

Sammenligning av selektive dyrkningsmedier for påvisning av *Aeromonas*

Henrik Arntsen Pedersen
Martin Brelum Mikalsen
Thorben Reiche

Hovedmål

Hovedmålet med denne bacheloroppgaven var å sammenligne stivelse ampicillin agar (SAA) med to kommersielle dyrkningsmedier, "Bile Salt Irgasan Brilliant Green agar" (BSIBG) og *Aeromonas* agar (Ryan). Bakgrunnen for dette var at dyrkningsmediet (SAA) som brukes i den standardiserte metoden for påvisning av *Aeromonas* (NMKL 150) ikke er optimalt.

Metodikk

Oppdyrking av kjente bakteriestammer

Et utvalg av bakterieisolater, 13 *Aeromonas*-arter og 7 ikke-*Aeromonas* arter, ble strøket ut på ferdigstøpte agarskåler av SAA, BSIBG og Ryan. Etter 24t og 48t inkubasjon ble skålene studert og koloniutseende av de ulike artene beskrevet.

Isolering av *Aeromonas* fra næringsmidler

For å undersøke medienes evne til å isolere *Aeromonas* fra en blandet mikroflora ble det tatt bakteriologiske analyser av laks, røye reker, salat og spirer. Det ble både tatt analyser av den naturlige tilstedeværende mikrofloraen i næringsmidlene, i tillegg til lakseprøver som var kunstig kontaminert med en *Aeromonas*-kultur.

PCR og sekvensering

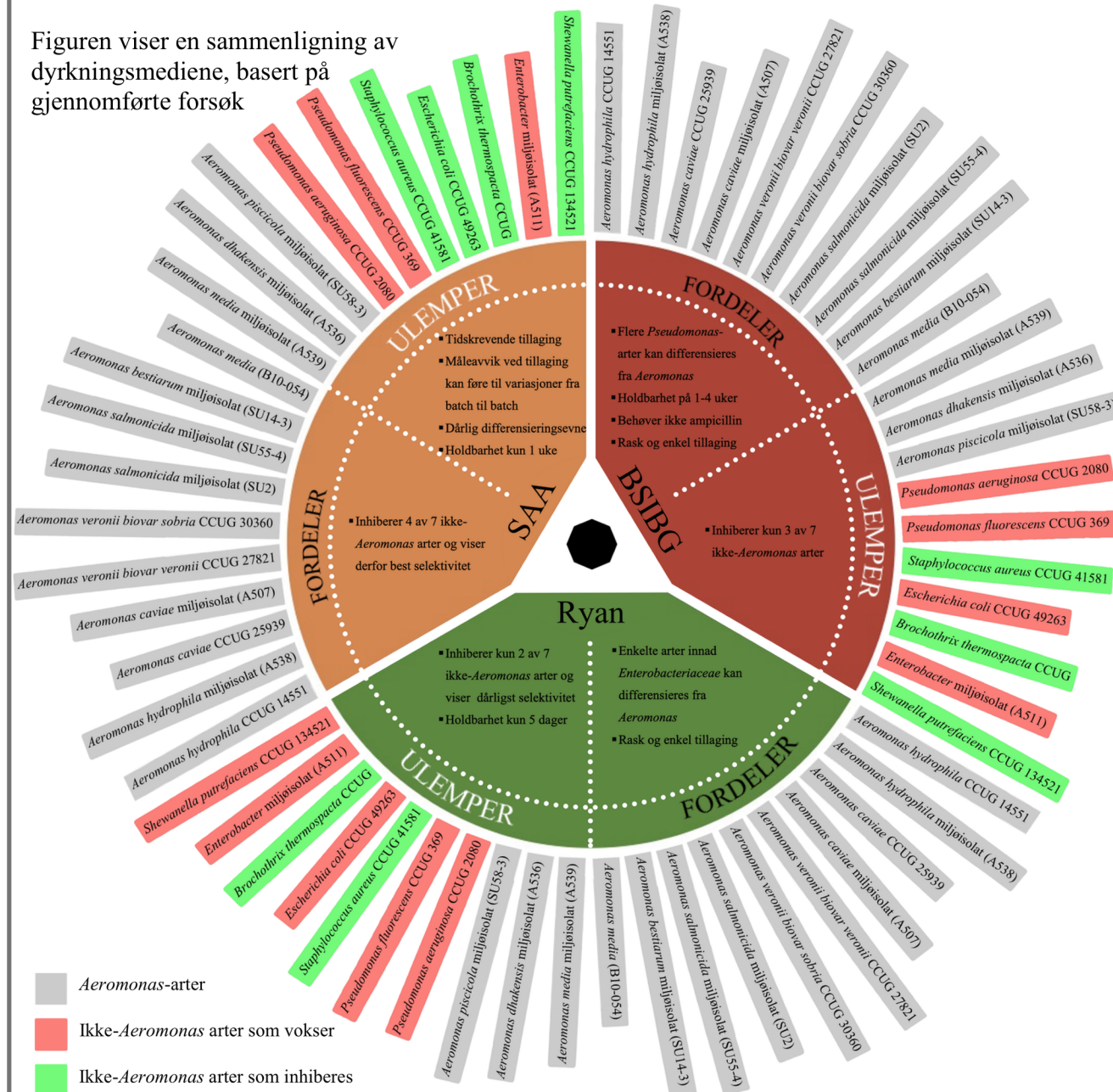
Det ble utført en polymerasekjedereaksjon (PCR) av 16S rRNA for identifisering av både presumptive og ikke-presumtive *Aeromonas*-kolonier fra næringsmiddelprøvene. I tillegg ble det utført agarosegelelektroforese av PCR-produktene før innsending til Eurofins Genomics i Tyskland for "lightrun Sequencing".

Takk til


Vi vil utnevnte vår takknemmelighet til hovedveileder Sunniva Hoel som har vært til stor hjelp gjennom hele arbeidet. Vi vil også takke instituttet for den finansielle støtten som har gjort denne oppgaven mulig.

Resultater og sammenligning av dyrkningsmediene

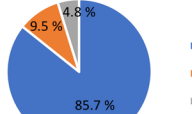
Figuren viser en sammenligning av dyrkningsmediene, basert på gjennomførte forsøk



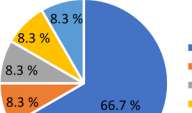
Bile Salt Irgasan Brilliant Green agar

Prøve	Antall kolonier	Identifisert bakterieslekt	Prosentvis fordeling blant identifiserte kolonier
Reker	9	<i>Pseudomonas</i>	
Røye	6	<i>Pseudomonas</i>	
Sushiloin	-	-	
Salat	2	<i>Pseudomonas</i>	
Spirer	-	-	

Sivelse ampicillin agar

Prøve	Antall kolonier	Identifisert bakterieslekt	Prosentvis fordeling blant identifiserte kolonier
Reker	5	<i>Pseudomonas</i>	
Røye	9	<i>Pseudomonas</i>	
Sushiloin	3	<i>Pseudomonas</i>	
Salat	1	<i>Pseudomonas</i>	
Spirer	2	<i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i>	

Ryan agar

Prøve	Antall kolonier	Identifisert bakterieslekt	Prosentvis fordeling blant identifiserte kolonier
Reker	2	<i>Pseudomonas</i>	
Røye	4	<i>Pseudomonas</i>	
Sushiloin	1	<i>Serratia</i>	
Salat	2	<i>Pseudomonas</i>	
Spirer	1	<i>Rahnella</i>	

Resultatene fra sekvenseringen viser at det ikke ble identifisert *Aeromonas* i noen av næringsmiddelprøvene med naturlig mikroflora, den påviste bakterieveksten viste seg å stamme fra helt andre bakteriearter. Noen av disse var bakterier i slekten *Pseudomonas*, *Enterobacter* og *Klebsiella*. Men alle de selektive dyrkningsmediene viste evne til å inhibere en del av bakgrunnsfloraen i de ulike næringsmidlene. Det har også blitt påvist at dyrkningsmediene fungerer til å isolere *Aeromonas* fra en blandet mikroflora. *Aeromonas* ble gjenfunnet i alle de kunstig kontaminerte prøvene, men deteksjonsgrenser må testes ytterligere.

Konklusjon

På grunnlag av de gjennomførte forsøkene konkluderes det med at dyrkningsmediet Ryan har vist antydninger til en lavere selektivitet sammenlignet med SAA og BSIBG. Basert på denne faktoren regnes dette mediet som mindre optimalt for påvisning av *Aeromonas*.

Det har ikke blitt funnet betydelige forskjeller i selektivitet mellom SAA og BSIBG. Men på grunn av BSIBG sin evne til å differensiere enkelte *Pseudomonas*-arter med et koloniutseende som skiller seg fra *Aeromonas*, og i tillegg til at mediet er svært enkelt å tillage, kan det være et bedre alternativ enn SAA.