

Optimierung der quantitativen Antikörpermessung mit dem ELISA unter Berücksichtigung der klinischen Plausibilität

H. W. Doerr, St. Geiger

Zentrum der Hygiene, Abteilung für Medizinische Virologie, Frankfurt

Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit wird ein quantitatives Verfahren zur Auswertung des ELISAs vorgestellt, das alle Anforderungen an eine gute Antikörpermessung erfüllt und sich besonders durch große klinische Plausibilität und Ökonomie in der Virusdiagnostik auszeichnet. Die Forderung nach der überregionalen Teststandardisierung wird berücksichtigt. Verschiedene Methoden zur quantitativen Antikörpermessung werden verglichen. Bestimmt werden Antikörper der Immunglobulinklasse G (IgG) gegen das Zytomegalievirus (CMV). Die Methode basiert auf der Herstellung einer einzigen Serumverdünnung (1:160) und führt in Kombination mit einer Standardkurve zu Ergebnissen in Form von Titern. Drei Varianten mit unterschiedlichen Anwendungsschwerpunkten stehen zur Verfügung. Für jedes Probanden-Serum wird immer die Reaktion mit Antigen und Kontrollantigen gleichzeitig in einem Testansatz geprüft.

Schlüsselwörter:

Quantitative Antikörpermessung – Plausibilität – Zytomegalievirus-IgG-Antikörper – ELISA

Summary:

A procedure was worked out for the quantitative evaluation of a one-step-ELISA on serum titre resp. concentration of IgG antibodies to cytomegalovirus (CMV) late-antigen. The procedure was based on the establishment of a reference curve, which was calculated from the results obtained from conventional IgG antibody titration of 64 CMV seropositive blood specimens and the corresponding result of a one-step-ELISA using only a single serum dilution of 1:160. Different methods of quantitative antibody determination by ELISA were compared with special regard of clinical communication. The new procedure serves as a model for a standardized, time and cost-saving method of quantitative antibody determinations.

Keywords:

quantitative determination of viral antibodies – cytomegalovirus-specific IgG – ELISA – clinical communication

Einleitung

Der Nachweis erregerspezifischer Antikörper nimmt in der Virusdiagnostik einen breiten Raum ein. Für serologische Routineuntersuchungen, die in großer Zahl durchgeführt werden, hat sich der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bewährt (2, 3, 7). Zur Klärung der Frage, ob beim Patienten eine frische Virusinfektion oder eine Immunität durch vorherigen Antigenkontakt vorliegt, wird durch wiederholte Blutentnahmen der Verlauf der Serum-Antikörperaktivität bestimmt. Eine quantitative Auswertung des ELISAs ist deshalb, abgesehen von der Antikörperbestimmung in einzelnen Immunglobulinklassen, von evidenter Bedeutung (5, 14). Bestimmungen von Antikörpern der Immunglobulinklasse G (IgG) gegen das Zytomegalievirus (CMV) zählen zu den routinemäßig oft durchzuführenden, labormedizinischen Untersuchungen.

Das CMV gehört zur Familie der humanen Herpesviren. Es wird diaplazentar übertragen und kann Fetopathien (10) verursachen. Unter einer immunsuppressiven Therapie (z. B. nach Organtransplantation) oder bei Erkrankungen, die das Immunsystem schädigen (z. B. AIDS), kann

es zur Exazerbation einer latenten bzw. subklinisch-chronischen CMV-Infektion kommen, da das Virus lebenslang in bestimmten epithelialen Organen persistiert (z. B. Speicheldrüsen). Bei Blut- und Organspendern sollte der Immunstatus für Zytomegalie überprüft werden (4, 7).

Ziel der Arbeit war es, einen Beitrag zum Standardprinzip in der Virusdiagnostik (11) zu leisten und ein quantitatives Auswertungsverfahren für die Antikörperbestimmung mit dem ELISA zu entwickeln, das die Antikörperaktivität im Patientenserum möglichst genau erfaßt, plausible Ergebnisse für den behandelnden Arzt liefert und in der serologischen Diagnostik ökonomisch einsetzbar ist (9).

Nach dem Vergleich verschiedener Methoden entschlossen wir uns für die Kombination der Standardkurvenmethode mit der direkten Angabe von Titern.

Material und Methoden

Wir untersuchten 120 Serumproben, die alle zur virologischen Routinediagnostik in die Abteilung für Medizinische Virologie im Zentrum der Hygiene des Klinikums der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt einge-

sandt wurden. Zu den Einsendern zählten die verschiedenen Zentren des Universitätsklinikums, praktizierende Ärzte und Krankenhäuser aus dem Raum Frankfurt. Hinzu kamen 10 institutseigene Poolseren zur Qualitätskontrolle.

Bei den Patienten bestand entweder der klinische Verdacht auf eine Infektion mit Zytomegalievirus, oder der Immunstatus sollte bestimmt werden.

Wir verwendeten die Reagenzien und Testplatten des Enzygnost®-Cytomegalie-ELISAs der Behringwerke AG, Marburg. Bei diesem Kit werden von jedem Serum zwei Proben in korrespondierenden Reaktionsvertiefungen getestet. Eine Vertiefung ist mit Antigen und die andere mit negativem Kontrollantigen beschichtet, das aus CMV-infizierten bzw. nichtinfizierten Zellkulturen gewonnen wurde. In den Vorversuchen testeten wir die 120 Patientenseren mit der konstanten und vom Hersteller empfohlenen Screening-Verdünnung von 1:44. Das Arbeitsschema ist in Tab. 1 festgehalten.

Die Extinktion (MWL = 405 nm) wurde mit dem Behring-ELISA-Processor II direkt in den Reaktionsvertiefungen gemessen und für jede Probe die Extinktionsdifferenz von Antigen-Kontrollantigen berechnet.

Aus den CMV-IgG-positiven Patientenseren bildeten wir ein Kollektiv von 64 Serumproben, die den gesamten quantitativen Bereich der Antikörperkonzentrationen möglichst gut abdeckten.

Diese Seren titrierten wir, indem wir stufenweise um den Faktor 2 verdünnten, ausgehend von der Anfangsverdünnung 1:40, bis über die Antikörper-Nachweisgrenze. Ansonsten war das Arbeitsschema mit Tab. 1 identisch. Zur Titerbestimmung diente der „cut-off“ von Delta-E = 0,2.

Mit Hilfe der graphischen Darstellung der Titrationskurven machten wir die Kinetik der Antikörperbindung in den unterschiedlichen Verdünnungsstufen sichtbar und ermittelten eine optimale Verdünnungsstufe, die im endgültigen Testverfahren als konstante Arbeitsverdünnung Verwendung finden sollte.

Die numerische Analyse führten wir mit einem Computer durch. Die Standardkurve wurde mit der errechneten Funktion unter direkter Programmsteuerung auf einem Matrixdrucker gezeichnet.

Ergebnisse

Zur graphischen Analyse der Titrationsergebnisse wählten wir die Koordinatendarstellung. Auf der Abszisse trugen wir den negativen Briggschen Logarithmus der

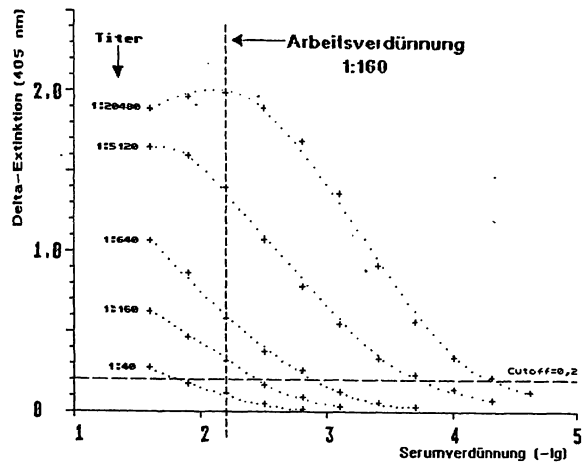


Abb. 1: Titrationskurven CMV-IgG-positiver Seren, mit Kennzeichnung der konstanten Serum-Arbeitsverdünnung

Serumverdünnung auf. Auf der Ordinate den Extinktionsunterschied von Antigen minus Kontrollantigen. Abb. 1 zeigt exemplarisch 5 Titrationskurven und die Kennzeichnung der konstanten Arbeitsverdünnung.

Alle Kurven zeigen einen Bereich, in dem die Extinktionsdifferenz fast linear mit steigender Verdünnung abnimmt. Die Titrationskurven von Seren mit unterschiedlicher Antikörperaktivität konvergieren mit zunehmender Verdünnung und verlaufen nicht genau parallel zueinander. Seren mit großem Titer (> 2560) zeigen einen S-förmigen Kurvenverlauf. Bei einigen Seren mit hohem Antikörpergehalt kam es zum Zonenphänomen. Auf Grund von Wechselwirkungen und gegenseitigen Hemmungsprozessen zwischen den Antikörpern ergaben sich bei niedrigeren Verdünnungen gleichhohe oder sogar niedrigere Delta-E-Werte, als bei höheren Verdünnungen.

Die Serumverdünnung von 1:160 erweist sich als optimale Arbeitsverdünnung. Mit dieser Verdünnung wird die Antikörperaktivität bei Seren mit großem und bei Seren mit kleinem Antikörpergehalt gut erfaßt. Seren mit einem Titer von 1:40 zeigen dabei noch einen Wert von Delta-E > 0,1. Die Kurven oberhalb dieser Extinktionsdifferenz sind nur moderat gekrümmt. Durch die 1:160fache Verdünnung ist bei Seren mit großem Antikörpertiter (z. B. 1:20480) die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Zonenphänomenen, schon in sehr hohem Maße gesenkt. Versuche zeigten, daß bei dieser Verdünnung auch der

Tab. 1: Arbeitsschema des CMV-IgG-ELISAs

Arbeitsschritte	Material und Zeiten	Verd.	Menge
1. Pipettieren	Patienten- und Kontrollseren + Verdünnungspuffer (pH 7,0)	1:44 (u.a.)	0,2 ml
2. Inkubieren	Eine Stunde bei 37°C in feuchter Kammer im Brutschrank		
3. Waschen/Absaugen	Mit Phosphatpuffer-Tween-20-Lösung		0,25 ml (4 x)
4. Pipettieren	Anti-Human-IgG/AP-Konjugat (γ-Ketten spezifisch)	1:80	0,05 ml
5. Inkubieren	Siehe 2.		
6. Waschen/Absaugen	Siehe 3.		
7. Pipettieren	Substrat: p-Nitrophenylphosphat in Substratpuffer gelöst	2 Tbl./10 ml	0,1 ml
8. Inkubieren	Substratsatz: 45 min bei 20 bis 25°C und Lichtabschirmung		
9. Pipettieren	Stopplösung: 2 N NaOH		0,05 ml
10. Messen	Extinktionsdifferenz von Antigen — Kontrollantigen mit Behring-ELISA-Processor II, MWL = 405 nm		

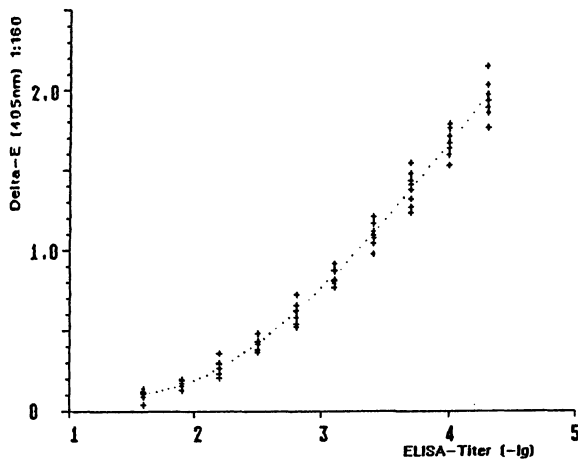


Abb. 2: CMV-IgG-Standardkurve mit Darstellung der Extinktionsdifferenzen der Serumverdünnung 1:160

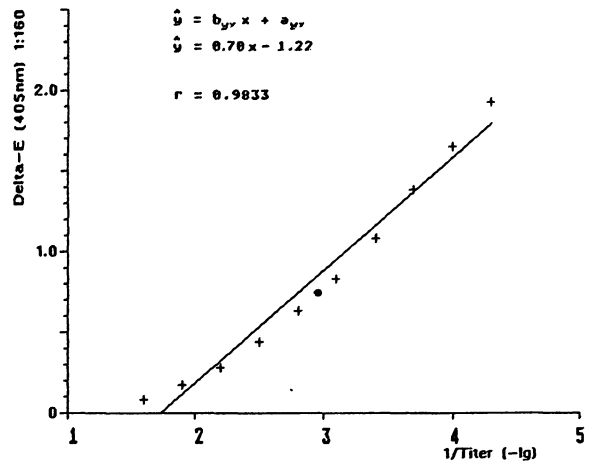


Abb. 3: Regressionsgerade im Delta-E-Mittelwertstreudiagramm

Einfluß anderer Immunglobulinklassen (z. B. IgM), die zusätzlich im Serum sind, minimiert ist. Zur Kontrolle der Inter-Assay-Varianz der Titrationen führten wir bei jedem Testansatz 10 institutseigene Poolseren mit, deren Titer bekannt waren. Getestet wurde immer die Titer-Verdünnung, die nächst niedrigere und die nächst höhere Verdünnung. Die Ergebnisse dieser Kontrollseren variierten im Rahmen der Enzygnost-ELISA-Reproduzierbarkeit um \pm eine Titerstufe.

Zur Berechnung der Standardkurve für die quantitative CMV-IgG-Antikörpermessung führten wir eine Polynomapproximation nach der Methode der kleinsten Abweichungsquadrate (16) durch. Wir entnahmen aus jeder der 64 Titrationen ein Wertepaar. Für die Berechnung der Koeffizienten setzten wir als X-Wert den negativen dekadischen Logarithmus des in der Titration erreichten Titers ein. Die Logarithmierung war zur Angleichung der Koordinatendimensionen und die Negativierung zur Vorzeichenänderung erforderlich. Als Y-Wert setzten wir die Extinktionsdifferenz von Antigen minus Kontrollantigen ein, die bei der Serum-Arbeitsverdünnung von 1:160 resultierte.

Die Polynomfunktion dritten Grades, zur Berechnung der Standardkurve hat folgende Grundform:

$$y = A_3x^3 + A_2x^2 + A_1x^1 + A_0$$

Bedeutung der Funktionsglieder:

y = Extinktionsdifferenzantigen minus Kontrollantigen, bei der Verdünnung 1:160.

x = -lg des Titers beim Antikörpernachweis.

Tab. 2: Titertabelle zur Ermittlung der CMV-IgG-ELISA-Titer

Delta-E _{405nm} (1:160)	1/Titer (CMV-IgG)
$\geq 0,114 - \leq 0,135$	40
$> 0,135 - \leq 0,218$	80
$> 0,218 - \leq 0,353$	160
$> 0,353 - \leq 0,533$	320
$> 0,533 - \leq 0,750$	640
$> 0,750 - \leq 0,996$	1280
$> 0,996 - \leq 1,264$	2560
$> 1,264 - \leq 1,546$	5120
$> 1,546 - < 1,954$	10240
$\geq 1,954$	≥ 20480

A_{0-3} = Koeffizienten, die mit der Polynomapproximation ermittelt wurden.

Errechnete Koeffizienten:

$$A_0 = 1,13330$$

$$A_1 = -1,45019$$

$$A_2 = 0,58374$$

$$A_3 = -4,71380 \text{ E-02}$$

Durch das Einsetzen der Koeffizienten in die Polynomfunktion läßt sich die Standardkurve (s. Abb. 2) berechnen.

Die Abb. 3 zeigt die Regressionsgerade im Mittelwertstreudiagramm.

Tab. 2 gibt die Titertabelle zur Ermittlung der CMV-IgG-Antikörper-Titer wieder. Durch das Zuordnen der Delta-E-Werte, die mit der Arbeitsverdünnung (1:160) ermittelt wurden, zu den Delta-E-Intervallen der Tabelle, kann man direkt auf die Antikörper-Titer (bzw. deren Reziprokwerte) schließen.

Die Grenzen der Delta-E-Intervalle errechneten wir durch das Einsetzen des arithmetischen Mittels zweier benachbarter Titer in die Standardkurvenfunktion.

Um alternativ zur Titertabelle den CMV-IgG-Titer auch aus dem Extinktionswert der Arbeitsverdünnung berechnen zu können, ermittelten wir eine Umkehrfunktion der Standardkurve. Das Verfahren ist identisch mit der oben durchgeführten Polynomapproximation. 10 Wertepaare wurden verwendet. Als Y-Werte wurden die negativen Logarithmen von in der Praxis üblichen Antikörper-Titern (1:40, 1:80, 1:160 usw.) eingesetzt. Als X-Werte wurden die entsprechenden, mit der Standardkurvenfunktion errechneten Extinktionsdifferenzen eingesetzt.

Koeffizienten der Umkehrfunktion:

$$A_0 = 1,35020$$

$$A_1 = 3,35327$$

$$A_2 = -1,84368$$

$$A_3 = 0,46539$$

Der Delta-E-Wert aus dem ELISA wird zuerst in die Umkehrfunktion eingesetzt. Daraus resultiert der Logarithmus des Titers (y). Auf den Titer kommt man, wenn dieser Wert als Exponent zur Basis 10 gesetzt wird.

$$\text{Titer} = 10^{y(\text{Umkehrfunktion})}$$

Durch das Einzeichnen der Standardkurve in ein Koordinatensystem, gemäß Abb. 4, kann der Antikörper-Titer graphisch bestimmt werden.

Diskussion

Die Tab. 3 zeigt einige Beispiele für Ergebnisse verschiedener gängiger Methoden zur quantitativen Antikörpermessung mit dem ELISA. Alle Ergebnisse beschreiben dieselbe Antikörperaktivität. Die Vielfalt der Ergebnisdimensionen läßt die Probleme ahnen, die bei der Befundweitergabe von Laboratorium zu Laboratorium und vom Virologen zum Kliniker, auftreten können.

Für das Zustandekommen einer adäquaten Behandlung ist es meist entscheidend, ob der behandelnde Arzt in die Lage versetzt wird, sich ein deutliches Bild von der Serologie des Patienten zu machen. Die Skalierung des CMV-ELISAs, mit um den Faktor 2 ansteigenden Titer-Reziprokwerten (z. B. 40, 80, 160 usw.), ist zu diesem Zweck sehr gut geeignet. Sie entspricht der zur Basis 2 exponentiellen Vermehrungsrate von stimulierten, immunkompetenten Zellen. Titer sind proportional linear zu der exponentiell ansteigenden Antikörperaktivität. Die Spannweite des quantitativen Bereiches, mit 10 Skalenschritten (von 40 bis 20480), ist auf klinische Fragestellungen zugeschnitten und für die behandelnden Ärzte sehr plausibel.

Da Titer ein gutes Maß für die relative Antikörperaktivität darstellen, besitzen sie eine größere klinisch-diagnostische Aussagekraft, als die Ergebnisse von getrennten Messungen der Antikörperaffinität und der Antikörperkonzentration (1, 14, 15).

Einige Methoden zur quantitativen Antikörpermessung basieren auf der unbewiesenen naturwissenschaftlichen Annahme, daß die Titrationskurven von Seren mit unterschiedlichen Konzentrationen der untersuchten Immun-

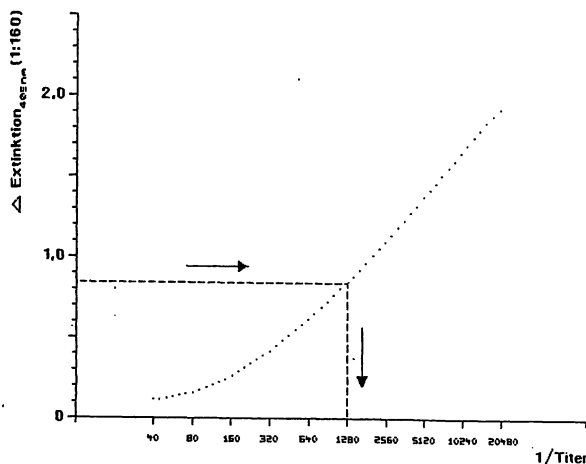


Abb. 4: Graphische Bestimmung des Antikörper-Titers

globulinklasse immer parallel verlaufen (9, 12, 14). Unsere Ergebnisse zeigten aber, daß solche Titrationskurven nicht immer parallel sind (14). Aus diesem Grund führten wir die Polynomapproximation durch (16). Dabei integrierten wir mathematisch die Titrationskurven von Seren mit gleichen Antikörpertitern, aber unterschiedlichen Steigungen. Um eventuell auftretende Variationen in der Routineanwendung, wie z. B. chargenabhängige Schwankungen der Antigenbeschichtung oder personelle Einflüsse, zu erkennen und ausgleichen zu können, werden bei jeder Untersuchung immer zusätzlich 2 Kontrollseren mit bekannten Titern (1:160 und 1:5120) getestet. Bei einer systematischen Abweichung beider Seren um mehr als \pm einen Titer, werden die Testergebnisse um die über einen Titer hinausgehende Abweichung korrigiert. Diese Maßnahme entspricht einer vertikalen Parallelverschiebung der Standardkurve. Diese Verschiebung ist legitim und darf nicht mit der Parallelverschiebung einzelner Titrationskurven verwechselt werden, denn die Standardkurve ist die statistische Wiedergabe der naturgemäßen Reaktion einer, den gesamten quantitativen Bereich repräsentierenden Population CMV-IgG-positiver Seren (bei der Verdünnung von 1:160), auf die an der Festphase gebundenen Antigene.

Als Beispiel sei die Effektive-Dosis-Methode von Leinikki et al. (12) genannt. Sie basiert absolut auf der Annahme, daß die Titrationskurven der Patientenserum parallel zu der Titrationskurve eines einzigen Referenzserums sind. In Analoga der E-D-Methode, wird sogar nur der Abstand dieser beiden Kurven in einer einzigen Serumverdünnung

Tab. 3: Ergebnisse von verschiedenen Methoden zur quantitativen Antikörpermessung, die alle dieselbe Antikörperaktivität beschreiben

Methode	Ergebnis
Titration	1:640
Extinktionswert	0,63
Positiv-/Negativ-Verhältnis	2,2
Positiv-Prozent	18%
MONA	6
Referenzwert/Perzentil	0,8
Effektive-Dosis	+0,96
Standardkurve/Titer	640

Tab. 4: Charakteristische Merkmale der verschiedenen Methoden zur quantitativen Antikörpermessung

Methode	Merkmale								
	Klinische Plausibilität	Relative AK-Aktivität	Quantitative Skala	Linear proportional z. Titer	Reproduzierbarkeit	Keine unbew. Annahmen	Seroepidemiologie	Einfache S-Verdünnung	
Titration	•	•	•	•	•	•	•	•	
Extinktionswert		•	•		•	•	•	•	
Verhältnis	•	•	•		•	•	•	•	
MONA	•	•	•		•	•	•	•	
Referenzwert/Perzentil		•	•		•	•	•	•	
Effektive-Dosis		•	•	•		•	•	•	
Standardkurven/Titer-Komb.	•	•	•	•	•	(*)	•	•	

untersucht. Da der Verlauf der Titrationskurven beider Seren sehr unterschiedlich sein kann und die Lage einer Kurve im Koordinatensystem durch die Beschreibung eines Punktes nicht möglich ist, müssen diese Verfahren als fraglich beurteilt werden.

In Tab. 4 sind verschiedene Methoden und die wünschenswertesten Merkmale der quantitativen Antikörpermessung mit dem ELISA aufgelistet. Die Standardkurven/Titer-Kombination zeichnet sich durch die meisten positiven Merkmale aus.

Bei der Anwendung des vorgestellten Verfahrens in verschiedenen Laboratorien wäre es vorteilhaft, die gleichen Kontrollseren zu verwenden. Die ELISA-Resultate würden somit vergleichbar und kommensurabel werden. Durch die Kombination der Standardkurve mit bundesweit einheitlichen Kontrollseren (11), könnte man einen entscheidenden Beitrag zur überregionalen Teststandardisierung leisten.

Das vorgestellte Verfahren läßt sich gut in die moderne EDV-Technologie einbinden (6). Durch die Verbindung des Photometers mit einem programmierbaren Rechner lassen sich die Extinktionswerte automatisch in Titer umrechnen. Ein Rundungsverfahren zur praxisgerechten Modifizierung der errechneten Titer kann in das Programm aufgenommen werden. Bei Bedarf ist an dieser Stelle auch eine Umrechnung in internationale Einheiten o.ä. möglich. Mit der Titertabelle ist eine Auswertung der Extinktionswerte, auch ohne Computerunterstützung gut durchführbar.

Durch den Test einer einzigen Serumverdünnung wird die Ökonomie des ELISAs optimiert. Im Hinblick auf die Kostenexplosion im Gesundheitswesen ist dies ein deutliches Positivum.

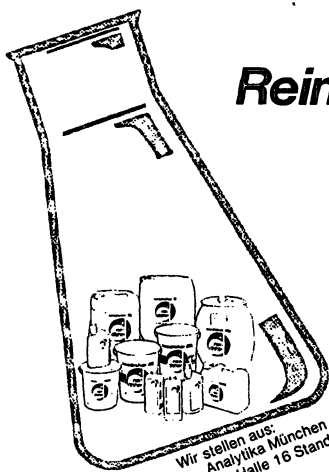
Wegen der Vorteile der Standardkurven/Titer-Kombination wurde diese Methode zur Messung der CMV-IgG-Antikörperaktivität in die virologische Routinediagnostik der Abteilung für Medizinische Virologie im Zentrum der Hygiene der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt eingeführt.

Schrifttum:

1. BUTLER, J. E., FELDBUSCH, T. L., McGIVERN, P. L.: The enzyme linked immunosorbent assay. A measure of antibody concentration or affinity? *Immunochimistry* 15, 131-136 (1978).
2. CAPPEL, R., CUYPER de, F., BRAEKELEER de, J.: Rapid detection of IgG and IgM antibodies to cytomegalovirus by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Arch. Virol.* 58, 263-268 (1978).
3. DENOYEL, G. A., GASPAR, A., NOUYRIGAT, C.: Enzyme immunoassay for measurement of antibodies to herpes simplex virus infection: comparison with complement fixation, immunofluorescent-antibody and neutralization techniques. *J. Clin. Microbiol.* 11, 114-119 (1980).
4. DOERR, H. W., BRAUN, R.: Die Rolle des Zytomegalievirus (CMV) bei Bluttransfusionen. *Virologische und immunologische Aspekte*. In: *Transfusionsbedingte Zytomegalievirusinfektionen* (Hrsg.: Th. Luthardt). Steinkopf-Verlag Darmstadt, 47-52 (1984).
5. DOERR, H. W., RENTSCHLER, M., SCHEIFLER, G.: Serologic detection of active infections with human herpes viruses (CMV, EBV, HSV, VZV). *Diagnostic Potential of IgA Class and IgB Subclass-Specific Antibodies*. *Infection* 15, 93-98 (1987).
6. DOERR, H. W., THEUER, D., BURKHARDT, H.-U.: Einführung eines einfachen Systems zur EDV-Befunddokumentation in die Virusdiagnostik. *Bundesgesundheitsbl.* 22, 205-212 (1979).
7. ENDERS, G.: Vergleich verschiedener serologischer Methoden zum Zytomegalieantikörpernachweis. In: *Transfusionsbedingte Zytomegalievirusinfektionen* (Hrsg.: Th. Luthardt). Steinkopf-Verlag Darmstadt, 53-61 (1984).
8. FELGNER, P.: Stepless antibody determination with the stick-ELISA technique. Results expressed as multiple of normal activity (MONA). *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A.* 242, 100-105 (1978).
9. GEIGER, St.: Die quantitative Antikörpermessung mit dem ELISA unter Berücksichtigung der klinischen Plausibilität. *Dissertation, Univ. Frankfurt, in Vorbereitung*.
10. HAAS, R., DOERR, H. W.: Schwangerschaft und intrauterine Virusinfektion. *Pädiat. Prax.* 22, 1-14 (1979/80).
11. HAAS, R., DOERR, H. W., PETERSEN, E. E., SCHMITZ, H.: Über die Vergleichbarkeit virusserologischer Befunde. *Bundesgesundheitsbl.* 20, 289-294 (1977).
12. LEINIKKI, P., PÄSSILA, S.: Solid phase antibody assay by means of enzyme conjugated to anti-immunoglobulin. *J. Clin. Path.* 29, 1116-1120 (1976).
13. LEINIKKI, P. O., SHEKARCHI, I., DORSETT, P., SEVER, J. L.: Enzyme-linked immunosorbent assay determination of specific rubella antibody levels in micrograms of immunoglobulin G per milliliter of serum in clinical samples. *J. Clin. Microb.* 8, 419-423 (1978).
14. DE SAVINGNY, D., VOLLER, A.: The Communication of ELISA data from laboratory to clinician. *Journal of Immunoassay* 1, 105-128 (1980).
15. STEWARD, M. W., LEW, A. M.: The importance of antibody affinity in the performance of immunoassays for antibody. *J. Immunolog. Methods* 78, 173-190 (1985).
16. ZURMÜHL, R.: *Matrizen und ihre technischen Anwendungen*. Springer-Verlag, Heidelberg (1964).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. med. H. W. Doerr
 cand. med. St. Geiger
 Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität
 Zentrum der Hygiene
 Abteilung für Medizinische Virologie
 Paul-Ehrlich-Straße 40
 6000 Frankfurt a. M. 70



Reinigung und Desinfektion von Laborglas



mit neodisher® Spezialprodukten
 für höchste Ansprüche

- im Forschungslabor
- im Lebensmittellabor
- im Industrielabor
- im Kontrolllabor



DR. WEIGERT

CHEMISCHE FABRIK DR. WEIGERT (GMBH & CO.)
 MÜHLENHAGEN 85 POSTFACH 28 01 40 D-2000 HAMBURG 28
 TELEFON 0410/78 96 0-0 TELEFAX 0410/78 96 0-20 TELEX 2 162 114