

Koivutisleen MIC - määritykset

Tutkitut näytteet

A = ”Alavieska (Eco koivu) käsitelty tisle”

B = ”Tisle 2009 Alavieska sis. tervaa”

Menetelmä

Minimum Inhibitory Concentration – määrittäminen modifioitulla agarlaimennusmenetelmällä (Murray ym. 2003). Tutkittu mikrobikanta *ATCC 43300*, metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Alustojen valmistus

Punnittiin nesteitä 100 ml:n lasipulloihin:

Punnittava määrä (A, tiheys 1,080 g/ml)	Pitoisuus alustassa
0.00 g (0 ml)	0.0 %
0.30 g (0,278 ml)	0.3 %
0.40 g (0,370 ml)	0.4 %
0.50 g (0,463 ml)	0.5 %
0.60 g (0,555 ml)	0.6 %
0.70 g (0,648 ml)	0.7 %
0.80 g (0,741 ml)	0.8 %

Punnittava määrä (B, tiheys 1,123 g/ml)	Pitoisuus alustassa
0.00 g (0 ml)	0.0 %
0.30 g (0,267 ml)	0.3 %
0.40 g (0,356 ml)	0.4 %
0.50 g (0,445 ml)	0.5 %
0.60 g (0,534 ml)	0.6 %
0.70 g (0,623 ml)	0.7 %
0.80 g (0,712 ml)	0.8 %

Lisättiin pulloihin 3.4 g Mueller-Hinton jauhetta ja 1 g tween40. Mitattiin pulloihin 100 ml deionisoitua vettä, ravistettiin voimakkaasti ja autoklavoitiin pullot. Valettiin alustat maljoiksi, annettiin jähmettyä.

2. Mikrobikantojen herätys

-70°C:sta Mueller-Hinton-alustalle. Inkuboitiin malja yli yön 35°C:ssa.

3. Alustojen siirrostaminen ja tulosten lukeminen

Silmukkaan kerättiin biomassaa kohdan 2. kasvatusmaljoista. Suspendoitiin massa putkessa 0.9% NaCl-liuokseen, säädettiin suspension sameus siten että $A_{625\text{nm}} = 0.080 - 0.100$ (=0.5 McFarland - sameus). Siirrettiin suspensiota 2 x 1 µl / malja siirrostussilmukalla, vedettiin suspensiot viivoiksi maljojen pinnalle.

Inkuboitiin maljoja 3 vrk 35°C:ssa. Siirrostettujen viivojen kasvu merkittiin muistiin päivittäin inkuboinnin aikana.

MIC-arvot (= kasvualustan alhaisin pitoisuus tutkittavaa yhdistettä, joka ehkäisi mikrobikasvun alustalla):

	1 vrk	2 vrk	3 vrk
A	0,4 %	0,6 %	0,6 %
B	0,3 %	0,4 %	0,4 %

Tulkinta

Molempien tisleiden MIC – arvot MRSA:lle ovat samaa luokkaa kuin tavanomaiselle S. aureukselle (Peltola 2010).

Viitteet

Peltola, RJ. 2010. Koivutisle mikrobikasvun ehkäisijänä. Julkaisussa Lavola, Julkunen-Tiitto, Saastamoinen (toim.): Luonnontuotealan valtakunnallinen tutkimusseminaari. 5. 10.2010 Joensuu, Itä-Suomen Yliopisto.

Murray PR, Baron EJ, Jørgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. (editors) Dilution testing: agar method. In Manual of Clinical Microbiology, 8th edition. ASM Press 2003:1111–15.