

Hvor er det flest bakterier; toalettsetet, vanddispenseren eller mobiltelefonen?

Denne teksten er ment som inspirasjon for lærere på grunnskole- og videregående nivå og bør sees på som en liten «hvordan» i forhold til å samle, dyrke og telle bakterier.

Innledning og litt teori:

Bakterier finnes i store mengder på og rundt oss. Faktisk er det svært få steder i biosfæren hvor bakterier ikke eksisterer. Selv planter og dyr som mennesker har et mikrobiom – det vil si en populasjon av symbiotiske bakterier på huden vår og på slimhinnene som finnes i kjønnsorganene og fordøyelsessystemet.

Noen bakterier finnes for eksempel mange steder. E.coli lever i tarmsystemet og finnes derfor på menneskelig hud i armhulene, på hendene og i ansiktet. Andre bakterier, som de ekstremofile, finnes bare på spesielle steder med et ekstremt miljø, for eksempel på innsiden av vulkanske kratere, dypt nede i innlandsisen eller i dyphavet ved varme kilder.

Fordi vi ikke kan se bakteriene med det blotte øye, har vi mennesker ofte en feil oppfatning av hvilke steder det er flere bakterier enn andre steder. Samtidig har vi også en idé om at alle bakterier er farlige, men det er bare ca 3 % av

bakterieartene som kan forårsake sykdom og bare 1 % som faktisk alltid gjør det.

Hvis du vil teste hvor høy bakterietettheten er på et objekt, er det flere forskjellige måter dette kan gjøres på. Først samles bakteriene fra den aktuelle gjenstanden, deretter dyrkes de på en agar og til slutt telles de.

Når du dyrker bakterier på en agar – som bokstavelig talt er bakteriell mat – deler de enkelte bakteriene seg igjen og igjen og blir en synlig koloni med mange genetisk identiske bakterier. Hvis du har spredt de opprinnelige bakteriene jevnt og tynt på en agarplate, kan du anta at hver koloni stammer fra en enkelt bakterie. Antall bakteriekolonier på agarplaten tilsvarer da antall opprinnelige bakterier.

En enkel måte å undersøke og sammenligne antall bakterier fra forskjellige overflater på er ved å samle bakterier fra overflaten, spre dem ut på en agar, dyrke dem og telle koloniene.

Øvelsen nedenfor viser hvordan dette kan gjøres.

Sikkerhet:

Ved alt arbeid med bakterier skal elevene bruke frakk og hansker.

Etter inokulering med bakterier på agarplatene må de forsegles med tape og håndteres for å forhindre at væsker som inneholder bakterier lekker ut av petriskålene. Det vil si at når du må telle koloniene, gjøres det uten å åpne petriskålen igjen.

Hvis du søler bakterieholdig materiale på deg selv eller andre, må du først vaske området med vann og såpe eller bruke etanol 93 %. Vask hendene grundig med lunket vann og såpe etterpå. Klær må vaskes på minst 60° C.

Etter øvelsen pakkes alle petriskålene med bakteriekulturer i et dobbelt lag plastpose (2 poser) knytes igjen, og eventuelt legges i en bøtte som kan forsegles og sendes til forbrenning i restavfallet. Denne bøtta kan også

brukes til brukte vattpinner, bomullspinner etc. samt petriskåler med vekst. Du kan med hell gi elevene noen A3-papir som arbeidsbord for å minne dem på at dette er potensielt farlig å jobbe med. Husk å vaske hendene og desinfisere bord etter endt arbeid.

Materialer:

Bakterier fra overflater
 016610 Petriskål i plast Ø 90 mm, pk a 20
 800940 PCA - agar i flaske, 250 ml/ 800738
 Agar på flaske, kjøttpepton, 250 ml
 048550 Bomullspinner i tre, 200 stk og/eller
 048601 Podenål i plast med 10 µl øye, pk a 48
 Fysiologisk saltvann (0,9%), steril (Små ampuller beregnet for kontaktlinser kan brukes her)
 050610 Drigalskispattel, glass
 014490 Dråpeteller i plast 1 ml, pk a 500 eller
 automatisk pipette med spisser
 005210 Spritbrenner glass
 827000-4 Alkohol
 086071 Latekshansker, medium, pudderfri, SemperGuard pk a 100
 078690 Pinsett i plast, pk a 100
 053970 Nålebøtte
 591200 Tape
 A3 papir
 Linjal /144000 skyvelær
 067020 Varmeskap eller en pappeske som kan lukkes

Forberedelse:

Bruk ferdigstøpte petriskåler med enten PCA- eller kjøttpeptonagar. Det kan være lurt for skoleelever eller elever med litt dårlig hånd-øye-koordinasjon å ikke gjøre agarlaget i petriskålen for tynt. Drigalskispattel kan være et vanskelig instrument å håndtere.

Høsting av bakterier:

Hvis du vil undersøke bakterier fra overflater som toalettseter, mobiltelefonastaturer, tastaturer, dørhåndtak osv., må bakteriene samles opp med en våt bomullspinne.

Du fukter en bomullspinne med 3 dråper fysiologisk saltvann og deretter tørker du overflaten du vil høste bakterier fra grundig.

Du fukter en steril bomullspinne med sterilt fysiologisk saltvann og stryker deretter grundig overflaten du vil høste bakterier fra.

For å overføre de høstede bakteriene fra vattpinnen til en ferdigstøpt petriskål, tar man på seg en hanske (ny for hver gang), tilsetter ca. 3-4 dråper sterilt fysiologisk saltvann på vattpinnen og presser væske fra vattpinnen ned på agaren i den ferdigstøpte petriskålen. Du trenger 1 dråpe til inokulering på agaren. Legg lokk på petriskålen og oppbevar den til neste trinn.

Øvelsen:

Når bakterier er samlet og slurvet i 3 dråper fysiologisk saltvann, er du klar til å spre bakteriene på en agar i en petriskål.



1. Ta den ferdigstøpte petriskålen med agar og skriv navnet ditt på bunnen av skålen og hele veien langs kanten. Skriv også hvor bakteriene ble høstet fra, etc. toalettsete, mobiltelefon etc. Sett den til side til den skal brukes. Det er lurt å gi elevene et A3-ark som «arbeidsplass».
2. Steriliser Drigalski-spatelen med spritbrenneren. Det er spesielt nede i trekanten at spatelen skal varmes opp i ca. 20 sekunder. Ha spatelen i hånden og vent til den er helt avkjølt. En varm Drigalski-spatel dreper alle bakterier den berører, og kan til og med fordampe væsken som inneholder bakterier slik at de blir luftbårne og det er fare for å puste dem inn.

3. Fjern lokket fra petriskålen med agar. Ha 1 god dråpe av den bakterieholdige væsken (fra bomullspinnen) over midten av agaren i petriskålen.
4. Fordel væsken ved å skyve den rundt over overflaten av agaren med Drigalspatelen. Pass på at du ikke berører kanten av petriskålen med slikkepotten. (Årsaken til dette er at den bakterieholdige væsken da danner en kant langs kanten av skålen, som gir mye bakterievekst langs kanten - dvs. langt unna antibiotikablettene). NB: Legg **ikke** Drigalskispalten ned – ha den i hånden.
5. Legg lokk på den inokulerte petriskålen og vent ca. 5 minutter så væsken rekker å 'sette seg' på agaren.
6. Steriliser Drigalspatelen grundig igjen før du skyver den rundt på overflaten. Igjen kan det være lurt å bare vente til den er avkjølt.
7. Teip petriskålene og sett den i et varmeskap på 30 °C . Bollen skal plasseres med bunnen opp slik at eventuell kondens ikke legger seg på agaren og hemmer veksten av bakterier. La petriskålene ligge i varmeskapet i 2-3 dager før avlesing. Det er lurt å holde et øye med hvor massiv veksten er på agaren og når tiden er inne for å avslutte øvelsen.
8. Har du ikke noe varmeskap tilgjengelig, kan du legge petriskålene i en god solid pappeske og la den stå på et trygt sted (skap) i romtemperatur. Det skapes et mikromiljø i pappesken slik at bakteriene kan vokse. Det tar dem vanligvis bare 1-3 dager lenger. Når du vurderer at det er tilstrekkelig bakterievekst på

agaren, noter resultatene fra øvelsen. Når det vurderes at det er tilstrekkelig bakterievekst på agaren, leses øvelsen. De enkelte koloniene må være synlige og ennå ikke så store at de flyter sammen med nabokolonier og ikke kan telles.

NB. Hvis det har vært mange bakterier på overflaten som bakteriene ble høstet fra, kan det være så mange kolonier på agaren at de enkelte bakteriene ikke kan telles. I de større klassene kan dette håndteres ved å lage tynne rader.

9. Ta på hansker og ta petriskålene ut av varmeskapet/pappesken og legg dem tilbake på A3-papirbordet. Petriskålen må ikke åpnes eller vippes, men må holdes horisontal. Bakteriekoloniene telles nå enten gjennom lokket eller via bunnen av bollen. Det er litt av et vurderingsspmå spørsmål hvor de er tydeligst og lettest å telle. Tellingen gjøres ved å ta en permanent berøring og sette en prikk ved siden av hver bakteriekoloni når den telles, slik at du aldri vil telle de samme koloniene flere ganger. Bruk diagrammet nedenfor for resultatene.
10. Siden innsamlingen av bakterier og tilsetting av fysiologisk saltvann og spredningen på agarplaten er standardisert, er det mulig å sammenligne resultatene direkte. Du må imidlertid huske at bare fordi det er mange bakterier på ett sted, er det ikke nødvendigvis farlige bakterier.

Resultatevaluering:

- Det kan være en idé å la elevene diskutere antall, opprinnelse og eventuelt farlighet til bakteriene som er dyrket.
- Hvor kommer bakteriene på mobiltelefonen fra og hvor farlige er de for andre mennesker og deg selv?
- Kan noe gjøres for å redusere antall bakterier på de undersøkte overflatene?



Innsamlingssted			
Antall bakteriekolonier på agaren			
Hvordan kom bakteriene på den undersøkte overflaten?			
Hvor farlige er disse bakteriene for mennesker?			
Hva kan gjøres for å begrense antall bakterier på denne overflaten?			