



Eksperiment: Undersøgelse af resistens og resistensudvikling hos bakterier

Baseret på side 180-190

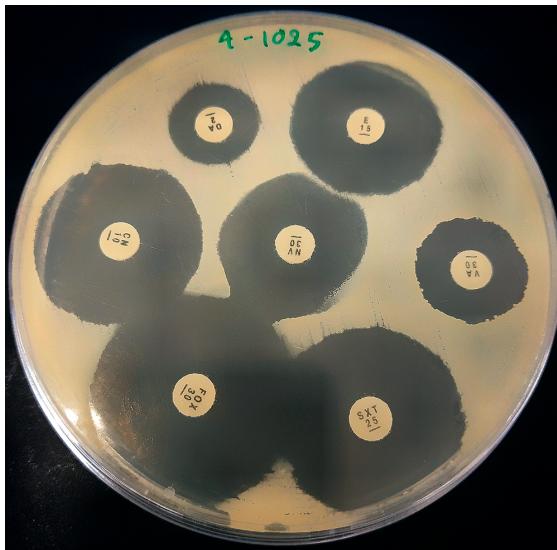
Formål

At undersøge resistens og resistensudvikling hos bakterier.

Teori

Bakterier kan udvikle resistens mod antibiotika. Det har som beskrevet i kapitel 7 Bind 2 alvorlige konsekvenser i forbindelse med behandling af infektioner.

Resistens hos bakterier kan bl.a. undersøges ved en simpel metode der kaldes agardiffusionsmetoden, se figur 1. Her udplades en opslæmning af bakterier på en agarplade. Derefter placeres små tabletter der indeholder antibiotika. Antibiotika fra tabletterne vil ved diffusion sprede sig ud i agaren.



Figur 1. Agardiffusionsmetoden.
Figur 254, Bioteknologi A bind 3.

Hvis bakterierne er følsomme overfor en tablets antibiotikum, vil der dannes en zone uden bakterievækst rundt om tabletten, en såkaldt hæmningszone. Hvis bakterierne derimod er resistente overfor en tablets antibiotikum, vokser de også helt ind til tabletten.

Det er også muligt at undersøge resistensudvikling hos bakterier. Det kan ske ved at pøde en antibiotikafølsom bakterie på agarplader hvor der er tilsat antibiotika til vækstmediet. Fremkommer der kolonier på pladen, har én eller flere af bakterierne fået en mutation som har gjort dem antibiotikaresistente.



Forskellige kulturer af bakterier kan købes via Københavns Universitet, Biologisk Institut, Sektion for Mikrobiologi. Formular kan downloades fra følgende hjemmeside:

<https://www.science.ku.dk/oplev-science/gymnasiet/undervisningsmaterialer/mikroorganismer/>

Til eksperimentets udførelse forudsættes kendskab til sterilteknik og sikkerhed i forbindelse med arbejde med mikroorganismer.

Materialer (til et helt hold)

- Antibiotikatabletter (flere forskellige slags)
- Antibiotika i pulverform (1-2 af samme slags som i tabletterne)
- 3 x 250 mL vækstmedium til bakterier tilsat agar
- 30 sterile petriskåle
- Bakteriekultur på agarplade
- Reagensglas med sterilt vand
- Steril engangspodepind
- Mikropipette (100 µL) med sterile spidser
- Drigalskispatel
- Ethanol
- Bunsenbrænder

Sikkerhed

- Under al arbejde med antibiotika skal man iføre sig kittel og handsker, og afvejning skal ske i stinksab eller med brug af støvmaske. Alle agarplader med antibiotika skal autoklaveres efter brug.
- Ethanol er meget brandfarligt og skal holdes langt væk fra antændelseskilder (bunsenbrænder)

Fremgangsmåde

Eksperiment 1:

1. Fremstil og autoklavér 250 mL vækstmedium til bakterier tilsat 1-2 % agar.
2. Fordel indholdet i ti petriskåle og lad mediet størkne.
3. Opslæm et par bakteriekolonier i 10 mL sterilt vand ved hjælp af en engangspodepind.
4. Overfør sterilt 100 µL af bakterieopslæmningen til hver agarplade.
5. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel.
6. Placer antibiotikatabletter på agarpladerne. Notér hvilke der er placeret hvor.
7. Inkubér pladerne, og mål hæmningszonernes udbredelse efter nogle dage.



Eksperiment 2:

1. Fremstil og autoklavér 2 x 250 mL vækstmedium til bakterier tilsat 1-2 % agar.
2. Tilsæt ca. 10 mg antibiotikapulver til den ene portion når den er håndlunken. Vælg et antibiotikum som bakterierne har vist tydelig følsomhed overfor ved agardiffusionsmetoden.
3. Mærk ti petriskåle med + og ti med –.
4. Fordel de to medier i skålene således at den antibiotikaholdige portion kommer i skålene mærket +. Lad mediet størkne.
5. Opslæm et par bakteriekolonier i 10 mL sterilt vand ved hjælp af en engangspodepind.
6. Overfør sterilt 100 µL til hver agarplade.
7. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel.
8. Inkubér pladerne og notér antallet af kolonier på de enkelte plader efter nogle dage.

Iagttagelser og resultater

1. Notér hvilken bakterieart der er arbejdet med.
2. Udarbejd et skema hvor iagttagelser og resultater noteres.
3. Udarbejd et histogram til eksperiment 1 over hæmningszonens udbredelse ved de forskellige typer antibiotika.

Diskussion

Eksperiment 1:

1. Er bakterierne lige følsomme for alle de testede typer af antibiotika? Hvis nej, hvad kan det så skyldes?
2. Hvilke antibiotika var bakterierne resistente overfor?

Eksperiment 2:

1. Er der vækst på de medier som var tilsat antibiotikum? Hvis ja, hvad er så forklaringen?
2. Hvad er ideen med pladerne mærket med –?

Eksperiment 1 + 2:

1. Hvorfor er det et problem at bakterier udvikler resistens?
2. Hvorfor skal petriskålene autoklaveres inden de smides væk?
3. Hvilke fejlkilder og usikkerheder kan der være ved fremgangsmåden?

Konklusion

Er formålet opfyldt? Hvorfor/hvorfor ikke?