

BIOHIT HealthCare

Innovating for Health

Набор реагентов для определения
голотранскобаламина HoloTC
(активный B12) методом ИФА
в сыворотке крови человека

BIOHIT ACTIVE B12 (HOLOTRANSCOBALAMIN)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

REF

602 290

IVD



Производитель:

Biohit Oyj | Laippatie 1, 00880, Helsinki, Finland
Биохит Ой | Лайппатие 1, 00880, Хельсинки, Финляндия

Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:

ООО «МЕЛОН» | 199155, г. Санкт-Петербург, Морская наб, дом 37, корпус 2, литер А, помещение 12-Н, №7
Тел. +7 (812) 602-17-76, e-mail: info@melonbio.ru

confirm that in accordance with Finland's Trade Register, _____

SEMI KORPELA AND OSMO SUOVANIEMI

as the right alone/have the right together to represent the company

BIOHIT OYJ

and that he/she has/they have signed this document personally.

Helsinki, Finland

Ex officio:

21-08-2020

TANJA TAMS

henkikirjoittaja, julkinen notaari

notarusskrivare, notarius publicus

District Registrar, Notary Public

SEMI KORPELA
PRESIDENT &
CEO



OSMO
SUOVANIEMI
CHAIRMAN
OF THE
BOARD

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ (русский)

Набор реагентов для определения голотранскобаламина HoloTC (активный B12) методом ИФА в сыворотке крови человека BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin)

В составе:

- Раствор конъюгата (15 мл) – 1 шт.
- Раствор субстрата (15 мл) – 1 шт.
- Останавливающий раствор (15 мл) – 1 шт.
- Концентрированный промывочный буфер (8х) (25 мл) – 2 шт.
- Микропланшет (12 стрипов по 8 лунок) – 1 шт.
- Бланк раствор (1 мл) – 1 шт.
- Калибраторы (1 мл) – 5 шт.
- Контроль низкий (1 мл) – 1 шт.
- Контроль высокий (1 мл) – 1 шт.
- Раствор для предварительной обработки (25 мл) – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 шт.
- Сертификат контроля качества – 1 шт.

Сокращенное наименование – BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin).

Каталожный номер 602 290

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение голотранскобаламина HoloTC (активный B12) методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови человека. Предназначен для профессионального применения в клинико-диагностических лабораториях (медицинским технологом, медицинским лабораторным техником, врачом клинической лабораторной диагностики). Является вспомогательным средством для дальнейшей постановки диагноза, связанного с отклонением витамина B12 от нормы. Для *in vitro* диагностики.

Показания к применению: количественное определение голотранскобаламина HoloTC (активный B12) в сыворотке крови человека.

Противопоказания к применению: не выявлены. Исследование проводится у населения всех возрастных групп при наличии показаний к применению.

Потенциальный потребитель: клинико-диагностические лаборатории.

Возможные побочные воздействия: не выявлены.

2. ВВЕДЕНИЕ

Витамин B12 – это водорастворимый витамин, который играет важную роль в нормальном функционировании нервной системы и формировании клеток крови. Его дефицит может вызвать серьезные изменения в организме. В сыворотке витамин B12 связан с двумя белками: транскобаламином (ТС) и гаптокоррином (НС). Эти связывающие белки обеспечивают эффективное усвоение чрезвычайно малых количеств витамина B12, поступающих с пищей. В результате связывания белками ТС и НС витамина B12 образуются комплексы, называемые голотранскобаламин (HoloTC) и гологаптокоррин (HoloHC), чтобы отличать их от белков, не транспортирующих витамин.

Основной компонент в этой циркуляции (HoloHC) составляет 70–90 % от общего содержания витамина B12 в крови, но является биологически инертным. HoloTC составляет всего 10–30 % от циркулирующего в крови витамина B12, но является единственной формой витамина B12, которая может усваиваться клетками организма (активный витамин B12). Белок ТС транспортирует витамин B12 из места его всасывания в подвздошной кишке к тканям и клеткам. Затем витамин усваивается в виде комплекса HoloTC (витамин B12, связанный с транскобаламином) посредством специфического рецепторно-опосредованного поглощения. В ходе этого процесса витамин B12 доставляется в клетки организма и поставляется в виде кофермента для важных клеточных функций, таких как синтез ДНК.

Поскольку HoloTC обладает более коротким периодом полувыведения из циркуляции по сравнению с HoloHC, первым изменением, наступающим при возникновении отрицательного баланса витамина B12, с высокой долей вероятности будет снижение концентрации HoloTC в сыворотке.

Измерение общего уровня B12 в сыворотке имеет ряд ограничений; в частности, большая часть измеренного кобаламина связана с биологически инертным HC. В ряде публикаций делается вывод, что HoloTC является лучшим индикатором уровня витамина B12, чем общая концентрация B12 в сыворотке. Как и ожидалось, у пациентов с биохимическими признаками дефицита витамина B12 уровень HoloTC низкий. Низкий уровень отмечен у вегетарианцев, веганов и в популяциях с низким употреблением витамина B12. Примечательно, что у пациентов с болезнью Альцгеймера отмечен низкий уровень HoloTC. Уровень HoloTC отражает положение с усвоением витамина B12 независимо от употребления витамина в последнее время.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Количественный иммуноферментный анализ. Анализ основан на сэндвич-методе иммуноферментного анализа с использованием высокоспецифичных моноклональных антител голотранскобаламина, адсорбированных на лунках микропланшета. Во время первой инкубации моноклональные антитела, специфические к голотранскобаламину, иммобилизованные на полистироловой поверхности лунок связываются с молекулами голотранскобаламина, присутствующими в образце. Во время второй инкубации конъюгат связывается со всем связанным голотранскобаламином.

После инкубации лунки промывают для удаления несвязанных компонентов и добавляют в них ТМВ-субстрат. Связанный голотранскобаламин выявляется во время инкубации с субстратом. Ферментативная реакция прекращается после внесения останавливающего раствора и содержимое лунок окрашивается в синий цвет. Оптическая плотность полученного желтого окрашивания прямо пропорциональна концентрации олотранскобаламина в образце. Концентрация голотранскобаламина в пмоль/л.

4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ, МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Строго соблюдайте изложенные инструкции, особенно внимательно в отношении обращения и условий хранения.
2. Прежде чем приступить к проведению данного анализа, ознакомьтесь со всеми указаниями.
3. Не курите, не принимайте пищу и напитки, не наносите косметику в зонах обращения с наборами и образцами.
4. Любые травмы кожи, порезы, ссадины и другие поражения кожи должны быть надлежащим образом защищены.
5. Калибраторы, контроли, раствор конъюгата, раствор для предварительной обработки и концентрированный промывочный буфер (8х) содержат азид натрия, который может реагировать со свинцовыми и медными трубами и образовывать металлические азиды с повышенной взрывоопасностью. При утилизации смывайте большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов.
6. Останавливающий раствор содержит гидроксид натрия. Избегайте контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. Разлитую жидкость собирайте тряпкой с большим количеством воды. В случае контакта с кожей или глазами немедленно промойте водой и обратитесь к врачу.
7. Данный продукт требует обращения с образцами и материалами, полученными от животных и людей. Рекомендуется считать все материалы животного и человеческого происхождения потенциально инфекционными и обращаться с ними в соответствии со стандартом OSHA в отношении биологической безопасности при контакте с патогенами, переносимыми с кровью, 2-го уровня или другими применимыми практиками биологической безопасности, которые должны применяться к материалам, содержащим или заподозренным в содержании возбудителей инфекции.
8. Набор не содержит реагенты, изготовленные из компонентов крови человека.
9. Набор содержит белки бычьего и мышинного происхождения.
10. Все образцы и потенциально зараженные материалы следует дезинфицировать и утилизировать в соответствии с Правилами работы с возбудителями инфекционных заболеваний.



Внимание! С образцами сыворотки следует обращаться как с потенциально опасным биологическим материалом. Все образцы следует считать потенциально зараженными, поэтому обращаться с ними необходимо как с инфекционным материалом.

11. Перед тем как приступить к работе с образцами, взятыми у пациентов, обязательно надевайте защитные перчатки. Изделие не предназначено для использования в контакте с организмом человека.
12. Для всех операций пипетирования применяйте безопасные пипетирующие устройства.
13. Запрещено набирать материал в пипетку ртом.
14. Запрещается использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке.
15. Запрещается использовать реагенты из наборов с другими серийными номерами или реагенты из наборов других производителей.
16. Использовать только дистиллированную или деионизированную воду.
17. Компоненты набора предоставляются в точной концентрации. Нерегламентированное разбавление или другое модифицирование реагентов может вызвать некорректные результаты.
18. Результаты анализов, полученные с помощью набора BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin), как и любой диагностической методики, должны интерпретироваться в сочетании с конкретной клинической картиной и другой информацией, известной врачу.
19. Набор предназначен для профессионального применения в *in vitro* диагностике.

Всегда соблюдайте требования инструкции по применению, предупреждения и меры предосторожности.

Маркировка	Компонент набора	Код фразы	Расшифровка фразы
 ВЫЗЫВАЕТ КОРРОЗИЮ	ОСТАНАВЛИВАЮЩИЙ РАСТВОР	H314 P264 P280 R305+351+338	При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги. После работы тщательно вымыть руки. Использовать защитные перчатки / защитную одежду / защиту глаз / защиту лица. ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
 ОПАСНОЕ ВЕЩЕСТВО	РАСТВОР СУБСТРАТА	H302+312+332 P260 P271 P280 R301+310 R304+340 R312	Вредно при проглатывании, попадании на кожу или вдыхании. Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/ тумана/паров/ аэрозолей. Использовать в хорошо вентилируемом месте. Использовать защитные перчатки / защитную одежду / защиту глаз / защиту лица. ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к специалисту/ терапевту. ПРИ ВДЫХАНИИ: Вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/ терапевту в случае плохого самочувствия.
	КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ ПРОМЫВОЧНЫЙ БУФЕР (8х)	H302 H412 EUH032 P264 P270 P273 R301+310 R330	Вредно при проглатывании. Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. После работы тщательно вымыть руки. Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. Не допускать попадания в окружающую среду. ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к специалисту/ терапевту. Прополоскать рот.

5. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) представляет собой набор, в составе:

- Раствор конъюгата (15 мл) – 1 шт.
- Раствор субстрата (15 мл) – 1 шт.
- Останавливающий раствор (15 мл) – 1 шт.

- Концентрированный промывочный буфер (8х) (25 мл) – 2 шт.
- Микропланшет (12 стрипов по 8 лунок) – 1 шт.
- Бланк раствор (1 мл) – 1 шт.
- Калибраторы (1 мл) – 5 шт.
- Контроль низкий (1 мл) – 1 шт.
- Контроль высокий (1 мл) – 1 шт.
- Раствор для предварительной обработки (25 мл) – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 шт.
- Сертификат контроля качества – 1 шт.

Один набор рассчитан на выполнение 96 тестов.

5.1. Раствор конъюгата **CONJ** (Conjugate solution)

Один флакон 15 мл меченных щелочной фосфатазой мышинных моноклональных антител к человеческому транскобаламину в трис-буфере со стабилизатором белка. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

5.2. Раствор субстрата **SUBS** (Substrate Solution)

Один флакон 15 мл паранитрофенилфосфата (pNPP), буферный раствор. Цвет крышки белый, флакона - коричневый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности. Оберегать от прямого света.

ВНИМАНИЕ! ОПАСНОЕ ВЕЩЕСТВО.

5.3. Останавливающий раствор **STOP** (Stop Solution)

Состав: Один флакон 15 мл 1М гидроксида натрия, pH > 10. Цвет крышки: белый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

ВНИМАНИЕ! ВЫЗЫВАЕТ КОРРОЗИЮ.

5.4. Концентрированный промывочный буфер (8х) **WASH 8x** (Washing Buffer Concentrate (8x))

Состав: Два флакона 25 мл фосфатного буфера. Консервант: 0,72 % (масс./об.) азида натрия. Цвет крышки: белый.

Подготовка: Развести дистиллированной водой и тщательно перемешать.

Стабильность: Концентрат стабилен до истечения срока годности. Разведенный раствор стабилен в течение двух недель при хранении в холодильнике (2–8 °C).

ВНИМАНИЕ! ОПАСНОЕ ВЕЩЕСТВО.

5.5. Микропланшет (Microplate)

12 стрипов по 8 лунок с нанесенными высокоспецифичными моноклональными мышинными антителами к голотранскобаламину, установленных в рамку в повторно герметизируемой упаковке из фольги с влагопоглотителем. Микропланшет изготовлен из бесцветного, прозрачного пластика. Рамка изготовлена из светлого пластика.

Повторное использование стрипов запрещено.

Подготовка: готово к использованию.

5.6. Бланк раствор **BLANK** (Blank Solution)

Состав: Один флакон 1 мл фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота).

Цвет крышки: коричневый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

5.7. Калибраторы **CAL 1-5** (Calibrators)

Состав: Пять флаконов 1 мл фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота), содержащего HoloTC. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Цвет крышки: коричневый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабильны до истечения срока годности.

Во время хранения не подвергать воздействию света.

КОНЦЕНТРАЦИИ УКАЗАНЫ НА ЭТИКЕТКАХ ФЛАКОНОВ.

5.8. Контроль низкий **CONTROL LOW** (Control low)

Состав: Один флакон контрольного образца с низким содержанием аналита: 1 мл флакон фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота), содержащего HoloTC. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Цвет крышки: коричневый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

Во время хранения не подвергать воздействию света.

5.9. Контроль высокий **CONTROL HIGH** (Control high)

Состав: Один флакон контрольного образца с высоким содержанием аналита: 1 мл флакон фосфатного буфера со стабилизатором белка (крупного рогатого скота), содержащего HoloTC. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Цвет крышки: коричневый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

Во время хранения не подвергать воздействию света.

5.10. Раствор для предварительной обработки **PRE** (Pre-treatment Solution)

Один флакон 25 мл цитратного буфера. Консервант: < 0,1 % (масс./об.) азида натрия. Цвет крышки: белый.

Подготовка: готово к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ МАТЕРИАЛОВ, КОТОРЫЕ ТРЕБУЮТСЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТИРОВАНИЯ (НЕ СОДЕРЖАТСЯ В НАБОРЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ)

- дистиллированная или деионизированная вода;
- дозатор одноканальный и одноразовые наконечники для дозирования 100–150 мкл, с погрешностью 0,20 мкл;
- дозатор 8-канальный и одноразовые наконечники для дозирования 250–300 мкл с погрешностью 0,20 мкл;
- мерные цилиндры на 100, 200 и 1000 мкл;
- пробирки для разбавленных образцов;
- термошейкер для инкубации;
- устройство для мойки микропланшетов;
- бумажные полотенца или фильтровальная бумага;
- таймер;
- считывающее устройство для микропланшетов при длине волны 405 нм;
- автоматический анализатор (для автоматического метода);
- защитная одежда, перчатки и средства защиты глаз/лица.

Совместная работа возможна с любыми (открытыми) автоматическими и полуавтоматическими иммуноферментными анализаторами, зарегистрированными в установленном порядке на территории РФ.

7. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И СТАНДАРТИЦИЯ (ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ)

В настоящее время не имеется международно-признанного эталонного метода или эталонных материалов для стандартизации. Калибраторы BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) отслеживаются по внутренним стандартным образцам компании, которые подвергаются однократному присвоению значения. Метрологическая прослеживаемость значений, присвоенных калибраторам и контрольным материалам соответствует требованиям ГОСТ ISO 17511-2011 (ISO 17511:2003).

Согласно Своду международных требований к лабораторным исследованиям, для того чтобы удостовериться в надлежащей работе всех реагентов и протоколов, необходимо использовать соответствующие средства контроля. В наборах BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) предусмотрен специфичный для каждой серии контроль с заданным значением. Использование контроля (в дубле) обязательно при каждой постановке анализа. Несоответствие ожидаемому результату помогает устанавливать возможные ошибки в проведении анализа и предупреждает пользователя о необходимости корректирующих действий. В каждой серии необходимо вести таблицы контроля качества для отслеживания рабочих характеристик контролей. В качестве альтернативы можно применять соответствующие статистические методы для анализа внутрилабораторных контрольных значений, которые должны находиться в пределах соответствующих доверительных интервалов (ДИ), принятых в каждой лаборатории. Результаты можно считать приемлемыми, если результат для контроля соответствует ожидаемому.

8. ЭКСПЛУАТАЦИЯ, ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

8.1. Условия эксплуатации

Перед применением все компоненты набора необходимо довести до температуры (20-25) °С. В противном случае возможно получение недостоверного результата тестирования.

8.2. Стабильность открытого (используемого) набора

После вскрытия набора рабочие характеристики не ухудшаются при трехкратном использовании набора в течение 3-х месяцев. После использования компоненты следует вернуть на хранение при температуре 2–8 °С.

8.3. Стабильность закрытого набора

Срок годности 18 месяцев. При температуре 2–8 °С закрытые компоненты стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетках.

8.4. Транспортирование

Набор BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) следует транспортировать при (2–8) °С.

8.5. Признаки ухудшения качества

Раствор субстрат должен быть бесцветным или чуть желтоватого цвета. Если реагент приобрел более темный желтый цвет, значит, он загрязнен и подлежит утилизации. Помутнение или образование осадка в любом компоненте указывает на ухудшение качества, такой компонент должен быть утилизирован.

8.6. Указания по обращению и работе с наборами:

- Компоненты набора следует хранить при температуре 2-8 °С и использовать до истечения срока годности, указанного на этикетках. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности.
- Каждая серия реагентов и калибраторов проходит стандартизацию, чтобы обеспечить правильную реакцию. Не смешивайте реагенты и калибраторы из разных серий.
- Концентрации калибраторов указаны на этикетках флаконов и могут различаться от серии к серии.
- Не замораживайте наборы.
- Концентрат буферного раствора для промывания необходимо разбавлять перед использованием. Все прочие реагенты готовы к применению.

- Разбавленный буферный раствор для промывания стабилен в течение не менее 3-х месяцев при условии отсутствия бактериального заражения. После каждого применения убирайте на хранение при температуре 2–8 °С.
- Неиспользованные стрипы храните в упаковке из фольги с влагопоглотителем. Убедитесь в целостности герметичной упаковки и до использования храните при температуре 2–8 °С.
- Во время хранения не подвержайте калибраторы, контроли и раствор субстрата воздействию света.
- Избегайте загрязнения реагентов. Для каждого реагента или каждой манипуляции с образцом надевайте новый одноразовый наконечник на пипетку.

9. ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Анализ рекомендован для образцов сыворотки человека.
2. Не используйте грубо гемолизированные или мутные образцы.
3. Тщательно перемешайте размороженные образцы перед анализом, рекомендуется избегать повторного замораживания/размораживания.
4. При необходимости, образцы могут быть подвергнуты 3 циклам замораживания/размораживания. Размороженные образцы перед анализом следует центрифугировать при $\geq 10\,000\text{ г}$ в течение 5 минут.
5. Не оставляйте образцы со сгустком или без при температуре выше комнатной дольше, чем до следующего утра (≤ 16 часов).
6. Образцы со сгустком можно хранить при температуре 2–8 °С до трех дней, без сгустка — до четырех недель; более длительное хранение до 6 месяцев возможно для образцов без сгустка при температуре -20 °С.
7. Перед анализом следует добавить к каждому образцу равный объем раствора для предварительной обработки, например к 150 мкл образца — 150 мкл раствора для предварительной обработки. До анализа предварительно обработанные образцы можно хранить в закрытых колпачками сосудах в течение не более 24 часов при температуре 2–8 °С.

10. МЕТОДИКА АНАЛИЗА

10.1. Предварительная подготовка

Выдержите все реагенты и микропланшет до достижения ими температуры (20–25) °С.

Внимание: Микропланшет и/или стрипы нельзя извлекать из упаковки, изготовленной из фольги, пока они не нагреются до температуры (20–25) °С. Рассчитайте количество стрипов, необходимых для текущего анализа, разместите их в микропланшете. (Неиспользованные стрипы необходимо поместить обратно в упаковку, плотно закрыть и хранить при температуре (2–8) °С).

Убедитесь, что все стрипы надежно закреплены в микропланшете. (После проведения анализа сохраните микропланшет для стрипов для дальнейшего использования).

Тщательно перемешайте реагенты и образцы перед использованием, осторожно переворачивая их.

Внимание: При хранении при температуре 2–8 °С в концентрированном промывочном буфере выпадает осадок (могут быть видны кристаллы). Перед разведением водой дайте буферу согреться (можно поместить в инкубатор при температуре 37 °С, если нужно ускорить процесс), пока **ВСЕ** признаки осадка не перестанут быть видны невооруженным глазом.

10.2. Проведение анализа полуавтоматическим методом

- 1) Разведение образцов и реагентов для анализа.

Перед анализом следует добавить к каждому образцу равный объем раствора для предварительной обработки (1:1), например к 150 мкл образца — 150 мкл раствора для предварительной обработки. До анализа предварительно обработанные образцы можно хранить в закрытых колпачками пробирках в течение не более 24 часов при температуре 2–8 °С.

Разбавьте концентрированный промывочный буфер и тщательно перемешайте (Таблица 1).

Таблица 1. Разведение концентрированного промывочного буфера.

Реагент	Объем	Добавить
Концентрированный промывочный буфер 8х	1 флакон (25 мл)	175 мл дистиллированной/ деионизированной воды

Разведенный концентрированный промывочный буфер может храниться в течение 3 месяцев при температуре 2–8 °С.

2) Перемешайте и пипетируйте в лунки микропланшета по 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно обработанных (50:50) образцов пациента, дублируя каждый из растворов (Таблица 2). Не забывайте менять наконечники пипеток при работе с разными растворами.

Примечание. Рекомендуется вносить образцы в лунки одного планшета не дольше 15 минут во избежание искажения результатов в пределах планшета.

Таблица 2. Порядок пипетирования

	1	2	3	4
A	Бланк	Бланк	Образец	Образец
B	Калибратор	Калибратор	Образец	Образец
C	Калибратор	Калибратор	Образец	Образец
D	Калибратор	Калибратор		
E	Калибратор	Калибратор		
F	Калибратор	Калибратор		
G	Контроль	Контроль		
H	Контроль	Контроль		

- 3) Инкубируйте 60 ±10 минут при температуре 18–25 °С.
- 4) Слейте содержимое пластины в емкость для утилизации биологических материалов, но помните, что образцы потенциально могут быть инфицированы. Промокните перевернутые пластины бумажными полотенцами. **Не промывайте.**
- 5) Добавьте по 100 мкл конъюгата в каждую лунку.
- 6) Инкубируйте 35 ±5 минут при температуре 18–25 °С.
- 7) Промойте лунки микропланшета **пять раз** не менее чем 250 мкл разбавленного (Таблица 1) промывочного буфера для удаления остатков образца и осторожно простучите несколько раз перевернутым планшетом о чистое бумажное полотенце.
- 8) Внесите 8-канальным дозатором по 100 мкл раствора субстрата в лунки микропланшета.
- 9) Инкубируйте 30 ±5 минут при температуре 18–25 °С. **Не сливайте.**
- 10) Внесите 8-канальным дозатором по 100 мкл останавливающего раствора в лунки микропланшета, в том же порядке и с той же скоростью, что и субстрат. Осторожно постучите по пластине для перемешивания содержимого.
- 11) Измерьте оптическую плотность при 405 нм. Считайте результат в течение 120 минут с момента добавления стоп-раствора.

10.3. Проведение анализа автоматическим методом

Изделие разработано с учетом автоматизации. Проведение автоматического анализа необходимо осуществлять в соответствии с инструкцией изготовителя на анализатор ИФА. Единственные действия, выполняемые вручную – разведение концентрированного промывочного буфера, как указано в таблице 1, перед анализом и разведение образцов (50:50) раствором для предварительной обработки.

11. РЕЗУЛЬТАТЫ

11.1. Расчет и интерпретация

КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛИБРАТОРОВ УКАЗАНЫ НА ЭТИКЕТКАХ ФЛАКОНОВ. ЗНАЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРИСВАИВАЮТСЯ КАЖДОЙ серии КАЛИБРАТОРОВ И МОГУТ РАЗЛИЧАТЬСЯ ОТ СЕРИИ К СЕРИИ.

Показания оптической плотности преобразуются в значения концентрации активного В12 путем интерполяции неизвестных значений на основании кривой наилучшего приближения к калибраторам. Поскольку калибраторы готовы к использованию, значения концентрации, полученные в образцах пациентов, не умножаются на коэффициент разведения.

Вычтите среднюю оптическую плотность (OD) бланка (BS) из всех значений OD лунок.

Постройте график зависимости среднего значения OD от BS (в качестве нулевого калибратора) и калибраторов от соответствующих значений концентрации.

Полиномиальная линейная аппроксимация второго порядка пригодна для интерполирования неизвестных значений концентрации. Типичная калибровочная кривая показана на рисунке 1 (не используйте его для интерпретации результатов).

Образцы с концентрациями выше 128 пмоль/л находятся за пределами диапазона анализа и должны быть зарегистрированы как имеющие концентрацию > 128 пмоль/л, результаты этих измерений не следует экстраполировать. Если результаты дублирующих измерений отдельных образцов отклоняются меньше чем на 20 %, они могут быть приняты для обозначения приемлемости анализа.

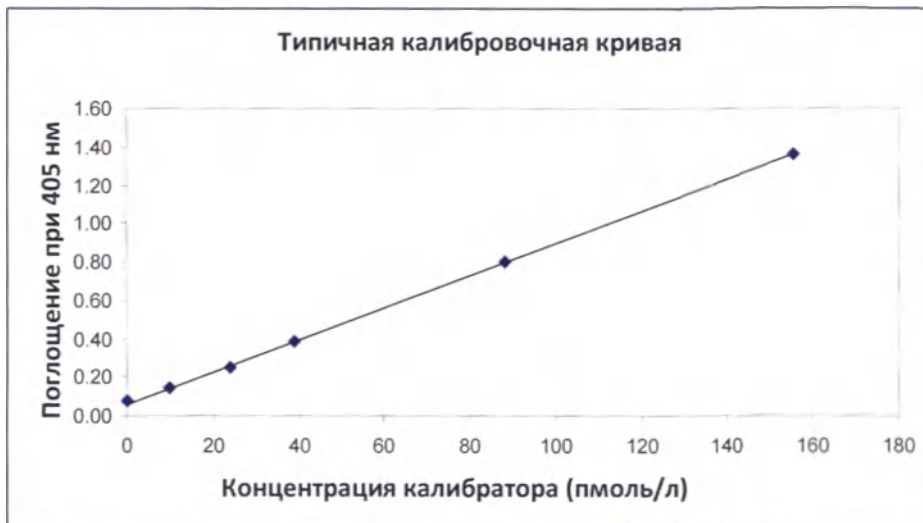


Рисунок 1. Типичная калибровочная кривая анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin).

Реакцию следует учитывать, если среднее значение оптической плотности:

для бланк раствора: $\leq 0,11$ единиц оптической плотности;

для калибратора 5: ≥ 1 единиц оптической плотности.

Результаты можно считать приемлемыми, если результат для высокого контрольного образца находится в диапазоне от 36,96 до 83,04 пмоль/л, для низкого контрольного образца находится в диапазоне от 15,40 до 34,6 пмоль/л.

Единицы измерения Единицей измерения в количественном анализе BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) является пмоль/л.

Диапазон измерений (регистрируемый диапазон)

Диапазон измерений анализа составляет от 10 пмоль/л до 128 пмоль/л. Установлено, что суммарная ошибка на пороговом уровне количественного определения (LoQ) составляет $\leq \pm 20\%$.

11.2. Контроль качества

Пользователи ответственны за соблюдение надлежащих методик контроля для своей лаборатории и за их соответствием применяемым правилам для лабораторий.

Техническое обслуживание и калибровка аппарата для чтения планшетов должны соответствовать инструкциям производителя, должна использоваться надлежащая длина волны (405 нм) и алгоритм подбора кривой (линейная регрессия).

Пользователи должны обязательно ознакомиться с инструкцией по проведению анализа. Перед регистрацией результатов анализов пациентов пользователи должны продемонстрировать, что они могут обеспечить рабочие характеристики в отношении воспроизводимости и регистрируемый диапазон результатов анализа, сопоставимые с установленными производителем. Для контроля качества процедуры анализа рекомендуется при каждом запуске анализировать готовые к использованию контрольные образцы с высоким и низким содержанием аналита из набора.

При условии соблюдения норм воспроизводимости, указанных производителем, несовпадение результатов контрольного образца с нижеприведенной спецификацией означает сбой анализа. Результаты такого анализа регистрации не подлежат. Оператор может повторить анализ, проверив процедуру его выполнения, или обратиться к производителю.

При повторном проведении анализа необходимо приготовить свежеразбавленные растворы каждого образца. При выполнении анализов лаборатории могут использовать применяемые в учреждении контрольные материалы, зарегистрированные в установленном порядке на территории РФ. Консерванты, такие как азид натрия в концентрации < 0,1 % (масс./об.), не влияют на результаты анализа образцов.

Референтный интервал значений должен рассчитываться для конкретных популяций, с которыми работает пользователь.

Таблица 3. Спецификации для контрольных образцов с низким и высоким содержанием аналита.

Спецификации для контрольных образцов	Контрольный образец с низким содержанием аналита	Контрольный образец с высоким содержанием аналита
Среднее значение двух измерений	15–35 пмоль/л	36–84 пмоль/л

11.3. Биологический референтный интервал

Биологический референтный интервал для набора BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) составляет от 21 пмоль/л до 123 пмоль/л. Интервал был установлен на 135 образцах сыворотки, взятых у внешне здоровых доноров без симптомов заболевания в возрасте от 18 до 75 лет, при примерно одинаковом количеством мужчин [n = 65] и женщин [n = 70].

В целом средняя концентрация BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) для этой популяции составила 72 пмоль/л (интервал 15–147 пмоль/л). На основании данных этой эталонной популяции рассчитан интервал нормальных значений (центральные 95 % результатов).

Этот интервал нормальных значений предлагается только в качестве руководства, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений, который может быть уникальным для популяции, обслуживаемой лабораторией, в зависимости от географического положения, пациентов, диетических факторов, условий окружающей среды или клинической практики.

12. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Репрезентативные данные; результаты в отдельных лабораториях могут варьироваться.

12.1. Диапазон измерений

Диапазон измерений (регистрируемый диапазон) Диапазон измерений анализа составляет от 10 пмоль/л до 128 пмоль/л. Установлено, что суммарная ошибка на пороговом уровне количественного определения (LoQ) составляет $\pm$ 20%.

12.2. Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости проводились в соответствии с рекомендацией EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Панель, составленную из образцов сыворотки, анализировалась с дублированием по 8 раз в течение 5 рабочих дней. В исследованиях участвовали два оператора, которые использовали три производственные серии реагентов. Статистический анализ проводился согласно рекомендации EP5-A2 CLSI с целью оценки воспроизводимости в пределах лаборатории. Данные этого исследования суммированы в таблице 4.

Таблица 4. Результаты исследований.

Образец	n	Серия	Оператор	Среднее значение (пмоль/л)	%КВ в пределах анализа	Общий %КВ
1 A	80	1	1	17,8	7,5%	8,2%
			2	17,5	3,1%	9,3%
		2	1	20,1	6,0%	6,6%
			2	20,3	6,9%	9,2%
		3	1	19,1	5,5%	8,0%
			2	18,9	8,5%	11,0%
2 A	80	1	1	21,8	5,5%	9,9%
			2	21,8	3,9%	7,5%
		2	1	22,6	5,6%	8,7%
			2	23,5	9,0%	10,3%
		3	1	23,9	7,0%	10,2%
			2	23,2	5,8%	8,9%
3 A	80	1	1	28,8	3,8%	7,8%
			2	30,7	4,3%	9,6%
		2	1	31,0	6,8%	8,0%
			2	31,4	4,3%	6,1%

		3	1	31,5	4,5%	6,4%
			2	32,2	4,0%	9,2%
4 A	80	1	1	49,3	3,9%	7,4%
			2	52,6	4,1%	6,7%
		2	1	50,8	5,6%	10,0%
			2	51,7	4,7%	5,9%
		3	1	52,6	4,6%	4,8%
			2	55,0	5,5%	6,1%
5 A	80	1	1	68,4	4,0%	7,6%
			2	73,2	3,7%	7,5%
		2	1	74,8	4,3%	8,2%
			2	75,9	4,6%	6,4%
		3	1	75,1	4,4%	7,9%
			2	76,3	4,9%	6,2%
7 A	80	1	1	115,9	4,2%	5,9%
			2	121,1	3,6%	7,0%
		2	1	123,2	4,3%	10,2%
			2	124,0	4,2%	6,4%
		3	1	127,0	4,8%	10,1%
			2	129,5	3,2%	5,6%
Контрольный образец с низким содержанием аналита	80	1	1	23,7	9,4%	10,9%
			2	23,8	5,1%	11,5%
		2	1	20,0	6,0%	7,5%
			2	18,6	5,8%	8,5%
		3	1	20,3	8,3%	9,7%
			2	20,1	8,3%	10,0%
Контрольный образец с высоким содержанием аналита	80	1	1	61,2	6,3%	6,4%
			2	58,8	4,5%	8,9%
		2	1	50,3	6,3%	8,1%
			2	50,2	5,9%	8,4%
		3	1	52,2	7,7%	9,2%
			2	50,8	5,8%	8,5%

12.3. Линейность

Линейность была установлена в соответствии с руководством EP06-A Института клинических и лабораторных стандартов.

Установлена линейность анализа внутри диапазона от 5,3 до 156,0 пмоль/л.

12.4. Предел обнаружения и предел количественного определения

Предел для образца бланка (LoB) и предел обнаружения (LoD) для набора BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) были определены в соответствии с рекомендацией EP17-S CLSI. В репрезентативном исследовании определения предела бланк раствора выполнялись с использованием двух образцов голотранскобаламина с низкой концентрацией аналита и двух серий реагентов (по 120 повторов на каждую серию реагента). Предел бланк раствора иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) составил 4,9 пмоль/л (с округлением до 1 десятичного знака после запятой).

Предел обнаружения

В репрезентативном исследовании определения предела обнаружения выполнялись с использованием пяти образцов голотранскобаламина с низкой концентрацией аналита и двух серий реагентов (по 120 повторов на каждую серию реагента). Предел обнаружения LOD иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) составил 8,1 пмоль/л (с округлением до 1 десятичного знака после запятой).

Предел количественного определения

Предел количественного определения LOQ определяли в соответствии с рекомендацией EP17-S CLSI с использованием пяти образцов голотранскобаламина с низкой концентрацией аналита и двух серий реагентов (по 120 повторов на каждую серию реагента). Предел количественного определения иммуноферментного

анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) составил 8,3 пмоль/л (с округлением до 1 десятичного знака после запятой).

12.5. Хук-эффект

Хук-эффект — это явление, при котором образцы с очень высоким содержанием аналита могут считываться в динамическом диапазоне анализа. Для иммуноферментного анализа BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) хук-эффект при анализе двух образцов с концентрацией около 419 пмоль/л и 2236 пмоль/л не обнаружен.

12.6. Аналитическая специфичность

Иммуноферментный анализ BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) разработан таким образом, что максимальное отклонение концентрации голотрансцобаламина составляет $\leq 10\%$ в присутствии апотрансцобаламина или гаптокоррина.

Исследование было выполнено на основании рекомендаций Института клинических и лабораторных стандартов, изложенных в документе EP7-A212. К трем образцам с уровнями голотрансцобаламина из диапазона анализа добавлялись 500 пмоль/л апотрансцобаламина или 5000 пмоль/л гаптокоррина. Максимальное отклонение концентрации голотрансцобаламина составляло от -5% до 1% .

12.7. Интерференция

Иммуноферментный анализ BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) разработан таким образом, что максимальное отклонение концентрации голотрансцобаламина составляет $\leq 10\%$ в присутствии потенциально мешающих веществ.

Исследование было выполнено на основании рекомендаций Института клинических и лабораторных стандартов, изложенных в документе EP7-A2¹². К образцам с уровнями голотрансцобаламина из диапазона анализа добавлялись потенциально мешающие вещества, приведенные в таблице 5. Максимальное отклонение концентрации голотрансцобаламина составляло от -10% до 8% .

Таблица 5. Список протестированных потенциально мешающих веществ

Потенциально мешающее вещество	Интерференция не обнаружена до указанной концентрации
Гемоглобин	500 мг/дл
Билирубин	30 мг/дл
Триглицериды (интралипидный раствор)	3000 мг/дл
Ревматоидный фактор	7500 МЕ/дл
Общий белок	9000 мг/дл

Следует избегать работы с визуально гемолизированными, липемическими или мутными образцами.

13. ГАРАНТИЯ

Изготовитель обязуется исправить все дефекты, обнаруженные в любом Продукте («Дефектный продукт»), причинами которых являются использование ненадлежащих материалов или нарушение технологии производства и которые препятствуют механическому функционированию или применению по назначению Продуктов, включая функции, указанные в спецификациях Изготовителя на Продукты, но не ограничиваясь ими. ЛЮБЫЕ ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА СЧИТАЮТСЯ НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫМИ, ЕСЛИ ДЕФЕКТЫ ЯВЛЯЮТСЯ СЛЕДСТВИЕМ НЕПРАВИЛЬНОГО ОБРАЩЕНИЯ, ИСПОЛЬЗОВАНИЯ, СЛУЧАЙНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ, НЕПРАВИЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ В СЛУЧАЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗДЕЛИЯ НЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ И НЕ В СООТВЕТСТВИИ С УСТАНОВЛЕННЫМИ ПОКАЗАНИЯМИ К ПРИМЕНЕНИЮ.

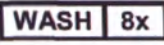
14. ДАТА ИЗДАНИЯ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

BIONIT Active B12 (Holotranscobalamin) Версия 1.1 RUS 10.2019

15. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nexø E, Hvas A-M, Bleie Ø *et al.* Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2002;48(10):1768-71.
2. Valente E, Scott JM, Ueland PM *et al.* Diagnostic accuracy of holotranscobalamin, methylmalonic acid, serum cobalamin, and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. *Clin Chem* 2011;57(6):856-863.
3. Nexø E, Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):359S-365S.
4. Obeid R, Jouma M, Hermann W. Cobalamin status (holotranscobalamin, methylmalonic acid) and folate as determinants of homocysteine concentration. *Clin Chem* 2002;48(11):2064-5.
5. Herrmann W, Schorr H, Obeid R *et al.* Vitamin B12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003;78:131-6.
6. Lloyd-Wright Z, Hvas A-M, Møller J *et al.* Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2003;49(12):2076-8.
7. Refsum H, Yajnik CS, Gadkari M *et al.* Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001;74:233-41.
8. Refsum H, Smith AD. Low Vitamin B12 status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:959-61.
9. Chen X, Remacha AF, Sarda MP *et al.* Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2005;81:110-14.
10. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A. Wayne, PA: NCCLS; 2003.
11. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS; 2002.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Interference Testing in Clinical Symbols*.

16. МАРКИРОВКА

Символ	Описание
	Изготовитель
	Номер серии
	Температура хранения: от ... до ...°C
	Срок годности изделия: год, месяц включительно
	Дата изготовления
	Каталожный номер
	Медицинское изделие для <i>in vitro</i> диагностики
	Обратитесь к инструкции по применению
	Количество тестов <i>in vitro</i> которые могут быть выполнены с использованием содержимого: 96
	Концентрированный промывочный буфер (8 x)

BLANK	Бланк раствор
PRE	Раствор для предварительной обработки
	Повторное использование запрещено
CAL 1-5	Калибратор и его порядковый номер
CONTROL LOW	Контроль низкий
CONTROL HIGH	Контроль высокий
CONJ	Раствор конъюгата
SUBS	Раствор субстрата
STOP	Останавливающий раствор
	Беречь от воздействия света
CE	Маркировка CE
	Хрупкое. Осторожно
	Верх
	Беречь от влаги
	Внимание!
	Опасное вещество
	Вызывает коррозию
WARNING	Предупреждение
CONTAINS: AZIDE	Содержит: азид

Маркировка потребительской упаковки дополнительно содержит:

- штрих-код;
- указание «Содержит: азид» («CONTAINS: AZIDE»);
- указание «Опасность» («DANGER»);
- указание кодов стандартных фраз опасностей, соответствующих компонентам набора.

17. СВЕДЕНИЯ О РАЗРАБОТЧИКЕ И ПРОИЗВОДИТЕЛЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Биохит Ой (Biohit Oyj)

Лайппатие 1, 00880, Хельсинки, Финляндия (Laippatie 1, 00880, Helsinki, Finland)

Тел.: +358 9 773 861, e-mail: info@biohit.fi

18. КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам качества медицинского изделия, а также в случае наступления нежелательных/неблагоприятных событий связанных с применением медицинского изделия необходимо обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории РФ:

Общество с ограниченной ответственностью «МЕЛОН» (ООО «МЕЛОН»)

199155, г. Санкт-Петербург, Морская наб, дом 37, корпус 2, литер А, помещение 12-Н, №7

Тел. +7 (812) 602-17-76, e-mail: info@melonbio.ru

19. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

Использованные стрипы, образцы крови, сыворотки и другие компоненты набора и материалы, с которыми имелся контакт биологических жидкостей, должны быть обработаны и утилизированы так же, как если бы они были потенциально инфицированы – как медицинские отходы класса Б.

Оставшиеся после использования набора пустые флаконы, рамка микропланшета, сертификат контроля качества и инструкция по применению утилизируются как отходы класса А.

Неиспользованные стрипы и рамка (микропланшет), раствор конъюгата, бланк раствор, калибраторы, контроли и раствор для предварительной обработки, а также коробка, многослойный фольгированный пакет, сертификат контроля качества и инструкция по применению утилизируются как отходы класса А.

Неиспользованный концентрированный промывочный буфер (8х), раствор субстрата и останавливающий раствор утилизируется как отходы класса Г.

20. АНАЛИЗ РИСКОВ

Риски, связанные с изделием, устранены и/или снижены в соответствии с требованиями ISO 14971.

Печать:

Биохит Ой (Biohit Oyj) Лайппатие 1, 00880, Хельсинки, Финляндия (Laippatie 1, 00880 Helsinki, Finland)

Семи Корпела

Президент и исполнительный директор

Осмо Суованиemi

Председатель правления

/Подпись/

/Подпись/

Штамп:

Настоящим я утверждаю, что, в соответствии с Торговым Реестром Финляндии,

Семи Корпела и Осмо Суованиemi

вместе уполномочены действовать от имени компании

Biohit Oyj (Биохит Ой),

и имеют право подписывать данный документ лично.

Хельсинки, Финляндия

В силу занимаемой должности:

21-08-2020

Уплачено согласно тарифу 26 евро.

Штамп:

ТАНЯ ТАМС (TANJA TAMMS)

Регистратор, нотариус

/Подпись/

Печать:

«Зе Диджитал энд Попьюлейшн Дейта Сервисез Эйдженси» * Государственный герб Финляндии

Я, дипломированный переводчик **Смирнова Галина Сергеевна**, владеющая русским, английским и финским языками, подтверждаю, что выполненный мною перевод приложенного документа с английского и финского языков на русский язык является правильным, точным и полным.

Смирнова Галина Сергеевна

САНКТ-

**Нотариус, свидетельствуя подлинность подписи переводчика,
не подтверждает верность перевода и подлинность документа.**

Российская Федерация. Санкт-Петербург.

Четвертого сентября две тысячи двадцатого года.

Я, **Труфанова Марина Михайловна**, временно исполняющая обязанности нотариуса
нотариального округа Санкт-Петербург Карпуниной Ольги Васильевны, свидетельствую
подлинность подписи переводчика **Смирновой Галины Сергеевны**.

Подпись сделана в моём присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре за № 78/303-н/78-2020- *13-740*

Взыскано по тарифу: 100 рублей.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 400
рублей.



М.М. Труфанова



Итого в настоящем документе

9 (девять) листов.

ВРИО нотариуса: