

Lærervejledning – Agardiffusionstest

Opbygning og tidsplan:

1. Arbejdsdag 1: Denne dag skal eleverne bruge i laboratoriet (se vejledning). Vi foreslår, at de arbejder i grupper á 3 elever. Regn med at øvelsen tager ca. 30 min i laboratoriet.
2. Arbejdsdag 2: Aflæsning af plader og besvarelse af spørgsmål. Regn med ca. 1 time alt efter hvor meget tid, der bruges på spørgsmålene.

Sikkerhed:

Brug kittel og beskyttelsesbriller.

Forsøget **Agardiffusionstest** inkluderer en *E. coli* kultur og forskellige antibiotika. Brug handsker når *E. coli* benyttes. Ved kontakt med huden, vask med vand og sæbe. Neutraliser *E. coli* med 70% ethanol ved spild. Brug handsker og pincet for at placere antibiotikadiscs på agarpladen. Skyld øjnene med øjenskyldervæske hvis antibiotika kommer i øjnene. Ved kontakt med huden, vask omgående området med vand i få minutter.

Forberedelse:

- 1) Der skal bestilles en *E. coli* stamme en lille uges tid før forsøgets start. Dette kan f.eks. gøres gennem Sektion for Mikrobiologi, Biologisk Institut på Københavns universitet. Har man adgang til en vildtype *E. coli* stamme, kan denne udstreges et par dage før forsøget på f.eks. LB-agar og inkuberes ved ca. 37 °C.

Kommentarer til udstyr:

Man kan teste næsten alle typer antibiotika. De mest gængse er dog ampicillin (Amp), gentamycin (gen), tetracyclin (tet), erythromycin (erm), kanamycin (kan) og neomycin (neo).

Det anbefales at undlade at teste streptomycin (strep) og chloramphenicol (cam) idet H-sætning H351 (Suspected of causing cancer) og H350 (May cause cancer) henholdsvis er tilknyttet til dem.

Hvis ikke man har et varmeskab tilgængeligt kan pladerne inkuberes ved stuetemperatur (så varmt som muligt). Det kræver dog, at de inkuberes i længere tid. Regn med 2-3 dage.

Bestilling af udstyr:

E. coli stamme kan bestilles hos Sektion for Mikrobiologi, Biologisk Institut, Københavns Universitet via følgende formular:

<http://www.science.ku.dk/oplev-science/gymnasiet/undervisningsmaterialer/Bestillings-liste.doc/>

Stammen er en normal vildtype *E.coli* og leveres udpladet på en agarplade.

Antibiotika discs kan bl.a. købes hos Oxoid.

LB medie eller færdiglavede LB-agar plader kan bl.a. bestilles hos Sigma-Aldrich (10 stk. til ca. 250 kr. (varenr. L5542)): Alternativt kan pladerne laves fra bunden ud fra følgende opskrift (kræver adgang til autoklave):

Støbning af LB agarplader i petriskåle (til 1000 mL: 10 g trypton eller pepton, 5 g gærekstrakt, 10 g NaCl, 10 g agar, deioniseret vand til 1000 mL – blandes grundigt, autoklaveres og afkøles lidt inden ophældning; det rækker til ca. 30 plader)

Affald:

Restprodukter bortskaffes efter anvendelse ved autoklavering for at dræbe de vegetative organismer. Affaldet bortskaffes i henhold til nationale regler om kemikalie- og laboratorieaffald. Kontakt eventuelt kommunens Tekniske Forvaltning.