



















**1. VERWENDUNGSZWECK**

Ein immunenzymetrischer Assay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Interleukin-6 (IL-6) in Serum.

**2. KLINISCHER HINTERGRUND****2.1 Biologische Aktivität**

Humanes Interleukin-6 (IL-6) ist ein aus 184 Aminosäuren bestehendes Polypeptid mit potentiellen O- und N-Glykosylierungsstellen und mit einer signifikanten Homologie mit G-CSF. Es wird durch verschiedene Zellen, einschließlich T- und B-Zellen, Monozyten, Fibroblasten, Keratinozyten, Endothelzellen, Mesangiumzellen, Astrozyten, Knochenmark-Stromazellen und verschiedene Tumorzellen produziert. Es reguliert das Wachstum und die Differenzierung verschiedener Zelltypen mit signifikanter Auswirkungen auf das Immunsystem, die Hämatopoese und Entzündung. Diese vielfältigen Aktivitäten sind in ein komplexes Zytokinnetzwerk eingebunden, in dem mehrere Zytokine IL-6 induzieren (IL-1, TNF, PDGF, IFNs ...) oder durch IL-6 induziert werden und die endgültigen Effekte sich durch synergistische oder antagonistische Wirkung zwischen IL-6 und anderen Zytokinen ergeben (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IFN $\gamma$ , IL-3, GM-CSF, M-CSF, CSF ...). IL-6 induziert die endgültige Reifung von B-Zellen zu Antikörper-produzierenden Zellen und ist ein potenter Wachstumsfaktor für Myelom-/Plasmazytomzellen. Es (co-)stimuliert T-Zellwachstum und zytotoxische T-Zell-Differenzierung. Es fördert die Entwicklung von Megakaryozyten und stimuliert in Synergie mit anderen Zytokinen multipotente hämatopoetische Vorläuferzellen. Es kann ebenso die Differenzierung und die Wachstumshemmung einiger Leukämie- oder nicht-hämatopoetischer Tumorzelllinien induzieren. IL-6 ist auch ein wichtiger Auslöser der Akute-Phase-Reaktionen als Antwort auf Entzündung oder Gewebeverletzung. Zusammen mit IL-1 und TNF induziert es die Synthese von Akutphasenproteinen (APP) durch Hepatozyten, wobei jedes Zytokin oder jede Kombination von Zytokinen durch ein spezielles Muster der APP-Produktion gekennzeichnet ist. IL-6 interagiert auch mit dem neuroendokrinen System, z. B. durch Induzieren der ACTH-Produktion. Somit ist IL-6 ein pleiotropes Zytokin, das je nach Gewebetyp vielfältige endokrine, parakrine und möglicherweise autokrine Aktivitäten aufweist.

**2.2 Klinische Anwendung**

Obwohl die meisten normalen Kontrollen nicht nachweisbare Konzentrationen an IL-6 im Serum haben, findet man große Mengen an IL-6 bei schwerwiegenden entzündlichen Zuständen wie etwa Blutvergiftung. Der Anstieg von IL-6 im Serum geht dem von Akute-Phase-Proteinen voraus, z. B. in einer postoperativen Phase, wodurch IL-6 möglicherweise ein empfindlicher, früher Parameter bei der Untersuchung entzündlicher Erkrankungen darstellt.


Serum-IL-6 wurde bereits mit traumatischen Gewebsverletzungen, Infektionskrankheiten, Autoimmunerkrankungen wie Arthritis, Transplantatabstoßung, alkoholischer Leberzirrhose, Krebserkrankungen usw. in Verbindung gebracht.

**3. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG**

Der IL-6-ELISA ist ein solid phase-Enzyme Amplified Sensitive Immunoassay (ELISA) im Mikrotiterplattenformat. Der Assay benutzt monoklonale Antikörper (MAKs), die gegen verschiedene Epitope von IL-6 gerichtet sind. Kalibratoren und Proben reagieren mit dem primären monoklonalen Antikörper (MAK 1), mit dem die Wells der Mikrotiterplatte beschichtet sind, und mit einem monoklonalen Antikörper (MAK 2), der mit Meerrettich-Peroxidase (MRP) markiert ist. Nach einer Inkubationsphase bildet sich ein Sandwich-Komplex: MAK 1 - IL-6 - MAK 2 - MRP; nicht gebundene enzymmarkierte Antikörper werden durch Waschen der Mikrotiterplatte entfernt. Gebundene enzymmarkierte Antikörper werden durch eine Farbreaktion gemessen. Chromogene Lösung (TMB) wird hinzugefügt und inkubiert. Die Reaktion wird durch Hinzufügen einer Stopplösung beendet und die Mikrotiterplatte wird bei adäquater Wellenlänge ausgewertet. Die Menge an Substratumsatz wird kolorimetrisch durch Messung der Absorption bestimmt, die proportional zur IL-6-Konzentration ist.

Es wird eine Kalibrationskurve erstellt und die IL-6-Konzentration in den Proben wird durch Interpolation von der Kalibrationskurve bestimmt. Die Verwendung des ELISA-Lesegeräts (Linearität bis zu 3 OD-Einheiten) und eine komplexe Datenreduktionsmethode (polychromatische Datenreduktion) ergeben eine hohe Sensibilität im niedrigen Bereich und einen breiten Kalibrationsbereich.

**4. MITGELIEFERTE REAGENZIEN**

**IL E-3231**  96 **Microtiterplate - gebrauchsfertig**  
 Inhalt: Mikrotiterplatte mit 96 anti-IL-6 beschichteten Wells  
 Farb Code: blau

**IL E-3240**    **CONJUGATE**                    **Conjugate - gebrauchsfertig**  
 Inhalt:            Konjugat: MRP markierte anti-IL-6 (monoklonaler Antikörper) in Boratpuffer mit Rinderserumalbumin und Thymol  
 Volumen:            1 x 11 ml  
 Farb Code:            rot

**Calibrators** und **Controls** - lyophilisiert

Art.-Nr.	Symbol	Kalibrator / Control
<b>IL E-3201</b>	<b>CAL 0</b>	<b>Kalibrator 0</b>
<b>IL E-3202</b>	<b>CAL 1</b>	<b>Kalibrator 1</b>
<b>IL E-3203</b>	<b>CAL 2</b>	<b>Kalibrator 2</b>
<b>IL E-3204</b>	<b>CAL 3</b>	<b>Kalibrator 3</b>
<b>IL E-3205</b>	<b>CAL 4</b>	<b>Kalibrator 4</b>
<b>IL E-3206</b>	<b>CAL 5</b>	<b>Kalibrator 5</b>
<b>IL E-3251</b>	<b>CONTROL 1</b>	<b>Kontrolle 1</b>
<b>IL E-3252</b>	<b>CONTROL 2</b>	<b>Kontrolle 2</b>

Inhalt:            **(Genau Werte auf dem Etikett)** Kalibrator/Kontrolle: in Humanplasma mit Rinderserumalbumin und Thymol.

Vorbereitung:    1 ml destilliertes Wasser **zugeben**

Farb Code:            Kalibrator:    gelb  
 Kontrolle:            silber


**IL E-3260**    **DILUENT**                    **Specimen Diluent** - lyophilisiert  
 Inhalt:            Probenverdünner: Humanplasma mit Rinderserumalbumin, Benzamidin und Thymol  
 Volumen:            2 Flaschen  
 Vorbereitung:    Destilliertes Wasser **zugeben** (exaktes Volumen bitte dem Etikett entnehmen).  
 Farb Code:            schwarz

**IL E-3213**    **INC-BUFF**                    **Incubation Buffer - gebrauchsfertig**  
 Inhalt:            Inkubationspuffer: Boratpuffer mit Rinderserumalbumin, Benzamidin und Thymol  
 Volumen:            1 x 11 ml  
 Farb Code:            schwarz

**IL E-3030**    **WASH-CONC 200x**            **Wash Solution** - 200x konzentriert  
 Inhalt:            Waschlösung (Tris-HCl)  
 Volumen:            1 x 10 ml  
 Vorbereitung:    200 x mit destilliertem Wasser **verdünnen** (Magnetrührer benutzen).  
 Farb Code:            braun

**IL E-3055**    **SUBSTRATE**                    **Chromogenic TMB Solution - gebrauchsfertig**  
 Inhalt:            Chromogene TMB-Lösung  
 Volumen:            1 x 25 ml  
 Farb Code:            weiß

**IL E-3280**    **STOP-SOLN**                    **Stop Solution - gebrauchsfertig**  
 Inhalt:            Stopplösung: 2N HCl  
 Volumen:            1 x 12 ml  
 Farb Code:            weiß

Mögliche Gefahren: 

H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

**Bemerkung:**

1. Benutzen Sie den Specimen Dilution (Probenverdünner) zur Probenverdünnung.
2. 1 pg der Kalibratorzubereitung ist äquivalent zu 100 mIU des NIBSC 1st IS 89/548.

**5. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL**

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Hochwertiges destilliertes Wasser
2. Pipetten: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 1 ml und 10 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegplastikspitzen wird empfohlen)
3. Vortex-Mixer
4. Magnetrührer
5. Horizontaler Schüttler für Mikrotiterplatte Kap. 700 rpm ± 100 rpm
6. Waschgerät für Mikrotiterplatten
7. Mikrotiterplatten-Lesegerät zur Auswertung bei 450 nm, 490 nm und 650 nm (bei polychromatischer Auswertung) oder zur Auswertung bei 450 nm und 650 nm (monochromatische Auswertung)

**6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN****Calibrators (Kalibratoren):**

Rekonstituieren Sie die Kalibratoren mit 1 ml destilliertem Wasser.

**Controls (Kontrollen):**

Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1 ml destilliertem Wasser.

**Specimen Diluent (Probenverdünner):**

Rekonstituieren Sie den Probenverdünner bis zu dem genau auf dem Etikett des Fläschchens angegebenen Volumen mit dest. Wasser.

**Working Wash solution (Waschlösung):**

Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (200x) mit 199 Anteilen destilliertem Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Werfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages weg.

**7. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN**

- Vor dem Öffnen oder der Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C stabil.
- Nicht verwendete Mikrotiterstreifen sollten bis zum Verfallsdatum wieder dicht in der Folie verschlossen mit Trockenmittel bei 2 bis 8 °C gelagert werden.
- Nach Rekonstitution sind die Kalibratoren, Kontrollen und Probenverdünner bei 2 bis 8 °C für 4 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20 °C eingefroren werden, dann sind sie 2 Monate haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Die konzentrierte Waschlösung ist bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) bis zum Verfallsdatum haltbar.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist das Konjugat bei Aufbewahrung im Originalgefäß bei 2 bis 8 °C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

**8. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG**

- Das Serum muss so schnell wie möglich vom Blutgerinnsel der roten Zellen nach Gerinnung und Zentrifugation getrennt und bei 4 °C aufbewahrt werden. Werden die Proben nicht direkt benutzt, müssen sie bei -20 °C für maximal 2 Monate gelagert werden. Eine längere Lagerdauer (maximal 1 Jahr) erfordert eine Lagerung bei -70 °C.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Vor Gebrauch müssen alle Proben Raumtemperatur (18 - 25 °C) erreichen. Vortexmischen der Proben wird vor Gebrauch empfohlen.
- Die Bedingungen der Probennahme können Werte beeinflussen, weshalb strenge Vorsichtsmaßnahmen während des Sammelns ergriffen werden müssen, um Unreinheiten im gesammelten Material, die die IL-6 Produktion durch Blutzellen stimulieren und somit IL-6-Serumwerte fälschlicherweise erhöhen würden, zu vermeiden.
- Probenbehälter müssen pyrogenfrei sein.

## 9. DURCHFÜHRUNG

### 9.1 Bemerkungen zur Durchführung

- Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach dem Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen nicht.
- Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18 - 25 °C).
- Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren.
- Führen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben doppelt aus. Vertikale Ausrichtung wird empfohlen.
- Verwenden Sie zur Zubereitung der Waschlösung einen reinen Kunststoffbehälter.
- Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Verwenden Sie zur Pipettierung der chromogenen Lösung und der Stopplösung keine Pipetten mit Metallteilen.
- Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision.
- Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.
- Zur Vermeidung von Drift muss die Zeit zwischen dem Pipettieren des ersten Kalibrators und der letzten Probe auf die Zeit beschränkt werden, die in Kapitel 12.5 (Zeitverzögerung) erwähnt wird.
- Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibratorkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.
- Pipettieren Sie die chromogene Lösung innerhalb von 15 Minuten nach dem Waschen der Mikrotiterplatte.
- Während der Inkubation mit der chromogenen Lösung ist die Mikrotiterplatte vor direktem Sonnenlicht zu schützen.
- Jedes Well kann nur einmal verwendet werden.

### 9.2 Durchführung

1.	Wählen Sie die erforderliche Anzahl der Streifen für den Lauf aus. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen sollten wieder dicht in der Folie verschlossen mit Trockenmittel bei 2 bis 8 °C gelagert werden.
2.	Befestigen Sie die Streifen im Halterahmen.
3.	Pipettieren Sie jeweils 50 µl Inkubationspuffer in alle Wells.
4.	Pipettieren Sie jeweils 100 µl Kalibrator, Kontrolle und Probe in die entsprechenden Wells.
5.	Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) auf dem horizontalen Schüttler bei 700 rpm ± 100 rpm.
6.	Saugen Sie die Flüssigkeit aus jedem Well ab.
7.	Waschen Sie die Platte dreimal: <ul style="list-style-type: none"><li>• pipettieren Sie 0,4 ml Waschlösung in jedes Well</li><li>• saugen Sie den Inhalt jedes Wells ab.</li></ul>
8.	Pipettieren Sie 100 µl anti-IL-6-HRP-Konjugat und 50 µl Probenverdünner in jedes Well.
9.	Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) auf dem horizontalen Schüttler bei 700 rpm ± 100 rpm.
10.	Saugen Sie die Flüssigkeit aus jedem Well ab.
11.	Waschen Sie die Platte dreimal: <ul style="list-style-type: none"><li>• pipettieren Sie 0,4 ml Waschlösung in jedes Well</li><li>• saugen Sie den Inhalt jedes Wells ab.</li></ul>
12.	Pipettieren Sie 200 µl der chromogenen Lösung innerhalb von 15 Minuten nach dem Waschvorgang in jeden Well.
13.	Inkubieren Sie die Mikrotiterplatte 15 Minuten bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) auf dem horizontalen Schüttler bei 700 rpm ± 100 rpm. Vermeiden Sie direktes Sonnenlicht.
14.	Pipettieren Sie 100 µl der Stopplösung in jedes Well.
15.	Werten Sie die Absorptionen bei 450 nm und 490 nm (Referenzfilter 630 nm oder 650 nm) innerhalb 3 Stunden aus und berechnen Sie die Resultate wie in Kapitel 10 beschrieben.

## 10. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

### 10.1 Polychromatische Auswertung

1. In diesem Fall werden die Daten durch die Software verarbeitet.
2. Die Platte wird zunächst bei 450 nm gegen einen Referenzfilter auf 650 nm (oder 630 nm) ausgewertet.
3. Eine zweite Auswertung erfolgt bei 490 nm gegen denselben Referenzfilter.
4. Die steuert das Lesegerät automatisch und integriert beide Auswertungen in ein polychromatisches Modell. Diese Technik kann ODs bis 10 erstellen.
5. Das Prinzip der polychromatischen Datenauswertung funktioniert wie folgt:
  - $X_i = OD$  bei 450 nm
  - $Y_i = OD$  bei 490 nm
  - Standard nicht gewichtet lineare Regression, Parameter A & B werden berechnet:  $Y = A \cdot X + B$
  - Wenn  $X_i < 3$  OD Einheiten, dann  $X$  berechnet =  $X_i$
  - Wenn  $X_i > 3$  OD Einheiten, dann  $X$  berechnet =  $(Y_i - B) / A$
  - Die Kalibrationskurve wird unter Verwendung einer 4 Parameter logistischen Kurve erstellt.
  - Die IL-6-Konzentration in den Proben wird durch Interpolation auf der Kalibrationskurve bestimmt.

### 10.2 Bichromatische Auswertung

1. Werten Sie die Platte bei 450 nm gegen einen Referenzfilter auf 650 nm (oder 630 nm) aus.
2. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
3. Tragen Sie die OD-Werte (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende IL-6 Konzentration (Abszisse) auf und zeichnen Sie eine Kalibrationskurve durch die Kalibrationspunkte.
4. Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Kalibrationskurve.
5. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer "4 Parameter"-Kurvenfunktion.

## 11. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und sollten nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

IL-6-ELISA		OD Einheiten Polychromatisches Modell
Kalibrator	0 pg/ml	79
	23,3 pg/ml	125
	68 pg/ml	193
	201 pg/ml	408
	633 pg/ml	1036
	2560 pg/ml	3579

## 12. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

### 12.1 Nachweisgrenzen

Zwanzig Kalibrator 0 wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen. Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswert bei Nullbindung, entsprach 2 pg/ml.

### 12.2 Spezifität

Es wurde keine signifikante Kreuzreaktion beobachtet beim Vorhandensein von 50 ng IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , LIF, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1, OSM, RANTES, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  und TNF- $\beta$  beobachtet. Eine sehr schwache Kreuzreaktion (0,06 %) wurde mit G-CSF beobachtet.

### Interferenz mit den löslichen Rezeptoren (sIL6R und SGP-130)

Keine signifikante Kreuzreaktion wurde in Gegenwart von 100 ng sIL6 Rezeptor und SGP-130 beobachtet.

IL-6 Konz. (pg/ml)	IL6 gemessen mit 100 ng/ml sIL6R (pg/ml)	IL-6 gemessen mit 100 ng/ml SGP-130 (pg/ml)
7,5	4,3	8,3
74,0	81,8	76,0
678,0	734,0	671,0

Es wurde keine Interferenz festgestellt.

### 12.3 Präzision

Intra Assay				Inter Assay			
Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	20	147 ± 6,1	4,2	A	20	114 ± 5	4,4
B	20	623 ± 27	4,3	B	20	270 ± 15	5,4

SD: Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

### 12.4 Genauigkeit

Wiederfindungstest

Probe	zugegebenes IL-6 (pg/ml)	wiedergefunden IL-6 (pg/ml)	Wiederfindung (%)
Serum 1	1066	1035	97,1
	547	541	98,9
	228	234	102,6
Serum 2	1066	1110	104,1
	547	531	97,1
	228	250	109,6

Verdünnungstest

Probe	Verdünnung	Theoretische Konz. (pg/ml)	Gemessene Konz. (pg/ml)
Serum	1/1		966
	1/2	483	478
	1/4	241,5	247
	1/8	120,8	130
	1/16	60,4	54
	1/32	30	23

Die Proben wurden mit Probenverdünner verdünnt.

### 12.5 Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im Folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann gewährleistet ist, wenn die Probe 30 Minuten nach Zugabe der Kalibratoren in die beschichteten Wells zugegeben wird.

Zeitdifferenz

Probe	0 Min	10 Min	20 Min	30 Min	40 Min
1	61	53	56	61	76
2	196	179	205	213	273
3	1584	1478	1433	1418	1533

## 13. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ergebnisse für Kontrolle 1 und/oder Kontrolle 2 nicht den auf den Fläschchen angegebenen Sollwertbereichen, können die Ergebnisse nicht ohne treffende Erklärung der Abweichungen verwendet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seine eigenen Pools herstellen, die in Aliquoten eingefroren werden sollten. Azidhaltige Kontrollen stören die Enzymreaktion und können nicht verwendet werden.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten einer Doppelbestimmung von Proben sollten auf Guter Laborpraxis beruhen.
- Es wird empfohlen, Kontrollen im Assay routinemäßig wie unbekannte Proben zu behandeln, um die Assayvarianz zu messen. Die Leistung des Assays sollte mit Qualitätskontrollkarten der Kontrollen überprüft werden.
- Es hat sich bewährt, die durch den Computer ausgewählte Kurvenanpassung visuell zu überprüfen.

## **14. REFERENZINTERVALLE**

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.  
Als allgemeiner Richtwert lagen die Ergebnisse von 34 Serumproben gesunder Personen mit niedrigem CRP-Spiegel zwischen 0 und 50 pg/ml. 31 Proben ergaben Werte unter 17 pg/ml.

## **15. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN**

### ***Sicherheit***

Nur für *diagnostische* Zwecke.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit in Europa und/oder FDA-anerkannten Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit darüber liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit allen Reagenzien; Stopplösung enthält HCl, Bei Kontakt gründlich mit Wasser spülen.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDS).

## **16. LITERATUR**







1. HOUSSIAU F.A. et al., (1988)  
**IL-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides.**  
Arth. Rheum., 31:784-788.
2. MOSCOVITZ H. et al., (1994)  
**Plasma cytokine determination in emergency department patients as predictor of bacteremia and infectious disease severity.**  
Critical care Medicine, 22:1102-1107.
3. SAKAMOTO K. et al., (1994)  
**Elevation of circulating interleukin 6 after surgery: factors influencing the serum level.**  
Cytokine, 6:181-186.
4. KITA Y. et al., (1994)  
**Evaluation of sequential serum interleukin-6 levels in liver allograft recipients.**  
Transplantation, 57:1037-1041.
5. LE MOINE O. et al., (1994)  
**Interleukin-6: an early marker of bacterial infection in decompensated cirrhosis.**  
J. of Hepatology, 20:819-824.

## 17. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	Kalibratoren (µl)	Probe(n) / Kontrollen (µl)
Inkubationspuffer Kalibratoren (0 - 5) Proben, Kontrollen	50 100 -	50 - 100
1 Stunde bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) unter ständigem Schütteln bei 700 rpm inkubieren. Inhalt jedes Wells absaugen. Dreimal mit 400 µl Waschlösung waschen und absaugen.		
Anti-IL-6 -HRP Konjugat Probenverdünner	100 50	100 50
1 Stunde bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) unter ständigem Schütteln bei 700 rpm inkubieren. Inhalt jedes Wells absaugen. Dreimal mit 400 µl Waschlösung waschen und absaugen		
Chromogene Lösung	200	200
15 Minuten bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) unter ständigem Schütteln bei 700 rpm inkubieren.		
Stopplösung	100	100
Auf einem Mikrotiterplatten-Lesegerät auswerten und Absorption jedes Well bei 450 nm (und 490 nm) gg. 630 nm (oder 650 nm) vermerken.		

Der Hersteller bietet Ihnen die Möglichkeit, ein für dieses Kit angepasstes Protokoll für die Verwendung auf der Stratec Gemini 2PS + Combo-Plattform zu erwerben, einschließlich Protokoll-Assay-Datei, Reagenzien-Datei und Tipps für die ordnungsgemäße Verwendung des Kits auf dem Instrument.

### Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Teste
	Verwendbar bis	<b>LOT</b>	Chargennummer	<b>IVD</b>	In vitro Diagnostikum
	Vor Gebrauch Packungsbeilage lesen	<b>CONT</b>	Inhalt	<b>CE</b>	CE gekennzeichnet
	Achtung	<b>REF</b>	Katalog-Nummer		