

Titel: Entwicklung eines Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Alaria Alata*

Problem- und Zielstellung

Ziel war die Entwicklung eines serologischen Tests zum qualitativen Nachweis von IgG-Antikörpern gegen Mesozerkarien (Dunker-Muskelegel) der Trematode *Alaria alata* in Serum, Plasma und Fleischsaft vom Haus- bzw. Wildschwein. Das neue Nachweisverfahren sollte gegenüber dem Stand der Technik falsch-negative Befunde, die aus der inhomogenen Verteilung des Parasiten im Tierkörper resultieren, verringern und die Nutzung des Verfahrens in weiterführenden Studien zu Epidemiologie, Pathogenese und Verlauf der Alariose bei Tieren und künftig auch im humanmedizinischen Bereich ermöglichen.

Ergebnisse

Trotz intensiver Bemühungen standen nur wenige auf *Alaria* positiv untersuchte Tiere zur Verfügung (62 von 330 Tieren) und diese wiesen eine sehr niedrige Mesozerkarien-Konzentration auf. Die für die Testentwicklung benötigten Proteinmengen von mindestens einem Gramm (Boukli et al. 2011) konnten deshalb nicht gewonnen werden. Erst die Trennung der Bearbeitungsschritte und die Nutzung von Trichinellen zur Entwicklung eines neuen Protokolls zur Erhöhung der Proteinmenge brachten den Durchbruch. Das Protokoll verwendet zur Proteinextraktion eine Kombination von reagenzbasierten und physikalischen Methoden. Dabei erfolgt der reagenzienbasierte Extraktionsschritt durch eine Lyse mittels Ultraschall unter Lagerung der Probe auf Eis zur Verhinderung der Denaturierung. Dieser Gesamtentwicklungsprozess von der ursprünglichen Untersuchungsmethodik über die Suche nach Alternativen und Partnern, nach Modellparasiten und die Erarbeitung eines deutlich verbesserten Protokolls zur Proteingewinnung dauerte länger als erwartet.

Durch die Etablierung des neuen und innovativen Protokolls zur Proteinextraktion konnte die Menge des extrahierten Proteins signifikant gesteigert werden, was die wichtigste Basis für die Entwicklung eines ELISA Testsystems darstellt. Wichtig zu wissen ist auch, dass von den positiv getesteten Proben erstmals der Nachweis bei einem Dachs (*Meles meles*) aus dem Augustów-Wald in Polen gelang. Weiterhin wurden in einem untersuchten Marderhund neben 53 Mesozerkarien auch ca. 250 adulte Würmer im Darm gefunden. Dies ist der erste Fund zweier unterschiedlicher Entwicklungsstadien des Parasiten in einem Tier.

Ausblick

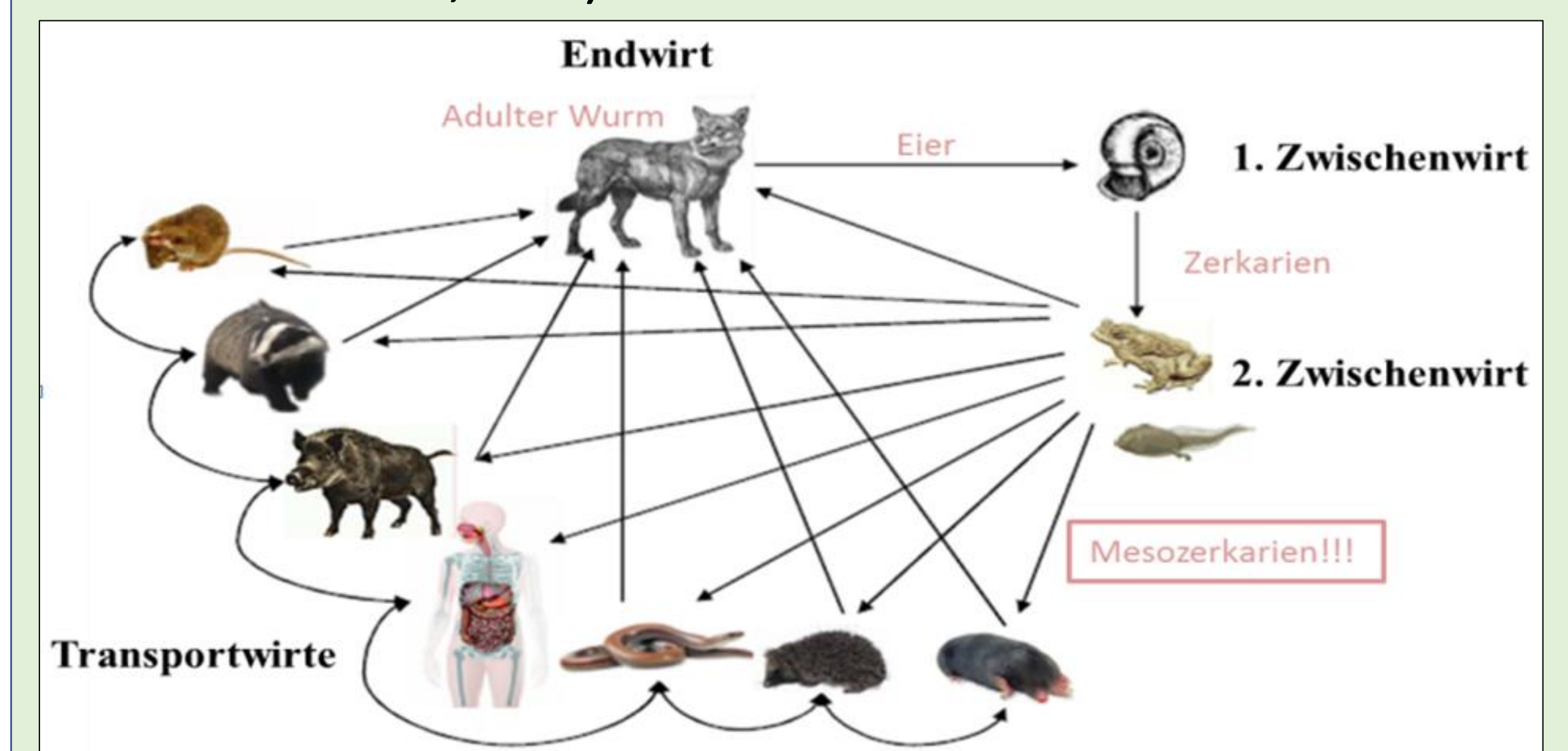
Trotz der Schwierigkeiten sind einige Ansätze zur Testentwicklung und zur Antigenisolierung vielversprechend und sollten weiter verfolgt werden. Die zeit- und kostenaufwändige Etablierung neuer Protokolle zur Erhöhung der Proteinmengen bedingen, dass dieses Protokoll künftig auch bei der Entwicklung anderer Schnelltests von hoher Relevanz sein kann, da hohe Proteinmengen die Grundvoraussetzung zur Schnelltestentwicklung sind und sich damit neue Möglichkeiten bei der Entwicklung oder Verbesserung von Schnelltestsystemen eröffnen. Somit kann dieses Protokoll auch für andere Anwendungen von Nutzen sein und damit das Interesse weiterer Schnelltestentwickler wecken. Die Testentwicklung für *Alaria Alata* ist mit den Ergebnissen für ein Wirtschaftsunternehmen umsetzbar.

Danksagung

Wir danken dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), insbesondere Frau Dr. A. Johne, der Hochschule für angewandte Wissenschaften Hamburg, insbesondere Frau Prof. Dr. K. Riehn sowie der NovaTec GmbH, insbesondere Herrn Dr. H. Duchmann, für Ihre konstruktive fachliche Unterstützung und den zahlreichen Jägern und Jagdverbänden für die Unterstützung bei der Probengewinnung.

Hintergrundinformation

Alaria Alata ist ein parasitischer Saugwurm. Im adulten Stadium ist er 2-6 mm lang und 0,5-2 mm breit und parasitiert im Darm von Fleischfressern (Füchsen, Marderhunden, etc.).



- Endwirte:** Füchse, Marderhunde, etc.
- 1. Zwischenwirt:** Süßwasserschnecke
- 2. Zwischenwirt:** Frösche und Kaulquappen
- Transportwirte:** Amphibien, Reptilien, Vögel, Säuger