ODDER GYMNASIUM
ØSTERMARKSVEJ 25 · DK 8300 ODDER · TLF. 86 54 45 00
www.odder-gym.dk · og@odder-gym.dk

Studieretningsprojekt

2019/20

Fag:	**Vejleder:**
Bioteknologi A	
Dansk A	

Opgaveformulering:
Redegør for tarmens opbygning og hvad tarmens mikrobiom er, samt hvilken indvirkning mikrobiomet har på kroppen med fokus på immunforsvaret. Redegør for hvad probiotika er og dens indflydelse på tarmens mikrobiom.

Udfør et forsøg, som startes før opgaveformuleringen er kendt, der viser probiotikas påvirkning af patogener og inddrag analysen af dette forsøg i opgaven.

Undersøg, hvordan tarmens mikrobiom i nyfødte udvikles, og mikrobiomets rolle i etableringen af et velfungerende immunsystem. Inddrag viden om hvordan modermælk påvirker tarmens mikrobiom i de første leveår.

Lav en populærvidenskabelig artikel på 2-3 sider, som formidler, hvordan et godt tarm mikrobiom etableres i menneskekroppen, og hvorfor dette er vigtigt.

Artiklens målgruppe skal være en typisk læser af magasinet *Vores Børn*.

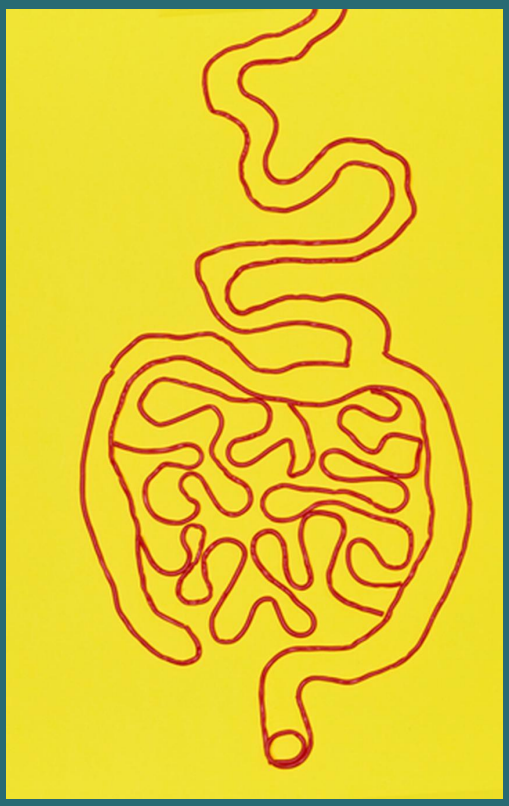
Opgaven skal desuden indeholde en metaopgavedel på 2-3 sider, hvor du argumenterer fagligt for dine formidlingsmæssige valg i forbindelse med artiklens form og indhold (sprog, opbygning m.m.).

Diskuter muligheder for påvirkning af tarmens mikrobiom og kom med udgangspunkt i din artikel ind på, hvordan vi bedre kan oplyse befolkningen om disse muligheder.

Omfang: 15-20 normalsider

ODDER GYMNASIUM
ØSTERMARKSVEJ 25 · DK 8300 ODDER · TLF. 86 54 45 00
www.odder-gym.dk · og@odder-gym.dk

SRP I DANSK A OG BIOTEKNOLOGI A



© K French / Stocksy United

TARMENS MIKROBOIM OG DETS PÅVIRKNING AF IMMUNFORSVARET

Antal tegn med mellemrum: 47.830

Resume

Opgaven omhandler tarmens mikrobiom og dets indvirkning på immunforsvaret. Først redegøres for tarmens anatomi og mikrobiom, samt mikrobiomets påvirkning af immunforsvaret. Mikrobiomet består af billioner bakterier, som alle har indflydelse på menneskets trivsel og sundhed. Blandt de mange bakterier findes de probiotiske bakterier. De fleste probiotiske bakterier er mælkesyrebakterier. Tarmmikrobiomet har en vigtig funktion i immunregulering og er en forudsætning for et sundt tarmmiljø. Opgaven inddrager også viden om kostens betydning for udviklingen af mikrobiomet eksempelvis humaneoligosakkarider i modermælk (HMO) og probiotika. Mikrobiomet etableres efter fødslen, og komponenter i modermælk er derfor vigtige for etablering af mikrobiomet. Det komplekse kulhydrat, HMO, stimulere væksten af probiotiske bakterier. Derudover kan probiotika (probiotiske bakterier) indtages som kosttilskud. Desuden er der udført et forsøg med formålet at undersøge hypotesen, "mælkesyrebakterier kan hæmme vækst af andre bakterier", og overføre dette til teoretisk at diskutere probiotikas påvirkning af patogener. Ud fra forsøget kan der ikke ses en sikker hæmning af kødbakterier, hvilket bl.a. kan skyldes forurening af pladerne fra omgivelserne samt upræcise koncentrationer. Dernæst sættes den bioteknologiske viden i kontekst med den danskfaglige viden, gennem formidling i en populærvidenskabelige, der omhandler, hvordan tarmens mikrobiom påvirker immunforsvaret. Den henvender sig til den typiske læser af magasinet *Vores Børn*. Der udformes en metatekst, hvori den populærvidenskabelige artikel analyseres. Slutteligt sættes opgaven i perspektiv ift. forskningsområder om tarmmikrobiomet i relation til udviklingen bl.a. depression, hjertekarsygdomme. Muligheder for at oplyse befolkningen om mikrobiomet diskuteres, eksempelvis ift. brug af diverse medier.

Indholdsfortegnelse

1. Indledning 1
2. Tarmens opbygning 2
3. Tarmens mikrobiom 3
4. Immunforsvaret generelt 4
4.1 Det uspecifikke forsvar og specifikke forsvar 4
5. Immunforsvaret i tarmen 5
6. Tarmenmikrobiomets påvirkning af immunforsvaret 7
7. Etablering af tarmens mikrobiom i menneskets første år 8
7.1 Modermælk – HMO 9
8. Etablering af et godt tarmmikrobiom senere i livet 10
8.1 Præbiotika 10
8.2 Probiotika 11
8.3 Forsøg 11
Resultater fra forsøgsrunde 1 12
Resultater fra forsøgsrunde 2 13
8.4 Fejlkilder 14
9. Populærvidenskabelig artikel 15
10. Meta-delen 20
11. Diskussion 23
12. Konklusion 25
13. Litteraturliste 26
14. Bilag 29
Bilag 1 29
Bilag 2 34
Bilag 3 35
Bilag 4 35
Bilag 5 36
Bilag 6 38

1. Indledning

I de seneste par år er tarmens mikrobiom blevet et populært forskningsområde, da det har vist sig, at tarmbakterierne har større betydning for menneskets sundhed og velbefindende, end tidligere antaget. Yderligere forskning i tarmbakterier kan dermed åbne dørene for ny forståelse og behandling af diverse sygdomme.

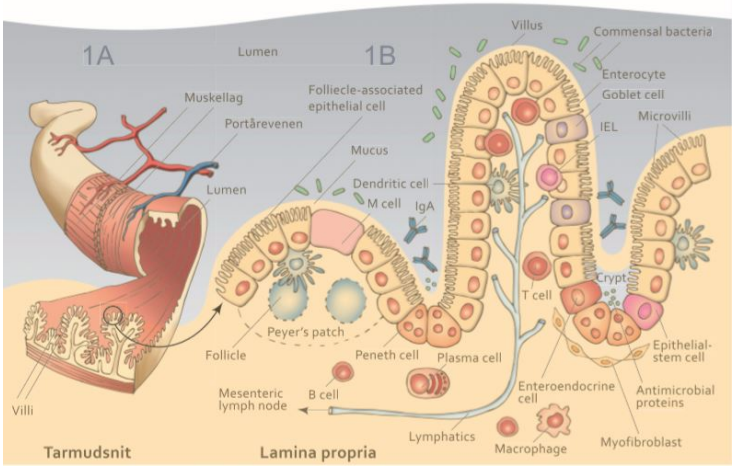
I denne opgave redegøres for tarmens anatomi og tarmens mikrobiom. Dernæst beskrives, hvordan tarmens immunforsvar fungerer og, hvordan tarmens mikrobiom indgår i immunforsvaret. Desuden omtales forskellige faktorer, der kan påvirke tarmens mikrobiom, såsom humane mælkeoligosakkarider (HMO) i modermælk, præbiotika og probiotika. Efterfølgende bruges viden om probiotika, til at foretage et forsøg, hvori det undersøges, om mælkesyrebakterier kan hæmme andre bakteriers vækst. Derefter diskuteres, hvorvidt forsøgets resultater afviger fra det forventede resultat. Den bioteknologiske viden formidles gennem den danskfaglige viden, og eksemplificeres ved en populærvidenskabelig artikel, der kommunikerer til den typiske læser af magasinet *Vores Børn*. Denne populærvidenskabelige artikel formidler viden om tarmens mikrobiom og immunforsvaret, og anviser muligheder for etablering af et sundt mikrobiom. I en metatekst gennemgås forskellige formidlingsmæssige valg, ift. kommunikation, appelformer og sprog. Slutteligt sættes den grundlæggende viden om tarmens mikrobiom i perspektiv, og der belyses forskellige nye forskningsområder inden for tarmbakterier. Vigtigheden af denne viden diskuteres ift. folkeoplysning.

2. Tarmens opbygning[1]

Når man skal forstå, hvad tarmens mikrobiom er, forudsætter det nødvendigt at have kendskab til tarmens anatomi, histologi og fysiologi.

Tarmen er et livsnødvendigt organ for mennesket, og dysfunktion i tarmsystemet fører til trivselsproblemer og sygdomme. Tarmens hovedformål er fordøjelse af fødevarer, og derudover har tarmen også mange andre funktioner, heriblandt en del af immunforsvaret. Tarmen inddeles i tolvfingertarmen, tyndtarmen, tyktarmen og endetarmen. Når maden indtages, nedbrydes det delvist i mavesækken bl.a. pga. mavesækkens saltsyre samt proenzymer[2]. I tolvfingertarmen nedbrydes resterne (chymus) yderligere af enzymer fra bugspytkirtlen og galde fra leveren, således tyndtarmen kan optage næringsstofferne til blodet. Det gør den gennem sit enormt store overfladeareal (300 m^2), som skabes ved små foldninger kaldet tarmvili. Derefter føres chymus videre gennem tyktarmen colon, hvor størstedelen af mikrobiomet opholdet sig. Dernæst udskilles fæces (afføring) fra endetarmen.

Tarmens yderside er glat og muskulær. Musklerne ligger i to lag muskler både langs og rundt om tarmen. Lamina epithelialis er det cellelag, der vender ind mod lumen (apikal overflade). Dernæst er der et lag af kapillærer og lymfekar, som kaldes for lamina propria, hvor næringsstoffer og hormoner optages til blodet (se figur 1). Lamina epithelialis's modsatte overflade vender mod lamina propria (basolaterale overflade). Dernæst er der et tyndt lag muskler kaldet lamina muscularis mucosa. Under tunica mucosa (tarmslimhinden)[3] er der bindevæv, lymfevæv og nerver, som sammen kaldes for tela submucosa. Mavetarmkanalens slimhinde er beklædt med et tæt lag specialiserede epitelceller, som består af flere milliarder, folder kaldet for tarmvilli. Yderligere har epitelcellelaget små udposninger kaldet mikrovilli, som har til funktion at øge optagelsen af stoffer. Epitetcellelaget er tildækket af



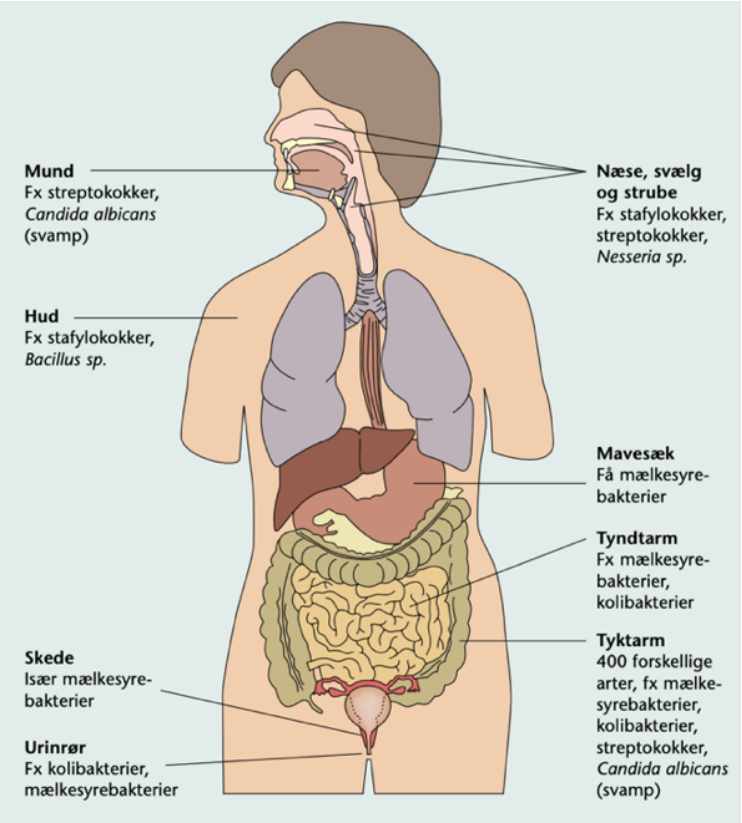
Figur 1: Tarmens anatomi.

[1] Afsnittet er udarbejdet vha. Egebo, Lone Als (3), Biodane Pharma (17) og Roitmann, Eva (28)
[2] Proenzymer i mavesækken danner pepsin, som spalter fx aromatiske aminosyre.
[3] Tunica mucosa udgøres af lamina epitelialis, lamina propria og lamina muscularis mucosa

bakterier, nærringsstoffer, IgA og mucos (slim) produceret af goblet celler (bægerceller) og består især af enterocytter (absorberende celler)[4] og enteroendokrine celler (hormonproducerende celler).[5] Udover tarmen og herunder epitellagets funktion, kommunikere det med mikrobiomet, som udgøres af alle de bakterier, der er i lumen.

3. Tarmens mikrobiom[6]

Mikrobiomet består af flere billioner bakterier, som opholder sig flere steder i kroppen (se figur 2). 80% af mikrobiomet er i mave-tarm-kanalen. Tarmens mikrobiom udgøres af alle bakterier, der beboer mave-tarm-kanalen og har stor indflydelse på mange processer i kroppen, eksempelvis er det med til at stimulere kroppens immunforsvar mod sygdomsfremkaldende mikroorganismer. Tarmen mikrobiom består af mere end 10^{14} bakterier, hvor de kan opdeles i mere end 400 forskellige arter.[7] Bakterier er encellede prokaryote organismer, altså har de ingen kerne, så arvematerialet flyder frit i cytoplasma. De opdeles i kommensale (neutrale), patogene (skadende) og probiotiske (sundhedsfremmende). De mest kendte probiotiske bakterier er bifidobakterier og lactobacilli. Inden man fødes, er tarmen helt steril uden bakterier, og først efter fødslen begynder bakterier at bosætte sig i tarmen. Sammensætningen af tarmbakterier varierer fra menneske til menneske, men overordnet kan den tre enterotyper (ses i figur 3).



Figur 2: Mikrobiomet i kroppen.

[4] Danner fordøjelsesenzymer
[5] Denstoredanske.dk (20)
[6] Afsnittet er udarbejdet vha. Bidstrup, Bodil Blem og Benthe Schou (1), Roitmann, Eva (28), Egebo, Lone Als (3) og (4), Palmgren, Gorm (11)
[7] Moll, Janne Marie (X)

Enterotype	Form	Funktion	Speciale
Tarmtype 1: Bacteroides	Stavformet bakterie	Nedbryder svært fordøjelige kulhydrater og proteiner	Specielt god til at producere vitaminerne B2, B5, B7 og C
Tarmtype 2: Prevotella	Stavformet bakterie	Nedbryder den mucus, som tarmens slimhinder udskiller	Producerer vitaminerne B1 og B9
Tarmtype 3: Ruminococcus	Kugleformet bakterie	Optager og bearbejder simple sukkerarter	Producer jernholdige forbindelser i fx blodets hæmoglobin.

Figur 3: De tre enterotyper samt deres form, funktion og speciale.

Nu er tarmens opbygning samt tarmens mikrobiom blev belyst. For at kunne forstå, hvordan mikrobiomet, og herunder de probiotiske bakterier, påvirker immunforsvaret i tarmen, gennemgås den fundamentale vide om immunforsvaret.

4. Immunforsvaret generelt[8]

I mave-tarm-systemet opstår interaktionen mellem epitelet, tarmens mikrobiom og immunforsvaret. 80% af menneskets immunforsvar lokaliseres i tarmen, og tarmen har derfor stor indflydelse på menneskets overordnede sundhed.

4.1 Det uspecifikke forsvar og specifikke forsvar

Hvis en mirkoorganisme formår at trænge ind i kroppen, aktiveres immunforsvaret. Immunforsvaret opdeles i det uspecifikke forsvar (medfødte forsvar) og det specifikke forsvar (adaptive forsvar). Når en fremmed mikroorganisme trænger ind i kroppen, mødes de af fagocytiske celler såsom makrofager, der nedbryder den vha. fordøjelsesenzymer. Makrofagerne udstiller den fremmede mikroorganismes overfladestoffer, antigener, på dens MHC II-protein (major histocompatibility complex) og signalerer på denne måde til resten af immunforsvaret, at en fremmed mikroorganisme er trængt ind i kroppen. Derudover udskiller makrofagerne signalstoffer kaldet interleukiner (IL), som er en undergruppe af cytokiner (signalproteiner). Endvidere aktiveres komplementsystemet, som består af en lang række proteiner, der danner porer i patogenet's cellemembran, således den sprænges cellen (proces kaldet lysis). Dernæst er der stjerneformede dendritceller, som kan opfange antigener via bl.a.

[8] Følgende afsnit er udarbejdet vha. Bidstrup, Bodil Blem og Benthe Schou (1) og Jakobsen, Palle H. og Ib C. Bygbjerg (7)

deres TLR (Toll-like receptor). Dendritcellernes primære rolle er at præsentere peptid-epitoperne[9] samt MHC II-proteiner til T-lymfocytterne. Det specifikke forsvar udgøres af T-lymfocytter og B-lymfocytter. T-lymfocytterne også kaldet T-hjælpecellerne har CD4-receptorer og T-cellereceptorer, TCR, der binder sig til de fremmede antigener, som makrofagerne har udstillet på deres MHC II-proteiner. Når T-hjælpecellerne opdager infektionen, aktiveres B-lymfocytterne, som opdeles i to slags celler: plasmaceller og B-huskeceller. Plasmacellerne producerer antistoffer, der pacificerer antigenet, hvor B-huskeceller husker de fremmede antigener til fremtidig infektion. Især IgA antistoffet spiller en vigtig rolle i tarmens slimhinde. Immunforsvaret består dermed af mange forskellige celletyper samt antistoffer, der alle har en vigtig funktion. Vi ser nu på, hvordan disse forskellige immunceller agerer i tarmen.

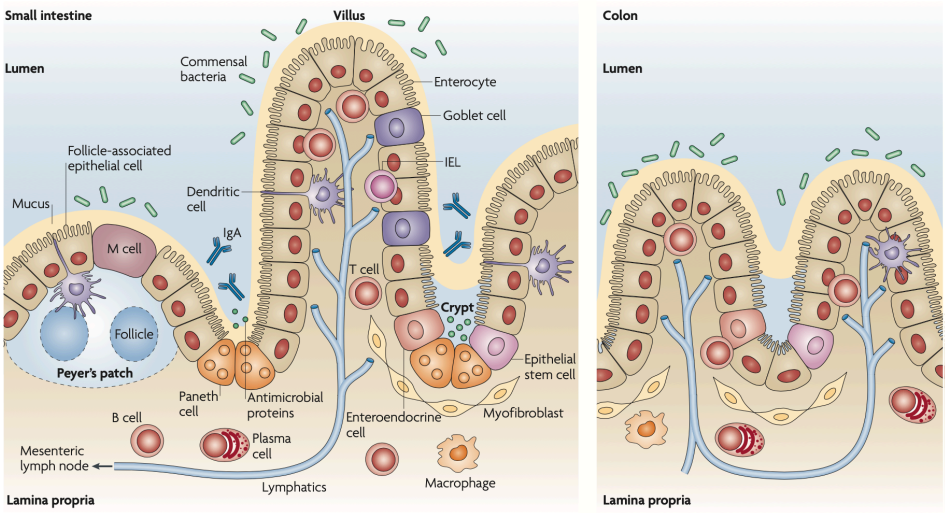
5. Immunforsvaret i tarmen[10]

Når et patogen inficerer tarmen, vil det først blive mødt af en ydre barriere, der består af tarmepitelets villi og gobletceller, som producere slim (mucus). Mucus beskytter epitelet mod fremmede organismer. Hvis den ydre barriere ødelægges, kan flere antigener, toxiner og endogene[11] proteaser (protein-nedbrydende enzymer) trænge ind i lamina propria og får derved adgang til blodbanen. Hvis et patogen trænger ind i lamina propria, opfanger makrofagerne patogenet og fagocytere[12] det. I tarmslimhinden findes lymfeknuder også kaldet Peyer's pletter, som bl.a. indeholder M-celler (mikrofold-cells) og dendritceller. M-cellerne er specialiserede epitelceller, der optager fremmede antigener fra bakterier, vira osv. i lumen. Via transcytose[13] transporterer M-cellerne antigenerne gennem epitellaget og afleverer dem til dendritcellerne, som også kan opholde sig Peyer's pletter. Dendritcellerne kan forekomme i forskellige udviklingsstadier og det er først, når de møder et fremmed antigen, at de modnes. Derudover kan de stikke deres "arm" ud i lumen og afsøge om, der er nogle potentielt farlige organismer i kroppen. Hvis de finder et patogen, præsenterer de patogenet's antigen for både B-lymfocytter og T-lymfocytter. Først når T-lymfocytterne præsenteres for et antigen differentieres (specialiseres) de. Dette foregår i lymfoide væv kaldet mucosa-associated lymphoid tissues (MALT), som også dækker over Peyers' pletter.[14] De forskellige T-lymfocytter,

[9] Den del af antigenet som immunforsvaret husker
[10] Afsnittet er udarbejdet vha. Holm, Christian Kanstrup (5), Davidson, Monica (2) og Roitmann, Eva (28).
[11] Enzymer som findes naturligt i værtsorganismen. Det modsatte er heterologe enzymer.
[12] Optage og nedbryde bakterien
[13] Mekanisme hvor stoffer transporteres gennem epitelet ved at optages (ved endocytose) i en lille blære dannet af overflademembranen på den ene side af epitelet og dernæst udtømmes (ved eksocytose) på den anden side.
[14] Holm, Christian Kanstrup (5)

der indgår i immunresponsen er $T_{hjælpe}$ og T_{reg}. T_{reg} (regulatorisk T-celle), modvirker og dæmper immunforsvarets angreb, da immunforsvaret i nogle tilfælde angriber bakterier, der er essentielle for kroppen eksempelvis probiotiske bakterier. $T_{hjælper}$-lymfocytter kan fremkomme både som Th_1 og Th_2. Th_1- lymfocytter stimulerer inficerede immunceller, således den inficerende bakterie dræbes[15], hvor Th_2- lymfocytter stimulerer produktionen af antistoffer. T-lymfocytter aktiverer dernæst B-lymfocytterne, som også findes i Peyers's pletter, der starter produktionen af IgA antistoffer.

Derudover findes der også en anden type epitelcelle kaldet panethceller, som findes i tarmens lieberkühnske krypter[16]. De producerer anti-mikrobielle peptider (AMP), som kan danne en membrangennemborende kanal i patogenet's cellemembranen således den dør[17]. I de lieberkühnske krypter, opholder stamceller sig også, hvor de kontinuerligt formere sig, og dermed er kilden til alle epitelceller. Tarmepitelet udskiftes hver 2.-5. dag, således alt knyttet til epitelcellerne, såsom skadelige bakterier også afstødes. Tarmens immunforsvar kan ses i figur 4.



Figur 4. Anatomi for tarmens immunforsvar.

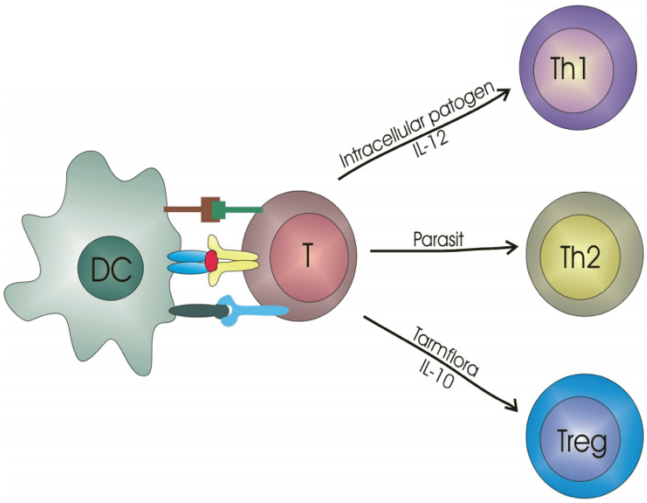
Tarmen har altså et immunforsvar, hvormed de forskellige immunceller opretholder balancen i tarmen. Dernæst uddybes, hvilken indflydelse tarmens mikrobiom, og herunder de probiotiske bakterier, har på immunforsvaret.

[15] Andersen, Maibritt B (16)
[16] Kirtler der findes mellem villi i tarmepitelet
[17] Jappe, Emma Christine (23)

6. Tarmenmikrobiomets påvirkning af immunforsvaret[18]

Mikrobiomet er konstant i kontakt med epitelet og immunforsvaret, og de tre komponenter har udviklet et gensidigt fordelagtigt forhold (en slags symbiose), hvor de kun fungerer optimalt ved samarbejde ned hinanden. Probiotiske tarmbakterier har mange forskellige immunmodulerende effekter, der afbalancerer tarmen. Eksempelvis øger de fagocytosen[19] og fremmer IgA-producerende celler i tarmens slimhinde, således den ydre barriere styrkes. IgA hæmmer de uønskede bakterier og opretholder tarmens homeostase[20]. Desuden er der også en anden faktor, som forøger slimproduktionen, nemlig kortkædede fedtsyre (SCFA - Short Chain Fatty Acids), som er en del af de probiotiske bakteriers metabolisme. Når de probiotiske bakterier nedbryder ufordøjelige kulhydrater, dannes der metabolitter (nedbrydningsprodukter) såsom SCFA. SCFA er med til at sænke pH, hvilket forværrer livbetingelserne for patogener, da de foretrækker en mere neutral pH. 95% af SCFA optages af værten, hvor de giver energi til tarmens celler. Eksempelvis syntetiserer bifidobakterier og lactoballi især SCFA'erne acetat og laktat. Derudover opretholder SCFA den fysiske barriere ved at stimulere epitelcelledelingen, og kan også omdannes til aminosyre og vitaminer.

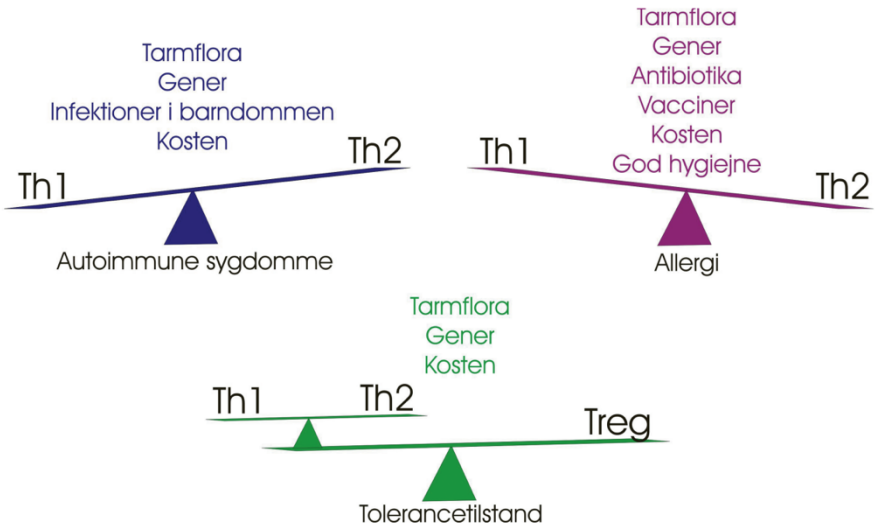
Foruden indirekte at påvirke immunforsvaret via hæmning af patogener og styrkelse af slimhinden og epitelet, interagerer bifidobakterierne også direkte med dendritceller, T-lymfocytter og B-lymfocytter, hvor de regulere mængden af immuncellerne (deres celledifferentiering), og hvilke proteiner de udskiller fx antistoffer eller cytokiner. Når tarmbakterierne kommer i kontakt med dendritcellerne, vil dendritcellerne genkende tarmbakterierne vha. mønstergenkendelses-receptorer (pattern recognition receptors, PPR). Tarmbakterierne påvirker dendritcellerne således, at de producerer bestemte interleukiner. Eksempelvis påvirker bifidobakterier dendritcellerne, så de producerer signalproteinet interleukin-10 (IL-10). IL-10 spiller en vigtig rolle i opretholdelsen af tolerance i tarmens immunforsvar, og



Figur 5: Dendritcellers (DC) modning af T-hjælpeceller

[18] Afsnittet er udarbejdet vha. Fink, Lisbeth N. mfl. (10), Davidson, Monica (2) og Adães, Sara (15)
[19] Optagelse af store partikler som fx bakterier i en celle via endocytose.
[20] Opretholdelse af et konstant indre miljø

har især en positiv effekt mod allergiske og inflammatoriske sygdomme. Tilstedeværelsen af lactobacilli medfører også at dendritcellerne danner IL-10 samt interleukin-12 (IL-12). IL-12 fremmer immunrespons mod intracellulære bakterier og vira, altså bakterier og vira der har trængt gennem epitelet. De probiotiske bakterier påvirker dendritcellerne, så de uddanner naive T-lymfocytter, altså T-lymfocytter der ikke har et antigen bundet til sig, til enten at blive T-hjælpeceller (Th_1 og Th_2) eller T_{reg} (se figur 5). Balancen mellem T- lymfocytterne i tarmen er letpåvirkelig og en ændring kan fører til flere forskellige autoimmune sygdomme[21]. Derfor er det vigtigt, at tarmens mikrobiom er med til at opretholde denne tolerancetilstand. Hvis der sker en overproduktion af Th_1, hvilket skyldes en større produktion af IL-12, kan det øge risikoen for autoimmune sygdomme. Et Th_2- domineret immunforsvar fremmer B-lymfocytter og dermed antistofproduktionen, så risikoen for allergier øges. For at holde balance mellem Th_1 og Th_2 produceres T_{reg}, hvis produktion stimuleres af IL-10, som mange probiotiske bakterier fremmer produktionen af (se figur 6).



Figur 6: Tolerancetilstanden ift. produktionen af de forskellige T-hjælpeceller.

Hermed er der redegjort for, hvordan tarmens mikrobiom påvirker immunforsvaret. Sammensætningen af bakterier i tarmen er afgørende for vores sundhed, og for hvordan immunforsvaret reguleres, og det er derfor vigtigt at få etableret et godt tarmmikrobiom. Der undersøges nu, hvordan amning styrker tarmens mikrobiom.

7. Etablering af tarmens mikrobiom i menneskets første år

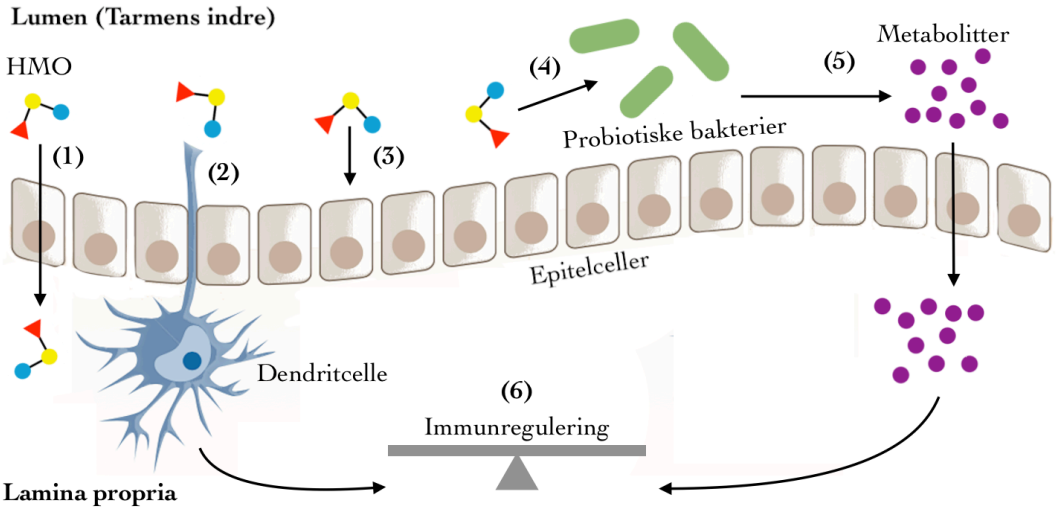
[21] Sygdom forårsaget af at kroppens immunforsvar begynder at angribe kroppens raske celler

7.1 Modermælk – HMO[22]

I de første måneder efter barnets fødsel vil immunforsvaret ikke fungere effektivt, og derfor er barnet mere udsat for skadelige mikroorganismer. Modermælk indeholder helt specifikke komponenter, der er med til at styrke barnets immunforsvar fx antistof IgA, som barnet i de første måneder ikke selv er i stand til at danne.[23] Modermælk består overordnet af laktose (ca. 70g/L), fedt (ca. 40g/L), protein (ca. 8 g/L) og de vigtige mælkeoligossakkarider HMO (ca. 5-20g/L). Komælks koncentration af HMO er langt mindre (0,05g/L).

HMO er ukonjugerede[24] kulhydrater og er syntetiseret af fem simple monosakkarider: galaktose, glukose, acetylglucosamin, fucose og sialinsyre. Der er identificeret omkring 200 forskellige HMO-strukturer i modermælk. Mindre end 1%, af det HMO spædbarnet indtager, bliver absorberet i tarmen, hvor resten passere ufordøjet gennem tarmen. Her stimulerer nedbrydningen af HMO bifidobakterienes vækst. Dette medfører vækstundertrykkelse af patogener, der i mindre grad, kan metabolisere HMO. Bifidobakteriene nedbryder HMOerne forskelligt, eksempelvis indeholder B-infantis intracellulære glykosid hydrolaser[25] der kan nedbryde HMO. Når bifidobakterierne nedbryder HMOerne, dannes metabolitter eksempelvis SCFA såsom acetat, der sænker pH i tarmen. Derudover kan andre bakterier i tarmen, butyrat-producerende bakterier, udnytte acetat til at producere butyrat, som er tarmepitelcellernes primære energikilde. HMO kan enten binde sig til virusbakterier og toksiner, der når slimhindefladerne eller binde sig til epitellagets overfladereceptorer, således patogener blokeres fra at binde sig til dem. Derudover fremmer HMO differentiering af epitelet og medfører forøget ekspression af TLR-receptorer, der er involveret i genkendelsen af patogener.[26] På figur 7 ses en overblik over HMOs effekter.

[22] Afsnittet er udarbejdet vha. Vigsnæs, Louise Kristine (12, 13) og Zeuner, Birgitte og Anne S. Meyer (14)
[23] Medela.dk (25)
[24] Når dobbeltbindingerne ikke kontinuerligt adskilles af enkeltbindinger
[25] Glykosid hydrolase (enzym) katalyserer hydrolysen af glycosidbindinger (kovalent binding mellem kulhydratmolekyler) i komplekse kulhydrater
[26] Ayechu-Muruzabal, Veronica mfl. (9)



Figur 7: HMOs påvirkning af epitelet og immunforsvaret. 1) Absorberes, 2) Påvirker dendritcellerne, hvilket kan medføre immunregulering, 3) Interaktion med epitelcellerne, 4) Fremmer vækst af probiotiske bakterier, 5) Under nedbrydning af HMO produceres metabolitter, 6) Dette kan medføre regulering af immunforsvaret.

Da HMO i langt større del forekommer i modermælk end normal mælk, indtager man, efter de tre første år i sit liv, ikke længere HMO. Derfor er der kommet et større fokus på præbiotisk kost.

8. Etablering af et godt tarmmikrobiom senere i livet

8.1 Præbiotika[27]

Præbiotika er en fødevarekomponent, der stimulerer væksten af probiotiske bakterier og dermed ikke fordøjes af menneskets fordøjelsesenzymer. Komplekse kulhydrater (kostfibre), er en udbredt præbiotisk fødevarekomponent. Eksempler på komplekse kulhydrater, der har vist præbiotisk effekt er inulin, fruktooligosakkarider (FOS), transgalaktooligosakkarider (TOS) og galaktooligosakkarider (GOS). Disse kulhydrater kan indtages gennem normal mad bl.a. i løg, hvidløg og asparges. Byggestenene til disse komplekse kulhydrater er glucose, galaktose og fructose. Grunden til at præbiotika ikke nedbrydes af fordøjelsesenzymer, skyldes deres kemiske bindinger. Disse bindinger mellem monosakkarider inddeles i α- og β-glycosidbindinger. Kun enkelte af disse slags bindinger kan nedbrydes af menneskets fordøjelsesenzymer. Dog er der en generel usikkerhed vedrørende præbiotika's indvirkning, idet vores sammensætning af tarmbakterier varierer fra person til person samt udvikles gennem livet.

Ud over præbiotika kan man også styrke tarmen og immunforsvaret ved at direkte indtage probiotiske bakterier. Dette kaldes probiotika.

[27] Afsnittet er udarbejdet vha. Roitmann, Eva (28) og Vigsnæs, Louise Kristine (13)

8.2 Probiotika[28]

Det græske ord probiotika kan oversættes til "pro-" for "bios" livet. Probiotika er defineret som levende mikroorganismer, der har en sundhedsfremmende effekt i kroppen. Disse probiotiske mikroorganismer findes i de fleste tilfælde naturligt i kroppen. Der er visse kriterier, som probiotika skal opfylde. Eksempelvis skal mikroorganismens slægt-, art- og stammeniveau være kendt og grundigt studeret. Desuden er der bestemte betingelser for probiotika til mave-tarm-kanalen.

1. De må ikke udvise patogene træk, men skal i stedet have en antipatogen effekt
2. Derudover skal de kunne overleve oral indtagelse og derved have et lav pH-optimum, så de kan overleve i maven, galde, fordøjelseskanalen osv.
3. De skal have indvirkning på immunresponser
4. De skal have et stofskifte (metabolisme) der er gavnligt

De mest anvendte probiotiske bakterier stammer fra slægten Bifidobacterium og Lactobacillius. Store dele af de probiotiske bakteriers genomer koder for mange forskellige fordøjelses- og absorptionsmekanismer, og de kan derfor nedbryde flere forskellige kulhydrater, hvilket sætter dem i en favorabel position ift. de andre bakterier. De probiotiske bakterier danner forskellige gavnlige metabolitter (se bilag 6).[29]

8.3 Forsøg

Der er udført er forsøg, som skal eftervise, at probiotiske bakterier (mælkesyrebakterier) hæmmer væksten af andre bakterier, ved produktion af mælkesyre, der sænker pH. I mit forsøg vil jeg undersøge bakterieantallet i Cultura, kød og i blandinger af kød og Cultura ved pladespredning på henholdsvis kødpeptonagarplader (KPA) og MRS (Man Rogosa Sharp). På KPA-mediet kan alle bakterier gro, hvorimod MRS-mediet kun er beregnet til vækst af mælkesyrebakterier. Forsøgsbeskrivelse er vedlagt i bilag (1) samt billeder af opstilling i bilag (3)

Hypotese

Det forventes af efter fire dage, hvor agar-pladerne er inkuberet, vil der observeres en del bakteriekolonier i kød på KPA-pladen og ingen på MRS-pladen. I Cultura vil der være lige mange mælkesyrebakterier på KPA-pladen og MRS-pladen. Rent kød og rent Cultura fungere altså som

[28] Afsnittet er udarbejdet vha. Roitmann, Eva (28).
[29] Vigsnæs, Louise Kristine (13)

kontrolforsøg, der fortæller om pladerne er forurenet. I blandingerne vil der hovedsageligt være mælkesyrebakterier, idet andre bakteriers vækst vil hæmmes, og derfor en del færre bakterier på KPA-pladen. Dermed hæmmer mælkesyrebakterier væksten af bakterier i kød.

Resultater fra forsøgsrunde 1
I tabellen (bilag 1) er antallet (CFU – colony forming unit) af bakteriekolonier på agarpladerne efter 4 dage i varmeskabet ved 37°C angivet. Da der på KPA-pladerne var rigtig mange kolonier valgte jeg i stedet at tage en fjerdel af agarpladen (en fjerdel jeg mente repræsenterede pladen korrekt). Et billede af dette i bilag 4.

Resultatbehandling/det jeg forventede at se
Kontrolforsøget med rent kød viser, at der på MRS-pladerne ikke kan gro kødbakterier. Første kontrolforsøg med rent Cultura, viser at der er 289 mælkesyrebakteriekolonier på MRS-pladen, men i stedet er der 394*4 på KPA-pladen. Dette kontrolforsøg viser dermed ikke, at lige mange mælkesyrebakterier gror på henholdsvis KPA-pladen og MRS-pladen. Da kontrolforsøget ikke virkede, forholdes der kritisk til resten af forsøget. Ud fra forsøget ses at jo mindre koncentrationen af opløsningen er jo færre bakteriekolonier er der på pladen. Derudover kan det ses, at CFU på KPA-pladerne for de to bladninger (B) og (E), er mindre end CFU på KPA-pladerne med rent kød. Dette kan antyde at mælkesyrebakterierne har hæmmet de andre bakteriers vækst.

Nye tiltag til forsøgsrunde 2
I det resultaterne ikke stemte overens med hypotesen, gentages dele af forsøget. Forsøgets laves kun for en bestemt opløsning for både ren cultura, rent kød og de to blandinger, da der ikke kunne indhentes de fornødne materialerne til at lave hele forsøget på ny. Forsøget gentages dog med nogle ændringer, som eventuelt kan formindske forureningen af pladerne. Bl.a. anvendes der bunsenbrænder med blus til gennem hele forsøget, således eventuelle bakterier i luften vil blive dræbt. Derudover autoklaveres eppendorfrørene, idet de muligvis ikke var sterile i første runde, da posen de lå i havde været åben. I stedet for at have agar-pladerne stående i inkuberet i fire dage, inkuberes prøverne i falconrørene i en dag før brug, hvorefter prøverne udplades. Dernæst står agar-pladerne i tre dage. Det tænkes dermed, at mælkesyrebakterierne kan have større effekt på kødbakterierne.

Resultater fra forsøgsrunde 2

	Antal CFU i 0,1 mL	KPA	MRS
C	Cultura $x10^{-6}$	387x4	291
K	Kød $x10^{-6}$	344x4	0
B	Kød + cultura $x10^{-6}$	121x4	163
E	Ekstra: Kød + cultura $x10^{-6}$	173x4	139

Billeder af resultaterne kan ses i bilag (5)

Resultatbehandling/det jeg forventede at se

Det kan ses, at kontrolforsøget med ren Cultura igen ikke viser det forventede resultat. Dog er det lidt forbedret fra forrige lidt fra forrige runde. Procentdelen af kolonier på MRS-pladen fra KPA-pladen for cultura $x10^{-6}$ i begge forsøgsrunder sammenlignes:

$$Forsøg1_{C\ x10^{-6}} = \frac{420*4}{299} * 100\% = 562\%$$

$$Forsøg2_{C\ x10^{-6}} = \frac{387*4}{291} * 100\% = 532\%$$

Der er en lille forbedring dog ikke stor. Kontrolforsøget viser stadig, at kødbakterier ikke kan gro på MRS-pladerne. I blandingerne B og E er der markant færre bakteriekolonier på KPA-pladerne ift. første forsøgsrunde. Eksempelvis ift. blanding B fra forsøgsrunde 1 og 2:

$$Forskel\ i\ CFU_{Forsøg_1 - Forsøg_2} = 443 * 4 - 121 * 4 = 1288$$

CFU er altså reduceret med 1288. Dette kan blandt andet skyldes, at prøverne i falconrørerne var inkuberet én dag før brug, så mælkesyrebakterierne og kødbakterierne blev blandet mere. Prøverne fra første forsøgsrunde har formentlig ikke være blandet godt nok. Da prøven ikke har været homogen, kan det være at flere kødbakterier blev overført ift. mælkesyrebakterier. Reduktionen af CFU viser dermed, at mælkesyrebakterierne har haft en større indvirkning på de andre bakterier. CFU for blanding B's KPA-plade er mindre end CFU for blanding E. Blanding B bestod af en koncentration af mælkesyrebakterier på 25%, hvor E bestod af en koncentration af mælkesyrebakterier på 20%. Da der har været flere mælkesyrebakterier i blanding B, passer det med at der er færre bakterier på KPA-pladen for blanding B. Dette hentyder til at mælkesyrebakterierne har hæmmet kødbakterierne.

8.4 Fejlkilder

Ud fra resultaterne, kan det ses at de ikke stemmer overens med det forventede, hvilket kan skyldes forurening af pladerne. Der er vokset end del flere bakterier end forventet, hvilket tyder på, at processen ikke har været udført tilstrækkeligt sterilt. Inden forsøget startede, havde jeg nogle sterile procedurer, bl.a. autoklavering af pipettespidserne (falconrør og eppendorfrør var sterile). Da agar-pladerne blev tørret i varmeskabet, blev de vendt med bunden opad, så eventuelle bakterier i luften ikke ville kontaminere pladerne. Derudover anvendtes sprit til alt udstyr. Drigalskispatlen blev sprittet af efter hver udpladning samt "flamberet" med en bunsenbrænder. Jeg sikrede, at drigalskispatlen ikke var varm, før den blev anvendt til udpladningerne, da dette kunne have dræbt bakterierne. Derudover blev der arbejdet med handsker under hele forsøget, og handsker blev udskiftet regelmæssigt. Trods herfor blev agar-pladerne forurenet. Dette kan bl.a. skyldes eventuelle bakterier i luften, idet der ikke var en bunsenbrænder tændt gennem hele 1. forsøgsrunde. Derudover kan pladerne også være blevet kontamineret, da agar-pladerne blev lavet. En anden fejlkilde i forsøget er mine opløsninger. Der blev arbejdet med heterogene materialer såsom kød. Afvejningerne af kød og cultura blev forsøgt at gøre så præcist som muligt, men eventuelt kød og cultura gik også tabt i vejebådene. Efter opløsningerne var lavet i falconrørene skulle 0,1mL overføres til et eppendorfrør. Opløsningerne med kød havde en del fedtklumper, der dermed eventuelt blev suget med op, og kan have ændret koncentrationen af fortyndingerne. Ift. mine resultater er optællingerne af CFU på pladerne også upræcise, da der var mange små bakteriekolonier. Flere af pladerne havde mere end 1000 bakteriekolonier og derfor taltes der kun ¼ af pladen, som repræsenterede pladen fornuftigt. Dog er dette selvfølgelig ikke helt præcist, da pladen ikke er fuldstændig homogen. Det bedste resultat ville have været ved elektronisk optælling.

Konklusion

Hypotesen er, at mælkesyrebakterier hæmmer væksten af andre bakterier, ved at producere mælkesyre, der sænker pH i tarmmiljøet. Dette kan overføres til vores viden om probiotika, der primært består af mælkesyrebakterier, og dermed være en forklaring på probiotikas positive indvirkning på tarmens mikrobiom. Denne hypotese kunne ikke bekræftes, pga. uklare resultater. Forsøget viser dog, at det er plausibelt, at der er en korrelation mellem mælkesyrebakterier og deres hæmning af andre bakterier, idet KPA-pladerne i anden forsøgsrunde havde en del færre bakterier ift. antallet af bakteriekolonier på KPA-pladerne for kød. For at opnå et mere sikkert resultat, kræver det et sterilt forsøgsmiljø og en præcis optælling.

PAS PÅ DINE TARMBAKTERIER, SÅ VIL DE PASSE PÅ DIG

Inde i dig og dine børn lever et forunderligt mikroskopisk univers af bakterier, som er med til at forhøje din livskvalitet. De fleste af disse bakterier opholder sig i tarmen, hvor de kommunikerer med immunforsvaret om, at holde dig og dem du holder af raske.

Et organ du nok ikke kendte til

Hvis din læge fortalte dig, at alle de mange bakterier i dig udgør et organ kaldet mikrobiomet, ville du så vide, hvad hun talte om? Nej, det er nok de færreste af os, der vidste det, men de flere billioner bakterier i din krop anses faktisk som et organ i sig selv ifølge definitionen: "*Et organ er en strukturel enhed, sammensat af forskellige celler og væv, der er specialiseret til at varetage bestemte funktioner i en flercellet organisme*". Fra barn har man lært om kroppens organer: hjertet, lungerne, hjernen osv., men det er de færreste, som kender til mikrobiomet. Mikrobiomet er flere steder i kroppen, men størstedelen af det befinder sig i tarmen. Billioner af bakterier, så tænker de fleste på dem med skadelige og sygdomsfremkaldende virkninger, men dette dårlige ry, som skærer alle bakterier over én kam, er faktisk ikke helt fair. Det personlige mikrobiom er nemlig med til at opretholde vores immunforsvar, således vi ikke udvikler trivselsproblemer og sygdomme.

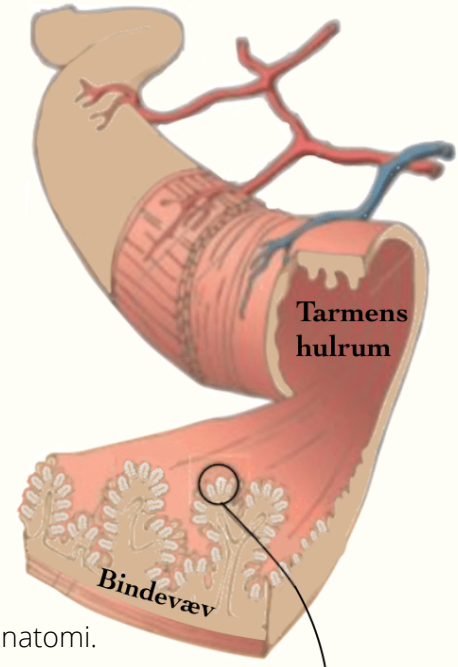
Vidste du at....

- Flere billioner af bakterier lever i din tarm
- 80% af immunforsvaret er i din tarm
- Mælkesyrebakterier udgøre en stor del af de probiotiske (sundhedsfremmende) bakterier

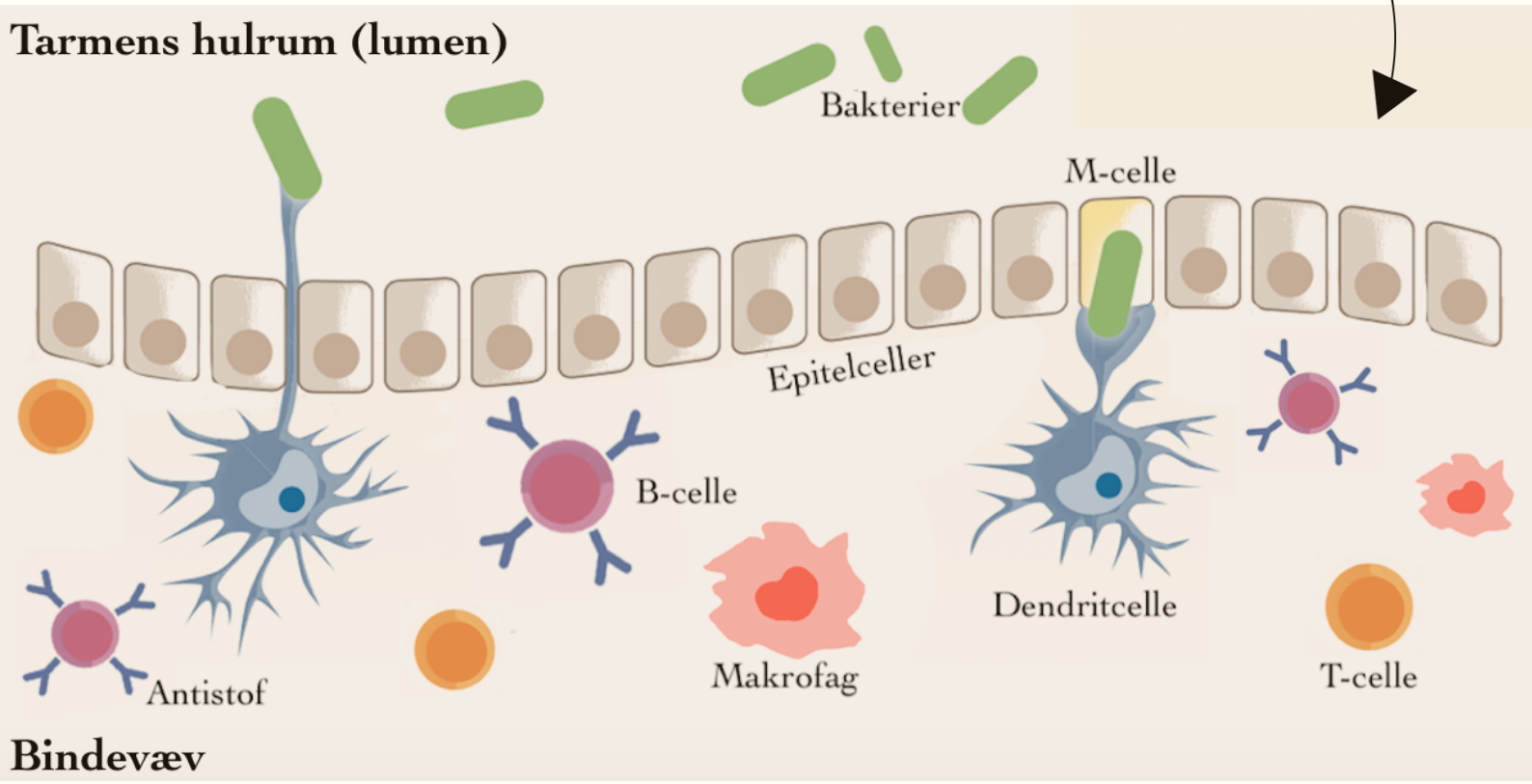
En for alle og alle for en

Ligesom de tre musketerer Athos, Porthos og Aramis, har kroppen også sine egne musketerer nemlig *Mikrobiomet, immunforsvaret og epitelet* (det cellellag i tarmen der vender ind mod tarmens hulrum). I stedet for at kæmpe for den franske trone, kæmper mikrobiomet, immunforsvaret og epitelet sammen for menneskets sundhed og kun ved samarbejde med hinanden, kan de fungere optimalt. På figuren længere nede ses tarmens hulrum (lumen), epitelcellerne, der fungere som er barriere mellem tarmens hulrum og bindevævet. I bindevævet opholder immunforsvarets celler sig. Immunforsvarets celler, også kaldet de hvide blodlegemer, består af celler med specifikke funktioner. I tarmen er det særligt makrofagerne, T-hjælpecellerne, B-cellerne og dendritcellerne der er vigtige. Makrofagerne "æder" skadelige mikroorganismer, hvis de trænger gennem epitelet. Hvis makrofagerne ikke kan klare jobbet alene, får de hjælp fra T-hjælpecellerne, B-cellerne og dendritcellerne.

Andre vigtige celler i dette samarbejde er M-cellerne, der både kan undersøge tarmen for skadelige organismer og præsentere dem for dendritcellerne. Dendritceller kan også selv stikke sine arme ud i hulrummet og undersøge for skadelige mikroorganismer eller molekyler. Hvis dendritcellerne opdager eller præsenteres for en skadelig mikroorganisme, kontakter de T-hjælpecellerne, som dernæst aktiverer B-cellerne. Nogle B-cellerne producerer antistof mod



Figur 1. Tarmens anatomi.



Figur 2. Tarmens anatomi. Epitelcellelaget adskiller tarmens hulrum og bindevæv. På den ene side ses immuncellerne hvor på den anden side ses mikrobiomet (bakterierne).

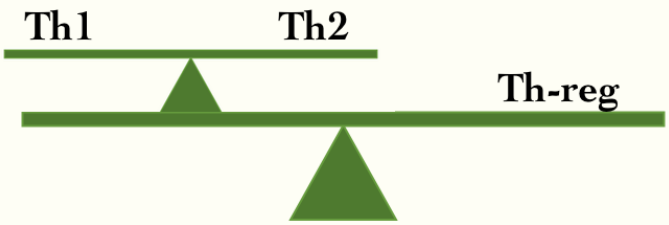
den skadelige mikroorganisme, hvor andre kaldet hukommelsesceller husker den fremmede mikroorganisme. Hvis den samme mikroorganisme kommer ind i kroppen igen, kan B-cellerne hurtigt producere antistof, som kan uskadeliggøre de sygdomsfremkaldende mikroorganismer. Det kendes også fra vacciner. Men alle mikroorganismer herunder bakterier skal ikke dræbes. Nogle beskytter os, ved at begrænse væksten af skadelige bakterier og derved belastes epitelet og immunforsvaret mindre. Mikrobiomet kan betragtes som immunforsvarets fortrop og er derfor livsnødvendigt for kroppen. Disse gavnlige bakterier kaldes probiotiske bakterier og består bl.a. mælkesyrebakterierne *bifidobakterier* og *lactobacilli.*

Sjove navne men livsvigtige funktioner

Det kan godt være, at disse bakterier hedder de mystiske navne, men deres funktion skal der ikke jokes med. Uden disse probiotiske bakterier ville vores tarm og immunforsvar ikke fungere. De probiotiske bakterier kan nedbryde komplekse kulhydrater, som kroppens fordøjelsesenzymer ikke selv kan nedbryde. Under nedbrydning af kulhydraterne dannes der nedbrydningsprodukter såsom kortkædede fedtsyre, der er med til at sænke surhedsgraden (pH) i tarmen. Da de fleste skadelige bakterier foretrækker en neutral pH (omkring 7), hæmmes de derfor i det sure miljø.

Det hele handler om balance

De probiotiske bakterier påvirker dendritcellerne, så de danner bestemte signalproteiner (interleukiner). Disse signalproteiner er vigtige i reguleringen af de hvide blodlegemer. Signalproteinerne er cel-lernes sprog og våben på én gang. Dette medfører at dendritcellerne uddanner T-hjælpecellerne (Th). Det er balancen mellem de forskellige T-hjælpeceller, der er afgørende for ens sundhed. Nogle T-hjælpeceller kaldet Th1 vil øge risikoen for autoimmune sygdomme, altså når kroppens immunforsvar begynder at angribe kroppens raske celler. Andre T-hjælpeceller kaldet Th2 vil øge risikoen for allergi. Dog er der også nogle T-hjælpeceller kaldet Th-reg (regulatoriske), der er med til at holde balancen mellem de forskellige T-hjælpeceller. Det er netop Th-reg som probiotiske bakterier medfører en større produktion af.



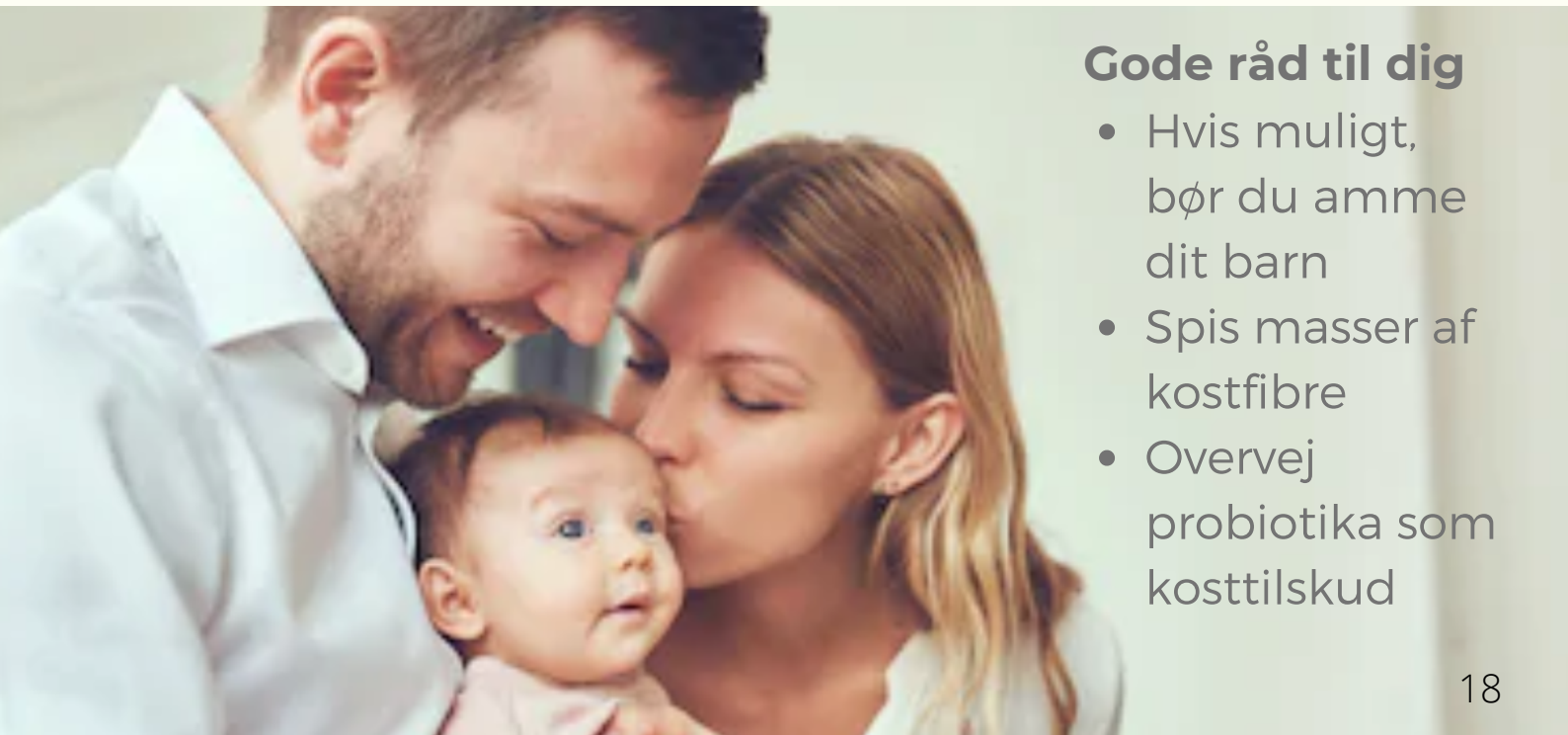
Figur 3. Reguleringen af T-hjælpeceller. Th-reg hjælper med at holde balance mellem de forskellige T-hjælpeceller.

Ting til overvejelse og handling

Nu har du hørt om, hvor dyrebare de mange bakterier i kroppen er, men hvor kommer de fra og hvilke faktorer påvirker dem? Faktisk er tarmens mikrobiom et organ man ikke fødes med, men som skabes ved og efter fødslen (postnatalt organ). Derfor udvikler mikrobiomet sig det sekund, hvor vi træder ud i den store vide verden, og er derfor under store påvirkninger i ens første år. Nogle faktorer, der påvirker tarmens mikrobiom, er eksempelvis modermælk. Når du ammer dit barn, overfører du ikke bare en masse gode antistoffer, der styrker barnets immunforsvar, men du overfører også lange kulhydratkæder (humane oligosakkarider HMO). Det er komplekse kulhydrater, som især bifidobakterierne lever af. Ved at overfører disse kulhydrater til dit barn, sørger du få at probiotiske bakterier i tarmen, får de bedste vækstmuligheder og derved styrkes dit barns tarmflora og immunforsvar.

"Ååh nej, jeg ammede ikke mit barn"

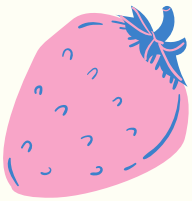
Sidder du nu og er bekymret over ikke at have ammet dit barn, eller du ikke selv blev ammet, så er du nok ikke den eneste. Men bare rolig, det betyder ikke, at dit barn vil vokse op uden et velfungerende mikrobiom og udvikle diverse armsygdomme. Nej, tarmens mikrobiom ændres gennem hele livet, så de bakterier, der dominerede din tarm som barn, er fuldstændig forskellig fra de bakterier, der lever i din tarm nu. Du bl.a. påvirke dit mikrobiom gennem din kost og kosttilskud. Der tilbydes bl.a. probiotika, som er oral (via kapsler) indtagelse af probiotiske bakterier, som skal være med til at opretholde balancen i tarmens mikrobiom. Kostvaner har også stor indflydelse på tarmens mikrobiom, og det vil for de fleste være et let sted at starte. Meget af det du måske allerede spiser, indeholder præbiotiske kostfibre, så hvis du bare fokuserer lidt mere på præbiotisk kost, kan du ramme plet med den perfekte kostplan. Eksempelvis er der en masse gode kostfibre i løg, hvidløg, asparges, bananer, artiskokker, hvede og tomater. Det er nok ikke første gang, du hører om et nyt sundhedsråd, *der for alt i verden må overholdes*, og derfor skal dette også kun tages som en reminder og ikke en regel. Dog kan disse gode kostvaner være meget dyrebare for dit barn, som måske ender med at tage dem til sig som gode vaner. Dette betyder ikke at dit barn aldrig må spise sukker, fastfood osv., men det handler om at finde en balance. Det vil dine tarmbakterier i hvert fald sætte pris på.



Gode råd til dig

- Hvis muligt, bør du amme dit barn
- Spis masser af kostfibre
- Overvej probiotika som kosttilskud

3 TYPER MADVARER DINE TARMBAKTERIER VIL ELSKE



FERMENTEREDE PRODUKTER

Det kan være alt fra yougurt til sauerkraut til surdej. Disse fermenterede produkter indeholder en masse probiotiske mælkesyrebakterier.

FISK, SKALDYR OG FJERKRÆ

Spis hellere dette i stedet for rødt kød

GRØNTSAGER, FRUGT OG BÆR

Gulerødder, Broccoli, Porrer, Kål, Grønne bønner, Æbler, Papaya, Bananer, Vandmelon, Hindbær

LITTERATURHENVISNINGER.

Bedrelivtil.dk, "De 5 bedste frugter til tyktarmrensning", 2018

Brøndum, Irene, "Hot or not: disse fødevarer er gode og dårlige for tarmen", form.dk, 2017

Fink, Lisbeth N. mfl. "Bakteriefloraen i tarmen er vigtig for immunsystemet". Dansk kemi nr. 3, 2007

Vigsnæs, Louise Kristine. "Humane mælkeoligosakkarider, nu ikke kun til babyer!". Dansk kemi nr. 4, 2018.

Roitmann, Eva, "Sundhedsfremmende bioaktiv kost", biotechacademy.dk, (årstal)

Figur 1: Redigeret version af figur fra "Tarmens opbygning" af Biodane Pharma

Figur 2: Redigeret version af figur fra "Tarmens økosystem" udgivet af Biosa Danmark, 2016

Figur 3: Inspireret af figur fra "Bakteriefloraen i tarmen er vigtig for immunsystemet" udgivet af Fink, Lisbeth N. mfl., 2007

LÆS OM ANDRE GODE RÅD PÅ VORES HJEMMESIDE

https://voresboern.dk/

10. Meta-delen

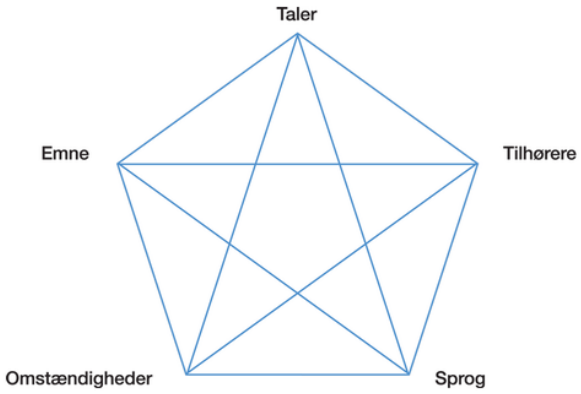
Om den populærvidenskabelige artikel som genre

En populærvidenskabelig artikel har til formål at formidle videnskabelig viden til den almene befolkning. Herved opstår asymmetrisk kommunikation, idet når at den modtagende part ikke har forudsætninger for at forholde sig kritisk, da de mangler forforståelsen. Der pålægger derfor formidleren et stort ansvar, således at man ikke misinformerer og forvirrer. Formålet er ikke at undervise den almene befolkning, men at udbrede indsigten i et givet emne. Det handler derfor om at finde en balance mellem oplysende og underholdende.

Kommunikationsmodellen (se figur 8)[30]

Modtager:

Målgruppen af min populærvidenskabelig artikel er en typisk læser af magasinet *Vores Børn*. Magasinet *Vores Børn* henvender sig til forældre, med børn i alderen 0-12 år[31] Magasinet bruger både eksperter og civilpersoner til at inspirere forældre og give gode råd om livssituationer, de fleste forældre kender til.



Figur 8. Ciceros pentagram

Situation:

I de seneste år er der kommet et større fokus på tarmen og dens mikrobiom. Ny forskning har vist, at et dysfunktionelt tarmmikrobiom kan føre til forskellige sygdomme. Endvidere påvirkes tarmens mikrobiom af forskellige ydre faktorer, som vi har mulighed for at ændre på, og derfor bliver det væsentlig at informere om. Den ydre påvirkning starter allerede fra fødslen, og forældrene har derfor ansvar for, at deres børn får de bedste forudsætninger for at etablere et godt tarmmikrobiom.

Emne

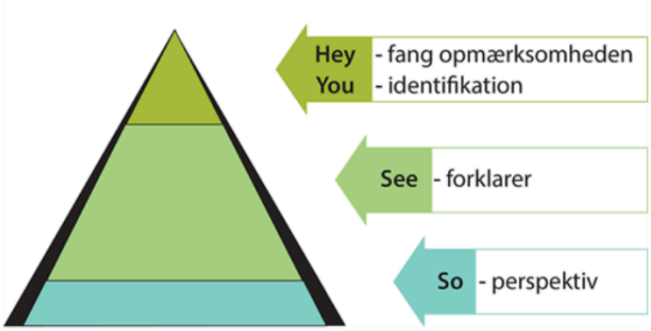
I min artikel har jeg valgt at fokusere på, hvordan tarmens mikrobiom påvirker immunforsvaret, og derfor formidle, hvorfor tarmens mikrobiom er så vigtig for vores trivsel og sundhed. Derudover vil

[30] Afsnittet er udarbejdet ved brug af Rangvid, Mads og Sørensen, Mimi (8)
[31] Voresbørn.dk (32)

jeg forsøge at oplyse forældre om, hvordan de kan etablere et godt tarmmikrobiom hos dem selv og deres børn.

Opbygning

Min populærvidenskabelige artikel er opbygget efter *Hey-you-see-so*-opbygningen[32] (se figur 9). ”*Hey-you”* repræsenterer den af del af artiklen, der skal fange læserens opmærksomhed. ”*Hey”* kan bl.a. repræsenteres gennem rubrikken samt indledningen. Dernæst har jeg brugt "*you*" via en fakta-boks, ”*Vidste du…*”, med forskellige informationer, som skal fange læserens opmærksomhed. "*See*" er den forklarende del, hvor min påstand understøttes. Mit afsnit ”*En for alle og alle for en*” uddyber, hvordan tarmens mikrobiom påvirker immunforsvaret, og dermed hvorfor tarmmikrobiomet er relevant. Til sidst er der "*so*", hvor artiklen sættes i perspektiv. I min artikel svarer afsnittene ”*Ting til overvejelse*” og ”*Ååh nej, jeg ammede ikke mit barn*” til *so*-delen, hvor læserene forstår, hvilken relevans emnet har for dem. Jeg har medtaget et afsnit med ”*Gode råd*”, der fungerer opsummerende, for dem der har mistet tråden undervejs, samt et afsnit med ”*3 typer madvarer dine tarmbakterier vil elske*”. Dette afsnit kunne man kalde "do", da det kommunikerer konkrete råd, som kan motivere til handling.



Figur 9. Hey-you-see-so opbygning

Appelformer

I min artikel er bruges appelformerne logos og patos til at overbevise og oplyse modtageren om budskabet. Logos opstilles logiske argumenter, der appellerer til modtagerens fornuft. Halvdelen af min artikel udgøres af fagtekst. Den begrænsede mængde fagtekst sikrer, at læseren opnår den vigtigste basisviden om emnet. Logos kan fremstå meget formelt og kedeligt og kan medføre at læseren ikke fastholdes.

Da min målgruppe er forældre, har jeg valgt at anvende en del patos. Patos appellerer til modtagerens følelser. Som forælder/kommende forælder ønsker man kun det bedste for sit barn og vil derfor gøre alt

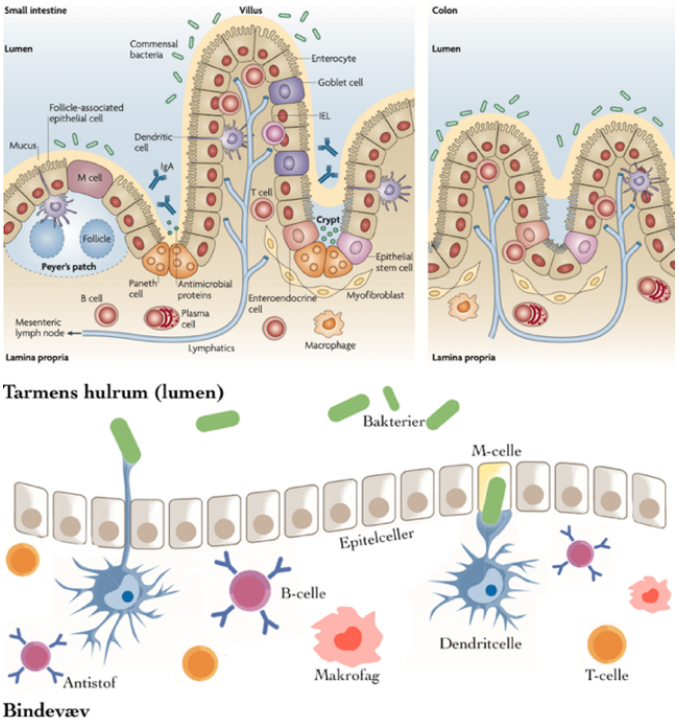
Figur 10. Billeder af familie og smilende barn.

[32] Hyldgård, Peter og Niels Ebdrup (6)

for deres velbehag. Patos opnås i min artikel bl.a. gennem billederne (se figur 10). De skaber identifikation og appellerer til følelser. Derudover skal billedet med barnet i naturen også give modtageren associationer af noget naturligt og sundt. Billederne bruges udelukkende til at skabe opmærksomhed og følelser til artiklen, og kommunikerer begrænset om artiklens faglige indhold.

Sprogbrug, virkemidler og argumentation

Når man skriver en populærvidenskabelig artikel, er det vigtigt at kende sin målgruppe, for at kunne udtrykke sig med dét sprog, der henvender sig til præcis denne målgruppe. Da min målgruppe er forældre og mødre[33], forsøger jeg at bruge nødvendige fagtermer, men lader ikke disse fremmedord dominere min tekst og fjerne fokus fra mit egentlige budskab. Eksempelvis skriver jeg hvide blodlegemer/celler i stedet for lymfocytter, tarmens hulrum i stedet for lumen, og bindevæv i stedet for lamina propria. Dette gør teksten lettere forståelig, overskuelig, og mulig at huske. Jeg begrænser anvendelse af forkortelser, i modsætning til formidlingsstilen i den redegørende del i min SRP. I en akademisk tekst er det normalt at anvende en ny fagterm og derefter eventuelt i en parentes forklare termen. Jeg har valgt at gøre det modsatte i artiklen, idet navnet er irrelevant, så længe man forstår funktionen, eksempelvis "[…] *tarmens hulrum (lumen)* […]"[34]. Fagtermen medtages i parentes for at underbygge seriøsiteten og dermed logos. Et andet eksempel på, hvordan det faglige er omformuleret til mindre komplekst stof, er via figurer (se figur 11). I figuren brugt i artiklen, har jeg valgt kun at inddrage: Epitelceller, M-celler, T-celler, B-celler, makrofager, dendritceller og bakterier, da de er de overordnede og vigtigste komponenter.



Figur 11. Tarmens immunforsvar fra SRP og fra populærvidenskabelige artikel

For at min populærvidenskabelige artikel skal fænge modtagerens interesse, har jeg valgt at gøre brug af billedsprog, idet sproget gøres mere levende og spændende. Billedsprog kan også *bygge en*

[33] Gallup, Kantar (21)

[34] "Pas på dine tarmbakterier, så vil de passe på dig", 2020, s. X

bro mellem læseren og det faglige univers. Jeg har bl.a. brugt personificeringer af immuncellerne eksempelvis: ”[…] *Makrofagerne ”æder” skadelige mikroorganismer* […]”[35]. Da de fleste ikke har kendskab til de specifikke immunceller, har jeg personificeret dem, således de får menneskelige egenskaber, hvilket skaber en bedre forståelse for, hvad de gør, og hvorfor de gør det. Derudover har jeg også valgt at bruge analogier (sammenligninger), da de kan gøre komplekst stof forståeligt overfor læseren. Eksempelvis sammenligner jeg *mikrobiomet, immunforsvaret og epitelet* med de tre musketerer og læseren forstår dermed, det vigtige samarbejde, der foregår i tarmen. Jeg har også brugt talemåden: ”[…] *skærer alle bakterier over én kam*”[36], hvilket er en mere spændende måde at sige, at bakterierne alle vurderes på samme negative måde.

Overordnet set er min populærvidenskabelige artikel præget af talesprog, idet jeg forsøger at mindske afstanden mellem læseren og "eksperten", da teksten bliver mere uformel. Eksempelvis anvender jeg ord som ”*faktisk*”, samt inkorporerer engelske ord som ”*fair*” og ”*reminder*”, der gør teksten mere aktuel. Ved brug af det personlige pronomen ”*du*” henvendes der direkte til læseren, således de inddrages i teksten og kan identificere sig med den. Derudover bruger jeg også retoriske spørgsmål: ”*Nu har du hørt om, hvor dyrebare de mange bakterier i kroppen er, men hvor kommer de fra og hvilke faktorer påvirker dem?”*[37]. Læseren har måske selv tænkt over det, og nu får de svar på spørgsmålet, som var de i direkte kommunikation med "eksperten". Jeg ønsker ikke, at min artikel skal fremstå som en skræmmekampagne, men skal i stedet være oplysende og vække interesse inde for området. Eksempelvis skriver jeg: ”*Dette betyder ikke at dit barn aldrig må spise sukker, fastfood osv., men det handler om at finde en balance*”[38]. Altså handler det ikke om at give forældrene dårlig samvittighed, men blot at oplyse dem om deres egne muligheder for at forbedre deres børns livskvalitet.

11. Diskussion

De vigtigste forhold for mikrobiomets påvirkning af immunforsvaret

Igennem opgaven har jeg undersøgt, hvordan tarmens mikrobiom påvirker menneskets sundhed og har omtalt forbyggende tiltag såsom, hvordan amning, pro- og præbiotika har positive effekter på tarmens mikrobiom. Derudover påvirker kejsersnit også tarmens mikrobiom. Fødselsformen har vist

[35] ”Pas på dine tarmbakterier, så vil de passe på dig”, 2020, s. 16
[36] ”Pas på dine tarmbakterier, så vil de passe på dig”, 2020, s. 15
[37] ”Pas på dine tarmbakterier, så vil de passe på dig”, 2020, s. 18
[38] ”Pas på dine tarmbakterier, så vil de passe på dig”, 2020, s. 18

sig at have betydning for etablering af mikrobiomet, Børn født ved kejsersnit bliver ikke eksponeret for moderens bakterier i fødselskanalen. Da kejsersnit foregår i et sterilt miljø, udgøres tarmmikrobiomet hos børn født ved kejsersnit af mange bakterier fra hospitalsmiljøet. Flere undersøgelser har vist, at børn født med kejsersnit har 10%-20% større risiko for at udvikle astma, allergi, og autoimmune sygdomme.[39] Foruden forebyggelse og opretholdelse af et godt tarmmikrobiom, findes der også forskellige behandlingsformer for forskellige tarmsygdomme, eksempelvis forsker man i fæcestransplantation, som går ud på at overføre afføring fra en donor med et velfungerende tarmmikrobiom til en patient med forstyrrelser tarmens mikrobiom, og derved genoprette tarmens mikrobiom eller ændre det til en bedre bakteriesammensætning. Behandlingen har også bivirkninger, og vil kunne medføre langvarige og alvorlige følger.[40]

Nye forksningsområder vedrørende tarmbakterier

Tarmbakterier er et meget nyt forskningsområde, hvor undersøgelser og metoder er under udvikling, og fortsat mange uafklarede forhold. Nyere forskning har vist, at der er en direkte kommunikation mellem tarmbakterierne og hjernen. Tarmbakteriernes metabolitter påvirker nervesystemet, når de optages i blodet, samt når de medfører øget produktion af bestemte hormoner.[41] Undersøgelser har vist, at tarmbakterier kan producere forstadier til nerotransmitterne (signalstofferne) serotonin og dopamin som bl.a. giver mennesket tryghed og glæde samt lykkefølelse. Dette har relevans ift. depression som i gennemsnittet rammer hver femte dansker. Tarmbakterier spiller også en rolle for udviklingen af hjertekarsygdomme. Kost baseret på rødt kød og sukkerholdigt mad påvirker tarmbakterier negativt, således de producere molekyler, der aktiverer vores genetiske sårbarhed.[42] I rødt kød findes store mængder af aminosyren carnitin, der kan omdannes til trimethylamin (TMA) af tarmbakterier, som efter optagelse i blodbanen omdannes til trimethylaminoxid (TMAO). Høje koncentrationer af TMAO medfører åreforkalkning. hvilket kan fører til hjertekarsygdomme.[43]

Implikationer for fremtidig brug af denne viden – informationsstrategi.

Samlet set viser den tilgængelig forskning i tarmbakterier, at tarmens mikrobiom har indflydelse på mange processer i kroppen og kan være årsagen til mange forskellige sygdomme. Forskningen i

[39] Steen-Andersen, Anne Mette (29), Videnskab.dk redaktion (31) og Cunnington, Aubrey (19)
[40] Hvas, Cristian Lodberg og Lars Holger Ehlers (22)
[41] Afsnittet er udarbejdet vha. Riiser-Larsen, Vibeke (27), Nielsen, Kathrine (26), Udforsksindet.dk (30) og Psykiatrifonden.dk (24)
[42] Med genetisk sårbarhed menes, at vi pga. vores arvemasse lettere udvikler bestemte sygdomme.
[43] Afsnittet er udarbejdet vha. Bæch, Sussi Boberg (18)

tarmbakterier er derfor vigtigt, idet vi kan komme tættere på at forstå og behandle mange sygdomme. Det er forsat behov for forskning i tarmbakteriers effekt i vores sundhed. Det indebærer samtidig en større oplysningsopgave for på sigt at oplyse befolkningen om behandlingsmuligheder. Det er bl.a. det min populærvidenskabelige artikel "*Pas på dine tarmbakterier så vil de passe på dig*" sigter mod at gøre. Med den teknologiske udvikling i dag især ift. unges brug af diverse sociale medier, vil det være hensigtsmæssigt at have artiklerne i både papir-form men også online.

12. Konklusion

Opgaven har vist, hvordan tarmens mikrobiom påvirker immunforsvaret. Probiotiske bakterier eksempelvis bifidobakterier og lactobacilli er med til at skabe balance mellem de forskellige bakterier i tarmen således de patogene bakterier udkonkurreres. Derudover regulerer de probiotiske bakterier immunforsvaret så bestemte T-lymfocytter kaldet Th_{reg} produceres som er med til at opretholde tolerancetilstanden. Samtidig viser opgaven at de probiotiske bakterier i tarmen fremmes af ydre påvirkninger, fx. er humane mælkeoligosakkarider (HMO) i modermælk, næringskilde for bifidobakterier, og medfører dannelse af de kort kædede fedtsyre (SCFA) som sænker metabolitterne surhedsgraden således patogener ikke kan overleve. Det er derfor gennem livet hensigtsmæssigt at fokusere på præ- og probiotika for at kunne forbedre tarmens mikrobiom. Præbiotika (kostfibre) er nærringskilde for ens probiotiske bakterier, hvorimod probiotika (hovedsageligt mælkesyrebakterier) går ud på at oralt indtage probiotiske bakterier. I opgaven blev der foretaget et forsøg, hvis hovedformål var at vise mælkesyrebakteries hæmning af andre bakterier. Forsøget viste ingen klare resultater, dog var der fund, som antyder at mælkesyrebakterier påvirkede andre bakteriers vækst. Forsøgets resultater var ikke entydigt klare til at kunne bekræfte hypotesen. Afvigelserne skyldes bl.a. forurening af pladerne samt upræcise koncentrationer. Sideløbende blev bioteknologisk viden og danskfaglig viden brugt til at udforme en populærvidenskabelig artikel, der henvender sig til den typiske læser af magasinet *Vores Børn* samt at lave metatekst, som forklare kommunikationssituationen samt sprogbrug i artiklen. Slutteligt sættes opgaven i perspektiv, hvor forskellige nye forskningsområder vedrørende tarmbakterier præsenteres eksempelvis ift. depression og hjertekarsygdomme. Af denne grund blev der diskuteret, hvordan man bedst muligt oplyser befolkningen om emnet med henblik på at ramme den bredest mulige befolkningsgruppe. Dette kan bl.a. gøres via diverse medier.

13. Litteraturliste

Bøger

1. Bidstrup, Bodil Blem og Benthe Schou. *Bioteknologi 4 Infektionsbiologi*. Nucleus, 2016.
2. Davidson, Monica. *Tarmens økosystem*.
3. Egebo, Lone Als. *Mikroskopisk liv*. Nucleus, 2012.
4. Egebo, Lone Als m.fl. *Bioteknologi A*. Nucleus, 2018.
5. Holm, Christian Kanstrup. Immunologi. FaDL's Forlag e-bog, 2017.
6. Hyldgård, Peter og Niels Ebdrup. Slip din viden løs. Ajour & Videnskab.dk e-bog, 2013.
7. Jakobsen, Palle Høy og Ib Christian Bygbjerg. *Immunologi*. Nucleus, 2012.
8. Rangvid, Mads og Sørensen, Mimi. *Perspektiver i dansk*. Grundbog. Populærvidenskabelig artikel. Dansklærerforeningens forlag, 2018

Videnskabelige artikler

9. Ayechu-Muruzabal, Veronica mfl. "Diversity of Human Milk Oligosaccharides and Effects on Early Life Immune Development". Frontiers in Pediatrics, 2018.
10. Fink, Lisbeth N. mfl. "Bakteriefloraen i tarmen er vigtig for immunsystemet". Dansk kemi nr. 3, 2007.
11. Palmgren, Gorm. "Kend dig selv på din tarmtype". Illustreret Videnskab nr. 1, 2012.
12. Vigsnæs, Louise Kristine. "Humane mælkeoligosakkarider, nu ikke kun til babyer!". Dansk kemi nr. 4, 2018.
13. Vigsnæs, Louise Kristine. "Præbiotika – Sundhedsfremmende ikke-fordøjelige kulhydrater". Dansk kemi nr. 8, 2012.
14. Zeuner, Birgitte og Anne S. Meyer. "På vej mod bedre modermælkserstatning". Dansk kemi nr. 2, 2018.

Internettet

15. Adães, Sara, "How the gut microbiota influences our immune system", (8/7/2019) https://neurohacker.com/how-the-gut-microbiota-influences-our-immune-system, (dato: 4. marts 2020)
16. Andersen, Maibritt B. "Syv pund skidt", 2020 https://www.information.dk/1999/06/syv-pund-skidt (dato: 4. marts 2020)
17. Biodanepharma.com, "Tarmens opbygning"

https://biodanepharma.com/tarmens-opbygning/ (dato: 4. marts 2020)

18. Bæch, Sussi Boberg, ”Få opdateret din viden om tarmbakterier og åreforkalkning”, (21/1/1019) https://hjerteforeningen.dk/fagnet/2019/01/21/faa-opdateret-din-viden-om-tarmbakterier-og-aareforkalkning/ (dato: 4. marts 2020)
19. Cunnington, Aubrey, ”Hvad er ´vaginal seeding´?”, (5/3/2016) https://videnskab.dk/krop-sundhed/hvad-er-vaginal-seeding (dato: d. 4. marts 2020)
20. Denstoredanske.dk. ”enteroendokrine celler” http://denstoredanske.dk/Krop,_psyke_og_sundhed/Sundhedsvidenskab/Cellebiologi_og_almen_histologi/enteroendokrine_celler (dato: 4. marts 2020)
21. Gallup, Kantar, ”Vores børn”, 2019 https://ocast.com/da-dk/brands/vores-born-823/audience (dato: 4. marts 2020)
22. Hvas, Cristian Lodberg og Lars Holger Ehlers: ”Kan mirakellort helbrede mere end én livstruende sygdom?”, (3/9/2019) https://videnskab.dk/krop-sundhed/mirakellort-kan-behandle-livstruende-sygdomme (dato: 4. marts 2020)
23. Jappe, Emma Christine, ”Antimikrobielle peptider – Fremtidens antibiotika?”, biotechacademy.dk, (årstal) https://www.biotechacademy.dk/undervisning/gymnasiale-projekter/find-fremtidens-antibiotika/ (dato: 4. marts 2020)
24. Psykiatrifonden.dk ”Depression”, 2019 https://www.psykiatrifonden.dk/viden/diagnoser/depression/depression.aspx (dato: 4. marts 2020)
25. Medela.dk, ”Fordele ved brystmælk” https://www.medela.dk/amning-sundhedspersonale/raadgivning/forberedelse-til-amning/fordele-ved-brystmaelk
26. Nielsen, Kathrine, ”Bakterier på hjernen”, (2018) https://aktuelnaturvidenskab.dk/fileadmin/Aktuel_Naturvidenskab/nr-2/AN2-2018mikrobiom-hjerne.pdf (dato: 4. marts 2020)
27. Riiser-Larsen, Vibeke, ”Dine tarme kan påvirke hvad du føler”, (16/2/2019) https://videnskab.dk/krop-sundhed/dine-tarme-kan-paavirke-hvad-du-foeler (dato: 4. marts 2020)
28. Roitmann, Eva, ”Sundhedsfremmende bioaktiv kost”, biotechacademy.dk, (årstal)

https://www.biotechacademy.dk/undervisning/gymnasiale-projekter/sundhedsfremmende-bioaktiv-kost/#1510836432703-5a79d92e-e6f73bc6-55ff7683-1e25 (dato: 4. marts 2020)

29. Steen-Andersen, Anne Mette, "Vaginale bakterier beskytter børn født ved kejsersnit mod sygdom", (3/2/2016) https://dagensmedicin.dk/vaginale-bakterier-beskytter-born-fodt-ved-kejsersnit-mod-sygdom/ (dato: 4. marts 2020)
30. Udforsksindet.dk, "7 advarselstegn på et lavt serotonin-niveau" https://udforsksindet.dk/advarelsestegn-lavt-serotonin-niveau/ (dato: 4. marts 2020)
31. Videnskab.dk redaktion, " Babyer født ved kejsersnit har andre tarmbakterier end babyer født 'normalt" (årstal) https://videnskab.dk/krop-sundhed/babyer-foedt-ved-kejsersnit-har-andre-tarmbakterier-end-babyer-foedt-normalt (dato: 4. marts 2020)
32. Voresbørn.dk, "Om Vores Børn" https://voresboern.dk/#about, (dato: 4. marts 2020)

Figurer

1. Biodanepharma.com, "Tarmens opbygning". https://biodanepharma.com/tarmens-opbygning/ (dato: 4. marts 2020)
2. Egebo, Lone Als. *Mikroskopisk liv*. Nucleus, 2012.
3. Palmgren, Gorm. "Kend dig selv på din tarmtype". Illustreret Videnskab nr. 1, 2012.
4. Abreu, Maria T. "Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function". Nature reviews, 2010
5. Fink, Lisbeth N. mfl. "Bakteriefloraen i tarmen er vigtig for immunsystemet". Dansk kemi nr. 3, 2007.
6. Fink, Lisbeth N. mfl. "Bakteriefloraen i tarmen er vigtig for immunsystemet". Dansk kemi nr. 3, 2007.
7. Redigeret version af figur fra: Vigsnæs, Louise Kristine. "Humane mælkeoligosakkarider, nu ikke kun til babyer!". Dansk kemi nr. 4, 2018.
8. Systime.dk, "Ciceros pentagram". https://litteraturenshuse.systime.dk/index.php?id=1181 (dato: 4. marts 2020)
9. Hyldgård, Peter og Niels Ebdrup. Slip din viden løs. Ajour & Videnskab.dk e-bog, 2013
10. Cutebabyz.com, "Kids supposed to be happy" http://www.cutebabyz.com/kids-supposed-to-be-happy/ (dato: 4. marts 2020)

Shutterstock.com, "Smiling mother and father holding their newborn baby daugther at home"
https://www.shutterstock.com/image-photo/smiling-mother-father-holding-their-newborn-483126724 (dato: 4. marts 2020)

11. Redigerer version af figur fra: Davidson, Monica. *Tarmens økosystem*.

14. Bilag

Bilag 1

Forsøgsvejledning - Mælkesyrebakterier-og-holdbarhed

Formål

Formålet med denne øvelse er at undersøge mælkesyrebakteriers og probiotikas evne til at øge holdbarheden af kød ved at:

1. Undersøge forskellen på bakterieantal og -sammensætning i ubehandlet kød, kød tilsat Cultura og Cultura alene, som har stået ved stuetemperatur i to dage
2. Undersøge om en eventuel forskel kan skyldes en pH-forskel.

Teori

Inde i kroppen har probiotika evne til at undertrykke væksten af andre bakterier, hvilket er en af forklaringerne på deres sundhedsfremmende effekt. Mange probiotika er mælkesyrebakterier, og det er et generelt træk for mælkesyrebakterier, at de kan udelukke andre bakterier. Dette benyttes i produktionen af mange varer fx pølser, ost og ensilage. Tilsætning af mælkesyrebakterier til fødevaren bevirker, at fødevarerne kan holde sig meget længe selv ved stuetemperatur. Den forlængede holdbarhed skyldes hovedsageligt, at mælkesyrebakterierne danner mælkesyre, som gør fødevaren sur, hvilket gør det sværere for andre bakterier at overleve.

Bakterieantallet og -sammensætningen i frisk Cultura, kød og i blandingen (Cultura + kød) undersøges ved pladespredning på to forskellige plader – en plade, der indeholder et medie (TSA), som de fleste bakterier kan vokse på, og en plade med et andet medie (MRS), hvor kun mælkesyrebakterier kan vokse.

I teorien vil der i frisk kød ikke være mange bakterier. Hvis der er bakterievækst, er det mest sandsynligt at der er forskellige bakterier på TSA-pladen, men ingen på MRS-pladen (fordi der ikke er mange mælkesyrebakterier i kød). For Cultura vil der være mange bakterier og lige mange bakterier på TSA-pladen som på MRS-pladen (fordi alle bakterierne i Cultura er mælkesyrebakterier). I blandingen (Cultura + kød) er der i princippet 1⁄4 af de bakterier, som findes i Cultura.

Hypoteser

Efter inkubering vil der observeres en stor stigning i antal af bakterier i kød, hvoraf få af dem er mælkesyrebakterier og der vil være mange forskellige slags bakterier. I blandingen med Cultura og kød vil der hovedsageligt være mælkesyrebakterier. I Cultura vil der kun være mælkesyrebakterier. Mælkesyrebakterier hæmmer dermed væksten af andre baktereir i kød.

Materialer

- Frisk Cultura naturel
- Frisk, hakket kød (fx oksekød, helst med lav fedtprocent)
- Vægt
- 0,9 % NaCl-opløsning
- Ethanol
- 12 Falcon-rør (50 mL) med låg
- Stativ til Falcon-rør
- 0,9 % NaCl-opløsning
- Lang teske eller spatel
- 25 sterile eppendorfrør (6 pr. opløsning for kød og de to blandinger, 7 til Cultura)
- Sterile 1 mL og 100 µL pipettespidser
- 1 mL og 100 µL pipetter
- 12 TSA agar plader (3 pr. opløsning – Cultura, kød, to blandinger)
- 12 MRS agar plader (3 pr. opløsning – Cultura, kød, to blandinger)
- Drigalski-spatel
- Bunsenbrænder
- Tændstikker
- Et lille bægerglas med 70 % ethanol

DAG 0

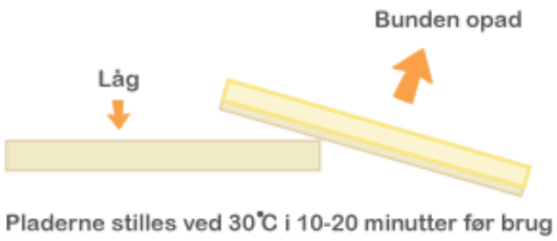
Autoklavér følgende: eppendorfrør, Falcon-rør – hvis de ikke allerede er sterile, 0,9 % NaCl-opløsning, demineraliseret vand, pipettespidser til 1 mL og 100 µL.

DAG 1

Forberedelse af prøver samt udpladning af friske prøver

1. Pladerne tørres (også beskrevet i afsnittet "Øvelser")

Alle de anvendte agarplader skal derfor sættes ind i et varmeskab (30°C eller 37°C) i ca. 20 minutter inden brug, så eventuelt kondensvand fordamper og derudover kan bakterierne bedre sprede sig. Pladerne sættes med bunden opad på skrå hen over låget, så bakterier i luften ikke falder ned på pladen.



Figur 1. *Tørring af plader*

2. Forberedelse af rør med Cultura, kød og blanding

Skriv dato, gruppenavn og indhold (Cultura - Kød - Blanding) på Falcon-rørene.
Vigtigt at vide: Falcon-rørene er sterile, så de skal ikke ligge og flyde med åbent låg, da de kan blive forurenet af andre bakterier. Husk at skifte vejeskål mellem hver prøve, der afvejes, eller vej direkte i Falcon-rørene.

⇒ Ca. 20 g Cultura (afmærkes med "C")
⇒ Ca. 20 g kød (afmærkes med "K")
⇒ Ca. 15 g kød og 5 g Cultura (afmærkes med "B")
⇒ Ca. 20 g kød og 5 g Cultura (afmærkes med "E")

Det er vigtigt at indholdet i rørene blandes grundigt fx med en teske, så der opnås en jævn masse. Husk at gøre teskeen ren, når den tages fra ét rør til et andet (dette kan fx gøres med ethanol).

Stil prøverne i en passende beholder, så de kan stå opret. Tag nu 2 g af hvert rør og fortsæt med punkt 3.

Falcon-rørene med de resterende 18 g inkuberes i 1-2 dage ved stuetemperatur eller 1 dag ved 37°C.

3. Udpladning af prøverne

Der udplades opløsninger af frisk hakket kød, af Cultura og af blandingen for at kunne undersøge bakterieantallet og -sammensætningen i hver af de tre prøver. Det er nødvendigt at fortynde prøverne, inden prøven spredes ud på agarpladen, for at have et passende antal bakterier at tælle.

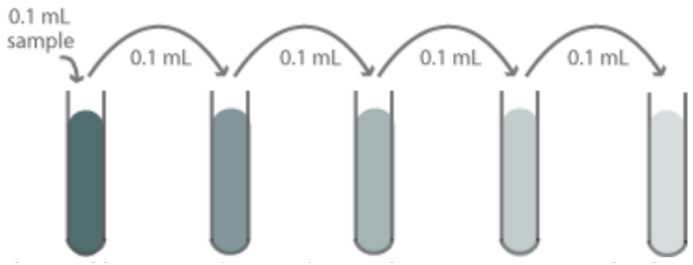
3a. Fremstil fortyndinger

For hver af de tre prøver (Cultura, kød og blandingen) udføres følgende (husk at skifte vejeskål for hver gang, der vejes en ny prøve):

- Afvej 2 g prøve, som overføres til et Falcon-rør (som er markeret med hvilken prøve, det skal indeholde, gruppenavn, og at det er en 10^{-1}, fortynding).
- Tilføj 18 mL 0,9% NaCl. Sæt låg på og lad stå, indtil den skal bruges (så opløses prøven lige så stille). Grunden til at der materialerne opløses i NaCl og ikke vand skyldes, at (natrium) ionkoncentrationen i opløsningen sørger for, at der ikke sker osmose af salt således bakteriecellerne dehydrere.
- Sæt 25 sterile eppendorfrør i et stativ og mærk dem på låget med hvilken prøve der skal i: 7 eppendorfrør til Cultura, 6 til kødet og 6 til blandingen (C = Cultura, K = Kød, B = Blanding, E = Ekstra blanding), gruppenavn (forkortet version eller tal) og fortyndingsgrad ($x10^{-2}, x10^{-3}, x10^{-4}, x10^{-5}, x10^{-6}, x10^{-7}$ og for Culturaen x10^{-8}).
- Der fyldes 0,9 mL 0,9% NaCl vand i hvert af de 25 rør med en 1 mL pipette.
- Ryst Falcon-rørene med de 10 gange fortyndede prøver grundigt i to minutter.

Nu skal fortyndingsrækkerne laves, og der skal arbejdes med én prøve ad gangen.

- Brug 100 µL pipetten til at overføre 0,1 mL (100 µL) til det første eppendorfrør. I prøverne, som indeholder kød, kan der være klumper og fedt, hvilket kan forhindre pipetten i at suge op – sørg for at pipetten får suget hele mængden (0,1 mL) op. Der blandes i eppendorfrøret ved at suge op og ned et par gange med pipetten.
- Skift pipettespids og overfør 0,1 mL fra det første rør ($x10^{-2}$) til det næste ($x10^{-3}$) og sug igen op og ned et par gange for at blande.
- Dette udføres indtil $x10^{-7}$ (for kødet og blandingen) og $x10^{-8}$ (for Culturaen) fortyndingerne er lavet.



Figur 2. Fortyndingsrække: 0,1 mL (=100 µL) prøve kommes i 0,9 mL NaCl-opløsning, dvs. en 10 gange fortynding for hvert trin i fortyndingsrækken.

3b. Udpladning

Der skal laves 3 TSA plader og 3 MRS plader pr. prøve med $x10^{-6}$, $x10^{-7}$ og $x10^{-8}$ fortyndingerne for Culturaen og $x10^{-5}$, $x10^{-6}$ og $x10^{-7}$ fortyndingerne for kødet og blandingerne. Antallet af bakterier i Cultura er formodentlig ca. 10^9-10^{10} CFU/mL, og man kan derfor regne med, at der på x10-7 pladen vil komme omkring 10-100 (siden der kun udtages 0,1 mL).

- Pladerne markeres med, hvad de indeholder (TSA eller MRS), dato, gruppenavn, prøve og fortyndingsgrad. Det er vigtigt, at der skrives på bunden eller på kanten af bunden og ikke på låget, for låget kan risikere at blive byttet om med et andet.
- Udtag 0,1 mL prøve af de fortyndinger, som er nævnt ovenfor, og kom prøven på den mærkede agarplade. Tjek, at prøven inkl. fortyndingen stemmer med det, der står på petriskålen. Husk at skifte pipettespids mellem hver prøve.

- De 0,1 mL prøve spredes ud med drigalski-spatelen. (læs evt. afsnittet "Øvelser"). ¬ Kom pladerne i poser (således at de ikke kontamineres af andet i varmeskabet). ¬ Inkuber pladerne på hovedet (agaren opad) ved 37°C i 3-6 dage

Pladerne **inkuberes ved 37°C** og ikke ved stuetemperatur, for ellers ville de probiotiske bakterier, som er vant til at vokse i menneskekroppen, vokse for langsomt. Når pladerne inkuberes er det vigtigt, at de stilles med bunden i vejret, så eventuel kondensvand ikke løber ned på agaren.

DAG 2

Undersøgelse af bakterieantal og –sammensætning i prøver fra dag 1 og 2

1. Bakterieantallet i prøverne fra dag 1 undersøges ved at tælle kolonier på pladerne.
2. Bakteriesammensætningen undersøges ved at observere pladerne direkte.

a. Kolonier på pladerne tælles

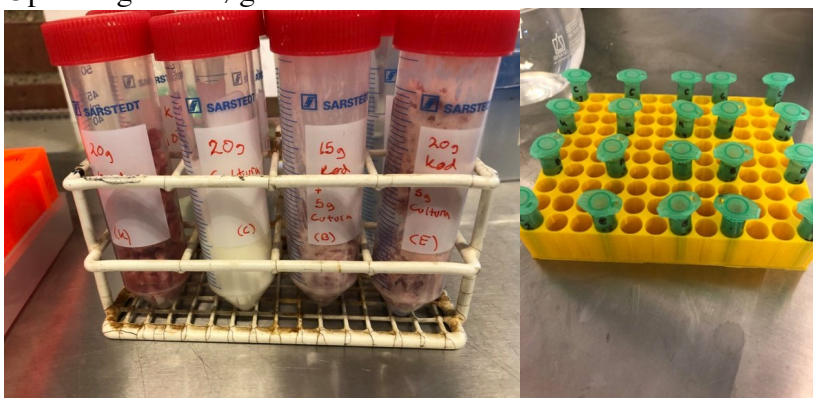
Bilag 2

	Antal CFU i 0,1 mL	**KPA**	**MRS**
C	Cultura $x10^{-6}$	420x4	299
C	Cultura $x10^{-7}$	362x4	217
C	Cultura $x10^{-8}$	332x4	46
K	Kød $x10^{-5}$	561x4	0
K	Kød $x10^{-6}$	511x4	0
K	Kød $x10^{-7}$	454x4	3
B	Kød + cultura $x10^{-5}$	630x4	101
B	Kød + cultura $x10^{-6}$	490x4	33
B	Kød + cultura $x10^{-7}$	483x4	9
E	Ekstra: Kød + cultura $x10^{-5}$	470x4	65
E	Ekstra: Kød + cultura $x10^{-6}$	443x4	25

E	Ekstra: Kød + cultura $x10^{-7}$	370x4	9

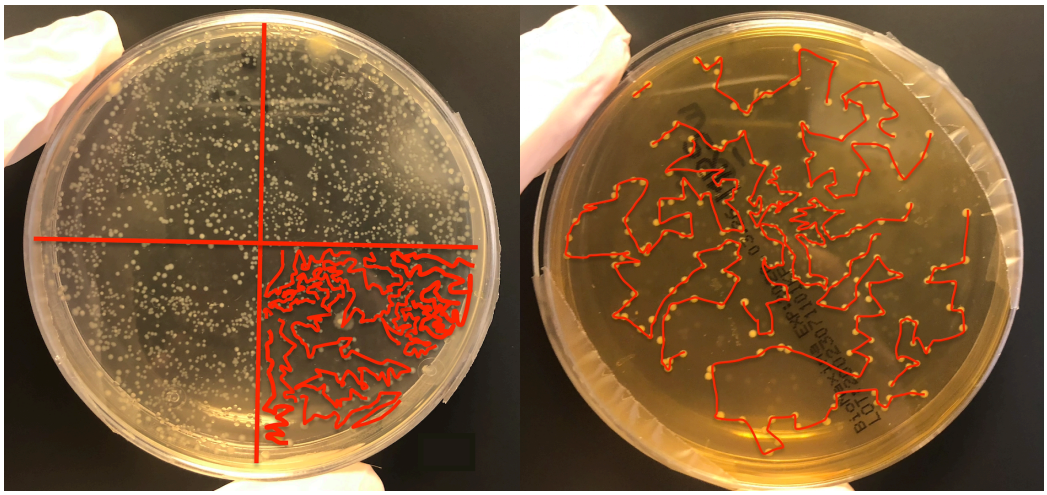
Bilag 3

Opstilling af forsøg:



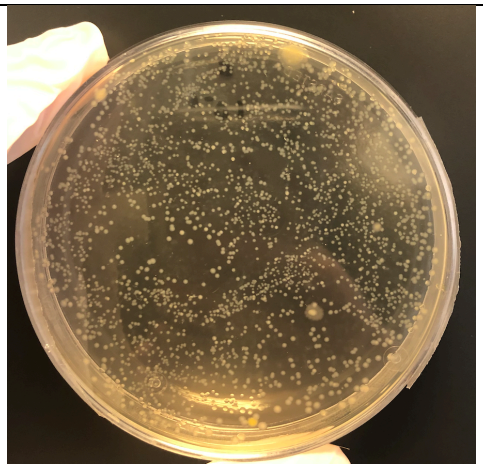
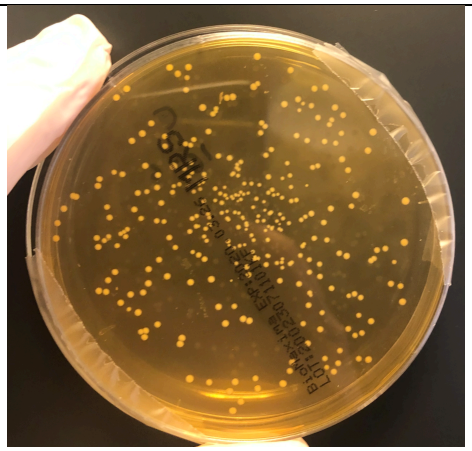
Bilag 4

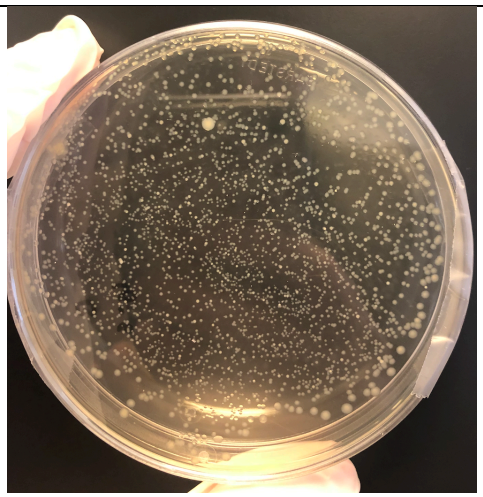
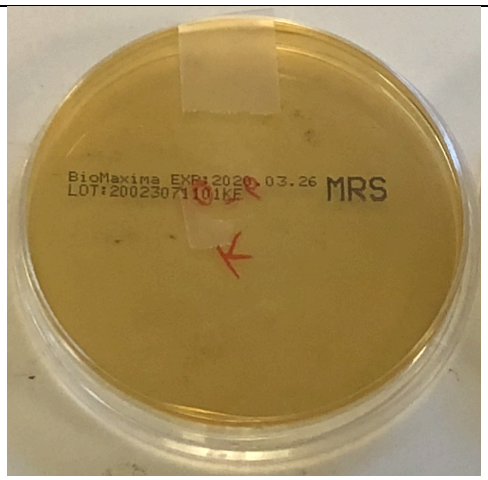
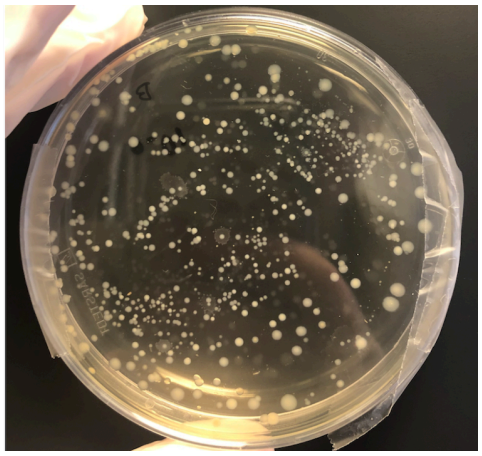
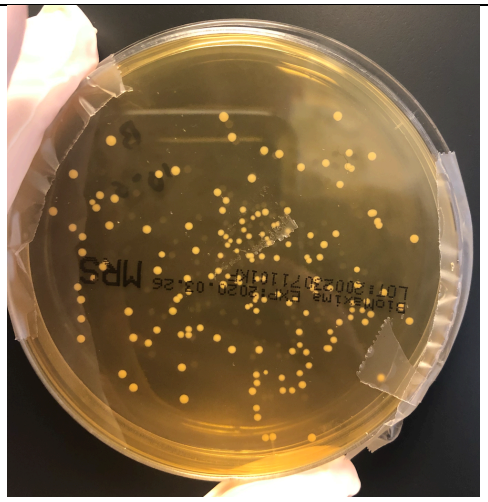
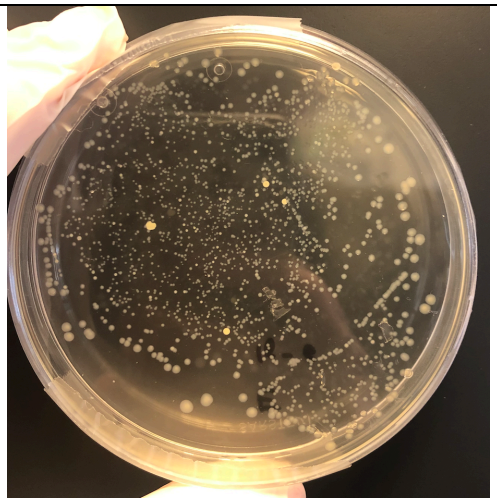
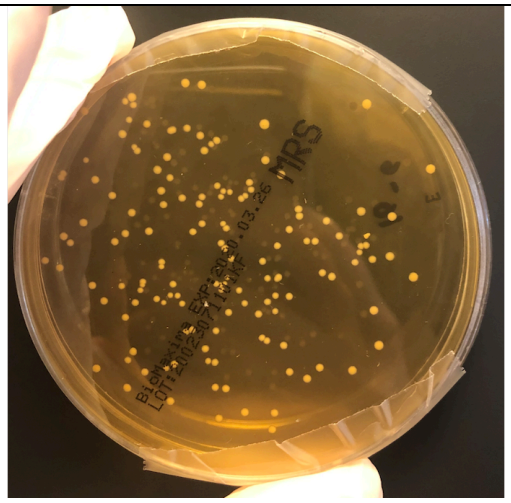
Metode til optælling af bakteriekolonier:



Bilag 5

Resultater fra forsøgsrunde 2:

Forsøgsrunde 2		
	KPA	**MRS**
Cultura $x10^{-6}$		

Kød $x10^{-6}$		
Kød + cultura $x10^{-6}$		
Ekstra: Kød + cultura $x10^{-6}$		

Bilag 6

Kort-kædede fedtsyrer	**Bakteriegrupper involveret i dannelsen**	**Effekten af kort-kædede fedtsyrer**
Eddikesyre	Bifidobakterier, bacteroides, laktobaciller, clostridia, eubacteria, propionibacteria, butyrivibrio	Hæmmer patogene bakterier
Propionsyre	bacteroides, propionibacteria	Hæmmer kolesterol syntese
Smørsyre	Clostridia, eubacteria, butyrivibrio	Fremmer anti-inflammatorisk immunrespons
Mælkesyre	Bacteroides, bifidobakterier, laktobaciller, eubacteria, clostridia	Hæmmer patogene bakterier

Tabel viser bakterietyper involveret i dannelsen af SCFA og effekten af