

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Schafe können mit zwei pathogenen *Sarcocystis*-Arten infiziert werden, *Sarcocystis tenella* und *Sarcocystis arieticanis*. Eine Erstinfektion mit diesen Arten äußert sich meist mit unspezifischen Symptomen, kann aber auch zu hämorrhagischer Diathese, Enzephalitis, Enzephalomyelitis und nachfolgend zum Tode führen. Nehmen trächtige Schafe den Erreger auf, so können bei ihnen Aborte, Frühgeburten oder die Geburt lebensschwacher Lämmer auftreten.

Die Infektion kann mit immunologischen Methoden gattungsspezifisch nachgewiesen werden, allerdings wird hiermit nur die chronische Phase der Erkrankung erfaßt. Da während der akuten Phase der Erkrankung meist noch keine humoralen Antikörper nachweisbar sind, kann diese mit den bisherigen Methoden am lebenden Tier nicht sicher diagnostiziert werden.

Daher wurden Nested-PCRs auf der Basis des 18S rRNA-Gens für *S. tenella* und *S. arieticanis* entwickelt, mit denen die Parasiten-DNA im Blut artspezifisch nachgewiesen werden kann. Es traten weder mit der apathogenen Art, *Sarcocystis gigantea*, noch mit nahen Verwandten, *Toxoplasma gondii* oder *Neospora caninum*, Kreuzreaktionen auf. Beide Nested-PCRs wiesen eine Sensitivität von 1 pg genomischer DNA auf. Dies entspricht fünf haploiden Stadien der Parasiten.

Fünf Schafe wurden experimentell mit *S. tenella*, und weitere sechs Schafe mit *S. arieticanis* infiziert. Die täglich entnommenen Blutproben wurden mit den Nested-PCRs untersucht. Die mit *S. tenella* infizierten Schafe waren klinisch zwischen Tag 23 und 35 pi erkrankt. Es traten Temperaturerhöhungen bis 41,6 °C und ein Hämatokritabfall auf 20 % auf. Die Nested-PCR war zwischen Tag 24 oder 25 und Tag 47 pi positiv. In einem traditionellen ELISA war der geometrische Mitteltitel erst ab Tag 72 pi positiv.

Schafe, die mit *S. arieticanis* infiziert waren, erkrankten zwischen Tag 14 und 16 pi und zwischen Tag 24 und 33 pi. Sie hatten eine erhöhte Temperatur bis zu 42,0 °C und der Hämatokrit fiel auf 21 %. Die Nested-PCR war in einer ersten Phase um Tag 15, in einer zweiten Phase um Tag 25 pi positiv. Im ELISA war der geometrische Mitteliter ab Tag 32 pi positiv.

Die hier beschriebene Nested-PCR ist der erste artspezifische Test zum Nachweis von akuten Sarkozystiosen bei Schafen *intra vitam*.

## 7. SUMMARY

HECKEROTH, Anja Regina (1998):

Development of a PCR assay for the species-specific diagnosis of acute sarcocystiosis in sheep

Sheep may be infected by two pathogenic *Sarcocystis* spp., *Sarcocystis tenella* and *Sarcocystis arieticanis*. A primary infection may lead to severe illness or even death of the animal. In pregnant animals, acute sarcocystiosis may result in foetal death, abortion or premature birth of the offspring. While several immunological tests have been developed for diagnosis of the chronic phase of infection, it is often not possible to detect *Sarcocystis*-specific antibodies at the time clinical disease becomes obvious.

Nested PCRs based on the 18S rRNA gene of *S. tenella* and *S. arieticanis* have been developed. These PCR-assays allow the species-specific diagnosis of parasite DNA in blood samples. No cross-reactions have been observed with *Sarcocystis gigantea*, *Toxoplasma gondii* or *Neospora caninum*. Both nested PCRs have a sensitivity of 1 pg of homologous genomic DNA, which is equivalent to five haploid life-cycle stages of the parasites.

Blood samples derived from five sheep infected with *S. tenella* and six sheep infected with *S. arieticanis* blood samples were examined daily by the nested PCRs. Sheep infected with *S. tenella* suffered with clinical disease between 23 and 35 days after infection (pi). They showed a rise in body temperature up to 41.6 °C and a decrease in haematocrit down to 20 %. Nested PCR was positive between day 24 or 25 and 47 pi. In a traditional ELISA geometric mean titre were positive from day 72 pi onwards.

Sheep infected with *S. arieticanis* suffered from acute sarcocystiosis between day 14 and 16 pi and between day 24 and 33 pi. The body temperature increased up to 42.0 °C and the haematocrit decreased down to 21 %. Nested PCR was positive around day 15 pi and around day 25 pi. Geometric mean titre measured by ELISA were positive from day 32 pi onwards.

The nested PCR described here is the first diagnostic test for the species-specific detection of acute sarcocystiosis in sheep.