

НАБОР ИФА

**ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОБНАРУЖЕНИЯ
ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АНТИТЕЛ КЛАССА
IgG И IgM К *BORRELIA BURGDORFERI* В
ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ СЫВОРОТКЕ**

1423-2, Lyme Disease IgG/IgM

Каталог. № : 1423-2
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 11-04-2013



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

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Lyme Disease IgG/IgM ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Сэндвич-комплекс
Диапазон обнаружения	Качественный: Положительный и отрицательный контроли и пороговое значение (cut-off)
Образец	10 мкл сыворотки
Специфичность	95 %
Чувствительность	92 %
Общее время	~ 70 мин.
Срок хранения	12-18 месяцев

*Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Набор *Borrelia burgdorferi* IgG/IgM ELISA - твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) для качественного предполагаемого обнаружения общего количества антител (IgG и IgM) к *Borrelia burgdorferi* в человеческой сыворотке. Этот ELISA анализ должен только применяться на пациентах с признаками и симптомами, которые ассоциируются с боррелией. Сомнительные или положительные результаты должны быть дополнены анализом стандартизированной процедуры вестерн-блоттинга. Вспомогательные положительные результаты являются дополнительным подтверждением предрасположения к *B. burgdorferi* и могут использоваться как вспомогательное средство клинической диагностики Боррелии.

ЗНАЧЕНИЕ И ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

(См. в оригинале инструкции).

ПРИНЦИП ИФА

Настоящая система анализа разработана для определения антител класса IgG, M к *B. burgdorferi* в человеческий сыворотках. Лунки в пластмассовых микролуночных полосках сенсибилизируются пассивной абсорбцией с антигеном *B. burgdorferi*. Процедура анализа включает три инкубационных этапа:

- Анализируемые сыворотки (соответственно разбавленные) инкубируются в лунках, покрытых антигеном. Любое антиген специфическое антитело в образце связывается с иммобилизованным антигеном. Для удаления несвязанного антитела и других компонентов сыворотки промываются планшет.
- В лунки добавляется пероксидаза, коньюгированная козлиным анти-человеческим IgM/IgG (специфическая γ-цепочка) и планшет инкубируется. Коньюгат вступает в реакцию с IgM и/или IgG антителом, зафиксированным в твердой фазе на этапе 1. Для удаления не вступившего в реакцию коньюгата промываются лунки.
- Микролуники, содержащие зафиксированный коньюгат пероксидазы инкубируются с раствором субстрата пероксидазы. Гидролиз субстрата пероксидазой производит изменение цвета. После некоторого времени реакция останавливается и интенсивность цвета раствора измеряется фотометрическим методом. Интенсивность цвета раствора зависит от

концентрации антител в анализируемом первичном образце.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

- Рекомендуется проводить забор образцов в соответствии с NCCLS документом M29: Защита сотрудников лабораторий от инфекционных болезней.
- Ни один из известных методов не может обеспечить полную уверенность в том, что образцы человеческой крови не способны передавать инфекцию. Поэтому, все производные крови должны считаться потенциально инфекционными.
- В этом анализе должны использоваться только недавно собранные и должным образом сохраненные сыворотки крови, полученные одобренными асептическими процедурами венепункции. Никакие антикоагулянты или консерванты не должны добавляться. Избегайте использования гемолизированных, липемических или бактериологически загрязненных сывороток.
- Храните образец при комнатной температуре не более чем 8 часов. Если анализ не выполняется в пределах 8 часов, сыворотки могут хранится при 2-8 °C не более чем 48 часов. Если ожидается задержка в анализе, храните сыворотки для анализа при -20 °C или ниже. Избегайте циклов многократного замораживания/размораживания, которые могут вызывать потерю активности антител и давать ошибочные результаты.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Поставляемые материалы

Каждый набор содержит в достаточных количествах следующие компоненты для проведения числа анализов, указанного на этикетке упаковки.

Примечание: Все активные реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта в концентрации 0.1 % (w/v).

- Планшет.** 96 лунок, расположенных в двенадцати, 1x8-луночных полосках, покрытых инактивированным антигеном *B. burgdorferi* (штамм B31) антигеном. Полоски в рамке упакованы в пакете с осушителем.
- Коньюгат.** Пероксидаза хрена, коньюгированная козлиным анти-человеческим IgM/IgG антителом. Готовый к использованию. Один 15 мл флакон с белой крышкой.
- Положительный контроль** (человеческая сыворотка). Один 0,35 мл флакон с красной крышкой.
- Калибратор** (человеческая сыворотка). Один 0,5 мл флакон с синей крышкой.
- Отрицательный контроль** (человеческая сыворотка). Один 0,35 мл флакон с зеленой крышкой.
- Разбавитель образца.** Одна 30 мл бутылка (зеленая крышка), содержащая Твин-20, альбумин бычьей сыворотки и фосфатный буферизированный солевой раствор (pH 7.2 +/- 0.2). Готовый к использованию. ПРИМЕЧАНИЕ: перед использованием хорошо смешать. Добавлен консервант.
- TMB:** Одна 15 мл янтарная бутылка, содержащая 3,3', 5,5' – тетраметилензидин (TMB). Готовый к использованию. Содержит DMSO < 15 % (w).
- Стоп раствор:** Одна 5 мл бутылка (красная крышка), содержащая 1M H2SO4, 0.7M HCl. Готовый к использованию.
- Концентрат промывочного буфера (10X):** разбавьте 1 часть концентрата + 9 частей деионизированной или дистиллированной воды. Одна 100 мл бутылка (прозрачная крышка) содержит 10X концентрированный фосфат-буферизированный солевой раствор и Твин-20 (синий раствор). ПРИМЕЧАНИЕ: 1X раствор имеет pH 7.2 +/- 0.2.

Следующие компоненты не зависят от номера партии набора и могут взаимозаменяться в ИФА: TMB, стоп раствор и промывочный буфер.

Примечание: Набор также содержит:

- Перечень компонентов с детальной информацией о их партии внутри упаковки набора.
- Вкладыш с инструкциями по использованию.

Требуемые, но не поставляемые материалы:

- Микропланшетный считыватель с длиной волны измерения 450 нм;
- Микропипетки для точного дозирования 10 и 200 мкл;
- Многоканальная пипетка для точного дозирования (50-200 мкл).
- Резервуары реагентов для многоканальных пипеток.
- Промывочная бутылка или система промывки планшета.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Мерный цилиндр на 1 л.
- Серологические пипетки.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Бумажные полотенца.

- Лабораторный таймер для соблюдения этапов инкубации.
- Контейнер для отходов и дезинфицирующее средство (Наприм.: 10% хозяйственный отбеливатель, 0,5% гипохлорит натрия).

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

- Извлеките отдельные компоненты набора из места хранения и позвольте им нагреться до комнатной температуры (20-25°C).
- Определите требуемое количество микролунок. Проведите шесть определений контролей/калибраторов (одного бланка, одного отрицательного контроля, трех калибраторов и одного положительного контроля) в одной процедуре. Бланк реагент должен использоваться в каждом анализе. Проверьте требования к программному обеспечению ичитывающему устройству для правильных конфигураций контролей/калибраторов. Возвратите неиспользованные полоски в запечатывающийся мешочек с осушителем, герметично закройте и возвратите на хранение при 2-8°C.

ПРИМЕР СХЕМЫ ПЛАНШЕТА		
	1	2
A	Бланк	Пациент 3
B	Отриц. контроль	Пациент 4
C	Калибратор	и т. д.
D	Калибратор	
E	Калибратор	
F	Полож. контроль	
G	Пациент 1	
H	Пациент 2	

- Проведите разбавление 1:21 (например.: 10 мкл сыворотки + 200 мкл разбавителя образца). **ПРИМЕЧАНИЕ:** перед использованием хорошо встряхните) отрицательного контроля, калибратора. Положительного контроля и каждой сыворотки пациента.
- В отдельные лунки добавьте 100 мкл каждого разбавленного контроля, калибратора и образца из планшета абсорбента в планшет для анализа. Убедитесь, что образцы должным образом перемешаны. Для каждого образца используйте разные наконечники пипеток.
- В лунку A1 в качестве бланк реагента внесите 100 мкл разбавителя образца. Проверьте требования к программному обеспечению ичитывающему устройству для правильных конфигураций лунки бланка реагента.
- Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 25 +/- 5 минут.
- Промойте микролуночные полоски 5Х.

A. Ручная процедура промывки:

- Энергично встряхните жидкость из лунок.
- Заполните каждую лунку промывочным буфером. Удостоверьтесь в отсутствии в лунках воздушных пузырьков.
- Повторите этапы а. и б. чтобы в общем количестве провести 5 промываний.
- Встряхните промывочный раствор из всех лунок. Переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора. Осмотрите планшет, убедившись в отсутствии остатка промывочного раствора. В конце каждого рабочего дня собираите промывочный раствор в емкость для отходов, и обрабатывайте гипохлоритом натрия 0.5% (отбеливателем).

B. Автоматизированная процедура промывки:

При использовании автоматизированной промывочной установки, отрегулируйте объем распределения на 300-350 мкл/лунку. Настройте цикл промывки на 5 промывок без задержки между промывками. Извлеките микротитровальный планшет из промывателя, переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора.

- Добавьте 100 мкл коньюгата в каждую лунку, включая лунку бланка, в том же темпе и порядке как добавлялись образцы.
- Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 25 +/- 5 минут.
- Промойте микролуночки, следуя процедуре в этапе 7.
- Добавьте 100 мкл раствора субстрата ТМВ в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, в том же темпе и порядке как добавлялись образцы.
- Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 10-15 минут.
- Остановите реакцию добавлением 50 мкл стоп раствора в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, в том же темпе и

порядке как добавлялся ТМВ. Положительные образцы из синего цвета станут желтыми. После добавления стоп раствора поступите по планшету несколько раз убедившись, что образцы полностью смешаны.

- Настройте считающее устройство для считывания при длине волны 450 нм и измерьте оптическую плотность (ОП) каждой лунки против бланка реагента. Планшет необходимо считывать в пределах 30 минут после добавления стоп раствора.

РЕЗУЛЬТАТЫ

A. Вычисления:

1. Коэффициент коррекции

Значение предела обнаружения ОП для положительных образцов было определено производителем и скорректировано по отношению к калибратору. Коэффициент коррекции (КК) дает возможность определить значение предела обнаружения для положительных образцов и исправить незначительные ежедневные отклонения в результатах анализа. КК определяется для каждой партии компонентов набора в перечне компонентов в упаковке набора.

2. Значение предела обнаружения ОП

Для получения значения предела обнаружения ОП умножьте КК на среднее значение калибратора, определенное выше. (КК x среднее ОП калибратора = значение предела обнаружения ОП).

3. Значения коэффициента или коэффициенты ОП

Вычислите значение коэффициента или коэффициент ОП для каждого образца путем разделения значения его ОП на предел обнаружения ОП из этапа 2.

Пример:

Среднее ОП калибратора = 0.793

Коэффициент коррекции (КК) = 0.25

Предел обнаружения ОП = $0.793 \times 0.25 = 0.198$

ОП неизвестного образца = 0.432

Коэффициент значения образца или коэффициент ОП = $0.432 / 0.198 = 2.18$

B. Интерпретации:

Значения коэффициента или коэффициенты ОП интерпретируются следующим образом:

Значение коэффициента или коэффициент ОП

Отрицательные образцы ≤ 0.90

Сомнительные образцы 0.91 до 1.09

Положительные образцы ≥ 1.10

Отрицательный: IgG антител не обнаружено; результат не исключает инфекции *B. burgdorferi*. Дополнительный образец должен анализироваться в пределах 4-6 недель, если подозревается ранняя инфекция.

Сомнительный: Текущие рекомендации утверждают, что сомнительные результаты должны сопровождаться дополнительным Вестерн-блоттингом. (Анализы Вестерн-блоттинга на антитела к *B. burgdorferi* скорее являются дополнительными чем подтверждающими, потому что их специфика менее чем оптимальная, особенно для определения IgM). Этот сомнительный результат должен выводиться из результатов анализа Вестерн-блоттинга. Результаты не должны выводиться, пока не закончен дополнительный анализ.

Положительный: IgG антитела к *B. burgdorferi* предположительно обнаружены. В современных рекомендациях результат не может далее интерпретироваться без дополнительного анализа Вестерн-блоттинга. (Анализы Вестерн-блоттинга на антитела к *B. burgdorferi* скорее являются дополнительными чем подтверждающими, потому что их специфика менее чем оптимальная, особенно для определения IgM). Результаты не должны выводиться, пока не закончен дополнительный анализ.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

A. Сравнительные исследования

Было проведено сравнение данного теста с коммерчески доступным для определения антител в двух клинических исследованиях.

Первое исследование было проведено с использованием 199 образцов сыворотки. Результаты представлены ниже:

	Положит.	Отрицат.
<i>B. burgdorferi</i>	58	5
Процедура IFA	7	129

Анализ данных, приведенных выше, дал показатели чувствительности в 92 % специфичности 95 %, и согласованности 94

%.

Второе исследование было проведено с использованием 263 образцов сыворотки. Результаты представлены ниже:

		Положит.	Отрицат.
Контрольный <i>B. burgdorferi</i>	Положит.	11	2
Процедура IFA для IgG/IgM	Отрицат.	8	242

Статистический анализ данных показывает 85 % чувствительности, и 97 % специфичности. Общая согласованность составила 96 %.

В обоих клинических исследованиях противоречивые результаты были повторены, и получены идентичные результаты. В дополнение. Положительные IgM/отрицательные IgG результаты были идентифицированы как положительные с данным тестом. Эти результаты свидетельствуют о том, что данный тест может идентифицировать оба антитела, IgG и IgM, к *B. Burgdorferi* в индивидуальных микротитровых лунках.

Следующая таблица показывает результаты, полученные с использованием панели от CDC. Представлены средние значения результатов. См. таблицу 3 в оригинале инструкции на английском языке.

В. Воспроизводимость

Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость были определены с использованием 8 копий положительного, неопределенного и отрицательного образцов. Результаты приведены в таблице. См. таблицу 4 в оригинале инструкции на английском языке.

С. Перекрестная реактивность

Образцы сыворотки от пациентов с заболеваниями боррелией, тропической фрамбезией, пинтой, лептоспирозом, аутоиммунными заболеваниями и сифилисом, могут давать перекрестную реакцию.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Во время каждой процедуры анализа калибратор должен анализироваться в трех экземплярах. Бланк реагент, отрицательный и положительный контроль должны также быть включены в каждом анализе.
2. Вычислите среднее значение трех лунок калибраторов. Если любое из трех значений отличается больше чем на 15% от среднего, отбросьте это значение, и вычислите среднее остальных двух значений.
3. Среднее значение ОП калибратора и значений ОП положительного и отрицательного контролей должно находиться в пределах следующих диапазонов:

Диапазон ОП
Отрицательный контроль ≤ 0.250
Калибратор ≥ 0.300
Положительный контроль ≥ 0.500

- a. ОП отрицательного контроля, разделенная на среднюю ОП низко положительного стандарта должна составлять ≤ 0.9.
 - b. ОП положительного контроля, разделенная на среднюю ОП низко положительного стандарта должна составлять ≥ 1.25.
 - c. Если значения контролей не находятся в пределах вышеупомянутых диапазонов, анализ следует считать недействительным, и его необходимо повторить.
4. Положительный и отрицательный контроли предназначены для контроля существенного несоответствия реагента и не гарантирует точности в пороговом диапазоне анализа.
 5. В соответствии с рекомендациями или требованиями местных, государственных и/или федеральных правил или аккредитованных организаций, могут анализироваться дополнительные контроли.
 6. За рекомендациями соответствующей практики контроля качества смотрите документ C24 NCCLS: Статистический контроль качества при количественных измерениях.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Сыворотки от пациентов с другими спирохетными болезнями (сифилис, фрамбезия, пинта, лептоспироз и рецидивирующая лихорадка), и инфекционным мононуклеозом могут давать ошибочно положительные результаты. В случаях наблюдения ошибочно положительных реакций, необходимо провести обширное клиническое эпидемиологическое и лабораторное исследование, чтобы подтвердить определенный диагноз. Ошибочно положительные сыворотки от пациентов больных сифилисом могут быть идентифицированы при выполнении RPR и МНАТР анализа с такими образцами.
2. Ошибочно отрицательные результаты могут быть получены,

если серологические образцы собраны слишком рано после начала болезни, прежде чем количество антител достигло значительных уровней. Также, ранняя антибиотическая терапия может прерывать гуморальный иммунный ответ к спирохете.

3. Все данные должны интерпретироваться вместе с клиническими симптомами болезни, эпидемиологическими данными, предрасположением к эндемическим территориям, и результатами других лабораторных анализов.
4. Обследование общей совокупности населения не должно проводится. Предполагаемое положительное значение зависит от вероятности инфекции при предварительном обследовании. Обследование должно проходить только при наличии клинических признаков или при подозрении о контакте с источником заражения.
5. Рабочие характеристики данного набора не установлены в образцах пациентов, вакцинированных антигенами *B. burgdorferi*.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

1. Для диагностического использования *in vitro*.
2. При обращении с лабораторными реагентами необходимо соблюдать стандартные предосторожности. В случае контакта с глазами, промойте немедленно большим количеством воды и обратитесь за медпомощью. Носите соответствующую защитную одежду, перчатки, и защитное средство для глаз/лица. Не вдыхайте пар. Уничтожайте отходы, соблюдая все местные, и государственные законы.
3. Лунки планшета ИФА не содержат жизнеспособных организмов. Однако, полоски должны рассматриваться как **ПОТЕНЦИАЛЬНО БИООПАСНЫЕ МАТЕРИАЛЫ** и требуют соответствующего обращения.
4. Контроли человеческой сыворотки - **ПОТЕНЦИАЛЬНО БИООПАСНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**. Исходные материалы, из которых эти продукты были получены, были подтверждены одобренным методами анализа. Поскольку никакой метод анализа не может полностью гарантировать отсутствие возбудителей инфекций, эти продукты требуют обращения с соблюдением 2 уровня биологической опасности как рекомендуется при любой потенциально инфекционной человеческой сыворотке или образце крови.
5. Разбавитель образца, контроли, промывочный буфер, абсорбент и коньюгат содержат азид натрия в концентрации 0.1 % (w/v). Азид натрия считается таким, который образует азиды свинца и меди во внутренней канализации лаборатории. Что может вызвать взрыв при ударении. Во избежание этого, тщательно промойте раковину водой после утилизации раствора с азидом натрия.
6. Четкое следование определенному времени и температуре инкубаций важно для точных результатов. **Все реагенты перед началом анализа должны быть приведены к комнатной температуре (20-25°C)**. Непосредственно после использования неиспользованные реагенты верните в температуру охлаждения.
7. Неправильное промывание приводит к ошибочно положительным или ошибочно отрицательным результатам. Убедитесь, что в планшетах не осталось любого остатка промывочного раствора перед добавлением коньюгата или раствора субстрата. Не позволяйте лункам высыхать между инкубациями.
8. Стоп раствор ТОКСИЧЕН. Причиняет ожоги. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при заглатывании. При несчастном случае или при плохом самочувствии немедленно обратитесь за медпомощью.
9. ТМВ раствор ВРЕДЕН. Раздражителен для глаз, дыхательной системы и кожи.
10. Концентрат промывочного буфера является РАЗДРАЖИТЕЛЕМ. Раздражителен для глаз, дыхательной системы и кожи.
11. Не оставляйте на дне планшета остатков жидкости и/или следов пальцев, которые могут изменять считывания оптической плотности (ОП).
12. Разбавление или примешивание этих реагентов может дать ошибочные результаты.
13. Реагенты от других источников или изготовителей не должны использоваться.
14. ТМВ раствор должен быть бесцветным, очень светло желтым, очень светло зеленым или очень светло синим во время использования. Загрязнение ТМВ с коньюгатом или другими окислителями преждевременно вызывает изменение цвета. Не используйте ТМВ, если это отчетливо синего цвета.
15. Никогда не пипетируйте ртом. Избегайте контакта реагентов и образцов пациентов с кожей или слизистыми оболочками.
16. Избегайте микробиологического загрязнения реагентов. Могут быть получены неправильные результаты.
17. Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может

- вызвать ошибочные результаты.
- 18. Многоразовая стеклянная посуда должна быть вымыта и полностью ополоскана, чтобы освободится от всех дегергентов.
 - 19. Избегайте разбрзгивания или образования аэрозолей.
 - 20. Не подвергайте реагенты сильному свету в течение хранения или инкубации.
 - 21. Приводя микролуночные полоски и держатель к комнатной температуре перед вскрытием, защитит защитный мешочек лунки от конденсации.
 - 22. Промывочный раствор необходимо собрать в емкость для отходов. Обработайте раствор для отходов 10% хозяйственным отбеливателем (0,5% гипохлоридом натрия). Избегайте воздействия испарений отбеливателя на реагенты.
 - 23. Предостережение: Жидкие отходы в кислоте pH должны быть нейтрализованы перед добавлением к отбеливающему веществу.
 - 24. Не использовать планшет ИФА, если полоска индикатора на мешочке высушивающего средства превратилась из синего цвета в розовый.
 - 25. Не позволяйте коньюгату вступать в контакт с емкостями, которые, возможно, прежде содержали растворы, имеющие в своем составе азид натрия как консервант. Остаточные количества азода натрия могут уничтожить ферментную деятельность коньюгата.
 - 26. Не подвергайте никакой из реагентов воздействию растворов, содержащих отбеливающее вещество. Остаточное количество отбеливающего вещества (гипохлорида натрия) может уничтожить биологическую активность многих реагентов из этого набора.

ТРЕБОВАНИЯ К ХРАНЕНИЮ:

- 1. Хранить невскрытый набор при 2-8 °C.
- 2. Предварительно покрытые микролуночные полоски: хранить при 2-8 °C. Лишние полоски должны быть немедленно повторно запечатаны с высушивающим средством и возвращены для соответствующего хранения. Полоски устойчивы в течение 60 дней после того, как мешочек был открыт и должным образом вторично закрыт, и индикатор остается синим.
- 3. Коньюгат. Хранить при 2-8 °C. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.
- 4. Калибратор, положительный и отрицательный контроль: Хранить при 2-8 °C.
- 5. TMB: Хранить при 2-8 °C.
- 6. Концентрат промывочного буфера (10X). Хранить при 2-25 °C. Разбавленный промывочный буфер (1x) стабилен в течение 7 дней если хранить при комнатной температуре или 30 дней при 2-8 °C.
- 7. Разбавитель образца. Хранить при 2-8 °C.
- 8. Стоп раствор. Хранить при 2-25 °C.



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