3 КГЛ-ПИФ от 05.12.2017
Специфичность	Результат анализа любого не инфицированного вирусом КГЛ (при возможном инфицировании другими буньявирусами или возбудителями инфекционных заболеваний лихорадочной этиологии) клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть отрицательным.	Соответствует, протокол испытания № 3 КГЛ-ПИФ от 05.12.2017
Комплектность	Согласно требованиям ТУ п.1.3.	Соответствует
Упаковка	Согласно требованиям ТУ п. 1.4.	Соответствует
Маркировка	Согласно требованиям ТУ п. 1.5	Соответствует

Транспортировать при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере. Допускается транспортирование при температуре до 27 °С не более 10-ти суток. Не допускать замораживания.

Хранение в упаковке производителя должно осуществляться при температуре от 2 °С до 8 °С. Серии с истекшим сроком годности применению не подлежат. Срок годности вскрытых флаконов – в течение срока годности при температуре от 2 °С до 8 °С, разведенных иммуноглобулинов флуоресцирующих – не более 72 часов до использования при температуре от 2 °С до 8 °С

Срок годности – 12 месяцев.

Закключение: соответствует проекту ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

Зав. ОБТК ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора



ПРОТОКОЛ № 3 КГЛ-ПИФ от 05.12.2017 года
лабораторного испытания медицинского изделия
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие
к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки
«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»
по ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»

серия 01.12.2017 дата изготовления 01.12.2017

1. Анализируемые образцы.

Лабораторное испытание иммуноглобулинов флуоресцирующих к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки (КГЛ) для диагностических целей «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» проведено согласно проекта ТУ 21.10.60-038-05664012-2016.

При проведении испытания использованы инаktivированные и фиксированные охлажденным ацетоном цитологические препараты гомогената клещевых пулов, изготовленных из клещей эндемичных регионов. Каждый пул был протестирован на наличие РНК возбудителя КГЛ методом ОТ-ПЦР-РВ.

В комплект поставки иммуноглобулинов флуоресцирующих входит флакон с иммуноглобулинами флуоресцирующими (МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ). Во флаконе находится прозрачная желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка.

Состав - очищенный гель-фильтрацией водный раствор моноклональных антител (МАТ) мыши, специфично связывающихся с вирусом КГЛ, меченных ФИТЦ в молярном соотношении ФИТЦ/белок от 5,0 до 14,0 методом конъюгирования, с консервантом ProClin 300 в конечной концентрации 0,25 % - 1 флакон, 1 мл.

2. Методы контроля

2.1 Внешний вид набора

Внешний вид реагентов набора контролируется визуально.

Наименование реагента	Норма	Фактически
МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ	Желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка При переворачивании флаконов не должно наблюдаться протечек веществ	Соответствует

2.2 Комплектность набора

В комплект набора входят набор реагентов и инструкция по применению.

Наименование реагента	Комплект	Фактически
МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ	1 фл. (1 мл)	Соответствует
Инструкция по применению	1 шт.	Соответствует

2.3 Маркировка на флаконе и коробке соответствует проекту ТУ.

Подготовку «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» проводить согласно Инструкции по применению.

Стёкла с фиксированными препаратами гомогената клещевых пулов, изготовленных из клещей эндемичных регионов, готовы к использованию в течение одного месяца при условии хранения в плотно закупоренной посуде при температуре от 2 до 8 °С в сухом тёмном месте.

3. Объем лабораторного испытания «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»

Определен требованиями ТУ 21.10.60-038-05664012-2016:

- не менее трех положительных образцов для установления чувствительности;
- не менее трех образцов для установления специфичности.

В данном испытании использованы образцы, протестированные на наличие РНК возбудителя КГЛ методом ОТ-ПЦР-РВ:

- 6 препаратов содержали РНК вируса КГЛ по данным ПЦР-анализа;
- 6 препаратов не содержали РНК вируса КГЛ.

4. Проведение лабораторного испытания прямым иммунофлуоресцентным методом (ПИФ)

Лабораторное испытание «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» проведено методом ПИФ согласно требований инструкции по применению набора.

5. Результаты лабораторного испытания

№ п/п	Шифр исследованного препарата	Результаты в ПИФ	Данные референс-метода (ПЦР)
1	18	Положительный	Положительный
2	19	Положительный	Положительный
3	27	Положительный	Положительный
4	28	Положительный	Положительный
5	30	Положительный	Положительный
6	33	Положительный	Положительный
7	20	Отрицательный	Отрицательный
8	21	Отрицательный	Отрицательный
9	22	Отрицательный	Отрицательный
10	23	Отрицательный	Отрицательный
11	24	Отрицательный	Отрицательный
12	25	Отрицательный	Отрицательный

6. Интерпретация результатов лабораторного испытания

Интерпретация результатов проведена согласно раздела «технические требования» ТУ 21.10.60-038-05664012-2016:

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Соответствие
1	2	3
Нижний порог обнаружения	Результат анализа любого инфицированного вирусом КГЛ клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть положительным (наличие в препарате 3 целых клеток с характерным свечением, для оценки препарата достаточно иметь во всем мазке 30 клеток).	Соответствует п. 5.3.2.6 ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

Специфичность	Результат анализа любого не инфицированного вирусом КГЛ (при возможном инфицировании другими буньявирусами или возбудителями инфекционных заболеваний лихорадочной этиологии) клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть отрицательным.	Соответствует п. 5.3.2.7 ТУ 21.10.60-038-05664012-2016
---------------	--	--

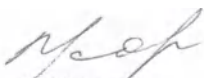
7. Выводы

Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» серии 01.12.2017 дата изготовления 01.12.2017 соответствуют требованиям проекта ТУ 21.10.60-038-05664012-2016.

Зав. лабораторией
производства средств иммунодиагностики
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

 Пьянков С.А.

Зав. лабораторией ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

 С.В. Усова



ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"
Роспотребнадзора
Отдел разработки, производства и
применения средств иммунодиагностики
вирусных и риккетсиозных заболеваний
(отд. 03.13.00)

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

П А С П О Р Т № 127 от 05.12.2017
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие
к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки
«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»
по ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

Номер серии: 02.12.2017

Количество в серии 20

Дата выпуска продукции 05.12.2017

Контрольный номер ОБТК № 127

Дата изготовления 04.12.2017

Анализ выполнен по проекту ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

Наименование показателя	Требования НД	Результаты анализа
1 Внешний вид	Желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка При переворачивании флаконов не должно наблюдаться протечек веществ	Желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка. При переворачивании флаконов протечек веществ не наблюдалось.
2 Технические характеристики		
Нижний порог обнаружения	Результат анализа любого инфицированного вирусом КГЛ клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть положительным (наличие в препарате 3 целых клеток с характерным свечением, для оценки препарата достаточно иметь во всем мазке 30 клеток).	Соответствует, протокол испытания № 4 КГЛ-ПИФ от 05.12.2017
Специфичность	Результат анализа любого не инфицированного вирусом КГЛ (при возможном инфицировании другими буньявирусами или возбудителями инфекционных заболеваний лихорадочной этиологии) клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть отрицательным.	Соответствует, протокол испытания № 4 КГЛ-ПИФ от 05.12.2017
Комплектность	Согласно требованиям ТУ п.1.3.	Соответствует
Упаковка	Согласно требованиям ТУ п. 1.4.	Соответствует
Маркировка	Согласно требованиям ТУ п. 1.5	Соответствует

Транспортировать при температуре от 2 °С до 8 °С в термоконтейнере. Допускается транспортирование при температуре до 27 °С не более 10-ти суток. Не допускать замораживания.

Хранение в упаковке производителя должно осуществляться при температуре от 2 °С до 8 °С. Серии с истекшим сроком годности применению не подлежат. Срок годности вскрытых флаконов – в течение срока годности при температуре от 2 °С до 8 °С, разведенных иммуноглобулинов флуоресцирующих - не более 72 часов до момента использования при температуре от 2 °С до 8 °С

Срок годности – 12 месяцев.

Заключение: соответствует проекту ТУ 21.10.60-038-05664012-2016.

Зав. ОБТК ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"

Роспотребнадзора

М.П. Богрянцева

ПРОТОКОЛ № 4 КГЛ-ПИФ от 05.12.2017 года
лабораторного испытания медицинского изделия
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие
к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки
«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»
по ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

«Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»

серия 02.12.2017 дата изготовления 04.12.2017

1. Анализируемые образцы.

Лабораторное испытание иммуноглобулинов флуоресцирующих к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки (КГЛ) для диагностических целей «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» проведено согласно проекта ТУ 21.10.60-038-05664012-2016.

При проведении испытания использованы инаktivированные и фиксированные охлажденным ацетоном цитологические препараты гомогената клещевых пулов, изготовленных из клещей эндемичных регионов. Каждый пул был протестирован на наличие РНК возбудителя КГЛ методом ОТ-ПЦР-РВ.

В комплект поставки иммуноглобулинов флуоресцирующих входит флакон с иммуноглобулинами флуоресцирующими (МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ). Во флаконе находится прозрачная желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка.

Состав - очищенный гель-фильтрацией водный раствор моноклональных антител (МАТ) мыши, специфично связывающихся с вирусом КГЛ, меченных ФИТЦ в молярном соотношении ФИТЦ/белок от 5,0 до 14,0 методом конъюгирования, с консервантом ProClin 300 в конечной концентрации 0,25 % - 1 флакон, 1 мл.

2. Методы контроля

2.1 Внешний вид набора

Внешний вид реагентов набора контролируется визуально.

Наименование реагента	Норма	Фактически
МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ	Желто-зеленая опалесцирующая жидкость без осадка При переворачивании флаконов не должно наблюдаться протечек веществ	Соответствует

2.2 Комплектность набора

В комплект набора входят набор реагентов и инструкция по применению.

Наименование реагента	Комплект	Фактически
МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ	1 фл. (1 мл)	Соответствует
Инструкция по применению	1 шт.	Соответствует

2.3 Маркировка на флаконе и коробке соответствует ТУ

Подготовку «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» проводить согласно Инструкции по применению.

Стёкла с фиксированными препаратами гомогената клещевых пулов, изготовленных из клещей эндемичных регионов, готовы к использованию в течение одного месяца при

условии хранения в плотно укупоренной посуде при температуре от 2 до 8 °С в сухом тёмном месте.

3. Объем лабораторного испытания «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ»

Определен требованиями ТУ 21.10.60-038-05664012-2016:

- не менее трех положительных образцов для установления чувствительности;
- не менее трех образцов для установления специфичности.

В данном испытании использованы образцы, протестированные на наличие РНК возбудителя КГЛ методом ОТ-ПЦР-РВ:

- 6 препаратов содержали РНК вируса КГЛ по данным ПЦР-анализа;
- 6 препаратов не содержали РНК вируса КГЛ.

4. Проведение лабораторного испытания прямым иммунофлуоресцентным методом (ПИФ)

Лабораторное испытание «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» проведено методом ПИФ согласно требований инструкции по применению набора.

5. Результаты лабораторного испытания

№ п/п	Шифр исследованного препарата	Результаты в ПИФ	Данные референс-метода (ПЦР)
1	18	Положительный	Положительный
2	19	Положительный	Положительный
3	27	Положительный	Положительный
4	28	Положительный	Положительный
5	30	Положительный	Положительный
6	33	Положительный	Положительный
7	20	Отрицательный	Отрицательный
8	21	Отрицательный	Отрицательный
9	22	Отрицательный	Отрицательный
10	23	Отрицательный	Отрицательный
11	24	Отрицательный	Отрицательный
12	25	Отрицательный	Отрицательный

6. Интерпретация результатов лабораторного испытания

Интерпретация результатов проведена согласно раздела «технические требования» ТУ 21.10.60-038-05664012-2016:

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Соответствие
1	2	3
Чувствительность	Результат анализа любого инфицированного вирусом КГЛ клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть положительным (наличие в препарате 3 целых клеток с характерным свечением, для оценки препарата достаточно иметь во всем мазке 30 клеток).	Соответствует п. 5.3.2.6 ТУ 21.10.60-038-05664012-2016
Специфичность	Результат анализа любого не инфицированного вирусом КГЛ (при возможном инфицировании другими	Соответствует п. 5.3.2.7 ТУ 21.10.60-038-05664012-2016

	буньявирусами или возбудителями инфекционных заболеваний лихорадочной этиологии) клеточного материала в ПИФ с применением иммуноглобулинов флуоресцирующих (при их рабочем для серии разведении) должен быть отрицательным.	
--	---	--

7. Выводы

Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки «Вектор МАТ-ФИТЦ анти-КГЛ в ПИФ» серии 02.12.2017 дата изготовления 04.12.2017 соответствуют требованиям проекта ТУ 21.10.60-038-05664012-2016.

Зав. лабораторией
производства средств иммунодиагностики
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

Зав. лабораторией ОБТК
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

Пьянков С.А.



В. Усова



В данном <u>документе</u>
прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью <u>8</u> листов
<u>Восемь листов</u>
прописью
<u>Зав. ОТК</u> <u>И.В. М.А. Бочарова</u>
должность, подпись