

Multiplex-detectie van plantenpathogenen

Jan Bergervoet¹, Jeroen Peters², René van der Vlugt¹, Jan van der Wolf, Marjanne de Weerd¹ en José van Beekhoven¹

¹ Plant Research International, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB, Wageningen; e-mail: Jan.Bergervoet@wur.nl

² RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid, Akkermaalsbos 2, 6708 WB Wageningen

Plant-pathogene virussen worden in de praktijk vaak gedetecteerd en gekarakteriseerd met behulp van ELISA. Voor de detectie van plant-pathogene bacteriën wordt deze methode, aangevuld met immunofluorescentiemicroscopie en/of selectieve media ook gebruikt. Al deze methoden detecteren echter meestal maar één plantenpathogeen per bepaling.

Een manier om de kosteneffectiviteit van de detectie van plantenpathogenen te verbeteren is door het tegelijkertijd detecteren van meerdere pathogenen in één monster (zgn. multiplexen). Dit heeft niet alleen als voordeel dat het aantal handelingen per monster lager wordt maar het leidt ook tot een afname van het gebruik van *consumables* en reagentia. Het gebruik van de Luminex xMAP-technologie biedt een uitgelezen platform om bestaande reagentia in te zetten in een multiplex-setting.

Op de verschillende Luminex xMAP-beads kunnen per beadadres verschillende specifieke antistoffen gekoppeld worden maar bijvoorbeeld ook DNA-probes. Er zijn momenteel 500 verschillend gekleurde beads beschikbaar waarmee

in principe 500 verschillende pathogenen gelijktijdig in één monster zouden kunnen worden gedetecteerd.

De Luminex xMAP-technologie is vergelijkbaar met een DAS-ELISA, waarbij de virussen of bacteriën niet in de ELISA-plaat maar op de xMAP-beads gevangen worden. De uitvoering van Luminex xMAP-test en een standaard 96-wells ELISA zijn vergelijkbaar en hierdoor past deze detectie methode naadloos in de huidige laboratoriumpraktijk en automatisering. De Luminex xMAP-technologie is ook een kwantitatieve toetsmethode omdat de gemeten hoeveelheid positieve beads een maat is voor de hoeveelheid pathogeen. De gevoeligheid van de meetmethode blijkt gelijk of zelfs beter dan die van een DAS-ELISA en daarnaast kan de Luminex-test binnen twee uur worden uitgevoerd.

Referenties

- Bergervoet JHW, Peters J, Beekhoven JRCM van, Bovenkamp GW van den, Jacobson JW & Wolf JM van der (2008) Multiplex microsphere immuno-detection of potato virus Y, X and PLRV Journal of Virological Methods 149(1): 63-68
- Bergervoet, JHW, Wolf JM van der & Peters J (2007) Detection and Viability Assessment of Plant Pathogenic Microorganisms using Flow Cytometry. In "Flow Cytometry with Plant Cells" (Dolezel J, Greilhuber J & Suda J, Eds), Vol XXIV pp 455 Wiley-VCH, Weinheim
- Peters J, Sledz W, Bergervoe, J H W & Wolf JM van der (2007) An enrichment microsphere immunoassay for the detection of *Pectobacterium atrosepticum* and *Dickeya dianthicola* in potato tuber extracts. European Journal of Plant Pathology 117(2): 97-107