



Flera runda kolonier från olika arter av mikroorganismer som vuxit på en agarplatta efter att en vindruva rullades fram och tillbaka på ytan.

Mikroorganismer överallt

Bakgrund

Mikroorganismer finns överallt i miljön. Enskilda bakterier syns inte utan mikroskop och oftast märker man inte att det finns bakterier både på oss själva, i luften och i marken. I den här laborationen ska vi söka efter mikroorganismer, främst bakterier, på olika ytor i omgivningen med hjälp av odling på agarplattor.

En bakterie, som hamnar i en näringsrik miljö, som på en agarplatta, kommer att dela sig om och om igen. Det bildas till slut så många bakterier från den ursprungliga cellen att de syns med blotta ögat - det bildas synliga kolonier (prickar) på agarplattan. Ofta använder man värmeskåp och inkuberar plattorna ett dygn i ca 30°C. Om man vill sakta ner bakteriernas tillväxt kan plattorna förvaras i rumstemperatur eller i kylskåp.

De flesta bakterierna i miljön är ofarliga för oss människor och vissa är till och med nyttiga, men några kan vara skadliga, så kallad *patogena* bakterier. När vi odlar upp bakterier från miljön vet vi inte på förhand vilka mikroorganismer som kommer växa på agarplattorna. Därför tejpas alla plattor och får av säkerhetsskäl inte öppnas ifall det skulle vara så att vi råkat odla upp en patogen mikroorganism.

Uppgift

Planera en undersökning som jämför förekomsten av bakterier i olika miljöer. Formulera en frågeställning och en hypotes. Bestäm vilken metod ni ska använda (se utförande) för att ta prov på ytorna/luften och även antalet plattor ni ska använda.

Säkerhet

- Iakttag god laborativ mikrobiologisk teknik.
- Tejpa igen plattor där okända mikroorganismer odlas.
- Öppna aldrig plattor där okända mikroorganismer odlats upp.

Avfallshantering

Agarplattor som använts för att odla upp mikroorganismer från omgivningen ska förslutas i dubbla plastpåsar och kastas som brännbart avfall. Vi rekommenderar inte att

plattor med okända mikroorganismer öppnas för att avdödas med etanol, virkon eller jodopax. Om utrustning finns på skolan kan plattor med okända mikroorganismer destrueras genom autoklavering (och sedan kastas i brännbart avfall) eller hanteras som riskavfall, för ökad säkerhet.

Material

- Agarplattor, NA- eller LB-plattor (antal bestäms av er metod)
- Märkpenna
- 70% spritlösning
- Sterila tops (för provtagning på ytor)
- Specifika material utifrån frågeställning (t.ex. om ni vill jämföra skillnaden i förekomst av mikroorganismer efter tvätt med olika rengöringsmedel så behöver det ingå i materiallistan samt även de föremål som ska provtas, t.ex. vindruvor, äpplen).

Utförande

1. Tvätta händerna med tvål och vatten. Att jobba sterilt är viktigt för att enbart mikroorganismer från provtagningen odlas upp och inte från oss själva av misstag.
2. Torka av bänkytan med 70% spritlösning.
3. Märk plattorna med namn och vad som ska tas prov på. Skriv på kanten av botten på plattan.
4. Använd lämplig metod för provtagning:
 - För att ta prov från ytor (t.ex. fruktskal, dörrhandtag, disktrasor, fingrar) kan man använda olika metoder. Dels kan man trycka föremål eller fingrar direkt mot agarplattans yta. Mindre föremål (som bitar av hårstrån, livsmedel, damm) kan placeras och lämnas på agarytan.
 - Om man inte kan trycka ett föremål mot agarplattan så kan man använda sterila verktyg (t.ex. sterila bomullstops). En steril tops kan dras över ett tangentbord eller mobilskärm och sedan direkt strykas över agarytan.
 - För att ta prov från luften kan man låta agarplattorna stå öppet utan lock en viss tid på en plats. Efteråt sätts locket på igen.
 - För att vara säker på att det som odlats upp kommer från er provtagning och inte från själva agarplattorna, har man ofta en kontrollplatta att jämföra med. Det är agarplattor som aldrig öppnas utan som odlas parallellt med agarplattorna som man använt för att ta prov från omgivningen.
5. Tejpa igen petriskålen/agarplattan så att locket hålls på plats med två tejpbitar mitt emot varandra så att det går att läsa det ni skrivit på plattorna.
6. Om ni tryckt föremål mot agarytan eller strukit med tops ska plattorna inkuberas upp och ned, med locket nedåt. Det förhindrar att det bildas kondens som droppar ned på agarytan (vilket kan göra att bakteriekolonier flyter ihop). Om ni lagt föremål på agarplattan måste den inkuberas med locket uppåt, annars kommer sakerna trilla av. Inkubera i värmeskåp (30 °C) över natt eller i rumstemperatur (c.a 2-3 dygn).
7. Innan plattorna ska läsas av är det viktigt att kontrollera att locken är säkert tej-

pade igen så att inte locket faller av.

Resultat och utvärdering

Om det finns ett stort antal bakterier i en viss miljö kommer det leda till många kolonier på agarplattorna. Om det växer bakteriekolonier som alla ser lika ut tyder det på att en sorts bakterie dominerar i den miljö som du provtagit. Om det istället blir en odling där kolonierna har olika färg, form och ytstruktur så tyder det istället på att det funnits många olika bakteriearter i den miljö som det provtagits i.

- Studera plattorna, rita eller fotografera av dem. Plattorna kan studeras med hjälp av stereolupp. *Obs! Locket får ej öppnas på agarplattorna!*
- Räkna totala antalet kolonier.
- Räkna hur många olika slags kolonier ni hittar (olika artantal).

Jämför resultatet med er hypotes och diskutera resultatet utifrån vilka miljöer mikroorganismerna kommer från och hur provtagningen gått till. Redovisa undersökningen enligt instruktion från din lärare.

Tips!

På *Microbiology online* beskrivs bakteriekoloniers morfologi, d.v.s. vilken form och struktur de kan ha. Jämför de kolonier som har växt på era plattor med de bilder som beskrivs: <https://microbiologysociety.org/why-microbiology-matters/what-is-microbiology/bacteria/observing-bacteria-in-a-petri-dish.html>

På Bioresurs hemsida hittar du instruktioner som beskriver mikrobiologiska arbetsmetoder, samt säkerhetsanvisningar för laborationer med mikroorganismer; <https://bioresurs.uu.se>, välj Resurser och Mikrobiologi.