



Säkerhetsaspekter på praktiskt arbete med biologi i skolan

Mikroorganismer

med undantag av genetiskt modifierade organismer (GMM)

1. Introduktion

Mikroorganismer har stor betydelse för hälsa och sjukdom – vissa används vid tillverkning av mat, läkemedel och andra biotekniska produkter, medan andra kan ge svåra infektioner. Det är viktigt att det finns en god kunskap hos alla om mikroorganismernas betydelse. I detta sammanhang är skolans roll betydelsefull.

I skolans biologiundervisning används bakterier, strålsvampar (aktinomyceter), cyanobakterier, mikrosvampar exempelvis jäst och mögel, samt mikroalger och encelliga djur. Även arbete med virus och cellkulturer av växt- och djurceller kan förekomma. Dessa grupper kallas i Arbetarskyddsstyrelsens föreskrift [Mikrobiologiska arbetsmiljörisker – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet, AFS 2005:1](#) för biologiska agens.

Det finns många spännande och intressanta försök att göra med mikroorganismer i skolan för att få en praktisk tillämpning inom områden som celllära, evolution, medicin, livsmedel och miljövård. Många mikroorganismer är enkla att arbeta med, men det är viktigt att vara medveten om riskerna med mikrobiologiskt arbete.

2. Arbetsmiljöverket

På Arbetsmiljöverket hemsida, www.av.se, finns information om regler och risker vid arbete med mikroorganismer. Följande reglerar arbete med mikroorganismer:

[Mikrobiologiska arbetsmiljörisker – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet, AFS 2005:1](#) och [Minderårigasarbetsmiljö AFS 2012:3. AFS 2005:1](#) innehåller bl.a. regler för hur biologiska agens ska hanteras. Här finns också en förteckning över biologiska agens indelade i olika skyddsklasser.

3. Riskbedömning

Det övergripande ansvaret för att laborativt arbete kan genomföras på ett säkert sätt vilar på skolläda-ningen. Riskbedömning ska göras för allt laborativt arbete och ska omfatta hela arbetssituationen.

I skolan arbetar lärare som har olika kompetens inom det naturvetenskapliga området. Det är därför viktigt att definiera vilka kunskaper om mikroorganismer och sterilteknik som lärare behöver för att kunna genomföra praktiskt, mikrobiologiskt arbete på ett sådant sätt att säkerheten inte äventyras. Hur riskerna bedöms beror också på lokalernas utformning och vilken utrustning som finns på skolan, samt av elevernas kunskap och förmåga. En generell möjlighet att definiera elevernas kompetens är att utgå från ålder/år i skolan. Det är också viktigt att läraren bedömer att den allmänna arbetssituationen i en klass är tillfredsställande och gör det möjligt att genomföra ett visst försök.

4. Kompetensnivåer

Nedanstående indelning i tre kompetensnivåer för lärare/elever är en hjälp för skolläda-ning och en-skilda lärare att bedöma vilken typ av arbete med mikroorganismer som är lämpligt att genomföra. Se vidare avsnitt 11 och 12 för exempel på arbete som är lämpligt för olika kompetensnivåer.

Kompetensnivå 1

Arbete med organismer som innebär en mycket liten eller ingen känd risk. Arbetet kan utföras av lärare utan särskild träning i mikrobiologiskt arbete.

Kompetensnivå 2

Arbete som kan utföras av naturvetenskapligt utbildade lärare med en kort, enklare utbildning i att hantera mikroorganismer och som arbetar med elever fr.o.m. skolår 6.

Kompetensnivå 3

Lärare ska ha goda praktiska och teoretiska kunskaper om bakterier och sterilteknik. Mikrobiologiskt arbete på nivå 3 kräver en institution med lämplig utrustning. Eleverna ska ha nått gymnasienivå.

5. God mikrobiologisk praxis

God mikrobiologisk praxis kan tjäna som grund för allt arbete med biologiska ämnen. Det innebär ett arbetssätt som går ut på att undvika spridning och exposition av biologiska agens bl.a. genom att iaktta renlighet och god ordning, hantera kulturer i slutna kärl, inte munpipettera eller göra annat som innebär att biologiska agens kan hamna i munnen, undvika bildning och spridning av aerosoler, använda skyddskläder inom men inte utanför arbetsområdet, begränsa tillträde för obehöriga samt ha en olycksberedskap och säker avfallshantering.

5.1 Praktiska anvisningar vid mikrobiologiskt arbete

1. Bänkytorna i laborationssalen ska vara resistent mot vatten syror, alkalier, lösningsmedel, desinfektionsmedel och vara lätta att rengöra.
2. Skyddskläder som skyddar gångkläder skall användas inom men inte utanför arbetsområdet.
3. Undvik ringar, armband, löst hängande hår och annat som kan försvåra god hygien och bidra till smittspridning.
4. Håll god ordning på arbetsplatsen och var renlig.
5. Rutiner för hantering av spill, olycka/tillbud skall finnas. Utspillda bakteriesuspensioner torkas upp med 70 % etanollösning.
6. Lösningar med bakterier destrueras med 70 % etanollösning alternativt jodopax. (Jodopax med en ursprunglig halt av 5% jod späds 1:100.)
7. Handtvättanordningar ska finnas i laborationssalen. Tvätta händerna med flytande tvål och engångshanddukar. Använd vid behov desinfektionsmedel före och efter arbete med mikroorganismer.
Kommentarer: desinfektionsmedel som innehåller glycerin kan inköpas som förhindrar uttorkning av huden. Mikroorganismer kan tillväxa i vissa desinfektionsmedel och tvålar. Det är därför lämpligt att använda en typ av förpackningar som inte släpper in luft utan faller ihop allteftersom de töms.
8. Det är viktigt att inte utsätta sig för risker genom att få in mikroorganismer i munnen, d.v.s. att inte munpipettera, röka, snusa, slicka etiketter, anbringa kosmetika, dricka eller äta i samband med mikrobiologiskt arbete.
9. Undvik bildning och spridning av aerosoler, spill och stänk. T.ex. skall medier i pulverform hantearas i dragskåp om det finns risk för att inandas luftburna partiklar.
10. Använd slutna kärl vid arbete med kulturer av mikroorganismer.
11. Vid odling av sporbildande mögelsvampar är spridningsrisken stor och det är viktigt att vidta särskilda åtgärder mot spridning av sporer. För bakterier gäller att det är större risk för spridning vid arbete med sporbildande bakterier.
12. Vid flambering av t.ex. en rackla är risken stor att spritlösningen som racklan doppas i antänds. Detta kan inträffa om racklan är alltför varm när den doppas i spritlösningen. Se till att det finns ett lock till kärlet med sprit som kan användas för att kväva elden.

13. Rutiner för hantering av avfall skall finnas. Tillgång till autoklav krävs eller annan tillfredsställande möjlighet till dekontaminering. Var noga med att iaktta de säkerhetsregler som gäller vid autoklivering och överlåt inte autoklivering till elever.

6. Organismer och odlingsförhållanden

6.1 Riskklasser

I AFS 2005:1 finns en förteckning över organismer i riskklasserna 2, 3 och 4. Endast organismer som hör till riskklass 1 är lämpliga att använda i skolan, se följande exempel:

- *Bacillus megaterium*
- *Bacillus subtilis*
- *Escherichia coli* K12
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Micrococcus luteus*
- *Saccharomyces cerevisiae*
- Arkéer, t.ex. *Halobacterium* sp

6.2 Inköp av organismer

Organismer som köps in till en skola ska komma från en pålitlig källa, t.ex. företag som saluför mikroorganismer eller mikrobiologisk institution. En dokumentation och riskbedömning ska medfölja organismen. Alternativt görs riskbedömningen på skolan av någon som har tillräckliga kunskaper.

6.3 Inkubering

Inkubering ska göras så att elever inte på egen hand kan komma åt odlingarna under och efter inkuberingen. Helst ska inkuberingen ske på annat ställe än i klassrummet.

6.4 Anaerob odling

Anaerob odling ska undvikas om det inte gäller odlingsförsök med jäst och småskalig produktion av biogas. I en Winogradsky-kolonn bildas en partiellt anaerob miljö, men ett sådant försök är acceptabelt ur säkerhetssynpunkt.

6.5 Ympning

Vid ympning av en större volym flytande kultur ska ca 20 % av den totala odlingsvolymen tillföras i form av en aktivt tillväxande kultur. Ett sådant förfarande innebär att eventuella skadliga mikroorganismer konkurreras ut av den stora massan önskade organismer.

6.6 Odling av växtceller och animala celler

Vid försök med växtcellsodling förekommer växthormoner som kan vara toxiska och i vissa fall carcinogena. Beredning av koncentrerade lösningar görs av kompetent personal. De svaga lösningar som hanteras av elever vid växtodlingsförsök medför inga risker.

Arbete med animala celler rekommenderas inte i skolan. Om arbete med animala celler förekommer måste det finnas garantier för att cellerna är fria från patogener.

7. Sterilisering och desinfektion

Metoder för sterilisering/desinfektion:

1. Arbetsbänkens yta desinficeras med 70 % etanol (T-sprit kan användas).
2. Se till att medier och odlingskärl är steriliserade innan uppodling av mikroorganismer sker. (Arbetskyddsstyrelsen har bestämmelser för tryckkärl.)
3. Glasvaror kan steriliseras i torr värme vid 160°C i två timmar. Kärlets öppningar kan täckas med t.ex. aluminiumfolie inför steriliseringen.
4. Ympnålar med metallögla steriliseras genom glödning i gaslåga.

5. Racklor doppas i 95 % etanol och antänds. (Se 5.1.12 för säkerhetsrisk i samband med flambering.)
6. Utspillda lösningar med bakterier torkas upp med 70 % etanol.
7. Lösningar med bakterier destrueras med 70 % etanol eller jodopax. (Jodopax med en ursprunglig halt av 5 % jod späds 1:100.)

8. Förvaring av organismer och medier

Bakterier kan förvaras infrysas i ca – 20°C. Infrysning av en bakteriekultur kan göras i t.ex. eppendorfrör i en blandning av 50 % glycerol och 50 % bakteriesuspension. Bakterier kan också förvaras i kylskåp på snedagarrör med åtskruvat skruvlock alternativt som utstryk på plattor. Bakterier som på detta sätt förvaras i kylskåp ska omympas minst var tredje månad och odlingarna kontrolleras så de inte blir kontaminerade. En ytterligare möjlighet är att använda skruvlocksror där bakterier kan överleva under lång tid genom instick i djupagar. Det är lämpligt att göra i ordning ett flertal renkulturer samtidigt och hämta bakterier från en ny renkultur varje gång som en uppodling inför elevförsök ska göras.

Medier kan förvaras i tillslutna flaskor i rumstemperatur. Kontrollera att mediet inte infekterats. Agarplattor förvaras i plastpåsar.

9. Avläsning av resultat och avfallshantering

Se till att plattor med okända mikroorganismer försluts med tejp innan inkubering sker och sedan inte öppnas av elever.

Alla plattor eller vätskekulturer som innehåller okända bakterier ska avdödas. Avdödning ska i första hand ske genom autoklivering. En möjlighet är att i stället hålla på ett effektivt desinfektionsmedel. (Använd 10% jodopax, om jodopax avfärgas har den desinficerande effekten upphört. Hantera jodopax i ventilerat skåp.) Ett alternativ är att lämna plattor som riskavfall.

Det är inte nödvändigt att avdöda kulturer från skyddsklass 1 innan de kastas eller desinficera sådant material som varit i kontakt med organismer från skyddsklass 1. Plattor med klass 1-organismer kan läggas i dubbla plastpåsar som försluts och sedan kastas i vanliga sopor. Vätskekulturer med klass 1-organismer kan hållas ut i vasken.

Genetiskt modifierade mikroorganismer (GMM) som används i undervisning måste avdödas även om de tillhör skyddsklass 1. Undantag gäller endast om det finns tillstånd från Kemikalieinspektionen för utsläpp av GMM.

10. Arbete på olika kompetensnivåer

Det är viktigt att välja lämpliga organismer och odlingsförhållanden vid arbete på de olika kompetensnivåerna.

Kompetensnivå 1

Lämpliga organismer att arbeta med är mikroorganismer som används för matproduktion t.ex. jäst, samt bakterier som används för yoghurttillverkning. Mikroorganismerna får endast odlas på material där de växer naturligt exempelvis bröd, mjölk, ost och yoghurt.

Kompetensnivå 2

Arbete kan utföras som kan medföra viss risk för att skadliga mikroorganismer odlas upp, men där risken minimeras genom ett genomtänkt val av organismer eller miljö varifrån organismerna hämtas.

Organismer från skyddsklass 1 kan användas under förutsättning att stammarna inte hålls i kontinuerlig odling och omympas. Om möjligt ska organismer med avvikande miljökrav som t.ex. hög salt- halt, lågt pH eller låg temperatur väljas. Medier med lågt pH eller hög salthalt selekterar för bakterier med speciella miljökrav och hämmar tillväxt av andra bakterier. En extrem miljö är dock ingen fullständig garanti för att undvika patogena bakterier. T.ex. kan medium med hög salthalt användas för att selektera för *Staphylococcus aureus*.

Organismer kan uppodlas från olika miljöer med undantag av sådana miljöer där det eventuellt förekommer skadliga mikroorganismer, exempelvis toaletsitsar och kroppsytor andra än fingrar/händer. Kulturer med okända mikroorganismer försluts före inkubation och öppnas sedan inte mer.

Odling av organismer kan ske på agarmedier eller motsvarande flytande medier som har en enkel sammansättning av näringsämnen. Medier som selekterar för organismer som är potentiellt patogena för människan, exempelvis blodagar ska inte användas.

Organismerna odlas alltid i slutna kärl.

11.3 Kompetensnivå 3

Arbete som innebär att kända svampar och bakterier från skyddsklass 1 ympas om och hålls i odling kan utföras. Det är viktigt att kunna arbeta säkert så att inte odlingar kontamineras och okända mikroorganismer av misstag odlas upp. På denna nivå kan försök med varierat innehåll utföras. Eleverna bör ha nått gymnasienivå.

Bilaga 1

Exempel på arbete med mikroorganismer i skolan

Några exempel på olika typer av mikrobiologiskt arbete i skolan, som graderats i kompetensnivåer beskrivs nedan. Först ges en kortfattad beskrivning av försöket och därefter följer en kommentar.

1. Försök med svamp inklusive jäst

a) **Kompetensnivå 1**

Försök med jäst som t.ex. bakning, bildning och uppsamling av koldioxid.

a) **Kompetensnivå 1**

Odling av matsvamp som växer på substrat som t.ex. toalettpappersrullar.

b) **Kompetensnivå 2**

Identifiering av olika grupper/arter av svampar.

c) **Kompetensnivå 2**

Test av antibiotikaproduktion från svampmycel.

Kommentar till b) och c):

Om svampsporer bildas utgör detta en hälsorisk och hanteringen skall anpassas så att sporer inte sprids i lokalen. Destruktion krävs om odlingen inte är mycket liten.

2. Produktion med hjälp av mikroorganismer

Exempel på försök med odling av mikroorganismer för produktionsändamål:

a) **Kompetensnivå 1**

Framställning av yoghurt eller annan syrad mjölkprodukt.

b) **Kompetensnivå 1**

Framställning av surkål.

c) **Kompetensnivå 2**

Produktion av biogas.

d) **Kompetensnivå 2**

Produktion av enzymer med hjälp av t.ex. *Bacillus subtilis*.

Kommentar:

Det är inte lämpligt att äta produkter som tillverkats i en laboratoriesal. Om man ska kunna äta t.ex. yoghurt eller surkål ska tillverkningen ske under goda hygieniska förhållanden och i en sådan lokal och med sådana redskap som är avsedda för livsmedelstillverkning.

Vid produktion av biogas används växtmaterial som ympas med välnedbruten kompost – gödsel ska inte användas.

Uppodling av mikroorganismer i större skala innebär kompetensnivå 3.

3. Mikroorganismers utseende och biokemiska egenskaper studeras

Kompetensnivå 2 eller 3

Organismer från skyddsklass 1 används för att studera olika egenskaper genom färgningar/mikroskopstudier och biokemiska undersökningar.

Kommentar:

Dessa försök är i första hand lämpade för gymnasienivå. Om bakterier omympas och hålls i odling gäller kompetensnivå 3.

Halobacterium sp., hör till arkéer. Den odlas i höga salthalter, upp till mättad saltlösning, och i temperaturen 40-42°C. Kolonier och flytande kulturer har en tydlig rosa/röd färg. Odlingförhållanden och koloniernas utseende gör att risken för kontamination förhindras vilket är fördelaktigt vid arbete med mikroorganismer i skolan.

4. Uppodling av okända mikroorganismer från olika miljöer

Kompetensnivå 2

Odling av mikroorganismer hämtade från människokroppen eller ytor i omgivningen, som t.ex. från den egna huden, bänkytor, dörrhandtag, äpplen, vindruvor m.m. Uppodling av mikroorganismer som får falla ner på en agaryta från luften.

Kommentar:

I dessa fall odlar man upp okända mikroorganismer vilket medför krav på destruktions genom autoklavering eller behandling med desinfektionsmedel. Kulturer kan också skickas som smittförande avfall.

Odlingarna försluts med ett par tejpbitar innan inkuberingen. Om plattorna tejpas igen fullständigt finns det risk för att det bildas kondens som förstör odlingarna. För att hindra att elever öppnar plattorna kan de tejpas igen fullständigt inför avläsningen.

Bakterier ska inte hämtas från miljöer där det är sannolikt att det förekommer patogener exempelvis toalettsitsar och från andra ställen av huden än fingrar/händer.

Renodling av mikroorganismer med utgångspunkt i en naturlig blandning av mikroorganismer från människokroppen eller omgivningen ska inte göras.

5. Undersökning av bakteriehalt

Kompetensnivå 3

Undersökning av totalantal bakterier och eventuellt antal koliforma bakterier i livsmedel, vatten och jord.

Kommentar:

Vid undersökning av bakteriehalt i livsmedel, vatten och jord skall plattor och bakterielösningar destrueras genom autoklavering eller behandling med desinfektionsmedel. Det är olämpligt att göra en renodling av bakterier från denna typ av försök. Försökens svårighetsgrad gör att de lämpar sig för gymnasienivå.

6. Anrikning av bakterier

Kompetensnivå 2

Anrikning av vissa typer av bakterier från naturen genom odling på selektiva medier.

- a) Anrikning av bioluminescenta bakterier från saltvattensfisk.
- b) Anrikning av bakterier som kan bryta ner specifika kolföreningar.
- c) Anrikning av höbakterien, *Bacillus subtilis* från en hökultur.

Kommentar:

Odling av bioluminescenta bakterier ska ske vid en temperatur av +4°C för att hindra att sjukdomsframkallande bakterier odlas upp. Undvik att miljön blir anaerob i en höinfusion beroende på att volymen är för stor och att allt för mycket hö används - risk finns för att patogena bakterier förökas. Av samma skäl bör heller inte extra näringsämnen tillsättas i höinfusionen. Ingen destruktions av bakteriekulturer från anrikningsförsök b) och c) behöver göras.

7. Antibiotikatest

Kompetensnivå 2

Antibiotikatester görs på kända mikroorganismer från klass 1.

Kommentar:

Det är nödvändigt att användningen av antibiotika i samhället minskas. Det är angeläget att skolan föregår med gott exempel och minskar eller upphör med antibiotikaanvändningen under biologilaborationer. Om lösningar med antibiotika används samlas dessa upp och skickas som riskavfall.

8. Smittspridningsförsök

Kompetensnivå 2

Försök som visar hur bakterier sprids mellan människor.

Kommentar:

Spridningsförsök med *Serratia marcescens* ska inte göras eftersom bakterien visat sig orsaka sjukdomar som sårinfektioner, lunginflammation och urinvägsinfektion. Smittspridningsförsök kan i stället göras med *E.coli* K12 genom att bakterier på ett kontrollerat sätt överförs successivt från en elevs finger till nästa elevs osv. Eleverna tvättar sig sedan noga med tvål och varmt vatten.

Bilaga 2

Definitioner

Biologiska agens, Agens/påverkande faktorer av följande slag, enligt AFS 2005:1:

- a) mikroorganismer, dvs. mikrobiologiska enheter, som kan föröka sig eller överföra genetiska material,
- b) cellkulturer av flercelliga organismer,
- c) lägre förökningsbara enheter, däribland virus och prioner,
- d) humana invärtesparasiter samt
- e) beståndsdelar av eller substanser producerade av agens enligt a) till d) när de förekommer i anslutning till dessa agens.

Mikroorganismer

Bakterier, inklusive actinomyceter och rickettsier, blågröna alger, mikrosvampar, t.ex. jäst och mögel, samt mikroalger och protozoer.

Cellkultur

odling "in vitro" av celler som härrör från flercelliga organismer.

Human invärtesparasit

organism som uppehåller sig i och drar nytta av en människa utan att själv vara till nytta för värden.

Riskklasser

Biologiska agens klassificeras i fyra klasser enligt ett system där risk och behov av skydd bedöms. Riskklass 1 innebär låg risk. Biologiska agens som räknas hit orsakar normalt inte infektioner hos människan. Skyddsklasser 2, 3 och 4 innehåller biologiska agens som kan orsaka infektioner. (*Mikrobiologiska arbetsmiljörisker – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet, AFS 2005:1* innehåller en förteckning över biologiska agens som hör till skyddsklasserna 2-4.

Endast organismer i skyddsklass 1 är lämpade att använda vid laborationer i skolan.