

# Antibiotica gezocht!

Project van de Universiteit Leiden



## Leerdoelen

- Je kunt uitleggen wat antibioticaresistentie is en waarom het een belangrijk maatschappelijk probleem vormt.
- Je kunt een wetenschappelijk laboratoriumonderzoek uitvoeren en hierbij steriel werken.
- Je kunt zorgvuldig onderzoeksresultaten verzamelen, verwerken en analyseren.
- Je neemt actief deel aan citizen science-projecten en draagt bij aan wetenschappelijk onderzoek.



## Thema's

medische biologie, resistentie, selectie



## Groepsgrootte

2-4 leerlingen



## Duur

4 weken



## Doelgroep

4 havo  
4 vwo  
5 vwo  
Profielwerkstuk

## Introductie

Antibiotica zijn medicijnen die bacteriën doden of hun groei remmen. Ze worden gebruikt bij de behandeling van bacteriële infecties, zoals een longontsteking of blaasontsteking. Steeds vaker blijken bacteriën echter ongevoelig voor antibiotica. Ze worden resistent. Sommige bacteriën zijn zelfs multiresistent: ze zijn bestand tegen meerdere soorten antibiotica. Door toenemende resistentie tegen antibiotica stijgt het aantal ziekenhuisopnames met infecties. Een bijkomend probleem is dat er steeds minder nieuwe antibiotica ontdekt worden. Van de huidige antibiotica wordt ongeveer 70% geproduceerd door bacteriën die actinomyceten worden genoemd. Vanwege het snel toenemende probleem van multiresistente ziekteverwekkers is er grote behoefte aan nieuwe antibiotica en dus ook aan hun producenten: de actinomyceten. Deze bacteriën leven onder andere in tuinaarde.

## De opdracht

In een zoektocht naar het vinden van nieuwe middelen om gevaarlijke bacteriën te bestrijden, roepen wetenschappers van de Universiteit Leiden hulp in van jonge onderzoekers in het voortgezet onderwijs. Jij gaat de komende weken deze wetenschappers helpen door op zoek te gaan naar bacteriën die antibiotica produceren.

- Zoek een plek om een grondmonster te verzamelen.
- Laat bacteriën uit je grondmonster groeien op een agarplaat.
- Determineer en selecteer actinomyceten.
- Test actinomyceten op antibioticaproductie.
- Gebruik de resultaten om je onderzoeksvraag te beantwoorden.
- Lever aan het einde van de onderzoeksperiode een verslag in, met een passende titel, een inleiding, de onderzoeksvraag, materiaal en methode, resultaten, conclusie, discussie en bronnen.



1

## Verwonderen

Door toenemende resistentie helpt antibiotica niet altijd meer tegen elke infectie. Er wordt ook steeds minder antibiotica ontdekt. Kijk naar de volgende [video](#)<sup>1</sup> over resistente bacteriën en een nieuw ontwikkeld antibioticum dat resistente bacteriën bestrijdt.

Lees vervolgens ook de inleiding van de handleiding in de bijlage (pagina 8):

[Inleiding - op zoek naar grondbacteriën.](#)

Waarom is antibioticaresistentie een probleem?

## Onderzoeksvraag

In welke mate komen antibioticaproducerende actinomyceten voor in verschillende omgevingsmonsters uit de lokale omgeving?

2

## Verkennen

Bedenk een originele plek om een grondmonster te verzamelen. Gebruik eventueel Google Maps voor het vinden van een geschikte plek. Denk aan aarde uit plantenbakken, aan de rand van een sportveld, onder struiken, langs stoeptegels, bij een speelplaats, langs het water. Waarom kiezen jullie voor die plek? Ga vervolgens naar buiten en loop of fiets naar je uitgekozen plek. Kies je nog steeds voor deze plek? Waarom wel of niet?

3

## Onderzoek opzetten

### Materialen

#### Week 1

- Zwarte of blauwe stift
- Theelepel
- 15 ml buis
- Kraanwater in een bekglas
- Pasteurpipet
- 3 epjes
- Steriele Drigalski spatel
- 2 agarplaten
- Grondmonster

#### Week 2

- Agarplaten van week 1
- 2 nieuwe agarplaten
- Stift
- 4 tandenstokers

#### Week 3

- Agarplaat met prikjes
- Bekglas met 5 ml laagsmeltende agar met de testbacterie *Micrococcus luteus*

#### Week 4

- Agarplaten van voorgaande weken
- Liniaal
- Pen en papier

<sup>1</sup> <https://schooltv.nl/video-item/eenvandaag-in-de-klas-antibiotica-en-resistente-bacterien>

## Methode

Spit of graaf voor de start van het onderzoek een gat van 10 tot 20 cm onder het oppervlak van jouw gekozen plek. Neem een monster van twee theelepels grond op 10 tot 20 cm diepte. Bewaar je grondmonster in een doosje of zakje. Noteer waar je grondmonster vandaan komt en maak foto's van de locatie. Het onderzoek zal vier weken in beslag nemen. In de **eerste week** (p. 10) laat je bacteriën uit je grondmonster groeien op een agarplaat. In **week 2** (p. 13) onderzoek je welke micro-organismen op je agarplaat groeien en of er actinomyceten te vinden zijn. Je selecteert de actinomyceten en laat ze op een nieuwe agarplaat groeien. In **week 3** (p. 14) introduceer je testbacteriën (*Micrococcus luteus*) op de agarplaat met actinomyceten. In de **vierde week** (p.20) onderzoek je of de actinomyceten antibiotica gemaakt hebben. Maak gedurende de vier weken foto's van de resultaten met een camera of je smartphone.



### Extra

Je kunt dit onderzoek uitbreiden voor een profielwerkstuk door het aantal grondmonsters uit te breiden en grondmonsters te verzamelen van verschillende locaties. Je kunt voor je profielwerkstuk ook contact opnemen met de wetenschappers van Universiteit Leiden.

4

## Onderzoek uitvoeren

Voer het onderzoek uit. Volg hiervoor de instructies in de bijlage van de desbetreffende week. Start altijd met het bekijken van de instructiefilmpjes:

Practicum instructievideo week 1 <sup>2</sup>

Practicum instructievideo week 2 <sup>3</sup>

Practicum instructievideo week 3 <sup>4</sup>

5

## Concluderen

Zaten er actinomyceten in je grondmonster? Welke andere micro-organismen zaten er nog meer in je grondmonster? Heb je vier kolonies actinomyceten kunnen selecteren en incuberen (groeien)? Zag je een halo (heldere zone/ cirkel) op je agarplaten? Wat kan dat betekenen? Kun je verklaren hoe dat zou kunnen komen? Beantwoord je onderzoeksvraag met de data die je hebt verzameld.

6

## Presenteren

Omschrijf het gebied waar je het grondmonster vandaan gehaald hebt: type gebied (bijv. berm, voortuin, plantenbak), locatie, diepte van grondmonster (10-20 cm), omgeving. Voeg ook foto's van je gebied toe. Noteer nauwkeurig welke stappen je uitgevoerd hebt om je grondmonster te onderzoeken. Noteer je resultaten. Voeg foto's toe van je resultaten. Geef mogelijke verklaringen van je resultaten. Beantwoord de onderzoeksvraag: In welke mate komen antibioticaproducerende actinomyceten voor in verschillende omgevingsmonsters uit de lokale omgeving? Gebruik hiervoor ook de resultaten van je klasgenoten. Hebben zij antibioticaproducerende actinomyceten gevonden? Waar hebben ze die gevonden?

<sup>2</sup> <https://www.youtube.com/watch?v=P6UUptgakBA>

<sup>3</sup> [https://www.youtube.com/watch?v=D\\_LU95fjktY](https://www.youtube.com/watch?v=D_LU95fjktY)

<sup>4</sup> <https://www.youtube.com/watch?v=s2L4MZi3i6Q>

## Verdiepen en verbreden

Reflecteer op hoe je onderzoek verlopen is. Hoe ging het verzamelen van het bodemonster? Hoe ging het laten groeien van de bacteriën uit je grondmonster? Hoe ging het determineren en selecteren van actinomyceten? Hoe ging het testen op antibioticaproductie? Ben je tevreden met de resultaten en conclusie? Heb je actinomyceten gevonden? Zijn je resultaten betrouwbaar? Heb je suggesties voor vervolgonderzoek?

### Eindproduct

Lever een verslag in op schrift. Het verslag bevat:

- een passende titel
- een inleiding
- de onderzoeksvraag
- materiaal en methode
- resultaten in tabellen en grafieken
- een conclusie
- een discussie
- bronnen

### Tip!

Heb je mogelijk antibioticaproducerende actinomyceten gevonden? Dan kun je de actinomyceten naar de onderzoeksgroep van de Universiteit Leiden sturen. Zij zullen het dan verder onderzoeken.



# Bijlagen

## Inhoud

- Leerlingenhandleiding Universiteit Leiden





# ANTIBIOTICA GEZOCHT!

# INHOUDSOPGAVE

## PAGINA

3	INLEIDING: OP ZOEK NAAR GRONDBACTERIËN
5	WEEK 1: GRONDMONSTERS UITPLATEN
8	WEEK 2: ACTINOMYCETEN SELECTEREN
13	WEEK 3: ANTIBIOTICAPRODUCTIE-TEST
15	WEEK 4: RESULTATEN BEKIJKEN

## Colofon

De lessenserie Antibiotica Gezocht! is ontwikkeld door De Praktijk, natuurwetenschappelijk onderwijs in opdracht van Universiteit Leiden op basis van bestaande practicum instructies in het kader van de Academische Jaarprijs 2011. Het lespakket is met zorg samengesteld en uitgebreid getest. De Universiteit Leiden kan niet verantwoordelijk worden gehouden voor oneigenlijk gebruik van het practicummateriaal.

Op alle lesmaterialen is de Creative Commons Naamsvermelding-Niet-commercieel-Gelijk delen 3.0 Nederland Licentie van toepassing (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/nl/>).

CC BY-NC-SA 2012 – De Praktijk i.o.v. Universiteit Leiden

## INLEIDING: OP ZOEK NAAR GRONDBACTERIËN

In een zoektocht naar het vinden van nieuwe middelen om gevaarlijke bacteriën te bestrijden, roepen wetenschappers van de Universiteit Leiden hulp in van jonge onderzoekers in het voortgezet onderwijs. Jij gaat de komende weken deze wetenschappers helpen door op zoek te gaan naar bacteriën die antibiotica produceren.

### Het probleem

Door toenemende resistentie tegen antibiotica stijgt het aantal ziekenhuisopnames met infecties zoals methicilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) en multiresistente tuberculose. Een bijkomend probleem is dat er steeds minder nieuwe antibiotica ontdekt worden. Van de huidige antibiotica wordt



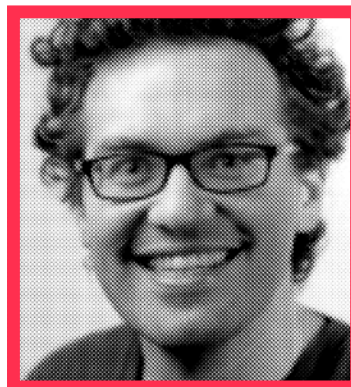
ongeveer 70% geproduceerd door bacteriën die actinomyceten worden genoemd. Bekende

voorbeelden zijn onder meer erythromycine (voor behandeling van luchtweginfecties) en vancomycine (lange tijd beschouwd als laatste redmiddel tegen MRSA). Vanwege het snel toenemende probleem van multiresistente ziekteverwekkers is er grote behoefte aan nieuwe antibiotica en dus ook aan hun producenten: de actinomyceten.

### De aanpak

Onderzoeker Dennis Claessen van de Universiteit Leiden vertelt: “Om nieuwe antibiotica te vinden, zoeken we in grondmonsters naar nieuwe actinomyceten. Uit een theelepeltje tuinaarde kunnen al honderden antibioticumproducerende actinomyceten worden geïsoleerd. Plekken waar we nog geen grond hebben onderzocht, zijn natuurlijk interessant. Ik ben bijvoorbeeld benieuwd naar grond van ver weg, zoals van vakantiebestemmingen.”

Veel actinomyceten blijken zogenaamde ‘slapende antibiotica’



te hebben, wat wil zeggen dat ze deze antibiotica wel kunnen maken maar het niet altijd doen, vermoedelijk omdat ze daarvoor bijzondere groeiomstandigheden nodig hebben. De onderzoeksgroep van Universiteit Leiden zoekt

naar schakelmechanismen die de productie van antibiotica aan of juist uit kunnen zetten. De onderzoeksgroep heeft al een doorbraak bereikt met de ontdekking dat bepaalde suikers uit de celwand een belangrijk signaal vormen voor het aanzetten van antibiotica. Deze kennis passen ze nu toe om de productie van slapende (en dus zeldzame) antibiotica aan te zetten. Samen met de vakgroep Medische Microbiologie van het Erasmus Medisch Centrum in Rotterdam worden de antibiotica vervolgens getest op effectiviteit tegen multiresistente ziekteverwekkers.



### Grond verzamelen

De grond zit vol met actinomyceten. Eerst heb je een grondmonster nodig dat je de komende weken tijdens het practicum gaat onderzoeken:

- Zoek een plek om het grondmonster te verzamelen, en gebruik daarbij je fantasie: neem het bijvoorbeeld mee van een vakantiebestemming.
- Spit of graaf een gat van 10 tot 20 cm onder het oppervlak.
- Neem een monster van circa twee theelepels grond op 10 tot 20 cm diepte.

Succes met het practicum, en wie weet gaan de wetenschappers van Universiteit Leiden jouw resultaten voor verder onderzoek gebruiken!

## WEEK 1: GRONDMONSTERS UITPLATEN

Overall in de bodem zijn grondbacteriën te vinden. Met dit practicum ga je kijken of er tussen de grondbacteriën in jouw grondmonster bacteriën zitten die antibiotica produceren. Dat ontdek je over een paar weken. Eerst laat je bacteriën uit je grondmonster groeien op een agarplaat.

### Voorbereiding

Maak groepjes met 2 of 3 klasgenoten. Zorg dat je materialen klaarliggen. Per groepje heb je nodig:

- een zwarte of blauwe stift
- een theelepel
- 1x 15 ml buis
- kraanwater in een bekersglas
- een pasteurpipet
- 3 epjes
- 1 steriele Drigalski spatel (raak de korte kant niet aan met je vingers!)
- 2 agarplaten
- het grondmonster

Bekijk eerst het instructiefilmpje dat wetenschappers van de Universiteit Leiden hebben gemaakt op YouTube. Zoek het kanaal AntibioticaGezocht op en klik op 'practicum instructievideo week 1'.

### VERDUNNINGSREEKS MAKEN DEEL 1

1. Pak de drie epjes en codeer deze als volgt: 10x, 100x en 1000x.
2. Vul de drie epjes elk tot de 1 ml streep met kraanwater.

### Grondmonster maken

3. Doe van het grondmonster 1 afgestreken theelepel grond in de 15 ml buis, zodat de punt van de buis gevuld is. Als je meerdere grondsoorten hebt, meng ze dan in een bakje en neem daar 1 afgestreken theelepel uit.
4. Vul de buis tot de 10 ml streep met kraanwater uit bekersglas 1, plaats de dop erop en schud de buis.

*Practicummaterialen*



## VERDUNNINGSREEKS MAKEN DEEL 2

### 10x verdunnen

5. Gebruik de pipet om 4 grote druppels van het grondmonster in het epje met code **10x** te doen. Neem deze druppels boven uit de buis. Nu is het monster 10x verdund.
6. Doe de dop op het epje.

### 100x verdunnen

7. Haal met de pipet een klein beetje vloeistof uit het 10x-epje en doe 4 grote druppels in het **100x** epje. Nu is het monster 100x verdund.
8. Doe de dop op het epje.

### 1000x verdunnen

9. Haal met de pipet een klein beetje vloeistof uit het 100x-epje. Doe 4 grote druppels in epje met code **1000x**. Nu is het monster 1000x verdund.
10. Doe de dop op het epje.

### Uitplaten

11. Pak de agarplaten en schrijf op de bodem of zijkant van de eerste plaat je naam en 1000x. Op de tweede plaat schrijf je (eveneens op de zijkant) je naam en 100x.

### Vraag A

Waarom schrijf je je naam niet op het deksel van de agarplaat?

.....

.....

12. Haal het dekseltje van de plaat met code 1000x en pipetteer uit het epje met code 1000x 4 grote druppels op het medium, op het midden van de plaat. Doe het dekseltje er weer snel op.
13. Herhaal stap 2 en pipetteer 4 grote druppels uit het epje 100x op de plaat met dezelfde code. Doe ook nu het dekseltje weer snel op de plaat.

**Vraag B**

Waarom hoef je de pipet niet schoon te maken als je eerst de 1000x-verdunning en daarna de 100x-verdunning op de agar brengt?

.....

.....

14. Pak de plastic Drigalski spatel. LET OP: raak het korte stukje niet aan met je vingers, het is namelijk steriel.
15. Pak de plaat met code 1000x. Verspreid het water evenredig met de plastic Drigalski spatel over de gehele plaat. De makkelijkste manier om dit te doen is door de spatel op de plaat te plaatsen en stil te houden, en vervolgens de plaat eronder rond te draaien.
16. Doe daarna hetzelfde met de plaat met code 100x. Als je het in deze volgorde doet hoef je de spatel niet tussendoor schoon te maken.
17. Sluit de platen weer snel af met het deksel.

**Vraag C**

Waarom moet je het deksel steeds snel terug op de agarplaat doen?

.....

.....

Over een week ga je bekijken wat er aan micro-organismen op de agar is gaan groeien.

**Opruimen**

- Bewaar de grond in een doosje of plastic zakje en schrijf op waar de grond precies vandaan komt.
- Gooi de buis met het monster weg, net als de Drigalski spatel en epjes.
- Geef de agarplaat (controleer of je naam erop staat en de code 100x of 1000x) aan je docent of aan de TOA.
- Maak de tafel schoon met een natte doek of stuk keukenrol.
- Was je handen met water en zeep en droog ze goed af.

## WEEK 2: ACTINOMYCETEN SELECTEREN

Vorige week heb je grondmonsters uitgeplaat. Die zijn gaan groeien, en als alles goed gegaan is, heb je nu twee platen die behoorlijk overgroeid zijn met micro-organismen. De meeste van deze micro-organismen zullen geen antibiotica produceren, maar sommige wel. Een klasse van bacteriën die daar bekend om staan zijn de actinomyceten. Deze actinomyceten ga je selecteren en testen op antibiotica-productie.

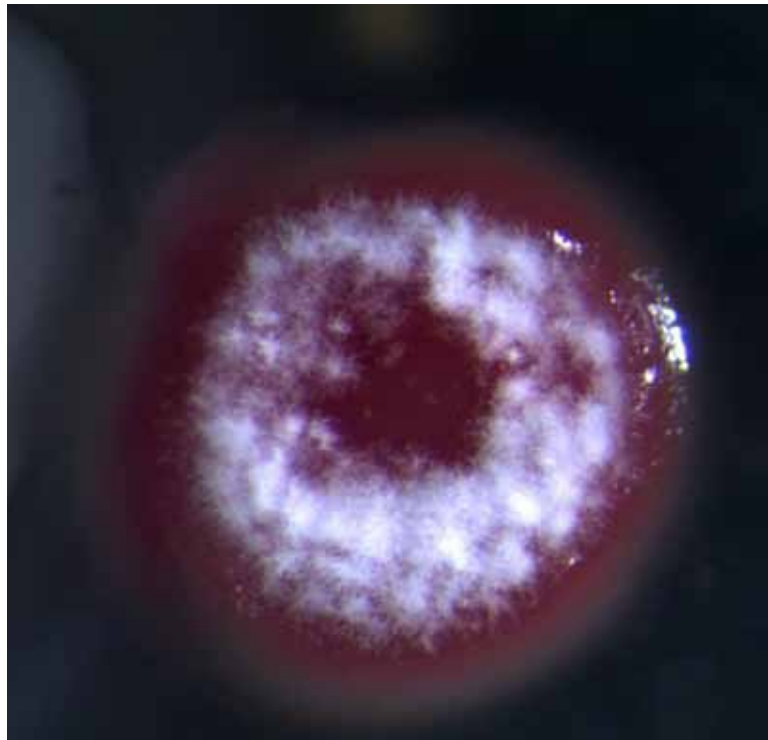
### Herkennen van actinomyceten

Actinomyceten zijn lastig te herkennen voor een leek. De determinatietabel op pagina 10 helpt je bij het selecteren van actinomyceten voor het vervolg van het practicum. Begin linksboven in de determinatietabel bij stap 1. Hieronder staat een toelichting en afbeelding, behorend bij elke stap.

1. Hoe pluizig is de kolonie? Actinomyceten zijn zogenaamde filamenteuze bacteriën; ze vormen draden van aaneengeschakelde cellen, ofwel hyfen. Schimmels staan ook bekend om hun productie van hyfen (schimmeldraden), maar deze groeien veel sneller dan van actinomyceten. Zie je veel pluiz? Dan is het waarschijnlijk een schimmel. Hyfen van een actinomyceet kun je eigenlijk pas goed zien met een binoculair, een stereomicroscop of met een digitale camera op macrostand.

Kijk ook naar de kleur: doorgaans zijn de actinomycetenkolonies wit, maar als je er een met een mooie kleur ziet, dan kun je er wel vanuit gaan dat het een actinomyceet is.

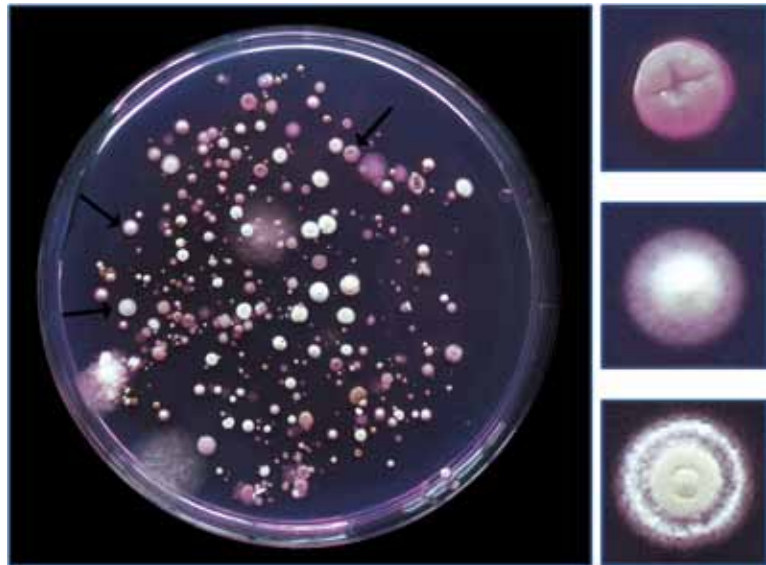
*Afbeelding 1: actinomyceet in kleur en met pluiz.*



## Herkennen van actinomyceten

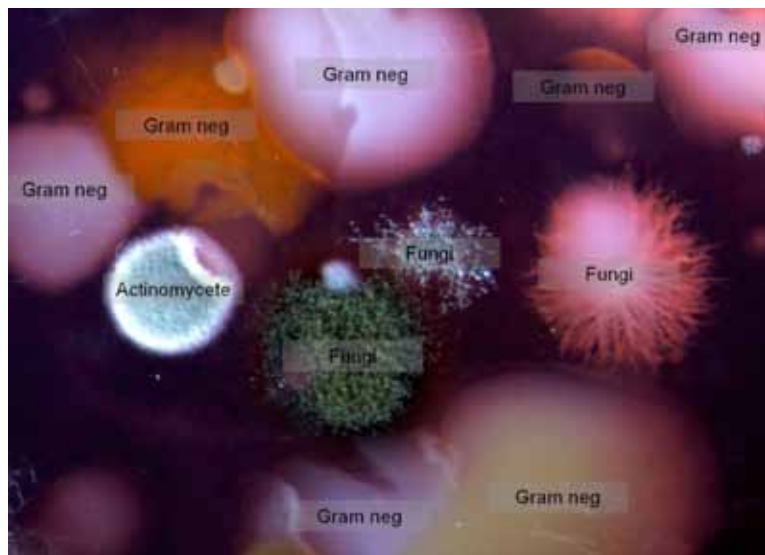
Afbeelding 2: Pluizige actinomyceten, gezien door een stereomicroscop.

2. Is de kolonie groot of klein, vergeleken met andere kolonies? De kolonies van actinomyceten zijn over het algemeen kleiner dan die van schimmels of Gram-negatieve bacteriën.



Afbeelding 3: Allerlei kolonies op een agarplaat (uitvergroting).

3. Zit de kolonie vast in de agar? Actinomyceten groeien de agar in waardoor ze vastzitten in het medium. Als je er met een tandenstoker doorheen gaat, geeft dit weerstand en blijft de kolonie grotendeels intact. Ook zijn actinomyceten niet slijmerig, wat ze onderscheidt van de loszittende en slijmerige Gram-negatieve bacteriën.



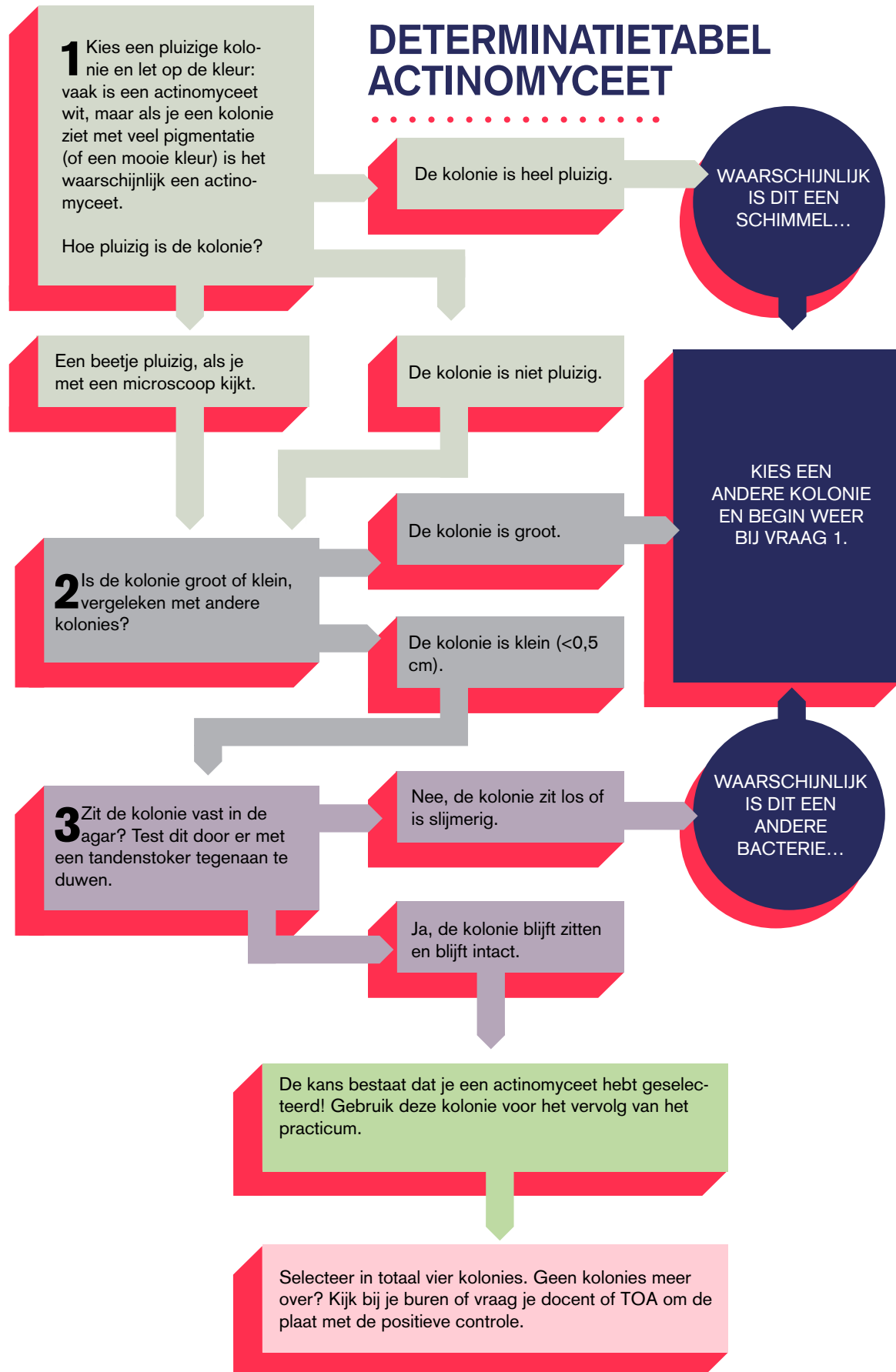
**Tot slot:** sommige kolonies van actinomyceten lijken een beetje op puistjes of mee-eters; in het midden zie je een wit of donker puntje. Ook kun je soms een ring zien, zoals in de afbeelding hiernaast.

Afbeelding 4: Actinomyceet (werkelijke grootte ongeveer 5 mm)

**Tip:** bekijk meer fotovoorbeelden in de actinomyceten galerij op de website [www.antibioticagezocht.nl](http://www.antibioticagezocht.nl) (onder het kopje 'in de klas').



## DETERMINATIETABEL ACTINOMYCEET



**Voorbereiding**

Je hebt zojuist vier kolonies geselecteerd. Die ga je nu doorenten. Per groepje heb je nodig:

- de twee platen van vorige week
- 2 nieuwe agarplaten (krijg je van je docent)
- een stift
- 4 tandenstokers

Bekijk eerst het instructiefilmpje dat wetenschappers van de Universiteit Leiden hebben gemaakt op YouTube. Zoek het kanaal AntibioticaGezocht op en klik op 'practicum instructievideo week 2'.

**Doorenten**

1. Schrijf op de zijkant of bodem van de twee nieuwe agarplaten je naam en teken een kruis op de bodem, zodat er vier kwarten ontstaan. Nummer de vakken van 1 tot 4 op beide platen. Houd alle agarplaten zoveel mogelijk dicht. Zorg ervoor dat je de gels nooit met je vingers aanraakt.

**Vraag D**

Wat kan er gebeuren als je alle agarplaten naast elkaar open laat staan?

.....

.....

2. Pak een tandenstoker en zorg dat je deze slechts aan één kant oppakt en aanraakt. Prik met de tandenstoker in de eerste geselecteerde kolonie of schraap er een beetje overheen. Zorg dat je geen andere kolonie aanraakt! Doe het deksel terug op de plaat en prik vervolgens met de tandenstoker één keer in het midden van vak 1 van de eerste nieuwe agarplaat. Doe ook nu snel het deksel er weer op. Houd de tandenstoker vast.
3. Strijk nu met dezelfde tandenstoker in vak 1 van de andere nieuwe plaat: beweeg de punt van de tandenstoker zachtjes heen en weer over de gel (zodat er een lichte kras ontstaat). Doe ook nu snel weer het deksel terug op de plaat.

**Vraag E**

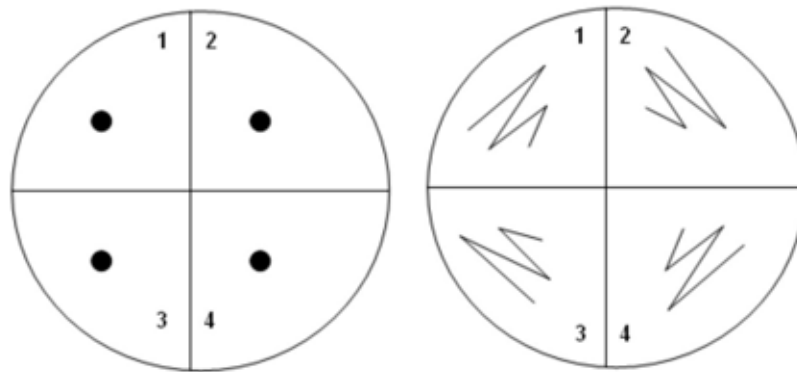
Waarom mag je de tandenstoker slechts aan één kant aanraken?

.....

.....



4. Herhaal stap 2 en 3 voor de andere drie kolonies die je hebt geselecteerd. Gebruik voor elke kolonie een nieuwe tandenstoker. Let goed op dat een kolonie op beide platen hetzelfde nummer heeft, zodat je weet welke bij elkaar horen. Houd zoveel mogelijk de deksels op de agarplaten.



Afbeelding 5: Links is de testplaat, rechts de basisplaat (voor eventueel verder onderzoek).

De plaat met de prikjes gebruik je volgende week om te testen of er antibiotica geproduceerd zullen worden. De agarplaat met de zig-zag uitstrijkjes is de zogenaamde basisplaat. Deze plaat is nodig voor eventueel verder onderzoek wanneer blijkt dat de actinomyceten interessante resultaten laten zien.

### Vraag F

De agarplaten worden ondersteboven bewaard. Waarom is dat, denk je?

.....

.....

Eerst gaan de bacteriën een week bij kamertemperatuur groeien (incuberen). Volgende week ga je testen of de kolonies een antibioticum produceren.

### Opruimen

- Gooi de tandenstokers weg.
- Geef de agarplaten met de uitstrijkjes en prikjes aan je docent of aan de TOA, nadat je hebt gecontroleerd of je naam erop staat.
- De platen van vorige week geef je ook aan je docent.
- Maak de tafel schoon met een natte doek of stuk keukenrol met zeep of ontsmettingsmiddel.
- Was je handen met water en zeep en droog ze goed af.

## WEEK 3: ANTIBIOTICAPRODUCTIE-TEST

Vorige week heb je actinomyceten gezocht en doorgezet op een nieuwe agarplaat. Nu ga je kijken of ze antibacteriële stoffen produceren. Dit doe je aan de hand van een klassieke test, die nog steeds in het lab wordt gebruikt. Je gaat testbacteriën introduceren op de agarplaat met de actinomyceten. Dat wordt een overlay genoemd.

### Vorbereiding

Per groepje heb je nodig:

- je plaat van vorige week met de prikjes
- een bekglas met 5 ml laagsmeltende agar met daarin de testbacterie *Micrococcus luteus* (vraag aan je docent)

Bekijk eerst het instructiefilmpje dat wetenschappers van de Universiteit Leiden hebben gemaakt op YouTube. Zoek het kanaal AntibioticaGezocht op en klik op 'practicum instructievideo week 3'.

### De overlay

Voor de overlay is het de bedoeling dat er 5ml van de laag smeltende agar met de bacteriën op de plaat met actinomyceten wordt gedeponerd. De agar zit in een voorraadfles in het waterbad. Zodra de agar uit het waterbad wordt gehaald, zal deze in ongeveer 5 min stollen. Het is dus van belang dat de agar snel wordt verwerkt.

1. Pak de agarplaat waar je vorige week viermaal in hebt geprikt. De andere basisplaat moet schoon blijven voor eventueel verder onderzoek. Doe hier dus GEEN *Micrococcus luteus* op.
2. Deponeer een bodempje laagsmeltende agar op de plaat met actinomyceten. Doe het deksel er terug op.
3. Verdeel de laagsmeltende agar over de hele plaat door rustig te zwenken, terwijl de plaat op de labtafel staat (schuif de agarplaat rustig heen en weer op tafel).
4. Laat de agar stollen voordat je de plaat verplaatst.

### Vraag G

Waarom moet de agar eerst stollen voor je de plaat verplaatst?

.....

.....

### Vraag H

Waarom breng je de *Micrococcus luteus* aan met een dun laagje snelsmeltende agar, en bijvoorbeeld niet als poeder?

.....

.....

### Vraag I

Wat verwacht je dat de kolonies nu gaan doen, ervan uitgaande dat het actinomyceten zijn? Hoe kun je dat waarnemen?

.....

.....

De komende week komen de testbacteriën uit de overlay in contact met de bacteriën die je hebt doorgezet. Wat dat voor gevolgen heeft, ontdek je volgende week.

### Opruimen

- Geef het bekglas met de laagsmeltende agar aan je docent of TOA.
- Geef aan het einde van de les (als de agar is gestold), de plaat aan je docent.
- Maak de tafel schoon met een natte doek of stuk keukenrol met zeep of ontsmettingsmiddel.
- Was je handen met water en zeep en droog ze goed af.

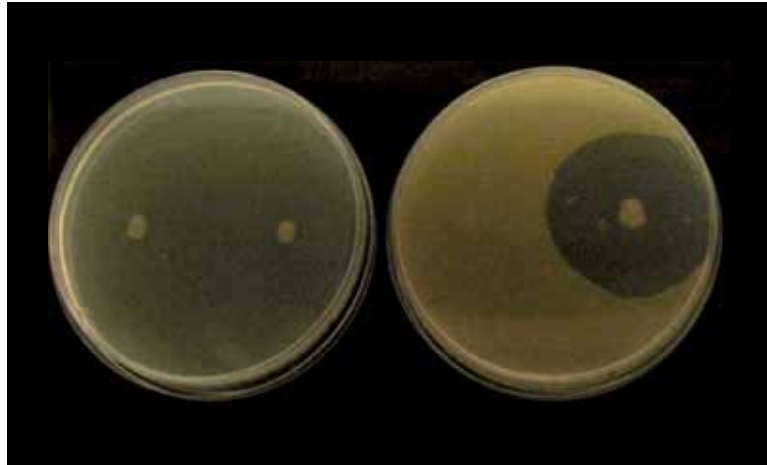
## WEEK 4: RESULTATEN BEKIJKEN

Vorige week heb je de testplaat overgoten met *Micrococcus luteus*. Deze testbacterie is gegroeid op de plaat op de plaatsen waar geen antibioticum aanwezig is, en dat ziet er troebel uit. Als één van de door jou geselecteerde actinomyceten één of meer antibiotica maakt, dan groeit daaromheen geen *Micrococcus*. Je ziet in dat geval rondom de actinomyceet een zogenaamde halo (op de afbeelding is dat de heldere zone/cirkel rechts op de rechterplaat).

*Afbeelding 5: Op de linkerplaat is geen antibioticum geproduceerd, op de rechterplaat wel.*

### De ene halo is de andere niet

Er zijn twee soorten halos te herkennen, de ene halo is helder en er lijkt helemaal geen *Micrococcus luteus* te groeien. Een tweede mogelijkheid is dat de halo wel bacteriegroei bevat maar minder dan eromheen. Beide types zijn voor het vervolgonderzoek interessant. De grootte van de halo is een mate voor de productie en de gevoeligheid van de antibiotica.



### Vraag J

Wat doet een antibioticum met bacteriën zoals *Micrococcus luteus* als je een heldere halo ziet?

.....

.....

### Vraag K

Wat doet een antibioticum met bacteriën als je een licht troebele halo ziet?

.....

.....

### Voorbereiding

Per groepje heb je nodig:

- je platen van vorige week
- een liniaal
- pen en papier

**Analyse**

1. Bekijk de plaat met actinomyceten en *Micrococcus luteus*. Hebben je actinomyceten antibiotica gemaakt? Meet dan de straal van de halo's op. De straal meet je van het midden van de kolonie tot de buitenkant van de halo. Schrijf de straal van de halo op en noteer ook of de halo's helder waren of verminderde groei vertoonden.
2. Vergelijk jouw resultaten met de andere groepjes. Welke actinomyceten maken de beste antibiotica?

**Vraag L**

Waarom is het voor onderzoekers interessant om te weten hoe groot de halo is?

.....

.....

**Vervolgonderzoek**

Heb je een duidelijke en heldere zone van groeiremming? Daar is de onderzoeksgroep van de Universiteit Leiden benieuwd naar en wil dit verder onderzoeken. Stuur samen met je klasgenoten de meest veelbelovende actinomyceten op naar de universiteit. Dat doe je als volgt:

1. Peuter met een tandenstoker een stuk agar met de kolonie van de schone basisplaat (met de zig-zag strijkjes) en doe dit in een daarvoor bestemd buisje (vraag deze aan je docent).
2. Label het buisje met je naam.
3. Schrijf op een bijgaand papier waar het grondmonster vandaan kwam, hoe groot de halo's waren, en of de halo's helder waren of verminderde groei vertoonden. Zet je naam, klas en school erbij.
4. Stuur het buisje op in het doosje die in het practicumpakket zit (vraag aan je docent).

Eerst zal worden onderzocht of je een onbekende groundbacterie hebt opgestuurd. Als dat het geval is, wordt de bacterie getest tegen gevaarlijke bacteriën. De vervolgtesten gaan in principe op dezelfde manier als je hebt uitgevoerd met *Micrococcus luteus*. In plaats van een overlay met *Micrococcus luteus* wordt dan een overlay gedaan met pathogene bacteriën zoals MRSA, *Klebsiella* ("Maasstad-bacterie") en andere. Als deze multiresistente bacterie doodgaat van het geproduceerde antibioticum, levert dat een interessant resultaat op; mogelijk is het een nieuwe soort! Daarnaast wordt ook nog gekeken of de groeiomstandigheden effect hebben op de antibioticaproductie, door de stammen die jij hebt gevonden op verschillende media te groeien en daar vervolgens een overlay op te doen.

De resultaten zullen regelmatig worden gepubliceerd via Facebook (Antibiotica Gezocht) en Twitter (@TeamLeiden).

**Bedankt!**

Door dit practicum uit te voeren heb je bijgedragen aan belangrijk onderzoek naar nieuwe antibiotica. Wie weet wordt er op deze manier een nieuw middel gevonden tegen ziekmakende, multiresistente bacteriën. Dank je wel voor je hulp!