



PRACTICUM: TESTEN OP ALLERGIE

Julia zit met haar tweeling Saskia en Onno bij de huisarts. De tweeling is nu 7 maanden oud. Onno huilt veel en spuugt zijn eten vaak weer uit. De huisarts vertelt Julia dat Onno misschien allergisch is voor koemelk. De dokter wil bij Onno een allergietest laten afnemen. Ook Saskia wordt getest, omdat koemelkallergie voor een deel erfelijk is. Aan jou is de taak om uit te zoeken wie er allergie heeft tegen koemelk. Succes!



WAT IS ALLERGIE?

Een allergie is een aandoening waarbij het afweersysteem zich richt op ‘onschuldige’ stoffen (allergenen). Voor de een is een allergie vooral vervelend, voor een ander kan contact met een allergeen levensgevaarlijk zijn. Als iemand antistoffen heeft tegen een allergeen, binden die antistoffen bij contact met het allergeen aan een specifieke cel. Die cel brengt een allergische reactie op gang.

VRAGEN

A. Geef een voorbeeld van een allergeen.

.....
.....

B. Kun je symptomen bedenken waar iemand met een allergie last van kan hebben?

.....
.....
.....

DE TEST

Je gaat nu een wetenschappelijke test doen (een ELISA-test), die onderzoekt of bepaalde antistoffen in het bloed zitten. In dit geval test je of het bloed van Onno en Saskia antistoffen tegen koemelk bevat. Normaal gesproken zitten er geen antistoffen tegen koemelk in je bloed. Als dit wel het geval is, is dat met deze test aan te tonen. Aan jou is de taak om uit te zoeken wie er allergie heeft tegen koemelk. Succes!

Bij Sanquin wordt bloed getest op allergieën. Jij werkt in het laboratorium van Sanquin en gaat de allergietest uitvoeren bij Onno en Saskia. In het volgende filmpje kun je zien hoe dat gedaan wordt:

- Ga naar www.sanquin.nl/bloedenafweer
- Klik op ‘filmpjes vmbo’
- Zoek het filmpje ‘Problemen met het afweersysteem vmbo’

BENODIGDHEDEN

Er kunnen vier leerlingen aan de slag op een werkplek.
Op je werkplek zijn de volgende onderdelen aanwezig:

onderdeel	inhoud	aanwezig?
2 gele buisjes (O)	testmonster van Onno	<input type="checkbox"/>
2 gele buisjes (S)	testmonster van Saskia	<input type="checkbox"/>
1 paars buisje (+)	positieve controle	<input type="checkbox"/>
1 lichtblauw buisje (-)	negatieve controle	<input type="checkbox"/>
1 groen buisje (AG)	koemelk-antigeen	<input type="checkbox"/>
1 oranje buisje (SA)	secundaire antistof	<input type="checkbox"/>
1 bruin buisje (SUB)	enzym substraat	<input type="checkbox"/>
2 strips met vakjes		<input type="checkbox"/>
1 micropipet (50 µl)		<input type="checkbox"/>
gele pipetpuntjes		<input type="checkbox"/>
plastic wegwerppipetten		<input type="checkbox"/>
wasbuffer in maatbeker		<input type="checkbox"/>
stapel keukenpapier		<input type="checkbox"/>
zwarte stift		<input type="checkbox"/>

De afbeeldingen zijn afkomstig uit de handleiding van de ELISA Immuno Explorer Kit van Bio-Rad.

UITVOERING

Labelen

Per twee leerlingen maak je gebruik van een strip met wells (vakjes).
Label eerst de 12 wells als volgt met een marker:

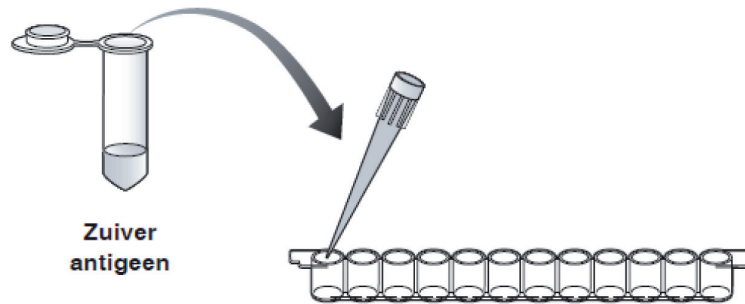


De + staat voor de positieve controle; de - staat voor de negatieve controle; de S staat voor het bloedplasma van Saskia; de O staat voor het bloedplasma van Onno.

STAP 1: ANTIGENEN TOEVOEGEN

Eerst voeg je aan alle wells het koemelk-antigeen toe. Dit gaat vastzitten aan de wanden van de vakjes.

- Gebruik een micropipet met een geel puntje om in alle 12 wells 50 μ l van het antigeen uit het groene buisje te pipetteren:



- Wacht **5 minuten** zodat het antigeen zich aan het plastic in de wells kan hechten.

VRAGEN

C. Je voert elke test steeds drie keer uit (je hebt drie wells per 'onderdeel'). Waarom is het goed om een experiment drie keer uit te voeren?

.....

.....

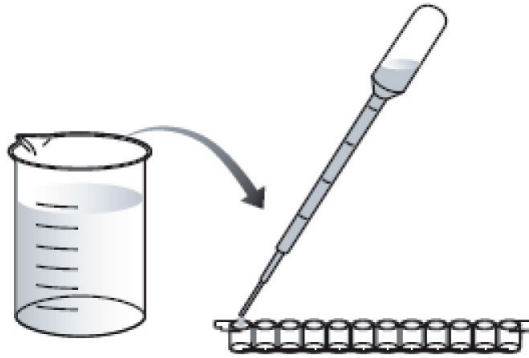
D. Streep het foute antwoord door:

- De positieve controle bevat zeker *WEL* / *GEEN* antistoffen tegen het koemelk-antigeen
- De negatieve controle bevat zeker *WEL* / *GEEN* antistoffen tegen het koemelk-antigeen

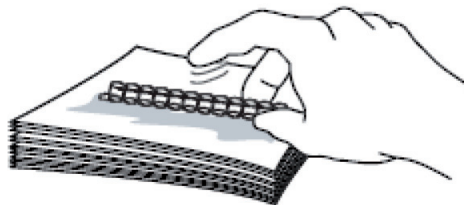
STAP 2: WASSEN

Spoel de ongebonden antigenen uit de wells:

- Houd je strip ondersteboven boven het keukenpapier zodat de vloeistof uit de wells loopt; klop nog een paar keer voorzichtig op de onderkant.
- Gooi het bovenste stuk keukenpapier weg.
- Gebruik een **wegwerppipet** om elke well met wasbuffer uit de maatbeker te vullen. Zorg dat de vloeistof niet overloopt!



- Houd de strip ondersteboven boven het keukenpapier zodat de buffer eruit loopt (maar niet in de andere vakjes terecht komt!). Klop nog een paar keer voorzichtig op de onderkant.



- Gooi de bovenste 2-3 stukken keukenpapier weg.

STAP 3: ANTISTOFFEN TOEVOEGEN

- Pak een nieuw geel pipetpuntje. Pipetteer 50 µl uit het paarse buisje met de positieve controle-oplossing (+) in de drie vakjes waar een '+' voor staat;
- Pak een nieuw geel pipetpuntje. Pipetteer 50 µl uit het blauwe buisje met de negatieve controle-oplossing (-) in de drie vakjes waar een '-' voor staat;
- Pak een nieuw geel pipetpuntje. Pipetteer 50 µl uit het gele buisje met het testmonster van Saskia in de drie vakjes waar een 'S' voor staat;
- Pak een nieuw geel pipetpuntje. Pipetteer 50 µl uit het gele buisje met het testmonster van Onno in de drie vakjes waar een 'O' voor staat ;
- Wacht nu **5 minuten** zodat aanwezige antistoffen zich kunnen hechten aan de antigenen.

VRAAG

E. Waarom gebruik je telkens schone pipetpuntjes voor elke stap?

.....

.....

.....

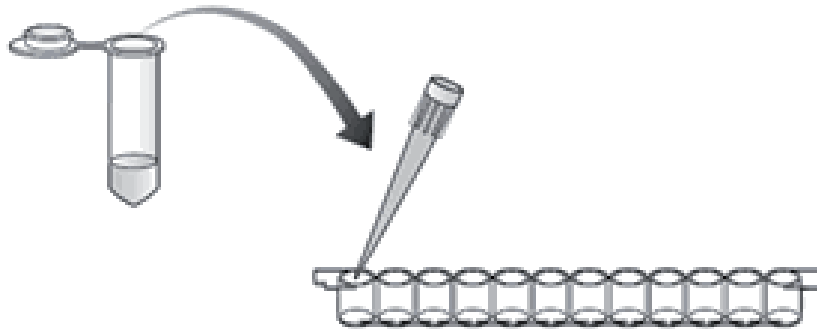
STAP 4: WASSEN

Als er in het testmonster van Onno en/of Saskia antistoffen tegen koemelk zitten, hechten die vast aan de wells. Nu ga je de niet-gebonden antistoffen wegspoelen. Volg de instructie van stap 2 op.

STAP 5: EEN TWEDE ANTISTOF ERBIJ

Nu ga je een stof toevoegen die vastplakken aan de antistof tegen koemelk-antigenen. Deze stof bevat een enzym, die straks gaat reageren met het substraat dat je in stap 7 toevoegt. De reactie kun je zien: als deze tweede stof straks nog in de wells zit, zal de kleur veranderen.

- Gebruik een micropipet met een geel puntje om in alle 12 wells 50 µl van de antistof uit het oranje buisje (SA) te pipetteren. Zorg dat je de inhoud van de wells NIET aanraakt met het pipetpuntje:



- Wacht **5 minuten** zodat de antistof zich aan het plastic in de wells kan hechten.

VRAAG

F. Waarom mag het pipetpuntje de inhoud van de wells niet aanraken?

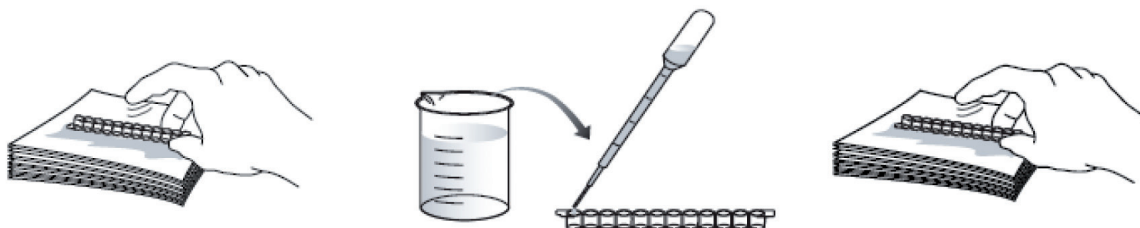
.....

.....

.....

STAP 6: TWEE KEER WASSEN

Als er in het testmonster van Onno en/of Saskia antistoffen tegen koemelk zitten, hecht de secundaire antistof die je net hebt toegevoegd, eraan vast. Nu ga je de niet-gebonden antistoffen wegspoelen. Volg de instructie van stap 2 op en doe dit **twee keer**.



STAP 7: SUBSTRAAT TOEVOEGEN

Nu ga je bepalen in welke vakjes van de plaat de antistoffen aan het koemelk-antigeen zijn gebonden. Om dit zichtbaar te maken voeg je het substraat toe. Deze vloeistof verkleurt als er antistoffen aanwezig zijn. Als er geen antistoffen zijn gebonden aan de koemelk-antigenen, blijft de vloeistof kleurloos.

- Pak een nieuw geel pipetpuntje. Pipetteer 50 µl uit het bruine buisje (SUB) in alle vakjes;
- Wacht nu **5 minuten** zodat het substraat zich kan hechten aan aanwezige antistoffen.

VRAGEN

G. Waarom moet je de wells tussendoor wassen?

.....

.....

.....

H. Wat betekent het als de negatieve controle een kleur krijgt?

.....

.....

.....

DE UITSLAG

Kleur in de figuur hieronder de wells in waar een blauwe kleur is ontstaan.



VRAAG

I. Wie is allergisch voor koemelk?

.....

.....

.....