



## Serie: uit het GD-lab

# Hoe werkt de **ELISA**?

In het GD-laboratorium worden ieder jaar ruim vier miljoen bepalingen gedaan. Daarbij zetten we een grote verscheidenheid aan testen in. Maar wat onderzoeken we precies met een HAR-, PCR- of ELISA-test? Waar staan die afkortingen voor? Wat voor soort uitslag kunt u verwachten? Om daar meer inzicht in te geven, treft u in *GD Pluimvee* de serie 'Uit het GD-lab' aan. Deze keer: de ELISA.

ELISA is de afkorting van Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay. Het is een test (assay) waarin een antistof reageert (immuno) op een antigeen (bijvoorbeeld Gumboro-virus) dat gebonden is aan een plastic oppervlak (sorbent). Om die reactie meetbaar te maken, wordt een enzym gebruikt (enzyme-linked) dat een kleurreactie kan opwekken. Een enzym is een eiwit dat een bepaalde chemische reactie in of buiten een cel mogelijk maakt.

De ELISA is dus een methode om antistoffen in bloedmonsters aan te tonen. Er zijn veel verschillende laboratoriumtesten om antistoffen aan te tonen, die elk hun voor- en nadelen hebben. Maar geen enkele methode is zo populair als de ELISA, dat komt vooral door de relatief gemakkelijke uitvoering en de mogelijkheid om deze test te automatiseren. Zo'n 25 jaar geleden is GD al begonnen met het inzetten van een ELISA-robot:

een apparaat dat volledig zelfstandig een ELISA kan uitvoeren en ook 's nachts doorgaat. Omdat de ELISA-robot bij een storing tijdens de nacht de dienstdoende analist uit bed kon bellen, was het voor de analisten van belang om de robot en de ELISA's zo goed mogelijk op elkaar af te stemmen. De ELISA-robot die GD nu gebruikt, kan zelfs verschillende ELISA's tegelijk uitvoeren.

Als dieren door een infectie of vaccinatie in aanraking komen met ziekteverwekkers (bacteriën, virussen of parasieten), gaan ze antistoffen aanmaken tegen onderdelen (antigenen) van die ziekteverwekkers. Door met een ELISA te testen of er antistoffen in het bloed tegen bijvoorbeeld het Gumboro-virus aanwezig zijn, kun je dus aantonen dat het dier een infectie met Gumboro-virus heeft doorgemaakt, of dat na een vaccinatie voldoende antistoffen zijn aangemaakt en het koppel dus beschermd is.

### Eigen ELISA's

Er zijn firma's die testkits verkopen waarin alle reagentia aanwezig zijn om bijvoorbeeld een Gumboro-ELISA te kunnen doen. Ook GD ontwikkelt al sinds vele jaren zijn eigen ELISA's. De ELISA wordt uitgevoerd in een plastic microtiterplaat (zie foto) met 96 testposities (cupjes). Er zijn verschillende typen ELISA's. Een voorbeeld is de (indirecte) Gumboro-ELISA, zoals beschreven in het kader hiernaast.

### Kwaliteitscontrole

Ondanks dat de ELISA doorgaans eenvoudiger is dan andere testen, wil dat niet zeggen dat geen goed controlesysteem nodig is. Om de kwaliteit van de uitslagen

#### Stap 1

In de cupjes van de Gumboro-ELISA zijn antigenen van het Gumboro-virus gecoat, die zitten dus vast aan het plastic. De analist voegt verdund bloedserum aan zo'n cupje toe. Het serum krijgt dan een bepaalde tijd (in dit geval een uur) voor de reactie tussen het antigeen en de antistoffen. Alleen antistoffen tegen het Gumboro-virus kunnen binden aan het antigeen, alle andere antistoffen in het serummonster dus niet.

#### Stap 2

De ELISA-plaat wordt 'gewassen': alles wat niet gebonden is, wordt weggespoeld.

#### Stap 3

De analist voegt een zogeheten 'conjugaat' toe aan het cupje. Dat is een stof die alleen kan binden aan antistoffen van kippen, en die vastzit aan een enzym. Ook voor deze reactie is een bepaalde tijd (in dit geval een uur) nodig. Als er in de vorige stap antistoffen tegen het Gumboro-virus via het

antigeen aan het plastic gebonden zijn, dan kan het conjugaat nu ook binden, anders niet.

#### Stap 4

De ELISA-plaat wordt opnieuw gewassen.

#### Stap 5

De analist voegt een 'substraat' toe: een stof die via een chemische reactie met behulp van een enzym wordt omgezet. Als er enzym (van het conjugaat) aanwezig is in het cupje, en dus antistoffen tegen Gumboro-virus in het serummonster zitten, dan volgt een kleurreactie, anders niet. De kleurintensiteit is een maat voor de hoeveelheid antistoffen die in het monster zitten.

#### Stap 6

Deze kleurintensiteit van elk monster wordt vergeleken met die van een bepaald vast controlemonster en vervolgens met een formule in een titer omgezet. De titer van een bepaalde stof in het bloed is de hoogste verdunning waarbij het virus nog aantoonbaar is.

constant hoog te houden, worden op minimaal vier niveaus controles gedaan: bij de keuze van de test, bij elke batch (het testmateriaal) die in gebruik genomen wordt,

drie soorten controlemonsters op elke ELISA-plaat en tenslotte nog de (inter)nationale rondzendoefeningen (kwaliteitstesten door andere laboratoria).



Plastic microtiterplaat waarmee de ELISA wordt uitgevoerd.