

Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten

ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)

Begriffe, Allgemeine methodenspezifische Anforderungen

DIN
58 967
Teil 30

Serodiagnosis of infectious and immunodeficiency diseases; ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay); concepts, general method-related requirements

Inhalt

	Seite		Seite
1 Anwendungsbereich und Zweck	1	5 Anforderungen an Chemikalien und Reagenzien	3
2 Begriffe	2	5.1 Feste Phase	3
2.1 Grundbegriffe	2	5.2 Blockierungssubstanz	3
2.2 ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)	2	5.3 Verdünnungsmedium	3
2.2.1 Sandwichtest (Mehrschritt-ELISA)	2	5.4 Waschflüssigkeit	4
2.2.2 Kompetitionstest	2	5.5 Substratlösung	4
2.3 Enzymmarkierter Antikörper	2	5.6 Stopplösung	4
2.4 Enzymmarkiertes Antigen	2	6 Leistungsfähigkeit des Testsystems	4
2.5 Feste Phase für ELISA	2	6.1 Diagnostische Spezifität	4
2.6 Blockierungssubstanzen für ELISA	2	6.2 Diagnostische Sensitivität	4
2.7 Verdünnungsmedien für ELISA	2	6.3 Vorbestimmung des Cut-off-Wertes	4
2.8 Waschflüssigkeit für ELISA	2	6.4 Vorbestimmung des grenzwertigen Bereiches	4
2.9 Substratlösung für ELISA	2	6.5 Deklaration von Störfaktoren	4
2.10 Stopplösung für ELISA	2	7 Anwendung des Testsystems	4
2.11 Cut-off-Wert (Grenzwert)	2	7.1 Untersuchungsgut	4
2.12 Grenzwertiger Bereich	2	7.2 Untersuchungslaboratorium und spezielle Ausrüstung	4
2.13 Untere Nachweisgrenze	2	7.3 Annahme des Untersuchungsgutes	4
2.14 Methodische Spezifität	2	7.4 Mitführen von Kontrollen bei der Auswertung	4
2.15 Diagnostische Spezifität	2	7.4.1 Kontrollen bei qualitativen Untersuchungen	4
2.16 Diagnostische Sensitivität	2	7.4.2 Kalibratoren bei quantitativen Untersuchungen	4
3 Bezeichnung	2	8 Befundmitteilung und Befunddokumentation	5
4 Prinzip der Testsysteme	2	9 Qualitätssicherung	5
4.1 Antikörpernachweise	3	Zitierte Normen	5
4.1.1 Sandwichtest	3	Erläuterungen	5
4.1.2 Kompetitionstest	3		
4.2 Antigennachweise	3		
4.2.1 Sandwichtest	3		
4.2.2 Kompetitionstest	3		

1 Anwendungsbereich und Zweck

Diese Norm gilt für alle serologischen Untersuchungsmethoden zur Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten mit dem Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA). Sie legt die Voraussetzungen für den qualitativen und quantitativen Nachweis von Antigenen oder Antikörpern in Körperflüssigkeiten mit dem ELISA fest.

Zweck der Definition dieser Mindestanforderungen ist es, die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse in verschiedenen Laboratorien und

mit unterschiedlichen Testsystemen und Chargen zur Bestimmung des gleichen Parameters zu sichern.

Spezielle Anforderungen an bestimmte Nachweisverfahren für erregerspezifische Antikörper sind in den Normen der Reihe DIN 58 969, für Antikörper bei Immunkrankheiten in den Normen der Reihe DIN 58 968 festgelegt.

Serologische Untersuchungen von Infektionskrankheiten müssen in medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien nach DIN 58 956 Teil 1 durchgeführt werden.

Fortsetzung Seite 2 bis 5

2 Begriffe

2.1 Grundbegriffe

Grundbegriffe der Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten nach DIN 58 967 Teil 10. Grundbegriffe der Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin nach DIN 58 936 Teil 1 und Teil 2.

2.2 ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)

Der ELISA ist ein Testsystem, bei dem ein Antigen oder definiertes Antigengemisch bzw. ein Antikörper oder definiertes Antikörpergemisch an eine feste Phase gebunden wird. Im weiteren Testablauf dient er dem Nachweis der korrespondierenden Antikörper bzw. Antigene. Die Antigen- bzw. Antikörper-Reaktion wird direkt oder über Folgereaktionen von enzymmarkiertem Antikörper, Antigen oder sonstigem enzymmarkierten Reaktionspartner (z. B. Protein A) nachgewiesen oder gemessen.

2.2.1 Sandwichtest (Mehrschritt-ELISA)

Ein Sandwichtest bezeichnet einen ELISA, bei dem ein Reaktionspartner mit einem weiteren Partner reagiert, der seinerseits von weiteren Partnern unter Komplexierung nachgewiesen wird.

2.2.2 Kompetitionstest

Ein Kompetitionstest bezeichnet einen ELISA, bei dem ein definierter Reaktionspartner mit dem nachzuweisenden Reaktionspartner um eine Bindungsstelle konkurriert.

2.3 Enzymmarkierter Antikörper

Ein enzymmarkierter Antikörper ist ein Antikörper, der hinsichtlich seiner Antigenbindungseigenschaften und der Immunglobulinklasse definiert ist und an den ein Enzym chemisch gebunden ist.

2.4 Enzymmarkiertes Antigen

Ein enzymmarkiertes Antigen ist ein Antigen oder Antigengemisch, das, soweit möglich, hinsichtlich seiner physikalischen, biochemischen und proteinchemischen Eigenschaften definiert ist und an das ein Enzym chemisch gebunden ist.

2.5 Feste Phase für ELISA

Die feste Phase für ELISA ist das Trägermaterial für die Immobilisation des dafür vorgesehenen Reaktionspartners (Antikörper oder Antigen).

2.6 Blockierungssubstanzen für ELISA

Blockierungssubstanzen für ELISA sind Proteine, Polypeptide oder andere bindungsfähige Substanzen, die in der Lage sind, freie Bindungsstellen an der festen Phase für die folgenden spezifischen Reaktionspartner unzugänglich zu machen oder zu minimieren, ohne an den immunologischen Reaktionen unkontrolliert teilzunehmen.

2.7 Verdünnungsmedium für ELISA

Ein Verdünnungsmedium für ELISA ist ein Medium zur Verdünnung der Reaktionspartner mit definierter Verdünnungsechtheit für das Testsystem.

2.8 Waschflüssigkeit für ELISA

Die Waschflüssigkeit für ELISA ist das zur Entfernung aller nicht immunologisch gebundenen Reaktionspartner verwendete Medium.

2.9 Substratlösung für ELISA

Die Substratlösung für ELISA ist das Indikatorsystem des Tests. Sie liefert ein photometrisch meßbares Signal.

2.10 Stopplösung für ELISA

Die Stopplösung für ELISA ist das Reagenz zur irreversiblen Beendigung der enzymatischen Reaktion nach einer festgelegten Zeit. Eine Reaktion mit dem entstandenen Substrat ist möglich.

2.11 Cut-off-Wert (Grenzwert)

Der Cut-off-Wert ist die Unterscheidungsgrenze zwischen negativen und positiven Proben, bei der ein Minimum an falsch-positiven und/oder falsch-negativen Ergebnissen erzielt wird.

2.12 Grenzwertiger Bereich

Der grenzwertige Bereich ist der klinisch und/oder methodisch bedingte und für jeden Test definierte Unsicherheitsbereich in der Interpretation des Ergebnisses. Er umfaßt den Überschneidungs- bzw. Unterscheidungsbereich von negativem und positivem Kollektiv.

2.13 Untere Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze ist das erste von Null unterscheidbare Ergebnis. Es ist dadurch gekennzeichnet, daß es signifikant oberhalb der dreifachen Standardabweichung (3S-Bereich bzw. 97,5 %-Interperzentilbereich) der analytfreien Zone liegt.

2.14 Methodische Spezifität

Die methodische Spezifität des Tests definiert die Eigenschaft, nur den/die gesuchten Reaktionspartner zu erkennen. Soweit Kreuzreaktionen oder Interferenzen bekannt sind, müssen diese deklariert sein.

2.15 Diagnostische Spezifität

Diagnostische Spezifität

$$= \frac{\text{echt-negative Ergebnisse}}{\text{echt-negative} + \text{falsch-positive Ergebnisse}} \cdot 100 \text{ in } \%$$

2.16 Diagnostische Sensitivität

Diagnostische Sensitivität

$$= \frac{\text{echt-positive Ergebnisse}}{\text{echt-positive} + \text{falsch-negative Ergebnisse}} \cdot 100 \text{ in } \%$$

3 Bezeichnung

Bezeichnung der allgemeinen methodenspezifischen Anforderungen an den ELISA zum Nachweis von Antikörpern und Antigenen:

Nachweis DIN 58 967 — ELISA

4 Prinzip der Testsysteme

Unter dem Begriff ELISA werden viele verschiedenartig aufgebaute Testsysteme zusammengefaßt.

Die in den Abschnitten 4.1 und 4.2 aufgeführten Versuchsanordnungen sind Beispiele für eingeführte Verfahren. Sie schließen andere Versuchsanordnungen nicht aus.