

GIMNAZIJA BEŽIGRAD
LJUBLJANA

Poročilo o izvedenem poskusu

BIOLOGIJA

KAKO UMAZANE SO STVARI V RESNICI

Mentor: Petra Starbek

Kandidati: Vladimir Smrkolj
Lenart Bučar
Gregor Gajič

Ljubljana, marec, 2017

Povzetek

Teoretična izhodišča:

Metoda:

Rezultati:

Razprava:

Ključne besede:

Kazalo

| | | |
|----------|--|----------|
| 1 | Uvod | 1 |
| 2 | TEORETIČNI DEL | 1 |
| 2.1 | BAKTERIJE | 1 |
| 2.2 | GOJENJE MIKROORGANIZMOV | 2 |
| 2.3 | GOJIŠČA | 2 |
| 2.3.1 | AGAR | 3 |
| 2.4 | MIKROBNA KULTURA | 3 |
| 2.5 | NACEPLJANJE MIKROORGANIZMOV NA/V GOJIŠČA | 4 |
| 2.6 | REDČENJE KULTURE DO POSAMEZNIH KOLONIJ | 4 |
| 2.7 | DELOVNA HIPOTEZA | 4 |
| 3 | MATERIAL | 4 |
| 4 | RAZISKOVALNI DEL | 5 |
| 5 | ZAKLJUČEK | 6 |
| 6 | PRILOGE | 6 |

Uvod

TEORETIČNI DEL

2.1 Bakterije

Bakterije so enocelični organizmi, ki jih po načinu prehranjevanja razlikujemo na avtotrofe in heterotrofe. **Avtotrofi** so organizmi, ki kot edini vir ogljika uporabljajo ogljikov dioksid (primer so cianobakterije), **heterotrofi** pa potrebujejo ogljik v organski obliki.

Bakterije najdemo skoraj povsod: v zemlji, vodi, zraku, tudi na rastlinah, živalih in človeku. Pri živalih in človeku žive bakterije na koži, v nosu, na zunanjih spolovilih in v

prebavnem traktu, kjer so celo koristne, ker s svojimi encimi pomagajo pri prebavi, same pa gostitelja oskrbujejo z nekaterimi vitamini. Tako govorimo o normalni mikroflori, ki delno deluje tudi kot zaščita pred boleznimi, ker s škodljivimi mikrobi tekmuje za življenjski prostor in hrano. Če pridejo v organizem škodljive patogene bakterije, jih organizem skuša uničiti s svojimi obrambnimi mehanizmi. Kadar mu to ne uspe, se začne bakterije razmnoževati, nekatere izločajo tudi strupe; človek ali žival zboli in lahko tudi umre.

Tako nevarne kot nenevarne bakterije se lahko prenašajo na fizičnem prenosniku. Fizični prenosnik je lahko vsaka stvar, bakterije pa lahko z njega odstranimo s čiščenjem, dezinfekcijo in sterilizacijo:

- Čiščenje je postopek, pri katerem odstranimo vidno umazanijo, organske ostanke in del bakterij.
- Dezinfekcija ali razkuževanje je postopek, pri katerem uničimo vse vegetativne oblike bakterij. Razkuževanje izvajamo na tri načine, in sicer mehansko (drgnjenje, brisanje), kemično (razkužila) in s fizikalnimi postopki (UV sevanje, segrevanje).
- Sterilizacija je postopek, s katerim uničimo vse vegetativne oblike in spore bakterij ter vse viruse.

V ameriški raziskavi so ugotovili, da je na vsakem kvadratnem centimetru mobilnega telefona skoraj 4000 mikroorganizmov. Odkrili so tudi, da je na 94,5 % mobilnih telefonov vsaj ena vrsta bakterij, mnogo teh pa je odpornih na več antibiotikov. S primerjanjem brisa rok uporabnikov in njihovih mobilnih telefonov so odkrili, da se večina bakterij prenese z rok na mobilne telefone in obratno. V drugi ameriški raziskavi so zapisali, da lahko mobilni telefoni zdravstvenih delavcev služijo kot prenašalci bakterij iz enega bolnika na drugega. Predlagali so, da se prepove uporabo mobilnih telefonov v kliničnih prostorih, kjer je potrebna popolna asepsa (operacijska soba) oziroma je nevarnost prenašanja mikroorganizmov večja.

2.2 Gojenje mikroorganizmov

Gojenje mikroorganizmov je osnova za njihovo proučevanje. Rast mikroorganizmov pomeni rast celic in povečevanje števila celic. Za rast je treba zagotoviti hranila, vir energije in ustrezne fizikalno-kemijske razmere. Gojišča in razmere, v katerih kulturo gojimo, morajo čim bolj posnemati naravno okolje.

2.3 Gojišča

Gojišča so substrati za gojenje mikroorganizmov v laboratorijskih razmerah. Gojišča, ki jih uporabljamo v mikrobiologiji so številna in raznolika, saj jih prilagajamo potrebam mikroorganizmov in načinu uporabe (izolacija, vzdrževanje, namnoževanje in karakterizacija kulture).

Gojišča so vodne raztopine snovi, ki jih določen mikroorganizem potrebuje za rast. Glede na sestavo jih delimo na kompleksna in definirana. **Kompleksna gojišča** so tista, pri katerih ne poznamo njihove natančne kemijske sestave. **Definirana gojišča** vsebujejo točno določene koncentracije čistih kemikalij.

Vsako gojišče lahko pripravimo kot tekoče, trdno ali poltrdno glede na količino dodanih snovi, ki povzročajo strjevanje gojišča. Običajno je to agar, redkeje želatina ali silikagel.

Glede na vrsto in namen gojišča, jih delimo na:

Osnovna gojišča so bogata kompleksna gojišča, na katerih raste večina heterotrofnih bakterij.

Obogatena gojišča dobimo, če osnovnim gojiščem primešamo različne dodatke, ki so vir aminokislin, vitaminov, purinov, pirimidinov in drugih neznanih rastnih dejavnikov. Uporabljamo jih za izolacijo in gojenje prehransko zahtevnejših bakterij. Najbolj splošno obogateno gojišče je krvni agar, ki ga pripravimo tako, da v osnovno gojišče dodamo 5 % krvi. Če kri dodamo v vroče gojišče, dobimo čokoladni agar. Gojišča lahko obogatimo tudi s krvnim serumom, jajci, posnetim mlekom.

Diferencialna gojišča omogočajo rast večini bakterij, vendar se na njih kolonije različnih bakterijskih vrst razlikujejo med seboj.

Selektivna gojišča so sestavljena tako, da omogočajo rast samo določeni skupini bakterij (negativna selekcija). To dosežemo z dodajanjem snovi, ki zavirajo rast večine drugih mikroorganizmov (antibiotiki, barvila, NaCl).

Bogatitvena gojišča enako kot selektivna omogočajo rast samo določenim mikroorganizmom, ker vsebujejo specifične vire ogljika ali drugih potrebnih elementov, ki omogočajo rast samo zaželenim mikrobom (pozitivna selekcija).

Produksijska gojišča se uporabljajo v industriji.

Gojišča za ugotavljanje lastnosti bakterij so sestavljena tako, da lahko ugotavljamo dejavnost različnih encimov, sposobnost bakterije, da razgrajuje različne substrate in podobno.

2.3.1 Agar

Agar je polisaharid iz galaktoze in galakturonske kisline, ki ga pridobivajo iz določenih vrst rdečih morskih alg. V večino poltrdnih gojišč je dodano 1,5 % agarja. V mrzli vodi nabrekne, pri 100°C pa se popolnoma raztopi in s tem preide v koloidno stanje sol. Pri ohlajanju pod temperaturo 40°C preide ponovno v stanje gel. Želatina, ki se včasih uporablja namesto agarja, preide v stanje sol že pri 37°C, to pa je za mnoge bakterije najugodnejša temperatura za rast. Le redke morske bakterije hidrolizirajo agar. Pri gojenju teh uporabljajo silikagel gojišča. Prvi agar so je pojavil leta 1658 na Japonskem, odkril ga je Mino Tarōzaemon, ki je opazil, da se je juha, narejena iz morskih alg, strdila v gel, ko se je ponoči temperatura juhe znižala. Agar se je v biologiji prvič uporabil leta 1882. Uporabil ga je nemški mikrobiolog Walther Hesse v laboratoriju Roberta Kocha.

2.4 Mikrobna Kultura

Mikrobna kultura so mikroorganizmi, ki porastejo v gojišču ali na njem. Mikrobna kultura je lahko mešana ali čista. V **čisti kulturi** je samo ena vrsta mikroorganizmov in zato so lastnosti kulture lastnosti te vrste mikroorganizma. V **mešani kulturi** je več kot ena vrsta mikroorganizmov.

2.5 Nacepljanje Mikroorganizmov Na/V Gojišča

Mikroorganizme lahko nacepljamo na trdna ali v tekoča gojišča. Za nacepljanje ali inokulacijo uporabljamo cepilno zanko (eza), lahko pa tudi vatenko ali pipeto. Če nacepljamo mikroorganizme na trdna gojišča, morajo biti kolonije po inkubaciji dovolj narazen, da lahko zrastejo do za vrsto značilne velikosti in da razvijejo druge značilnosti. Tak način cepljenja imenujemo redko cepljenje ali **cepljenje do posameznih kolonij**.

2.6 Redčenje Kulture Do Posameznih Kolonij

Posamezne kolonije dobimo, če kulturo ali preiskovani material nacepimo tako, da ga "razredčujemo" na površini trdnega gojišča v petrijevki. Kulturo nanesimo na majhno površino ob robu gojišča. Vsako nadaljnjo serijo potez začnemo s sterilno cepilno zanko.

2.7 Delovna Hipoteza

Površina mobilnega telefona je najmanj čista od površin osmih predmetov, s katerih bomo vzeli brise (površina straniščne deske, mobilni telefon, tipke na računalniški tipkovnici, tipke na žepnem računalu, kljuka na vratih, bankovec, kovanec, tipkovnica na bankomatu).

MATERIAL

- Sterilne petrijevke z agarjem za gojenje bakterij
- 250g agarja za gojenje bakterij
- Prenosne sterilne vatirane palčke za odvzem brisa
- Površine, s katerih bomo odvzeli brise:
 - Površina straniščne deske
 - Mobilni telefon
 - Tipke na računalniški tipkovnici
 - Tipke na žepnem računalu
 - Kljuka na vratih
 - Bankovec
 - Kovanec
 - Tipkovnica na bankomatu
- Sterilno fiziološko raztopino
- Inkubator oz. prostor z nadzorovano temperaturo zraka

- Cepilne zanke (eze)
- Laboratorijski gorilnik
- Razkužilo
- Zaščitne rokavice

RAZISKOVALNI DEL

Za uspešno izvedbo poskusa potrebujemo sterilno opremo in sterilni agar. Agar bomo sterilizirali po naslednjem postopku: Najprej bomo v 500 ml erlenmajerico vložili 250 g agarja. Okoli vratu erlenmajerice bomo z aluminijasto folijo naredili zaviti vrat, ki bo gledal navzdol, tako da bo preprečil vstop kondenzirane vode v erlenmajerico. V lonec na zvišan pritisk bomo nalili okoli 2-3 cm vode. Na podstavek v posodi na zvišan pritisk bomo postavili erlenmajerico, tako da se le-ta ne bo dotikala vode. V loncu na zvišan pritisk bomo sterilizirali agar vsaj 45 minut pri 121°C oziroma pri 1,05 bara. Po 45 minutah bomo lonec odstranili z grelca in pokrili pokrov s čisto in mokro krpo, zato da bomo preprečili vstop delcev med ohlajanjem. Ko se bo pritisk znotraj lonca izenačil z zunanjim pritiskom, bomo odprli pokrov in prelili agar v sterilne petrijevke. V vsako petrijevko bomo nalili 25-30 ml tekočega agarja. Petrijevke bomo pokrili in počakali, da se sloj agarja strdi, nato so petrijevke pripravljene na uporabo.

Potem bomo sterilne vatirane palčke namočili v sterilno fiziološko raztopino in s tako pripravljenimi vatiranimi palčkami odvzeli bris izbrane površine. Ko bomo zbrali brise vseh 8 površin, bomo razmazali kužnine po delu hranilnega agarja na predpripravljeni petrijevki. S cepilno zanko bomo naredili nekaj pravokotnih potez čez prvi premaz, nato bomo nadaljevali v isti smeri cepljenja, ne da bi se dotikali prvega premaza. Petrijevke bomo za tem označili in jih inkubirali dva dni pri temperaturi 37°C . Po dveh dneh inkubiranja bomo prešteli kolonije bakterij v vsaki petrijevki in si zapisali rezultate ter opažanja. S pomočjo rezultatov bomo

primerjali čistočo površin oz. predmetov, s katerih smo odvzeli bris.

ZAKLJUČEK

PRILOGE