



Интифика - наборы для молекулярных исследований



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Медицинского изделия
Набор реагентов для качественного определения РНК
коронавируса *SARS-CoV-2* в клинических образцах методом ОТ-ПЦР
«Интифика *SARS-CoV-2-monoMag*», серия E002

**Интифика *SARS-CoV-2-monoMag*,
серия E002**

Форма 1

кат. № 469-01

**Интифика *SARS-CoV-2-monoMag*,
серия E002**

Форма 2

кат. № 469-02

1. НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1. Набор «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 предназначен для качественного определения РНК коронавируса *SARS-CoV-2* методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени в препаратах нуклеиновых кислот (НК), полученных из клинических образцов мазков из носоглотки и/или ротоглотки.

1.2. Функциональное назначение набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 – диагностика коронавирусной инфекции.

Показания к применению. Набор реагентов «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 может быть использован в клинической лабораторной диагностике для выявления РНК коронавируса *SARS-CoV-2* – возбудителя новой коронавирусной инфекции COVID-19, потенциально вызывающей острый респираторный синдром. Определение коронавируса *SARS-CoV-2* показано для лиц, контактировавших с заболевшими COVID-19, а также лиц с клиническими проявлениями ОРВИ с подозрением на инфекцию COVID-19 и лиц без симптомов ОРВИ в очагах инфекции с целью раннего выявления *SARS-CoV-2* для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

1.3. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

1.4. Набор «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 предназначен только для диагностики *in vitro*, для профессионального применения персоналом, имеющим квалификацию для выполнения диагностических исследований *in vitro* в результате специального образования и обучения. Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным образованием (врач КДЛ, врач-бактериолог, биолог, медицинский лабораторный техник, медицинский технолог). Персонал, проводящий исследования с использованием данного МИ, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на соответствующем оборудовании.

1.5. Набор «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 предназначен для диагностики *in vitro* сотрудниками клиничко-диагностических лабораторий.

1.6. Набор «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 предназначен для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.7. Набор «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 предназначен для однократного применения.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип действия

Комплект реагентов для ОТ-ПЦР Принцип действия основан на методе полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, для выявления специфического участка мишени РНК-генома коронавируса *SARS-CoV-2*.

Сначала выделенная РНК обратно транскрибируется в кодирующую ДНК (кДНК). В дальнейшем, в процессе амплификации специфических фрагментов кДНК, происходит расщепление специфических зондов и накопление флуоресценции, которое детектируется оптической системой амплификатора на соответствующих каналах считывания сигналов в режиме реального времени. После завершения реакции, на основании полученных данных, происходит оценка графиков накопления флуоресценции и расчет значений C_q , соответствующих характеристическим точкам графика.

РНК-мишень, выбранная для внутреннего контроля (ВК), является участком генома человека и всегда присутствует в образце в количестве, эквивалентном количеству клеток в мазке. Таким образом, эндогенный внутренний контроль позволяет не только контролировать этапы ПЦР-исследования (экстракцию РНК, проведение ревертирования и амплификации), но и оценивать адекватность взятия материала и его хранения. В случаях, если мазок взят неправильно (недостаточное количество эпителиальных клеток), сигнал амплификации ВК будет заниженным.

Комплект реагентов для выделения РНК

Принцип действия основан на методе сорбции на магнитных частицах экстрагированной из клинических образцов РНК (ручным или автоматизированным способами)¹.

На первой стадии, при термической обработке, происходит разрушение мембран клеток и органелл, выход свободных нуклеиновых кислот (НК) в раствор и их связывание с частицами магнитного сорбента, в то время как другие компоненты клинического материала остаются в растворе и затем удаляются.

На второй стадии, магнитный сорбент отмывают от остатков реагентов, использованных на предыдущем этапе, и от других примесей, после чего сорбент просушивают.

На заключительной стадии НК элюируют с поверхности высушенного сорбента в раствор. Элюат, содержащий высокоочищенную РНК, используют для ПЦР-исследования.

¹Рекомендована система автоматизированного выделения белков и нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» (ФСЗ 2009/05562 от 13.02.2019)

2.2. Состав и комплектация

Набор «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 выпускается в двух вариантах исполнения: вариант исполнения Форма 1 состоит из одного Комплекта реагентов для ОТ-ПЦР; вариант исполнения Форма 2 состоит из одного Комплекта реагентов для ОТ-ПЦР и одного Комплекта реагентов для выделения РНК.

В состав набора входят следующие компоненты (Таблица 1):

Таблица 1

Кат. №	Вариант исполнения	Состав	Фасовка
469-01	Форма 1	<u>Комплект реагентов для ОТ-ПЦР:</u> 1. Mono-SC2 2. Ферменты (Taq+RT) 3. ПКО – положительный контрольный образец 4. Вода без нуклеаз	1 шт. 1 пробирка (1020 мкл) или 100 отдельных микропробирок (по 10 мкл) 1 пробирка (510 мкл) 1 пробирка (лиофилизат) 1 пробирка (250 мкл)
469-02	Форма 2	<u>Комплект реагентов для ОТ-ПЦР:</u> 1. Mono-SC2 2. Ферменты (Taq+RT) 3. ПКО – положительный контрольный образец 4. Вода без нуклеаз <u>Комплект реагентов для выделения РНК</u> 1. Лизирующий буфер 2. Раствор для отмывки 3. Элюирующий буфер 4. Магнитный сорбент 5. ОКО – отрицательный контрольный образец	1 шт. 1 пробирка (1020 мкл) или 100 отдельных микропробирок (по 10 мкл) 1 пробирка (510 мкл) 1 пробирка (лиофилизат) 1 пробирка (250 мкл) 1 шт. 2 флакона (по 40 мл) 2 флакона (по 50 мл) 1 флакон (10 мл) 2 пробирки (по 1,1 мл) 1 пробирка (1,5 мл)

Набор рассчитан на проведение анализа 100 образцов, включая контрольные реакции².

Все реагенты (за исключением ПКО) в составе набора готовы к применению.

Лиофилизированный ПКО перед первым использованием необходимо восстановить. (см. п. 7.5.2). Вода без нуклеаз для восстановления лиофилизированного ПКО входит в состав набора.

² Контрольные реакции (положительный контроль К+ и отрицательный контроль К-) должны быть включены в каждое ПЦР-исследование

• Положительный контроль К⁺ – реакция с ПКО, позволяет оценить прохождение этапов ревертирования и ПЦР. ПКО входит в состав набора и содержит синтезированную выявляемую последовательность РНК вируса³.

• Отрицательный контроль К⁻ – реакция с ОКО после экстракции НК позволяет оценить присутствие контаминации в ПЦР-исследовании и исключить ложноположительные результаты. ОКО входит в состав набора и не содержит специфической НК.

Контрольные реакции должны быть включены в каждое ПЦР-исследование.

Внутренний контроль.

В состав реакционной смеси входят олигонуклеотиды для одновременной амплификации участка матричной РНК (мРНК) одного из генов «домашнего хозяйства» человека, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля (ВК).

Применение эндогенного контроля амплификации стабильно экспрессируемого гена мРНК человека позволяет оценить влияние следующих факторов на достоверность результата для каждого исследуемого образца:

- правильность сбора биоматериала;
- возможная деградация РНК в биоматериале;
- потери РНК при выделении;
- эффективность прохождения реакции обратной транскрипции и амплификации.

Матричная РНК, выбранная в качестве мишени для внутреннего контроля реакций, всегда присутствует в образце в количестве, эквивалентном количеству клеток в мазке. Таким образом, эндогенный внутренний контроль позволяет оценить правильность взятия биоматериала и его хранения. Недостаточное количество эпителиальных клеток в мазке приводит к поздним значениям С_q по каналу FAM. В случае нарушения правил забора биоматериала в образце может оказаться недостаточное количество РНК человека, и, как следствие, заниженный флуоресцентный сигнал по каналу FAM или его отсутствие. Аналогично, занижение или отсутствие флуоресцентного сигнала по каналу FAM может наблюдаться в случае высокой вирусной нагрузки в образце.

³ Производится с использованием геномных РНК SARS-CoV-2 (контрольные образцы 1-го порядка), встроенных в плазмиду PUC19. Последовательность ПКО специфична мишени гена ORF1ab SARS-CoV-2. Для КО1 подтверждена видовая принадлежность методом секвенирования и проведена оценка концентрации методом цифровой капельной ПЦР.

Во вкладыше к набору указаны пороговые значения Cq^4 для пробы РНК и контрольных реакций: $CqSC2$, $CqПК$ и $CqВК^5$, что позволяет оценить достоверность результатов ПЦР-исследования. Пороговые значения пороговых циклов: для $CqSC2 \leq 45$, для $CqПК$ и $CqВК \leq 35$. Точные значения определяют в ходе аттестации серии набора и указывают во вкладыше к набору для валидированных амплификаторов⁶.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность при выделении РНК из мазков из носоглотки и/или ротоглотки составляет 500 ГЭ⁷/мл *SARS-CoV-2* в образце⁸.

3.2. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 - это способность верно определять имеющуюся в исследуемом образце последовательность РНК микроорганизма⁹ и отсутствие неспецифических реакций с РНК других микроорганизмов и человека.

Набор обеспечивает отсутствие неспецифических реакций при тестировании образцов НК человека, а также следующих микроорганизмов: *MERS-coronavirus*, *Adenovirus* (e.g. *C1 Ad. 71*), *Human Metapneumovirus (hMPV)*, *Parainfluenza virus 1-4*, *Influenza A & B*, *Respiratory syncytial virus*, *Rhinovirus*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*.

Способность набора специфически определять РНК *SARS-CoV-2* в присутствии РНК нижеперечисленных микроорганизмов достигнута путем подбора праймеров и зонда к высококонсервативному фрагменту РНК *SARS-CoV-2*, что исключает перекрестные реакции с близкородственными микроорганизмами и другими инфекционными возбудителями.

⁴ Cq - общее обозначение цикла амплификации, соответствующего характеристической точке графика флуоресценции (соответствует Ct , Cp)

⁵Пороговые значения Cq при амплификации фрагмента генома вируса SARS-CoV-2, а также ПКО и эндогенного ВК, соответственно

⁶Программируемые амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени: CFX96 (ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016), ДТпрайм (ФСР 2011/10229 от 03.03.2011), Rotor-Gene Q (ФСЗ 2010/07595 от 10.08.2010)

⁷ГЭ – суммарное количество генетического материала в 1 клетке

⁸Значение определено при использовании Комплекта реагентов для выделения РНК, входящего в состав набора «Интифика-SARS-CoV-2-monoMag» (объем элюции 100 мкл), а также наборов для экстракции НК, рекомендуемых ООО «Компания Алкор Био»

⁹Мишень – фрагмент субгеномной РНК, специфичной для коронавируса *SARS-CoV-2*: *ORF1ab*

Аналитическая специфичность набора подтверждена:

- методом выравнивания последовательностей целевых специфических участков с геномами человека, домашних животных, а также близкородственных и других возбудителей респираторных инфекций, составляющих микрофлору ротовой полости, носоглотки и нижних дыхательных путей человека.
- с использованием Контрольного отрицательного образца специфичности *SARS-CoV-2* (KOC SC2), созданного на основе НК вышеперечисленных микроорганизмов в концентрации 10^8 ГЭ/мл (производитель ООО «Компания Алкор Био»).
- при исследовании 83 образцов, полученных от пациентов с подтвержденным наличием вышеперечисленных инфекций.

3.3. Диагностические характеристики

В ходе клинических испытаний Набор реагентов для выявления РНК коронавируса *SARS-CoV-2* методом ОТ-ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Интифика-SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 было проведено исследование 162 образцов клинического материала, включая:

54– мазки из ротоглотки (р/г)

56 – мазки из носоглотки (н/г)

52– объединенные мазки из носоглотки и ротоглотки (н/г+р/г)

Показатели диагностических характеристик соответствуют значениям, приведенным в таблице 2.

Таблица 2

Клинический материал	Исследуемая НК	Результаты испытаний	
		Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
Мазки из ротоглотки и носоглотки	РНК <i>SARS-CoV-2</i>	96,2 – 100 %	96,4– 100 %

3.4. Прецизионность измерения

Воспроизводимость результатов исследования с использованием набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 подтверждена на заявленных амплификаторах, на разных наборах в разных вариантах фасовки Mono-SC2 (внутрисерийная, внутривыпускная воспроизводимость). Коэффициент вариации значений C_v для одного и того же образца не превышает 8 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – 3 (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.). Коронавирус *SARS-CoV-2* относится ко II группе патогенности.

4.2. Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК коронавируса *SARS-CoV-2* обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

4.3. Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СП 1.3.3118-13.

4.4. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением требований СП 1.3.2322-08 и МУ 1.3.2569-09.

4.5. При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007.

4.6. Все работы должны выполняться только с использованием одноразовых наконечников с аэрозольным барьером для полуавтоматических пипеток. Для каждого образца РНК (в том числе контролей) использовать отдельный наконечник.

4.7. Каждый этап анализа должен проводиться в отдельных рабочих зонах. Выделение РНК следует проводить в боксах биологической безопасности II-III класса с включенным ламинарным потоком.

4.8. Постановку ПЦР с использованием набора реагентов следует проводить в ПЦР-боксе. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда и др., а также рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

4.9. При работе с ПКО следует соблюдать особую осторожность, так как его разбрызгивание может привести к контаминации и, как следствие, к ложноположительным результатам.

4.10. При удалении отходов не допускать открывания пробирок с продуктами ПЦР и их разбрызгивания, так как это может привести к загрязнению рабочих поверхностей и оборудования.

4.11. Перед началом работы необходимо ознакомление с пользовательскими инструкциями на все используемое оборудование и комплекты реагентов. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

4.12. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных требованиями СП 1.3.2322-08.

4.13. Набор реагентов с истекшим сроком годности, нарушением условий транспортирования и хранения, при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору, при нарушении внутренней упаковки компонентов набора применению не подлежит

4.14. Наборы, в которых обнаружена контаминация реагентов, должны быть утилизированы как биологический материал.

4.15. Все использованные одноразовые материалы, остатки образцов биоматериала, образующиеся в клиничко-диагностических лабораториях, относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы) и должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 287-113.

4.16. Все компоненты набора, в используемых концентрациях, являются нетоксичными. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности безопасны.

4.17. ВНИМАНИЕ! В состав ПЦР-смеси-SC2, Ферментов и ОКО входит азид натрия в концентрации не более 0,05 %. При попадании компонентов с ним на кожу: смыть большим количеством воды с мылом. При попадании в глаза: промыть глаза водой. При попадании в желудок: прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.

4.18. ВНИМАНИЕ! Лизирующий буфер содержит хаотропные агенты в высоких концентрациях. При работе с набором необходимо использовать одноразовые перчатки.

4.19. ВНИМАНИЕ! При работе с легковоспламеняющимися жидкостями (Раствор для отмывки и Лизирующий буфер) необходимо соблюдать правила пожарной безопасности.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ПЦР-бокс;
- ламинарный бокс (класс биологической безопасности II тип А) или вытяжной шкаф;
- система автоматизированного выделения белков и нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» (производитель Thermo Fisher Scientific, ФСЗ 2009/05562 от 13.02.2019);
- штативы для пробирок объемом 1,5 и 2 мл;
- штативы для микропробирок объемом 0,1-0,2 мл;
- термостат твердотельный для пробирок;
- программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени;
- магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2 мл;
- мини-центрифуга с модулем вортекса со скоростью вращения 2400 об/мин;

- микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» со скоростью вращения до 13000 об/мин;
- вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками (сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз) с изменяемым объемом отбора жидкостей: 0,5 - 10 мкл, 2 - 20 мкл и 20 - 200 мкл, 100 - 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования, погрешность не более 3 %;
- одноразовые микропробирки 0,1-0,2 мл;
- холодильник;
- морозильная камера;
- дезинфицирующий раствор;
- контейнер для дезинфекции;
- отдельные халат, шапочка, обувь и одноразовые разрешенные к применению на территории РФ (или соответствующие ГОСТ Р 52239-2004).

6. ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

6.1. Материалом для исследования являются препараты нуклеиновых кислот, полученные из клинических образцов мазков из носоглотки и/или ротоглотки.

6.2. Взятие, транспортирование и хранение исследуемого биоматериала необходимо осуществлять согласно МУ 1.3.2569-09, СП 1.2.036-95 и Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)».

На сопровождающем формуляре необходимо указать наименование подозреваемой острой респираторной инфекции, предварительно уведомив лабораторию о том, какой образец транспортируется. Транспортирование осуществляется в специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом при температуре +2...+8 °С.

6.3. Взятие биоматериала

Мазки из ротоглотки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки, аккуратно прижимая язык пациента шпателем. После забора материала рабочую часть зонда с тампоном помещают в пробирку с транспортной средой, отломив зонд в области насечки (если имеется) и оставляют его в пробирке. В случае отсутствия насечки, рабочую часть зонда погружают в транспортную среду, и прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращают зонд 5-10 секунд, после чего зонд

удаляют, предварительно отжав избыток жидкости о стенки пробирки, а пробирку плотно закрывают.

ВНИМАНИЕ! Нельзя использовать зонды на деревянной основе.

ВНИМАНИЕ! Нельзя касаться зондом языка!

Мазки из носоглотки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами вращательными движениями по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, и удаляют вдоль наружной стенки полости носа, производя вращательные движения. После забора материала рабочую часть зонда с тампоном помещают в пробирку с транспортной средой, отломив зонд в области насечки (если имеется) и оставляют его в пробирке. В случае отсутствия насечки, рабочую часть зонда погружают в транспортную среду, и прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращают зонд 5-10 секунд, после чего зонд удаляют, предварительно отжав избыток жидкости о стенки пробирки, а пробирку плотно закрывают.

Примечание: Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой рекомендуется провести высмаркивание.

ВНИМАНИЕ! При помещении зонда в пробирку нельзя обрезать его рабочую часть ножницами.

ВНИМАНИЕ! Рекомендуется совмещать мазки из полости носа и ротоглотки в одной пробирке. Для этого рабочие концы зондов после забора мазков у пациента помещают в одну пробирку с транспортной средой и исследуют как один образец.

6.4. Транспортирование и хранение и образцов необходимо осуществлять с применением транспортной среды, рекомендованной ООО «Компания Алкор Био», и в соответствии с инструкцией к набору, используемому для выделения РНК¹⁰:

¹⁰ В случае использования для экстракции РНК наборов других производителей, по вопросам их валидации совместно с наборами серии Интифика следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био»

Таблица 3

Транспортная среда	Набор для выделения РНК
«Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф» (РЗН 2020/9640 от 14.02.2020), Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФСР 2009/05011 от 09.04.2019); Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор)» (РЗН 2017/6004 от 24.07.2017)	Комплект реагентов для выделения РНК набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 в варианте исполнения «Форма 2»
«Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф» (РЗН 2020/9640 от 14.02.2020)	Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС (ФСР 2010/08867 от 13.10.2016)
Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФСР 2009/05011 от 09.04.2019)	Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФСР 2008/03147 от 22.02.2019)
Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор)» (РЗН 2017/6004 от 24.07.2017)	Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов РеалБест Сорбитус (варианты 4x24, 1x96) (РЗН 2020/11364 от 22.09.2020)

6.5. Клинические образцы, помещенные в транспортную среду, в плотно закрытой пробирке можно транспортировать и хранить при температуре +2...+8 °С до 5 суток; для более длительного хранения (до 1 года) желательно аликвотировать образцы порциями по 0,1-0,2 мл в отдельные пластиковые пробирки объемом 1,5 мл и хранить при температуре -22...-18 °С и ниже. При анализе на наличие инфекционной РНК допустимо однократное замораживание образца, повторное замораживание образца не допускается.

6.6. Интерферирующие вещества и ограничения, связанные с пробой.

Наличие интерферирующих веществ в образцах биологического материала (кровь, слизь, элементы тканевого распада и воспаления, местные лекарственные препараты) может быть причиной ингибирования ПЦР и получения сомнительных результатов.

Оценка влияния интерферирующих веществ на эффективность ПЦР с использованием набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 показала отсутствие негативного эффекта при наличии в клинических образцах цельной крови – 5 % об., слизи (муцина) – 5 % об., 0,1 % раствора ксилонитазолина (в максимальной концентрации 0,002 % в образце), 0,01 % раствора мирамистина (в максимальной концентрации 0,0002 % в образце) при экстракции РНК с помощью комплекта, входящего в состав медицинского изделия, обеспечивающего получение высокоочищенной РНК. В случае использования других зарегистрированных на

территории РФ наборов для экстракции РНК, рекомендованных ООО «Компания Алкор Био» для соответствующего вида биоматериала, интерференции со стороны обычных эндогенных веществ также не ожидается.

7. ПОРЯДОК РАБОТЫ

Для экстракции РНК из клинических образцов необходимо использовать комплект реагентов, входящий в состав набора, или наборы реагентов, рекомендованные ООО «Компания Алкор Био» (см. Таблицу 3) и следовать при этом инструкции производителя.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий буфер, входящий в состав Комплекта реагентов для выделения РНК, Формы 2 набора гарантирует полное обеззараживание материала. Разбор образцов и этап лизиса следует осуществлять в зоне подготовки и обеззараживания материала согласно СП 1.3.3118-13.

ВНИМАНИЕ! Каждая процедура выделения НК должна содержать как минимум один К- (ОКО, прошедший этап экстракции).

7.1. Подготовка Комплекта реагентов для выделения РНК (Форма 2)

Извлечь Комплект реагентов для выделения РНК Формы 2 набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 из холодильника (+2... +8 °С), выдержать все компоненты при комнатной температуре, +18... +25 °С (далее КТ) в течение 15 минут.

Лизирующий буфер прогреть при +65 °С в течение 15 минут. Если во флаконе с Лизирующим буфером наблюдается осадок, то необходимо прогреть и тщательно перемешать раствор до полного растворения осадка.

Магнитный сорбент перед внесением в пробирки (или планшеты) необходимо тщательно ресуспендировать до образования гомогенной суспензии, все остальные компоненты готовы к использованию.

7.2. Экстракция РНК с использованием магнитного штатива

7.2.1. Взять необходимое количество (по количеству исследуемых образцов, включая ОКО) чистых пробирок объемом 1,5-2 мл, промаркировать их и расположить в штативе.

7.2.2. Подготовить пробирки с клиническими образцами. Перед проведением процедуры выделения РНК клинические образцы перемешать на вортексе, сбросить капли со стенок пробирки и внутренней части крышки коротким центрифугированием.

7.2.3. В подготовленные чистые пробирки внести по 800 мкл *Лизирующего буфера* и по 20 мкл *Магнитного сорбента*.

Примечание: *Лизирующий буфер следует набирать методом обратного пипетирования, чтобы избежать образования пузырей.*

7.2.4. Далее внести по 200 мкл соответствующих клинических образцов, используя для каждого образца отдельный наконечник с аэрозольным барьером. В

пробирку, маркированную «ОКО», внести 100 мкл *Отрицательного контрольного образца*. Пробирки плотно закрыть. Перемешать на вортексе 3-5 секунд.

Примечание: В качестве отрицательного контрольного образца допускается использовать Воду без нуклеаз.

7.2.5. Инкубировать образцы при +65 °С в течение 10 минут в твердотельном термостате. В процессе инкубации необходимо тщательно перемешивать содержимое пробирок на вортексе через каждые 3 минуты. Если у термостата предусмотрена функция шейкирования, вортексирование не требуется, достаточно выставить скорость вращения 1000 об/мин. По окончании инкубации достать пробирки из термостата, сбросить капли со стенок пробирок коротким центрифугированием

ВНИМАНИЕ! Пробирки должны быть плотно закрыты во избежание их открывания в процессе прогрева.

7.2.6. Поместить пробирки в магнитный штатив на 3 минуты.

ВНИМАНИЕ! Магнитный сорбент должен полностью осесть на стенку пробирки.

С помощью медицинского отсасывателя по внутренней стенке пробирки, противоположной от осадка, осторожно отобрать супернатант, используя для пипеток одноразовые наконечники без аэрозольного барьера.

ВНИМАНИЕ! Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

7.2.7. Перенести пробирки в обычный штатив и добавить в каждую по 900 мкл Раствора для отмывки, стараясь смыть осадок со стенки пробирки. Пробирки плотно закрыть.

7.2.8. Перемешать Магнитный сорбент в пробирках на вортексе до полного ресуспендирования, затем осадить капли коротким центрифугированием.

7.2.9. Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 минуты.

ВНИМАНИЕ! Магнитный сорбент должен полностью осесть на стенку пробирки.

С помощью медицинского отсасывателя по внутренней стенке пробирки, противоположной от осадка, осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя для пипеток одноразовые наконечники без аэрозольного барьера.

ВНИМАНИЕ! Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

7.2.10. Высушить Магнитный сорбент, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе в течение 2-4 минут.

ВНИМАНИЕ! Раствор для отмывки содержит вещества, которые могут ингибировать ПЦР. Если после подсушивания сорбент влажный, необходимо увеличить время сушки на 2-3 минуты.

ВНИМАНИЕ! Не допускать пересушивания магнитного сорбента. Пересушивание сорбента влияет на эффективность выделения РНК.

7.2.11. Перенести пробирки в обычный штатив и добавить в каждую по 100 мкл *Элюирующего буфера*. Пробирки плотно закрыть, перемешать на вортексе до полного ресуспендирования *Магнитного сорбента* и поместить в твердотельный термостат с температурой +65 °С на 5 минут. В процессе инкубации необходимо тщательно перемешивать содержимое пробирок на вортексе через каждые 2 минуты в течение 5-7 секунд. Если у термостата предусмотрена функция шейкирования, вортексирование не требуется, достаточно выставить скорость вращения 1000 об/мин.

ВНИМАНИЕ! Пробирки должны быть плотно закрыты во избежание их открывания в процессе прогрева.

7.2.12. После прогрева коротким центрифугированием осадить капли и поместить пробирки в магнитный штатив на 2 минуты.

ВНИМАНИЕ! Магнитный сорбент должен полностью осесть на стенку пробирки.

Отобрать надосадочную жидкость, не захватывая *Магнитный сорбент*, и перенести в чистые пробирки. Пробы готовы к использованию, надосадочная жидкость содержит очищенную РНК.

ВНИМАНИЕ! Раствор высокоочищенной РНК, полученный в процессе экстракции, необходимо использовать для постановки ОТ-ПЦР в течение 20-30 минут.

Примечание: Пробы РНК можно хранить в течение 4 часов при температуре +2...+8 °С, в течение 2-х недель при температуре -22...-18 °С и в течение года при температуре не выше -68 °С.

ВНИМАНИЕ! Перед повторным использованием пробы необходимо тщательно перемешать на вортексе и повторить центрифугирование в течение 1 минуты при 13000 об/мин.

7.3. Экстракция РНК с использованием автоматической станции

7.3.1. Взять необходимое для работы количество планшетов и насадок на магнитные стержни для автоматической станции (подсчет образцов проводить с учетом дополнительного образца - ОКО) и промаркировать их.

7.3.2. Внести в соответствующие лунки планшета реагенты согласно Таблице 4:
Таблица 4

Этап	Лизис		Отмывка	Элюция
Компонент набора	<i>Лизирующий буфер</i>	<i>Магнитный сорбент</i>	<i>Раствор для отмывки</i>	<i>Элюирующий буфер</i>
Объем, мкл	800	20	900	100

7.3.3. Подготовить пробирки с клиническими образцами. Перед проведением процедуры выделения РНК клинические образцы перемешать на вортексе, сбросить капли со стенок пробирки и внутренней части крышки коротким центрифугированием.

7.3.4. В лунки с *Лизирующим буфером* и *Магнитным сорбентом* внести по 200 мкл соответствующих клинических образцов, используя для каждого образца отдельный наконечник с аэрозольным барьером. В лунку, маркированную «ОКО», внести 100 мкл Отрицательного контрольного образца.

7.3.5. Запрограммировать станцию согласно инструкции по применению прибора, при этом необходимо использовать протокол, полученный в ООО «Компания Алкор Био» и провести экстракцию РНК из образцов.

7.4. Устранение проблем

В процессе пробоподготовки могут возникать проблемы, в той или иной степени влияющие на результат анализа.

7.4.1. Низкий выход РНК

- Использован избыточный объем образца. Не следует использовать объемы больше указанных в протоколе. Магнитный сорбент имеет ограниченную емкость. В случае, если полученное количество РНК значительно меньше ожидаемого, нужно разбавить пробу в 2-10 раз для снижения расхода образца.

- Ненадлежащие условия хранения образца. Необходимо хранить образцы в соответствии с инструкцией. Всегда использовать свежие образцы.

- Исходный материал не был полностью лизирован. При визуальном обнаружении осадка необходимо тщательно прогреть *Лизирующий буфер* перед использованием.

- Осадок НК не растворился. Следует избегать пересушивания осадка.

7.4.2. ПЦР идет с низкой эффективностью

- Очищенная РНК содержит остатки раствора для отмывки. Необходимо максимально удалять *Раствор для отмывки* и проводить высушивание осадка в соответствии с протоколом.

7.4.3. РНК разрушена

- Образец РНК был подвергнут неоднократному замораживанию. Необходимо использовать свежий образец для выделения РНК, либо замороженный однократно.

- Ненадлежащие условия хранения РНК. Необходимо хранить образцы РНК в соответствии с инструкцией.

7.5. Подготовка Комплекта реагентов для ОТ-ПЦР (Форма 1, Форма 2)

Ревертирование и амплификация проводятся в одной пробирке.

7.5.1. Извлечь Комплект реагентов для ОТ-ПЦР набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 из морозильной камеры (-30... -18 °C), выдержать все

компоненты при КТ в течение 20 минут, тщательно перемешать на вортексе в течение 5 секунд, сбросить капли коротким центрифугированием.

7.5.2. Восстановить ПКО: Содержимое пробирки с ПКО позиционировать на дно коротким центрифугированием. добавить в пробирку с ПКО 150 мкл Воды без нуклеаз, тщательно перемешать на вортексе в течение 5 секунд, сбросить капли коротким центрифугированием. После использования ПКО поместить на хранение при -30...-18 °С в течение не более 3 месяцев или утилизировать.

Примечание: В случае повторного использования восстановленного ПКО следует извлечь пробирку из морозильной камеры, выдержать ее при КТ в течение 20 минут, тщательно перемешать на вортексе в течение 5 секунд, сбросить капли коротким центрифугированием.

Примечание: При наличии пузырей убрать их постукиванием по стенке пробирки.

7.6. Подготовка к ОТ-ПЦР

7.6.1. Для Mono-SC2, расфасованной в одну пробирку в объеме 1020 мкл, следует:

-Отобрать необходимое количество микропробирок объемом 0,2 мл по числу анализируемых образцов и контролей, промаркировать и расположить в штативе.

ВНИМАНИЕ! При использовании амплификаторов планшетного типа пробирки следует маркировать на стенках или на выступающих частях крышки, не заходя на прозрачную область для считывания флуоресценции. При использовании амплификаторов роторного типа надписи наносить на крышку (считывание производится через стенку пробирки).

-Взять одну чистую пробирку объемом 1,5-2 мл и приготовить смесь ММ-Ф, для N реакций смешать 10*N мкл Mono-SC2 и 5*N мкл Taq+RT.

Например, для анализа 24 образцов необходимо 240 мкл Mono-SC2 и 120 мкл Taq+RT.

Пробирка с Mono-SC2 содержит смесь для 100 реакций с необходимым запасом. Если требуется проанализировать 100 образцов, то нужно внести в пробирку с Mono-SC2 510 мкл Taq+RT.

ВНИМАНИЕ! Смесь ММ-Ф подлежит хранению не более одного часа при +2...+8 °С.

-В промаркированные микропробирки внести по 15 мкл смеси ММ-Ф, а затем внести по 10 мкл соответствующих проб РНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

В пробирку, маркированную К-, внести 10 мкл ОКО, полученного в результате экстракции.

В пробирку, маркированную К+, внести 10 мкл ПКО.

-Плотно закрыть все микропробирки, сбросить капли коротким центрифугированием.

7.6.2. Для Mono-SC2, расфасованной в отдельные микропробирки по 10 мкл, следует:

-Отобрать необходимое количество микропробирок с Mono-SC2 по числу анализируемых образцов, промаркировать их и расположить в штативе. При этом одну микропробирку Mono-SC2 подготовить для положительного контроля, промаркировать ее К+, одну – для отрицательного контроля, промаркировать ее К-.

-В каждую промаркированную микропробирку внести по 5 мкл Taq+RT, не задевая слой парафина.

-Затем внести по 10 мкл соответствующих проб РНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов. В пробирку, маркированную К+, внести 10 мкл ПКО, в пробирку, маркированную К- - 10 мкл ОКО, полученного в результате экстракции. Плотно закрыть пробирки, сбросить капли коротким центрифугированием.

7.7. Проведение ОТ-ПЦР

7.7.1. Поместить микропробирки в амплификатор, запрограммировать прибор для выполнения программы амплификации «Интифика» с реакцией обратной транскрипции в соответствии с Таблицей 5. Подробную информацию см. в «Методических рекомендациях по применению наборов реагентов серии «Интифика» для ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией на различных детектирующих амплификаторах» (<https://forpcr.ru/info/>).

Таблица 5

Цикл	Температура, °С	Измерение флуоресценции	Время*	Количество циклов
1	50	-	15 мин (900 с)	1
2	94	-	3 мин (180 с)	1
3	94	-	10 с	5
	60	-	20 с	
4	94	-	10 с	45
	60	HEX/ Yellow FAM/ Green	20 с	
* - для некоторых амплификаторов время может быть увеличено в связи с ограничением минимальной продолжительности стадии				

7.7.2. Запрограммировать расположение образцов в приборе. Указать каналы детекции FAM, HEX (при одновременном использовании других наборов указывается детекция по другим используемым каналам).

7.7.3. Выставить объем реакционной смеси 25 мкл.

7.7.4. Запустить программу амплификации.

7.7.5. По окончании выполнения программы провести оценить полученные результаты.

7.8. Интерпретация результатов

7.8.1. Оценка результатов амплификации производится средствами резидентного программного обеспечения используемого амплификатора в соответствии с пользовательской инструкцией к нему и руководствуясь «Методическими рекомендациями по работе с наборами реагентов серии «Интифика» для ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией на различных детектирующих амплификаторах», разработанными ООО «Компания Алкор Био».

Оценка результатов проводится по каждому каналу детекции сигнала флуоресценции.

Для реакции K+ с ПКО определены и указаны во вкладыше к набору пороговые значения CqПК по каналу HEX.

Для внутреннего контроля реакции пороговые значения CqВК по каналу детекции флуоресценции FAM определены и указаны во вкладыше к набору.

Для специфической мишени вируса *SARS-CoV-2* пороговые значения CqSC2 по каналу HEX определены и указаны во вкладыше к набору.

7.8.2. Оценка достоверности ПЦР-исследования

Вывод о достоверности ПЦР-исследования делается исходя из совокупности оценок амплификации по каналам FAM и HEX в реакциях K+ и K-.

Результаты ПЦР-исследования считаются достоверными, если:

- $CqK+ \leq CqПК$ по каналу HEX;
- $CqK- > CqSC2$ по каналу HEX или не определено.

Если для канала HEX определено CqK- менее граничного значения, то это свидетельствует о наличии контаминации. При выявлении контаминации необходимо предпринять меры по локализации и ликвидации ее источника.

Только в достоверном ПЦР-исследовании можно проводить оценку результатов и делать вывод о наличии или отсутствии копий РНК вируса *SARS-CoV-2*.

7.8.3. Оценка результатов ПЦР-исследования

Вывод о наличии копий вируса *SARS-CoV-2* в исследуемом образце делается исходя из совокупности положительных и отрицательных амплификаций в реакции по каждому каналу детекции флуоресценции.

Амплификация сигнала флуоресценции исследуемого образца по каналу FAM считается положительной, если выполнены следующие условия:

- $Cq \text{ образца} \leq CqВК$ по каналу FAM;
- График амплификации флуоресценции по каналу FAM имеет S-образную форму¹¹.

¹¹ Для устранения «выбросов» необходимо воспользоваться «Методическими рекомендациями по применению наборов реагентов серии «Интифика» с обратной транскрипцией при использовании различных амплификаторов»

Амплификация сигнала флуоресценции исследуемого образца по каналу HEX считается положительной, если выполнены следующие условия:

- $Cq \text{ Образца} \leq CqSC2$ по каналу HEX;
- График амплификации флуоресценции по каналу HEX имеет S-образную форму.

Если хотя бы одно из условий не выполняется, то амплификация сигнала флуоресценции исследуемого образца по анализируемому каналу принимается как отрицательная.

7.8.3.1. Положительный результат ПЦР-исследования

Наличие положительной амплификации специфической мишени свидетельствует о присутствии РНК вируса *SARS-CoV-2* в исследуемом образце. В случае отсутствия положительного сигнала по каналу FAM, например, в случаях недостаточного количества эпителиальных клеток или частичной деградации РНК человека в образце при высокой концентрации вируса, рекомендуется повторить забор биоматериала и провести повторное исследование.

7.8.3.2. Отрицательный результат ПЦР-исследования

При отсутствии положительной амплификации по каналу HEX результат считается отрицательным.

При этом в случае отсутствия положительной амплификации по каналу FAM (ВК) результат считается недостоверным.

7.8.3.3. Недостоверный результат ПЦР-исследования

При отсутствии положительной амплификации специфической мишени по каналу HEX и эндогенного внутреннего контроля по каналу FAM результат считается недостоверным.

Недостоверный результат ПЦР-исследования свидетельствует о недостаточном качестве образца выделенной НК. Для всех образцов с недостоверным результатом ПЦР-исследования необходимо повторить анализ, начиная с этапа экстракции РНК. При повторном получении недостоверного результата, необходимо исследование образца НК с использованием другого ПЦР-теста.

В случае повторения недостоверного результата ПЦР-исследования рекомендуется принять меры по организации повторного забора материала¹².

8. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

8.1. Транспортирование наборов Формы 1 и Комплекта реагентов для ОТ-ПЦР Формы 2 следует производить всеми видами крытого транспорта при температуре не выше +8 °C не более 10 суток.

¹² Забор материала проводить согласно Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (Covid-19)»

8.2. Транспортирование наборов Формы 1 и Комплекта реагентов для ОТ-ПЦР Формы 2 должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой, или в авторефрижераторах.

8.3. Допускается краткосрочное (до 5 суток) хранение и транспортирование наборов Формы 1 и Комплекта реагентов для ОТ-ПЦР Формы 2 при температуре не выше плюс 25 °С.

8.4. Транспортирование Комплекта реагентов для выделения РНК Формы 2 следует производить всеми видами крытого транспорта при температуре не выше +25 °С.

8.5. Наборы, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.6. Срок годности набора – 15 месяцев¹³ от даты производства.

8.7. Условия хранения компонентов набора «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002:

Компонент	Условия хранения
Mono-SC2	-30...-18 °С
Ферменты (Taq+RT)	-30...-18 °С
ПКО – положительный контрольный образец	-30...+8 °С
Вода без нуклеаз	-30...+8 °С
Лизирующий буфер	+2...+25 °С
Раствор для отмывки	+2...+25 °С
Элюирующий буфер	+2...+25 °С
Магнитный сорбент	+2...+25 °С
ОКО – отрицательный контрольный образец	+2...+25 °С

8.8. В случае дробного использования компоненты набора (кроме Mono-SC2 в микропробирках по 10 мкл) можно использовать в течение не более трех месяцев при хранении в упаковке предприятия-изготовителя и при соблюдении регламентированного производителем температурного режима.

8.9. Наборы с истекшим сроком годности применению не подлежат.

9. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие МИ «Набор реагентов для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в клинических образцах методом ОТ-ПЦР «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 требованиям ТУ при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими ТУ.

¹³Срок годности установлен на основании данных по ускоренной оценке стабильности набора. Данные срока годности набора не подтверждены исследованиями в реальном времени

Гарантийный срок хранения набора — 15 месяцев от даты производства.
Набор не подлежит ремонту и обслуживанию.

10. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

10.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

10.2. При утилизации отходов необходимо руководствоваться требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и СП 1.3.2322-08.

10.3. Класс опасности отходов при применении - Б (эпидемиологически опасные). Отходы класса Б собираются в твердую (непрокальваемую) упаковку (контейнеры) желтого цвета или имеющие желтую маркировку с надписью «Отходы. Класс Б». Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию. Выбор метода обеззараживания определяется возможностями организации, осуществляющей исследования с применением данного набора в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

10.4. После истечения срока годности пачки и пакеты утилизируются как отходы класса А (эпидемиологически безопасные).

10.5. Компоненты изделия с наличием предупредительных знаков об опасности на упаковке следует уничтожать с соблюдением соответствующих мер безопасности.

10.6. Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются раздавливанием внутренней упаковки с последующим разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как бытового мусора. Компоненты изделий, нерастворимые в воде, уничтожаются путем сжигания.

10.7. **ВНИМАНИЕ!** Неизрасходованные реагенты Лизирующий буфер и Раствор для отмывки утилизируются как отходы класса Г и не подлежат сливу в канализацию.

10.8. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий, должен соблюдать правила безопасности при проведении того или иного способа уничтожения.

11. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества Набора реагентов для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в клинических образцах методом ОТ-ПЦР «Интифика SARS-CoV-2-monoMag», серия E002 следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный пр., д. 40, лит.А, тел/факс: (812) 677-87-79.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

	Только для <i>in vitro</i> диагностики		Количество тестов
	Номер по каталогу		Ознакомьтесь с инструкцией
	Номер серии		Срок годности
	Производитель		Хранить при
	Дата изготовления		Хранить в защищенном от света месте
	Внимание! Ознакомьтесь с инструкцией		Беречь от влаги
	Опасно! Легковоспламеняющаяся жидкость!		

Инструкция разработана в соответствии с ТУ 21.20.23-572-98539446-2021.

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 22 (двадцать два)
лист

Генеральный директор
ООО «Компания Алкор Био»
Д.Г. Полынцев

