

**IVD**

Instruções de utilização (Português)

**1 Finalidade**

O *recomLine Treponema IgG, IgM* é um teste qualitativo para detecção de anticorpos IgG e IgM anti-Treponema pallidum em soro ou plasma humanos.

**2 Âmbito de aplicação**

O *recomLine Treponema IgG, IgM* pode ser aplicado como teste de confirmação de amostras reactivas no rastreio.

O *recomLine Treponema IgG, IgM* é um teste imunológico em tiras. O método de teste permite, ao contrário do ELISA, a identificação de anticorpos específicos contra os antígenos individuais de *Treponema pallidum* através do alinhamento separado de cada antígeno. No teste são utilizados antígenos recombinantes: Tp47, TmpA, Tp257 (Gpd), Tp453, Tp17 e Tp15.

**3 Princípio de base do teste**

Os antígenos recombinantes de *Treponema* altamente purificados são colocados sobre tiras de teste em membrana de nitrocelulose.

- As tiras de teste são incubadas com a amostra diluída de soro ou plasma, pelo que os anticorpos específicos se depositam nos antígenos desencadeadores, nas tiras de teste.
- Os anticorpos não ligados são, de seguida, eliminados por lavagem.
- Numa segunda etapa, as tiras são incubadas com anticorpos anti-imunoglobulina humana (IgG ou IgM) conjugados com peroxidase de rábano.
- Os anticorpos não ligados do conjugado são, de seguida, eliminados por lavagem.
- Através de uma reacção colorimétrica catalisada pela peroxidase são detectados anticorpos específicos ligados. Caso tenha ocorrido uma reacção antígeno-anticorpo, surge uma banda escura no respectivo ponto da tira.

Na extremidade superior das tiras de teste encontram-se bandas de controlo:

- O controlo de reacção sob o número da tira, que deve apresentar uma reacção com cada amostra de soro/plasma.
- O controlo do conjugado (IgG, IgM) destina-se ao controlo do tipo de conjugado e do tipo de tiras (específico das classes Ig). Se para a detecção de anticorpos IgG for aplicada a tira de teste IgG específica, a banda de controlo de conjugado de IgG mostra uma reacção clara; no teste de IgM específica, a banda de controlo de IgM tem de mostrar uma reactividade positiva.
- "Controlo de cut-off": A intensidade desta banda permite a avaliação da reactividade das bandas individuais de antígenos (ver 9.2 Avaliação).

**4 Reagentes**

**4.1 Conteúdo da embalagem**

Os reagentes de uma embalagem são suficientes para 20 (100) análises.

Cada conjunto de reagentes contém:

<b>WASHBUF A   10 X</b>	100 ml (5x100 ml) de tampão de lavagem A (concentrado 10 vezes) contém tampão de fosfato, NaCl, KCl, detergente, conservantes: MIT (0,1%) e Oxypyron (0,2%)
<b>SUBS   TMB</b>	40 ml (5x40 ml) de substrato de benzidina de tetrametil cromogénica (TMB, pronto a utilizar)
<b>MILKPOW</b>	5 g (5x5 g) de leite em pó magro
<b>INSTRU</b>	1 folheto de instruções de utilização
<b>EVALFORM</b>	1 (5) folha de avaliação

**4.1.1 *recomLine Treponema IgG***

Cada conjunto de reagentes contém, além dos componentes listados no Ponto 4.1:

<b>TESTSTR</b>	2 (10) tubinhos cada um com 10 tiras de teste numeradas sequencialmente
<b>CONJ   IgG</b>	500 µl (5x500 µl) de conjugado anti-IgG humano (concentrado 100 vezes, tampa verde) de coelho, contém NaN <sub>3</sub> (<0,1%), MIT (<0,1%) e cloracetamida (<0,1%)

**4.1.2 *recomLine Treponema IgM***

Cada conjunto de reagentes contém, além dos componentes listados no Ponto 4.1:

<b>TESTSTR</b>	2 (10) tubinhos cada um com 10 tiras de teste numeradas sequencialmente
<b>CONJ   IgM</b>	500 µl (5x500 µl) de conjugado anti-IgM humana (concentrado 100 vezes, tampa lilás) de coelho, contém NaN <sub>3</sub> (<0,1%), MIT (<0,1%) e cloracetamida (<0,1%)

**4.2 Reagentes, materiais e aparelhos também necessários**

- Recipientes de incubação (podem ser adquiridos junto da MIKROGEN, se necessário)
- Água desmineralizada (de elevada qualidade)
- Pinça de plástico
- Agitador horizontal
- Misturador com efeito de vórtice ou outros dispositivos de rotação
- Bomba de vácuo ou aparelho equivalente
- Proveta graduada, de 50 ml e 1000 ml
- Micropipetas com pontas descartáveis, de 20 µl e 1000 µl
- Pipeta ou dispositivo distribuidor de 10 ml
- Temporizador
- Papéis absorventes
- Luvas de protecção descartáveis
- Contentor de lixo para resíduos biológicos perigosos

**5 Prazo de validade e manipulação**

- Armazenar os reagentes antes e após a utilização entre +2°C e +8°C, não congelar.
- Antes do início do teste, colocar todos os componentes durante pelo menos 30 minutos à temperatura ambiente (entre +18°C e +25°C). A realização do teste ocorre à temperatura ambiente.
- Ambos os reagentes (ver o símbolo impresso) de diferentes testes *recomLine* e *recomBlot* podem ser aplicados a todos os parâmetros e lotes. Dever-se-á ter apenas em consideração o prazo de validade destes componentes.
- Antes da utilização, homogeneizar bem os reagentes concentrados e os soros do paciente. Evitar a formação de espuma.
- Abrir apenas os tubos com as tiras de teste imediatamente antes da utilização para evitar a formação de água de condensação. As tiras não necessárias devem permanecer nos tubos e deverão continuar a ser armazenadas entre +2°C e +8°C (depois fechar novamente bem os tubos; as tiras de teste não podem ficar húmidas antes do início do ensaio).
- As tiras estão identificadas com o número sequencial, bem como com a abreviatura de designação do teste.
- As embalagens possuem uma data de validade após a qual não é possível assumir qualquer garantia de qualidade.
- Durante toda a realização do teste, proteger os componentes do kit contra exposição solar directa. A solução do substrato (TMB), em particular, é fotossensível.
- O teste deve ser realizado apenas por pessoal técnico autorizado e com formação adequada para o efeito.
- Em caso de alterações substanciais ao produto ou ao modo de utilização por parte do utilizador, a aplicação poderá encontrar-se fora da finalidade prevista pela MIKROGEN.
- A contaminação cruzada das amostras de pacientes ou dos conjugados poderá conduzir a resultados de teste incorrectos. Adicionar cuidadosamente amostras dos pacientes, tiras de teste e solução de conjugado. Certificar-se de que as soluções de incubação não se propagam para outras cavidades. Remover cuidadosamente os líquidos.
- As tiras devem estar totalmente molhadas e imersas durante todo o procedimento.
- É possível a automatização. Para informações mais detalhadas a este respeito, consulte a MIKROGEN.

**6 Avisos e precauções de segurança**

- Utilizar apenas para o diagnóstico *In-vitro*.
- Todos os produtos hemoderivados devem ser tratados como potencialmente infecciosos.

- ♣ As tiras de teste foram fabricadas com antígenos inactivados bacterianos ou virais.
- ♣ Depois de adicionado o material do paciente ou de controlo, as tiras devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e tratadas em conformidade.
- ♣ Durante todo o procedimento de teste devem ser utilizadas luvas descartáveis adequadas.
- ♣ Os reagentes contêm agentes antimicrobianos e conservantes - azida sódica, MIT (isotiazolona de metilo), Oxypryion, cloracetamida e peróxido de hidrogénio. Deve evitar-se o contacto com a pele ou as mucosas. A azida sódica pode formar azidas explosivas em contacto com metais pesados, como o cobre e o chumbo.
- ♣ Todos os líquidos aspirados devem ser recolhidos. Todos os recipientes colectores devem conter desinfetantes adequados para a inactivação de agentes patogénicos humanos. Todos os reagentes e materiais que tenham entrado em contacto com amostras potencialmente infecciosas devem ser tratados com desinfetantes adequados ou eliminados em conformidade com as normas de higiene. Os dados de concentração e os tempos de incubação indicados pelo fabricante devem ser respeitados.
- ♣ Utilizar os recipientes de incubação uma única vez.
- ♣ Manusear as tiras com uma pinça de plástico, cuidadosamente.
- ♣ Não substituir ou misturar os reagentes por ou com reagentes de outros fabricantes.
- ♣ Antes da realização do teste, deve ler todas as instruções de utilização e segui-las cuidadosamente. Quaisquer desvios do protocolo de teste enunciado nas instruções de utilização poderão conduzir a resultados incorrectos.

## 7 Colheita de amostras e preparação de reagentes

### 7.1 Material de amostra

O material de amostra pode ser soro ou plasma (citrato, EDTA, heparina, CPD), que deverá ser separado da porção de sangue o mais brevemente possível após a colheita, para evitar a hemólise. Deve ser evitada a todo o custo a contaminação microbiana da amostra. As substâncias insolúveis devem ser removidas da amostra antes da incubação.

Não é recomendada a utilização de amostras activadas pelo calor, ictericas, hemolíticas, lipémicas ou turvas.

#### Atenção!

**Caso as análises não sejam efectuadas de imediato, o material de amostra pode ser conservado até 2 semanas a uma temperatura de +2°C - +8 C. É possível um armazenamento mais prolongado das amostras à temperatura de -20°C ou a temperaturas inferiores. Não é recomendado um congelamento e descongelamento repetido das amostras devido ao perigo de resultados incorrectos.**

### 7.2 Preparação das soluções

**7.2.1 Preparação do tampão de lavagem A pronto a utilizar**  
Este tampão é necessário para a diluição do soro e do conjugado, bem como para os passos de lavagem.

Antes da diluição, deve ser determinado o volume do tampão de lavagem A para o respectivo número de testes a realizar. Em primeiro lugar, o leite em pó magro é previamente diluído em concentrado de tampão de lavagem A e esta mistura é então enchida até ao volume final com água desmineralizada (diluição: 1 + 9). As quantidades necessárias para um número definido de tiras de teste devem ser calculadas com base nas seguintes fórmulas (o volume morto específico do aparelho não foi considerado):

Reagente	Fórmula	Exemplo: 5 tiras
Leite em pó magro [g]	= número de tiras x 0,1	0,5 g
Concentrado de tampão de lavagem A [ml]	= número de tiras x 2	10 ml
Água desionizada [ml]	= número de tiras x 18	90 ml
Tampão de lavagem A pronto a utilizar [ml]	= número de tiras x 20	100 ml

O tampão de lavagem A preparado pode ser armazenado a uma temperatura entre +2 C e +8 C durante quatro semanas. O tampão de lavagem A pronto a utilizar é inodoro e ligeiramente turvo.

#### 7.2.2 Preparação das soluções de conjugado

A solução de conjugado deve ser preparada imediatamente antes da respectiva utilização, não sendo possível um armazenamento da solução de conjugado pronta a utilizar.

Uma parte do concentrado de conjugado é diluída com 100 partes de tampão de lavagem A pronto a utilizar (1 + 100).

As quantidades necessárias para um número definido de tiras de teste devem ser calculadas com base nas seguintes fórmulas:

Reagente	Fórmula	Exemplo: 5 tiras
Concentrado de conjugado [µl]	= número de tiras x 20	100 µl
Tampão de lavagem A pronto a utilizar [ml]	= número de tiras x 2	10 ml

As quantidades de conjugado devem ser calculadas sem volume morto. Em função do processamento (manual ou num aparelho), aplicar solução de conjugado adicional para 1 a 3 tiras.

## 8 Método de teste

### 8.1 Incubação com soro durante uma hora

N.º	Execução	Observações
1	Todos os reagentes devem ser colocados à temperatura de 18°C a 25°C (temperatura ambiente) durante pelo menos 30 minutos antes do início do teste.	A realização do teste ocorre à temperatura ambiente.
2	<b>Preparação das tiras de teste</b> Introduzir as tiras em <b>2 ml de tampão de lavagem A</b> , pronto a utilizar.  <b>Importante:</b> As tiras de IgG e IgM não são intercambiáveis!	Não segurar as tiras com as mãos desprotegidas – utilizar pinça. O número da tira fica virado para cima. Para cada tira é necessária uma cavidade num recipiente de incubação (ver 4.2). As tiras devem estar completamente submersas.
3	<b>Incubação de amostras</b> a) São vertidos sobre as tiras de teste, com uma pipeta, <b>20 µl</b> de uma amostra não diluída (soro ou plasma humanos) por cada intervenção de incubação. (diluição 1 + 100) b) Incubar durante <b>1 hora</b> , agitando ligeiramente	Verter a amostra com uma pipeta numa extremidade da tira submersa no tampão de lavagem A e misturar o mais rapidamente possível, agitando com cuidado a cuba de incubação. Cobrir o recipiente de incubação com uma tampa de plástico e colocá-lo sobre o agitador.
4	<b>Lavagem</b> a) Retirar cuidadosamente a tampa de plástico do recipiente de incubação. b) Aspirar cuidadosamente a diluição de soro das cavidades individuais. c) Verter com uma pipeta <b>2 ml de tampão de lavagem A</b> preparado em cada cavidade, lavar durante 5 minutos agitando ligeiramente e, de seguida, aspirar o tampão de lavagem A.	Realizar os passos de lavagem 8.4a a 8.4c três vezes no total. Evitar contaminação cruzada.  Em caso de processamento mecânico devem respeitar-se as indicações do fabricante a este respeito.
5	<b>Incubação com conjugado</b> Adicionar <b>2 ml de solução de conjugado</b> preparada e incubar durante <b>45 minutos</b> , agitando ligeiramente.	Cobrir o recipiente de incubação com a tampa de plástico e colocar sobre o agitador.
6	<b>Lavagem</b> ver 8.4 abaixo	Realizar três vezes os passos de lavagem (ver 8.4a-8.4c), no total
7	<b>Reacção do substrato</b> Adicionar <b>1,5 ml da solução de substrato</b> e incubar durante <b>8 minutos</b> , agitando ligeiramente.	
8	<b>Paragem da reacção</b> Remover a solução de substrato Lavar pelo menos três vezes <b>brevemente, com água desionizada</b> .	
9	<b>Secagem das tiras</b> Antes da avaliação, secar as tiras durante <b>2 horas</b> entre 2 camadas de papel absorvente.	Retirar cuidadosamente as tiras da água com uma pinça de plástico. Guardar as tiras, protegendo-as da exposição solar.
<b>Atenção!</b> <b>As soluções de incubação não devem entrar noutras cavidades. Especialmente ao abrir e fechar a tampa, devem evitar-se salpicos.</b>		

### 8.2 Incubação com soro durante três horas

Em alternativa, o teste pode ser realizado através de incubação com soro durante três horas. A realização difere apenas nos pontos 3a) e 3b) do processo descrito em 8.1.

N.º	Execução	Observações
3	<b>Incubação de amostras</b> a) São vertidos sobre as tiras de teste, com uma pipeta, <b>10 µl</b> de uma amostra não diluída (soro ou plasma humanos) por cada intervenção de incubação. (diluição 1 + 200) b) Incubar durante <b>3 horas</b> , agitando ligeiramente	Verter a amostra com uma pipeta numa extremidade da tira submersa no tampão de lavagem A e misturar o mais rapidamente possível, agitando com cuidado a cuba de incubação. Cobrir o recipiente de incubação com uma tampa de plástico e colocá-lo sobre o agitador.

## 9 Resultados

### Atenção:

Não utilize a interpretação automatizada sem ter tido em atenção as indicações abaixo descritas relativas à interpretação.

### 9.1 Validação – Controlo de qualidade

Pode ser feita uma avaliação do teste quando forem cumpridos os seguintes critérios:

1. Banda de controlo de reacção (linha superior) claramente colorida, banda escura
2. Classe de anticorpos (segunda banda): a banda de controlo de conjugado de IgG e IgM tem de apresentar uma coloração clara.
3. Controlo de cut-off (terceira banda): coloração fraca, mas visível

### 9.2 Avaliação

A avaliação das tiras de teste pode ocorrer visualmente ou com suporte informático - através do software de avaliação de tiras de teste *recomScan*. O software *recomScan* é indicado para o apoio à interpretação de tiras de teste. Poderá obter mais informações e instruções acerca da avaliação com suporte informático junto da MIKROGEN. A seguinte instrução refere-se à avaliação visual.

#### 9.2.1 Avaliação da intensidade das bandas

1. Anote na folha de avaliação fornecida em anexo a data e o número de lote, bem como a classe de anticorpos detectada.
2. Registe o número de identificação da amostra na folha de avaliação.
3. Cole agora com um tubo de cola as tiras de teste nos respectivos campos da folha de avaliação. Alinhe, para isso, as tiras de teste com a banda de controlo de reacção pela linha de marcação delineada. Cole, então, com fita adesiva transparente, as tiras de teste à esquerda da linha de marcação (não sobrepor à banda de controlo de reacção!). A colagem extensiva de todas as tiras de teste com tubo de cola ou fita adesiva pode provocar alterações da coloração.
4. Identifique agora as bandas das tiras de teste desenvolvidas com base na tira de controlo impressa na folha de avaliação e registes na folha de avaliação. Para isso, realize a avaliação da intensidade das bandas apresentadas separadamente para as respectivas classes de imunoglobulina, com base na Tabela 1.

Tabela 1: Avaliação da intensidade das bandas relativamente à banda de cut-off

Intensidade de coloração das bandas	Avaliação
Sem reacção	-
Intensidade muito fraca (inferior à banda de cut-off)	+/-
Intensidade fraca (corresponde à banda de cut-off)	+
Intensidade forte (mais forte do que a banda de cut-off)	++
Intensidade muito forte	+++

### 9.3 Interpretação dos resultados do teste

Os critérios para a interpretação de teste devem ser consultados na Tabela 2.

Tabela 2: Interpretação de teste

Resultado de teste	Critérios
Negativo	Nenhum antígeno $\geq$ cutoff
Duvidoso	Apenas um antígeno (qualquer) $\geq$ cutoff
Positivo	Pelo menos dois antígenos quaisquer $\geq$ cutoff

## 10 Limitações dos métodos, restrições

- Os resultados de testes serológicos devem ser sempre analisados em conjugação com outras avaliações clínicas do paciente. As consequências terapêuticas do diagnóstico serológico deverão ser concluídas em conjugação com os dados clínicos.
- Para a interpretação dos resultados dos testes é importante a discussão de possíveis reacções cruzadas. O género *Treponema* faz parte, tal como o género *Borrelia*, da família *Spirochaetaceae*. Na literatura são descritos anticorpos anti-antígenos parciais causadores de reacções cruzadas, comuns à família *Spirochaetaceae* (4). Não foram descritos anticorpos causadores de reacções cruzadas contra os antígenos Tp47, TmpA, Tp257 (Gpd), Tp453, Tp17 e Tp15 utilizados no *recomLine Treponema*. Trata-se, neste caso, de antígenos de *Treponema pallidum* característicos que não apresentam reactividade em soros positivos para borrelias.
- Um resultado negativo no teste de *recomLine Treponema* não permite excluir a infecção por *Treponema pallidum*. Em caso de suspeita clínica de infecção por *Treponema pallidum* e de

resultados serológicos negativos, após quatro semanas deve ser feita uma nova colheita de amostras e análise.

- Um resultado positivo no teste IgG e/ou IgM não significa sempre que a doença activa esteja presente.
- Tiras de teste escuras:** Algumas amostras de pacientes podem produzir uma coloração escura, contínua ou com padrão em toda a tira de nitrocelulose. São responsáveis por este facto os mais diversos factores do respectivo soro do paciente. A avaliação destas tiras só é possível, normalmente, com restrições. Deste modo, devem ser avaliadas como negativas, por ex., bandas "inversas" (bandas brancas em fundo escuro). O respectivo soro deve ser verificado, caso a caso, com outros métodos serológicos.

## 11 Características funcionais

### 11.1 Sensibilidade diagnóstica

recomLine Treponema	Resultados positivos em dois testes de referência			
	Realização 1h		Realização 3h	
	IgG (n=280)	IgM (n=90)	IgG (n=39)	IgM (n=38)
Negativo	0	0	0	0
Duvidoso	2	7	1	0
Positivo	278	83	38	38
<b>Sensibilidade</b>	<b>100%*</b>	<b>100%*</b>	<b>100%*</b>	<b>100%*</b>

\* incluindo os resultados duvidosos.

### 11.2 Especificidade diagnóstica

recomLine Treponema	Dador de sangue			
	Realização 1h		Realização 3h	
	IgG (n=200)	IgM (n=199)	IgG (n=40)	IgM (n=40)
Negativo	199	196	40	38
Duvidoso	1	3	0	2
Positivo	0	0	0	0
<b>Especificidade</b>	<b>99,5%</b>	<b>98,5%</b>	<b>100%</b>	<b>95%</b>

### 11.3 Especificidade analítica

A especificidade analítica é definida como a capacidade que o teste tem de determinar analitos com precisão em caso de presença de potenciais factores de interferência na matriz da amostra ou de reacções cruzadas com anticorpos potencialmente interferentes.

a) **Interferências:** Estudos de controlo sobre factores potencialmente interferentes revelaram que os resultados do teste não são afectados por anticoagulantes (CPD, citrato de sódio, EDTA, heparina), hemólise (até 1000 mg/dl de hemoglobina), lipemia, bilirrubinemia (até 20 mg/dl de bilirrubina) ou ciclos de ultra-congelamento e congelamento da amostra.

b) **Reacções cruzadas:** Em estudos de controlo foram estudadas as potenciais interferências de anticorpos contra outros organismos (*Borrelia burgdorferi*, HCV, HIV). Além disso, foram testadas condições que são atribuídas à actividade atípica do sistema imunitário (auto-anticorpos antinucleares, factor reumatóide, gravidez, infecção por vírus do herpes recente por exemplo, VEB\*).

\* No caso de infecções agudas por VEB pode ocorrer uma reactividade IgM inespecífica no *recomLine Treponema IgM* (por exemplo, estimulação policlonal).

## 12 Referências bibliográficas

1. Hagedorn HJ *Treponemen*. Laboratoriums Medizin, Diagnostische Bibliothek 1997, 49, 1-8
2. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis. Clin. Microbiol. Rev. 1995, 8(1), 1-21
3. Norris SJ and the Treponema Pallidum Polypeptide Research Group Polypeptides of *Treponema pallidum*: Progress toward Understanding Their Structural, Functional, and Immunologic Roles. Microbiol. Rev. 1993, 57(3), 750-79
4. Alfen I, Wellensiek HJ Die Bedeutung kreuzreagierender Antikörper für die Serodiagnostik der Lyme-Borreliose und der Syphilis. Lab. Med. 1994, 18, 12-19
5. Sambri V., et al, Western Immunoblotting with Five *Treponema pallidum* Recombinant Antigens for Serologic Diagnosis of Syphilis, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2001 (8), Nr. 3: 534-539
6. Van Voorhis W. C., et al, Serodiagnosis of Syphilis: Antibodies to recombinant Tp0453, Tp92, and Gpd proteins are sensitive and specific indicators of infection by *Treponema pallidum*, Journal of Clinical Microbiology, Aug. 2003, 41/8, 3668-3674
7. Robert Koch Institut, Syphilis in Deutschland im Jahr 2006 und Trends seit 2001, Epidemiologisches Bulletin, Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health; 20. Juli 2007 / Nr. 29

A pedido, teremos todo o prazer em lhe enviar mais literatura acerca do diagnóstico do *Treponema*.

### 13 Esclarecimento dos símbolos

	O conteúdo é suficiente para <n> aplicações Número de aplicações
<b>EVALFORM</b>	Folha de avaliação
<b>INSTRU</b>	Instruções de utilização
	Respeitar o folheto de instruções de utilização
<b>CONT</b>	Conteúdo, contém
<b>IVD</b>	Teste in vitro
<b>LOT</b>	Número do lote/versão
	Não congelar
<b>REF</b>	No. de Referência de encomenda
	Válido até Data de validade
	Armazenamento a temperaturas entre x°C e y°C
	Fabricante

### 14 Dados relativos ao fabricante e à versão

recomLine Treponema IgG	Artigo n. <b>5172 (5170)</b>
recomLine Treponema IgM	Artigo n. <b>5173 (5179)</b>
Instruções de utilização válido a partir de	GARLTP004PT 2023-03
 <b>MIKROGEN</b> GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Alemanha Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 E-mail mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de	
	



GARLTP004