



PROJEKTO „MOKYKLOS PATALPŲ ORO MIKROBIOLOGINĖS BŪKLĖS ĮVERTINIMAS“ METODOLOGINIAI ASPEKTAI

Daiva Paškevičienė

Jeruzalės vidurinė mokykla, Vilnius

Algimantas Paškevičius

Botanikos institutas, Vilnius

Anotacija

Straipsnyje pateikiamos metodologinės rekomendacijos įgyvendinant mikrobiologinio pobūdžio projektą. Pagrindinis šio projekto tikslas – išaiškinti mokyklos patalpų užterštumą mikroorganizmais; suteikti moksleiviams žinių apie įvairių sistematinių grupių (bakterijų, mikromicetų, mieliagrybių) biologinius savitumus. Šio projekto vykdymo metu siekiama ugdyti moksleivių gebėjimus eksperimentuoti, formuoti mokslinio darbo pradinius įgūdžius ir mus supančio nematomo pasaulio pažintinę patirtį. Projekto įgyvendinimas skatina moksleivių kūrybinius ir organizacinius sugebėjimus, kaip vientisą teorinių ir praktinių veiksmų procesą. Įgytas žinias moksleiviai gali panaudoti kurso „Žmogus ir jo sveikata“ (IX klasė) bei ekologijos (X klasė) ir bendrosios biologijos (XI–XII klasė) pamokose.

Raktiniai žodžiai: mikroorganizmai, paplitimas, mokyklos patalpų oras.

Įvadas

Gyvenamųjų ir darbo patalpų oras mikroorganizmais užterštas daugiau negu atmosferos. Blogai vėdinamų, dulkėtų, nešvarių patalpų viename m³ oro būna 45000–60000 mikroorganizmų. Patalpų ore paprastai randama žmogaus nosiaryklės saprofitų ir gana dažni saprofitiniai kokai (mikrokokai, stafilokokai, sarcinos), gramteigiamos lazdelės (*Bac. subtilis*, *Bac. megatherium*). Drėgnose patalpose vyrauja įvairūs mikromicetai, aktinomicetai, kurie dulkėse išgyvena iki keleto mėnesių (Lugauskas, 2003).

Patogeniniai mikroorganizmai į orą patenka su skysčių lašeliais, žmogui kosint, čiaudint, kalbant, ar su dulkėmis (fiziologinis aerolis). Apie 60% išmetamų į orą lašelių būna stambūs (100 μ), 30% – vidutinio dydžio (50 μ) ir 10% – smulkūs (iki 3 μ). Pavojingiausi yra smulkūs lašeliai, nes jie giliau įkvepiami ir mikroorganizmai patenka į alveoles. Be to, šie lašeliai, pasklidę per 1–1,5 m nuo sergančiojo, lieka suspenduoti ore 24 val. Stambesni lašeliai drauge su mikroorganizmais nusėda ant dulkių, kurias oro srovė pakelia į viršų ir išsklaido po patalpą. Jei moksleivis per minutę mažiausiai įkvepia 16 kartų, maždaug po ½ litro oro, tai tik per vieną parą per jo plaučius praeina apie 12 000 litrų oro. Kvėpuodamas kartu su dulkėmis į plaučius įkvepia ir daugybę mikroorganizmų. Kiekviena ore esanti dulkelė yra tarytum balionas, kuriuo skrenda dešimtys ir šimtai mikroorganizmų. Nevėdinamose uždaroje patalpose ir mokyklos kabinetuose, kur būna daug moksleivių, yra labai daug žalingų mikroorganizmų (Bluzmanas, Ragavičius, 1987; Pečiulis, 1994).

Projekto aktualumas ir tikslai

Pastebėta, kad pastaruoju metu kabinetai perpildyti moksleiviais, žiemos periodu beveik nevėdinami, todėl moksleiviai labai dažnai serga respiratorinėmis (viršutinių kvėpavimo takų) ligomis.

Bendrojo lavinimo vidurinės mokyklos, o tuo labiau profiliuotos mokyklos programoje yra daug temų, kuriose susiduriama su mikroorganizmų sąvoka, tačiau moksleiviams dažnai trūksta praktinių žinių apie šių mikroorganizmų išskyrimą laboratorinėmis sąlygomis ir paplitimą patalpų ore. Moksleiviams dažnai trūksta žinių apie įvairių sistematinių grupių mikroorganizmų (bakterijų, mikromicetų, mieliagrybių) mikromorfologinius savitumus. Be to, projekto metu atliekamas tiriamasis darbas, susijęs su naujų žinių įgijimu arba turimų praplėtimu ir gilinimu. Tokio pobūdžio tyrimai sudaro palankias sąlygas ugdyti daugelį vertybių: darbštumą, drausmingumą, formuojamos gamtosaugos nuostatos.

Pagrindinis šio projekto tikslas – išaiškinti mokyklos patalpų užterštumą mikroorganizmais, suteikti moksleiviams žinių apie įvairių sistemtinių grupių (bakterijų, mikromicetų, mieliagrybių) mikromorfologinius savitumus. Šiam tikslui pasiekti keliami tokie uždaviniai: 1) gebėjimo eksperimentuoti, mokslinio darbo pradinių įgūdžių ugdymas; 2) supančio pasaulio pažintinės patirties formavimas, atliekant grupines užduotis; 3) kūrybinių ir organizacinių sugebėjimų, kaip vientiso teorinių ir praktinių veiksmų proceso, ugdymas.

Tyrimų metodika

Vykdytojai: projektą įgyvendina 9–12 klasių moksleiviai vadovaujami biologijos mokytojo. Tyrimus moksleiviai atlieka grupėmis.

Prietaisai ir kitos priemonės: svarstyklės – 1 vnt.; orkaitė – 1 vnt.; mikroskopai – 6 vnt.; Petri lėkštelės – 30 vnt.; kolbos (500 ml) – 2 vnt.; spiritinė lemputė – 1 vnt.; termometras – 1 vnt.; pincetas – 2 vnt.; mikrobiologinė adata – 3 vnt.; etilo alkoholis (70°) – 100 ml; dažų rinkinys bakterijoms dažyti Gramo metodu; objektiniai stikleliai – 50 vnt.; dengiamieji stikleliai – 100 vnt.

Terpės: mėsos peptono agaras – 14,0 g (bakterijoms išskirti); Sabūro agaras – 32,5 g (mieliagrybiams ir kitiems mikromicetams išskirti). Mikroorganizmams išskirti galima naudoti ir kitas mitybines terpes (Makarskaitė, Motiejūnaitė, 2000).

Darbo eiga. Mokytojas pasirūpina, kad Petri lėkštelės būtų sterilios – jos sausu karščiu orkaitėje (darbų kabinete) sterilizuojamos 2 val. 160–170 °C temperatūroje. Mokytojas kartu su moksleiviais paruošia mitybines terpes. Į 500 ml kolbą atsveriama 14 g mėsos peptono sausos terpės ir užpilama 0,5 litro vandens. Sabūro agaras ruošiamas taip pat, tik imami 32,5 g sausos terpės ir užpilama 500 ml vandens. Kadangi mokykloje nėra sąlygų terpę sterilizuoti autoklave, tai jos kaitinamos orkaitėje 1 val. (nuo užvirimo) 130 °C temperatūroje. Išsterilinus terpes, mokytojas jas išpilsto po 25 ml į sterilias Petri lėkšteles. Būtina patikrinti, ar mitybinė terpė lygiai pasiskleidė lėkštelėje ir ar padengė visą jos dugną. Tai galima padaryti, kol terpė dar nesustingusi. Lėkštelės pastatomos ant lygaus paviršiaus ir pajudinamos. Jeigu nėra galimybės paruošti terpes mokykloje, jas galima užsisakyti mikrobiologines priemones platinančiose firmose arba kreiptis į artimiausią mikrobiologijos laboratoriją (visuomenės sveikatos centras, mokslo įstaiga).

Vėliau sudaroma bandymo schema. Ji gali būti tokia:

- a) mikroorganizmų paplitimas biologijos kabineto ore (prieš pamokas ir po pamokų);
- b) mikroorganizmų paplitimas pradinių klasių kabineto ore (prieš pamokas ir po pamokų);
- c) mikroorganizmų paplitimas koridoriaus ore (prieš pamokas ir po pamokų);
- d) mikroorganizmų paplitimas mokytojų kambario ore (prieš pamokas ir po pamokų);
- e) mikroorganizmų paplitimas mokyklos valgyklos ore (prieš pamokas ir po pamokų);
- e) kontrolė (K): neatidengtoje lėkštelėje (patikrinti, ar steriliai paruošta terpė).

Atliekant tyrimą, kiekvienoje pagal bandymo schemą numatytoje vietoje atidengiamos trys Petri lėkštelės su mėsos peptono agarizuota terpe (bakterijoms išskirti) ir tiek pat Petri lėkštelių su Sabūro agarizuota terpe. Ekspozicijos trukmė 15 min. Bandymo protokole pažymima, kur buvo imami mėginiai, kokios buvo sąlygos (prieš pamokas, po pamokų, oro temperatūra). Po ekspozicijos Petri lėkštelės uždengiamos dangteliais, apverčiamos (kad ant terpės paviršiaus nelašėtų kondensacinė drėgmė) ir inkubuojamos 25–28 °C temperatūroje. Kadangi mokyklos neturi termostatų, būtina užtikrinti, kad patalpoje būtų mikroorganizmams augti tinkama temperatūra. Žiemos laikotarpiu Petri lėkštelės gali būti laikomos arčiau šildymo radiatoriaus.

Po 2–3 parų inkubacijos mėsos peptono agarizuotos terpės paviršiuje užauga bakterijų. Jų skaičius rodo, kiek bakterijų į lėkšteles prikrito, kai jos buvo atidengtos. Jei kolonijos labai smulkios, jos analizuojamos su lupa. Po 5–7 parų suskaičiuojamos mieliagrybių ir kitų

mikromicetų kolonijos. Žinant mikroorganizmų skaičių Petri lėkštelėse galima perskaičiuoti, kiek kolonijas sudarančių vienetų (ksv) yra 1 m³ oro.

Išaugusias oro mikroorganizmų kolonijas galima tirti mikroskopu. Preparatus mikroskopuoti galima paruošti tokiais būdais:

1) bakterijoms stebėti ant objekcinio stiklelio mikrobiologine adata uždedamas lašas vandens. Iš išaugusios bakterijų kolonijos daromas tepinėlis. Tepinėliui nudžiūvus jis fiksuojamas 96° etilo spiritu. Jam nudžiūvus dažomas Gramo būdu (Pečiulis, 1994). Vėliau užlašinus imersinio skysčio, mikroskopuojama x 90 objektyvu. Žinotina, kad raudonai nusidažo gramneigiamos bakterijos, o mėlynai – gramteigiamos bakterijos;

2) mikromicetams ir mieliagrybiams stebėti ant objekcinio stiklelio užlašinamas lašas vandens ir mikrobiologine adata įdedama į jį šiek tiek išaugusios kultūros. Uždengiamame dengiamuoju stikleliu ir mikroskopuojame x 20–40 objektyvu.

Tirdami mikroorganizmus moksleiviai susipažįsta su bakterijų ląstelių dydžiu, forma ir savo užrašuose pasižymi, kokios bakterijos buvo išskirtos (kokai, bacilos, vibronai, spirilos). Taip pat susipažįsta su mikromicetų mikromorfologiniais ypatumais (micelio ir konidijų forma). Stebi mieliagrybių dauginimosi būdus (pumpuravimą, pasidalijimą pusiau). Aprašo mielių ląstelių formą ir dydį ir kitus jiems būdingus požymius. Visi stebėjimai surašomi į bandymų protokolą.

Atlikti mikromicetų identifikaciją reikia kompetencijos, todėl jų vadovai turi būti išmokyti mikrobiologinių tyrimo metodų. Galima pasitelkti įvairius žinynus (Bridžiuvienė ir kt., 1997; Kalėdienė, 1999; Lugauskas, Paškevičius, Repečkienė, 2002).

Laukiami tyrimų rezultatai

Gautus tyrimų rezultatus apie mikroorganizmų paplitimą mokyklos patalpų ore galima surašyti į 1 lentelę:

1 lentelė

X mokyklos patalpų oro mikrobiologinis įvertinimas

Eil. nr.	Patalpos pavadinimas	Bakterijų skaičius	Mikromicetų ir mieliagrybių skaičius	Bendras mikroorganizmų skaičius (ksv/m ³)

Atliekamas palyginimas, kokiose patalpose mikroorganizmų buvo daugiausia. Analizuojama, kokios sąlygos galėjo tai nulemti. Atkreipiamas dėmesys į mikroorganizmų skaičių iki pamokų ir po pamokų.

Mikroorganizmų mikromorfologinių stebėjimų rezultatus galima surašyti į 2 lentelę:

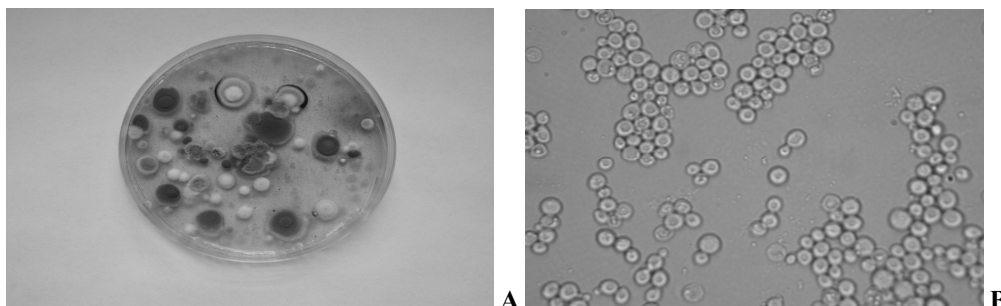
2 lentelė

Mikroorganizmų morfologinių savitumų įvertinimas

Eil. nr.	Mikroorganizmo išskyrimo vieta	Mikroorganizmų sisteminė padėtis	Makromorfologiniai savitumai	Mikromorfologiniai savitumai

Aprašydami iš mokyklos patalpų oro išskirtus mikroorganizmus moksleiviai nurodo, kokiai sistematinei grupei mikroorganizmas priklauso (bakterijos, mikromicetai, mieliagrybiai). Esant galimybei identifikuoti mikroorganizmus galima nurodyti, kokiai genčiai ar rūšiai priskiriamas mikroorganizmas.

Tiriant makromorfologinius savitumus būtina nurodyti: kolonijos spalvą, formą, dydį, atvirkštinės kolonijos pusės spalvą. Stebėdami preparatus pro mikroskopą moksleiviai aprašo mikroorganizmų mikromorfologinius darinius: ląstelių formą, jeigu yra galimybė, dydį, micelio formą, kitus darinius (konidijas, sporas). Esant galimybei mikroorganizmų kolonijas arba jų mikromorfologinius darinius naudinga užfiksuoti fotonuotraukose (pav.).



Pav. Mikroorganizmų, išskirtų iš mokyklos (X) patalpų oro, bendras kolonijų vaizdas (A) ant salyklo agarizuotos terpės ir mieliagybių mikroskopinis vaizdas (B).

Apibendrinimas

Šiuo metu siūlomas normas sanitarinei būklei įvertinti ne visada galima pritaikyti konkrečioms sąlygoms. Yra žinoma, kad mikroorganizmų kiekis 1 m^3 nevėdinamo kambario oro yra švarus, kai mikroorganizmų skaičius yra mažesnis už 1500 kolonijas formuojančių vienetų 1 m^3 vasarą ir mažesnis už 4500 kolonijas formuojančių vienetų 1 m^3 žiemą. Užterštas – daugiau kaip 2500 mikroorganizmų 1 m^3 vasarą ir daugiau nei 7000 mikroorganizmų 1 m^3 žiemą. Žinant tai, galima palyginti gautus tyrimų rezultatus. Vėliau moksleiviai gautus tyrimo rezultatus susistemina ir paskelbia. Rašo referatus, išleidžia stendą apie mokyklos patalpų užterštumą mikroorganizmais, teikia rekomendacijas mokyklos sanitarinės būklės pagerinimo klausimais, dalyvauja jaunųjų mokslininkų gamtinių konkursuose ir įvairiose konferencijose.

Išvados

1. Šio projekto vykdymo metu ugdomi moksleivių gebėjimai eksperimentuoti, formuojami mokslinio darbo pradiniai įgūdžiai ir mus supančio nematomo pasaulio pažintinė patirtis.
2. Projekto įgyvendinimas skatina moksleivių kūrybinius ir organizacinius sugebėjimus, kaip vientisą teorinių ir praktinių veiksmų procesą. Moksleiviai noriai dalyvauja jaunųjų mokslininkų konkursuose, konferencijose.
3. Atlikdami grupines užduotis moksleiviai daug sužino apie įvairių sistematiinių grupių mikroorganizmus (bakterijas, mikromicetus, mieliagybius), jų išskyrimą laboratorinėmis sąlygomis ir paplitimą patalpų ore.
4. Įgytas žinias moksleiviai gali panaudoti kurso „Žmogus ir jo sveikata“ (IX klasė) bei ekologijos (X klasė) ir bendrosios biologijos (XI–XII klasė) pamokose.

Literatūra

- Bluzmanas P., Ragavičius A. (1987). *Mikrobiologijos ir virusologijos pagrindai*. Vilnius.
- Bridžiuvienė ir kt. (1997). *Mikrobiologiniai medžiagų pažeidimai*. Vilnius.
- Kalėdienė L. (1999). *Grybų sistematikos įvadas*. Vilnius.
- Lugauskas A., Krikštonis A., Šeškauskas V. (2003). Species of Conditionally Pathogenic Micromycetes in the Air of Dwellings and Occupational Premises. *Indoor Built Environment*, 21, p. 167–177.

Lugauskas A., Paškevičius A., Repečkienė J. (2002). *Patogeniški ir toksiški mikroorganizmai žmogaus aplinkoje*. Vilnius.

Makarskaitė R., Motiejūnaitė O. (2000). *Aplinkotyra: mokomoji knyga jaunimui*. II dalis. Utena.

Pečiulis J. (1994). *Mikrobiologijos praktikos vadovas*. Vilnius.

Summary

METHODOLOGICAL ASPECTS OF THE PROJECT "EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL STATE IN SCHOOL PREMISES"

Daiva Paškevičienė, Algimantas Paškevičius

The article presents methodological recommendations for the implementation of the project of a microbiological nature. The urgency of the project is undoubted, as it has been noticed that school classes were overcrowded with pupils and almost not ventilated in winter, thus, schoolchildren often suffered from respiratory illnesses. Besides, secondary school programs include many themes in which the concept of microorganisms is used, however, pupils usually lack practical knowledge about isolation of microorganisms in a laboratory and their distribution in the air.

The main aim of this work was to evaluate microbial contamination of school premises as well as to provide pupils with knowledge about biological peculiarities of various systematic groups (bacteria, micromycetes and yeast-like fungi) and their macro- and micro-morphological peculiarities. To achieve the aim, the following tasks were set: 1) to develop pupils' abilities to make experiments and develop their initial skills in research; 2) to form their cognitive experience of the surrounding world while performing team tasks; 3) to develop pupils' creative-organizational abilities as an integral process of theoretical and practical actions.

Due to lack of equipment and conditions, it is not easy to perform microbiological projects in schools. Furthermore, a teacher should have competence, though due to this, in the article much attention is paid to the methods of project performance. Necessary labware and nutritive media for project implementation are indicated. Possible variants of an experiment scheme are discussed and the stages of the experiment are presented coherently. Preparation of microscopical mounts and microscopy methods are described in detail. It is pointed out that the identification of microorganisms is a very hard work, so teachers should be trained in microbiological methods. Handbooks, which can be used for the identification of some microorganisms, are indicated.

Much attention is paid to the presentation of experiment results, as pupils participating in the project get much information about microorganisms. Participants get familiarized with the size and shape of bacterial cells and fungal macro-morphological (colony colour, shape, size and colour of colony reverse) and micro-morphological (a shape of conidia and mycelium) peculiarities. Pupils observe reproduction ways of yeast-like fungi (budding and binary fission) and determine yeast cell shape, size and other characteristic properties. While describing microorganisms isolated from school indoor air, pupils indicate a systematic group to which a microorganism (a bacterium, micromycete and yeast-like fungus) belongs. When the opportunities to identify microorganisms exist, pupils point out a genus and a species to which a microorganism is ascribed. Possible variants of systematizing the obtained results (tables and pictures, etc.) are discussed.

The implementation of the project in schools has undoubted theoretic and practical significance, because pursuing the project the pupil's abilities to make an experiment are developed and initial skills in research and cognitive experience of the surrounding invisible world are formed. Execution of the project induces pupils' creative-organizational abilities as an integral process of theoretical and practical actions. Later the pupils willingly participate in competitions and conferences of young researchers – naturalists, write papers, prepare a wall newspaper about microbial contamination of school indoor air and give recommendations about improvement of school sanitation. While performing team tasks, participants get knowledge about microorganisms of various systematic groups (bacteria, micromycetes and yeast-like fungi), their isolation under laboratory conditions and distribution in the indoor air. Pupils can use obtained knowledge in the lessons of the course "A Man and his Health" (9th grade) as well as in ecology and general biology (11th – 12th grades) lessons.

Key words: microorganisms, distribution, air of school premises.



Daiva Paškevičienė,

Jeruzales Secondary School
Mokyklos Str. 9, LT-08413 Vilnius
E-mail: dapk@post.skynet.lt



Algimantas Paškevičius

Institute of Botany
Zaliuju ezeru Str. 49, LT-08406 Vilnius
E-mail: a.paskevicius@botanika.lt