

# Immunoassay für die Bestimmung von Ochratoxin A in Lebensmitteln

Y. Baermann, R. J. Schneider, M. G. Weller, U. Panne

BAM Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Richard-Willstätter-Str. 11, D-12489 Berlin

## Einleitung

- Ochratoxin A (OTA, Abb. 1) ist ein Mykotoxin, welches als Kontamination in Lebensmitteln auftritt. Um die OTA-Mengen in Nahrungs- und Futtermitteln zu bestimmen, müssen hochsensitive und selektive Analysemethoden entwickelt werden. Immunoassays, wie z.B. ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay, erfüllen als bioanalytische Methoden diese Anforderungen.

## Ziel

- Schnelles und zuverlässiges Screening durch Immunoassays ohne Probenanreicherung mit einem Messbereich von 5 - 100 ng/l.

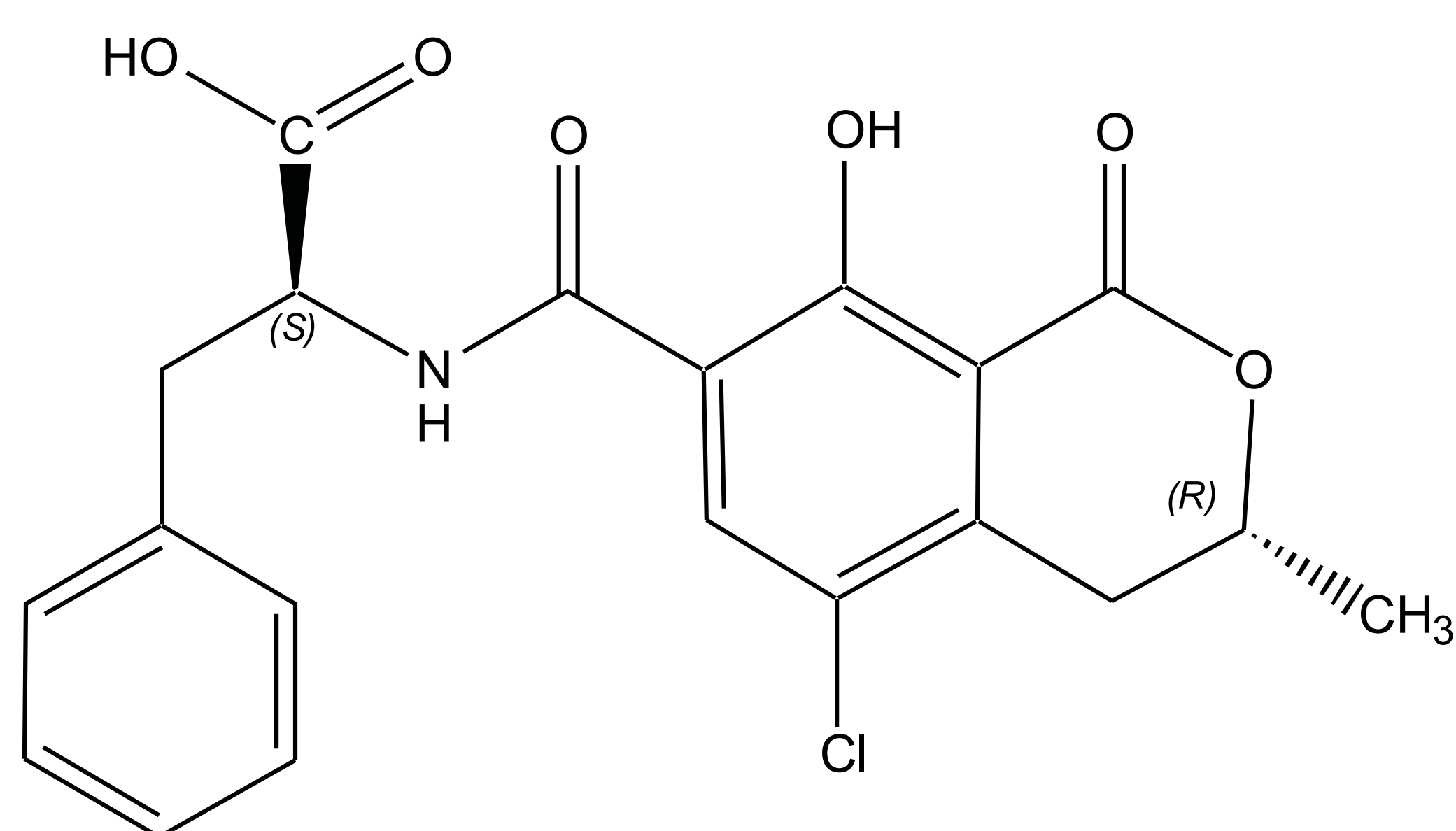


Abbildung 1: Struktur von Ochratoxin A

## Experimentelles

- Monoklonale anti-Ochratoxin-A-Antikörper (anti-OTA mAk) wurden von der AG Chung, Korea, zur Verfügung gestellt [1].
- Etablierung eines indirekten Ochratoxin-A-ELISA
- Beim indirekten kompetitiven ELISA konkurriert der immobilisierte Analyt mit freiem Analyten aus der Probe bzw. dem Kalibrierstandard um die limitierten Bindungsstellen des anti-OTA-Antikörpers (Abb. 2). Die Signalerzeugung erfolgt hier über einen sekundären enzymmarkierten anti-Maus-Antikörper.

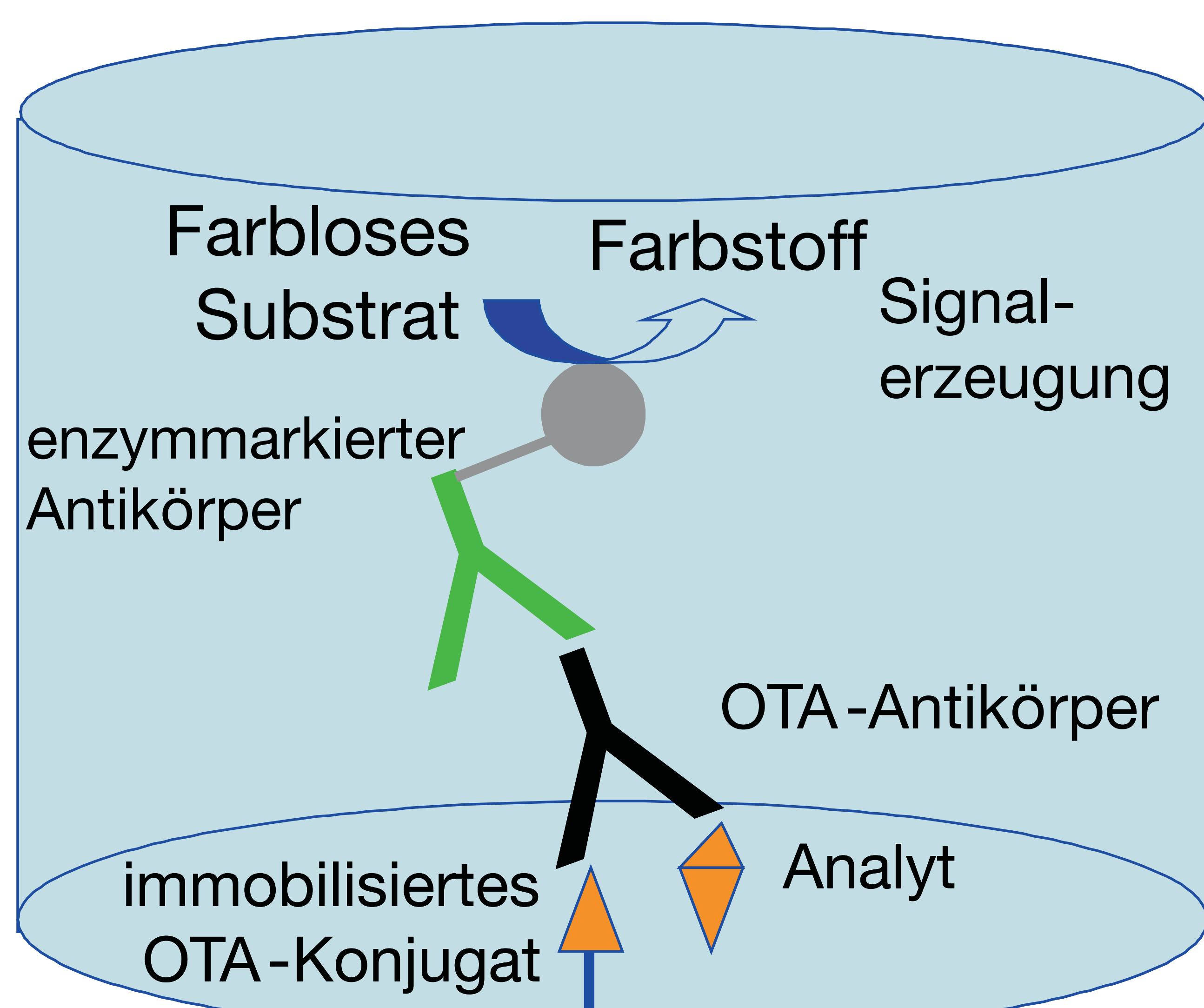


Abbildung 2: Prinzip des indirekten kompetitiven ELISA.

## Ergebnisse und Diskussion

- Eine Kalibrierkurve des indirekten kompetitiven ELISA ist in Abb. 3 dargestellt.
- Nach Optimierung des ELISA war der erreichte Messbereich 0,08 - 2 µg/L.

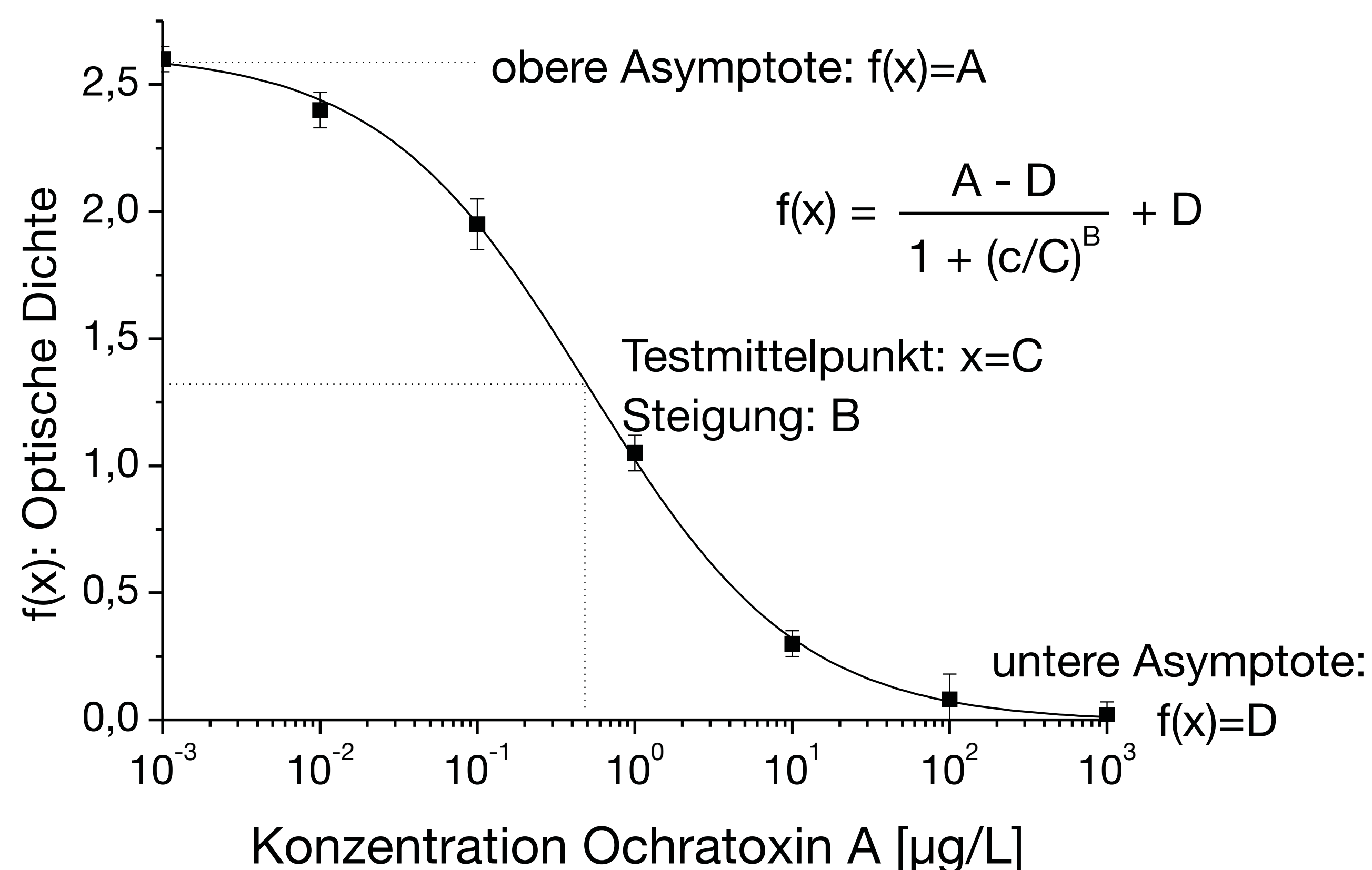


Abbildung 3: Sigmoidale Kalibrierkurve für Ochratoxin A im indirekten kompetitiven ELISA. Die Interpolation erfolgt über die 4-Parameter-Gleichung nach Rodbard [2]. Der Messbereich wurde über das Präzisionsprofil nach Ekins [3] berechnet.

- Der koreanische Anti-OTA-Antikörper zeigt eine unerwünschte Kreuzreaktivität von 48% zu Ochratoxin B (OTB).

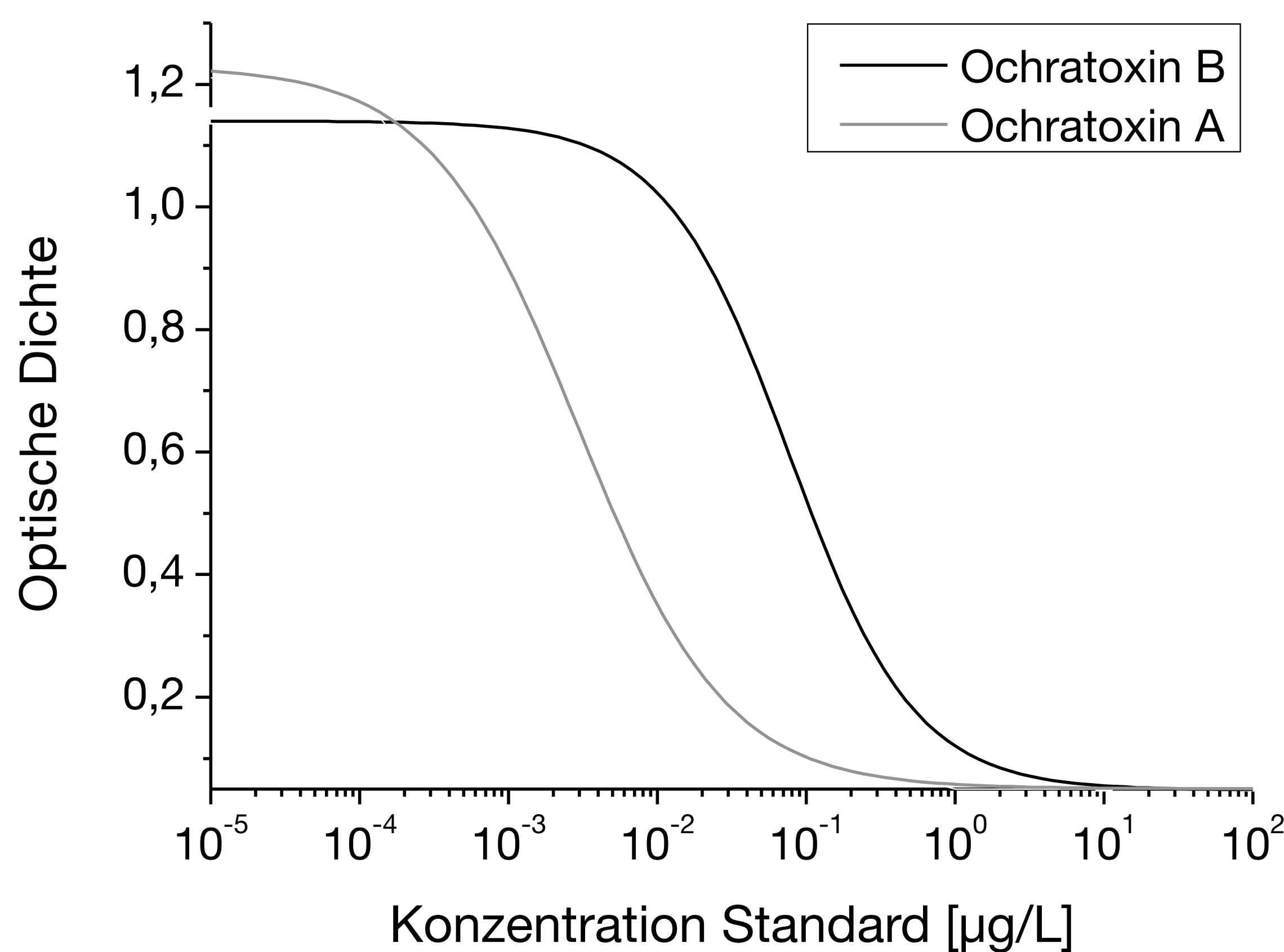


Abbildung 4: Kreuzreaktivität gegenüber OTB

## Ausblick

- Herstellung eines neuen eigenen anti-OTA mAks, der eine sehr geringe Kreuzreaktivität zu OTB aufweisen soll.
- Design und Charakterisierung (NMR, MALDI-TOF-MS) des Immunogens
- umfangreiches Hybridomascreening wird in Hinblick auf gewünschte Selektivität und hohe Sensitivität angestrebt.
- Etablierung eines neuartigen Nachweissystems für OTA ist geplant.

## Literature

- [1] Shim W.B., Kolosova A.Y., Kim Y.J., Yang Z.Y., Park S.J., Eremin S.A., Lee I.S., Chung D.H. (2004): Fluorescence polarization immunoassay based on a monoclonal antibody for the detection of ochratoxin A. Intern. J. Food Sci. 39: 829-837
- [2] Dudley, R.A., Edwards, P., Ekins, R.P., Finney, D.J., McKenzie, I.G., Raab, G.M., Rodbard, D. and Rodgers, R.P. (1985): Guidelines for immunoassay data processing. Clin. Chem. 31(8), 1264-1271.
- [3] Ekins, R.P. (1981): The "Precision Profile": Its use in RIA assessment and design. The Ligand Quarterly 4(2), 33-44.