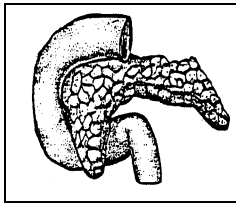


Isletest™-ICA

REF 7010



Qualitativer ELISA-Test zum Nachweis zirkulierender Autoantikörper gegen Inselzellantigene

Februar 2018

I. EINFÜHRUNG UND VERWENDUNGSZWECK

Der insulinabhängige Diabetes mellitus (IDDM) oder Typ I-Diabetes ist eine chronische Erkrankung, die Bildung und Ausschüttung des Schlüsselhormons Insulin beeinträchtigt und den Blutzuckerstoffwechsel verändert. Bildung und Ausschüttung des Insulins erfolgen in den Inselzellen des Pankreas, den so genannten Langerhans Inseln⁽¹⁾. Bei IDDM-Patienten⁽²⁻⁴⁾ ist die Störung der Insulinbildung durch immunologische Zerstörung der Inselzellen durch Autoantikörper bedingt. Solche Störungen (Autoimmunität) können genetisch bedingt sein und/oder durch äußere Einflüsse wie giftige Chemikalien, Vireninfektionen und verschiedenen Arten von Stress⁽⁵⁾ ausgelöst werden.

Der IDDM ist gekennzeichnet durch ein asymptomatisches Prädiabetesstadium, das sich über mehrere Jahre erstrecken kann. Während dieses Stadiums zeigen Betroffene eine verminderte Insulinausschüttung in der Frühphase als Antwort auf eine intravenöse oder orale Glukosetoleranzbelastung. In der Mehrzahl der Fälle weisen diese Personen zirkulierende Inselzellautoantikörper (ICA) und/oder Insulinautoantikörper (IAA) auf. Inselzellautoantikörper sind bis zu acht Jahre vor dem klinischen Krankheitsbild des IDDM⁽⁶⁾ nachweisbar und können damit als früher Indikator der Krankheit oder einer Veranlagung für diese dienen. ICA-positive Personen zeigen unter Umständen einen fortschreitenden Verlust der Inselzellfunktion, womit die Störung der Insulinausschüttung während der Frühphase zu erklären ist. Kommt diese vollständig zum Erliegen, entwickelt sich das klinische Bild des IDDM⁽⁶⁾.

Inselzellautoantikörper sind bei 70% der Patienten mit kürzlichem Beginn eines IDDM^(13,14) nachweisbar, während sie nur bei 0,1 – 0,5 % der nicht-diabetischen Kontrollgruppe^(11,15) vorhanden sind. ICA können auch bei Verwandten ersten Grades von IDDM-Patienten festgestellt werden. Diese Personen gehören zu der Risikogruppe, die mit hoher Wahrscheinlichkeit einen Typ I-Diabetes entwickelt. In zahlreichen Studien konnte belegt werden, dass ICA-positive Verwandte ersten Grades von IDDM-Patienten in der Folgezeit ebenfalls an Diabetes erkrankten⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. Andere Studien haben darüber hinaus gezeigt, dass das Vorhandensein von Serum-ICA und IAA ein Indikator für eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines Typ I-Diabetes ist. Aus diesem Grund ist der serologische Nachweis von ICA ein entscheidender Indikator für die frühe Diagnose eines Typ I-Diabetes. Die Bedeutung dieser Autoantikörper als

Marker eines IDDM wird auch durch ihr Vorhandensein bei Nicht-Diabetikern, die später einen IDDM entwickeln, verdeutlicht. Riley und andere haben kürzlich berichtet, dass durch den Nachweis von ICA bei Typ II-Diabetikern eine Erkrankung mit IDDM vor dem Auftreten klinischer Symptome festgestellt und die Notwendigkeit einer Insulintherapie⁽²⁰⁾ prognostiziert werden konnte. Daher kann sich das Krankheitsbild bei Patienten, die zunächst mit Typ II-Diabetes diagnostiziert werden und Träger von Serum-ICA sind, soweit verschlechtern, dass eine Insulinabhängigkeit entsteht.

Der frühe Nachweis zirkulierender Inselzellautoantikörper ist entscheidend, um in der Bevölkerung Personen mit erhöhtem Risiko sowie Geschwister und Familien von IDDM-Patienten zu identifizieren, für die aufgrund ihrer genetischen Prädisposition ein erhöhtes Risiko besteht, Diabetes zu entwickeln. Während eines internationalen ICA-Workshops wurde die dringende Notwendigkeit eines ELISA-Tests (heterogener Enzym-Immunoassay) zum Nachweis der Inselzellautoimmunität betont⁽²¹⁾.

Aktuell werden Serum-ICA durch indirekte Immunofluoreszenz und histochemische Methoden bestimmt. Dazu werden gefrorene unfixierte Pankreasschnitte von Menschen, Primaten oder Nagetieren als Substrat verwendet. Trotz zahlreicher Versuche, dieses Verfahren seit seiner Erstbeschreibung im Jahr 1974^(22,23) zu verbessern und abzuändern, wird die indirekte Immunofluoreszenz bzw. histochemische Methode durch inhärente methodologische Schwierigkeiten beeinträchtigt. Eine Standardisierung dieses Verfahrens hat sich als sehr kompliziert erwiesen. Dies liegt daran, dass die Zuverlässigkeit dieses mit einem gefrorenen Schnitt arbeitenden Verfahrens durch Faktoren wie die Unterschiede zwischen verschiedenen Pankreas, der unvermeidliche Bedarf an unfixiertem Pankreasgewebe und die unregelmäßige Verfügbarkeit des passenden Gewebes begrenzt wird.

Biomerica, Inc. hat erfolgreich eine Gruppe inselzellspezifischer Antigene, die von Serum-ICA erkannt werden, identifiziert. Biomerica hat diese Gruppe Antigene weiter gereinigt und in einem Mikrotiterplatten-ELISA-Verfahren zum Nachweis von Serum-ICA eingesetzt.

Isletest™-ICA ist ein qualitativ hochwertiger ELISA-Test zum *in vitro* Nachweis zirkulierender IgG-Antikörper gegen Inselzellantigene des Pankreas.

II. TESTPRINZIP

Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte werden mit einer gereinigten Mischung Pankreas-Antigene beschichtet. Während einer Inkubationszeit bei Raumtemperatur reagieren die Antikörper in der Serumprobe mit Antigenmolekülen in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte. Nach dem Auswaschen überschüssiger bzw. nicht gebundener Serummaterialien wird ein enzymbeladener (alkalische Phosphatase) Ziege-Antikörper, spezifisch gegen humanes IgG, dem Antigen-Antikörper-Komplex hinzugefügt. Nach nochmaligem Waschen wird ein Substrat (PNPP) hinzugegeben und die entstandene Farbe in einem Spektrophotometer gemessen. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Konzentration an ICA in der Probe. Eine ICA-positive Kontrolle dient als interner Qualitätsstandard und sichert die Ergebnisse ab.

III. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Material mit möglicher Gesundheitsgefährdung

Die Matrix der Kalibratoren und Kontrollen besteht aus Humanserum. Die verwendeten Humanseren ergaben bei der Prüfung auf HbsAg bzw. Antikörper gegen HIV-1/2 und HCV mit von der amerikanischen Nahrungsmittel- und Drogenbehörde (FDA) lizenzierten Reagenzien ein negatives Ergebnis. Da es jedoch kein Testverfahren gibt, das das Vorhandensein von HIV, Hepatitis B Virus oder anderen infektiösen Erregern mit absoluter Sicherheit ausschließen kann, sind die Reagenzien als potentiell infektiöses Material zu behandeln.

2. Natriumazid

Einige Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung dieser Materialien sind die speziellen Richtlinien zu beachten.

3. Stopplösung

Bei der Stopplösung handelt es sich um 1N NaOH. Beim Umgang mit dieser starken Base ist Vorsicht geboten. Sie kann Verätzungen verursachen und sollte nur mit Handschuhen angefasst werden. Empfehlenswert sind darüber hinaus Schutzkleidung und Schutzbrille, ein Einatmen ist zu vermeiden. Verschüttete Säure sollte zunächst mit Wasser verdünnt werden, bevor sie mit Papiertüchern aufgenommen wird.

4. Substratlösung

Substratlösung besteht aus para-Nitrophenylphosphaten (PNPP), einem chromogenen Nicht-Protein-Substrat, das in diesem ELISA-Test verwendet wird. Gelegentlich kann das Substrat eine gelbliche Farbe aufweisen. Diese Farbe beeinträchtigt nicht die Testergebnisse.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Die Testreagenzien dürfen nicht eingefroren werden. Alle Testkit-Komponenten sind ständig bei 2 - 8° C zu lagern.
2. Positive und negative Kontrollen müssen in jedem Testlauf mitgeführt werden.
3. Es sollten nur klare Serumproben verwendet werden. Übermäßig getrübe, hämolytische oder mikrobiell kontaminierte Proben dürfen nicht verwendet werden.
4. Alle Proben sind in Doppelbestimmung zu analysieren.
5. Reagenzien aus verschiedenen Chargen dürfen nicht gemischt werden.
6. Reagenzien mit abgelaufenem Haltbarkeitsdatum dürfen nicht mehr verwendet werden.
7. Reagenzien nicht über einen längeren Zeitraum bei Raumtemperatur aufbewahren.
8. Die Substratlösung ist im Dunkeln aufzubewahren.
9. Ein sorgfältiges Pipettierverfahren ist notwendig, um reproduzierbare und genaue Ergebnisse zu erzielen. Referenz-Kontrolle

IV. REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Im Lieferumfang enthaltene Materialien:

1. **PLA ICA** = ICA-Mikrotiterstreifen (mit Halterung) 12
2. **CONJ ENZ 6X** = ICA-Anti-Human-IgG-Enzymkonjugat (Konz.)
2 x 1,0 ml
3. **DIL SPE 5X** = Isletest-Probenverdünnungspuffer (Konz.) 1 x 25,0 ml
4. **CONJ ENZ DIL** = Isletest-Konjugatverdünnungspuffer.. 1 x 10,0 ml
5. **CTRL REF ICA** = ICA-Referenzkontrolle 1 x 1,5 ml
6. **CTRL + ICA** = ICA-Positivkontrolle (Humanserum) 1 x 1,5 ml
7. **CTRL - ICA** = ICA-Negativkontrolle (Humanserum) 1 x 1,5 ml
8. **SUBS PNPP** = Isletest-Substratlösung (PNPP)..... 1 x 15,0 ml
9. **BUF WASH 25X** = Isletest-Waschpuffer (Konzentrat) 1 x 20,0 ml
10. **SOLN STP** = Isletest-Stopplösung (1N NaOH)..... 1 x 6,0 ml

V. WEITERE ERFORDERLICHE, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
2. Zellstoff zum Trocknen der Streifen nach dem Waschen sowie Parafilm bzw. Plastikfolie zum Abdecken der Streifen während der Inkubation.
3. Glasröhrchen in passenden Größen zur Serumverdünnung.
4. Mikropipetten mit auswechselbaren Spitzen 10 µl, 50 µl und 100 µl.
5. Ein Plattenwaschgerät oder eine Spritzflasche zum Waschen der Mikrotiterplatten.
6. 5-ml-Pipetten zur Pipettierung von Konjugatverdünnungspuffer.
7. Ein 500-ml-Messzylinder.
8. Mikrotiterplatten-Lesegerät mit einer Absorptionskapazität von 405 nm.

9. Plastiketikettierband zum Verschließen unbenutzter Vertiefungen vor dem Test.

VI. PROBENGEWINNUNG

5-10 ml Blut werden durch Venenpunktion entnommen und in einem Gerinnungsröhrchen (roter Verschluss) gesammelt. Serumseparatoren können verwendet werden. Das Serum wird durch Zentrifugation gewonnen. Serumproben bei 2 - 8° C lagern. Übermäßig hämolytische Proben sowie Proben, die große Gerinnsel enthalten oder durch mikrobielles Wachstum kontaminiert sind, können die Testergebnisse beeinflussen. Wenn die Serumproben nicht innerhalb von 24 Stunden bestimmt werden können, sind sie bei -20°C einzufrieren.

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN UND LAGERUNG

1. Rekonstitution des ICA-IgG-Enzymkonjugats:

Exakt 5 ml des Konjugatverdünnungspuffers werden in eine Flasche, die das ICA-IgG-Enzymkonjugat (Konzentrat) enthält, überführt. Flasche verschließen und Inhalt durch mehrfaches Umkehren der Flasche gründlich mischen. Verdünntes Konjugat bis zur Verwendung bei 2 - 8° C lagern. Datum der Rekonstitution auf dem Etikett vermerken. **Verdünntes Reagenz 30 Tage nach Rekonstitution nicht mehr verwenden.** Es werden zwei Flaschen mit Konjugatkonzentrat geliefert. Jede Flasche enthält ausreichend Konjugat für 6 Mikrotiterstreifen. Rekonstitution nach Bedarf.

2. Isletest-Probenverdünnungspuffer:

Falls das Probenverdünnungspuffer-Konzentrat aufgrund einer Lagerung bei Temperaturen unterhalb von 2° C - 8° C einen Niederschlag (Präzipitat) enthält, muss dies in einem Wasserbad bei 37° C für 30 Minuten wieder gelöst werden. Gesamten Inhalt (25 ml) in ein geeignetes Gefäß mit 100 ml destilliertem/deionisiertem Wasser geben. Gründlich mischen, Gefäß mit "Isletest-Probenverdünnungspuffer" beschriften und bei 2 - 8° C lagern. Das verdünnte Reagenz ist bis zu dem auf der Flasche angegebenen Verfallsdatum haltbar. Beachten Sie, dass der möglicherweise im Konzentrat enthaltene Niederschlag keinen Einfluss auf die Testdurchführung hat und in der 1X-Arbeitslösung nicht mehr vorhanden ist.

3. Isletest-Waschlösung:

Sind aufgrund einer Lagerung bei niedrigen Temperaturen (2 bis 8 °C) Kristalle im Waschpuffer-Konzentrat vorhanden, sind die Kristalle durch ein 30-minütiges Platzieren des Gefäßes in ein 37 °C-Wasserbad oder einen Inkubator aufzulösen. Gesamten Inhalt in ein 500-ml-Gefäß mit 480 ml destilliertem/deionisiertem Wasser geben. Gründlich mischen, Gefäß mit "Isletest-Waschlösung" beschriften und bei 2 - 8° C lagern. Das verdünnte Reagenz ist bis zu dem auf der Flasche angegebenen Verfallsdatum haltbar.

4. Vorbereitung der Serumprobe:

Exakt 10 µl (0,010 ml) der Serumprobe werden in 1,0 ml des Probenverdünnungspuffers in ein bereits etikettiertes Glasröhrchen pipettiert. Gründlich mischen.

VIII. TESTVERFAHREN

Das Testkit enthält 12 mit gereinigten Inselzellantigenen beschichtete Mikrotiterstreifen. Die Anzahl der in jedem Assay verwendeten Mikrotiterstreifen hängt von der zu testenden Anzahl Serumproben ab. Wenn 12 Mikrotiterstreifen verwendet werden, können mit diesem Testkit insgesamt 45 Patientenseren in Doppelbestimmung getestet werden.

WICHTIGER HINWEIS: Vor Testbeginn müssen alle Reagenzien einschließlich Serumproben auf Raumtemperatur (25° C) gebracht werden. Inkubationstemperaturen, die um mehr als ± 1° C abweichen, beeinflussen nachgewiesenermaßen die Ergebnisse.

1. Die für den Test benötigte Anzahl an Streifen in die mitgelieferte Halterung einsetzen. Die Mikrotiterstreifen müssen an der dafür vorgesehenen Stelle fest einrasten, da sie ansonsten hinausfallen und zerbrechen können.

- Machen Sie sich mit dem Indexsystem der Vertiefungen vertraut, z.B. A1, B1, C1, D1 usw.
- 100 µl Negativkontrolle in die Vertiefungen C1 und D1 pipettieren.
- 100 µl Positivkontrolle in die Vertiefungen E1 und F1 pipettieren.
- 100 µl Referenzkontrolle in die Vertiefungen G1 und H1 pipettieren.
- 100 µl der verdünnten Serumprobe (siehe VII. Vorbereitung der Reagenzien und Lagerung, Punkt 4) in die Vertiefungen A2 und B2 pipettieren. Für weitere Serumproben die entsprechende Anzahl zusätzlicher Streifen verwenden und die verdünnten Proben in Doppelbestimmung in die Vertiefungen pipettieren. In jeder Vertiefung sollten sich 100 µl zu testender Lösung befinden, mit Ausnahme der Vertiefungen A1 und B1, die momentan noch leer sind und zu einem späteren Zeitpunkt verwendet werden.
- Alle nicht benötigten Streifen sind sorgfältig in dem dafür vorgesehenen Gleitverschlussbeutel mit Trockenmittel bis zum nächsten Testansatz aufzubewahren. Alle auf einem Streifen nicht verwendeten Vertiefungen sind sorgfältig abzudecken und für den nächsten Testansatz aufzubewahren.
- Platte mit Parafilm oder Plastikfolie abdecken, um eine Kontamination zu vermeiden und für 1 Stunde bei Raumtemperatur ($25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$) inkubieren lassen.
- Nach Inkubation Vertiefung schnell mit Waschpuffer füllen und Platte auf einer Zellstoffunterlage trocken klopfen. Falls ein automatisches Waschgerät verwendet wird, jede Vertiefung dreimal mit 300 µl (0,3 ml) Waschpuffer waschen. Bei Verwendung einer Spritzflasche Vertiefungen sorgfältig mit Waschpuffer füllen und Puffer aus den Vertiefungen wegschütten. Verfahren zwei Mal wiederholen. Platte auf Papiertuch trocken klopfen.
- 100 µl ICA-IgG-Enzymkonjugat (siehe VII. Vorbereitung der Reagenzien und Lagerung, Punkt 1) in jede Vertiefung pipettieren, mit Ausnahme der Vertiefungen A1 und B1.
- Platte mit Parafilm oder Plastikfolie bedecken und 1 Stunde bei Zimmertemperatur ($25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) stehen lassen.
- Nach Inkubation Waschschrift (Punkt 9) wiederholen und die Vertiefungen der Mikrotiterplatte trocken klopfen.
- 0,1 ml (100 µl) Substratlösung in alle Vertiefungen der Mikrotiterplatte, einschließlich der Vertiefungen A1 und B1, pipettieren. Es sollte sichergestellt werden, dass das Substratreagens schnell und ohne Unterbrechung pipettiert wird. Gelegentlich kann das Substrat eine gelbliche Farbe aufweisen. Diese Farbe beeinträchtigt nicht die Testergebnisse.
- Platte abdecken und 30 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur ($25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) stehen lassen.
- Nach 30 Minuten 50 µl Stopplosung schnell und ohne Unterbrechung in jede Vertiefung pipettieren.
- Mikrotiterplatten-Lesegerät gemäß Herstellerhinweisen einstellen und Absorption bei 405 nm messen. Die Vertiefungen A1 und B1 können zur LeerwertEinstellung des Lesegeräts verwendet werden.
- Daten gemäß Abschnitt IX auswerten.

IX. TESTAUSWERTUNG

Die spektrophotometrisch erhaltenen optischen Dichten (OD) in Absorptionseinheiten werden wie im Beispielprotokoll für Isletest™-Inselzellautoantikörper aufgezeichnet. Die tatsächlich in den angesetzten Isletest™-Inselzellautoantikörpern gemessenen OD-Ergebnisse können evtl. hiervon abweichen. Dies ist nur ein Beispiel.

- Den Mittelwert der OD-Ergebnisse der Referenz-, Negativ- und Positivkontrolle sowie der in Doppelbestimmung vorgenommenen Patientenproben berechnen.

Mittlere OD: Referenz (\bar{R}), Negativ (\bar{N}), Positiv (\bar{P}), Proben (\bar{S})

- Die mittlere OD der Proben und Kontrollen durch den \bar{R} -Wert dividieren. Das ergibt den Verhältniswert für die einzelnen Proben.

Interpretation der Ergebnisse:

Inselzellautoantik.-Verhältniswert (U/mL)	Ergebnis
< 0,95	Negativ
> 1,05	Positiv
0,95 – 1,05	Nicht determiniert (Grenzwert)

Proben mit Verhältniswerten von < 0,95 weisen auf eine niedrige und Werte von > 1,05 auf eine hohe Konzentration von Inselzellautoantikörpern hin. Proben mit Werten zwischen 0,95 und 1,05 werden als nicht determiniert betrachtet. Nicht determinierte Proben sollten wiederholt oder parallel zu einer neuen (später entnommenen) Probe durchgeführt werden.

ISLETEST™-ICA-BEISPIELDATEN

Abschnitt A: Kontrollergebnisse

Daten			Verhältniswert	Ergebnis
Kontrollen	OD	Mittl. OD		
Referenzkontrolle	1,072	$\bar{R} = 1,082$	1,00	
	1,092			
Negativkontrolle	0,290	$\bar{N} = 0,297$	0,27	Negativ
	0,303			
Positivkontrolle	1,413	$\bar{P} = 1,409$	1,30	Positiv
	1,406			

Hinweis: Als gültiges Verhältniswert-Testergebnis gelten $\bar{N} < 0,95$ und $\bar{P} > 1,05$

Im Falle eines ungültigen Testergebnisses muss der Test wiederholt werden.

Abschnitt B: Ergebnisse der Patientenproben

Daten			Verhältniswert	Ergebnis
Probe	OD	Mittl. OD		
Referenzkontrolle	1,072	$\bar{R} = 1,082$	1,00	
	1,092			
1	1,444	$\bar{S}_1 = 1,458$	1,35	Positiv
	1,472			
2	0,549	$\bar{S}_2 = 0,541$	0,50	Negativ
	0,534			
3	1,036	$\bar{S}_3 = 1,043$	0,96	Nicht determiniert
	1,051			

X. QUALITÄTSKONTROLLE

Positiv- und Negativkontrollen müssen gemeinsam mit den unbekanntem Serumproben in jedem Testlauf mitgeführt werden, um die Richtigkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Die Negativkontrolle sollte einen Verhältniswert von < 0,95 U/ml zeigen und der Wert der Positiv-Kontrolle sollte bei > 1,05 U/ml liegen.

XI. LEISTUNGSMERKMALE

Die Spezifität der mit Antigen beschichteten Isletest-Mikrotiterstreifen wurde mittels Western-Blot-Analyse unter Verwendung bestätigter positiver Proben für IgG gegen Inselzellantigene festgestellt. Proben mit Schilddrüsen-Autoantikörper und Rheumafaktoren zeigten ein negatives Ergebnis im Isletest-ICA.

XII. KLINISCHE BEDEUTUNG

Dieses *in vitro* Testverfahren dient zum Nachweis von Autoantikörpern gegen humanes Insulin in Patientenserum. Ergebnisse, die alleine mittels dieses Verfahrens gewonnen wurden, sind nicht für die Diagnose eines IDDM geeignet.

Schwachpositive und grenzwertige Proben (innerhalb 5% dem Referenzkontrolle OD) sind aufzubewahren und bei -20°C zu lagern. Frische Proben dieser Patienten sind nach jeweils 6 Monate zusammen mit den früheren Proben erneut zu testen.

DIES IST LEDIGLICH EIN SCREENING-TEST. EINE IDDM-DIAGNOSE IST UNTER EINBEZUG DER MEDIZINISCHEN VORGESCHICHTE DES PATIENTEN, DER KLINISCHEN SYMPTOME UND DER ERGEBNISSE AUS WEITEREN TESTS ZU STELLEN.

XIII. GRENZEN DES VERFAHRENS UND FEHLERQUELLEN









1. Obwohl ein höherer ICA-Titer zu höheren Werten der optischen Dichte (OD) führt, die prüfung ist für den qualitativen Entschluß von ICA nur entworfen.
2. Eine schlechte Testreproduzierbarkeit kann folgende Ursachen haben:
 - a. Lieferabweichungen bei Reagenzien
 - b. Unsachgemäße Lagerung der Reagenzien
 - c. Unsachgemäße Rekonstitution der Reagenzien
 - d. Unzureichendes Waschen der Vertiefungen der Mikrotiterplatte
 - e. Substratreagenz ist alt oder wurde dem Licht ausgesetzt
 - f. Unstabiles oder defektes Spektrophotometer
 - g. Fehler beim Befolgen der Angaben zur Assay-Durchführung

XIV. LITERATUR

1. Orci, L., J. Vassali, and A. Parrelet (1988). The insulin factory. *Sci. Amer.*, **261**:85-94.
2. Eisenbarth, G.S. (1985). Type I diabetes: A chronic autoimmune disease. *New Engl. J. Med.*, **314**:1360-1368.
3. Eisenbarth, G.S., J. Connelly, and J.S. Soeldner (1987). The natural history of Type I diabetes. *Diabet./Metab. Rev.*, **3**:873-891.
4. Etzioni, A. (1987). Immunological concepts in insulin-dependent (Type I) Diabetes Mellitus *Immunol Res.*, **6**:224-251.
5. Rossini, A.A., J.P. Mordes, and E.S. Handler (1989). A "Tumbler" hypotheses: The autoimmunity of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet. Spect.*, **2**:195-201.
6. Soeldner, J.S. (1985). The prodermal phase of insulin-dependent diabetes. In: Current Medical Literature - *Diabetes*, **2**:66-70.
7. Colman, P.G., R.C. Nayak, J. Connelly, A. Rabizadeh, J.S. Soeldner, and G.S. Eisenbarth (1986). Islet cell antibodies: Clinical utility and target antigens. In: *The Immunology of Diabetes Mellitus* (Jaworski, M.A. ed.). Elsevier, NY, 345-350.
8. Palmer, J.P. (1987). Insulin autoantibodies: Their role in pathogenesis of IDDM. *Diabet./Metab. Rev.*, **3**:1005-1015.
9. Srikanta, S., A.T. Ricker, D.K. McCulloch, J.S. Soeldner, G.S. Eisenbarth, and J.P. Palmer (1986). Autoimmunity to insulin, beta cell dysfunction, and development of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*, **35**:139-142.
10. Dean, B.M., F. Becker, J.M. McNally, A.C. Tarn, G. Schwart, E.A.M. Gale, and Bottazo, G.F. (1986). Insulin autoantibodies in the pre-diabetic period: correlation with islet cell antibodies and development of diabetes. *Diabetologia*, **29**:339-342.
11. Irvine, W.J., R.S. Gray, and J.M. Steel (1980). Islet cell antibody as a marker for early stage Type I diabetes. In: *The immunology of diabetes* (Irvine, W.J., ed.), Teviot, Edinburgh, pp. 117-154.
12. Kamallesh, M., A. Karasik, and S. Srikanta (1986). Islet cell antibodies as predictors of insulin-dependent diabetes mellitus. *Pract. Cardiol.*, **12**:79-91.
13. Irvine, W.J., C.J. McCallum, R.S. Gray, C.J. Campbell, J.J.P. Duncan, J.W. Faraquar, H. Vaughan, and P.J. Morris (1977). Pancreatic islet cell antibodies in diabetes mellitus correlated with duration and type of diabetes, coexistent autoimmune disease and HLA type. *Diabetes*, **26**:138-147.
14. Landrum, R., G. Walker, A.G. Cudworth, C. Theophanides, D.A. Pyke, A.J. Bloom, and D.R. Gambler (1976). Islet cell antibodies in diabetes mellitus. *Lancet*, **2**:1273-1276.
15. Riley, W. and N. MacLaren (1984). Islet cell antibodies are seldom transient. *Lancet*, **1**:1351-1352.
16. Soeldner, J.S., M. Tuttleman, S. Srikanta, O.P. Ganda, and G.S. Eisenbarth (1985). Insulin-dependent diabetes and initiation of autoimmunity: Islet cell autoantibodies, insulin autoantibodies and beta cell function. *New Engl. J. Med.*, **313**:893-900.
17. Battazo, G.F., R. Pujol-Barrell, and E. Gale. In: *The Diabetes Annual* (K.G.M.M. Alberti and L.P. Krall, eds.), Elsevier, NY, Oxford, **1**:16-52.

18. Srikanta, S., O.P. Ganda, R.A. Jackson, R.E. Gleason, M.E. Kaldany, M.R. Garovoy, E.L. Milford, C.B. Carpenter, J.S. Soeldner, and G.S. Eisenbarth (1983). Type I diabetes mellitus in monozygotic twins: chronic progressive beta cell dysfunction. *Annals Int. Med.*, **99**:320-326.
19. Srikanta, S., O.P. Ganda, A. Rabizadeh, J.S. Soeldner, and G.S. Eisenbarth (1985). First-degree relatives of patients with Type I diabetes mellitus: Islet cell antibodies and abnormal insulin secretion. *New Engl. J. Med.*, **313**:461-464.
20. Riley, W.J., N.K. MacLaren, and J.H. Silverstein (1988). The predictability of insulin-dependent diabetes mellitus. *Adv. Pediatr.*, **35**:167-187.
21. Boitard, C., E. Bonifacio, G.F. Bottazo, H. Gleichman, and J. Molenaar (1988). Immunology and diabetes workshop: Report on the third international (stage 3) workshop on standardization of cytoplasmic islet cell antibodies. *Diabetologia*, **31**:451-452.
22. Bottazo, G.F., A. Florin-Christensen, and D. Doniach (1974). Islet cell antibodies in diabetes mellitus with polyendocrine deficiencies. *Lancet*, **II**:1279-1283.
23. Srikanta, S., A. Rabizadeh, M.A.K. Omar, and G.S. Eisenbarth (1980). Assay for islet cell antibodies: Protein A-monoclonal antibody method. *Diabetes*, **34**:300-305.

XV. SYMBOLE

	Lagerungstemperatur
	Stapelcode
	Ablauf
	Hersteller
	Autorisierter vertreter
	Achtung, Siehe Anweisungen
	Für die <i>in vitro</i> -Diagnostik vorgesehen
	Katalog-Nr.

XVI. BEZUGSNACHWEIS

BESTELLUNGEN: Bestellungen sind zu richten an:



BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, California 92614
U.S.A.

2°C / 8°C



Telefon: +1-(949) 645-2111
Fax: +1-(949) 553-1231
Website: www.biomerica.com
E-Mail: bmra@biomerica.com



67010-07_ger.doc

Februar 2018



gemäß IVDD 98/79/ EC
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover
Deutschland