



# 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? In deze aflevering van de serie 'Uit het lab': 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 de schurftmijt) dat gebonden is aan een plastic oppervlak (sorbent). Om die reactie meetbaar te maken, wordt een enzym gebruikt (vandaar 'enzyme-linked') dat een kleurreactie kan opwekken. Een enzym is een eiwit dat een bepaalde chemische reactie in of buiten een cel mogelijk maakt.

## Antistoffen aantonen

De ELISA is dus een methode om antistoffen in bloedmonsters aan te tonen. Er zijn veel verschillende laboratoriumtesten om antistoffen aan te tonen, met elk hun voor- en nadelen. 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 als salmonella, virussen als PRRS of parasieten als de schurftmijt), gaan ze antistoffen

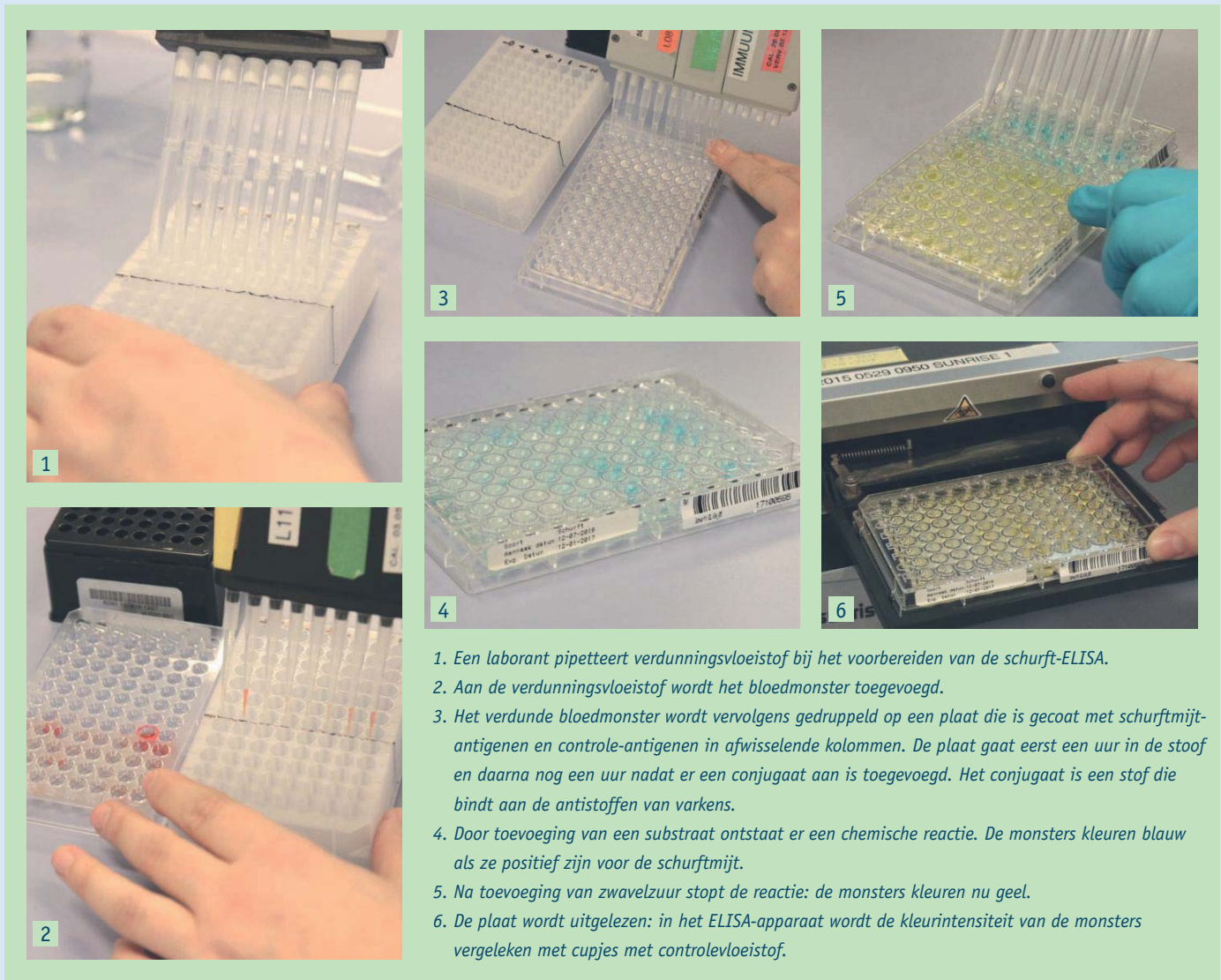
aanmaken tegen onderdelen (antigenen) van die ziekteverwekkers. Door met een ELISA te testen of er antistoffen in het bloed tegen bijvoorbeeld het PRRS-virus aanwezig zijn, kun je dus aantonen dat het dier een infectie met PRRS-virus heeft doorgemaakt, of dat na een vaccinatie voldoende antistoffen zijn 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 schurft-ELISA te kunnen doen. Ook ontwikkelt GD al sinds vele jaren zijn eigen ELISA's. De ELISA wordt uitgevoerd in een plastic microtiterplaat met daarin 96 testposities (cupjes). Er zijn verschillende typen ELISA's. Een voorbeeld is de (indirecte) schurft-ELISA. Deze gaat als volgt:

In de cupjes van de schurft-ELISA zijn antigenen van de schurftmijten gecoat, die zitten dus vast aan het plastic. De plaat is gecoat met schurftmijt-antigeen en controle-antigeen, in afwisselende kolommen. In de oneven kolommen is schurftmijt-antigeen gecoat en in de even kolommen het controle-antigeen. De analist voegt verdund bloedserum aan beide cupjes toe. Het serum krijgt dan een bepaalde tijd (in dit geval een uur) voor de reactie tussen het antigeen en de antistoffen. Tijdens de incubatie zullen antistoffen gericht tegen schurftmijten, indien aanwezig, hiermee binden.

Vervolgens wordt de ELISA-plaat 'gewassen': alles wat niet gebonden is, wordt weggespoeld. De analist voegt daarna een zogeheten 'conjugaat' toe aan het cupje. Dat is een stof die alleen kan binden aan antistoffen van varkens, en die vastzit aan een enzym. Ook voor deze reactie is een bepaalde tijd (in dit geval wederom een uur) nodig. Tijdens de incubatie kan dit alleen indirect aan de vaste fase binden, indien er nog anti-



1. Een laborant pipetteert verdunningsvloeistof bij het voorbereiden van de schurft-ELISA.
2. Aan de verdunningsvloeistof wordt het bloedmonster toegevoegd.
3. Het verdunde bloedmonster wordt vervolgens gedruppeld op een plaat die is gecoat met schurftmijt-antigenen en controle-antigenen in afwisselende kolommen. De plaat gaat eerst een uur in de stoof en daarna nog een uur nadat er een conjugaat aan is toegevoegd. Het conjugaat is een stof die bindt aan de antistoffen van varkens.
4. Door toevoeging van een substraat ontstaat er een chemische reactie. De monsters kleuren blauw als ze positief zijn voor de schurftmijt.
5. Na toevoeging van zwavelzuur stopt de reactie: de monsters kleuren nu geel.
6. De plaat wordt uitgelezen: in het ELISA-apparaat wordt de kleurintensiteit van de monsters vergeleken met cupjes met controlevloeistof.

stoffen aanwezig zijn, dan kan het conjugaat nu ook binden, anders niet.

### Chemische reactie

De ELISA-plaat moet daarna opnieuw gewassen worden. Hier worden niet-gebonden materialen weer door wassen verwijderd. De analist voegt een 'substraat' toe: een stof die via een chemische reactie met behulp van een enzym wordt omgezet. Dit substraat wordt door het enzym, indien aanwezig, in combinatie met een kleurstof, omgezet in een gekleurd product. Als er enzym aanwezig is in het cupje, en dus antistoffen tegen de schurftmijt in het serummonster zitten, dan volgt een kleurreactie, anders niet. De kleurintensiteit is een maat voor de hoeveelheid antistoffen die in het monster zitten.

Deze kleurintensiteit van elk monster wordt berekend ten opzichte van die van de controlecupjes volgens een formule. Daarna wordt het monster positief, negatief of aspecifiek genoemd.

### 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 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 ten slotte nog de (inter)nationale rondzendoefeningen (kwaliteitstesten door andere laboratoria).