Toetsen voor PlAMV op leven en dood - wat zegt een toetsresultaat?

Bij virusdiagnostiek wordt veelvuldig gebruik gemaakt van laboratoriumtoetsen. Kort nadat in 2010 bekend werd dat onbekende afwijkingen bij lelie veroorzaakt werden door PlAMV, is door PPO Bloembollen en Bloembollenkeuringsdienst (BKD) dit virus nader bestudeerd en is er een PCR-toets specifiek voor PlAMV ontwikkeld. Sinds 2011 heeft de BKD een PlAMV-specifieke ELISA-toets beschikbaar. PCR- en ELISA-toetsen worden veel bij onderzoek gebruikt. Gelukkig worden PCR- en ELISA-toetsen ook steeds vaker bij bedrijfsvoering ingezet. Dit is een goede zaak!

Tekst: Maarten de Kock, PPO Bloembollen
Afbeelding: PPO

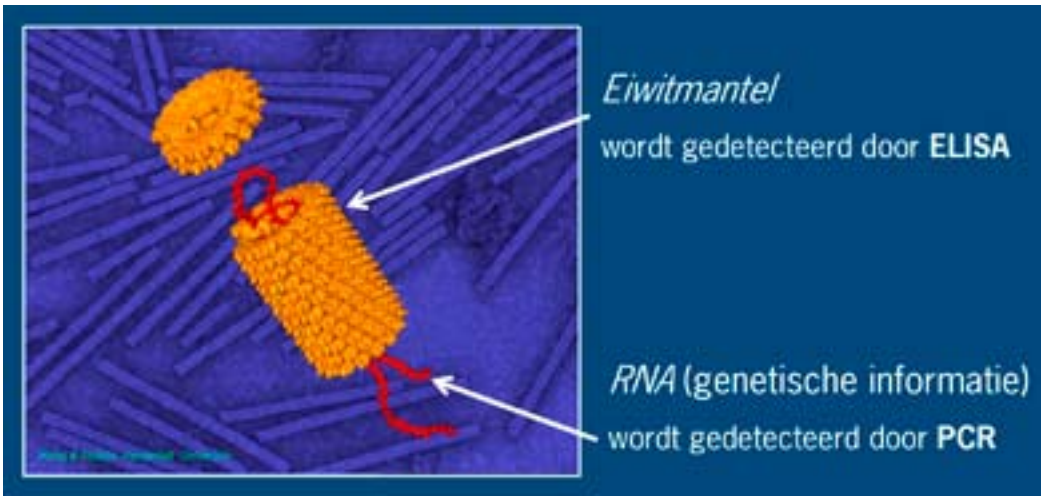
Er lijkt in de sector soms wat onduidelijkheid te zijn over wanneer welke toets wel of niet goed ingezet kan worden. Daarom in dit korte artikel wat meer achtergrondinformatie over de voor- en nadelen van de ELISA- en de PCR-toets. In figuur 1 staat een schematische weergave van een virus zoals PlAMV. Het virus bestaat uit slechts twee onderdelen: (1) RNA - het erfelijk materiaal oftewel de genetische informatie, (2) een eiwitmantel - dit is als het ware de beschermhoes van het virus. Een ELISA-toets detecteert alleen de eiwitten uit de eiwitmantel. Een PCR-toets detecteert uitsluitend het RNA van het virus. Een PCR-toets is een factor 1.000 gevoeliger dan een ELISA-toets en wordt met name ingezet bij selectiewerk. Nieuwe of recente infecties zijn met een PCR-toets veel eerder en betrouwbaarder waar te nemen dan met een ELISA-toets. ELISA toont beginnende infecties niet, of in zeer beperkte mate aan. ELISA is prijstechnisch zeer geschikt voor de analyse van grote aantallen monsters waarmee dus ook percentages besmetting in een partij bloembollen kunnen worden bepaald. Een ELISA-toets toont doorgaans geen recente virusinfecties aan.

SPOELWATER

Vanwege de hoge gevoeligheid van de PCR-toets voor PlAMV, kan deze toets ook virus in spoelwater of in veegmonsters aantonen. PPO Bloembollen past voor onderzoek aan spoelwater eerst een scheidingsproces toe waarbij plantencellen (eventueel met virus) uit het spoelwater worden verwijderd. Een PCR-toets op spoelwater toont bij PPO Bloembollen dus uitsluitend vrije virusdeeltjes in het spoelwater aan. PlAMV kan bij verhitting (65°C gedurende 10 minuten, of 60°C gedurende 30 minuten) worden gedood. De eiwitmantel raakt dermate beschadigd dat het virus niet meer een plant kan infecteren. Deze hitte-afdoding is met toetsplantenonderzoek onderzocht. Omdat de eiwitmantel bij verhitting beschadigd raakt, wordt hitte-afgedood PlAMV niet meer met een ELISA-toets aangetoond. Het RNA, het erfelijk materiaal, blijft bij dergelijke temperaturen nog wel intact. Een PCR-toets zal hitte-afgedood PlAMV daarom nog steeds kunnen detecteren.

ONDERSCHEID

Met een ELISA-toets wordt doorgaans een bestaande infectie in blad of bol aangetoond. Recente infecties, of hitte-afgedood virus kan echter niet (betrouwbaar) door een ELISA-toets worden aangetoond. Wanneer PlAMV met een ELISA wordt aangetoond, dan gaat het doorgaans dus altijd om besmettelijke virus. Een PCR-toets is weliswaar gevoeliger en toont zelfs de kleinste hoeveelheiden virus aan. Een PCR-toets maakt echter geen onderscheid tussen besmettelijk virus en afgedood virus. Virus dat via versmering of spoelwater aan de buitenkant van een gezonde bol achterblijft, wordt ook door de PCR-toets aangetoond. Heeft u vragen over ELISA- of PCR-toetsen, of het gebruik van toetsmethoden in kwaliteitssystemen? Neem dan contact op met PPO Bloembollen of BQ Support.



Figuur 1. Schematische weergaven van een virus zoals PlAMV. In werkelijkheid is het RNA volledig omgeven door de eiwitmantel.