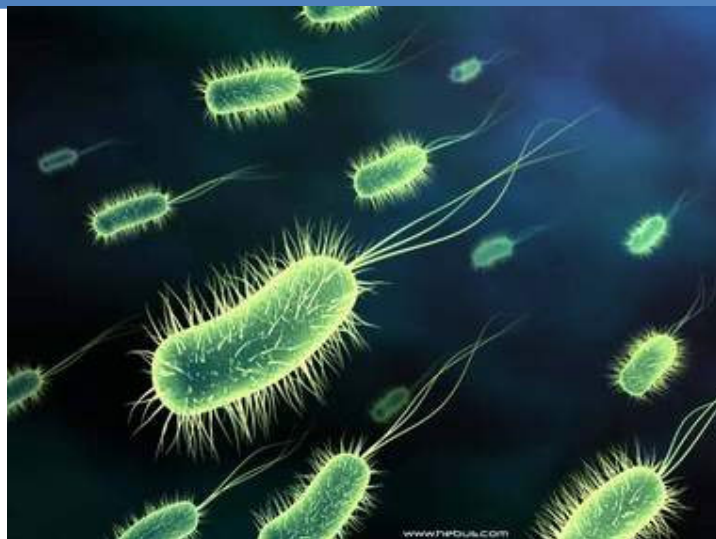


Mikrobiologiske analyser ved bruk av petrifilm

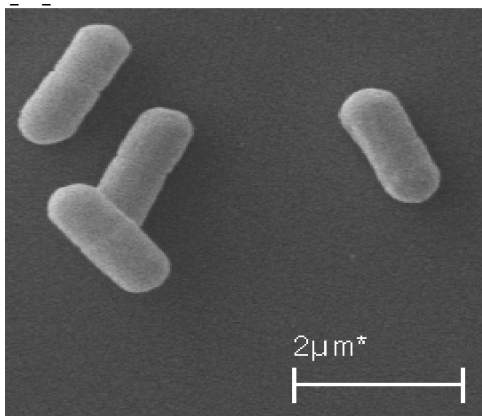


Institutt for Kjemi Bioteknologi og
Matvitenskap
Universitet for Miljø og Biovitenskap,
Ås Laget av Geir Mathiesen

Mikrobiologiske analyser ved bruk av petrifilm

I denne øvelsen skal vi undersøke hvor det er mest/minst bakterier i omgivelsene rundt oss. Bakterier er av de mest suksessfulle organismer som finnes på jorden i dag. Man kan finne bakterier fra de største havdyp til de høyeste fjell. Til og med vi mennesker har mange bakterier inne i oss. Det finnes over tusen ulike bakteriearter i tarmen vår og disse er helt avgjørende for at vi skal overleve. Enkelte bakterier har en gunstig effekt på vår helse, disse blir kalt probiotiske. Man tror at disse bakteriene kan gi oss beskyttelse mot andre skadelige bakterier eller sykdom (f.eks kreft).

Andre bakterier kan imidlertid være sykdomsfremkallende og svært farlige for oss mennesker. De fleste av disse bakteriene kan enkelt drepes med antibiotika. Det er dette som gjøres hvis du får en bakterieinfeksjon. Imidlertid er det et økende problem at noen av disse bakteriene har blitt motstandsdyktige (resistente) mot de fleste typer antibiotika. Dette skyldes delvis at antibiotika i dag benyttes unødvendig mye. Hvis antibiotika benyttes for mye eller feil (f.eks ved at du ikke fullfører antibiotikakuren du har fått) kan det føre til at det oppstår resistente sykdomsfremkallende bakterier som ikke kan bekjempes med antibiotika.



Figur 1. Elektronmikroskopibilde av melkesyre bakterien *Lactobacillus plantarum* som kan isoleres fra tarmen hos de fleste mennesker. Denne bakterien regnes for å ha probiotiske effekter på oss mennesker. (Foto Lasse Fredriksen)

Elevøvelse

I denne øvelsen skal vi lete etter bakterier i/på oss selv og i omgivelsene rundt oss for finne ut hvor det er mest/minst bakterier. Bakterier er som kjent usynlige for oss mennesker, så for å kunne synliggjøre bakteriene må vi dyrke dem på et næringsmedium til de blir mange nok til at vi kan se dem. Til dette benytter vi noe som kalles Petrifilm. Petrifilmen består av en tynn film som inneholder næring som bakteriene kan leve av.

Er det områder i våre omgivelser det er spesielt mye bakterier, og er det noen steder det finnes flere bakterier enn andre steder? Kan vi finne mange bakterier på/i kroppen vår? Finnes det bakterier som er motstandsdyktige(resistente) mot antibiotika i våre omgivelser eller på/i kroppen vår? Dette er spørsmål vi skal forsøke å besvare denne øvelsen.

Fremgangsmåte

Materialer

Tusj/blyant

Petrifilm med og uten antibiotika

Q-tips

Varmeskap (ikke et absolutt krav)

Dag I

Start med å formulere hypoteser f.eks "Det er flere bakterier på dørhåndtaket inn til toalettet enn ut", "Det er flere bakterier i munnen enn på fingeren"

1. Bestem deg for et område i omgivelsene hvor du tror det er **MANGE** bakterier.
 - a. Skriv øverst på petrifilmen; ditt navn(eller gruppenr.)+ "navn" på område du vil sjekke. Eks: Morten Mikrobe, dørhåndtak ut fra toalettet.

2. Bestem deg for et område hvor du tror det er FÅ bakterier.
 - a. Merk filmen på samme måte som i punkt 1.
3. Merk en petrifilm med "Munn"+navn
4. Merk en petrifilm med "Finger uvasket" og en annen med "Finger såpe", husk også å merke dem med navnet ditt
5. Merk to petrifilmer som det er antibiotika i med navn og prøvested. Benytt disse petrifilmene på samme sted som to av prøvene over.
6. Hver gruppe/person skal nå ha merket 7 petrifilmer
7. Bakteriene overføres til petrifilmen under punkt 1 og 2 på følgende måte (læreren vil demonstrere dette).
 - a. Løft opp den øverste filmen (topp filmen som er gjennomsiktig), trykk så bunn filmen (gule ruter) på området du vil undersøke.
8. Munnprøven tar du på følgende måte. Stikk en Q-tips inn i munnen (tunge, tenner eller mellom kinnet og tennene), rull den rundt et par ganger. Åpne så petrifilmen og rull Q-tipsen rundt på bunn filmen for å avsette bakteriene fra munnen din. Husk å notere hvor i munnen du tok prøven.
9. Fingerprøvene; trykk en finger ned på petrifilmen som du merket under punkt 4 (Finger uvasket). Vask så hendene dine i såpe, og gjenta det samme med samme finger på petrifilmen merket "Finger såpe".
10. Nå har du tatt alle prøvene, da må bakterien få tid til vokse. Dette gjør du ved å oppbevare petrifilmen ved 37 °C til dagen etter (hvis du inkuberer ved romtemperatur bør prøvene stå i minst 4-5 dager).

Dag II

Bakterier som nå har vokst opp på petrifilmen vil være røde. Dette fordi Petrifilmen inneholder et fargestoff som farger bakteriene.

11. Merk tabellen under med prøveområde

Prøve område							
Antall bakterier per cm^{2A}							
Antall bakterier per m^2							

12. Tell antall bakterier i flere firekanter og før inn gjennomsnitt antallet inn på riktig sted i tabellen.

- a. Noen prøver kan gi veldig mange bakterier, del da den gule ruten i 2 eller 4 like store deler før du teller.

^AEn gul rute har et areal på 1 cm^2

Diskusjon av resultatene

- Hvilket område i omgivelsene fant du mest bakterier?
 - Stemte dette med hypotesen din, hvorfor/hvorfor ikke?
 - Hvor tror disse bakteriene kommer fra?
- Hvilket område i omgivelsene var det minst bakterier?
 - Stemte dette med hypotesen din, hvorfor/hvorfor ikke?
- Fant du mest bakterier i munnen eller på fingeren din?
 - Hvorfor tror du det er slik?
 - Hvorfor har vi så mange bakterier på disse stedene?
- Lag en ny tabell og fyll resultat til de andre gruppene inn i tabellen
 - Hvor ble det funnet mest/minst bakterier? Prøv å forklare resultatet
 - Hvor mange bakterier er det per m², på området med minst og mest bakterier? Gi svaret i 10'er potens
- Ble alle bakteriene borte når du vasket hånda?
 - Hva kan man gjøre for å fjerne alle bakteriene fra hånda di?
- Fant du noen antibiotikaresistente bakterier?
 - Hvorfor er det så få antibiotikaresistente bakterier i omgivelsene?
 - Gjør det noe om slike bakterier finnes?
- I dette forsøket har du analysert antall bakterier på ulike steder, tror du alle bakteriene på stedet vokste på næringsmediet du benyttet? Begrunn svaret

Lærer manual

Forberedelser til forsøket:

- Tilsett 1 ml sterilt vann(eventuelt tilsatt antibiotika^B) til papiret(med gule firkanter), legg deretter film ned igjen og prøv og spre vannet jevnt utover.
- Vent deretter minst to timer på at gelen blir fast, før du benytter dem i forsøket.
- Eventuelt ferdig preparert petrifilm kan lagres i kjøleskap inntil 14 dager

Prøvesteder

Forsøk å få elevene til å velge prøve steder med omhu, slik at de kan sette opp en hypotese på forhånd?

F.eks er det flere bakterier på dørhåndtaket ut fra toalettet enn inn? Sammenlign jente/gutte toalettet? Sier eventuelle forskjeller noe om hygiene etter dobesøk mellom kjønnene?

Bakterie prøver fra munn kan eventuelt tas, før og etter tannpuss

Andre forslag; PC-tastatur, pålegg, huden, gulvet, jord

Utvidelse av forsøket kan være overføre noen av bakteriene til flytende medium (dette kan kjøpes) og dyrke dem over natt(30-37°C) eller noe lengre ved romtemperatur. Deretter lage ett mikroskopisk preparat og sjekke utseende(morfologien) til bakteriene(er de kokker, staver osv) og eller Gram-farge dem.

^B Løs 0,1 g ampicillin per 10 ml vann (10 mg/ml)

