

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
Здравоохранения РБ
Б.Н. Андросюк
г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
НАБОРА РЕАКТИВОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ SNP/STR3-TMG
«SNP/STR3-TMG»



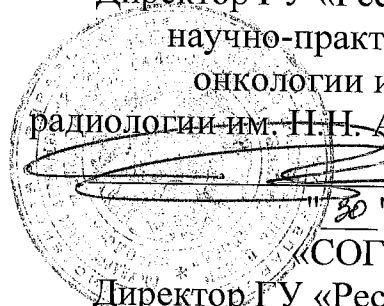
«СОГЛАСОВАНО»

Заместитель директора
УП «Центр экспертиз
и испытаний в здравоохранении»
М.И. Злотникова
2021 г.



«СОГЛАСОВАНО»

Директор Института
биоорганической химии НАН
Беларуси
С.В. Бабицкая
2021 г.



«СОГЛАСОВАНО»

Директор ГУ «Республиканский
научно-практический центр
онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова»
С.Л. Поляков
"30" 08 2021 г.



«СОГЛАСОВАНО»

Директор ГУ «Республиканский
научно-практический центр детской
онкологии, гематологии и
иммунологии»
А.В. Солнцева
"30" 08 2021 г.



«СОГЛАСОВАНО»

Директор ГУ «Республиканский
научно-практический центр «Мать и
дитя»»
С.А. Васильев
"30" 08 2021 г.

2021

1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

Набор реактивов «SNP/STR3-TMG» предназначен для идентификации мутаций в геномной ДНК человека, ассоциированных с развитием атеросклероза, ишемической болезнью сердца, инфаркта миокарда и тромбоэмболией.

Набор позволяет определить точечные мутации (SNP) в локусах rs5985, rs1799983, rs5918, rs2243093, rs4673, а также мутации типа STR и инсерция/делеция в локусах rs4646994, rs1722009, rs3980933, rs71103505 (прежний номер rs5810761). Набор предназначен для применения только «*in vitro*».

Область применения – клиническая диагностика, скрининговые мероприятия.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. В состав набора входят следующие компоненты:

- 10х буфер для амплификации, 1 пробирка, $(110,0 \pm 10,0)$ мкл;
- раствор ДНК полимеразы, 1 пробирка, $(10,0 \pm 2,0)$ мкл;
- смесь праймеров plex AMP1, 1 пробирка, $(22,0 \pm 2,0)$ мкл;
- смесь праймеров plex AMP-FA2, 1 пробирка, $(22,0 \pm 2,0)$ мкл;
- смесь праймеров plex SSHOT1, 1 пробирка, $(22,0 \pm 2,0)$ мкл;
- вода для амплификации, 1 пробирка, $(1000,0 \pm 50,0)$ мкл;
- вода для SSHOT разведения, 1 пробирка, $(1200,0 \pm 30,0)$ мкл;
- положительный контроль, 1 пробирка, $(8,0 \pm 2,0)$ мкл.

2.2. Набор предназначен для проведения исследований 20 образцов геномной ДНК. Продолжительность проведения исследования 7 часов.

2.3. Определение точечных мутаций проводится по технологии минисеквенирования (Snapshot анализ), определение мутаций типа STR и инсерция/делеция проводится по технологии фрагментного анализа.

Набор позволяет определить точечные мутации (SNP) в локусах rs5985, rs1799983, rs5918, rs2243093, rs4673, а также мутации типа STR и инсерция/делеция в локусах rs4646994, rs1722009, rs3980933, rs71103505 (прежний номер rs5810761).

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1. При работе с набором следует надевать одноразовые нитриловые перчатки без талька, т. к. биологические образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

3.2. Категорически запрещается прием пищи, использование косметических принадлежностей и курение в помещениях, предназначенных для работы с образцами ДНК.

3.3. Основные этапы работ должны проводиться в физически изолированных зонах. Всё лабораторное оборудование, а также штативы,

пипетки, и др. должны быть промаркированы по принадлежности к соответствующей рабочей зоне. Запрещается перемещение оборудования из одной рабочей зоны в другую.

3.4. Во избежание контаминации рекомендуется для полуавтоматических дозаторов использовать наконечники с аэрозольным барьером.

3.5. При приготовлении реакционной смеси и внесении контрольных и исследуемых образцов, перчатки, штативы, наконечники и пробирки используются только однократно.

3.6. Работы проводить с соблюдением мер предосторожности при работе с биологическим материалом. В случае пролива образцов тканей и клеток на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию.

3.7. Не допускается повторное замораживание и размораживание готовой смеси для амплификации.

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки полимеразной цепной реакции и реакций минисеквенирования необходимы следующие компоненты и материалы:

- Термоциклеры BioRad T100 («BioRad», США), или термоциклеры, соответствующие ему по характеристикам;
- Генетический анализатор Hitachi ABI3500 («Applied Biosystems», США) или аналог;
- Бокс для ПЦР с бактерицидной лампой или стерильный ламинарный шкаф;
- Мини центрифуга-вортекс;
- Отдельные наборы пипеток полуавтоматических одноканальных, позволяющих отбирать объемы жидкостей (0,2-2) мкл, (1-10) мкл, (10-100) мкл и (100-1000) мкл аттестованных по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);
- Отдельные халаты и одноразовые нитриловые перчатки без талька;
- Одноразовые полипропиленовые микропробирки (микропробирки в стрипах, 96-ячеечные микропланшеты) с максимальным объёмом 0,2 мл;
- Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 0,5 и 1,5 мл типа «эппендорф»;
- Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для пипеток объемом 0,5-10мкл, 2-200 мкл;
- Септа для 96-лучного планшета;
- Морозильная камера, отрегулированная на температуру минус 20°C;
- Холодильник, отрегулированный на температуру от плюс 2 до плюс 8°C;
- Транспортный контейнер со льдом;
- Штативы для микропробирок на 1,5 и 0,5 мл;
- Дезинфицирующее средство «Полидез»;
- Hi-Di™ Formamide («Thermo Fisher», США, кат.№ 4311320) или аналог;
- GeneScan™ 120 LIZ™ Size Standard («Thermo Fisher», США, кат.№ 4322362);

- GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard («Thermo Fisher», США, кат.№ 4322682);
- POP4 полимер («Thermo Fisher», США, кат.№ A26070);
- Нуклеаза EhoI («NEB», США, кат.№ M0293S) или аналог;
- Фосфатаза rSAP («NEB», США, кат.№ M0371L) или аналог;
- Набор SNaPshot Multiplex Kit («Thermo Fisher», США, кат.№ 4323159);
- Набор флуоресцентных красителей «Matrix Standard Set DS-02» («Thermo Fisher», США, кат.№ 4323014);
- Набор флуоресцентных красителей «СК-0501» («Синтол», Россия);
- Программное обеспечение GeneMapper.

5 ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

5.1. Проведение ПЦР для наработки фрагментов ДНК, содержащих анализируемые мутации.

5.1.1. В зоне для постановки ПЦР извлечь из упаковочного пакета и поместить в термостатируемый блок-штатив (+4⁰С) следующие реактивы:

- 10х буфер для амплификации
- смесь праймеров plex AMP1
- смесь праймеров plex AMP-FA2
- положительный контроль

5.1.2. После полной разморозки реактивов осадить содержимое микропробирок на дно с помощью центрифуги в течение 5 секунд при 2000 об/мин.

5.1.3. В пробирке вместимостью 0,5 или 1,5 мл приготовить смесь для ПЦР согласно таблице 1.

Таблица 1

Компонент смеси для ПЦР	Количество реактива на 1 реакцию, мкл	Количество реактива на (N+2)* реакций, мкл
Вода для амплификации	20,3	
10х буфер для амплификации	2,5	
Смесь праймеров plexAMP1 или plexAMP-FA2	1	
ДНК-полимераза	0,2	
ИТОГО:	24 мкл	

Для исключения контаминации реактивов использовать только одноразовые наконечники с аэрозольным барьером!

После добавления ДНК-полимеразы, которое производится в последнюю очередь, смесь аккуратно перемешивают пипетированием.

5.1.4. Отобрать необходимое количество пробирок вместимостью 0,2 мкл (исходя из расчета N+2, где N - количество анализируемых образцов + 1 положительный контроль + 1 отрицательный контроль), маркировать пробирки с

анализируемыми образцами ДНК «А-1» до «А-N», «А-ОК» для отрицательного контроля и «А-ПК» для положительных контролей, соответственно. При этом «А» принимает значения 1 или 2, в зависимости от используемой смеси праймеров – plex AMP1 или plex AMP-FA2.

5.1.5. Во все микропробирки (микропробирки в стрипах) вместимостью 0,2 мл внести по 24 мкл готовой смеси для ПЦР.

5.1.6. Внести исследуемые образцы ДНК, контрольные образцы ДНК в ПЦР-смесь только одноразовыми наконечниками с аэрозольным барьером.

В микропробирки (микропробирки в стрипе) для отрицательного контроля добавить 1 мкл реактива «Вода для амплификации», перемешать пипетированием 3 раза.

В микропробирки (микропробирки в стрипе) для положительного контроля добавить 1 мкл реактива «Положительный контроль», перемешать пипетированием 3 раза.

В микропробирки (микропробирки в стрипе) для анализируемых образцов ДНК (в соответствии с нумерацией), добавить по 1 мкл образцов ДНК (концентрация ДНК не менее 10 нг/мкл). Перемешать пипетированием 3 раза.

Закрыть микропробирки крышками (стрипом крышек при использовании пробирок в стрипах).

Конечный объем реакционной смеси в каждой пробирке составляет 25 мкл.

5.1.7. Поместить микропробирки в термоблок амплификатора. Закрыть крышку амплификатора.

5.1.8. Запрограммировать прибор для выполнения температурной программы:

№ цикла	Температура	Время	Кол-во циклов
1	95°	5 мин	1
2	95°	30 сек	30
	68°	30 сек	
	72°	30 сек	
3	72°	5 мин	1
4	10°	∞	

Режим работы амплификатора – подогреваемая крышка, контроль температуры: расчетный. По окончании реакции микропробирки, куда была добавлена смесь праймеров plex AMP-FA2, помещают в холодильник, отрегулированный на температуру от плюс 2 до плюс 8⁰С.

5.2 Очистка продуктов ПЦР.

Перед проведением реакции минисеквенирования необходимо очистить продукты ПЦР, образовавшиеся в пробирках со смесью праймеров plex AMP-1 от неиспользованных олигонуклеотидных праймеров и дНТФ. Для этого:

5.2.1. Отобрать необходимое количество пробирок (пробирок в стрипах) вместимостью 0,2 мкл (исходя из расчета N+2, где N - количество анализируемых образцов + 1 положительный контроль + 1 отрицательный

контроль), маркировать пробирки с анализируемыми образцами ДНК «1-1» до «1-N», «1-OK» для отрицательного контроля и «1-ПК» для положительного контроля, соответственно.

5.2.2. Из микропробирок с амплификационной смесью перенести по 5 мкл продуктов амплификации в чистые пробирки с аналогичными подписями.

5.2.3. В каждую микропробирку добавить 0,5 мкл нуклеазы *EcoI* и 1 мкл фосфатазы *rSAP*.

5.2.4. Микропробирки закрыть крышками, содержимое осадить (3000 об/мин, 5 сек), перемешать вортиксированием и снова осадить (3000 об/мин, 5 сек) на центрифуге-вортексе.

5.2.5. Поместить микропробирки в амплификатор, закрыть крышку амплификатора. Задать на приборе следующую программу:

- инкубация 37°C, 60 мин 1 цикл;
- инаktivация 75°C, 15 мин 1 цикл;
- хранение 4 °C.

Режим работы амплификатора – подогреваемая крышка (75°C), контроль температуры: расчетный.

5.2.6. Разморозить реактив «вода для SSHOT разведения».

5.2.7. Микропробирки извлечь из амплификатора, в каждую добавить по 58,5 мкл воды для SSHOT разведения, перемешать вортиксированием и осадить.

5.3. Для постановки реакции минисеквенирования отобрать необходимое количество микропробирок вместимостью 0,2 мкл (исходя из расчета $N+2$, где N - количество анализируемых образцов + 1 положительный контроль + 1 отрицательный контроль), маркировать пробирки с анализируемыми образцами ДНК «S1-1» до «S1-N», «S1-OK» для отрицательного контроля и «S1-ПК» для положительного контроля, соответственно.

5.3.1. Разморозить компоненты набора

– смесь праймеров *plex SSHOT1*

– вода для амплификации

А также разморозить Ready Reaction Mix (из набора *SNaPshot Multiplex Kit*), не входящий в состав данного набора.

5.3.2. В пробирке вместимостью 0,5 или 1,5 мл приготовить смесь для минисеквенирования согласно таблице 2.

Таблица 2

Компонент смеси для минисеквенирования	Количество реактива на 1 реакцию, мкл	Количество реактива на (N+2) реакций, мкл
Ready Reaction Mix (из набора <i>SNaPshot Multiplex Kit</i>),	5	
Вода для амплификации	2,5	
Смесь праймеров <i>plex SSHOT1</i>	1	
ИТОГО:	8,5 мкл	

5.3.3. Внести в промаркированные микропробирки по 8,5 мкл готовой смеси для минисеквенирования.

5.3.4. В каждую промаркированную пробирку, согласно номеру образца, внести по 1,5 мкл разведенных продуктов амплификации из соответствующих микропробирок, в которые была добавлена вода для SSHOT разведения.

5.3.5. Микропробирки закрыть крышками, перемешать вортексированием и осадить на центрифуге-вортексе.

5.3.6. Поместить микропробирки в амплификатор, закрыть крышку амплификатора. Запрограммировать прибор.

№ цикла	Температура	Время	Кол-во циклов
1	96°	10 сек	25
	50 °	5 сек	
	60°	30 сек	
2	10°	∞	

Режим работы амплификатора – подогреваемая крышка (96°C), контроль температуры: расчетный.

5.4 Очистка продуктов минисеквенирования.

5.4.1. По окончании программы минисеквенирования извлечь микропробирки из амплификатора, в каждую добавить по 1,0 мкл фосфатазы rSAP, микропробирки закрыть крышками, содержимое осадить, перемешать вортексированием и снова осадить.

5.4.2. Поместить микропробирки в амплификатор, закрыть крышку амплификатора. Задать следующие параметры эксперимента:

- инкубация 37°C, 60 мин 1 цикл;
- инаktivация 75°C, 15 мин 01 цикл;
- хранение 4 °C.

Режим работы амплификатора – подогреваемая крышка (75°C), контроль температуры: расчетный.

5.4.3. По окончании процедуры очистки продукты минисеквенирования поместить на +4°C если предполагается немедленный анализ, или заморозить на -20°C для длительного хранения.

5.5 Подготовка продуктов реакции минисеквенирования и фрагментного анализа.

5.5.1. Для анализа продуктов минисеквенирования (пробирки с маркировкой «S1-1» до «S1-N», «S1-OK» и «S1-ПК») в расчете на одну лунку 96-луночного планшета добавить по 9 мкл «Hi-Di» формамида, 0,25 мкл размерного стандарта «GeneScan LIZ120 Size Std Kit», 1 мкл продукта реакции минисеквенирования одной из промаркированных пробирок.

Для анализа продуктов фрагментного анализа (пробирки с маркировкой «2-1» до «2-N», «2-OK» «2-ПК») в расчете на одну лунку 96-луночного планшета добавить по 9 мкл «Hi-Di» формамида, 0,35 мкл размерного стандарта «GeneScan-500 LIZ Size Std Kit», 1 мкл продукта ПЦР одной из промаркированных пробирок.

5.5.2. Планшет закрыть септой, поместить в амплификатор и провести тепловую денатурацию при 95°C в течение 5 минут с последующим охлаждением до 10°C (крышку амплификатора при этом оставляют открытой).

5.5.3. Планшет поместить в генетический анализатор и запустить анализ.

При описании анализируемого планшета в программе ДНК секвенатора Data Collection Software вносят информацию: Analysis Method, Result group, Instrument Protocol с учетом типа анализа, с помощью которого будут анализироваться продукты амплификации из разных пробирок. При запуске анализа в приборе должен быть установлен капилляр длиной 36 см и полимер POP-4.

5.6 Анализ полученных результатов.

Для анализа результатов Snapshot реакции создать маркерные панели для идентификации аллелей в соответствии с протоколами «Руководства пользователя» для ДНК секвенатора (капилляры длиной 36 см, POP-4 полимером и внутренним размерным стандартом «GS120LIZ») с использованием опции «Panel manager» программы «GeneMapper®» (таблица 3).

Таблица 3

Маркер	Диапазон фрагмента							
	A		B		C		D	
	от	до	от	до	от	до	от	до
Rs5985	-	-	26,80	28,40	-	-	29,50	30,50
Rs1799883	-	-	39,50	40,50	-	-	41,00	41,50
Rs5918	-	-	-	-	42,50	42,90	43,60	43,90
Rs2243093	48,60	49,20	47,40	47,90	-	-	-	-
Rs4673	51,40	51,80	50,10	50,50	-	-	52,0	52,50

Для анализа результатов фрагментного анализа создать маркерные панели для идентификации аллелей в соответствии с протоколами «Руководства пользователя» для ДНК секвенатора (капилляры длиной 36 см, POP-4 полимером и внутренним размерным стандартом «GS500LIZ») с использованием опции «Panel manager» программы «GeneMapper®» (таблица 4). Высота целевых пиков должна составлять не менее 50 ОЕФ.

Таблица 4

Маркер	Цвет метки	Минимальный размер	Максимальный размер	Количество маркеров
LDLR (rs3980933)	Синий	160	195	2
ACE (rs4646994)	Желтый	180	500	2
NOS (rs61722009)	Синий	240	290	2
BDKRB2 (rs71103505 (прежний номер rs5810761))	Синий	87,5	98,5	2

Панель для фрагментного анализа содержит набор «бинов» для аллелей соответствующего локуса (таблица 5).

Таблица 5

Локус	Набор «бинов» для локуса
LDLR	169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187
ACE	192, 479
NOS	254, 281
BDKRB2	88,3, 97,5

Согласно таблице 6 провести анализ полученных пиков на присутствие того или иного нуклеотида или вставки/делеции в анализируемом локусе.

Таблица 6

Маркер	Ген	Результат эксперимента	Интерпретация результата эксперимента	Примечание
Смесь праймеров plex SSHOT1				
rs5918	ITGB3	C T	C T	
rs2243093	GP1BA	A G	T C	Для данного маркера при интерпретации результата следует записывать нуклеотид, комплементарный полученному в эксперименте
rs4673	CYBA	A G T	A G T	
rs5985	F13A1	G T	C A	Для данного маркера при интерпретации результата следует записывать нуклеотид, комплементарный полученному в эксперименте
rs1799983	NOS3	G T	G T	
Смесь праймеров AMP-FA2				
rs5810761	BDKRB2	88,3 97,5	Делеция Инсерция	
rs3980933	LDLR	169 171 173 175 177 179 181 183 185 187	del(TA) ₃ delTATA delTA Wild type (WT) dupTA dupTATA dup(TA) ₃ dup(TA) ₄ dup(TA) ₅ dup(TA) ₆	Данный маркер обладает полиморфизмом по количеству TA повторов. В качестве WT принимается 8TA повторов.
rs4646994	ACE	192 479	Делеция Инсерция	
rs61722009	NOS3	254 281	Делеция Инсерция	

Полиморфизмы генов ассоциированы с развитием атеросклероза, ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и тромбоэмболией. Данные по каждому маркеру приведены в таблице 7. Результаты должны интерпретироваться врачом в комплексе с другими генетическими, анамнестическими, клиническими и лабораторными данными.

Таблица 7

Маркер	Ген	Ассоциация маркера с заболеваниями	Расшифровка генотипа
rs5918	ITGB3	Тромбоэмболия, инфаркт миокарда.	T/T – нормальная агрегационная способность тромбоцитов. T/C – агрегационная способность тромбоцитов умеренно повышена. C/C – агрегационная способность тромбоцитов высокая.
rs2243093	GP1BA	Острый коронарный синдром тромбоз, инсульт, ишемия, атеросклероз, инфаркт миокарда.	Аллель С повышает риск тромбообразования в артериальном русле увеличивая экспрессию GP1B на поверхности тромбоцита.
rs1799983	NOS3	Ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокард и ишемический инсульт. Артериальная гипертензия, в связи с нарушением сосудистой регуляции артериального давления, ассоциированное со снижением количества оксида азота в крови.	G/G – генотип, не ассоциированный со снижением активности NO-синтазы. G/T и T/T – генотипы, ассоциированные со снижением активности NO-синтазы, которые предрасполагают к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений.
rs4673	CYBA	Эндотелиальная дисфункция, преэклампсия средней и тяжелой степеней.	Генотип A/A – снижение ферментативной активности CYBA из-за структурных изменений молекулы белка.
rs5985	F13A1	Генетическая предрасположенность к инфаркту миокарда и тромбоэмболии.	G/G – не снижает ферментативную активность белка F13, участвующего в работе системы свертываемости крови. G/T – активность белка F13 умеренно снижена. T/T – активность белка F13 значительно снижена.

rs5810761	BDKRB2	Артериальная гипертензия.	Аллель +9 является фактором риска развития первичной артериальной гипертензии. Генотип +9/+9 сопровождается более выраженной гипертрофией миокарда левого желудочка и более высоким уровнем артериального давления у больных гипертонической болезнью.
rs3980933	LDLR	Атеросклероз, инфаркт миокарда.	7ТА/7ТА – нормальная регуляция концентрации холестерина в плазме крови. Генотипы с аллелями 8 ТА и 11ТА повышают риск избытка липопротеинов низкой плотности в плазме крови и повышают риск развития инфаркта миокарда.
rs4646994	ACE	Инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, ишемический инсульт, болезнь Альцгеймера, хроническая почечная недостаточность, остеопороз, атеросклероз.	I/I – нормальный уровень АСЕ в крови. I/D – повышенный уровень АСЕ в крови. D/D – значительно повышенный уровень АСЕ в крови.
rs61722009	NOS3	Атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, сосудистые осложнения при сахарном диабете типа 1 и 2.	4b/4b определяет нормальный уровень окиси азота в стенках кровеносных сосудов. Аллель 4a связан с риском снижения эластичности сосудистой стенки, артериальной гипертензией, гипертрофией миокарда

5.7 Анализ результатов для контрольных образцов.

Положительный контроль в результате реакции минисеквенирования со смесью праймеров plex SSHOT1 должен демонстрировать следующий генотип:

Маркер	Plex SSHOT1				
Образец	Rs5985	Rs1799883	RS5918	RS2243093	RS4673
ПК1	G/G (C/C*)	G/G	T/T	A/A (T/T*)	G/G

*-генотип маркера после интерпретации результата

Положительный контроль в результате фрагментного анализа со смесью праймеров plex AMP-FA2 должен демонстрировать следующий генотип:

Маркер	Plex AMP-FA2			
Образец	LDLR	ACE	NOS	BDKRB2
ПК2	WT/dupTATA	Del/Del	Ins/Ins	Del/Ins

В отрицательном контроле не должны визуализироваться фрагменты ДНК, описанные в таблицах 3 и 5.

6 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

6.1. Набор должен храниться при температуре минус (12-18)°C в защищённом от света месте в течение всего срока годности.

6.2. Не смешивать реактивы из разных партий.

6.3. Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать автоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованными на точность по значению средней дозы и сходимость результатов пипетирования.

6.4. Во избежание контаминации рекомендуется вносить образцы ДНК наконечниками с аэрозольным барьером.

6.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.

6.6. При несоблюдении правил хранения и транспортировки набора, а также других пунктов настоящей инструкции, производитель не несёт ответственности за результаты анализа.

6.7. Срок годности набора 6 месяцев.