

Identificatie met behulp van eenvoudige identificatieschema's

Doel

Het kunnen identificeren van bacteriën tot op geslachtsniveau aan de hand van macroscopische en microscopische kenmerken en eenvoudige biochemische tests.

Principe

Bacteriën hebben een wetenschappelijke naam die uit twee delen bestaat: voorop de geslachtsnaam beginnend met een hoofdletter en als tweede naam de soortnaam (binaire nomenclatuur). Bijvoorbeeld *Escherichia coli*.

Op de volgende twee pagina's staan eenvoudige schema's waarmee bacteriën tot op geslachtsniveau kunnen worden geïdentificeerd. Met de Gramkleuring kan worden beoordeeld welk schema gebruikt moet worden: het schema van de *Gram-positieven* of het schema van de *Gram-negatieven*. Beide schema's onderscheiden bolvormige en staafvormige bacteriën. De bacteriën worden verder onderverdeeld met behulp van de volgende differentiële kleuringen; zuurvastkleuring, sporenkleuring, kapselkleuring en het Koch-preparaat (beweeglijkheid), en enkele eenvoudige biochemische tests, zoals de katalase- en de oxidasetest.

Materialen

- Culturen: bacterie A, B, C en D (onbekenden) op nutriëntagar.
Reagentia: kleurstoffen voor de verschillende kleurtechnieken, waterstofperoxide (3%), oxidasestrips of oxidaseschijfjes.
Uitrusting: Bunsenbrander, entnaald, kleurbakje, objectglasjes, microscoop.

Werkwijze

Identificeer de onbekende bacteriën A, B, C en D en ga als volgt te werk.

- 1 Geef van elke onbekende bacterie een macroscopische beschrijving. Voor koloniekekenmerken zie experiment 4.
- 2 Maak een microscopisch preparaat (blz. 40) en voer de Gramkleuring-procedure uit (experiment 10).
- 3 Bestudeer de preparaten bij 1000× en beoordeel de Gramreactie en de vorm van de bacteriën.
- 4 Gram-negatieve kokken komen niet zoveel voor. Als het geen *Neisseria* maar wel een Gram-negatieve bacterie is, voer dan een oxidasetest uit (zie hieronder); als het een Gram-positieve staaf is, voer dan een sporenkleuring uit (experiment 12); als het een Gram-positieve kok is, voer dan de katalasetest uit (zie hieronder).
- 5 Voer vervolgens de kleuring of de test uit die het schema aangeeft totdat slechts één bacteriennaam (de geslachtsnaam) overblijft.
Zuurvastkleuring (experiment 11), kapselkleuring (experiment 13), Koch-preparaat (beweeglijkheid) (experiment 7), zuurstofverbruik (experiment 18), lactosetest op MacConkey-agar (experiment 15), indoltest (experiment 31).

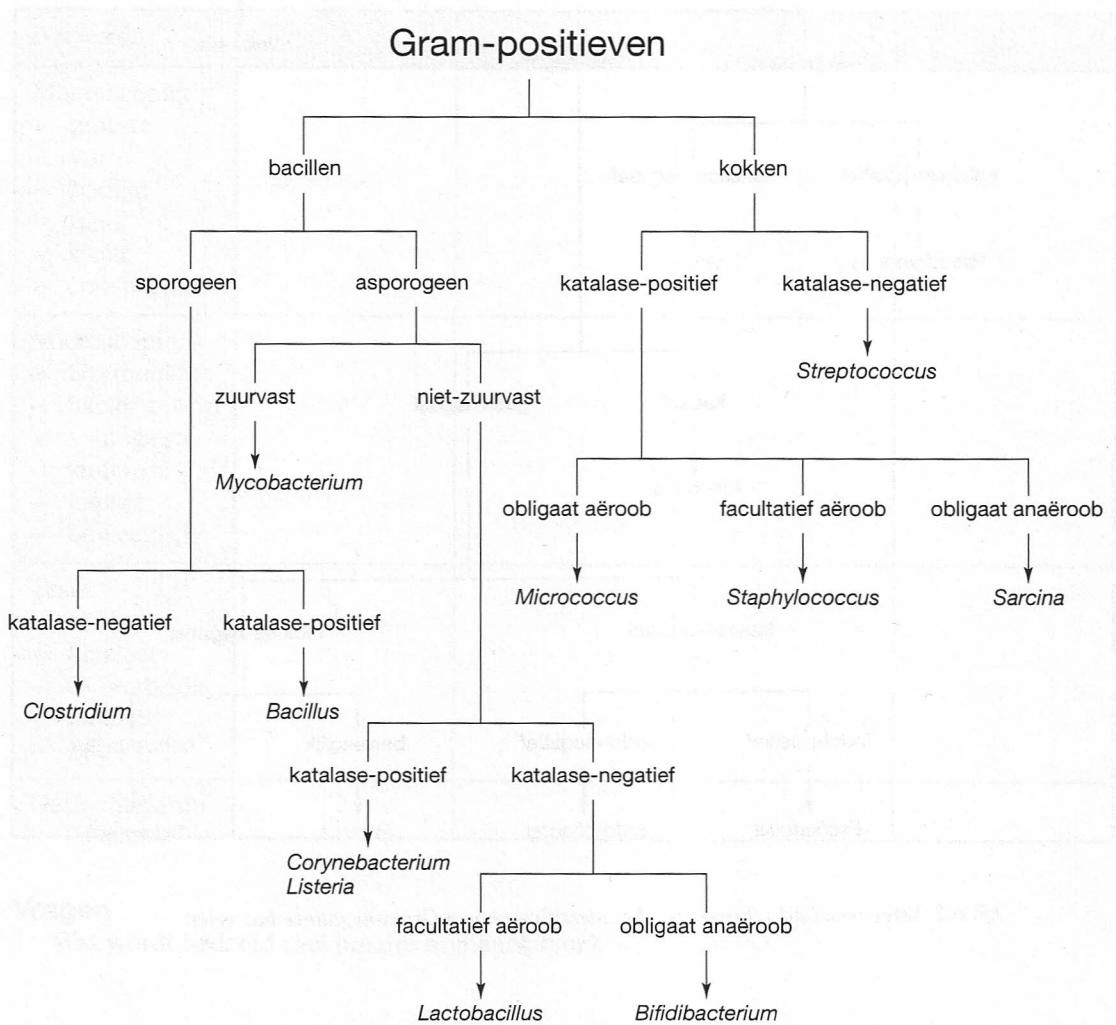
Oxidasetest

Breng met de entnaald wat van de kolonie op een teststripje. Wacht 30 seconden en beoordeel de kleur van het teststripje. Geen kleurverandering is oxidase-negatief, paarse verkleuring is oxidase-positief.

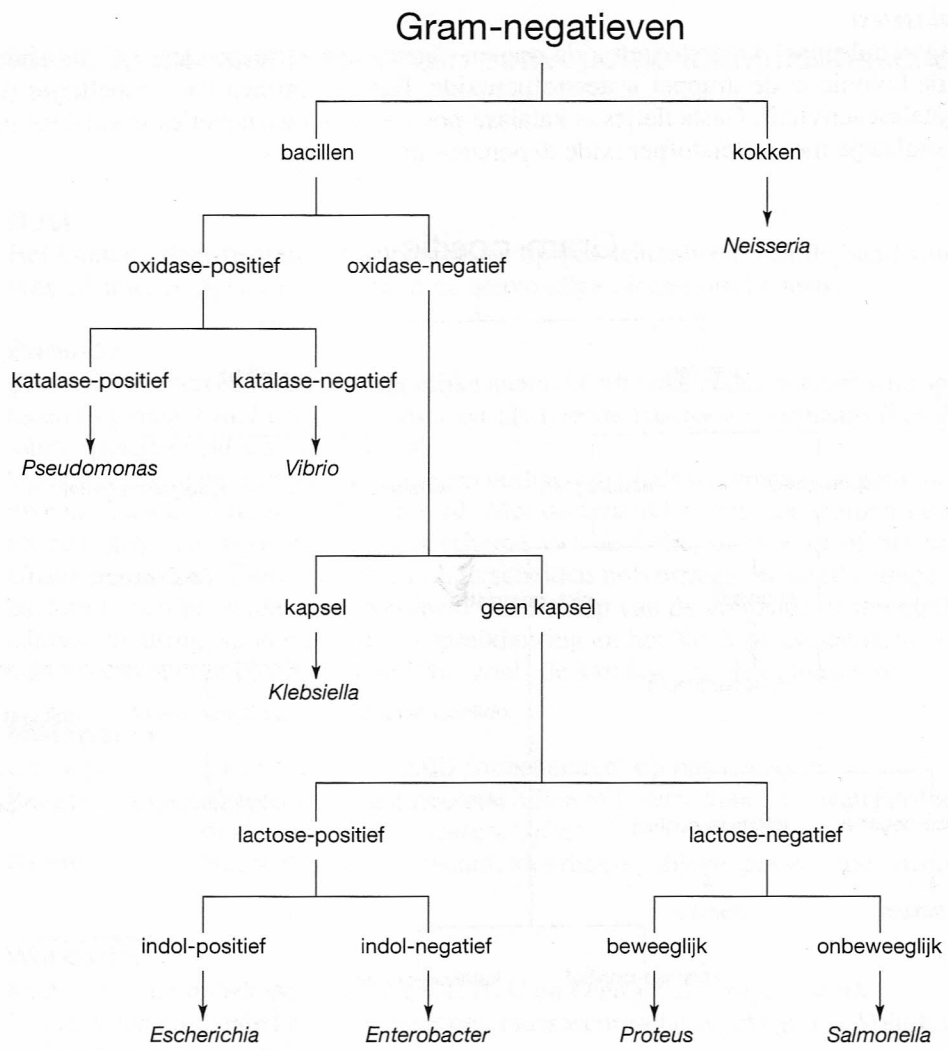
Besmette oxidasestrips niet op tafel leggen, maar deponeren in de afvalpot.

Katalasetest

Breng een druppel waterstofperoxide op een objectglasje. Suspendeer met de entnaald wat van de kolonie in de druppel waterstofperoxide. Het verschijnen van gasbellen (O_2) duidt op katalaseactiviteit. Gasbellen is katalase-positief, geen gasbellen is katalase-negatief. Objectglasje met waterstofperoxide deponeren in de afvalpot.



Afb. 6.1 Vereenvoudigd schema voor het identificeren van Gram-positieve bacteriën



Afb.6.2 Vereenvoudigd schema voor het identificeren van Gram-negatieve bacteriën

Resultaten

datum: - -

- 1 Noteer je resultaten in de tabel.
- 2 Noteer de geslachtsnaam van de bacterie A t/m D in de tabel.

Bacteriën	A	B	C	D
Macroscopie: – grootte – vorm – hoogte – rand – kleur – consistentie				
Microscopie: – Gramreactie – bacterievorm – sporogeen – zuurvast – kapsel – beweeglijk				
Tests: – oxidase – katalase – O ₂ -verbruik – lactose – indol				
Geslachtsnaam				

Vragen

- 1 Wat wordt bedoeld met binaire nomenclatuur?
- 2 Wat is de geslachtsnaam van de bacterie *E. coli*?
- 3 Behoren *Staphylococcus aureus* en *Staphylococcus epidermidis* tot dezelfde soort?
- 4 Hoe kun je bacteriën tot op soortsniveau identificeren?