

Antibiotica gezocht!

Project van de Universiteit Leiden



Groepsgrootte

2-4 leerlingen



Duur

4 weken



Doelgroep

4 havo
4 vwo
5 vwo
Profielwerkstuk



Periode

jaarrond



Vakoverstijgende thema's

onderzoekend leren



Biologische thema's

medische biologie
resistentie
selectie

Practicumbeschrijving

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 deze opdracht onderzoeken leerlingen of er tussen de grondbacteriën van hun grondmonster bacteriën zitten die antibiotica produceren.

- Leerlingen zoeken een plek om een grondmonster te verzamelen.
- Leerlingen laten bacteriën uit hun grondmonster groeien op een agarplaat.
- Leerlingen determineren en selecteren actinomyceten.
- Leerlingen testen actinomyceten op antibioticaproductie.
- Leerlingen gebruiken de resultaten om hun onderzoeksvraag te beantwoorden.
- Leerlingen leveren aan het einde van de onderzoeksperiode een verslag in, met een passende titel, een inleiding, hun onderzoeksvraag, materiaal en methode, resultaten, conclusie, discussie en bronnen.

Benodigde materialen

- ☐ **Practicumpakket¹** (De administratieve procedure duurt minstens een week. Het practicumpakket is twee maanden houdbaar.)
- ☐ Pen en papier
- ☐ Camera of smartphone
- ☐ Overige materialen die niet in het practicumpakket zitten. Bekijk voor een gedetailleerde opsomming de leerlingenhandleiding.

Voorbereiden

- ☐ Lees de leerlingenhandleiding goed door.
- ☐ Lees de **bijgevoegde documenten** van de Universiteit Leiden in de bijlage (p. 5 van deze handleiding).
- ☐ Bekijk voor de afronding en het nakijken van het verslag het beoordelingsmodel voor **onderzoekend leren** op de website.
- ☐ Spreek met de leerlingen af wanneer het verslag moet worden ingeleverd.

* Deze opdracht is ontwikkeld door de Universiteit Leiden: <https://www.universiteitleiden.nl/antibioticagezocht/lesmateriaal-antibiotica>.

¹ <https://www.universiteitleiden.nl/antibioticagezocht/lesmateriaal-antibiotica>





Leerdoelen

De leerlingen leren:

- wat antibioticaresistentie is en waarom het een belangrijk maatschappelijk probleem vormt.
- hoe ze wetenschappelijk laboratoriumonderzoek uitvoeren met aandacht voor het belang van steriel werken.
- onderzoeksresultaten zorgvuldig te verzamelen, te verwerken en te analyseren.
- actief deel te nemen aan citizen science-projecten en zo bij te dragen aan wetenschappelijk onderzoek.



Aansluiting curriculum havo en vwo biologie

Deze les sluit aan bij de volgende eindtermen:

Domeinen A4, A5, A12, A13 en A14 (vaardigheden), B5 (afweer), F1 (selectie)

Benodigde voorkennis

Deze opdracht sluit aan bij lesstof over bacteriën en virussen, over de opbouw van resistentie en de werking van antibiotica.

Inbedding curriculum

Deze opdracht kan worden ingezet als pre-PWS opdracht. Leerlingen doen stap voor stap gedegen wetenschappelijk onderzoek. De opdracht sluit vooral goed aan bij leerlingen die medisch geïnteresseerd zijn.

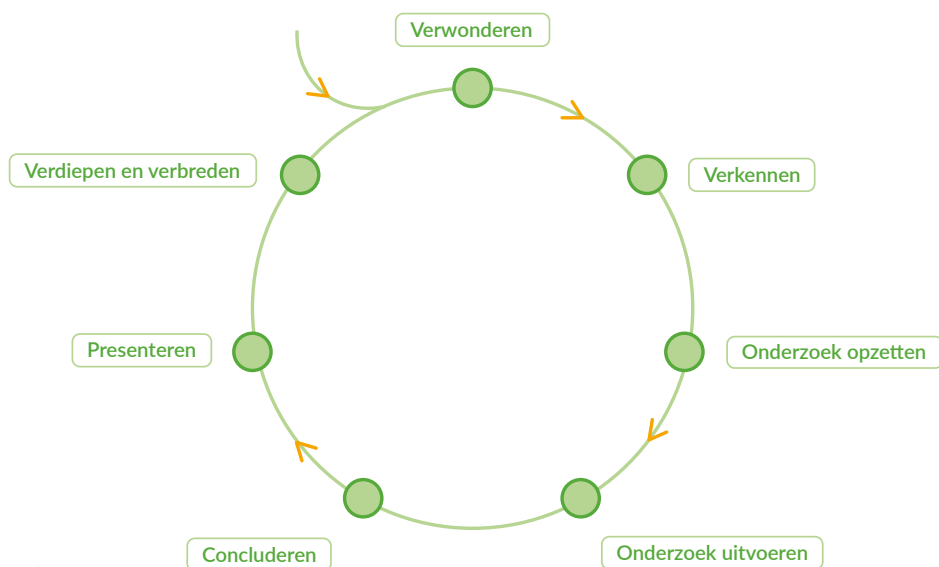
Tip!

De opdracht sluit ook aan bij het maken van verdunningen en verdunningsreeksen. Besteed hier eventueel extra aandacht aan. Bespreek bijvoorbeeld waarom verdunnen belangrijk is, laat leerlingen berekeningen maken aan de hand van verdunningsfactoren, oefen samen het juiste gebruik van de pasteurpipet, of bespreek het belang van nauwkeurig pipetteren.

Onderzoekend leren


Onderzoekend leren is een didactiek om wetenschap en techniek in de klas te brengen. Het stimuleert de creativiteit en probleemoplossende houding van leerlingen. Ze doen 21e-eeuwse vaardigheden op die nodig zijn voor wetenschappelijke en technische beroepen.

Deze les is gebaseerd op de cyclus van onderzoekend leren, waarin zeven fasen worden doorlopen. Leerlingen krijgen een onderzoeksvraag gepresenteerd en verkennen het onderwerp. Zij zetten vervolgens een onderzoek op en voeren dit onderzoek uit. Op basis van de resultaten trekken ze conclusies. Eventueel presenteren zij hun onderzoek aan de klas en kijken ze terug op het onderzoeksproces.



Practicum opzet met tijdsindicatie

Introductie

 30 minuten

Vertel de leerlingen dat ze veldwerk en laboratoriumonderzoek gaan doen en bespreek met de groepjes die deze opdracht kiezen kort de context van de opdracht. Leerlingen nemen grondmonsters en onderzoeken of er tussen de grondbacteriën van hun grondmonster bacteriën zitten die antibiotica produceren. Leerlingen voeren de stappen 'Verwonderen' en 'Verkennen' zelfstandig uit. De leerlingen gaan naar buiten om een geschikte plek te zoeken om het grondmonster te verzamelen.

Uitvoering

 4 lesuren (verspreid over 4 weken)*

De leerlingen voeren hun onderzoek uit zoals beschreven staat in de leerlingenhandleiding. Ze fotograferen hun agarplaten en determineren de bacteriën. Ze selecteren de actinomyceten en testen ze op antibioticaproductie. Ze leggen hun resultaten vast op schrift.



Differentiatie

Voor een profielwerkstuk kan het aantal grondmonster worden uitgebreid. Ook kunnen leerlingen voor hun profielwerkstuk contact opnemen met de wetenschappers van [Universiteit Leiden](https://www.universiteitleiden.nl)².

Afsluiting

 thuis of in de les

Leerlingen maken thuis of in de les een verslag met hun groepje, waarbij ze conclusies trekken op basis van hun resultaten en terugkijken op het veldwerk en labwerk. Het verslag heeft dezelfde opbouw als de stappen in de leerlingenhandleiding en de beoordelingsmatrix. Dit komt overeen met de stappen van de onderzoekscyclus. Beoordeel het verslag op vooraf afgesproken criteria met behulp van de beoordelingsmatrix 'onderzoekend leren'.

Eindproduct

De leerlingen leveren 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

* Bekijk voor het exacte tijdschema [pagina 9](#) van deze handleiding.

² <https://www.universiteitleiden.nl/antibioticagezocht/profielwerkstuk-antibiotica>



Inhoud

- Docentenhandleiding Universiteit Leiden



ANTIBIOTICA GEZOCHT!

DOCENTENHANDLEIDING



Universiteit Leiden

Erasmus

De **P**raktijk

natuurwetenschappelijk onderwijs & wetenschapscommunicatie

INHOUDSOPGAVE

Inleiding.....	3
Colofon.....	3
Aansluiting bij het onderwijs	4
doelgroep, niveau en vak	4
leerdoelen	4
voorkennis	4
curriculum en eindtermen	4
Indeling en inhoud lessenserie	5
tijdschema	5
inleiding en grond verzamelen.....	5
week 1: grondmonsters uitplaten	5
week 2: actinomyceten selecteren.....	6
week 3: antibioticaproductie-test.....	6
week 4: resultaten bekijken.....	6
resultaten opsturen	7
webquest.....	7
Belangrijke informatie	8
grondmonsters van ver	8
geen resultaat is ook resultaat	8
de geur van grond.....	8
overlay en gebruik van <i>Micrococcus luteus</i>	8
extra platen.....	8
online tip	8
Bijlage 1 voorbereiding practicum voor docent / TOA	9
Bijlage 2 antwoorden.....	13

INLEIDING

Voor u ligt de docentenhandleiding bij het practicum Antibiotica Gezocht! Met het wetenschappelijke practicum gaan leerlingen zelf op zoek naar (nieuwe) antibioticum-producerende bacteriën uit de grond en tonen aan dat deze daadwerkelijk antibiotica produceren. De benodigde leskit, bestaande uit een handleiding en alle materialen die nodig zijn voor de uitvoer van het practicum, is zo samengesteld dat in principe elke school hiermee kan werken.

Het practicum, dat in totaal een periode van vier weken beslaat, is goed uitvoerbaar met één lesuur per week. Kort samengevat gaan groepjes leerlingen bacteriën (actinomyceten) isoleren uit zelf meegenomen grond (bijvoorbeeld van vakantieadressen), waarna ze deze laten groeien op voedingsbodems. De zichtbare resultaten zijn zogenaamde kolonies van alle soorten micro-organismen die in de grond leven. Met verschillende hulpmiddelen tot hun beschikking, selecteren de leerlingen actinomyceten en zetten deze door op nieuwe voedingsbodems. Tenslotte wordt bekeken in hoeverre deze actinomyceten antibiotica kunnen produceren, door het remmende effect hiervan op de groei van een ongevaarlijke testbacterie te bekijken. Ter aanvulling op het practicum is een webquest beschikbaar, waarmee leerlingen de relatie tussen antibioticaresistentie en antibioticagebruik in de veehouderij in Nederland onderzoeken.

Het practicum is via www.antibioticagezocht.nl te bestellen. Het lesmateriaal is gratis beschikbaar via De Praktijk (www.praktijk.nu). Wij wensen u en uw leerlingen interessante en leerzame lessen toe!

Namens De Praktijk,

Susanne Jansen en Miranda Jansen

UNIVERSITEIT LEIDEN

Antibiotica Gezocht! is een initiatief van medewerkers en studenten van de Universiteit Leiden en het Erasmus Medisch Centrum in Rotterdam. Wij doen onderzoek naar antibiotica en de bacteriën die antibiotica produceren. Voor de Academische Jaarprijs 2011 hebben wij een plan bedacht om ons onderzoek te vertalen naar een breed publiek. Door zoveel mogelijk mensen te betrekken bij onze zoektocht naar nieuwe antibiotica hopen we dat iedereen deze betoverende wereld, die in en om ons heen is en ons leven op allerlei manieren beïnvloedt, beter leert kennen.

COLOFON

De lessenserie Antibiotica Gezocht! is ontwikkeld door De Praktijk, natuurwetenschappelijk onderwijs in opdracht van Universiteit Leiden op basis van bestaande practicuminstructies 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

AANSLUITING BIJ HET ONDERWIJS

DOELGROEP, NIVEAU EN VAK

Het practicum en de bijbehorende lessenserie van Antibiotica Gezocht! is geschikt voor leerlingen in de bovenbouw van havo (m.n. 5 havo) en de bovenbouw van vwo (m.n. vanaf 5 vwo) bij het vak biologie.

LEERDOELEN

Bij de lessenserie hoort een aantal leerdoelen. Deze leerdoelen zijn de volgende:

Leerlingen:

- vergroten hun kennis over het probleem van antibioticaresistentie;
- maken kennis met het uitvoeren van wetenschappelijk onderzoek;
- leren de noodzaak van steriel en nauwkeurig werken in een microbiologisch practicum.

VOORKENNIS

Voor het uitvoeren van het practicum wordt basiskennis over het uitvoeren van een biologisch practicum verondersteld.

CURRICULUM EN EINDTERMEN

Het practicum en de lessenserie sluiten aan bij verschillende thema's in de lesmethode. Enerzijds is dat het thema Ordening (bacteriën) en anderzijds is dat het thema Bescherming (antibiotica).

In het examenprogramma voor havo en voor vwo past het practicum met lessenserie bij verschillende eindtermen. Deze zijn, gebaseerd op het nieuwe examenprogramma voor biologie:

Domein B1: Biologische eenheid

B1.4 De kandidaat kan het systeemconcept biologische eenheid gebruiken op organisme niveau met behulp van de concepten prokaryoot, eukaryoot en virus.

Domein B2. Zelfregulatie en zelforganisatie

B2.3. De kandidaat kan het systeemconcept zelfregulatie en zelforganisatie gebruiken op organisme niveau met behulp van de concepten, voeding, levenscyclus, gezondheid.

INDELING EN INHOUD LESSENSERIE

Bij het uitvoeren van de lessen wordt uitgegaan van een lesuur van 50 minuten. De voorbereiding van het practicum staat uitgewerkt in bijlage 1.

TIJDSHEMA

week	activiteit	Duur practicum
0	Grondmonsters nemen (LET OP: instructie staat in de inleiding)	n.v.t.
1	Presentatie week 1 geven + filmpje practicuminstructie kijken	15 minuten
	Grondmonsters uitplaten	20 minuten
	Start webquest	resterende tijd of huiswerk
2	Presentatie week 2 geven + filmpje practicuminstructie kijken	15 minuten
	Selectie van actinomyceten en doorzetten	25 minuten
	Uitvoeren webquest	resterende tijd of huiswerk
3	Presentatie week 3 geven + filmpje practicuminstructie kijken	15 minuten
	Antibioticaproductie-test (overlay aanbrengen)	15 minuten
	Afronden webquest	resterende tijd of huiswerk
4	Presentatie week 4 geven	10 minuten
	Resultaten analyseren, vergelijken en discussie	10 - 20 minuten
	Afsluiting en reflectie webquest	resterende tijd

INLEIDING EN GROND VERZAMELEN

In de inleiding wordt het probleem van antibioticumresistentie geschetst en wordt uitgelegd op welke manier de Universiteit Leiden onderzoek verricht naar een mogelijke oplossing: het vinden van nieuwe antibiotica waartegen resistente bacteriën zoals MRSA niet bestand zijn.

TIP: kopieer deze inleiding apart voor de leerlingen en deel deze uit. Hierin staat tevens de instructie hoe grondmonsters genomen dienen te worden.

WEEK 1: GRONDMONSTERS UITPLATEN

Zie bijlage 1 voor de voorbereidingen van het practicum.

Met de powerpointpresentatie van week 1 is het practicum eenvoudig te introduceren. In de powerpointpresentatie wordt ook uitgelegd welke handelingen leerlingen tijdens het practicum moeten uitvoeren, en op welke wijze dit dient te gebeuren.

Op de website www.antibioticagezocht.nl (zie 'in de klas') is een kort instructiefilmpje beschikbaar van de practicumhandelingen van week 1. Laat deze voorafgaand aan het practicum klassikaal zien.

Handelingen practicum voor leerlingen:

- grondmonster mengen met water;
- grondmonster verdunnen in 10x, 100x en 1000x reeks;
- 1000x verdunning uitplaten, daarna 100x verdunning uitplaten.

Alle handelingen staan beschreven in de leerlingenhandleiding. Tussen de instructies door staan vragen, waarmee de leerling inzicht verwerft over het hoe en waarom van practicumhandelingen, zoals steriel werken.

Tijdens deze les kunt u zelf (of de TOA) een positieve controle uitplaten. Deze is meegeleverd met het practicumpakket en bevat antibioticumproducerende grondbacteriën. De positieve controle kan in week 2 worden gebruikt als er weinig of geen geschikte resultaten zijn bij de leerlingen zelf.

TIP: laat leerlingen hun naam op de leerlingenhandleiding schrijven en neem ze in aan het einde van de les.

WEEK 2: ACTINOMYCETEN SELECTEREN

Zie bijlage 1 voor de voorbereidingen van het practicum.

Gebruik de powerpointpresentatie van week 2 als hulpmiddel bij het selecteren van actinomyceten. Dit is een lastig onderdeel van het practicum, en zeer belangrijk voor het vervolg van het practicum. Het gebruik van een stereomicroscoop, binoculair of digitale camera met microstand wordt aanbevolen bij het selecteren van geschikte kolonies.

Op de website www.antibioticagezocht.nl (zie 'in de klas') is een kort instructiefilmpje beschikbaar van de practicumhandelingen van week 2. Laat deze voorafgaand aan het practicum klassikaal zien.

Handelingen practicum voor leerlingen:

- vier kolonies selecteren met behulp van leerlingenhandleiding (determinatietabel);
- gekozen kolonies doorzetten op twee agarplaten: een basisplaat (zig-zag strijkjes) en testplaat (prikjes).

Mochten leerlingen niet zelf vier kolonies hebben om door te zetten, laat hen dan gebruik maken van de positieve controle die uzelf (of de TOA) hebt uitgezet.

TIP: op www.antibioticagezocht.nl zijn meer afbeeldingen beschikbaar voor het herkennen van actinomyceten (zie 'in de klas' bij Actinomyceten galerij).

WEEK 3: ANTIBIOTICAPRODUCTIE-TEST

Zie bijlage 1 voor de voorbereidingen van het practicum.

Met de powerpointpresentatie van week 3 is eenvoudig uit te leggen welke handeling dient te worden uitgevoerd.

Op de website www.antibioticagezocht.nl (zie 'in de klas') is een kort instructiefilmpje beschikbaar van de practicumhandelingen van week 3. Laat deze voorafgaand aan het practicum klassikaal zien.

Handeling practicum voor leerlingen:

- laagsmeltende agar met testbacteriën (*Micrococcus luteus*) aanbrengen op de testplaat.

TIP: laat leerlingen vraag J beantwoorden voor u slide 4 laat zien (of laat slide 4 achterwege).

WEEK 4: RESULTATEN BEKIJKEN

Zie bijlage 1 voor de voorbereidingen van het practicum.

Gebruik de powerpointpresentatie van week 4 om de resultaten te analyseren. Dit betreft het opmeten van de grootte van de halo's die mogelijk zijn ontstaan. Eventueel kunnen resultaten worden opgestuurd naar de Universiteit Leiden.

Handeling practicum voor leerlingen:

- straal halo's opmeten met liniaal;
- eventueel: sample samenstellen voor vervolgonderzoek, incl. nodige informatie.

RESULTATEN OPSTUREN

In het geval een duidelijke en heldere zone van groeiremming is ontstaan, kan het monster worden opgestuurd naar de onderzoeksgroep van de Universiteit Leiden.

1. Neem met een tandenstoker een stuk agar met de kolonie van de schone basisplaat (zig-zag strijkjes) en doe deze in een van de samplebuisjes uit het practicumpakket;
2. Label het buisje;
3. Geef op een bijgaand papier aan waar het grondmonster vandaan kwam, hoe groot de halo was, en naam, klas en school;
4. Herhaal stap 1-3 voor eventuele andere kolonies;
5. Doe alle samplebuisjes in het afsluitbare zakje uit het practicumpakket;
6. Stuur het zakje met de buisjes op in de kartonnen minimailbox (zit in het practicumpakket). Vergeet niet de afzender op deze mailbox aan te geven.

Het pakketje kan in Nederland als brief worden gefrankeerd en verzonden.

Het adres is:

Universiteit Leiden
Antibiotica Gezocht!
Sylviusweg 72
2333 BE Leiden

Resultaten worden bekendgemaakt via Facebook (Antibiotica Gezocht) en Twitter (@TeamLeiden).

WEBQUEST

Vorbereiding: zorg dat er computers of laptops met internet beschikbaar zijn.

Aangezien de presentaties en practicumhandelingen per les niet een heel lesuur in beslag nemen, is een webquest beschikbaar waarmee leerlingen aan de hand van bronnen op internet onderzoeken wat de relatie is tussen antibioticumresistentie en antibioticagebruik in de veehouderij in Nederland.

De webquest wordt afgesloten met een aantal reflectievragen. Hiermee kunnen de webquest en het practicum in de klas worden nabesproken in week 4.

BELANGRIJKE INFORMATIE

GRONDMONSTERS VAN VER

De vakgroep van de Universiteit Leiden heeft met name interesse in 'onbekende' grond, uit streken waar grond nog niet onderzocht is op antibioticumproducerende bacteriën. Houd er echter rekening mee dat het niet overal is toegestaan grond mee te nemen uit (niet-EU) landen, net als dat soms geldt voor bijvoorbeeld bepaalde groenten, fruit, souvenirs en dieren. Meld dit ook aan uw leerlingen.

GEEN RESULTAAT IS OOK RESULTAAT

In dit practicum is het mogelijk dat er in week 4 geen antibiotica blijken te zijn geproduceerd. Sommige actinomyceten produceren geen antibiotica onder deze condities. Een andere oorzaak kan zijn dat de geselecteerde kolonie(s) geen actinomyceten waren. Dit kan teleurstelling opleveren bij leerlingen. Dit komt in het echt bij wetenschappelijk onderzoek ook voor; wetenschappers leren na veel mislukte pogingen steeds beter actinomyceten te onderscheiden van andere micro-organismen.

DE GEUR VAN GROND

Actinomyceten, met name streptomyceten, produceren geurstoffen die verschillend ruiken, maar over het algemeen doen denken aan de geur van 'grond'. Als leerlingen dit willen ruiken, kunnen ze dat het beste doen met de platen van week 3, VOORDAT de overlay eroverheen gaat. Geadviseerd wordt dit NIET in week 2 te doen, aangezien er dan nog (onbekende) schimmels en andere bacteriën op de agarplaten zitten.

OVERLAY EN GEBRUIK VAN *MICROCOCCLUS LUTEUS*

In week 3 worden met een 'overlay' testbacteriën op de plaat gebracht in een dun laagje agar (een gelatine-achtige stof die de testbacteriën op hun plaats houdt). Dit zorgt er voor dat de testbacteriën gelijkmatig verdeeld worden. De testbacterie *Micrococcus luteus* is goedgekeurd om op middelbare scholen te gebruiken: deze soort is niet gevaarlijk.

EXTRA PLATEN

Als er platen over zijn, kunt u die een kwartier open laten staan en een week later met de klas bekijken om te laten zien wat er gebeurt als een plaat (onnodig) lang open staat.

ONLINE TIP

Op de website www.e-bug.eu kunnen leerlingen spelletjes doen, thuis experimenteren en meer leren over microbiologie.

BIJLAGE 1 VOORBEREIDING PRACTICUM VOOR DOCENT / TOA

GRONDMONSTERS NEMEN

Kopieer de inleiding uit de leerlingenhandleiding apart en deel deze uit voor het nemen van de grondmonsters.

WEEK 1

VOORBEREIDING

De voorbereidingen voor week 1 van het practicum bestaan uit de volgende handelingen:

- A. Agarplaten maken (één dag voorafgaand aan practicum*);
- B. Positieve controle uitplaten (tijdens practicum).

* De platen kunnen eerder dan een dag van te voren worden gegoten. Bewaar de platen dan ondersteboven in de koelkast.

A. Agarplaten maken (één dag voorafgaand aan het practicum*)

Bereid één dag voor aanvang van het practicum agarplaten met GA medium (2 platen per drietal leerlingen, als in drietallen wordt gewerkt). 50 ml poeder is voldoende voor 30-40 platen. Werk zo steriel mogelijk.

LET OP: steriliseren met behulp van een autoclaaf kan alleen als het medium goed gemengd wordt terwijl het nog heet is.

1. Breng 1 liter gedestilleerd koud water aan de kook in een groot bekglas of pan en sluit af met aluminiumfolie of een deksel (tegen verdamping).
2. Voeg, zodra het water kookt, het poeder voor het GA medium toe en kook het 15 minuten goed door. Let op: het medium kookt makkelijk over, maar laat het mengsel goed bubbelen.
3. Laat het medium eventueel afkoelen tot het bekglas of de pan met blote handen vast te houden is (bij circa 40°C), dit is niet noodzakelijk.
4. Roer het medium goed door met een gedesinfecteerde roerstaaf (afgespoeld met 70% alcohol) of ander steriel object. Verdeel het medium over 30 platen, zodanig dat de petrischaal ongeveer halfvol is. De platen hebben een gele of roze/rode kleur.
5. Laat de platen na het gieten ongeveer een half uur drogen met de deksels erop. Hoe warmer de platen gegoten worden, hoe meer condens ontstaat.

TIP: om de condens te verminderen is het een goed idee om de platen gelijk na het gieten te stapelen, hierdoor heeft alleen de bovenste plaat last van condens en wordt de rest van de condens weer naar beneden gekookt.

6. Als de platen de dag erna gebruikt gaan worden, bewaar deze dan op de kop bij kamertemperatuur (als ze eerder gegoten zijn, bewaar dan in de koelkast).

B. Positieve controle uitplaten (tijdens het practicum)

Om er zeker van te zijn dat er in elke klas actinomyceten worden gezien, is een buisje grond met streptomycetensporen toegevoegd aan het practicumpakket (streptomyceten behoren tot de actinomyceten). Dit buisje kan worden gebruikt als positieve controle. Maak een **10x** en **100x**-verdunding van de grond en plaat deze uit (LET OP: leerlingen maken ook een 1000x-verdunding, dat is hier niet nodig).

OPRUIMEN

Gebruikte materialen (epjes, spatel) weggooien, beker glazen en pipetten schoonmaken en tafels afnemen met een natte doek of stuk keukenrol, eventueel met Dettol.

Indien mogelijk: bewaar de grond, gelabeld met naam leerlingen en plaats waar het vandaan komt (in verband met mogelijk interessante resultaten in week 4). De grond kan in een epje worden bewaard.

Incubeer de platen op kamertemperatuur.

WEEK 2

VOORBEREIDING

De voorbereiding voor week 2 van het practicum bestaat uit de volgende handeling:

C. Agarplaten maken (één dag voorafgaand aan practicum).

C. Agarplaten maken (één dag voorafgaand aan het practicum)

Bereid één dag voor de aanvang van het practicum agarplaten met minimaal medium MM (2 platen per drietal leerlingen, als in drietallen wordt gewerkt). 35 ml poeder is voldoende voor 30-40 platen. Werk zo steriel mogelijk.

LET OP: steriliseren met behulp van een autoclaaf kan alleen als het medium goed gemengd wordt terwijl het nog heet is.

1. Breng 1 liter gedestilleerd koud water aan de kook in een groot beker glas of pan en sluit af met aluminiumfolie of een deksel (tegen verdamping).
2. Voeg, zodra het water kookt, het poeder voor het minimaal medium toe en kook het 15 minuten goed door. Let op: het medium kookt makkelijk over, maar laat het mengsel wel goed bubbelen.
3. Verdeel het medium over 30 platen, net zoals bij week 1 beschreven staat bij punt A.

OPRUIMEN

Gooi de gebruikte materialen (tandenstokers) weg en maak de tafels schoon met water en Dettol of zeep.

Gooi de agarplaten van week 1 weg: ontsmet de platen eerst met Dettol of een vergelijkbaar product en gooi ze daarna weg (chemisch afval). Steriliseren met behulp van een autoclaaf is ook mogelijk.

Incubeer de platen op kamertemperatuur.

LET OP: in week 3 wordt enkel de testplaat (met de prikjes) gebruikt voor de overlay. De basisplaat met de zig-zag strijkjes dient in de koelkast bewaard te blijven.

WEEK 3

VOORBEREIDING

De voorbereidingen voor week 3 van het practicum bestaan uit de volgende handelingen:

E. Bacteriecultuur inzetten (twee tot vier dagen voorafgaand aan het practicum);

F. Laagsmeltende agar maken (ca. 2 uur voorafgaand).

E. Bacteriecultuur inzetten (twee tot vier dagen voorafgaand aan het practicum)

Benodigdheden: vloeibaar medium (LB medium poeder), filterdisk met gedroogde *Micrococcus luteus*, bekersglas of erlenmeyer en roerplaat met roervlo.

Twee dagen voor de aanvang van de les moet de bacteriecultuur voor *Micrococcus luteus* worden ingezet (neem als het koud is hier vier dagen de tijd voor!). Belangrijk voor het opgroeien van de bacterie in vloeibaar medium is dat het medium geroerd moet worden. Mocht er beschikking zijn over een schudstoof dan heeft die de voorkeur, maar het is ook mogelijk om de bacteriën te kweken in een bekersglas met een roervlo op kamertemperatuur. Net als bij het bereiden van de agarplaten is het belangrijk om de apparatuur zo steriel mogelijk te maken.

1. Doe wat water in het bekersglas of erlenmeyer en kook dit 15 minuten. Gooi het water daarna weg.
2. Doe het LB mediumpoeder, de roervlo en 100 ml water in een bekersglas. Dek het bekersglas af met aluminiumfolie (dubbel gevouwen).
3. Kook dit mengsel 15 minuten boven een bunsenbrander (zet de brander niet al te hard).
4. Zet na 15 minuten het vuur uit en laat het bekersglas onaangeroerd totdat het is afgekoeld tot nabij kamertemperatuur.
5. Zet het bekersglas op een magnetische roerplaat (laat het aluminiumfolie erop!) en zorg dat het medium rustig wordt gemengd.
6. Pak met een pincet een filterdiskje met gedroogde *Micrococcus luteus* en deponeer deze in het medium (let op: de disk zal niet oplossen).
7. Laat de cultuur nu ~48 - 96 uur groeien.

LET OP: als na één dag nog geen vertroebeling van het medium te zien is, doe dan de tweede filterdisk er ook in. Mocht dit geen resultaat hebben, bestel dan nieuwe disks via info@antibioticagezocht.nl.

F. Laagsmeltende agar maken (circa 2 uur voor het practicum)

1. Doe het poeder met laagsmeltende agar (LB medium voor overlays) in een fles of bekersglas en voeg 100 ml water toe. Kook de laagsmeltende agar 15 minuten boven een bunsenbrander.
2. Laat de oplossing afkoelen in een 40°C waterbad en bewaar het mengsel in het waterbad (de oplossing stolt snel op kamertemperatuur).
3. Voeg vlak voor of in de les 20 druppels (met een glazen pasteurpipet) van de bacteriën toe aan de agar en mix de oplossing door voorzichtig te zwenken. Bewaar de oplossing in het waterbad.
4. Na afloop van het practicum: incubeer de platen gedurende twee tot drie dagen op de kop. Zet deze daarna in de koelkast, eveneens ondersteboven.

OPRUIMEN

Voeg na gebruik een flinke hoeveelheid chloor/Dettol aan de *Micrococcus*-oplossing toe om de bacterie te doden. Laat dit een nachtje staan. Hierna kan de oplossing worden weggegooid in de gootsteen.

Incubeer de platen op kamertemperatuur.

WEEK 4

VOORBEREIDING

Haal vlak voor de les de agarplaten uit de koelkast.

Leerlingen kunnen veelbelovende resultaten naar de onderzoeksgroep van de Universiteit Leiden sturen. Gebruik hiervoor de bijgevoegde buisjes uit het practicumpakket. Gebruik bij te weinig buisjes een steriel epje (zie pagina 7 van deze handleiding).

OPRUIMEN

De platen die geen interessante resultaten hebben opgeleverd, kunnen na ontsmetting met Dettol worden weggegooid (chemisch afval). Eventueel steriliseren d.m.v. een autoclaaf.

Restanten van de kolonie(s) die is of zijn opgestuurd, graag tijdelijk bewaren in een epje, net als de grond waaruit het resultaat komt. Als blijkt dat de vakgroep van Universiteit Leiden meer onderzoek wil verrichten naar de kolonies, nemen ze contact met u op. Ze zullen dan vragen om de grond waaruit interessante resultaten zijn gekomen, op te sturen.

BIJLAGE 2 ANTWOORDEN

WEEK 1

- A. Deksel kunnen van de agarplaten vallen of worden verwisseld, waardoor je niet meer weet van wie de platen waren.
- B. De 1000x verdunning heeft weinig invloed op de 100x verdunning, doordat de laatste geconcentreerder is en dus per volume-eenheid meer micro-organismen bevat.
- C. Om zoveel mogelijk besmetting te voorkomen van andere micro-organismen.

WEEK 2

- D. Kans op besmetting via de lucht tussen de verschillende platen.
- E. Om te voorkomen dat bijvoorbeeld huidbacteriën worden uitgeplaat.
- F. Agarplaten worden op de kop bewaard om condensvorming te voorkomen. Bij platen die rechtop worden bewaard, ontstaat soms een laagje water op de agar.

WEEK 3

- G. Om te voorkomen dat de verdeling van de overlay niet gelijkmatig is.
- H. Met de agar wordt de testbacterie gelijkmatig over de plaat verdeeld. Met een poeder is dit moeilijk te bewerkstelligen.
- I. De kolonies gaan antibiotica uitscheiden om zichzelf te beschermen. Dit zie je aan kringen rondom de kolonie waar geen of minder *Micrococcus luteus* groeit.

WEEK 4

- J. Dit betekent dat de kolonie die in het midden groeit een bacteriedodend antibioticum produceert; er groeit daar geen *Micrococcus luteus*.
- K. Dit wordt veroorzaakt door een bacterieremmend antibioticum; er groeit wel *Micrococcus luteus*, maar minder dan elders vanwege het antibioticum.
- L. Hoe groter de halo, hoe meer antibioticum er gemaakt wordt.

WEBQUEST

De antwoorden moeten in ieder geval het volgende bevatten:

1. Ongevoeligheid voor verschillende soorten antibiotica.
2. Naar eigen inzicht; verspreiding van de betreffende ziekten (lokaal, of zelfs wereldwijd).
3. Soms zijn sommige bacteriën binnen een soort reeds ongevoelig, waardoor ze bij antibioticumgebruik voordeel hebben en kunnen overleven en voortplanten. Of er treedt een verandering in het DNA op, bijvoorbeeld door transposons: stukjes DNA die 'overspringen'.
4. MRSA en *Klebsiella*. Komen vooral in ziekenhuizen voor, waar (kwetsbare) risicogroepen zijn.
5. Door veel gebruik van antibiotica in de veehouderij zijn bepaalde bacteriën resistent geworden voor antibiotica die door de mens gebruikt worden.
6. Om te voorkomen dat dieren ziek worden en daardoor minder productie (melk, vleesgroei, etc.) leveren.
7. Overmatig gebruik / voorschrijven van antibiotica door (huis)artsen en voortijdig stoppen met een kuur.
8. Niet rendabel/interessant voor farmaceutische industrie, dus weinig/geen bijdrage.
9. O.a. gebruik antibiotica beperken, goed gebruik stimuleren en controleren, voorlichting geven.