



БИО  
СРЕДА

# ИНСТРУКЦИЯ

**по применению тест-систем для  
выявления инфекционных патогенов  
методом ПЦР  
в режиме реального времени**



ООО «Биологическая среда»,  
Российская Федерация, 127015,  
город Москва, улица Большая Новодмитровская д. 23, стр. 3

IVD

# ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	3
НАЗНАЧЕНИЕ .....	3
ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ МАТЕРИАЛА .....	4
ПРИНЦИП МЕТОДА .....	4
ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ .....	4
ОГРАНИЧЕНИЯ .....	4
ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ .....	4
СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ .....	4
СТАБИЛЬНОСТЬ .....	4
ФОРМАТ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТА .....	5
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ .....	5
ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ПЕРСОНАЛА .....	6
УТИЛИЗАЦИЯ .....	7
МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ .....	7
СОСТАВ .....	8
АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА .....	8
ВЗЯТИЕ МАТЕРИАЛА .....	9
ПРОТОКОЛ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР .....	10
- работа с жидким форматом .....	10
- работа с сухим форматом .....	11
СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ .....	12
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ .....	13
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ .....	14

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК	рибонуклеиновая кислота
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
НК	нуклеиновая кислота
УТК	универсальная транспортная карта
мл	миллилитр
СП	санитарные правила
МУ	методические указания

## НАЗНАЧЕНИЕ

**Тест-системы для выявления инфекционных патогенов** предназначены для выявления ДНК/кДНК в клиническом материале (крови, сыворотки, плазмы, суспензий органов, культур клеток, мазков, соскобов, мочи и др.) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Качественное и количественное определение. Тест-системы рассчитаны на проведение 100 реакций ПЦР и исследований 90 клинических проб.

## ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ МАТЕРИАЛА.

Порядок взятия материала см. инструкции к наборам по амплификации.

## **ПРИНЦИП МЕТОДА**

В основе метода лежит механизм репликации специфического фрагмента молекулы ДНК исследуемого образца ферментом Таg-полимеразой в присутствии дезоксирибонуклеотидтрифосфатов и специфических олигонуклеотидных затравок (праймеров). Амплификация (количественное увеличение) специфического фрагмента ДНК происходит за счет многократного повторения циклов денатурации, отжига специфических праймеров и синтеза комплементарных цепей ДНК с помощью фермента Таg-полимеразы.

## **ОЖИДАЕМЫЙ РЕЗУЛЬТАТ**

Время, затраченное на анализ 100 проб составляет 2 часа.

## **ОГРАНИЧЕНИЯ**

Противопоказания – не имеются (не выявлены). Обязательное наличие достаточного количества вирусных и бактериальных клеток в исследуемом материале

## **ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ**

Коэффициент вариации составляет менее 5% во всем диапазоне процедуры.

## **СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ**

Специфичны к фрагменту искомой ДНК.

## **СТАБИЛЬНОСТЬ**

Стабильны при минус 18-20°C в течении 12 мес.

## **ФОРМАТЫ ВЫПУСКА ТЕСТ-СИСТЕМ**

Тест-системы выпускаются в двух форматах - сухой и жидкий.

Сухой формат тест-систем предназначен для выявления ДНК/кДНК из клинических образцов методом ПЦР в режиме реального времени. Реакционная смесь и контрольные образцы в пробирках в высушенном виде.

Жидкий формат тест-систем предназначен для выявления ДНК/кДНК из клинических образцов методом ПЦР в режиме реального времени. Реакционная смесь и контрольные образцы в пробирках в жидком виде.

### **Состав для жидкого формата:**

1. Пробирки для ПЦР-1 на 0,2 мл с разлитой в них реакционной смесью.
2. Пробирка, имеющая маркировку «Дилуэнт-1».
3. Пробирка, имеющая маркировку «Фермент».
4. Пробирка, имеющая маркировку «ПКО».
5. Пробирка, имеющая маркировку «ОКО».

### **Состав для сухого формата:**

1. Пробирки для ПЦР-2 на 0,2 мл, содержащие сухую реакционную смесь.
2. Пробирка, имеющая маркировку «Дилуэнт-2».
3. Пробирки на 0,2 мл, имеющие маркировку «ПКО», содержащие сухую реакционную смесь и положительный контроль.
4. Пробирка, имеющая маркировку «ОКО».

## **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Работа должна проводиться в лаборатории с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

### **При проведении процедуры нужно:**

- исследуемые биологические образцы оценивать как инфекционно-опасные, организовывать хранение и работу в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»
- при работе с потенциально инфицированными биологическими образцами предпринимать соответствующие меры защиты: одевать спецодежду и средства индивидуальной защиты (резиновые перчатки, одноразовые халаты);
- все повреждения на руках заклеить лейкопластырем или водонепроницаемой повязкой;
- в лаборатории, где работают с потенциально опасным материалом, запрещается принимать пищу, пить, курить, брать руками контактные линзы;
- в случае загрязнения поверхностей кровью и другими биологическими жидкостями обработать их дезинфицирующими жидкостями;
- выделение НК должен проводиться в отдельно выделенном помещении зонированном как «Зона экстракции» или «Зона для выделения нуклеиновых кислот»;
- проводят ПЦР анализ в три этапа в трех отдельных помещениях (зонах);
- реагенты с истекшим сроком годности, а так же использованные реагенты следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»;

- при каждом этапе работы использовать одноразовые наконечники для автоматических дозаторов, а при отборе биологических образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром;
- используемые наконечники и одноразовую пластиковую посуду необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»;
- тест-системы готовы к использованию данной инструкции. Применять тест-системы строго по назначению;
- не использовать тест-системы, при нарушении целостности упаковки и при несоответствии внешнего вида реагентов описанию в инструкции;
- не использовать тест-системы, если были нарушены условия транспортирования и хранения;
- беречь реагенты от прямых солнечных лучей;
- держать реагенты вдали от воспламеняющихся предметов;

### **Опасности и риски, связанные с применением тест-систем, которые могут произойти:**

- аллергические реакции при вдыхании реагентов или при соприкосновении с кожей, слизистой;
- вред при приеме внутрь;

### **Причины возникновения опасностей и рисков, связанных с использованием тест-систем и способствующие им факторы:**

- неправильное или неосторожное использование;
- использование не по назначению;
- использование неквалифицированного/необученного персонала;
- несовместимость с расходными материалами / принадлежностями/другими медицинскими изделиями;

### **Защитные меры, предотвращающие возникновение опасностей и рисков:**

- работу с тест-системами проводить в строгом соответствии с инструкцией.

### **Воздействия тест-систем на организм человека:**

- канцерогенный эффект отсутствует;
- мутагенное действие отсутствует;
- репродуктивная токсичность отсутствует.

## **ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ПЕРСОНАЛА**

К процедуре проведения ПЦР-анализа допускаются лица, прошедшие специальную стажировку в молекулярно-биологической лаборатории и обученные правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней)

## **УТИЛИЗАЦИЯ**

Тест-системы с истекшим сроком годности следует утилизировать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

## **МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

1. Полипропиленовые пробирки завинчивающиеся или плотно закрывающиеся объемом 1,5 мл (Axygen, inc. или SSI, США)
2. Завинчивающиеся крышки к пробиркам (Axygen, inc. или SSI, США)
3. Флаконы полипропиленовые с завинчивающимися крышками (ООО «Меридианупак», Санкт-Петербург или ООО «Титан», Санкт-Петербург или ЗАО «Thermo Fisher Scientific», Санкт-Петербург).
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 50, до 200, до 1000 мкл (ЗАО Thermo Fisher Scientific, Санкт-Петербург)
5. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 50, до 200, до 1000 мкл (ЗАО Thermo Fisher Scientific, Санкт-Петербург)
6. Штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл (ООО «БИОКОМ», Москва)
7. Штатив для дозаторов (ООО «Ленпипет»)
8. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А («БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», ЗАО «Ламинарные системы», Россия или аналогичный)
9. Микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 мл с максимальной скоростью 14 тыс. g (Eppendorf MiniSpin plus, Eppendorf, Германия или аналогичная).
10. Вортекс (Микроспин, BioSan, Латвия или аналогичные).
11. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100°C («Гном», «ДНК-технология», Москва или аналогичный).
12. Аспиратор (FTA-1, BioSan, Латвия или аналогичные).
13. Автоматические дозаторы переменного объема («Ленпипет», ЗАО «Thermo Fisher Scientific», Санкт-Петербург или аналогичные).
14. Холодильник от 2 до 8°C с морозильной камерой от минус 24 до минус 16°C.
15. Одноразовый халат, перчатки, обувь в соответствии с МУ 1.3.2569-09.
16. Пластиковые контейнеры для сброса (ЕК-01-КМ-Проект или аналогичный).
17. Амплификатор (ДТ-96, ДНК-Технология или аналогичный)

## СОСТАВ

### Комплект для сухого формата:

Пробирки для ПЦР-2 0,2 мл	90 шт. (сухая смесь)
Дилуэнт-2	1 пробирка, 1500 мкл;
Пробирки ПКО	10 пробирок (сухая смесь);
ОКО	1 пробирка, 1000 мкл;
Инструкция	1 шт.
Паспорт	1 шт.

### Комплект для жидкого формата состоит:

Пробирки для ПЦР-1 0,2 мл	100 шт. , по 7,3 мкл;
Дилуэнт-1	1 пробирка, 700 мкл;
Фермент	1 пробирка, 100 мкл;
ПКО	1 пробирка, 150 мкл;
ОКО	1 пробирка, 1000 мкл;
Инструкция	1 шт.
Паспорт	1 шт.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Объем исследуемого клинического образца	Комплект для выделения ДНК	Комплект (формат) для амплификации	Аналитическая чувствительность, ГЭ/мл
100 мкл	Набор реагентов «Универсальный»	Сухой формат	$1 \times 10^3$
100 мкл	Набор реагентов «Универсальный»	Жидкий формат	$1 \times 10^3$



## ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Подготовка исследуемого материала.

- Пробы **исследуемых жидкостей** в объеме 10 мл (при необходимости объем проб доводят до требуемого путем добавления физиологического раствора) центрифугируют при 3 тыс об/мин в течение 10-15 мин. Если осадок практически не виден, то в эту же пробирку вносят еще 10 мл материала и повторяют центрифугирование. Надосадочную жидкость осторожно сливают, оставив над осадком примерно 0,2 мл жидкости. Осадок ресуспендируют в оставшейся надосадочной жидкости и 100 мкл его используют для экстракции ДНК.

- **Сперму** в объеме 0,5 мл разводят равным объемом физиологического раствора, осаждают на микроцентрифуге при 11-12 тыс об/мин в течение 5-10 мин, осадок, ресуспендированный в 100 мкл физиологического раствора, используют для экстракции ДНК.

- **Скобл слизистых оболочек** отбирают стерильными зондами с ватными тампонами, тампон помещается в стерильную одноразовую пробирку с физиологическим раствором (0,5 мл), осаждают на микроцентрифуге при 11-12 тыс об/мин в течение 5-10 мин. Надосадочную жидкость удаляют, а осадок ресуспендируют в 100 мкл физиологического раствора и используют для экстракции ДНК. Если слизь очень густая (не всасывается в отверстие наконечника дозатора), то к пробе добавляют 1-2 мл раствора меркаптоэтанола (0,1 М), перемешивают на вортексе, выдерживают при комнатной температуре 15-20 мин, периодически встряхивая на вортексе, и центрифугируют в вышеуказанном режиме. Осадок ресуспендируют в 100 мкл физиологического раствора и используют для экстракции ДНК.

- **Плазма** периферической крови. Для получения плазмы кровь отбирают в пробирку с 3 % раствором ЭДТА из расчета 20:1 (20 частей крови на 1 часть ЭДТА). Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают. В течение 6 ч с момента взятия крови следует отобрать плазму и перенести в новую пробирку. Для этого пробирку с кровью центрифугируют 20 мин

при 800-1600 g, после чего отбирают плазму и переносят в отдельную одноразовую пробирку. Хранить плазму можно не более 3 дней при температуре от 2 до 8° С и длительно при температуре не выше минус 68° С.

- **Кровь** отбирают в пробирку с 3 % раствором ЭДТА из расчета 10:1 (10 частей крови на 1 часть ЭДТА). Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают. Хранить кровь можно не более 3 дней при температуре от 2 до 8° С.

## ПРОТОКОЛ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР

### Работа с жидким форматом тест-систем

- Извлечь из пакета необходимое количество пробирок ПЦР–1 по числу анализируемых проб, а также по одной для положительного и отрицательного контролей, разместить их в штативе и промаркировать.
- Достать пробирки «Дилуэнт-1», «Фермент» перемешать на вортексе 1 сек. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Добавить в пробирку с «Дилуэнт-1» содержимое из пробирки «Фермент» (из расчета для одной пробы: к 6,5 мкл «Дилуэнт-1» добавить 0,8 мкл «Фермента»). Перемешать на вортексе 1 сек. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Во все пробирки ПЦР–1 добавить по 7,3 мкл приготовленной смеси. Перемешать содержимое пробирок на вортексе 1-2 сек. Для получения однородного раствора.
- Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Достать пробирку «ОКО», перемешать содержимое пробирок на вортексе. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- В пробирку для отрицательного контроля добавить 10 мкл «ОКО».
- Перемешать содержимое пробирок на вортексе 1-2 сек. Для получения однородного раствора.
- Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Достать пробирку с «ПКО» Перемешать содержимое пробирок на вортексе 1-2 сек. Для получения однородного раствора. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- В пробирку для положительного контроля добавить по 10 мкл «ПКО».
- Перемешать содержимое пробирок на вортексе 1-2 сек. Для получения однородного раствора. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Пробирки с готовой смесью для ПЦР поместить в амплификатор и запустить программу амплификации:

1 цикл:	94° С 3 мин;	
42 цикла: включающих	94° С (денатурация)	10 сек,
	6° С (отжиг праймеров)	10 сек,
	72° С (элонгация)	10 сек.
1 цикл:	72° С 1 мин.	

Произвести регистрацию полученных результатов после завершения программы амплификации.

Анализ результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналу для флуорофора FAM (или аналогичного), каналу для флуорофора HEX (или аналогичного) и каналу для флуорофора ROX (или аналогичного). По каналу FAM проходит учет внутреннего контрольного образца – хромосомной ДНК. Если в образце получены отрицательные результаты по всем каналам, то нужно переделывать данный образец с этапа экстракции

ДНК. Если при повторном исследовании отрицательный результат повторяется, то это говорит о некачественном взятии образца. Интерпретацию результатов по каналам см. во вкладыше к тест-системе.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции уровня пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла  $C_t$  в соответствующей графе в таблице результатов. Результат амплификации по каналу считается положительным, если кривая флуоресценции имеет типичный для ПЦР в реальном времени S-образный вид, однократно пересекается с пороговой линией в области достоверного прироста флуоресценции, отрицательным в случае отсутствия кривой типичной формы и пересечения с пороговой линией (нет значения  $C_t$  или  $C_p$ ) и сомнительным во всех других случаях.

## РАБОТА С СУХИМ ФОРМАТОМ ТЕСТ-СИСТЕМ

- Извлечь из пакета необходимое количество пробирок ПЦР-2 по числу анализируемых проб и отрицательного образца, а также одну «Пробирку ПКО», разместить их в штативе и промаркировать.
- Достать пробирки «Дилуэнт-2» и «ОКО» Перемешать содержимое пробирок на вортексе. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Добавить во все пробирки 15 мкл содержимого пробирки «Дилуэнт-2» и 10 мкл содержимого пробирки «ОКО». Перемешать на вортексе 1 сек. Центрифугировать для сброса смеси с крышки пробирки 1 сек.
- Пробирки с готовой смесью для ПЦР поместить в амплификатор и запустить программу амплификации:

1 цикл:	94° С 3 мин;	
42 цикла: включающих	94° С (денатурация)	10 сек,
	6° С (отжиг праймеров)	10 сек,
	72° С (элонгация)	10 сек.
1 цикл:	72° С 1 мин.	

Произвести регистрацию полученных результатов после завершения программы амплификации.

Анализ результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналу для флуорофора FAM (или аналогичного), каналу для флуорофора HEX (или аналогичного) и каналу для флуорофора ROX (или аналогичного). По каналу FAM проходит учет внутреннего контрольного образца – хромосомной ДНК. Если в образце получены отрицательные результаты по всем каналам, то нужно переделывать данный образец с этапа экстракции ДНК. Если при повторном исследовании отрицательный результат повторяется, то это говорит о некачественном взятии образца. Интерпретацию результатов по каналам см. во вкладыше к тест-системе.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции уровня пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла  $C_t$  в соответствующей графе в таблице результатов. Результат амплификации по каналу считается положительным, если кривая флуоресценции имеет типичный для ПЦР в реальном времени S-образный вид, однократно пересекается с пороговой линией в области достоверного прироста флуоресценции, отрицательным в случае отсутствия кривой типичной формы и пересечения с пороговой линией (нет значения  $C_t$  или  $C_p$ ) и сомнительным во всех других случаях.

**Примечание:** если реакция проходит по каналам R6G(HEX), ROX для инфекций, а по каналу FAM то реакция считается положительной. Если реакция не прошла по всем каналам (заявленным в инструкции к набору), то нужно заново выделить нуклеиновую кислоту из пробы, т.к. возможно выделение прошло плохо. Так же возможно, что образец был отобран не качественно, произошел лизис клеток и в связи с этим проба является не пригодной для анализа, что требует повторный отбор образца.

## **СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЕ**

Хранение тест-систем в сухом формате осуществляется при температуре 2-25° С.

Хранение тест-систем в жидком формате осуществляется при температуре минус 18-20° С.

Транспортировка Тест-систем в жидком формате должна производиться всеми видами крытых транспортных средств с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре минус 18-20° С.

Допускается транспортировка при температуре минус 2-5° С в течении 3 дней.

Транспортировка Тест-систем в сухом формате должна производиться всеми видами крытых транспортных средств с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре 2-25° С.

Срок годности 12 месяцев. Тест-системы с истекшим сроком годности применению не подлежат. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов.

## ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик Тест-систем всем требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течении указанного срока годности при соблюдении всех условий хранения и транспортирования.

Рекламация на **Тест-системы для выявления инфекционных патогенов методом ПЦР в режиме реального времени** направлять предприятию-производителю ООО «Биологическая среда» ( 127015, город Москва, улица Большая Новодмитровская д.23, стр.3), в отдел рекламаций (e-mail Jigon@mail.ru).

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции, при использовании Тест-систем, фактов, создающих вред здоровью рекомендуется направить информационное письмо в отдел по работе с рекламациями предприятия –производителя, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения РФ) в соответствии с законодательством РФ.

**Согласовано**

**Руководитель испытательной  
Лаборатории**

**ФИО**

## ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКИ



производитель



изделие для in vitro диагностики

Лист вносимых изменений  
Редакция

Место внесения  
изменений

Суть вносимых  
изменений



