

Hæmning af bakteriel vækst med hvidløg

Formål: At påvise hvidløgs antibakterielle virkning samt undersøge at selvvalgt produkt for antibakterielle stoffer.

Teori: Mange planter og naturlige produkter indeholder antibakterielle stoffer. I dette forsøg skal vi teste om bakterien *E.coli* påvirkes af stoffer i hvidløg, samt et produkt efter eget valg. Man kan måle om en bestemt bakterie påvirkes af et stof (som f.eks. antibiotika) ved at dyrke dem i laboratoriet. Bakterien tilsættes sammen med stoffet til et vækstmedie, også kaldet en agarplade. Denne plade indeholder næring, som bakterierne kan leve af og formere sig til milliarder af bakterier. Efter et par dage på pladen vil bakterierne vokse frem i små kolonier (én bakterie, der har delt sig til mange). Hvis bakterien hæmmes af stoffet, kan der ikke vokse bakterier, der hvor koncentrationen af det bakteriehæmmende stof er tilstrækkelig høj (dvs. rundt om stoffet), og der vil derfor være en klar zone, hvor bakterierne er slået ihjel eller hæmmet i vækst. Denne zone kaldes *inhiberingszone*, og er et mål for, hvor godt et stof hæmmer en bakterie.

I dette forsøg skal I udeplade en kultur af *E.coli* bakterier på en LB-agarplade (næringsmedie). Til pladen tilsættes hvidløg og et produkt efter eget valg, hvorefter I skal se, om de to produkter har antibakteriel virkning ved at måle inhiberingszoner.

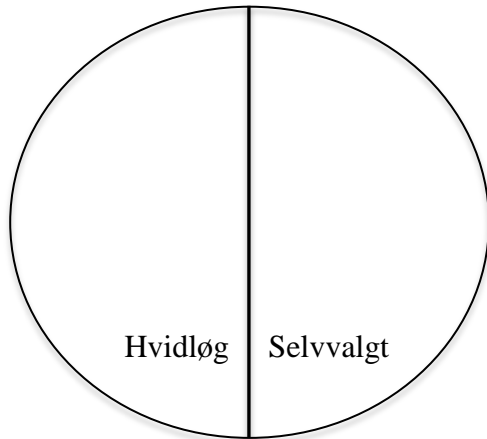
Forberedelse: Først skal I i gruppen vælge et produkt, der kunne være interessant at undersøge for antibakteriel aktivitet. I øvelsen indgår hvidløg allerede, hvorfor dette ikke kan vælges. Produktet kan f.eks. være chili, citron, kanel, oregano, basilikum eller andre krydderier og urter, som I selv tror har en antibakteriel virkning. Hvis tiden tillader det, kan I evt. søge på internettet for inspiration.

Materialer pr. gruppe:

- 1 fed hvidløg
- 1 selvvalgt produkt
- Hvidløgspresser og morter/rivejern/kniv
- 1 LB-agarplade
- 1 rør
- Engangs pincet eller af metal
- Plade med *E.coli* bakterier (udleveres af læreren)
- 1 podenål
- 1 drigalskispattel eller L-formet spreder
- Destilleret vand
- 70 % ethanol (evt. husholdningssprit, 500ml + 200 ml vand)
- Køkkenrulle
- 200 µL pipette + pipettespidser (evt. kan engangspipetter bruges)
- Sprittusch
- Tape

ARBEJDSDAG 1:

1. Skriv gruppenavn og dato langs kanten af bunden på LB-agarpladen. Inddel pladen som vist på nedenstående figur med en sprittusch og mærk den ene halvdel med "hvidløg", mens den anden halvdel mærkes med navnet på jeres produkt.



2. Hvidløgspresseren tørres grundigt med ethanol. Et fed hvidløg knuses f.eks. på et stykke køkkenrulle. Det selvvalgte produkt knuses ligeledes i en afsprittet morter, rivejern eller med kniv. Er det selvvalgte produkt på pulverform, opløs det da i et par dråber destilleret vand. Er det selvvalgte produkt flydende (f.eks. citronsaft), gå da videre til punkt 3.
3. Overfør ca. 2 mL destilleret vand til et tomt rør.
4. Med en podenål overføres et par bakterierkolonier fra den udleverede agarplade med *E.coli* bakterier til et røret fra punkt 3. Der røres grundigt rundt med podenålen i ca. 30 sek.
5. Til LB-agarpladen fra punkt 1 overføres nu 200 μ L (0,2 mL) af blandingen fra punkt 4 ved hjælp af pipette.
6. Væsken spredes forsigtigt hen over pladen med en drigalski-spatel.
7. Lad pladen tørre helt et par minutter.

De to prøver skal nu overføres til pladen.

8. Til feltet mærket med hvidløg, overføres en lille del af det knuste fed hvidløg (på størrelse med en ært) ved hjælp af en afsprittet pincet. Ram så vidt muligt midt i feltet og tryk hvidløget godt sammen.
9. Til den anden halvdel overføres det selvvalgte produkt vha. pincet eller pipette. Er produktet flydende dryppes en lille dråbe direkte på pladen vha. pipetten. Ram så vidt muligt midt i feltet og marker med sprittusch, hvor du ramte.
10. Låg sættes på LB-agarpladen og lukkes med tape. Vigtigt: Herefter må de IKKE åbnes igen.
11. Pladerne inkuberes i plastikposer med bunden nedad ved 30° C indtil næste dag. Ved lavere temperaturer skal pladerne stå et par dage mere.

ARBEJDSDAG 2:

1. Tjek om produkterne har antibakteriel virkning. I så fald er der et område omkring hullet uden bakteriekolonier (inhiberingszone). Mål radius af eventuelle inhiberingszoner med en lineal og udfyld nedenstående skema. Vigtigt: Lågene må IKKE åbnes.

Produkt	Radius af inhiberingszone [mm]
Hvidløg	
Eget produkt	

Spørgsmål:

1. Viser forsøget, at hvidløg har bakteriedræbende effekt? Hvad med det selvvalgte produkt?
2. Var bakterierne lige følsomme over for begge produkter? Hvis ikke, hvad kan det skyldes?
3. Hvorfor bruger man ikke hvidløg til behandling af infektionssygdomme?
4. Hvorfor er det et problem, at bakterier udvikler resistens? Og hvad kan man gøre for at bremse udviklingen af resistens?