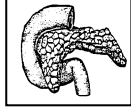


VERSIÓN INTERNACIONAL

Isletest™-ICA

REF 7010



**Test cualitativo ELISA  
para la detección de autoanticuerpos en la  
circulación contra antígenos de las  
células del islote**

febrero 2018

**BIOMERICA**

**I. INTRODUCCIÓN Y USO PREVISTO**

La diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) o diabetes tipo I es una enfermedad crónica debilitadora que afecta a la producción y secreción de insulina (una hormona clave) y altera el metabolismo del azúcar en la sangre. La insulina se sintetiza y se segrega en las células del islote o Islotes de Langerhans en el páncreas<sup>(1)</sup>. La interrupción de la síntesis de la insulina está causada por la destrucción inmunológica de las células del islote por parte de autoanticuerpos en pacientes de DMID<sup>(2-4)</sup>. Tales alteraciones (autoinmunidad) pueden haberse heredado genéticamente y/o desencadenarse por exposición a productos químicos tóxicos, infecciones víricas y distintas formas de estrés<sup>(5)</sup>.

La DMID tiene una fase prediabética asintomática característica que puede durar hasta varios años. Durante este período, los individuos afectados presentan la fase temprana de menor secreción de insulina en respuesta a la provisión de glucosa intravenosa u oral. En la mayoría de los casos, estas personas tienen autoanticuerpos contra células del islote (ICA) y/o autoanticuerpos contra la insulina (IAA) en la circulación. Los ICA se pueden detectar tempranamente, ocho años antes del inicio clínico de la DMID<sup>(6)</sup> y por ello pueden servir como indicador temprano de la enfermedad o de la predisposición a ella. Las personas que dan positivo a ICA pueden manifestar una pérdida progresiva de la función de las células del islote tal como indica la interrupción de la secreción de insulina en la fase temprana. Cuando la secreción de insulina en la fase temprana se detiene totalmente, se desarrolla la DMID clínicamente<sup>(6)</sup>.

Los autoanticuerpos contra células del islote están presentes en el 70% de los pacientes con un inicio reciente de DMID<sup>(13,14)</sup> comparado con el 0,1 - 0,5% de la población de control no diabética<sup>(11,15)</sup>. También se detectan ICA en parientes de primer grado de pacientes con DMID. Estas personas constituyen el segmento de población humana con mayor riesgo de desarrollar la DMID. Varios estudios concluyeron que los parientes de primer grado de pacientes con DMID que dan positivo en ICA desarrollan posteriormente la diabetes<sup>(16-19)</sup>. Otros estudios también sugieren que la presencia de ICA e IAA en el suero es un indicador de la alta probabilidad de desarrollar la DMID<sup>(3,6-12)</sup>. Por lo tanto, la detección serológica de ICA puede ser una potente herramienta para el diagnóstico temprano de la DMID. La trascendencia de estos autoanticuerpos como

marcadores de la DMID también se pone de manifiesto por su presencia en personas no diabéticas que terminan desarrollando la DMID. Riley, et al. informaron recientemente que la determinación de ICA en pacientes con diabetes tipo 2 podía indicar la DMID antes del inicio de los síntomas clínicos y predecir la necesidad del tratamiento con insulina<sup>(20)</sup>. Así, los pacientes a quienes inicialmente se diagnostica con diabetes tipo 2 y tienen ICA en el suero pueden empeorar en la dependencia de insulina.

Una detección temprana de ICA en la circulación es importante para identificar a las personas en la población general, hermanos y familiares de pacientes con DMID, que corren un mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad por su predisposición genética a la diabetes. En un congreso sobre ICA, se subrayó la necesidad inminente de un test ELISA para la determinación de la autoinmunidad contra células del islote<sup>(21)</sup>.

Actualmente, los ICA del suero se determinan por métodos indirectos de inmunofluorescencia e histoquímicos que utilizan como sustratos secciones de páncreas congeladas y sin fijar de humanos/primates o ratones. Pese a los intentos de mejorar y modificar este procedimiento desde su descripción original en 1974<sup>(22,23)</sup>, la técnica indirecta de inmunofluorescencia/histoquímica conlleva problemas metodológicos inherentes. Se ha demostrado que la estandarización de la técnica es muy difícil. La fiabilidad de esta técnica de "sección congelada" está limitada por factores como la variación de un páncreas a otro, la necesidad inevitable de tejido pancreático sin fijar y la disponibilidad poco frecuente del tejido adecuado.

Biomerica, Inc. ha identificado con éxito un grupo de antígenos específicos de las células del islote que los ICA del suero reconocen. Biomerica ha purificado posteriormente este grupo de antígenos y los ha usado en un procedimiento de micropocillos-ELISA para detectar la presencia de ICA en el suero.

Isletest™-ICA es un test ELISA cualitativo in vitro para la detección en la circulación de anticuerpos IgG contra antígenos de las células del islote pancreático.

**II. PRINCIPIO DEL TEST**

Se inmoviliza una mezcla purificada de antígenos pancreáticos en micropocillos. Mediante un período de incubación, se permite a los anticuerpos en la muestra de suero que reaccionen a temperatura ambiente con las moléculas de antígeno en los micropocillos. Tras el lavado de sustancias del suero excedentes/sueltas, se añade un anticuerpo de cabra enzimático (fosfatasa alcalina), específico para las IgG humanas, al complejo antígeno-anticuerpos. Tras otro lavado a fondo, se añade un sustrato (PNPP) y el color generado se mide espectrofotométricamente. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de ICA en la muestra. Un control positivo en ICA sirve como control de calidad interno y garantiza unos resultados válidos.

**III. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

**1. Material de riesgo biológico potencial**

La matriz de los calibradores y los controles es el suero humano. Se ha comprobado con reactivos autorizados por la FDA que el suero humano utilizado no es reactivo a HbsAg, anti-VIH 1/2 ni anti-HCV. Dado que no hay ninguna otra prueba que pueda ofrecer una garantía completa de la ausencia de los virus VIH, de hepatitis B u

otros agentes infecciosos, estos reactivos deben considerarse potencialmente infecciosos.

## 2. Azida sódica

Algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede reaccionar con el plomo, el cobre o el bronce y formar azidas metálicas explosivas. Al desechar estos materiales, enjuague siempre con abundante agua para evitar la acumulación de azidas.

## 3. Solución de parada

La solución de parada se compone de 1N de NaOH. Se trata de una base concentrada que debe manejarse con precaución. Puede provocar quemaduras, por lo que debe ponerse guantes. Es necesario llevar gafas y ropa protectora adecuada. Evite la inhalación. Diluya con agua cualquier derrame antes de utilizar toallas de papel para absorberlo.

## 4. Solución de sustrato

Solución de sustrato consiste de para-Nitrofenilfosfato (PNPP), un sustrato cromógeno non-proteicos usado en esta prueba de ELISA. En ocasiones, el sustrato puede mostrar un color amarillento. Este color no interferirá con los resultados de la prueba..

### Precauciones

1. No congele los reactivos del test, guarde siempre todos los componentes a 2 - 8°C.
2. Los controles positivos y negativos deben realizarse cada vez que se realice el test.
3. Use sólo suero claro como muestra para el test. La muestra del test no debe presentar turbiedad, hemólisis o contaminación microbiana.
4. Todas las muestras se analizarán en duplicado.
5. No mezcle reactivos de lotes diferentes.
6. No emplee reactivos caducados.
7. No permita que los reactivos queden a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo.
8. No exponga la solución de sustrato a la luz.
9. Es necesaria una cuidadosa técnica de pipeta para conseguir unos resultados reproducibles y exactos. referencia

## IV. REACTIVOS Y MATERIALES

### Materiales suministrados:

1. **PLA ICA** = Tiras de micropocillo con ICA (con soporte)..... 12 tiras
2. **CONJ ENZ 6X** = Conjugado enzimático IgG antihumano ICA (conc) 2 x 1,0 ml
3. **DIL SPE 5X** = Diluyente de muestra de ICA (concentrado) ..... 1 x 25,0 ml
4. **CONJ ENZ DIL** = Diluyente de conjugado Isletest ..... 1 x 10,0 ml
5. **CTRL REF ICA** = Control referencia ICA..... 1 x 1,5 ml
6. **CTRL + ICA** = Control positivo ICA (suero humano) ..... 1 x 1,5 ml
7. **CTRL - ICA** = Control negativo ICA (suero humano)..... 1 x 1,5 ml
8. **SUBS PNPP** = Solución de sustrato Isletest (PNPP) ..... 1 x 15,0 ml
9. **BUF WASH 25X** = Tampón de lavado Isletest (concentrado) .... 1 x 20,0 ml
10. **SOLN STP** = Solución de parada Isletest (1N NaOH) ..... 1 x 6,0 ml

## V. MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Toallitas de papel absorbente para secar las tiras tras el lavado y láminas de cierre/tapas de plástico para cubrir las tiras durante las incubaciones.
3. Tubos de cristal de tamaño adecuado para la dilución del suero.
4. Micropipetas con puntas desechables para dosificar 10 µl, 50 µl y 100 µl.
5. Una lavadora de placa microtiter o una botella vertedora para el lavado.
6. Pipetas de 5 ml para la dosificación del diluyente de conjugado.

7. Un cilindro graduado de 500 ml.

8. Un lector de placas microtiter con 405 nm de capacidad de absorbencia.

9. Cinta de etiqueta plástica, para encintar los pocillos sin usar antes del ensayo.

## VI. RECOPIACIÓN DE MUESTRAS

Extraiga 5-10 ml de sangre por venipunción y viértalos en un tubo (parte superior roja). Se pueden usar separadores de suero. Separe el suero por centrifugación. Las muestras de suero se pueden guardar a 2 - 8°C. La hemólisis excesiva y la presencia de grandes coágulos o crecimiento microbiano en la muestra del test puede repercutir en el rendimiento del test. Congele la muestra de suero a -20°C si no se puede analizar en un plazo de 24 horas.

## VII. PREPARACIÓN REACTIVA Y ALMACENAMIENTO

### 1. Reconstitución del conjugado enzimático ICA-IgG:

Vierta con exactitud 5 ml de diluyente de conjugado en una botella que contenga el conjugado enzimático ICA-IgG (concentrado). Cierre la botella y mezcle a fondo por inversiones. Guarde el conjugado diluido a 2 - 8°C cuando no se use. Registre la fecha de reconstitución en la etiqueta. **El reactivo diluido caduca a los 30 días tras la reconstitución.** Se proporcionan dos botellas que contienen concentrado de conjugado. Cada botella contiene suficiente conjugado para 6 tiras. Debe reconstituir según sea necesario.

### 2. Tampón del diluyente de la muestra de Isletest:

Si precipitado está presente en el diluyente de muestra debido al almacenamiento en baja temperatura como 2-8°C, disolver colocando el frasco en un baño de agua de 37°C durante 30 minutos. Vierta todo el contenido (25 ml) en 100 ml de agua destilada/desionizada en un contenedor adecuado. Mezcle a fondo, etiquete el contenedor como Diluyente de muestra de Isletest y guárdelo a 2 - 8°C. El reactivo diluido es estable hasta la caducidad que se muestra en el vial. Nota que el precipitado en el concentrado produce ningún efecto en el rendimiento de la prueba y no estará presente en la 1X diluyente de muestra.

### 3. Solución de lavado Isletest:

Si el concentrado de amortiguador de lavado contiene cristales debido al almacenamiento a una temperatura menor, como podría ser 2-8°C, disuélvalo colocando el vial en el baño María a 37°C o en una incubadora durante 30 minutos. Vierta todo el contenido en 480 ml de agua destilada/desionizada en un contenedor de 500 ml. Mezcle a fondo, etiquete el contenedor como Lavado Isletest y guárdelo a 2 - 8°C. El reactivo diluido es estable hasta la caducidad que se muestra en el vial.

### 4. Preparación de la muestra de suero:

Con una pipeta, vierta exactamente 10 µl (0,010 ml) de muestra de suero en 1,0 ml del diluyente de muestra de trabajo en un tubo de cristal ya etiquetado. Mezcle a fondo.

## VIII. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

El kit del test contiene 12 tiras de micropocillo recubiertas con antígenos de células del islote purificados. El número de tiras de micropocillo que se use en cada ensayo depende del número de muestras de suero que se van a examinar. Si se usan 12 tiras de micropocillo, se pueden hacer pruebas en duplicado en sueros de 45 pacientes con este kit.

**NOTA IMPORTANTE:** Guarde todos los reactivos, incluidas las muestras de suero, a temperatura ambiente (25°C) antes de empezar

el ensayo. Las temperaturas de incubación que varíen en más de  $\pm 1^\circ\text{C}$  pueden afectar definitivamente a los resultados.

1. Reúna el número de tiras de micropocillo necesarias para el test en el soporte proporcionado. La tira de micropocillo debe asegurarse firmemente en su lugar o podría caerse y romperse.
2. Familiarícese con el sistema de indexación de los pocillos, p. ej., pocillo n.º A1, B1, C1, D1, etc.
3. Reparta 100  $\mu\text{l}$  de control negativo en los micropocillos C1 y D1.
4. Reparta 100  $\mu\text{l}$  de control positivo en los micropocillos E1 y F1.
5. Reparta 100  $\mu\text{l}$  de control referencia en los micropocillos G1 y H1.
6. Añada 100  $\mu\text{l}$  de suero de muestra diluido (véase n.º 4, Sección VII, Preparación del reactivo) en los micropocillos A2 y B2. Para las muestras del paciente adicionales, emplee tiras adicionales y añada otras muestras diluidas del paciente a los micropocillos duplicados. Debe haber 100  $\mu\text{l}$  de solución en cada micropocillo que se va a testar, excepto en A1 y B1, que de momento están vacíos y que se usarán después.
7. Las tiras que no se usen deben guardarse correctamente con desecante en la bolsa ziplock que se proporciona para la siguiente prueba. Los pocillos que no se usen en la tira deben cubrirse correctamente y guardarlos para la prueba siguiente.
8. Proteja la placa con una cubierta de película o plástico (para prevenir su contaminación) y déjela durante 1 hora a temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ).
9. Tras la incubación, deseche la solución en la pila por decantación rápida y seque la placa dándole unos toques suaves con una toallita de papel. Si se utiliza una lavadora de placas automática, lave cada pocillo 3 veces con 300  $\mu\text{l}$  (0,3 ml) de solución de lavado. Si se utiliza una botella vertedora, llene los pocillos con la solución de lavado con cuidado y decante el buffer de los micropocillos. Repita el procedimiento dos veces más y seque la placa con una toallita de papel.
10. Añada 100  $\mu\text{l}$  de reactivo conjugado enzimático ICA-IgG (véase n.º 1, Sección VII, Preparación del reactivo) en todos los micropocillos excepto en los pocillos A1 y B1.
11. Proteja la placa con una cubierta de película o plástico y déjela a temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ) durante una hora.
12. Tras la incubación, repita el paso del lavado (paso n.º 9) y seque los micropocillos.
13. Añada 0,1 ml (100  $\mu\text{l}$ ) de solución de sustrato a todos los micropocillos, incluidos los pocillos A1 y B1. Asegúrese de verter el reactivo de sustrato a un ritmo rápido y fijo sin interrupciones. En ocasiones, el sustrato puede mostrar un color amarillento. Este color no interferirá con los resultados de la prueba.
14. Cubra la placa y déjela a oscuras durante 30 minutos a temperatura ambiente ( $25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ ).
15. Pasados 30 minutos añada inmediatamente 50  $\mu\text{l}$  de solución de parada en cada pocillo a ritmo rápido y fijo sin interrupción.
16. Ajuste el lector de microplacas para que lea la absorbencia a 405 nm según las instrucciones del fabricante, y ponga en blanco el lector de placas con el pocillo A1 o B1.
17. Calcule los datos según lo indicado en la Sección IX.

## IX. CÁLCULO DE DATOS

Registrar las lecturas espectrofotométricas [densidad óptica (OD) en unidades de absorbencia] como se muestra en el ejemplo de los datos de muestra de autoanticuerpos contra células del islote (ICA)

de Isletest™. La lectura de OD real de su Isletest™-ICA puede que sea diferente. Esto sólo es un ejemplo.

1. Calcular el promedio de la lectura de OD de los controles de referencia, negativos y positivos y las muestras del paciente por duplicado.

Promedio de OD: Referencia ( $\bar{R}$ ), Negativo ( $\bar{N}$ ),  
Positivo ( $\bar{P}$ ), Muestras ( $\bar{S}$ )

2. Dividir el promedio de OD de las muestras y los controles por el valor  $\bar{R}$ . Esto da el valor del cociente de cada muestra.

Interpretaciones:

Valor del cociente ICA ( U/mL)	Resultado
< 0,95	Negativo
> 1,05	Positivo
0,95 – 1,05	Indeterminado (Borderline)

Las muestras con valores de cociente < 0,95 muestran un nivel bajo de anticuerpos ICA; el valor > 1,05 muestra un nivel alto de anticuerpos ICA. Las muestras con valores entre 0,95 y 1,05 se consideran como indeterminadas. Se sugiere repetir las muestras indeterminadas o realizarlas en paralelo con una nueva muestra tomada en una fecha posterior.

Sección A: resultados de control

Datos			Valor del cociente	Resultado
Controles	OD	Prom. OD		
Ctrl. referencia	1,072	$\bar{R} = 1,082$	1,00	
	1,092			
Ctrl. negativo	0,290	$\bar{N} = 0,297$	0,27	Negativo
	0,303			
Ctrl. positivo	1,413	$\bar{P} = 1,409$	1,30	Positivo
	1,406			

Nota: Para que el test sea válido, valor del cociente  $\bar{N} < 0,95$  y  $\bar{P} > 1,05$

Repita el test si los resultados no son válidos.

Sección B: Resultados de la muestra del paciente

Datos			Valor del cociente	Resultado
Muestra	OD	Prom. OD		
Ctrl. referencia	1,072	$\bar{R} = 1,082$	1,00	
	1,092			
1	1,444	$\bar{S}_1 = 1,458$	1,35	Positivo
	1,472			
2	0,549	$\bar{S}_2 = 0,541$	0,50	Negativo
	0,534			
3	1,036	$\bar{S}_3 = 1,043$	0,96	Indeterminad o
	1,051			

## X. CONTROL DE CALIDAD

Los controles negativos y positivos deben realizarse junto con muestras desconocidas cada vez para que los resultados sean válidos. El control negativo debe mostrar un valor de cociente < 0,95 Unidades/ml y el control positivo debe mostrar un valor > 1,05 Unidades/ml.

## XI. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

La especificidad de las tiras de micropocillo Isletest impregnadas con antígeno se estableció mediante análisis de inmunotransferencia con muestras positivas confirmadas con IgG para antígenos de

células del islote. Las muestras con autoanticuerpos contra tiroides y factores reumatoides dan negativo en Isletest ICA.

## XII. TRASCENDENCIA CLÍNICA

Este procedimiento de test *in vitro* detecta la presencia de autoanticuerpos contra la insulina humana en sueros de paciente. Los resultados que se obtienen al utilizar únicamente este procedimiento no deben usarse para el diagnóstico de la DMID.

Guarde las muestras positivas débiles e indeterminadas (dentro del 5% del Control Referencia OD) y almacénelas a -20°C. Las muestras recientes de estos pacientes deben volver a analizarse cada seis meses junto con las muestras de suero anteriores.

**SÓLO ES UN TEST DE PROTECCIÓN. EL DIAGNÓSTICO DE LA DMID DEBE REALIZARSE A PARTIR DE LOS DATOS DEL HISTORIAL MÉDICO DEL PACIENTE, LOS SÍNTOMAS CLÍNICOS Y LOS RESULTADOS DE OTROS TESTS.**

## XIII. LIMITACIONES Y FUENTES DE ERROR









- Aunque una disolución más alta de produciría una lectura de los datos de DO obtenidos superior, el test se ha diseñado para la determinación cualitativa de ICA sólo.
- Una reproducibilidad insuficiente del test puede deberse a:
  - Una dosificación incorrecta de los reactivos
  - Un almacenamiento incorrecto de los reactivos
  - Una reconstitución incorrecta de los reactivos
  - Un lavado incompleto de los micropocillos
  - Un reactivo de sustrato viejo o expuesto a la luz
  - Un espectrofotómetro inestable o defectuoso
  - Un error en la realización del procedimiento de ensayo

## XIV. BIBLIOGRAFÍA

- Orci, L., J. Vassali, and A. Parrelet (1988). The insulin factory. *Sci. Amer.*, **261**:85-94.
- Eisenbarth, G.S. (1985). Type I diabetes: A chronic autoimmune disease. *New Engl. J. Med.*, **314**:1360-1368.
- Eisenbarth, G.S., J. Connelly, and J.S. Soeldner (1987). The natural history of Type I diabetes. *Diabet./Metab. Rev.*, **3**:873-891.
- Etzioni, A. (1987). Immunological concepts in insulin-dependent (Type I) Diabetes Mellitus *Immunol Res.*, **6**:224-251.
- 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.
- Soeldner, J.S. (1985). The prodermal phase of insulin-dependent diabetes. In: *Current Medical Literature - Diabetes*, **2**:66-70.
- 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.
- Palmer, J.P. (1987). Insulin autoantibodies: Their role in pathogenesis of IDDM. *Diabet./Metab. Rev.*, **3**:1005-1015.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kamalesh, M., A. Karasik, and S. Srikanta (1986). Islet cell antibodies as predictors of insulin-dependent diabetes mellitus. *Pract. Cardiol.*, **12**:79-91.


- Irvine, W.J., C.J. McCallum, R.S. Gray, C.J. Campbell, 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.
- 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.
- Riley, W. and N. MacLaren (1984). Islet cell antibodies are seldom transient. *Lancet*, **1**:1351-1352.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Riley, W.J., N.K. MacLaren, and J.H. Silverstein (1988). The predictability of insulin-dependent diabetes mellitus. *Adv. Pediatr.*, **35**:167-187.
- 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.
- Bottazo, G.F., A. Florin-Christensen, and D. Doniach (1974). Islet cell antibodies in diabetes mellitus with polyendocrine deficiencies. *Lancet*, **II**:1279-1283.
- 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. SÍMBOLOS

	Temperatura del almacenamiento
	Código de la serie
	Vencimiento
	Fabricante
	Representante autorizado
	Cuidado, vea las instrucciones
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
	N. catalogo

## XVI. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

PEDIDOS: Envíe su pedido de compra a:

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

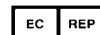
2°C / 8°C



Teléfono: (949) 645-2111  
FAX: (949) 553-1231  
Sitio web: [www.biomerica.com](http://www.biomerica.com)  
Correo electrónico: [bmra@biomerica.com](mailto:bmra@biomerica.com)

67010-07\_spa.doc

febrero 2018



de acuerdo con IVDD 98/79/ EC  
MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
D-30175 Hannover  
Germany