

# НАБІР РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ В12 МЕТОДОМ ІФА

## Vitamin B-12 (Vit B12) Test System

Кат. №: 7625-300A

Дата випуску інструкції: 16-07-2019  
Версія: 6



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу і перекладу інструкції повинні збігатися.

### 1.0 ВСТУП

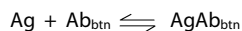
**Призначення:** Кількісне визначення концентрації вітаміну В12 в людській сироватці за допомогою ІФА, Колориметричний.

**2.0 ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ** (Див. Оригінал інструкції).

### 3.0 ПРИНЦИП МЕТОДУ

#### Конкурентний імуноаналіз з затримкою (тип 9):

Реагенти, що вимагаються для твердофазного імуноферментного аналізу, включають антитіла, кон'югат ферменту з антигеном і нативний антиген. При змішуванні біотинильованих антитіл з антигеном, що містить сироватку, відбувається реакція між антигеном і антитілом. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:

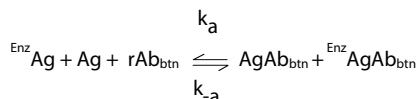


$Ab_{btm}$  = біотинильовані антитіла

$Ag$  = антиген (змінна кількість)

$AgAb_{btm}$  = комплекс антиген-антитіло

Після короткої інкубації додається ферментний кон'югат (це відкладене на пізніше додавання дозволяє підвищити чутливість для зразків з низькою концентрацією). Після додавання ферментного кон'югату відбувається конкуренція між ферментним аналогом і антигеном в зразку за обмежену кількість зв'язуючих сайтів (не використаних в першій інкубації).



${}^{Enz}Ag$  = кон'югат фермент-антиген (постійна величина)

${}^{Enz}AgAb_{btm}$  = комплекс кон'югат – антитіло

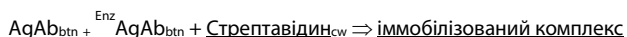
$rAb_{btm}$  = біотинильоване антитіло, яке не прореагувало під час першої інкубації

$k_a$  = константа швидкості асоціації

$k_{-a}$  = константа швидкості дисоціації

$K = k_a/k_{-a}$  = константа рівноваги

Відбувається реакція між біотином, пов'язаним з антитілами, і Стрептавідином, іммобілізованим в лунках мікропланшетів. Це дозволяє відокремити фракцію, пов'язану з антитілами, при декантуванні або аспірації.



Стрептавідин<sub>cw</sub> = стрептавідин, іммобілізований в лунках

Іммобілізований комплекс = «сандвіч» комплекс, пов'язаний з твердою фазою (поверхнею лунок)

Активність ферменту у фракції пов'язаних антитіл обернено пропорційна концентрації нативного антигену. При використанні декількох стандартів з відомим значенням концентрації антигену будується калібрувальна крива, по якій обчислюється концентрація в зразках.

## 4.0 РЕАГЕНТИ

Матеріали, що постачаються:

### A. Калібратори Вітаміну В12 - 1 мл (мл)/флакон

6 флаконів референтної сироватки з концентраціями Вітаміну В12 0 (A), 100 (B), 200 (C), 400 (D), 1000 (E) і 2000 (F) пг/мл (pg/ml). Зберігати при 2-8 °C (°C). Містить консерванти.

Концентрації стандартів можуть бути виражені в молях (пмоль/л), множенням на коефіцієнт 0.738. Наприклад: 100 пг/мл (pg/ml) x 0.738 = 73.8 пмоль/л (pmol/l).

### B. Ферментний реагент Вітаміну В12 - 7.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить Вітамін В12 (аналог) з пероксидазою хрому (HRP) в білковому стабілізуючому розчині. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### C. Біотинильований реагент Вітаміну В12 - 7.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить біотинильовані антитіла до Вітаміну В12, очищені кон'юговані кролячі IgG в буфері, синій барвник, консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### D. Планшет, покритий Стрептавідином - 96 лунок

Один 96-лунковий мікропланшет, покритий 1.0 мкг/мл (µg/ml) стрептавідину і запакований в алюмінієву фольгу з осушувачем. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### E. Концентрат буфера для промивок - 20.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить ПАВ в фосфатному сольовому буфері. Містить консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### F. Реагент субстрату - 12.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить ТМБ і перекис водню в буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### G. Стоп-розчин - 8.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить сильну кислоту (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Зберігати при 2-8 °C (°C).

### H. Вивільнюючий агент - 14.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить сильну основу (гідроксид натрію) і цианід калію. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### I. Стабілізуючий агент - 0.7 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить розчин ТСЕГ. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### J. Нейтралізуючий буфер - 7.0 мл (мл)/флакон

Один флакон, що містить буфер, що знижує рН екстракції зразка. Зберігати при 2-8 °C (°C).

### K. Інструкція до набору.

**Зауваження 1:** Не використовуйте реагенти з вичерпаним терміном придатності.

**Зауваження 2:** Не піддавати впливу тепла та сонця. Відкриті реагенти стабільні 60 днів при зберіганні від 2 до 8 °C (°C). стабільність набору і компонентів визначені на етикетці.

**Зауваження 3:** Перераховані реагенти є достатніми для одного 96-лункового мікропланшета.

### 4.1 Необхідні, але не надані з набором матеріали

1. Мікродозатори на 50 і 100 мкл (µl) з точністю не гірше 1.5%
2. Диспенсери на 100 і 350 мкл (µl) з точністю не гірше 1.5%
3. Диспенсери змінного об'єму (200-1000 мкл (µl)) для кон'югату
4. Скляні тестові пробірки для калібраторів, контролів і зразків
5. Мікропланшетний вошер або пляшка під тиском
6. Мікропланшетний рідер з фільтрами 450 нм (nm) і 620 нм (nm)
7. Фільтрувальний папір для висушування лунок
8. Поліетиленова плівка або кришка для інкубації мікропланшетів
9. Вакуумний аспіратор (опційно) для промивок
10. Таймер
11. Контрольні матеріали

### 5.0 ЗАУВАЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

**Набір призначений тільки для діагностики in-vitro  
Не для внутрішнього або зовнішнього використання  
на людях або тваринах**

Використовувана для виготовлення компонентів набору людська сироватка протестована методами, схваленими FDA, в яких отримані негативні результати на наявність антитіл до ВІЛ 1 та 2, HCV і поверхневого антигену гепатиту В. Однак, оскільки не існує методів, що дають повну гарантію відсутності інфекційних агентів, з реагентами слід поводитися з обережністю, як з потенційно небезпечним біоматеріалом, що рекомендується для будь-яких зразків крові згідно правил кваліфікованої лабораторної практики. Рекомендації дивіться в національних посібниках з біобезпеки або, наприклад, в "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, "2nd Edition, 1988, HHS.

Безпечна утилізація компонентів набору повинна відповідати вимогам місцевої регуляторної та нормативної бази.

## 6.0 ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

Зразками служать кров, сироватка за типом; дотримуватись звичайних запобіжних заходів при зборі зразків венепункцією. Для точного порівняння, щоб встановити нормальні значення, зразок сироватки повинен бути отриманий натщесерце вранці. Кров слід збирати в пробірки з червоним верхом Redtop (з або без добавок гелю) або для плазми використовувати вакуумні трубки, що містять гепарин. Дайте крові згорнутися для зразків сироватки. Центрифугувати зразки, щоб відокремити сироватку або плазму від клітин.

У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто > 5 мг (mg)/добу), не слід брати зразок, поки щонайменше 8 годин не пройнуть після останнього введення біотину, бажано протягом ночі, щоб забезпечити пробу натще.

Зразки можуть зберігатися при 2-8 °C (°C) до 5 днів. Якщо зразки не можуть бути проаналізовані протягом цього часу, то вони можуть зберігатися при температурі -20 °C (°C) протягом до 30 днів. Уникайте використання забруднених пристроїв. Уникайте повторного заморожування і відтавання. При аналізі в дублікатах необхідно 100 мкл (µl) зразка.

## 7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна використовувати контроль в низькому, середньому та високому діапазоні значень для відстеження характеристик набору. Ці контролю повинні досліджуватися як невідомі зразки в кожній постановці аналізу. Повинні будуватися карти контролю якості для відстеження характеристик реагентів, що поставляються. Слід застосовувати прийнятні статистичні методи для встановлення відхилень. Значні відхилення від встановлених характеристик можуть свідчити про зміни в умовах експерименту або зниження якості реагентів набору. Для визначення причини змін повинні бути використані свіжі реагенти.

## 8.0 ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

### 1. Буфер для промивок

Розбавте концентрат розчину для промивання до 1000 мл (ml) дистильованою або деіонізованою водою. Зберігайте при кімнатній температурі (2-30 °C (°C)) до 60 днів.

### 2. ЕКСТРАКЦІЙНИЙ АГЕНТ

Додати аликвоту стабілізуючого агента для того, щоб підготувати 1/40 (стабілізуючий агент/вивільнюючий агент) розведеного розчину. Наприклад, щоб підготувати 4 мл (ml) (4000 мкл (µl)), додати 0.100 мл (ml) (100 мкл (µl)) стабілізуючого агента до 3.9 мл (ml) (3900 мкл (µl)) вивільнюючого агента.

### 3. ЕКСТРАКЦІЯ ЗРАЗКА (Див. зауваження 3)

Підготувати достатню кількість пробірок для підготовки всіх зразків пацієнтів, контролів і калібраторів. Розлити 0.10 мл (ml) (100 мкл (µl)) всіх зразків в окремі пробірки. Піпетувати 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) підготовленого екстракційного агента в кожен пробірочку, струшуючи (див. примітку 3) після кожного додавання. Дозволити реакції протікати протягом 15 хвилин. Наприкінці 15 хвилин додати 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) нейтралізуючого буфера, перемішати (див. примітку 3) після кожного додавання, закінчити екстракцію.

**Зауваження 1:** Не використовуйте робочий розчин субстрату, якщо він придбав блакитне забарвлення.

**Зауваження 2:** Не використовувати забруднені реагенти і реактиви з видимим ростом бактерій.

**Зауваження 3:** Використання мультисенсорного (3) вортекса рекомендується.

**Зауваження 4:** Надзвичайно важливим є точне дозування правильного об'єму з використанням каліброваної піпетки і внесення близько до нижньої частини скляних пробірок під кутом, торкаючись стінки пробірки.

**Зауваження 5:** Зразки з високою концентрацією білка необхідно розвести 1:1 з сольовим розчином перед проведенням екстракції.

**Зауваження 6:** Зверніться до [www.monobind.com/education-center](http://www.monobind.com/education-center) щодо покрокової інструкції з екстракції зразків для вітаміну B12 (та фолату).

## 9.0 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

Перед початком аналізу всі реагенти, стандарти і контролю повинні досягти кімнатної температури (20-27 °C (°C)).

**\*\*Процедура тестування повинна виконуватися кваліфікованою людиною або навченим професіоналом\*\***

- Виберіть необхідну кількість лунок для зразків, стандартів і контролів для постановки в дублях. Поверніть невикористані смужки в алюмінієвий пакет і закрийте його. Зберігайте при 2-8 °C (°C).
- Додайте піпеткою по 50 мкл (µl) відповідних екстрагованих калібратора Вітаміну B12, контролю або зразка у відповідні лунки.
- Додати 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) Біотинового Реагенту Вітаміну B12 в усі лунки.

- Струшуйте мікропланшет обережно протягом 20-30 секунд для перемішування.
- Накрийте та інкубуйте 45 хвилин при кімнатній температурі.
- Додайте по 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) ферментного реагенту Вітаміну B12 в кожен лунку.

Додавати точно зверху на внесені в лунки реагенти.

- Добре перемішайте мікропланшет протягом 20-30 секунд.
- Накрийте мікропланшет і інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі.
- Видаліть вміст лунок декантациєю або аспірацією. Висушіть планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантация.
- Додайте 350 мкл (µl) промивного буфера (див. розділ «Приготування реагентів») і видаліть його. Повторіть процедуру ще два рази (загальна кількість циклів промивки - 3). Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника приладів. Якщо використовується пляшка під тиском, наповнити кожен лунку до верху (уникайте повітряних бульбашок).
- Додайте по 100 мкл (µl) Робочого розчину субстрату в кожен лунку. Завжди додавайте реагенти в одній і тій же послідовності і з однаковою швидкістю, щоб уникнути відмінностей у часі реакції в різних лунках.

НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ СУБСТРАТУ

- Інкубуйте 20 хвилин при кімнатній температурі.
- Зупиніть розвиток забарвлення додаванням в кожен лунку 50 мкл (µl) стоп-розчину і перемішайте протягом 15-20 секунд. Завжди додавайте реагенти в одній і тій же послідовності і з однаковою швидкістю, щоб уникнути відмінностей у часі реакції в різних лунках.
- Виміряйте величини поглинання вмісту лунок на довжині хвилі 450 нм (nm) (вимірювання проводити при референсній довжині хвилі 620-630 нм (nm)). Виміри повинні бути проведені протягом 15 хвилин після додавання стоп-розчину.

**Примітка:** Розвести зразки з концентраціями вище 2000 пг/мл (pg/ml) 1:5 або 1:10 '0' Калібратором і знову проаналізувати.

## 10.0 РЕЗУЛЬТАТИ

Для визначення концентрації Вітаміну B12 в невідомих зразках використовується калібрувальна крива.

- Запишіть значення оптичної щільності для всіх лунок як показано в прикладі 1.
- Для побудови калібрувальної кривої на лінійному графічному папері використовуйте кожен з двох оптичних густин для кожного стандарту залежно від концентрації Вітаміну B12 в пг/мл (pg/ml) (не розраховуйте середнього значення до побудови).
- Проведіть оптимальну калібрувальну криву.
- Для визначення концентрації Вітаміну B-12 в невідомих зразках знайти середню абсорбцію дублікатів для кожного невідомого на вертикальній осі графіка, знайти точку перетину з кривою і концентрацію (в пг/мл (pg/ml)) з горизонтальної вісі графіка (дублікати невідомих зразків можуть бути усереднені). У наступному прикладі, середня абсорбція (1.53) перетинає криву в точці 391.4 пг/мл (pg/ml) (малюнок 1).

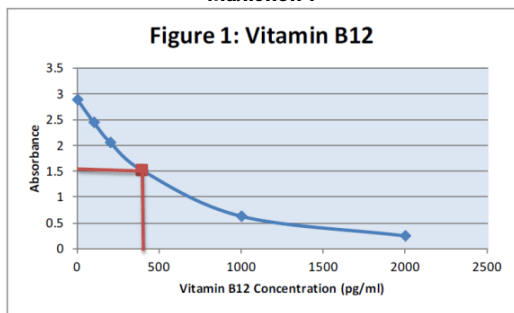
**Примітка:** Програмне забезпечення для обробки даних, призначене для аналізу ІФА, може також використовуватися. Якщо таке програмне забезпечення використовується, слід виконати перевірку програмного забезпечення.

Приклад 1

Зразок	Лунка	Абсорбція (A)	Середнє абсорбції (B)	Концентрація (пг/мл (pg/ml))
Калібратор А	A1	2.898	2.89	0
	B1	2.891		
Калібратор В	C1	2.495	2.45	100
	D1	2.415		
Калібратор С	E1	2.107	2.06	200
	F1	2.023		
Калібратор D	G1	1.544	1.51	400
	H1	1.468		
Калібратор E	A2	0.662	0.63	1000
	B2	0.604		
Калібратор F	C2	0.263	0.25	2000
	D2	0.239		
Зразок	G2	1.479	1.53	391.4
	H2	1.573		

\* Дані, таблиці та рисунки нижче тільки для прикладу. Не використовуйте їх для розрахунку результатів.

Малюнок 1



Absorbance - Абсорбція

Vitamin B12 Concentration (pg/ml) - Концентрація Вітаміну B12 (нг/мл)

### 11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу можна вважати достовірними, якщо дотримуються наступні умови:

1. Оптична щільність калібратора 0 пг/мл (pg/ml)  $\geq 1.8$ .
2. Чотири з шести контролів якості повинні укладатися у встановлені інтервали.

### 12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

MSDS та Форма Аналізу Ризиків для даного продукту доступні за запитом від Monobind Inc.

#### 12.1 Якість роботи набору

1. Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.
2. Піпетування зразків не повинно перевищувати 10 хвилин.
3. Не використовувати високо ліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
4. Якщо використовується більше, ніж один планшет, рекомендується повторювати калібрувальну криву.
5. Додавання субстратного розчину ініціює кінетичну реакцію, яка зупиняється при додаванні стоп-розчину. Отже, додавання субстрату і стоп-розчину повинно проводитися в однаковій послідовності для усунення відмінностей у часі реакції в різних лунках.
6. Вимірювання оптичної щільності на рідері проходить вертикально. Не торкайтеся до дна мікролунок.
7. Погана промивка лунок (неповне видалення розчину під час аспірації) може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
8. Використовуйте компоненти тільки з одного лота. Не змішуйте реагенти з різних партій.
9. Правильне і точне піпетування, а також дотримання точного часу і температурних вимог є необхідними умовами. Будь-які відхилення від встановлених Monobind можуть давати невірні результати.
10. Дотримуватись всіх встановлених норм роботи лабораторної практики для забезпечення нормальної роботи пристрою.
11. Важливим є калібрування всього обладнання, тобто, піпеток, рідера, вошера та/або автоматизованих інструментів, які використовуються з даним пристроєм. Також обов'язковим є належний догляд і обслуговування пристрою.
12. Аналіз ризиків відповідно до вимог Директиви 98/79/EC IVD щодо цього та інших пристроїв, виготовлених Monobind, можна надіслати електронною поштою на адресу [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com).

#### 12.2 Інтерпретація результатів

1. Вимірювання та інтерпретація результатів повинні бути виконані кваліфікованим навченим професіоналом.
2. Лабораторні результати не можуть бути єдиним критерієм для визначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
3. Реагенти для процедури були розроблені для усунення максимальних перешкод; однак потенційна взаємодія між рідкісними зразками сироватки та тест-реаكتивами може спричинити помилкові результати. Гетерофільні антитіла часто викликають ці взаємодії і, як відомо, є проблемами для всіх видів імунологічних аналізів. (Boscato LM Stuart MC. Гетерофільні антитіла: проблема для всіх імуоферментних клінічних досліджень. Chem 1988: 3427-33). Для діагностичних цілей слід використовувати результати цього аналізу в поєднанні з клінічним обстеженням, анамнезом пацієнта та всіма іншими клінічними результатами.
4. Для отримання дійсних результатів адекватні контролі та інші параметри повинні знаходитись в межах встановлених норм.
5. **Monobind не несе відповідальності** за результати тесту в разі, якщо складові набору були замінені іншими складовими з інших наборів, або якщо результати були інтерпретовані невірно.

6. Якщо для обробки результатів тесту використовується комп'ютер, то розраховані значення стандартів не повинні відхилятися більш, ніж на 10% від приписаних значень концентрації.

### 13.0 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Відповідно до встановлених референтних інтервалів для «нормальної» популяції очікувані діапазони для даної тестової системи детально викладені в таблиці 1.

ТАБЛИЦЯ 1

Очікувані значення для Вітаміну B12

Населення	пг/мл (pg/ml)	пмоль/л (pmol/l)
Новонароджені	160 - 1300	118 - 959
Дорослі	200 - 835	148 - 616
Дорослі > 60 років	110 - 800	81 - 590

Важливо мати на увазі, що встановлений діапазон значень, який можна очікувати у даної популяції «нормальних» людей з використанням даного методу, залежить від безлічі факторів: специфічності методу, популяції, яка тестується, і точності методу в руках лаборанта. З цих причин кожна лабораторія повинна встановити свій власний діапазон нормальних значень.

### 14.0 ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ

#### 14.1 Точність

Точність набору всередині серії і між серіями визначалася в аналізі пулів сироваток трьох різних рівнів. Кількість (N), середнє значення (x), стандартне відхилення ( $\delta$ ) і коефіцієнт варіації (C.V.) для цих сироваток наведені в таблицях 2 і 3.

ТАБЛИЦЯ 2

Точність в аналізі (пг/мл (pg/ml))

Зразок	N	x	$\delta$	C.V., %
Низький	20	334.8	24.3	7.3 %
Нормальний	20	484.9	17.6	3.6 %
Високий	20	925.3	28.3	3.1 %

ТАБЛИЦЯ 3

Точність між аналізами (пг/мл (pg/ml))

Зразок	N	x	$\delta$	C.V., %
Низький	18	314.9	49.4	15.7%
Нормальний	18	441.3	46.7	10.6%
Високий	18	913.1	39.4	4.8%

\*вимірювання проводились в 10 постановках в дублях протягом 10 днів.

#### 14.2 Чутливість

Чутливість методу склала 70.13 пг/мл (pg/ml). Чутливість (межа визначення) визначений статистично як концентрація, відповідна значенню оптичної щільності нульового стандарту 0 пг/мл (pg/ml) плюс  $2\sigma$  ( $\sigma$  - Стандартне відхилення) при 95% довірчому інтервалі.

#### 14.3 Достовірність

Справжній метод порівнювався з затвердженим референтним хемілюмінесцентним методом. Використовувалися зразки з низьким, середнім і високим вмістом вітаміну B12 (діапазон значень 156-1830 пг/мл (pg/ml)). Загальна кількість зразків була 56. Було виведено рівняння лінійної регресії і був розрахований коефіцієнт кореляції для даного методу в порівнянні з референтним методом. Отримані дані наведені в таблиці 4.

ТАБЛИЦЯ 4

Метод	Середнє (x)	Рівняння регресії	Коефіцієнт кореляції
Даний метод (Y)	654.3	$y = 1.0186x - 48.82$	0.9506
Метод порівняння (X)	690.2		

Тільки незначна розбіжність даного методу і референс-методу була виявлена, що доводить близькі середні значення. Рівняння регресії і коефіцієнт кореляції показують прекрасну узгодженість методів.

#### 14.4 Специфічність

Перехресні реакції антитіл до Вітаміну B12 з різними речовинами оцінювалися додаванням речовин, що впливають, в сироватку в різних концентраціях. Крос-реактивність розраховувалася як відношення між дозою інтерферуючої речовини і дозою вітаміну B12, необхідного для заміщення цієї кількості речовини.

Речовина	Перехресна реактивність
Білірубін	0.0003
Ревматоїдний фактор	0.0008
Кобінамід	< 0.0001
Ліпемія	< 0.0001
Гемоглобін	< 0.0001



#### ВИРОБНИК

<p>MONOBIND INC. 100 North Pointe Dr. Lake Forest, CA 92630 - USA Phone: 949.951.2665 Fax: 949.951.3539 <a href="http://www.monobind.com">www.monobind.com</a></p>	<p>МОНОБАЙНД ІНК 100 Норд Поінт Драйв Лейк Форест, Каліфорнія 92630 - США Тел.: 949.951.2665 Факс: 949.951.3539 <a href="http://www.monobind.com">www.monobind.com</a></p>
--	--



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

