



# 18<sup>η</sup> Ευρωπαϊκή Ολυμπιάδα Επιστημών EUSO 2020

## ΤΟΠΙΚΟΣ ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΟΣ

ΕΚΦΕ

ΑΜΠΕΛΟΚΗΠΩΝ – ΗΛΙΟΥΠΟΛΗΣ – ΝΕΑΣ ΦΙΛΑΔΕΛΦΙΑΣ - ΟΜΟΝΟΙΑΣ

## ΠΡΑΚΤΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

14 Δεκεμβρίου 2019

ΣΧΟΛΕΙΟ : .....

1. ....
2. ....
3. ....

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: .....



Επιστημονική επιτροπή:

Γιώτη Αικατερίνη, Βιολόγος, 2<sup>ο</sup> Πειραματικό ΓΕΛ Αθηνών  
Κουτσοκώστα Παυλίνα, Βιολόγος, 8<sup>ο</sup> ΓΕΛ Αμαρουσίου  
Μπέρτσος Αντώνης, Βιολόγος, 4<sup>ο</sup> Γυμνάσιο Ζωγράφου

## Λοιμώξεις και αντιβιοτικά

### Θεωρητικό μέρος

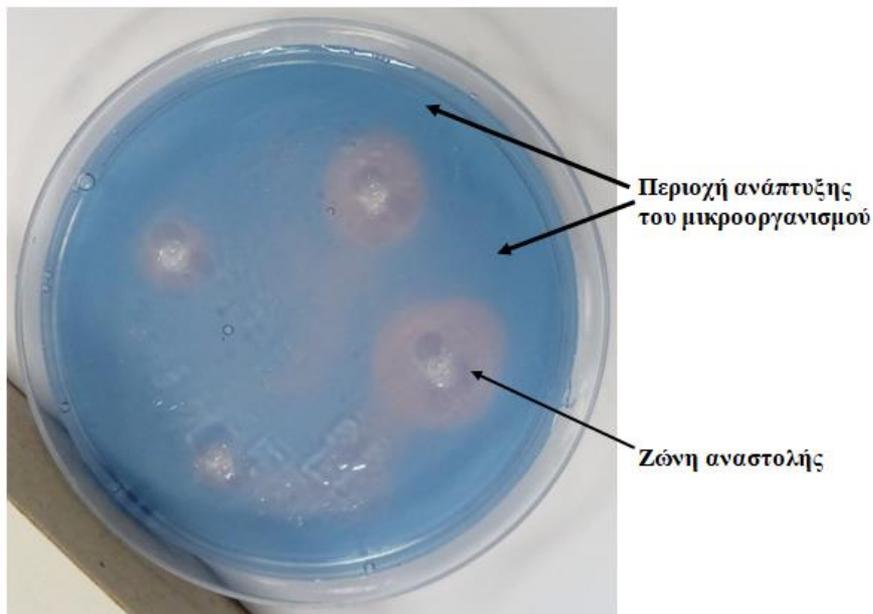
Τις περισσότερες φορές, το ανοσοποιητικό σύστημα εξουδετερώνει τους παθογόνους μικροοργανισμούς που εισέρχονται στο σώμα μας. Παρ' όλα αυτά, σε μερικές περιπτώσεις χρειάζεται βοήθεια. Τα **αντιβιοτικά** είναι ειδικά φάρμακα, που χρησιμοποιούνται για να εξουδετερώνουν τα **παθογόνα βακτήρια**. Διακρίνονται σε **βακτηριοστατικά** (αναστέλλουν την ανάπτυξη των βακτηρίων) και **βακτηριοκτόνα** (θανατώνουν τα βακτήρια). Παραδείγματα αντιβιοτικών είναι η πενικιλίνη, η ερυθρομυκίνη και η τετρακυκλίνη.

Τα αντιβιοτικά δρουν προκαλώντας διάφορες διαταραχές στο βακτηριακό κύτταρο, αλλά **δεν έχουν καμία επίδραση στους ιούς**, επειδή οι ιοί είναι ακυτταρικές μορφές ζωής, που χρησιμοποιούν το ανθρώπινο κύτταρο ως ξενιστή προκειμένου να πολλαπλασιαστούν. Τα αντιβιοτικά όμως δεν βλάπτουν τα ανθρώπινα κύτταρα και επομένως ούτε τους ιούς. Έτσι, δεν αντιμετωπίζουν ιογενείς ασθένειες όπως το κρουσέλλο και τη γρίπη.

### Δραστηριότητα 1<sup>η</sup>

#### ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΒΙΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Το **αντιβιογράμμα** ή **τεστ ευαισθησίας** χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας των μικροοργανισμών στα **αντιβιοτικά**. Η μέτρηση της ευαισθησίας ενός μικροβιακού στελέχους σε κάποιο αντιβιοτικό βασίζεται στην MIC (Ελάχιστη Ανασταλτική Συγκέντρωση: ελάχιστη συγκέντρωση του αντιβιοτικού που αναστέλλει τη μικροβιακή ανάπτυξη σε εργαστηριακή δοκιμή). Όσο μεγαλύτερη είναι η ζώνη αναστολής (ο αποχρωματισμένος δακτύλιος στην άσκησή σας), τόσο πιο ευαίσθητος είναι ο μικροοργανισμός στο αντιβιοτικό (Εικόνα 1). Ο γιατρός παρατηρεί ποιο αντιβιοτικό είναι περισσότερο αποτελεσματικό και το χορηγεί στον ασθενή.



Εικόνα 1. Τεστ ευαισθησίας των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά.

**Σημαντική σημείωση:** το μπλε χρώμα στο τριβλίο αντιστοιχεί στην περιοχή ανάπτυξης του μικροοργανισμού.

Τα βακτήρια ανάλογα με την ευαισθησία τους σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις αντιβιοτικών χαρακτηρίζονται ως:

**Ευαίσθητα:** Η μόλυνση που οφείλεται στο συγκεκριμένο μικροβιακό στέλεχος μπορεί να θεραπευτεί με την κατάλληλη δοσολογία του αντιβιοτικού, για αυτόν τον τύπο της λοίμωξης.

**Μετρίως Ευαίσθητα:** Στην κατηγορία αυτή υπάγονται μικροβιακά στελέχη που δεν είναι ξεκάθαρα ευαίσθητα.

**Ανθεκτικά:** Τα μικροβιακά στελέχη δεν αναστέλλονται από τις συνηθισμένες συγκεντρώσεις του αντιβιοτικού, με τη συνηθισμένη δοσολογία ή / και είναι πιθανό να υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί μικροβιακής αντίστασης.

### **Σκοπός**

Χρήση μοντέλου για τη μελέτη της επίδρασης των αντιβιοτικών σε καλλιέργειες μικροοργανισμών, που προέρχονται από δείγματα ασθενών με βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις, προκειμένου να χορηγηθεί ή όχι το κατάλληλο αντιβιοτικό.

### **Όργανα και αντιδραστήρια**

- 3 τριβλία Petri με «καλλιέργειες μικροοργανισμών» από τρεις διαφορετικούς ασθενείς (με προσθήκη του δείκτη κυανό του μεθυλενίου)
- 3 βάσεις δοκιμαστικών σωλήνων (μία για κάθε τριβλίο-ασθενή)
- 5 δοκιμαστικούς σωλήνες σε κάθε βάση, με ενδείξεις: 1. Πενικιλίνη 2. Μεθικιλίνη 3. Ερυθρομυκίνη 4. Βανκομυκίνη 5. Αμοξικιλίνη, αντίστοιχα
- 4 πλαστικά φιαλίδια με τις ενδείξεις: Νερό, HCl 10%, HCl 1%, HCl 0,05%
- Ένα σταγονόμετρο
- Απιονισμένο νερό για πλύσεις του σταγονόμετρου
- 2 πλαστικά ποτήρια για ξέπλυμα του σταγονόμετρου
- 1 λευκό χαρτί A4 για κάθε τριβλίο
- 1 καλαμάκι πλαστικό
- 1 στυλό - 1 υαλογραφικός μαρκαδόρος- 1 χάρακας

### **Διεξαγωγή**

Υποθέστε ότι εργάζεστε στο εργαστήριο ενός νοσοκομείου και καταγράφετε την ευαισθησία των μικροοργανισμών που απομονώσατε από δείγματα ασθενών, σε διάφορα αντιβιοτικά. Δυστυχώς όμως κάποια από τα αποτελέσματα που είχατε καταχωρήσει στον Η/Υ χάθηκαν και πρέπει να επαναλάβετε τα τεστ ευαισθησίας.

Επειδή η εργαστηριακή μελέτη αποικιών ισχυρά βλαπτικών μικροοργανισμών είναι επικίνδυνη στα πλαίσια του σχολικού εργαστηρίου, στην παρούσα άσκηση θα δουλέψετε με προσομοίωση του πειράματος που γίνεται στα βιοχημικά εργαστήρια. Για το λόγο αυτό, αντί για τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε άγαρ, χρωματίζετε το άγαρ μπλε, με προσθήκη κυανού του μεθυλενίου. Ως «αντιβιοτικά» θα χρησιμοποιήσετε διαλύματα HCl διαφορετικών συγκεντρώσεων ή νερό.

Θα ακολουθήσετε λοιπόν την παρακάτω διαδικασία:

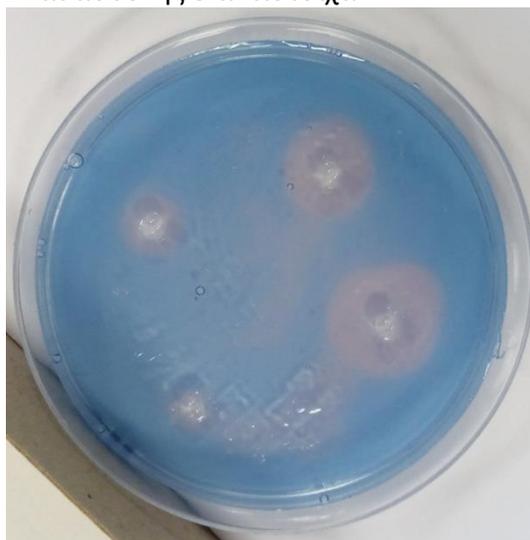
1. Έχετε μπροστά σας τρεις βάσεις δοκιμαστικών σωλήνων, με πέντε σωλήνες στην κάθε μία. Κάθε βάση δοκιμαστικών σωλήνων ανήκει και σε έναν ασθενή. Μεταφέρετε από τα πλαστικά φιαλίδια, στον σωλήνα με την σωστή ετικέτα, από 5 ml περίπου των παρακάτω διαλυμάτων, όπως αναγράφονται στον **Πίνακα 1**:

**Πίνακας 1. Περιεχόμενα δοκιμαστικών σωλήνων/ασθενή.**

	Σωλήνας 1	Σωλήνας 2	Σωλήνας 3	Σωλήνας 4	Σωλήνας 5
	Πενικιλίνη	Μεθικιλίνη	Ερυθρομυκίνη	Βανκομυκίνη	Αμοξικιλίνη
<b>Ασθενής 1</b>	νερό	νερό	νερό	νερό	νερό
<b>Ασθενής 2</b>	10 % HCl	1 % HCl	1 % HCl	0,05 % HCl	1 % HCl
<b>Ασθενής 3</b>	νερό	νερό	1 % HCl	10 % HCl	νερό

(12 μον.)

2. Πάρτε τα τριβλία μπροστά σας και δημιουργείστε με το καλαμάκι 5 τρύπες σε ίσες αποστάσεις στο κάθε τριβλίο, σύμφωνα με την Εικόνα 2. Στο καπάκι του κάθε τριβλίου γράψτε με τον μαρκαδόρο την ένδειξη ασθενής 1, ασθενής 2 και ασθενής 3 αντίστοιχα.



**Εικόνα 2. Οπές στο τριβλίο, σε ίσες αποστάσεις μεταξύ τους.**

Τοποθετείστε το κάθε τριβλίο επάνω σε ένα λευκό χαρτί και σημειώστε με το στυλό τα ονόματα των αντιβιοτικών, όπως σας δείχνει η Εικόνα 2. Βυθίστε το σταγονόμετρο μέσα σε κάθε τρύπα και γεμίστε την με το αντίστοιχο «αντιβιοτικό». Η ποσότητα που απαιτείται είναι 3 σταγόνες περίπου. Φροντίστε να μην υπάρχουν φυσαλίδες και η ποσότητα του «αντιβιοτικού» να είναι η ίδια σε όλες τις τρύπες.

**ΠΡΟΣΟΧΗ: Θα ξεπλένετε πολύ καλά το σταγονόμετρο μετά από κάθε χρήση.**

Κάθε «αντιβιοτικό» αντιστοιχεί και στο αντίστοιχο περιεχόμενο του σωλήνα, όπως ακριβώς σας δείχνει ο Πίνακας 1. Για παράδειγμα, στην οπή που αντιστοιχεί στο τριβλίο του ασθενούς 1 και που αντιστοιχεί στο τριβλίο του ασθενούς 2 και στο «αντιβιοτικό» ερυθρομυκίνη θα τοποθετήσετε HCl με συγκέντρωση 1%.

(05 μον.)

3. Μόλις τελειώνετε με κάθε τριβλίο, κλείστε το καπάκι του και περιμένετε 5 λεπτά. Παρατηρείστε σε κάθε τριβλίο εάν δημιουργήθηκαν αποχρωματισμένες ζώνες (δακτύλιοι) και καταγράψτε τα αποτελέσματά σας στο φύλλο εργασίας που ακολουθεί:

**A.**

Όνομα Ασθενή	Οργανισμός ευαίσθητος στα αντιβιοτικά					Διάγνωση
	Πενικιλίνη	Μεθικιλίνη	Ερυθρομυκίνη	Βανκομυκίνη	Αμοξικιλίνη	
Ασθενής 1						Γρίπη
Ασθενής 2						Στρεπτόκοκκος
Ασθενής 3						MRSA

(✓ ευαίσθητο – ορατή ζώνη, \* όχι ευαίσθητο – μη ορατή ζώνη)

\* MRSA: Σταφυλόκοκκος ανθεκτικός στη μεθικιλίνη

(15 μον.)

**Β.** Σύμφωνα με τις διαγνώσεις που αναγράφονται στην τελευταία στήλη του πίνακα, σε ποιον ασθενή θεωρείτε ότι δεν πρέπει να χορηγηθεί αντιβίωση και γιατί;

.....  
 .....  
 .....

(05 μον.)

**Γ.** Στα «αντιβιογράμματα» που φτιάξατε, συμπληρώσατε τις σπές με διάλυμα HCl σε διαφορετικές κάθε φορά συγκεντρώσεις, προσομοιώνοντας τη δράση των αντιβιοτικών. Σε ένα πραγματικό αντιβιογράμμα όμως, η δόση του κάθε αντιβιοτικού που προστίθεται, παραμένει πάντα σταθερή. Γιατί νομίζετε ότι συμβαίνει αυτό;

.....  
 .....  
 .....

(05 μον.)

**Δ.** Με το χάρακα μετρήστε τη διάμετρο των δακτυλίων που σχηματίστηκαν και συμπληρώστε τους παρακάτω πίνακες:

**Ασθενής 1:**

Γρίπη (Ιός της γρίπης)	Ζώνη Αναστολής (σε mm)
Πενικιλίνη	
Μεθικιλίνη	
Ερυθρομυκίνη	
Βανκομυκίνη	
Αμοξικιλίνη	

**Ασθενής 2:**

Φαρυγγίτιδα (Στρεπτόκοκκος)	Ζώνη Αναστολής (σε mm)
Πενικιλίνη	
Μεθικιλίνη	
Ερυθρομυκίνη	
Βανκομυκίνη	
Αμοξικιλίνη	

**Ασθενής 3:**

MRSA (Σταφυλόκοκκος ανθεκτικός στη μεθικιλίνη)	Ζώνη Αναστολής (σε mm)
Πενικιλίνη	
Μεθικιλίνη	
Ερυθρομυκίνη	
Βανκομυκίνη	
Αμοξικιλίνη	

(12 μον.)

**Ε.** Συμπληρώστε στον ακόλουθο πίνακα ποιο είναι τελικά το προτεινόμενο αντιβιοτικό για τον κάθε ασθενή.

Ασθενής	Προτεινόμενο αντιβιοτικό
1	
2	
3	

(03 μον.)

**Καλέστε τους επιβλέποντες καθηγητές όταν ολοκληρώσετε τη διαδικασία.**

### Ο ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΤΗΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ- ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Ενώ τα αντιβιοτικά μας θέραπευσαν από πολλές ασθένειες, στη σημερινή εποχή πολλά από τα βακτήρια αντιστέκονται, γιατί η παρατεινόμενη χρήση αντιβιοτικών αναπτύσσει στα βακτήρια μηχανισμούς ανθεκτικότητας. Αυτό σημαίνει ότι οι βακτηριακές λοιμώξεις γίνονται και πάλι απειλητικές για τη ζωή μας.

Οι λοιμώξεις, που προκαλούνται από, ανθεκτικά στα αντιβιοτικά, βακτήρια αποτελούν ένα σοβαρό κίνδυνο για την υγεία. Οι ήδη ασθενείς διατρέχουν πολύ μεγαλύτερο κίνδυνο, ιδιαίτερα όταν το ανοσοποιητικό τους σύστημα είναι σε καταστολή και τότε είναι πιο δύσκολο να ελεγχθεί η λοίμωξη με συνηθισμένα αντιβιοτικά.

#### Σκοπός

Αναγνώριση βακτηριακών στελεχών που παρουσιάζουν αντίσταση στα αντιβιοτικά, μέσω διαγραμμάτων

#### Απαιτούμενα υλικά

Φύλλο εργασίας

#### Διεξαγωγή

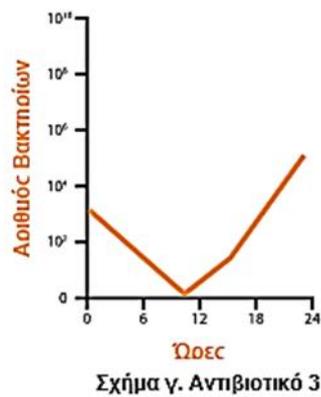
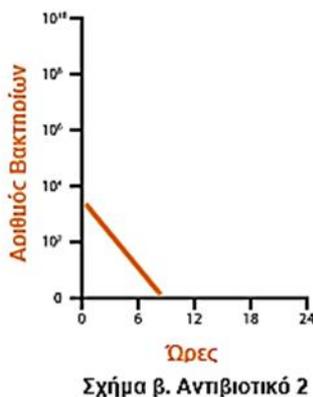
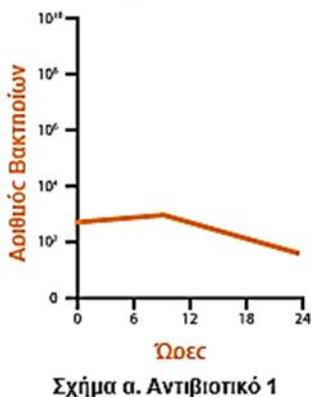
##### Διαβάστε την ιστορία και συμπληρώστε τις απαντήσεις στο φύλλο εργασίας.

Ο Κώστας υποβάλλεται σε χειρουργική επέμβαση αφαίρεσης σκωληκοειδίτιδας. Μετά την εγχείρηση, ο Κώστας έδειχνε να αναρρώνει φυσιολογικά, οπότε πήρε εξιτήριο για το σπίτι του. Παράλληλα ο γιατρός, προληπτικά του έγραψε ένα αντιβιοτικό (για να εμποδίσει την εμφάνιση κάποιας πιθανής μετεγχειρητικής λοίμωξης). Μια βδομάδα αργότερα ο Κώστας άρχισε να μην αισθάνεται καλά, ένιωθε ατονία, είχε ναυτίες και πονούσε γύρω απ' την χειρουργική τομή. Επισκέπτεται την οικογενειακή γιατρό τους, η οποία θεωρεί ότι η πληγή μπορεί να είχε μολυνθεί και συνταγογραφεί στον Κώστα μια δεύτερη θεραπεία αντιβιοτικών. Τρεις μέρες αργότερα ο Κώστας δεν αισθάνεται καμία βελτίωση. Παρουσιάζει υψηλό πυρετό και η χειρουργική τομή του πονάει υπερβολικά. Αυτή τη φορά η γιατρός παραπέμπει τον Κώστα στο νοσοκομείο, για μια πιο λεπτομερή εξέταση. Μετά από εξέταση αίματος, ο Κώστας διαγνώστηκε με σοβαρή βακτηριακή λοίμωξη, αλλά δεν ταυτοποιήθηκε το βακτήριο που την προκαλούσε, παρότι φαινόταν να είναι ο *Staphylococcus aureus*. Ο νοσοκομειακός γιατρός πληροφορήθηκε ότι στον Κώστα είχαν χορηγηθεί κάποια αναποτελεσματικά αντιβιοτικά και φοβήθηκε ότι μπορεί να είχε προσβληθεί από έναν βακτήριο ανθεκτικό στα αντιβιοτικά ή αλλιώς ένα «υπερανθεκτικό βακτήριο». Έτσι αποφάσισε να δοκιμάσει διάφορα αντιβιοτικά στον παθολόγο οργανισμό πριν δώσει οτιδήποτε στον Κώστα. Προχωράει λοιπόν στον εξής έλεγχο:

#### Έλεγχος

Ο γιατρός καλλιέργησε μερικά από τα βακτήρια, που ήταν υπεύθυνα για την λοίμωξη του Κώστα, σε 3 διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες και προσέθεσε ένα διαφορετικό αντιβιοτικό στον κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Καλλιέργησε τα βακτήρια στους δοκιμαστικούς σωλήνες, για 24 ώρες, μετρώντας τον αριθμό των βακτηρίων, κάθε 6 (έξι) ώρες. Τα αποτελέσματα φαίνονται παρακάτω:

## Αποτελέσματα



Παρατηρήστε τα διαγράμματα και απαντήστε στις ερωτήσεις:

1. Περιγράψτε τι συμβαίνει στους πληθυσμούς των βακτηρίων σε καθένα από τα παραπάνω διαγράμματα. Ποιο από τα αντιβιοτικά θα χαρακτηρίζατε ως βακτηριοστατικό και ποιο ως βακτηριοκτόνο;  
Σχήμα α.

.....  
 .....  
 .....

Σχήμα β.

.....  
 .....

Σχήμα γ.

.....  
 .....

(12 μον.)

2. Τα βακτήρια μπορούν να είναι ανθεκτικά σε ένα ή περισσότερα διαφορετικά αντιβιοτικά. Θεωρείτε ότι τα βακτήρια που είναι υπεύθυνα για την ασθένεια του Κώστα είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά; Εξηγήστε την απάντησή σας.

.....  
 .....

(10 μον.)

3. Ποιο αντιβιοτικό πρέπει να δώσει ο γιατρός στον Κώστα, για να περιορίσει τη λοίμωξη και γιατί;

.....  
 .....

(10 μον.)

Καθαρίστε και τακτοποιήστε τον πάγκο εργασίας σας

(05 μον.)

ΝΑ ΕΧΕΤΕ ΕΠΙΤΥΧΙΑ

## Βιβλιογραφία

- Αδαμαντιάδου, Σ. κ.ά. (2015). Βιολογία Β΄, Γ΄ Λυκείου Α΄ τεύχος. Αθήνα : ΟΕΔΒ.- Ιτυε Διόφαντος
- Ευρωπαϊκό Εκπαιδευτικό υλικό <https://www.e-bug.eu/>
- Καστορίνης, Α. κ.ά. (2011). Βιολογία Α΄ Γενικού Λυκείου. Αθήνα: ΟΕΔΒ.
- Μαυρικάκη, Ε. κ.ά. (2013). Βιολογία Β΄-Γ΄ Γυμνασίου. Αθήνα : ΟΕΔΒ.- Ιτυε Διόφαντος