



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Ветбиохим»
А.В. Кривонос
« 01 » октября 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Тест-системы для обнаружения и дифференциации вируса гриппа А подтипов Н5 и Н7 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)
(организация-производитель – ООО «Ветбиохим», г. Москва)

I ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Тест-система для обнаружения и дифференциации вируса гриппа А подтипов Н5 и Н7 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)

1.2 Тест-система состоит из трех наборов и рассчитана на проведение 50 анализов, включая контрольные образцы (таблица 1):

таблица 1

№	Наименование	Количество	Упаковка
Набор I - для выделения РНК			
1	Раствор-1	18,0 мл	2 флакона
2	Раствор-2	12,0 мл	1 флакон
3	Раствор-3	12,0 мл	1 флакон
4	Сорбент	2,0 мл	1 пробирка
5	Деионизованная вода	2,0 мл	1 пробирка
Набор II - для выявления и дифференциации РНК вируса гриппа А подтипов Н5 и Н7 методом ПЦР			
1	Тақ-полимераза	0,055 мл	1 пробирка
2	MMLV-ревертаза+ингибитор РНКаз	0,038 мл	1 пробирка
3	Положительный контроль Н5	0,2 мл	5 пробирок
4	Положительный контроль Н7	0,2 мл	5 пробирок
5	Праймеры для ПЦР-1 Н5 и Н7	0,27 мл	1 пробирка
6	Праймеры для ПЦР-2-Н5	0,27 мл	1 пробирка
7	Праймеры для ПЦР-2-Н7	0,27 мл	1 пробирка
8	Буфер для ПЦР-1	0,9 мл	1 пробирка
9	Буфер для ПЦР-2	0,9 мл	2 пробирки
10	Минеральное масло	10,0 мл	1 флакон
Набор III - для проведения электрофореза (на 10 гелей по 10 образцов)			
1	Агароза	5 г	2 пакета
2	Концентрат буфера для электрофореза	20,0 мл	2 флакона
3	Бромистый этидий	0,15 мл	2 пробирки

Тест-система предназначена для обнаружения и дифференциации вируса гриппа А подтипов Н5 и Н7 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови, сыворотке крови, носовых и трахеальных смывах, органах птиц (фрагменты легких, трахеи, воздухоносных мешков, мозга, селезенки, кишечника) и млекопитающих (фрагменты легких, трахеи), помете птиц, яйцах и эмбрионах птиц, комбикормах, а также в инфицированных культурах клеток.

1.3 Упаковка и маркировка

Компоненты тест-системы расфасованы в полипропиленовые флаконы с завинчивающимися крышками вместимостью 30 мл, 20 мл и 13 мл, пробирки вместимостью 0,5-2,0 мл. На пробирки и флаконы наклеена этикетка с указанием краткого названия компонента.

Наборы I, II и III отдельно упакованы в полиэтиленовые пакеты. На каждый пакет с ком-

понентами наборов наклеена этикетка с указанием организации-производителя и/или товарного знака, наименования набора, номера серии и контроля, даты изготовления, срока годности, условий хранения.

Наборы I и III, упакованные в полиэтиленовые пакеты, вложены в картонную или пластиковую коробку. На каждой коробке наклеена этикетка или нанесены типографским способом следующие обозначения: страна, город, название организации-производителя и/или товарный знак, полное название тест-системы, номер серии и контроля, дата изготовления (месяц, год), срок годности (месяц, год), предупредительная надпись «Для ветеринарного применения», количество анализов и обозначение ТУ. В каждую коробку вложена инструкция по применению тест-системы.

1.4 Условия хранения и транспортирования

Наборы I и III необходимо хранить при температуре от 2°С до 25°С, Набор II – при температуре от минус 18°С до минус 20°С.

Транспортирование Набора I и III проводить при температуре от 2°С до 25°С. Набор II транспортировать во льду в теплоизолирующей упаковке (термос, пенопластовая коробка). При получении тест-систему необходимо разуккомплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Срок годности тест-системы: 12 месяцев от даты изготовления. Запрещается использовать тест-систему по истечении срока годности.

Флаконы и пробирки без этикеток, с нарушением целостности, изменением консистенции или цвета компонентов, при наличии плесени или других примесей и не использованные в течение срока годности подлежат выбраковке. Обеззараживание биоматериала и реагентов проводят, помещая одноразовую пластиковую посуду (пробирки, флаконы, наконечники) на 20- 24 ч в специальный контейнер, содержащий 0,2% раствор ДП-2Т или аналогичные.

II ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

2.1 В основе ПЦР лежит многократное повторение циклов денатурации исследуемой ДНК, гибридизации ДНК со специфическими праймерами и синтеза с них комплементарных цепей ДНК с помощью термостабильной ДНК-полимеразы. В результате амплификации концентрация синтезированного фрагмента в исследуемой пробе увеличивается в миллионы раз, что позволяет визуально учитывать результаты анализа с помощью электрофореза в агарозном геле.

2.2 Анализ по выявлению и дифференциации вируса гриппа А подтипов Н5 и Н7 включает выделение суммарной РНК, проведение реакции обратной транскрипции и амплификацию специфического фрагмента в полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР), реамплификацию и электрофорез в агарозном геле.

III ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

При выполнении исследований следует соблюдать условия и требования МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

3.1 Подготовка к работе

Строго соблюдать условия хранения и транспортирования компонентов тест-системы (см. п. 1.4).

Однократно использовать пластиковую посуду. Ранее использованные и мытые наконечники и пробирки использовать нельзя.

На всех этапах анализа в первую очередь проводить манипуляции с отрицательными контролями, затем с исследуемыми образцами и в последнюю очередь с положительными контролями.

Посуда для отбора образцов биоматериала должна быть одноразовой или тщательно обработана хромовой смесью, отмыта, стерилизована.

Перед открыванием пробирок капли жидкости на крышках удалять центрифугированием.

При открывании пробирок избегать случайного касания руками или инструментами внутренней поверхности крышек.

На всех стадиях обработки биоматериала удаление супернатанта производить одноразовыми пластиковыми наконечниками при помощи водоструйного насоса в колбу-ловушку с дезинфицирующим раствором (3% хлорамин или 5% перекись водорода и т. п.).

Бромистый этидий разлагается на свету и при нагревании, содержащие его растворы необходимо хранить в темном месте. При длительном хранении или многократном нагревании в растворы, содержащие бромистый этидий, перед употреблением следует внести свежую порцию бромистого этидия (5 мкл на 100 мл буфера).

3.1.2 Подготовка и хранение исследуемого материала:

КРОВЬ: цельную кровь в объеме 2 мл отобрать в одноразовые пластиковые пробирки с антикоагулянтом (3-6% раствор ЭДТА, 3,8% раствор цитрата натрия и т.п.). **Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта!** Пробирки с цельной кровью смешанной с антикоагулянтом хранить и транспортировать при температуре от 2°С до 6°С не более 24 часов. Не допускается замораживание образцов цельной крови. Для выделения РНК использовать 200 мкл цельной крови без предварительной подготовки, помещенной в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

СЫВОРОТКА КРОВИ: сыворотку крови отобрать в одноразовые пластиковые пробирки, хранить при температуре от 2°С до 6°С не более 3 суток, при температуре от минус 18°С до минус 20°С не более 30 суток. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Для выделения РНК использовать 200 мкл сыворотки крови без предварительной подготовки, помещенной в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

ОРГАНЫ: пробы органов отобрать стерильными инструментами в одноразовые пластиковые флаконы. Пробы хранить и транспортировать при температуре от 2°С до 6°С не более 24 ч, при температуре от минус 18°С до минус 20°С не более 2 недель. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Образец органа измельчить стерильными ножницами или растереть в физиологическом растворе или в фосфатном буфере (приготовить примерно 10% суспензию). Для выделения РНК использовать 200 мкл готовой суспензии, помещенной в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

ПОМЕТ ПТИЦ: пробы хранить и транспортировать при температуре от 2°С до 6°С не более суток. Отобрать стерильными инструментами пробу помета. Приготовить 10% суспензию в физиологическом растворе или в фосфатно-солевом буферном растворе, тщательно ресуспендировать, дать отстояться в течение 10 мин. Надсадок перенести в полипропиленовую пробирку на 1,5-2,0 мл и центрифугировать в течение 1 мин при максимальном количестве оборотов. Для выделения РНК использовать 200 мкл надсадочной жидкости, помещенной в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

НОСОВЫЕ И ТРАХЕАЛЬНЫЕ СМЫВЫ: пробы хранить и транспортировать при температуре от 2°С до 6°С не более суток, при температуре от минус 18°С до минус 20°С не более 2 недель. Для выделения РНК использовать 200 мкл смывов, помещенных в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

ЯЙЦА ПТИЦ: до исследования хранить при температуре от 2°С до 6°С не более 5 суток. Для отбора пробы в скорлупе яйца проколоть отверстие стерильной иглой с шприцем и отобрать яичный белок. Для выделения РНК использовать 200 мкл яичного белка, помещенного в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

ЭМБРИОНЫ ПТИЦ (инкубационные яйца): до исследования хранить при температуре от 2°С до 6°С не более 5 суток. Для отбора пробы в скорлупе проколоть отверстие стерильной иглой со шприцем и отобрать аллантаисную жидкость. Для выделения РНК использовать 200 мкл аллантаисной жидкости, помещенной в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

КОМБИКОРМА: пробу комбикорма тщательно гомогенизировать. Приготовить 10% суспензию в физиологическом растворе или в фосфатно-солевом буферном растворе, тща-

тельно ресуспендировать, дать отстояться в течение 10 мин. Надосадок перенести в полипропиленовую пробирку на 1,5 мл и центрифугировать в течение 1 мин при максимальном количестве оборотов. Для выделения РНК использовать 200 мкл надосадоочной жидкости, помещенной в полипропиленовую пробирку объемом 1,5-2,0 мл.

КОНТРОЛИ: использовать положительные и отрицательные контроли на этапе выделения РНК (п. 3.2). Рекомендуется использовать один положительный контроль Н5, один положительный контроль Н7 и один отрицательный контроль на каждые семь исследуемых проб. Положительными контролями служат генноинженерные препараты, содержащие фрагменты генов гемагглютинаина Н5 и Н7. Пробирки с положительными контролями размораживать непосредственно перед использованием, для выделения использовать 200 мкл, повторная заморозка не допускается. В качестве отрицательного контроля использовать 200 мкл деионизированной воды.

Положительные контроли хранить при температуре от минус 18°С до минус 20°С.

3.2 Выделение РНК

Для выделения РНК из исследуемого биологического материала следует использовать Набор I - для выделения РНК.

- Отобрать и маркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая контроли.

- В случае образования кристаллов в растворе-1 и растворе-2, прогреть их при температуре от 60 до 65°С до полного растворения.

- Внести в каждую подготовленную пробирку по 600 мкл раствора-1.

- В подготовленные пробирки с раствором-1 внести по 200 мкл образцов биологического материала и контролей в следующей последовательности:

- 1) В пробирку маркированную «К-» внести 200 мкл деионизированной воды;

- 2) В соответствующие пробирки внести по 200 мкл исследуемых проб;

- 3) В пробирку, маркированную «К+Н5» внести 200 мкл положительного контроля Н5.

- 4) В пробирку, маркированную «К+Н7» внести 200 мкл положительного контроля Н7.

Для каждой пробы использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером (фильтром).

- Перемешать пробы на смесителе типа “Vortex”.

- Инкубировать пробы 10 минут при комнатной температуре (20±2)°С, каждые 3 минуты перемешивая на смесителе типа “Vortex”.

- Отобрать и маркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая контроли. Пробирку с сорбентом встряхнуть на смесителе типа “Vortex”, до полного ресуспендирования сорбента. В каждую пробирку внести по 40 мкл ресуспендированного сорбента.

- Инкубированные пробы центрифугировать в настольной центрифуге типа “Эппендорф” 1 минуту при максимальном количестве оборотов. После центрифугирования надосадоочную жидкость перенести в подготовленные пробирки с сорбентом, а осадок отбросить. Вначале перенести отрицательный контроль, затем исследуемые пробы, затем положительные контроли. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером.

- Перемешать пробы на смесителе типа “Vortex” до полного ресуспендирования сорбента.

- Инкубировать 10 минут при комнатной температуре (20±2)°С, каждые 3 минуты перемешивая пробы на смесителе типа “Vortex” до полного ресуспендирования сорбента.

- Осадить сорбент центрифугированием в течение 15 сек на микроцентрифуге при максимальном количестве оборотов. Надосадоочную жидкость отобрать с помощью вакуумного отсасывателя, используя отдельный наконечник для каждой пробы.

- К осадку добавить 100 мкл раствора-2, используя отдельный наконечник для каждой пробы. Перемешать пробы на смесителе типа “Vortex” до полного ресуспендирования сорбента. Осадить сорбент центрифугированием в течение 15 сек на микроцентрифуге при макси-

мальном количестве оборотов. Удалить надосадочную жидкость с помощью вакуумного отсасывателя, используя отдельный наконечник для каждой пробы.

Процедуру повторить еще раз.

- К осадку добавить 100 мкл раствора-3, используя отдельный наконечник для каждой пробы. Перемешать на смесителе типа “Vortex” до полного ресуспендирования сорбента. Осадить сорбент центрифугированием в течение 15 сек на микроцентрифуге при максимальном количестве оборотов. Удалить надосадочную жидкость с помощью вакуумного отсасывателя, используя отдельный наконечник для каждой пробы.

Процедуру повторить еще раз.

- Осадок подсушить в течение 10 минут при 56°С, крышки у пробирок должны быть открыты.

- Добавить к осадку 30 мкл деионизованной воды, используя отдельный наконечник для каждой пробы. Перемешать на смесителе типа “Vortex” до полного ресуспендирования осадка.

- Инкубировать пробы 10 минут при 56°С в закрытых пробирках, каждые 3 минуты перемешивая их на смесителе типа “Vortex”. Центрифугировать в течение 1 мин при максимальном количестве оборотов. Надосадочная жидкость содержит выделенную РНК и предназначена для проведения ПЦР. Рекомендуется проводить ПЦР сразу после получения выделенных проб. Допускается хранение проб во льду или в холодильнике при температуре не выше 6°С не более 15 минут.

- При необходимости длительного хранения, следует очень осторожно, не взмучивая сорбент, отобрать надосадочную жидкость в отдельные маркированные одноразовые пробирки. Если сорбент взмутился, осадить его центрифугированием. Вначале отобрать отрицательный контроль, затем исследуемые пробы, затем положительные контроли. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером. Выделенные пробы заморозить при температуре от минус 18°С до минус 20°С и хранить не более 7 суток. Размораживать непосредственно перед использованием в ПЦР, не допускается многократное размораживание проб.

3.3 Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Для проведения ПЦР использовать Набор II - для выявления и дифференциации РНК вируса гриппа А подтипов H5 и H7 методом ПЦР.

3.3.1 ПЦР-1

Отобрать и маркировать необходимое количество пробирок с учетом положительных и отрицательных контролей.

В отдельной пробирке приготовить общую реакционную смесь на n+1 проб (n – количество проб с учетом положительных и отрицательных контролей). Реактивы внести в количестве и последовательности, указанной в таблице 2. Все реактивы **кроме Таq-полимеразы и MMLV-ревертазы+ингибитор РНКаз** должны быть прогреты при комнатной температуре до полного растворения кристаллов льда.

Перед открыванием пробирок рекомендуется осадить капли со стенок и крышек кратким центрифугированием (5-10 сек). Таq-полимеразу и MMLV-ревертазу + ингибитор РНКаз добавлять в последнюю очередь, при составлении смеси следует держать их во льду, нагревание не допускается.

таблица 2

Реактивы для ПЦР-1	Кол-во на 1 пробу (мкл)	Кол-во на n+1 проб (мкл)
Буфер для ПЦР-1	15,25	15,25 x (n+1)
Праймеры для ПЦР- 1 H5 и H7	4,5	4,5 x (n+1)
Таq-полимераза	0,25	0,25 x (n+1)
MMLV ревертаза + ингибитор РНКаз	0,625	0,625 x (n+1)

Смесь перемешать пипетированием, избегая образования пены и немедленно внести по 20 мкл в маркированные пробирки. В каждую пробирку добавить по 2-3 капли минерального масла (примерно 40 мкл).

В подготовленные пробирки с реакционной смесью внести под слой масла по 5 мкл выделенных проб в следующей последовательности:

1. В пробирку, маркированную «К-» внести 5 мкл отрицательного контроля;
2. В соответствующие пробирки внести по 5 мкл исследуемых проб;
3. В пробирку, маркированную «К+Н5» внести 5 мкл положительного контроля Н5;
4. В пробирку, маркированную «К+Н7» внести 5 мкл положительного контроля Н7;

Для каждого образца использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером.

Запустить на амплификаторе программу:

50°С – 30 мин }
95°С - 5 мин } 1 цикл

95°С - 20 сек }
55°С - 30 сек } 30 циклов
72°С - 45 сек }

72°С – 5 мин 1 цикл

Когда температура в ячейках достигнет 50°С (режим паузы) поставить пробирки в ячейки амплификатора и нажать кнопку продолжения программы.

Пробы, полученные после проведения ПЦР-1, можно хранить в течение 24 часов при комнатной температуре, в течение 72 часов при температуре от 2°С до 8°С и длительно при температуре от минус 18°С до минус 20°С.

3.3.2 ПЦР-2

После проведения ПЦР-1 провести ПЦР-2, используя две реакционные смеси для дифференциации подтипов Н5 и Н7 (таблица 3 и таблица 4).

таблица 3. Смесью Н5

Реактив	Кол-во на 1 пробу (мкл)	Кол-во на n+1 проб (мкл)
Буфер для ПЦР-2	15,25	15,25 x (n+1)
Праймеры для ПЦР- 2-Н5	4,5	4,5 x (n+1)
Тақ-полимераза	0,25	0,25 x (n+1)

таблица 4. Смесью Н7

Реактив	Кол-во на 1 пробу (мкл)	Кол-во на n+1 проб (мкл)
Буфер для ПЦР-2	15,25	15,25 x (n+1)
Праймеры для ПЦР- 2-Н7	4,5	4,5 x (n+1)
Тақ-полимераза	0,25	0,25 x (n+1)

Смеси перемешать, избегая образования пены и немедленно раскатать по 20 мкл в предварительно маркированные пробирки, в каждую пробирку добавить по 2-3 капли масла (примерно 40 мкл).

В подготовленные пробирки с реакционными смесями для ПЦР-2 перенести под слой масла по 5 мкл образцов, полученных после проведения ПЦР-1 (вначале внести «К-», затем исследуемые образцы, затем «К+Н5» для смеси Н5 и «К+Н7» для смеси Н7). Для каждой пробы использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером.

Запустить на амплификаторе программу:

95°С - 5 мин 1 цикл

95°С - 20 сек }
50°С - 30 сек } 30 циклов
72°С - 30 сек }

72°С - 5 мин 1 цикл

Когда температура в ячейках достигнет 95°С (режим паузы) поставить пробирки в ячейки амплификатора и нажать кнопку продолжения программы.

Пробы, полученные после проведения ПЦР-2, можно хранить в течение 24 часов при комнатной температуре, в течение 72 часов при температуре от 2°С до 8°С и длительно при температуре от минус 18°С до минус 20°С.

IV УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Результаты исследования учитываются путем анализа продуктов амплификации исследуемых образцов методом электрофореза в агарозном геле (**Набор III - для проведения электрофореза**).

4.1 Приготовление 1 л рабочего буфера для электрофореза: к 980 мл дистиллированной воды добавить 20 мл концентрата буфера для электрофореза и 40 мкл бромистого этидия.

Буфер можно приготовить самостоятельно по следующей прописи: навеску 4,04 г Триса растворить в 200 мл дистиллированной воды, добавить 1,14 мл ледяной уксусной кислоты, 2 мл 0,5 М раствора ЭДТА pH 8,0 и довести объём буфера до 1000 мл дистиллированной водой. После растворения компонентов буфера добавить 40 мкл раствора бромистого этидия.

4.2 Приготовление агарозного геля

В колбу из термостойкого стекла насыпать 2 г агарозы и добавить 100 мл рабочего буфера для электрофореза (п. 4.1), перемешать вращением колбы и поместить в микроволновую печь или на водяную баню, нагревать до полного расплавления агарозы. Расплавленную агарозу охлаждать до 45-55°С, осторожно вращая колбу. Охлажденную агарозу залить в специальную форму, установить гребенки, не касаясь дна формы. Расстояние между гребёнками должно быть не менее 4 см, толщина геля около 0,5 см. После полного застывания геля гребёнки аккуратно вынуть, подложку с готовым гелем перенести в аппарат для горизонтального электрофореза (например, ПГ-9 "Диа - М", Россия), залить рабочим буфером для электрофореза, чтобы он полностью покрывал всю поверхность геля. Гель должен располагаться лунками ближе к отрицательному электроду.

4.3 Электрофорез продуктов амплификации

Выставить в штатив пробирки с амплификатами, полученными после проведения ПЦР-2 (п. 3.3.2). Из каждой пробирки, из-под слоя масла, аккуратно отобрать 10 мкл амплификационной смеси и последовательно внести в лунки геля. Амплификационная смесь уже содержит краситель. Дополнительное смешивание амплификационной смеси с красителем не требуется. Каждой пробирке соответствует одна лунка геля. В каждом ряду лунок должен обязательно присутствовать соответствующий положительный контроль.

Электрофорез проводить при напряжении 8-10 В/см длины геля. **Краситель должен пройти не менее половины длины геля. Направление движения образцов в геле от "-" к "+"!**

4.4 Учет результатов электрофореза

Результаты электрофореза просматривать в ультрафиолетовом свете с длиной волны 254 нм на приборе "Трансиллюминатор". Результаты реакции выявляются в виде светящихся красноватых полос.

Положительными следует считать пробы, полосы в которых располагаются в геле точно на таком же расстоянии от старта, что и полосы положительных контролей. Размеры специфических фрагментов, полученных после ПЦР-2: подтип Н5 - 274 п.н., подтип Н7 - 170 п.н.

Исследуемые пробы следует считать отрицательными, если на электрофорезе продуктов амплификации не выявлено никаких полос или полосы не соответствуют по размеру фрагментам в контрольных пробах (т. е. располагаются на другом расстоянии от старта).

В отрицательном контроле не должно выявляться никаких полос.

Присутствие в отрицательном контроле окрашенных фрагментов на уровне полос положительных контролей свидетельствует о перекрестной контаминации в процессе анализа. Результаты аннулируются. Анализ необходимо провести заново, начиная с этапа выделения РНК, приняв меры для ликвидации контаминации.

У МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 Бромистый этидий является мутагеном, проникающим через кожу. При работе с ним использовать резиновые или латексные перчатки.

5.2 Ультрафиолет вызывает ожоги кожи и слизистой оболочки глаз. При просмотре гелей пользоваться защитным экраном или специальной защитной маской.

5.3 Работу с химическими компонентами и биологическим материалом следует проводить с соблюдением правил техники безопасности. Работать необходимо в перчатках. При случайном попадании компонентов на кожу или слизистые оболочки рекомендуется промыть это место большим количеством водопроводной воды.

Инструкция разработана ООО «Ветбиохим». Организация-производитель – ООО «Ветбиохим». Адрес производства: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.16.