Casussen Microbiologie



Uitvoerende: Lars Olgers en Jesper Schuurman

Inhoudsopgave

1.0 Casus 1 Een onverwachte uitbraak	4
1.1 Inleiding	4
1.2 Materiaal en Methode	4
1.2.1 Materiaal	4
1.2.2 Methode	4
1.3 Waarnemingen en Resultaten	5
1.4 Conclussie en Discussie	8
2.0 Casus 2 Discussies over de griepprik	10
3.0 Casus 3 Een nachtelijke hulpvraag	13
3.1 Inleiding	13
3.2 Materiaal en Methode	13
3.2.1 Materiaal	13
3.2.2 Methode	13
3.3 Waarnemingen en Resultaten	14
3.4 Conclusie en Discussie	14
4.0 Casus 4 Een onverwachte gezondheidscrisis aan zee	16
5.0 Casus 5 Onverklaarbare ziekte in Baltimore	17
6.0 Casus 6 Onverwachte maagklachten na een nieuw supplement	18
6.1 Inleiding	18
6.2 Materiaal en Methode	18
6.2.1 Materiaal	18
6.2.2 Methode	18
6.3 Waarnemingen en Resultaten	19
6.4 Conclusie en Discussie	19
7.0 Casus 7	20
7.1 Inleiding	20
7.2 Materiaal en Methode	20
7.2.1 Materiaal	20
7.2.2 Methode	20
7.3 Waarnemingen en Resultaten	21
7.4 Conclusie en Discussie	22
8.0 Casus 8	23
8.1 Inleiding	23
8.2 Materiaal en methode	23
8.2.1 Materiaal	23

8.2.2 Methode	23
8.3 Waarnemingen en resultaten	24
8.4 Conclusie en discussie	28
9.0 Bronvermelding	29
10.0 Bijlagen	31

1.0 Casus 1 Een onverwachte uitbraak

1.1 Inleiding

Op de intensive care van een ziekenhuis worden binnen één week drie patiënten opgenomen met ernstige bloedbaaninfecties, veroorzaakt door *Klebsiella pneumoniae*, een multiresistente bacterie. De patiënten lagen op verschillende kamers, maar hadden één ding gemeen: ze werden verzorgd door dezelfde verpleegkundige. De ziekenhuisinfectie preventie commissie start een onderzoek. Tijdens de inspectie ontdekken ze dat de verpleegkundige vaak gebruik maakt van handalcohol, maar zelden de handen wast met water en zeep. De bacterie werd uiteindelijk ook gevonden op het oppervlak van de monitoren en de toetsenborden van meerdere kamers. De vraag is nu wat is eigenlijk de beste manier van handen wassen? Hier voor is een experiment opgesteld waar verschillende manieren van handenwassen getest zullen worden.

1.2 Materiaal en Methode

1.2.1 Materiaal

Spullen	Stoffen
Autoklaaf	Nutriënt agar
Analytische balans	Water
Petrischaaltjes	Safranine
Entogen	Kristal violet
Bekerglazen	Gram iodine
Bunsenbrander	Propanol (70 %)
Diamant pen	Microscoop olie
Cultuur buizen	
Preparaten	
Microscoop	
Chromen wasbak	

1.2.2 Methode

De eerste stap van het experiment is het voedingsmedium maken om later te gebruiken voor de benodigde voedingsbodems, er zal hiervoor gebruik gemaakt worden van nutriënt agar. Weeg hiervoor 5,6 gram nutriënt agar af en voeg hier vervolgens 200 ml water aan toe. Dit mengsel wordt vervolgens geautoclaveerd. Voor het eerste deel van het experiment zijn 8 agar platen nodig die gemaakt zullen worden volgens de beschreven stappen in bijlage 1. Vervolgens zullen de platen op vier verschillende manieren in duplo geënt worden. Bij de eerste twee platen zal de rechterwijsvinger er overheen geveegd worden, bij de tweede twee platen worden de handen grondig met alleen water gewassen hierna wordt de rechterwijsvinger weer over de plaat geveegd, bij de derde platen zullen de handen eerst grondig gewassen worden met water en zeep vervolgens wordt de linker wijsvinger weer over de platen geveegd en ten slotte worden bij de vierde platen de handen met reinigingsalcohol schoongemaakt. Tussen elke stap zal een beetje tijd zitten zo dat de handen weer "vies" kunnen worden, dit kan versneld worden door de handen over veel aangeraakte oppervlaktes te halen. Vervolgens zullen de platen een week geborgen worden zodat de bacteriën kunnen groeien. Als tweede zullen er 2 rein kweken gemaakt worden in duplo volgens het stappenplan van bijlage 3. Dit zal gedaan worden voor de

agar platen van water en zeep en die van alcohol. Ten slotte zullen op deze rein kweken een aantal tests worden uitgevoerd namelijk: een zuurstoftest en een gramkleuring. De zuurstof test zal worden uitgevoerd volgens bijlage 4 en de gram kleuring zal worden uitgevoerd volgens bijlage 2.

1.3 Waarnemingen en Resultaten

Als je kijk naar de agar platen zit er duidelijk verschil tussen hoeveel en wat voor bacteriën erop gegroeid zijn.

Als eerste is te zien dat op de agar plaat waarbij de handen niet gewassen zijn (figuur 1) een redelijk aantal grote kolonies zijn gevormd



Figuur 1: Agar plaat van niet gewassen handen

Vervolgens is bij de agar plaat waar de handen alleen met water gewassen zijn (figuur 2) dat het aantal grote kolonies hard is gedaald, echter zijn er wel veel kleine kolonies bij gekommen. Dit komt doordat tijdens het handen wassen je bacteriën uit je poriën vrijft en deze komen dus dan terecht op je handen .



Figuur 2: Agar plaat van handen die alleen met water zijn gewassen

De plaat waarbij de handen met water en zeep zijn gewassen (figuur 3) lijkt veel op die waar ze alleen met water zijn gewassen. Er zijn nog minder grote kolonies en een vergelijkbaar aantal kleien kolonies. Deze vermindering in grote kolonies zal dus waarschijnlijk door de zeep komen



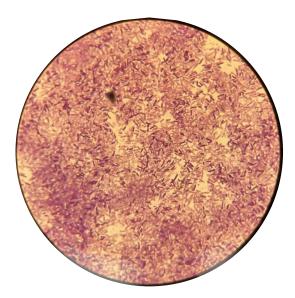
Figuur 3: Agar plaat van handen die met water en zeep zijn gewassen

Ten slotte is er nog de agar plaat van waarbij de handen met disinfectie alcohol zijn gewassen. Hier zijn duidelijk de minste bacteriën aanwezig maar, ze zijn er nog steeds wel. Dit komt waarschijnlijk ook doordat er wat bacteriën uit de poriën zijn gekomen waar het alcohol geen effect meer op heeft gehad.

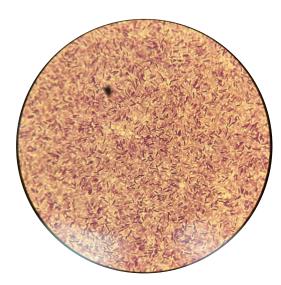


Figuur 4: Agar plaat van handen die met disinfectie alcohol zijn gewassen

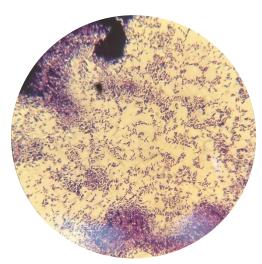
Vervolgens zijn er ook nog de resultaten van de vervolgtests: de gramkleuring en de zuurstof test. Bij de gram kleuring van wassen met water en zeep zijn gram negatieve staafjes zichtbaar (figuur 5 en 6). Terwijl te zien is dat bij de gramkleuring van wassen met disinfectie alcohol (figuur 7 en 8) dat er gram positieve staafjes zijn.



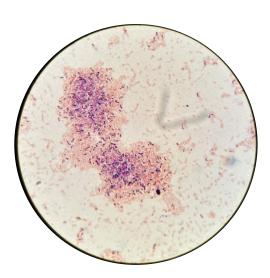
Figuur 5: 1000x vergroting van gramgekleurde bacteriën van handen die met water en zeep zijn gewassen 1



Figuur 6: 1000x vergroting van gramgekleurde bacteriën van handen die met water en zeep zijn gewassen 2



Figuur 7: 1000x vergroting van gramgekleurde bacteriën van handen die met disinfectie alcohol zijn gewassen 1



Figuur 8: 1000x vergroting van gramgekleurde bacteriën van handen die met disinfectie alcohol zijn gewassen 2

Bij de zuurstof test is duidelijk te zien dat de bacteriën van handen wassen met zeep en water het liefst met zuurstof overleven maar ook zonder kunnen deze zijn dus facultatief anaeroob (figuur 9 en 10), ook was er bij buis 1 (figuur) van wassen met zeep en geel groene kolonie te zien aan het oppervlakte. De buisjes waar de bacteriën van het wassen met disinfectie acohol in zatten waren hadden ook overal bacteriën maar, er zijn wel duidelijk minder bacteriën an het oppervlakte in de zuurstof laag wat waarschijnlijk betekent dat deze bacteriën aerotolerante anaeroben (Hartline. R, z.d.) zijn (figuur 11 en 12).



Figuur 9: zuurstof test wassen water + zeep buis 1



Figuur 10: zuurstof test wassen water + zeep buis 2



Figuur 13: groengele kolonie in water + zeep buis 1



Figuur 11: zuurstof Figuur 12: zuurstof test wassen disinfectie alcohol buis 1



test wassen disinfectie alcohol

1.4 Conclussie en Discussie

In het kort is er tezien dat het niet uit maakt hoe goed je je handen wast omdat er altijd wel wat bacteriën zullen blijven zitten maar, om dit toch zo veel mogelijk te voorkomen kun je het beste eerst je handen met water een zeep wassen om zo alle bacteriën aan het opervlakte van de handen te doden en tergelijke tijd de bacteriën uit de poriën naar het opervlakte te brengen. Vervolgens moeten de handen met desinfectie alcohol worden gewassen om de overgebleven en de uit de poriën gekomen bacteriën te doden.

Ook is te concluderen dat op de handen na het wassen met water en zeep facultatief anaerobe, gram negatieve staaf bacteriën zitten. Dit kan mogelijk *E. coli* zijn, deze is ook gram negatief, facultatief anaeroob en staaf vormig (Labuitslag.nl, z.d.). De bacteriën die vrij kwamen naar het wassen met desinfectie alcohol zijn gram positief, staaf vormig en . Dit kan mogelijk *Cutibacterium acnes* zijn dit is ook een gram posietive, staaf vormige aerotolerant anaerobe bacterie die zich in de talg klieren en huid zakjes be vinden en dus mogelijk om hoog zijn gekomen tijdens het wassen (Wikipedia-bijdragers, (z.d.).

2.0 Casus 2 Discussies over de griepprik

Je zit samen met een aantal vrienden in de auto en luistert naar de radio. Het is eind oktober en jullie horen op de radio een reclamespotje waarin benadrukt wordt hoe belangrijk het is dat mensen de griepprik komen halen. Je bent een eerstejaars Chemie/BML student en geeft aan dat het inderdaad belangrijk is om, als je een risicogroep bent, de griepprik te halen. Je vriend Henk zegt "ik ga die griepprik niet halen! De laatste keer dat ik dat deed kreeg ik er de griep van". Je andere vrienden in de auto zijn het eens met Henk. Maar één van je vrienden, Anita, vraagt aan jou: is het waar dat het vaccin je de griep geeft?

Het is niet waar dat het vaccin je de griep geeft. In Nederland bevat de griepprik 4 componenten van 4 verschillende soorten griep, dit om een brede resistentie op te bouwen (RIVM, 2024). De componenten die worden ingespoten zijn geïnactiveerd en kunnen je dus niet ziek maken. Echter, is het wel mogelijk dat je toch ziek wordt na het nemen van de griepprik. Dit kan door twee verschillende dingen veroorzaakt worden. Zo kan je van jezelf een zwak afweersysteem hebben waardoor er minder afweerstoffen aangemaakt worden, dit kan komen door ouderdom, ziekte of medicijn gebruik. Het kan ook dat je ziek bent geworden door een andere luchtweginfectie, de meeste luchtweginfecties veroorzaken soortgelijke symptomen als de griep. De griepprik versterkt de afweer alleen tegen griepvirussen, niet tegen andere luchtweginfecties.

Anita zegt dat ze, omdat ze vorig jaar een griepprik gehad heeft, die van dit jaar overslaat.

Anita zou prima de griepprik van dit jaar kunnen overslaan als ze vorig jaar ook een heeft gehaald. Dit omdat Anita niet in de risicogroep zit, aangezien Anita jong en niet ziek is (RIVM, 2024). Eerder in deze casus is besproken dat mensen met ziekte, ouderdom of medicijn gebruik een risicogroep vormen, omdat deze minder afweerstoffen kunnen opbouwen dan gezonde jonge mensen. Omdat het afweersysteem van deze risicogroep relatief gezien slechter is dan gezonde mensen zijn ze ook vatbaarder voor gemuteerde varianten van het griepvirus. Hun lichaam is op zichzelf minder goed in staat om te anticiperen op deze mutaties dan gezonde mensen, daarom is het verstandig voor hen om jaarlijks de vernieuwde griepprik te halen.

Wat is het verschil tussen 'antigenic drift' en 'antigenic shift'?

Antigenic drift is een proces waarin een virus zich muteert om zo het immuunsysteem van de gastheer te omzeilen (Wikipedia-bijdragers, 2021). De genetische samenstelling van het virus veranderd waardoor deze onherkenbaar word voor het immuunsysteem van de gastheer die nog geen antistoffen heeft voor deze nieuwe variant.

Antigenic shift is een proces waarbij twee varianten van een griepvirus zich samen gaan voegen waardoor een nieuw subtype griepvirus ontstaat (Wikipedia-bijdragers, 2022). Antigenic shift vindt alleen plaats bij het influenza virus, bij andere virussen heet het reassortment. Antigenic shift vindt alleen plaats bij het influenza A virus, omdat deze ook andere organismen kan infecteren dan alleen mensen, dit is dat ook het verschil met antigenic drift.

Antigenic drift is dus mutatie, en antigenic shift is combinatie waardoor andere influenza virussen met influenza A kan binden waardoor deze wel binnen kunnen komen in andere organismen.

Wat is verschillend aan het vaccin over de jaren heen? Wie bepaalt welke form het vaccin elk jaar krijgt?

Over de jaren heen muteert het griepvirus. Door deze mutaties is het mogelijk dat de verouderde griepprik niet de bescherming tegen de nieuwe griep variant biedt (Gezondheidsnet, 2018). Hierom worden de vaccins jaarlijks bijgewerkt, om zo ook resistentie tegen de gemuteerde griepvirussen op te bouwen. Wetenschappers van het RIVM voorspellen wat het griepvirus gaat doen en proberen op tijd een geüpdatete versie van de griepprik op te leveren. Dit is ook waarom mensen in sommige jaren vaker ziek worden van de griep dan in andere jaren, want niet elk jaar zijn de voorspellingen zo goed als gewenst. Het is erg lastig om de mutaties te voorspellen, dus kan het voorkomen dat de griepprik antistoffen biedt voor een verkeerde mutatie van het virus en dat het daadwerkelijke virus zijn gang kan gaan.

Henk wil weten waarom andere vaccinaties niet jaarlijks gegeven worden.

De meeste mensen in Nederland worden als kind ingeënt tegen veel verschillende ziektes. De ziektes waarvoor je als kind een prik hebt gekregen muteren niet zomaar, hierdoor blijf je resistent voor deze ziektes en is het dus niet nodig om jaarlijks een vaccin op te halen. Het griepvirus muteert jaarlijks en gaat ook altijd flink rond (RIVM, 2025), dit is de reden waarom er jaarlijks een nieuwe griepprik wordt aangeboden.

Nog een andere vriend, Chris, zegt dat ook al heeft die de griepprik gehad vorig jaar, hij alsnog heel erg ziek werd van buikgriep tijdens de kerstdagen. Wat is jouw verklaring hiervoor?

Het kan zijn dat het vaccin dat Chris heeft gekregen is gebaseerd op een verkeerde mutatie van het griepvirus. De wetenschappers van het RIVM die verantwoordelijk zijn voor het maken van het griepvirus doen jaarlijks een voorspelling van de mutatie die komen gaat. Soms kunnen ze het verkeerd voorspellen en werkt de griepprik niet goed. Het kan dus zijn dat het vaccin dat Chris heeft gekregen niet werkt tegen het buikgriep virus dat hij heeft opgelopen. Ook kan het zijn dat het vaccin destijds wel goed was, maar dat het virus zich in de tussentijd heeft gemuteerd en alsnog Chris ziek heeft gemaakt.

3.0 Casus 3 Een nachtelijke hulpvraag

3.1 Inleiding

Je bent zelf of anders ken je wel iemand die eens midden in de nacht bij de huisarts is langs gegaan met ziekte verschijnselen waar ze nog nooit last van hebben gehad en graag willen weten wat dit veroorzaakt. Dit geldt ook voor een 26-jarige vrouw, zij heeft de afgelopen 24 uur last van extreme pijn tijdens het plassen. Ze beschrijft het als een brandende en stekende pijn. Het is de eerste keer dat ze hier last van heeft en beschrijft zich zelf als een gezond persoon. Ze geeft ook aan dat ze koorts heeft. Al deze symptomen komen overeen met symptomen van een urineweginfectie (UWI) maar, de vraag is natuurlijk door wat wordt dit veroorzaak? De verwachting is dat *E. coli* de boosdoener is aangezien meer dan 90% van alle UWI's hierdoor wordt veroorzaakt (Cleveland Clinic (z.d.), 2023). Tijdens dit experiment zal gebruik gemaakt worden van Macconkey agar aangezien de verwachte bacterie *E. coli* een van de weinige bacteriën is die hier op kan groeien (Jung, B. Hoilat, G. J, 2024).

3.2 Materiaal en Methode

3.2.1 Materiaal

Spullen	Stoffen
Cultuur buizen	H_2O_2
Petrischaaltjes	Kristal violet
Microscoop	Water
Analytische balans	Propanol (70%)
Bunsenbrander	Safranine
Autoclaaf	Gram idodine
Entogen	Microscoop olie
Preparaten	Kovacs
Diamant pen	Macconkey agar
Fles/pot	
Bekerglas	
Bacterie A monster	
Chromen wasbak	

3.2.2 Methode

De eerste stap van het experiment is Macconkey agar maken om als voedingsbodem voor de bacteriën te gebruiken. Weeg hiervoor 5,15 gram Macconkey agar af en voeg hier vervolgens 100 ml water aan toe. Dit mengsel wordt vervolgens geautoclaveerd. De tweede stap is het maken van de eerste benodigde voedingsbodems. Dit zal gedaan worden volgens de beschreven stappen in bijlage 1. Volg dit stappenplan om twee agar platen te maken. Op deze twee platen wordt vervolgens een rijn kweek volgens bijlage 3 gemaakt met een bacterie van het monster van bacterie A. Op deze rein kweken wordt vervolgens een gramkleuring volgens bijlage 2 uitgevoerd. Er wordt ook een zuurstof test op de rein kweken uitgevoerd volgens bijlage 4 met nutriënt agar. Ten slotte zullen er nog een katalase en indol test worden uitgevoerd volgens bijlage 5 en 6.

3.3 Waarnemingen en Resultaten

Zoals zichtbaar bij de rein kweken groeit de bacterie wel op Macconkey agar aangezien hier bijna alleen gram negatieve staven op kunnen groeien zal het monster ook wel een gram negatieve staaf zijn uit de gram kleuring blijkt ook dat dit klopt (figuur 15 en 16). Het is ook mogelijk om met Macconkey agar te zien of een bacterie lactose fermenteert, als dit het geval is zullen de bacteriekolonies roze/rood kleuren ander kleuren ze geel/wit. In het geval van dit experiment zijn de bacteriekolonies duidelijk roze/rood (figuur 14) wat dus inhoudt dat ze lactose fermenteren

(Jung, B. Hoilat, G. J, 2024).



Figuur 14: Rein kweek bacterie A op Macconkey agar



Figuur 15: 1000x vergrote gramkleuring van bacterie A 1



Figuur 16: 1000x vergrote gramkleuring van bacterie A 2

Bij de zuurstof test waren bacteriën door de hele buis verspreid wat dus inhoudt dat de bacterie niet afhankelijk is van zuurstof en dus facultatief anaerobe is (figuur 17). Bij de katalase test begon de druppel water te bruisen wat dus inhoudt dat de bacterie katalase positief is ten slotte was de plek van aanbrenging bij de indol test geel gekleurd en dus is de bacterie indol negatief.

3.4 Conclusie en Discussie

Zoals eerder genoemd is de verwachting dat *E. coli* de boosdoener is. *E. coli* is een gram negatieve bacterie die lactose fermenteert. Aangezien de bacterie op Macconkey agar groeit en met een gram kleuring ook roze kleurt komt dit overeen. Ook was te zien dat de bacteriekolonies wel degelijk lactose fermenteerde dit is dus ook hetzelfde als *E. coli*. *E. coli* is facultatief anaeroob (Von Wulffen et al., 2016) wat betekent dat *E. coli* in aanwezigheid van zuurstof kan groeien en ook in afwezigheid van zuurstof kan groeien. Dit komt overeen met de resultaten van dit experiment waar de bacterie ook zonder en met zuurstof kon overleven. Ten slotte zijn er nog de katalase en indol test bij *E. coli* zouden beide tests positieve resultaten moeten leveren. Tijdens dit experiment was de katalase test ook positief echter was de indol test negatief, er zijn twee mogelijke oorzaken hiervoor: de bacteriën hadden een week in de koelkast gestaan en daarna een uur in de stoof ze zouden dus nog niet "op gang" zijn waardoor ze de reactie niet hebben laten plaats vinden of er is een stuk dode bacteriecultuur gebruikt waardoor ze dus ook

geen reactie hebben kunnen maken. Ten slotte was de zuurstof test in duplo uitgevoerd maar

Figuur 17: buis met zuurstof test van bacterie A

was bij een van de buizen waarschijnlijk niet genoeg bacterie materiaal geënt, echter is de afbeelding van de duidelijk uitslag kwijtgeraakt dus is de afbeelding van de minder goed zichtbare test in het verslag gebruikt.

Uit dit experiment valt dus te concluderen dat de bacterie die het ziektebeeld van de mevrouw veroorzaakt hoogstwaarschijnlijk *E. coli* is. 5 van de 6 tests kwamen overeen met *E. coli volgens Vera, L. (2015),* waarvan de enige test die niet klopte waarschijnlijk niet goed was uitgevoerd.

4.0 Casus 4 Een onverwachte gezondheidscrisis aan zee

Janet is op vakantie in Noordwijk in een huisje vlak bij het strand, de haag met bloemen rondom het huisje is overwoekerd met onkruid. Er is een klein betonnen terras met de mogelijkheid om te zonnen. Na een tijdje klaagt Janet over een insectenbeet op haar enkel. Het lijkt op een grote muggenbeet. Ze smeert er een beetje oude aloë-lotion over wat in het huisje lag en gaat vervolgens weer op het terras liggen. De volgende dag is Janet haar enkel erg rood rond de beet. Het gebied is heet een gevoelig bij aanraking. Ze besluit naar de spoedeisende hulp om het na te laten kijken. Na vier uur wachten besluit Janet dat aangezien het haar laatste vakantie dag is ze deze liever bij het strand wil doorbrengen in plaats van in het ziekenhuis. Janet gaat weer terug en smeert nogmaals wat aloë-lotion op de beet en gaat daarna weer naar het strand. Vervolgens is Janet om 2 uur 's nachts aan het huilen, zweten en rillen. Ook is ze erg bleek, bijna blauw, op sommige plekken en er zijn rode vlekken te zien op haar benen.

Het lijkt erop dat Janet cellulitis heeft, een ernstige bacteriële huidinfectie. De symptomen die ze vertoont, zoals roodheid, zwelling, warmte, pijn, koorts, koude rillingen en rode vlekken, komen overeen met cellulitis. Het is belangrijk dat ze deze infect snel laat behandelen door middel van antibiotica.

Janet heeft door haar infectie last van koorts, dit is een reactie van het afweersysteem. De temperatuur van het lichaam gaat omhoog waardoor de afweerreactie sneller verloopt. Ook ontstaat er een rode plek rond de beet, dit komt door een grotere toevoer van bloed om zo meer afweerstoffen langs de besmette plek te laten komen.

Insecten veroorzaken niet direct de infectie die kan leiden tot cellulitis. Een beet van een insect creëert een opening in de huid waardoor een bacterie binnen kan dringen. Cellulitis wordt veroorzaakt door twee verschillende Streptokokken, de streptokokken van groep A en van Staphylococcus aureus.

Cellulitis is een huidinfectie die niet direct door een insectenbeet. Wanneer cellulitis niet behandeld wordt met antibiotica kan het zorgen voor ernstige gezondheidsproblemen. De paramedicus schrijft op dat het gaat om een secundaire aandoeningen omdat de besmetting niet direct komt door de beet van een insect.

Janet kan behandeld worden met behulp van antibiotica. Het ligt eraan welke bacterie de cellulitis heeft veroorzaakt, hieraan kan bepaald worden welk type antibiotica nodig is. Verder moet Janet veel water drinken en ontstekingsremmers nemen.

5.0 Casus 5 Onverklaarbare ziekte in Baltimore

Eind jaren 90 werd een aantal mensen ziek na het werken in een gebouw van een industriële fabriek in een wijk van Baltimore. Hun symptomen varieerden van eenvoudig hoesten en andere ademhalingsproblemen tot longontsteking. Ten minste een van de 70 mensen die symptomen ervaarde, overleed. Het bedrijf sloot het gebouw vrijwillig op aanbeveling van het Maryland Department of Health and Mental Hygine. Nadat alle watersystemen in de fabriek waren geëvalueerd en gedesinfecteerd, werd het geopend en werden er geen nieuwe gevallen meer gemeld.

Uit deze informatie blijkt dat het een bacterie is die in watersystemen te vinden is en verschillende luchtwegklachten veroorzaakt. Als je naar deze informatie kijkt is de *legionellabacterie* de meest waarschijnlijke boosdoener, deze veroorzaakt luchtwegklachten en een enkele keer ernstige longontsteking (veteranenziekte) (RIVM, z.d.). *Legionella* kan in water en tuinaarde zitten, als er vervolgens kleine druppeltjes of deeltjes aarde waar legionella in zit in de lucht komen kunnen deze ingeademd worden en vervolgens in de longen terecht komen en klachten veroorzaken. Legionella is niet over te brengen van mens tot mens dus er is geen kans op een aanhoudende uitbraak als de oorspronkelijke oorzaak opgelost wordt (Rijksoverheid, z.d.). Als je de legionella wil isoleren en identificeren kun je het beste Buffer Charcoal Yeast Extract (BCYE) agar gebruiken. Deze agar bevat de voedingsstoffen die legionella nodig heeft (Neogen, z.d.).

6.0 Casus 6 Onverwachte maagklachten na een nieuw supplement

6.1 Inleiding

Een 42-jarige man meldt zich bij zijn huisarts met klachten over milde maagpijn, opgeblazen gevoel en diarree, die nu drie dagen aanhouden. De man is gezond, heeft geen voorgeschiedenis van ernstige aandoeningen en gebruikt geen medicijnen. Hij vertelt dat hij onlangs een nieuw supplement is gaan gebruiken op aanraden van een vriend omdat hij soms last had van een opgeblazen gevoel.

Het supplement dat hij online gekocht heeft zou goed zijn voor de spijsvertering en darmgezondheid. Hij kon zich niet precies herinneren wat erin zat, maar de beschreef de capsules als geurloos en wit. De vraag is natuurlijk: Wat veroorzaakt deze symptomen? De verwachting is dat het *Enterococcus faecium* is, dit is een bacterie die voorkomt in probiotica supplementen (Zorgwijzer.nl, z.d.). Sommige mensen kunnen lichte gasvorming en een opgeblazen gevoel ervaren (Janneke, 2023) wat de man ook ervaart. Om te controleren of het ook daadwerkelijk *Enterococcus faecium* is zullen er een aantal test worden uitgevoerd op een verkregen monster wat bacterie B zal genoemd worden.

6.2 Materiaal en Methode

6.2.1 Materiaal

Spullen	Stoffen
Cultuur buizen	H_2O_2
Petrischaaltjes	Kristal violet
Microscoop	Water
Analytische balans	Propanol
Bunsenbrander	Safranine
Autoclaaf	Gram idodine
Entogen	Microscoop olie
Preparaten	Kovacs
Diamant pen	Macconkey agar
Fles/pot	
Bekerglas	
Bacterie B monster	
Chromen wasbak	

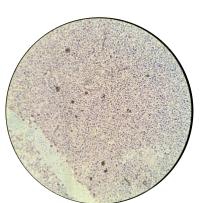
6.2.2 Methode

De eerste stap van het experiment is de voedingsstof maken om deze later in voedingsbodems te gebruiken. In dit geval zal er gebruik gemaakt worden van nutriënt agar, weeg hier 5,6 gram van af en stop dit vervolgens in een fles met 200 ml water. Dit mengsel wordt vervolgens geautoclaveerd. Als tweede zullen de eerste voedingsbodems gemaakt worden volgens het stappenplan in bijlage 1. Er zullen eerst twee voedingsbodems gemaakt worden waar vervolgens een rein kweek op wordt uitgevoerd (bijlage 3) met het bacterie B monster. Als derde zal er op allebei de rein kweken een gram kleuring worden uitgevoerd volgens bijlage 2. Ook zal er een

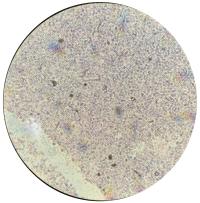
zuurstof test in duplo worden uitgevoerd volgens bijlage 4. Ten slotte zullen er nog een indol test en een katalase test worden uitgevoerd volgens bijlage 5 en bijlage 6.

6.3 Waarnemingen en Resultaten

Aan de gramkleuring is duidelijk zichtbaar dat Bacterie B een gram positieve kok vormige bacterie is (figuur 18 en 19). Dit komt overeen met *Enterococcus faecium wat ook gram positieve kokken zijn (Tannis. A, 2021)*. Ook bevat rein kweek witte "pluizig vormende" bacteriekolonies (figuur 20)



Figuur 18: 1000x vergrote gramkleuring van bacterie B 1



Figuur 19: 1000x vergrote gramkleuring van bacterie B 2



Figuur 20: Agar plaat met een rein kweek van bacterie

Bij de zuurstof test is te zien dat de bacterie zich door de hele buis verspreid heeft (figuur 21 en dus zowel met als zonder zuurstof kan overleven dit betekent dat hij facultatief anaeroob is. Dit komt ook overeen met *Enterococcus faecium* wat ook een facultatief anaerobe bacterie is (Lesho. E, Tirthani. E, Said. S. M, 2024).

Ten slotte zijn er nog de katalase en indol test. Bij de katalase test begon hij niet te bubbelen wat betekent dat hij negatief is wat ook overeenkomt met *Enterococcus faecium (Aryal. S, 2022). Bij de indol test kleurde het filtreerpapier geel wat betekent dat de indol test ook negatief is wat bij Enterococcus faecium ook het geval is (Aryal. S, 2022).*

6.4 Conclusie en Discussie

Kortom is het bacterie monster gram positief, kok vormig, facultatief anaeroob, katalase negatief en indol negatief. Al deze eigenschappen komen overeen met *Enterococcus faecium* wat de verwachte boosdoener is. Dus het is bijna zeker dat de boosdoener daadwerkelijk *Enterococcus faecium* is. Het had nog zekerder kunnen zijn door het uitvoeren van nog meer test zoals een specifieke agar bodem op basis van soort of de fermentatie van een bepaalde stof.



Figuur 21: Een buis met daar in een zuurstoftest van bacterie B

7.0 Casus 7

7.1 Inleiding

ledereen ziet elke dag wel eens iemand hoesten of niezen, de ene doet het in zijn ellenboog, de ander doet het in zijn handen en weer anderen doen het zonder iets voor hun mond te doen. Maar wat is nou eigenlijk de beste manier om te hoesten/niezen om zo minmogelijk bacteriën te verspreiden? Dat gaat in dit experiment onderzocht worden door deze drie vormen van hoesten/niezen bij/over een petrischaal te doen om vervolgens te zien hoeveel bacteriën erop zijn gegroeid. Ook zal er gekeken worden naar hoeveel bacteriën er op je hand zitten als je hierin hoest/niest. Er zal ook verder onderzoek gedaan worden naar wat voor een soort bacteriën er eigenlijk vrijkomen tijdens het hoesten/niezen. Op basis van de resultaten van deze proefjes kan dus bepaald worden wat de beste/veiligste manier van hoesten/niezen is.

7.2 Materiaal en Methode

7.2.1 Materiaal

Spullen	Stoffen
Autoklaaf	Nutriënt agar
Analytische balans	Kristal violet
Cultuur buizen	Water
Bunsenbrander	Propanol (70%)
Entogen	Safranine
Petrischaaltjes	Gram iodine
Microscoop	Microscoop olie
Preparaat	
Diamant pen	
Wattenstaafjes	
Bekerglas	
Wattenstaafjes	

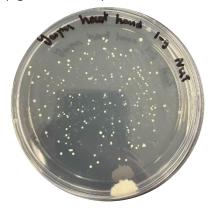
7.2.2 Methode

De eerste stap van het experiment is nutriënt agar maken om als voedingsbodem voor de bacteriën te gebruiken. Weeg hiervoor 5,6 gram nutriënt agar af en voeg hier vervolgens 200 ml water aan toe. Dit mengsel wordt vervolgens geautoclaveerd. De tweede stap is het maken van de eerste benodigde voedingsbodems. Dit zal gedaan worden volgens de beschreven stappen in bijlage 1. Volg dit stappenplan om 6 agar platen te maken. Op deze agar platen zullen vervolgens drie proeven worden uitgevoerd allemaal in duplo namelijk: drie keer rechtstreeks op een agar plaatje hoesten, drie keer in een hand op een agar plaatje hoesten en drie keer in een ellenboog op een agar plaatje hoesten. Deze 6 plaatjes zullen vervolgens een week laten staan worden zodat de bacteriën kunnen groeien. Vervolgens zal na deze week een rein kweek volgens bijlage 3 worden uitgevoerd op de agar platen waar rechtstreeks op gehoest is. Voer hierna op deze rein kweken een gramkleuring volgens bijlage 2. Vervolgens worden er 2 nieuwe nutriënt agar platen volgens bijlage 1 gemaakt hiermee wordt in duplo het volgende: er wordt in drie keer in de hand gehoest en vervolgens wordt met een wattenstaafje over de hand gegaan en dan over de agar plaat. Ten slotte wordt er nog een zuurstof test volgens bijlage 4 uitgevoerd op de platen waar rechtstreeks op gehoest is.

Als extra's wordt er ook nog gekeken naar hoeveel bacteriën er op een hand zitten als hierin wordt gehoest. Eerst worden er twee nieuwe agar platen gegoten volgens bijlage 1. Vervolgens wordt er drie keer in de hand gehoest en dan met een wattenstaafje over de hand gegaan. Vervolgens wordt het wattenstaafje over de agar plaat gehaald en wordt deze een week geborgen hierna kunnen de resultaten bekeken worden.

7.3 Waarnemingen en Resultaten

Het is duidelijk zichtbaar dat iets voor je mond houden de verspreiding van bacteriën vermindert, zo bevatten de agar platen van hoesten met de ellenboog en hand voor de mond een stuk minder bacteriën dan de plaat van hoesten zonder iets voor je mond te doen. Echter is ook duidelijk zichtbaar dat als je vervolgens kijkt naar het aantal bacteriën wat op de hand terecht is gekomen dit misschien niet de beste optie is, aangezien overal aan wordt gezeten met handen (figuur 22 en 23).

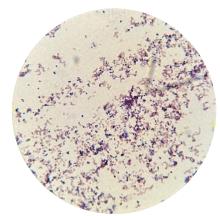


Figuur 22: Agar plaat van een hand waarin gehoest is 1

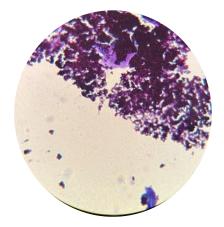


Figuur 23: Agar plaat van een hand waarin gehoest is 2

Uit de gramkleuringen blijkt dat de bacteriën die vrijgekomen zijn bij het hoesten gram positieve kokken (figuur 24 en 25)



Figuur 24: 1000x vergroting van gramkleuring van hoesten 1



Figuur 25: 1000x vergroting van gramkleuring van hoesten 2

Ten slotte zijn er nog de zuurstoftests bij beide test waren er niet veel bacteriën zichtbaar maar degene die zichtbaar waren zitten grotendeels in het anaerobe gedeelte het is dus een anaerobe bacterie maar het zou ook een aerotolerante anaerobe bacterie kunnen zijn (figuur 26 en 27).

7.4 Conclusie en Discussie

Er zijn een aantal gram positieve bacteriën die veel voorkomen in de mond en luchtwegen, deze bacteriën kunnen luchtweginfecties en dergelijke ziektebeelden veroorzaken maar dit komt weinig voor bij gezonde volwassen mensen (RIVM, z.d.). De verwachting is dat de bacterie in kwestie onder de familie *Pep*tostreptococcus deze familie is net als de geteste bacterie gram positief, kok vormig en anaeroob of aerotolerante anaeroob. Jammer genoeg zijn de foto's van de eerste agar platen kwijtgeraakt en moet hier dus volgende keer beter op gelet worden.



Figuur 26: Een buis met daar in een zuurstoftest van hoesten 1



Figuur 27: Een buis met daar in een zuurstoftest van hoesten 2

8.0 Casus 8

8.1 Inleiding

ledereen denkt dat ze schonere handen hebben dan dat ze in de werkelijkheid hebben. Hoe goed en hoe vaak je je handen ook wast, het blijft een van de meeste onhygiënische delen van je lichaam. Dit komt doordat je van alles aanraakt. Wanneer je naar de wc bent geweest was je je handen, dit wordt gezien als logisch. Maar wanneer je je telefoon even erbij pakt zal niemand er raar van opkijken als je je handen niet gaat wassen, is dit terecht?

In dit onderzoek wordt er onderzocht hoe schoon telefoonschermen zijn en of de bacteriën op verschillende telefoonschermen altijd hetzelfde zijn.

8.2 Materiaal en methode

8.2.1 Materiaal

Materialen	Stoffen
Telefoon 2x	Kristalviolet
Handschoenen	lodine
Chromen wasbak	70% propanol
Petrischaaltjes	Saffarine
Wattenstaafjes	Nutriënt agar
Microscoop + olie	
Objectglaasjes	
Autoclaaf	

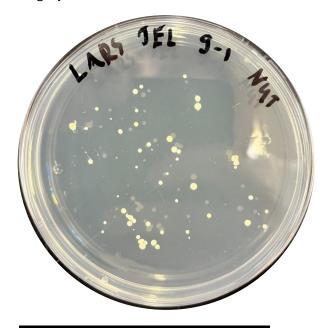
8.2.2 Methode

Dit experiment wordt uitgevoerd over een tijdspan van een week. Op de eerste dag worden nutriënt agar bodems bereid, hierop zullen de bacteriën moeten gaan groeien. Voor deze bodems wordt 5,6 gram nutriënt agar afgewogen en ingespoeld in 200 ml water. Dit mengsel wordt geautoclaveerd zodat het steriel is en dus alleen de bacteriën erop groeien die zelf zijn aangebracht. Giet de agar uit over zoveel petrischaaltjes als gewenst, wacht vervolgens tot deze zijn opgehard. Wanneer de agar bodems niet meer vloeibaar zijn strijk je met een wattenstaafje over het scherm van de telefoons die worden vergeleken (let op! Gebruik voor elk scherm een ander wattenstaafje). Sluit de geïnfecteerde bodems af met de deksel van het petrischaaltje en laat de bacteriën gedurende een week groeien.

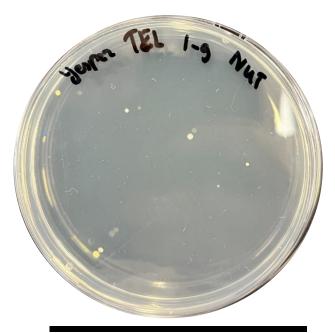
Kijk na een week wachten naar de resultaten, maak hier foto's van. Kies bacteriën die op het eerste ogenblik op elkaar lijken, denk aan kleur of vorm van de kolonie. Vergelijk deze bacteriën met elkaar door ze te gramkleuren, dit gebeurt aan de hand van bijlage 2. Fotografeer de resultaten van de gramkleuringen en identificeer de bacteriën voor zo ver mogelijk. Trek een conclusie.

8.3 Waarnemingen en resultaten

Op het eerste oog is duidelijk te zien dat er veel meer bacteriën aanwezig waren op het telefoonscherm van Lars dan bij die van Jesper. Dit kan te maken hebben met dat Lars zijn scherm nooit schoon maakt. Wel is er een overeenkomst in de soort bacteriën die zijn gaan groeien. Op beide preparaten zijn groen/gele en witte kolonies gegroeid. Op het preparaat van Lars zijn telefoon zijn ook hele kleine witte kolonies aangetroffen, deze waren niet bij het preparaat van Jesper aanwezig. Er zijn meerdere gramkleuringen uitgevoerd om de bacteriën te vergelijken.



Bacteriën op Lars zijn telefoon



Bacteriën op Jesper zijn telefoon

Welke bacteriën zijn vergeleken?

Op beide petrischaaltjes zijn groen/gele en witte culturen aangetroffen. Van beide culturen zijn er twee per petrischaal gegramkleurd om de verschillen of overeenkomsten vast te leggen. Het viel op dat er veel kleinere culturen aanwezig waren op de bodem die geïnfecteerd is met het

telefoonscherm van Lars, deze zijn ook gegramkleurd.



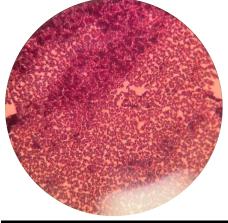
Groen/gele bacterie 1.1, Lars ^



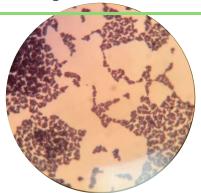
Groen/gele bacterie 1.2, Lars ^



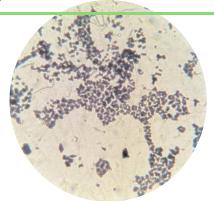
Groen/gele bacterie 1.1, Jesper ^



Groen/gele bacterie 1.1, Lars → 1000x ^ Gramnegatieve kokken



Groen/gele bacterie 1.2, Lars → 1000x ^ Grampositieve kokken



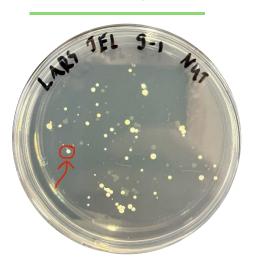
Groen/gele bacterie 1.1, Jesper ^ Grampositieve kokken



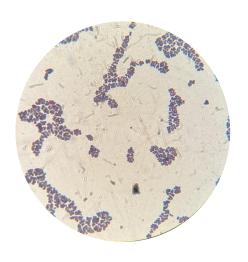
Groen/gele bacterie 1.2, Jesper ^



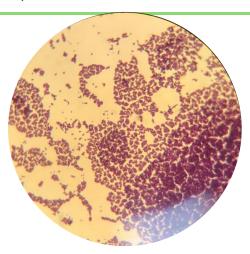
Witte bacterie 2.1, Lars ^



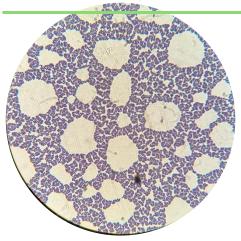
Witte bacterie 2.2, Lars ^



Groen/gele bacterie 1.2, Jesper \rightarrow 1000x $^{\circ}$ Grampositieve kokken



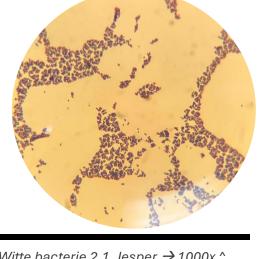
Witte bacterie 2.1, Lars \rightarrow 1000x ^ Gramnegatieve staaf (hoogst waarschijnlijk e.Coli)



Witte bacterie 2.2, Lars → 1000x ^ Grampositieve kokken



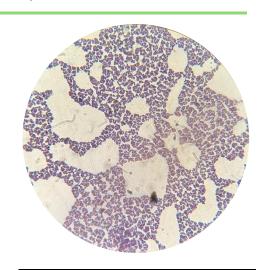
Witte bacterie 2.1, Jesper ^



Witte bacterie 2.1, Jesper \rightarrow 1000x $^{\circ}$ Grampositieve kokken



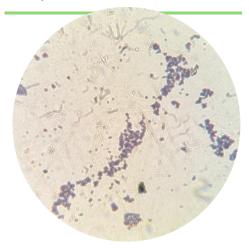
Witte bacterie 2.2, Jesper ^



Witte bacterie 2.2, Jesper \rightarrow 1000x $^{\circ}$ Grampositieve kokken



Kleine bacterie, Lars ^



Kleine bacterie, Lars \rightarrow 1000x $^{\circ}$ Grampositieve kokken

8.4 Conclusie en discussie

8.4.1 conclusie

Uit de gramkleuringen vallen enkele conclusies te trekken. Zo is bacterie 2.1 Lars zijn telefoon een gramnegatieve staafvormige, dit kunnen meerdere bacteriën zijn. Het is het meest waarschijnlijk dat het in dit geval om de E-coli bacterie gaat, aangezien dit een gramnegatieve staafvormige bacterie is die erg veel voorkomt in de natuur. Verder lijken de kleine witte kolonies op het preparaat van Lars exact op de grote witte kolonies op beide preparaten, alleen de witte bacterie 2.1 is een uitzondering. Alle witte bacterie kolonies op 2.1 Lars na zijn grampositieve kokken. Een veel voorkomende grampositieve kok is de Staphylococcus, het is dus aanneembaar dat dit de witte kolonie op het preparaat is. Dit geldt ook voor de groen/gele kolonies op beide preparaten, alleen de groen/gele bacterie 1.1 van Lars is een gramnegatieve bolvormige kok. Veel voorkomende gramnegatieve kokken zijn Neisseria en Moraxella. Moraxella is een boonvormige kok, het is een opportunist en komt vooral voor bij mensen met een onderliggende aandoening of verzwakt immuunsysteem. Neisseria is een diplokok wat betekent dat het paren vormt, zoals in de foto te zien is. Neisseria komt voor in het slijmvlies, het is dus niet gek dat deze bacterie op een telefoonscherm terecht komt. Aangezien Lars op dit moment geen onderliggende aandoening had en geen zwak immuunsysteem heeft is het het meest voor de hand liggend dat het in dit geval om de Neisseria bacterie gaat.

Niet alle bacteriën die met het blote oog op elkaar lijken zijn hetzelfde.

8.4.2 discussie

Doordat de eerste poging van uitvoering van deze casus geen resultaten opleverde was er te weinig tijd om nog verdere testen uit te voeren. De conclusies die zijn getrokken zijn minder betrouwbaar omdat het om niet reine kweken gaat en er alleen gegramkleurd is. Het liefst was er nog een zuurstoftest uitgevoerd, zo kon er met meer zekerheid een uitspraak gedaan worden over welke bacteriën er op de schermen aanwezig waren.

9.0 Bronvermelding

Aryal. S. (2022). Biochemical Test and Identification of Enterococcus faecalis.

https://microbiologyinfo.com/biochemical-test-and-identification-of-enterococcus-faecalis/

Aryal. S. (2022). Biochemical Test of Enterococcus faecium.

https://microbenotes.com/biochemical-test-of-enterococcus-faecium/

Cleveland Clinic. (2023). Urinary Tract Infections (UTIs).

https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/9135-urinary-tract-infections

Gezondheidsnet. (2018). *De griepprik*. https://www.gezondheidsnet.nl/griep-en-verkoudheid/degriepprik#:~:text=De%20griepprik%20werkt%20echt%20en%20is%20de%20enige,samengesteld.%20Zo%20blijft%20je%20afweersysteem%20bij%20de%20tijd.

Hartline. R. (z.d.). 1.21: Bacterial oxygen requirements.

https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_Laboratory_Manual_(Hartline) /01%3A_Labs/1.21%3A_Bacterial_Oxygen_Requirements

Janneke. (2023). Bestaan er probiotica bijwerkingen. https://www.vitakruid.nl/blog/bestaan-er-probiotica-bijwerkingen

Jung, B. Hoilat, G. J. (2024). Macconkey medium.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557394/#:~:text=MacConkey%20agar%20(MAC)%20is%20a,based%20on%20their%20lactose%20metabolism

Labuitslag.nl. (z.d.). Escheria Coli. https://labuitslag.nl/bacterie/escherichia-coli/

Lesho. E, Tirthani. E, Said. S. M. (2024). Enterococcus Infection.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567759/

Neogen. (z.d.). BCYE Agar (Legionella isolation medium).

https://www.neogen.com/categories/microbiology/bcye-agar-legionella-isolation-medium

Rijksoverheid. (z.d.). Word ik ziek als ik besmet ben met legionella.

https://www.rijksoverheid.nl/onderwerpen/legionella/vraag-en-antwoord/word-ik-ziek-als-besmet-ben-met-

legionella#:~:text=Besmetting%20met%20legionella&text=U%20kunt%20alleen%20besmet%2 0raken,brengen%20van%20mens%20op%20mens

RIVM. (2024). Feiten en cijfers griepprik. https://www.rivm.nl/griep-griepprik/griepprik/feiten-en-cijfers

RIVM. (2024). Hoe werkt de griep prik. https://www.rivm.nl/griep-griepprik/griepprik/werking

RIVM. (2025). Actuele situatie luchtweginfecties.

https://www.rivm.nl/luchtweginfecties/actuele-cijfers

RIVM. (z.d.). Legionella. https://www.rivm.nl/legionella

Tannis. A. (2021). Enterococcus faecium: A Probiotic that Sparks the Importance of Safety Testing. https://internationalprobiotics.org/home/enterococcus-faecium-a-probiotic-that-sparks-the-importance-of-safety-testing/

Vera, L. (2014). Vergelijkende studie tussen conventionele bacteriologie en het gebruik van chromogene agarplaten voor de diagnose van endometritis bij de merrie. https://libstore.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/215/923/RUG01-002215923_2015_0001_AC.pdf

Von Wulffen, J., Sawodny, O., & Feuer, R. (2016). Transition of an Anaerobic Escherichia coli Culture to Aerobiosis: Balancing mRNA and Protein Levels in a Demand-Directed Dynamic Flux Balance Analysis. *PLoS ONE*, *11*(7), e0158711. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158711

Wikipedia-bijdragers. (2021). Antigene drift. https://nl.wikipedia.org/wiki/Antigene_drift

Wikipedia-bijdragers. (2022). Antigene shift. https://nl.wikipedia.org/wiki/Antigene_shift

Wikipedia-bijdragers. (z.d.). *Cutibacterium acnes*. https://en.wikipedia.org/wiki/Cutibacterium_acnes

Zorgwijzer. (z.d.). Probiotica. https://www.zorgwijzer.nl/zorgwijzers/probiotica

Uitleg over Cellulitis Casus 4: Over cellulitis: oorzaken, symptomen en behandeling - Apollo Hospitals - Apollo Hospitals

10.0 Bijlagen

Bijlage 1: Stappenplan voor het maken ban agar platen.

- 1. Maak de werk plek goed schoon door de gebruikte oppervlakte te wassen met propanol en zet een bunsenbrander neer om ongewenste bacteriën uit de lucht te houden.
- 2. Schrijf op de onderkant van elk Petri schaaltje de volgende informatie: van wie hij is, wat voor soort agar erin zit, de datum wanneer hij gegoten is en 1-2 worden over wat voor experiment er mee uitgevoerd wordt.
- 3. Leg het Petri schaaltje recht op klaar.
- 4. Maak de fles waar agar in zit open en haal de nek door de vlam van de bunsenbrander.
- 5. Maak het Petri schaaltje open en giet er agar in totdat de bodem net niet bedekt is.
- 6. Sluit het Petri schaaltje en de fles agar nadat de nek hiervan nogmaals door de vlam is gehaald.
- 7. Schuif het Petri schaaltje een beetje heen en weer totdat de bodem volledig bedekt is
- 8. Als de agar gestold is wordt het agar plaatje ondersteboven gelegd.

Bijlage 2: Stappenplan voor gram kleuren

- 1. Maak de werk plek goed schoon door de gebruikte oppervlakte te wassen met propanol en zet een bunsenbrander neer om ongewenste bacteriën uit de lucht te houden.
- 2. Vul een bekerglas met wat water.
- 3. Stop een klein entoog in het bekerglas en leg vervolgens het water wat hier aanzit op een preparaat.
- 4. Haal een groot entoog door de vlam om hem te steriliseren en laat deze vervolgens een paar seconden afkoelen.
- 5. Stip met het grote entoog de gewenste bacteriekolonie aan en haal deze vervolgens door de druppel die op het preparaat ligt.
- 6. Laat de geënte druppel drogen.
- 7. Fixeer de bacteriën door het preparaat een aantal keer door de vlam te halen.
- 8. Leg alle gemaakte preparaten vervolgens op een kleur rek boven een chromen wasbak.
- 9. Doe kristal violet over alle preparaten en laat dit 6-30 seconden liggen, spoel het vervolgens voorzichtig eraf met water.
- 10. Doe gram iodine op de preparaten en laat dit 12-60 seconden liggen, spoel het vervolgens rustig af met water.
- 11. Hou het preparaat in een hoek van 45° en druppel dan voor maximaal 5 seconden propanol er over doet dat de paarse kleur weg is. Spoel het preparaat vervolgens meteen voorzichtig af met water.
- 12. Laat het preparaat vervolgens drogen of droog het af met een tissue.
- 13. Bekijk het vervolgens onder een microscoop om te zien wat voor een bacterie het is (vorm) en of deze gram positief of negatief is.

Bijlage 3: Stappenplan voor rein kweken

- 1. Maak de werk plek goed schoon door de gebruikte oppervlakte te wassen met propanol en zet een bunsenbrander neer om ongewenste bacteriën uit de lucht te houden.
- 2. Neem vervolgens een agar plaat met dezelfde soort agar als de plaat met de te rein kweken bacterie.
- 3. Verdeel deze plaat met een stift in drie delen van 25%-25%-50%.

- 4. Haal een groot entoog door de vlam om hem te steriliseren en laat deze vervolgens een paar seconden afkoelen.
- 5. Stip de gewenste bacterie aan met het entoog.
- 6. Open de agar plaat en strijk het entoog voorzichtig door het deel van 50% heen en weer en sluit vervolgens de agar plaat.
- 7. Herhaal stap 4.
- 8. Open de agar plaat en strijk het entoog voorzichtig door het begin van de helft van 50% en door een helft van 25% heen en weer en sluit vervolgens de plaat.
- 9. Herhaal stap 4.
- 10. Open de agar plaat en strijk het entoog voorzichtig door het begin van de zojuist gestreken helft van 25% en door de andere helft van 25% heen en weer en sluit vervolgens de plaat.
- 11. Laat de plaat een week staan om de bacteriën te laten groeien.

Bijlage 4: Stappenplan voor zuurstoftest

- 1. Autoclaveer een cultuurbuis met een dopje en een fles met de benodigde agar.
- 2. Maak de werk plek goed schoon door de gebruikte oppervlakte te wassen met propanol en zet een bunsenbrander neer om ongewenste bacteriën uit de lucht te houden.
- 3. Wacht tot iets voordat de agar begint te stollen.
- 4. Vul een bekerglas met ijs.
- 5. Vul de cultuurbuis voor de helft met agar. Haal voor en nadat je dit doet de hals van de fles agar door de vlam.
- 6. Haal een groot entoog door de vlam om hem te steriliseren en laat deze vervolgens een paar seconden afkoelen
- 7. Stip de gewenste bacterie aan met het entoog
- 8. Stop het entoog in de agar in de cultuurbuis tot iets voor hij de bodem raakt.
- 9. Haal het entoog weer uit de cultuurbuis en sluit vervolgens de cultuurbuis.
- 10. Draai de cultuurbuis een paar keer heen en weer tussen je handen zodat de bacteriën goed worden verspreid.
- 11. Stop de cultuurbuis in het ijs bad (bekerglas met ijs) om de agar te laten stollen.
- 12. Haal de cultuurbuis uit het ijs bad en wacht vervolgens een week om resultaten te zien.

Bijlage 5: Stappenplan voor katalase test

- 1. Er zal in een zuurkast gewerkt worden zorg dus dat de afzuiging hiervan aanstaat.
- 2. Vul een bekerglas met water.
- 3. Zet een bunsenbrander neer en zet deze aan.
- 4. Steriliseer een klein entoog in de vlam, stop hem hierna in het bekerglas met water en leeg een druppeltje water in een Petri schaaltje.
- 5. Steriliseer een groot entoog in de vlam en laat hem een paar seconden afkoelen.
- 6. Pak met het grote entoog een beetje bacteriecultuur en stop dit in de druppel water in het Petri schaaltje.
- 7. Voeg met een pasteurse pipet een druppel $35\% H_2O_2$ toe.

Als de druppel begint te bruisen/borrelen is de bacterie positief getest als dit niet het geval is dan is de bacterie negatief getest.

Bijlage 6: Stappenplan voor indol test

- 1. Er zal in een zuurkast gewerkt worden zorg dus dat de afzuiging hiervan aanstaat.
- 2. Zet een bunsenbrander neer en zet deze aan.
- 3. Leg een filtreerpapiertje in een Petri schaaltje.
- 4. Steriliseer een groot entoog in de vlam en laat hem een paar seconden afkoelen.
- 5. Pak met het grote entoog een beetje bacteriecultuur en breng dit aan op het filtreerpapiertje.
- 6. Breng aan deze cultuur een druppel kovac's reagent toe.

Als de plek van aanbrenging rood kleurt dan is de bacterie positief getest en als hij geel kleurt dan is hij negatief getest.