

# ASPERGILLUS FUMIGATUS

Ενζυμο-ανοσολογική δοκιμή για τη διάγνωση ασπεργίλλωσης από *Aspergillus fumigatus*

96 δοκιμές σε μεμονωμένα φρεάτια για in vitro διαγνωστική χρήση και για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση

Οδηγίες χρήσης για το προϊόν Αριθ. 6100  
Κανονισμός ΕΚ Αριθ.: CH-201301-0006



## Προβλεπόμενη χρήση:

Το kit *Aspergillus fumigatus* ELISA της Bordier προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της κατηγορίας αντισωμάτων IgG έναντι του *Aspergillus fumigatus* σε ανθρώπινο ορό. Η ορολογία αποτελεί ένα βοήθημα για τη διάγνωση και δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως η μοναδική μέθοδος διάγνωσης. Η δοκιμή αυτή προορίζεται επίσης για την παρακολούθηση ασθενών που διατρέχουν κίνδυνο λοίμωξης από ασπεργίλλωση.

## Υπόβαθρο:

Η πνευμονική ασπεργίλλωση προκαλείται από διαφορετικά παθογόνα είδη του μυκητιακού γένους *Aspergillus*, το οποίο είναι συχνότερα το *Aspergillus fumigatus*. Αυτό το παθογόνο βρίσκεται στο έδαφος και αποσυντίθεται στην οργανική ύλη. Οι άνθρωποι εισπνέουν εκατοντάδες σπόρια την ημέρα, αλλά μόνο τα άτομα με παράγοντες κινδύνου θα αναπτύξουν διαφορετικούς τύπους ασπεργίλλωσης: αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση, αλλεργική ιγμορίτιδα, ασπεργίλωμα και χρόνια πνευμονική ασπεργίλλωση. Τα κύρια συμπτώματα είναι ο βήχας και η δύσπνοια. Δεδομένου ότι τα συμπτώματα αυτά δεν είναι συγκεκριμένα, η διάγνωση βασίζεται σε συνδυασμό κλινικών, ακτινολογικών, βιολογικών και μυκητολογικών κριτηρίων. Η ορολογία αποτελεί ένα σημαντικό κριτήριο και αρκετές μέθοδοι είναι διαθέσιμες για έλεγχο, παρακολούθηση και επιβεβαίωση.

## Χημικό συστατικό και παρουσίαση:

Το kit παρέχει όλο το υλικό που απαιτείται για την εκτέλεση 96 ενζυμικών δοκιμών ανοσοπροσρόφησης (ELISA) σε εύθραυστα φρεάτια μικροπιλοδότησης ευαισθητοποιημένα με τον ακόλουθο συνδυασμό:

- Διαλυτά σωματικά και μεταβολικά αντιγόνα *Aspergillus fumigatus*
- Ανασυνδυασμένα αντιγόνα: διπεπτιδυλικής πεπτιδάσης τύπου V (χυμοθρυψίνη) και ριβονουκλεάση (mitogillin) από *Aspergillus fumigatus*.

Συγκεκριμένα αντισώματα στο δείγμα θα δεσμευτούν σε αυτά τα αντιγόνα και η πλύση θα απομακρύνει μη συγκεκριμένα αντισώματα. Η παρουσία αντισωμάτων ορού συγκεκριμένων μυκολικών ανιχνεύεται με σύζευγμα Πρωτεΐνης A - αλκαλικής φωσφατάσης. Ένα δεύτερο στάδιο πλύσης θα απομακρύνει το αδέσμευτο σύζευγμα. Η αποκάλυψη δεσμευμένων αντισωμάτων γίνεται με την προσθήκη υποστρώματος pNPP το οποίο γίνεται κίτρινο παρουσία αλκαλικής φωσφατάσης. Η ένταση χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας των ειδικών αντισωμάτων *Aspergillus fumigatus* στο δείγμα. Προστίθεται φωσφορικό κάλιο για να σταματήσει η αντίδραση. Η απορρόφηση στα 405 nm διαβάζεται χρησιμοποιώντας συσκευή ανάγνωσης μικροπιακών ELISA.

Η δοκιμή μπορεί να πραγματοποιηθεί με αυτόματα συστήματα, αλλά κάτι τέτοιο πρέπει να επικυρωθεί από το χρήστη.

## Υλικά που περιέχονται στο kit (96 δοκιμές):

|                    |         |  |     |         |
|--------------------|---------|--|-----|---------|
| <b>WELL</b>        | 6100-01 | Εύθραυστες ταινίες ELISA ευαισθητοποιημένες με αντιγόνα <i>Aspergillus fumigatus</i>   | 96  | φρεάτια |
| <b>DILB</b>        | 6100-02 | Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης (10 x) σε συμπύκνωμα, χρωματισμένο μωβ                     | 50  | ml      |
| <b>WASH</b>        | 6100-03 | Διάλυμα πλύσης (10 x) σε συμπύκνωμα  | 50  | ml      |
| <b>ENZB</b>        | 6100-04 | Ρυθμιστικό διάλυμα ενζύμου   | 50  | ml      |
| <b>STOP</b>        | 6100-05 | Ανασχετικό διάλυμα (0,5M K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )                              | 25  | ml      |
| <b>CONTROL -</b>   | 6100-06 | Αρνητικός ορός μάρτυρα, (20 x), πράσινο καπάκι   | 200 | μl      |
| <b>CONTROL -/+</b> | 6100-07 | Ασθενής θετικός ορός μάρτυρα (διακοπή, 20 x), κίτρινο καπάκι                           | 200 | μl      |
| <b>CONTROL +</b>   | 6100-08 | Θετικός ορός μάρτυρα (20 x), κόκκινο καπάκι  | 200 | μl      |
| <b>CONJ</b>        | 6100-09 | Σύζευγμα Πρωτεΐνης A-αλκαλικής φωσφατάσης (50 x), μωβ καπάκι                           | 300 | μl      |
| <b>SUBS</b>        | 6100-10 | Υπόστρωμα φωσφατάσης (παρα-νιτροφαινυλοφωσφορικό) Δεξαμενή με πολλαπλές πιπέτες, 25 ml | 20  | δισκία  |
|                    |         | Πλαίσιο για υποδοχή 8 φρεατίων ELISA   | 1   | τεμάχιο |
|                    |         |  | 1   | τεμάχιο |

## Χρόνος διατήρησης και αποθήκευση:

Αποθηκεύστε το κιτ στους 2° έως 8°C (μεταφορά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος), αποφύγετε τη μακροχρόνια έκθεση των συστατικών στο άμεσο φως. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας του κιτ είναι τυπωμένα στο πλάι του κουτιού. Μετά το αρχικό άνοιγμα, όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύονται στους 2° έως 8°C.

## Εξοπλισμός που απαιτείται ωστόσο δεν παρέχεται με το κιτ:

Πιπέτες (ml και µl). Φιάλες. Σωλήνες για την αραιώση του ορού. Κολητική ταινία για την κάλυψη φρεατίων κατά τη διάρκεια επωάσεων. Απεσταγμένο νερό. Επωαστήρας ρυθμισμένος στους 37°C. Συσκευή ανάγνωσης ELISA ρυθμισμένη στα 405 nm. Χειροκίνητος ή αυτόματος εξοπλισμός για φρεάτια πλύσης. Αναμικτήρας με δίνη. Χρονοδιακόπτης.

## Προετοιμασία αντιδραστηρίων πριν τη χρήση:

Φέρτε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου και αναμείξτε πριν τη χρήση.

**Φρεάτια ELISA:** ανοίξτε το πλάι του σάκου αλουμινίου 6100-01 και αφαιρέστε τον αριθμό φρεατίων που απαιτούνται (ένα για κενό, τρία για μάρτυρες συν τον αριθμό των δειγμάτων). Τοποθετήστε ευαισθητοποιημένα φρεάτια σε υποδοχή(ές) 8 φρεατίων. Εάν είναι απαραίτητο, συμπληρώστε τις κενές θέσεις στην υποδοχή με χρησιμοποιημένα φρεάτια. Εισαγάγετε την υποδοχή(ές) στο πλαίσιο, με το σωστό προσανατολισμό. Σφραγίστε ξανά την ανοικτή συσκευασία με αποξηραντική γάζα.

**Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης:** αραιώστε το ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (10 x) σε συμπύκνωμα 6100-02, 1/10 σε απεσταγμένο νερό. Αυτό χρησιμοποιείται για την αραιώση των μαρτύρων, των δειγμάτων και του συζεύγματος. Το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα είναι σταθερό για 2 μήνες στους 2 έως 8°C.

**Διάλυμα πλύσης:** αραιώστε το διάλυμα πλύσης (10 x) σε συμπύκνωμα 6100-03, 1/10 σε απεσταγμένο νερό. Μπορείτε επίσης να χρησιμοποιήσετε δικό σας διάλυμα πλύσης. Αποφύγετε ρυθμιστικά διαλύματα που περιέχουν φωσφορικό άλας, τα οποία θα μπορούσαν να αναστείλουν την ενζυμική δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης. Το αραιωμένο διάλυμα πλύσης είναι σταθερό για 2 μήνες στους 2 έως 8°C.

**Οροί για δοκιμή:** αραιώστε 10 µl ορού σε 2,0 ml ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (τελική αραιώση 1/201). Οι αραιωμένοι οροί μάρτυρες είναι σταθεροί για 2 μήνες στους 2 έως 8°C.

**Σύζευγμα:** αραιώστε σύζευγμα 6100-09 σε ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (τελική αραιώση 1/50). Αραιώστε το σύζευγμα την ημέρα της δοκιμής. Μην αποθηκεύετε αραιωμένο σύζευγμα.

**Διάλυμα υποστρώματος:** διαλύστε δισκίο(α) υποστρώματος φωσφατάσης 6100-10 σε μη αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα ενζύμου 6100-04 (1 δισκίο σε 2,5 ml ρυθμιστικού διαλύματος). Ανακατέψτε με δίνη μέχρι την πλήρη διάλυση του δισκίου(ων). Αραιώστε το υπόστρωμα την ημέρα της δοκιμής και προστατέψτε τον σωλήνα από το άμεσο φως. Τα δισκία και τα διαλύματα υποστρώματος πρέπει να είναι άχρωμα ή να έχουν μόνο ελαφρά κίτρινη απόχρωση. Εάν ένα δισκίο ή ένα διάλυμα υποστρώματος γίνεται κίτρινο, μπορεί να έχει εν μέρει υδρολυθεί και θα πρέπει να απορρίπτεται. Μην αποθηκεύετε το διάλυμα υποστρώματος.

**Ανασχετικό διάλυμα:** χρησιμοποιήστε αντιδραστήριο 6100-05 μη αραιωμένο.

## Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων:

Χρησιμοποιήστε ανθρώπινο ορό. Ο ορός θα πρέπει να φυλάσσεται στους 2 έως 8°C εάν αναλυθεί μέσα σε λίγες ημέρες, διαφορετικά θα πρέπει να φυλάσσεται στους -20°C ή σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη. Ανακατέψτε με δίνη τα δείγματα και αραιώστε 1/201 σε ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (για παράδειγμα 5 µl δείγματος σε 1,0 ml).

## Προειδοποιήσεις και προληπτικά μέτρα:

Οι τοξικές ενώσεις βρίσκονται στην ακόλουθη συγκέντρωση:

| Συστατικό                          | Αναφορά         | Αζίδιο του νατρίου (NaN <sub>3</sub> ) | Merthiolate |
|------------------------------------|-----------------|--|-------------|
| Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης (10 x) | 6100-02         | 0,1 %                                  | 0,02 %      |
| Διάλυμα πλύσης (10 x)              | 6100-03         | 0,05 %                                 | /           |
| Ρυθμιστικό διάλυμα ενζύμου         | 6100-04         | 0,01 %                                 | /           |
| Οροί μάρτυρα (20 x)                | 6100-06 έως -08 | 0,1 %                                  | 0,02 %      |
| Σύζευγμα (50 x)                    | 6100-09         | 0,1 %                                  | /           |

Στις χρησιμοποιούμενες συγκεντρώσεις, το αζίδιο του νατρίου και το merthiolate δεν παρουσιάζουν τοξικολογικό κίνδυνο σε επαφή με το δέρμα και τις βλεννώδεις μεμβράνες.

- Το ανασχετικό διάλυμα 6100-05 (0,5 M  $K_3PO_4$ ) είναι ερεθιστικό.
- Ο αρνητικός, ασθενής θετικός και θετικός ορός μάρτυρα (6100-06 έως -08) είναι από κουνέλια.
- Αντιμετωπίστε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα ως δυνητικά μολυσματικό υλικό.
- Μην ανταλλάσσετε αντιδραστήρια διαφορετικών παρτίδων ή kit ELISA της Bordier.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια άλλων κατασκευαστών με αντιδραστήρια αυτού του kit.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης τους.
- Κλείστε καλά τα φιαλίδια των αντιδραστηρίων αμέσως μετά τη χρήση και μην αλλάζετε τα βιδωτά καπάκια για να αποφύγετε τη μόλυνση.
- Χρησιμοποιήστε ξεχωριστές και καθαρές άκρες πιπέττας για κάθε δείγμα.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε μικροφρεάτια.

### **Σχετικά με την απόρριψη:**

Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τη δοκιμή αυτή θεωρούνται γενικά επικίνδυνα απόβλητα. Ανατρέξτε στις εθνικές και περιφερειακές νομοθετικές και κανονιστικές διατάξεις για την απόρριψη επικίνδυνων αποβλήτων.

### **Διαδικασία:**

Κατά την εκτέλεση της δοκιμής, αποφύγετε το σχηματισμό φυσαλίδων στα φρεάτια.

#### **Βήμα 1: Μονιμοποίηση:**

Γεμίστε πλήρως τα φρεάτια με ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης.

Επλώστε για 5 με 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (μονιμοποίηση).

Αφαιρέστε το ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης μέσω αναρρόφησης ή τινάζοντας τις ταινίες πάνω από το συλλέκτη.

#### **Βήμα 2: Επώαση με δείγματα ορού:**

Γεμίστε το πρώτο φρεάτιο της πρώτης ταινίας με 100 μl ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης μόνο (χωρίς κενό ορού).

Γεμίστε τα επόμενα τρία φρεάτια με 100 μl αραιωμένου αρνητικό, ασθενή θετικό (διακοπή) και θετικό ορό μάρτυρα αντίστοιχα. Για δοκιμές άνω των 25 δειγμάτων, συνιστούμε να γεμίσετε τα τελευταία τρία φρεάτια με ορούς μάρτυρα ως αντίγραφο.

Γεμίστε τα υπόλοιπα φρεάτια με τα αραιωμένα δείγματα (100 μl το καθένα).

Καλύψτε τα φρεάτια με κολλητική ταινία και επλώστε για 30 λεπτά στους 37°C.

Αφαιρέστε τους ορούς και πλύνετε 4 x με διάλυμα πλύσης ~ 250 μl.

#### **Βήμα 3: Επώαση με σύζευγμα:**

Διανέμετε 100 μl αραιωμένο σύζευγμα σε κάθε φρεάτιο (συμπεριλαμβανομένου κενού ορού).

Καλύψτε τα φρεάτια με κολλητική ταινία και επλώστε για 30 λεπτά στους 37°C.

Αφαιρέστε το σύζευγμα και πλύνετε 4 x με διάλυμα πλύσης ~ 250 μl.

#### **Βήμα 4: Επλώστε με υπόστρωμα:**

Διανέμετε 100 μl διάλυμα υποστρώματος ανά φρεάτιο.

Καλύψτε τα φρεάτια με κολλητική ταινία και επλώστε για 30 λεπτά στους 37°C.

Διακόψτε την αντίδραση με την προσθήκη 100 μl ανασχετικού διαλύματος σε κάθε φρεάτιο.

#### **Βήμα 5: Μέτρηση απορροφήσεων:**

Εάν χρειαστεί, καθαρίστε τον πυθμένα των φρεατίων και εξαλείψτε τις φυσαλίδες. Μετρήστε τις απορροφήσεις στα 405 nm εντός 1 ώρας μετά την προσθήκη του ανασχετικού διαλύματος.

### **Ερμηνεία:**

Αφαιρέστε την τιμή του χωρίς κενό ορού από όλες τις μετρηθείσες τιμές. Όταν είναι εφικτό, υπολογίστε τις μέσες τιμές απορρόφησης του ορού διπλού μάρτυρα. Η δοκιμή είναι έγκυρη εφόσον πληρούνται τα ακόλουθα κριτήρια:

- απορρόφηση (A) του θετικού μάρτυρα > 1,200
- A του αρνητικού μάρτυρα < 10 % του A του θετικού μάρτυρα
- A κενό έναντι αέρα < 0,350

Οι έλεγχοι ποιότητας των τρεχουσών παρτίδων δημοσιεύονται στην ιστοσελίδα μας: [www.bordier.ch](http://www.bordier.ch).

Η συγκέντρωση αντισωμάτων του ασθενούς θετικού (διακοπή) ορού 6100-07 έχει οριστεί ώστε να διακρίνεται βέλτιστα μεταξύ ορών από κλινικά τεκμηριωμένες περιπτώσεις ασπεργίλλωσης σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς και υγιείς ανθρώπινους ορούς.

Η απορρόφηση διακοπής ενός δείγματος ορίζεται, μετά την αφαίρεση του χωρίς κενό ορού, ως εξής:

$$\text{Δείκτης} = \frac{\text{Δείγμα απορρόφησης}}{\text{Ορός διακοπής απορρόφησης}}$$

Το αποτέλεσμα είναι **αρνητικό** όταν ο δείκτης του αναλυθέντος δείγματος είναι χαμηλότερος από **0,8**. Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση του αντισώματος IgG έναντι αντιγόνων ***Aspergillus fumigatus*** είναι κλινικώς μη σημαντική.

Μια γκρίζα περιοχή αντιστοιχεί σε δείκτη ο οποίος κυμαίνεται μεταξύ **0,8** και **1,0**. Στην περίπτωση αυτή, το δείγμα θεωρείται οριακό, συνιστάται να επαναληφθεί η δοκιμή με το ίδιο δείγμα ή με νέο ορό του ίδιου ασθενούς, το οποίο θα ληφθεί έπειτα από 2-4 εβδομάδες.

Το αποτέλεσμα είναι **θετικό** όταν ο δείκτης του αναλυθέντος δείγματος είναι υψηλότερος από **1,0**. Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση του αντισώματος IgG έναντι αντιγόνων ***Aspergillus fumigatus*** είναι κλινικώς σημαντική. Αυτό το αποτέλεσμα οδηγεί σε ασπεργίλλωση ή σε ευαισθητοποίηση σε ασπεργίλλωση.

### Ευαισθησία και εξειδίκευση της δοκιμής:

Εντοπίστηκε ευαισθησία 97% με 230 ορούς 147 ασθενών που πάσχουν από διάφορες μορφές ασπεργίλλωσης (104 από χρόνια πνευμονική ασπεργίλλωση, 17 από ασπεργίλλωματα και 43 από αλλεργική βροχοπνευμονική ασπεργίλλωση). Εντοπίστηκε εξειδίκευση 90,3% με 206 ορούς 205 ασθενών με αναπνευστικά συμπτώματα στα οποία είχε αποκλειστεί μια ασθένεια που σχετίζεται με *Aspergillus*.

### Παρεμβάσεις:

Η εσωτερική αξιολόγηση έδειξε ότι οι αιμορραγικοί, λειμικοί ή ικτερικοί οροί δεν παρεμβαίνουν στα αποτελέσματα της δοκιμής.

### Ακρίβεια:

Αξιολογήθηκε η επαναληψιμότητα μέσω της δοκιμής 2 δειγμάτων ανθρώπινου ορού σε 24 φρεάτια σε 1 δοκιμή. Αξιολογήθηκε η αναπαραγωγιμότητα μέσω της δοκιμής 2 δειγμάτων ανθρώπινου ορού σε 10 διαφορετικές δοκιμές.

|                                | Επαναληψιμότητα |          | Αναπαραγωγιμότητα |          |
|--------------------------------|-----------------|----------|-------------------|----------|
|                                | Δείγμα 1        | Δείγμα 2 | Δείγμα 1          | Δείγμα 2 |
| Μέσος όρος (απορρόφηση)        | 0.352           | 1.767    | 0.410             | 1.985    |
| Τυπική απόκλιση (απορρόφηση)   | 0.027           | 0.069    | 0.038             | 0.096    |
| Συντελεστής μεταβλητότητας (%) | 7.6             | 3.9      | 9.3               | 4.8      |

### Περιορισμοί:

Εντοπίστηκε ευαισθησία 22% με 9 ορούς 5 ασθενών που πάσχουν από επεμβατική ασπεργίλλωση. Σε περίπτωση ανοσοκατασταλτικών ασθενών, συνιστάται η ολοκλήρωση της δοκιμής με την ανίχνευση των αντιγόνων *A. fumigatus* στον ορό. Εντοπίστηκε εξειδίκευση 97% με 36 ορούς 24 ασθενών που πάσχουν από νόσους του αναπνευστικού χωρίς *aspergillus* (καντιντίαση, φυματίωση, πνευμονοκύστωση και κρυπτοκόκκωση).

Η διάγνωση μιας μολυσματικής νόσου δεν θα πρέπει να καθοριστεί βάσει ενός ενιαίου αποτελέσματος των δοκιμών. Η ακριβής διάγνωση θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη την ενδημική κατάσταση, το κλινικό ιστορικό, τη συμπτωματολογία, την απεικόνιση καθώς και τα ορολογικά δεδομένα.

Σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς και στα νεογνά τα ορολογικά δεδομένα έχουν περιορισμένη αξία.

### Αναφορές:

Sarfati, S., Monod, M., Recco, P., Sulahian, A., Pinel, C., Candolfi, E., Fontaine, T., Debeaupuis, J.P., Tabouret, M., Latgé, J.P. (2006) Recombinant antigens as diagnostic markers for aspergillosis. *Diag. Microbiol. Inf. Disease* **55**, 279-291.

Barrera, C., Richaud-Thiriez, B., Rocchi, S., Rognon, B., Rousset, S., Grenouillet, F., Laboissière, A., Dalphin, J.C., Reboux, G. and Millon, L. (2016) New commercially available IgG kits and time-resolved fluorometric IgE assay for diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Clin Vaccine Immunol* **23**, 196 –203.

Dumollard, C., Bailly, S., Perriot, S., Brenier-Pinchart, M.P., Saint-Raymond, C., Camara, B., Gangneux, J.P., Persat, F., Valot, S., Grenouillet, F., Pelloux, H., Pinel, C., Cornet, M. and Grenoble *Aspergillus* Committee. (2016) Prospective evaluation of a new *Aspergillus* IgG enzyme immunoassay kit for diagnosis of chronic and allergic pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol* **54**, 1236 –1242.



**BORDIER AFFINITY PRODUCTS SA**  
Biokema building, Chatanerie 2, CH-1023 Crissier, Switzerland.  
Phone: + 41 21 633 31 67, Fax : + 41 21 633 31 78, www.bordier.ch

