

TARTU ANNELINNA GÜMNAASIUM

ALEKSANDRA UNUKOVSKAJA

ELIZABETH KORSUNOVA

8.C KLASS

BAKTERITE ARVUKUSE MÄÄRAMINE TARTU ANNELINNA GÜMNAASIUMI KONTAKTPINDADEL

JUHENDAJA: AVELIIS POST

SISSEJUHATUS

Üherakulised organismid on kõige vanemad eluvormid planeedil Maa. Mikroobe leidub looduses kõikjal: õhus, pinnases, vees, sealjuures nii kuuma- kui ka külmaveeallikates, ekvaatoril ja isegi Arktikas. Kõikide bakterite üldmass meie planeedil on suurem kõikide loomade ja taimede üldmassist. Seega on planeedil Maa peamised asukad bakterid, mitte inimesed, loomad või taimed.

Juba iidsetest aegadest on huvitanud inimesi elusorganismid, mida palja silmaga ei näe, aga mis avaldavad suurt mõju inimese elule. Iga päev puudutavad inimesed erinevaid pindu ja esemeid, mille tulemusena kandub kontaktpindadelt inimese nahale ja ka vastupidi palju erinevaid mikroobe. Antud uurimistöö eesmärged oli kaks:

1. proovide võtmise ja katsete käigus kindlaks teha, millised Tartu Annelinna Gümnaasiumi kontaktpinnad on kõige suurema bakterite arvukusega;
2. välja selgitada, kui suure osa bakteritest hävitab pindade puhastamine erinevate desinfitseerivate lahustega.

Uurimise teostamiseks valisid autorid nende arvates kõige suurema kasutusega kontaktpinnad. Pindadeks valiti: õppelauad (klass number 301), ruumide ukseingid (klassid numbriga 301, 210 ja aula), treppide käsipuud ja WC kraanid (hoone A korpuse teise korruse tüdrukute WC).

Püstitati kaks hüpoteesi, mille tõesust kontrolliti katsetega. Hüpoteesid olid järgmised:

1. kontaktpindadest on kõige suurema bakterite arvukusega klasside ükseligid;
2. desinfitseerimise järgselt väheneb bakterite arvukus kontaktpindadel oluliselt.

Antud töös kasutatud meetodikaga sai isoleerida valdavalt kiirekasvulisi aeroobseid (õhuhapniku juuresolekul kasvavaid) heterotroofseid baktereid. Uurimistöö praktiline osa on jaotatud etappideks:

1. Kõigepealt antakse ülevaade kasutatud söötmest ja LB-agar söötmetasside valmistamisest;
2. Järgmisena kirjeldatakse proovide võtmist, bakterite külvamist, kasvatamist ja arvukuse hindamist;
3. Uurimistöö kolmas osa sisaldab katsete tulemusi ja analüüsi.

Uurimistöö praktiline osa, mis nõudis spetsiaalset varustust (bakterite proovide ja külvide jaoks vajalike vahendite hankimine, proovide kasvatamiseks vajaliku tehnika kasutamine ning arvukuse hindamine), teostati Tartu Ülikooli tehnoloogiainstituudis.

Autorid ning töö juhendaja sooviksid avaldada suurt tänu prof. Tanel Tensoni töörühmale osutatud abi ja vahendite ning võimaluse eest uuringute teostamisel. Ilma mainitud toeta ei oleks käesolev loovtöö võimalikuks osutunud.

SISUKORD

1. TEOREETILINE OSA	4
1.1 Kes on bakter.....	4
1.2 Mikrobioloogia ajalugu	4
1.3 Bakterite ehitus	5
1.4 Bakterite elukeskkond.....	6
1.5 Bakterid inimese elus	7
2. PRAKTILINE OSA	8
2.1 Ettevalmistustööd.....	8
2.1.1 Valimisse kaasatud kontaktpindade valikupõhimõtted.....	8
2.1.2 Söötme valikukriteeriumid ja kirjeldus	8
2.1.3 LB agari söötmetasside valmistamine	9
2.2 Katse teostus	10
2.3 Tulemused ja arutelu	11
KOKKUVÕTE.....	13
RESÜMEE	14
3. LISAD	16
Lisa 1. Uurimistöö tulemused. Kolooniade loendamise tulemused.....	16
Lisa 2. Uurimistöö tulemused. Tasside pildid.	18

1. TEOREETILINE OSA

1.1 Kes on bakter

Elu on maakeral eksisteerinud juba üle 3,5 miljardi aasta. Bakterid on ühed vanimad algelised organismid, kes on muutlikest keskkonnatingimustest hoolimata suutnud tänapäevani säilida (Tenhunen jt., 2012). Bakterid on väga väikesed üherakulised organismid, keda esineb arvukalt peaaegu kõikjal (Elusloodus, 1983). Need on kõige väiksemad ainuraksed organismid, kellel on kõik elu tunnused (Tenson jt., 2013). Bakterid elavad mullas, vees, õhus, kõikides elavates loomades ja taimedes ning samuti surnud organismide jäänustes. Üks gramm mulda sisaldab kuni miljard bakterit, ühes piimatilgas võib olla neid sadu tuhandeid. Nad erinevad üksteisest eeskätt elukeskkonna, samuti oma väliskuju poolest (Elusloodus, 1983).

1.2 Mikrobioloogia ajalugu

Mikrobioloogia on mikroorganismide ehk mikroobide uurimisega tegelev teadusharu. Juba Hippokrates oletas, et inimeselt inimesele kanduvaid haigusi kutsuvad esile nähtamatud elusolendid (Mikelsaar jt., 2006). Mikrobioloogia kui teadus arenes tervest reast märkimisväärtetest avastustest. All on toodud välja ainult mõned neist.

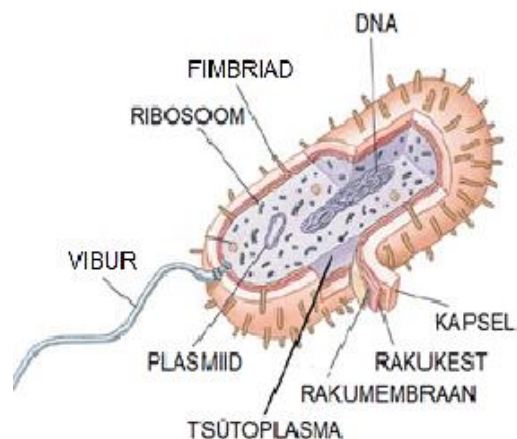
- Esimene, kes nägi liikuvaid osakesi omaloodud üheläätselise mikroskoobiga, oli hollandlane Antoni van Leeuwenhoek (1632–1723). Leeuwenhoek järeldas, et tegemist on elusorganismidega.
- 1719. aastal proovis Leeuwenhoek esimest korda värvida baktereid, kasutades looduslikke värvaineid (punapeet).
- 1860. aastal kasutas Louis Pasteur (1822–1895) bakterite kasvatamiseks laboris esimesena kultuur-söödet (Manual of Microbiological Culture Media, 2015). Pasteur sõnastas tänini kehtiva seletuse mikroobide poolt põhjustatud käärimise kohta ja võttis mikroobide hävitamiseks toiduainetes kasutusele spetsiaalse termilise töötlemise viisi, mida hiljem hakati nimetama pastöriseerimiseks (kuumutamine 60 °C juures 20 min).
- Robert Koch (1843–1910) avastas 1876. aastal antraksi ehk siberi katku tekitaja ning tõestas, et paljusid nakkushaigusi põhjustavad bakterid.

- 1882. aastal avastas R. Koch tuberkuloosi põhjustava bakteri (tal õnnetus värvida tuberkuloosikepikest metüleensinisega) ja 1883. aastal koolerat põhjustava bakteri (Mikelsaar jt., 2006).
- 1884. aastal töötas Hans Christian Gram välja bakterite värvimise meetodi. See meetod jaotab bakterid rakukesta ehituse alusel kahte gruppi. Need grupid esinevad praktiliselt võrdse sagedusega. Seda meetodit nimetatakse nüüd tema nime järgi ning kasutatakse väga laialt tänapäevani, et tuvastada grampositiivseid ja gramnegatiivseid baktereid.
- 1887. aastaks tekitas selline lihtne asi nagu Petri tass, mille leiutas saksa teadlane Julius Richard Petri, suure muutuse mikrobioloogias. Teadlased hakkasid disainima agar-söötmeid, et optimeerida bakterite kasvu Petri tassidel (Manual of Microbiological Culture Media, 2015).
- Äärmiselt olulise avastuse tegi inglise teadlane Alexander Fleming aastal 1929, kes leidis hallitusseenest *Penicillium chrysogenum* ist tugeva antimikroobse toimega ainet – penitsilliini. Stabiilset penitsilliiniühendit saadi siiski alles 1940ndatel aastatel, mis pani aluse penitsilliini tööstuslikule tootmisele. Tänapäevaks on teada üle 10 000 erineva antibiootikumi, mida produtseerivad erinevad mikroorganismid või mida sünteesitakse keemiliselt (Mikelsaar jt., 2006).
- Mikrobioloogia kiire areng algas pärast Teist maailmasõda (Manual of Microbiological Culture Media, 2015).

Mikrobioloogia areneb tänapäeval ja areng jätkub ka tulevikus, kuna avastatakse uusi mikroorganisme, teadaolevaid uuritakse suurema täpsusega ja töötatakse välja uusi uurimismeetodeid (Manual of Microbiological Culture Media, 2015).

1.3 Bakterite ehitus

Bakterid on prokarüoodid ehk eeltuumsed, see tähendab, et nende rakus puudub tuum ja membraaniga ümbritsetud organellid nagu tsütoplasma võrgustik ja mitokondrid. Tavaliselt on bakterite pikkus mõni mikromeeter, kuid nende kuju võib olla väga erinev, alates kerajast kuni pulkja ning spiraalseni (Tenson jt., 2013) (joonis 1).



Joonis 1. Bakteriraku ehitus. Joonis pärineb allikast The Visible Embryo (2011) ja sellele on lisatud eestikeelsed nimetused.

Membraanist algavad **viburid** on peamiselt liikumiseks. Bakterid liiguvad valdavalt libisedes või ujudes. On palju liikumatuid baktereid. **Fimbriad ehk piilid** aitavad bakteritel erinevatele pindadele kinnituda. Osadel bakteritel võib olla rakukesta ümber veel **kapsel**. See kaitseb baktereid näiteks kuivamise eest, aitab bakterirakul liikuda ja seob üksikud rakud kolooniateks. Kapsel on oluline kaitsebarjäär. **Rakukest** annab rakule kindla kuju, kaitseb väliskeskkonnast tulevate mõjude eest ning vähendab ainete liikumist raku ja väliskeskkonna vahel. Bakterirakk on ümbritsetud **rakumembraaniga**, mis koosneb valkudest ja lipiididest ja tagab raku sisekeskkonna stabiilsuse. **Tsütoplasma** on läbipaistev, poolvedel ja sisaldab vett, valke, rasvu ja mineraalaineid (varuained). **Ribosoomidel** toimub valkude süntees. **DNA** sisaldab tähtsamat pärilikku informatsiooni bakteriraku ehituse ja elutegevuse kohta. **Plasmiidides** ehk väikestes DNA rõngasmolekulides on informatsioon, mis võimaldab bakteritel näiteks ekstreemsetes oludes ellu jääda. Nende arv võib bakteriraku elu jooksul muutuda ning bakterid võivad neid ka omavahel vahetada (Tenson jt., 2013). Bakterid paljunevad harilikult lihtsa pooldumise teel. Sobiva temperatuuri juures, milleks enamiku inimesega seotud bakterite jaoks on umbes 37 °C, võib pooldumine toimuda iga 30 minuti järel (Elusloodus, 1983).

1.4 Bakterite elukeskkond

Baktereid esineb looduses kõikjal – õhus, vees, mullas ja teistes organismides. Mõned bakterid peavad vastu isegi happelistes kaevandusvetes, kuumaveeallikates, merepõhja süvikutes, sügaval maakoos, radioaktiivsetes jäätmetes. Tuleb aga mõista, et erinevate tingimustega on kohastunud erinevad bakteriliigid, igale liigile eraldi võetuna sobivad enamasti üpris kitsalt piiritletud keskkonnatingimused. Et baktereid leidub peaaegu kõikjal, tuleneb

sellest, et bakteriliike on tohult palju ja nad on väga mitmekesised. Bakterite laia levikut soodustavad ka nende väikesed mõõtmed ja võime sobivates oludes kiiresti paljuneda (Tenson jt., 2013).

1.5 Bakterid inimese elus

Inimkeha on bakterite jaoks väga soodsate tingimustega elupaik. Iga inimese kehas on umbes $3,0 \times 10^{13}$ inimese enda rakku, kuid bakterirakke on selles vähemalt sama palju või veidi rohkem (Sender jt., 2016). Baktereid leidub ka kõikjal keskkonnas. Seega oleme harjunud bakteritega kenasti koos elama. Enamik meid ümbritsevatest bakteritest on täiesti ohutud, osa bakteriliike on inimesele isegi hädavajalikud (Tenson jt., 2013).

Nii taimede, loomade kui ka inimestega elab alati koos palju erinevaid baktereid, mis moodustavad nende organismide normaalse mikrofloora. Inimesega koos elavaid baktereid on kõige enam jämesooles, kuid neid leidub ka mujal. Normaalne mikrofloora on enamasti kahjutu ja selle koostis sõltub paljudest asjaoludest. Normaalne mikrofloora mängib olulist rolli organismi kaitsmises haigust tekitavate bakterite eest (Блейзер, 2016). Bakterid aitavad inimesi ja loomi toiduainete seedimisel ja imendumisel, vitamiinide sünteesimisel, takistavad kahjulike bakterite kinnitumist organismi kudedele ja kaitsevad organismi haigustekitajate eest. Inimene kasutab baktereid paljudes eluvaldkondades: toiduainete tootmisel (nt juust, keefir, jogurt), meditsiinis (nt antibiootikumide tootmisel), põllumajanduses (nt väetise tegemisel), puhastusvahendites (nt mõned bakterite ensüümid lagundavad rasva) ja heitvee puhastamisel (Eero jt., 2012).

Bakterite põhiline negatiivne mõju inimesele tuleb sellest, et nad samamoodi nagu viirused põhjustavad haigusi. Nad tungivad meie kudedesse ja takistavad nii rakkude normaalset elutegevust. Bakterid toodavad oma ainevahetuse jääkidena mürgiseid aineid, mis võivad levida nakkuspaigast verre ja lümfii teel üle kogu keha. Inimkonna ajaloos on bakterihaigused olnud väga oluliseks rahvaarvu reguleerijaks, näiteks katkuepidemiad laastasid keskajal kõvasti Euroopat (Tenson jt., 2013).

Eelnevast kirjelduses saab järeldada, et on olemas inimesele nii „head“ kui ka „halvad“ bakterid.

2. PRAKTILINE OSA

2.1 Ettevalmistustööd

2.1.1 Valimisse kaasatud kontaktpindade valikupõhimõtted

Selles töös soovisid autorid uurida, millised kontaktpinnad Tartu Annelinna Gümnaasiumis on kõige suurema bakterite arvukusega. Seega said valitud need pinnad, millega autorite arvates inimesed koolis kõige rohkem kokku puutuvad: õppelauad, klasside ukseingid, treppide käsipuud ja WC kraanid.

Tavaliselt korratakse bakterite arvukuse hindamise katset kolm korda, et vältida juhuslikke katsevigu ja tagada täpsed katsetulemused. Töö autorid otsustasid toetuda oma uurimuses samale põhimõttele. Valiti ühesuguse kasutustihedusega pinnad. Need pinnad olid:

- Kolm õppelauda ühes klassis keskmises reas (klass number 301).
- Kahe klassi (klassid number 301 ja 210) ja aula ukseingid, nii seespool kui ka väljaspool.
- Teise ja kolmanda korruse vahel asuva trepi käsipuu moodulid. Kooli trepi käsipuu oli jagatud võrdseteks osadeks, uurimusse võeti kolm järjestikust keskmist moodulit.
- Hoone A korpuse teise korruse tüdrukute WC-s kõigi kolme valamukraanid.

Töö üheks eesmärgiks oli teada saada, kui suure osa bakteritest hävitab pindade puhastamine erinevate desinfitseerivate lahustega.

Desinfitseerivad vahendid:

Esimene valitud lahus: kloori sisaldav puhastuslahus, mida koristajad kasutavad koolis pindade puhastamiseks. ACE pleegitusvedelik lahjendati pudelil oleva juhise järgi – 40 ml ACE vedelikku 1 l vee kohta.

Teine valitud lahus: 70% piirituse lahus, mida tavaliselt kasutatakse laborites desinfitseerimiseks. 730 ml 96% piiritusele (C_2H_5OH , etanool) lisati 270 ml destilleeritud vett.

2.1.2 Söötme valikukriteeriumid ja kirjeldus

Sõltuvalt toitumisnõudlusest vajavad bakterid kasvuks mitmeid orgaanilisi ja anorgaanilisi ühendeid. Laboritingimustes kasvatatavad bakteritüved saavad kõik eluks vajalikud ühendid söötmetest. Kõikidele bakteriliikidele sobivaid universaalsöötmeid ei ole teada, kuid on välja töötatud mitmeid toitainerikkaid söötmeid, mis sobivad paljude heterotroofsete bakteriliikide kasvatamiseks. LB (Luria-Bertani) sööde on toitainete poolest rikas sööde, mida laborites väga

laialt kasutatakse. LB söödet kasutatakse laborites igapäevatoos bakterite (eelkõige *Escherichia coli*) kasvatamiseks ja vähenõudlike mikroorganismide kultiveerimiseks (VWR Chemicals, 2017). Kui söötmele lisada agarit, siis sööde tardub, muutub geeli / tarretise taoliseks. Söötme pinnal kasvavad bakterid ja moodustavad silmaga nähtavad kolooniad (pesad). Bakterid saavad söötme seest väga lihtsalt kätte toitained, aga agarit nad kasvuks ei kasuta (Sigma-Aldrich, 2017).

LB agari koostis (1 liitri kohta):

1. Pärmiekstrakt (ingl *yeast extract*) – 5 grammi – annab vitamiine;
2. Naatriumkloriid (NaCl) – 10 grammi – annab naatriumi ioone;
3. Trüptoon (ingl *tryptone*) – 10 grammi. Trüptooni kasutatakse laialt mikrobioloogias söötmete valmistamiseks. See sisaldab peptiide ja aminohappeid, mis on vajalikud bakterite kasvuks;
4. Agar – 15 grammi (VWR Chemicals, 2017).

2.1.3 LB agari söötmetasside valmistamine

Katsepäevaks valiti reede, 09.12.2016, ning päev enne, neljapäeval, 08.12.2016, valmistati ette LB söötmega tassid. Kaaluti 28 grammi LB agarit puhtasse pudelisse ja valati juurde destilleeritud vett kuni 800 ml-ni. On olemas paljude erinevate tootjafirmade poolt valmistatud LB söötmeid, autorid kasutasid LB agarit firmalt Becton, Dickinson and Company, Difco LB Agar Lennox; kataloogi nr 240110 (valmistamise retsept: 35 g söödet ühe liitri destilleeritud vee kohta). Pudeli suleti korkiga ja loksutati ettevaatlikult. Seejärel pandi lõpuni kinni keeramata korkiga söötme pudel autoklaavi. Söödet autoklaaviti 15 minutit 121 °C juures. Autoklaavimise käigus lahustub LB täielikult ja toimub söötme steriliseerimine. Pärast autoklaavi tsükli lõppemist võeti pudel autoklaavist välja (peab olema väga ettevaatlik, kuna autoklaav ja pudel on väga kuumad), keerati kork lõpuni kinni ja jäeti mõneks ajaks jahtuma. Kui sööde on jahtunud umbes 40 °C-ni, saab hakata seda Petri tassidesse valama. Söödet ei tohi pudelis loksutada, ainult ettevaatlikult segada, kuna loksutades tekkib vaht, mis segab tasside valmistamist. LB tasse valati laminaarkapi all, mis tagab tasside valamise steriilses keskkonnas. Laminaarkapis lülitatakse eelnevalt 10 minutiks sisse ultraviolet (UV)-valgus, mis kindlustab laminaari all steriilse keskkonna. Petri tasse, kuhu valatakse LB agarit, hoiti samuti eelnevalt UV-valguse all. Laminaarkapis lülitati UV-valgus välja, lülitati sisse tavaline valgustus ja õhukardin, mis takistab mikroobse saastuse sattumise laminaarkappi väljastpoolt. Kogu töö teostati ühekordsetes kaitsekinnastes. Vahetult enne LB tasside valamist laminaarkapi all desinfitseeriti kinnastes käed 70% piirituse lahusega. Pudeli LB agariga avati laminaarkapi all leegi kohal. Iga viienda valatud tassi järel viidi pudeli suu läbi leegi. LB agarit valati pudelist

Petri tassidesse ettevaatlikult. Vajadusel liigutati tase õrnalt ringjate liigutustega, et sööde jaotuks ühtlaselt üle kogu tassi. Petri tassile läbimõõduga 9,2 cm kulub umbes 20 ml söödet. Valatud tassid jäeti umbes viieks minutiks kinniste kaantega seisma. Selle ajaga tardus sööde ära. Seejärel tehti tasside kaaned natuke lahti ja tassid jäeti 20 minutiks seisma. Selle ajaga kuivab tass piisavalt, et sellele baktereid külvata ja samuti ei teki tassile kondenseerunud vett. LB agari tase säilitatakse tavaliselt 4 °C juures, nad on kasutuskõlblikud umbes ühe kuu jooksul.

2.2 Katse teostus

Valitud pinnalt võeti proov ühekordse steriilse vatitampooniga, mis oli immutatud steriilse destilleeritud veega (destilleeritud vett filtreeriti enne kasutamist läbi filtri, mille poori suurus oli 0,2 µm (mikromeetrit), ja autoklaaviti). Niisutamine tagab bakterite parema kleepumise tampooni külge.

- Vatitampoon võeti pakendist välja, immutati steriilse destilleeritud veega, mis oli jagatud 200 µl kaupa steriilsetesse 1,5 ml mahutavatesse tuubidesse. Seejärel hõõruti tampooniga korralikult üle kogu pinna, samaaegselt tampooni käes keerutades. Kuna valitud kontaktpinnad olid erineva pindalaga, jälgisid autorid aega, proove võeti ligikaudu 20 sekundi vältel.
- Seejärel tehti külv eelnevalt markeeritud LB tassile. LB tass avati vasaku käega, paremas käes hoiti tampooni, millega proov oli võetud. Ettevaatlikult hõõruti tampooni üle kogu tassi, tampooni käes keerutades. Tassile tehti külv piirituslambi leegi lähedal, et vältida õhust tulevat saastust. Pärast külvi veenduti, et tasside pind oleks kuiv.
- Teises etapis puhastati pind kloori sisaldava lahusega, võeti proov pinnalt ja külvati LB tassile. Desinfitseerimiseks pihustati pinda kolm korda kloori sisaldava lahusega ja seejärel hõõruti lahus uue paberrätiku abil pinnale laiali ning kuivatati.
- Kolmandas etapis puhastati pinda 70% piirituse lahusega, võeti pinnalt proov ja külvati LB tassile. Desinfitseerimiseks pihustati pinnale kolm korda 70% piirituse lahust ja seejärel hõõruti lahus uue paberrätiku abil pinnale laiali ning kuivatati.
- Tassid proovidega paigutati 37 °C termostaati tagurpidi, et vältida kondenseerunud vee teket tassi kaanele.

2.3 Tulemused ja arutelu

Kuna erinevad bakterid kasvavad erineva kiirusega, otsustati hinnata katse tulemusi kahel ajapunktil: 24 ja 48 tunni möödudes. Tassid võeti termostaadist välja, loeti kokku tasside pinnale kasvanud bakterite kolooniad (lisa 1) ja dokumenteerimiseks tehti pildid tasside peal kasvanud kolooniatest (lisa 2).

Katsete esimeses osas võeti proovid õppelaudadelt, klasside ukselinkidelt, trepi käsipuult ja tüdrukute WC kraanidelt. Proovid võeti enne puhastamist desinfitseerivate lahustega. Tabelis 1 on välja toodud keskmine kolooniate hulk pärast 24 ja 48 tundi kasvamist.

Tabel 1. Keskmine kolooniate hulk enne kontaktpindade desinfitseerimist.

	24 tundi	48 tundi
WC kraanid	loendamatu	loendamatu
Õppelauad	156	662
Klasside ukselingid väljas	53	119
Trepi käsipuu	44	85
Klasside ukselingid sees	31	66

Tabelist 1 on näha, et kõige suurem kolooniaid moodustavate bakterite hulk oli tüdrukute WC kraanidel. Kolooniaid moodustavate bakterite hulk oli suur ka õppelaudadel. Huvitav on see, et ukselinkidel väljaspool oli bakterite arvukus suurem kui ukselinkidel seespool. See võis tuleneda asjaolust, et ukselingid on väljaspool tihedamini kontaktis õpilaste kätega. Kontakti ajal kanduvad bakterid kätelt üle ukselinkidele. Teine võimalik põhjus on, et klassides on olemas kraanikausid ning klassides viibides võivad õpilased käsi pesta. Seega klassist väljudes olid nende käed puhtamad kui klassi sisenedes ja kätelt kandub vähem baktereid seespool olevatele ukselinkidele. Väiksema bakterite arvukusega oli ka trepi käsipuu. Autorite hinnangul võis olla põhjuseks see, et liikudes mööda treppe, kasutatakse käsipuud toetamiseks harva ning seetõttu ei ole käsipuu õpilaste kätega nii tihedas kontaktis kui ülejäänud hinnatud pinnad.

Tabelis 2 on välja toodud teise katse tulemused. Proovid võeti kontaktpindadelt pärast desinfitseerimist kloori sisaldava lahusega ja 70% piirituse lahusega. Tulemused on esitatud protsentides – millise hulga kolooniaid moodustavate bakterite koguhulgast on desinfitseerivad lahused keskmiselt hävitanud.

Tabel 2. Desinfitseerivate lahuste poolt hävitatud bakterite osa kontaktpindadel

	24 tundi		48 tundi	
	pärast puh. ainet	pärast 70% piiritus	pärast puh. ainet	pärast 70% piiritus
Õppelauad	96,8%	99,3%	98,4%	99,7%
Klasside ukselingid väljas	96,2%	98,1%	98,3%	99,1%
Klasside ukselingid sees	100%	100%	97%	98,5%
Trepi käsipuu	68,2%	90,9%	61,2%	89,4%

Tabelist 2 on näha, et enamikel juhtudel vähenes desinfitseerimise tagajärjel kolooniaid moodustavate bakterite arv oluliselt. Kuigi desinfitseerivad lahused praktiliselt ei hävitanud baktereid WC kraanidel (lisa 1), ei saa väita, et desinfitseerivate vahenditel polnud mingit mõju. Pigem selle meetodiga ei saa mõju tuvastada, kuna kolooniate arvukus WC kraanidel oli liiga suur. Ainult ühel juhul hävitasid desinfitseerivad lahused kiiresti kasvavad bakterid täielikult (uksekingid seespool 24 tunni möödumisel). Peab meeles pidama, et uksekingid olid seespool ka kõige väiksema bakterite arvukusega. Trepi käsipuule oli desinfitseerivate lahuste mõju nõrgem. Autorite arvates on põhjus selles, et käsipuu pinda oli raske korralikult desinfitseerida. Kuna käsipuu oli metallist toru, mida mitmed korrad värvitud, oli selle pind krobe ja ebatasane. Ja see oluliselt segas efektiivset desinfitseerimist.

KOKKUVÕTE

Käesoleva uurimistööga soovisid autorid välja selgitada, millises kohas puutuvad Tartu Annelinna Gümnaasiumi õpilased ja töötajad kõige rohkem kokku bakteritega (teisisõnu öeldes, millised kohad on kõige rohkem bakteritega saastunud).

Uurimistöö käigus leidis kinnitust üks eelnevalt püstitatud hüpoteesidest, et desinfitseerimise tagajärjel kontaktpindadel bakterite arvukus väheneb oluliselt.

Teiseks hüpoteesiks olnud autorite isiklik arvamus, et kõige suurema bakteri arvukusega on klasside ukselingid, ei leidnud kinnitust.

Kõige suurema bakterite arvukusega ja seega ka kõige tihedamini kasutatavaks kontaktpinnaks osutusid tüdrukute WC kraanid. Nendel pindadel kolooniaid moodustavate bakterite hulka oli võimatu hinnata, kuna suure arvu tõttu olid kolooniad kokku kasvanud ja ühte kolooniat ei olnud võimalik teisest eristada.

Töö tulemused näitavad, et kooli koristajate poolt kasutatav kloori sisaldav puhastuslahus on küllalt efektiivne. Siiski selgus, et 70% piirituse lahus on mõnevõrra tõhusam. Mõningatel juhtudel oli 70% etanooli ja kloori sisaldava puhastuslahuse mõju vahe üsna väike. Ainsaks kohaks, kus mõlemad desinfitseerivad ained ei andnud olulist efekti bakterite arvukuse vähendamisel, olid WC valamute kraanid. Autorite arvates on põhjus selles, et WC kraanid on kõige kehvemini puhastamisele alluvad kontaktpinnad koolis. Sagedase kasutamise tõttu on üsna raske hoida nende puhtust range kontrolli all. Võimalik, et kraanid olid jäänud pikemat aega puhastamata ja ühekordne puhastamine desinfitseerivate lahustega ei andnud nähtavat efekti.

Bakterite arvukuse uurimine on väga lai teema. Tulevikus sooviksid autorid tegeleda selle teemaga lähemalt. Uurimise suundi on palju: hinnata bakterite arvukust kooli teistel kontaktpindadel; määrata täpselt bakterite liike nendel pindadel, millega õpilased koolis kokku puutuvad; saada teada, millised bakterid kanduvad koolis õhu kaudu edasi.

Töö tulemustest lähtuvalt sooviksid autorid edastada palve Tartu Annelinna Gümnaasiumi juhtkonnale, et võimaluse korral vahetataks kooli tualettruumide kraanid kontaktivabade kraanide vastu. WC kraane kasutatakse väga tihedalt ja need koguvad endale palju mustust (sealhulgas baktereid), seega võivad nad osutada haigusi tekitavate bakterite üheks leviku põhjuseks koolis.

RESÜMEE

Бактерии - это самые маленькие одноклеточные организмы, у которых есть все признаки жизнедеятельности. Бактерии живут всюду: в воздухе и на земле, в воде и в почве, в растениях и в животных. Бактерии обитают на Земле уже миллиард лет или больше. Уже Гиппократ предположил, что болезни, передающиеся от человека к человеку, вызывают невидимые живые организмы. Несмотря на свои крохотные, микроскопические размеры, все они отличаются друг от друга и формой, и свойствами. Бактерии опасны для человека, так как вызывают болезни, но некоторые виды бактерий крайне важны в человеческой жизни.

Авторам этой работы крайне интересно узнать, на каких контактных поверхностях в Тартуской Аннелиннской Гимназии можно обнаружить самое большое количество бактерий. Так же одна из целей исследования, могут ли разные дезинфицирующие средства полностью уничтожить бактерии на поверхностях в школе. Авторы взяли в школе пробы с различных поверхностей, и затем поверхности были обработаны двумя дезинфицирующими средствами. После подсчёта выросших колоний оказалось, что самое большое количество бактерий на кранах в женском туалете. Опираясь на эти данные, авторы могут утверждать, что краны в туалете – поверхность, чистоту которой в школе наиболее трудно поддерживать. Поэтому авторы выступают с предложением к руководству школы в случае возможности заменить краны в туалетах на бесконтактные.

Kasutatud kirjandus

Eero, A.; Malank, K.; Trunin, L. Bioloogia ja Geograafia raudvara. Tallinn Raudvara, 2012, lk 432.

Elusloodus. Tallinn Valgus, 1983, 344 lk.

Manual of Microbiological Culture Media. URL=

http://www.bd.com/ds/technicalCenter/misc/difcobbmanual_2nded_lowres.pdf.

(Kasutamise kuupäev: 20. veebruar 2017).

Mikelsaar, M.; Karki, T.; Lutsar, I.; Mändar, R. Meditiiniline Mikrobioloogia 1. osa. Tartu, Tartu Ülikooli Kirjandus, 2006, lk 258.

Sender, R.; Fuchs, S.; Milo, R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. 2016. URL =

<http://www.biorxiv.org/content/early/2016/01/06/036103>. URL=

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/l2897?lang=en®ion=EE>. Kasutamise kuupäev (22. veebruar 2017).

Tenhunen, A.; Hain, E.; Veneäläinen, J.; Tihtarinen-Ulmanen, M.; Holopainen, M.; Sotkas, P.; Happonen, P. Bioloogia Gümnaasiumile 1. osa. Tallinn Avita, 2012, lk 123.

Tenson, T.; Kaldalu, N.; Tenhunen, A.; Hain, E.; Venäläinen, J.; Tihtarinen-Ulmanen, M.; Holopainen, M.; Sotkas, P.; Happonen, P. Bioloogia Gümnaasiumile 3. osa. Tallinn Avita, 2013, lk 115.

The Visible Embryo. 2011. URL = <http://www.visembryo.com/story365.html>

VWR Chemicals. URL= https://ru.vwr.com/assetsvc/asset/ru_RU/id/14460482/contents.

Kasutamise kuupäev (12. märts 2017).

Блейзер, М. Плохие бактерии, хорошие бактерии. Перевод с англ. Захаров, А. Москва Э, 2016, стр 240.

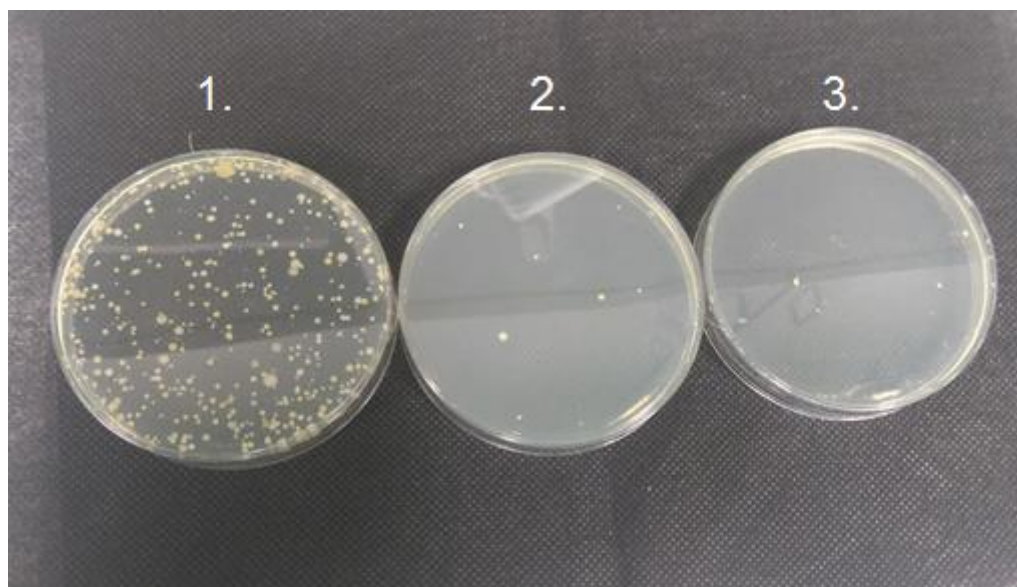
3. LISAD

Lisa 1. Uurimistöö tulemused. Kolooniate loendamise tulemused.

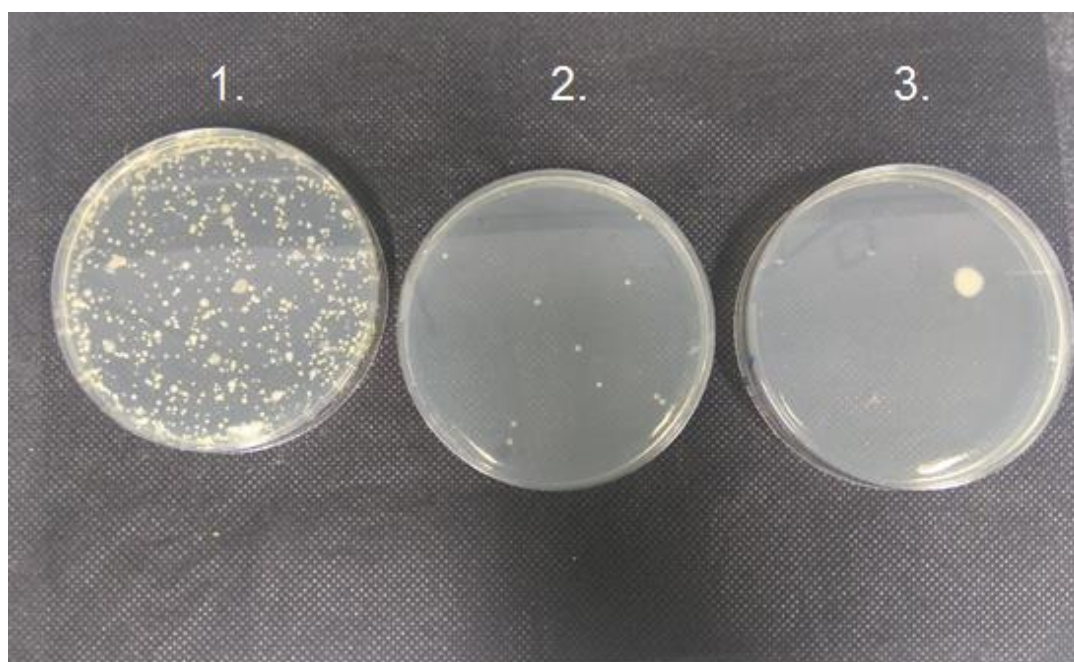
		24 tundi	48 tundi
Klass, laud 1	Puhastamata	70	umbes 420
	Peale puh. ainet	5	7
	Peale 70% piiritust	2	4
Klass, laud 2	Puhastamata	umbes 200	umbes 768
	Peale puh. ainet	10	13
	Peale 70% piiritust	0	0
Klass, laud 3	Puhastamata	umbes 200	umbes 800
	Peale puh. ainet	1	10
	Peale 70% piiritust	0	1
Uks 1, käepide väljas	Puhastamata	100	163
	Peale puh. ainet	5	4
	Peale 70% piiritust	2	3
Uks 1, käepide sees	Puhastamata	41	89
	Peale puh. ainet	0	4
	Peale 70% piiritust	0	2
Uks 2, käepide väljas	Puhastamata	10	66
	Peale puh. ainet	0	2
	Peale 70% piiritust	0	0
Uks 2, käepide sees	Puhastamata	15	45
	Peale puh. ainet	1	1
	Peale 70% piiritust	0	0
Uks 3, käepide väljas	Puhastamata	50	127
	Peale puh. ainet	0	6
	Peale 70% piiritust	0	0
Uks 3, käepide sees	Puhastamata	37	65
	Peale puh. ainet	0	2
	Peale 70% piiritust	0	0
Trepikäsipuu, sektor 1	Puhastamata	52	73
	Peale puh. ainet	27	56
	Peale 70% piiritust	10	23
Trepikäsipuu, sektor 2	Puhastamata	66	143
	Peale puh. ainet	9	12
	Peale 70% piiritust	1	4
Trepikäsipuu, sektor 3	Puhastamata	14	40
	Peale puh. ainet	5	31
	Peale 70% piiritust	0	0

		24 tundi	48 tundi
WC, kraan 1	Puhastamata	loendamatu	loendamatu
	Peale puh. ainet	loendamatu	loendamatu
	Peale 70% piiritust	loendamatu	loendamatu
WC, kraan 2	Puhastamata	loendamatu	loendamatu
	Peale puh. ainet	>700	>800
	Peale 70% piiritust	umbes 150	umbes 248
WC, kraan 3	Puhastamata	loendamatu	loendamatu
	Peale puh. ainet	loendamatu	loendamatu
	Peale 70% piiritust	loendamatu	loendamatu

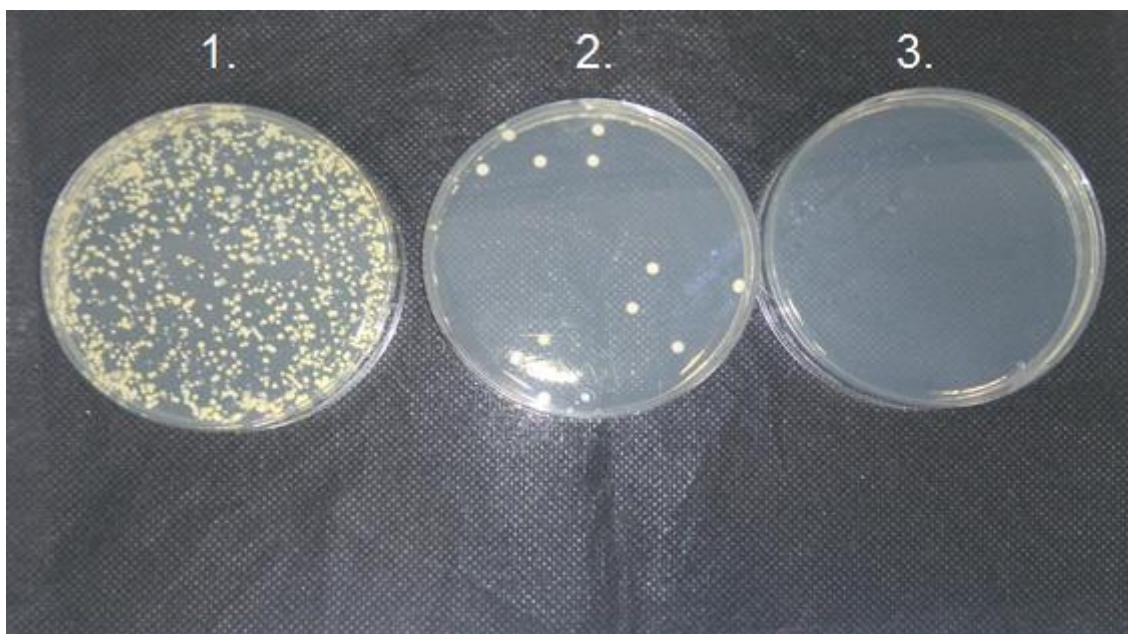
Lisa 2. Uurimistöö tulemused. Tasside pildid.



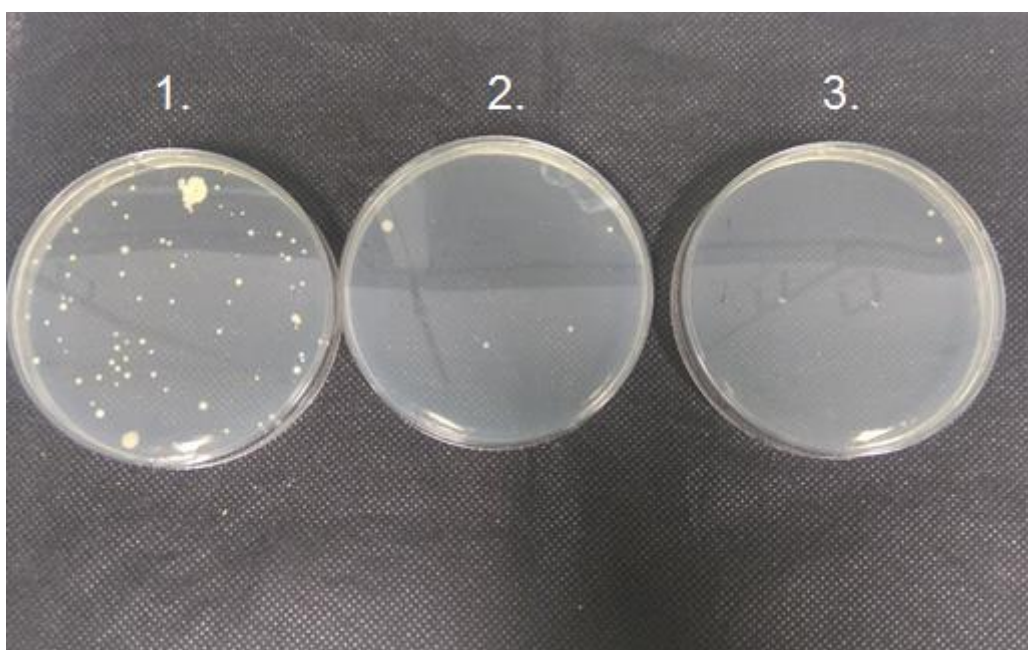
Klass 301, laud 1 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



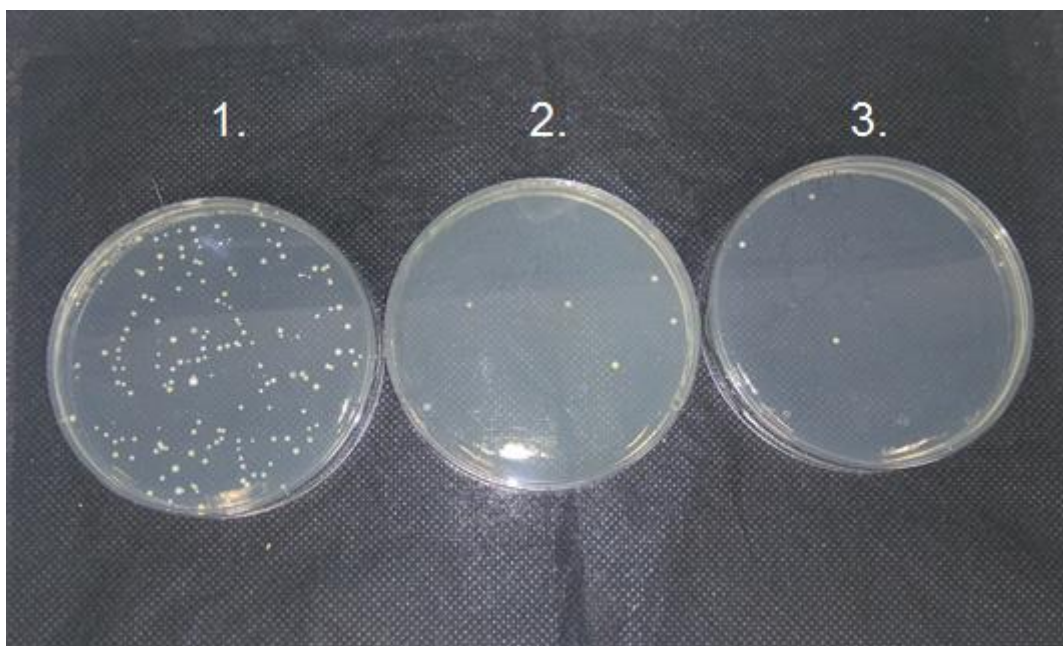
Klass 301, laud 2 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



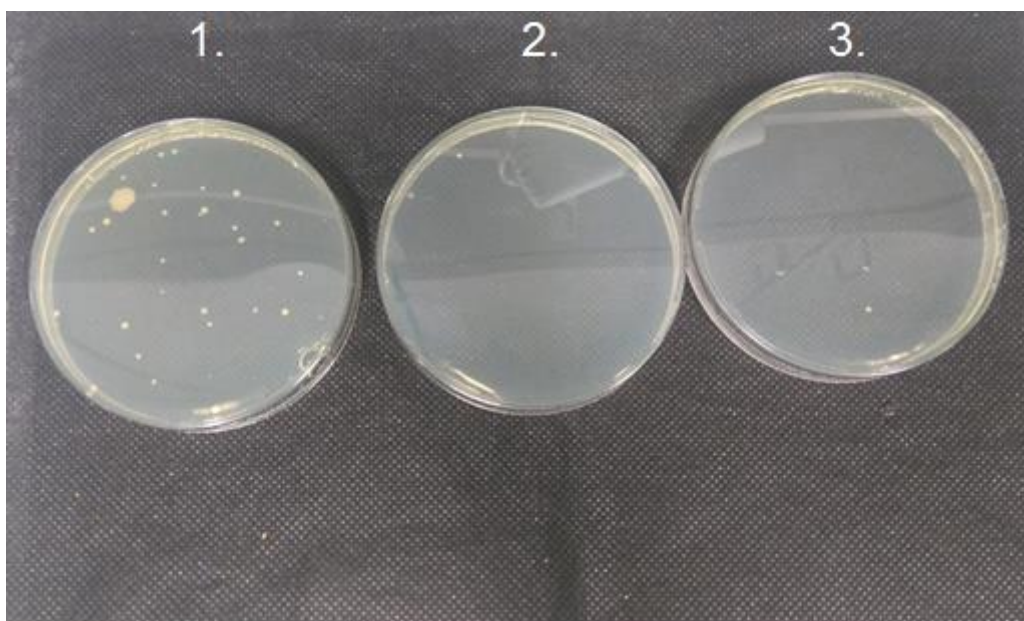
Klass 301, laud 3 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



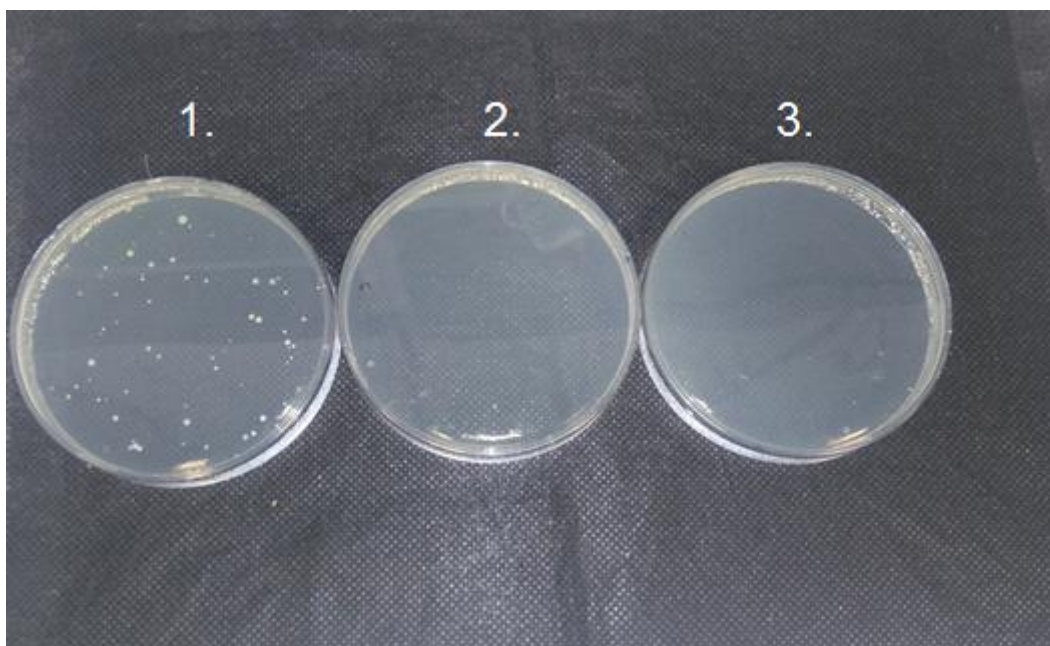
Klass 301, uks 1, ukse link sees (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



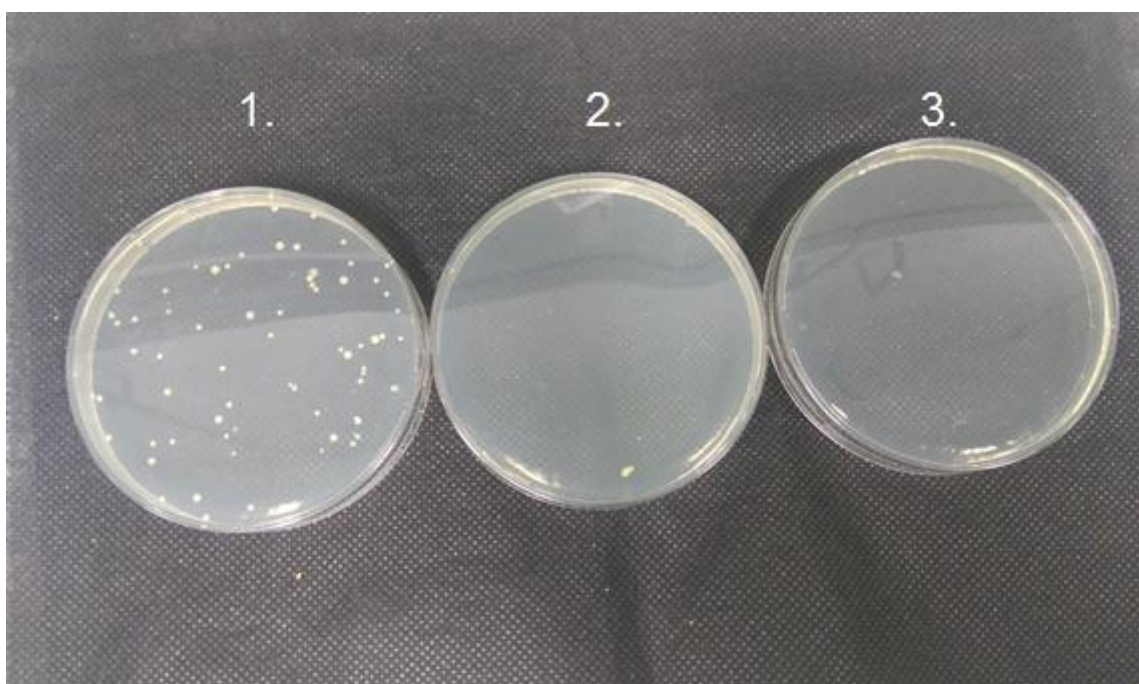
Klass 301, uks 1, ukse link väljas (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



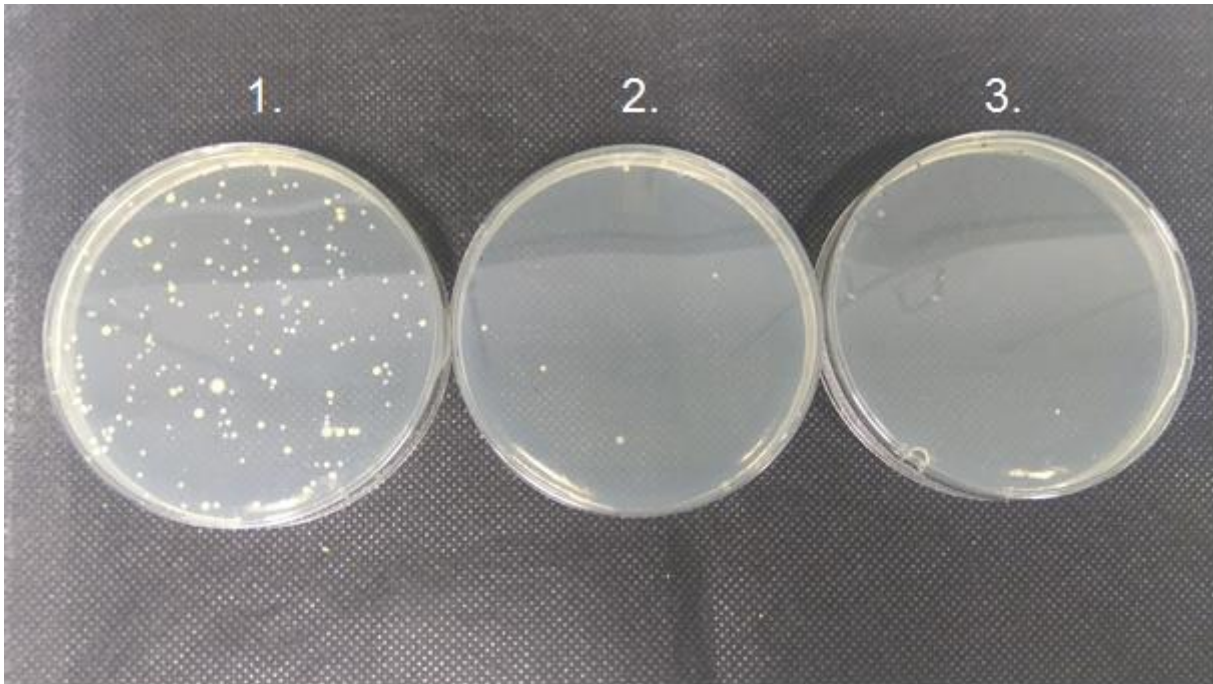
Klass 210, uks 2, ukse link sees (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



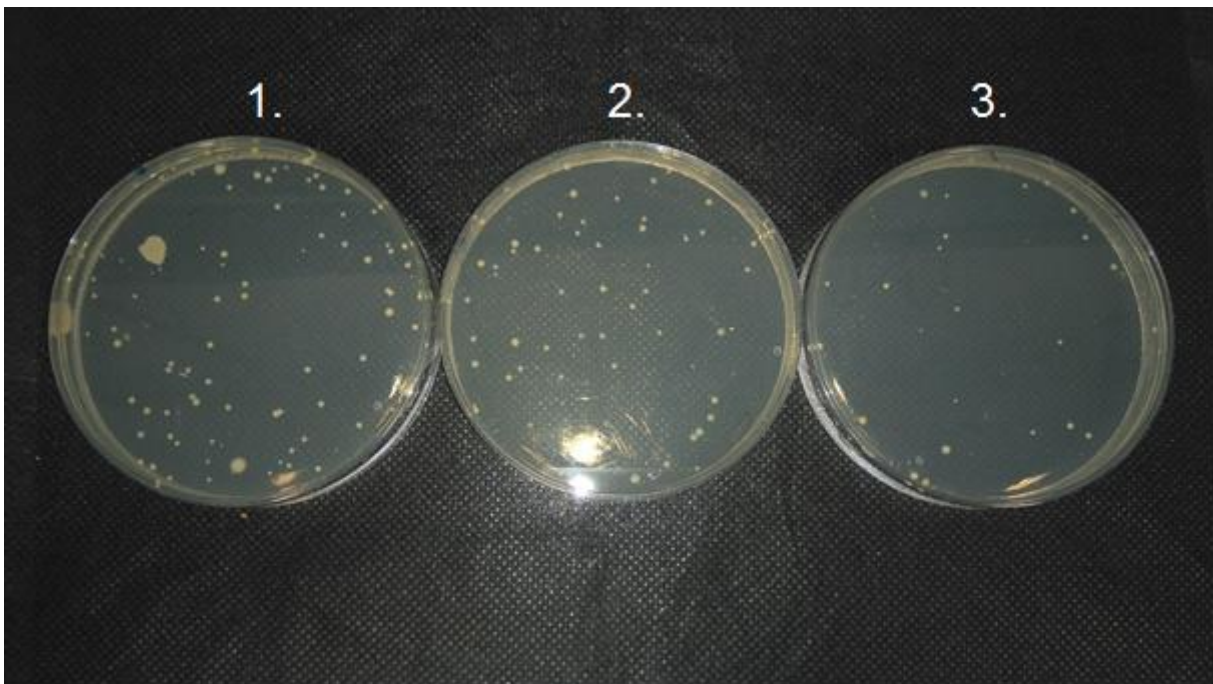
Klass 210, uks 2, ukse link väljas (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



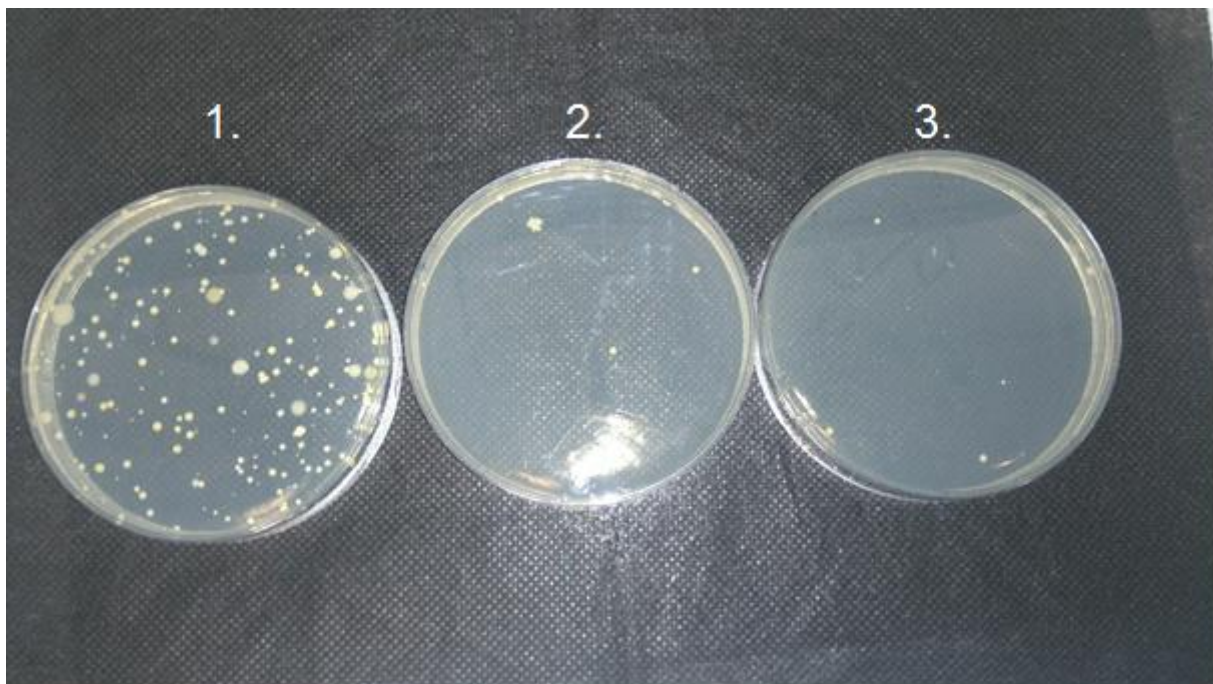
Aula, uks 3, ukse link sees (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



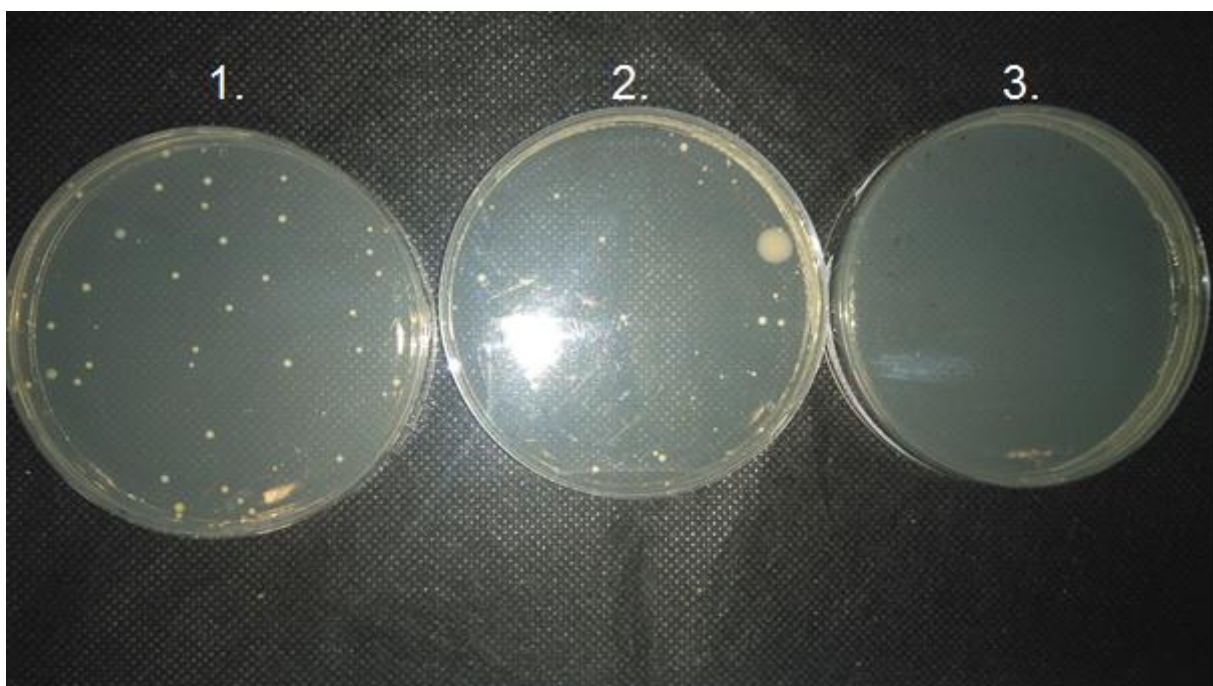
Aula, uks 3, ukse link väljas (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



Trepi käsipuu, sektor 1 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



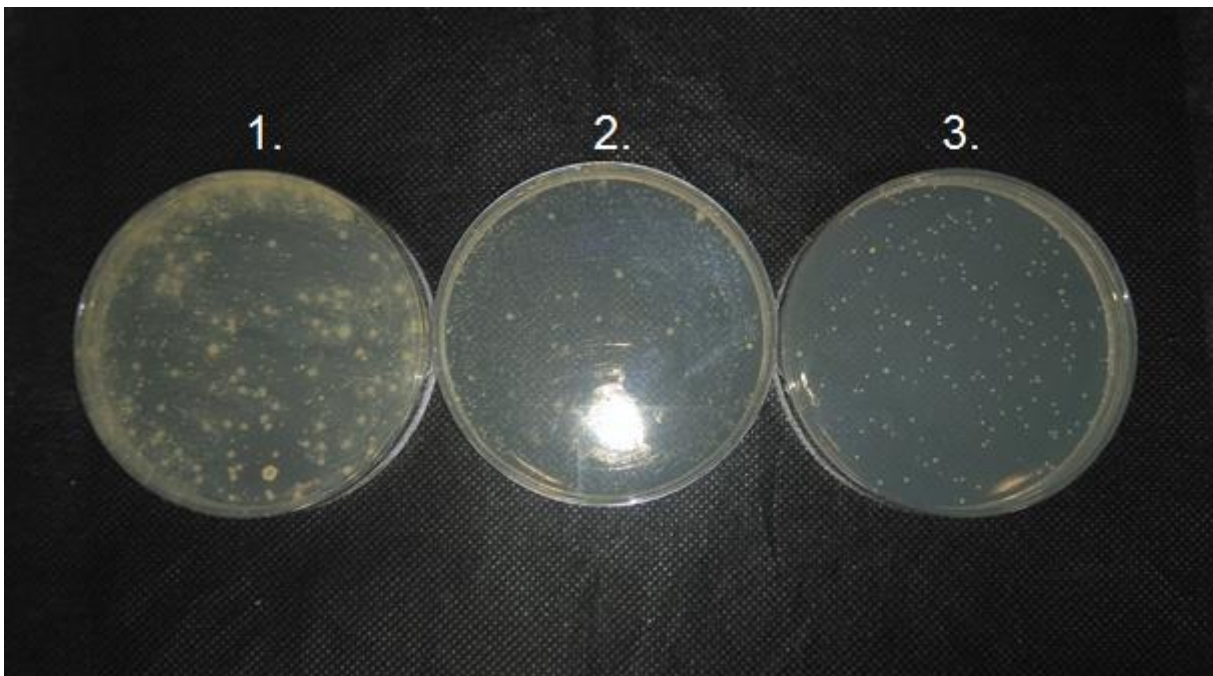
Trepi käsipuu, sektor 2 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



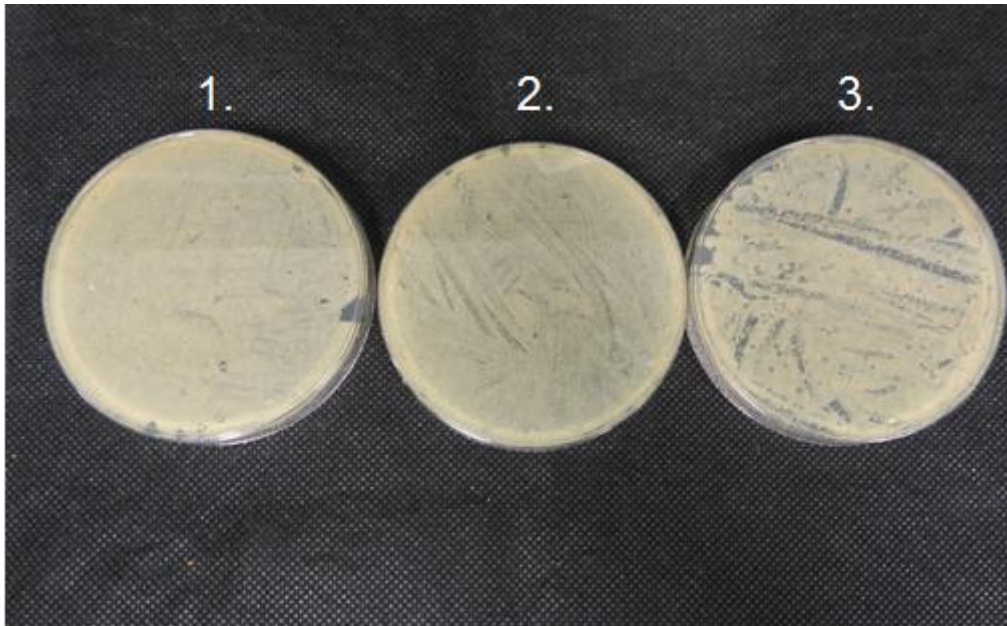
Trepi käsipuu, sektor 3 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



WC, kraan 1 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



WC, kraan 2 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).



WC, kraan 3 (1 – puhastamata pind; 2 – pärast puhastust kloori sisaldava lahusega; 3 – pärast puhastust 70% piiritusega).