

7 Kwantificeren van micro-organismen

Experiment 34

Directe telling met behulp van een telkamer

- 1. Noem een aantal beperkingen (3) van de directe microscopische telling.**
Dode cellen zijn niet te onderscheiden van levende cellen, de niet-gekleurde cellen zijn moeilijk te onderscheiden van deeltjes afkomstig uit het monster, en deze methode is niet gevoelig voor celdichtheden onder de 10^6 cellen per ml.
- 2. Waarom is het een nadeel dat met de directe telling dode cellen niet worden onderscheiden van levende cellen?**
Dode cellen tellen wel mee, maar daarvan word je niet ziek.
- 3. Waarom mag de telkamer niet worden schoongemaakt met aceton?**
Aceton lost de coating met lijnen van de telkamers op.
- 4. Waarom mogen de gootjes van de Bürker-Türk telkamer niet gevuld zijn met gistsuspensie?**
Dekglasje gaat drijven waardoor telkamer te diep wordt.

Experiment 35

Kolonietelling: kiemgetal van een gistsuspensie

- 1. Wat wordt bedoeld met de kolonietelling? Welk belangrijk voordeel heeft deze methode boven de directe microscopische telling?**
De kolonietelling is een combinatie van het maken van een verdunningsreeks van een monster en het uitplaten van de verdunningsreeks. Omdat elke levende cel op een agarplaat zich ontwikkelt tot een kolonie, komt het aantal kolonies overeen met het aantal levende cellen in het monster.
- 2. Wat wordt bedoeld met het kiemgetal? Waarom wordt dit vaak uitgedrukt in KVE/ml?**
Kiemgetal: het aantal kweekbare dus levende aantal micro-organismen. Het kiemgetal kan worden berekend door het (gemiddeld) aantal kolonies te vermenigvuldigen met de verdunningsfactor. Cellen die aan elkaar zijn vastgeplakt kunnen zich ook ontwikkelen tot één kolonie. Daarom wordt de term kolonievormende eenheden (KVE) gebruikt (Engels CFU, colony-forming units). Het aantal levende bacteriën in een monster wordt uitgedrukt als aantal KVE/ml of aantal KVE/gram.
- 3. Waarom wordt als verdunningsvloeistof niet leidingwater gebruikt?**
Leidingwater is niet steriel, niet isotoon en bevat soms bacterieremmende stoffen.

4. Waarom mag je de pipetten niet driemaal voorspoelen met demiwater?

Demiwater is niet steriel.

5. Wat zijn de voor- en nadelen van de gietplaatmethode ten opzichte van de spreidplaatmethode?

De gietplaatmethode is een snellere methode omdat de verdunning niet verspreid hoeft te worden met een Drigalski-spatel, maar heeft als nadeel dat strikt aeroben slecht groeien in de agar. De spreidplaat heeft bovendien het voordeel dat de koloniekekenmerken bestudeerd kunnen worden.

6. Verklaar het verschil in kolonievorm tussen een kolonie van een spreidplaat en een kolonie van een gietplaat.

In een gietplaat zit een kolonie ingeklemd in de agar, op een spreidplaat kan de kolonie horizontaal uitgroeien.

Experiment 36

Kolonietelling: kiemgetal van een bacteriecultuur

1. Wat is de uiteindelijke verdunning van elke onderstaande decimale verdunningsreeks? (Druk je antwoord uit in exponentiële getallen.)

1:10, 1:100 en 1:1000: 10^{-3}

10^{-3} , 10^{-4} en 10^{-5} : 10^{-5}

2. Bepaal het aantal cellen per ml van de originele cultuur met onderstaande gegevens. (Druk je antwoord uit in exponentiële getallen.)

aantal kolonies	verdunning	kiemgetal (cellen/pl)
36	1 : 100.000	$3,6 \times 10^6$
87	1 : 100	$8,7 \times 10^3$
143	10^{-4}	$1,4 \times 10^6$
227	10^{-7}	$2,3 \times 10^9$

3. Een cultuur met $6,3 \times 10^7$ cellen per ml wordt volgens het volgende schema verdund. Noteer onder elke petrischaal: – de verdunningsfactor; – het aantal kolonies dat je verwacht dat er zal groeien.

- Plaat 1: verdunningsfactor 10^3 , aantal kolonies 63.000

- Plaat 2: verdunningsfactor 10^4 , aantal kolonies 6.300

- Plaat 3: verdunningsfactor 10^6 , aantal kolonies 63

- Plaat 4: verdunningsfactor 10^7 , aantal kolonies 6

4. Teken een verdunningsschema en het uitplaten van een originele cultuur die 3 180 000 cellen per ml bevat. De verdunningsreeks moet telbare hoeveelheden kolonies (10-300) op de platen opleveren.

Tekening van een verdunningsschema waarbij de gietplaat met 10^{-5} verdunning 31 à 32 kolonies telt.