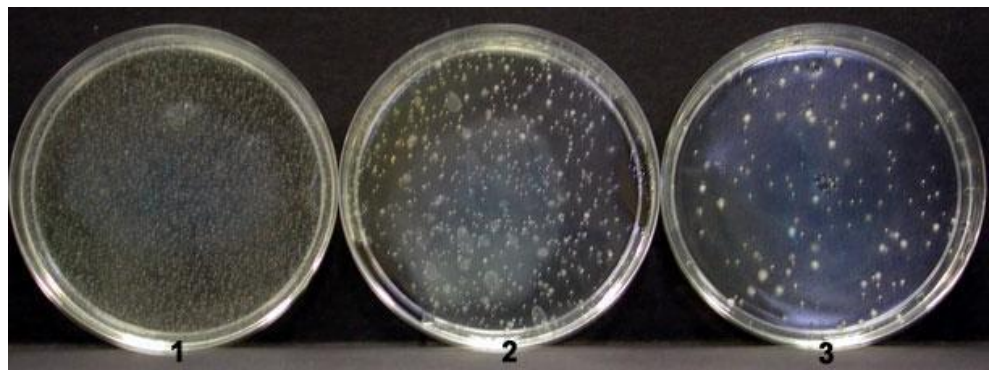


NOLA EBATZI MIKROBIOLOGIAREN GAINEKO ALDERDI PRAKTIKOAK

5. INOKULUAREN TAMAINAREN KALKULUA

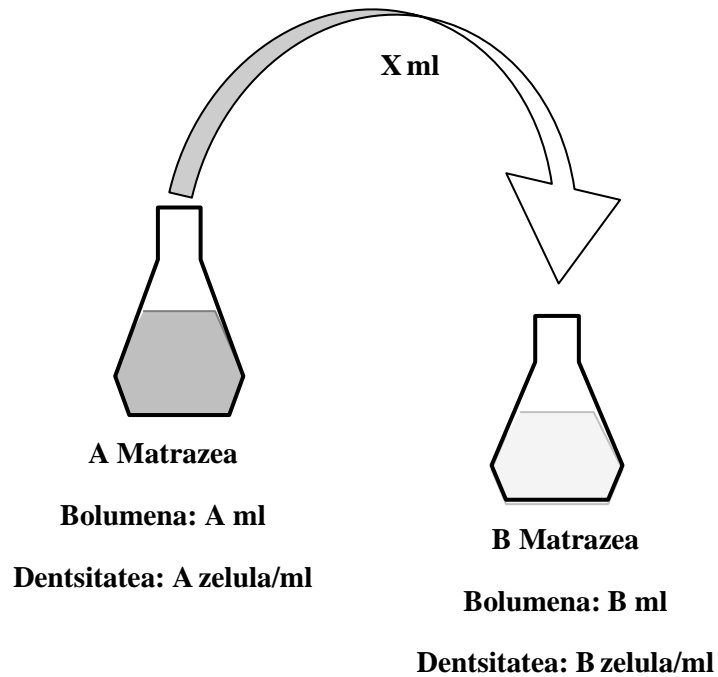


Inés Arana, Maite Orruño eta Isabel Barcina

Immunologia, Mikrobiologia eta Parasitologia Saila
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea

5. INOKULUAREN TAMAINAREN KALKULUA

Askotan beharrezkoa da hasierako bakterio-dentsitatea jakitea; adibidez, mikroorganismo baten hazkuntzaren ezaugarriak ezagutzeko edo konposatu jakin bat industrian ekoizteko.



A zelula/ml duen kultura batetik abiatuta, X ml pasatzen dira B kulturara, horrela B matrazean mikroorganismo-dentsitatea B zelula/ml-koa izatea lortzen dugu. A eta B kulturen dentsitatea eta inokulatutako bolumena jakinez gero, edozein problema ebatzi dezakegu.

Problema hauek ebazteko orduan, oso garrantzitsua da hurrengo kontuan hartzea: B matrazea 100 ml-koa bada eta dentsitatea 10^6 zelula/ml-koa, guztira 10^8 zelula egongo dira matrazean (dentsitatea x bolumena). Zelula hauek guztiak X ml-tan gehitu dira. Orain informazioa hau A matrazearen dentsitatearekin erlazionatu behar dugu.

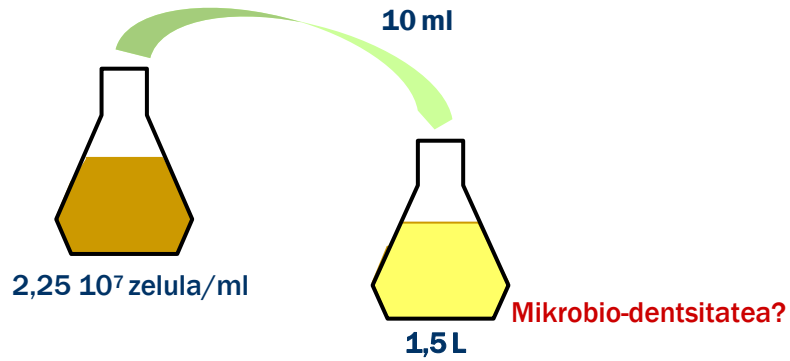
Eskema hau jarraituz, erraz ebatziko ditugu hurrengo problemak:

5.1. $2,25 \cdot 10^7$ zelula/ml duen kultura batetik abiatuta, 1,5 litro hazkuntza-medio esterila duen matrazea inokulatzen da. 10 ml transferitzen badira, zein izango da bakterio-dentsitatea matrazean?

- 5.2.** B matrazeak 250 ml hazkuntza-medio dauka. Bakterio-dentsitatea matraze honetan $4,5 \cdot 10^6$ mikroorganismo/ml-koa da. Dentsitate hau lortzeko matrazea A esekiduraren 500 μl -rekin inokulatu zen. Zein zen A esekiduraren bakterio-dentsitatea?
- 5.3.** $3,2 \cdot 10^9$ zelula/ml duen kultura batetik hasita, 2 litro hazkuntza-likido esteril duen matrazea inokulatu nahi dugu, $4,2 \cdot 10^4$ zelula/ml-ko dentsitatea lortzeko. Zein izan behar da inokuluaren bolumena?
- 5.4.** $8,9 \cdot 10^{11}$ zelula/ml duen esekidura bat prestatu dugu. Esekidura honetatik abiatuta, 200 ml hazkuntza-likido esteril duen matrazea inokulatu nahi dugu, $1,7 \cdot 10^4$ zelula/ml-ko dentsitatea lortzeko. Transferitutako bolumena 100 μl bada, zeintzuk dira prestatu behar izan ditugun diluzioak?
- 5.5.** A matrazeak bakterio kultura bat dauka (baziloak). Bakterio-dentsitatea matraze honetan $2 \cdot 10^9$ mikroorganismo/ml-koa da. Matraze honetatik hasita, 250 ml hazkuntza-likido duen B matrazea inokulatu nahi dugu, $1,8 \mu\text{g K/ml}$ -ko biomasa lortzeko. Zein izan behar da inokuluaren bolumena? ($L = 1,5 \mu\text{m}$, $Z = 0,5 \mu\text{m}$ eta $F = 126 \cdot 10^{-10} \text{ mg K}/\mu\text{m}^3$).

PROBLEMAK EBAZTEKO PROPOSAMENAK

5.1. Dentsitatea?

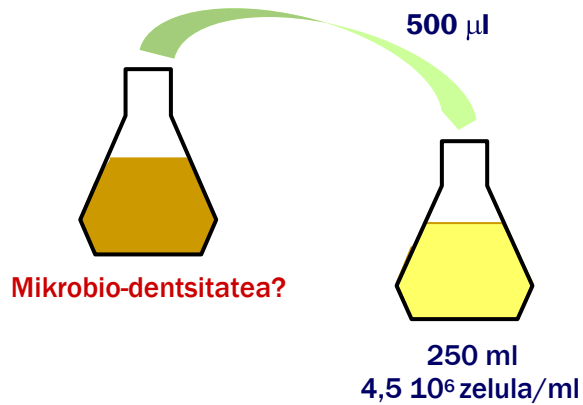


$2,25 \cdot 10^7$ zelula \longrightarrow 1 ml
A zelula \longrightarrow 10 ml

A = $2,25 \cdot 10^8$ zelula pasatu dira

$$\frac{2,25 \cdot 10^8 \text{ zelula}}{1500 \text{ ml}} = \mathbf{1,5 \cdot 10^5 \text{ zelula/ml}}$$

5.2. A esekiduraren dentsitatea?

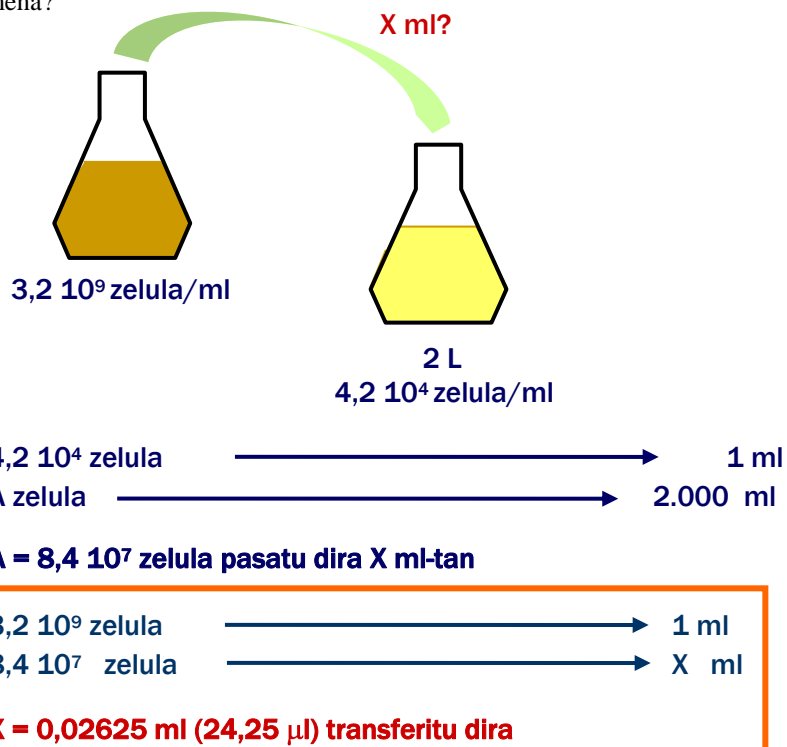


$4,5 \cdot 10^6$ zelula \longrightarrow 1 ml
A zelula \longrightarrow 250 ml

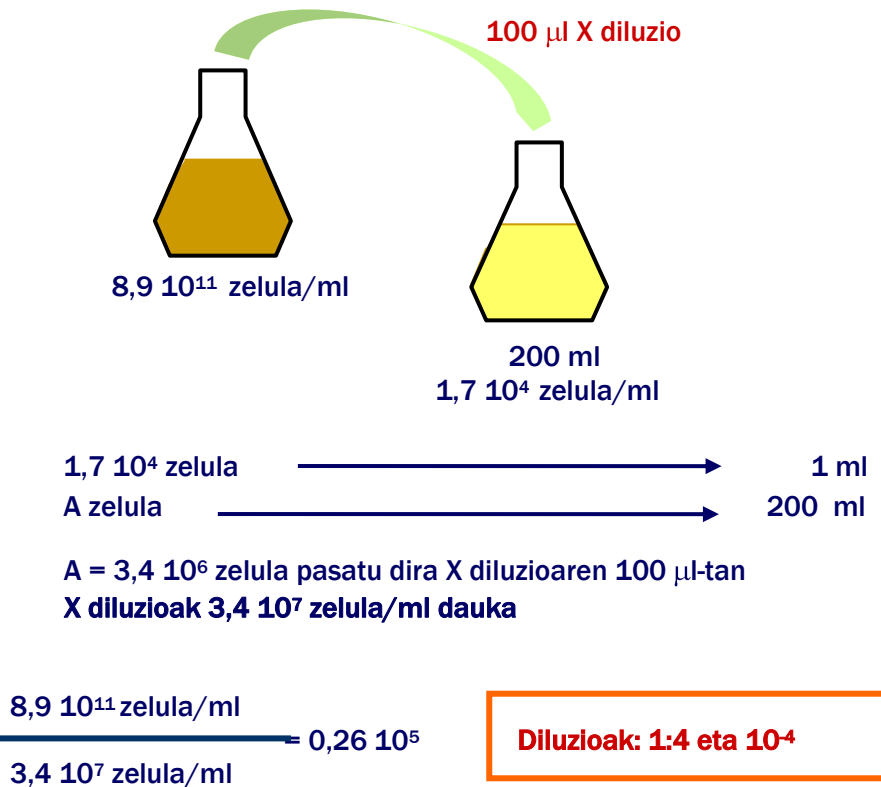
A = $1,125 \cdot 10^9$ zelula pasatu dira 500 µl-tan

$$\frac{1,125 \cdot 10^9 \text{ zelula}}{0,5 \text{ ml}} = \mathbf{2,25 \cdot 10^9 \text{ zelula/ml}}$$

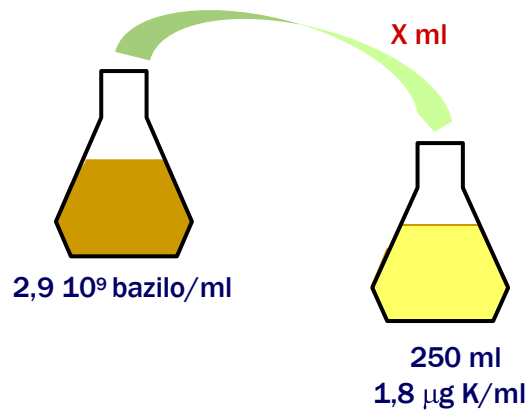
5.3. Inokuluaren bolumena?



5.4. Diluzioa?



5.5. Diluzioa?



$$\text{Biobolumena} = Z^2 \pi/4 (L - Z/3) = 0,2618 \mu\text{m}^3/\text{zelula}$$

$$1,8 \cdot 10^{-3} \text{ mg K/ml} = \text{Zelula/ml} \times 0,2618 \mu\text{m}^3/\text{zelula} \times 126 \cdot 10^{-10} \text{ mg K}/\mu\text{m}^3$$

$$5,5 \cdot 10^5 \text{ zelula/ml}$$

$$\begin{array}{ccc} 5,5 \cdot 10^5 \text{ zelula} & \longrightarrow & 1 \text{ ml} \\ \text{A zelula} & \longrightarrow & 250 \text{ ml} \end{array}$$

$$A = 1,36 \cdot 10^8 \text{ zelula pasatu dira X ml-tan}$$

$$\frac{2,9 \cdot 10^9 \text{ zelula/ml}}{1,36 \cdot 10^8 \text{ zelula/ml}} = 0,21 \cdot 10^2$$

1:5 eta 10^{-2} diluzioen ml bat