



## SeroELISA™ Chlamydia TRUE IgM

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)  
zur Erkennung von spezifischen IgM-Antikörpern  
gegen **Chlamydia** in Humanserum

### Gebrauchsanweisung

Testkit für 96 Bestimmungen  
(Katalog-Nr. 112-01)

Zur Verwendung für die In vitro-Diagnostik  
Nur für Fachpersonal  
Bei 2 bis 8 °C lagern. **Nicht einfrieren.**

### Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003  
ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-Mail: [support@savyondiagnosics.com](mailto:support@savyondiagnosics.com)

### Verwendungszweck

Das SeroELISA™ Chlamydia TRUE IgM™-Kit ist für die Erkennung von spezifischen IgM-Antikörpern gegen Chlamydia in einzelnen Humanserum-Proben durch ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) vorgesehen.

### Zur Verwendung für die In vitro-Diagnostik.

### Einleitung

Chlamydia ist ein gram-negatives, obligatorisch intrazelluläres Bakterium, das akute und chronische Erkrankungen bei Säugetieren und Vögeln verursacht. Der Genus Chlamydia besteht aus vier Spezies: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* und *C. pecorum*.

*C. trachomatis* ist in 15 Serovare unterteilt (1). Die Serovare A, B, Ba und C sind Agenzien für Trachoma (2), der Hauptursache für vermeidbare Erblindungen, die in den Ländern der dritten Welt endemisch ist. Die Serovare L<sub>1</sub>-L<sub>3</sub> sind Agenzien für Lymphogranuloma Venereum. Die Serovare D-K sind weltweit eine häufige Ursache für sexuell übertragene Genitalinfektionen:

Cervicitis, Endometritis/Salpingitis (3) bei Frauen und Urethritis (4) bei Frauen und Männern. Endometritis/Salpingitis kann zu Eileiterverschlüssen führen, mit denen ein höheres Risiko für extrauterine Schwangerschaften und Unfruchtbarkeit einher geht. Genitale Infektionen können akute und persistente Infektionen verursachen, die gelegentlich ohne jegliche klinische Symptome verlaufen. In der Regel sind diese Infektionen behandelbar, sofern sie erkannt werden. Ohne Behandlung kann sich die Infektion jedoch zu einer chronischen Entzündung entwickeln, die zu Unfruchtbarkeit, ektopischen Schwangerschaften, induziertem Abort oder Frühgeburten führen kann. Zusätzlich können Kinder von infizierten Müttern bei der Geburt infiziert werden und in der Folge an Konjunktivitis oder Pneumonie erkranken (5).

*C. pneumoniae* ist ein verbreitetes respiratorisches Humanpathogen und liegt bis zu 10 % der Fälle ambulant erworbener Pneumonie zugrunde. Der Erreger wurde akuten respiratorischen Erkrankungen, Pneumonie, Asthma, Bronchitis, Pharyngitis, dem akuten Brustsyndrom der Sichelzellerkrankung, koronaren Herzkrankheiten und dem Guillain-Barre-Syndrom zugeordnet (6).

*C. psittaci* infiziert von Mollusken über Vögel bis hin zu Säugetieren eine breite Anzahl von Wirtsspezies und verursacht ebenfalls schwere Pneumonie.

Serodiagnostische Tests, die auf spezifischen immunologischen Markern beruhen, dienen als nicht-invasives Diagnosewerkzeug für die Erkennung von distalen und tiefen Infektionen (7). Anti-Chlamydia-IgM-Antikörper sind von diagnostischem Wert für Pneumonien, die durch *C. pneumoniae* (TWAR) und *C. psittaci* verursacht werden (8). Das serologische Muster von Chlamydia IgM bei chlamydialer Pneumonitis ist wie folgt: Antikörper werden in den frühen Stadien einer Infektion produziert, erreichen nach 1 bis 2 Wochen die maximale Anzahl und fallen in der Regel innerhalb von 2 bis 3 Monaten allmählich auf nicht nachweisbare Mengen ab (11).

Dieses Muster wurde bei 20 bis 50 % der Säuglinge von Müttern beobachtet, die kulturpositiv für *Chlamydia trachomatis* waren und/oder erhöhte Werte für IgG- und IgA-Antikörper gegen Chlamydia zeigten. Diese Säuglinge entwickelten während der ersten 6 Lebensmonate eine chlamydiale Pneumonitis (7).

Da IgM nur bei akuten und/oder rezenten Erkrankungen vorhanden ist (9), ist für den Chlamydia IgM-Test nur eine einzelne Serumprobe erforderlich. Die Ergebnisse werden als Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein von Immun-IgM ausgedrückt.

Hohe Immun-IgG-Titer, das mit Immun-IgM um dieselben Antigen-Bindungsplätze konkurriert, können zu falschen negativen IgM-Ergebnissen führen. Der Rheumafaktor (Rf, Autoimmunaktivität) verursacht falsche positive IgM-Ergebnisse (10). Die Ausräumung von IgG und Rf ist daher ein wesentlicher Bestandteil des IgM-Assays.

Der SeroELISA™ Chlamydien-Test verwendet das breit reagierende L<sub>2</sub>-Serovar-Antigen von *C. trachomatis*. Er eignet sich zur Erkennung von Antikörpern gegen *C. trachomatis*, *C. psittaci* und *C. pneumoniae* (TWAR).

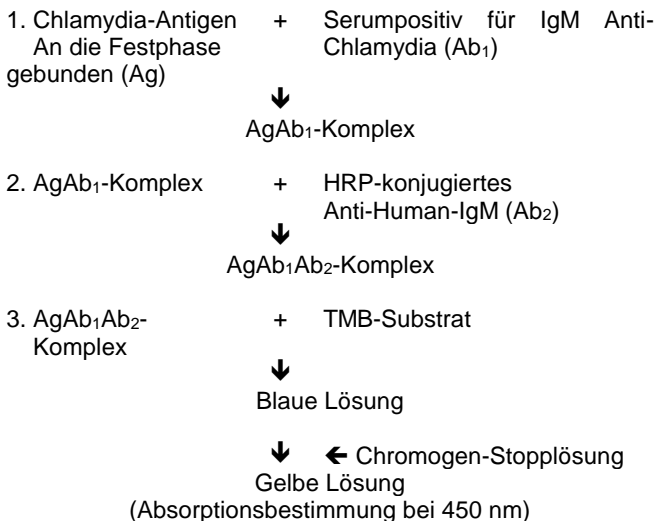
### Testprinzip

- Das zu testende Humanserum wird in Kontakt mit der Antigenmaterial-Beschichtung der Mikrotiter-Wells gebracht. Wenn im Patientenserum spezifische Antikörper vorhanden sind, binden diese sich an das Antigenmaterial. Ein Komplex wird gebildet, und alle Serumkomponenten werden in der Waschphase ausgewaschen.
- Den Wells wird HRP (Meerrettich-Peroxidase)-konjugiertes Anti-Human-IgM ( $\mu$ -kettenspezifisch) hinzugefügt. Wenn im vorhergehenden Schritt ein Antigen-Antikörper-Komplex gebildet wurde, bindet sich der peroxidase-konjugierte Antikörper an den Antikörperteil des Komplexes. Wenn im vorhergehenden Schritt kein Antigen-Antikörper-Komplex gebildet wurde, wird das Konjugat in der Waschphase ausgewaschen.
- TMB-Substrat wird hinzugefügt. Eine positive Reaktion wird durch eine blaue bis tiefblaue Färbung angezeigt, die sich in den Testwells infolge der enzymatischen Reaktion des Peroxidase-Anteils mit Peroxid und dem

Chromogen-Reaktant entwickelt. Nachdem die enzymatische Reaktion durch eine säurehaltige Lösung gestoppt wurde, wird die Absorption der Testwells bei 450 nm mit einem Spektrophotometer bestimmt.

- Die Absorption bei 450 nm gibt den IgM-Anti-Chlamydia-Titer für die Patientenserumproben an.

### Testverfahren



### Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Warnung:** DAS CHLAMYDIALE ANTIKÖRPER-MATERIAL WURDE DEAKTIVIERT UND ENTHÄLT KEINE NACHWEISBAREN LEBENDEN ORGANISMEN. DIE STREIFEN SOLLTEN JEDOCH WIE JEGLICHES ANDERE POTENTIELL BIOGEFÄHRLICHES LABORMATERIAL BEHANDELT UND ENTSORGT WERDEN.

Vorsichtsmaßnahmen: Dieses Kit enthält Humanseren, die mit einem von der FDA zugelassenen Verfahren negativ auf HBV-Antigene sowie HCV-, HIV 1- und HIV 2-Antikörper getestet wurden. Es sind zurzeit keine Verfahren bekannt, mit denen sich Infektionen durch Humanblutderivate vollständig ausschließen lassen. Alle in diesem Kit enthaltenen Humanblutkomponenten müssen daher als potenziell infektiöses Serum bzw. Blut gemäß den Vorgaben im CDC/NIH-Handbuch „Biosafety in Micro Biological and Biomedical Laboratories, 1988“ gehandhabt werden.

- Die Substrat-/Chromogenlösung kann Reizungen der Haut und der Schleimhäute hervorrufen. Direkten Kontakt vermeiden.
- Zur Verwendung für die *In vitro*-Diagnostik**

### Inhalts des Kits

- Vorbeschichtete Mikrotiter-Platte (96 Wells je Rahmen). Jede Tüte enthält eine Mikrotiter-Platte mit 12 abnehmbaren Streifen in einem Kunststoffrahmen. Jeder Streifen ist mit Chlamydia-Antikörpern beschichtet. **1 Einheit**
- Positivkontrolle (Anti-Chlamydia-IgM-Antikörper-positives Humanserum). Gebrauchsfertig. **1 Fläschchen, 2,0 ml**
- Negativkontrolle (Anti-Chlamydia-IgM-Antikörper-negatives Humanserum). Gebrauchsfertig. **1 Fläschchen, 2,0 ml**

- HRP-konjugiertes Anti-Human-IgM ( $\mu$ -kettenspezifisch). Gebrauchsfertig. **1 Fläschchen, 10 ml**
- IgM-Serumverdünnung, gebrauchsfertig. **2 Flasche, 60 ml**
- Konzentrierter Waschpuffer (20fach). **1 Flasche, 100 ml**
- TMB-Substrat. Gebrauchsfertig. **1 Fläschchen, 16 ml**
- Stopplösung (1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), gebrauchsfertig. **1 Flasche, 16ml**
- Plattenabdeckung. **1 Einheit**
- Gebrauchsanweisung. **1**

### Zusätzlich benötigtes Material

- Saubere Reagenzgläser zur Verdünnung der Patientenserum.
- Einstellbare Mikropipetten oder Mehrkanalpipetten (5 - 50, 50 - 200 und 200 -1000  $\mu$ l) sowie Einmalspitzen.
- Einweg-Kunststoffpipetten (sortierte Größen) und Sicherheits-Pipettiergeräte.
- Messflasche 1 l.
- Ein Messzylinder, 50 ml.
- ELISA-Platten-Wascher oder Waschflasche.
- Papierhandtücher oder saugfähiges Papier.
- Vortexmischer.
- Ein 37°C-Wasserbad mit Deckel oder eine Feuchtkammer in einem 37°  $\pm$  1° C-Inkubator.
- Ein Kühlschrank mit 4 °C.
- ELISA-Lesegerät mit 450-nm-Filter.
- Destilliertes oder doppelt entionisiertes Wasser zur Verdünnung des konzentrierten Waschpuffers.

### Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Alle im Lieferumfang enthaltenen Materialien müssen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Die Testreagenzien sind bis zum auf der Kit-Verpackung angegebenen Ablaufdatum stabil, wenn sie bei 2°C bis 8 °C aufbewahrt werden. Original verschlossene oder versiegelte Komponenten können für einige Stunden Raumtemperaturen ausgesetzt werden, ohne dass die Reagenzien verderben. **NICHT EINFRIEREN!**

Bei angebrochenen Kits beträgt die Stabilität des Originalmaterials 60 Tage vom Öffnen der Verpackung an. Nach dem Öffnen sollte die Tüte aus Aluminiumfolie, in der sich die Streifen befinden, mit Klebeband verschlossen werden. Das Trockenmittel sollte nicht entfernt werden.

Es können sich in dem 20 fach-konzentrierten Waschpuffer während der Kühlung Kristalle bilden, dies ist absolut normal. Kristalle durch Erwärmung des Puffers auf 37°C vor der Verdünnung wieder auflösen. Nach der Verdünnung kann die Lösung 21 Tage lang bei 2-8°C gelagert werden

### Probenentnahme

Serumproben müssen aseptisch entnommen und bei 2°C bis 8 °C mit 0,05 % Natriumazid (NaN<sub>3</sub>) als Konservierungsstoff gelagert werden, wenn sie innerhalb weniger Tage getestet werden sollen. Für längere Zeiträume müssen Aliquots der Serumproben bei -20 °C gelagert werden.

Da trübe oder hämolytische Serumproben weniger reproduzierbare Ergebnisse liefern können, wird dringend empfohlen, klare und nicht hämolytische Serumproben zu

## Testverfahren

### Hinweise:

- Die Komponenten dieses Kits wurden als Einheit getestet. Die Komponenten dieses Kits nicht mit denen anderer Lose oder Kits von anderen Herstellern mischen.
- Alle Reagenzien müssen vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht werden. Die Serumverdünnung und die Konjugatverdünnung gelatinieren bei der Kühlung. Bei Bedarf die Verflüssigung beschleunigen, indem diese Komponenten mehrere Minuten lang bei 37 °C erwärmt werden.  
Im konzentrierten Waschpuffer können sich bei der Lagerung mit 2°C bis 8 °C Salzkristalle bilden. Dieses Kristalle müssen vollständig gelöst werden, indem die Komponente vor der Verdünnung bei 37 °C erwärmt wird.
- Den Test nicht in Gegenwart von reaktiven Dämpfen (z.B. von säurehaltigen bzw. alkalischen Substanzen oder Aldehyden) oder Staub durchführen, da die enzymatische Aktivität des HRP-konjugierten Anti-Human-IgM davon beeinträchtigt werden kann.
- Die Oberseite der Streifen nicht berühren. Die Ränder der Wells beim Einfüllen von Reagenzien nicht mit der Pipettenspitze berühren.
- Einmal-Pipettenspitzen verwenden.  
Kreuzkontaminierung der Reagenzien vermeiden.
- Mit dem Fläschchen leicht auf eine harte Oberfläche schlagen, um möglicherweise in der Kappe befindliche Flüssigkeit freizugeben.
- Keine Luftblasen in den Wells einschließen.
- Flüssigkeiten langsam pipettieren, um Spritzer zu vermeiden.
- Bei jeder Durchführung des Tests sollten die Sera für die Positivkontrolle und Negativkontrolle gemeinsam auf Serumproben angewendet werden.
- Ein Well sollte bei jeder Durchführung des Tests als Blindwert verwendet werden.
- Alle Schritte des Verfahrens sollten nacheinander und ohne Unterbrechung ausgeführt werden.

## Ablauf des Tests

### A) Vorwaschen der Streifen

*Es ist ratsam, die Streifen vor Beginn des Assays vorzuwaschen, um das Hintergrundrauschsignal zu verringern.*

- Entnehmen Sie die erforderliche Anzahl an Streifen aus ihren Aluminiumfolienbeuteln und legen Sie sie in den Plattenrahmen ein.
- Verdünnen Sie den konzentrierten Waschpuffer 1:20 mit destilliertem Wasser. Für 100 ml Waschpuffer benötigen Sie 5 ml konzentrierten Waschpuffer und 95 ml destilliertes Wasser. Mischen Sie gut durch.  
Die Waschpuffer-Arbeitslösung sollte unmittelbar vor Gebrauch zubereitet und der Überschuss entsorgt werden.
- Waschen Sie die Streifen mit dem Waschpuffer, dann entsorgen Sie den Streifeninhalt. Wiederholen Sie diesen Schritt noch einmal.
- Trocknen Sie die Oberseite der Streifen und des Rahmens, indem Sie sie vorsichtig mit sauberem, saugfähigem Papier abklopfen.

### B) Inkubieren von Serumproben und Kontrollen

- Jedes Patientenserum unter Verwendung der mitgelieferten Serumverdünnung wie folgt 1:105 verdünnen: 10 µl Patientenserum in 200 µl Serumverdünnung (1:21) geben und anschließend durch Hinzugeben von 25 µl 1:21-Lösung zu 100 µl Serumverdünnung weiter verdünnen.  
**Hinweis:** Die Serumverdünnung enthält Anti-Human-IgG zur Ausräumung von IgG-Antikörpern aus Humanserum. Die Kontrollflüssigkeiten werden in gebrauchsfertiger Form geliefert und sollten nicht verdünnt werden.
- 50 µl gebrauchsfertige Positivkontrolle, Negativkontrolle und Serumprobe (1:105-Lösung) in die entsprechenden separaten Wells der Teststreifen geben.  
50 µl IgM-Serumverdünner als Blindwert in einen Well geben.  
*Das Pipettieren der Kontrollflüssigkeiten und Serumproben in die Wells sollte nicht länger als 10 Minuten dauern.*
- Plattenabdeckung auflegen und für 30 min bei 37 °C in einer Feuchtkammer inkubieren.
- Den flüssigen Inhalt der Wells entsorgen. Die Wells **fünfmal** auswaschen und wie in den Schritten A) trocknen.

### C) Inkubation mit Konjugat

- 50 µl HRP-konjugierte aktive Anti-Human-IgM-Lösung in jeden Well geben.
- Plattenabdeckung auflegen und für 30 min bei 37 °C in einer Feuchtkammer inkubieren.
- Den flüssigen Inhalt der Wells entsorgen und diese anschließend **fünfmal** auswaschen und wie in den Schritten A) trocknen.

### D) Inkubation mit TMB-Substrat

- 100 µl TMB-Substrat in jeden Well geben.
- Plattenabdeckung auflegen und für 15 min bei Raumtemperatur inkubieren.
- Reaktion durch Hinzugeben von 100 µl Stopplösung in jeden Well stoppen.  
Die Stopplösung in derselben Reihenfolge und denselben Zeitintervallen wie das TMB-Substrat hinzugeben.
- Das Spektrophotometer auf das leere Well kalibrieren. Die Absorption bei 450 nm bestimmen und die Ergebnisse aufzeichnen.

*Die unverzügliche Bestimmung der Absorption wird empfohlen, ist jedoch nicht zwingend erforderlich. Die Absorptionsbestimmung muss innerhalb von 30 min nach dem Ende der Chromogenreaktion erfolgen.*

## Validierung des Tests

Ein Testdurchlauf ist gültig, wenn:

- die Absorption der Positivkontrolle  $\geq 0,8$  bei 450 nm beträgt
- die Absorption der Negativkontrolle  $\leq 0,15$  bei 450 nm beträgt

Wenn diese Bedingungen nicht erfüllt sind, ist der Testdurchlauf ungültig und muss wiederholt werden.

## Berechnung des Cut-Off-Werts (COV)

Der Cut-Off-Wert wird anhand der folgenden Formel berechnet:

$$\text{COV} = 0,24 \times (\text{Pc} - \text{Nc}) + \text{Nc}$$

Pc = Absorption der Positivkontrolle bei 450 nm

Nc = Absorption der Negativkontrolle bei 450 nm

## Interpretation der Ergebnisse:

Absorption bei 450 nm	Ergebnis	Interpretation der Ergebnisse:
Unter COV -0,03	Negativ	Keine erkennbaren IgM-Antikörper gegen Chlamydia
COV ±0,03	Mehrdeutig	Mehrdeutig eingestufte Serumproben erneut testen. Bei erneut mehrdeutigen Ergebnissen wird das Testen weiterer Serumproben empfohlen.
Über COV +0,03	Positiv	Weist auf eine akute und/oder rezente Chlamydien-Infektion hin

## Grenzen des Tests

- Zur Diagnose sind stets mehrere serologische Tests zu verwenden. Dabei sind alle klinischen Daten und Laborwerte zu berücksichtigen.
- Der Test ist ein ELISA-Einzelserovar-Test (L<sub>2</sub>). L<sub>2</sub> enthält Antigen-Determinanten, die in Serovaren von *Chlamydia trachomatis* sowie dem Gruppenantigen vorkommen. Mit diesem ELISA können Antikörper gegen *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) und *Acinetobacter calcoaceticus* erkannt werden.
- Dieser Test gibt keinen Aufschluss über die Lokalisation von Chlamydien-Infektionen. Der Test ist nicht als Ersatz zur Isolierung von Zellkulturen (falls verfügbar) vorgesehen.
- Da die Infektion mit *Chlamydia* keine unmittelbar signifikanten Symptome hervorruft, kann das akute Stadium vorüber sein, sodass keine erkennbaren IgM-Antikörper vorhanden sind. Dies schließt die Möglichkeit einer Chlamydien-Infektion nicht aus.
- Bakteriell kontaminiertes oder hyperlipämisches Serum kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

## Leistungsmerkmale

Der SeroELISA™ Chlamydia-Test wurde mit dem IPAzyme™ Chlamydia TRUE- IgM™-Test (Savyon Diagnostics-Produkt, Kat.-Nr. 012-01) verglichen, bei dem es sich um einen anerkannten serologischen Test für die Erkennung von IgM-Antikörpern gegen Chlamydia handelt.

Die untersuchte Population umfasste Patienten mit Verdacht auf Chlamydien-Infektionen sowie gesunde Personen (n = 162). Die Ergebnisse wurden wie folgt zusammengefasst:

### Vergleich von SeroELISA™ mit IPAzyme™

SeroELISA™ \ IPAzyme™	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	76	4	80
Negativ	4	78	82
Gesamt	80	82	162

Gesamtübereinstimmung: (154/162) x 100 = 95,1 %

## Kreuzreaktionen

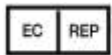
Hospitalisierte Patienten, mit *Neisseria gonorrhoea*, *Staphylococcus aureus*- und *Peptostreptococcus anaerobius*-Infektionen, die mit im Handel erhältlichen Serologie-Kits nachgewiesen werden konnten, wurden ebenfalls mit dem SeroELISA Chlamydia-Kit getestet. Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

## Literaturverzeichnis

1. Yuan, Y., Zhang, Y. X., Watkins, N. G. and Caldwell, H.D. (1989). Nucleotide and Deduced Amino Acid Sequences for the Four Variable Domains of the Major Outer Membrane Proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* Serovars. *Infection and Immunity*. **57**:1040-1049. Copyright 1989, American Society for Microbiology.
2. Treharne J. D. (1985). The community epidemiology of trachoma. *Rev Infect Dis*. **7**:760-763.
3. Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim, W. and Insler, V. (1985). Serum IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in salpingitis patients as determined by the immunoperoxidase assay. *Eur. J. Epidemiol* **1**: 110-116.
4. Wang, S.P., Grayston, J.T., Kuo, C.C., Alexander, E.R., and Holmes, K.K. (1977). SeroDiagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection with the microimmunofluorescence test. In: Nongonococcal urethritis and related infection, D. Hobson and K.K. Holmes (Eds), P. American Society for Microbiology, Washington DC. p. 237-248.
5. Thompson III S. E., and Dretler R. H. (1982). Epidemiology and Treatment of Chlamydial Infections in Pregnant Women and Infants. *Review of Infectious Diseases* **4**:S747
6. Saikku P., Mattila, K., Nieminen, M.S., Huttunen, J.K., Leinonen, M., Ekman, M.R., Makela, P.H., and Valtonen, V. (1988). Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infection. *Lancet* **II**: 983-986.
7. Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, V., Vaananen, P. and Makela, P.H. (1984).

Chlamydia Pneumonitis and its Serodiagnosis in Infants.  
J. Infect. Dis. 149:598-604.

8. **Grayson, J.G.** (1989). Chlamydia pneumoniae, Strain TWAR. Chest 95:664-669.
9. **Gardner, P.S. Rapid Virus Diagnosis. In Voller, A., Bartlett, A. and Bidwell, D. (Eds).** Immunoassays for the 80s, pp. 353-360 MTP Press Limited 1981.
10. **Chantler, S. and Diment, J.A.** current Status of Specific IgM Antibody Assays. In Voller, A., Bartlett, A. and Bidwell, D. (Eds). Immunoassays for the 80s, pp. 417-430 MTP Press Limited 1981.
11. **Numazaki, K., Chiba, S., Yamanaka, T., Moroboshi, T., Aoki, K., Nakao, T.** (1985). Detection of IgM Antibodies against Chlamydia trachomatis by Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay. J.Clin. Pathol. 38:733-739.



**Obelis** s.a. (European Authorized Representative Center)  
Boulevard Général Wakis 53, 1030 Brussels, Belgium  
Tel.: +32.2.732.59.54 Fax.: +32.2.732.60.03  
e-mail: mail@obelis.net