

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЛЬЦИТОНИНА В СЫВОРОТКЕ ЧЕЛОВЕКА

7024, Calcitonin ELISA

Каталог. № : 7024 Методика от 03-2012
Количество : 96
Производитель: **BIOMERICA INC.,**
(США)



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

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Biomerica Кальцитонин (Biomerica Calcitonin ELISA) предназначен для количественного определения кальцитонина в сыворотке крови человека методом ИФА. Только для диагностики *in vitro*.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Кальцитонин – это полипептид, состоящий из 32 аминокислот, который в основном секретируется парафолликулярными С-клетками щитовидной железы. Главная биологическая функция – ингибирование резорбции остеокластами костной ткани. Это свойство обусловило использование кальцитонина в диагностике заболеваний, характеризующихся повышенной резорбцией, таких как болезнь Педжета, а также в ряде случаев – остеопороз.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Наиболее важный клинический синдром, ассоциированный с аномальной гиперсекрецией кальцитонина – это медуллярная карцинома щитовидной железы (МТС). МТС является опухолью кальцитонинпродуцирующих С-клеток щитовидной железы. Хотя встречается МТС низкая и составляет 5-10% от всех злокачественных опухолей щитовидной железы, она часто приводит к летальному исходу. МТС может возникать спорадически или может носить семейный характер, обладая аутосомно-доминантным типом наследования. Как наследственное заболевание, МТС имеет очень большое клиническое значение. Кроме того, при диагностике с помощью определения уровня кальцитонина в сыворотке на ранних стадиях при субклинических формах возможно полное излечение.¹ Его уровень ассоциируется с другими клиническими проявлениями и с благоприятным прогнозом лечения при хирургическом вмешательстве. Хотя МТС является редкой опухолью, она может носить семейный характер,⁴ как множественная эндокринная неоплазия II типа. Эти опухоли обычно продуцируют кальцитонин в диагностически значимых повышенных концентрациях. Таким образом, иммуноанализ кальцитонина в сыворотке крови может использоваться для диагностики МТС с исключительной степенью точности и специфичности. У небольшого, но возрастающего процента пациентов, однако, базовые уровни гормонов не отличаются от нормальных¹. У части этих пациентов наблюдаются ранние стадии С-клеточной неоплазии или гиперплазии, являющиеся наиболее операбельными. Для выявления этих пациентов на ранних стадиях заболевания необходимо использовать провокационный тест на секрецию кальцитонина для того, чтобы избежать ложноотрицательных результатов, получаемых при проведении только теста на определение базовой концентрации кальцитонина. При большинстве опухолей уровень кальцитонина повышается в ответ на введение кальция⁵ или пентагастрин (pentagastrin), или их комбинации⁷, но даже при использовании этих реагентов могут быть все же получены ложноотрицательные результаты. Следовательно, в случаях клинических проявлений для диагностических целей следует использовать оба реагента. Кроме того, измерение концентрации кальцитонина также может быть использовано для мониторинга эффективности лечения у пациентов с кальцитонин-продуцирующими опухолями.

Опухолевые данные⁸, что обнаруживаются множественные иммунореактивные формы кальцитонина как у здоровых людей, так и у пациентов с МТС. Эти различные формы кальцитонина имеют молекулярный вес, варьирующий от 3400 (мономеры) до 70 000 Да (полимеры).

Неопластические заболевания других нейроэндокринных клеток также могут способствовать повышению уровня кальцитонина. Наилучшим примером может служить мелкоклеточный рак легкого.

Другие опухоли, такие как карциномы и опухоли островковых клеток поджелудочной железы, также могут вызывать повышение концентрации кальцитонина в сыворотке крови. Повышенные уровни кальцитонина также отмечены как при острых, так и при хронических заболеваниях почек, гиперкальциемии и гиперкальциемии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный тест Biomerica Кальцитонин (Biomerica Calcitonin ELISA) основан на методе твердофазного иммуноферментного «сэндвич» анализа и предназначен для определения концентрации интактной цепи кальцитонина, состоящей из 32 аминокислот. В тест-системе используются два разных типа мышиных моноклональных антител к кальцитонину человека, специфичных к строго определенным областям молекулы. Один тип антител связывается только с участком 11-23 аминокислотных остатка молекулы кальцитонина, эти антитела биотинилированы. Другой тип антител связывается только с участком 21-32 аминокислотных остатка молекулы кальцитонина; эти «выявляющие» антитела конъюгированы с пероксидазой хрена (HRP).

В ходе реакции стандарты, контроли или образцы сыворотки пациентов одновременно инкубируют с антителами, конъюгированными с ферментом, и антителами, мечеными биотином, в лунках микропланшета, покрытых стрептавидином. Таким образом, кальцитонин образца оказывается связанным в «сэндвиче» между двумя антителами. После инкубации лунки планшета промывают для удаления несвязавшихся компонентов. Ферментный комплекс, связавшийся с твердой фазой, инкубируют с субстратом тетраметилбензидином (ТМБ). Реакцию останавливают добавлением в лунки стоп-раствора (кислоты), при этом цвет раствора становится желтым. Интенсивность желтого окрашивания прямо пропорциональна концентрации кальцитонина в образце. По значениям, полученным для стандартов, строится кривая зависимости оптической плотности от концентрации кальцитонина. Из полученной калибровочной кривой определяют концентрацию кальцитонина в контролях и исследуемых образцах.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

Материал	Описание	Количество
Реагент 1	Биотинилированные антитела к Кальцитонину	1x7.0мл
Реагент 2	Меченые пероксидазой антитела к Кальцитонину	1x7.0мл
Реагент 3	Восстановленный раствор, содержащий ЭДТК	1x10 мл
Реагент А	Промывочный раствор (соли с ПАВ)	1x30 мл
Реагент В	ТМБ хромогенный раствор	1x20 мл
Стоп раствор	1 N раствор серной кислоты	1x20 мл
Микро-планшет	Держатель с покрытыми стрептавидином ячейками	8 ячеек x 12 стрипов
Стандарты (проверьте концентрацию по этикеткам флаконов): А: 0 пг/мл В: С: D: E: F:	Флаконы с лиофилизированным синтетическим человеческим Кальцитонином, лиофилизированный Стандарт 0, в растворе БСА.	1x2 мл для Стандарта 0 1x1 мл для остальных Стандартов
Контроли 1 и 2 (проверьте концентрацию по этикеткам флаконов)	Флаконы с лиофилизированным синтетическим ч-Кальцитонином (1-32) в растворе БСА.	1x1 мл каждого уровня

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Микропланшетный ридерс длинами волны 450 и 405 нм.
- Автоматический микропланшетный вошер
- Прецизионные пипетки на 50, 100 и 150 мкл
- Многоканальный диспенсер на 50, 100 и 150 мкл (*не обязательно*)

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

Хотя компоненты данного набора специально разработаны без содержания компонентов человеческой крови, образцы крови пациентов, которые могут быть позитивными по HBsAg, HBeAg или ВИЧ антителам, должны исследоваться как потенциально опасные. Соблюдайте общие предосторожности, как при обращении с неизвестными образцами.

Стоп-раствор содержит 1N серную кислоту. Даже в такой концентрации с ней нужно обращаться с осторожностью. Может

вызывать ожоги – при работе пользуйтесь перчатками, очками и защитной одеждой. При попадании промывайте большим количеством воды. Не вдыхайте испарения.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Определение кальцитонина должно проводиться в образцах сыворотки крови. Для проведения анализа в дублях требуется 200 мкл сыворотки крови. Соберите кровь из вены в пробирки, не содержащие антикоагулянта. После образования сгустка тщательно отделите сыворотку, предпочтительно на центрифуге с охлаждением. Образцы хранят при температуре -20°C или ниже. Не следует использовать образцы с сильным гемолизом или липемией.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ:

Храните все компоненты набора при 2-8°C кроме концентрата моющего буфера и стоп раствора.

1. Все реагенты, кроме калибраторов, контролей и концентрата промывочного раствора готовы к использованию. Храните все реагенты при 2-8°C, кроме концентрата моющего буфера, который должен храниться при комнатной температуре до разбавления для предотвращения осада.
2. Растворите стандарт А, для этого во флакон со стандартом А (стандарт «0») внесите 2,0 мл дистиллированной или деионизированной воды и перемешайте. Растворите все остальные стандарты (от В до F) и контроли 1 и 2, внося в каждый флакон со стандартом по 1,0 мл реагента 3 (буфера для разведения). Оставьте флаконы на 10 минут, затем тщательно перемешайте, осторожно переворачивая флаконы, до полного растворения. **После растворения используйте стандарты и контроли как можно быстрее. Оставшиеся неиспользованные стандарты и контроли должны быть заморожены как можно быстрее (при температуре – 20°C) в морозильнике без функции саморазмораживания.** Стандарты и контроли стабильны при температуре -20°C в течение 6 недель после растворения и выдерживают 3 цикла замораживания-оттаивания при соблюдении рекомендаций по работе, описанных в разделе «Замечания по процедуре метода».
3. ELISA Реагент А - Промывочный раствор: Кристаллический осадок в концентрате промывочного буфера (при хранении при температуре ниже 4°C) может быть устранен при нагревании на водяной бане при 37°C или тщательным перемешиванием. Промывочный Раствор готовится добавлением 30 мл концентрата Промывочного раствора в 570 мл деионизированной или дистиллированной воды. Хорошо перемешайте полученный раствор. Промывочный раствор стабилен в течение 90 дней при комнатной температуре в герметично закрытой бутылке.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Вставьте в рамку-держатель необходимое количество **стрипов, покрытых стрептавидином**. При расчете количества лунок следует учесть лунки, необходимые для анализа всех стандартов (6 стандартов) кальцитонина от А до F (точные концентрации указаны на этикетках флаконов), контрольных сывороток и исследуемых образцов сывороток пациентов.
2. Внесите в соответствующие лунки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов. **Оставшиеся неиспользованные стандарты и контроли должны быть заморожены как можно быстрее (при температуре – 20°C) в морозильнике без функции саморазмораживания.**
3. Внесите во все лунки, кроме Бланка, по **50 мкл** Реагента 1 (биотинилированных антител).
4. Внесите во все лунки, содержащие образцы и Реагент 1, по **50 мкл** Реагента 2 (меченных ферментом антител). Закройте планшет(ы) алюминиевой фольгой или крышкой для предотвращения попадания света. Поместите планшет(ы) на **орбитальный шейкер или вращающуюся качалку, установленную на 170 + 10 об/мин** и инкубируйте в течение **4 + 0,5 часов** при комнатной температуре (22-28°C).
5. Удалите полностью содержимое лунок аспирацией. Затем тщательно промойте каждую лунку пять (5) раз Рабочим буфером для промывок (приготовленном из реагента А), внося по 0,35 мл буфера в каждую лунку, используя автоматическое устройство для промывки микропланшетов в режиме промывка/аспирация.
6. Внесите во все лунки по **150 мкл Реагента В** (субстрата ТМБ).
7. Закройте планшет(ы) алюминиевой фольгой или крышкой для предотвращения попадания света. Поместите планшет(ы) на **орбитальный шейкер или вращающуюся качалку, установленную на 170 + 10 об/мин** и инкубируйте в течение **30 + 5 минут** при комнатной температуре (22-28°C).
8. Внесите во все лунки по **100 мкл** стоп-раствора. Осторожно перемешайте.

9. Измерьте оптическую плотность раствора в течение 10 минут в ячейках при **450 нм** на ридере, используя в качестве Бланка 250 мкл дистиллированной воды. **Считайте** оптическую плотность **повторно** при **405 нм** против дистиллированной воды. *Замечание: повторное считывание при 405 нм предназначено, чтобы улучшить аналитическую точность калибровочной кривой в диапазоне значений самого высокого калибратора, (это приблизительно 1000 пг/мл). Поэтому образцы с концентрацией Кальцитонина > 300 пг/мл и до значения наивысшего стандарта должны быть проанализированы при 405 нм, и их концентрация рассчитывается по калибровочной кривой, построенной по стандартам, считанным при 405 нм, для того, чтобы избежать измерения близко от длины волны максимума абсорбции. Образцы с концентрацией до 300 пг/мл, измеряются при 450 нм. Таким образом, будет достигнута максимальная чувствительность метода.*
10. Для построения калибровочной кривой и расчёта концентрации АКТГ используйте аппроксимацию кубическими сплайнами, 4-х параметрическую интерполяцию или интерполяцию «точка за точкой».

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Кальцитонин 1-32 очень неустойчивая молекула. Проводите анализ немедленно после растворения лиофилизированных стандартов или после размораживания их, контролей, образцов пациентов.
- Рекомендуется все калибраторы, контроли и образцы анализировались в дубликаты. Средняя абсорбция дубликатов затем используется для редукции данных и вычисления результатов.
- Избегайте пузырьков воздуха при пипетировании, используя реверсивное пипетирование, следуя инструкциям изготовителя.
- Все образцы со значениями, большими, чем у самого высокого стандарта, приблизительно 1,000 пг/мл, должны быть разбавлены нулевым калибратором (0 пг/мл) и проанализированы еще раз. Если требуется, умножьте полученное значение концентрации Кальцитонина на фактор разбавления.
- Не меняйте реагенты разных серий.
- В качестве альтернативы, можно смешать Реагенты 1 и 2 в равном соотношении и вносить в ячейки смешанный Реагент по 100 мкл в каждую ячейку. Это заменяет шаги 3 и 4, после чего следует процедура инкубации.
- При смешивании избегайте выплескивания реагентов из ячеек. Это влияет на точность анализа.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ручной метод

1. Для считывания при 450 нм, постройте кривую, используя первых пять калибраторов, напр. А, В, С, D и E. При 405 нм считывании постройте вторую кривую, используя три калибраторы с наивысшими концентрациями, напр. Калибраторы D, E и F.
2. Пометьте концентрации для каждого калибратора, указанные на флаконах в пг/мл. Пометьте данные из калибровочной кривой на линейной графической бумаге с концентрацией на оси X и соответствующими А.У. на оси Y.
3. Нарисуйте прямые линии между 2 смежными точками. Этот математический алгоритм широко известен как вычисление «от точки к точке». Вычислите концентрацию образцов, используя полученные абсорбции на оси Y. Образцы пациентов и контроли необходимо считывать при 450 нм для АКТГ концентрации до 300 пг/мл. АКТГ концентрация выше 300 пг/мл должны интерполироваться при 405 нм.

Автоматический метод

Следует использовать кубическую регрессию или 4 PL (параметровую логистику) или от точки к точке.

Данные образцов при 450 нм (построенные считанная абсорбция против дистиллированной или деионизированной воды).

пункт	ОП, 1ый дубль	ОП, 2ой дубль	ОП, среднее	Кальцитонин, пг/мл	Кальцитонин, пг/мл, окончательный результат
Стандарт А	0,008	0,009	0,0085		0
Стандарт В	0,059	0,064	0,0615		10
Стандарт С	0,186	0,194	0,190		30
Стандарт D	0,578	0,602	0,590		100
Стандарт E	1,900	1,882	1,891		300
Контроль 1	0,127	0,122	0,125	20,6	20,6
Контроль 2	2,554	2,565	2,560	> 300	*
Образец 1	0,034	0,040	0,037	4,7	4,7
Образец 2	0,104	0,098	0,101	16,3	16,3
Образец 3	0,397	0,411	0,404	68,7	68,7
Образец 4	2,195	2,173	2,184	> 300	*

*при концентрации выше 300 пг/мл, рекомендуется использовать данные полученные при 405 нм как показано в таблице **Данных образцов при 405 нм** ниже

пункт	ОП, 1ый дубль	ОП, 2ой дубль	ОП, среднее	Кальцитонин, пг/мл	Кальцитонин, пг/мл, окончательный результат
Стандарт А	0,005	0,005	0,005		0
Стандарт D	0,187	0,198	0,193		100
Стандарт E	0,602	0,597	0,599		300
Стандарт F	1,898	1,910	1,904		1000
Контроль 1	0,045	0,044	0,045	< 300	☐
Контроль 2	0,814	0,816	0,815	403	403
Образец 1	0,016	0,020	0,018	< 300	☐
Образец 2	0,039	0,035	0,037	< 300	☐
Образец 3	0,128	0,134	0,131	< 300	☐
Образец 4	0,697	0,689	0,693	345	345

Для образцов при считывании результатов ниже 300 пг/мл, рекомендуется использовать данные, полученные при 450 нм как указано в таблице выше. Это даст возможность получения данных с оптимальной чувствительностью.

Примечание: указанные данные только для иллюстрации и не должны использоваться для вычисления результатов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контрольную сыворотку или плазму следует использовать в каждом анализе. Полученные результаты для контрольных образцов следует оценить соответствующим статистическим методом. Если контрольные образцы не попадают в установленные границы, результаты пациентов могут быть неверными.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Для данного метода Biomerica Кальцитонин не было выявлено Хук-эффекта при высоких концентрациях, в образцах, обогащенных до концентрации 1,000,000 пг/мл очищенным интактным кальцитонином (1-32), 1,000,000 пг/мл. Для обогащенных образцов был получен результат выше, чем для самого высокого стандарта, с концентрацией приблизительно 1000 пг/мл. Образцы с концентрацией кальцитонина, превышающей концентрацию самого высокого калибратора, должны быть разведены и протестированы еще раз, для получения достоверных результатов. Как и в случае любого анализа, используемого для целей диагностики, результаты анализа кальцитонина всегда должны интерпретироваться в совокупности с другими клиническими данными и результатами других лабораторных исследований.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Каждой лаборатории рекомендуется выработать собственный диапазон ожидаемых значений. Данные, приведенные ниже, могут быть использованы только как ориентировочные. Концентрацию кальцитонина измеряли с помощью данного ИФА набора Biomerica Кальцитонин у пятидесяти девяти (59) практически здоровых женщин и у пятидесяти двух (52) практически здоровых мужчин. Полученные значения варьировали от 0,1 до 10,9 пг/мл - у женщин и от 0,2 до 27,7 пг/мл - у мужчин. На основании статистического анализа коэффициента асимметрии и эксцесса распределения установлено, что при логарифмической трансформации для популяции характерно нормальное или Гауссово распределение, как показано на гистограмме. Среднее геометрическое \pm 2 стандартных отклонения от среднего составило для здоровых женщин от 0,07 до 12,97 пг/мл и от 0,68 до 30,26 пг/мл для здоровых мужчин. В соответствии с литературными данными^{2,9}, уровни кальцитонина

оказались в общем случае ниже у здоровых женщин, чем у здоровых мужчин. Референсные значения должны быть ниже 13 пг/мл для женщин и ниже 30 пг/мл для мужчин.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Точность

Семьдесят семь образцов сыворотки пациентов с концентрацией кальцитонина в диапазоне от 0,8 пг/мл до 3,113 пг/мл были протестированы данным методом Biomerica Кальцитонин ELISA и иммунорадиометрическим (IRMA) методом определения кальцитонина (IRMA Calcitonin). Линейный регрессионный анализ дал следующие результаты:

$$\text{Biomerica ELISA} = 0,940 \text{ IRMA} + 6,55 \text{ пг/мл,} \\ r = 0,993 \text{ N} = 123$$

Кроме того, пятьдесят один образец сыворотки с концентрацией кальцитонина в диапазоне от < 0,7 пг/мл до 2,240 пг/мл были протестированы данным методом Biomerica Кальцитонин ELISA и хемилюминесцентным (ICMA) методом определения кальцитонина (ICMA Calcitonin). Линейный регрессионный анализ дал следующие результаты:

$$\text{Biomerica ELISA} = 1,094 \text{ ICMA} - 6,13 \text{ пг/мл,} \\ r = 0,995 \text{ N} = 123$$

Чувствительность

Чувствительность, или минимальная определяемая концентрация, была определена как наименьшее единичное значение, которое отлично от нуля при 95% доверительном интервале. Для данного набора Biomerica Кальцитонин рассчитанное значение чувствительности составило 1,0 пг/мл.

Воспроизводимость

1. Воспроизводимость внутри одной серии

Воспроизводимость набора Biomerica Кальцитонин внутри одной серии определялась путем тестирования 20 реплик каждого из трех образцов.

Внутри тестовая вариация

Образец	Среднее значение (пг/мл)	N	КВ, %
A	24.3	20	5.7
B	94.9	20	4.3
C	403	20	2.8

Воспроизводимость между сериями исследований набора Biomerica Кальцитонин определялась по данным, полученным для трех образцов, проанализированных в 15 различных постановках, тремя разными лаборантами, наборами двух лотов, на протяжении трех недель.

Межтестовая вариация

Образец	Среднее значение (пг/мл)	N	КВ, %
A	16.5	15	7.4
B	64.5	15	7.4
C	340	15	6.1

Восстановление

Для определения извлечения различные концентрации кальцитонина были добавлены к 4 образцам сывороток человека. Результаты анализа приведены в таблице:

Образец сыворотки	Эндогенный кальцитонин, пг/мл	Добавленный кальцитонин, пг/мл	Ожидаемое значение, пг/мл	Измеренное значение, пг/мл	Извлечение, %
A	0	-	-	-	-
	0	100	100	110	110 %
	0	200	200	217	109 %
B	9.7	-	-	-	-
	8.7	100	109	106	97 %
	7.8	200	208	207	100 %
C	0	-	-	-	-
	0	100	100	104	104 %
	0	200	200	203	103 %
D	5.7	-	-	-	-
	5.1	126	131	119	91 %
	4.6	220	225	203	90 %

Специфичность и перекрестная реактивность

Добавляемый реагент	Концентрация реагента	Кальцитонин до добавления реагента, пг/мл	Кальцитонин после добавления реагента, пг/мл	Изменения концентрации кальцитонина, пг/мл	% перекрестной реактивности
PTH (1-84)	100000 пг/мл	186	194	8	0.00800%
	30000 пг/мл	186	200	14	0.04667%
	10000 пг/мл	186	194	8	0.08000%
	1000000 пг/мл	200	202	2	0.00020%
Кальцитонин-подобный пептид	1000000 пг/мл	200	204	4	0.00400%
	1000000 пг/мл	191	194	3	0.00030%
Кальцитонин пососевым	100000 пг/мл	191	199	8	0.00800%
	5000 мкМЕд/мл	198	203	5	0.00061%
TSH	500 мкМЕд/мл	198	193	0	0.00000%
	50 мкМЕд/мл	198	199	1	0.01220%
	50 мкМЕд/мл	198	199	1	0.01220%

Перекрестную реактивность набора Biomerica Кальцитонин определяли, добавляя различные реагенты в образец, содержащий кальцитонин. Уровни кальцитонина определяли до и после внесения реагента. Ни один из реагентов не давал перекрестных реакций при анализе с помощью набора Biomerica Кальцитонин. Небольшие колебания определяемых концентраций кальцитонина лежали в диапазоне допустимых значений, определяемом воспроизводимостью метода.

Кинетический эффект метода

Для проверки существования кинетического эффекта между первыми и последними лунками постановки три пула сыворотки крови с разным количеством добавленного кальцитонина последовательно вносили в лунки одного цельного или стрипованного (состоящего из двенадцати 8-луночных стрипов) микропланшета.

Линейность разведения

Шесть образцов сыворотки крови пациентов разводили стандартом А (нулевым стандартом). Результаты в пг/мл приведены в таблице.

Образец	Разведение	Ожидаемые значения (пг/мл)	Измеренные значения (пг/мл)	% Измеренные ± ожидаемые значения
A	Неразведенный	-	343	-
	1:2	172	168	98%
	1:4	85,8	81,3	95%
	1:8	42,9	40,3	94%
B	Неразведенный	-	271	-
	1:2	136	131	97%
	1:4	67,8	70	103%
	1:8	33,9	34,3	101%
C	Неразведенный	-	265	-
	1:2	133	134	101%
	1:4	66	70,4	106%
	1:8	33,1	32,5	98%
D	Неразведенный	-	> 1000	-
	1:2	-	1060	-
	1:4	530	504	95%
	1:8	265	271	102%
E	Неразведенный	-	231	-
	1:2	116	116	100%
	1:4	57,8	58,8	102%
	1:8	28,9	27,1	94%
	1:16	14,4	12,1	84%
F	Неразведенный	-	> 1000	-
	1:2	-	997	-
	1:4	499	429	86%
	1:8	249	223	89%
	1:16	125	119	95%



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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