

Practicum 2: Onderzoek naar bacteriën. Schuurspons als biotisch medium.

Naam: Raphael Lopes Cardoso

Klas: 4W2

Groepsleden: Jules, Ruben

Datum: 26/9/2017

Vak: Biologie

12 / 20

↓
15

<u>Tijdens de les laten controleren</u>	
<u>Taak</u>	<u>Gecontroleerd?</u>
Materiaal meebrengen	2 / 2
<u>Meegeven met/in je verslag</u>	
<u>Taak</u>	<u>Punten</u>
Verslag	5 / 13
<u>Attitudes</u>	
Steriel werken	2 / 2
Veiligheid	1 / 1
Samenwerken	1 / 1
Orde en netheid (bank laten controleren voor lokaal verlaten)	1 / 1

ORIËNTATIE

Doelstellingen

- ❖ Steriele voedingsbodems beëinden
- ❖ Invloed van verschillende factoren op de groei van bacteriën onderzoeken
- ❖ Invloed van bacterieremmende middelen onderzoeken
- ❖ Verschillende vormen van steriliseren en desinfecteren vergelijken
- ❖ Aantonen dat het aantal bacteriën op een schuursponsje sterk verschilt naargelang de omstandigheden

Onderzoeksvraag

Wat is de invloed van verschillende factoren op de groei van bacteriën

Eisen onderzoeksvraag:

- Vragende vorm (hoe, wat, welke, waarom)
- complete vraag (niet direct op te lossen)
- Het moet te onderzoeken zijn (haalbaar)
- Duidelijkheid over doel van onderzoek (waar naar op zoek)

Hypothese

De groei van bacteriën hangt af van de behandeling.

Eisen hypothese:

- Het is een stelling of een bewering
- Er wordt duidelijk welk experiment wordt uitgevoerd
- Er wordt niets uitgelegd

VOORBEREIDING

Benodigdheden

Vuil gebruikt schuursponsje (meebrengen van thuis)

Aseptische oplossing: ethanol, dettol, chloortabletten

Detergent

7 steriele petriplaten

Erlenmeyer met voedingsbodem (1,5 gr agar opgelost in 150 ml bouillon)

Bunsenbrander en lucifers

Magnetron

Diepvries

UITVOERING

1) Maak je werkplaats, materiaal en handen zo steriel mogelijk. Kuis alles af met een WEINIG antibacteriële zeep.

2) Steek de brander op een veilige manier aan (eerst de lucifer aan en dan pas de gaskraan open). Zet de brander op de blauwe onzichtbare vlam als je hem gebruikt en anders op een gele middelhoge vlam zodat je de vlam goed ziet.

3)) Knip het schuursponsje in 7 stukken.

- > Stukje 1: kook het sponsje 5 minuten in water
- > Stukje 2: steek het sponsje 3 minuten in een magnetron (**eerst nat maken!**) ✓
- > Stukje 3: steek het sponsje 1 uur in de diepvries ✓
- > Stukje 4: steek het sponsje 5 minuten in een aseptische vloeistof
- > Stukje 5: spoel het sponsje uit in water ✓
- > Stukje 6: spoel het sponsje uit met water en detergent ✓
- > Stukje 7: laat dit sponsje onbehandeld ✓

4) Neem zeven steriele platen en wrijf met elk sponsje 1 keer over de voedingsbodem.
Doe de platen slechts een klein beetje open en dit zo kort mogelijk!

5) Plak elke plaat rondom dicht met papiertape en schrijf er de nummer van het sponsje, jullie initialen en jullie klas op.

6) Zet de petrischalen omgekeerd in een broedstoof van 25 °C

7) Wacht minstens 2 dagen en kom dan foto's nemen van je platen.

8) Vraag zeven nieuwe platen en maak ze steriel door ze af te kuisen met antibacteriële zeep en zo snel mogelijk te sluiten!

9) Vraag warme voedingsbodem in een erlenmeyer. Haal de hals van de erlenmeyer een keer kort door de blauwe vlam. Hierdoor gaan alle micro-organismen dood die aan de buitenkant zitten.

10) Neem een steriel pipet in de hand waarmee je het best kan werken. Zorg dat je bij het uitpakken van de pipet niets aanraakt.

11) Neem 20 ml uit de erlenmeyer zonder met de pipet iets aan te raken en breng dit in de petrischaaltjes. Sluit ze meteen weer af.

Waarneming

Bespreek de gevormde kolonies van bacteriën per petriplaat

1/3

1 Kleine aparte kolonies

2 Grote dicht bij elkaar liggende kolonies. Bijna heel het glas is gevuld.

3 Grote, in elkaar overlappende kolonies.

4 Niets. Geen bacteriën.

5 Zeer kleine groepjes bacteriën

6 Heelmaal gevuld in het vlak waar we verflatten, niets over heel het glas.

7 Kleine groepjes, maar een aantal groepjes ~~over~~ ~~het~~ glas.
+ bewerking??

REFLECTIE

Verklaring en besluit

le algemeen!!

4/10

a) Geef een antwoord op de onderzoeksvraag. Komt die overeen met de hypothese?

Bepaalde factoren hebben een grotere invloed. Het hangt dus af welke factor je sponsje beïnvloedt.

b) Welke 4 technieken zijn interessant om het aantal bacteriën op een schuursponsje drastische te verminderen volgens jouw practicum?

Geef telkens een GRONDIGE verklaring aan de hand van de informatie uit de bijlage.

1) Uitspoelen in ~~astetische~~ vloeistof levert ~~seert~~ geen bacteriën meer op. De vloeistof doodt ~~zal~~ de bacteriën.

2) Het sponsje uitspoelen in water levert maar enkele groepjes op. Er zijn wel nog een aantal kolonies. De meeste bacteriën gaan dan mee met het water de röol in.

3) Niets doen met het sponsje. Als je niets doet kunnen er bijna geen bacteriën optreken. Dan zullen de bacteriën verzwakt door de handen en het gebrek aan voedsel doodgaan.

4) 5 minuten koken in water levert ook maar een aantal groepjes op. Door de hoge temperatuur worden de bacteriën gedood.

> Stukje 6: spoel het sponsje uit met water en detergent

> Stukje 7: laat dit sponsje onbehandeld

1) Neem gevoren petrijs platen en wrijf met elk sponsje 1 keer over de voedingslaag.
Doe de platen slechts een klein beetje open en hou zo kort mogelijk.

2) Maak elke plaat rondom dicht met papiertape en schrijf er de nummer van het sponsje achter in. Initiatie en Julie klets op.

(Kielhoorn +

6) Zet de petrischalen omgekeerd in een broedstoof van 25 °C

7) Wacht minstens 2 dagen en kom dan foto's nemen van je platen.

Bijlage: sterilisatie en desinfectie

Desinfectie is een proces dat als doel heeft het risico van een besmetting te verminderen. Dit houdt niet in dat alle micro-organismen gedood worden; sporen blijven meestal intact.

Sterilisatie houdt in dat het materiaal zodanig behandeld wordt dat alle micro-organismen gedood worden.

Dit kan verkregen worden door fysische, mechanische of chemische middelen.

1. Sterilisatie door fysische of mechanische middelen

1.1. Temperatuur

De meeste micro-organismen sterven bij een temperatuur van 55 à 60 °C. Door materiaal af te koken (100 °C) kan je het meeste materiaal desinfecteren, maar de sporen zullen het wel overleven. Om de sporen te doden moet je de temperatuur verhogen tot 120 °C en dit gedurende minstens 20 minuten.

De hoge temperatuur veroorzaakt denaturatie (3D-structuur van eiwitten wordt stuk gemaakt) van enzymen en structurele eiwitten.

Door gebruik te maken van een microgolfoven kan je in zeer korte tijd (5 à 10 minuten) kleine hoeveelheden steriliseren. Dit komt door de snelle warmtepenetratie o.i.v. elektromagnetische golven.

1.2. Filtratie

- Door filtratie met membraanfilters kan je micro-organismen verwijderen uit vloeistoffen.

1.3. Bestraling

Uv-straling wordt vooral toegepast voor het doden van micro-organismen in de lucht. Sterilisatie met Uv-light heeft slechts beperkte mogelijkheden want sporen zijn hiervoor meestal resistent en virussen zijn er minder gevoelig voor dan bacteriën.

Gammastralen worden gebruikt voor sterilisatie van wegwerpmateriaal (zoals spuiten, handschoenen, afdekmaterialen en kompressen) en voedingsmiddelen.

2. Sterilisatie of desinfectie door chemische middelen

We kunnen spreken van antiseptica of ontsmettingsstoffen voor levend weefsel zoals intacte huid, slijmvliezen, wonde ... en desinfectantia of ontsmettingsstoffen voor voorwerpen (instrumenten, meubels ...).

Er zijn verschillende werkingsmechanismen die gebaseerd zijn op:

- interactie met de gehele bacterie en verhinderen van adsorptie;
- interactie met de celwand en inductie van lysis (= het doden van een cel door het breken van het celmembraan);
- interactie met de celmembraan met als doel cellekage en wijziging in de doorlaatbaarheid van de membraan;
- interactie met het cytoplasma en denaturatie van eiwitten en enzymen.

Het resultaat is afhankelijk van het type desinfectans en van de gebruikte concentratie. Door het verschil in bouw en werking van de micro-organismen enerzijds en het werkingsmechanismen van de desinfectantia anderzijds zal het ene desinfectans beter werken tegen de ene bacterie dan tegen een ander.

Diverse soorten antiseptica/desinfectantia:

chemische stof	spectrum	mechanisme	wordt gebruikt voor
70 % alcohol	bacteriën, virussen, schimmels (geen sporen)	denaturatie van eiwitten	intacte huid voorwerpen
Cl-verbindingen	bacteriën, virussen, schimmels (trager)	denaturatie van eiwitten	verontreinigd opp., niet instrumenten (corrosief)
I-verbindingen	bacteriën, virussen, schimmels, sporen (trager)	verstoring eiwitsynthese	huid, wonde niet instrumenten (corrosief)
chloorhexidine	Grampos. bacteriën, sporen virussen niet!	coagulatie cytoplasma beschadiging celmembraan	huid, wonde

Vele andere stoffen worden als desinfectantia gebruikt hoewel ze voor medische toepassing veelal ongeschikt zijn zoals:

- mercurochroom (op basis van zware metalen): potentieel toxicisch, wordt gebruikt voor het uitdrogend effect bij schaafwonden en blaren;
- ether: weinig of geen antiseptische waarde, maar is wel een goed ontvettingsmiddel (wondreiniging);
- waterstofperoxide en natriumperboraat: goede desinfectantia, zowel voor bacteriën als virussen, weinig toxicisch, vormen zuurstofradicalen die vernietigend werken op DNA en andere essentiële celbestanddelen.