Project Microbiologie

VEILIGHEID
AFVALVERWERKING
BASISMATERIAAL & PRODUCTEN
PRAKTISCHE TECHNIEKEN EN TIPS
ASEPTISCHE TECHNIEKEN
STERILISEREN VAN MATERIALEN/VLOEISTOFFEN
METHODE 1: SNELKOOKPAN/AUTOCLAAF
METHODE 2: OVEN
METHODE 3: ONDERDOMPELEN OF WEKEN
ENTOGEN EN ENTNAALDEN
HET STERILISEREN VAN GLAZEN FLESSEN EN CULTUURBUIZEN
HET MAKEN VAN VLOEIBARE MEDIA
HET INBRENGEN VAN MICRO-ORGANISMEN IN EEN VLOEIBAAR MEDIUM
HET BEREIDEN VAN AGAR VOEDINGSBODEMS
1. VOEDINGSAGAR
2. MOUTAGAR
3. ZETMEELAGAR
HET GIETEN VAN PETRISCHALEN
HET ENTEN VAN VOEDINGSBODEMS (MAKEN VAN PLAATCULTUREN)
DOELSTELLINGEN VAN DE ASEPTISCHE TECHNIEKEN
PRACTICA
PROEF 1: BACTERIËN OM ONS HEEN
PROEF 2: GRAMKLEURING
PROEF 3: ANTIBIOTICA
PROEF 4: HITTEBESTENDIG
PROEF 5: BACTERIËN IN MELK
PROEF 6: NEGATIEVE KLEURING
EXTRA MOGELIJKE PROEVEN
PROEF 7: ANTIBIOTICA AFKOMSTIG VAN SCHIMMELS
PROEF 8: EFFECTEN VAN PASTEURISATIE
PROEF 9: OPZOEK NAAR LEVENDE BACTERIËN
PROEF 10: HOE SCHIMMELS VOEDSEL KRIJGEN

Veiligheid

Tijdens een labo moet er altijd rekening gehouden met veiligheid. Hieronder sommen we de basisregels op die zeker moeten toegepast worden bij het uitvoeren van de proeven in deze bundel.

Houding:

- Laat nooit een experiment ongecontroleerd achter.
- Voer nooit alleen een experiment uit.
- Bij twijfel aangaande een experiment, vraag vooraf uitleg.
- Label alle gebruikte flesjes.
- Waarschuw in geval van een incident direct het toezichthoudend personeel.

Persoonlijke hygiëne:

- Eten, drinken, roken is verboden in laboratoria.
- Draag steeds een labojas en een veiligheidsbril.
- Houd uw laboratoriumjas steeds dicht. Doe de laboratoriumjas uit bij het verlaten van het lokaal.
- Was uw handen bij het verlaten van het laboratorium.
- Bind lang haar samen.
- Houd het werkblad proper. Sluit alle recipiënten na gebruik en zet ze terug op hun plaats.
- Houd de vloer vrij van stukjes glas, papieren natte vlekken om uitglijden te vermijden.

Hoewel we in deze proeven gebruik maken van micro-organismen die in het algemeen als niet-pathogeen voor de mens worden beschouwd en daarom 'veilig' voor gebruik op school, kan het belang van zowel veiligheid als het volgen van de onderstaande hanteringstechnieken en -procedures niet over benadrukt worden. Alle culturen moeten worden behandeld alsof ze pathogeen zijn en dus ziekteverwekkend. De beschreven technieken zijn ontworpen om besmetting van externe bronnen van culturen en experimenten te voorkomen en om contaminatie van de omgeving met micro-organismen die aan het experiment zijn 'ontsnapt' te voorkomen.

Naast de vorige procedures voor laboratoriumveiligheid, moeten de volgende punten onder de aandacht van de leerlingen worden gebracht

1. Behandel alle micro-organismen alsof ze pathogeen zijn.
2. Volg altijd de aseptische technieken die hieronder worden beschreven.
3. Morsen van culturen moet onmiddellijk worden gemeld en worden afgeveegd met een ontsmettingsmiddel.
4. Verontreinigde apparatuur en culturen die zijn afgewerkt, moeten in speciale ruimten of containers worden geplaatst, klaar voor verwijdering of reiniging zoals hieronder wordt beschreven.

5. Culturen moeten correct worden geëtiketteerd, bijvoorbeeld aan de onderkant van petrischalen, met details van het monster, de datum en de naam van de leerling, indien van toepassing.
6. Sluit culturen voor incubatie met een klein stukje plakband aan elke kant. Open verzegelde culturen niet onnodig.
7. Hoewel culturen in de koelkast kunnen worden bewaard om hun 'levenszorg' te vergroten, moet ervoor worden gezorgd dat dergelijke laboratoriumkoelkasten niet worden gebruikt voor het bewaren van voedsel voor menselijke of dierlijke consumptie.

Afvalverwerking

Er bestaan speciale bedrijven die zorgen voor de verwerking van microbiologisch afval. Ze brengen een speciale container waarin je het microbiologisch afval kan doen. Daarna, als de container vol zit, komen ze hem terug ophalen. Ze wegen de container en er wordt een factuur gemaakt. Bedrijven die dit doen zijn: Trival, Resol… Alle vaste materialen (voedingsbodems) en alle vloeistoffen die micro-organismen bevatten dienen geïnactiveerd of ontsmet te worden. Sterilisatie gebeurt bij voorkeur door autoclaveren. Dat kan op een eenvoudige manier door het materiaal te verhitten in een snelkookpan. Een alternatief is een inactivatie met bleekwater (of één van de speciale ontsmettings- middelen). Het is aangeraden bleekwater toe te voegen aan vloeibaar afval (bv. ongeveer 25% van de te ontsmetten vloeistof) en op de gebruikte petrischaal (bv. 5 ml per plaat). Laat dat inwerken voor 30 min. Vervolgens mogen de vloeistoffen in de gootsteen weggespoeld worden. Vast afval wordt in een dubbele afvalzak (afvalzak in afvalzak) gedaan.

De leerlingen horen zuinig om te gaan met de producten zodat het afval beperkt wordt. Indien er recipiënten worden voorzien om afval in te doen, moeten de leerlingen het daarin doen. Zorg dat de recipiënten duidelijk gelabeld zijn zodat de leerlingen daar geen fouten in kunnen maken. Daarnaast mag de stop van de vaten nooit helemaal vastgedraaid zijn.

Basismateriaal & producten

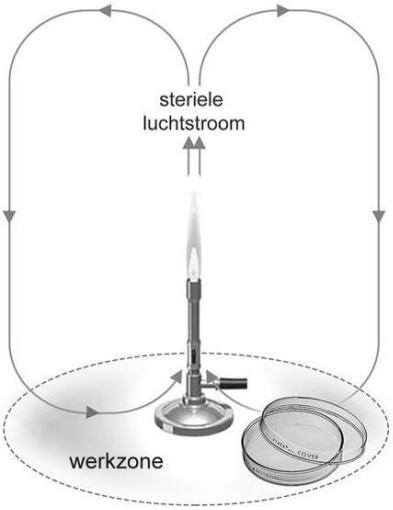
Petrischaal met deksel 2 glazen of plastic schalen die in elkaar passen. De schaal met de grootste diameter vormt het deksel en de andere dient om een voedingsbodem voor een cultuur van micro-organismen in te gieten.	
Entoog Entogen worden gebruikt om een weinig biologisch materiaal over te brengen op een voedingsbodem	
Cultuurbuizen Deze brede glazen buizen met schroefdop zijn zeer geschikt voor diverse culturen van micro-organismen.	
Bunsenbrander Deze gasbrander is universeel inzetbaar voor het opwarmen van vloeistoffen en voor het steriliseren van vlambestendig materiaal.	
Pipet	

Deze pipetten worden gebruikt voor het opzuigen en lossen van de vloeistof op de preparaten.	
Gedestilleerd water Gedestilleerd water wordt verhit tot het kookpunt. Daardoor blijven vrijwel alle stoffen die in het water zaten achter waardoor je alleen het pure water overhoudt.	
Proefbuisklem Deze proefbuisklem kan je gebruiken als je je preparaat boven de bunsenbrander wilt houden en je veilig wilt zijn met de hitte.	

Praktische technieken en tips

Aseptische technieken

Bij het verhandelen en in cultuur brengen van micro-organismen dient men gebruikt te maken van steriel materiaal en kiemvrije producten. Men dient zoveel mogelijk aseptisch te werk te gaan en rekening te houden met eventuele luchtcirculaties. Tocht dient dus zeker vermeden te worden.



Om zo aseptisch mogelijk te werken, kan men manipulaties doen in de nabijheid van een brandende bunsenbrander. De hitte van de vlam veroorzaakt convectiestromen[1] die een kiemarme zone rond de bunsenbrander creëren (zie figuur hiernaast).

Ook het werkoppervlak dient zo kiemvrij mogelijk te zijn. Het verdient daarom aanbeveling het eerst te reinigen met een kiemdodend middel (bv. ethanol 70% of bleekwater).

Steriliseren van materialen/vloeistoffen

Methode 1: Snelkookpan/autoclaaf

De snelkookpan en de autoclaaf maken het mogelijk om materialen/vloeistoffen te steriliseren. Dat komt omdat water onder druk wordt verhit als de pan luchtdicht is afgesloten. Daardoor stijgt de temperatuur. Boven een bepaalde druk zorgt een ventiel ervoor dat er stoom ontsnapt en de druk (en de bijbehorende temperatuur) constant is. Een voorwaarde voorhet goed functioneren is wel dat eerst alle lucht uitde pan geblazen wordt en pas daarna de pan zichzelf sluit.

Convectiestromen brengen warmte over van de ene plaats naar de andere door massale beweging van een vloeistof zoals water, lucht of gesmolten gesteente.

De veiligheid is van groot belang. Bij het bereiden van maaltijden zitten de groenten “los” in de pan, dus niet in een potje of fles en kan na de kooktijd zonder risico de druk door de gebruiker eraf gehaald worden (zie voorschrift fabrikant). Anders zou je moeten wachten en dan is het geen snelkookpan meer.
Bij het steriliseren van vloeistoffen zoals een voedingsbodem in een fles met schroefdop mag je nooit zelf de druk van de pan afhalen! De druk daalt dan in de pan maar de vloeistof in de fles is nog heter dan 100 graden en zal overkoken, of eruit spuiten. Het flesje kan zelfs de pan uitvliegen. Dus rustig laten afkoelen en wachten tot de overdruk gedaald is (is te zien op het deksel, zie gebruiksaanwijzing) en het deksel er dan afhalen.
Wat met flessen en buizen ook belangrijk is, is dat ze niet luchtdicht worden afgesloten. De schroefdoppen moeten loszitten, je moet ervoor zorgen dat ze omhoog kunnen om lucht te laten ontsnappen als de vloeistof kookt. Draai de schroefdoppen dus halflos en vul de flessen niet tot het randje, dat laatste kan zorgen voor overkoken.
Wil je voorwerpen steriliseren, pak ze niet te stijf in, de lucht moet weg kunnen, alleen zuiver stoom onder druk krijgt een hogere temperatuur.

<u>Stappenplan</u>
Stap 1: Vul de pan met een laagje water.
Stap 2: Zet de flessen en/of buizen met vloeistof (voedingsbodem, verdunningsvloeistof) erin. Draai de schroefdoppen half los en zorg ervoor dat de fles/buis niet tot de rand is gevuld, dat laatste kan zorgen voor overkoken.
Stap 3: Plaats de snelkookpan op een warmtebron. Het verhitten verschilt per pan, zie gebruiksaanwijzing. Als de pan op druk is begint de sterilisatietijd.
Stap 4: Na de verhittingstijd haal je de pan van de warmtebron. Je blijft van de pan af totdat het ventiel en de druk uit zichzelf gedaald zijn. Haal de deksel er dus niet afen zit ook niet aan het ventiel, dat is heel erg gevaarlijk.
Stap 5: Neem de deksel er pas af als die er uit zichzelf af wil. Haal met ovenhandschoenen flessen en buizen eruit. Draai de schroefdoppen van de flessen/buizen dicht. Ga niet te vroeg met de hete flesjes aan de gang, ze kunnen overkoken en het werkt niet handig. Verder moeten voedingsbodems zo lauw mogelijk gegoten worden, dus vlak boven de 50 °C anders verdampt/condenseert het water en is de concentratie aan voedingsstoffen niet meer zoals bedoeld.

De meeste vloeistoffen kunnen bij 121 °C gesteriliseerd worden, en bij kleine flessen (minder dan een halve liter) duurt dat 20 minuten. Het hele proces duurt ongeveer een uur. (opwarmtijd, sterilisatie, afkoeltijd).

Methode 2: Oven

Met een gewone oven kun je glaswerk steriliseren, zoals lege reageerbuizen en glazen petrischalen. Let erop dat je geen kunststof in de oven zet, zoals een geplastificeerd proefbuisrekje. **Vloeistoffen kunnen zo niet gesteriliseerd worden**, die gaan koken en vervolgens gaat het water verdampen, maar de temperatuur wordt niet warmer dan 100°C. Denk eraan dat alles is afgesloten, na afloop moet het steriel blijven! De droogsterilisatie duurt bij 160°C 2 uur en bij 170°C 1 uur.

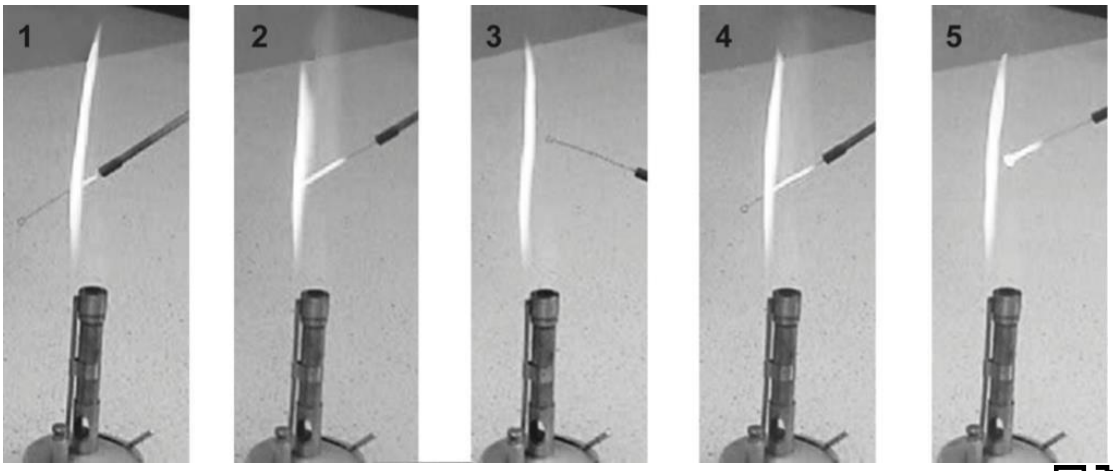
Methode 3: Onderdompelen of weken

Bij deze methode worden chemicaliën gebruikt om micro-organismen te doden. Geschikte oplossingen zijn:

- natriumhypochloriet: 98 delen water en 2 delen hypochloriet. Huiselijk bleekwater kan ook gebruikt worden. De hoeveelheid chloor in die oplossingen zal na verloop van tijd afnemen. Zetmeel-jodidepapier wordt diepblauw in oplossingen met 200 ppm beschikbaar chloor en dat moet worden gebruikt om de effectiviteit van het desinfectiemiddel te controleren.
- Philip Harris BAS-reiniger of vergelijkbare 1% -oplossing.

Entogen en entnaalden

Alvorens micro-organismen over te brengen met een niet-steriele entoog (of -naald), dient die eerst gesteriliseerd te worden door ze te autoclaveren in een autoclaaf of door ze te bewaren in een ontsmettingsmiddel. Metalen entogen dienen net voor het gebruik nog eens verhit te worden in de vlam van een bunsenbrander:



Steriliseren van een entoog in de bunsenvlam. Men begint met verhitten aan de kant van de steel en werkt vervolgens in de richting van de top. Die werkwijze vermindert de kans op spatten van mogelijke restanten in het entoog.

https://www.youtube.com/watch?v=VoKAb5QG

Laat de entoog na sterilisatie een paar seconden afkoelen voor gebruik. Zo zorg je ervoor dat de micro-organismen die je gaat enten niet worden gedood. Steriliseer na gebruik de entoog altijd opnieuw en laat hem afkoelen voordat u hem neerlegt.

Het steriliseren van glazen flessen en cultuurbuizen

Alvorens micro-organismen over te brengen in een glazen fles of cultuurbuis dient die eerst
gesteriliseerd te worden door ze te autoclaveren in een autoclaaf of door ze te bewaren in een ontsmettingsmiddel. Wanneer kweekflessen en -buizen open zijn, bestaat er een risico op besmetting door de atmosfeer. De volgende procedure is ontworpen om dergelijke contaminatie te minimaliseren.

1. Maak de dop los, maar verwijder hem niet.
2. Houd de fles of buis in je linkerhand en verwijder de dop met de pink van je rechterhand.
3. Steriliseer de hals van de fles of buis door hem door de bunsenvlam heen en weer te bewegen. Nu kan er iets worden geïntroduceerd of verwijderd uit de cultuur met een entoog.
4. Steriliseer opnieuw de hals van de fles of buis door hem door de bunsenvlam heen en weer te bewegen.
5. Plaats de dop terug. Vergeet niet om de tijd dat de dop verwijderd is tot een minimum te beperken.

Het maken van vloeibare media

Een vloeibaar medium wordt ook een bouillon genoemd. Omdat deze media geen agar bevatten, blijven ze vloeibaar. De groei van micro-organismen in dit soort media zal een troebelheid produceren.
Als vloeibaar voedingsbodem kan je water gebruiken waarin runderbouillon en/of suiker wordt opgelost.

Het inbrengen van micro-organismen in een vloeibaar medium

Om micro-organismen te laten voortgroeien, maken we gebruik van vloeibare media. Zo ontstaat er een hogere concentratie micro-organismen, waardoor de resultaten van de proeven beter gaan zijn.

Materiaal & benodigdheden:

- 3 flessen met een vloeibaar medium
- Micro-organismen:
  - Culturen:
    - Staphylococcus albus
    - Escherichia coli
    - Bacillus stearothermophilus
  - Schimmels:
    - Schimmel van appel enz.
- Entoog
- Bunsenbrander
- Etiket
- Pen

https://www.youtube.com/watch?v=4RFIVgfk

Werkwijze:
Culturen:

1. Verzamel alle materialen samen op een werkblad.
2. Label mediumflessen met namen van culturen.
3. Steek de bunsenbrander aan, maak de doppen van de culturen en media losser en bereidt u voor op het werk.
4. Steriliseer de entoog en houdt deze in de rechterhand.
5. Neem de E.coli-cultuur in de linkerhand, verwijder de dop met de pink van de rechterhand zoals geoefend en houdt de nek van het flesje even in de vlam.
6. Plaats de entoog in de cultuur en teken deze over de agar om een aantal kolonies in de lus te krijgen.
7. Verwijder de lus uit het potje, steek de hals van de fles in de vlam, plaats de dop terug en zet het potje op de bank.
8. Zonder de lus neer te leggen, pak de juiste fles medium in de linkerhand en verwijder de dop zoals hierboven, breng de hals van het potje in de vlam en breng de entoog erin.
9. Schud je entoog in het medium om de kolonies te verspreiden, verwijder de lus, en breng de hals van het potje in de vlam en plaats de dop terug.

10. Steriliseer de entoog in de vlam.
11. Herhaal bovenstaande procedures voor de andere twee culturen.
12. Let op het uiterlijk van de voedingsbodem.
13. Plaats de S.albus en E.coli in de droogoven bij 25°C of 30°C gedurende 24 uur. Als er geen incubator beschikbaar is, bewaar ze dan gedurende 36 tot 48 uur in een warme kamer (20 ° C).
14. Plaats de B. stearothermophilus in de droogoven bij 50-60 ° C zoals in stap 13.
15. Onderzoek de flessen na incubatie en vergelijk ze met steriele voedingsbodems.

Schimmel:

1. Verzamel alle materialen samen op een werkblad.
2. Label de mediumflessen met de namen van de schimmels.
3. Steek de bunsenbrander aan.
4. Steriliseer de entoog en houdt deze in de rechterhand.
5. Neem een beetje schimmel met je entoog van het voedingsmiddel.
6. Zonder de entoog neer te leggen, pak de juiste fles medium in de linkerhand en verwijder de dop zoals hierboven, breng de hals van het potje in de vlam en breng de entoog erin.
7. Schud je entoog in het medium om de kolonies te verspreiden, verwijder de lus, en breng de hals van het potje in de vlam en plaats de dop terug.
8. Steriliseer de entoog in de vlam.
9. Herhaal bovenstaande procedures voor de andere schimmels.
10. Let op het uiterlijk van de voedingsbodem.
11. Plaats je mediumflessen in een warme kamer en wacht een paar dagen totdat je ziet dat je schimmels goed gegroeid zijn.

Het bereiden van agar voedingsbodems

1. Voedingsagar

Voedingsagar is een veel gebruikte voedingsbodem voor de kweek van allerhande micro-organismen (o.m. zeer geschikt voor bacteriën).

Materiaal & benodigdheden voor de bereiding van ca. 35 petriplaten.

- Warmwaterbad
- Beker van 500 ml
- Hittebestendige fles (0,5 l) met brede hals, afsluitbaar met schroefdop
- Roerstaaf
- Trechter

- Isolerende handschoenen of pannenlappen
- 6 g agar
- 8 g vleesextract (bv. Oxo of Bovril)
- 2 g NaCl
- Bunsenbrander
- Gedemineraliseerd water

Werkwijze

1. Meng in de beker het vleesextract, het NaCl en de agar met wat gedemineraliseerd water tot een pasta.
2. Voeg traag en onder voortdurend roeren water bij tot een volume van 400 ml. Zet de beker in het warmwaterbad en verwarm al roerend tot een temperatuur van 95°C.
3. Je bekomt een heldere oplossing die je wat laat afkoelen.
4. Haal met de handschoenen of de pannenlappen de beker uit het waterbad en giet met behulp van de trechter de heldere oplossing in de fles van 500 ml.
5. Sluit de fles gedeeltelijk af met de schroefdop en autoclaveer de fles in een snelkookpan (zie instructies eerder in de bundel); nadien bewaar je de fles in een koelkast.

2. Moutagar

Dit type voedingsbodems is beter geschikt voor fungi.

Materiaal + benodigdheden voor de bereiding van ca. 35 petriplaten

- Warmwaterbad
- Beker van 500 ml
- Hittebestendige fles (0,5 l) met brede hals, afsluitbaar met schroefdop
- Roerstaaf
- Trechter
- Isolerende handschoenen of pannenlappen
- 8g agar
- 8g moutextract
- Bunsenbrander
- Gedemineraliseerd water

Werkwijze

1. Meng in de beker het moutextract en de agar met wat gedemineraliseerd water tot een pasta.

2. Voeg traag en onder voortdurend roeren water bij tot een volume van 400 ml. Zet in het warmwaterbad en verwarm al roerend tot een temperatuur van 95°C.
3. Laat de oplossing een beetje afkoelen.
4. Haal met de handschoenen of de pannenlappen de beker uit het waterbad en giet met behulp van de trechter de oplossing in de fles van 500 ml.
5. Sluit de fles gedeeltelijk af met de schroefdop en autoclaveer de fles in een snelkookpan (zie instructies eerder in de bundel); nadien bewaar je de fles in een koelkast.

3. Zetmeelagar

Zetmeel-agar wordt gebruikt om aan te tonen dat sommige micro-organismen enzymen produceren waarmee zetmeel wordt afgebroken.

Materiaal + benodigdheden voor de bereiding van ca. 35 petriplaten.

- Warmwaterbad
- Beker van 500 ml
- Hittebestendige fles (0,5 l) met brede hals, afsluitbaar met schroefdop
- Roerstaaf
- Trechter
- 6g agar
- 4g oplosbaar zetmeelpoeder
- Bunsenbrander
- Gedemineraliseerd water

Werkwijze

1. Maak in de beker een pasta door het oplosbaar zetmeelpoeder te mengen met wat heet water.
2. Voeg onder voortdurend roeren de agar toe en vul water bij tot een volume van 450 ml. Zet in het warmwaterbad en verwarm al roerend tot een temperatuur van 95°C.
3. Laat de bekomen oplossing vervolgens wat afkoelen.
4. Haal met de handschoenen of de pannenlappen uit het waterbad en giet met behulp van de trechter de oplossing in de fles van 500 ml.
5. Sluit de fles gedeeltelijk af met de schroefdop en autoclaveer de fles in een snelkookpan (zie instructies eerder in de bundel); nadien bewaar je de fles in een koelkast.

Het gieten van petrischalen

Alvorens het gieten van de petrischalen kan gebeuren, moeten de petrischalen gesteriliseerd zijn. Bij het gebruik van nieuwe ongeopende petrischalen, moet geen sterilisatie gebeuren. Die petrischalen zijn namelijk al gesteriliseerd door gammastraling. Bij het gebruik van eerder gebruikte petrischalen, moeten die gesteriliseerd worden door ze te autoclaveren in een autoclaaf of door ze te bewaren in een ontsmettingsmiddel.

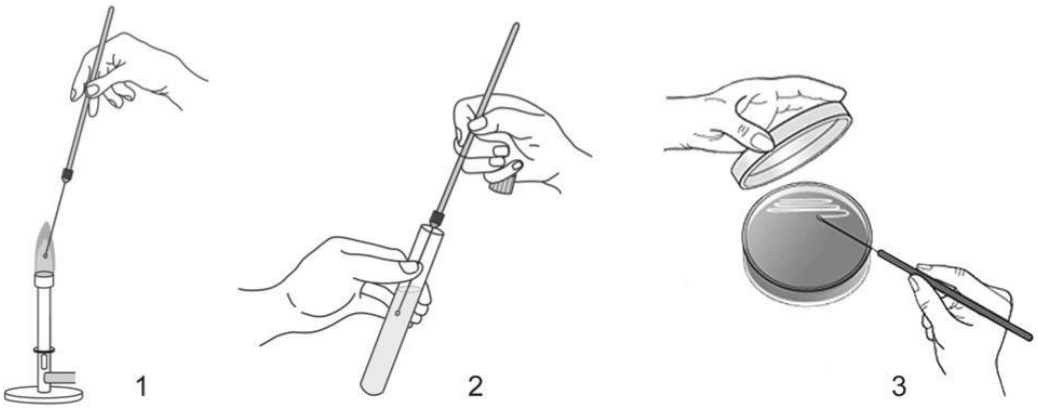
<u>Stappenplan</u>

Stap 1: Je opent de fles met de voedingsbodem en je houdt even de fleshals in de vlam van de bunsenbrander (bovenste foto rechts).
Stap 2: Je licht gedeeltelijk de deksel van een steriele petrischaal op en giet een gelijkmatig laagje voedingsbodem in de schaal (onderste foto rechts).
Stap 3: Je sluit ogenblikkelijk de petrischaal en je fixeert de deksel met plakband.
Stap 4: Laat afkoelen tot de voedingsbodem voldoende gestold is.
Stap 5: Keer de petrischaal om, zodat eventueel condensvocht op de deksel valt.
Stap 6: Na 24u is de petrischaal klaar voor gebruik (bv. om geënt te worden met een bacteriecultuur). Die tijd is nodig om een mooi droog oppervlak van de voedingsbodem te bekomen.
Stap 7: Voor het gieten van meerdere petrischalen herhaal je bovenstaande werkwijze.
Stap 8: Indien je een stock-oplossing gebruikt, flambeer je na het gieten van de laatste petrischaal weer even de hals van de fles alvorens die te sluiten.

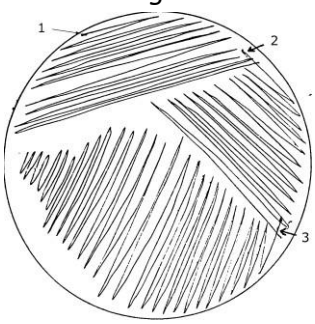
Je hebt een goede petrischaal indien de bodem van de petrischaal gelijkmatig bedekt is met de voedingsbodem en wanneer er geen luchtbellen in voorkomen.

Het enten van voedingsbodems (maken van plaatculturen)

De figuur geeft de verschillende stappen weer die dienen doorlopen te worden om een agarplaat te enten. Het enten gebeurt in de nabijheid van een brandende bunsenbrander (beperkt de kans op besmetting met vreemde micro-organismen).



1. *Pas de sterilisatiemethode van de entogen en entnaalden toe die eerder in de bundel staat uitgelegd.*
2. *Pas de sterilisatiemethode van flessen en buizen toe die eerder in de bundel staat uitgelegd.*
3. *Neem met je entoog een staaltje uit het flesje.*
4. *Strijk het monster m.b.v. een zig-zag beweging uit op de voedingsbodem. Sluit na het uitstrijken de petrischaal onmiddellijk af en keer de petrischaal om.*
5. *Let op de manier van uitstrijken!*
   Strijk het monster uit door de entoog in parallelle banen over de plaat te bewegen.
   Flambeer daarna je entoog, koel af en strijk met de zijkant van de entoog verder uit waarbij de eerste streken door de laatste entstrepen van de eerste enting gaan. Flambeer opnieuw je entoog, koel af en strijk met de zijkant van de entoog verder uit waarbij de eerste streken door de laatste entstrepen van de vorige enting gaan.
6. *Pas de sterilisatiemethode van de entogen en entnaalden toe die eerder in de bundel staat uitgelegd.*
7. *Plak een etiket met de naam van je monster op je petrischaal.*



Doelstellingen van de aseptische technieken

De leerlingen kunnen materialen steriliseren met behulp van een snelkookpan.

De leerlingen kunnen materialen steriliseren met behulp van een oven.
De leerlingen kunnen materialen steriliseren met behulp van onderdompelen of weken.
De leerlingen kunnen entogen steriliseren met behulp van een bunsenbrander.
De leerlingen kunnen glazen flessen en cultuurbuizen steriliseren.
De leerlingen kunnen vloeibare media maken.
De leerlingen kunnen micro-organismen inbrengen in een vloeibaar medium.
De leerlingen kunnen voedingsbodem bereiden.
De leerlingen kunnen voedingsbodems gieten in petrischalen.
De leerlingen kunnen voedingsbodems enten.

Practica

Proef 1: Bacteriën om ons heen

Onderwerp

Dagdagelijks komen we meer in contact met bacteriën dan we denken. Alles wat we aanraken bevat bacteriën. In dit onderzoek gaan we kijken hoeveel bacteriën dat verschillende omgevingen en materialen bevatten.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen monsters nemen van plaatsen waar er veel bacteriën aanwezig zijn.
De leerlingen kunnen deze monsters aanbrengen op voedingsbodems.
De leerlingen kunnen besluiten trekken uit hun resultaten.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan aan deze proef een start geven door te praten over Dettol.
Dettol No-Touch Foam MagicTM is een hygiënische moussedispenser die de verspreiding van bacteriën tegengaat. De zeepdispenser lokaliseert automatisch uw handen, waardoor u de pomp niet hoeft aan te raken. De No-Touch Foam Magic houdt de handen schoon en beschermt uw gezin tegen de verspreiding van bacteriën. Onze antibacteriële formule wast geur veroorzakende bacteriën doeltreffend weg en is ook zacht voor de huid. Het voorkomt de verspreiding van bacteriën door de handige automatische dispenser.

HTTPS://WWW.YOUTUBE.COM/WATCH?V=RPAUJOQO

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoeveel bacteriën zitten er op plaatsen uit onze alledaagse omgeving?

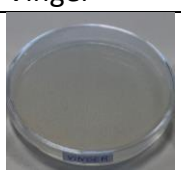
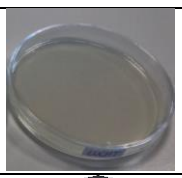
Benodigdheden:

- Waterbad
- 4 petrischalen
- 4 flessen agar
- Monster van vinger, haar, lucht, bodem
- Plakband

WERKWIJZE:

1. Plaats de agar in het waterbad om te smelten. Als het gesmolten is, giet je de agar voorzichtig in elk van de 4 petrischalen volgens de aseptische technieken. Laat de agar uitharden.
2. Plaats de eerste petrischaal op de laboratoriumtafel en verwijder de deksel voor ongeveer 10 minuten. Plaats na de 10 minuten de deksel terug op de petrischaal, sluit hem af met plakband en plaats het etiket op de bodem.
3. Plaats de tweede petrischaal op de laboratoriumtafel, neem een haar en plaats het voorzichtig op de agar. Plaats de deksel terug op de petrischaal, sluit hem af met plakband en plaats het etiket op de bodem.
4. Plaats de derde petrischaal op de laboratoriumtafel. Til de deksel voorzichtig op en raak het oppervlak van de agar aan met een vinger of een aantal vingers. Plaats de deksel terug op de petrischaal, sluit hem af met plakband en plaats het etiket op de bodem.
5. Plaats de vijfde petrischaal op de laboratoriumtafel. Til de deksel voorzichtig op en raak het oppervlak van de agar voorzichtig aan met de entoog waar bodemvocht in zit. Plaats de deksel terug op de petrischaal, sluit hem af met plakband en plaats het etiket op de bodem.
6. Draai de petrischalen om en plaats ze in de droogoven bij 25°C of 30°C voor 24 uur of laat ze ongeveer 36 uur bij kamertemperatuur staan. Observeer de voedingsbodems op de aanwezigheid van bacteriële kolonies.

ONZE UITVOERING

	Vinger	Haar	Lucht	Bodem
Begin				
Einde				

TIPS/ TOEPASSING/ WEETJES

- Jouw lichaam zit tjokvol micro-organismen, waaronder bacteriën, schimmels, archaea en virussen. Het zijn er alles bij elkaar tien keer zo veel als het aantal menselijke cellen in jouw lichaam. Samen zijn ze goed voor een gewicht van 1,5 kilo.

- Je ziet ze niet, maar ze zijn er wel. Microben. Ze zitten op je, ze zitten in je, en jij alleen hebt er al meer dan honderdduizend miljard. Dat is veertienduizend keer het aantal mensen dat op aarde woont. Samen worden zij de menselijke microbiota genoemd.
- Je mond zit vol micro-organismen. Er leven allerlei schimmels, archaea en virussen en wel 700 soorten bacteriën. De meeste zijn onschadelijk of helpen zelfs je mond gezond te houden. Maar sommige veroorzaken gaatjes, tandvleesontsteking of een stinkende adem.
- 10 dagdagelijkse voorwerpen die meer bacteriën bevatten dan je wc-bril: toetsenbord, gsm, afstandsbediening, tandenborstel, haardroger, beddengoed, kledij, keukenspons, rooster van de oven of de bbq, winkelkarretje.

EVALUATIE

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

EVENTUELE OPTIMALISATIE EN TOEKOMSTMOGELIJKHEDEN

- Andere staaltjes nemen uit je omgeving met behulp van een wattenstaafje. Dat wattenstaafje veeg je dan heel voorzichtig op je voedingsbodem bv. wc-vocht, speeksel, hoest, deurklink, tandenborstel, gootsteen, wc-borstel, geld, hondendrinkbak, rauw vlees…

Proef 2: Gramkleuring

Onderwerp

Gramkleuring is een bekende methode voor het kleuren van bacteriën als hulpmiddel bij het bekijken van de bacteriën onder de microscoop. Met de kleuring kan er een bepaling gebeuren van het soort bacterie: gram-positief of gram-negatief.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen de gramkleuring uitvoeren.
De leerlingen kunnen de soorten bacteriën herkennen.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan aan deze proef een start geven door de leerlingen te laten redeneren waarom het belangrijk is om te weten met welke bacterie je te maken hebt.
Slechte bacteriën kunnen ziektes veroorzaken, maar goede bacteriën zijn juist essentieel om gezond te blijven. Zo zorgen de goede bacteriën in uw darmen ervoor dat de slechte bacteriën geen plek meer hebben om te groeien. Slechte bacteriën zijn de bacteriën waar we ziek van kunnen worden en die er ook voor zorgt dat voedsel bederft. Je wordt ziek als je grote hoeveelheden slechte bacteriën binnenkrijgt of als je immuunsysteem niet goed functioneert.

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe kan je soorten bacteriën herkennen met behulp van gramkleuring?

Benodigdheden:

- Lucifers
- Bunsenbrander
- Entoog
- Kristalviolet
- Neutraal rood
- Gram-jodiumoplossing
- Absolute alcohol
- Bekerglas
- Pipet
- Filtreerpapiertje
- Draagglaasje
- Dekglaasje
- Immersieolie
- Microscoop

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen zich niet verbranden aan de bunsenbrander.

Werkwijze:

1. Verzamel alle materialen en zorg ervoor dat je in de buurt van een gootsteen kunt werken met stromend water.
2. Verwijder met behulp van een steriele entoog, neem één druppel kweek uit het vloeibaar medium en plaats die op een draagglaasje. Gebruik de lus om het medium uit te spreiden om een gebied met een diameter van ongeveer 1 cm te bedekken.
3. Laat het uitstrijkje drogen aan de lucht voor fixatie.
4. Voeg dan 2 of 3 druppels kristalviolet toe aan het uitstrijkje en laat het 2 minuten staan.
5. Spoel het glasplaatje af met kraanwater en laat het water eraf druppelen.
6. Bedek het uitstrijkje met de gram-jodiumoplossing en laat het 2 minuten staan.
7. Kantel het glasplaatje over een bekerglas. Neem wat absolute alcohol op met een wegwerppipet en laat wat druppels over het glasplaatje lopen tot er geen blauwe kleur meer is.
8. Spoel opnieuw met leidingwater en laat het water eraf druppelen.
9. Voeg een paar druppels neutraal rood toe en laat gedurende 2 minuten staan.
10. Spoel opnieuw met water en dep droog met een filterpapier. Let op, veeg niet over het uitstrijkje zelf.
10. Het uitstrijkje kan nu onder de microscoop onderzocht worden. Je kan eventueel een dekglaasje met immersieolie op het uitstrijkje leggen voor beter resultaat.

Afval

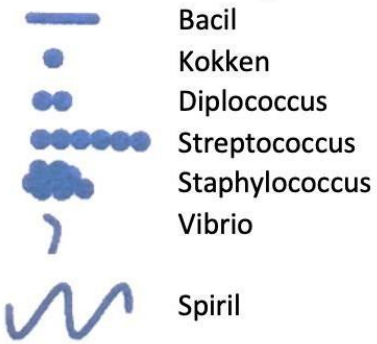
De glasplaatjes kunnen afgespoeld worden in de wasbak.

Onze uitvoering

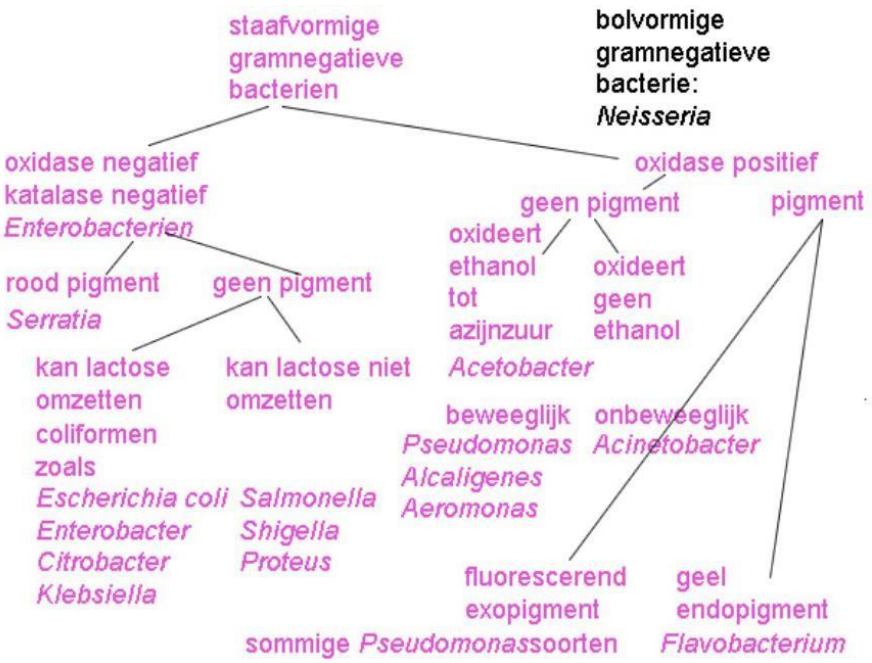
Besluit

Door het preparaat eerst te kleuren met kristalvioletoplossing en vervolgens met lugol, ontstaat een verbinding tussen die twee kleurstoffen: het kristalviolet-lugol-complex. Uit sommige bacteriën is die verbinding niet door ethanol op te lossen; ze blijven blauwpaars van kleur en worden gram-positief genoemd. De overige bacteriën verliezen door de behandeling met ethanol de blauwpaarse kleurstof en worden door de fuchsineoplossing roze-rood gekleurd. Die noemen we gram-negatief. Het onderscheid tussen beide soorten bacteriën kan bestaan door de verschillen in samenstelling van de celwand.
De gekleurde, gedroogde preparaten kunnen onder de microscoop bekeken worden bij een vergroting van duizend keer. Daarvoor wordt op het preparaat een druppel immersie-olie aangebracht om een nog betere vergroting te krijgen.
Het verschil is duidelijk te zien tussen de blauwpaarse, gram-positieve en de rode, gram-negatieve bacteriën.

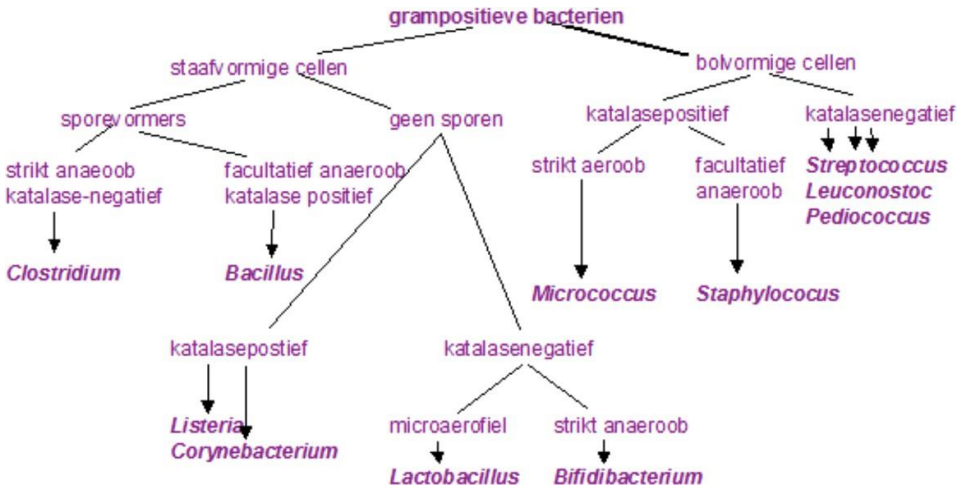
Verschillende soorten bacteriën:



Schema bepaling gramnegatieve bacteriën:



Schema bepaling grampositieve bacteriën:



TIPS/ TOEPASSING/ WEETJES

- Bruikbaar artikel: https://www.nvkvv.be/file?fle=160983&ssn=
- Vibro is een geslacht van kommavormige bacteriën. Ze worden ingedeeld bij de gramnegatieve bacteriën. De meeste bacteriën van het vibro-geslacht zijn onschadelijk en hebben zelfs een nuttige functie. Er zijn een aantal bacteriën van het vibro-geslacht die ziekte bij de mens veroorzaken. Dat zijn voornamelijk voedselvergiftiging en cholera.
- Het Medisch laboratorium technoloog bacteriologie is een voorbeeld van een bedrijf dat dagdagelijks bezig is met het uitvoeren van gramkleuringen.
- Gram-positieve vs gram-negatieve bacteriën:

https://www.youtube.com/watch?v=Didrc3wJ3E8

EVALUATIE

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

EVENTUELE OPTIMALISATIE EN TOEKOMSTMOGELIJKHEDEN

Yoghurt is een interessante bron van bacteriën voor gram-kleuring en negatieve kleuring. Het bevat 'gemengde' zuivere culturen van een lange staafvormige bacterie (Lactobacillus) en een bolvormige coccus die groeit in ketens (Streptococcus).

1. Plaats een druppel water op een schoon glasplaatje.
2. Voeg een hoeveelheid yoghurt met een speldenkop toe, meng en spreid uit in een film en laat drogen.
3. Wanneer het droog is, verwarm het dan op een bunsenvlam om smeer te verhitten. Laat afkoelen.
4. Voeg aceton toe gedurende één minuut om het melkvet op te lossen en af te gieten.
5. Ga verder met gram-kleuring of met een negatieve vlek door één druppel nigrosine toe te voegen en laat drogen.
6. Observeer microscopisch.

Dit onderzoek kan zowel op natuurlijke als op smaak gebrachte yoghurt worden uitgevoerd om te zien of gebruikte vruchten of kleurstoffen enig effect hebben op de bacteriën.

Proef 3: Antibiotica

Onderwerp

Antibiotica zijn stoffen die bacteriën in hun groei remmen of zelfs doden. Ze hebben een specifieke werking (selectief toxisch). Ze werken wel tegen de bacterie die bestreden moet worden, maar niet tegen de zieke gastheer en daardoor zijn ze als geneesmiddel te gebruiken.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen een conclusie trekken welk antibioticum het beste werkt tegen micro-organismen.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan een start geven aan deze proef door een gesprek te houden met de leerlingen wat ze doen als ze ziek zijn. Iedereen neemt dan wel eens antibiotica in, waardoor de micro-organismen doodgaan en we beter worden.

Labo

Onderzoeksvraag:

Wat is het effect van antibiotica op micro-organismen? Welke antibioticum is sterker?

Benodigdheden:

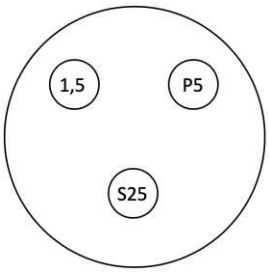
- Culturen van S.albus en E.coli of schimmels
- 2 petrischalen
- 2 flessen agar
- Waterbad
- Antibiotica:
    - Antibioticumschijven van:
        - Penicilline 1,5 eenheden
        - Penicilline 5 eenheden
        - Streptomycine 25
    - Antibiotica van in huis
- 2 pipetten
- Kroejestang
- Bunsenbrander
- Droogoven

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen geen antibiotica innemen.

WERKWIJZE:

1. Plaats de agar in het waterbad om te smelten. Als het gesmolten is, giet je het voorzichtig in twee petrischalen volgens de aseptische technieken.
2. Neem één van de twee bereidde petrischalen, de cultuur van E.coli en een steriele pipet. Label de bodem van de petrischaal zoals in de figuur.

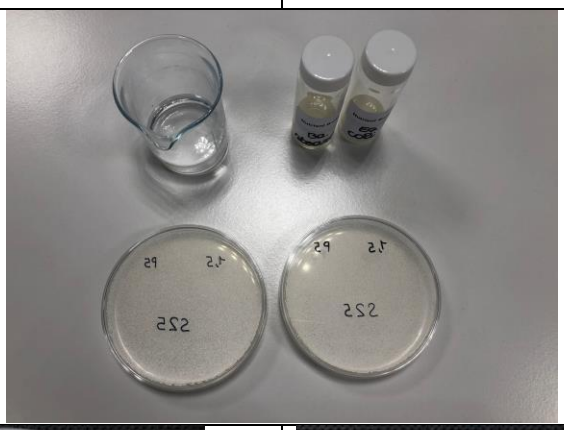
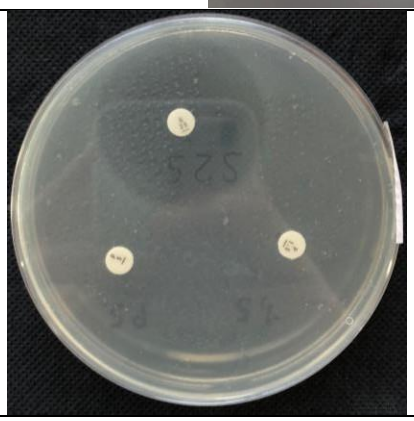
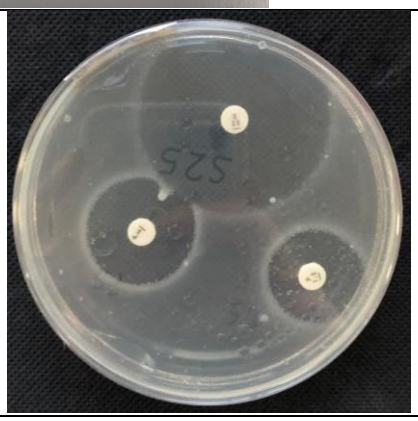


3. Breng met behulp van een pipet ongeveer 5 cm^3 van de cultuur over op het oppervlak van de agar, kantel de schaal om gelijkmatig spreiding te krijgen en pipeteer vervolgens de overtollige kweek af. Vergeet niet om de pipet en overtollige kweek weg te doen in een beker met een geschikt desinfectiemiddel vb. absolute alcohol.
4. Plaats de petrischaal, ondersteboven met het deksel eraf, op een stuk schoon papier in een droogoven of op een warme plaats gedurende ongeveer een half uur om te drogen.
5. Herhaal stap 2, 3 en 4 voor de S.albus-cultuur.
6. Plaats de deksels terug op de petrischalen als ze droog zijn. Draag handschoenen en verwijder het papier door het te verbranden.
7. Steriliseer de uiteinden van de kroejestang door ze onder te dompelen in alcohol, even in de bunsenvlam te houden en daarna enkele seconden te laten afkoelen.
8. Neem de E. coli voedingsbodem en gebruik de steriele tang om een Streptomycine-schijf te nemen en plaats deze op de agar op de plek met de markering S25. Resteriliseer de tang.
9. Herhaal stap 7 en 8 met de S. albus voedingsbodem.
10. Herhaal stap 7 en 8 bij het plaatsen van Penicillin 1,5-eenheden schijfjes op de plaatsen met de aanduiding P2 en Penicillin 5-eenheid schijfjes op de plaats met de markering P5.
11. Plaats de petrischalen omgekeerd in een droogoven bij 30°C gedurende de nacht.
12. Observeer de culturen door ze op een wit vel papier te plaatsen en tegen het licht te houden.

AFVAL

Deze proef mag je weggooien in een dubbele afvalzak.

Onze uitvoering

	E. Coli	S. Albus
Start		
Einde		

Besluit

Niet alle antibiotica doden alle micro-organismen. Zo zien we in de proef dat de E. coli gedood wordt door Streptomycine, maar niet door Peniciline. Daarnaast wordt S. Albus gedood door zowel Streptomycine als Peniciline. Zo zien we dat elk antibioticum zijn eigen doel, en dus niet elke bacterie, op zijn pad dood.

Tips/ toepassing/ weetjes

- Website die uitlegt wat antibiotica doet als je het inneemt: https://www.izore.nl/bacterien-en-antibiotica
- Antibiotica en alcohol gaan soms samen, en soms niet.
- Naast bijwerkingen en resistentie hebben antibiotica nog een ander nadeel: ze zijn helaas ook werkzaam tegen nuttige bacteriesoorten die we altijd bij ons dragen én die we nodig hebben. Het gaat om bacteriën in de darmen die helpen bij het verteren van eten. Ook vernietigen antibiotica sommige

bacteriën die de huid of de slijmvliezen beschermen tegen ziekmakende bacteriën of schimmels.

- MRSA is een bacterie die inmiddels bijna niet meer met antibiotica te behandelen is. Nederlandse (huis)artsen gaan redelijk zorgvuldig om met het voorschrijven van antibiotica. Daardoor komt resistentie weinig voor in Nederland, in vergelijking met andere Europese landen.
- Een hygiëne-challenge: https://www.resistentiepreventie.nl/leeromgeving/
- Het bekendste antibioticum is penicilline, het belangrijkste geneesmiddel van de twintigste eeuw. Penicilline was namelijk het eerste medicijn waarmee de mens zich kon beschermen tegen dodelijke bacteriën. Inmiddels zijn er veel soorten antibiotica bijgekomen. Elk antibioticum werkt weer tegen andere bacteriën.

Evaluatie

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

Eventuele optimalisatie en toekomstmogelijkheden

- Deze proef kan ook uitgevoerd worden met antibiotica uit de apothekerskast die we thuis hebben bv. aspegic, rennie, paracetamol…
- Vanuit ons onderdeel milieu binnen het stem-project conserveringstechnieken hebben we vastgesteld dat suiker, olijfolie, citroenzuur en zout ook een bepaald effect hebben op de groei van micro-organismen. Dat effect zou nagegaan kunnen worden als we die middelen gaan toevoegen in plaats van de antibiotica. Zo weten we ook specifiek welk conserveermiddel welk effect heeft op welke schimmel en ook op welk voedingsmiddel.

Proef 4: Hittebestendig

Onderwerp

Mensen zeggen altijd dat als je voedsel gaat koken, de bacteriën doodgaan. In dit experiment gaan we kijken of die uitspraak klopt voor alle soorten micro-organismen.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen het effect van hitte op micro-organismen beschrijven.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan een start geven aan deze proef door met de leerlingen in gesprek te gaan. Het gesprek kan gaan over hoe we bacteriën kunnen doden en waarom dat belangrijk is. Zo moeten we bijvoorbeeld kip goed bakken in de pan, want anders zitten er micro-organismen in zoals salmonella en campylobacter die voedselvergiftiging kunnen veroorzaken.

Labo

Onderzoeksvraag:

Wat is het effect van hitte op micro-organismen?

Benodigdheden:

- 2 flessen vloeibare media
- Culturen van: E. coli en B. stearothermophilus of schimmels
- Bunsenbrander
- Inentingslus
- Incubator

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen zich niet verbranden aan het kokende water.

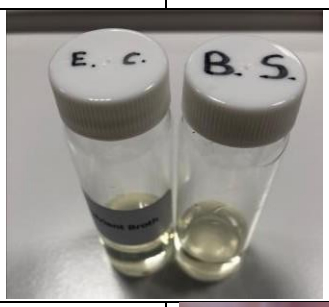
Werkwijze:

1. Gebruik aseptische techniek, ent één vloeibare medium met E.coli en de andere met B. stearothermophilus. Merk de dop van elke fles om ze te kunnen identificeren.
2. Plaats de flessen in het waterbad.
3. Breng het water aan de kook en laat het 25 minuten sudderen.
4. Plaats de E.coli-medium bij 30°C en de B. Stearmophilus-medium bij 50-60°C gedurende de nacht.
5. Onderzoek de media.

Afval

De oplossingen moeten opgelost worden in een pure alcoholoplossing.

Onze uitvoering

	E. Coli	B. Stea
Start		
Einde		

Besluit

Hier zien we duidelijk dat de E. Coli nog gegroeid is na het koken in een waterbad. De B. Stea is hetzelfde gebleven als ervoor. Daaruit kunnen we vaststellen als we iets koken, dat niet alle bacteriën doodgaan. Sommige bacteriën blijven leven. Dat is dan ook de reden waarom voedingsmiddelen schimmelen nadat je ze gekookt hebt.

Tips/ toepassing/ weetjes

- In een stuk vlees of kip leven misschien wel 1000 soorten bacteriën.
- Artikel: https://dekennisvannu.nl/site/artikel/Mag-het-wat-heter/327
- Ontdekking bacterie in Yellowstone National Park: https://www.youtube.com/watch?time_continue=32&v=YdkTW30Gv64

Evaluatie

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

Eventuele optimalisatie en toekomstmogelijkheden

- Uittesten waar de grens ligt in de temperatuur zodat bv. de B. Stea wel nog groeit.
- De proef uitvoeren op meerdere micro-organismen en daarna een algemeen percentage maken van hoeveel keer de bacteriën wel doodgaan en een percentage van hoeveel keer ze niet doodgaan.

Proef 5: Bacteriën in melk

Onderwerp

We hebben in de vorige proeven gezien dat micro-organismen overal in onze omgeving voorkomen. In deze proef gaan we bekijken of melk bacteriën bevat en de hoeveelheid ervan.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen de bacteriën in melk vaststellen vaststellen.
De leerlingen kunnen een conclusie trekken of er veel of weinig bacteriën groeien ten opzichte van de vorige proeven.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan een start geven aan deze proef door de vorige proeven uit te voeren en daarna de leerlingen opzoekwerk te laten doen. Ze kunnen opzoeken of melk bacteriën bevat en welke bacteriën dat dan zijn. De leerkracht kan aan het begin van de les een polleverywhere gebruiken waarbij de leerlingen 'zonder enige kennis' kunnen 'gokken'. Daarna mogen de leerlingen hun opzoekwerk doen en de proef uitvoeren.

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe bepalen we de aanwezigheid van bacteriën in melk?

Benodigdheden:

- 1 fles china blauwe lactose agar
- Melk (niet gesteriliseed)
- Petrischaal
- Waterbad (koken)
- Inentingslus
- Bunsenbrander
- Plakband

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen hun niet verbranden aan het kokende water.

Werkwijze:

1. Plaats de agar in het waterbad om te smelten. Als het gesmolten is, giet je het voorzichtig in de petrischaal volgens de aseptische technieken. Laat de agar uitharden.
2. Steriliseer een inentingslus en neem één lus vol melk.

3. Smeer de melk over de uitgeharde agar.
4. Plaats de deksel terug op de petrischaal, sluit hem af met plakband en plaats het etiket op de bodem. Draai de petrischaal om en plaats de petrischaal in de droogoven bij 30°C gedurende 24 uur of tot 36 uur bij 20°C tot 25°C.
5. Zoek na het drogen naar bacteriekolonies.

Afval

Deze proef mag je weggooien in een dubbele afvalzak.

Onze uitvoering

Na enkele dagen:

Na enkele maanden:

Besluit

Natriumchloride helpt het osmotische evenwicht van het medium te handhaven. China blauw is de pH-indicator die van kleurloos naar blauw verandert als gevolg van afbraak van lactose tot zuur, waardoor lactose-fermentoren worden onderscheiden van niet-fermentoren.

Tips/ toepassing/ weetjes

- In rauwe melk kunnen onder andere de bacteriën campylobacter, listeria, salmonella, E. coli, Bacillus cereus, L monocytogenes en Staphylococcus aureus voorkomen. Verhitting doodt deze bacteriën.
- Melk dient als basis voor: karnemelk, chocomelk, yoghurt, room, boter, kaas …

Evaluatie

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

EVENTUELE OPTIMALISATIE EN TOEKOMSTMOGELIJKHEDEN

- De proef uitvoeren met verschillende soorten melk (zie proef 8).

Proef 6: Negatieve kleuring

Onderwerp

Negatieve kleuring is een bekende methode, vaak gebruikt in diagnostische microscopie, voor het contrasteren van een dun monster met een optisch ondoorzichtige vloeistof. In die techniek wordt de achtergrond gekleurd, waardoor het werkelijke monster niet wordt aangetast en dus zichtbaar is.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen de negatieve kleuring uitvoeren.
De leerlingen kunnen de verschillende soorten micro-organismen herkennen.

Aanpak als leraar

Deze proef kan samen uitgevoerd worden met de gramkleuring. Daarbij leren de leerlingen beide methoden en zien ze het verschil tussen beiden.

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe kan je soorten bacteriën herkennen met behulp van negatieve kleuring?

Benodigdheden:

- Watten en schoonmaakmiddel
- Microscoopglaasjes
- Bacteriële culturen
- Inentingslus
- Nigrosin
- Bunsenbrander
- Microscoop

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen zich niet verbranden aan de bunsenbrander.

Werkwijze:

1. Schone, vetvrije glasplaatjes zijn essentieel. De test van een schoon glasplaatje is dat er een dunne laag water achterblijft als een film totdat deze droog is en niet in druppels valt. Reinig de glaasjes door te schuren met natte watten met een fijn huishoudelijk schoonmaakmiddel voor schurende vloeistoffen. Was het glasplaatje goed met water en droog met een schone doek. Houd het glasplaatje vast met de randen om te voorkomen dat vet van je vingers het voorbereide oppervlak vuil maakt. U kunt de

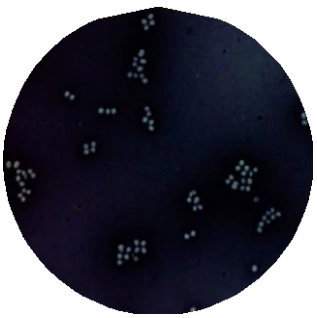
glasplaatjes ook in aceton reinigen en in 70% alcohol bewaren tot u klaar bent voor gebruik.

2. Gebruik een steriele entlus om een druppel bacteriecultuur in het midden van de glasplaat te plaatsen en voeg één druppel nigrosin- oplossing toe. Meng voorzichtig en spreid het mengsel om ongeveer de helft van het glasplaatje te bedekken. Toegestaan om te drogen. (Vergeet niet om de lus na gebruik te steriliseren).
3. Het glasplaatje kan nu worden bekeken onder de microscoop. De bacteriën worden gezien als kleurloze gebieden op de donkere achtergrond. Olie-immersie is niet strikt noodzakelijk bij het gebruik van deze techniek, maar olie kan direct op de film worden geplaatst. Permanente voorbereidingen kunnen worden gemaakt door een geschikt montagemiddel en dekglaasje toe te voegen .
4. Herhaal met een reeks bacteriën.

Afval

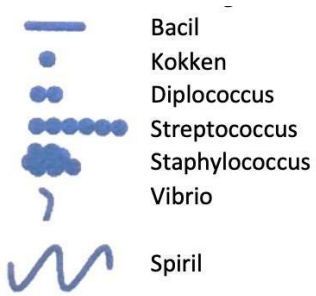
De glasplaatjes kunnen afgespoeld worden in de wasbak.

Onze uitvoering



Besluit

We zien duidelijk dat de bacteriën tot de soort Staphylococcus behoren.
Verschillende soorten bacteriën:



Tips/ toepassing/ weetjes

- Hoe werkt de methode:

https://www.youtube.com/watch?v=HlP0Wha6f_E
https://www.youtube.com/watch?v=avveXgPWVJ8
https://www.youtube.com/watch?v=2WTbRRY2ty4

EVALUATIE

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

Extra mogelijke proeven

Proef 7: Antibiotica afkomstig van schimmels

Onderwerp

Het antibioticum Penicilline wordt geproduceerd door de schimmel Penicillium. Het is een relatief eenvoudige zaak om dat aan te tonen.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen vaststellen dat antibiotica afkomstig zijn van schimmels.

Aanpak als leraar

Deze proef kan samen uitgevoerd worden met proef 3. Daarbij leren de leerlingen dat antibiotica wel degelijk bacteriën doden, maar dat ze zelf afkomstig zijn van bacteriën.
De leerlingen kunnen beginnen met opzoekwerk over hoe antibiotica gemaakt worden.

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe kunnen we aantonen dat antibiotica afkomstig zijn van schimmels?

Benodigdheden:

- Fles voedingsagar
- Bunsenbrander
- Incubator
- Steriele petrischaal
- Cultuur van penicillium
- Inentingslus
- Waterbad (koken)

Veiligheid:

Pas op dat de leerlingen hun niet verbranden aan de bunsenbrander.

Werkwijze:

1. Plaats de agar in het waterbad om te smelten. Als het gesmolten is, giet je het voorzichtig in de petrischaal volgens de aseptische technieken. Laat de agar uitharden.
2. Ent de agar met Penicillium medium in een rechte lijn.
3. Sluit de schaal af, label het en plaats het een paar dagen bij kamertemperatuur tot een duidelijke schimmelgroei te zien is.

4. Breng nu de E. coli medium aan en ent de petrischaal in door een lijn te trekken die loodrecht staat op de lijn van de penicillium.
5. Herhaal dat met S.albus ongeveer 3 cm van de eerste streep, sluit de schaal af en plaats het in een droogoven gedurende de nacht bij 30°C.
6. Onderzoek de resultaten.

Afval

Deze proef mag je weggooien in een dubbele afvalzak.

Besluit

Je gaat vaststellen dat de S. Albus bacteriën gedood zijn door de Penicillium die eronder is aangebracht, net zoals bij proef 3. Daarnaast zal je zien dat de E. Coli bacteriën nog leven en dus nog zichtbaar zijn. Je ziet dus dat de schimmel die een tijdje gestaan heeft hetzelfde effect heeft als het antibioticum.

Evaluatie

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

Eventuele optimalisatie en toekomstmogelijkheden

- De proef kan ook eens uitgevoerd worden met andere antibiotica en bijhorende schimmels.

Proef 8: Effecten van pasteurisatie

Onderwerp

Pasteurisatie is een gecontroleerd verwarmingsproces dat gebruikt wordt om alle gevaarlijke ziekteverwekkers te doden die aanwezig zijn in melk, fruitgebaseerde dranken, sommige vleesproducten en andere voedingsmiddelen die normaal gezien aan dat proces worden onderworpen. Door pasteurisatie kunnen voedingsmiddelen dan een langere tijd goed blijven, maar de vraag is of de kwaliteit ervan hetzelfde blijft.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen het effect van pasteuristatie vaststellen.
De leerlingen kunnen het effect van pasteuristatie uitleggen.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan een start geven aan deze proef door pasteurisatie uit te leggen aan de leerlingen en te vragen wat zij denken wat het effect is op bacteriën.

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe toon je de versheid van melk aan?

Benodigdheden:

- (monsters van)
  - Rauwe melk
  - Laboratorium gepasteuriseerde melk
  - Verse, commercieel gepasteuriseerde melk
  - Commercieel gepasteuriseerde melk die een dag of wat is blijven staan.
  - Gekookte melk
- Waterbad bij 30 ° C
- reageerbuizen met stoppen
- Maatcilinder 100cm³
- Maatcilinder 100cm³ (of 1cm³ spuit of pipet)
- Resazurin-tabletten
- Gedistilleerd water

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen zich niet verbranden aan het waterbad.

Werkwijze:

1. Los één Resazurin-tablet op in 0,05l gedestilleerd water.

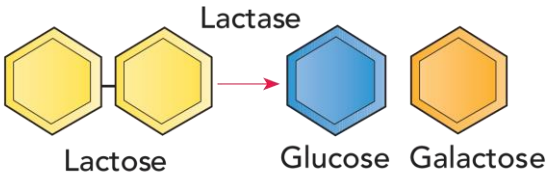
2. Plaats 0,01l van elk melkmonster in een afzonderlijke reageerbuis en label ze elk duidelijk.
3. Voeg 0,001l Resazurin toe aan elk melkmonster, schud de reageerbuis een paar keer om de inhoud te mengen.
4. Plaats de reageerbuizen in een waterbad op 30 ° C.
5. Verwijder na 10 minuten de buizen en noteer eventueel de kleurverandering. Plaats de buizen terug in het waterbad.
6. Verwijder na een uur opnieuw de buizen en noteer eventuele verdere kleurveranderingen.

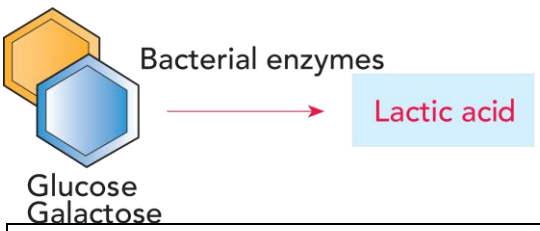
Afval

Deze proef mag na het uitvoeren door de wasbak.

Besluit

Hoe ouder melk wordt, hoe meer bacteriën melk bezit. De bacteriën zetten zuurstof en lactose om in koolstofdioxide en melkzuur. Resazurin gaat de hoeveelheidzuurstof meten door van kleur te veranderen.





Kleur van de resazurin	Kwaliteit melk
Blauw	Super
Blauw tot licht paars	Goed
Licht paars tot roze	Ok
Roze tot licht roze	Slecht
Wit	Rot

Tips/ toepassing/ weetjes

- Verse fruitsap vs gepasteuriseerde fruitsap: https://www.youtube.com/watch?v=irOtUzbSLI4

- Korte uitleg over pasteurisatie: https://www.youtube.com/watch?v=68hgQXTaj9E
- Pasteurisatie vs sterilisatie: https://www.youtube.com/watch?v=Yzn40soRGyY
- How to pasteurize: https://www.youtube.com/watch?v=rrNZwkrIOrM

EVALUATIE

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

EVENTUELE OPTIMALISATIE EN TOEKOMSTMOGELIJKHEDEN

- De proef kan ook uitgevoerd worden met sinaasappelsap, appelsap, koffie…

Proef 9: Opzoek naar levende bacteriën

Onderwerp

Wanneer je bacteriën onder de microscoop bekijkt, zijn ze meestal gedood. Er zijn ook methoden om bacteriën levend onder de microscoop te bekijken. Wij bekijken de hangvalmethode.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen levende micro-organismen waarnemen onder de microscoop.

Aanpak als leraar

Deze proef kan samen uitgevoerd worden met de gramkleuring en de negatieve kleuring. Daardoor hebben de leerlingen alle proeven met de microscoop uitgevoerd.

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe kunnen we levende bacteriën waarnemen?

Benodigdheden:

- Glasplaatje met een holte
- Inentingslus
- Vaseline
- Dekglaasjes
- Bacteriële vloeibare media
- Pincet
- Bunsenbrander
- Microscoop

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen zich niet verbranden aan de bunsenbrander.

Werkwijze:

1. Neem een glasplaatje met een holte en omring de holte met een ring van vaseline
2. Gebruik een steriele entlus en breng een druppel kweek over naar het midden van een schoon dekglaasje. (Steriliseer de lus na gebruik)
3. Keer het glasplaatje om over het dekglaasje en centreer de holte over de druppel. Druk naar beneden om een stevige verzegeling te maken met de vaseline.
4. Draai het glasplaatje snel terug recht zodat de druppel in de holte hangt.

5. Onderzoek onder de microscoop gebeurt door eerst de rand van de druppel te lokaliseren met het lage-vermogensdoel en het licht te verminderen. Schakel over naar het hoge-vermogensdoel en stel scherp op de rand van de druppel. De bacteriën moeten ongeveer in focus zijn en kunnen worden waargenomen. Olie-immersie kan nu worden gebruikt indien gewenst. Als veel bacteriën bewegen, herhaal je met verschillende culturen en noteer je de resultaten.

Afval

Als je klaar bent met de glasplaatjes, onthoudt dan dat ze levende bacteriën bevatten en daarom gesteriliseerd moeten worden. Een geschikte methode is om zowel glasplaatjes als dekglaasjes, gescheiden met een forceps, in een bekerglas van70% alcohol te laten vallen (vergeet niet om na gebruik een vlamtang te gebruiken). Als alternatief kunnen ze worden geautoclaveerd.

Besluit

https://www.youtube.com/watch?v=cxfoFzjCOrM
Je ziet bacteriën bewegen.

Tips/ toepassing/ weetjes

- Hoe werkt de methode: https://www.youtube.com/watch?v=ujzSmsmg7ok
- Voorbereiding: https://www.youtube.com/watch?v=OA6oZfvDoYg

Evaluatie

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.

Proef 10: Hoe schimmels voedsel krijgen

Onderwerp

Net zoals wij, moeten bacteriën ook eten om te groeien. Daarom zorgen we dat de bacteriën zich bevinden in speciale voedingsbodems die geschikt zijn voor de bacteriën.

Doelgroep en doelstellingen

De leerlingen kunnen vaststellen dat de bacteriën eten.
De leerlingen kunnen verklaren waarom de bacteriën blauw kleuren.

Aanpak als leraar

De leerkracht kan beginnen met een enquête wie allemaal ontbijt, middag eet en avond eet. Dan kan er een gesprek volgen over de micro-organismen. Vragen die gesteld kunnen worden zijn:

- Eten micro-organismen?
- Wat eten micro-organismen?
- …

Labo

Onderzoeksvraag:

Hoe kunnen we aantonen dat bacteriën leven van de voedingsstoffen uit een voedingsbodem?

Benodigdheden:

- Flesje zetmeelagar
- Steriele petrischaal
- Cultuur van Aspergillus oryzae
- Bunsenbrander
- Inentingslus
- Gram-jodium- oplossing
- Waterbad (koken)

Veiligheid:

Zorg dat de leerlingen zich niet verbranden aan de bunsenbrander.

Werkwijze:

1. Smelt de agar en giet het in de petrischaal met behulp van aseptische technieken.
2. Wanneer de agar is uitgehard , verwijdert u een klein stukje A.orzae (2 mm vierkant) van de cultuur en plaatst u die in het midden van de petrischaal. Sluit hem af en label de petrischaal.

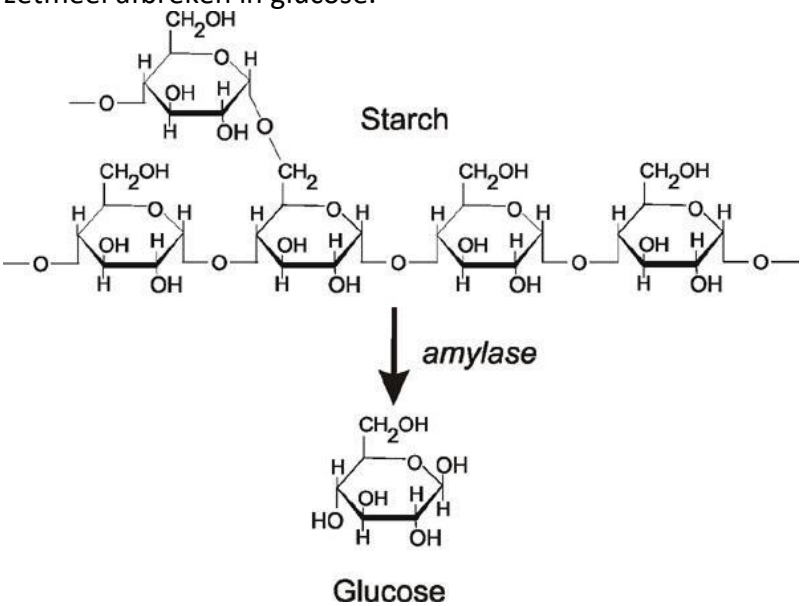
3. Plaats de petrischaal in een kamer bij kamertemperatuur gedurende drie dagen of totdat de kolonie een diameter van ongeveer 3 cm heeft.
4. Open de petrischaal en giet de jodiumoplossing over de rand. Voeg voldoende jodium toe om de agar te bedekken. Laat het een paar minuten staan. Verwijder overtollig jodium door voorzichtig met water te wassen.
5. Vergeet niet dat de originele agar zetmeel bevat en dat jodiumzetmeel een blauw / zwarte kleur heeft, bekijk de petrischaal en noteer eventuele veranderingen.

Afval

Deze proef mag je weggooien in een dubbele afvalzak.

Besluit

Wanneer een jodiumoplossing en een zetmeeloplossing (stijfsel) worden samengevoegd ontstaan er jodium-zetmeelamylose complexen, die zich kenmerken door een blauwe kleur. Zodoende wordt jodium gebruikt als indicator voor zetmeel. Daardoor gaan bacteriën die geen amylase produceren en dus geen zetmeel afbreken, blauw/zwart kleuren. De bacteriën die wel amylase produceren, gaan het zetmeel afbreken in glucose.



Tips/ toepassing/ weetjes

- Jodium heeft antiseptische, antibacteriële eigenschappen, het kan ziekteverwekkers van schimmelinfecties doden.

Evaluatie

De evaluatie van de leerlingen kan gebeuren aan de hand van een laboverslag. Ook is het een mogelijkheid om tijdens het labo de leerlingen te evalueren aan de hand van vooropgestelde attitudes. In het begin van de bundel vind je al verschillende Rubrics met een attitude. Dat kan ook gebeuren via Classdojo.