

## **Forsøk: Effekten av antibiotika på bakterievekst**

### **Hensikt med forsøket:**

Antibiotika benyttes i behandling til infeksjonssykdommer fremkalt av bakterier. Det finnes mange ulike typer antibiotika, og en av det mest brukte er Penicillin. I dette forsøket skal vi dyrke frem bakterier fra omgivelsene våre, og se hvilken virkning antibiotika har på bakterieveksten.



### **Utstyr:**

- Petriskål med næringsagar – lag selv eller art. 12002
- Podenål, inokuleringsnål (art. 12006 eller 12009)
- Bunsenbrenner eller etanol til sterilisering
- Antibiotika (enten lapper, 12024 eller stjerne art. 12005)
- Hansker, art. 15023
- Pinsett, anbefalt art 14007
- Parafilm eller teip, Tørkepapir, Reagensrør, Pipette
- 0.9 % NaCl-løsning (Fysiologisk saltvann)
- Inkubator (evt. inkuber i romtemperatur)

### **Fremgangsmåte:**

1. Jobb alltid med hanske når vi jobber med bakterier
2. Gjør klar en petriskål med næringsagar (kjøp enten ferdige skåler, eller lag selv). Dersom det er kondensvann i petriskålen anbefales at du forsiktig suger dette opp med en pipette eller bruker tørkepapir og suger vannet opp.
3. Sett avtrykk med finger eller f.eks bruk en bomullspinne for å ta avtrykk fra vask, mobil, eller innsiden av kinnet/ tenner etc.
4. Benytt parafilm eller teip for å forsegle skålene, eller legg den i en plastpose. Skålen inkuberes i romtemperatur 2-3 døgn eller i inkubator (ca 1 døgn).
5. Etter inkubasjonen skal det være dannet en eller flere bakteriekolonier. Bruk en steril podenål, og overfører en bakteriekoloni til et reagensrør. Tilsett så 2 ml fysiologisk saltvann og bland godt til du ser at bakteriekolonien er løst opp.
6. Bruk en pipette og tilsett bakteriekulturen til en ny, ren petriskål med næringsagar. Prøv å fordel løsningen jevnt over (gjerne sug opp kulturen ved å bikke på skålen og hell over igjen). Når skålen er dekket av bakteriekultur, fjernes overflødig væske med pipette eller sug opp med tørkepapir fra siden.

7. Ved bruk med antibiotikastjerne: bruk en steril pinsett og overfør en antibiotikastjerne til petriskålen. Sørg for at selve lappene med antibiotika blir dyttet ned slik at de får kontakt med agaren. Ved bruk med antibiotikalapper: Bruk en steril insektpinsett for å overføre en antibiotikaskive til petriskålen. Dersom du har ulike antibiotika, legger du ut flere typer i samme skål. Det er viktig å ha litt avstand mellom dem, så maks 5 stk i en skål.
8. Inkuber på nytt (se punkt 3), og studer resultatet etterpå.

#### **Spørsmål:**

1. Har bakterieveksten blitt hemmet av antibiotika?
2. Hemmingssoner eller inhibisjonsseoner er område rundt antibiotika hvor man tydelig ser at bakterieveksten er hemmet. Mål diameteren til hemmingsonen til nærmeste mm for de ulike antibiotikene (dersom du har ulike typer).
3. Er det forskjell på hvor mye veksten hemmes avhengig av hvilken type antibiotika som er til stede? Gi en faglig forklaring på hva dette kan skyldes.

#### **Opprydding etter forsøk:**

Det er alltid bra å ha gode rutiner når man jobber på et laboratorie med bakterier. Selv om bakteriene vi dyrker frem er varianter som finnes rundt oss vil det alltid være en mulighet for at man f.eks dyrker frem en type E.coli bakterie som vi ikke ønsker kommer på avveie. F.eks hvis noen på skolen er syke og man har tatt prøver fra en toalettskål vil vi kunne dyrke frem millioner av disse bakteriene på vår agarskål. Derfor er det alltid en god ide å desinfisere bakteriekulturene når vi er ferdige med forsøket. Derfor anbefaler vi alltid at skålene desinfiseres med 70% sprit eller klorin. La det stå min 10 minutter for å drepe bakteriene. Deretter legges skålene i en plastpose som knyttes igjen og kastes i restavfall som til slutt brennes.

Når det gjelder antibiotikalappene er mengden antibiotika så liten at de ikke skal utgjøre noen fare. Når de kastes sammen med agarskålene i en lukket plastpose som til slutt brennes vil de uansett destrueres og ikke komme ut i naturen.

#### **Utvidelse av forsøket: Studer bakteriekolonien i mikroskop**

Bruk bakteriekolonien som er løst i fysiologisk saltvann og avsett en dråpe på et objektglass. Legg ett dekkglass forsiktig over. En enkel farging med litt jodløsning (art. 16062) vil farge bakteriecellene nok til at de kan observeres i et vanlig lysmikroskop. Man vil imidlertid ikke kunne se cellene med oljeimmersjonsobjektiv ettersom dette er et våtpreparat. Dersom man vil se nærmere på ulike bakterier i mikroskop anbefales vårt sett med Mikropreparatsett, Bakterier, art. 11149.