1. WSTĘP

1.1. Zastosowanie

Zestaw DRG Insulin ELISA jest testem immunoenzymatycznym do ilościowego oznaczenia in vitro insuliny w surowicy i osoczu.

1.2. Podsumowanie i Wyjaśnienie

Insulina jest głównym hormonem odpowiedzialnym za kontrolę metabolizmu glukozy. Jest ona syntetyzowana w komórkach β wysp Langerhansa jak jej prekursor proinsulina , która jest przetwarzana w celu wytworzenia C-peptydu i insuliny. Oba są wydzielane w ilościach równomolowych do krążenia wrotnego. Dojrzała cząsteczka insuliny składa się z dwóch łańcuchów polipeptydowych, łańcucha A i B (odpowiednio 21 i 30 aminokwasów). Oba łańcuchy są połączone ze sobą między łańcuchami dwoma mostkami dwusiarczkowymi. Istnieje także mostek dwusiarczkowy wewnątrz łańcucha A.

Wydzielanie insuliny jest kontrolowane głównie przez stężenia glukozy w osoczu, a hormon ten ma szereg istotnych działań metabolicznych. Jego głównym zadaniem jest regulacja absorpcji i wykorzystania glukozy w tkankach obwodowych, za pomocą transportera glukozy. Te i inne działania hipoglikemii, takie jak hamowanie glikogenolizy i glukoneogenezy w wątrobie są neutralizowane przez hiperglikemiczne hormony włączając glukagon, epinefrynę (adrenalinę), hormon wzrostu i kortyzol.

Stężenie insuliny jest poważnie obniżone w insulinozależnej cukrzycy (IDDM) i niektórych innych zaburzeniach, takich jak niedoczynność przysadki. Poziomy insuliny są podniesione w insulino-zależnej cukrzycy (NIDDM), otyłości, insulinomie i niektórych zaburzeniach endokrynologicznych, takich jak zespół Cushinga i akromegalia.

2. ZASADA TESTU

Zestaw DRG Insulin ELISA jest testem immunosorbcyjnym fazy stałej opartej na metodzie „sandwich”

Studzienki opłaszczone są monoklonalnym przeciwciałem skierowanym bezpośrednio na unikalne miejsca antygenowego w cząsteczce insuliny. Porcję próbki pacjenta zawierającą endogenną insulinę inkubowano w opłaszczonych studzienkach z konjugatem enzymu , który jest przeciwciałem

skierowanym przeciwko insulinie sprzężonym z biotyną. Po inkubacji niezwiązany koniugat jest wypłukiwany.
Podczas drugiego etapu inkubacji kompleks enzymu peroksydaza ze streptawidyną wiąże się z przeciwciałem przeciw insulinie sprzężonym z biotyną. Ilość związanego kompleksu HRP jest proporcjonalna do stężenia insuliny w próbce.
Po dodaniu roztworu substratu, natężenie zabarwienia jest proporcjonalne do stężenia insuliny w próbce pacjenta.

3. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Do użytku profesjonalnego.
2. Wszystkie składniki zestawu, które zawierają ludzką surowice bądź osocze zostały przetestowane i potwierdzone jako negatywne pod względem obecności HIV I/II, HBsAg i HCV poprzez metody zatwierdzone przez FDA. Jednakże wszystkie odczynniki powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne w użyciu i utylizacji.
3. Przed rozpoczęciem oznaczeń, należy dokładnie przeczytać protokół. Należy stosować zawartość zestawu dostarczoną w pudełku. Należy upewnić się, że wszystko jest zrozumiałe.
4. Mikropłytka zawiera odrywane paski. Niezużyte paski powinny być przechowywane w temperaturze 2-8 C w aluminiowej folii.
5. Pipetowanie próbek i odczynników powinno być wykonane jak najszybciej i w tej samej sekwencji dla każdego etapu.
6. Używać pojemników tylko do pojedynczych odczynników. Dotyczy to w szczególności pojemników na substrat. Stosując pojemnik do dozowania roztworu substratu, który był wcześniej używany do roztworu koniugatu może dojść do zabarwienia roztworu. Nie wylewać odczynników z powrotem do fiolki, ponieważ może dojść do zanieczyszczenia odczynnika.
7. Zmieszać zawartość studzienek płytki dokładnie aby zapewnić prawidłowe wyniki. Nie używać ponownie studzienek, które wykorzystano do oznaczenia.
8. Nie pozwolić na wyschnięcie studzienek podczas oznaczenia, dodać odczynniki niezwłocznie po etapie płukania.
9. Pozwolić odczynnikom na osiągnięcie temperatury pokojowej (21-26 C) przed rozpoczęciem badania. Temperatura wpływa na odczyt absorbancji. Jednakże nie wpłynie na wartości próbek.

10. Nie pipetować ustami oraz unikać kontaktu odczynników ze skórą oraz błonami śluzowymi.
11. Nie palić, nie jeść, nie pić bądź stosować kosmetyków w miejscu pracy z odczynnikami.
12. Nosić jednorazowe rękawiczki podczas pracy z próbkami oraz odczynnikami. Mikrobiologiczne zanieczyszczenie odczynników bądź próbek może dawać fałszywe wyniki.
13. Z próbkami oraz odczynnikami należy obchodzić się zgodnie z procedurami określonymi przez odpowiednie krajowe wytyczne bezpieczeństwa biologicznego.
14. Nie stosować odczynników po dacie ważności umieszczonej na opakowaniu.
15. Należy przestrzegać wszystkich objętości przedstawionych w protokole. Optymalne wyniki otrzymuje się stosując skalibrowane pipety i czytnik płytek.
16. Nie mieszać odczynników o różnych numerach seryjnych. Zalecane jest również, aby nie mieszać płytek nawet o tym samym numerze seryjnym. Mogą być przechowywane, bądź transportowane w różnych warunkach i zdolności wiążące płytki mogą się nieznacznie różnić.
17. Unikać kontaktu z Roztworem Stopującym zawierającym 0.5 M H2SO4.Może powodować podrażnienia i poparzenia skóry.
18. Niektóre odczynniki zawierają Proclin 300, BND lub/i MIT jako konserwanty. W przypadku kontaktu z oczami, bądź skórą, niezwłocznie spłukać wodą.
19. Substrat TMB ma działanie drażniące na skórę i błony śluzowe. W przypadku kontaktu należy przemyć oczy dużą ilością wody a skórę mydłem i wodą. Przemyć skażone obiekty przed ponownym użyciem. W razie inhalacji, udać się na świeże powietrze.
20. Chemikalia oraz przygotowane lub zużyte odczynniki powinny być traktowane jako zakaźne zgodnie z wytycznymi krajowymi.
21. Informacje dotyczące substancji szkodliwych zawartych w zestawie znajdują się w Kartach Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych. Są one dostępne na życzenie.

4. ODCZYNNIKI

4.1. Odczynniki zawarte w zestawie

1. **Mikropłytka,** 12x8 (odłamywane) paski,96 studzienek;Studzienki opłaszczone przeciwciałem przeciwko insulinie (monoklonalnym)
2. **Standard 0,** 1 fiolka, 3 mL, gotowy do użycia
   0 uIU/mL
   Zawiera konserwanty bez rtęci
3. **Standardy (Standardy 1-5)** 5 fiolek, 1 mL, gotowe do użycia
   Stężenia:6,25-12,5-25--50-100 uIU/mL

   Przekształcenie: µIU/mL x 0.0433 = ng/mL,
   ng/mL x 23.09 = µIU/mL
   Zawiera konserwanty bez rtęci

4. **Konjugat Enzymu**, 1 fiolka, 5 mL, gotowa do użycia
   Mysie monoklonalne przeciwciało przeciw insulinie sprzężone z biotyną;
   Zawierają konserwanty bez rtęci.

5. **Kompleks Enzymu**, 1 fiolka, 7 mL, gotowa do użycia
   Streptawidyna sprzężona z peroksydazą chrzanową;
   Zawierają konserwanty bez rtęci.

6. **Roztwór Substratu, 1 fiolka**, 14 mL, gotowy do użycia,
   Tetrametylbenzydyna (TMB)

7. **Roztwór Stopujący**, 1 fiolka, 14 mL, gotowy do użycia;
   Zawiera 0.5 M H2SO4
   Unikać kontaktu z roztworem stopującym, może powodować podrażnienia i poparzenia skóry.

8. **Roztwór Płuczący,** 1 fiolka, 30 mL (stężony 40x)
   Patrz *„Przygotowanie Odczynników”*

   Uwaga: Dodatkowy *Standard 0* do rozcieńczania próbek są dostępne na życzenie

4.2. Materiały zalecane, nie dostarczone w zestawie

- Czytnik mikropłytek (450 ± 10 nm)
- Skalibrowane nastawne mikropipety
- Papier absorbujący wilgoć
- Destylowana lub dejonizowana woda
- Stoper
- Półlogarytmiczny papier bądź program do obliczania danych

4.3. Warunki Przechowywania

Odczynniki zamknięte przechowywane w temperaturze 2-8 C zachowują stabilność aż do daty ważności. Nie stosować zestawu po upłynięciu daty ważności.

Odczynniki otwarte powinny być przechowywane w temperaturze 2-8 C. Studzienki powinny być przechowywane w temperaturze 2-8 C. Po otwarciu torebki foliowej, należy ją za każdym razem szczelnie zamykać.

Otwarty zestaw zachowuje reaktywność przez 8 tygodni jeżeli jest przechowywany w warunkach opisanych powyżej.

4.4. Przygotowanie Odczynników

Roztwór Płuczący

Dodać dejonizowanej wody do stężonego 40x Roztworu Płuczącego

Rozcieńczyć 30 mL stężonego Roztworu Płuczącego przy pomocy 1170 mL dejonizowanej wody do ostatecznej objętości 1200 mL.

Rozcieńczony Roztwór Płuczący jest stabilny przez 2 tygodnie w temperaturze pokojowej.

4.5. Utylizacja Zestawu

Utylizacja powinna być przeprowadzona zgodnie z krajowymi wytycznymi. Dokładne informacje na ten temat można znaleźć w Kartach Charakterystyki

4.6. Uszkodzone Zestawy

W przypadku poważnego uszkodzenia zestawu bądź jego składników, DRG powinno zostać poinformowanie pisemnie, najpóźniej do tygodnia po otrzymaniu zestawu. Uszkodzone odczynniki nie powinny być używane w oznaczeniach. Powinny zostać przechowywane aż do rozwiązania problemu. Następnie powinny być zutylizowane wg wytycznych.

5. ZBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

W oznaczeniu mogą być używane surowica i osocze (tylko heparynowe lub cytrynianowe).
Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych oraz lipemicznych próbek.
Uwaga: Nie stosować próbek zawierających azydek sodu.

5.1. Pobieranie próbek

Surowica:

Zbierać próbki poprzez nakłucie żyły łokciowej, pozwolić na wykrzepienie i oddzielić surowicę przez wirowanie w temperaturze pokojowej. Nie wirować przed wykrzepieniem.

Osocze:

Krew powinna być pobrana do probówek zawierających antykoagulant i niezwłocznie odwirowane po pobraniu.

5.2. Przygotowanie i Przechowywanie Próbek

Próbki powinny być zamknięte i przechowywane do 5 dni temperaturze 2-8 C przed oznaczeniem.
Próbki przetrzymywane przez dłuższy czas powinny być zamrożone tylko raz w temperaturze -20 C przed oznaczeniem. Rozmrożone próbki powinny być zmieszane poprzez kilkukrotne odwrócenie przed oznaczeniem.

5.3. Rozcieńczenie Próbek

Jeżeli we wstępnych oznaczeniach próbki wydają się mieć stężenie wyższe niż najwyższy standard, powinny być rozcieńczone przy pomocy Standardu 0 i oznaczane ponownie jak opisano w Procedurze Oznaczenia.

W obliczaniu stężenia należy wziąć pod uwagę współczynnik rozcieńczenia.

Przykład:

a) Rozcieńczenie 1:10 10 uL Surowicy + 90 uL Standardu 0 (dobrze wymieszać)
b) Rozcieńczenie 1:100 10 uL rozcieńczenia 1:10 + 90 uL Standardu 0 (dobrze wymieszać)

6. PROCEDURA OZNACZENIA

6.1. Uwagi ogólne

- Wszystkie odczynniki i próbki należy pozostawić do osiągnięcia temperatury pokojowej przed użyciem. Wszystkie odczynniki muszą być wymieszane bez spieniania.
- Od momentu rozpoczęcia testu, wszystkie czynności powinny być zakończone bez przerywania.

- Używać nowych jednorazowych plastikowych końcówek do pipet dla każdego standardu, kontroli lub próbki, w celu uniknięcia skażenia krzyżowego
- Absorbancja jest funkcją czasu inkubacji i temperatury. Przed rozpoczęciem testu, zaleca się, by wszystkie odczynniki były gotowe, korki usunięte, wszystkie potrzebne studzienki zabezpieczone w uchwycie, itp. Zapewni to równe przedziały czasowe dla każdego etapu, bez przerywania.
- Główną zasadą reakcji enzymatycznej jest liniowa proporcjonalność do czasu i temperatury

6.2. Procedura Testu

Każda seria musi zawierać krzywą standardową.

1. Zabezpieczyć żądaną liczbę dołków w uchwycie.
2. Dodać 25 uL każdego standardu, kontroli i próbki używając nowych końcówek jednorazowych do odpowiednich studzienek.
3. Dodać 25 uL Konjugatu Enzymu do każdej studzienki.. Dokładnie wymieszać przez 10 sekund. Ważne jest, aby dokończyć krok mieszania..
4. Inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej.
5. Energicznie wytrząsnąć zawartość studzienek. Przepłukać studzienki 3 razy rozcieńczonym Roztworem Płuczącym (400 uL na studzienkę). Mocno uderzyć studzienkami o papier absorbujący w celu usunięcia pozostałych kropelek

   Ważna uwaga: Na Czułość i dokładność tego testu znacznie wpływa prawidłowe wykonanie procedury przemywania!

6. Dodać 50 uL Kompleksu Enzymu do każdej studzienki.
7. Inkubować przez 30 min w temperaturze pokojowej.
8. Energicznie wytrząsnąć zawartość dołków. Przepłukać studzienki 3 razy rozcieńczonym roztworem płuczącym (400 uL na studzienkę). Mocno uderzyć studzienkami o papier absorbujący w celu usunięcia pozostałych kropelek
9. Dodać 50 ul Roztworu Substratu do każdej studzienki.
10. Inkubować przez 15 min w temperaturze pokojowej.

11. Zatrzymać reakcję enzymatyczną przez dodanie 50 uL Roztworu Stopującego do każdej studzienki.
12. Odczytać absorbancję (OD) każdej studzienki przy długości fali 450 ± 10 nm, za pomocą czytnika płytek w ciągu 10 minut od dodania Roztworu Stopującego.

6.3. Obliczanie Wyników

1. Obliczyć średnie wartości absorbancji dla każdego standardu, kontroli i próbek pacjentów
2. Skonstruować krzywą standardową przez wykreślenie średniej absorbancji otrzymanej z każdego w stosunku do jego stężenia z wartościami absorbancji na osi pionowej (Y) i stężenia na osi poziomej (osi X).
3. Używając wartości średniej absorbancji dla każdej próbki odczytać odpowiadające im stężenia z krzywej standardowej.
4. Metoda automatyczna: Wyniki w protokole zostały obliczone automatycznie przy użyciu 4PL (4 Parametrowa Logistyczna). Jest to preferowana metoda. Inne mogą dawać nieznacznie inne wyniki.
5. Stężenie próbek może być odczytane bezpośrednio z krzywej standardowej. Próbki ze stężeniem wyższym niż stężenie najwyższego standardu muszą być rozcieńczone bądź opisane jako >100 uIU/mL. Przy obliczaniu stężenia należy wziąć pod uwagę współczynnik rozcieńczenia.

6.3.1. Przykład Typowej Krzywej Standardowej

Poniższe dane służą jedynie ilustracji i nie mogą być wykorzystywane przy obliczeniach!

Standard	O.D. (450 nm)
Standard 0 (0 µIU/ml)	0.03
Standard 1 (6.25 µIU/ml)	0.07
Standard 2 (12.5 µIU/ml)	0.14
Standard 3 (25 µIU/ml)	0.35
Standard 4 (50 µIU/ml)	0.88
Standard 5 (100 µIU/ml)	2.05

7. WARTOŚCI OCZEKIWANE

Zalecane jest aby każde laboratorium określiło własne zakresy.

W badaniu przeprowadzonym u pozornie zdrowych osób dorosłych, za pomocą insuliny DRG ELISA zaobserwowano następujące wartości:

2 µIU/mL to 25 µIU/mL

Same wyniki nie powinny być jedyną podstawą do diagnozy.. Wyniki powinny być skorelowane z innymi obserwacjami klinicznymi i badaniami diagnostycznymi.

8. KONTROLA JAKOŚCI

Dobra praktyka laboratoryjna wymaga, żeby kontrole były wykonywane każdorazowo z krzywą kalibracyjną .Powinna być oznaczana statystycznie istotna liczba w celu ustalenia wartości średnich i dopuszczalne zakresy, aby zapewnić prawidłowe działanie zestawu.
Zaleca się używać próbek kontrolnych zgodnie z przepisami krajowymi i federalnymi. Stosowanie próbek kontrolnych jest zalecane w celu zapewnienia walidacji wyników dzień po dniu. Używać kontroli na poziomie zarówno normalnym, jak i patologicznym.
Kontrole i odpowiednie wyniki QC są zamieszczone w certyfikacie QC dodanym

do zestawu. Wartości i zakresy kontroli podane w arkuszu QC zawsze odnoszą się do bieżącej serii zestawu i powinny być wykorzystywane do bezpośredniego porównania wyników.

Zaleca się również, aby korzystać z krajowych lub międzynarodowych programów oceny jakości w celu zapewnienia dokładności wyników. Należy użyć odpowiednich metody statystycznych do analizy wartości kontrolnych . Jeżeli wyniki testu nie pasują do ustalonych dopuszczalnych zakresów materiałów kontrolnych wyniki pacjentów powinny być traktowane jako nieważne.

W tym przypadku, należy sprawdzić następujące obszary techniczne: pipetowanie i urządzenia do pomiaru czasu, fotometr, daty ważności odczynników, warunki przechowywania i inkubacji, aspiracja i metody mycia. Po sprawdzeniu wyżej wymienionych elementów bez znalezienia przyczyny należy skontaktować się z DRG.

9. CHARAKTERYSTYKA TESTU

9.1. Zakres Dynamiczny Testu

Zakres testu wynosi pomiędzy 1,76-100 uIU/mL

9.2. Swoistość Przeciwciał (Reaktywność Krzyżówa)

Reaktywności krzyżowe były oznaczane przez dodanie różnych analitów surowicy zawierających od 4 ng / ml (≅ 100 µIU / ml) insuliny i pomiaru pozornego stężenia insuliny.

Analit dodany do surowicy o wysokiich wartościach (4ng/mL)		Obserwowana wartość insuliny (ng/mL)	Reakcja Krzyżowa (%)
Świńska Insulina	8 ng/mL	17	> 100
Bydlęca Insulina	8 ng/mL	17,8	> 100
Psia Insulina	16 mg/mL	17,2	82
Królicza Insulina	16 mg/mL	14,1	63
Szczurza Insulina	16 mg/mL	4,0	0
Ludzka Proinsulina	32 mg/mL	4,1	0
Świńska Proinsulina	16 mg/mL	4,0	0
Bydlęca Proinsulina	16 mg/mL	4,1	0

9.3. Czułość

Czułość analityczna zestawu została obliczona poprzez dodanie 2 odchyleń standardowych do średniej 20 powtórzeń oznaczeń Standardu Zero i wynosiła 1,76 uIU/mL.

9.4. Powtarzalność

9.4.1. Wewnątrzseryjna

Zmienność w serii została pokazana poniżej.

Próbka	n	Średnia (µIU/mL)	CV (%)
1	20	17.5	2.6
2	20	66.4	1.8

9.4.2. Międzyseryjna

Zmienność między seriami została przedstawiona poniżej.

Próbka	n	Średnia (µIU/mL)	CV (%)
1	12	17.4	2.9
2	12	66.9	6.0

9.5. Odzysk

Próbki zostały wzbogaconej dodając roztwory insuliny o znanych stężeniach w stosunku 1:1.
Wartości oczekiwane obliczono przez dodanie połowy wartości ustalonych dla rozcieńczonej próbki i połowę o znanych wartościach. % Odzysku został obliczona poprzez pomnożenie stosunku pomiarów i wartości oczekiwanych przez 100.

Próbka	Dodane stężenie 1:1 (v/v) (µIU/mL)	Zmierzone stężenie (µIU/mL)	Oczekiwane stężenie (µIU/mL)	Odzysk (%)
1		21.2		
	100	66.4	60.6	109.6
	50	38.8	35.6	108.9
	25	23.4	23.1	101.1
	12.5	17.37	16.9	102.9
2		69.0		
	100	84.6	84.5	100.1
	50	58.4	59.5	98.1
	25	43.2	47.0	91.8
	12.5	37.5	40.8	91.9

9.6. Liniowość

Próbka	Rozcieńczenie	Mierzone stężenie (µIU/mL)	Oczekiwane Stężenie (µIU/mL)	Odzysk (%)
1	None	21.2	21.2	
	1:2	9.4	10.6	88.5
	1:4	5.2	5.3	98.5
	1:8	2.8	2.7	105.9
	1:16	1.5	1.3	110.3
2	None	69.0	69.0	
	1:2	30.5	34.5	88.4
	1:4	17.6	17.3	102.0
	1:8	8.7	8.6	101.2
	1:16	4.8	4.3	110.4

10. OGRANICZENIA

Wiarygodne i powtarzalne wyniki otrzyma się, gdy test jest przeprowadzany zgodzie z procedurą i wg dobrej praktyki laboratoryjnej. Wszelkie niewłaściwe obchodzenie się z próbkami lub modyfikacje testu mogą mieć wpływ na wyniki.

10.1. Substancje Interferujące

Hemoglobina (do 4mg/mL), bilirubina (do 0,5 mg/mL) i triglicerydy (do 30 mg/mL) nie mają wpływu na wyniki testu.

10.2. Interferencje ze strony Narkotyków

Do dziś żadne znane substancje (narkotyki) nie miały wpływu na pomiar insuliny w próbce.

10.3. Efekt Haka

Nie zaobserwowano Efektu Haka do stężenia insuliny 1600 uIU/mL.

11. ASPEKTY PRAWNE

11.1. Wiarygodność Wyników

Test należy przeprowadzić zgodnie z instrukcjami producenta. Ponadto użytkownik powinien ściśle stosować się do zasad dobrej praktyki laboratoryjnej (Good Laboratory Practice) lub innych obowiązujących norm i/lub przepisów krajowych. Jest to szczególnie ważne przy stosowaniu odczynników kontrolnych. Ważne jest, aby zawsze używać w procedurze badania odpowiednią ilość kontroli dla walidacji dokładności i precyzji testu.

11.2. Skutki Terapeutyczne

Działania terapeutyczne nie powinny opierać się wyłącznie na wynikach badań laboratoryjnych, nawet jeśli wszystkie wyniki badań są zgodne z punktem 11.1. Jakikolwiek wynik laboratorium jest tylko częścią ogólnego obrazu klinicznego pacjenta.
Tylko w przypadku, gdy wyniki badań laboratoryjnych są do zaakceptowania powinny być one powiązane z obrazem klinicznym.
Sam wynik badania nie powinny być jedynym wyznacznikiem do prowadzenia żadnych terapeutycznych działań.

11.3. Odpowiedzialność

Wszelkie modyfikacje w zestawie i/lub wymiany, bądź mieszanie dowolnych odczynników z odczynnikami innej serii może mieć negatywny wpływ na wyniki i ważność całego testu. Taka modyfikacja i/lub zamiana unieważnia wniosek o wymianę.
Roszczenia zgłoszone z powodu błędnej interpretacji wyników laboratoryjnych klienta są nieważne. Niezależnie od tego, w przypadku jakichkolwiek roszczeń, odpowiedzialność producenta nie przekracza wartości zestawu testowego. Szkody wyrządzone w zestawie testowym podczas transportu nie podlegają odpowiedzialności producenta.

12. LITERATURA

1. Flier, J. S., Kahn. C. R. and Roth, J. (1979). Receptors, antireceptor antibodies and mechanisms of insulin resistance; N. Engl. J. Med., 300, 8, 413-419.
2. Frier, B. M., Ashby, J. P., Nairn, I. M. and Bairs, J.D. (1981). Plasma insulin, C-peptide and glucagon concentrationsin patients with insulin-independent diabetes treated with chlorpropamide.Diab. metab., 7,1, 45-49.
3. Judzewitsch, R. G., Pfeifer, M. A., Best, J. D., Beard J. C., Halter, J. B. and Porte D. Jr. (1982). ChronicChlorpropamide therapy of noninsulin-dependent diabetes augments basal and stimulated insulin secretion byincreasing islet sensitivity to glucose.J. Clin. End. and Metab. 55, 2, 321-328.
4. Kosaka, K., Hagura, R. and Kuzuya, T. (1977). Insulin responses in equivocal and definite diabetes, with specialreference to subjects who had mild glucose intolerance but later developed definite diabetes.Diabetes 26, 10, 944-952.
5. Starr, J. II, Mako, M. E., Juhn, D. and Rubenstein, A. H. (1978). Measurement of serum proinsulin-like material:cross-reactivity of porcine and human proinsulin in the insulin radioimmunoassay,J. Lab. Clin. Med. 91,4, 691-692.