

Test av effekt av vitlök och gul lök på bakterien *Micrococcus luteus*. Inzoomat till höger är upplärningszonen kring en bit vitlök.
Foto: Bioresurs

Test av antibakteriella ämnen

Syftet med försöket är att visa en toxikologisk testmetod där bakterier används för att testa giftverkan av olika ämnen. Många olika ämnen kan undersökas med denna metod som motsvarar det traditionella försöket med antibiotikaeffekt på bakterier som ofta görs i skolan.

Försöket kan kopplas till miljö- och hälsostudier. Alltför höga halter av metalljoner i mat och dricksvatten skadar levande organismer. Detta gäller t.ex. kopparjoner. Höga kopparjonhalter i dricksvattnet gör att små barn kan få diarré. Ljust hår som tvättas i sådant vatten kan få en grön färgton. Metaller och andra ämnen kan också inhibera tillväxten av mikroorganismer. Metoden innebär att en bakteriesuspension sprids ut på en agarplatta. På plattan placerar de ämnen man vill undersöka. En klar zon utan bakterieväxt bildas runt de prover som är giftiga för bakterierna – ju större diameter på avdödningszonen desto giftigare. Metoden är enkel och eleverna kan själva lägga upp försöken.

Säkerhet

Använd inte hälsofarliga ämnen som testkemikalier. Använd endast klass 1-organismer. Läs säkerhetsanvisningar om mikrobiologiskt arbete och arbeta enligt steriltekniska rutiner.

Material

- *Micrococcus luteus* och/eller *Escherichia coli* hämtas från agarplatta eller odlas upp i flytande näringsmedium över natten (t.ex. Nutrient broth som kan köpas i pulverform). Olika bakterier kan ge olika resultat. *M. luteus* är i allmänhet mer känslig än *E. coli*.
- Sterila plattor med ett allsidigt näringssubstrat (t.ex. Nutrient agar, köps i pulverform).
- Värmeskåp, 37°C
- Provrör med lock/folie med 1 ml sterilt vatten (för tillverkning av bakteriesuspension)
- Ympnål (platinaöglå som kan steriliseras i öppen låga, eller engångs i plast)
- Tops med långa träskaft (kan köpas på apotek)
- Kryddor, vitlök, gul lök, desinfektionsmedel, tvål, tandkräm, metalljonlösningar (0,2 M).

Beroende på vilken metod som väljs för att lägga till de antibakteriella ämnen man vill testa kan det också behövas skedar/knivar/spatlar och provrör (för att blanda/späda ämnen), droppipett av plast, preparernål, filtrerpapperslappar gjorda med hålslag (lappar kan användas för att suga upp testlösningar). För att pröva effekt av lösningar kan man även göra grunda brunnar/hål i agarplattan.



Utförande

1. Använd ympnål och skrapa bakterier från en platta. Rör ut bakterierna i ca 1 ml vatten i ett provrör. Ta så mycket bakterier att suspensionen blir kraftigt grumlig. Alternativt odla upp bakterier i flytande näringslösning över natt i provrör som delas ut.
2. Doppa en tops i bakteriesuspensionen och stryk ut bakterierna på den rena plattan med näringsagar. Låt varje streck med topsen täcka det föregående. Vänd därefter plattan och stryk ut bakterier på tvären över den första utstrykningen. Hela ytan ska täckas – det får inte bli ett glest ruttmönster!
3. a) Lösningar kan testas genom att små runda filterpapperslappar, som tagits ut med hålslag, doppas i testlösningar. Lapparna placeras sedan på agarytan med de utstrukna bakterierna. Använd preparernål för att placera ut lapparna. Se till att det inte blir överskott av vätska som följer med lappen – håll den mot kanten av burken med lösning för att överskottet ska rinna av.

b) Brunnar kan tas ut i agarskiktet genom att göra hål med t.ex. en droppipett. Brunnarna kan sedan fyllas med pulver eller lösningar. T.ex. kan olika kryddor i pulverform testas.

c) Bitar av fasta ämnen t.ex. vitlök och gul lök placeras på ytan. Märk på undersidan av petriskålen vilka ämnen som testas.
4. Placera plattorna i värmeskåp vid 37 °C i 1-2 dygn eller i rumstemperatur under 2-3 dagar.

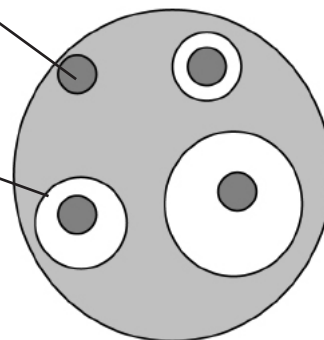
Resultat och utvärdering

Avläsning: en klar zon utan bakterieväxt runt det testade ämnet visar att det är giftigt för bakterien. Mät diametern på avdödningszonen för de olika ämnen som testats.

Ett exempel på hur försöksresultat kan se ut visas i bilden på föregående sida och illustrationen nedan. Ju större avdödningszonen är desto giftigare är ämnet förutsatt att diffusionshastigheten i agar för de olika ämnena är jämförbar.

Filtrerpapperslapp indränkt i testlösning

Avdödningszonens diameter mäts



Tips!

Läs om säkerhet vid mikrobiologiskt arbete <https://bioresurs.uu.se/resurser/sakerhet-och-risker>

Läs om antibakteriella ämnen i olika produkter via Stockholm stads Miljöbarometer <http://miljobarometern.stockholm.se/miljogifter/antibakteriella-amnen/>.

Läs artikeln "Antibakteriella ämnens roll i resistensutveckling" i Läkartidningen <https://lakartidningen.se/klinik-och-vetenskap-1/kommentar/2016/07/1-18/> ...