

## 6 Identificatie van micro-organismen

- 1. Noem ten minste drie redenen waarom micro-organismen geïdentificeerd moeten worden.**
  - *bepalen van de ziekteverwekker,*
  - *kwaliteitscontrole van levensmiddelen, of (drink)water,*
  - *selectie en isolatie van micro-organismen in de industrie.*
- 2. Uit welke drie onderzoeksdelen bestaat de identificatie van bacteriën?**
  - *macroscopische kenmerken,*
  - *microscopische kenmerken,*
  - *biochemische kenmerken.*
- 3. Noem de belangrijkste koloniekennmerken waarop wordt gelet bij het macroscopisch onderzoek.**

*Grootte kolonie, kolonievorm, hoogte, randen, kleur en oppervlak.*
- 4. In welke groepen kun je de bacteriën onderverdelen met een Gramkleuring?**

*Gram-positieve bacteriën en Gram-negatieve bacteriën. In een Grampreparaat kunnen bacteriën tevens onderverdeeld worden naar microscopische vorm: bolvormige, staafvormige, komvormige, of spiraalvormige bacteriën.*
- 5. Noem enkele voorbeelden van differentiële kleurtechnieken.**

*Gramkleuring, kapselkleuring, sporenkleuring.*
- 6. Waarom kun je bacteriën niet identificeren met alleen een macroscopisch en microscopisch onderzoek?**

*Macroscopisch en microscopisch komen veel bacteriën overeen.*

### Experiment 24

## Extracellulaire enzymen

- 1. Waarom moeten zetmeel, tributyrine en caseïne afgebroken worden vóór ze worden opgenomen in de cel?**

*Vanwege hun grote afmetingen zijn macromoleculen als zetmeel, tributyrine en caseïne niet in staat door het celmembraan heen te gaan.*
- 2. Wat wordt bedoeld met hydrolyse?**

*De splitsing van een chemische verbinding onder opname van water.*
- 3. Welke enzymen zijn betrokken bij de afbraak van zetmeel? Wat doen die enzymen?**

*Amylase breekt zetmeel af tot kleinere polysacharidenketens (dextrinen) en tot maltosemoleculen. Het enzym maltase breekt maltose af tot glucose.*

- 4. Welke enzymen zijn betrokken bij de afbraak van proteïnen? Wat doen die enzymen?**  
*Proteasen breekt het onoplosbare eiwit caseïne af tot oplosbare aminozuren.*
- 5. Tot welke stoffen worden respectievelijk zetmeel, tributyrine en caseïne afgebroken?**  
*Lipasen breken het vetmolecule tributyrine af tot de bouwstenen glycerol en vetzuren.*
- 6. Waarom denk je dat extracellulaire enzymen gemakkelijker op te zuiveren zijn in de biotechnologische industrie dan intracellulaire enzymen?**  
*Extracellulaire enzymen zijn gemakkelijk te scheiden van cellen.*
- 7. Waar worden deze industriële enzymen voor gebruikt?**  
*Bijvoorbeeld in waspoeder of in levensmiddelen (kaas, brood, vuchtensap).*

## Experiment 25

# Koolhydraatfermentaties

- 1. Noem de drie belangrijkste componenten van een koolhydraatbouillon.**
  - nutriënten,
  - specifiek koolhydraat,
  - pH-indicator.
- 2. Noem twee zure en twee neutrale producten en twee gassen die geproduceerd kunnen worden tijdens fermentatie van koolhydraten.**  
*melkzuur en azijnzuur – ethanol en butyleenglycol - CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>.*
- 3. Welke pH-indicator wordt gebruikt in koolhydraatbouillon? Bij welke pH slaat de indicator om naar een gele kleur?**  
*Fenolrood slaat bij een pH lager dan 6,8 om naar geel.*
- 4. Hoe kun je in een koolhydraatbouillon die geen kleurverandering geeft bepalen of het micro-organisme niet in staat is koolhydraat te fermenteren of niet in staat is te groeien in het medium?**  
*Micro-organismen die wel groeien (troebel), maar geen geelverkleuring geven, gebruiken de celademhaling als stofwisselingsproces.*
- 5. Wat is het belangrijkste verschil tussen celademhaling en fermentatie?**  
*Celademhaling verloopt strikt aerob, fermentatie facultatief anaerob.*

## Experiment 26

# Triple Sugar-Iron test

- 1. Wat wordt bedoeld met Enterobacteriaceae?**  
*Familie van de darmbacteriën, korte Gram-negatieve, niet-sporenvormende staafjes.*
- 2. Leg uit waarom TSI-medium een lagere concentratie glucose bevat dan lactose en sacharose.**  
*Om de fermentatie van de verschillende koolhydraten na te gaan.*
- 3. Verklaar waarom het medium geel kleurt bij een positieve reactie.**  
*De pH-indicator fenolrood toont fermentatie aan door het medium te veranderen van rood (basisch) naar geel (zuur).*
- 4. Verklaar het ontstaan van een zwarte neerslag in TSI-agar.**  
*Sommige bacteriën (Salmonella, Proteus) produceren H<sub>2</sub>S. De in het medium aanwezige ijzerionen (Fe<sup>2+</sup>) tonen dit kleurloze gas aan door de vorming van ijzersulfide (FeS). Dit is te zien als een zwarte neerslag.*

## Experiment 27

# Indoltest

- 1. Wat is tryptofaan voor een stof?**  
*Tryptofaan is een essentieel aminozuur, bouwsteen van eiwitten.*
- 2. Waarom is in dit medium geen glucose toegevoegd?**  
*Aminozuur wordt dan tevens als bandstof gebruikt.*
- 3. Een positieve indoltest is herkenbaar aan de rode kleur van de bovenste laag van het medium. Waarom is de rode kleur niet aanwezig in het hele medium?**  
*Indol wordt door het zure butanol uit het medium geëxtraheerd en vormt een complex met p-dimethylaminobenzaldehyde wat een rode kleur bovenste laag oplevert.*

## Experiment 28

# Citraatverbruiktest

- 1. Wat wordt bedoeld met een permease?**  
*Een enzym dat stoffen door het celmembraan transporteert, bijv. citraat.*
- 2. Wat is de naam van de pH-indicator die wordt gebruikt in de citraattest? Wat is de kleur van deze pH-indicator onder zure omstandigheden en onder basische omstandigheden?**  
*Broomthymolblauw verandert van groen (zuur) naar donkerblauw (basisch).*

- 3. Verklaar waarom citraatagar basisch wordt als er een bacterie op groeit die citraat als enige koolstofbron kan gebruiken.**

*Tijdens deze reactie wordt het medium basisch, omdat het citroenzuur wordt verbruikt.*

## Experiment 29

### Ureasetest

- 1. Leg uit waarom fenolrood in deze test bij een positieve reactie roze wordt.**

*Als ureum wordt afgebroken, veroorzaakt de productie van ammoniak een kleuromslag van fenolrood naar een felroze kleur.*

- 2. Waarom is het belangrijk om Proteus te kunnen onderscheiden van andere niet-lactosevergisters?**

*Proteus is niet ziekteverwekkend, een andere niet-lactose vergister is Salmonella, wel ziekteverwekkend.*

## Experiment 30

### Lysine decarboxylatie test

- 1. Tot welk groep biomoleculen wordt lysine gerekend?**

*Aminozuur, bouwstenen van eiwitten.*

- 2. Wat wordt met decarboxylatie bedoeld?**

*Enzymen die in staat zijn van aminozuren de carboxylgroep ( $-COOH$ ) af te splitsen.*

- 3. Een positieve decarboxylasetest wordt aangetoond door een paarse kleur. Verklaar het ontstaan van deze kleur.**

*Als decarboxylase-enzymen aanwezig zijn ontstaan uit aminozuren aminen en  $CO_2$ . Hierdoor stijgt de pH dat te zien is als een troebele, paarse kleur van het medium.*

- 4. Een negatieve decarboxylasetest wordt aangetoond door een gele kleur. Verklaar het ontstaan van deze kleur.**

*Het ontstaan van een gele kleur in de buis duidt op een negatieve reactie. Decarboxylatie heeft dan niet plaatsgevonden.*

## Experiment 31

# Oxidasetest en katalasetest

- 1. Wat wordt bedoeld met de elektronentransportketen?**  
*Energierijke elektronen uit de aerobe celademhaling geven hun energie af in een serie redoxreacties, waarbij uiteindelijk zuurstof wordt gereduceerd tot water.*
- 2. Wat is de functie van cytochroom-oxidase?**  
*Cytochroom-oxidase versnelt de oxidatie van een gereduceerd cytochroom door zuurstof onder vorming van  $H_2O$  of  $H_2O_2$ .*
- 3. Waarom zijn strikt aerobe bacteriën oxidase-positief?**  
*Aerobe bacteriën gebruiken zuurstof als terminale elektronenacceptor en moeten daarom over het enzym cytochroom-oxidase beschikken.*
- 4. Voor het onderscheid van welke groepen van bacteriën is de oxidasetest ontwikkeld?**  
*Neisseria (pathogeen) en Pseudomonas (niet pathogeen).*
- 5. Wat doet het enzym katalase?**  
*Katalase breekt waterstofperoxide af.*
- 6. Verklaar het giftige effect van zuurstof op strikt anaeroben.**  
*Toxische concentraties  $H_2O_2$  worden niet afgebroken.*

## Experiment 33

# API 20E: een snelle identificatiekit

- 1. Wat wordt bedoeld met een bonte rij?**  
*Een serie verschillende biochemische tests in buizen.*
- 2. Wat zijn de voordelen van een identificatiekit ten opzichte van een bonte rij (4)?**  
*Minder gebruik van media; geen opslag van buizen en platen in broedstoven en koelkasten; snelle resultaten; geautomatiseerde data-analyse.*
- 3. Noem twee veelgebruikte, commercieel verkrijgbare identificatiekits.**  
*Enterotube™ (BBL) en de API 20E™ (Biomérieux).*
- 4. Welke bacteriën kunnen worden geïdentificeerd met de API 20E-strip?**  
*Enterobacteriaceae en andere Gram-negatieve staafjes.*
- 5. Welke groepen van stoffen (3) bevinden zich in gedroogde toestand in de microbuisjes?**  
*Substraten, buffers en indicatoren.*
- 6. Wat betekent de afkorting API?**  
*Analytical Profile Index: 7-cijferige profiel waarmee bacterie wordt geïdentificeerd.*