



## DETECTION DES ANTICORPS CELLULES DES ILOTS DE LANGHERANS (ICAb)

IVD

### ENCART DU PRODUIT

**REF** 38636 ICA (Pancréas de Primate) 40 Tests

**REF** 38071 ICA (Lamelle Pancréas de Primate) 4 Puits

**REF** 39518 ICA (Lamelle Pancréas de Primate) 8 Puits

Test par immunofluorescence indirecte pour la recherche et la détermination semi-quantitative des anticorps des cellules des îlots de Langerhans dans le sérum humain pour aider à diagnostiquer le diabète insulino-dépendant (Insulin Dependent Diabetes Mellitus – IDDM).

### GENERALITES

Le diabète est une maladie métabolique chronique et complexe influencée par différents facteurs héréditaires et environnementaux qui résulte dans l'incapacité pour le corps humain à utiliser correctement les glucides, protéines et graisses. Cette condition, caractérisée par des niveaux de glucose dans le sang très élevés, est causée par une déficience dans la production d'insuline ou par une mauvaise utilisation de cette dernière. La plupart des cas de diabète sont repris dans deux grandes catégories cliniques : diabète insulino-dépendant (IDDM ou diabète de type I) et le non insulino-dépendant (NIDDM ou diabète de type II).

Les pronostics, le traitement et la gestion de la maladie sont différents pour chaque type de diabète. Il a été reconnu que le IDDM est une maladie auto-immunitaire visant les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans se trouvant dans le pancréas. La réponse auto-immunitaire aux antigènes des cellules des îlots met au jour des réponses d'anticorps aux antigènes tels que l'acide glutamique décarboxylase (GAD), le ICA-512 et l'insuline. On a découvert qu'ils étaient des indicateurs très importants, particulièrement si leur titre est élevé <sup>1-15</sup>. La détection de ces ICAb par immunofluorescence indirecte (IF) sur un substrat de pancréas est considérée comme le standard pour le diagnostic du IDDM <sup>16-17</sup>. Ces ICAb cytoplasmiques sont couramment utilisés pour la détection du diabète de type I <sup>18-20</sup>.

Les ICAb sont détectés chez plus de 90% des patients diabétiques nouvellement diagnostiqués. Dans l'étude de la famille Bart's-Windsor, 100% des parents de premier degré de patients souffrant d'IDDM présentant des ICAb > 80 unités JDF ont évolué en IDDM en 10 ans. Le niveau des ICAb est apparu plus élevé avant le développement du diabète de type I et diminue ensuite progressivement <sup>12-18</sup>. Les ICAb ont plusieurs particularités distinctes et montrent deux principaux types de conformation de réaction <sup>4</sup>. La première conformation est confinée principalement dans les cellules  $\beta$ . La seconde colore toutes les cellules de l'îlot, il s'agit de la conformation de coloration classique pour les ICAb cytoplasmiques.

### PRINCIPES DE LA METHODE

Avec la méthode d'immunofluorescence indirecte utilisée dans ce kit, le sérum du patient est incubé sur des substrats de pancréas de singe, ce qui permet la fixation des anticorps avec le substrat. Un lavage de la lame élimine tous les anticorps non fixés. Une incubation du substrat avec un conjugué anti-IgG humaines, marqué à la fluorescéine, permet la détection des anticorps de classe IgG fixés. Les réactions sont observées sous un microscope à fluorescence équipé des filtres appropriés. Une fluorescence vert pomme du cytoplasme des îlots de Langerhans montre la présence d'anticorps des cellules des îlots. Le titre du sérum (la dernière dilution donnant une réaction positive) est alors déterminé par dilutions sériques successives 21.

### INFORMATION PRODUIT

#### Conservation et préparation des réactifs

Conserver tous les réactifs entre 2° et 8°C. Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Avant utilisation, attendre que les réactifs atteignent l'équilibre à la température ambiante du laboratoire.

#### Matériel fourni

Menarini™ ICA Pancréas de Primate **REF** 38636

Les kits contiennent les réactifs suffisants pour effectuer 40 tests chacun.



|            |                                         |
|------------|-----------------------------------------|
| 10 x       | <b>SORB</b> <b>SLD</b> <b>4</b>         |
| 1 x 0.5 ml | <b>CONTROL</b> <b>+</b> <b>ICA</b> *    |
| 1 x 0.5 ml | <b>CONTROL</b> <b>-</b> *               |
| 1 x 5 ml   | <b>IgG-CONJ</b> <b>FITC</b> <b>EB</b> * |
| 1 x 5 ml   | <b>CONJ</b> <b>B</b> *                  |
| 1 x 60 ml  | <b>BUF</b> <b>ICA</b> *                 |
| 2 flacons  | <b>BUF</b> <b>WASH</b>                  |
| 1 x 5 ml   | <b>MOUNTING</b> <b>MEDIUM</b> *         |
| 1 x 12     | <b>COVER</b> <b>SLD</b>                 |

#### Autres réactifs disponibles

|            |                                 |
|------------|---------------------------------|
| 1 x        | <b>SORB</b> <b>SLD</b> <b>8</b> |
| 1 x 5 ml   | <b>IgG-CONJ</b> <b>FITC</b> *   |
| 1 x 1.0 ml | <b>EVANS</b>                    |

\* Contient < 0.1% NaN<sub>3</sub>

#### Symboles utilisés sur les étiquettes:

|            |                                     |
|------------|-------------------------------------|
| <b>LOT</b> | Numéro de lot                       |
| <b>REF</b> | Numéro de référence catalogue       |
|            | A utiliser avant                    |
|            | Température de conservation         |
|            | Lire les instructions d'utilisation |
| <b>IVD</b> | Pour usage diagnostique In vitro    |
|            | Fabricant                           |
|            | Nombre de tests                     |

#### Matériel nécessaire mais non fourni

- Microscope à fluorescence
- Micropipette ou pipette Pasteur
- Pipettes sérologiques
- Bac à coloration pour le lavage des lames (bac Coplin)
- Petits tubes (ex : 13 X 75 mm) et porte-tubes

Lames 4 puits avec **substrat de pancréas de singe**

**Contrôle positif ICA.** Sérum humain contenant des anticorps des cellules des îlots, standardisés JDF (Juvenile Diabetes Foundation) sérum positif de référence. **Les unités JDF sont indiquées sur le flacon.**

**Contrôle négatif,** avec sérum humain.

**Conjugué d'anticorps FITC pour l'IgG humain** contenant du **Bleu Evans**. Conserver à l'abri de la lumière.

**Conjugué B.** Maintenir à l'abri de la lumière.

**ICA diluant sérum.**

**Tampon phosphate salin (PBS).** Dissoudre chaque flacon pour obtenir 1 litre.

**Milieu de montage.** Ne pas congeler.

**Lamelles couvre-lames.**

**REF 39518** - Lames 8 puits avec **substrat de pancréas de singe**

**REF 38009** – **Conjugué FITC anti-IgG hum.** Maintenir à l'abri de la lumière.

**REF 38014** - Contre colorant **Bleu d'Evans**.



- Eau distillée ou déionisée
- Eprouvette graduée 1l
- Flacon pour solution de lavage
- Serviettes en papier
- Chambre d'incubation

### MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

Utilisation comme test de diagnostic *in vitro*. Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation des réactifs a été testé en respectant les recommandations de la FDA et résulte non réactif aux antigènes de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), en anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti-HCV) et en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti-VIH1, anti-VIH2 et HTLV-I). Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage<sup>22</sup>.

ATTENTION - Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ). Ce composé peut former dans les canalisations en plomb ou en cuivre des azotures métalliques hautement explosifs. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, rincer l'évier à grande eau lors de l'élimination de ces réactifs. L'azide de sodium est toxique en cas d'ingestion. En cas d'ingestion, informer immédiatement le responsable du laboratoire et contacter le centre antipoison.

La qualité des résultats est dépendante du respect des instructions figurant dans la présente notice. Ne pas échanger des réactifs du kit composants par d'autres provenant d'autres fabricants. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.

### PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, congeler les sérums à -20°C. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums.

### MODE OPERATOIRE

#### A. Dépistage

1. Diluer chaque sérum de patient au 1:5 à l'aide du diluant échantillon fourni (0.1ml de sérum + 0.4ml de diluant). Ne pas diluer les contrôles positifs ou négatifs. Conserver le sérum pur pour déterminer le titre des anticorps dans le cas où le dépistage serait positif.
2. Laisser les lames prendre la température du laboratoire pendant 10-15 minutes dans le sachet scellé. Sortir les lames avec précaution sans toucher le substrat
3. Numéroté les lames et les placer dans la chambre humidifiée avec des serviettes en papier mouillées pour éviter le dessèchement.
4. Retourner le flacon doseur et appuyer doucement pour déposer 1 goutte (environ 50µl) de Contrôle Négatif sur le puit n°1. De la même façon déposer 1 goutte de Contrôle Positif ANA sur le puit n°2. Eviter de déborder des puits.
5. A l'aide d'une micropipette ou d'une pipette Pasteur, déposer 1 goutte (environ 50µl) de sérum dilué dans les puits restants. Eviter de déborder des puits.
6. Remplacer le couvercle sur la chambre et incubé les lames 18 à 24 heures à température ambiante.
7. Sortir une lame de la chambre d'incubation. En la tenant par un bord, rincer doucement avec une pipette contenant environ 10 ml de PBS ou rincer la lame dans un becher rempli de PBS. Ne pas utiliser de pissette. Transférer immédiatement la lame dans un bac à coloration et laver pendant 10 minutes. Répéter les opérations avec toutes les lames.



8. Retirer une (les) lame(s) du bac de coloration. Eliminer l'excès de PBS avec une serviette en papier. Déposer la lame dans la chambre d'incubation. Retourner les flacons doseurs de conjugué IgG FITC et déposer immédiatement 1 goutte (environ 50µl) dans chaque puit.
9. Replacer le couvercle sur la chambre d'incubation et incuber 30 minutes à température ambiante.
10. Répéter les étapes **7 à 9** avec chaque lame, en utilisant le conjugué B à la place du conjugué IgG FITC.
11. Sortir une lame de la chambre d'incubation. En la tenant par un bord, plonger la lame dans un becher rempli de PBS pour éliminer l'excès de conjugué. Transférer dans un bac à coloration rempli de PBS pendant 10 minutes. Si un supplément de conjugué sans contre-coloration est utilisé (voir composé en option dans la Section Matériel Fourni), 2-3 gouttes de contre-coloration bleue d'Evans peuvent être ajoutée au lavage final. Répéter les opérations avec toutes les lames. REMARQUE: Un lavage incorrect peut augmenter le bruit de fond de fluorescence.
12. Retirer une lame du bac. Eliminer l'excès de PBS avec une serviette en papier. **Pour éviter de mettre à sec les puits, réaliser immédiatement l'étape 13 pendant que la lame est encore humide.**
13. Déposer doucement 3 **gouttes** de milieu de montage dans chaque puits et appliquer la lamelle couvre lame. Ne pas appliquer de pression excessive et éviter les mouvements latéraux de la lamelle.
14. Répéter les étapes **12 et 13** avec chaque lame.
15. Observer la fluorescence spécifique à l'aide d'un microscope au grossissement X200 ou plus.

Les lames peuvent être lues immédiatement. Cependant, grâce à la présence d'un agent anti-fading dans le milieu de montage, la lecture peut être retardée jusqu'à 48 heures sans perte significative de l'intensité de fluorescence. Dans ce cas les lames doivent être conservées à l'obscurité entre 2 et 8°C.

## B. Détermination du titre par les dilutions en cascade

Un sérum trouvé positif au test de dépistage doit être retesté en suivant les étapes 5 à 13 afin de définir son titre. Inclure dans chaque nouvelle série un contrôle positif et négatif. Les dilutions en série de 2 en 2 sont réalisées à partir du 1:5. Le titre du sérum est défini par la dernière dilution donnant une fluorescence positive.

Si le titre du contrôle positif se trouve parmi les limites définies dans les spécificités de QC incluses, le niveau des anticorps dans le sérum du patient peut être indiqué en unités JDF <sup>16</sup>. La valeur des unités JDF du contrôle positif est imprimée sur l'étiquette du flacon. Pour calculer la valeur de l'unité JDF du sérum à tester, il faut simplement diviser le titre du sérum par le titre du contrôle positif et le multiplier par les unités JDF du contrôle positif.

### Exemple :

Le titre du contrôle positif est 1:4. Le titre du sérum à tester est 1:10. Sur l'étiquette du contrôle positif est indiqué 160 unités JDF.

### Calcul :

$$\text{Concentration ICAb : } \frac{10}{4} \times 160 = 400 \text{ unités JDF}$$

### Préparation des dilutions en série

Numéroter quatre tubes de 1 à 4. Ajouter 0.4 ml de diluant échantillon dans le tube 1 et 0.2 ml dans les tubes 2 à 4. Pipeter 0.1ml de sérum pur dans le tube 1 et agiter soigneusement. Transférer 0.2 ml du tube 1 dans le tube suivant. Continuer à transférer 0.2 ml d'un tube à l'autre en mélangeant bien chaque tube pour arriver aux dilutions suivantes :

| Tubes               | 1      | 2      | 3      | 4         |
|---------------------|--------|--------|--------|-----------|
| Sérum               | 0.1 ml |        |        |           |
|                     | +      |        |        |           |
| Diluant Echantillon | 0.4 ml | 0,2 ml | 0,2 ml | 0,2 ml    |
|                     | ↗      | ↗      | ↗      |           |
| Transfert           | 0,2 ml | 0,2 ml | 0,2 ml |           |
| Dilution finale     | 1:5    | 1:10   | 1:20   | 1:40 etc. |

### CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus dans chaque série. Le contrôle négatif ne doit pas donner d'image fluorescente des cellules îlots tandis que le contrôle positif doit donner une fluorescence du cytoplasme des cellules des îlots.

Dans le cas où les contrôles ne donneraient pas les résultats attendus, il est recommandé de refaire le test. Si le problème persiste, cela peut être lié à:

- La turbidité. Eliminer le contrôle et en utiliser un nouveau.
- Au système optique du microscope. Par exemple: mauvais alignement, lampe ayant dépassé sa durée de vie, etc.
- A un assèchement des lames pendant la manipulation.

### INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats des essais pour la recherche des anticorps cellules des îlots doivent être considérés négatifs (<5) ou bien positifs avec le titre ou les unités JDF<sup>8</sup>.

Ne considérer que les champs comprenant une coloration spécifique des cytoplasmes des îlots de Langerhans. D'autres anticorps de tissus tels que les anticorps anti-nucléaires ANA, les anticorps anti-mitochondriaux et les anticorps anti-muscle lisse peuvent également être observés sur des parties de pancréas. Les sérums donnant ce type de réaction doivent être considérés négatifs pour les anticorps des cellules des îlots. Tout sérum produisant une réaction de coloration du noyau devrait être testés sur des cellules HEp-2 ou sur des parties de foie de souris. Tout sérum produisant une réaction de coloration des muscles lisses ou mitochondriale devrait être testé sur des parties de rein/estomac de souris. Voir réaction positive ICAb à la photo 1 à la fin de ce document.

REMARQUE : Les réactions ICAb sont, de par leur nature, bien plus faible que les réactions ANA ou la plupart des réactions d'anticorps par immunofluorescence.

### LIMITES D'UTILISATION

Occasionnellement, les sérums peuvent présenter une coloration plus forte pour les ANA que pour les autres anticorps. Ceci peut interférer avec la détection des anticorps des cellules des îlots. Dans ce cas, le titrage du sérum peut permettre la visualisation des anticorps des cellules des îlots. Dans d'autres cas, leur titre peut être inférieur à celui des ANA ou d'autres anticorps et donc ils ne pourront pas être détectés.

Menarini™ anti-cellules des îlots ne devrait pas être utilisé sur des sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne. Ce test est prévu pour tester des échantillons de sérum humain uniquement.

### VALEURS PREVUES

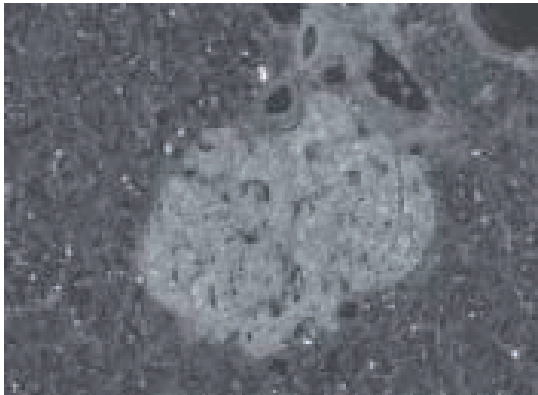
Environ 50 à 80% des diabétiques nouvellement diagnostiqués sont positifs pour les anticorps des cellules des îlots. La prévalence des anticorps pour les cellules des îlots chez les parents de premier degré non diabétiques et chez les sujets normaux non diabétiques est respectivement de 2 à 5% et de 0.25 à 1.7%<sup>5-16</sup>. Chaque année, environ 11% des parents de premier degré positifs aux anticorps cellules d'îlots développent le diabète. Des intervalles de 8 ans entre la détection des anticorps cellules des îlots et le développement du diabète ont été reportés. Voir incidence ICAb dans le tableau 1 à la fin de ce document.

## REFERENCES • BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ • LITERATUR • BIBLIOGRAPHIE • BIBLIOGRAFIA

1. Riley WJ, Maclaren NK, Krischer J et al. N. A prospective study of the development of diabetes in relatives of patients with insulin dependent diabetes. *New Engl J Med*; 1990, 323:1167-1172.
2. Neufeld M, Maclaren NK, Riley WJ et al. Islet cell and other organ-specific antibodies in U.S. Caucasians and Blacks with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*; 1980, 29:589-592.
3. Gianani R, Pugliese A, Bonner-Weir S et al. Prognostically significant heterogeneity of cytoplasmic islet cell antibodies in relatives of patients with type I diabetes. *Diabetes*; 1992, 41:347-353.
4. Ziegler AG, Herskowitz RD, Jackson RA et al. Predicting Type I Diabetes. *Diabetes Care*; 1990, 13:762-775.
5. Gale EAM and Bottazzo GF. Can we predict type I (insulin dependent) diabetes? In "World Book of Diabetes in Practice"; 1986, Vol 2, Krall L, Ed, Elsevier, New York, 25-29.
6. Gorsuch AN, Spencer KM, Lister J et al. Evidence for a long pre-diabetic period in Type I (insulin dependent) diabetes mellitus. *Lancet*; 1981, 2:1363-1365.
7. Tarn AC, Bonifacio E, Dean BM et al. Predicting insulin-dependent diabetes (Letter). *Lancet*; 1988, 2:627-628.
8. Jackson RA, Soeldner JS and Eisenbarth GS. Predicting insulin-dependent diabetes (Letter). *Lancet*; 1988, 2:627-628.
9. Srikanta S, Ganda OP, Gleason RE et al. Pre-type I diabetes: linear loss of beta cell response to intravenous glucose. *Diabetes*; 1984, 33:717-720.
10. Srikanta S, Ganda OP, Rabizadeh A et al. First degree relatives of patients with type I diabetes mellitus: islet cell antibodies and abnormal insulin secretion. *N Engl J Med*; 1985, 313:461-464.
11. Srikanta S, Ganda OP, Jackson RA et al. Pre-type I diabetes: common endocrinologic course despite immunologic and immunogenetic heterogeneity. *Diabetologia*; 1984, 27:146-149.
12. Riley WJ, Spillar RP, Waltz J and Brody B. Predictive value of islet cell antibodies (ICA) - 6 years experience (Abstract). *Diabetes*, 1983, 33 (Supp 1):44A.
13. Riley W, Maclaren N, Spillar RP et al. Predictive value of ICA for IDD and insulinopenia to iv glucose (Abstract): *Diabetes* 37 1988, (Issue 5 Suppl): 5A.
14. Maclaren NK, Horne G, Spillar RP et al. Islet cell antibodies (ICA) in U.S. school children (Abstract). *Diabetes*; 1985, 34 (Suppl 1):84A.
15. Spencer KM, Tarn A, Dean BM et al. Fluctuating islet cell autoimmunity in unaffected relatives of patients with insulin dependent diabetes. *Lancet*; 1984, 1:764- 766.
16. Greenbaum J, Palmer JP, Nagataki S et al. Improved specificity of ICA assays in the fourth international immunology of diabetes serum exchange workshop. *Diabetes*; 1992, 41:1570-1574.30
17. Bonifacio E, Lernmark Å, Dawkins RL et al. Serum exchange and use of dilutions have improved precision of measurement of islet cell antibodies. *J Immunol Methods*; 1988, 106:83-88.



**Photo 1. ICAb Staining Reaction**  
Note specific staining of the cytoplasm of the islet of Langerhans.



**Table 1. Incidence of Anti-Islet Cell Antibodies**

| Disease Group                              | Age (years) | No. Patients examined | % Positive |
|--------------------------------------------|-------------|-----------------------|------------|
| <b>Type I Diabetes (IDDM)</b>              |             |                       |            |
| at onset                                   | <1-10       | 19                    | 63         |
|                                            | 11-20       | 25                    | 60         |
|                                            | 21-40       | 8                     | 25         |
| long standing                              | <1-10       | 22                    | 41         |
|                                            | 11-20       | 71                    | 39         |
|                                            | 21-40       | 26                    | 24         |
|                                            | 41-70       | 13                    | 0          |
|                                            | 71-80       | 3                     | 33         |
| <b>Type II Diabetes (NIDDM)</b>            |             |                       |            |
| at onset                                   | <1-40       | 0                     | -          |
|                                            | 41-80       | 39                    | 3          |
| long standing                              | <1-10       | 0                     | -          |
|                                            | 11-20       | 5                     | 20         |
|                                            | 21-80       | 75                    | 1          |
| <b>Non-diabetic first-degree relatives</b> |             |                       |            |
|                                            | <1-30       | 61                    | 0          |
|                                            | 31-50       | 119                   | 2          |
|                                            | 51-80       | 19                    | 0          |
| <b>non-diabetic controls</b>               |             |                       |            |
|                                            | >18         | 200                   | 0          |



 **A. Menarini Diagnostics S.r.l.**  
via Sette Santi 3  
50131 Firenze  
Italia

**UK**

**UNITED KINGDOM**

Distributed by

A. Menarini Diagnostics Ltd  
405 Wharfedale Road  
Winnersh - Wokingham  
Berkshire RG41 5RA

**EL**

Διανέμεται στην  
**ΕΛΛΑΔΑ** από την

A. Menarini Diagnostics S.A.  
575, Vouliagmenis Ave.  
16451 Argypopolis  
Attiki

**ES**

**ESPAÑA**

Distribuido por

A. Menarini Diagnosticos  
S.A.  
Avenida del Maresme, 120  
08918 Badalona  
Barcelona

**DE**

**DEUTSCHLAND**

Vertrieb durch

A. Menarini Diagnostics  
Eine Division der Berlin-  
Chemie AG  
Glienicke Weg 125  
12489 Berlin

**AT**

**ÖSTERREICH**

Vertrieb durch

A. Menarini Ges.m.b.H  
Pottendorfer Straße, 25/27  
A - 1120 Wien

**FR**

**FRANCE**

Distribué par

A. Menarini Diagnostics  
France S.A.R.L.  
3-5, Rue du Jura  
BP 70511  
94633 Rungis Cedex

**BE**

**BELGIQUE**

Distribué par

A. Menarini Diagnostics  
Benelux S.A./N.V.  
Belgicastraat, 4  
1930 Zaventem

**IT**

**ITALIA**

Distribuito da

A. Menarini Diagnostics  
Via lungo l'Ema, 7  
50012 Bagno a Ripoli  
Firenze

**PT**

**PORTUGAL**

Distribuido por

A. Menarini Diagnósticos, Lda  
Quinta da Fonte  
Edifício D.Manuel I, 2ºB  
2770-203 Paço de Arcos

**NL**

**NEDERLAND**

Distributed by

A. Menarini Diagnostics  
Benelux N.V.  
De Haak, 8  
5555 XK Valkenswaard

EN > Revision date: April 2008

EL > Ημερομηνία αναθεώρησης: Απρίλιος 2008

ES > Fecha de revisión: Abril de 2008

DE > Datum der Überarbeitung: April 2008

FR > Date de révision: Avril 2008

IT > Data di revisione: Aprile 2008

PT > Data de revisão: Abril de 2008

Document No. PI4123 CE M

