

מיקרוביולוגיה

הוראות לנבחן

א. משך הבחינה: ארבע שעות.

ב. מבנה השאלון ומפתח ההערכה: בשאלון זה שלושה פרקים:

פרק ראשון	20 נקודות
פרק שני	60 נקודות
פרק שלישי	20 נקודות
סה"כ	100 נקודות

ג. חומר עזר מותר לשימוש: כל חומר עזר.

בשאלון זה 14 עמודים.

ההנחיות בשאלון זה מנוסחות בלשון זכר,
אך מכוונות הן לנבחנות והן לנבחנים.

בהצלחה!

המשך מעבר לדף

השאלות

פרק ראשון (20 נקודות)

ענה על עשר מבין השאלות 1–12 בתשובון שבעמוד 19 במחברת הבחינה שלך.
(לכל שאלה – 2 נקודות).

לכל שאלה ארבע תשובות, שרק אחת מהן נכונה. סמן X במשבצת שמתחת לאות המציינת את התשובה שבחרת.

שאלה 1

מה מייחד חיידקים הלופיליים?

- א. היכולת לחיות בסביבה עשירה בחמצן
- ב. היכולת לחיות בסביבה עשירה במלח
- ג. היכולת לחיות בסביבה לחה
- ד. היכולת לחיות בסביבה בסיסית

שאלה 2

במעבדה ביצעו ספירה חיה של חיידקים בתרבית:

מהלו את התרבית ביחס $1:10^7$ (מיהול של 10^{-7})

זרעו 100 מיקרוליטר מהמיהול על כמה צלחות פטרי עם מצע LB .

מספר המושבות הממוצע שהתקבל לצלחת היה 27 .

מהו ריכוז החיידקים בתרבית המקורית?

- א. 1×10^7 חיידקים למ"ל
- ב. 1×10^8 חיידקים למ"ל
- ג. 2.7×10^9 חיידקים למ"ל
- ד. 2.7×10^{10} חיידקים למ"ל

שאלה 3

באיזו שיטה יש להשמיד חיידקים בביצים לפני השיווק שלהן?

א. עיקור באמצעות UV

ב. עיקור יבש בחום

ג. עיקור רטוב בחום

ד. פיסטור

שאלה 4

חוקרת גילתה נגיף חדש. היא בודדה את הגנום של הנגיף הזה וקבעה במדויק את הרכב הבסיסים שלו כמפורט בטבלה שלהלן:

האחוז בגנום הנגיף	הבסיס
25%	A
35%	C
25%	G
15%	T

מה ניתן להסיק מנתוני הטבלה על חומצת הגרעין של הנגיף?

א. חומצת הגרעין היא RNA חד-גדילי

ב. חומצת הגרעין היא DNA חד-גדילי

ג. חומצת הגרעין היא RNA דו-גדילי

ד. חומצת הגרעין היא DNA דו-גדילי

שאלה 5

מי צפוי להיות העמיד **ביותר** בפני טמפרטורות גבוהות?

א. חיידקי סלמונלה

ב. אנדוטוקסינים

ג. חיידקי מיקופלזמה

ד. נבגים

שאלה 6

לאחר פיסטור של חלב ב- 72°C התגלו בו חיידקים. מה ניתן להסיק לגבי חיידקים אלו?

- א. הם פתוגניים
- ב. הם בעלי חלקיק F
- ג. הם אוטוטרופיים
- ד. הם תרמופיליים

שאלה 7

איזו תכונה היא **ייחודית** לתאים פרוקריוטיים?

- א. הם מבצעים נשימה אנאירובית
- ב. הם יצורים חד־תאיים
- ג. אין להם גרעין תא
- ד. יש להם דופן תא

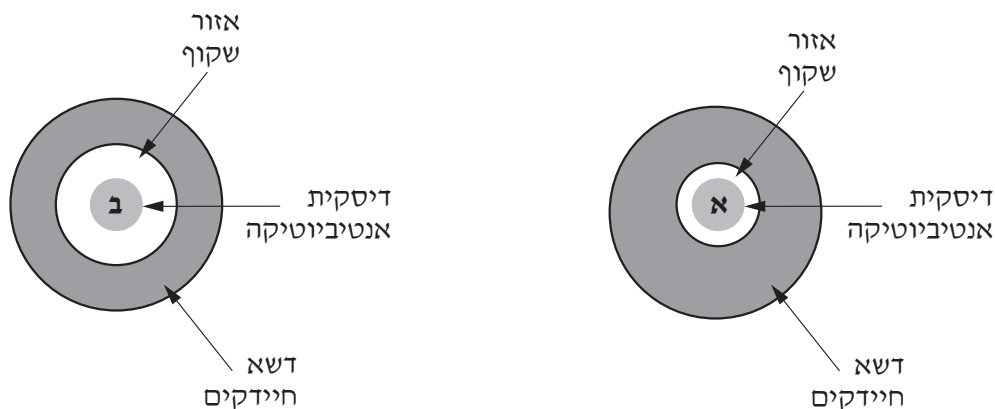
שאלה 8

איזה מהמשפטים הבאים **אינו** מאפיין את הקרום של תא פרוקריוטי?

- א. הוא מקנה לתא קשיחות ויציבות
- ב. אנזימי הנשימה בתא קשורים אליו
- ג. הוא מקיף ותוחם את תוכן התא
- ד. הוא מבקר מעבר חומרים אל התא

שאלה 9

חוקר בדק בשיטת הדיסקיות את השפעתן של שתי אנטיביוטיקות, אנטיביוטיקה 'א' ואנטיביוטיקה 'ב', על החיידק *Staphylococcus*. תוצאות הניסוי מתוארות באיור:



איור לשאלה 9

איזה מהמשפטים הבאים נכון על-פי תוצאות הניסוי?

- א. אנטיביוטיקה 'א' יעילה כנגד החיידק *Staphylococcus* יותר מאשר אנטיביוטיקה 'ב'
- ב. החיידק *Staphylococcus* רגיש לאנטיביוטיקה 'ב' יותר מאשר לאנטיביוטיקה 'א'
- ג. החיידק *Staphylococcus* רגיש במידה שווה לשתי האנטיביוטיקות
- ד. ה-MIC של אנטיביוטיקה 'א' נמוך מה-MIC של אנטיביוטיקה 'ב'

שאלה 10

מהם הרכיבים של הפפטידוגליקן בחיידקים גראם חיוביים?

- א. אצטיל חומצה מוראמית ואצטיל גלוקוזאמין
- ב. פוספוליפידים וחלבונים
- ג. חומצה טיכוואית וכולסטרול
- ד. פפטידים קצרים וליפופוליסכריד

שאלה 11

מהו ההבדל העיקרי בין טרנספורמציה לטרנסדוקציה?

- א. טרנסדוקציה היא מעבר של חומר גנטי המקודד לגורמי אלימות בלבד, ואילו טרנספורמציה היא מעבר של כל חומר גנטי.
- ב. טרנסדוקציה היא מעבר של RNA, ואילו טרנספורמציה היא מעבר של DNA.
- ג. טרנסדוקציה היא החדרה של חומר גנטי לחיידקים על-ידי נגיפים, וטרנספורמציה היא העברה של חומר גנטי בין חיידקים ללא מגע ישיר ביניהם.
- ד. טרנסדוקציה היא מעבר של חומר גנטי בין שני אורגניזמים ללא מגע ביניהם, ואילו בטרנספורמציה יש מגע ישיר בין האורגניזמים לצורך המעבר.

שאלה 12

מה מאפשר ניסוי המתוכנן לפי העקרונות של קוך?

- א. לזהות את כל החיידקים שנמצאים בגוף האדם על-ידי גידולם על צלחות עם מצע מוצק
- ב. לזהות נגיפים גורמי מחלות
- ג. לזהות חיידקים הנמצאים באופן טבעי במערכת העיכול
- ד. לזהות גורמי מחלה שניתן לראותם במיקרוסקופ ולבודדם על צלחות פטרי

פרק שני (60 נקודות)**ענה על שלוש מבין השאלות 13–17 (לכל שאלה – 20 נקודות)****שאלה 13**

לספירת חיידקים יש חשיבות רבה במעקב אחר זיהומים במים ובמזון. מהנדס מזון ביקש ללמוד על הקשר בין מצעי גידול לגידול החיידקים. הוא זרע תרחיף של חיידקי *E. coli* לשני מצעי גידול טריים בעלי נפח שווה: מצע גידול עני ומצע גידול עשיר. הרכב המצעים (A ו-B) מוצג בטבלה 1.

מצע B	מצע A
50 g/L פפטון	Na ₂ HPO ₄ 6 g/L
50 g/L תמצית שמרים	KH ₂ PO ₄ 3 g/L
מי ברז	NaCl 0.5 g/L
אגר	NH ₄ Cl 1 g/L
	10 ml/L תמיסת גלוקוז או סוכר אחר בריכוז 20%
	1 ml/L תמיסת MgSO ₄ בריכוז 1 M
	1 ml/L תמיסת CaCl ₂ בריכוז 0.1 M

טבלה 1

(5 נק') א. איזה מבין המצעים הוא המצע העני, ואיזה הוא המצע העשיר? נמק את קביעתך.

המהנדס לקח דגימה מכל תרבית לאחר **5 שעות**, ובכל דגימה קבע את ריכוז החיידקים בשתי שיטות: בספירה חיה ובספירה מיקרוסקופית (תא ספירה). התוצאות שקיבל מוצגות בטבלה 2.

תרביות שגדלו 5 שעות	ריכוז חיידקים לפי ספירה חיה (מושבבות במ"ל)	ריכוז חיידקים לפי ספירה מיקרוסקופית (מושבבות במ"ל)
תרבית שגדלה על מצע עני	1×10^9	1.5×10^9
תרבית שגדלה על מצע עשיר	2×10^{10}	2.4×10^{10}

טבלה 2

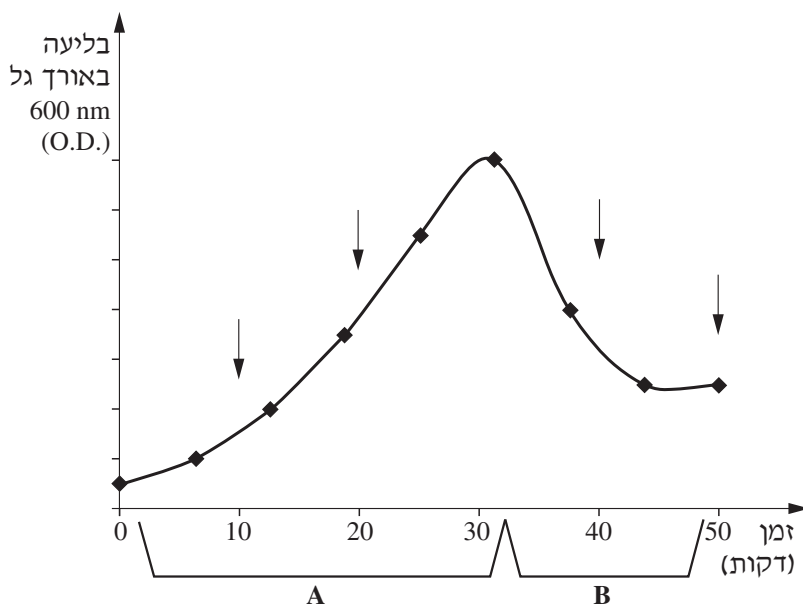
(5 נק') ב. כיצד קובעים ריכוז חיידקים בספירה חיה, וכיצד – בספירה מיקרוסקופית?

(5 נק') ג. ממה נובע ההבדל בין ריכוז החיידקים שגודלו על מצע עני ובין ריכוז אלה שגודלו על מצע עשיר?

(5 נק') ד. ההבדל בין הריכוזים שהתקבלו **בשתי שיטות הספירה**, כפי שמוצג בטבלה, אינו גדול. האם היית מצפה שההבדל בין הריכוזים יהיה שונה אילו הדגימה הייתה נלקחת אחרי **24 שעות**? נמק את תשובתך.

שאלה 14

חוקר הוסיף לתרבית של חיידקי *E. coli* תרחיף של בקטריופאגים ועקב אחר גידול התרבית על-ידי מדידות עכירות (בליעה באורך גל 600 nm). כמו כן, החוקר לקח דגימות מתרבית החיידקים בנקודות זמן שונות מהרגע שהוסיף את תרחיף הבקטריופאגים, וסרכז כל אחת מהדגימות כדי להפריד את החיידקים מהפאגים החופשיים שבנוזל העליון. למשקע החיידקים הוסיף החוקר ליזוזים כדי לפרק את תאי החיידקים. לנוזל העליון ולמשקע המטופל בליזוזים הוא עשה Plaque assay – לקביעת מספר ה-PFU. באיור שלפניך מוצג עקום הגידול של חיידקי ה-*coli* המודבקים. הבקטריופאגים הוספו בנקודת זמן 0. נקודות הזמן שבהן נלקחו הדגימות מצוינות בחיצים, וערכי ה-PFU מוצגים בטבלה שמתחת לאיור.



איור לשאלה 14

ערכי PFU בזמנים שונים

זמן (דקות)	נוזל עליון (PFU/ml)	משקע של חיידקים שטופלו בליזוזים (PFU/ml)
10	1000	100
20	1000	10^5
40	10^5	10^4
50	10^7	100

- (2 נק') א. במחזור הליטי של הבקטריופאג' ישנם שני שלבים עיקריים: השלב הסמוי (הלטנטי) ושלב העלייה (הליטי). בציר הזמן של הגרף מסומנים שני השלבים באותיות A ו-B. שייך כל אחד משמות השלבים לאותיות A ו-B שבגרף.
- (6 נק') ב. הסבר מה מתרחש בכל אחד מהשלבים A ו-B. הסבר ממה נובעת הירידה בעכירות הנראית בעקום.
- (8 נק') ג. התייחס לנתונים שבטבלה, והסבר:
1. מדוע קיים הבדל בין התוצאות שהתקבלו מבדיקת משקע החיידקים שטופלו בליזוזים אחרי 10 דקות ובין אלה שהתקבלו אחרי 20 דקות?
 2. מדוע לא קיים הבדל בין התוצאות שהתקבלו מבדיקת הנוזל העליון אחרי 10 דקות ובין אלה שהתקבלו אחרי 20 דקות?
- (4 נק') ד. שיטת ריפוי באמצעות בקטריופאג'ים (Phage therapy) הוצעה כשיטה חלופית לאנטיביוטיקה. הצע יתרון אחד של שיטה זו על-פני אנטיביוטיקה.

שאלה 15

- שתי תרביות חיידקים נלקחו משני חולים. האחת נלקחה מגרון של חולה שהתלונן על חום וכאבי גרון, ואחת נלקחה מצואה של חולה שהתלונן על שלשולים וכאבי בטן. הלבורנטית התבלבלה בין שתי התרביות.
- (6 נק') א. בהנחה שהגורם לכאבי הגרון הוא החיידק *Streptococcus pyogenes* ואילו הגורם לשלשולים הוא החיידק *E. coli* פתוגני: ציין שתי דרכים שבהן תוכל הלבורנטית להבחין בין שני סוגי החיידקים על-ידי התבוננות במיקרוסקופ. הסבר על מה מתבססת ההבחנה בכל אחת מהדרכים שצינת.
- לאחר שהלבורנטית קבעה מה המקור של כל תרבית, היא ביקשה בשלב ראשון להבחין בין חיידקי מעיים לבין חיידקים שאינם חיידקי מעיים ולכן גידלה את תרבית הצואה על מצע מקונקי.
- (4 נק') ב. מצע מקונקי משמש מצע סלקטיבי לחיידקי מעיים. איזה מרכיב במצע משמש כגורם הסלקטיבי? הסבר את תשובתך.
- הלבורנטית ביקשה להבחין בתרבית הצואתית בין חיידקי *E. coli* לחיידקי מעיים אחרים שאולי אחראים לשלשולים של החולה.
- (5 נק') ג. הסבר כיצד תבחין הלבורנטית בין חיידקי *E. coli* לבין חיידקי מעיים אחרים במצע מקונקי. הסבר את העיקרון של הבדיקה.
- (5 נק') ד. הלבורנטית זרעה את התרבית שנלקחה מהגרון על אגר דם. אם אכן גורם המחלה הוא *Streptococcus pyogenes* – מה היית מצפה שהיא תראה בדגימה אחרי הדגרתה? הסבר את תשובתך.

שאלה 16

במעבדת מחקר מנסים לגלות תרופות חדשות כנגד חיידקים גראם שליליים.

ידוע כי אריתרומיצין היא אנטיביוטיקה הפוגעת בסינתזה של חלבונים בתא החיידק, ופוגעת בעיקר בחיידקים גראם חיוביים. היא לא משפיעה על חיידקים גראם שליליים וזאת בעיקר בשל חוסר יכולתה לחדור את הממברנה.

חוקר גילה פפטיד אנטי-מיקרוביאלי חדש, ובדק במבחן MIC את השפעתו על חיידקים גראם שליליים כשהוא משולב עם אריתרומיצין. התוצאות שהתקבלו לאחר 24 שעות מוצגות בטבלה שלהלן.

MIC אריתרומיצין + פפטיד (מיקרוגרם למ"ל)	MIC פפטיד (מיקרוגרם למ"ל)	MIC אריתרומיצין (מיקרוגרם למ"ל)	
8	50	512	<i>E. coli</i>

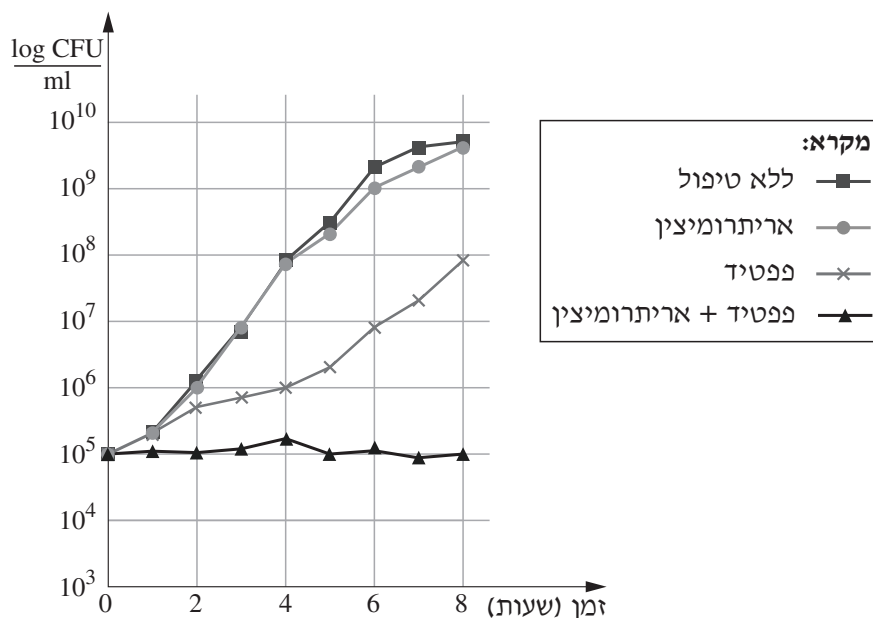
(4 נק') א. הסבר מהו מבחן MIC.

(6 נק') ב. הסבר מה ניתן להסיק מהתוצאות שבטבלה.

החוקר ערך ניסוי כדי לבדוק את הקינטיקה של הרג החיידקים בהשפעת האנטיביוטיקה בשילוב הפפטיד. הוא גידל ארבע תרבויות של חיידקי *E. coli*:

- תרבית חיידקים ללא טיפול.
- תרבית חיידקים שטופלה באריתרומיצין.
- תרבית חיידקים שטופלה בפפטיד.
- תרבית חיידקים שטופלה באריתרומיצין + פפטיד.

התרבויות גודלו ב-37°C בטלטול. בכל שעה נלקחה דגימה מכל אחת מהתרבויות ונזרעה במיהולים על צלחות אגר. ביום המחרת נספרו המושבות בשיטת הספירה החיה וחושב ה-CFU/ml בכל הדגימות. התוצאות מוצגות באיור א' לשאלה.



איור א' לשאלה 16

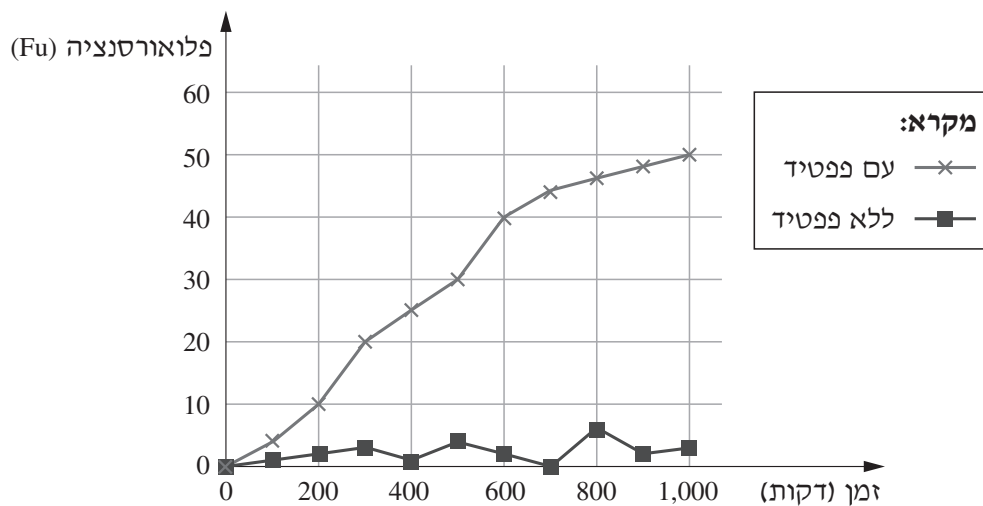
(5 נק') ג. על-פי התוצאות שבאיור, מהי קינטיקת ההרג (מנגנון בקטריוסטטי / בקטריוצידי / בקטריוליטי) של שילוב התרופות אריתרומיצין + פפטיד? נמק את תשובתך.

החוקר חשד שהפפטיד מחורר את הממברנה של החיידקים וכך מאפשר לאנטיביוטיקה לחדור בקלות. כדי לבדוק השערה זו, הוא ערך ניסוי עם אתידיום ברומיד.

אתידיום ברומיד הוא חומר שחודר לתא החיידק דרך הממברנה, נקשר לחומצות גרעין וצובע אותן. ידוע כי רק כאשר האתידיום ברומיד קשור לחומצת הגרעין מתקבל אות פלואורסנטי, אולם **לא** ניתן לזהות אות פלואורסנטי **בתוך** החיידק. רק כאשר פוגעים בממברנה והאתידיום ברומיד שקשור לחומצת הגרעין יוצא מן התא, ניתן לזהות את האות הפלואורסנטי.

החוקר גידל שתי תרביות חיידקים: תרבית אחת עם פפטיד, ותרבית אחת בלי פפטיד. לאחר הגידול הוסיף לשתי התרביות אתידיום ברומיד ומדד בשתייהן את רמת הפלואורסנציה לאורך זמן.

תוצאות הניסוי מוצגות באיור ב' לשאלה.



איור ב' לשאלה 16

(5 נק') ד. על סמך התוצאות שהתקבלו, האם השערת החוקר לגבי פעולת הפפטיד נכונה? נמק את תשובתך.

שאלה 17

לחוקר היו שתי תרביות של חיידקי *E. coli* : באחת מהן החיידק היה מוטנט אוקסוטרופי להיסטידין (His^-) ועמיד לאמפיצילין (Amp^+) ובתרבית האחרת החיידק היה מוטנט אוקסוטרופי לטריפטופן (Trp^-) ורגיש לאמפיצילין (Amp^-).

(4 נק') **א.** 1. רשום את הגנוטיפ של כל אחד מזני החיידקים.

2. החוקר זרע כל אחת מהתרביות בנפרד על צלחת פטרי המכילה מצע **עני**. מה צפוי החוקר לראות לאחר הדגרת התרביות?

(6 נק') **ב.** החוקר ערבב את שתי תרביות החיידקים, וזרע את התרבית המעורבת על מצע עני. כעת התקבלו מושבות רבות על הצלחת. החוקר שיער כי התרחשה העברת גנים אופקית בין שני זני החיידקים באמצעות קוניוגציה.

1. הסבר בקצרה מהי קוניוגציה.

2. הסבר כיצד קוניוגציה יכולה להסביר את התוצאות שהתקבלו.

(4 נק') **ג.** החוקר רצה לבדוק איזה מהזנים הוא הזן התורם ואיזה הוא הזן המקבל. הצע דרך **אחת** לבדוק זאת.

(6 נק') **ד.** לאחר הקוניוגציה החוקר זרע את תערובת הזנים על מצעים בדרגים שונים וקבע את הגנוטיפ שלהם. הוא ספר את המושבות שקיבל עבור כל אחד מהגנוטיפים. התוצאות מוצגות בטבלה שלהלן:

מספר המושבות	גנוטיפ המושבות
70	$\text{His}^+ \text{Trp}^- \text{Amp}^-$
70	$\text{His}^- \text{Trp}^+ \text{Amp}^+$
30	$\text{His}^+ \text{Trp}^+ \text{Amp}^-$
6	$\text{His}^+ \text{Trp}^+ \text{Amp}^+$

על סמך התוצאות בטבלה, קבע:

1. מה הגנוטיפ של הזן התורם (F^+).

2. איזה גן עבר ראשון, ואיזה גן עבר שני.

פרק שלישי (20 נקודות)

ענה על שתיים מבין השאלות 18-20 (לכל שאלה – 10 נקודות)

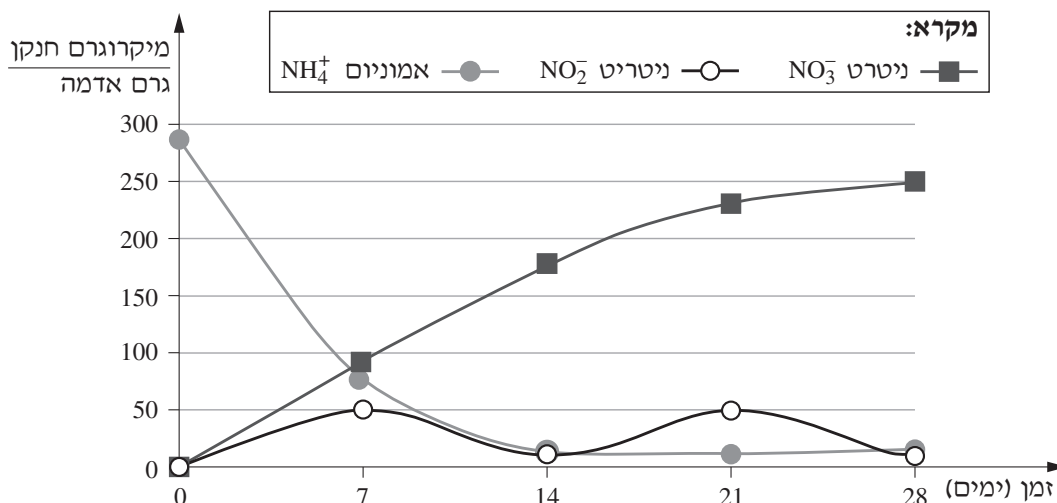
שאלה 18

חוקר מעוניין לבדוק האם הקרקע באזור מסוים מתאימה לגידול קטניות. ידוע כי קטניות גדלות היטב בקרקע המכילה חיידקי ריזוביום, החיים בסימביוזה עם שורשי הקטניות. כדי לבדוק אם הקרקע מכילה את החיידקים הללו, החוקר לקח דגימה מן הקרקע והכניס אותה למצע מניטול (מצע ללא מקור חנקן).

(6 נק') א. 1. הסבר כיצד מתקיימת סימביוזה בין חיידק הריזוביום לצמח. בתשובתך ציין מה תורם החיידק לצמח ומה תורם הצמח לחיידק.

2. מדוע השתמש החוקר במצע המניטול כדי לדעת אם חיידקי הריזוביום קיימים בקרקע שדגם?

החוקר היה מעוניין לבדוק אילו סוגי חיידקים נוספים הקשורים גם הם במחזור החנקן קיימים בקרקע הנבדקת. לשם כך נטל דגימה נוספת מהקרקע והדגיר אותה במצע גידול ללא חנקן. הוא עקב במשך 28 ימים אחרי רמות האמוניום (NH_4^+), הניטריט (NO_2^-) והניטרט (NO_3^-). התוצאות מוצגות באיור לשאלה.



איור לשאלה 18

(4 נק') ב. ציין אילו תהליכים במחזור החנקן מתבצעות על-ידי החיידקים שהיו בדגימת הקרקע. נמק את תשובתך על-פי התוצאות שבאיור.

שאלה 19

- (6 נק') א. בנשימה אירובית של מיקרואורגניזמים נוצרים מים ו- CO_2 , ובתסיסה כוהלית נוצרים כוהל ו- CO_2 .
1. באיזה משני התהליכים – נשימה אירובית או תסיסה כוהלית – משתחררת יותר אנרגייה?
2. כוהל, שלא כמו מים ו- CO_2 , יכול לבעור, ובבעירה משתחרר חום. האם עובדה זו תומכת בתשובתך לסעיף א? נמק את תשובתך.
ב. (4 נק') הסבר מדוע תסיסה כוהלית של מיקרואורגניזמים נפסקת לאחר זמן-מה, גם כאשר יש עדיין גלוקוז במצע הגידול של המיקרואורגניזמים.

שאלה 20

- חוקרים בדקו השפעה של שלושה חומרים אנטיביוטיים על גידולו של חיידק.
כל אחד משלושת החומרים שבדקו החוקרים פוגע בחיידקים בדרך אחרת:
פגיעה בסינתזה של דופן התא, פגיעה בממברנת התא, ופגיעה בסינתזה של חלבונים בתא.
(5 נק') א. באיזה משלבי הגידול מתקבלת ההשפעה המרבית (המקסימלית) של החומר הפוגע בסינתזה של דופן התא? הסבר מדוע.
ב. (5 נק') מדוע השימוש באנטיביוטיקה הפוגעת בסינתזה של חלבונים נפוץ יותר מהשימוש באנטיביוטיקה הפוגעת בממברנת התא?

בהצלחה!