

НАБІР РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ МЕТОДОМ ІФА

Luteinizing Hormone (LH) Test System

Кат. №: 625-300

Дата випуску інструкції: 16-07-2019

Версія: 5



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

1.0 ВСТУП

Призначення: Кількісне визначення концентрації лютеїнізуючого гормону в людській сироватці методом імуноферментного аналізу, колориметричного.

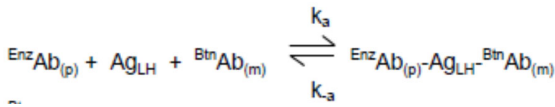
2.0 КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА і ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ. (Див. оригінал інструкції).

3.0 ПРИНЦИП МЕТОДУ

Імуноферментний аналіз (ТИП 3):

Основні реагенти, необхідні для імуноферментного аналізу, включають антитіла високої афінності та специфічності (ферментні та іммобілізовані) з різним і чітким розпізнаванням епітопів, у надлишку, та нативний антиген. У цій процедурі іммобілізація відбувається під час аналізу на поверхні мікропланшетних лунок через взаємодію стрептавідину, яким покриті лунки та внесених ззовні біотинильованих моноклональних антитіл до анти-ЛГ.

При змішуванні моноклональних біотинильованих антитіл, фермент-мічених антитіл та сироватки, що містить нативний антиген, відбувається реакція між нативним антигеном і антитілами без конкуренції та стеричних перешкод, з утворенням сендвіч-комплексу. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$\text{EnzAb}_{(p)}$ = біотинильоване моноклональне антитіло (надлишкова кількість)

Ag_{LH} = нативний антиген (змінна кількість)

$\text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(m)}$ = фермент-мічене антитіло (надлишкова кількість)

$\text{EnzAb}_{(p)} - \text{Ag}_{\text{LH}} - \text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(m)}$ = сендвіч-комплекс антиген-антитіло

k_a = константа швидкості асоціації

k_{-a} = константа швидкості дисоціації

Одночасно комплекс відкладається на лунках через високоафінну реакцію стрептавідину та біотинильованих антитіл. Ця взаємодія ілюструється так:

$\text{EnzAb}_{(p)} - \text{Ag}_{\text{LH}} - \text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(m)} + \text{Стрептавідин}_{\text{с.в.}} \Rightarrow \text{Іммобілізований комплекс}$

Стрептавідин_{с.в.} = Стрептавідин, іммобілізований в лунках

Іммобілізований комплекс = Сендвіч-комплекс Антиген-антитіло.

Після досягнення рівноваги фракція зв'язаних антитіл відділяється від незв'язаних антигенів декантацією або аспірацією. Активність ферменту у фракції зв'язаних антитіл прямо пропорційна концентрації нативного антигену. При використанні декількох стандартів сироватки з відомим значенням концентрації антигену будується крива доза-ефект, по якій обчислюється концентрація антигену у невідомих зразках.

4.0 РЕАГЕНТИ

Матеріали, що постачаються

A. Калібратори ЛГ - 1 мл (мл)/флакон - Піктограми А-Ф

Шість (6) флаконів референсного матеріалу для антигену ЛГ з концентраціями 0(A), 5(B), 25(C), 50(D), 100(E) і 200(F) мМО/мл (mIU/ml). Зберігати при 2-8 °C (°C). Містить консервант.

Примітка: Калібратори на основі людської сироватки прокалібровані по Міжнародному стандарту ВОЗ 2-й IS 80/552.

B. Ферментний реагент ЛГ - 13 мл (мл)/флакон - Піктограма «Е»

Один (1) флакон, що містить фермент-мічені афінно очищені мишачі моноклональні антитіла та біотинильовані моноклональні мишачі IgG в буфері, барвник і консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

C. Планшет з нанесеним стрептавідином - 96 лунок - Піктограма «Ф»

Один 96-лунковий мікропланшет, вкритий стрептавідином і запакований в алюмінієвий пакет з осушувачем. Зберігати при 2-8 °C (°C).

D. Концентрат розчину для промивання - 20 мл (мл)/флакон - Піктограма «КРАПЛЯ»

Один (1) флакон, що містить ПАВ в фосфатному сольовому буфері. Містить консервант. Зберігати при 2-8 °C (°C).

E. Субстрат А - 7 мл (мл)/флакон - Піктограма «S^A»

Один (1) флакон, що містить ТМБ в буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C).

F. Субстрат В - 7 мл (мл)/флакон - Піктограма «S^B»

Один (1) флакон, що містить перекис водню (H₂O₂) в буфері. Зберігати при 2-8 °C (°C).

G. Стоп-розчин - 8 мл (мл)/флакон - Піктограма «СТОП»

Один флакон, що містить сильну кислоту (1N HCl). Зберігати при 2-8 °C (°C).

H. Інструкція

Примітка 1: Не використовувати реагенти після закінчення терміну придатності.

Примітка 2: Уникати тривалого впливу тепла і світла. Відкриті реагенти стабільні протягом шістдесят (60) днів при зберіганні від 2 до 8 °C (°C). Стабільність набору і компонентів вказана на етикетці.

Примітка 3: Перераховані реагенти використовуються для одного 96-лункового планшета.

4.1 Необхідні матеріали, які не постачаються з набором

1. Мікродозатори здатні вносити об'єми 0.050 мл (мл) (50 мкл (μl)) з точністю, що перевищує 1.5%.
2. Диспенсери для багаторазових внесень об'ємом 0.100 та 0.350 мл (мл) (100 и 350 мкл (μl)) з точністю, що перевищує 1.5%.
3. Мікропланшетний вошер або пляшка-дозатор (опційно).
4. Мікропланшетний рідер з фільтрами 450 нм (nm) і 620 нм (nm).
5. Фільтрувальний папір для висушування мікропланшетів.
6. Поліетиленова плівка або кришка для інкубування мікропланшетів.
7. Вакуумний аспіратор для промивання (опційно).
8. Таймер.
9. Матеріали для контролю якості.

5.0 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

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

В ході застосування схвалених FDA реагентів всі продукти, що містять людську сироватку, продемонстрували негативні результати на наявність антитіл до ВІЛ 1 та 2, ВГС і поверхневого антигену гепатиту В. Однак, оскільки не існує методів, що дають повну гарантію відсутності інфекційних агентів, з усіма продуктами людської сироватки слід поводитися з обережністю, як з потенційно небезпечним біоматеріалом, чи таким, що здатним переносити збудники хвороб, 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 Publication No/ (CDC) 88-8395.

Безпечна утилізація компонентів набору повинна відповідати місцевим нормативним та законодавчим вимогам.

6.0 ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразками слугує сироватка крові за типом. Забір крові здійснюйте з дотриманням звичайних правил при венепункції. Для порівняння із нормальними значеннями повинна бути отримана ранкова сироватка (натщесерце). Кров слід збирати в пробірку з червоним ковпачком для венепункції без добавок або гель-бар'єру. Дати крові згорнутися. Відцентрифугувати зразок для відділення сироватки чи плазми від клітин.

У пацієнтів, які отримували терапію високими дозами біотину (тобто > 5 мг (mg)/добу), не слід брати зразок до принаймні 8 годин після останнього введення біотину, переважно протягом ночі, щоб забезпечити пробу натщесерце.

Зразки можуть зберігатися в холодильнику до 2-8 °C (°C) на термін максимум п'ять (5) днів. Якщо зразки не досліджуватимуться протягом зазначеного часу, необхідно зберігати їх при -20 °C (°C) до 30 днів. Слід уникати використання забруднених пристроїв. Уникати повторних циклів розморожування/заморожування. Для аналізу в дублях потрібно 0.100 мл (ml) (100 мкл) (mcl) зразка.

7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна проводити аналіз контролю на рівнях низького, середнього та високого діапазонів кривої доза-ефект для контролю ефективності аналізу. Ці контролю повинні досліджуватися як невідомі зразки із визначенням значення в кожній постановці аналізу. Повинні будуватися графіки контролю якості для відстеження характеристик реагентів, що постачаються. Слід застосовувати прийнятні статистичні методи для встановлення відхилень. Значні відхилення від встановлених характеристик можуть свідчити про непомічені зміни в умовах експерименту або зниження якості реагентів набору. Для визначення причини змін повинні бути використані свіжі реагенти.

8.0 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Розчин для промивання

Розвести концентрат розчину для промивання до 1000 мл (ml) дистильованою або деіонізованою водою у відповідному контейнері для зберігання. Зберігати при кімнатній температурі (2-30 °C (°C)) до 60 днів.

2. Робочий розчин субстрату

стабільний протягом одного (1) року. Вилити вміст бурштинового флакона з Субстратом А у прозорий флакон з Субстратом В. Закрити прозорий флакон жовтим ковпачком для легкої ідентифікації. Перемішати і промаркувати відповідно. Зберігати при 2-8 °C (°C).

Примітка 1: Не використовувати субстрат, якщо він набув блакитного забарвлення.

Примітка 2: Не використовувати реагенти, які мають ознаки забруднення чи бактеріального росту.

9.0 ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ

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

****Процедура тестування повинна виконуватися кваліфікованим фахівцем****

- Відформатувати лунки мікропланшетів для кожного референсного матеріалу сироватки, контролю і зразка пацієнта для аналізу в дублях. Повернути невикористані смужки мікролунок назад в алюмінієвий пакет, герметично закрити та зберігати при температурі 2-8 °C (°C).
- Внести піпеткою по 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) відповідного референсного калібратора сироватки, контролю та зразка пацієнта у відповідні лунки.
- Внести по 0.100 мл (ml) (100 мкл (µl)) ферментного реагенту ЛГ у кожну лунку.
- Обережно обертати мікропланшет протягом 20-30 секунд і закрити.
- Інкубувати протягом 60 хвилин при кімнатній температурі.
- Видалити вміст мікропланшета шляхом декантації або аспірації. Висушити планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантація.
- Внести 0.350 мл (ml) 350 мкл (µl) буфера для промивання (див. розділ «Підготовка реагентів»), виконати декантацію (постукати і висушити) або аспірацію. Повторити процедуру ще два (2) рази (загальна кількість циклів промивки – три (3)). Для цієї процедури краще використовувати автоматичний або ручний вошер відповідно до інструкцій виробника приладів. Якщо використовується пляшка-дозатор, необхідно заповнити кожну лунку, витискаючи контейнер (уникати утворення повітряних бульбашок). Видалити розчин для промивання і повторити ще два (2) рази.
- Внести по 0.100 мл (ml) (100 мкл (µl)) Робочого розчину субстрату в кожну лунку (див. «Підготовка реагентів»). Завжди вносити реагенти в одній і тій же послідовності, щоб уникнути відмінностей у часі реакції в різних лунках.

НЕ СТРУШУВАТИ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ВНЕСЕННЯ СУБСТРАТУ

- Інкубувати п'ятнадцять (15) хвилин при кімнатній температурі.
- Внести в кожну лунку 0.050 мл (ml) (50 мкл (µl)) стоп-розчину і обережно перемішати протягом 15-20 секунд. Завжди вносити реагенти в одній і тій же послідовності, щоб уникнути відмінностей у часі реакції в різних лунках.
- Зчитати значення абсорбції в кожній лунці на довжині хвилі 450 нм (nm) (вимірювання проводити при референсній довжині хвилі 620-630 нм

(nm), щоб мінімізувати неточності) у мікропланшетному рідері. Зчитати результати протягом тридцяти (30 хвилин) після внесення стоп-розчину.

10.0 РЕЗУЛЬТАТИ

Для визначення концентрації ЛГ в невідомих зразках використовується крива доза-ефект.

- Записати значення абсорбції для всіх лунок як показано в роздруківці з мікропланшетного рідера, наведеній у прикладі 1.
- Побудувати графік абсорбції для кожного референсного матеріалу сироватки в дублях відповідно до концентрації ЛГ в мМО/мл (mIU/ml) на міліметровому папері (перед тим, як будувати графік, не слід виводити середнє дублів референсного матеріалу сироватки).
- Накреслити криву, яка найкраще підходить, через прокладені точки.
- Концентрація ЛГ для кожного невідомого зразка залежить від середнього значення абсорбції дублів на вертикальній осі графіка і точки перетину на кривій. Необхідно зчитати концентрацію (в мМО/мл) (в mIU/ml) з горизонтальної осі графіка (можуть бути виведені середні значення дублів невідомого, як зазначено). У наведеному нижче прикладі середня абсорбція 1.005 перетинає криву доза-ефект при концентрації ЛГ 42.7 мМО/мл (mIU/ml) (див. Малюнок 1)

Примітка: Якщо для обробки результатів аналізу даних ІФА використовується комп'ютер, необхідно виконати процедуру валідації програмного забезпечення.

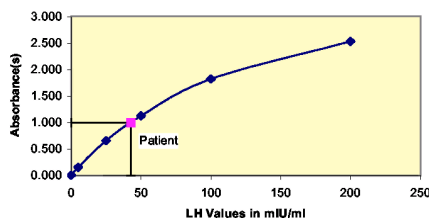
**Дані наведені в прикладі 1 і малюнку 1 призначені тільки для ілюстрації і не повинні використовуватися замість кривої доза-ефект, яка має бути підготовлена в кожному аналізі.

ПРИКЛАД 1

Зразок	Лунка	Абсорбція (A)	Середнє абсорбції (B)	Значення (мМО/мл (mIU/ml))
Калібратор А	A1	0.009	0.009	0
	B1	0.009		
Калібратор В	C1	0.161	0.162	5
	D1	0.163		
Калібратор С	E1	0.677	0.662	25
	F1	0.647		
Калібратор D	G1	1.155	1.130	50
	H1	1.106		
Калібратор E	A2	1.852	1.825	100
	B2	1.797		
Калібратор F	C2	2.556	2.534	200
	D2	2.512		
Контроль 1	E2	0.077	0.072	1.9
	F2	0.067		
Контроль 2	G2	0.582	0.575	20.5
	H2	0.568		
Пацієнт	A3	0.998	1.005	42.7
	B3	1.112		

** Дані наведені в прикладі 1 і малюнку 1 служать лише для ілюстрації і не повинні використовуватися замість кривої доза-ефект, яка має бути підготовлена для кожного аналізу.

Малюнок 1



$$\text{Patient} = \frac{\text{Absorbance}(s) - \text{Абсорбція}(i)}{\text{LH Values in mIU/ml} - \text{Значення ЛГ в мМО/мл}}$$

11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Результати аналізу можна вважати достовірними, якщо дотримуються наступні умови:

1. Абсорбція (OD) калібратора F має бути ≥ 1.3 .
2. Чотири з шести пулів контролів якості повинні укладатися у встановлені інтервали.

12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Форма MSDS та аналізу ризиків для цього продукту доступна на запит від компанії Monobind Inc.

12.1. Ефективність аналізу

1. Для відтворюваності результатів важливо, щоб час реакції підтримувався постійним в кожній лунці.
2. Піпетування зразків не повинно перевищувати десять (10) хвилин, щоб уникнути «дрейфування» аналізу.
3. Не використовувати високо ліпемічні, гемолізовані або забруднені зразки.
4. Якщо використовується більше, ніж один (1) планшет, рекомендується повторювати криву доза-ефект.
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.
6. Зчитування на рідері проходить вертикально. Не торкайтеся дна мікролунок.
7. Неповне видалення розчину під час аспірації або декантації може призводити до невідтворюваних і недостовірних результатів.
8. Використовувати компоненти тільки з однієї партії. Не змішувати 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 інструкцій можуть давати невірні результати.
10. Для забезпечення відповідності та належного використання приладу необхідно суворо дотримуватися всіх застосованих національних стандартів, правил і законів, включаючи належні лабораторні процедури, але не обмежуючись ними.
11. Важливим є калібрування всього обладнання, тобто, дозаторів, рідера, вошера та/або автоматизованих інструментів, які використовуються з даним пристроєм. Також обов'язковим є регулярний технічний догляд пристрою.
12. Аналіз ризиків - згідно з вимогами Директиви 98/79/ЄС IV Маркування IVD - для цього та інших пристроїв, виготовлених Monobind, можна надіслати запит електронною поштою з Monobind@monobind.com.

12.2 Інтерпретація результатів

1. **Вимірювання та інтерпретація результатів повинні проводитись кваліфікованими фахівцями.**
2. Лабораторні результати не можуть бути єдиним критерієм для визначення лікування, особливо, якщо отримані результати не співпадають з іншими дослідженнями.
3. «Реагенти для процедури тест-системи були сформульовані для усунення максимальних перешкод; однак потенційна взаємодія між рідкісними зразками сироватки і тестовими реагентами може призвести до помилкових результатів. 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 імунологічних досліджень» Clin.Chem. 1988: 3427-33). Для діагностичних цілей слід використовувати результати цього аналізу в поєднанні з клінічним обстеженням, анамнезом пацієнта та іншими клінічними результатами.
4. Для отримання дійсних результатів прийнятні контролі та інші параметри повинні знаходитися в межах встановлених діапазонів та вимог аналізу.
5. Monobind не несе відповідальності за результати тесту в разі, якщо складові набору були замінені іншими складовими з інших наборів, що спричинило хибні результати, або якщо результати були інтерпретовані невірно.
6. Якщо для обробки результатів тесту використовується комп'ютер, то обчислювані значення калібраторів не повинні відхилятися більш, ніж на 10% від приписаних значень концентрації.
7. Естроген зменшує рівні ЛГ, але у жінок, що приймають оральні контрацептиви, рівні можуть бути низькими або нормальними. Надмірна дієта або втрата ваги можуть призвести до низьких концентрацій гонадотропіну.
8. ЛГ залежить від різноманітних факторів, не тільки від гепофізного гемостазу. Тому, визначення ЛГ не є достатнім для встановлення клінічного статусу.

13.0 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Для визначення очікуваних значень для цього набору ІФА було проведено дослідження дорослої популяції з уявною нормою.

Таблиця 1
Очікувані значення для системи ІФА для ЛГ (в мМО/мл (mIU/ml))

Жінки	
Фолікулярна фаза	0.5 - 10.5
Середина циклу	18.4 - 61.2
Лютетінова фаза	0.5 - 10.5
Постменопауза	8.2 - 40.8
Чоловіки	
0.7 - 7.4	

Важливо мати на увазі, що встановлений діапазон значень, який можна очікувати у даній популяції людей з уявною нормою з використанням даного методу залежить від безлічі факторів: специфічності методу, популяції, що тестується, і точності методу в руках лаборанта. З цих причин кожна лабораторія повинна покладатися на діапазон очікуваних значень встановлений виробником лише до тих пір, поки аналітики не визначать внутрішній діапазон за допомогою методу на основі даних місцевої популяції.

14.0 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

14.1 Точність

Точність цього набору в межах аналізу і між аналізами була визначена за допомогою аналізу трьох різних рівнів контролю пулу та сироватки пацієнтів. Кількість (N), середнє значення (x), стандартне відхилення (δ) і коефіцієнт варіації (C.V.) для цих сироваток наведені в таблицях 2 і 3.

ТАБЛИЦЯ 2
Точність в межах аналізу (мМО/мл (mIU/ml))

Зразок	N	x	δ	C.V., %
Рівень 1	20	1.4	0.10	6.8 %
Рівень 2	20	21.6	0.85	3.9 %
Рівень 3	20	58.3	2.10	3.6 %

ТАБЛИЦЯ 3
Точність між аналізами* (мМО/мл (mIU/ml))

Зразок	N	x	δ	C.V., %
Рівень 1	20	1.6	0.12	7.8%
Рівень 2	20	21.5	2.32	10.8%
Рівень 3	20	55.4	5.34	9.6%

*вимірювання проводились в десяти експериментах в дублях.

14.2 Чутливість

Чутливість цього набору - 0.003 мМО (mIU)/лунку. Це еквівалентно зразку з концентрацією 0.054 мМО/мл (mIU/ml) для даного набору. Для розрахунку мінімальної дози статистично виявлена аналітична чутливість (межа виявлення) шляхом визначення варіабельності нульового стандарту (мМО/мл (mIU/ml)) та 2 σ -стандартного відхилення (при 95% довірчому інтервалі).

14.3 Достовірність

Цей набір порівнювався з референсним радіоімунним методом. Використовувалися біологічні зразки від нормальних і вагітних жінок. Загальне число зразків було 110. Було виведено рівняння регресії найменших квадратів і був розрахований коефіцієнт кореляції для чинного методу в порівнянні з референсним методом. Отримані дані наведені в таблиці 4.

ТАБЛИЦЯ 4

Метод	Середнє (x)	Регресійний аналіз найменших квадратів	Коефіцієнт кореляції
Цей метод	14.8	$y = 0.081 + 0.93(x)$	0.989
Референсний	15.1		

Було знайдено тільки незначну розбіжність даного методу і референс-методу, що доводять близькі середні значення. Рівняння регресії методом найменших квадратів і коефіцієнт кореляції показують прекрасну узгодженість методів.

14.4 Специфічність

Перехресна реактивність антитіл до цього набору з вибраними речовинами

оцінювалися додаванням інтерферуючих речовин в сироватку в різних концентраціях. Перехресна реактивність розраховувалася як відношення між дозою інтерферуючої речовини і дозою ЛГ, необхідного для вироблення аналогічної абсорбції.

Речовина	Перехресна реактивність	Концентрація
Лутропін (ЛГ)	1.0000	---
β -субодиниця ЛГ	1.0800	---
Фолітропін (ФСГ)	< 0.0001	1000 нг/мл (ng/ml)
ХГ	< 0.0001	1000 нг/мл (ng/ml)
ТТГ	< 0.0001	1000 нг/мл (ng/ml)

Фасування		96 (A)	192 (B)
Реагент (заповнення)	A	1 мл (набір) / 1 ml (set)	1 мл (набір) / 1 ml (set)
	B	1 (13 мл) / 1 (13 ml)	2 (13 мл) / 2 (13 ml)
	C	1 планшет	2 планшета
	D	1 (20 мл) / 1 (20 ml)	1 (20 мл) / 1 (20 ml)
	E	1 (7 мл) / 1 (7 ml)	2 (7 мл) / 2 (7 ml)
	F	1 (7 мл) / 1 (7 ml)	2 (7 мл) / 2 (7 ml)
	G	1 (8 мл) / 1 (8 ml)	2 (8 мл) / 2 (8 ml)



ВИРОБНИК

MONOBIND INC.
100 North Pointe Dr.
Lake Forest, CA 92630 -
USA
Phone: 949.951.2665
Fax: 949.951.3539
www.monobind.com

МОНОБАЙНД ІНК
100 Норд Поїнт Драйв
Лейк Форест, Каліфорнія 92630 -
США
Тел.: 949.951.2665
Факс: 949.951.3539
www.monobind.com



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

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

