



*Kees van Maanen, viroloog en hoofd R&D-laboratorium.*

# PCR als nieuwe techniek in de diagnostiek

Henk Bosch, redacteur

Dieren, mensen, en micro-organismen hebben allemaal erfelijk materiaal. Dat geven ze door aan hun nakomelingen als ze zich vermeerderen. Dat materiaal kan bestaan uit DNA of RNA. Veel virussen hebben RNA. PCR-diagnostiek kan, door DNA en RNA te vermeerderen, virussen of bacteriën aantonen. Het aantonen van beide gebeurt bij zowel de GD als bij het Van Haeringen Laboratorium in Wageningen.

## Samenwerking

“Het Van Haeringen Laboratorium (VHL) is een gerenommeerd laboratorium op het gebied van DNA-onderzoek en ook op het gebied van PCR. De GD besteedt sinds kort een groot deel van de bepalingen uit aan het VHL”, legt GD-er Kees van Maanen uit. Hij is viroloog en hoofd R&D-laboratorium. “Het nadere onderzoek en de verdere ontwikkeling blijft nadrukkelijk bij de GD. Vooral de routinematige bepalingen worden overgedragen aan het VHL. De kleinere testen blijven, in ieder geval voorlopig, bij de GD. Met name testen die bijvoorbeeld volgen op de testen vanuit de sectiezaal. Dus op orgaanmateriaal, of testen ter bevestiging van bacteriologische uitslagen.”

## Wat is PCR?

“PCR is een kettingreactie en betekent Polymerase Chain Reaction”, legt GD-viroloog Kees van Maanen uit. “Polymerase is een enzym waarmee je het erfelijk materiaal verdubbelt. Dat herhaal je dan steeds weer. Voor paarden is de GD er recent mee gestart. Zo kunnen we antwoord geven op een vraag van een dierenarts over een paard met griepachtige verschijnselen: is het een



herpesvirus, is er ook een risico dat mijn drachtige merries gaan aborteren, is het influenza, is het iets anders? De Olympische equipe is bijvoorbeeld gescreend met behulp van de influenza-PCR voordat ze op pad ging naar Hongkong.”

### Uitgangsmateriaal

“Uitgangsmaterialen zijn bloed, neusswabs, neusspoelingen, sperma, ontlasting en organen”, beschrijft Van Maanen. “Maar al die materialen stop je niet zomaar in de PCR. Eerst moet je het erfelijk materiaal eruit halen. Dat is voor het ene materiaal lastiger dan voor het andere.

Op het moment dat je bijvoorbeeld te maken hebt met een virus dat binnenkomt via de luchtwegen en zich ook via de luchtwegen verspreidt, dan is over het algemeen een neusswab of een neusspoeling een goede manier. Of bij een overleden paard een stukje longweefsel. Een andere keer is bloed beter.”

### PCR plus andere expertise

Volgens Van Maanen kun je eigenlijk geen PCR aanbieden als laboratorium zonder dat je er toegevoegde waarde bij levert. “Daarom heb je binnen je bedrijf experts nodig die veel weten van de ziekte en over de ziekteverwekker, waarin je hem kunt aantonen en hoe lang je hem kunt aantonen. Dat is ook een belangrijk voordeel van de GD. Met de techniek van de PCR lopen we met een aantal andere labs voorop. We hebben de techniek in huis, zowel de klassieke als de ‘real-time’ PCR. Dit om op allerlei manieren DNA of RNA van ziekteverwekkers in monsters aan te tonen, geautomatiseerd of handmatig.”

### Huidige aanbod PCR-testen

“We krijgen bij de GD jaarlijks vier miljoen monsters binnen, waarvan een paar honderdduizend voor PCR. Voor paard zijn we bezig met een bredere reeks aan testen waaraan behoefte is binnen de paardenhouderij. Wat we nu aanbieden zijn rhinopneu-

### Voordelen van PCR

Van Maanen constateert dat PCR al circa tien jaar haar plaats heeft gevonden in de diagnostiek en dat de GD er van het begin af aan bij betrokken is geweest om deze diagnostiek in huis te halen. “In feite betekent het dat je pathogenen (ziekteverwekkende micro-organismen), kunt aantonen in hele lage hoeveelheden door een techniek waarbij je het erfelijke materiaal van dat micro-organisme vermeerderd. Dankzij het PCR-vermenigvuldigingsproces ontstaan er zo uiteindelijk miljoenen tot biljoenen kopieën. Dat kun je op verschillende manieren aantonen. In het verleden was dat klassiek met bandjes op een gel. Tegenwoordig gaat dat zogenaamd ‘real-time’. Dat betekent dat je eigenlijk op het scherm zelf al ziet, zonder dat je het buisje open maakt, dat er iets vermenigvuldigd wordt. Dat is arbeidsbesparend, het gaat sneller en er zijn minder risico’s op kruisbesmetting. Met PCR kijk je heel specifiek naar bepaalde pathogenen, bijvoorbeeld het virus van rhinopneumonie bij een verworpen veulen, het virus van influenza bij paarden met griep, of naar de bacterie die droes veroorzaakt. In het verleden deden we dat door middel van een kweekmethode, de zogenaamde ‘gouden standaard’. Dat was bewerkelijk, langdurig, en duur. En de doorlooptijd kon zo maar een paar weken zijn. Met de PCR kan hetzelfde in één tot twee dagen.”

### “Beter antwoord met pakketdiagnostiek”

monie (EHV1 en EHV4), influenza, Rhodococcus equi en Lawsonia. En straks een PCR voor droes. Kortom, PCR heeft diagnostisch een grote vlucht genomen. Echter, niet alle ziekten kun je aantonen met alleen PCR.”

### Nieuwe ontwikkelingen

“We zijn bij paarden nu bezig”, besluit Van Maanen, “met het ontwikkelen van een PCR-combinatietest voor het aantonen van de oorzaak van longproblemen, zoals bij hoestende veulens of hoestende paarden. We willen eigenlijk in één testpakket alle virussen en alle bacteriën die daarin een rol zouden kunnen spelen aantonen. Met deze pakketdiagnostiek kunnen we een beter antwoord geven op bijvoorbeeld acht verschillende vragen. Ook zijn we bezig met een test voor droes. Droes kan behoorlijk uit de klauwen lopen, zeker op opfokbedrijven waar veel jonge paarden bij elkaar zijn. Tot op heden konden we hiervoor alleen testen via kweek. Dat was dan soms weer lastig, omdat er ook veel andere bacteriën in de neus voorkomen die de droesbacteriën overgroeien. Bovendien duurt zo’n kweek langer.”

