



Chlamydia IgG SeroFIA™

Ensayo de inmunofluorescencia para la detección de anticuerpos IgG específicos frente a *C. pneumoniae*; *C. trachomatis* y *C. psittaci* en suero humano.

Manual de Instrucciones

Kit para 3 X 105 determinaciones
Nº Ref: 511-01S

Exclusivamente para uso profesional
Para diagnóstico *In Vitro*.
Almacenar de 2-8°C. **No congelar.**



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Aplicaciones

Chlamydia IgG SeroFIA™ es un ensayo semicuantitativo de inmunofluorescencia para la determinación diferencial de anticuerpos IgG específicos frente a *C. pneumoniae*, *C. trachomatis* y *C. psittaci* en muestras de suero humano.

Para uso en el diagnóstico *In Vitro*.

Introducción

Chlamydia, bacteria gram negativa altamente especializada, se compone de cuatro especies: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* (TWAR), *C. psittaci* y *C. pecorum*.

C. trachomatis incluye 15 serotipos que comparten epítomos inmunogénicos en diferentes grados. *C. trachomatis* es uno de los agentes causales de las enfermedades de transmisión sexual más comunes y está asociado con la uretritis no gonocócica (NGU) y epididimitis en el hombre, cervicitis, uretritis y enfermedad inflamatoria pélvica en la mujer, síndrome de Reiter en individuos con haplotipo HLA-B27, conjuntivitis neonatal y neumonía en el recién nacido (2-6).

C. pneumoniae es un importante patógeno respiratorio humano que causa hasta el 10% de los casos de neumonía adquirida en la comunidad. Está asociado a enfermedades respiratorias agudas, neumonía, asma, bronquitis, faringitis, síndrome agudo de pecho de la anemia falciforme, enfermedad coronaria y síndrome de Guillan-Barre (7-9).

C. psittaci infecta a un rango diverso de especies hospedadoras que va de moluscos a aves y a mamíferos y también causa neumonía severa.

Las pruebas serológicas se utilizan de forma rutinaria para el diagnóstico de las infecciones de chlamydia. Sirven como herramienta no invasiva para la identificación de infecciones por chlamydia distales y crónicas (10, 11), donde los métodos directos son raramente eficientes. Además, la presencia de cierto tipo de anticuerpos puede indicar el estadio de la enfermedad.

La infección primaria debida a chlamydia se caracteriza por una respuesta predominante de IgM en las semanas 2 a 4 y una respuesta retardada de IgG e IgA en las semanas 6 a 8. Después de una infección aguda con *C. pneumoniae*, los anticuerpos IgM se suelen perder en los meses 2 a 6 (12), los anticuerpos IgG aumentan y después decrecen lentamente; mientras que los anticuerpos IgA tienden a desaparecer rápidamente (13).

Las reinfecciones con chlamydia se caracterizan por la ausencia de una respuesta IgM y una respuesta rápida de IgG e IgA (9). Los anticuerpos IgA han mostrado ser un marcador inmunológico fiable de infecciones primarias, crónicas y recurrentes. Estos anticuerpos normalmente decaen rápidamente hasta niveles basales tras el tratamiento y erradicación de la infección por chlamydia (1-6, 10, 11).

La persistencia de un título elevado de anticuerpos IgA se considera normalmente como un signo de infección crónica (13). En un estudio realizado en pacientes de edad avanzada con infecciones respiratorias, se estimó que una quinta parte de los casos de infección por *C. pneumoniae* habrían pasado inadvertidos sin la determinación de IgA (14). Los anticuerpos IgG persisten durante largos periodos de tiempo y decaen lentamente. Por lo tanto, la presencia de anticuerpos IgG es sobre todo indicativo de infección por chlamydia desde un tiempo indeterminado. Sin embargo, un aumento de cuatro veces en el nivel de IgG o niveles elevados de anticuerpos IgG, podrían indicar una infección sistémica o crónica en curso.

El test de Savyon Chlamydia IgG SeroFIA™ es un ensayo de micro-IF basado en los principios de la MIF. SeroFIA™ utiliza como antígeno cuerpos elementales purificados de *C. pneumoniae* (TW-183), *C. trachomatis* (L2) y *C. psittaci* (SZ-1). Cada porta de SeroFIA™ contiene 3 filas de 7 pocillos, cada fila contiene antígenos de *C. pneumoniae*, de *C. trachomatis* o de *C. psittaci*. Esta separación entre cada uno de los antígenos de Chlamydia evita una posible confusión entre las diferentes especies y hace que la interpretación de los resultados sea simple y libre de errores.

Principio del Ensayo

- Los cuerpos elementales (EB) purificados de *C. pneumoniae* (C. pn), *C. trachomatis* (C. tr) y *C. psittaci* (C. ps) utilizados como antígeno, están fijados en el interior de los pocillos, cada uno de ellos en una fila diferente del porta.
- Los sueros diluidos de los pacientes se incuban durante 30 minutos a 37°C en cada una de las filas con los antígenos respectivos.
- Los componentes del suero que no se han unido se eliminan mediante lavados.
- Se añade anticuerpo anti-IgG humana conjugado con fluoresceína y se incuba durante 30 minutos a 37°C.
- El conjugado que no se haya unido se elimina mediante lavados.
- Se secan los portas y se montan añadiendo 3 gotas de Fluido de Montaje.

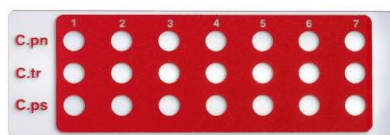
- Los portas se examinan utilizando un microscopio de fluorescencia. Las reacciones positivas aparecen como EB brillantes de color verde manzana fluorescente sobre un fondo oscuro.
- Para determinaciones cualitativas es suficiente una única dilución de suero. Para resultados semicuantitativos debe realizarse una titulación para definir el punto de corte.

Componentes del kit

Referencia

510-02M PORTAS SUBSTRATO DE LA REACCION (3X7 pocillos/unidad)
 Los portas están recubiertos con antígenos de C. pneumoniae, C. trachomatis y C. psittaci; cada uno de ellos en una fila de pocillos diferente (Fig. 1). Cada porta se empaqueta en una bolsa de aluminio que contiene un paquete con gel de sílice.

15 unidades.



B100-05M SOLUCION DE LAVADO CONCENTRADA (20x): Solución de PBS-Tween, (pH 7.4-7.6) que contiene ClNa, Na₂HPO₄, KH₂PO₄ y tween 20.

1 botella, 100 ml.

B100-03M DILUYENTE DEL SUERO: Tampón PBS que contiene gelatina, albúmina sérica bovina, Cl₂Mg y azida sódica por debajo del 0.1%.

1 botella, 80 ml.

510-09M CONTROL NEGATIVO: Suero humano negativo para anticuerpos IgG, IgA e IgM frente a C. pneumoniae, C. trachomatis y C. psittaci. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.

1 vial, 0.5 ml.

511-10M CONTROL POSITIVO C. trachomatis: Suero humano positivo para anticuerpos IgG frente a C. trachomatis. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.

1 vial, 0.2 ml.

511-11M CONTROL POSITIVO C. pneumoniae: Suero humano positivo para anticuerpos IgG frente a C. pneumoniae. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.

1 vial, 0.2 ml.

511-12M CONTROL POSITIVO C. psittaci: Suero humano positivo para anticuerpos IgG frente a C. psittaci. Contiene azida sódica <0.1%. Listo para usar.

1 vial, 0.2 ml.

511-13M CONJUGADO FITC: Anticuerpo de conejo anti IgG humana marcado con fluoresceína (específico de cadena γ). Listo para usar.

1 vial, 3.3 ml.

510-06M MEDIO DE MONTAJE: Contiene azida sódica < 0.1%.

1 frasco gotero, 1.5 ml.

010-04M CUBRES: **1 unidad, 15 pcs/unidad**

FICHA TECNICA

1

Materiales requeridos que no se proporcionan

1. Microplacas o tubos limpios para la dilución de los sueros de los pacientes.
2. Centrífuga.
3. Micropipetas ajustables (rango en μ l, 5-40, 40-200, 200-1000) y puntas desechables.
4. Probeta (1 litro).
5. Vortex.
6. Baño con tapa a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, o cámara de incubación húmeda a 37°C .
7. Bandejas de plástico para la incubación de los portas.
8. Agua destilada o doblemente desionizada para la dilución de la solución de lavado concentrada.
9. Frasco lavador de plástico.
10. Soporte de portas y jarra de tinción.
11. Cronómetro.
12. Microscopio de fluorescencia con filtros apropiados para lectura de fluorescencia con FITC y con aumentos de 400x y 1000x.

PRECAUCIONES

Para Utilización en el Diagnóstico *In Vitro*

Medidas de Seguridad:

1. Este kit contiene suero humano que ha sido analizado por técnicas aprobadas por la FDA, CE, y se ha encontrado que es negativo para el antígeno de superficie de la hepatitis B y para anticuerpos frente a VHC y VIH. Sin embargo, ya que no se conoce ningún método capaz de ofrecer una garantía absoluta de que el producto derivado de sangre humana no transmite infección, todos los componentes de sangre humana que se proporcionan en el kit, deben manipularse como muestras de suero o sangre potencialmente infecciosas, de forma idéntica o similar a aquellas recomendaciones publicadas en el manual CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988; (normativa española: R.D. 664/1997 sobre Protección de los Trabajadores contra Riesgos relacionados con la Exposición a Agentes Biológicos en el Trabajo).
2. El material antigénico procedente de Chlamydia que recubre los portas ha sido inactivado y no contiene organismos vivos detectables. Sin embargo, ya que no se conoce ningún método capaz de garantizar completamente que los productos derivados de organismos patológicos no transmiten infección, los portas deberán manipularse y desecharse como si tuviesen algún componente biopeligroso, y de forma idéntica o similar a las recomendaciones publicadas en el manual CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988; (normativa española: R.D. 664/1997 sobre Protección de los Trabajadores contra Riesgos relacionados con la Exposición a Agentes Biológicos en el Trabajo).
3. Se ha descrito que la azida sódica forma complejos de azida con el plomo y con el cobre de las cañerías del laboratorio, que son explosivos. Para evitar la acumulación de estos componentes, dejar correr abundante agua por el fregadero y las cañerías, tras la eliminación de los componentes que contengan azida.
4. No pipetear con la boca.
5. Evitar el contacto con la piel de cualquiera de los componentes del kit.

6. Utilizar guantes mientras se manejan los sueros y se realiza el ensayo. Lavar las manos vigorosamente después de quitarse los guantes.
7. Cualquier equipamiento, líquidos u otras substancias que entren en contacto con el suero humano deberán considerarse como contaminantes potenciales. Deberán esterilizarse o inactivarse tras su uso y antes de su eliminación o limpieza. La inactivación puede realizarse con un ciclo de autoclave a 121°C durante al menos 1 hora, o por tratamiento con una solución de hipoclorito sódico a una concentración final del 5% durante al menos 30 minutos.
8. El conjugado FITC contiene Azul de Evans, el cual es carcinógeno. Evitar el contacto con la piel y con los ojos.
9. El medio de montaje contiene componentes corrosivos. Evitar el contacto con la piel y no inhalar. En caso de contacto con la piel y los ojos, enjuagar inmediatamente con abundante agua.

CONSERVACION Y VIDA MEDIA DE LOS REACTIVOS

1. Todos los materiales que se proporcionan deben almacenarse de 2-8°C. Si se mantienen a esta temperatura, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el kit. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
2. La exposición de los componentes del kit a temperatura ambiente durante unas pocas horas no produce ningún daño.
3. No exponer los reactivos a fuentes luminosas potentes.
4. No congelar los reactivos.

EXTRACCION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Extracción de las muestras.

Las muestras deberán extraerse asépticamente utilizando las técnicas estándar, almacenarse de 2-8°C con azida sódica al 0.05% (NaN₃) como conservante, y el ensayo deberá realizarse en los siguientes días. Para almacenamientos prolongados, las muestras de suero deberán alicuotarse y congelarse a -20°C. No se recomienda ensayar sueros turbios, hemolizados o lipémicos, ya que pueden dar resultados erróneos.

Preparación de las muestras

Para realizar un sondeo inicial, realizar una dilución de los sueros 1:64 en Diluyente de Suero, añadiendo 10 µl de suero a 630 µl de Diluyente de Suero. Para determinar el título del punto de corte, realizar diluciones en serie en Diluyente de Suero comenzando por 1:64.

ADVERTENCIA

En cada ensayo, se recomienda incluir un pocillo con el Control Negativo y un pocillo con el Control Positivo para **C. pneumoniae**, **C. trachomatis** y **C. psittaci** en cada una de sus filas respectivas.

Control positivo puede utilizarse como un control del punto de corte si se utiliza a la dilución 1: 64.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Antes de comenzar con el procedimiento de la técnica los portas, reactivos y sueros de los pacientes, deben alcanzar la temperatura ambiente.
2. Diluir la Solución de Lavado Concentrada 1:20, añadiendo 50 ml de esta solución a 950 ml de agua doblemente desionizada o destilada.
La solución diluida puede almacenarse de 2-8°C hasta 2 semanas.
3. Pipetear 10 µl de los controles o de las muestras de suero diluidas en los pocillos adecuados de cada una de las tres filas.
4. Incubar los portas en un baño o en una cámara húmeda a 37± 1°C durante 30 minutos.
5. Sacar los portas de la cámara húmeda y enjuagar con cuidado con un chorro de solución de lavado diluida utilizando un frasco lavador. Lavar los portas sumergiéndolos en una jarra de tinción que contenga solución de lavado diluida. Mantener los portas inmersos durante 10 minutos.
Sumergir los portas lavados en agua doblemente destilada. Extraer y secar al aire.
6. Pipetear 10 µl del conjugado FITC a cada pocillo.
7. Incubar a 37± 1°C durante 30 minutos.
8. Repetir el lavado de los portas como en el paso 5.
9. Colocar tres gotas de medio de montaje en el centro del porta. Montar con el cubre. Eliminar las burbujas de aire, presionando suavemente sobre el cubre.
10. Leer los resultados en un microscopio de fluorescencia con aumentos de 400X y 1000X. Para optimizar los resultados leer los portas en el mismo día en el que se realiza el ensayo. Si esto no fuera posible, los portas montados pueden almacenarse de 2-8°C en oscuridad hasta 3 días.

VALIDACION DEL TEST

El ensayo es válido, siempre que:

- Controles Positivos: Los EB de las diferentes especies de Chlamydia.
muestran una tinción fluorescente verde manzana de intenso a moderado.
- Controles Negativos: No muestran reactividad (tinción) con ninguna de las especies de Chlamydia.

Si los controles no muestran estas características, el ensayo debería considerarse como no válido.

INTERPRETACION Y SIGNIFICADO DE LOS RESULTADOS

Se recomienda comenzar leyendo los pocillos correspondientes a los controles, para asegurar una correcta interpretación de los resultados.

Realizar una lectura de la fluorescencia e intensidad de las muestras clínicas, como se indica a continuación:

+ Los cuerpos elementales aparecen con una fluorescencia moderada a intensa, definida o difusa de color verde manzana.

± Los cuerpos elementales muestran una fluorescencia definida pero débil, debería considerarse como el título correspondiente al punto de corte del suero.
El título correspondiente al punto de corte de un suero determinado se define como la última dilución que todavía proporciona una tinción perceptible. La siguiente dilución mostraría un aspecto idéntico al del control negativo

- Sin fluorescencia o con una débil fluorescencia de fondo sin una morfología clara de Chlamydia.

Apreciación de la fluorescencia			Interpretación de los resultados a dilución 1:64
C.pn	C.tr	C.ps	

+	-	-	Presencia de anticuerpos IgG específicos frente a C.pn, C. tr o C. ps respectivamente. Se requiere titulación para establecer el punto de corte y definir infección actual, reciente o pasada
-	+	-	
-	-	+	

+	+	-	Presencia de anticuerpos IgG frente a <u>Chlamydia</u> . Puede significar múltiples infecciones o reacciones cruzadas entre especies. Se debería establecer el título del punto de corte con objeto de determinar la especie de chlamydia predominante.
-	+	+	
+	-	+	
+	+	+	

-	-	-	Negativo. No se detectan anticuerpos IgG frente a ninguna de las especies de <u>Chlamydia</u> C. pn, C. tr o C. ps.
---	---	---	---

ADVERTENCIA:

En casos puntuales, pueden observarse partículas muy pequeñas (inferiores a los EB) con una tinción clara y densa en uno o más de los antígenos de Chlamydia. Esta imagen podría significar interferencias debidas a la presencia de LPS. Debería realizarse un ensayo para anticuerpos IgA e IgM, o realizarse un segundo ensayo con una muestra de suero extraída transcurridos 14 - 21 días. Si la IgM y la IgA son negativas y se repiten los resultados de la IgG, la muestra debería considerarse negativa.

SIGNIFICADO DEL TÍTULO DEL PUNTO DE CORTE

Se requiere definir el título correspondiente al punto de corte para determinar infección actual, reciente o pasada, especialmente en los casos de infecciones por

C. pneumoniae. Si se detecta reactividad (tinción fluorescente) con más de una especie de Chlamydia, el antígeno que muestre el título más elevado correspondiente al punto de corte, que suponga al menos un incremento de 4 veces, será considerado como el responsable de la infección. Se recomienda la siguiente interpretación de los resultados de los pacientes:

C. tr o C. ps	
> 1:64	Evidencia de infección actual o infección reciente.

C.pn	
≥ 1:64	Evidencia de infección en un tiempo sin determinar. Se deberá ensayar una segunda muestra extraída 14-21 días más tarde. Si la segunda muestra presenta un título > a 1:512 o un incremento de cuatro veces sobre la muestra inicial, indica una infección actual. Si no aparece variación en el título podría sugerir una infección pasada
≤ 1:512	
> 1:512	Indicativo de infección actual.

LIMITACIONES DEL ENSAYO

- No debe utilizarse únicamente un ensayo serológico para realizar un diagnóstico final. Deben tenerse en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.
- Las muestras extraídas al inicio de una infección primaria, pueden no contener cantidades detectables de anticuerpos. Si se sospecha de una infección por Chlamydia, deberá obtenerse una segunda muestra transcurridos 14-21 días, y ensayarse en paralelo con la muestra original.
- La reactividad del suero con múltiples especies de Chlamydia, puede deberse a la exposición a más de una especie de chlamydia o a reacciones cruzadas de los anticuerpos.
- El microscopio óptico y las condiciones de la fuente de luz y el tipo pueden afectar a la intensidad total de fluorescencia y a la determinación del título correspondiente al punto de corte.

CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

El test de IgG SeroFIA™ se contrastó con un método de referencia por MIF. El estudio se realizó en un centro médico independiente con sueros de pacientes con sospecha de infección por **C. trachomatis**, **C. pneumoniae** o **C. psittaci**.

Tabla 1: **Chlamydia trachomatis**. Resultados obtenidos con el kit IgG SeroFIA™ en comparación con el método de referencia por MIF:

	MIF Positivo	MIF Negativo	Total
SeroFIA Positiva	47	2	49
SeroFIA Negativa	5	46	51
Total	52	48	100

Sensibilidad: $47/52 \times 100 = 90.3\%$

Especificidad: $46/48 \times 100 = 95.8\%$

Concordancia entre ambos métodos: $93/100 \times 100 = 93\%$

Tabla 2: **Chlamydia pneumoniae**. Resultados obtenidos con el kit IgG SeroFIA™ en comparación con el método de referencia por MIF:

	MIF Positivo	MIF Negativo	Total
SeroFIA Positiva	120	2	122
SeroFIA Negativa	0	60	60
Total	120	62	182

Sensibilidad: $120/120 \times 100 = 100\%$

Especificidad: $60/62 \times 100 = 96.7\%$

Concordancia entre Ambos métodos: $180/182 \times 100 = 98.9\%$

Tabla 3: **Chlamydia psittaci**. Resultados obtenidos con el kit IgG SeroFIA™ en comparación con el método de referencia por MIF:

	MIF Positivo	MIF Negativo	Total
SeroFIA Positiva	18	1	19
SeroFIA Negativa	2	10	12
Total	20	11	31

Sensibilidad: $18/20 \times 100 = 90\%$

Especificidad: $10/11 \times 100 = 91\%$

Concordancia entre Ambos métodos: $28/31 \times 100 = 90\%$

REFERENCIAS

- 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.
- Tsunekawa, T. and Kumamoto, Y.** (1989) A study of IgA and IgG titers of *C. trachomatis* in serum and prostatic secretion in chronic prostatitis. J.J.A. Inf. Dis. 63(2): 130-137.
- Kaneti, J. et al** (1988) IgG and IgA antibodies specific for *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. Europ. Urol. 14: 323-327.
- Kletter, Y., Caspi, D., Yarom, M., Sarov, B., Sarov I., and Tanay, A.** (1988) Serum IgA and IgG Antibodies Specific to *Chlamydia* in Patients with Reiter's Syndrome (RS) In: Proceedings of The European Society for *Chlamydia* Research, Societa Editrice Esculapio, Bologna, p.170.
- Stutman, H.R., Rettig, P.J. and Reyes, S.** (1984) *Chlamydia trachomatis* as a cause of Pneumonitis and pleural effusion. J. Pediat. 104: 588-591.
- Paran, H., Heimer, D. and Sarov, I.** (1986) Serological, clinical and radiological findings in adults with broncho-pulmonary infections caused by *Chlamydia trachomatis*. Isr. J. Med. Sci. 22: 823-827.
- Grayston J. T., Campbell, L.A., Kuo, C.C., Mordhorst, C.H., Saikku, P., Thom, D.H. and Wang, S.P.** (1990). A new respiratory tract pathogen. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. J. Infect. Dis. 161:618-625.
- Hahn D. L., Dodge, R. W. and Golubjatnikow, R.** (1991). Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. JAMA 266: 225-230
- 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.
- Sarov, I., Kleinman, D., Cevenini, R., Holcberg, G., Potashnik, G., Sarov, B. and Insler, V.** (1986) Specific IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* in infertile women. Int. J. Fertil. 31 (3): 193-197.
- Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. and Makela, P.H.** (1984) *Chlamydia pneumoniae* and its serodiagnosis in infants. J. Infect. Dis. 149: 598-604.
- Grayston, J.T., L.A. Campbell, C.H. Mordhorst, P. Saikku, D. Thom and S.P. Wang.** (1989) A New Respiratory Pathogen: *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR. J. Inf. Dis. 161: 618-25
- Saikku, P., M. Leinonen, L. Tenkanen, E. Linnanmaki, M-R Ekman, V. Manninen, M. Manttari, M.H. Frick, J.K. Huttunen.** (1992) Chronic *Chlamydiae pneumoniae* Infection as a Risk Factor for Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart Study. Ann. of Int. Med. 116: 273-278.
- Leinonen, M., H. Sryjala, P. Kujala and P. Saikku.** (1991). Serological diagnosis of *Chlamydiae pneumoniae* (Cpn) pneumoniae in adults. In: Abstracts of 31st ICAAC, Chicago, Illinois, Sept 29 - Oct 2, 1991. Washington, D.C. Aner. Soc. Microbiol, p.209.



European Authorized Representative: Obelis s.a.
 Boulevard Général Wahis 53
 1030 Brussels, BELGIUM
 Tel: +(32) 2. 732.59.54
 Fax: +(32) 2.732.60.03
 E-Mail : mail@obelis.net