

Hvordan støber man agar i petriskåle.

Denne lille tekst kan fungere som inspiration til undervisere i udskolingen eller gymnasiet, og skal ses som en lille 'how to' i forhold til støbning af agar i petriskåle..

Indledning og lidt teori: Der er mange forskellige typer agar. Nogle er selektive agar hvorpå helt bestemte typer af bakterier eller svampe kan dyrkes og andre er mere 'all round' agar. Inden man vælger agar, kan det være en god ide at undersøge hvilken type der passer bedst til de mikroorganismer, man ønsker at dyrke.

De to mest benyttede 'all round' agar er kødpeptonagar og PCA agar (PCA står for Plate Count Agar). Begge disse er uselektive agar, og man kan langt hen af vejen dyrke 'alle' bakterier, der ikke er anærobe (bakterier der gror i iltfrie miljøer) eller virkelig specielle, på dem.

Mange er lidt overvældet hvis de selv skal blande agar og/eller støbe den og køber derfor forstøbte petriskåle eller agarpølser, hvor man selv skal skære en skive agar af og ligge i en petriskål. Begge produkter er udmærkede løsninger i en håndvending og har den fordel at de er hurtige at gå til.

Der er dog penge at spare ved at støbe sine egne agar i petriskåle og det kan være en fin øvelse for elever at prøve teknikken.

Nedfalds kontaminering: Det store problem ved at støbe agar selv er nedfalds kontaminering – dvs. bakterier fra luften der falder ned på agaren mens man støber den og senere giver utilsigtet vækst. I industrien støber man agar i sterilkamre med overtryk eller i lukkede systemer, men det har de fleste

undervisningsinstitutioner ikke, så herunder er der beskrevet et effektivt og nemt alternativ.

Materialer:

016610 Petriskåle Ø90 mm, / 016590 Ø60 mm eller andet.

800940 PCA agar / 800738 Kødpepton agar i flasker

049610 Metal spatel

005210 Spritbrænder.

086074 Engangshandsker

052005 Balje

059010 Termometer

Et rengjort bord i et tomt lokale hvor vinduerne er lukkede

Hvis man i stedet for agar i flasker ønsker at bruge agarpulver skal man selv blande pulveret op med dem. vand som der står i opskriften og komme på flasker der kan autoklaveres. Hertil kan anvendes:

800918 PCA agarpulver eller 800718

Kødpepton agarpulver

054830 Standflaske 500 mL – autoklaverbar.

Forberedelse. Tag en handske på og stil de lukkede petriskåle, der skal støbes agar i, op så tæt på bordets kant så muligt. Petriskålene skal stå med låget op i en række langs bordkanten. Det gør det nemt at tage låget af og på, og nemt at hælde agaren i. Bagved hver 5-6 petriskål sætter man en spritbrænder (har man ikke spritbrændere, kan fyrfadslys anvendes).



Smelt agaren: Der er generelt to måde agaren kan smeltes på; i vandbad eller i mikrobølgeovn.

- Vandbad.** Start ud med at løsne låget på agarflasken en hel omgang – dette gøres så luften inde i flasken kan slippe ud når den udvides under opvarmningen. Sæt flaskerne i en gryde eller et vandbad med vand, og varm vandet op. Vandet skal gå til lige under halsens ansats eller der hvor flaskens massefylde stadig er højere end vandets massefylde, så flaskerne ikke vælter. Vandet varmes op til mellem 65 – 85 °C. Flaskerne tages op en gang imellem og væsken svivles rundt. Luk ikke låget op og ryst ikke flasken. Man bliver ved med at opvarme till agaren er helt smeltet og klar til at hælde i petriskåle. Agaren er **helt** smeltet når væsken er fuldstændig klar, og der ikke ved bevægelse af flasken ses tåge eller klumper i væsken.
- Mikrobølgeovn.** Fjern metallåget og lågringen med en tang. Der må IKKE komme metal i mikrobølgeovnen. Tag den rene og gerne afsprittede metalspatel og stik den ned i agaren. Kør spatlen rundt i agaren så den hakkes i mindre stykker. Dette gøres for at fremme varmfordelingen og forhindre stødkogning. Sæt nu flaskerne i mikrobølgeovnen og tænd for den på højeste effekt. Giv flaskerne ca. 90 sek. Tag dem ud og svivel indholdet rundt. Stil flaskerne tilbage i mikrobølgeovnen og giv dem 60 sek, hvorefter de igen tages ud og væsken svivles rundt. Man bliver ved med dette indtil agaren er helt smeltet og klar til at hælde i petriskåle. Agaren er helt smeltet når væsken er fuldstændig klar og der ikke

ved bevægelse af flasken ses tåge eller klumper i væsken.

Afkøling. Så snart agaren er helt smeltet skal den køle ned til 60 °C. Det skal den fordi en alt for varm agar kan ødelægge petriskålen. Afkølingen foregår lettest i en balje fyldt med kold vandhanevand hvor flaskerne sættes i. Inden man sætter agarflaskerne til afkøling i vandbadet, skal man skrue låget fast eller på igen, alt efter hvilken opvarmningsmetode man har brugt.

Det går forholdsvis hurtigt med at køle agaren til de 60 °C. Tjek temperaturen i flaskerne med et afsprittet termometer. Når temperaturen er 60°C. skal man skynde sig med at komme agaren på petriskålene inden den størkner op igen. Hvis det sker kan man gensemle agaren.

Tænd spritbrænderne.

Støbning. Skru låget af agarflasken og tag den med over til rækken af petriskåle der er gjort klar. Løft låget af den første petriskål i rækken, hold det i den ene hånd, og hæld agar i petriskålen med den anden. På mange petriskåle er der en markering hvortil man fylder skålen med agar.

En flaske agar på 250 ml. giver normalt 10 fyldte petriskåle. Er det udskolingselever der skal arbejde med agaren kan det være en ide at lave den lidt tykkere, da der ellers kan ske en del uheld med podenåle, spatler og lignende hvor der stikkes hul i agaren, fordi elevernes finmotorik ikke er helt i top. En god fingerregel er at hælde agar i petriskålen indtil bunden er dækket og så gå videre til næste skål.

Stødt låget på kanten. Så snart man har hældt agar i petriskålens bund lægger man låget bagved bunden, men så lågets kant lige netop hviler på bundens kant. På den måde er

det hurtigt at lægge låget på når agaren er stivnet og kølet af. Grunden til at man ikke lægger låget helt på petriskål med varm agar, er at det giver en masse kondens i skålen, og det er ikke idealt når der senere skal podes bakterier på agaren.



Man fortsætter nu hen af rækken med petriskåle til man har fyldt de petriskåle man skal bruge (plus et par ekstra). Herefter lader man det hele stå til agaren er stivnet.

Spritbrænderene skal forblive tændt under hele processen. Varmen fra forbrændingen skaber en zone med opstigende varm luft. Den opstigende luft forhindrer nedfald af bakterier på de åbne petriskåle og kan stort set holde agaren kontaminations fri. Det er let og effektivt.

Læg låget næsten på. Når agaren er stivnet lægges låget næsten på petriskålen. Man lade lige låget hvile på den modsatte kant af bunden, så skålen nu er næsten lukket. Den lille åbning tillader fordampning af den sidste kondens og formindsker agar kontaminering.



Opbevaring. Når agaren er kølet ned til stuetemperatur lukkes petriskålene helt.

Skålene stables og kan med god held kommes i den pose de tomme petriskåle var i. Posen lukkes med lidt tape, og der skrives dato på. Rullerne med støbte agar kan enten anvendes



med det samme eller opbevares i køleskabet. Alt opbevaring og senere inkubation i varmeskab eller andet foregår generelt med bunden i vejret – igen for at forhindre kondensvand på agaren. Undtagelser for at opbevare støbt agar med bunden i vejret er antibiotikaresistensforsøg, hvor der er antibiotikatabletter på agaren – tabletterne vil falde af agaren hvis de ikke står med bunden ned.

Støbt agar kan holde en 10-14 dages tid i køleskabet fra produktionsdatoen. Hvis der på det tidspunkt ikke er kontaminering på agaren kan man stadig anvende den.

