

RID CIC Profiling kit (5 x 32)

Cat. No. RIDCIP



TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.
Křížíkova 68, 612 00 Brno, CZ

Tel.: +420 541 248 311

FAX: +420 541 243 390

E-mail: info@testlinecd.com

www.testlinecd.cz

www.testlinecd.com



INHALT

1	Einleitung.....	3
2	Testprinzip	3
3	Bestandteile des Kits	4
4	Erforderliche, nicht im Kit enthaltene Geräte und Materialien	5
5	Lagerung und Haltbarkeit des Kits	5
6	Testdurchführung.....	6
7	Testvalidität	8
8	Auswertung der Ergebnisse	9
9	Arbeitssicherheit	10
10	Technische Anmerkungen	10
11	Verwendete Literatur	13
12	Symbolerklärung.....	14

Radialer Immundiffusionstest zur quantitativen Bestimmung zirkulierender Immunkomplexe im menschlichen Serum

1 Einleitung

Die Bildung von Immunkomplexen gehört zu einer normalen Immunantwort. Das Persistieren erhöhter Spiegel zirkulierender Immunkomplexe (CIC) ist jedoch charakteristisch für viele pathologische Zustände, insbesondere der Serumkrankheit [1], SLE [2], der rheumatoiden Arthritis [3]. Wahrscheinlich ist die Rolle der Immunkomplexe in der Pathogenese einiger Formen der Glomerulonephritis im Zusammenhang mit einer Autoimmunkrankheit oder als Folge einiger viraler, bakterieller und parasitärer Infektionen [4]. Sofern sich die Immunkomplexe in den Blutgefäßwänden absetzen, kann es zur schrittweisen Entwicklung einer Entzündung kommen, insbesondere in den Nieren, im Herzen und in der Haut. In zahlreichen Studien wurde die Korrelation zwischen den klinischen Symptomen und dem Spiegel der Immunkomplexe nachgewiesen [5, 6, 7]. Die Bestimmung der Immunkomplexe ist daher ein wichtiges Hilfsmittel für die Diagnostik und die Therapie. Zur Bestimmung der Immunkomplexe wurden zahlreiche Methoden beschrieben [8].

Die radiale Immundiffusion (RID) ist eine einfache und zuverlässige In-vitro-Methode zur Bestimmung der CIC im menschlichen Serum. Sie umfasst zwei Stufen: Die Fällung (Präzipitation) mit Polyethylenglycol (PEG) und die anschließende Charakterisierung und Quantifizierung der Immunkomplexe im Präzipitat durch die einfache radiale Immundiffusion (SRID).

Die RID-CIC-Kits der Firma TestLine wurden für die Verwendung in klinischen Routinelabors entwickelt. Sie sind weder zeitaufwendig noch stellen sie Ansprüche an eine spezielle Laborausrüstung.

2 Testprinzip

Der Test basiert auf der Erkenntnis, dass die CIC bei Vorhandensein von PEG präzipitieren [9, 10]. Es kopräzipitiert lediglich ein geringfügiger Teil freier Komponenten des Serums, gewöhnlich etwa 0,5 bis 1 % [11]. Nach dem Waschen werden die Immunkomplexe gelöst und mittels der radialen Immundiffusion auf den Gehalt an IgA, IgG, IgM sowie auf die Komponenten des Komplements C1q und C3c analysiert [12, 13]. Für diese Analyse wurden RID-Platte mit einem geringen Konzentrationsniveau entwickelt, sodass eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Quadrat des Durchschnitts der Präzipitationskreise und der Konzentration der festgelegten Komponenten in den Immunkomplexen erreicht wird. Es wird eine Färbung in geringer Konzentration verwendet, die keinerlei Entfärben erfordert.

3 Bestandteile des Kits

PLATE IgA	RID Platte IgA	2 Stck.
Platte mit einer Schicht Agarose, die ein tierisches Antiserum gegen menschliches IgA enthält, 1 × 16 Rinnen		
PLATE IgG	RID Platte IgG	2 Stck.
Platte mit einer Schicht Agarose, die ein tierisches Antiserum gegen menschliches IgG enthält, 1 × 16 Rinnen		
PLATE IgM	RID Platte IgM	2 Stck.
Platte mit einer Schicht Agarose, die ein tierisches Antiserum gegen menschliches IgM enthält, 1 × 16 Rinnen		
PLATE C3c	RID Platte C3c	2 Stck.
Platte mit einer Schicht Agarose, die ein tierisches Antiserum gegen menschliches C3c enthält, 1 × 16 Rinnen		
PLATE C1q	RID Platte C1q	2 Stck.
Platte mit einer Schicht Agarose, die ein tierisches Antiserum gegen menschliches C1q enthält, 1 × 16 Rinnen		
CONTROL +	NHS-Kontrollserum	1 × 0,5 ml
Menschliches Serum mit einem Gehalt an IgA, IgG, IgM, C3c und C1q, stabilisiert durch Rinder-Aprotinin		
PRECIPITANT	PEG-Fällungslösung	1 × 7,5 ml
12 % Lösung PEG in NaCl Barbiturat-Puffer, gebrauchsfertig		
WASH	Waschlösung	1 × 75 ml
2 % Lösung PEG in NaCl Barbiturat-Puffer, gebrauchsfertig		
DILUENT	Verdünnungslösung	1 × 42 ml
NaCl Barbiturat-Puffer (pH 7), gebrauchsfertig		
COLOUR	Färbungslösung	1 × 70 ml
Lösung Coomassie® Blue (1.6 g/l), gebrauchsfertig		
	RID Ableselineal	1 Stck.
	Konversionstabelle	2 Stck.
	Arbeitsanweisung	1 Stck.

4 Erforderliche, nicht im Kit enthaltene Geräte und Materialien

Einkanalpipetten

Einmalspitzen

Reagenzglas für 4 ml

Vortex Schüttler

Gekühlte Zentrifuge (1500G)

Temperiertes Wasserbad (37°C)

5 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Das Kit muss bei einer Temperatur von +2°C bis +8°C gelagert werden. Immundiffusionsplatte sind während der Lagerung in einer Kunststoffverpackung in horizontaler Lage mit dem Boden nach oben zu lagern. Bei Einhaltung der Lagerungsbedingungen gilt das auf der Verpackung des Kits angegebene Haltbarkeitsdatum. Das Kit darf nicht einfrieren! Der angebrochene Kit sollte innerhalb von drei Monaten verbraucht werden.

Proben und ihre Lagerung

Die Methode kann nur mit dem Serum angewendet werden. Plasma darf nicht verwendet werden. Entnehmen Sie 5 bis 10 ml venöses Blut in ein steriles Reagenzglas und lassen Sie es mehrere Stunden koagulieren.

Vor der Separation des Serums muss die Koagulation beendet sein. Lagern Sie die Seren bei +2°C bis +8°C maximal 7 Tage. Ist dies nicht möglich, sind die Seren rasch einzufrieren und bei Temperaturen unter -70°C aufzubewahren. Die CIC-Spiegel können nach dem Gefrieren etwas sinken. Vermeiden Sie wiederholtes Gefrieren und Auftauen.

Bei einigen pathologischen Seren kann es bei der Aufbewahrung im Kühlschrank zur Ausfällung (Gerinnung) der Kryoglobuline kommen [14]. Ob es sich auch um CIC handelt, kann nur auf der Grundlage einer weiteren komplexen immunologischen Untersuchung entschieden werden. Bakteriell kontaminierte, hämolytische, chylöse Proben sowie Proben mit einem Gehalt des rheumatoiden Faktors können Einfluss auf das Testergebnis haben.

6 Testdurchführung

6.1 Vorbereitung und Verdünnung des NHS-Kontrollserums

Mischen Sie die Verdünnungslösung schonend vor der Verwendung.

Das gründlich gemischte NHS-Kontrollserum verdünnen Sie mit der Verdünnungslösung:

- Für die Platte C1q verdünnen Sie im Verhältnis 1:4
z. B.: 10 µl NHS-Kontrollserum und 30 µl Verdünnungslösung
- Für die Platte IgM verdünnen Sie im Verhältnis 1:25
z. B.: 10 µl NHS-Kontrollserum und 240 µl Verdünnungslösung
- Für die Platte IgA, IgG, C3c verdünnen Sie im Verhältnis 1:50
z. B.: 10 µl NHS-Kontrollserum und 490 µl Verdünnungslösung

6.2 Präzipitation der Immunkomplexe

1. Pipettieren Sie 500 µl gründlich gemischter Seren in die Reagenzgläser.
2. Geben Sie in jedes Reagenzglas 100 µl Fällungslösung und mischen Sie gut.
3. Inkubieren Sie bei +2°C bis +4°C für die Dauer von 1 bis 3 Stunden.
4. Zentrifugieren Sie bei 1500G bei einer Temperatur von +2°C bis +4°C für die Dauer von 20 Minuten.
5. Dekantieren Sie den Überstand, drehen Sie das Reagenzglas um und gießen den Rest an den Wänden des Reagenzglases auf ein Filterpapier.
6. Geben Sie 2 ml gekühlte Waschlösung (+2°C bis 4°C) hinzu und resuspendieren Sie durch Schütteln auf einem Vortex-Schüttler.
7. Zentrifugieren Sie bei 1500G bei einer Temperatur von +2°C bis +4°C für die Dauer von 20 Minuten.
8. Entfernen Sie den Überstand und lassen Sie die Reste an den Wänden des Reagenzglases auf Filterpapier gut abtropfen.
9. Resuspendieren Sie das Präzipitat unter Verwendung des Vortex-Schüttlers in 500 µl Verdünnungslösung.
10. Geben Sie die Reagenzgläser für 30 Minuten ins Wasserbad (37°C). Gründlich mischen!

Nun sind die Proben für die eigentliche Analyse durch radiale Immundiffusion bereit. Sollte die Durchführung der RID nicht gleich möglich sein, können die so vorbereiteten Proben bei +2°C bis +8°C für die Dauer von 1 bis 2 Tagen aufbewahrt werden (vor dem Pipettieren der Proben auf das RID-Platte sind die Proben im Wasserbad zu temperieren – siehe Punkt 10, 6.2 Präzipitation der Immunkomplexe).

Hinweis

Präzipitation, Zentrifugieren und Waschen der Proben sollten bei +2°C bis + 4°C durchgeführt werden. Sofern dieser Temperaturbereich nicht eingehalten wird, können die getesteten Proben inkorrekte Ergebnisse ausweisen.

6.3 Radialer Immundiffusionstest

1. Nehmen Sie die Platten aus den Kunststoffbeuteln. Nehmen Sie die Kappen ab und lassen Sie die Platte etwa 15 Minuten bei Labortemperatur geöffnet, damit aus den Rinnen eventuelles Kondensationswasser verdampft.
2. Nehmen Sie die Reagenzgläser mit den Proben aus dem Wasserbad und schütteln Sie sie mit dem Vortex-Schütteler kurz durch.
3. Pipettieren Sie 20 µl NHS-Kontrollserum in einer dem Plattentyp entsprechenden Verdünnung (siehe 6.1 Vorbereitung und Verdünnung des NHS-Kontrollserums) in die Rinne 1.
4. Pipettieren Sie 20 µl der Proben in die Rinnen 2 bis 16.
5. Setzen Sie die Kappe fest auf und lassen Sie die Platte bei Labortemperatur auf einer absolut horizontalen Oberfläche für die Dauer von 48 Stunden inkubieren.
6. Auch wenn die Präzipitationskreise früher sichtbar werden, ist die Inkubationsdauer einzuhalten.

6.4 Färben der Platte und Ablesen der Ergebnisse

Die RID-Kits sind so konzipiert, dass die Möglichkeit besteht, den Durchmesser des Präzipitationsrings gegen einen dunklen und beleuchteten Hintergrund in 48 Stunden auch ohne Färben abzulesen. Dieser Umstand ermöglicht eine Vereinfachung der Laborarbeit. Das Kit kann schrittweise verarbeitet und für die Untersuchung alle 16 Rinnen verwendet werden. Nach dem Färben der Platte sind die Rinnen ohne Probe dauerhaft entwertet.

- Die **Platten IgA, IgG, C3c** liefern sehr gut sichtbare (Präzipitations-)Ringe ohne Färben. Das Färben dieser Platte wird nicht empfohlen.
- Die **Platte C1q** liefert schlechter sichtbare Ringe. Das Färben wird nicht empfohlen, da sich die Sichtbarkeit nach dem Färben noch verschlechtern kann.
- Die **Platte IgM** liefert schlechter sichtbare Ringe. Die Abgrenzung des Präzipitationskreises ist nach dem Färben besser sichtbar. Das Ergebnis kann sowohl vor, als auch nach dem Färben abgelesen werden.

Sofern die Platte nicht gefärbt wird, verfahren Sie gemäß 6.4.2 Ablesen der Ergebnisse.

6.4.1 Färben der Platte

1. Geben Sie auf jede Platte 4 ml Färbelösung und lassen sie das Ganze 10 Minuten stehen. Gießen Sie die Lösung ab und spülen Sie die Platten zum Entfernen der überschüssigen Färbelösung kurz mit Leitungswasser ab.

2. Lassen Sie die Platte weitere 30 Minuten stehen. Hierdurch verbessert sich die Schärfe der Präzipitationsringe.

6.4.2 Ablesen der Ergebnisse

Lesen Sie die Durchmesser der größten Ringe mit markantem Rand mithilfe des unter die Platte geschobenen Lineals ab. Beobachten Sie gegen einen weißen Hintergrund. Ringe mit einem Durchmesser von 5 bis 9,5 mm werden als valide erachtet.

Bei einigen Proben kann sich rund um die Rinne ein weiterer kleiner, intensiv gefärbter Ring bilden, dessen Durchmesser gewöhnlich 5 mm nicht überschreitet.

Hinweis

Die Sichtbarkeit des Präzipitationsrings verbessert sich, wenn die Platte ohne Abdeckung vor dem Ablesen der Ergebnisse für die Dauer von 2 bis 4 Stunden bei Labortemperatur belassen wird. Dies ist insbesondere bei C1q- und IgM-Platte wichtig, bei denen Sichtbarkeit der Präzipitationsringe schlechter als bei IgA-, IgG- und C3c-Platten ist.

7 Testvalidität

Der Test ist gültig, wenn:

der Durchmesser des Präzipitationsrings des NHS-Kontrollserums für die einzelnen Platte im erlaubten Bereich liegt, wie in der Tabelle (Tabelle 1) beschrieben.

Tabelle 1 Erlaubter Bereich des Durchmessers des Präzipitationsrings des NHS-Kontrollserums

Plattentyp	Erlaubter Bereich (mm)
IgG	5,50 bis 9,50
IgM	5,50 bis 9,50
IgA	5,50 bis 9,50
C3c	5,50 bis 9,50
C1q	5,50 bis 9,50

Sofern der Durchmesser des Präzipitationsrings des NHS-Kontrollserums im angegebenen Bereich liegt, zeugt dies von der korrekten Funktion der Platte, sodass für die Berechnung der Konzentration der einzelnen Eiweißkomponenten der Immunkomplexe die Konversionstabelle verwendet werden kann.

8 Auswertung der Ergebnisse

Auswertung der Ergebnisse

- Konvertieren Sie die abgelesenen Durchmesser in die Konzentration der jeweiligen Komponenten unter Verwendung der Konversionstabelle.
- Ringdurchmesser über 9,5 mm sind von der Bewertung auszuschließen, da sie den Kalibrierungsbereich überschreiten. Die Untersuchung muss mit einer stärker verdünnten Probe wiederholt werden.

Berechnung des Spiegels der einzelnen CIC-Komponenten

Der Spiegel der einzelnen Komponenten der Immunkomplexe kann als Prozentsatz der Gesamtkonzentration der jeweiligen Komponente im Serum nach folgendem Verhältnis ausgedrückt werden:

$$\text{Konzentration der Immunokomplexkomponente} = \frac{\text{Konzentration im CIC } (\mu\text{g/ml})}{\text{Konzentration im Serum } (\text{g/l}) \times 1000} \times 100 [\%]$$

Die Tabelle der CIC-Werte (Tabelle 2) wurde auf der Grundlage einer Studie mit 500 zufällig ausgewählten, gesunden englischen Blutspendern erstellt (**die gesamte Studie steht unter www.testlinecd.com/RID zur Verfügung**). Sie zeigt Unterschiede, die dem Alter und dem Geschlecht zuzurechnen sind. Die angeführten Grenzen repräsentieren das 95%-Konfidenzintervall. Diese Tabelle ist jedoch nur als Leitfaden zu betrachten. Jedes Labor sollte sich eine eigene Tabelle der Referenzwerte erstellen, welche die Besonderheiten der lokalen Population widerspiegelt.

Tabelle 2 Werte CIC in der Gruppe gesunder Blutspender im Alter von 15 bis 64 Jahren

CIC Komponente	Konzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Gesamtkonzentration im Serum [%]
IgG	14 bis 147	0,13 bis 1,11
IgA	3 bis 25	0,13 bis 1,49
IgM	10 bis 93	0,58 bis 3,98
C3c	5 bis 35	0,36 bis 2,68
C1q	18 bis 105	12 bis 84

Interpretation der Ergebnisse

- Seren von Patienten mit CIC-Immunglobulin-Spiegeln über dem oberen Grenzwert der lokalen Normalwerte können als abnormal erachtet werden.

Seren mit erhöhten Spiegeln nur einzelner Komplement-Komponenten des CIC sind nicht positiv..

- Erhöhte CIC-Spiegel sind mit Vorsicht zu interpretieren. Immunkomplexe müssen nicht notwendigerweise ein relevanter pathogener Faktor jener Krankheit sein, wegen derer die Untersuchung durchgeführt wurde. Dennoch gilt: Sind CIC vorhanden, speziell bei Patienten mit Anzeichen von Komplement-Depletion, ist ihrer möglichen Rolle in entzündlichen Prozessen Aufmerksamkeit zu widmen.

9 Arbeitssicherheit

Der Test ist nur für Diagnosezwecke in vitro vorgesehen.

Die bei der Fertigung der Kontrollen verwendeten Seren wurden mit negativem Ergebnis auf HIV 1 und HIV 2, HBsAg, HCV, TPHA untersucht. Dennoch ist es erforderlich, mit den Seren so umzugehen, als seien sie potentiell Infektionsmaterial.

Alle Komponenten enthalten das giftige Natriumazid. Vermeiden Sie Hautkontakt.

In gut verschlossener Originalverpackung aufbewahren. Es ist notwendig, die örtlichen Arbeitsschutzbestimmungen einzuhalten.

Erste-Hilfe-Maßnahmen

Spülen Sie bei Augenkontakt Ihre Augen gründlich mit lauwarmem Wasser und suchen Sie einen Arzt auf. Entledigen Sie sich bei Kleidungs- und Hautkontakt sämtlicher kontaminierter Kleidung. Spülen Sie die Haut gründlich mit Wasser und Seife ab. Desinfizieren Sie die Haut, sofern Spritzer einer Lösung, die Plasma oder eine klinische Probe enthält, auf diese gelangen. Spülen Sie bei zufälligem Verzehr Ihren Mund mit Trinkwasser aus und nehmen Sie ärztliche Hilfe in Anspruch.

Resteentsorgung

Sämtliche zur Testdurchführung verwendeten Hilfsmittel sind hinsichtlich des Kontakts mit biologischem Material als potentiell infektiös zu betrachten. Deshalb sind sie als biologischer Abfall zu entsorgen.

Entsorgung des Kits nach Ablauf der Haltbarkeitsdauer

Zerlegen Sie das Kit in seine einzelnen Komponenten und entsorgen Sie diese als biologisches Material. Entsorgen Sie die Verpackungen und Verpackungsreste gemäß den örtlichen Vorschriften als sortierten Abfall.

10 Technische Anmerkungen

Um zuverlässige Ergebnisse zu erzielen, ist die **genaue Einhaltung der Anleitung** notwendig. Verwenden Sie bei der Arbeit stets Hilfsmittel höchsten Sauberkeitsgrades. Bevorzugen Sie Hilfsmittel für den einmaligen Gebrauch.

1. Die Platten sind nur für die Detektion und die Quantifizierung der Immunkomplexe bestimmt und dürfen nicht für andere Zwecke verwendet werden.
2. Die Antiseren in den Immundiffusionsplatten stammen vom Schaf, von der Ziege und vom Kaninchen.
3. Nicht nachvollziehbaren Ergebnissen können durch methodische Fehler verursacht sein. Beachten Sie deshalb folgende Richtlinien:

- die genaue Pipettierung der Proben und des NHS-Kontrollserums in die Rinnen.
- Präzipitation, Zentrifugieren und Waschen der Proben sollten bei +2°C bis + 4°C durchgeführt werden. Sofern dieser Temperaturbereich nicht eingehalten wird, können die getesteten Proben inkorrekte Ergebnisse liefern. Temperaturen über +4°C erhöhen das Risiko, dass ein Teil der CIC nicht präzipitiert (nicht gefällt wird). Die getesteten Proben können somit geringere Werte als die tatsächlichen CIC-Spiegel ausweisen.
- Halten Sie die Bedingungen der Zentrifugation (mehr als 1500G) für die perfekte Separation des Präzipitats ein. Die Verwendung einer geringeren Drehzahl (geringere Zentrifugalkraft) beim Zentrifugieren hat zur Folge, dass ein Teil der CIC des Präzipitats im Überstand verbleibt. Die getesteten Proben können somit geringere Werte als die tatsächlichen CIC-Spiegel ausweisen.

Da in Labors verschiedene Typen von Zentrifugen mit unterschiedlichen Durchmessern der Rotoren verwendet werden, überprüfen Sie, ob die Zentrifuge die erforderliche Drehzahl (Zentrifugalkraft 1500G) erreicht.

- Berechnung der Zentrifugalkraft

$$\text{Zentrifugalkraft [G]} = 1,118 \times 10^{-5} \times [r] \times [\text{Upm}]^2$$

- Berechnung der Umdrehungen pro Minute

$$\text{Umdrehungen pro Minute [Upm]} = \sqrt{\frac{1500}{1,118 \times 10^{-5} \times [r]}}$$

[Upm] = Umdrehungen pro Minute

[r] = Entfernung von der Mitte des Rotors bis zum Boden des Reagenzglases

- Der Überstand ist vollkommen zu entfernen.
- Halten Sie die vorgeschriebene Menge und die Temperaturen der Waschlösung ein.
- Stellen Sie sicher, daß das Präzipitat vollständig resuspendiert wurde.

4. Bei richtiger Ausführung kann die Reproduzierbarkeit der Bestimmung (Inter—Assay) mit dem Variationskoeffizienten $\pm 10\%$ erreicht werden.

Das Kit kann in mehrere Tests aufgeteilt werden. Entnehmen Sie zur Vorbereitung der Arbeitslösungen nur so große Mengen Reagenzien, wie für die Analyse notwendig sind.

Bei Nichteinhaltung des Arbeitsverfahrens haftet der Hersteller nicht für die korrekte Funktion des Kits.

11 Verwendete Literatur

1. Dixon, F.J., Vazques, J.J., Weigle, W.O., Cochrane, C.G., The pathogenesis of serum sickness, Arch. Pathol., 65, 18, 1958.
2. Cochrane, C.G., Koffer, D., Immune complex diseases in experimental animals and man, Adv. Immunol., 16, 185-264, 1973.
3. Report of a WHO Scientific Group. The role of immune complexes in disease. WHO Technical Report Series 606, 1977.
4. Dixon, F.J., Wilson, C.B., Immunological renal injury produced by formation and deposition of immune complexes, Immunological mechanisms in renal disease (eds. Wilson, C.B., Breuner, B.M. and Stein, J.H.), Churchill Livingstone, New York, 1-34, 1978.
5. Harkiss, G.D., Hazelman, B.L., Brown, D.L., A longitudinal study of increasing immune complexes, DNA antibodies and complement in patients with systemic lupus erythematosus: an analysis of their relationship to disease activity, J. Clin. Lab. Immunol., 2, 275-283, 1979.
6. Cohen, S.L., Fischer, C., Mowbray, J.F. et al, Circulating and deposited immune complexes in renal disease and their clinical correlation, J. Clin. Path., 32, 1135-1139, 1979.
7. Jones, V.G., Jacoby, R.K., Wallington, T., Holt, P., Immune complexes in early arthritis, Clin. exp. Immunol., 44, 512-521, 1981.
8. Lambert, P.H., Dixon, F.J., Zubler, R.H. et al, A WHO collaborative study for the evaluation of eighteen methods for detecting immune complexes in serum, J. Clin. Lab. Immunol., 1, 1-15, 1978.
9. Creighton, W.D., Lambert, P.H., Miescher, P.A., Detection of antibodies and soluble antigen-antibody complexes by precipitation with polyethylene glycol, J. Immunol., 111, 1219-1227, 1973.
10. Barnett, E.V., Chia, D., Quantification of immunoglobulin in serum and immune complexes isolated in 4% polyethylene glycol, Ann. Rheum. Dis., 36 suppl. 26, 1977.
11. Digeon, M., Laver, M., Riza, J., Bach, J.F., Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol, J. Immunol. Methods, 16, 165-183, 1977.
12. Mancini, G., Carbonara, A.O., Heremans, J.P., Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion, Immunochemistry, 2, 235-254, 1965.
13. Fahey, J.L., McKelvey, E.M., Quantitative determination of serum immunoglobulin in antibody agar plates, J. Immunol., 94, 84, 1965.
14. Brouet, J. D., Clauvel, J.P., Danon, F. et al, Biologic and Clinical significance of cryoglobulins: a report of 86 cases, Am. J. Med., 57, 775-778, 1974.

12 Symbolerklärung



Trocken lagern



Mindesthaltbarkeitsdatum



Chargennummer



Hersteller



Gebrauchsanleitung beachten



Katalognummer



Testanzahl



In-Vitro-Diagnostikum

Notizen

Wichtige Empfehlungen

Symbol	Beachten Sie die nachfolgenden Empfehlungen
	Auswahl der Proben Nur Serum
	Verdünnen Sie das NHS-Kontrollserum mittels der Verdünnungslösung für die Platte: • C1q im Verhältnis 1:4 • IgM im Verhältnis 1:25 • IgA, IgG, C3c im Verhältnis 1:50
	Zentrifugieren des CIC-Präzipitats • Temperatur (max. +4°C) • Zeit (20 Minuten) • Halten Sie die Zentrifugalkraft von 1500G ein Achtung, die Zentrifugalkraft nicht mit der Drehzahl verwechseln! Berechnung siehe 10 Technische Anmerkungen oder www.testlinecd.com/RID
	Präzipitation, Zentrifugieren und Waschen der Proben bei +2°C bis + 4°C
	Pipetieren Sie 20 µl NHS-Kontrollserums und Proben
	Inkubation der Platte mit den Proben 48 Stunden bei Labortemperatur
	Färbung der Platte: • IgA, IgG, C1q, C3c – Färbung der Platten ist nicht erforderlich • IgM – die Platte können gefärbt werden siehe 6.4 Färben der Platte und Ablesen der Ergebnisse
	Ablesen der Ergebnisse • Ablesen erst nach Ablauf der vorgeschriebenen Inkubationsdauer von 48 Stunden • Die Sichtbarkeit der Präzipitationsringe verbessert sich durch das Abnehmen der Plattenabdeckung 2 Stunden vor dem Ablesen