

Der Nachweis von Saphylokokken-Enterotoxinen (SET)

Autor(en): **Fey, H. / Stiffler-Rosenberg, G. / Wartenweiler-Burkhard, G.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **124 (1982)**

PDF erstellt am: **20.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-588140>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Veterinär-Bakteriologischen Institut der Universität Bern

Der Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxinen (SET)

H. Fey¹, G. Stiffler-Rosenberg, G. Wartenweiler-Burkhard, Chr. Müller und Othmar Rüegg

Obwohl die Staphylokokken-Intoxikation eine der häufigsten Lebensmittelvergiftungen ist, wird deren Diagnose meist immer noch aufgrund von Evidenzen geführt (Minor und Marth, 1967).

Dazu gehören:

a) Die typischen klinischen Symptome, wie Schwindel, Erbrechen, oft Diarrhoe mit einer Inkubation von 2–4 Std. Komplikationen kommen vor in Form von Dehydratation und Schock. Todesfälle sind selten und werden nur bei alten oder geschwächten Patienten beobachtet. Häufig erholt sich der Patient nach 24 Std.

b) epidemiologische Erhebungen, d. h. die Patienten gehören zu einer Essgemeinschaft und die isolierten Staphylokokkenstämme sind alle vom gleichen Phagentyp.

c) Die bakteriologische Untersuchung. Dabei wird der Nachweis von pathogenen Staphylokokken aus Patienten, dem inkriminierten Lebensmittel in der Menge von 10^5 bis 10^6 /g und, wenn möglich, dem verdächtigen Keimträger geführt.

Die Hoffnung, einen leicht zu handhabenden Labortest zu finden, der zuverlässig mit dem Enterotoxin-Bildungsvermögen eines Stammes korreliert ist, hat sich nicht erfüllt. Der Thermonukleasetest mit Lebensmittel oder Staphylokokkenisolat genügt nur insofern, als bei negativem Resultat auf Abwesenheit von Enterotoxin geschlossen werden kann (Zaadhof, 1978).

Somit ist nur der Nachweis der Enterotoxine selbst diagnostisch beweisend. Früher hat sich hiefür der Tierversuch angeboten, der durch serologische Nachweisverfahren mittlerweile obsolet geworden ist. Diese wurden von Sommerfeld und Terplan (1975) übersichtlich dargestellt. Wegen der geringen Enterotoxin-Konzentrationen in Lebensmitteln und Kultur war der Mikroslide-Test, ein Agargel-Präzipitationstest mit einer Sensitivität im μg -Bereich, gelegentlich überfordert; oder es war nötig, Lebensmittelextrakte in aufwendiger Weise zu konzentrieren. Es war deshalb naheliegend, den Radioimmunoassay einzusetzen. (Johnson et al., 1973; Niskanen and Lindroth, 1976; Bergdoll and Reiser, 1980), und wir haben damit auch einige Erfahrung gesammelt. Da ab 1975 immer mehr der Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) aufkam, hat sich bald einmal das Interesse der Enterotoxin-Forscher auf diesen Test fokussiert.

Saunders (1977) berichtete über einen Doppel-Antikörper ELISA zum Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxin A (SEA) mit einer Nachweisgrenze von 0,4 ng/ml. 1977 beschrieben Simon und Terplan einen kompetitiven ELISA für SEB. Dank der

¹ Adresse: Prof. Dr. H. Fey, Postfach 2735, CH-3001 Bern

freundlichen Starthilfe von Frau Simon und Prof. Terplan waren im gleichen Jahr auch Fey und Stiffler in der Lage, eine andere Modifikation eines kompetitiven SEB-ELISA vorzuschlagen, den sie darauf zu einem sensitiven Drei-Perlentest für SEA, SEB und SEC mit einer Nachweisgrenze von 0,1 ng/ml ausbauten (Fey and Stiffler-Rosenberg, 1977; Fey, 1978; Stiffler-Rosenberg und Fey, 1978). Der Test hat sich in der Praxis auch in anderen Laboratorien bewährt. Vor allem wurde es möglich, eine einfache Homogenisation, gefolgt von einer Säurefällung und einer Chloroformextraktion, an die Stelle der bisher zeitraubenden Aufarbeitung zu setzen (Stiffler-Rosenberg, 1979).

Da bekannt ist, dass 1 µg SEA (Reiser et al., 1974), bzw. 0,27 µg SEB/kg Körpergewicht (Terplan et al., pers. Mitteilung 1973) klinische Erscheinungen auslösen kann, ist die Empfindlichkeit des SET-ELISA deutlich unterhalb der klinischen Relevanz, und deshalb liegt unser Bestreben darin, nicht mehr eine Steigerung der Empfindlichkeit des Tests anzustreben, sondern eine Erleichterung der Anwendbarkeit. Endziel müsste ein diagnostischer Kit sein, damit Antiseren und Konjugate jedem Laboratorium zu einem vernünftigen Preis zugänglich sind.

Mit SEA, SEB und SEC hatten wir keine Schwierigkeiten, aber die geringe Toxin-konzentration von SED (ca. 0,25–0,75 µg/ml) im Kulturüberstand des Teststammes macht es schwierig, Milligramm-Mengen bereitzustellen, die für die Enzymkopplung in unserem kompetitiven System nötig wären.

Wir bemühten uns einige Zeit, Staphylokokken Protein A, gekoppelt mit Phosphatase (SPA-PH), als Universallabel in einem Sandwich-ELISA einzusetzen. Wir haben in der diagnostischen und experimentellen Serologie mit diesem Konjugat beste Erfahrungen gemacht (Bommeli et al., 1980). Geplant war folgendes Verfahren (Fey et al., 1980):

|| -anti Ent- (Enterotoxin) -anti Ent : SPA-PH

Es ist aber evident, dass sich SPA-PH an den coating Antikörper bindet und damit eine starke unspezifische Reaktion auslöst. Wir pepsinisierten deshalb den coating Antikörper, damit das SPA-bindende Fc-Stück zerstört wurde. Dieser ange-daute Antikörper, F(ab')₂, band sich aber bei pH 9,6 ungenügend an Polystyrol. Aus der Arbeit von Koper et al. (1980), die aus anderen Gründen ihren coating Antikörper pepsinisierten, wurde ersichtlich, dass dazu ein pH von 7,2 bzw. 8,0 nötig ist.

Koper et al. realisierten, dass in Kulturen und Lebensmittel-Extrakten, die mit pathogenen Staphylokokken kontaminiert sind, immer auch SPA anwesend ist und erheblich mit dem SET-ELISA interferieren kann. In ihrem heutigen Verfahren be-nützen diese Autoren Schaf-Antikörper für den coat und haben damit keine Pro-bleme mehr mit SPA Interferenz (pers. Mitteilung). Allerdings haben die Untersu-chungen von Goudswaard et al. (1978) gezeigt, dass Schaf IgG₂ SPA bindet, wenn auch in etwas geringerem Masse als bovines IgG₂.

Nach dieser Erfahrung entwickelten wir ein empfindliches Verfahren zur Mes-sung von SPA im Nanogrammbereich nach folgendem Schema (Fey und Burkhard, 1981).

||-Tetanustoxoid-Human Antitoxin-SPA : SPA-PH.

Das zu messende SPA bindet an den insolublen Toxoid-Antitoxin-Komplex und kompetiert mit dem markierten SPA-PH um die Bindungsstelle. Mit diesem Test konnten wir zeigen, dass es auf einfache Weise gelingt, SPA aus Kulturüberständen und Lebensmittel-Extrakten zu entfernen (*Fey and Burkhard, 1981*): Schweine IgG wird mit Glutaraldehyd nach *Avrameas* und *Ternynck* (1969) insolubilisiert und in 10% Suspension bei 4 °C aufbewahrt. Das Sediment aus 1 ml dieser Suspension wird mit 10 ml Kulturüberstand versetzt und 30 Min. rotiert. Nach kurzer Zentrifugation ist alles SPA (>250 µg SPA/10 ml) absorbiert. Die IgG-Sedimente können mit 0,58% Essigsäure und anschliessendem Waschen in PBS regeneriert werden.

Mittlerweile haben wir 2 neue Techniken adaptiert, die so erfolgreich waren, dass unsere eigene Skepsis gegenüber unserem kompetitiven ELISA wieder etwas relativiert wurde:

Wir übernahmen die Koppelungstechnik der Pharmacia Uppsala mit dem heterobifunktionellen Reagens SPDP (Succinimidyl-pyridyldithiopropionat) und erzielten sehr gute Konjugate mit Enterotoxinen und anti Enterotoxin IgG. *Eva Engvall* (1978) berichtete über SPA-PH Konjugate, hergestellt mit dem Glutaraldehyd-Zweischrittverfahren, mit einer Gebrauchsverdünnung von 0,5 µg Protein/ml. Unsere

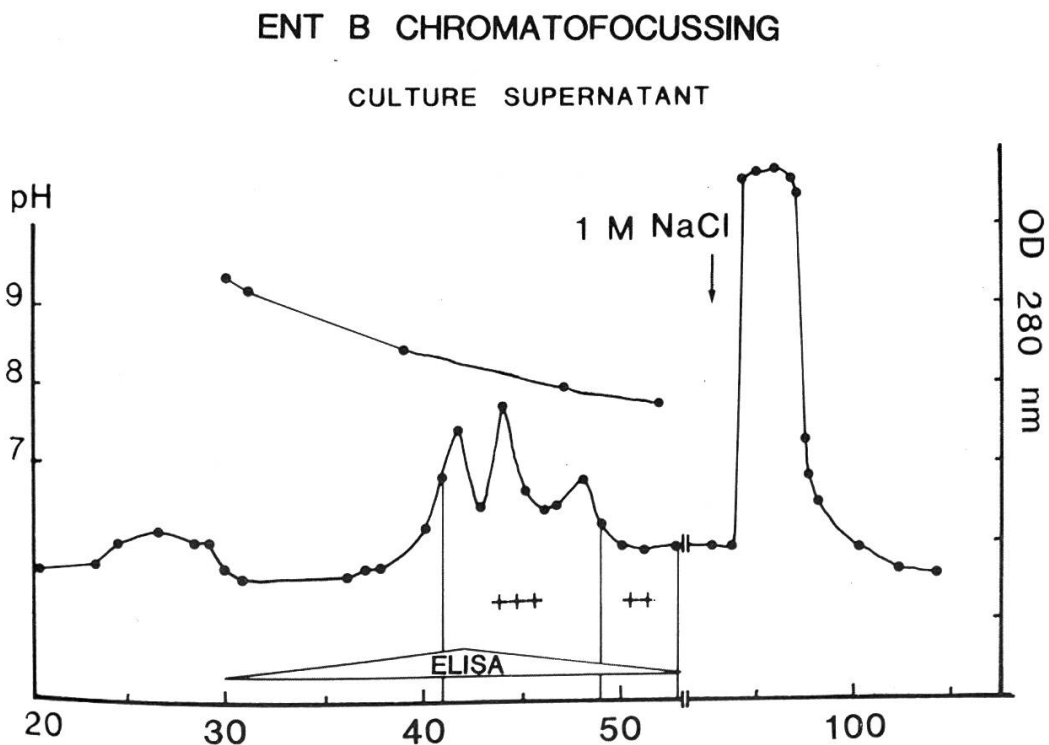


Fig. 1 Enterotoxin B. Chromatofocussing von Kulturüberstand. 200 ml Kultur enthaltend 700 mg Protein, 30 mg Toxin/ml (Mancini). Dialysiert gegen Aequilibrationspuffer 0,025 M Aethanolamin-HCl pH 9,7. Auftrag auf PBE 94 Gel, Elution in Säule (1,5 × 23 cm) mit 600 ml Polypuffer 96-HCl pH 7,0.

ENT A AMBERLITE

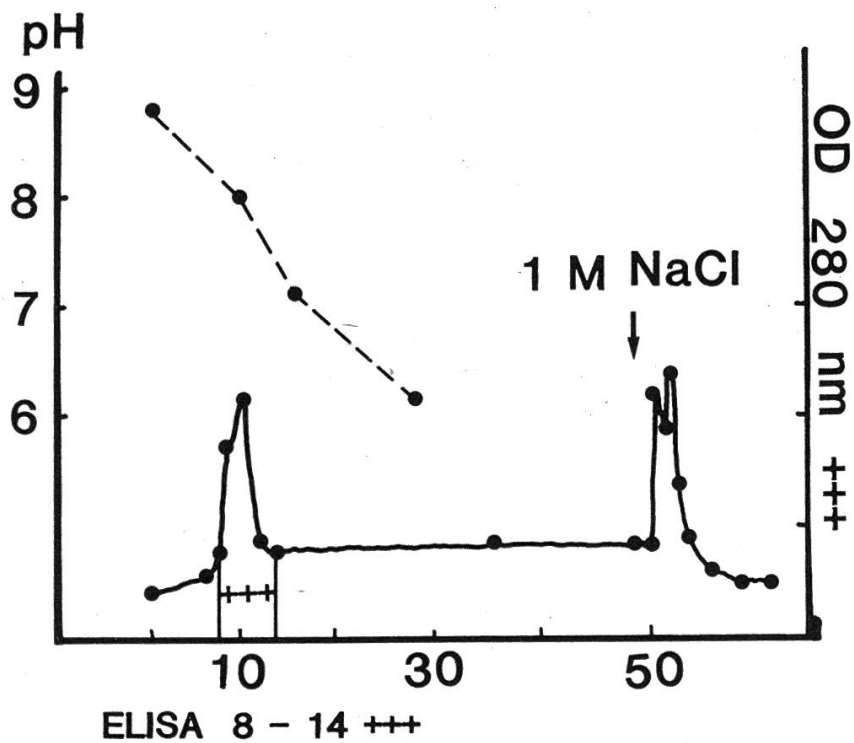


Fig. 2

ENT D CM-CELLULOSE

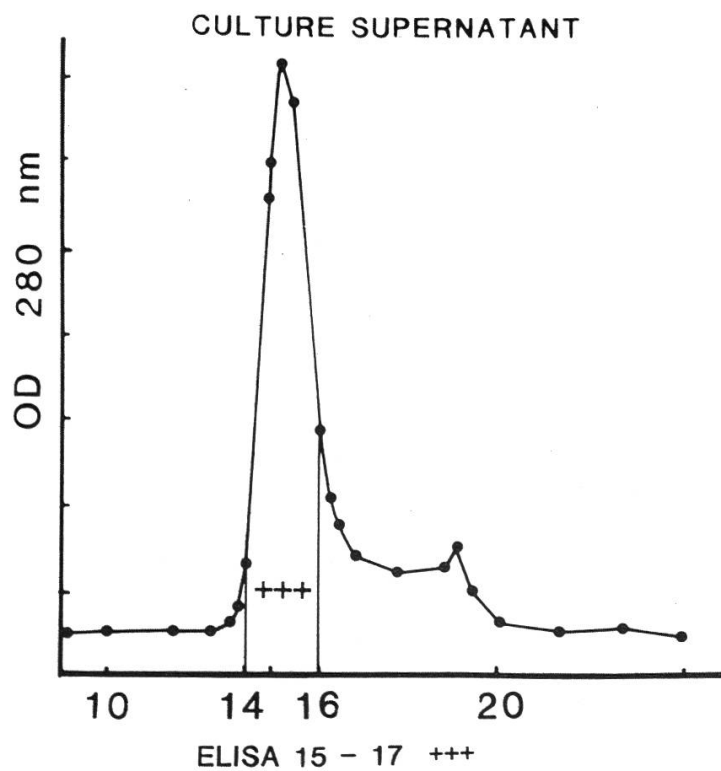


Fig. 3

Konjugate haben jetzt z.T. eine Arbeitsverdünnung von ca. 0,1 µg/ml und können dementsprechend 1/4000 – 1/20000 verdünnt werden. (Eine detaillierte technische Beschreibung des Verfahrens mit unserer Modifikation kann angefordert werden.)

Die zweite Methode ist das Chromatofocusing (Pharmacia), welches wir heute nach Vorarbeiten mit der präparativen isoelektrischen Fokussierung (IEF) im Flachgel (Mueller, 1981) für die Herstellung von Enterotoxin verwenden. Der Kulturüberstand wird dialysiert, dann einem Kationenaustausch mit Amberlite unterzogen und danach chromatofokussiert. Im Falle von SED brauchen wir anstelle von Amberlite CM-Zellulose. Das Verfahren ist sehr einfach, hat eine gute Ausbeute und bringt sehr reine Enterotoxine SEA, SEB, SEC, die sich für die direkte Koppelung mit Phosphatase unter Verwendung von SPDP eignen. Für SED ist nach bisherigen Erfahrungen wohl eine Refokussierung notwendig. Karsch und Richter (1979) haben über die Reinigung von Staphylokokken-Enterotoxinen mittels Säulen-IEF bereits gute Erfahrungen mitgeteilt. Über technische Details unseres noch einfacheren Vorgehens soll in Publikationen berichtet werden, die in Vorbereitung sind.

Mit diesen Erfahrungen im Hintergrund verglichen wir zusammen mit Rüegg (1982) die vier folgenden ELISA-Techniken auf ihre Leistungsfähigkeit:

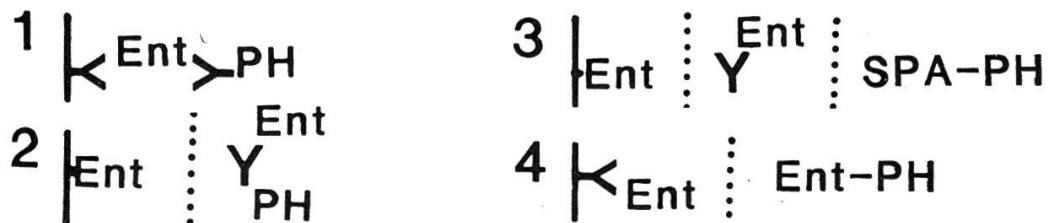


Fig. 4

1) Antikörper als coat bindet Enterotoxin, welches mit einem Phosphatase-markierten Antikörper nachgewiesen wird.

2) Relativ rohes Enterotoxin dient als coat. PH-markierter Antikörper wird über Nacht mit Enterotoxin inkubiert. Der Komplex wird zum coat zugegeben. Der markierte Antikörper bindet umso weniger, je mehr Enterotoxin sich im Komplex befindet.

3) Das gleiche System. An Stelle des markierten Antikörpers wird aber markiertes SPA-PH als Universallabel in einem weiteren Schritt verwendet.

4) Der klassische Hemmtest, wie schon von Stiffler und Fey (1978) verwendet: Enterotoxin kompetiert mit Ent-PH um die Bindungs-Stellen am coat Antikörper.

Fig. 2 Enterotoxin A. Chromatofocussing des Amberlite-Eluates. 400 ml Eluat enthaltend 138 mg Protein, 34 mg Toxin total (Mancini). Dialysiert gegen Aequilibrationspuffer 0,025 M Aethanolamin-HCl pH 9,0. Auftrag auf PBE 64 Gel, Elution in Säule 1,5 × 20 cm mit 400 ml Polypuffer 96-Azetat pH 6,0.

Fig. 3 Enterotoxin D Kulturüberstand. Chromatographie auf CM-Zellulose.

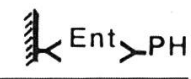
Startpuffer 0,01 M PO₄ pH 5,6, Batchadsorption 3 Liter Kultur enthaltend 3 mg Protein/ml, 0,5 µg Toxin/ml (Mancinitest). Dialyse im Startpuffer. Elution mit 0,5 M PO₄ pH 6,2 + 0,25 M NaCl in Säule 3 × 17 cm.

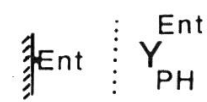
Es wurden immer die drei Enterotoxinmengen 10, 1 und 0,1 ng/ml eingesetzt. Die Auswertungen erfolgten mit dem von Fey und Gottstein (1979) vorgeschlagenen Verfahren unter Verwendung des programmierbaren Rechners TI 59, welcher über ein Interface mit dem Fotometer Vitatron gekoppelt ist.

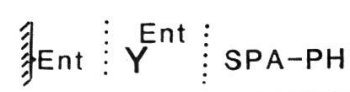
Bei 10 verschiedenen Messungen wiesen wir 5mal 0,1 ng Enterotoxin/ml und 10mal 1 ng/ml nach. Der Variationskoeffizient der Extinktionsmessungen war mit 10,2% bzw. 11,2% recht hoch, jedoch akzeptabel.

Die Tabelle 1 (Rüegg, 1982) zeigt die erzielten Resultate:

Tabelle 1 Häufigkeit der in den einzelnen Tests erreichten, untersten Nachweisgrenze

Nr. 1 Sandwich mit markiertem Antikörper 						
Minimale Nachweisgrenze						
	N	0,1 ng	N	1 ng	N	10 ng
SEA	11	92%	1	8%	0	—
SEB	18	64%	10	36%	0	—
SEC	5	42%	6	50%	1	8%

Nr. 2 Hemmtest mit markiertem Antikörper 						
Minimale Nachweisgrenze						
	N	0,1 ng	N	1 ng	N	10 ng
SEA	7	77%	2	23%	0	—
SEB	12	38%	18	56%	2	6%
SEC	2	22%	5	56%	2	22%

Nr. 3 Hemmtest mit markiertem Protein A 						
Minimale Nachweisgrenze						
	N	0,1 ng	N	1 ng	N	10 ng
SEA	5	83%	1	17%	0	—
SEB	2	25%	4	50%	2	25%
SEC	5	83%	1	17%	0	—

Die mittlerweile mit Ent B durchgeführte kompetitive ELISA-Testserie 4 mit markiertem Toxin gemäss folgendem Schema:



ergab folgendes Resultat:

Mit einem einfachen Kunstgriff konnten wir übrigens die Empfindlichkeit aller Testarten um 1 bis 3 \log_2 steigern: Wir wählten im Röhrchen 0,5 ml für alle Reagenzien (coat, markierter Antikörper bzw. markiertes Enterotoxin, Substrat), für die Probe aber 2,5 ml. Damit wird das 5fache Volumen enterotoxinhaltiger Probe mit 1 Volumen der Reagenzien zusammengebracht. Mit dem Sandwichtest erreichten wir bei 2,5 ng Enterotoxin/ml mit dem bisherigen Verfahren z.B. eine OD von $0,25 \pm 0,03$, mit dem neuen Verfahren aber $1,04 \pm 0,17$, was einem Faktor von 4,2 zugunsten des letzteren entspricht ($N = 8$, theoret. Faktor = 5). Bei höheren Extinktionen ist der Gewinn naturgemäss bescheidener, weil sich dort die Kurve abflacht. Bei Mikrotiterplatten verwenden wir sinngemäss 50 μ l bzw. 250 μ l.

Wir kommen zum Schluss, dass wir uns mit dem kompetitiven wie mit dem Sandwich-System in einem komfortablen Empfindlichkeitsbereich befinden, der für die praktische Diagnose bei weitem genügt. Das Sandwich-Verfahren ist etwas sensibler, wie auch *Terplan* feststellte (persönliche Mitteilung 1982). Wir sehen folgende Vorteile und Nachteile:

Kompetitives Verfahren

Vorteile: Höhere Spezifität, weniger unspezifische Aufnahme, da der Label relativ rein ist. Unempfindlich gegen SPA im Lebensmittel-Extrakt. Hohe Verdünnbarkeit des Labels.

Nachteile: Schwierige Herstellung von Enterotoxin, bes. von SED. Coat- und Labelmengen sind kritisch einzustellen.

Sandwich-Verfahren

Vorteile: Etwas sensibler als der kompetitive ELISA. Die Antikörper sind, wenn einmal hergestellt und gereinigt, praktisch unbeschränkt zur Verfügung. Wenig kritische Einstellung der Reagenzien, alles läuft im Exzess ab. Geeignet für monoklonale Antikörper.

Nachteile: Antikörper-IgG kann für die Koppelung nicht rein dargestellt werden. Grössere Tendenz zu unspezifischer Bindung (Aggregate). Empfindlichkeit gegen SPA führt zu unspezifischer Bindung des Labels. Deshalb ist eine SPA-Absorption des Lebensmittel-Extraktes nötig, oder die Verwendung eines SPA nicht bindenden Antikörpers.

Aufgrund dieser Überlegungen haben wir uns entschlossen, von unserem kompetitiven System abzuweichen und dem Sandwich-Verfahren den Vorzug zu geben. Wir beabsichtigen, zusammen mit den Laboratorien Dr. Bommeli Bern, einen diagnostischen Kit bereit zu stellen.

Eines Tages wollen wir auch versuchen, monoklonale Antikörper herzustellen. Wir haben bereits mit Erfolg BALB/c-Mäuse mit SEA, SEB und SEC immunisiert. Die Isolierung monoklonaler Antikörper in einem befreundeten Institut ist bis jetzt leider noch nicht gelungen. Die Indikation zu diesem Verfahren wäre aber gerade bei den Staphylokokken-Enterotoxinen besonders gegeben: Es ist schwierig, Antigene in genügender Menge herzustellen. Nach einem einmaligen Effort zur Herstellung mög-

lichst reiner Antigene könnte, einmal im Besitz monoklonaler Antikörper, in Zukunft auf die Antigenherstellung verzichtet werden.

Eine Evaluation unseres Testes mit Enterotoxin-kontaminierten Lebensmitteln ist geplant.

Zusammenfassung

Die Staphylokokken Lebensmittelvergiftung ist viel häufiger, als diagnostiziert wird, weil bisher die Erkennung der Enterotoxine (A–F) in Lebensmitteln und Kulturen mit Hilfe des Microslide-Tests aus Arbeits- und Kostengründen nur in wenigen Laboratorien durchgeführt wird. In dieser Arbeit wird über ELISA und die serologischen Probleme gesprochen, die sich dabei stellen. Protein A (SPA), das wohl in allen mit Staphylokokken kontaminierten Lebensmitteln vorkommt, interferiert mit der üblichen ELISA Technik im Sandwichverfahren. Wir schlagen eine einfache Absorptionsmethode für SPA vor.

Bei der Bereitstellung von Enzymkonjugaten haben wir mit der neuen Koppelungstechnik von Pharmacia Uppsala, die Succinimidylpyridyldithiopropionat (SPDP) als Reagens verwendet, gute Erfahrungen gemacht. Für die Reinigung der Enterotoxine zu Immunisierungszwecken stützen wir uns jetzt auf die Chromatofokussierung, die zusammen mit einem Kationenaustausch in wenigen Schritten zum Ziel führt.

Mit diesen Erfahrungen im Hintergrund verglichen wir 4 verschiedene Modifikationen des ELISA auf ihre Leistungsfähigkeit und entschieden uns für das Sandwichverfahren. Damit können wir regelmässig 1, häufig 0,1 ng/ml der Enterotoxine A, B und C nachweisen. Die Schaffung eines diagnostischen Kit ist geplant.

Résumé

L'intoxication alimentaire à staphylocoque est beaucoup plus fréquent qu'elle n'est diagnostiquée. En effet, peu de laboratoires détectent les entérotoxines (A–F) dans les aliments et les cultures à l'aide du test Microslide pour des raisons techniques et économiques. Ce travail discute de l'ELISA et des problèmes sérologiques qui lui sont liés. La protéine A (SPA) qui se trouve probablement dans tous les aliments contaminés par des staphylocoques, interfère avec la technique ELISA usuelle en procédé sandwich. Nous proposons une méthode simple d'absorption de la SPA en utilisant la gammaglobuline porcine insolubilisée par la glutardialdéhyde.

Nous avons fait de bonnes expériences avec la nouvelle technique de conjugaison de Pharmacia Uppsala, qui emploie le succinimidylpyridyl-dithiopropionate (SPDP) comme réactif pour la préparation du conjuguat enzymatique. Nous nous appuyons actuellement sur chromatofocusing (Pharmacia) pour la purification des entérotoxines destinées à l'immunisation. Cette méthode combinée avec un échange cationique permet d'arriver au but en peu d'étapes.

Dans l'optique de ces expériences, nous comparons les résultats de quatre modifications différentes de l'ELISA pour choisir finalement le procédé sandwich. Il est alors possible de déterminer régulièrement 1 ng/ml, souvent 0,1 ng/ml des entérotoxines A, B et C. Le développement d'un kit est prévu pour le diagnostique.

Riassunto

L'avvelenamento di alimenti dovuto a stafilococchi è più frequente di quanto venga diagnosticato. Infatti finora il riconoscimento della enterotossina (A–F) negli alimenti e nelle colture è eseguito solo in alcuni laboratori, per questione di lavoro e di costi, per mezzo del test microslide. In questa nota si discute dell'ELISA e dei problemi sierologici che essa presenta. La proteina A (SPA), che è presente in tutti gli alimenti contaminati con stafilococchi, interferisce con la abituale tecnica ELISA in procedimento sandwich. Noi proponiamo un semplice metodo di assorbimento per SPA.

Nella preparazione di preparati enzimatici abbiamo fatto buona esperienza con la nuova tecnica di accoppiamento della Pharmacia Uppsala, in cui si usa il succinimidilpiridilpropionato

(SPDP) come reagente. Per la purificazione della enterotossina per scopi di immunizzazione, noi usiamo il «chromatofocusing» che insieme ad uno scambio cationico porta allo scopo in pochi passaggi.

Con la scorta di queste esperienze abbiamo confrontato 4 modificazioni dell'ELISA e abbiamo concluso che il procedimento sandwich è il metodo di elezione. Con tale metodo siamo regolarmente in grado di dimostrare 1 ng/ml, spesso 0,1 ng/ml delle enterotossine A, B e C. Si pianifica la produzione di un Kit diagnostico.

Summary

Food poisoning due to staphylococcal enterotoxins (A–F), one of the most frequent food intoxications, unfortunately is diagnosed in relatively few laboratories only, because of expensive, time consuming procedures. The enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA) has been demonstrated to be a highly sensitive and specific method for this purpose. Some of its serological problems are discussed. Staphylococcal protein A (SPA) is regularly present in foods contaminated with Staphylococci and is likely to interfere with the sandwich technique of ELISA. SPA absorption is therefore essential for which a simple procedure is proposed.

For the preparation of enzyme conjugates we now successfully use a new technique recently published by Pharmacia Uppsala using succinimidyl-pyridyldithiopropionate (SPDP). The purification of enterotoxins for their application as immunogens is now done with a two-step method, i.e. a cationic exchange followed by chromatofocussing (Pharmacia).

We compared four modifications of ELISA for their sensitivity and technical advantages as well as disadvantages and decided for the sandwich version. That one permits the detection of regularly 1 ng enterotoxin A, B and C/ml or frequently even of 0,1 ng/ml. We now plan the preparation of a diagnostic kit.

Literatur

Avrameas S. and Ternynck T.: The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunoabsorbents. *Immunochemistry* 6, 53–66 (1969). – *Bergdoll M. S. and Reiser R.*: Application of radioimmunoassay for detection of staphylococcal enterotoxins in food. *J. Food Protection* 43, 68–72 (1980). – *Bommeli W., Kihm U., Zindel F. and Fey H.*: Enzyme Linked Immuno Assay and Fluorescent Antibody Techniques in the Diagnosis of Viral Diseases using Staphylococcal Protein A instead of anti-Gammaglobulins. *Vet. Immunol. Immunopath.* 1, 179–193 (1980). – *Engvall E.*: Preparation of Enzyme-labelled Staphylococcal Protein A and its Use for Detection of Antibodies. p. 25 in: Engvall E, and Pesce A.: *Quantitative Enzyme Immunoassay*. Blackwell Sci. Publ. 1978. – *Fey H. and Stiffler-Rosenberg G.*: Detection of staphylococcal enterotoxin B with a new modification of the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Experientia* 33, 1678 (1977). – *Fey H.*: Staphylokokken-Enterotoxine in Lebensmitteln und deren Nachweis. *Chem. Rundschau* 31, 6–9 (1978). – *Fey H. und Gottstein B.*: Ein preiswertes ELISA-Lesegerät kombiniert mit dem programmierbaren Rechner TI 59 von Texas-Instruments. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 121, 387–394 (1979). – *Fey H., Stiffler-Rosenberg G. and Burkhard G.*: Experiences with the Detection and Measurement of Staphylococcal Enterotoxins by ELISA. *Proc. 2nd Int. Symp. Vet. Lab. Diagnost.*, Lucerne. 2, 250–256 (1980). – *Fey H. and Burkhard G.*: Measurement of Staphylococcal Protein A and Detection of Protein A-Carrying Staphylococcus Strains by a Competitive Method *J. Immunol. Meth.* 47, 99–107 (1981). – *Goudswaard J., van der Donk J. A., Noordzij A., van Dam R. H. and Vaerman J. P.*: Protein A Reactivity of Various Mammalian Immunoglobulins. *Scand. J. Immunol.* 8, 21–28 (1978). – *Johnson H. M., Bukovic J. A. and Kauffmann P. E.*: Staphylococcal Enterotoxins A and B: Solid Phase Radioimmunoassay in Food. *Appl. Microbiol.* 26, 309–313 (1973). – *Karsch W. und Richter U.*: Reinigung der Staphylokokken-Enterotoxine A–E. *Z. ges. Hyg.* 25, 613–615 (1979). – *Koper J. W., Hagenaars A. M. and Notermans S.*: Prevention of cross-reactions in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of Staphylococcus enterotoxin type B in culture filtrates and foods. *J. Food Safety* 2, 35–45 (1980). – *Minor T. E. and Marth E. H.*: Staphylococci and their Significance in Foods. Elsevier Sci. Publ. Co., Amsterdam, 1976. – *Müller*

Chr.: Produktion von Staphylokokken-Enterotoxin D mit der präparativen Isoelektrofokussierung. Phil. Nat. Lic. Bern 1981. – *Niskanen A. and Lindroth S.*: Preparation of labeled staphylococcal enterotoxin A with high specific activity. Appl. Environment. Microbiol. 32, 735–740 (1976). – *Reiser R., Conaway D. and Bergdoll M. S.*: Detection of staphylococcal enterotoxins in foods. Appl. Microbiol. 27, 83–85 (1974). – *Rüegg O.*: Versuche zur Optimierung des serologischen Nachweises von Staphylokokken-Enterotoxin A, B und C. Dissertation Vet. Med. Fakultät, Universität Bern, 1982. – *Saunders G. C. and Bartlett M. L.*: Double-antibody solid-phase enzyme immunoassay for the detection of staphylococcal enterotoxin A. Appl. Environm. Microbiol. 34, 518–522 (1977). – *Simon E. und Terplan G.*: Nachweis von Staphylokokken Enterotoxin B mittels ELISA-Test. Zbl. Vet. Med. B 24, 842–844 (1977). – *Sommerfeld P. und Terplan G.*: Methoden zum Nachweis von Staphylokokken Enterotoxin. Arch. Lebensmittelhyg. 26, 128–137 (1975). – *Stiffler G. and Fey H.*: Simple Assay for Staphylococcal Enterotoxins A, B and C: Modification of Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay. J. Clin. Microbiol. 8, 473–479 (1978). – *Stiffler-Rosenberg G.*: Entwicklung eines Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxinen. Phil. Nat. Diss. Bern 1979. – *Zaadhof K. J.*: Der Thermo-nukleasetest – Verfahren zum Nachweis der Staphylokokkenvermehrung in Lebensmitteln. Arch. Lebensmittelhyg. 29, 138–139 (1978).

Manuskripteingang: 23.4.1982

BUCHBESPRECHUNG

Zuchthygiene I, Rind Von *G. W. Rieck*. Vorlesungsmanuskript, herausgegeben von der Dokumentationsstelle des Instituts für Zuchthygiene und veterinärmedizinische Genetik, Justus-Liebig-Universität, D-6300 Giessen. 1980. 174 Seiten, broschiert. Preis DM 15.—.

Die vorliegende Schrift ist aus einem einfachen Vorlesungsmanuskript entstanden und liegt nun als Broschüre bereits in zweiter Auflage vor. «Zuchthygiene» wird im Bereich des Unterrichts als «Didaktik der tierärztlichen Betriebsberatung zur Sicherung einer ungestörten Fortpflanzung der Bestände und zur Prophylaxe von Fruchtbarkeitsstörungen» verstanden. Sie umfasst damit einen Zwischenbereich tierärztlicher Tätigkeit, der vom Fach «Tierzucht und Tierhaltung» einerseits und den Fächern «Gynäkologie» und «Andrologie» andererseits kaum abgedeckt wird.

Auch wenn das Büchlein keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt, enthält es eine Fülle von Angaben, die sonst nur mühsam aus der breit gestreuten Fachliteratur zusammengesucht werden müssten. Der Stoff wurde in folgende Kapitel gegliedert:

1. Begriff und Lehrinhalt des Fachgebietes «Zuchthygiene».
2. Ökonomische Bedeutung der Fruchtbarkeit des weiblichen Rindes.
3. Biologische und betriebswirtschaftliche Voraussetzungen einer ungestörten Fertilität.
4. Erhöhung des Kälberaufkommens durch Förderung von Zwillingsgraviditäten.
5. Bestandesfruchtbarkeit und Besamung.
6. Zyklussynchronisation.
7. Genetik der Fruchtbarkeit.
8. Herdensterilität.

Die «Zuchthygiene I, Rind» stellt für den Studierenden eine ausgezeichnete Einführung in das Fachgebiet dar. Sie ist aber auch dem Grosstierpraktiker zu empfehlen, der sich immer mehr mit diesen Problemen konfrontiert sieht.

H. Kupferschmied, Neuchâtel