

LEISHMANIA



Western Blot IgG

Test de diagnóstico *in vitro* por inmunoblot
Técnica semiautomática / manual

#LES-WB24G : 24 pruebas

#LES-WB12G : 12 pruebas

#LES-WB96G : 96 pruebas

INSTRUCCIONES DE USO

Encuentre más información e instrucciones de uso en su idioma en nuestra página web
www.ldbiodiagnostics.com

USO PREVISTO

LEISHMANIA Western Blot (WB) IgG es un test de diagnóstico serológico cualitativo de diagnóstico serológico de IgG mediante una prueba de inmunoblot de la leishmaniasis previsto como prueba confirmatoria de resultados positivos por técnicas diagnósticas clásicas.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Técnica Western Blot

Los antígenos (promastigotes de *Leishmania infantum*), una vez separados mediante electroforesis, se unen mediante electrotransferencia a la superficie de una membrana de nitrocelulosa (llamada de transferencia), que se corta en 24 tiras numeradas del 1 al 24.

Desarrollo de la prueba

Cada muestra de suero a ensayar se incuba por separado con una tira. Los anticuerpos, potencialmente presentes en la muestra, se unen de forma selectiva a los antígenos. La anti-IgG humana conjugada con fosfatasa alcalina se une posteriormente a los anticuerpos unidos. Finalmente, los inmunocomplejos reaccionan al sustrato. Los antígenos reconocidos por los anticuerpos de tipo IgG presentes en las muestras aparecen como bandas transversales de color púrpura.

Reactivos suministrados con el kit

Por defecto: Caja con 24 pruebas (#LES-WB24G)

*cursiva: caja con 12 pruebas (#LES-WB12G) - **negrita: Caja con 96 pruebas (#LES-WB96G).***

ID	Cantidad	Descripción	Composición
R1	1	Carpeta(s) con 24 (12, 4x24) TIRAS: precortadas + estándares de color. (Cada carpeta y cada tira se identifica mediante un número de serie único)	Nitrocelulosa sensibilizada. Peso molecular codificado por colores (kDa): Azul: 250, Azul: 150, Azul: 100, Rosa: 75, Azul: 50, Verde: 37, Rosa: 25, Azul: 20, Azul: 15, Amarillo: 10.
R2	1	Frasco de 30 (30, 125) mL de DILUYENTE DE MUESTRAS (Listo para su uso - solución rosada).	Tampón + tensioactivo + NaN3 (<0,1%).
R3	1	Frasco(s) de 30 (30, 2x60) mL de CONJUGADO ANTI IgG (Listo para su uso - solución azul).	Tampón + sueros policlonales de cabra anti-IgG humana conjugados con fosfatasa alcalina + NaN3 (<0,1%) + estabilizadores.
R5	1	Frasco de 30 (30, 125) mL de SUSTRATO (Listo para su uso - frasco marrón opaco).	Tampón + nitroazul de tetrazolio (NBT) + 5-Bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) + estabilizadores.
R6	1	Frasco de 60 (60, 250) mL de TAMPÓN DE LAVADO CONCENTRADO 10X (Para diluir 10 veces en agua destilada - solución incolora).	Tampón + tensioactivo.
R10	1	Vial de 200 (200, 2x200) µl de SUERO de CONTROL POSITIVO (Listo para su uso - tapón rojo).	Tampón + mezcla de suero humano positivo en serología para <i>Leishmania</i> + NaN3 (<0,1%) + estabilizadores.

R1: La letra que precede a cada número de banda es específica del parámetro.

R2, R3, R5 y R6 son los mismos para todos los kits y tienen un número de lote único dependiendo solo de su fecha de producción. **Se recomienda realizar series multiparamétricas (véase el rango de inmunoblot de LDBIO), para limitar el número de frascos abiertos y asegurar un mejor control de calidad.**

El **R10** está calibrado en inmunoblot de acuerdo con un lote de referencia y solo está dedicado a esta técnica.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 - En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

EUH 210 Puede solicitar la ficha de datos de seguridad, o consultarla en nuestra página web www.ldbiodiagnostics.com.

MATERIAL NECESARIO Y NO SUMINISTRADO

- Bandejas de incubación de polipropileno multicanal para mini-blot (#WBPP-08 o equivalente).
- Agitador ascilante para inmunoblot sistema de vacío para líquidos (los tubos #WBPP-08 que suministramos pueden vaciarse con un simple giro).
- Tubos y material para la extracción de muestras, provetas graduadas.
- Pipetas automáticas, micropipetas y puntas desechables (volúmenes de 25 µl, 1,2 ml y 2 ml).
- Agua destilada o desionizada. Papel absorbente (p. ej., papel de filtro Whatman), cinta adhesiva transparente.
- Guantes, pinzas para manipular las tiras, cuchilla o bisturí y regla plana transparente.

Nota: nuestros reactivos pueden utilizarse en un procesador automático de Inmunoblot. **Se debe prestar atención a los contaminantes químicos de nuestros reactivos en caso de que el procesador sea compartido con reactivos de otro fabricante** (un ejemplo conocido: contaminación por el TWEEN 20), y contaminaciones bacterianas. Frascos de reserva para el procesador. Después del procesamiento, no vuelva a colocar los reactivos usados restantes en los frascos originales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacenar a una temperatura entre 2 y 8°C. Los reactivos del Kit permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja exterior y las etiquetas de los frascos. No use reactivo contaminado o turbio. El tampón de lavado diluido al 1/10 permanece estable durante 2 meses a una temperatura entre +2 y +8 C y una semana a temperatura ambiente.

PRECAUCIONES DE USO

Seguridad

- Solo para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional. Solo para personal capacitado técnicamente. Manipule conforme a la buena práctica de laboratorio y considere cualquier reactivo y cualquier muestra como potencialmente tóxicos y/o infecciosos.
- Haga uso de una bata de laboratorio, guantes y gafas; no beba, coma ni fume en el laboratorio. No introduzca las pipetas en la boca.
- El control positivo es un suero de origen humano que ha sido inactivado para los virus VIH 1 y 2, hepatitis B y hepatitis C. No obstante, debe manipularse como si fuera un producto potencialmente infeccioso.
- El sustrato contiene una mezcla de NBT y BCIP, tóxica al contacto (con la piel y las membranas mucosas) y por inhalación.
- Los reactivos contienen azida sódica, que puede formar sales metálicas explosivas con el plomo y el cobre. Enjuague las salpicaduras con agua.
- Elimine los residuos (muestras, puntas, tubos, líquido de lavado, reactivo usado...) de acuerdo con las buenas prácticas empleadas en la industria y la normativa vigente del país.
- Cualquier incidente grave debe ser objeto de una declaración al fabricante y a la autoridad competente.

Precauciones

- Lea e interprete los resultados bajo luz blanca directa.
- Es preferible utilizar todos los reactivos del mismo lote. Si se utilizan lotes diferentes, hay que garantizar la trazabilidad.
- Utilice las tiras en orden numérico. No mezcle las tiras procedentes de cajas con números de serie diferentes; utilice las tiras consecutivamente. Establezca un plan de distribución específico antes de comenzar la prueba.
- No toque las tiras con los dedos; utilice pinzas.
- Los reactivos deben mezclarse bien antes de su uso, especialmente el tampón de lavado concentrado.
- Cierre los frascos después de cada uso; no se deben utilizar si se introdujera accidentalmente una sustancia en los reactivos. No utilice el reactivo de un frasco que presente indicios de fuga. No utilice soluciones turbias o precipitadas.
- Utilice solo puntas de pipetas desechables. Evite cualquier contaminación entre los canales. Vigile la formación de espuma o burbujas en las puntas de las pipetas (contaminación bacteriana de los frascos de reactivos).
- Limpie las bandejas de incubación solo con agua limpia y seguidamente con agua destilada (no utilice nunca detergente ni lejía).
- La omisión de una muestra o la distribución de un volumen inadecuado pueden dar lugar a un resultado negativo o positivo de la prueba, independientemente de su situación real.

RECOGIDA DE MUESTRAS

Recoja las muestras en tubos secos de forma aséptica. Se requiere una cantidad mínima de suero de 25 µl.

Mantenga las muestras a una temperatura entre 2 y 8 °C hasta su procesamiento. Congele las muestras a una temperatura de -20 ± 5 °C si precisan almacenamiento durante más de una semana. No utilice la muestra que esté contaminada. Evite la congelación y descongelación repetidamente de las muestras.

Aunque no se ha observado ninguna reacción cruzada con sueros hemolizados, ictericos o lipídicos, se recomienda interpretar los resultados de dichas muestras con cautela.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Tampón de lavado: para 4 pruebas, en un frasco limpio, diluya 10 mL de concentrado de lavado 10X (R6) en 90 mL de agua destilada o desionizada. Tenga cuidado de mezclar bien el tampón diluido.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Nota Bene: se recomienda realizar series multiparamétricas (véase el rango de inmunoblots de LDBIO), para limitar el número de frascos abiertos y asegurar un mejor control de calidad.

1. Prepare un plan de distribución para las muestras y un control positivo C+ (**R10**).

Solo mediante el uso de este control será posible validar la prueba técnicamente y llevar a cabo la identificación, para un número de serie determinado de las bandas específicas desarrolladas. No puede utilizarse una tira C+ para interpretar los resultados de los inmunoblots con un número de serie diferente.

2. Corte el número de tiras necesario (R1) con un bisturí y una regla plana transparente limpia, manteniendo la línea azul de posición en las tiras: sujete las tiras con firmeza de acuerdo con la posición de la regla y córtelas por el lado donde se está haciendo presión (los números son visibles a través de la regla).
3. Distribuya 1,2 mL de diluyente de muestras (R2) en cada canal de acuerdo con el plan establecido.
4. Deposite, por orden numérico, las tiras numeradas en los canales: deje que las tiras se rehidraten en la superficie del diluyente durante aproximadamente 2 minutos, con el número visible en la parte superior, LUEGO agitando suavemente la bandeja para sumergirlas completamente en el diluyente.
5. Distribuya las muestras y los controles positivos: de acuerdo con el plan de distribución, a razón de 25 µl por canal. Agite suavemente la bandeja después de cada dispensación. Coloque la bandeja en un agitador oscilante.
Incube durante 90 minutos ± 5 minutos a temperatura entre 20 y 26 °C.
6. Fase de lavado: vacíe el contenido de los canales con una pipeta Pasteur o girando la bandeja de incubación. Distribuya entre 2 y 3 mL de tampón de lavado diluido en cada canal. Incube en el agitador oscilante durante 3 minutos. Repita 2 veces la operación, después vacíe el contenido de los canales. Asegúrese de que las tiras no se giran durante estas fases.
7. Distribuya 1,2 mL de conjugado anti-IgG (R3) en cada canal. Coloque la bandeja en el agitador oscilante.
Incube durante 60 minutos ± 5 minutos a una temperatura entre 20 y 26 °C.
8. Fase de lavado: repita el paso 6.
9. Distribuya 1,2 mL de sustrato NBT/BCIP (R5) en cada uno de los canales. Coloque en el agitador oscilante y proteja de la luz directa. **Incube durante 60 minutos** ± 5 minutos a una temperatura entre 20 y 26 °C.

Independientemente de cuál sea el parámetro, supervise la variación del color. La variación se puede interrumpir si se oscurece el color de fondo de la tira hasta llegar a un punto en que la lectura sea difícil (la calidad de las fases de lavado influye directamente en la coloración de fondo). Es preciso tener en cuenta que las tiras tienden a aclararse a medida que se secan.

10. Interrumpa la reacción mediante la aspiración de sustrato con una pipeta Pasteur o girando el cubo de incubación y distribuyendo 2 mL de agua destilada en los canales. Repita una vez más esta última fase de lavado.
11. Secado de las tiras: con los canales todavía llenos de agua, sujete las tiras por el extremo numerado con las pinzas y deposítelas en el papel absorbente Whatman con el número visible. Deje secar al aire. El color de las tiras se aclarará de forma natural al secarse. La interpretación de la prueba solo debe realizarse una vez finalizado el secado.
12. Almacenamiento: transfiera las tiras a una hoja de papel, que se utilizará para archivarlas. Alinee las líneas de posición. Manténgalas de acuerdo con la posición de la regla plana, pegue la parte superior de las tiras con cinta adhesiva transparente.

Para una interpretación acertada, las tiras deben ordenarse por transferencia y por orden numérico y debe haber un espacio de separación máximo entre ellas de varios milímetros. No es fiable comparar las tiras que están muy separadas (p. ej., la n.º 2 con la n.º 15). **Es arriesgado** (resultados falsos) comparar las tiras de kits diferentes (tiras con números de serie diferentes).

CONTROL DE CALIDAD E INTERPRETACION

El suero de control (R10) suministrado con el kit debe incluirse sistemáticamente en las series de inmunoblot. Muestra el perfil típico y permite la validación técnica del desarrollo satisfactorio de la prueba (las bandas deben ser claramente visibles en la tira) y calibrar con precisión la posición y el aspecto de las bandas específicas para permitir la interpretación de los resultados de las tiras de la misma transferencia (con el mismo número de serie).

Nota Bene: El perfil del control positivo (R10) puede variar según el número de lote de los reactivos utilizados. Las imágenes correspondientes están disponibles en nuestro sitio web www.ldbiodiagnostics.com como ejemplo.

Descripción de las bandas

Una muestra positiva puede presentar numerosas bandas con un peso molecular de entre 8 y 200 kilodaltons (kDa). Algunas son específicas de la leishmaniasis. No obstante, la dificultad para localizarlas en medio de las otras bandas cuya especificidad es dudosa es una desventaja para su explotación.

Los instrumentos de calibración descritos anteriormente permiten localizar la presencia de las bandas 14 y 16 kDa para cada una de las muestras analizadas. Estas bandas situadas en la parte inferior de la tira, generalmente bien aisladas, se suelen poder interpretar con facilidad.

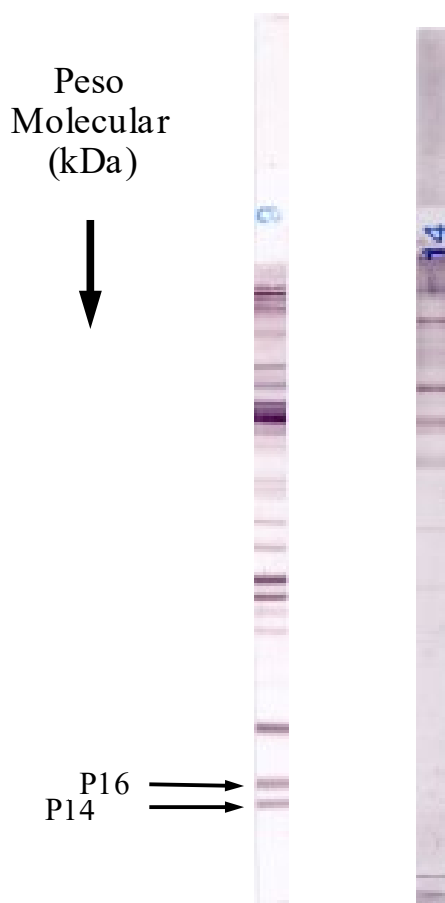


Fig. 1: ejemplos de resultados positivos y negativos

Los perfiles se dan como ejemplos. Las tiras están marcadas con la letra "C" específica del parámetro del lote "02008".

Interpretación

La presencia en la tira de la banda antigénica 14 kDa y/o 16 kDa permite interpretar la prueba como positiva y determinar la presencia de anticuerpos IgG antileishmania en la muestra analizada.

Para validar los resultados, se debe comparar siempre el perfil de la inmunoblot de cada muestra con la del control positivo (R10). El aspecto de las bandas es importante a la hora de interpretar la prueba.

LIMITACIONES DE USO

- El diagnóstico de una enfermedad infecciosa no se puede establecer sobre la base de un solo resultado analítico.
- Estos resultados serológicos deben interpretarse de acuerdo con la información disponible (por ejemplo epidemiológica, clínica, imágenes, biológica, etc.) para poder establecer un diagnóstico. No deben utilizarse como base para el diagnóstico basándose únicamente en su positividad.

Un resultado serológico negativo no excluye el diagnóstico de leishmaniasis visceral, en especial en sujetos inmunodeprimidos. Ante cualquier sospecha de leishmaniasis, automáticamente se debe llevar a cabo un estudio parasitológico de los protozoos.

PRESTACIONES (ver referencias bibliográficas)

LEISHMANIA WB IgG fue objeto de un estudio comparativo con las técnicas IFA y ELISA en un laboratorio independiente.

Sensibilidad (Se)

	IFA	ELISA	WB
POSITIVOS	41	40	51
NEGATIVOS	10	11	0

Tabla 1: Se han analizado mediante las tres técnicas 51 sueros procedentes de sujetos que padecen leishmaniasis visceral evolutiva. ELISA e IFA han obtenido resultados falsamente negativos, en especial en sujetos inmunodeprimidos (VIH).

	IFA	ELISA	WB
POSITIVOS	0	0	15
NEGATIVOS	20	20	5

Tabla 2: Se han analizado en paralelo utilizando las tres técnicas 20 sueros procedentes de sujetos sanos que residen en zona endémica y presentan una prueba de sensibilidad cutánea positiva: la sensibilidad de IFA y ELISA resulta insuficiente para detectar tasas de anticuerpos muy reducidas.

Especificidad (Es)

	IFA	ELISA	WB
POSITIVOS	0	0	0
NEGATIVOS	30	30	30

Tabla 3: En un laboratorio independiente, se han analizado en paralelo en inmunoblot, en ELISA y en IFA 30 sueros procedentes de sujetos adultos sanos que residen en zona no endémica: las tres técnicas han obtenido una especificidad del 100 %.

Nota: Con frecuencia se detectan reacciones falsamente positivas independientemente de la técnica en el caso de pacientes que padecen tripanosomosis (*T. cruzi*).

Conclusión

El BM tiene una excelente sensibilidad que le permite detectar eficazmente a los pacientes con leishmaniosis visceral incluso en un contexto de inmunodepresión.

Permite la detección de portadores asintomáticos y tiene una excelente especificidad, como lo demuestra la ausencia de sueros positivos en pacientes no endémicos.

Se = 100% [IC95 91.3 - 100%]

Es = 100% [IC95 79.9 - 100%]

Los intervalos de confianza se calculan según el método de Wilson con corrección de continuidad.

Reproducibilidad

Se analizó la reproducibilidad entre series y entre lotes. En ambos casos, la correlación entre los sueros con respecto a las bandas específicas es excelente.

Interferencia

Aunque no se ha observado ninguna reacción cruzada con sueros hemolizados, ictericos o lipídicos, se recomienda interpretar los resultados de dichas muestras con cautela.

Solución de problemas

"Las bandas son pálidas con poco contraste": Algunos sueros con concentraciones bajas de anticuerpos pueden aportar esos resultados.

"Pueden apreciarse áreas sombreadas, más o menos coloreadas y ligeramente difusas": La banda no se sumergió totalmente en uno de los reactivos y no incubó correctamente en toda su longitud. Puede asimismo haber presencia de manchas donde se depositó la muestra si no se sacudió la bandeja después de la dispensación.

"El ruido de fondo es considerable, lo que dificulta la lectura": Los lavados fueron insuficientes o la última incubación fue demasiado larga. Asegure unas buenas técnicas de ejecución de las pruebas, respete los tiempos de lavado y la calidad del agua. Reduzca el tiempo de la última incubación.

Excepcionalmente, algunos sueros pueden reaccionar de manera no específica. Entonces, no es posible utilizar el resultado del inmunoblot.

Este ruido de fondo no específico puede comprometer solo parte de la tira, arrojando resultados no interpretables para esa parte únicamente.

"Aparece un precipitado en la solución durante la última fase de desarrollo": Puede haberse precipitado el sustrato (escamas negras) en el tampón al final del desarrollo. Este fenómeno no altera la calidad del desarrollo, el cual debe continuarse normalmente. El último lavado con agua destilada elimina las posibles partículas sólidas presentes.

Bibliografía

- Aoun O, Mary C, Roqueplo C, Marié JL, Terrier O, Levieuge A, et Davoust B. 2009. « Canine Leishmaniasis in South-East of France: Screening of Leishmania Infantum Antibodies (western Blotting, ELISA) and Parasitaemia Levels by PCR Quantification ». *Veterinary Parasitology* 166 (1-2): 27-31. doi:10.1016/j.vetpar.2009.08.006.
- Biglino A, Bolla C, Concialdi E, Trisciuglio A, Romano A, et Ferroglio E. 2010. « Asymptomatic Leishmania Infantum Infection in an Area of Northwestern Italy (Piedmont Region) Where Such Infections Are Traditionally Nonendemic ». *Journal of Clinical Microbiology* 48 (1): 131-36. doi:10.1128/JCM.00416-09.
- Cota GF, De Sousa MR, Nogueira Demarqui F, et Rabello A. 2012. « The Diagnostic Accuracy of Serologic and Molecular Methods for Detecting Visceral Leishmaniasis in HIV Infected Patients: Meta-Analysis ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (5): e1665. doi:10.1371/journal.pntd.0001665.
- Deniau M, Cañavate C, Faraut-Gambarelli F, et Marty P. 2003. « The Biological Diagnosis of Leishmaniasis in HIV-Infected Patients ». *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 97 (Supplement-1): 115-33. doi:10.1179/000349803225002598.
- Ferroglio E, Centaro E, Mignone W, et Trisciuglio A. 2007. « Evaluation of an ELISA Rapid Device for the Serological Diagnosis of Leishmania Infantum Infection in Dog as Compared with Immunofluorescence Assay and Western Blot ». *Veterinary Parasitology* 144 (1-2): 162-66. doi:10.1016/j.vetpar.2006.09.017.
- Kallel K, Ammari L, Kaouech E, Belhadj S, Anane S, Kilani B, et Chaker E. 2007. « [Asymptomatic bearing of

- Leishmania infantum among Tunisian HIV infected patients] ». *Pathologie-biologie* 55 (10): 521-24. doi:10.1016/j.patbio.2007.07.017.
- Lachaud L, Dedet JP, Marty P, Faraut F, Buffet P, Gangneux JP, Ravel J, Bastien P, et Working Group for the Notification of Human Leishmanioses in France. 2013. « Surveillance of Leishmaniasis in France, 1999 to 2012 ». *Euro Surveillace: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 18 (29): 20534.
- Marty P, Lelievre A, Quaranta JF, Rahal A, Gari-Toussaint M, et Le Fichoux Y. 1994. « Use of the Leishmanin Skin Test and Western Blot Analysis for Epidemiological Studies in Visceral Leishmaniasis Areas: Experience in a Highly Endemic Focus in Alpes-Maritimes (France) ». *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 88 (6): 658-59.
- Marty P, Lelièvre A, Quaranta JF, Suffia I, Eulalio M, Gari-Toussaint M, Le Fichoux Y, et Kubar J. 1995. « Detection by Western Blot of Four Antigens Characterizing Acute Clinical Leishmaniasis due to Leishmania Infantum ». *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 89 (6): 690-91.
- Mary C, Lamouroux D, Dunan S, et Quilici M. 1992. « Western Blot Analysis of Antibodies to Leishmania Infantum Antigens: Potential of the 14-kD and 16-kD Antigens for Diagnosis and Epidemiologic Purposes ». *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 47 (6): 764-71.
- Pomares C, Despierres L, Del Giudice P, Delaunay P, Michel G, Ferrua B, et Marty P. 2012. « Western Blot Analysis as an Aid for the Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis due to Leishmania Major ». *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106 (7): 452-54. doi:10.1016/j.trstmh.2012.03.001.
- Ready P. 2014. « Epidemiology of Visceral Leishmaniasis ». *Clinical Epidemiology*, mai, 147. doi:10.2147/CLEP.S44267.
- Saghrouni F, Khammari I, Kaabia N, Bouguila J, Ben Abdeljelil J, Fathallah A, Amri F, et Ben Saïd M. 2011. « Asymptomatic carriage of Leishmania in family members of patients with visceral leishmaniasis in Central Tunisia ». *Pathologie-biologie*, décembre. doi:10.1016/j.patbio.2011.11.001.
- Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G, et null The LeishVet Group. 2011. « LeishVet Guidelines for the Practical Management of Canine Leishmaniosis ». *Parasites & Vectors* 4: 86. doi:10.1186/1756-3305-4-86.
- Van Griensven J, Carrillo E, López-Vélez R, Lynen L, et Moreno J. 2014. « Leishmaniasis in Immunosuppressed Individuals ». *Clinical Microbiology and Infection* 20 (4): 286-99. doi:10.1111/1469-0691.12556.

Notificación de actualización: lea atentamente

FECHA DE LANZAMIENTO	VERSION	RESUMEN DE MODIFICACIONES
02/08/2021	Vs 15	Eliminación de la advertencia de seguridad R5 - Dirección de correo electrónico de contacto – NaN3 EUH 032.
24/10/2022	Vs16	R6 sin NaN3. Tira identificada con la letra C. Posible uso de reactivos de diferentes lotes. Corrección de traducción
30/11/2022	Vs17	Nueva dirección



NF EN ISO 13485

24 Av. Joannes MASSET – 69009 LYON – FRANCE
 Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com – info@ldbiodiag.com