

Hvor er der flest bakterier; toiletbrættet, vandautomaten eller mobiltelefonen?

Denne lille tekst kan fungere som inspiration til undervisere i udskolingen eller gymnasiet og skal ses som en lille 'how to' i forhold til indsamling, dyrkning og tælling af bakterier.

Indledning og lidt teori: Bakterier findes i store mængder på og omkring os. Det er faktisk meget få steder inden for biosfæren der ikke findes bakterier. Selv planter og dyr som mennesker har et mikrobiom – altså en population af symbiotiske bakterier på vores hud og på de slimhinder, der findes i vores kønsorganer og fordøjelsessystem.

Nogle bakterier findes mange steder f.eks. E.coli der lever i tarmsystemer og derfor findes bl.a. på menneskers hud i armhulen, på hænderne og i ansigtet. Andre bakterier som ekstremofile findes kun særlige steder med ekstremt miljø såsom på indersiden af vulkankrater, dybt nede i indlandsisen eller i dybhavet ved varme kilder.

Fordi vi ikke kan se bakterierne med det blotte øje, har vi mennesker ofte en forkert opfattelse af hvilke steder der er flere bakterier end andre steder. Samtidig har vi også en ide om at alle bakterier er farlige, men det er kun ca. 3 % af bakteriearter der kan give sygdom og kun 1 % der rent faktisk altid gør det.

Fun fact: Der er væsentlig højere bakterietæthed i en nylavet hundelort end i en menneskelig mundhule, men... det er alligevel sundere for et menneske at bide i en nylavet hundelort end at kysse et andet menneske. Det skyldes at der er flere potentielt farlige bakterier i en mundhule hos et andet menneske – altså bakterier der kan give os sygdomme – end i den nylavede hundelort.

Hvis man ønsker at teste hvor høj bakterietætheden er på en genstand er der flere forskellige måder dette kan gøres på. Først indsamles bakterierne fra den pågældende genstand, derefter dyrkes de på en agar og til sidste tælles de.

Når man dyrker bakterier på en agar – der bogstaveligtalt er bakteriemad – så deler den enkelte bakterie sig igen og igen og bliver til en bunke af mange genetisk identiske bakterier. Fagudtrykket for en sådan bunke er en koloni. Har man spredt de oprindelige bakterier jævnt og tyndt ud på en agarplade kan man antage at hver koloni stammer fra en enkelt bakterie. Antallet af bakteriekolonier på agarpladen svarer så til antallet af oprindelige bakterier.

En simpel måde at undersøge og sammenligne antallet af bakterier fra forskellige overflader på, er ved at indsamle bakterier fra overfladen, sprede dem ud på en agar, dyrke dem og tælle kolonierne.

Øvelsen herunder viser hvordan dette kan gøres.

Sikkerhed: Under alt arbejde med bakterier skal eleverne bære kitler og handsker.

Efter podning med bakterier på agarpladerne skal de forsegles med tape og håndteres så man undgår at væsker indeholdende bakterier løber ud af petriskålene. Dvs. når man skal tælle kolonierne gøres det uden at petriskålen genåbnes.

Spilder man bakterieholdigt materiale på sig selv eller andre, skal man først vaske stedet med kold vand og sæbe, og bagefter enten vaske hænder i en Rodalonopløsning eller spritte dem af. Tøj skal vaskes ved mindst 60 ° C.

Efter øvelsen pakkes alle petriskålene med bakteriekulturer i et dobbelt lag plasticpose (2 poser) hvor der bindes knuder for, og deponeres i en spand der kan forsegles, og

sendes til forbrænding. Denne spand kan også anvendes til brugte pødepinde, vatpinde etc. samt petriskåle med vækst.

Man kan med held give eleverne et par stykker A3 papir som arbejdsbord for at huske dem på at det her er potentielt farligt at arbejde med. Husk at vaske hænder og spritte borde af efter endt arbejde.

Materialer:

016610 Petriskåle Ø90 mm
 800940 PCA agar / 800738 Kødpepton agar
 048550 Sterile engangsvatpind
 Fysiologisk saltvand (0,9%), sterilt (Små ampuller beregnet til kontaklinser kan fint anvendes her)
 016610 Petriskåle Ø90 mm - tom
 014490 Lille engangspipette eller automatpipette med spidser
 005210 Spritbrænder
 827000-4 Sprit og eller Rodalon
 086071 Handsker
 050610 Drigalskispattel
 053970 Kanylespand
 591200 Tape
 A3 papir
 Permanent marker
 067020 Varmeskab eller en papkasse man kan lukke

Forberedelse: Hav støbte petriskåle med enten PCA eller kødpepton agar parat. Der skal være én støbt agar til hver overflade eleverne ønsker at tjekke. Det kan være en god ide til udskolingselever eller elever med en lidt dårlig hånd-øje koordination ikke at lave agarlaget i petriskålen for tyndt. Drigalskispattel kan være et svært instrument at håndtere.

Høstning af bakterier:

Vil man undersøge bakterier fra overflader så som toiletsæder, mobiltelefonastatur, tastatur, dørhåndtag etc. så skal bakterierne indsamles med en våd vatpind.

Man gør en vatpind fugtig med 3 dråber fysiologisk saltvand og så svaber man overfladen, man vil høste bakterier fra, grundigt. For at overføre de høstede bakterier fra vatpinden til en tom petriskål, tager man en handske på, kommer 3 ekstra dråber fysiologisk saltvand på vatpinden og masserer vatpinden mellem to fingre inden man klemmer væske fra vatpinden over i den tomme petriskål. Man skal bruge ca. 1 dråbe bakterieholdig væske til podning på agaren, så 3 dråber vil være nok til en petriskål med agar. Sæt låg på den tomme petriskålen og gem den til bakterievæsken skal bruges.



Øvelsen: Når bakterier er indsamlet og opslemmet i 3 dråber fysiologisk saltvand er man klar til at sprede bakterier ud på en agar i en petriskål.

1. Tag petriskålen med agar og skriv navn på bunden af skålen helt ude langs skålens kant. Skriv også hvor bakterien er høstet fra, etc. toiletsæde, mobil e.lign. Sæt skålen til side til den skal bruges. Det er en god ide at give eleverne et stykke A3 papir som 'arbejdsplads'.
2. Steriliser Drigalskispattel ved hjælp af spritbrænderen. Det er især nede i trekanten spatlen skal varmes i ca. 20 sekunder. Behold spatlen i hånden og vent til den er helt afkølet. En varm Drigalskispattel dræber alle bakterier den rører ved, og kan oven i købet fordampe væsken indeholdende bakterier så de bliver luftbårne og der opstår fare for at man indånder dem. Derfor: hav tålmodighed og vent til spatlen er kold.
3. Tag låget af petriskålen med agar den indsamlede bakterie skal podes på.

Overfør 1 god dråber af den bakterieholdig væske til midten af agaren i petriskålen med en plastpipette.

4. Fordel væsken ved at skubbe den rundt over agarens overflade med Drigalskispåtlen. Sørg for ikke at røre petriskålens kant med spåtlen. (Grunden til dette er at den bakterieholdige væske så lægger sig som en rand langs skålens kant, hvad der giver meget bakterievækst langs kanten hvor de enkelte kolonier ikke kan tælles.
5. Læg **ikke** Drigalskispåtlen ned – bliv ved med at have den i hånden.
6. Sæt låg på den podede petriskål og vent ca. 10 min. så væsken får tid til at 'sætte sig' på agaren. Hvorefter petriskålen kan vendes med bunden i vejret.
7. Tape petriskålene til og sæt den ind i et varmeskab ved ca. 30 °C. Skålen skal stå med bunden op så evt. kondensvand ikke lægger sig på agaren og hæmmer bakteriernes vækst. Lad petriskålene stå i varmeskabet i 2-5 dage inden aflæsning. Det er en god ide at hold lidt øje med hvor massiv vækst der er på agaren og time afslutning af øvelsen derefter.
8. Har man ikke et varmeskab til rådighed, så kan man komme petriskålene ind i en god solid papkasse og lade den stå et sikkert sted i et lokale med stuetemperatur. Der skabes et mikromiljø i papkassen så bakterierne nok skal vokse. Det tager dem oftest bare 1-2 dage længere. Når man vurderer at der er tilstrækkelig bakterievækst på agaren aflæses øvelsen. De enkelte kolonier skal være synlige og endnu ikke så store at de flyder sammen med nabo kolonier og ikke kan tælles

NB. Hvis der har været rigtig mange bakterier på den overflade bakterierne er høstet fra kan der komme så mange kolonier på agaren at de enkelte

bakterier ikke kan tælles. Det kan man ved de større klasser håndtere ved at lave fortyndingsrækker.

9. Tag handsker på og tag petriskålene ud af varmeskabet/papkassen og sæt dem igen på arbejdsbordet af A3 papir. Petriskålen må ikke åbnes eller tiltes, men skal holdes vandret. Bakteriekolonierne tælles nu enten gennem låget eller via bunden på skålen. Det er lidt et vurderingsspørgsmål hvor de er tydeligst og lettest at tælle. Tællingen foregår ved at man tager en permanent touch og sætter en prik ved hver bakteriekoloni når den tælles, så kommer man aldrig til at tælle de samme kolonier flere gange. Brug skemaet herunder til resultaterne.
10. Idet indsamlingen af bakterier, opslemningen i fysiologisk saltvand og spredningen på agarpladen er foregået standardiseret, kan man direkte sammenligne resultaterne. Man skal dog huske at bare fordi der er mange bakterier et sted, er det ikke nødvendigvis farlige bakterier.

- Det kan være en idé at lade eleverne diskutere antallet, oprindelsen og evt. farligheden af de bakterier der er dyrket.
- Hvor kommer bakterierne på mobil telefonen fra og hvor farlige er de for andre mennesker og en selv?
- Kan man gøre noget for at formindske antallet af bakterier på de undersøgte overflader?



Indsamlingssted			
Antal bakteriekolonier på agaren			
Hvordan kom bakterierne på den undersøgte overflade?			
Hvor farlige er de her bakterier mon for mennesker?			
Hvad kan man gøre for at begrænse antallet af bakterier på den her overflade?			