

Elementaire microbiologie

Ir. G.A. Harrewijn

vijfde druk, oplage 2006

Syntax Media-Arnhem

© 2006 Uitgeverij Syntax Media-Arnhem

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voor zover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16b Auteurswet 1912^o het Besluit van 20 juni 1974, St.b. 351, zoals gewijzigd bij Besluit van 23 augustus 1985, St.b. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reporecht (Postbus 882, 1180 AW Amstelveen). Voor het overnemen van (een) gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

isbn 90 77423 27 3
www.syntaxmedia.nl

Woord vooraf

Toen mij werd gevraagd een leerboek over microbiologie te schrijven, gebaseerd op het boek *Elementaire Microbiologie* van prof. dr. D.A.A. Mossel uit 1953, leek dit wel haast een onmogelijke taak. In deze mening werd ik nog gesterkt toen mij bleek hoe moeilijk het was, een volledig overzicht te geven van de microbiologie als wetenschap.

Bij het schrijven van een leerboek moet men zowel met het didactische als met het wetenschappelijke aspect rekening houden. Didactisch gezien dienen soms 'zwart-wit-voorstellingen' te worden gegeven, terwijl uit wetenschappelijk oogpunt 'drie slagen om de arm' moeten worden gehouden. Deze twee aspecten kunnen wel eens met elkaar in conflict komen.

In dit boek, dat in principe voor het Hoger Beroeps Onderwijs is bedoeld, ligt de nadruk op de zgn. 'technische microbiologie', d.w.z. de niet-medische microbiologie. Bij het samenstellen heb ik veel steun gehad aan de ervaring, opgedaan bij het Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek TNO, waar reeds vele jaren cursussen in de elementaire microbiologie en de voedingsmiddelen microbiologie worden gegeven.

De lezer moet er op bedacht zijn dat in dit boek de bacteriën centraal staan. In feite zou de titel 'Elementaire bacteriologie' moeten luiden, daar gisten, schimmels, protozoën, wieren en virussen – de laatste zijn in wezen geen micro-organismen – slechts summier behandeld worden.

Daar er in de laatste vijf jaar in de microbiologie nogal wat nieuwe ontwikkelingen hebben plaatsgevonden en nieuwe opvattingen zijn ontstaan, is het noodzakelijk geweest in deze tweede druk een aantal wijzigingen en aanvullingen in de tekst aan te brengen. Gerealiseerd moet echter worden dat door de enorme uitgebreidheid van de microbiologie als wetenschap het onmogelijk was alle ontwikkelingen te verwerken. Ik hoop echter dat de onderwerpen die nu onvoldoende aangepast zijn, bij de volgende druk meer aandacht kunnen krijgen.

Tenslotte spreek ik de wens uit dat dit boek een bijdrage zal leveren tot een beter inzicht in de moderne microbiologie.

Voor eventuele op- en aanmerkingen houd ik mij ten zeerste aanbevolen.

Dankbetuigingen

In de eerste plaats wil ik dr. J.K. Schönfeld danken, die mij van het begin af met waardevolle adviezen heeft bijgestaan.

In de tweede plaats zeg ik dank aan alle collega's die of het gehele manuscript of bepaalde gedeeltes hebben doorgelezen; dit zijn ir. A.B.G. Grever, de heer F. Jense, de heer W. Knol, drs. H. Labots, de heer W. v. Mondfrans, ir. S.J. Mulder, drs. J.G. Oostendorp, de heer H.J. Pouw, dr. W.H.P. Schreurs en dr. J. de Waart. In het bijzonder wil ik prof. dr. D.A.A. Mossel danken, die niet alleen een gedeelte van het manuscript heeft doorgelezen, maar daarnaast voor mij altijd een enorme stimulans bij het werk is geweest.

Verder wil ik dr. C. Engel, directeur van het Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek TNO, danken voor het toestaan gebruik te maken van de faciliteiten van het Instituut, in het bijzonder de medewerking van ing. F.G.B. Welten, hoofd van de afdeling Bibliotheek, Documentatie en Publiciteit en mejuffrouw L.M.H. Nieuwenhuijsen, hoofd van de afdeling Secretariaat.

Tenslotte dank ik de Uitgever voor de bijzonder prettige samenwerking.

Ten geleide vierde druk

In deze vierde druk is een aanzienlijk aantal wijzigingen aangebracht. Door de stormachtige ontwikkelingen, met name op het gebied van de moleculaire biologie en de biochemie, evolueert de microbiologie steeds meer van een 'beschrijvende' naar een 'begrijpende' wetenschap.

Hoewel in deze druk getracht is enkele van deze ontwikkelingen in de microbiologie aan te tippen, zal men al gauw moeten overstappen op meer gespecialiseerde boeken en literatuur. Dit boek moet dan ook steeds meer beschouwd worden als een brede 'klassieke' basis van de vooral niet-medische microbiologie.

De auteur werkt sinds 1983 bij Gist-Brocades te Delft

Bergschenhoek, september 1988

Ten geleide vijfde druk

In deze vijfde druk zijn de hoofdstukken Algemene microbiologie (Taxonomie van bacteriën en de Ecologie) en Levensmiddelenmicrobiologie herzien.

Zoals ook in de Ten geleide van de vorige druk is geschreven, moet men dit boek beschouwen als een brede 'klassieke' basis van de niet-medische microbiologie. Nieuwe ontwikkelingen echter worden globaal behandeld.

Bergschenhoek, mei 1994

Inhoud

Woord vooraf

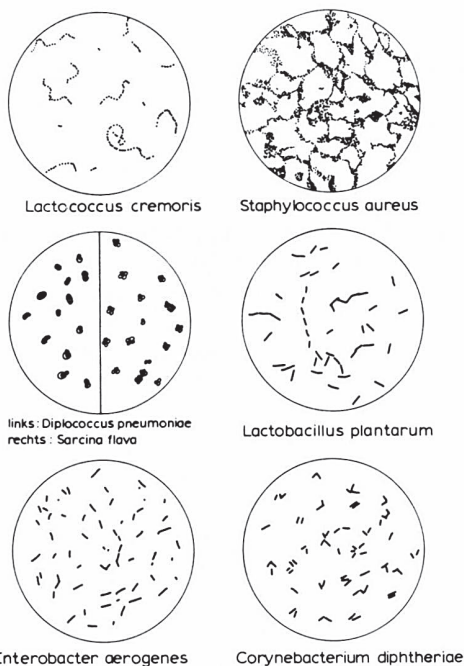
1	Inleiding	1
1-1	Werkgebied van de microbiologie	1
1-2	Historische ontwikkeling van de microbiologie	2
1-2-1	De oudheid	2
1-2-2	De microscoop	3
1-2-3	Generatio spontanea	4
1-2-4	Microbiologie als wetenschap: de pioniers Pasteur, Koch en Lister	5
1-2-5	Verdere ontwikkelingen in de microbiologie	6
2	Algemene microbiologie	10
2-1	Microscopie	10
2-1-1	Lichtmicroscopie	10
2-1-2	Donkerveldmicroscopie	12
2-1-3	Fluorescentiemicroscopie	12
2-1-4	Fasecontrastmicroscopie	13
2-1-5	Elektronenmicroscopie	13
2-2	Celbouw van het micro-organisme	19
2-2-1	Algemeen	19
2-2-2	Kern	21
2-2-3	Cytoplasma	21
2-2-4	Subcellulaire deeltjes en structuren	22
2-2-5	Cytoplasmamembraan	24
2-2-6	Celwand	25
2-2-7	Slijm laag en kapsel	28
2-2-8	Flagellen, ciliën en fimbriae	29
2-2-9	Endosporen	29
2-2-10	Virussen en viroïden	30
2-3	Morfologie	31
2-3-1	Schimmels	31
2-3-2	Gisten	33
2-3-3	Bacteriën	34
2-3-4	Protozoën	36
2-3-5	Wieren	37
2-3-6	Virussen	38
2-4	Kleuring	39
2-4-1	Principe	39
2-4-2	Enkelvoudige en differentiële kleuring	40
2-4-3	Gram-kleuring	40
2-4-4	Kleuring volgens Ziehl-Neelsen	41
2-4-5	Methyleenblauwkleuring	41
2-4-6	Andere kleuringen	41
2-5	Groei van micro-organismen	41
2-5-1	Deling van bacteriën	41

2-5-2	Groei-curve van bacteriën	42
2-5-3	Groei van andere micro-organismen	45
2-5-4	Groei van virussen	45
2-5-5	Factoren die de groei en de aanwezigheid van micro-organismen beïnvloeden	46
2-6	Metabolisme van de cel	54
2-6-1	Algemeen	54
2-6-2	Enzymen	55
2-6-3	Oxydatie en reductie	57
2-6-4	Energieleverende reacties	59
2-6-5	Biosynthetische of energieconsumerende reacties	69
2-7	Genetische aspecten	72
2-7-1	Structuur van DNA	73
2-7-2	Genetische code en eiwitsynthese	74
2-7-3	Inductie en repressie van enzymen	77
2-7-4	Replicatie van DNA	78
2-7-5	Geslachtelijke en ongeslachtelijke voortplanting	79
2-7-6	Genetische verwantschap en mutaties	81
2-7-7	Recombinatie en uitwisseling van DNA bij bacteriën	83
2-7-8	Plasmiden	85
2-7-9	Recombinant-DNA-techniek	86
2-8	Taxonomie	91
2-8-1	Algemeen	91
2-8-2	Nomenclatuur	94
2-8-3	De plaats van micro-organismen in het biologisch leven	94
2-8-4	Variaties binnen een soort	95
2-8-5	Schimmels	96
2-8-6	Gisten	98
2-8-7	Bacteriën	99
2-8-8	Protozoën	104
2-8-9	Wieren	105
2-8-10	Virussen	106
2-9	Ecologie	107
3	Microbiologische laboratoriumtechnieken	112
3-1	Zorgvuldig werken	112
3-2	Steriliseren van voedingsbodems, oplossingen, glaswerk en ander materiaal	113
3-2-1	Hittebehandeling	113
3-2-2	Bacteriefiltratie	114
3-2-3	Behandeling met ioniserende straling	115
3-3	Desinfectie en ontsmetting	115
3-4	Ophopen, isoleren en kweken	116
3-4-1	Ophopen	117
3-4-2	Isoleren	119
3-4-3	Kweken	121
3-4-4	Het aanhouden van een isolaat	123
3-5	Identificatie	124
3-5-1	Morfologisch onderzoek	125
3-5-2	Kleuring	125
3-5-3	Andere optische hulpmiddelen	126
3-5-4	Cultuuronderzoek	126

3-5-5	Fysiologisch onderzoek	127
3-5-6	Moderne identificatiemethoden	134
3-5-7	Immunologisch onderzoek	135
3-5-8	Onderzoek met DNA-probes	139
3-6	Het tellen van micro-organismen	142
3-6-1	Telling van het totale aantal kweekbare en niet-kweekbare micro-organismen	142
3-6-2	Telling van het totale aantal kweekbare micro-organismen	143
3-6-3	Het selectief tellen	149
3-6-4	Het tellen van micro-organismen in de lucht	151
3-6-5	Moderne methoden en automatisering	152
3-7	Microbiologische veiligheid	155
4	Fermentatieprocessen en biotechnologie	158
4-1	Traditioneel gefermenteerde levensmiddelen	158
4-1-1	Algemeen	158
4-1-2	Gefermenteerde melkprodukten	158
4-1-3	Gefermenteerde vleesprodukten	161
4-1-4	Brood	161
4-1-5	Gefermenteerde plantaardige produkten	162
4-1-6	Licht-alcoholische dranken	164
4-1-7	Gedestilleerde dranken	165
4-1-8	Azijn	165
4-2	Moderne industriële fermentatieprocessen	166
4-2-1	Algemeen	166
4-2-2	Micro-organismen als produkt	170
4-2-3	Microbiële afscheidingsprodukten	173
4-2-4	Microbiële omzettingen	176
4-3	Biotechnologie	177
5	Medische microbiologie	179
5-1	Parasitisme en pathogeniteit	179
5-2	Micro-organismen als ziekteverwekkers	179
5-2-1	Plaats van binnendringen	180
5-2-2	Verspreiding door het lichaam	180
5-2-3	De schade die in het lichaam wordt aangericht	180
5-2-4	Virulentie en pathogeniteit	181
5-2-5	Verspreiding van gastheer tot gastheer	181
5-3	Natuurlijke, niet-specifieke afweer tegen besmetting	182
5-3-1	Barrière van huid en slijmvliezen	183
5-3-2	Cellulaire en humorale afweer	183
5-4	Specifieke afweer tegen besmetting (natuurlijke immunisatie)	184
5-5	Bestrijding van infectieziekten	186
5-5-1	Actieve immunisatie	186
5-5-2	Passieve immunisatie	188
5-5-3	Behandeling met chemotherapeutica en antibiotica	189
5-6	Epidemiologie	194
6	Levensmiddelenmicrobiologie	198
6-1	Micro-organismen die ziekten veroorzaken	198
6-1-1	De bekendste infectieuze en toxinevormende micro-organismen	201

6-1-2	Bekende, recent ontdekte infectueuze micro-organismen	208
6-1-3	Andere, minder bekende infectueuze micro-organismen	209
6-1-4	Andere, minder bekende toxinevormende bacteriën	211
6-2	Micro-organismen die bederf veroorzaken	211
6-3	Het verduurzamen of conserveren van voedingsmiddelen	213
6-3-1	Verhitten	214
6-3-2	Koelen	221
6-3-3	Diepvriezen	222
6-3-4	Drogen en vriesdrogen	222
6-3-5	Doorstralen	224
6-3-6	Het toevoegen van chemische verbindingen	225
6-3-7	Begassen	227
6-3-8	Filtreren	228
6-3-9	Centrifugeren	228
6-3-10	Gas- en vacuümverpakken	228
6-3-11	Extreem hogedrukbehandeling	228
6-3-12	Combinaties van conserveermethoden	228
6-3-13	Challenge-tests en 'predictive modelling'	229
6-4	Microbiologische kwaliteitsborging	230
6-4-1	Algemeen	230
6-4-2	Preventieve hygiënemaatregelen	233
6-4-3	Microbiologische controles	239
6-4-4	Microbiologische grenswaarden	245
6-4-5	Bemonstering van partijen	247
6-5	Microbiële houdbaarheid van de voornaamste soorten voedingsmiddelen	252
6-6	Microbiologische en hygiënische aspecten van andere producten dan voedingsmiddelen	253
6-6-1	Voedermiddelen	253
6-6-2	Kosmetische producten en toiletartikelen	254
7	Chemische analyse met behulp van micro-organismen	255
7-1	Bepaling van aminozuren en vitaminen	255
7-2	Het aantonen van conserveermiddelen	256
7-3	Bepaling van antibiotica	257
8	Microbiologie van bodem, water en lucht	259
8-1	Kringloop der elementen	259
8-2	Water	261
8-2-1	Natuurlijke oppervlaktewateren	261
8-2-2	Zeewater	262
8-2-3	Grondwater	262
8-2-4	Biologische zuivering van afvalwater	263
8-2-5	Hygiënische zorg voor drinkwater	267
8-2-6	Hygiënische zorg voor zwemwater	274
8-3	Bodem en planten	275
8-3-1	Bodem	275
8-3-2	In symbiose levende micro-organismen	275
8-3-3	Planteziekten	276
8-4	Lucht	276

Literatuur	277
Illustratieverantwoording	281
Register	283



Afbeelding 2-17.
Celvorm van kokken en niet-sporevormende staven (naar Mossel).
Vergroting 1000x.



Afbeelding 2-18.
Celvorm van Streptomyces albus, een actinomyceet (naar Mossel).

Actinomyceten en streptomyceten

Dit zijn bacteriën die sterk vertakte cellen en mycelium vormen. Ze vertonen sterke gelijkenis met de schimmels (zie afb. 2-18).

2-3-4 Protozoën

Zoals bacteriën, gisten en eencellige wieren de eenvoudigste vorm van plantaardig leven zijn, zo worden de protozoën beschouwd als de laagste vorm van dierlijk leven. Hun afmetingen variëren van ca. 1 µm tot ca. 500 µm. Ze kunnen zich veelal zowel langs geslachtelijke als langs ongeslachtelijke weg vermeerderen.

De vormen, waarin de protozoën zich manifesteren, variëren onderling zeer sterk. Zo zijn de *ciliaten*, waaronder het pantoffeldiertje, gekenmerkt door een groot aantal trilharen (ciliën) op de cel; ze bezitten een macro- en microkern; de *flagellaten* bezitten één of enkele flagellen aan een uiteinde. De *rhizopoden*, waaronder de amoeben, hebben het vermogen om een klein gedeelte van het cytoplasma als zgn. schijnvoetjes of *pseudopodiën* te laten uitstulpen en zich daarvan te bedienen bij de voortbeweging of bij het opnemen van voedsel. Enkele rhizopoden vormen een *exo-skelet*. Sommige soorten zijn in staat zgn. *cysten* te vormen die, evenals bacteriesporen, bescherming bieden tegen ongunstige uitwendige omstandigheden. De protozoën worden dan omgeven door een sterke wand.

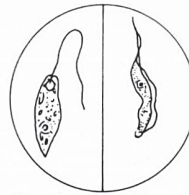
Voor de morfologie van enkele protozoën wordt verwezen naar afb. 2-19.

pseudopodiën

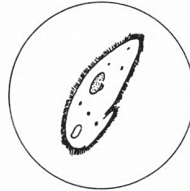
cysten



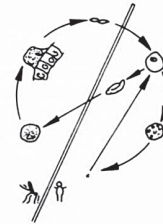
Amoeba proteus



links: Euglena gracilis
rechts: Trypanosoma gambiense



Paramecium



Malaria-cyclus
(Plasmodium vivax)

Afbeelding 2-19.
Celvorm van enige protozoën
(naar Mossel).
Vergroting 1000×.

2-3-5 Wieren

Wieren worden voornamelijk onderscheiden van protozoën, gisten en schimmels door de aanwezigheid van fotosynthetische kleurstoffen in de cel. Veel soorten zijn eencellig. Verscheidene wieren zijn beweeglijk en bezitten een of meer polaire zweepdraden. Aan de basis van zo'n zweepdraad bevindt zich een orgaan met caroteenachtige kleurstoffen, dat als licht-acceptor de bewegingen regelt of beïnvloedt.

Bij de meeste eencellige wieren geschiedt de celdeling doordat de moedercel zich in de lengterichting splitst in twee dochtercellen. Bij enkele vinden er meer delingen plaats, waardoor in de moedercel vier dochtercellen ontstaan die door openbarsting worden bevrijd.

De meeste meercellige wieren zijn onbeweeglijk en vormen in de cellen nieuwe cellen, die hetzij voor de asexuele voortplanting (*zoösporen*), hetzij voor de seksuele voortplanting (*gameten*) zorgen.

Een bijzonderheid van sommige eencellige, onbeweeglijke wieren is de aanwezigheid van een verkieselde celwand. Deze *kieselwieren* of *diatomeeën* lijken dan op een doos met een daarop passend deksel.

De blauwwieren bestaan, in tegenstelling tot de overige, uit prokaryotische cellen die evenals de bacteriën een binaire deling uitvoeren.

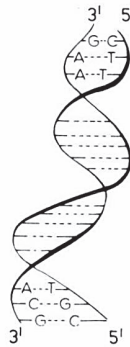
De vormen die wiersoorten kunnen aannemen, zijn net als bij de protozoën zó gevarieerd, dat ze moeilijk in het kort volledig kunnen worden behandeld.

De morfologie van enkele wieren is weergegeven in afb. 2-20.

zoösporen

Ruimtelijke structuur

Watson en Crick hebben in 1953 ten aanzien van de ruimtelijke structuur van het DNA in de cel een model voorgesteld van twee om dezelfde as draaiende helixen van polynucleotiden. Dit model kunnen we vergelijken met een wenteltrap, waarbij de twee lengteassen bestaan uit het desoxyribose en de fosfaatgroep, terwijl de treden bestaan uit twee, loodrecht op elk der lengteassen staande, heterocyclische N-verbindingen die door waterstofbindingen met elkaar verbonden zijn. Het karakteristieke is dat adenine altijd met twee waterstofbruggen aan thymine is gebonden, terwijl cytosine met drie waterstofbruggen is verbonden aan guanine. De twee polynucleotiden zijn slechts op één manier in elkaar te passen: beide ketens zijn complementair (zie afb. 2-38).



Afbeelding 2-38.
Ruimtelijke structuur van DNA naar het model van Watson en Crick. Aan het begin en het einde van een DNA-molecule zit aan de ene keten een vrij 3' OH-einde en aan de andere een vrij 5' OH-einde. De ketens hebben dus een antiparallel verloop.

2-7-2 Genetische code en eiwitsynthese

DNA

De eiwitsynthese in de cel wordt gecontroleerd door het DNA. De eiwitten die worden gebruikt als celbestanddeel of als enzym, bepalen de structuur en het metabolisme van de cel. Alle erfelijke eigenschappen zijn dus in het DNA vastgelegd.

codon

Het DNA is opgebouwd uit vier verschillende nucleotiden (afgekort T, C, A en G). Een bepaalde volgorde van drie naast elkaar gelegen nucleotiden, een *triplet* of *codon* genoemd, codeert een bepaald aminozuur.

m-RNA

Het gedeelte in het DNA dat de informatie voor het te vormen eiwit bevat, het zgn. *structurele gen*, wordt vertaald in boodschapper- of 'messenger'-RNA (m-RNA), waarbij het genoemde DNA-gedeelte als matrix dient. RNA is de Engelse afkorting voor 'ribonucleic acid' en verschilt van DNA door:

- de vervanging van d-desoxyribose door d-ribose,
- de vervanging van thymine door uracil (U),
- een kleinere molecuulmassa.

In veel gevallen bestaat RNA uit één helix in plaats van twee helixen zoals bij het DNA. Er bestaat echter ook dubbelstrengs RNA en enkelstrengs DNA.

t-RNA

startcodon

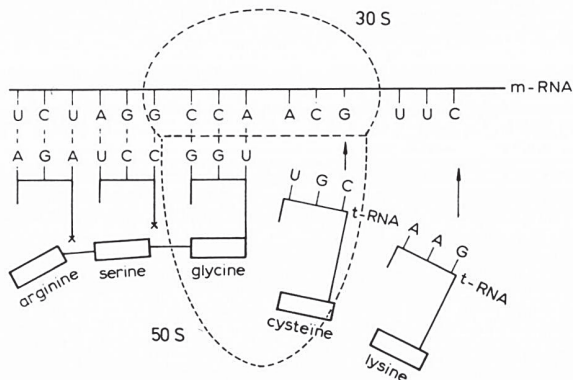
polysomen

anticodon

Bij de synthese van m-RNA is het enzym RNA-polymerase betrokken. Naast m-RNA bestaat er ook overdrachts- of 'transfer'-RNA (t-RNA), dat de – voor de eiwitsynthese benodigde – aminozuren aanvoert, alsmede ribosomen-RNA (r-RNA), dat een functie heeft bij de opbouw van ribosomen. Na de vorming van m-RNA, waarbij de volgorde van de nucleotiden in het RNA direct gekoppeld is aan die van het DNA-gedeelte, verlaat het RNA de kern of het kernmateriaal. De eiwitsynthese vindt plaats op ribosomen, die elk bestaan uit een grote subeenheid en een kleine subeenheid; elke subeenheid bestaat uit r-RNA en verschillende eiwitten. Hiertoe hecht m-RNA zich aan de kleine ribosomale subeenheid dicht bij de plaats die startcodon (AUG-codon dat voor het aminozuur methionine codeert) wordt genoemd. In bacteriën begint de aflezing voordat de synthese van het m-RNA is geëindigd. Zodoende hangen m-RNA, DNA en ribosomen aan elkaar. Als de grote ribosomale subeenheid zich aan het m-RNA- – kleine subeenheid – complex heeft gehecht, kan het t-RNA zijn werk gaan uitvoeren. Bij ieder van de twintig aminozuren behoort een specifiek t-RNA dat met behulp van enzymen aan de verschillende aminozuren wordt verbonden.

Op de ribosomen worden het m-RNA en de voor de eiwitsynthese benodigde aminozuren – elk gebonden aan een voor het aminozuur specifiek t-RNA – samengebracht. Het ribosoom schuift het m-RNA steeds verder op en bij elk volgend m-RNA-triplet wordt het corresponderende aminozuur-t-RNA-complex aangevoerd, waardoor de aminozuren in de juiste volgorde naast elkaar komen te liggen. Daarna komen de peptidebindingen tot stand (zie afb. 2-39). Aan een m-RNA kunnen zich verscheidene ribosomen bevinden. Het m-RNA-ribosomen-complex noemt men *polysomen*.

Na intensief onderzoek heeft men gevonden welk triplet met welk aminozuur correspondeert. Zo correspondeert het triplet CUC in het m-RNA met het aminozuur leucine, dat wordt aangevoerd met het t-RNA, waarin het triplet GAG (*anticodon*) aanwezig is. Het anticodon is dus het complement van het triplet of codon in het m-RNA.



Afbeelding 2-39.
Synthese van eiwit in bacteriën.

2-8-8 Protozoën

Op grond van morfologische verschillen onderscheidt men bij de classificatie van protozoën vier groepen, nl. de rhizopoden, de flagellaten, de sporozoën en de ciliaten.

Rhizopoden of wortelpotigen (klasse Rhizopoda)

De protozoën van deze groep worden gekenmerkt door het bezit van pseudopodiën of schijnvoetjes, waarmee ze zich kunnen bewegen en voortdurend van vorm kunnen veranderen. Ze kunnen overgaan in een zgn. *cyste*, die te vergelijken is met een bacteriespore. De celwand wordt dik en is o.a. bestand tegen uitdroging.

Tot deze klasse behoren de amoeben, waaronder *Entamoeba histolytica*, de verwekker van de amoeben-dysenterie.

Sommige rhizopoden bezitten kalkschaaltjes (*foraminiferen*) of kiezelpantsers (*radiolariën*) rondom het cytoplasmamembraan. Door gaatjes in deze pantsers steken pseudopodiën naar buiten.

Flagellaten of zweepdraaddiertjes (klasse Mastigophora)

De flagellaten bezitten altijd zweepdraden, die aan één eind van de cel vastzitten en voor de beweging zorgen.

Men onderscheidt twee groepen, nl. de *saprophyten* en de *pathogenen*, waaronder *Trypanosoma gambiense* en *Trypanosoma rhodiense*, de verwekkers van de slaapziekte.

Sporozoën of sporediertjes (klasse Sporozoa)

De groep der sporozoën omvat vrijwel uitsluitend parasitaire vormen, waaronder *Plasmodium vivax*, de verwekker van malaria. Deze ziekte wordt overgebracht door de steek van een mug, waarin zich een deel van de levenscyclus van de parasiet afspeelt. Deze cyclus is weergegeven in afb. 2-50.

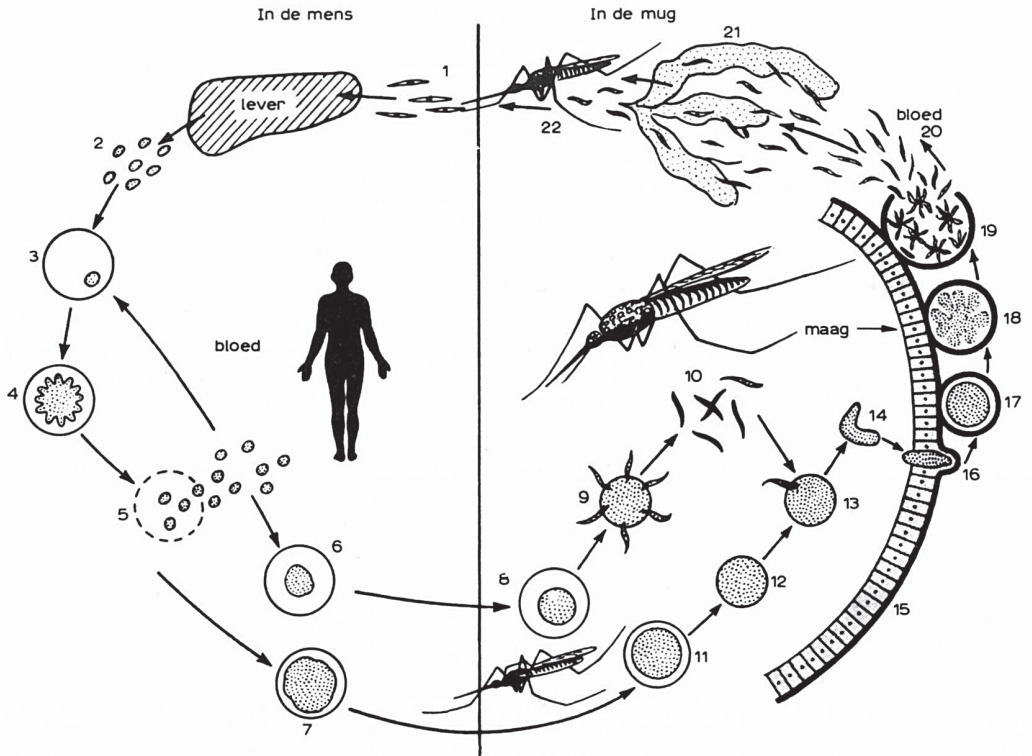
Plasmodium falciparum is de gevaarlijkste parasiet, de verwekker van malaria tropica.

Ciliaten of trilhaardiertjes (klasse Ciliata)

De ciliaten onderscheiden zich van de overige protozoën, doordat hun cellen bezet zijn met een borstelwerk van vrij korte trilharen (ciliën), die voor de beweging van de cel zorgen.

Iedere cel bevat twee verschillende kernen, een grote en een kleine, die zowel in functie als in structuur verschillen. Voorzover bekend bevat deze groep geen pathogenen. De ciliaten zijn de belangrijkste protozoën bij de zuivering van afvalwater.

De meest bekende vertegenwoordiger van deze klasse is het pantoffeldiertje, *Paramecium caudatum*.



Afbeelding 2-50.
De levenscyclus van *Plasmodium vivax*.

1 = sporozoïeten (spoelvormige parasieten); 2 = de uit de lever komende parasiet (merozoïet); 3 en 4 = in een rood bloedlichaampje (trofozoïet); 5 = het vrijkomen van de merozoïeten; 6, 8, 9 en 10 = vorming van mannelijke microgameten (geslachtelijke vorm van de parasiet); 7, 11 en 12 = vorming van vrouwelijke macrogametocyten; 13 = bevruchting; 14 = zygote; 15 = maagwand; 16 = door de maagwand heen dringende zygote; 17 t/m 20 = vorming van de sporozoïeten; 21 = speekselklier; 22 = de malariamug, die via het speeksel de sporozoïeten in het menselijk bloed brengt.

2-8-9 Wieren

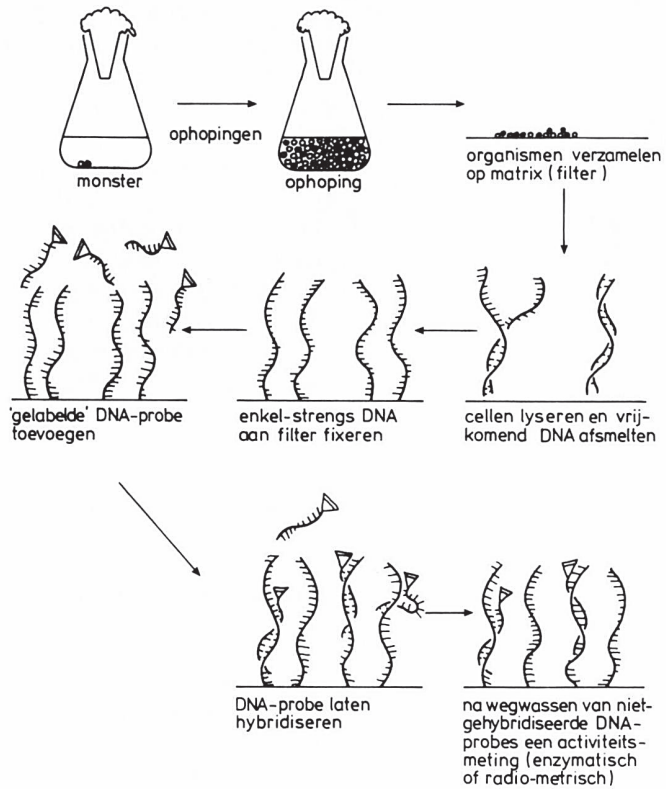
Bij de classificatie van de wieren onderscheidt men vijf groepen, nl. de blauwwieren, de groenwieren, de geselwieren, de kiezelwieren en de pantserwieren.

Blauwwieren (*Schizophyceae*)

Blauwwieren zijn, in tegenstelling tot de overige wieren, opgebouwd uit prokaryotische cellen die gewoonlijk onbeweeglijk zijn en veel overeenkomst vertonen met bacteriën. De meeste blauwwieren zijn bolvormige of staafvormige, eencellige organismen, die zich door binaire deling vermenigvuldigen. Enkele soorten, die met behulp van chlorofyl of andere verwante kleurstoffen en licht kooldioxyde assimileren, kunnen tegelijkertijd ook stikstof omzetten in celmateriaal. Deze organismen staan bekend als de meest autotrofe levensvormen.

Groenwieren (*Chlorophyta*)

Groenwieren vertegenwoordigen de grootste en de meest gevarieerde groep. Ze komen zowel in eencellige als in meercellige vorm voor, terwijl de celwand cellulose bevat. Een aantal in zoet water voorkomende, onbeweeglijke, eencellige groen-



Afbeelding 3-10.
Onderzoek met DNA-probes.

niet-radioactief gelabelde DNA-probes. Enkele mogelijkheden zijn:

- de DNA-probe wordt voorzien van met biotine gelabelde nucleotiden. Na hybridisatie met complementair DNA wordt er geïncubeerd met streptavidine (heeft een hoge affiniteit voor biotine) en een gebiotinyleerd enzym, bijvoorbeeld alkalische fosfatase. Met behulp van een geschikt chromogeen substraat treedt er een kleurreactie op;
- de DNA-probe wordt gelabeld met een hapteen die vervolgens met een anti-hapteenantilichaam door middel van een ELISA kan worden aangetoond;
- de DNA-probe wordt gelabeld met een sulfongroep. Een chemiluminescentietechniek wordt toegepast met behulp van een antilichaam-alkalisch fosfatase-conjugaat tegen dit gelabelde DNA.

DNA-polymorfisme

DNA-probes kunnen ook gebruikt worden om zgn. *DNA-polymorfisme* tussen stammen binnen een soort op te sporen. Dit gaat als volgt: bij replicatie van DNA in een micro-organisme worden weleens fouten gemaakt, bijvoorbeeld als een verkeerde base wordt ingebouwd. Als zo'n fout optreedt in een functioneel stuk DNA, kan zij ernstige gevolgen hebben. De kans is echter groter dat een dergelijke fout in een niet-functioneel stuk DNA sluipt en dan merkt men er niets van. Men noemt deze overerfbare DNA-varianties tussen stammen binnen

een soort DNA-polymorfismen. De fenotypische eigenschappen zijn dus niet veranderd.

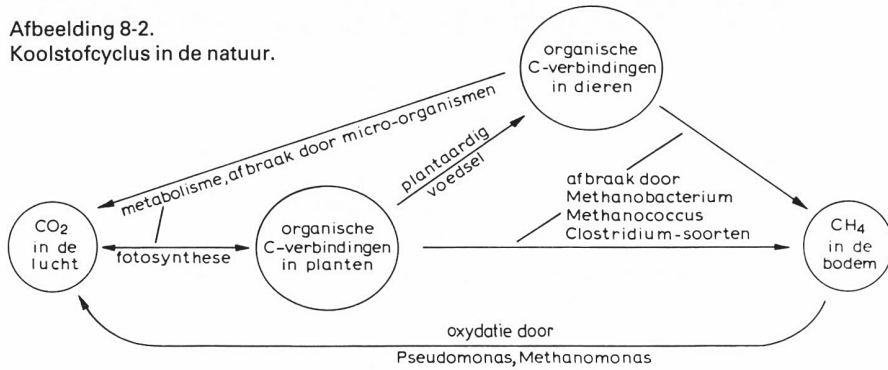
Men maakt o.a. gebruik van DNA-polymorfismen om de epidemiologische verwantschap van pathogene soorten uit verschillende bronnen aan te tonen, zoals men dat ook kan doen met sero- en faagtypering.

Om DNA-polymorfismen op te sporen, wordt gebruik gemaakt van restrictie-enzymen. Het DNA wordt eerst met behulp van een bepaald restrictie-enzym in fragmenten geknipt. Met agarose-gel-elektroferese kunnen deze DNA-fragmenten op hun lengte van elkaar gescheiden worden. Daarna worden de dubbelstrengs DNA-fragmenten met behulp van loog enkelstrengs gemaakt en uit de gel overgebracht op een drager, veelal een nitrocellulosemembraan, die het enkelstrengs DNA covalent kan binden. Deze techniek van het overbrengen van de DNA-fragmenten, zonder dat deze van plaats veranderen, wordt 'Southern blotting' genoemd. Het enkelstrengs DNA op de membraan wordt in contact gebracht met een radio-isotoop gelabelde DNA-probe, om daar met complementair DNA te hybridiseren. Nadat het niet-gebonden DNA is afgewassen, kunnen de fragmenten, die zo'n hybride bevatten, op een röntgenfilm zichtbaar gemaakt worden als bandjes van verschillende dikten. Het verschil in patronen van bandjes tussen stammen binnen één zelfde soort is nu een uiting van DNA-polymorfismen. Dit komt omdat de DNA-variantie, bij een knipplaats van het gebruikte restrictie-enzym, tot verlies leidt van die knipplaats (er ontstaat een groter fragment) of tot een extra knipplaats (er ontstaat een kleiner fragment).

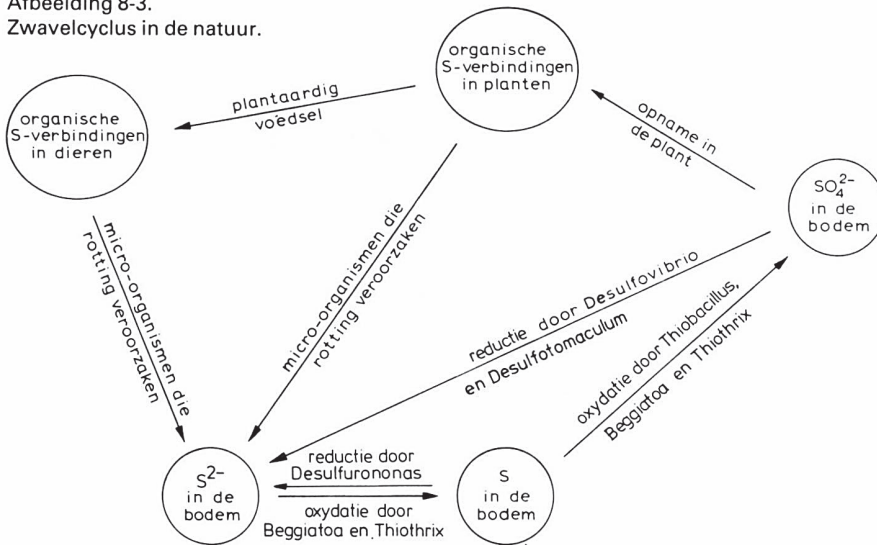
Het succes van deze methode wordt bepaald door de keuze van het restrictie-enzym en de DNA-probe die op verschillende plaatsen op de membraan moet hybridiseren met de DNA-fragmenten van verschillende lengten. De geschiktheid van de DNA-probe hangt dus af van de mate waarin repeterende DNA-sequenties in het DNA opgespoord kunnen worden. Een groot deel van de DNA-probes is gebaseerd op de sequenties in het ribosomaal RNA. De aanwezigheid van goed functionerende ribosomen is essentieel voor het overleven van micro-organismen. Vandaar dat de genen die coderen voor het ribosomale RNA, op het chromosoom liggen en vaak in meer kopieën aanwezig zijn om de stabiliteit te bevorderen.

Deze techniek om polymorfismen op te sporen wordt ook wel Fragment Lengte Polymorfisme (RFLP) genoemd. Hiermee kan men dus binnen een soort bepaalde genotypische variaties (genotypen) onderscheiden, als een welkome aanvulling op de fenotypische typeersystemen voor epidemiologisch onderzoek.

Afbeelding 8-2.
Koolstofcyclus in de natuur.



Afbeelding 8-3.
Zwavelcyclus in de natuur.



respiratie

waarbij lichtenergie wordt omgezet in chemische energie, en de ademhaling of respiratie - een complement van de fotosynthese - waarbij alle dieren en aërobie micro-organismen de vrijkomende energie gebruiken voor hun levensprocessen.

Een klein gedeelte van de organische stoffen ontsnapt aan bovengenoemde kringloop, doordat het ingesloten wordt door fijne sedimenten, in moerassen of in stagnerend water. Door gebrek aan zuurstof kan de normale ademhaling niet plaatsvinden, waardoor een reeks van alternatieve microbiële afbraakprocessen van de organische stoffen in gang wordt gezet.

In de eerste plaats kunnen denitrificerende micro-organismen met nitraat (als elektronenacceptor) organische stoffen oxyderen wanneer geen of onvoldoende zuurstof aanwezig is. Er wordt dan naast koolzuur en water stikstofgas gevormd, terwijl de energie wederom voor een groot deel gebruikt wordt voor de vorming van nieuwe micro-organismen.

Wanneer het nitraat niet meer toereikend is, komen bij steeds sterkere reducerende omstandigheden de sulfaatredu-

cerende micro-organismen op gang en oxyderen met sulfaat (als elektronenacceptor) organische verbindingen. Ze vormen naast koolzuur en water, sulfide en nieuwe micro-organismen.

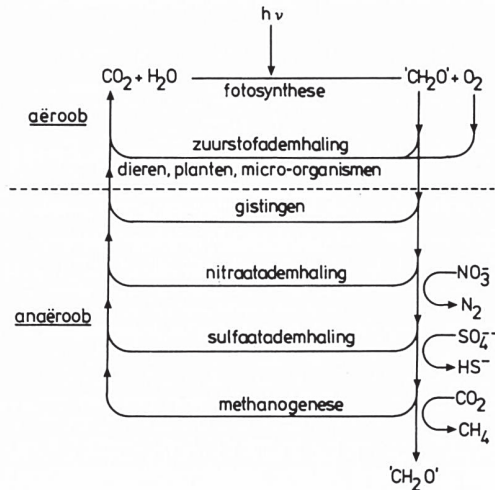
Tenslotte komen als laatste de anaërobe methaanbacteriën aan de beurt, die uit organische verbindingen methaangas en koolzuur vormen met daarnaast een relatief geringe hoeveelheid nieuwe micro-organismen.

Behalve de anaërobe ademhaling treden ook bacteriële gistingen (fermentaties) op. Zoals reeds eerder vermeld zijn dit omzettingen waar geen *externe* oxydatoren (elektronenacceptor) voor nodig zijn, maar die toch voldoende energie aan de cel leveren. Fermentaties vormen belangrijke schakels in de voedselketen van de 'chemocline' omdat de eindproducten andere bacteriën weer tot voedsel dienen. Zo ontstaat dus een ingewikkeld netwerk van voedselketens, waarbij anaërobe ademhaling en fermentatie op subtiele wijze verweven zijn (afb. 8-4).

chemocline

Afbeelding 8-4.

De 'Chemocline' (Westbroek et al. 1983)*. In de chemocline gebruiken micro-organismen achtereenvolgens zuurstof, nitraat, sulfaat en kooldioxyde als 'elektronenacceptor' voor de ademhaling. Koolhydraten ('CH₂O') worden uiteindelijk geoxydeerd tot CO₂ en de elektronenacceptoren gereduceerd tot resp. water, stikstofgas, hydrosulfide (HS⁻) en methaan (CH₄). Naar beneden toe in het schema zijn de omstandigheden steeds sterker reducerend. Bepaalde gespecialiseerde micro-organismen kunnen gistingen uitvoeren. Ook dat zijn omzettingen van organische verbindingen waarbij energie vrijkomt, echter zonder gebruik van externe elektronenacceptoren.



* Natuur en Techniek 51 (1983).

8-2 WATER

8-2-1 Natuurlijke oppervlaktewateren

Stromende beken, rivieren en meren die niet zijn of worden vervuild door huishoudelijk of industrieel afval, bevatten betrekkelijk weinig micro-organismen. In dat geval zijn in het algemeen chemo-organotrofe (saprofytische) micro-organismen, die ook in de grond voorkomen, aanwezig, zoals *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* en *Micrococcus*. Deze kunnen zich in dit water handhaven dank zij de aanwezigheid van een geringe hoeveelheid organische stoffen. De fotoautotrofe organismen zullen door gebrek aan organische stof de overhand hebben. Wordt de concentratie aan organische