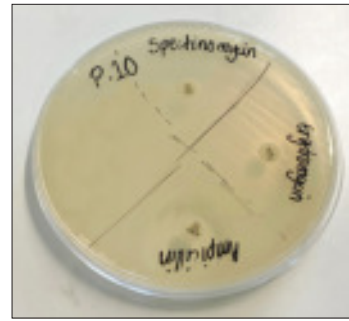


Lärohandledning:

Urinvägsinfektion

– Resistensbestämning



Förbedelse inför laborationsstart

Varje elev eller grupp får ett "urinprov" (bakterieprov) var. Några olika bakterier som kan användas till försöket är *E.coli*, *B. megaterium*, *B. subtilis* och *M. luteus*. Fördela gärna olika bakterier till olika elevgrupper. Diffusionslappar med antibiotika för resistensbestämning kan köpas från t. ex. Heraco (sök på antibiotikalappar).

- Ympa cirka två kolonier/ml steril 0,9% NaCl-lösning, detta ska föreställa ett urinprov. Blanda väl med en mikropipett - använd en steril spets, eller använd en Vortex för att skaka provet ordentligt. Förbered gärna några olika bakterielösningar och beräkna mängden utifrån hur många prover du behöver.
- Fördela 0,5 ml av den uppslammade bakterielösningen till eppendorfrör – detta blir "urinproven" som varje elev/grupp får. Markera patientnummer på de olika eppendorfrören (ej bakterienamn eftersom det ska föreställa ett patientprov).

Under laborationen

Efter försöken Dag 1 ska plattorna inkuberas med locket nedåt för att undvika kondens i bakteriedlingen, i 37 °C över natt, därefter kan de förvaras i kylskåp till nästa laborationstillfälle. Stoppa plattorna i en plastpåse eller använd parafilm så att de inte torkar ut i väntan på nästa laboration (Dag 2).

Efter försöken Dag 2 ska plattorna inkuberas i 37 °C över natt **rättvända** (så att lapparna med antibiotika inte trillar av). Stoppa plattorna i en plastpåse eller använd parafilm så att de inte torkar ut i väntan på nästa laboration (Dag 3).

Analys av resultat - dag 3

Tabell för SIR-värden finns på sista sidan i elevinstruktionen, dessa värden tas fram från den europeiska organisationen EUCAST och uppdateras varje år. Av de bakterier som föreslås att användas i skolan och till denna laboration finns endast värden för *E.coli* eftersom det är den enda bakterien som kan vara en humanpatogen (vilket inte *B. megaterium*, *B. subtilis* och *M. luteus* är). Brytpunkterna för *E.coli* kan användas som ett jämförelsevärde, men ta gärna upp det faktum att SIR-värden ser olika ut för olika bakterier.

Vid analysen kan eleverna få veta vilken bakterieart de odlat och resistensbestämt för att kunna jämföra hämningszoner på sina plattor med varandra.

EUCASTs värden ges på antibiotika som används kliniskt, därför finns inte värden på alla sorters antibiotika angivna. Olika antibiotika ges beroende på vilken bakterie som orsakat en infektion därför är det SIR-värden på olika antibiotika beroende på bakterie.

I elevinstruktionen ges några förslag på antibiotika. Spectinomycin, Erytromycin eller Nalidixinsyra är några antibiotika som inte finns med som förslag, då de inte används kliniskt mot just *E.coli*. I de fall värden på ett visst antibiotikum saknas får eleverna jämföra hämningszoner med varandra och försöka dra slutsatser utifrån det som är synligt.

Läs mer på:

EUCAST: <https://www.eucast.org>. (Tabeller för bakterier och antibiotika finns under "Clinical breakpoints".)

RAF (referensgruppen för antibiotika): <https://www.sls.se/raf/>

Frågor som kan diskuteras efter laborationen och korta svarsförslag

1. Föreställ er en situation då en patient kommer in med symptom för en bakterieinfektion:

- I vilka fall fungerar denna metod som ni har genomfört bra? I vilka situationer kan det bli problem?

När patienten inte har en svår infektion och läget inte är akut fungerar metoden bra. Då har man tid att odla och resistensbestämma med denna metod. Den ger ett tydligt resultat om antibiotikan fungerar eller ej. Vid akuta fall blir det problem eftersom man inte har tid att vänta så länge på att få svar.

2. Antibiotika kan delas in i två större grupper; bred- och smalspektrum.

- Om ett test likt detta görs hos läkaren hur påverkar det val av antibiotika?

- Vilka konsekvenser får det på antibiotikaanvändningen om denna metod är den enda som är möjlig?

Vid akuta fall tvingas läkare ge patienten bredspektrumantibiotika eftersom man inte har tid att vänta tills resistensbestämningen är färdig. När man vet vilken bakterie som orsakat infektionen och eventuell resistens sätts en mer specifik antibiotika in (smalspektrum). Fakta om bred- och smalspektra och dess konsekvenser finns att läsa om i tidningen [Resistens - antibiotikans öde i våra händer \(s. 6-7\)](#).

- Förslag på åtgärder?

Att utveckla snabbare tester för resistensbestämning. Detta är ett område som många forskare arbetar med. T. ex. kan man använda snabbare metoder som undersöker vilka resistensgener som finns hos den patogena bakterien.

Tips!

Denna laboration och andra laborationer inom mikrobiologi hittar du på Bioresurs hemsida: <https://bioresurs.uu.se>, Resurser och Mikrobiologi. Här hittar du även instruktioner om mikrobiologiska arbetsmetoder.

Bioresurs har tagit fram säkerhetsanvisningar för arbete med mikroorganismer i skolan: <https://bioresurs.uu.se/resurser/sakerhet-och-risker/sakerhet-mikroorganismer/>

Agarplattor innehållande bakterier och antibiotika ska kastas väl förslutna i riskavfall. Alternativt kan plattorna autoklaveras för att på så sätt oskadliggöras och sedan kastas i brännbart avfall.