



Eksperiment

Undersøgelse af resistens og resistensudvikling hos bakterier

Formål

At undersøge resistens og resistensudvikling hos bakterier.

Teori

Bakterier kan udvikle resistens mod antibiotika som beskrevet side 100-105 i bogen.

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.

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

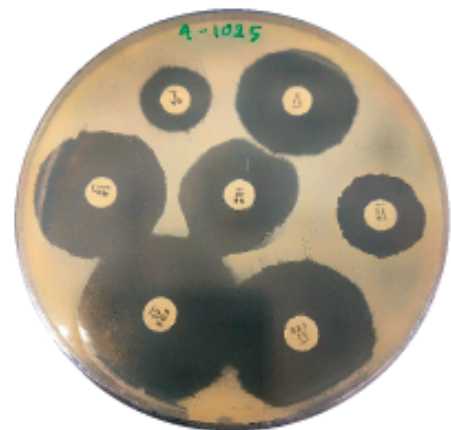
Det er også muligt at undersøge *resistensudvikling* hos

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/oplevel-science/gymnasiet/undervisningsmaterialer/mikroorganismer/>

Til eksperimentets udførelse forudsættes kendskab til sterilteknik og sikkerhed i forbindelse med arbejde med mikroorganismer. Dette er beskrevet i bogens kapitel 2.



Figur 1. Agardiffusionsmetoden.



Materialer (til et helt hold)

Antibiotikatabletter (flere forskellige slags)
Antibiotika i pulverform (1-2 af samme slags som i tableterne)
3 x 250 mL vækstmedium til bakterier tilsat agar
30 sterile petriskåle
Bakteriekultur på agarplade
Reagensglas med sterilt vand
Steril engangspodenål
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 stinkskab 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

Ekperiment 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. Mærk petriskålene på undersiden med navnet på den bakterieart der skal podes med.
4. Opslæm et par bakteriekolonier i 10 mL sterilt vand ved hjælp af en steril engangspodenål.
5. Overfør sterilt 100 µL af bakterieopslemningen til hver agarplade.
6. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel.
7. Placér antibiotikatabletter på agarpladerne. Notér hvilke der er placeret hvor.
8. Inkubér pladerne og mål hæmningszonernes udbredelse efter nogle dage.

Ekperiment 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 steril engangspodenål.
6. Overfør sterilt 100 µL til hver agarplade.
7. Spred prøverne på pladerne med en flamberet drigalskispatel.
8. Inkubér pladerne og notér efter nogle dage antallet af kolonier på de enkelte plader.



EKSPERIMENT

Undersøgelse af resistens og resistensudvikling hos bakterier

Side 3 af 3

Iagttagelser og resultater

1. Notér hvilken bakterieart der er arbejdet med.
2. Lav et skema hvor iagttagelser og resultater noteres.
3. Lav til eksperiment 1 et histogram 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

Lav en konklusion hvor der tages stilling til om formålet med undersøgelserne er opfyldt.