

Entwicklung eines Serum- und Milch-ELISAs zum Nachweis der Infektion mit Magen-Darm-Strongyliden bei Ziegen

Biedermann, I. ¹, Koopmann, R. ¹, von Samson-Himmelstjerna, G. ² und Demeler, J. ²

Keywords: goats, *Teladorsagia circumcincta*, ELISA, TST

Abstract

Grazing goats are naturally infected with gastrointestinal nematodes which are an important cause of diseases and economic losses. Targeted selective treatment (TST) is a possibility to avoid spreading of anthelmintic resistances and to reduce the use of anthelmintics. The aim of this study is the development of a goat-milk ELISA for the detection of infection with *T. circumcincta* in order to provide a monitoring tool for herd infection levels. Therefore a group of kids were artificially infected, blood and faecal samples were taken over a period of 10 weeks. Additionally, a herd of milk goats kept on pasture at the experimental farm was used to obtain milk, blood and faecal samples regularly.

Einleitung und Zielsetzung

Infektionen mit Magen-Darm-Strongyliden (MDS) sind bei kleinen Wiederkäuern zu einem erheblichen Teil Ursache für Erkrankungen und Leistungseinbußen und damit verbundenen wirtschaftlichen Verlusten. Im Zusammenhang mit zunehmenden Anthelminthikaresistenzen und dem Wunsch, den Anthelminthika-Einsatz zu reduzieren, rückt das gezielte Behandeln von Einzeltieren („Targeted Selective Treatment“, TST) immer stärker in den Mittelpunkt. Dafür ist jedoch eine kontinuierliche Herdenüberwachung erforderlich, welche durch den hohen Arbeitsaufwand der Kotprobenuntersuchung erschwert wird. Aus diesem Grund wurde schon im Rinderbereich am Nachweis von Antikörpern gegen MDS in der Milch bzw. im Serum mittels ELISA (Keus et al. 1981) sowie deren Einfluss auf verschiedene Milchparameter gearbeitet (Charlier et al. 2005). Auch für Schafe ist bereits der Nachweis der Infektion mit *Haemonchus contortus* mittels ELISA gelungen (Schallig et al. 1995) und zudem konnte bei Ziegen eine Kreuzreaktion zwischen *H. contortus* und *Teladorsagia circumcincta* nachgewiesen werden (Molina et al. 1999). Die Entwicklung eines *Teladorsagia*-Milch-ELISAs für Ziegen bietet gleich mehrere Vorteile, da dieses der häufigste Endoparasit in Deutschland ist. Zum einen die vereinfachte Probenahme und -untersuchung und zum anderen kann er vor allem für den ökologischen Landbau ein kostengünstiges Monitoring-Tool zur Feststellung des Herden-/Einzeltierstatus werden und so dem TST-Ansatz förderlich sein.

Methoden

Die Versuchsgruppe im Jahr 2008 bestand aus acht kastrierten Bocklämmern, die parasettenaiv aufgezogen und einmalig experimentell mit 30.000 infektiösen Larven von *Teladorsagia circumcincta* infiziert wurden. Eine gleichgroße Gruppe diente als Kontrollgruppe. Beiden Gruppen wurden ab dem 10. Tag p.i. zweimal wöchentlich Blut- und Kotproben ent-

¹ Institut für Ökologischen Landbau des Johann Heinrich von Thünen-Instituts, Trenthorst 32, D-23847 Westerau, insa.biedermann@vti.bund.de, regine.koopmann@vti.bund.de

² Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Königsweg 67, 14163 Berlin, samson.georg@vetmed.fu-berlin.de, demeler.janina@vetmed.fu-berlin.de

nommen, um den Verlauf der Infektion zu verfolgen. Die Kotproben wurden nach einer modifizierten McMaster-Methode zur Bestimmung der Eiausscheidung (EpG) untersucht. Die Blutproben wurden zentrifugiert und das Serum bis zur weiteren Untersuchung eingefroren. Der Versuchszeitraum umfasste etwa 10 Wochen. Fünf infizierte Bocklämmer wurden zur Gewinnung von adulten Würmern getötet. Diese dienten der Gewinnung von Ganzwurmantigen zur Beschichtung der ELISA-Platten. Dazu wurden die lyophilisierten Würmer in PBS gelöst und mittels Tissue rupture zu einer homogenen Masse verarbeitet. Nach der Zentrifugation wurde in dem Überstand die Proteinbestimmung nach Bradford durchgeführt.

Um den Verlauf des Antikörpertiters auch in der Milch überprüfen zu können, wurde eine Gruppe von 16 weiblichen Lämmern parasitennativ aufgezogen und im Herbst belegt. Die Hälfte dieser Gruppe wurde nach der Lammung mit *T.circumcincta* infiziert. Bei beiden Gruppen wurden ab Tag 14 p.i. über einen Zeitraum von 2 Wochen täglich Blut-, Milch- und Kotproben genommen, um ein enges Raster für den Verlauf des Antikörpertiters zu bekommen. Über weitere drei Wochen wurden die Probennahmen dreimal wöchentlich durchgeführt. Anschließend erfolgte die Probennahme nur noch einmal wöchentlich bis Versuchsende.

Neben dem Versuch zur experimentellen Infektion wurden bei der betriebseigenen 70köpfigen Milchziegenherde über die gesamte Weidesaison 2008 im 4-Wochen-Rhythmus von allen Einzeltieren Blut-, Milch-, und Kotproben genommen. Diese Proben dienen der laufenden Validierung des Tests.

Ergebnisse und Diskussion

Die Proteinbestimmung ergab 32 mg/ml Ganzwurmantigen aus den verarbeiteten adulten Würmern. Erste Untersuchungen erfolgten mit unterschiedlichen Verdünnungen des Antigens und der Seren. Die Beschichtung der Platten erfolgte mit einer Verdünnungsreihe von 1:1500 bis 1:5000, die Seren wurden 1:100 bis 1:2000 verdünnt. Für die Negativ- und Positivkontrollen wurde bisher die Kombination 1:5000 Antigenverdünnung und 1:100 Serumverdünnung verwendet. Dieses ergab für die Negativkontrolle (nach 30 Minuten gestoppt) im Mittel einen vorläufigen Wert von $0,007 \pm 0,032$ ODR bei 492nm und für die Positivkontrolle einen vorläufigen Mittelwert von $0,998 \pm 0,080$ ODR. Ähnliche Werte ergaben sich bei den ersten Versuchen mit Milchproben. Die Durchführung aller Messungen sowie die Auswertung aller Daten erfolgen in den kommenden Wochen.

Literatur

- Charlier J., Claerebout E., Duchateau L. and Vercryse J. (2005): A survey to determine relationships between bulk tank milk antibodies against *Ostertagia ostertagi* and milk production parameters. *Vet.Parasitol.* 129: 67-75
- Keus A., Kloosterman A. and van den Brink, R. (1981): Detection of antibodies to *Cooperia* spp. And *Ostertagia* spp. In calves with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Vet.Parasitol.* 8: 229-236
- Molina JM., Ruiz A., Rodriguez-Ponce E., Gutiérrez AC., González J., Hernández S. (1999): Cross-reactive antigens of *Haemonchus contortus* adult worms in *Teladorsagia circumcincta* infected goats. *Vet Res.* 30: 393-399
- Schallig H.D.F.H., Hornok S., Cornelissen J.B.W.J. (1995): Comparison of two enzyme immunoassays for the detection of *Haemonchus contortus* infections in sheep. *Vet.Parasitol.* 57: 329-338