

Linkadresserne fungerer pr. 1.7.2011. Forlaget tager forbehold for evt. ændringer i adresserne.

Sterilforsøg

God hygiejne er vigtig hvis man vil undgå bakteriespredning. Denne øvelse demonstrerer vigtigheden af at arbejde sterilt når man håndterer patogene bakterier. Øvelsen demonstrerer de problemer der næsten altid opstod i gamle dage, fordi man ikke kendte til betydningen af at arbejde sterilt – se side 6-11 i Bioteknologi 4. Uforsigtig omgang med bakterier er stadig aktuell – jf. eksempelvis problemerne med de tyske *E. coli*-inficerede grøntsager i sommeren 2011.

Denne øvelse kan laves i sammenhæng med øvelsen 'Rendyrkning og identifikation af bakterier' fra Bioteknologi 2, tema 3.

Forarbejde

Støbning af LB agarplader i petriskåle (til 1000 mL: 10 g trypton eller pepton, 5 g gærekstrakt, 10 g NaCl, 10 g agar, deioniseret vand til 1000 mL – blandes grundigt, autoklaveres og afkøles lidt inden ophældning; det rækker til ca. 40 plader).

Udpladning af 100 µL ufarlig/lavpatogen bakteriekultur i vækst – fx *E. coli* på ca. otte af agarpladerne. Bakterieagarpladerne inkuberes med bunden opad ved 37 °C i varmeskab i et døgn og kan derefter opbevares i køleskab indtil brug. Agarplader uden bakterier står ved stuetemperatur indtil brug.

Materialer pr. gruppe

- 1 agarplade med bakterier
- 4 agarplader uden bakterier delt op i to felter med en tuschstreg tværs over bunden af petriskålen
- Hånd sæbe
- Papirhåndklæder
- Sterile engangshandsker
- 96 % ethanol
- Drigalskipatel
- Autoklaveret (indpakket) drigalskipatel
- Tuschpen
- Fyrfadsllys

Fremgangsmåde

Jeres lærer demonstrerer hvordan man arbejder korrekt med petriskåle og mikroorganismer, så risikoen for kontaminering minimeres.

A Undersøgelse af håndhygiejne

1. Skriv på siden af bunddelen af to petriskåle uden bakterier: navn eller mærke for jeres gruppe, samt A1, A2, A3 og A4 for hvert af de fire felter (hvis du skriver på bunden kan du ikke så godt se de bakterier der vokser frem).
2. I felt A1 sættes aftryk af fire fingre uden forudgående håndvask.
3. I felt A2 sættes aftryk af de samme fingre, men efter grundig håndvask med sæbe og aftørring i papirhåndklæde.
4. I felt A3 sættes aftryk af de samme fingre efter afspritning med 96 % ethanol og lufttørring (gnid hænderne grundigt ind i en lille sjat ethanol og lad det fordampe).
5. I felt A4 sættes aftryk af de samme fingre men iført en steril engangshandske.
6. Petriskålene placeres med bunden i vejret ved 37 °C i varmeskab et døgn. Herefter opbevares petriskålene i køleskab indtil aflæsning.

Resultater

	A1	A2	A3	A4
Antal bakterie-kolonier				
Kommentarer (udse- ende, størrelse mv.)				

B Undersøgelse af betydningen af rene instrumenter

I gamle dage rengjorde man ikke instrumenterne på hospitaler og fødeklিনikker – det havde ofte alvorlige følger. I denne øvelse imiteres en hospitalssituation med forskellige grader af hygiejne. Agarpladen i petriskålen med bakteriekultur illuderer en fødende kvinde med en infektion. De to agarplader (med to felter hver) uden bakterier illuderer fire raske fødende kvinder som får forskellig behandling.

Fremgangsmåde

1. Skriv på siden af bunddelen af to petriskåle uden bakterier: navn eller mærke for jeres gruppe, samt B1, B2, B3 og B4 for hvert af de fire felter.
2. I felt B1 sættes aftryk af fire fingre iført gummihandske, der har rørt ved den inficerede kvinde (tryk handske-fingrene blidt ned på bakterieagaren og dernæst på felt B1 agaren). Dette scenarie svarer til at en gravid kvinde med en bakterieinfektion føder ved hjælp af en fødselshjælper med handsker. En anden kvinde, B1, uden infektion ved ankomsten til fødeklinikken føder dernæst ved hjælp af fødselshjælperen der bruger de samme handsker til begge kvinder.
3. I felt B2 sættes aftryk af en drigalskispatel der først har kørt lidt rundt i bakterieagaren.
4. I felt B3 sættes aftryk af en autoklaveret drigalskispatel der først har kørt lidt rundt i bakterieagaren. Drigalskispatelen skal først pakkes ud lige inden brug.
5. I felt B4 sættes aftryk af en drigalskispatel, der først har kørt lidt rundt i bakterieagaren og derefter er dyppet i 96 % ethanol og flamberet (dyp drigalskispatlen i lidt ethanol i en petriskål, før den gennem flammen fra fyrfadsløset og lad ilden brænde ud). Afkøl den mod undersiden af petriskållåget til B3-4).
6. Petriskålene placeres med bunden i vejret ved 37 °C i varmeskab et døgn. Herefter opbevares petriskålene i køleskab indtil aflæsning.

Resultater

	B1	B2	B3	B4
Antal bakteriekolonier				
Kommentarer (udseende, størrelse mv.)				

Diskussion/bearbejdning

1. Beskriv resultaterne A1-4 samt B1-4 og forklar dem.
2. Er bakteriekolonierne ens? Begrund svaret.
3. Opskriv scenarier for felterne B2-4 i lighed med det der står om B1 i fremgangsmåden.
4. Hvad kan du konkludere om henholdsvis håndhygiejne og instrumenthygiejne?
5. På hospitaler og mikrobiologiske laboratorier er man underlagt regler om aseptisk teknik som disse: <http://kortlink.dk/rm/97pc>. Forklar overordnet disse regler.
6. Stemte din gruppes arbejdsmetode overens med reglerne om aseptisk teknik? Begrund dit svar.
7. Hvordan kan forsøget udbygges?
8. Efter forsøget skal alle de brugte agarplader destrueres ved autoklivering – hvorfor?
9. Hvad kan viden fra dette forsøg bruges til?