

In einem Vorversuch wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchung von Zysten aus der Muskulatur experimentell infizierter Schafe die Reinheit der beiden für die vorliegenden Untersuchungen verwendeten Stämme von *S. tenella* und *S. arieticanis* bestätigt.

Bei fünf experimentell mit je 25 000 Sporozysten von *S. tenella* infizierten Schafen und einem mit 25 000 Sporozysten von *S. arieticanis* infizierten Schaf wurde mit Hilfe des IFAT und des ELISA mit Zystozoiten-Antigenen von *S. tenella*, *S. arieticanis* und *S. gigantea* die Kinetik der Antikörperbildung verfolgt. Die Seren wurden ab der 3. Woche pi positiv und erreichten ab der 9. Woche pi Maximumtiter. Die IFAT-Titer blieben bis zum Ende der Untersuchungszeit (11. - 15. Woche pi) mit Ausnahme der Titer des mit *S. arieticanis* infizierten Schafes konstant. Alle Seren zeigten bei Untersuchung im ELISA und im IFAT Kreuzreaktivität mit allen verwendeten Antigenen in etwa gleicher Stärke.

Neun im Rahmen der vorliegenden Untersuchung gegen *S. tenella*-Zystozoiten hergestellte monoklonale Antikörper (mAk) sowie zwölf bereits vorhandene mAk gegen *S. arieticanis*-Zystozoiten wurden durch Bestimmung ihrer Immunglobulin-Subklassen, sowie der Untersuchung ihrer Reaktivität mit Zystozoitenantigenen von *S. tenella*, *S. arieticanis* und *S. gigantea* im ELISA und im IFAT charakterisiert. Von den neun gegen *S. tenella* gerichteten mAk gehörten fünf zur IgG₁-Subklasse, drei zur IgG_{2a}-Subklasse und einer zur IgG₃-Subklasse. Sieben der zwölf gegen *S. arieticanis* gerichteten mAk gehörten zur IgG₁-Subklasse, zwei zur IgG_{2a}-Subklasse, zwei zur IgG_{2b}-Subklasse und einer zur IgG₃-Subklasse.

Ein mAk (ST-1) reagierte im IFAT nur mit dem homologen *S. tenella*-Antigen und nicht mit den beiden heterologen *S. arieticanis*- und *S. gigantea*-Antigenen. Im ELISA reagierte dieser mAk mit keinem der drei Antigene. Die übrigen mAk gegen *S. tenella* oder

S. arieticanis zeigten jeweils in einem oder in beiden Immuntests unterschiedlich starke Kreuzreaktionen.

Im Gegensatz zu den polyklonalen Antikörpern in Seren experimentell infizierter Schafe, die bei Untersuchung mit Antigenen aller drei Arten im IFAT eine Fluoreszenz des gesamten Zystozoiten bewirkten, zeigten mAk Reaktionen mit unterschiedlichen Zystozoitenstrukturen. Einige reagierten ebenfalls mit dem gesamten Zystozoiten, andere nur mit dem Pol, der vorderen Hälfte, der Kernregion oder mit inneren Strukturen. Die von kreuzreagierenden mAk erkannten Antigene kamen entweder in den gleichen oder in unterschiedlichen Lokalisationen der heterologen Zystozoiten vor.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß es mAk gibt, die artspezifische Antigene von *S. tenella* erkennen. Weiterhin haben die Zystozoiten von Schafsarkosporidien Antigene, die bei zwei oder drei der hier untersuchten *Sarcocystis*-Arten gemeinsam vorkommen. Vor dem Einsatz der hier untersuchten mAk in serologischen Testverfahren zur Entwicklung einer artspezifischen Diagnostik für Sarkosporidieninfektionen beim Schaf sollten die korrespondierenden Antigene in weiteren Untersuchungen charakterisiert werden.

SUMMARY

Volmert, B.: Reactivity and specificity of monoclonal antibodies against two ovine *Sarcocystis* spp.

The purity of the *S. tenella* and *S. arieticanis* strains used here was confirmed by electronmicroscopic examination of the cysts obtained from skeletal muscles of experimentally infected sheep.

Five sheep were each infected experimentally with 25 000 sporocysts of *S. tenella* and one sheep with 25 000 sporocysts of *S. arieticanis*. The kinetics of antibody production in the sera of these sheep were examined in an indirect fluorescent antibody test (IFAT) and an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using antigens of *S. tenella*, *S. arieticanis* and *S. gigantea* cystozoites. First antibody titers were detected three weeks post infection (pi). Maximum titers were recorded nine weeks pi. The IFAT titers remained on a plateau until the end of examination (11 - 15 weeks pi), except for the sheep, that was infected experimentally with *S. arieticanis*. All sera showed a similar degree of cross-reactivity with all antigens in the IFAT and in the ELISA.

Nine monoclonal antibodies (mAb) were produced against *S. tenella* cystozoites. These mAb and twelve other mAb against *S. arieticanis* cystozoites were characterized by isotype analysis and by examining their reactivity with cystozoite antigens derived from *S. tenella*, *S. arieticanis* and *S. gigantea* in the IFAT and in the ELISA. Five of the nine mAb against *S. tenella* were of the IgG₁ isotype, three of the IgG_{2a} isotype and one of the IgG₃ isotype. Seven of the twelve mAb against *S. arieticanis* were of the IgG₁ isotype, two of the IgG_{2a} isotype, another two of the IgG_{2b} isotype, and one of the IgG₃ isotype.

One mAb (ST-1) reacted with the homologous *S. tenella* antigen only, and not with either of the two heterologous *S. arieticanis* or *S. gigantea* antigens, in the IFAT. This mAb did not react with

any antigen in the ELISA. The other mAb against *S. tenella* and *S. arieticanis* showed various degrees of cross-reactions in one or both immunotests.

In the IFAT, sera from experimentally infected sheep yielded in a fluorescence of the whole homologous or heterologous cystozoites. By contrast, mAb showed a fluorescence with the whole cystozoite or with the apical pole, the anterior half, the nuclear region, or cytoplasmic structures of the cystozoites only. Cross-reactive antigens were either found at the same location or at different locations of the heterologous cystozoites.

This study demonstrated the existence of mAb which recognize species-specific antigens of *S. tenella*. Cystozoites of ovine *Sarcocystis* spp. also have antigens that are shared among two or three different species. Further studies are planned to characterize the species-specific antigens of *S. tenella* in order to develop a species-specific diagnostic test for infections with this species in sheep.