

## 3 Bacteriële kleurtechnieken

### Experiment 9

## Enkelvoudige kleuring

**1. Waarom moet een uitstrijkje goed gesuspenderd worden?**

*Het is absoluut noodzaak dikke, dichte uitstrijkjes te vermijden. Een goed uitstrijkje is er een die, gedroogd, eruitziet als een dunne, halfdoorzichtige, witachtige laag op het objectglaasje.*

**2. Waarin verschilt een uitstrijkje gemaakt van een bouillonkweek met een uitstrijkje gemaakt van een kweek van nutriëntagar?**

*Micro-organismen die gekweekt zijn op een vaste voedingsbodem produceren een dikke, dichte groei aan de oppervlakte van de bodem (een kolonie) en zijn daardoor niet geschikt om direct op het objectglaasje aan te brengen. Deze kweek moet verdund worden door een druppeltje fysiologisch zout (0,9% NaCl-oplossing) op het objectglaasje te brengen, waarin de bacteriecellen worden gesuspenderd.*

**3. Waarom moet een uitstrijkje gemaakt worden met fysiologisch zout? Wat gebeurt er met de bacterie als je het uitstrijkje maakt met demiwater?**

*Fysiologisch zout bevat 0,9% NaCl (isotonisch), precies zoveel als in het cytoplasma van de meeste cellen zit. Een cel in demiwater is hypertoonisch en zal door osmose water aantrekken en eventueel lyseren (knappen).*

**4. Om welke twee redenen wordt hittefixatie toegepast?**

*Om afspoeling van het objectglaasje te voorkomen en om bacteriën te doden (kleuren daardoor beter).*

### Experiment 10

## Gramkleuring

**1. Verklaar de naam Gramkleuring.**

*De Deense microbioloog Christian Gram ontdekte in 1884 dat men op basis van de celwandsamenstelling de bacteriën kan indelen in twee groepen: Gram-positieve bacteriën en Gram-negatieve bacteriën.*

**2. Uit welke onderdelen is een bacteriële celwand opgebouwd? Welk onderdeel van de celwand wordt voornamelijk gekleurd bij de Gramkleuring?**

*Een fosfolipidenlaag en een peptidoglycaanlaag. Deze laatste wordt gekleurd.*

**3. Uit welke stof is de celwand van een plantaardige cel opgebouwd? En uit welke stof is de celwand van een dierlijke cel opgebouwd?**

*cellulose, dierlijke cel heeft geen celwand (alleen celmembraan).*

**4. Waarom zijn Gram-negatieve bacteriën niet paars van kleur?**

*Gramnegatieve bacteriën hebben weinig peptidoglycaan. Peptidoglycaan houdt kristalviolet vast.*

**5. Wat is de belangrijkste stap bij de procedure van de Gramkleuring? En waarom?**

*De ontkleuring met ethanol. Te lang ontkleuren levert allemaal Gramnegatieve reacties op.*

## Experiment 11

### Sporenkleuring

**1. Wat is een endospore? Waarom vormt een bacterie een endospore?**

*Een endospore is een structuur in het cytoplasma, bestaande uit een sporenwand waarin het DNA wordt opgeslagen.*

*Om ongunstige groeiomstandigheden te overleven.*

**2. Waarom is verwarming nodig bij de sporenkleuring?**

*Malachietgroen dringt dan gemakkelijker door in de wand van de sporen.*

**3. Waarom zijn er soms alleen maar sporen in het preparaat te zien? En waarom zijn er soms helemaal geen sporen te zien?**

*Dit ligt eraan in welke fase van de sporogenese de bacteriën zich bevinden (zie afb 3.9).*

**4. Zoek op welke ziekten veroorzaakt worden door de bacteriën uit afbeelding 3.10.**

*Bacillus cereus: voedselvergiftiging/infectie, Bacillus anthracis: anthrax of miltvuur, Bacillus polymyxa heet tegenwoordig Paenibacillus polymyxa: niet pathogeen, Clostridium tetanu: kaakklem, wondkramp of tetanus, Clostridium perfringens: voedselvergiftiging.*

**5.**

## Experiment 12

### Kapselkleuring

**1. Wat is een kapsel? Uit welke stoffen kan een kapsel zijn samengesteld?**

*Een kapsel is een slijmerige laag die afgescheiden wordt door de celwand en die de bacteriecel omhult. Het slijmkapsel is opgebouwd uit een polysaccharide, een glycoproteïne, of een polypeptide.*

**2. Wat is de medische betekenis van een kapsel?**

*Bacteriën met een slijmkapsel zijn bekend als zeer pathogeen, omdat het kapsel de bacterie beschermt tegen allerlei afweermechanismen van de mens.*

**3. Waarom is een kapselkleuring lastiger dan andere kleuringstechnieken?**

*Een kapselkleuring is lastiger uit te voeren dan andere kleuringen, omdat de slijmlaag oplosbaar is in water en verwijderd kan worden tijdens het afspoelen van het preparaat.*

**4. Waarom mag geen hittefixatie worden toegepast tijdens de kapselkleuring?**

*Uitstrijkjes mogen niet gefixeerd worden, omdat dan de cel zal krimpen met als resultaat een heldere zone rond de bacterie, die aangezien kan worden voor een kapsel.*

**5. Hoe komt het dat stukken van het uitstrijkje losraken tijdens het afspoelen met water?**

*Onvoorzichtig afspoelen met water en/of objectglaasje is niet goed schoongemaakt.*