

Quantitativer Nachweis von Rheumafaktoren mit Hilfe der kinetischen Nephelometrie

W. Behr und M. Jotzoff

Zentrallaboratorium des Zentralklinikums Augsburg (Chefarzt: Prof. Dr. H. Wagener)

Zusammenfassung:

Die Messung des Rheumafaktors (RF) mit einem kinetischen Nephelometer (Auto-ICS) ergibt mit guter Präzision bei geringem zeitlichen Aufwand quantitative Werte. Das Nephelometer mißt die Bildungsgeschwindigkeit des Streulichts von Immunkomplexen, die aus hitzeaggregiertem Human-IgG und RF entstehen. Der Test ist in Internationalen Einheiten (IU) kalibriert. Bei der Richtigkeitskontrolle mit 2 am WHO-Standard eingestellten Referenzseren wurden die Sollwerte vom Auto-ICS nicht gefunden. Die Abweichungen betragen 75 und 37,5%. Da es gelegentlich zu unspezifischer Streulichtbildung kommt, empfehlen wir bei allen RF-Werten zwischen 60 und 250 IU/ml eine Kontrollmessung. Die kinetisch-nephelometrisch gemessenen RF korrelieren mit den im Latex-Agglutinations- und Waaler-Rose-Test ermittelten Titerwerten. Ein direkter Vergleich ist aber wegen der erheblichen Streuung einer bestimmten Titerstufe zugeordneten nephelometrischen Werte nicht möglich. Ein eventueller Einfluß von IgG- und IgA-RF wird diskutiert.

Schlüsselwörter:

Rheumatoide Arthritis – Rheumafaktor – Kinetische Nephelometrie

Summary:

The measurement of rheumatoid factor (RF) with a rate nephelometer (Auto-ICS) requires little time and gives quantitative results with good precision. The nephelometer measures the rate of increase in light-scatter by immunocomplex formation between heat-aggregated human IgG and RF. The assay is calibrated in International Units (IU). The accuracy was checked by 2 reference sera. The concentrations of these were assigned by comparison with the WHO-standard. The RF-values of the reference sera were not found by the Auto-ICS. The inaccuracy was 75 and 37.5%. Because of occasionally unspecific light-scatter formation, we recommend as a control a second measurement of all RF-values between 60 and 250 IU/ml. The rate nephelometric RF-values correlate with concomitantly measured titer values in the latex-agglutination- and Waaler-Rose-test. A direct comparison is not possible because of the wide range of nephelometric values associated to a certain titer. A possible influence of IgG- and IgA-RF is discussed.

Keywords:

Rheumatoid arthritis – Rheumafaktor – Rate nephelometry

Einleitung

In den letzten Jahren wurden nephelometrische Verfahren entwickelt, die eine quantitative Bestimmung von Rheumafaktoren (RF) im Serum durch photoelektrische Messung lichtstreuender Immunkomplexe ermöglichen (1–3). Die nephelometrische RF-Bestimmung kann als Endpunktmesung (1, 2) oder als kinetische Nephelometrie durchgeführt werden (3). Beidem letzteren Verfahren wird die Zunahme der Streulichtintensität gemessen (4). Sie ist der Konzentration der gebildeten Immunkomplexe proportional (4).

In dieser Arbeit wurden Ergebnisse mit einem kinetisch-nephelometrischen Test ermittelt, bei dem Serum-RF mit hitzeaggregiertem Human-IgG komplexieren. Die Ergebnisse wurden mit denen der konventionellen, semiquantitativen

Agglutinationsreaktionen [Latex-Test (5), Waaler-Rose-Test (6)] verglichen.

Material und Methoden

Blutproben

Das Blut wurde durch Venenpunktion entnommen. Nach Ablauf des Gerinnungsvergangen wurden die Blutproben bei Raumtemperatur für 10 min bei 1900 × g zentrifugiert und das Serum abgetrennt. Wenn die Analysen nicht innerhalb von 48 Std. durchgeführt werden konnten, wurden die Seren bei –20 °C eingefroren. Die Blutproben für den Methodenvergleich zwischen kinetischer Nephelometrie und Latex-Agglutinationstest (LA-Test) stammten von 85 Patienten (22 Män-

ner, 63 Frauen; Durchschnittsalter 57 Jahre) mit seropositiver chronischer Polyarthritis (c.P.). Für den Vergleich zwischen kinetischer Nephelometrie und Waaler-Rose-Test (WR-Test) wurde 138 Patienten mit seropositiver c.P. (36 Männer, 102 Frauen; Durchschnittsalter 54 Jahre) Blut entnommen. Die Diagnose einer c.P. wurde nach den Kriterien der American Rheumatism Association gesichert (7).

Konventionelle Agglutinationsreaktionen zur RF-Bestimmung

Für den semiquantitativen Nachweis von RF mit der passiven Hämagglutination wurde ein modifizierter WR-Test (RAHA-Test, Mast-Diagnostica, D-2000 Hamburg, Kat. Nr. FD 301) verwendet. Zur Präzisionskontrolle wurde ein im Testkit enthaltenes Kontrollserum mit bekanntem Titer eingesetzt.

Als LA-Test wurde ein Objekträger-Schnelltest (RA-Test, Hyland-Travenol, D-8000 München, Kat. Nr. 50-110) verwendet.

RF-Bestimmung durch kinetische Nephelometrie

a) Meßprinzip

Die kinetisch-nephelometrische Bestimmung des RF (RF-kin.Neph.) erfolgte mit einem automatisierten Immun-Chemie-System (Auto-ICS) (Beckman Instruments, D-8000 München, Best. Nr. 662000). Bei diesem Verfahren wird als Antigen hitzeaggregiertes Human-IgG in einer Größe verwendet, die keine signifikante Lichtstreuung bewirkt (8). Wird dieses aggregierte IgG zu einem Serum, das RF enthält, gegeben, so bilden sich größere lichtstreuende Antigen-Antikörper-Komplexe. Die dabei entstehende Streulichtaufnahme wird gemessen, die maximale Reaktionsgeschwindigkeit ermittelt und in die RF-Konzentration umgerechnet (4). Da die Antigen-Antikörper-Reaktion in einem Puffersystem durchgeführt wird, das einen Reaktionsbeschleuniger enthält, wird das Maximum der Trübung innerhalb einer Minute erreicht.

b) Durchführung der Analysen

Die Analysen am Auto-ICS-Nephelometer wurden nach der vom Hersteller angegebenen Methode durchgeführt (9): Nach Komplementaktivierung (30 min, 56 °C) wurden die Seren bei Raumtemperatur 5 min bei 8000 x g zentrifugiert. Pro Analyse wurden 0,5 ml des Überstandes eingesetzt. Die Messung wurde innerhalb von 3 Std. nach der Inaktivierung durchgeführt. Nach entsprechender Programmierung erfolgte die Kalibrierung des Gerätes sowie die Messung der Patientenserien einschließlich der erforderlichen Pipettier- und Spülvorgänge vollautomatisch. Die Ergebnisse wurden in Internationalen Einheiten (IU) pro ml ausgedruckt. Seren, bei denen der Meßwert über 60 IU/ml lag, wurden als RF-positiv angesehen (9, 10, 18). Falls der Meßbereich von 60–400 IU/ml (Meßbereich A) überschritten wurde, wurde das Serum vom Gerät automatisch mit RF-Puffer 1:36 verdünnt und im Meßbereich B (400–2400 IU/ml) gemessen. Lag der Meßwert über 2400 IU/ml, so erfolgte keine weitere Verdünnung. Es wurde dann als Ergebnis $RF > 2400 \text{ IU/ml}$ ausgedruckt. Um einen exakten Meßwert zu erhalten, müßte eine entsprechende manuell hergestellte Verdünnung des Serums zur Messung eingesetzt werden.

c) Reagenzien

Die für die kinetisch-nephelometrische RF-Bestimmung am Auto-ICS erforderlichen Reagenzien sind als Testkit erhältlich (Beckman Instruments, D-8000 München, Best. Nr. 662370). Die Packung enthält ein Kalibrator-Serum und das bereits in Lösung vorliegende aggregierte Human-IgG als RF-Antigen. Die für das Kalibrator-Serum in IU/ml angegebene RF-Konzentration ist an der nationalen Referenzpräparation des Center of Disease Control, Atlanta, (CDC) eingestellt (3, 10). Zur Durchführung der Analysen ist noch „RF-Puffer“ (Beckman Instruments, D-8000 München, Best. Nr. 663625) erforderlich, der zum Verdünnen des Serums sowie als Reaktionsmedium für die Antigen-Antikörper-Reaktion dient. Der RF-Puffer enthält Polyäthylenglykol; die genaue Zusammensetzung wird vom Hersteller nicht preisgegeben.

Zur Richtigkeits- und Präzisionskontrolle wurde ein käufliches Kontrollserum (Beckman Instruments, ICS-Standardserum für RF, Best. Nr. 663620) mit definiertem RF-Gehalt sowie ein in Portionen eingefrorenes positives Patientenpoolserum ($n = 8$) verwendet.

Als Referenzseren wurden eingesetzt:

1. Rheumafaktoren-Referenz-Serum (human) (Behringwerke, D-3550 Marburg, Kat. Nr. Ø SHD 04). Dieses Serum ist an der WHO-Referenzpräparation eingestellt (11).
2. Wampole Human Serum Reference Preparation, Lot-Nr. 21704 E. Das Serum wurde uns freundlicherweise von der Fa. Byk-Mallinckrodt, D-6057 Dietzenbach, überlassen. Laut Beipackzettel ist das Serum an der WHO- und an der CDC-Referenzpräparation eingestellt.

Statistik

Für die Angaben des arithmetischen Mittelwertes, der Standardabweichung und des Variationskoeffizienten wurden die üblichen Formeln verwendet (12). Um den Zusammenhang zwischen der RF-kin.Neph.-Werten und den im Latex- und Waaler-Rose-Test bestimmten Titertypen zu dokumentieren, wurde die einfache lineare Regression durchgeführt und der Korrelationskoeffizient berechnet (Signifikanzniveau für die Differenz des Korrelationskoeffizienten von Null: $2 p < 0,05$) (12, 13). Da die miteinander verglichenen Verfahren mit zufälligen Fehlern behaftet sind, wurde eine standardisierte Hauptkomponenten-Analyse durchgeführt (14, 15).

Ergebnisse

Praktikabilität

Die Reagenzienkosten pro Analyse betragen ca. DM 4,50 bei mindestens 8 Proben pro Lauf. Werden weniger Proben pro Lauf untersucht, erhöhen sich die Kosten, da dann das im Testkit mitgelieferte Kalibratorserum nicht ausreicht und gesondert bezogen werden muß. Die zusätzlichen Kosten für Wartung und Abschreibung des Gerätes können zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht abgeschätzt werden.

Die Vorbereitungszeit bis zur Durchführung der Messungen ist relativ gering (ca. 45 min), da die Seren nach Komplementaktivierung und Zentrifugation ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt werden. Die Programmierung des Auto-ICS erfordert je nach Probenmenge 5–10 min. Die Kalibration ist in ca. 10 min beendet. Die Zeit pro Analyse beträgt für eine

Probe einschließlich des zwischen 2 Messungen eingeschalteten Waschvorganges bis zum Ausdruck des Ergebnisses durchschnittlich 2,5 min.

Präzision

Die Präzision in der Serie wurde anhand von drei Seren unterschiedlicher RF-Konzentrationen geprüft (Tab.1). Die Präzision von Lauf zu Lauf wurde durch 12fache Bestimmungen zweier Seren unterschiedlicher RF-Konzentrationen getestet. Die Messungen wurden an einem Tag mit zwei verschiedenen Kalibratorchargen und zwei Auto-ICS-Nephelometern durchgeführt (Tab. 2).

Richtigkeit

Zur Richtigkeitsüberprüfung wurden 2 Referenzseren mit einem in IU/ml angegebenen RF-Gehalt verwendet. Die Referenzseren waren an der WHO- bzw. an der WHO- und CDC-Referenzpräparation eingestellt, wobei WHO- und CDC-Standard miteinander verglichen sind (3, 11, 16). Wie Tab. 3 zeigt, bestand keine Übereinstimmung zwischen den Sollwerten der Referenzseren und den tatsächlich gemessenen RF-kin.Neph.-Werten.

Linearität

Zur Prüfung der Linearität (Abb.1) wurden von 5 Patientenserien insgesamt 30 Verdünnungsstufen mit RF-Puffer hergestellt. Die Verdünnungsstufen wurden so gewählt, daß die errechneten RF-Werte im Meßbereich A (60–400 IU/ml) und im unteren Teil des Meßbereiches B (400–2400 IU/ml) möglichst gleichmäßig verteilt waren. Bei 17 Verdünnungen war die Differenz zwischen erwartetem und gemessenem Wert kleiner als +5%. Bei 10 Verdünnungen fanden sich dagegen höhere Differenzen (Maximalwert 20,3%), wobei diese bei allen untersuchten Seren und unabhängig von der Verdünnungsstufe aufraten. Bei 3 Verdünnungsstufen [Verdünnung 1:4 (Serum/Puffer) von Serum 1, Verdünnung 1:2 von Serum 2, Verdünnung 3:5 von Serum 5] war das Gerät nicht in der Lage, einen exakten RF-Wert anzugeben, da die Meßbereiche A und B ständig gewechselt wurden (Ausdruck: RF > 401, < 360, > 401 IU/ml). Die errechneten RF-Werte der 3 Verdünnungen waren 339, 387 und 466 IU/ml. Dieses Phänomen trat bisher in einigen wenigen Fällen (Häufigkeit <1%) auch bei der Routinemessung von unverdünnten Patientenproben auf. Nach Verdünnung dieser Seren 1:2 mit RF-Puffer erfolgte jedoch die Messung ohne Schwierigkeiten.

Falsch positive RF-Werte durch unspezifische Streulichtbildung

In der Erprobungsphase der kinetisch-nephelometrischen RF-Bestimmung wurde bei pathologischen Seren (RF > 60 IU/ml) eine Wiederholungsmessung durchgeführt. Dabei fiel auf, daß in einigen Fällen der 2. Meßwert unter 60 IU/ml lag und auch bei weiteren Bestimmungen im Normbereich blieb. Offensichtlich lag bei der 1. Messung ein falsch positives Ergebnis vor. Von 100 kontrollierten Seren mit RF-Werten zwischen 60 und 250 IU/ml bei der Erstmessung wurde in 85% der Fälle der 1. Meßwert bestätigt. Die 15 falsch positiven RF-Werte lagen stets unter 200 IU/ml (Mittelwert 83 IU/ml, Extremwerte 62,4 und 171).

Tab. 1: Präzision des RF-kin.Neph. in der Serie. Anzahl der Bestimmungen: n = 12

	Mittelwert ± Standardabweichung IU/ml	Variationskoeffizient %
Serum A	88 ± 2,2	2,5
Serum B	176 ± 2,9	1,6
Serum C	423 ± 12,1	2,9

Tab. 2: Präzision des RF-kin.Neph. von Lauf zu Lauf unter Verwendung von 2 verschiedenen Kalibratorchargen und 2 Auto-ICS. Anzahl der Bestimmungen: n = 12 (je 6 an Gerät I und II bei abwechselnder Verwendung der 2 Kalibratoren)

	Mittelwert ± Standardabweichung IU/ml	Variationskoeffizient %
Serum D	121 ± 6,1	5,0
Serum E	550 ± 18,2	3,3

Tab. 3: Vergleich der Sollwerte zweier Referenzseren mit den kinetisch-nephelometrisch gemessenen Werten

	Sollwert	RF-kin.-Neph.-Wert
Behring RF-Referenz-Serum eingestellt am WHO-Standard	110 IU/ml	193 IU/ml
Wampole Human Serum Reference Preparation eingestellt am WHO- und CDC-Standard	400 IU/ml	250 IU/ml

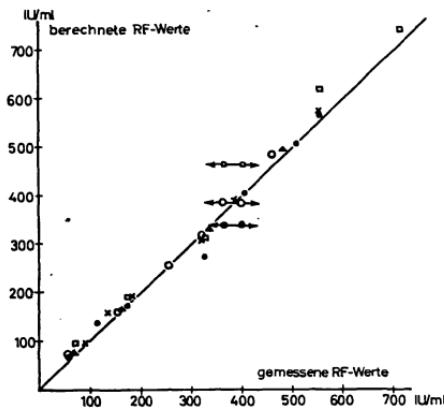


Abb. 1: Linearitäts-Diagramm.

Die Symbole kennzeichnen die untersuchten Seren (Serum 1 = □, 2 = ●, 3 = ▲, 4 = ×, 5 = ○). Die mit Pfeilen versehenen Symbole bezeichnen die vom Auto-ICS nicht meßbaren Verdünnungen

Korrelation der RF-kin.Neph.-Konzentrationen mit den Titerwerten von Latex-Agglutinations- und Waaler-Rose-Test

Bei 85 Seren mit positivem LA-Titer und 138 Seren mit erhöhtem WR-Titer wurden zum Vergleich die RF-kin.Neph.-Werte bestimmt. In Abb. 2 und 3 sind die jeweiligen Titerstufen gegen den dekadischen Logarithmus der nephelometrischen RF-Konzentrationen aufgetragen. Die Korrelation zwischen den RF-kin.Neph.-Werten und den entsprechenden Titerstufen betrug für den LA-Test $r = 0,76$ und für den WR-Test $r = 0,52$ (Signifikanz auf dem 5%-Niveau).

Diskussion

Die kinetisch-nephelometrische Bestimmung des Serum-RF mit dem Auto-ICS-Gerät ist ein automatisiertes schnelles Verfahren, das eine quantitative Messung des RF ermöglicht. Die Präzision in der Serie ist gut, die Präzision von Lauf zu Lauf selbst bei Verwendung von 2 verschiedenen Kalibratorchargen und Geräten zufriedenstellend. Der Vorteil der kinetischen Nephelometrie gegenüber den lasernephelometrischen Verfahren, die als Endpunktmetode durchgeführt werden, beruht vor allem darauf, daß es bei der kinetischen Nephelometrie nicht erforderlich ist, die Eigenstreuung der Küvette, der Pufferlösungen und des Serums mit zu berücksichtigen. Auch

Störungen durch das Auftreten unspezifischer Trübungen bei langen Inkubationszeiten sollen nicht auftreten (4). Wir beobachteten bei der kinetisch-nephelometrischen Messung des RF allerdings, daß es in einem nicht unerheblichen Prozentsatz zu nichtreproduzierbaren, falsch positiven Ergebnissen kommt, die sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen sind, daß der RF-Puffer mit dem Patientenserum unter Streulichtbildung reagiert. Wir empfehlen daher, bei Meßwerten von 60–250 IU/ml eine Doppelbestimmung durchzuführen. Nach Finley (3) ist eine wiederholte Hitzeaktivierung des Serums zu vermeiden, da sonst nichtreproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Dies konnte durch eigene Untersuchungen bestätigt werden (17).

Die Überprüfung der Richtigkeit mit 2 am WHO-Standard eingestellten Seren verlief unbefriedigend. Die RF-kin.Neph.-Messung des 1. Serums ergab einen um 75% zu hohen, die Messung des 2. Serums einen um 37,5% zu niedrigen Wert. Wegen dieser Diskrepanzen, die noch einer genaueren Abklärung bedürfen, ist es empfehlenswert, bei der Angabe des RF in IU/ml die angewandte Methode anzugeben.

Der vom Hersteller (9) angegebene Normalbereich von <60 IU/ml für den RF-kin.Neph. wird von Painter (10) sowie durch eigene Untersuchungen an 100 Blutspendern (18) bestätigt. Bei der Prüfung der Linearität finden sich teilweise

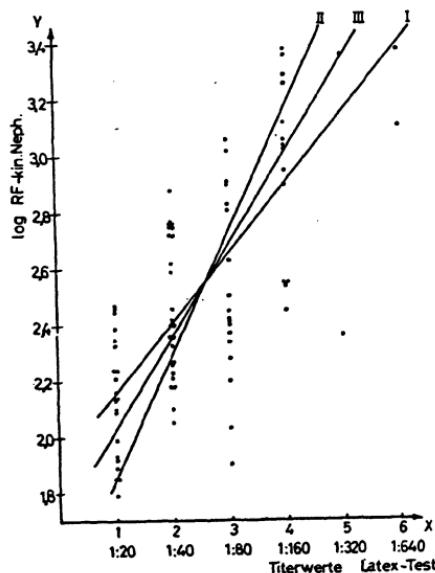


Abb. 2: Vergleich der RF-kin.Neph.-Werte mit den Titerwerten des Latex-Agglutinationstests bei 85 Patienten mit c.p.
Korrelationskoeffizient: $r = 0,76$.

Regressionsanalyse:

$$y = 1,9 + 0,25x \quad (I), \quad x = -3,3 + 2,3y \quad (II)$$

$$\text{Hauptkomponentenanalyse: } \hat{y} = 1,7 + 0,33\bar{x} \quad (III)$$

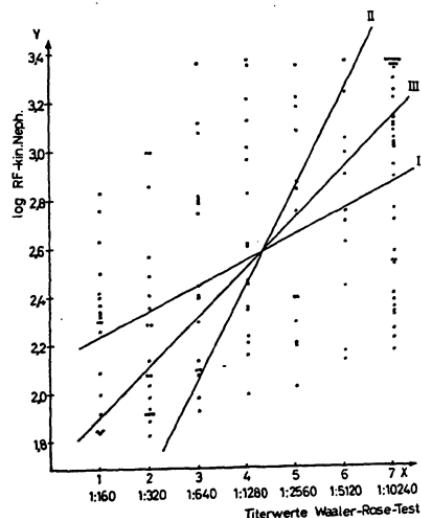


Abb. 3: Vergleich der RF-kin.Neph.-Werte mit den Titerwerten des Waaler-Rose-Tests bei 138 Patienten mit c.p.
Korrelationskoeffizient: $r = 0,52$.

Regressionsanalyse:

$$\hat{y} = 2,12 + 0,11x \quad (I), \quad x = -2,0 + 2,44y \quad (II)$$

$$\text{Hauptkomponentenanalyse: } \hat{y} = 1,7 + 0,21\bar{x} \quad (III)$$

Abweichungen bis zu 20% zwischen Meßwert und Erwartungswert. Andere Untersucher stellten bei 71% von 190 Patientenserien einen teilweise nicht-linearen Verlauf fest (10). Es wurden jedoch auch bei der laser nephelometrischen RF-Bestimmung mittels IgG-beschichteter Latexitpartikel derartige Diskrepanzen zwischen errechnetem und gemessenem Wert beschrieben (1). 2 Ursachen für dieses Phänomene werden diskutiert:

1. Das Vorliegen von dimeren IgG-RF- oder IgG-IgM-RF-Komplexen, die bei zunehmender Verdünnung möglicherweise dissoziieren (1).

2. Die relativ geringe Affinität des RF zum autologen IgG, die durch die Änderung des pH-Wertes oder der Molarität des Reaktionsgemisches bei Zugabe von Puffer vermindert werden kann (19). Dadurch kommt es zur Dissoziation von bereits komplexiertem RF, der wieder mit hitzeaggregiertem IgG, zu dem eine höhere Affinität besteht, reagieren kann (19).

Die RF-kin-Neph-Werte zeigen eine Korrelation mit den Titerwerten des verwendeten LA- und WR-Tests. Wegen der weiten Überlappung der Meßbereiche ist im Einzelfall aufgrund der Titerstufen kein sicherer Rückschluß auf die kinetisch-nephelometrischen Meßwerte und umgekehrt möglich. Andere Untersucher (10) fanden dagegen eine bessere Korrelation zwischen den RF-kin.Neph-Werten und den Titerwerten eines anderen LA-Tests (Calbiochem-Behring). Hier war die Überlappung der Meßbereiche geringer und nur durch die Abweichung infolge der subjektiven Ablesung der Agglutinationstiter (± 1 Stufe) bedingt.

Barfield (20) verglich mit dem Hyland-Laser nephelometer (LN) bestimmte RF-Werte mit den im LA- und WR-Test (Modifikation nach Szwartz und Schlossmann) ermittelten Titerwerten. Husmann (1) führte eine entsprechende Vergleichsstudie zwischen laser nephelometrisch (Behring-LN) bestimmten RF-Werten und einem LA- bzw. einem modifizierten WR-Test durch. Bei beiden laser nephelometrischen Verfahren wird eine Endpunktmeßung durchgeführt; das Hyland-LN verwendet als Antigen hitzeaggregiertes Human-IgG, das Behring-LN IgG-beschichtete Latexitpartikel. Beide Autoren kamen trotz unterschiedlicher Meßmethoden zu den gleichen Ergebnissen wie wir, nämlich eindeutige Korrelation zwischen den nephelometrischen Bestimmung und den Agglutinationsreaktionen, aber keine direkte Vergleichsmöglichkeit wegen der erheblichen Streuung der den einzelnen Titerstufen zugeordneten nephelometrischen RF-Werte. Eine Ursache für diese Streuung der Einzelwerte ist möglicherweise der zusätzliche Nachweis von RF der Klasse IgA und IgG mit FcY-Spezifität (1), da mit den herkömmlichen Agglutinationsreaktionen nur RF der Klasse IgM erfaßt werden (2, 11). IgA- und IgG-Antigammaglobulin-Faktoren werden bei seronegativen c.P.-Patienten vermutet (21). Mit dem Hyland-LN wurden Antigammaglobulin-Faktoren bei 18 von 44 Patienten mit seronegativer juveniler c.P. gefunden (2). Wir haben mit der kinetischen Nephelometrie RF bei 8 von 20 c.P.-Patienten nachgewiesen, die aufgrund von LA- und WR-Reaktionen als seronegativ eingestuft waren (18). Diese RF lagen jedoch in der Regel nur in niedrigen Konzentrationen (60–80 IU/ml) vor. Eine eindeutige Aussage, ob bei der nephelometrischen RF-Bestimmung IgA- und IgG-Antigammaglobulin-Faktoren miterfaßt werden, ist derzeit noch nicht möglich.

Schriftum:

- HUSMANN, K., LAKOMEK, H. J., RICHTER, O., JACOBI, E., KRUSKEMPER, H. L.: Quantitative Laser-nephelometrische Bestimmung von Rheumafaktoren mittels IgG-beschichteter Latexitpartikel. *Clin. Chem.* 25, 1125–1130 (1981).
- SCHMOLKE, B., LEYSSENNE, J., VORLANDER, K. O.: Nachweis von Antigammaglobulininfektionen mit Hilfe der Laser-Nephelometrie. *Diagnostik* 10, 865–869 (1977).
- FINLEY, P. R., HICKS, M. J., WILLIAMS, R. J., HINLICKY, J., LICHTI, D. A.: Rate Nephelometry: Measurement of Rheumatoid Factor in Serum. *Clin. Chem.* 25, 1909–1914 (1979).
- TRAXLER, G.: Kinetische Nephelometrie. *Medizintechnik* 99, 79–84 (1979).
- SINGER, C., PLATZ, C. M.: The Latex-Fixation-Test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Amer. J. Med.* 21, 888–892 (1965).
- WAALER, E.: On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep red blood corpuscles. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 17, 172–187 (1938).
- MITCHELL, D. M., FRIES, J. F.: An analysis of the American Rheumatism Association criteria for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 25, 481–487 (1982).
- RITCHIE, F. R.: Überblick über die klinisch-pathologische Bedeutung des Rheumafaktors. *Beckman Information Nr. 015-5567 Rev. 1-A.*
- Beckman Instructions Nr. 015-5567 Rev. 1-A.
- DECKER, F., STÖTER, F., LYON, J. A., EVANS, J. H., POWERS, W. W., WHITTAKER, R. L., DECKER, M. J.: Performance of a New Rate-Nephelometric Assay for Rheumatoid Factor, and Its Correlation with Tube-Titer Results for Human Sera and Synthetic Fluid. *Clin. Chem.* 28, 2214–2218 (1982).
- DA JONG, V.: Labormethoden für die Diagnose rheumatischer Erkrankungen. *Laboratoriumsmedizin* 35, 1–10 (1989).
- IMMICH, H.: *Medizinische Statistik*. Schattauer Verlag, Stuttgart (1974).
- DOCUMENTA GEIGY, *Wissenschaftliche Tabellen*. Geigy Pharma, Basel (1959).
- AVERDUNKE, R., BORNER, K.: Korrelation der Thrombozytopenie bei Dicumarol-behandelten Patienten unter Verwendung verschiedener Thromboplastin-Präparate. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 8, 263–268 (1970).
- HAECKER, R.: Standardisierte Seren beim Vergleich von kinetisch-chemischen Analyseverfahren. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 433–437 (1980).
- ANDERSON, S. G., BENTZON, M. W., HOUBA, V., KRAG, F.: International reference preparation of rheumatoid arthritis serum. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 42, 311–318 (1970).
- BEHR, W.: *Unveröffentlichte Ergebnisse*.
- HANSSON, U. B., WINBLAD, S.: A Simple Routine Method for Detecting Hidden Rheumatoid Factors. *J. Immunol. Meth.* 22, 155–164 (1978).
- BARDFELD, R., MÜLLER, W.: Nachweis von Rheumafaktoren mit Hilfe der Laser-nephelometrie. *Akt. Rheumatol.* 7, 182–187 (1982).
- TORRIGIANI, G., ROITT, I. M., LLOYD, K. N., CORBETT, M.: Elevated IgG antiglobulins in patients with seronegative rheumatoid arthritis. *Lancet* 1, 14–16 (1970).

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. Dipl. Chem. Werner Behr
Dr. med. Michael Jotzoff
Zentrallaboratorium des Zentralklinikums Augsburg
Stenglinstraße 2
D-8900 Augsburg