

Entwicklung eines neuartigen ELISA zum serotypspezifischen Nachweis und Differenzierung von Antikörpern gegen das Maul- und Klauenseuche-Virus unter Verwendung rekombinanter VP1 Antigene

Werner Brunhart, Barbara Thür, Jon Duri Tratschin, Martin Hofmann
Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe, CH-3147 Mittelhäusern

Schlüsselwörter

Maul- und Klauenseuche-Virus, Antikörper-Nachweis, ELISA, rekombinantes Antigen, Serotyp-Differenzierung

Problemstellung und Zielsetzung

Das Ziel war die Entwicklung eines neuartigen ELISAs unter Verwendung von rekombinant exprimiertem VP1 Protein zu entwickeln. In einem ersten Projekt konnte gezeigt werden, dass sich VP1 grundsätzlich als Test-Antigen eignet, jedoch konnte der ELISA nicht zur Praxisreife entwickelt werden. Deshalb wurde mit dem vorliegenden Nachfolge-Projekt versucht, aufbauend auf der gleichen Strategie einen praxistauglichen ELISA zum Nachweis und zur Serotyp-Differenzierung von MKS-Antikörpern zu entwickeln.

Material und Methoden

Der Genombereich für das Kapsidprotein VP1 der Serotypen A, O und Asia 1 des MKS-Virus (MKS_V), das die wichtigsten immunogenen Domänen trägt, wurde in einem bakteriellen Expressionsvektor in *E. coli* exprimiert, danach unter denaturierenden Bedingungen gewonnen und Affinitäts-gereinigt und anschliessend zur Entwicklung eines ELISAs eingesetzt, wobei sowohl ein indirekter als auch ein Blocking ELISA evaluiert wurden

Ergebnisse und Bedeutung

Es gelang, VP1 der MKS_V Serotypen A₅ Allier, O PanAsia, and Asia 1 Shamir in für den Einsatz im ELISA ausreichenden Mengen zu exprimieren, während VP1 von zwei weiteren Virusstämmen (O₁ Manisa, A Iran₉₉) zwar ebenfalls exprimiert werden konnten, jedoch nicht in für die Testentwicklung ausreichender Quantität. Aus diesem Grund wurde der ELISA nur mit den ersteren drei Antigenen weiterentwickelt. Es zeigte sich, dass der ELISA im indirekten Testformat fähig ist, MKS_V-Antikörper nachzuweisen und auch zu differenzieren, wobei sich aber grosse Unterschiede sowohl bezüglich Sensitivität als auch Spezifität zeigten in Abhängigkeit von den verwendeten Antigenen und ebenfalls von der Tierspezies der zur Validierung verwendeten Antisera.

Somit steht nach Abschluss dieses Projektes ein indirekter ELISA zur Verfügung, der zwar grundsätzlich für die Routinediagnostik einsetzbar ist, jedoch noch nicht unseren Erwartungen genügt. Es ist deshalb geplant, den Test (i) weiter zu optimieren, (ii) mittels weiterer VP1-Antigene anderer MKS_V-Serotypen auszubauen, und (iii) in einem alternativen Format (Mischen der verschiedenen Antigene) als Screening-Test für die An-/Abwesenheit von MKS_V-Antikörpern (d.h. ohne Serotyp-Differenzierung) zu etablieren.

Publikationen, Poster und Präsentationen

Brunhart, W. (2004) Development of a novel ELISA for the serotype-specific detection and differentiation of foot-and-mouth disease virus antibodies using recombinant VP1 antigen. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der VetSuisse-Fakultät der Universität Bern.

Projekt 1.02.10

Projektdauer Mai 2002 - Oktober 2004