

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

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 119 (1977)

Heft: 11

Artikel: Messung von Tetanus-Antitoxin beim Pferd mit dem Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Autor: Fey, H. / Stiffler-Rosenberg, G.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-593508>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 01.04.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Messung von Tetanus-Antitoxin beim Pferd mit dem Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)¹

von H. Fey und G. Stiffler-Rosenberg²

Die Messung von Tetanus-Antikörpern mit dem klassischen Schutzversuch an der Maus ist sehr aufwendig, erlaubt aber direkte Schlüsse auf den Schutzwert eines Serums. Für die Prüfung des Vakzinationserfolges an zahlreichen Seren hat man deshalb nach In-vitro-Methoden gesucht. Die indirekte Hämagglutination hat sich recht gut bewährt, allerdings neigen Hämagglutinationsmethoden mit proteinischen Antigenen zu unspezifischen Reaktionen.

Wir haben 1975 über unsere Erfahrungen mit dem Radio Immuno Sorbent Test (RIST) zum Nachweis von Antikörpern gegen Tetanustoxin berichtet und dabei festgestellt, dass dessen Spezifität ausgezeichnet ist und den Nachweis von nur 0,001 IE/ml gestattet. Es handelt sich dabei um eine ausgesprochene Massenuntersuchungsmethode. Die damit ermittelten Werte laufen parallel zu denjenigen, die mit dem klassischen Schutzversuch an der Maus gewonnen werden.

Radioimmunologische Verfahren haben aber eine Reihe von Nachteilen, auf die hier nicht eingegangen werden soll. Wir wandten uns deshalb dem ELISA zu, mit dem wir bei der Messung von Tetanus-Antitoxin in menschlichen Seren sehr gute Erfahrungen machten (1977). Der ELISA erwies sich als ebenso empfindlich wie der RIST, aber als ungleich einfacher in der Durchführung. Die mit beiden Methoden gewonnenen Resultate laufen parallel.

Der ELISA ist ein neues enzym-immunologisches Verfahren, welches ursprünglich aus der Immunohistologie stammt und dem lichtmikroskopischen oder elektronen-optischen Nachweis von Antigen in Gewebeschnitten dient (Avrameas, 1969; Nakane und Kawaoi, 1974; Feldmann et al., 1976).

Antikörper werden mit Peroxydase gekoppelt, das Konjugat bindet sich im Gewebeschnitt spezifisch an das Antigen. Wird H_2O_2 zusammen mit Benzidin oder anderen Indikatorsubstanzen beigegeben, so wird die Peroxydspaltung durch einen farbigen Niederschlag angezeigt. Dieser beweist die Anwesenheit von Antigen, weil das Enzym an den Antikörper und dieser an das Antigen gebunden ist.

Später ist die Methode für den Antikörper- und Antigen-Nachweis in vitro konzipiert worden. Folgende Antigene wurden bisher mit dem ELISA nachge-

¹ Arbeit unterstützt durch die Fraunhofer-Gesellschaft, München (In San I-0675-V-043).

² Adresse: Postfach 2735, CH-3001 Bern.

wiesen bzw. gemessen: Human-Immunglobulin G [9, 10], Human-Serumalbumin, DNP-Hapten [11] Salmonellen in Lebensmitteln [18], Insulin [17] und Staphylokokken-Enterotoxin B [14]. Bereits verbreitet ist der Antikörper-Nachweis mit ELISA gegen folgende Antigene: Salmonella O-Antigene [6, 7], Brucella abortus, Y. enterocolitica [8, 22, 23, 24], V. cholerae [16], Schweinepest [22, 23, 24], Trichinella spiralis [12, 23, 24], Malaria [29], Toxoplasma [31, 32], Masern-, Cytomegalie- und Rubellavirus [30], M-Protein von A-Streptokokken [21], Rotavirus [25], Rabiesvirus [2].

In der Schweiz haben sich Bruggmann, Keller, Bertschinger und Engberg [4] wohl als erste dieser Technik bedient, und zwar zum Nachweis von Antikörpern gegen Mycoplasma suipneumoniae.

Zum Antikörpernachweis mit dem ELISA benützen wir folgende zwei Prinzipien, die in den Abb. 1 und 2 graphisch dargestellt sind:

1. Sandwichverfahren

Bringt man Polystyrol in Kontakt mit Protein, so wird dieses an dessen Oberfläche gebunden und kann nicht mehr abgewaschen werden (Catt et al., 1967). Beschichtet man auf diese Weise Polystyrolröhrchen mit Antigen oder Antikörpern, so erhält man ein sog. Immunosorbens, an welches spezifisch Antikörper bzw. Antigen adsorbiert werden kann.

In unserem Fall wurden Polystyrolröhrchen mit Tetanus-Toxoid beschichtet, Tetanus-Antikörper binden sich dann an das Toxoid und können nicht mehr gewaschen werden. Nun werden mit Phosphatase markierte Antikörper gegen das Pferde-Antitoxin zugegeben, welche sich an das Fc-Stück der Pferde-Immunglobuline binden. Nach der Waschung wird farbloses p-Nitrophenyl-

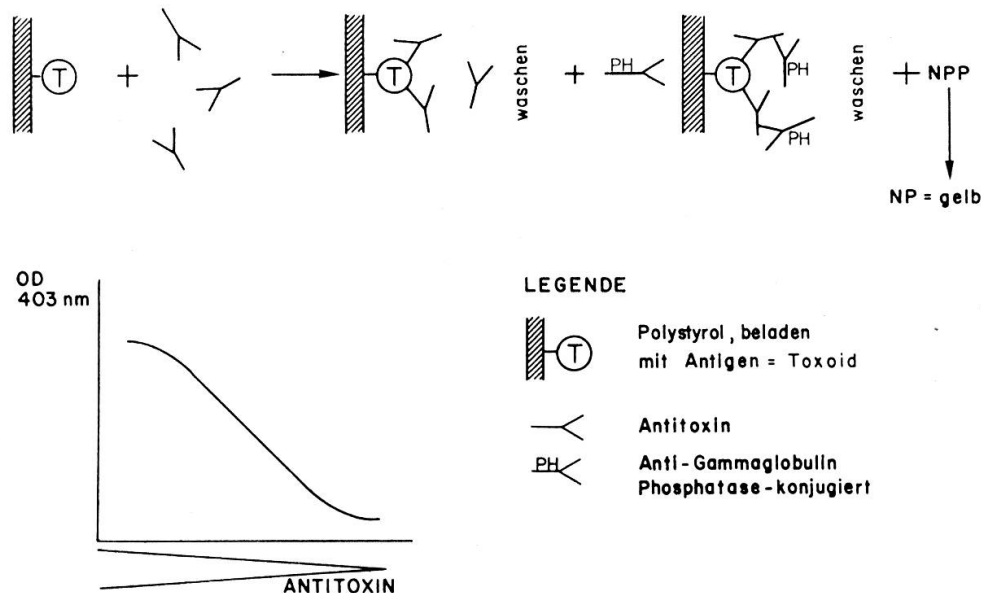


Abb. 1 Schema des ELISA-Sandwich-Verfahrens zum Nachweis von Tetanus-Antitoxin.

Phosphat als Substrat zugemischt und inkubiert. Das Substrat wird durch die Antikörper-gebundene Phosphatase zu gelbem p-Nitrophenol dephosphoryliert, dessen Farbintensität bei 403 nm fotometrisch gemessen werden kann. Aus der Kurve in Abb. 1 geht hervor, dass viel Antitoxin viel Phosphatase-markierten Antikörper bindet und deshalb einen hohen Extinktionswert aufweist.

2. Kompetitives Verfahren

Phosphatase-markiertes Toxoid wird im Röhrchen mit dem gesuchten Antikörper in Reaktion gebracht und bildet mit diesem einen Komplex. Jetzt wird eine Polystyrolperle von 6 mm \varnothing , welche mit Tetanus-Antikörpern beschichtet ist, in das Röhrchen gebracht. Da die antigenen Bindungsstellen des Toxoids bereits mit dem gesuchten Antikörper besetzt sind, können die am Polystyrol-Immunsorbens fixierten Antikörper das Toxoid nicht binden (Kompetition um das markierte Antigen). Beim Waschen wird deshalb alles Toxoid und damit der Phosphatase-Marker entfernt. Zugefügtes NPP-Substrat bleibt farblos.

Fehlen aber Antikörper, so kann markiertes Toxoid von der Polystyrolperle adsorbiert werden und wird nicht gewaschen. Zugefügtes Substrat wird deshalb zu gelbem Nitrophenol abgebaut.

Ein hoher Antikörpergehalt hemmt also die Aufnahme von markiertem Toxoid, was einen niedrigen Extinktionswert ergibt.

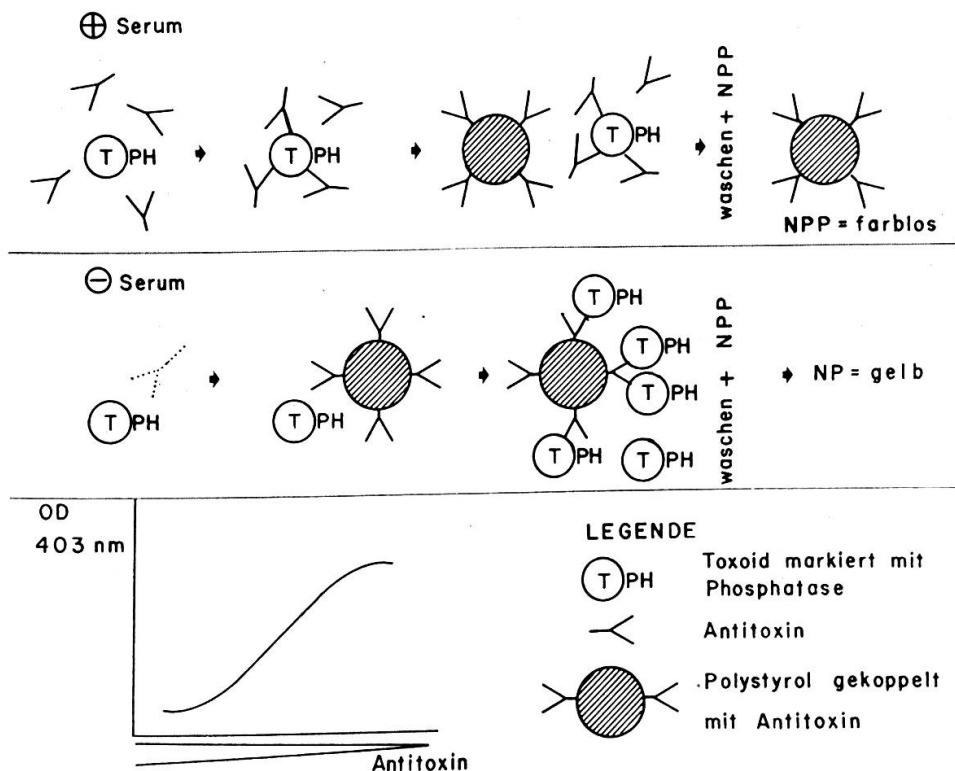


Abb. 2 Schema des kompetitiven ELISA-Verfahrens zum Nachweis von Tetanus-Antitoxin.

Material und Methoden

Für unsere Untersuchung folgten wir in bezug auf die Phosphatase-Markierung der von Eva Engvall und Perlmann, 1972 [11] beschriebenen Methode.

Tetanus-Toxoid und -Antitoxin erhielten wir in verdankenswerter Weise von Herrn Dr. Heiz, Schweiz. Serum- und Impfinstitut Bern: Toxoid (Behring) Op. 631/653, 2600 L_f/ml. Antitoxin: Ammonsulfat-Globulin aus Pferde-Antiserum Nr. 5553 mit 4400 IE/ml. Von Herrn Prof. Barandun, Bern, erhielten wir ein humanes Immuneserum 275 b mit 10 IE/ml (im Tierversuch bestimmt), welches uns schon in beiden früheren Arbeiten als Hausstandard diente (1975, 1977).

Pferdeseren: Herr Dr. Leuenberger vom Eidg. Hengstendepot in Avenches überliess uns Seren von 19 Fohlen vor und nach der Immunisierung mit Tetanustoxoid.

Alkalische Phosphatase grade VII (P 4502) mit einer Aktivität von 1025 E/mg bezogen wir von SIGMA Chem., St. Louis, Missouri 63178, USA. Als Substrat diente 4-Nitrophenylphosphat-Dinatriumsalz (Hexahydrat) von Merck, Darmstadt. Es wurde in einer Konzentration von 1 mg/ml in 0,05 M Na-Carbonat-Bicarbonat pH 9,8 + 1 mM Mg Cl₂ gelöst und jeweils frisch zubereitet. Die Polystyrolröhrchen (3 ml) stammten von MILIAN, Boulevard Helvétique 26, CH-1207 Genève, und von Petra-Plastic, Schönbühlstrasse 8, CH-7001 Chur. Die letztgenannten zeigten eine etwas höhere Bindungskapazität.

Plastic-Perlen Ø 6 mm stammten von Precision Plastic Ball Co., 2000 N Cicero Av., Chicago, 60641 Ill.

Reine Antikörper gegen Pferde-Immunoglobulin gewannen wir mit Hilfe der Affinitäts-Chromatographie aus Kaninchen-Antiserum gegen Pferde-Ig (Messerli und Fey, 1973; Fey et al., 1976).

Konjugation von Tetanustoxoid bzw. reinem Antikörper Anti-Pferd-Ig mit Phosphatase (Engvall und Perlmann, 1972 [11]: 300 µl der Phosphatase (PH)-Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat enthaltend 1,5 mg Protein, werden 10 Min. mit 1000 rpm bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Sediment mit 100 µl des Toxoids bzw. des spezifischen Antikörpers, enthaltend 5 mg Protein/ml, gemischt. Über Nacht wird gegen Phosphat-Kochsalz-Puffer dialysiert (PBS = 0,01 M PO₄, 0,9% NaCl pH 7,4). Zum Dialysat gibt man 100 µl Glutardialdehyd, so dass eine Endkonzentration von 0,2% entsteht. Nach 2stündiger Reaktion bei Zimmertemperatur wird mit PBS auf 1 ml aufgefüllt und erneut über Nacht gegen PBS dialysiert. Das Konjugat wird mit einem Puffer pH 8,1 bestehend aus 0,05 M TRIS + 1 mM MgCl₂ + 5% Bovin-Serumalbumin (BSA) + 0,02% NaN₃ auf 10 ml aufgefüllt und in Mengen von 0,5 ml bei -20 °C aufbewahrt. Es ist nach eigener Erfahrung mindestens neun Monate, nach der Literatur über ein Jahr haltbar.

Röhrchenbeschichtung für die Sandwich-Technik:

Jedes Röhrchen wird mit 1 ml Tetanustoxoid, enthaltend 5–10 µg Protein/ml in 0,1 M Na-Carbonat-Bicarbonat pH 9,6 beschichtet und 3 Std. bei 37 °C

inkubiert. Man kann auch über Nacht bei Zimmertemperatur bebrüten. Die Röhren können samt der Antigenlösung bei 4 °C vorrätig gehalten werden. Vor Gebrauch werden sie dreimal mit Tween-NaCl gewaschen (0,9% NaCl + 0,05% Tween 20). Die noch freien Proteinbindungsstellen werden durch Inkubation mit PBS + 0,5% BSA während 1 Std. bei Zimmertemperatur abgesättigt.

Wir haben allerdings die Erfahrung gemacht, dass nach dem Waschen mit Tween-NaCl keine nennenswerten Proteinmengen mehr aufgenommen werden. Trotzdem halten wir sicherheitshalber an diesem Schritt fest, der die unspezifische Bindung von Reagens an die Röhrenwand verhindern soll.

Für den Sandwich-ELISA verfahren wir, wie früher beschrieben (1977). Da die kompetitive Methode für Pferde-Antitoxinnachweis besser geeignet ist, wird nachfolgend nur diese im Detail beschrieben. Die Bindung von Anti-Pferd-Antikörpern an Pferde-IgG hat sich als nicht sehr spezifisch erwiesen, d.h. die Aufnahme von Phosphatase-markiertem Anti-Pferd-IgG ist unregelmässig. Offenbar neigt Pferde-IgG im Gegensatz zu Menschen-IgG zu unspezifischer Adsorption an das System und ist dann nicht mehr quantitativ abwaschbar. Dasselbe haben wir schon bei bovinem IgG beobachtet (Sturzenegger und Fey, 1975).

Kompetitiver ELISA

Beschichtung der Polystyrolperlen:

n Perlen werden in n/2 ml Antitoxin-Verdünnung über Nacht bei Zimmertemperatur geschüttelt oder 3 Std. bei 37 °C inkubiert (Antiserum 5553 mit 110 mg Protein/ml, 1/3000 verdünnt in 0,1 M Na-Bicarbonat pH 9,6). Die optimale Serumverdünnung wurde in Vorversuchen anhand der Aufnahme von Toxoid-Phosphatase-Konjugat ermittelt.

Vor Gebrauch werden die Perlen zweimal mit Tween-NaCl gewaschen und 1 Std. in PBS + 0,1% BSA + 0,05% Tween 20 + 0,02% NaN₃ inkubiert.

Zur Bindung von Tetanustoxoid-Phosphatase mit dem Serum-Antitoxin werden die Teströhren aus Polystyrol vorerst mit PBS + BSA + Tween 20 + NaN₃ vorbehandelt, um alle Proteinbindungsstellen zu blockieren. Danach werden in jedes Röhren 0,9 ml des Toxoid-Phosphatase-Konjugates, 1/500 in PBS + Tween verdünnt, abgefüllt. 0,1 ml des Standardserums (10 IE/ml), 1/20, 1/40, 1/80 und 1/160 mit dem gleichen Puffer verdünnt, wird in die Röhren gegeben (Endverdünnung 1/200 usw.) Die Testseren werden gleicherweise, aber im Doppelansatz, in den Endverdünnungen 1/100 und 1/500 getestet. Inkubation 4–6 Std. bei Zimmertemperatur. Jetzt gibt man in jedes Röhren eine gewaschene Antitoxinperle und inkubiert weiter über Nacht bei Zimmertemperatur.

Ablesung:

Nach dreimaligem Waschen der Perlen in den Teströhren wird je 1 ml Substrat NPP 1 mg/ml in 0,05 M Na-Bicarbonat pH 9,8 + 1 mM MgCl₂ ein-

pipettiert und 30–60 Min. bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wird die enzymatische Reaktion durch Zugabe von je 0,1 ml 2 M NaOH gestoppt und die Intensität der Gelbfärbung bei 403 nm im Spektrofotometer gemessen. Die Dauer der Inkubation richtet sich nach der Gelbfärbung der Negativkontrolle, deren Extinktion 0,8 nicht überschreiten sollte.

Negativkontrolle: Serum eines Fohlens vor der Toxoid-Vakzination, 1/100 verdünnt, soll die Bindung von markiertem Toxoid an die Antitoxinperlen nicht hemmen.

Auswertung

An jedem Untersuchungstag muss das Standardserum mitgeprüft werden, weil die unspezifische Aufnahme von Antikörpern durch die Polystyrolperlen nicht bei jedem Experiment identisch ist.

Die mit dem Standardserum ermittelten Extinktionswerte werden in Form einer Regressionsgeraden aufgezeichnet. Die Standardkurve verläuft sigmoid, und es werden deshalb für die Regressionsgerade nur diejenigen Werte berücksichtigt, die im linearen Bereich liegen. Von den zu prüfenden Antisera werden Doppelbestimmungen gemacht. Für die Berechnung des Antitoxingehaltes wird diejenige Verdünnung gewählt, deren Extinktionswert in den linearen Teil der Standardkurve fällt (s. Abb. 3).

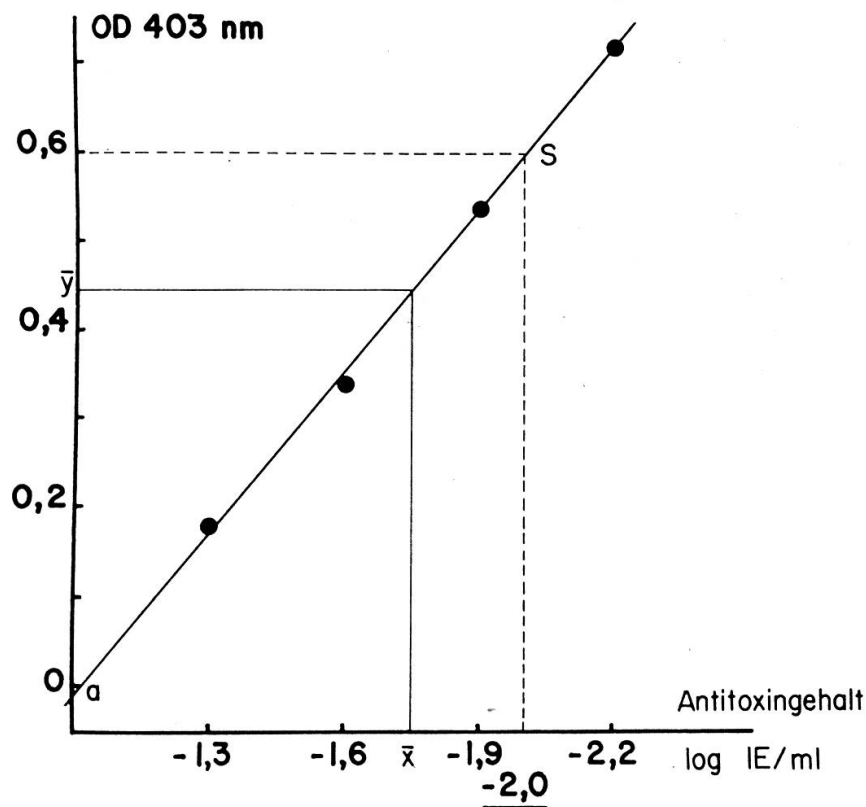


Abb. 3 Standardkurve, erstellt mit dem Standardserum 275b, zur Berechnung des Antitoxingehaltes eines unbekanntes Serums mit dem kompetitiven ELISA.

Tab. 1 Beispiel einer Standardkurve und der Auswertung eines Pferde-Antiserums (Standardserum Nr. 275 b, 10 IE/ml).

Verdünnung	IE/ml	log IE/ml	OD 403 nm	Regressionswerte
1/200	0,05	-1,3	0,18	$\bar{x} = -1,75$
1/400	0,025	-1,6	0,34	$\bar{y} = 0,445$
1/800	0,0125	-1,9	0,54	$a = -0,01$
1/1600	0,006	-2,2	0,72	

Ein Pferde-Antiserum S zeigte bei einer Verdünnung von 1/500 eine Extinktion von 0,6. Der Antitoxingehalt liegt demnach bei log IE/ml -2,0. Antilog = 0,01; $x \cdot 500 \rightarrow 5,0$ IE/ml.

Resultate

Wir untersuchten 19 Seren von Fohlen vor und nach der Impfung mit Tetanustoxoid. Die Impfungen erfolgten am 30.11.76 und 2.2.77, die zweite Blutentnahme am 17.2.77.

Alle Seren vor der Impfung erwiesen sich als negativ, alle Seren nach der Impfung als positiv. Zehn der Immunsereen wurden an vier verschiedenen Tagen getestet und die Streuung der gemessenen Antitoxin-Einheiten berechnet (Tab. 2).

Tab. 2 Antitoxinwerte von zehn Tetanus-immunisierten Fohlen, viermal an verschiedenen Tagen bestimmt.

Serum Nr.	Antitoxingehalt IE/ml $\bar{x} \pm s$
11	6,2 \pm 1,2
12	8,4 \pm 1,3
13	8,7 \pm 0,5
15	4,1 \pm 1,2
17	5,5 \pm 0,7
18	5,2 \pm 0,6
19	12,5 \pm 1,7
20	9,6 \pm 0,6
21	17,6 \pm 0,2
24	7,1 \pm 1,0

Standardserum Nr. 275 b = 10 IE/ml

Polystyrolperlen-Beschichtung mit Serum anti Tetanus Nr. 5553, 4400 IE/ml, verdünnt 1/3000 in 0,1 M Na-Bicarbonat pH 9,6.

Diskussion

Die routinemässige Prüfung des Immunisierungserfolges mit Tetanus-toxoid hat bisher bei Mensch und Tier Probleme aufgegeben. Der Schutzversuch am Tier wird nur in spezialisierten Instituten ausgeführt und setzt Erfahrung voraus. Das gleiche gilt für den von uns vorgeschlagenen Radio Immuno Assay. Der ELISA beseitigt diese Schwierigkeiten und ist auch für die Untersuchung von Einzeleren praktikabel. Er ist der indirekten Hämagglutination vorzuziehen, weil die Polystyrolröhrchen viel einfacher als Erythrozyten mit Antigen zu beladen sind.

Der grosse Vorteil beim ELISA liegt in der Haltbarkeit des Phosphatase-markierten Reagens (Antikörper oder Toxoid). Wir haben 1977 auch einen visuell ablesbaren ELISA beschrieben, der die Untersuchung noch leichter macht, ohne dass die Reproduzierbarkeit der Methode wesentlich beeinträchtigt würde. Dabei wird das Standardserum wie das Probandenserum 1/200–3200 verdünnt, und die Röhrchen mit vergleichbarer Gelbfärbung werden einander gegenübergestellt. Dies erlaubt eine recht gute Schätzung des Antitoxingehaltes im Probeserum.

Für eine offizielle Angabe des Serumantikörper-Gehaltes in internationalen Einheiten kann nach wie vor nicht auf den Schutzversuch verzichtet werden. Hingegen eignet sich der beschriebene ELISA als einfacher Labortest gut für die Prüfung des Impferfolges, für die Qualitätsbeurteilung von Antiseren und für die Untersuchung der Titerbewegung von toxoidimmunisierten Patienten.

Aufgrund unserer Erfahrung mit ELISA und dem RIST, die beide von vergleichbarer Empfindlichkeit sind, glauben wir, dass der viel leichter zu handhabende ELISA auf zahlreichen serologischen Gebieten die radioimmunologischen Methoden verdrängen wird.

Zusammenfassung

Der Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) eignet sich vortrefflich als einfache Labormethode zum Nachweis und zur Messung von Tetanus-Antitoxin bei Mensch und Tier. Die Technik wird beschrieben und anhand von viermal wiederholten Untersuchungen an zehn Seren von immunisierten Fohlen gezeigt, dass die Methode reproduzierbar ist. In unserem Laboratorium hat deshalb der ELISA den Radioimmunosorbent-Test ersetzt.

Résumé

Le Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) convient très bien comme méthode de laboratoire simple pour la mise en évidence et pour la mesure de l'antitoxine tétanique chez l'homme et l'animal. La technique est décrite et à l'aide de quatre examens répétés avec le sérum de 10 poulains il a été démontré que la méthode peut être reproduite. Dans notre laboratoire l'ELISA remplace le Radio-Immuno-Sorbent-Test.

Riassunto

Il metodo ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) costituisce una ottima tecnica routinaria per la dimostrazione e la titolazione della antitossina tetanica nell'uomo

e negli animali. Nel presente lavoro la tecnica in questione viene descritta nei particolari. La ripetizione per un certo periodo di tempo delle analisi di dieci sieri di puledri immunizzati, ha dimostrato la riproducibilità del metodo. Per questi motivi la tecnica ELISA ha sostituito nel nostro laboratorio il test di radio-immuno-assorbimento.

Summary

The Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) is a simple and reliable method for the detection and quantitation of Tetanus antitoxin in man and animals. A detailed description of the method is given. Ten sera of foals immunized with toxoid have been examined four times on different days in order to prove that the results obtained are reproducible. Because of its sensitivity, reliability and simplicity the ELISA has replaced the radio-immuno-sorbent assay in our laboratory.

Wir danken Herrn Dr. R. Heiz, Bern, Herrn Prof. S. Barandun, Bern, und Herrn Dr. H. Leuenberger, Haras fédéral, Avenches, für die freundliche Hilfe bei der Beschaffung der Seren und Tetanustoxoidpräparate.

Literatur

- [1] Avrameas St.: Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. *Immunochemistry* 6, 43-52 (1969). - [2] Atanasiu P., Savy V. et Perrin P.: Epreuve immunoenzymatique pour la détection rapide des anticorps antirabiques. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 128A, 489-498 (1977). - [3] Benjamin D. R. and Ray C. G.: Use of immunoperoxidase for the rapid identification of human myxoviruses and paramyxoviruses in tissue culture. *Appl. Microbiol.* 28, 47-51 (1974). - [4] Bruggmann S. T., Keller H., Bertschinger H. U. and Engberg B.: A new method for the demonstration of antibodies against *Mycoplasma suipneumoniae* in pigs sera. *Vet. Rec.* 99, 101 (1976). - [5] Catt K. and Tregear G. W.: Solid-Phase Radioimmunoassay in Antibody-Coated Tubes. *Science* 158, 1570-1571 (1967). - [6] Carlsson Hans E., Lindberg Alf A. and Hammarström St.: Titration of antibodies to *Salmonella* O antigens by Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay. *Infect. Immun.* 6, 703-708 (1972). - [7] Carlsson Hans E., Lindberg Alf A., Hammarström St. and Ljunggren Åke: Quantitation of *Salmonella* O-antibodies in human sera by Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA). *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 48, 485-494 (1975). - [8] Carlsson H. E., Hurvell B. and Lindberg A. A.: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) for titration of antibodies against *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica*. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 84, 168-176 (1976). - [9] Engvall E. and Perlmann P.: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochem.* 8, 871-874 (1971). - [10] Engvall E., Jonsson K. and Perlmann P.: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay. II. Quantitative assay of protein antigen, immunoglobulin G, by means of enzyme-labeled antigen and antibody-coated tubes. *Biochim. Biophys. Acta* 251, 427-434 (1971). - [11] Engvall E. and Perlmann P.: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J. Immunol.* 109, 129-135 (1972). - [12] Engvall E. and Ljungström I.: Detection of human antibodies to *Trichinella spiralis* by Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay, ELISA. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 83, 231-237 (1975). - [13] Fey H., Pfister H., Messerli J., Sturzenegger N. and Grolimund F.: Methods of isolation, purification and quantitation of bovine immunoglobulins. *Zbl. Vet. Med. B* 23, 269-300 (1976). - [14] Fey H. and Stiffler-Rosenberg G.: Detection of staphylococcal enterotoxin B with a new modification of the Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA). *Experientia* (in press). - [15] Feldmann G., Druet P., Bignon J. and Avrameas S.: Immunoenzymatic techniques. INSERM Symposium No 2, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, American Elsevier Publishing Company, Inc., New York 1976. - [16] Holmgren J. and Svennerholm A. M.: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assays for cholera serology. *Infect. Immun.* 7, 759-763 (1973). - [17] Kitagawa Tsunehiro and Aikawa Tadomi: Enzyme coupled immuno-assay of insulin using a novel coupling reagent. *J. Biochem.* 79, 233-236 (1976). - [18] Kryszinski E. P. and Heimsch R. C.: Use of enzyme-labeled antibodies to detect *Salmonella* in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 33,

947-954 (1977). – [19] Messerli J. und Fey H.: Messung des klassenspezifischen Antikörper- und Immunoglobulingehaltes in Colostrumseren von proteinimmunisierten Rindern. *Zbl. Vet. Med. B* 20, 177-198 (1973). – [20] Nakane Paul K. and Kawaoi Akira: Peroxidase-labeled antibody, a new method of conjugation. *J. Histochem. Cytochem.* 22, 1084-1091 (1974). – [21] Russel H., Facklam R. R. and Edwards L. R.: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay for streptococcal M protein antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 3, 501-505 (1976). – [22] Saunders G. C.: Serologic testing with enzyme-labeled antibodies (ELA). Proceedings of 17th Annual Meeting, The American Assoc. of Vet. Laboratory Diagnosticians, Roanoke, Virginia, Oct. 13-15, 1974, 311-320 (1975). – [23] Saunders G. C. and Clinard E. H.: Rapid micromethod of screening for antibodies to disease agents using the indirect enzyme-labeled antibody test. *J. Clin. Microbiol.* 3, 604-608 (1976). – [24] Saunders G. C., Clinard E. H., Bartlett M. L. and Sanders Wm. M.: Application of the indirect enzyme-labeled antibody microtest to the detection and surveillance of animal diseases. *J. Infect. Dis.* 1976, Manuscript. – [25] Scherrer R. et Bernard S.: Application d'une technique immuno-enzymologique (ELISA) à la détection du Rotavirus bovin et des anticorps dirigés contre lui. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 128 A, 499-510 (1977). – [26] Stiffler-Rosenberg G. und Fey H.: Radioimmunologische Messung von Tetanusantitoxin. *Schweiz. med. Wschr.* 105, 804-810 (1975). – [27] Stiffler-Rosenberg G. und Fey H.: Messung von Tetanus-Antitoxin mit dem Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA). *Schweiz. med. Wschr.* 107, 1101-1104 (1977). – [28] Sturzenegger N. und Fey H.: Untersuchungen über die Anwendungsmöglichkeit der Radioimmunosorbenttechnik (RIST) zur Messung der Immunoglobulinklassen IgG, IgA und IgM des Rindes. *Zbl. Vet. Med. B* 22, 809-826 (1975). – [29] Voller A., Huldt G., Thors C. and Engvall E.: New serological test for malaria antibodies. *Brit. Med. J.* 1, 659-661 (1975). – [30] Voller A. and Bidwell D. E.: Enzyme immunoassays for antibodies in measles, cytomegalovirus infections and after rubella vaccination. *Brit. J. Exp. Path.* 57, 243-247 (1976). – [31] Voller A., Bidwell D. E., Bartlett A., Fleck D. G., Perkins M. and Oladehin B.: A microplate enzyme-immunoassay for Toxoplasma antibody. *J. Clin. Path.* 29, 150-153 (1976). – [32] Walls K. W., Bullock S. L. and English D. K.: Use of the Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) and its microadaptation for the serodiagnosis of Toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 5, 273-277 (1977).

BUCHBESPRECHUNGEN

Untersuchungen über die Schlachtkörperqualität von Reinzucht- und Kreuzungslämmern mit Hilfe der Totalzerlegung. Von Th. Popp. Giessener Schriftenreihe Tierzucht und Haustiergenetik, Band 35; 1977; 100 S.; DM 20.-.

Die Schlachtkörperzusammensetzung durch subjektive Beurteilung und Messungen am unzerlegten Körper lässt sich meist nur unzureichend abschätzen. Mittels Schlachtkörperzerlegung wurden 212 Lämmer, die verschieden lang an die Mast gestellt (32-48 kg) und unterschiedlich gefüttert worden waren, untersucht. Finnkreuzungen wiesen gegenüber Reinzuchttieren bei gleichem Endgewicht höhere Fettanteile auf.

W. Weber, Bern.

Die Aufzuchtziffern von schwarzköpfigen Fleisch- und Finnkreuzungslämmern unter Berücksichtigung von Genanteil, Ablammergebnis, Wachstum, Hämoglobin- und Blutkaliumtypen. Von W. Hartmann. Giessener Schriftreihe Tierzucht und Haustiergenetik, Band 39; 1977; 96 S., DM 20.-.

Um die Produktivität in der Schafhaltung zu verbessern, bietet sich neben der Verkürzung der Zwischenlammzeit vor allem die Einkreuzung von fruchtbaren Rassen an. Für Deutschland sind dies das Finn-, das Romanov- und das ostfriesische Milchschaaf. In der vorliegenden Arbeit werden die im Titel aufgeführten Eigenschaften an reinrassigen und Kreuzungspopulationen untersucht.

Aus der Serie der Ergebnisse sei bloss eine genetische Reminiszenz aufgeführt: Die Paarung von Hämoglobin BB-Böcken mit Hb AA-Auen ergab die höchste Ablamm- und Aufzuchtziffer.

W. Weber, Bern