



## השפעת חומרים אנטיביוטיים ו"תרופות סבתא" על התרבות חיידקים

### כללי זהירות במעבדה

קרא בעיון רב ונהג לפי הוראות אלה!

1. לפני בואך למעבדה, קרא היטב את הוראות הביצוע. ברר את הטעון בירור לפני המעבדה עם מורך. במעבדה, לפני ביצוע כל סעיף, קרא היטב את הנאמר וודא שאתה/ה יודע/ת בדיוק את אשר יש לעשות. במידה ומתעוררות שאלות אל תהסס/י לפנות לצוות ההדרכה.
2. אל תעשה שום דבר אשר לא התבקשת לעשות במפורש בהוראות או ע"י מורה/מדריך/לבורנט. כל יוזמה תבורך - אך ראשית, היועץ בצוות ההוראה העומד לרשותך בכל שאלה ובעיה ובכל נושא. אין מקום למשחקים והשתוללויות במעבדה, אתה/ה עובד/ת עם מכשור מאוד יקר וחומרים מסוכנים. אי ציות להוראות ו/או התנהגות שאינה הולמת עשויה לגרום לאסון!!!
3. אין לשתות/לאכול במעבדה!
4. במהלך העבודה עליך לעבוד עם כפפות. אין לצאת עם הכפפות מן המעבדה!
5. טיפול בכלים משומשים ובפסולת:
  - א. כל פסולת וכלים לשימוש חד פעמי שבאו במגע עם חומר חיידקי - הכנס לשקית המסומנת ב-"פסולת בקטריוλογית להשמדה".
  - ב. כל כלי מזכוכית או מתכת שבא במגע עם חומר חיידקי - הכנס לכלי המסומן ב-"כלים לסטריליזציה".
  - ג. כל הכלים שלא באו במגע עם חומר חיידקי - השאר על המגש בצורה מסודרת.
  - ד. כל פסולת שלא באה במגע עם חומר חיידקי - הכנס לפח אשפה כללי.
6. הקפד לרחוץ את ידיך במים חמים וסבון בתום המעבדה.
7. במקרה של תקלה כלשהי, כולל אי תקינות של מכשיר, קרא מיד למישהו מצוות ההדרכה.

### מטרת המעבדה

לימוד השפעת חומרים אנטיביוטיים ו"תרופות סבתא" על התרבות חיידקי *E. coli*.

בדקת נוכחות חיידקים על הגוף.

שיטות לעבודה מיקרוביולוגית.

נסחו את ההשערה לניסוי מספר 1:

---

---

---

---



**ניסוי מספר 1: השפעת תרופות ו"תרופות סבתא" על התרבות חיידקי *E.coli* במצע נוזלי ובמצע מוצק:**

על שולחן 3 מבחנות עם מצע מזון לחיידקים: מבחנות A ו B מכילות מצע גידול, מבחנה C מכילה מצע גידול בתוספת 20% דבש.

קריאת רקע (בלנק):

1. כוון את הספקטרופוטומטר לאורך גל 600nm.
2. אפס את הספקטרופוטומטר בעזרת מבחנת האיפוס הנמצאת במעמד המבחנות.
3. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי (A,B,C). רשום את הקריאות בטבלה.

זריעת החיידקים במבחנות:

4. הוסף למבחנות A, B, C 200µl חיידקים ממבחנת החיידקים.
5. ערבב את תכולת המבחנות בוורטקס.

מדידת זמן 0:

6. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי. רשום את הקריאות בטבלה.

גידול החיידקים ומדידת העכירות לאורך 80 דקות:

7. הכנס את המבחנות לאמבט מטלטל בטמפרטורה של 37°C.
8. הפעל את הסטופר ל-20 דקות.
9. עם הישמע צלצול השעון, הוצא את המבחנות מהאמבטים.
10. **ערבב** את המבחנות בוורטקס.
11. **נגב** היטב את המבחנות ממי האמבט.
12. **קרא** את הבליעה במבחנות הניסוי.
13. רשום את הקריאות בטבלה.

חוזרים על המדידה כל  
20 דקות

14. הוסף למבחנה B בלבד 100µl מהאנטיביוטיקה **אמפיצילין**.
15. הכנס את המבחנות שוב לאמבט מטלטל בטמפרטורה של 37°C.
16. הפעל את הסטופר ל-20 דקות.
17. בזמן עד המדידה הבאה בדוק **לנוכחות חיידקים על הידיים**.
18. עם הישמע צלצול השעון, הוצא את המבחנות מהאמבטים.
19. חזור על סעיפים 10-13

20. חזור את המבחנות לאמבט. וודא שהפעלת את הטלטול!



21. הפעל את השעון ל-20 דקות.

22. בזמן עד המדידה הבאה בצע בדיקת השפעת שום על התרבות חיידקים במצע מוצק.

23. חזור על שלבים 10-13 פעם אחת נוספת.

24. רשום את התוצאות בטבלה.

טבלת סיכום: התרבות חיידקי *E. coli* בנוכחות אנטיביוטיקה ודבש:

עכירות (OD)			הזמן (דקות)
מבחנה C	מבחנה B	מבחנה A:	
			קריאת רקע (בלנק)
			0
			20
			40
			60
			80

## ניסוי מספר 2: זריעת מיקרואורגניזמים מהידיים

1. קח צלחת פטרי ובעזרת מרקר חלק אותה לשלוש. הקפד לצייר על התחתית ולא על המכסה. רשום את שמך.
2. רשום בחלק אחד "לפני שטיפה". בחלק שני "אחרי סבון" ובחלק השלישי "אחרי אלכוהול".
3. פתח את הצלחת, גע באצבעך בחלק "לפני שטיפה", וסגור את הצלחת מיד.
4. שטוף ידיך היטב במים וסבון. נער את עודפי המים מהיד אבל **אל תנגב!!!**
5. פתח את הצלחת, גע באצבעך בחלק "אחרי סבון", וסגור את הצלחת מיד.
6. טבול את אצבעך באלכוהול. נער את עודפי האלכוהול מהאצבע אבל **אל תנגב!!!**
7. פתח את הצלחת, גע באצבעך בחלק "אחרי אלכוהול", וסגור את הצלחת מיד.



**ניסוי מספר 3: עיכוב צמיחת חיידקים ע"י שום בשיטת הדיפוזיה**

1. קח צלחת פטרי ובעזרת מרקר חלק אותה לשלוש. הקפד לצייר על התחתית ולא על המכסה. רשום את שמך.
2. טבול מטוש בתרבית חיידקים ומרח בעזרתו באופן אחיד את כל שטחה של צלחת המכילה אגר מזין.
3. הכן את השום: חתוך שן שום לפרוסות דקות, וכתוש שן שום נוספת בעזרת כותש שום.
4. הנח בזהירות פרוסת שן שום במרכז אחד השלישים שסימנת על הצלחת, ומעט כתש שום על שליש שני. על השליש השלישי אל תניח דבר.
5. הדגר ב-37°C למשך לילה ומדוד את קוטר אזורי עיכוב הצמיחה.
6. ניתן לבצע באותו אופן ולבדוק חומרים אחרים מלבד השום. בבדיקת חומרים נוזליים: טובלים דיסקית נייר בחומר ואז מניחים על הפלטה.