

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО С-ПЕПТИДА

## EIA-1293, C-Peptide

Каталог. № : EIA-1293  
Количество : 96  
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 09-2012  
Версия 11.0



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

### ВСТУПЛЕНИЕ

Иммуноферментный анализ для количественного определения человеческого С-пептида в сыворотке, плазме или моче человека. Только для диагностического использования in vitro

### Краткая информация

Инсулин синтезируется в поджелудочной железе  $\beta$ -клетками островков Лангерганса как компонент весом 6000 Да и состоящий из 86 остатков аминокислот полипептид под названием проинсулин. Проинсулин подвергается последовательному ферментному расщеплению, высвобождая инсулин в циркуляторное русло вместе с оставшимся фрагментом весом 3000 Да и называемым Связывающий («С») Пептид. Назван он так, потому что связывает А и В цепи инсулина внутри молекулы проинсулина. Человеческий С-Пептид – это пептид, состоящий из 31 аминокислоты, с молекулярным весом около 3000 Да. Он не влияет на метаболизм. Однако, так как С-Пептид и Инсулин секретируются в эквивалентных количествах, ИФА на С-пептид позволяет подсчитать секрецию инсулина. Это и есть смысл для определения С-пептида в сыворотке и моче. Тем более, Измерение С-пептида имеет несколько преимуществ по сравнению с измерением инсулина.

Период полураспада С-пептида в кровотоке от 2 до 5 дольше, чем у инсулина. Поэтому уровень С-пептида более показателен и стабилен, чем инсулиновый, который, в свою очередь, не стабилен и способен резко меняться. Совершенно ясное практическое преимущество измерения С-пептида, идущее от его относительной метаболической инертности по сравнению с инсулином, – это то, что уровень С-пептида в периферической венозной крови около 5 – 6 раз выше уровня инсулина. Также, по сравнению с тестом на инсулин, тест на С-пептид позволяет определить уровень эндогенного инсулина и отличить его от введенного. Поэтому низкий уровень С-пептида должен проявиться, когда синтез инсулина снижен (как при инсулин-зависимом диабете) или подавлен (как нормальный ответ на введение экзогенного инсулина), в то время как повышенный уровень С-пептида может быть результатом гиперактивности  $\beta$ -клеток, наблюдаемой при инсулиномах. С-пептид может также применяться как вспомогательный тест на толерантность к глюкозе, а также глюкозный тест на глибенкламид. Для измерения секреции эндогенного инсулина лучше измерять С-пептид, чем периферический инсулин. С-пептид можно измерять как в крови, так и в моче. Современные методы ИФА позволяют определять предельно низкие концентрации С-пептида. Клинические показания для определения С-пептида включают в себя диагностику инсулиномы и различие от искусственно созданной гипогликемии, отслеживание последствий панкреатектомии, а также оценка жизнеспособности пересаженных клеточных трансплантатов. Недавно эти показания были серьезно расширены возможностью оценивать инсулиновую зависимость при приступах сахарного диабета у взрослых.

### Клинические показания для DRG® C-Peptide ELISA

- Оценка функционирования остатков  $\beta$ -клеток у диабетиков под инсулинотерапией
- Определение и мониторинг стадии ремиссии диабета I типа
- Дополнение к дифференциальной диагностике диабета I типа (инсулинзависимого) и II типа (инсулиннезависимого)
- Диагностика усиленной инсулином искусственной гипогликемии
- Вклад в диагностику инсулиномы (тест на инсулиновую супрессию)
- Прогноз возможности выкидыша у беременных женщин-диабетиков
- Оценка секреции инсулина при заболеваниях печени
- Мониторинг последствий панкреатектомии

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

DRG С-пептид ИФА это твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) основанный на принципе конкурентного связывания. Микротитровальные лунки покрыты анти-мышинными антителами, которые связывают моноклональные антитела к уникальному антигенному сайту на молекуле С-пептида. Эндогенный С-пептид образцов пациента конкурирует с конъюгатом С-пептид-пероксидазы хрена за центры связывания коатированных на поверхности лунок антител. После инкубации несвязанный конъюгат удаляется промывкой. Количество связанного конъюгата обратно пропорционально концентрации С-пептида в образце. После добавления раствора субстрата интенсивность появившегося цвета обратно пропорциональна концентрации С-пептида в образце.

### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Данный набор предназначен только для in vitro диагностики и профессионального использования.
2. Все реагенты этого набора, которые содержат сыворотку или плазму человека, были протестированы и показали отрицательный результат на HIV I/II, HBsAg and HCV по методам одобренным FDA. Однако, не существует методов, гарантирующих полное отсутствие этих веществ. Поэтому, все продукты человеческой крови, включая образцы сыворотки, должны считаться потенциально опасными.
3. Перед началом исследования прочитайте инструкцию полностью и внимательно. Используйте действительную версию инструкции, приложенную к набору. Убедитесь, что вам все понятно.
4. Микротитровальная плашка содержит делимые стрипы. Неиспользованные лунки должны храниться при 2 °C - 8 °C в пакете из фольги и использоваться с поставляемой рамкой.
5. Пипетирование образцов и реагентов должно осуществляться как можно быстрее и
  1. с одинаковыми временными интервалами.
6. Используйте резервуары только для одного компонента. Это особенно важно для резервуаров с субстратом. Использование для разлива субстрата емкости, которая прежде использовалась для раствора конъюгата, может привести к изменению цвета раствора. Не сливайте реагенты обратно в флаконы, тк это может привести к контаминации реагентов.
7. Для получения достоверных результатов тщательно перемешивайте содержимое лунок. Не используйте лунки повторно.
8. Не позволяйте лункам высохнуть во время анализа; добавьте реагенты сразу после промывки.
9. Перед анализом доведите все компоненты до комнатной температуры (21-26°C). Температура влияет на показания абсорбции. Тем не менее, не будет влияния на образцы пациентов.
10. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте контакта реагентов и образцов с кожей и слизистыми.
11. Нельзя есть, пить, курить или наносить косметику в месте работы с реагентами.
12. Надевайте одноразовые перчатки при раскапывании образцов и реагентов.

13. Работа с реагентами должна проводиться в соответствии с процедурами, утвержденными соответствующим управлением биологической безопасности и регулирования.
14. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке.
15. Все указанные объемы должны соблюдаться в соответствии с инструкцией. Оптимальные результаты возможны только при использовании калибровочных пипеток и микропланшетного ридера.
16. Не смешивайте и не используйте компоненты из различных лотов. Рекомендуется не менять лунки разных плашек даже одного лота. Наборы могут транспортироваться или храниться в разных условиях и в результате характеристики связывания у плашек могут отличаться.
17. Избегайте контакта со стоп раствором – 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1M HCL. Это может вызвать раздражения кожи или ожоги.
18. Некоторые реагенты содержат Проклин 300, БНД и/или МИТ в качестве консервантов. В случае их контакта с глазами или кожей, промойте этот участок водой.
19. Раствор субстрата ТМБ оказывает раздражающий эффект на кожу и слизистые. В случае контакта, промойте глаза с большим объемом воды и кожу с мылом и большим количеством воды. Промойте загрязненные объекты перед повторным использованием. В случае вдыхания реагентов, выведите человека на свежий воздух.
20. Химикаты и готовые и использованные реагенты должны быть утилизированы как биологически опасные в соответствии с региональными нормами.
21. Информацию об опасных реагентах, используемых в этом наборе, вы можете найти в Паспорте безопасности. Он также доступен по запросу в ДРГ.

#### КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

1. **Микротитровальный планшет**, покрытый анти-мышинными антителами, 96 лунок.
2. **Стандарты (0-5)**, 6 флаконов по 0.75 мл 0 – 16 пг/мл (см. этикетки на флаконах).
3. **Раствор для разведения образцов**, 1 флакон, 3 мл, готов к использ.
4. **Антисыворотка**, 1 флакон, 7 мл., готова к использ., мышинные моноклональные антитела к С-пептиду.
5. **Ферментный конъюгат**, 1 флакон, 14 мл, готов к использ., биотинилированный С-пептид.
6. **Ферментный комплекс**, содержащий пероксидазу хрена, 1 флакон, 14 мл.
7. **Субстрат - ТМБ**, 1 флакон, 14 мл.
8. **Стоп-раствор**, 1 флакон, 14 мл, 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
9. **Промывочный буфер**, концентрированный, 40X, 30 мл (см. приготовление реагентов)

#### МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ, НО НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

1. Микроплащечный ридер (450±10 нм), например DRG E-LIZA MAT 3000
2. Прецизионные микропипетки с одноразовыми наконечниками на 100, 200 и 1000 мкл.
3. Дистиллированная вода
4. Абсорбирующая бумага

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

При температуре хранения от 2 до 8 °С не вскрытые реагенты сохраняют активность до истечения срока годности. После истечения этой даты реагенты использовать не рекомендуется.

Конъюгат, субстрат, стандарты и нулевой стандарт должны храниться при 2-8 °С.

Микропланшета должна храниться при 2-8 °С. После вскрытия фольгированного пакета при хранении пакет необходимо держать плотно закрытым.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

##### Стандарты:

восстановите лиофилизированные стандарты 0,75 мл дистиллированной воды. Восстановленные стандарты стабильны до в течение 3-х дней при 2 – 8 °С. Для более длительного хранения стандарты нужно поделить на аликвоты и заморозить до – 20 °С

##### Промывочный раствор:

разведите 30 мл концентрата промывочного раствора 1170 мл деионизированной воды (до объема 1200 мл) Разведенный промывочный раствор стабилен в течение 2 недель при 2 – 8 °С.

##### Утилизация набора

Использованный набор должен быть утилизирован в соответствии с местными нормами и правилами.

##### Повреждение набора

В случае повреждения набора или его компонентов необходимо информировать ДРГ в течение недели с момента получения набора. Поврежденные компоненты не могут использоваться в постановке. Они хранятся до принятия решения. После этого они должны быть утилизированы в соответствии с местными нормами.

#### ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

С этим набором можно анализировать сыворотку, плазму (ЭДТА, гепарин- или цитратную) или мочу.

Не использовать сильно гемолизированные, желтушные или жирные образцы.

**Сыворотка:** Соберите кровь венопункцией, дайте свернуться и отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре. Не центрифугируйте до полного свертывания крови. У образцов пациентов с антикоагулянтной терапией на свертывание может потребоваться больше времени.

**Плазма:** Сразу после забора крови поместите её в пробирку для центрифугирования с антикоагулянтом внутри и немедленно отцентрифугируйте

**Моча:** Весь объем мочи, выделенный за 24 часа, должен быть собран и перемешан в одном контейнере.

Замечание: Образцы должны храниться при 2 – 8 °С в течение периода сбора. Общий собранный объем должен быть записан.

#### Хранение образцов

**Сыворотка/плазма:** Образцы должны быть закрыты и могут храниться до 24 часов при 2-8° С перед использованием. Образцы, сохраняемые дольше можно замораживать только 1 раз до температуры - 20°С. Размороженные образцы необходимо смешать переворачиванием несколько раз перед использованием.

**Моча:** В анализе можно использовать аликвоту хорошо перемешанного образца. Центрифугируйте до оседания частиц. Образцы мочи могут храниться до 36 часов при 2 – 8 °С. Для более длительного хранения заморозьте образец один раз при - 20°С.

#### Разведение образцов

Если при первом анализе обнаруживается, что образец имеет более высокую концентрацию, чем самый высокий стандарт, такие образцы необходимо развести раствором для разведения образцов и протестировать повторно согласно описанию процедуры анализа.

а) разведение 1:10: 10 мкл образца + 90мкл раствора для разведения образцов (тщательно смешать)

б) разведение 1:100: 10 мкл раствора 1:10 (а) + 90мкл раствора для разведения образцов (тщательно смешать)

**Моча:** развести 1:20 Раствором для разведения образцов перед использованием

## ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

### Общие замечания:

- Все реагенты и образцы перед началом исследования должны иметь комнатную температуру. Все реагенты должны быть перемешаны без образования пены.
- После начала исследования все этапы должны быть завершены без остановок
- Для каждого образца, реагента и стандарта необходимо использовать новые одноразовые наконечники пипеток. Для раскапывания субстрата и стоп-раствора избегайте металлических наконечников.
- Абсорбция - это функция, линейно пропорциональная инкубационному времени и температуре. Поэтому интерполяция возможна при постоянных физико-химических условиях. Если при проведении исследования абсорбция нулевого стандарта ниже 1,0 или выше верхнего предела обнаружения Вашего спектрофотометра, вы можете увеличить или уменьшить инкубационное время окончательного ферментного формирования цвета от 45 до 15 минут соответственно. Т.к. калибраторы ставятся в каждом исследовании, эти изменения абсорбции не повлияют на результат.
- Как главное правило, ферментная реакция линейно пропорциональна времени и температуре.
- До начала исследования рекомендуется приготовить все реагенты, снять крышки, установить в держателе необходимые лунки, и т.д. Этим Вы обеспечите равное время для каждого раскапывания без остановок.
- Субстрат должен быть бесцветным или бледно-голубым или зеленым. Если раствор стал темно-синим, реагент использовать нельзя.
- Во время инкубации с субстратом избегайте попадания прямых солнечных лучей на палашку
- Все стандарты, образцы и контроли необходимо тестировать в дублях, обеспечив одинаковые условия реакции.

## ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Установите необходимое количество лунок в рамку.
2. Раскапать по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов используя пипетку с новыми одноразовыми наконечниками в соответствующие лунки.
3. Раскапать по **50 мкл** антисыворотки в каждую лунку.
4. Раскапать по **100 мкл** конъюгата в каждую лунку.  
Хорошо смешивать в течение 10 секунд. На данном этапе важно достичь полного смешивания.
5. Инкубировать **60 минут** при комнатной температуре
6. Резко вытряхнуть содержимое лунок. Промыть трижды разведенным промывочным раствором (400 мкл на лунку). Вытряхнуть остатки влаги на абсорбирующую бумагу.

Внимание: чувствительность и правильность этого анализа в значительной степени зависит от качественной процедуры промывки!

7. Добавить по **100 мкл** ферментного комплекса в каждую лунку.
8. Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре.
9. Резко вытряхнуть содержимое лунок. Промыть трижды разведенным промывочным раствором (400 мкл на лунку). Вытряхнуть остатки влаги на абсорбирующую бумагу.
10. Добавить **100 мкл** раствора субстрата в каждую лунку
11. Инкубировать **20 минут** при комнатной температуре.
12. Остановить ферментативную реакцию, добавив по **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку.
13. считать оптические плотности при  $450 \pm 10$  нм на микропланшетном ридере в течение (не позднее) 10 минут после добавления стоп-раствора.

## ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Подсчитать средние значения абсорбции для каждого набора стандартов, контролей и образцов пациентов.
2. Построить стандартную кривую, отложив значения абсорбции каждого стандарта (на оси Y) напротив их концентраций (отложенных на оси X).
3. Используя среднее значение абсорбции для каждого образца определить соответствующую концентрацию по стандартной кривой.
4. Автоматический метод: компьютерные программы, использующие кубический сплайн, 4 –параметровую логистику, или Logit-Log обычно дают точный результат.
5. Концентрацию образцов можно считать прямо со стандартной кривой. Образцы с концентрацией более высокой, чем у самого высокого стандарта необходимо развести 1 к 10 раствором для разведения образцов. При подсчете концентрации коэффициент разведения необходимо учитывать.

### Ниже приведен типичный пример стандартной кривой:

Стандарт	Оптические единицы
Стандарт 0 (0 нг/мл)	1,82
Стандарт 1 (0,2 нг/мл)	1,64
Стандарт 2 (0,7 нг/мл)	1,46
Стандарт 3 (2,0 нг/мл)	1,02
Стандарт 4 (6,0 нг/мл)	0,47
Стандарт 5 (16 нг/мл)	0,21

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Настоятельно рекомендуется каждой лаборатории разработать собственные нормальные значения и отклонения.

Во время исследования, проведенного на внешне здоровых людях, используя DRG® C-Peptide ELISA, были получены следующие значения:

	Количество	Средний $\pm$ 2 СО
Сыворотка (12-часовое голодание)	60	0,5 – 3,2 пг/мл
Моча		1 – 200 мкг/день

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли согласно нормативной документации. Использование контролей рекомендуется проводить для удостоверения в правильности проведения анализа. Используйте контроли для нормальных и патологических значений. Результаты по контрольным сывороткам для данного лота можно найти в прилагаемом с каждым набором листе контроля качества. Также рекомендуется участвовать в национальных программах по контролю качества ВСВОК. Используйте соответствующие статистические методы расчета контрольных значений и зависимости. Если результаты анализа не соответствуют заявленным значениям, тест признается неверным. В этом случае проверьте оборудование, оцените правильность выполненных при анализе действий и условия среды, в которой проводился анализ, обратите внимание на процедуру мойки и аспирации. Если никаких нарушений вы не выявили, свяжитесь с представительством напрямую DRG®.

## ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

Диапазон исследования 0 – 16 нг/мл

**Специфичность антител (перекрестная реактивность)**

Перекрестная реактивность с Проинсулином клинически не важна.

**Аналитическая чувствительность**

Была посчитана со среднего значения минус два стандартных отклонения 20 репликантов Стандарта О и составила 0,064 пг/мл.

**Точность**

*Внутрипостановочная вариация (Интра-анализ)*

Образец	Количество	Среднее значение (нг/мл)	КВ (%)
1	20	0,48	6,54
2	20	2,30	6,70
3	20	3,86	5,13

*Межпостановочная вариация (Интер-анализ)*

Образец	Количество	Среднее значение (нг/мл)	КВ (%)
1	12	0,42	9,33
2	12	2,05	9,92
3	12	4,23	8,38

**Воспроизводимость**

Образцы сыворотки были усилены добавлением С-пептида с известной концентрацией в пропорции 1:1. Процент воспроизводимости был посчитан умножением отношения измеренных значений к ожидаемым на 100.

Образец сыворотки	Эндогенный С-пептид, нг/мл	Добавленный С-пептид, нг/мл	Измеренная конц., нг/мл	Ожидаемая конц., нг/мл	Воспроизводимость, %
1	5,36	0,00	5,36		
		8,00	10,31	10,68	96,6
		3,00	5,57	5,68	98,0
		1,00	3,63	3,68	98,7
		0,35	3,08	3,03	101,8
2	9,70	0,00	9,70		
		8,00	12,49	12,85	97,2
		3,00	8,23	7,85	104,8
		1,00	5,15	5,85	87,9
		0,35	4,54	5,20	87,2
3	12,12	0,00	12,12		
		8,00	15,52	14,06	110,4
		3,00	9,72	9,06	107,3
		1,00	7,30	7,06	103,4
		0,35	5,65	6,41	88,1

Образец Мочи	Эндогенный С-пептид, нг/мл	Добавленный С-пептид, нг/мл	Измеренная конц., нг/мл	Ожидаемая конц., нг/мл	Воспроизводимость, %
1	2,1	8,00	10,9	10,1	107,9
		3,00	5,57	5,1	109,2
		1,00	2,6	2,62	99,2
2	1,01	8,00	9,2	9,01	102,1
		3,00	4,03	4,01	100,5
		1,00	2,2	2,01	109,5
3	12,12	8,00	10,1	10,5	96,2
		3,00	5,3	5,5	96,4
		1,00	3,8	3,5	108,6

**Линейность**

Образец	Разведение	Измеренная конц., нг/мл	Ожидаемая конц., нг/мл	Воспроизводимость, %
1 сыворотка	Неразв.	6,10	6,10	
	1:2	3,25	3,05	106,7
	1:4	1,61	1,52	105,3
	1:8	0,84	0,76	110,6
	1:16	0,41	0,38	107,6
2 сыворотка	Неразв.	9,90	9,90	
	1:2	5,59	4,95	112,8
	1:4	2,48	2,48	100,3
	1:8	1,29	1,24	104,0
	1:16	0,69	0,62	111,8
3 сыворотка	Неразв.	13,25	13,25	
	1:2	6,97	6,62	105,1
	1:4	3,22	3,31	97,1
	1:8	1,70	1,66	102,8
	1:16	0,85	0,83	103,1

Образец	Разведение	Измеренная конц., нг/мл	Ожидаемая конц., нг/мл	Воспроизводимость, %
1 моча	Неразв.	8,7	8,7	
	1:2	4,29	4,35	98,6
	1:4	2,01	2,18	92,4

	1:8	1,09	1,09	100,2
2 моча	Неразв.	9,2	9,2	
	1:2	4,7	4,6	102,2
	1:4	2,25	2,3	97,8
	1:8	1,12	1,15	97,5
3 моча	Неразв.	13,9	13,9	
	1:2	6,6	6,95	95,0
	1:4	3,3	3,48	95,0
	1:8	1,8	1,74	103,6

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

### Интерферирующие вещества

Любое неправильное обращение с образцами или модификация данного теста может повлиять на результаты. Гемоглобин (до 4 мг/мл), билирубин (до 0,5 мг/мл) и триглицериды (до 30 мг/мл) не влияют на результаты анализа.

### Взаимодействие с лекарственными веществами

На сегодняшний день нам не известно ни одного вещества (ЛВ), которое бы влияло на измерение С-пептида в образце.

## ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ

### Достоверность результатов

Тест должен быть выполнен в соответствии с инструкциями изготовителя по применению. Кроме того, пользователь должен строго придерживаться правила GLP (хорошей лабораторной практики) или других применимых национальных стандартов и / или законов. Это особенно актуально для использования контрольных реагентов. Важно всегда включать, в рамках проведения анализа, достаточное количество контролей для проверки достоверности и точности теста. Результаты действительны, только если все контроли находятся в пределах заданного диапазона, и, если все остальные параметры теста, также в рамках данных характеристик анализа. В случае каких-либо сомнений, пожалуйста, свяжитесь с ДРГ.

### Терапевтические заключения

Терапевтические заключения никогда не должны быть основаны только на результатах лабораторных анализов, даже если результаты всех тестов находятся в согласии, как указано в пункте 11.1. Любой лабораторный результат только часть общей клинической картины пациента. Только в тех случаях, когда результаты лабораторных исследований соответствуют общей клинической картине, может быть сделано терапевтическое заключение. Результат теста никогда не должен быть единственным определяющим фактором для получения любого терапевтического заключения.

### Ответственность

Любое изменение набора и / или обмен или замена каких-либо компонентов разных партий из одного набора на другой может негативно сказаться на ожидаемых результатах и обоснованности анализа вообще. В случае таких изменений и / или замен любое требование о замене набора недействительно.

Претензии, поданные в связи с неверной интерпретацией результатов анализа клиентом, в соответствии с пунктом 11.2. также недействительны.

Несмотря на это, в случае каких-либо претензий, ответственности производителя не должна превышать стоимость набора. Вред, причиненный набору при транспортировке, не подлежит ответственности производителя.



### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»  
ул.Черновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)