

E

Enzyme-linked Immunosorbent Assay



G. Töpfer
Schöpstal, Deutschland

Synonym(e) ELISA

Englischer Begriff enzyme linked immuno sorbent assay

Definition Von Engvall (► [Engvall, Eva](#)) und Perlman (Engvall und Perlman 1971) wird unter ELISA ein Sandwich-Enzymimmunoassay (► [Sandwich-Assay](#)) verstanden. In neuerer Zeit wird der kompetitive ► [Enzymimmunoassay](#) mit enzymmarkierten und unmarkierten Immunkomplexen an der festen Phase ebenfalls zum ELISA gezählt.

Physikalisch-chemisches Prinzip In der Erstbeschreibung von Engvall und Perlman (1971) versteht man unter dem „enzyme-linked immunosorbent assay“ heterogene Enzymimmuntests, bei denen an Festphasen immobilisierte Antigene oder Antikörper mit der Untersuchungsflüssigkeit inkubiert werden, wobei bei Anwesenheit des spezifischen Bindungspartners ein Immunkomplex gebildet wird, der nach Entfernung unspezifisch gebundener Bindungspartner (meistens durch Waschen) einen zweiten immunologischen Reaktionspartner, an den ein Enzym gebunden ist (Konjugat), bindet. Beide Reaktionsschritte können auch simultan durchgeführt werden (Einschritt-ELISA). Nach Entfernen von überschüssigem, nicht im Immunkomplex gebundenem Konjugat (Abtrennung normalerweise durch Waschen, in speziellen Fällen auch durch Absorption, Fällung, Immunpräzipitation oder Affinitätsbindung) erfolgt nach Zugabe eines Substrats die Enzym-Substrat-Reaktion, wobei die Farbentwicklung der Konzentration des Analyten direkt proportional ist.

Mit zunehmender Verbreitung der Immunoassays und Einführung zahlreicher Varianten wurde der Begriff ELISA auch auf die Gruppe der kompetitiven Enzymimmunoassays (► [Immunoassay, kompetitiver](#)) ausgedehnt. Dabei werden einfache Immunkomplexe aus an die Festphase gebundenem Antigen oder Antikörpern und um diesen Bindungspartner konkurrierende Reaktionspartner in der Untersuchungsflüssigkeit gebildet. Ein Reaktionspartner in der Untersuchungsflüssigkeit ist der zu bestimmende Analyt und der andere ein zugesetzter enzymmarkierter gleicher Reaktionspartner. Es wird umso mehr enzymmarkierter Immunkomplex gebildet, je weniger (konkurrierender) Analyt im Untersuchungsmaterial vorliegt. Die immobilisierten Immunkomplexe liegen überwiegend enzymmarkiert (bei niedriger Analytkonzentration) oder überwiegend unmarkiert (bei hoher Analytkonzentration) vor. Die Definition ELISA, die den kompetitiven Enzymimmunoassay einbezieht, wird u. a. von Davies (2005) benutzt.

Einsatzgebiet Bestimmung von Antigenen, Antikörpern und Haptenen (Antigene geringerer Molmasse).

Untersuchungsmaterial – Entnahmebedingungen Serum (Plasma), Liquor, Urin und andere Körperflüssigkeiten.

Instrumentalisierung Geräte mit hohem Automatisierungsgrad bei großen Analyseserien, manuelle Verfahren bei kleinen Analyseserien. Als feste Phase werden u. a. verwendet: Mikrotiterplatte, Röhrchen(wand), Kugel, Magnetpartikel oder Membran.

Spezifität – Fehlermöglichkeit Im Ein-Schritt-Verfahren des Sandwich-Enzymimmunoassays kann bei Antigenüberschuss das Prozone-Phänomen (► [High-Dose-Hook-Effekt](#)) stören. Rheumafaktoren der IgM-Klasse erhöhen das Ergebnis bei der Bestimmung von spezifischen IgM, wenn die Probe gleichzeitig spezifisches IgG enthält. Sind spezifisches IgM und spezifisches IgG gleichzeitig vorhanden, so kann

durch Konkurrenz der Antikörper das IgM-Ergebnis vermindert werden. Besonders in der Infektionsserologie werden Kreuzreaktionen beobachtet, die das Ergebnis einschränken können. Im Plasma als Untersuchungsmaterial kann das Fibrinogen zu Störungen der Antigen-/Antikörperbindung führen. Beim Nachweis von Autoantikörpern können falsch positive Reaktionen durch Antikörper gegen Blockierungsproteine (Rinderserumalbumin, Kasein, Gelatine u. a.) auftreten. Humane Anti-Maus-Antikörper in der Probe können in Testsystemen mit Maus-Antikörpern stören.

Sensitivität Der Sandwich-Enzymimmunoassay mit Farbdetektion zeigt eine Empfindlichkeit von 10^{-16} mol/L. Kompetitive Enzymimmunoassays stehen den Sandwich-Enzymimmunoassays nur gering nach. Die Fluoreszenzdetektion erreicht 10^{-18} , die Chemilumineszenz 10^{-20} mol/L (s. Tabelle im Stichwort ► [Immunoassay](#)).

Praktikabilität – Automatisierung – Kosten Plattenteste (Mikrotiterplatte mit der Möglichkeit zur Bearbeitung einzelner Kavitäten) für den ELISA mit Farbdetektion sind sowohl manuell als auch automatisiert bearbeitbar. Einzelteste für

► **Chemolumineszenz**-Detektion sind möglich. Labore mit höheren Probendurchsätzen verwenden Analysenautomaten für den ELISA.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Bedeutung inzwischen größer als für radioimmunologische Tests, nahezu so groß wie für klinisch chemische Tests. Die Aussage wird durch Kreuzreaktionen und andere Fehlermöglichkeiten (sog. Matrixeffekte), besonders in der Infektionsserologie, teilweise eingeschränkt.

Literatur

- Davies C (2005) Principles. In: Wild D (Hrsg) The immunoassay handbook, 3. Aufl. Elsevier, Amsterdam, S 3–40
- Engvall E, Perlman P (1971) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8:871–874
- Schöblier W, Töpfer G, Rüger HJ (1988) Ein einfacher und schneller Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung des C-reaktiven Proteins. *J Clin Chem Clin Biochem* 26:75–78