

מנסים ומבינים: מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה

שכבת גיל

חטיבה עליונה – כיתות י"א, י"ב

תקציר הפעילות

התלמידים יבצעו, בזוגות, ניסוי מעבדה של זריעת חיידקים ובדיקת מידת רגישותם לסוגי אנטיביוטיקה שונים. התלמידים יציגו בפני הכיתה, בצוותים, מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה. בסיום הפעילות יצפו בסרטונים בנושא.

משך הפעילות

הפעילות מתאימה לכמה שיעורים. כל אחד משלבי הפעילות הבאים יכול לעמוד בפני עצמו (ביצוע הניסוי, ניתוח תוצאות כיתתי ועבודה קבוצתית).

מטרות הפעילות

- להכיר שיטות גידול חיידקים.
- להכיר מנגנוני פעולה של חומרים אנטיביוטיים.
- להכיר מנגנוני עמידות של חיידקים לאנטיביוטיקה.

מושגים מתוכנית הלימודים

עמידות, אנטיביוטיקה, מחלה זיהומית, זני חיידקים, ברירה טבעית, "הישרדות הכשירים", אוכלוסייה, תאים, אורגניזם רגיש, מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה, מוטציה, גנים, מנגנון ביוכימי, אנזים, שכפול דנ"א, מוטציה ספונטנית, חלבון ממברנלי, אתר מטרה, משאבת ניקוז, פורין, העברה נגיפית, חומר גנטי, פלסמיד, כרומוזום, טרנספורמציה, בקטריופאג', נגיף, טרנסדוקציה, קוניוגציה

מיומנויות

עיבוד נתונים, ניתוח נתונים והסקת מסקנות, פרזנטציה, שיתוף פעולה, רישום תצפיות

אופי הלמידה

- זוגות
- צוותים

סוג הפעילות

פעילות להקניית נושא

קישור לסרטונים ולכתבות

כל אחד מהקישורים הבאים יתאים לפעילות:

סרטונים

- "עמידות לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2LjcTol>
- "פלסמידים": <https://bit.ly/2IW53jC>
- "המנגנון הקטלני של העמילואידים": <https://bit.ly/2IRg9Y1>
- "מחקר עמידות לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2JDfDca>
- "מה גורם לעמידות לאנטיביוטיקה?" <https://bit.ly/2Lt9sZP>

כתבות

- "מסלול עוקף אנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2lyxSmN>
- "המוציא אנטיביוטיקה מן הארץ": <https://bit.ly/2Chgc73>
- "האם נגיפים יכולים לשמש תחליף לאנטיביוטיקה?" <https://bit.ly/2kes8Ab>
- "מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2ly4QDM>
- "התנאי המוקדם לפיתוח עמידות": <https://bit.ly/2Lhe45f>
- "עמידות לאנטיביוטיקה – תקווה חדשה": <https://bit.ly/2GCj0hl>

הכנות לקראת הפעילות

- יש להזמין חיידקים, מצעי מזון וערכת אנטיביוטיקה מהמרכז לפיתוח ותמיכה במעבדות הביולוגיה בבית הספר שנמצא באוניברסיטת בר אילן*: <https://bit.ly/2Lfc0um> (לדעת ספר בעלי מינוי).
- **ודאו כי אין בכיתה תלמידים רגישים לסולפה.**
- בקישור זה תמצאו את הוראות העבודה עם כל זן חיידק ותוצאות ניסוי השפעת אנטיביוטיקה על זני החיידקים השונים: <https://bit.ly/2Lfc0um>.
- היכנסו ב"חנות לחיידקים", לחצו על תמונת הצלחת בכל זן חיידק וקבלו את ההנחיות המתאימות.



- **מומלץ להזמין לפחות שלושה זני חיידקים. לדוגמה:**
- אשריכיה קולי (E. coli)
- בצילוס סובטיליס (Bacillus subtilis)
- סטפילוקוקוס אלבוס (St. albus)

במדור "ערכות" תמצאו מידע על ערכת דסקיות אנטיביוטיקה מוכנות לשימוש.



המרכז לפיתוח ותמיכה
במעבדות הביולוגיה בבתי הספר

- הכנת הציוד והחומרים הנדרשים לביצוע ניסוי מעבדה "זריעת חיידקים ובדיקת רגישות לאנטיביוטיקה" על ידי הלבורנט או הלבורנטית:
 - צלחות פטרי עם אגר
 - מחטי זריעה חד-פעמיות סטריליות
 - מקלות דרגלסקי
 - מבערי בונזן
 - טושים
 - מלקטות
 - אינקובטור
 - סרגלים
 - פח ביולוגי
 - חיידקים
 - מצעי גידול
 - ערכת דסקיות אנטיביוטיקה
- שכפול פרוטוקול ניסוי לכל תלמיד (ראו "פרוטוקול ניסוי" בהמשך. לחלופין, אפשר להקרין את מהלך הניסוי).
- ארגון מחשבים או שימוש בטלפונים סלולריים.
- למורה וללבורנט מומלץ לצפות בסרטון הווידיאו בקישור הבא: <https://bit.ly/2lyyNng>. בסרטון זה הוראות, הסברים והדגמה של עבודה מיקרוביאלית במעבדת בית הספר.
- יש להכין קובץ אקסל לאיסוף התוצאות של כלל הזוגות. בהמשך קובץ הפעילות תוכלו לראות דוגמה לקובץ כזה.

מה עושים?

שלב א' – ניסוי מעבדה

יש לחלק את התלמידים לזוגות לביצוע ניסוי "זריעת חיידקים ובדיקת מידת רגישותם לסוגי אנטיביוטיקה שונים". הניסוי יתבצע במעבדת בית הספר בהתאם להנחיות עבודה מיקרוביאלית סטרילית ובדגש על בטיחות. שימו לב: **זהירות!** שימוש באש!

להלן פרוטוקול הניסוי:

ניסוי: השפעת אנטיביוטיקה על חיידקים – עיכוב התרבות במצע מזון מוצק.

מטרת הניסוי: לבדוק את השפעתם של חומרים אנטיביוטיים שונים על חיידקים מזנים שונים.

- 1) סמנו בתחתית צלחת פטרי סטרילית את שם זן החיידק, ומספרים 1–4 במקום הנחת הדסקיות. דאגו למרחקים שווים משפת הצלחת ובין הדסקיות.
- 2) בעזרת מחט זריעה סטרילית מרחו שכבה אחידה וצפופה של חיידק מזן אחד על גבי המצע. אפשר לפזר את החיידקים על פני מצע הגידול בעזרת מקל דרגלסקי סטרילי. הקפידו על חשיפה מינימלית לאוויר ושמירה על ניקיון התרבות. המתינו מספר דקות עד לייבוש הצלחת.
- 3) הניחו דסקיות המכילות חומרים אנטיביוטיים שונים מעל למספרים שסימנתם קודם לכן. להעברת הדסקיות השתמשו במלקטת. במעבר בין הצלחות העבירו את המלקטת באש. דאגו לכך שהדסקיות תהיינה דבוקות היטב על פני האגר.
- אפשר לראות את התוצאות לאחר 24 שעות בטמפרטורה של 37°C.
- מידת השפעת האנטיביוטיקה תימדד על פי קוטר ההילה (במ"מ) סביב כל דסקית. "הילה" רחבה יותר מעידה על מידת השפעה גדולה יותר של האנטיביוטיקה.
- 4) השלימו את הטבלה (רשמו את קוטר ההילה שמדדתם לאחר 24 שעות בעבור כל זן חיידק):

סוג האנטיביוטיקה				זן החידק
סולפה	פניצילין	אמוקסיצילין (מוקסיפן)	טרציקלין	
				אשריכיה קולי (E. coli)
				בצילוס סובטיליס (Bacillus subtilis)
				סטפילוקוקוס אלבוס (St. albus)

שימו לב: על כל זוג תלמידים למלא את הטבלה רק בעבור זן חיידק אחד.

5) דאגו למלא את קובץ האקסל הכיתתי בתוצאותיכם בהנחיית המורה.

אספו את התוצאות בקובץ אקסל כיתתי. אפשר ליצור קובץ אקסל לפי הדוגמה למטה.

חשבו ביחד עם התלמידים את הממוצעים והציגו אותם בגרף שמראה את מידת השפעת סוגי האנטיביוטיקה השונים על עיכוב התרבות חיידקים מזנים שונים.

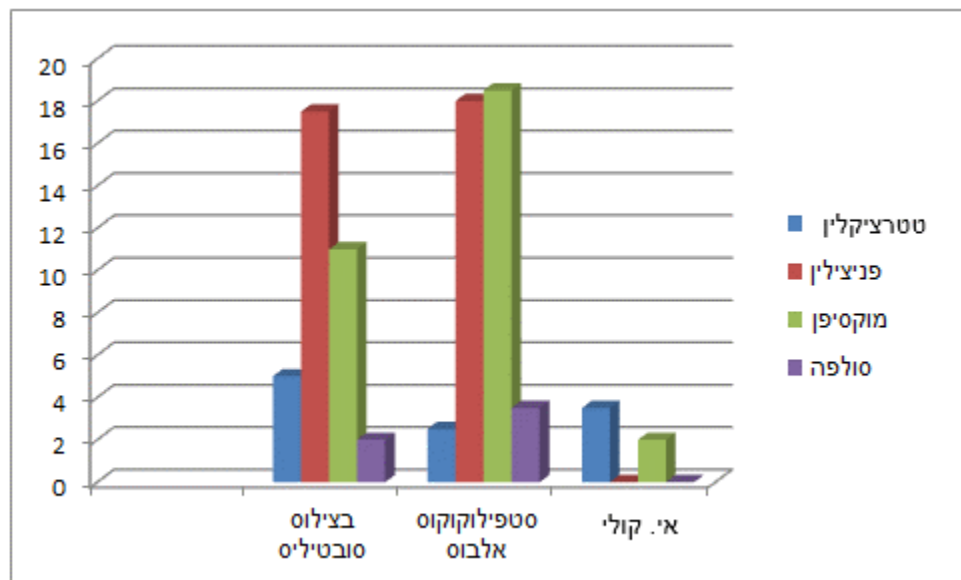
טבלת תוצאות כיתתית לדוגמה: השפעות סוגי אנטיביוטיקה שונים על התרבות חיידקים מזנים שונים ייאספו בקובץ שיתופי. התלמידים יענו על מספר שאלות לאחר צפייה בתוצאות הניסויים והאזנה להסברים.

טבלת תוצאות כיתתית לדוגמה: השפעת סוגי אנטיביוטיקה שונים על התרבות חיידקים מזנים שונים.

קוטר העיכוב על ידי האנטיביוטיקה (מ"מ)							
ממוצע	אי. קולי	ממוצע	סטפילוקוקוס אלבוס	ממוצע	בצילוס סובטיליס	זן החידק	
	3.5		2.5		5	טרציקלין	סוג האנטיביוטיקה
	0		18		17.5	פניצילין	
	2		18.5		11	מוקסיפן	
	0		3.5		2	סולפה	

יש לדאוג לרישום תוצאות החזרות השונות בטבלה בגיליון אקסל, לחישוב ממוצע ולהצגת התוצאות בגרף.
גרף לדוגמה:

השפעת סוגי אנטיביוטיקה שונים על התרבות חיידקים מזנים שונים



בסיום עיבוד התוצאות, כל תלמיד יענה על השאלות הבאות:
לאחר סיום עיבוד התוצאות הכיתתיות, ענו על השאלות הבאות:

1. דרגו את החיידקים לפי מידת רגישותם לסוגי האנטיביוטיקה השונים.

לפי זן החיידק:

בצילוס סובטילוס – רגישות גבוהה לפניצילין.

סטפילוקוקוס אלבוס – רגישות גבוהה לפניצילין.

א. קולי – רגישות לטטרציקלין.

לפי סוג האנטיביוטיקה:

החיידק הרגיש ביותר לטטרציקלין: בצילוס סובטילוס.

לפניצילין: סטפילוקוקוס אלבוס ובצילוס סובטילוס

למוקסיפן: סטפילוקוקוס אלבוס

לסולפה: סטפילוקוקוס אלבוס

2. מהו מנגנון הפעולה של כל אחד מסוגי האנטיביוטיקה שבהם השתמשתם בניסוי?

טטרציקלין – תרופה שמונעת ייצור חלבונים על ידי מניעת היקשרות חומצת אמינו טעונה ל-tRNA באתר ה-A על הריבזום. התרופה נקשרת ליחידת ה-S30 בריבזום של החיידק, ולכן היא מונעת היקשרות חומצות אמינו נוספות לשרשרת הפפטידית המתהווה. בכך מעכבת סינתזת חלבונים.

פניצילין – אנטיביוטיקה זו גורמת לעיכוב האנזים טרנספפטידאז שמשתתף בבניית הפפטידוגליקן בדופן החיידק. האנטיביוטיקה פוגעת בחיידקים שנמצאים בשלבי חלוקה והתרבות.

סולפה – תרופות הסולפה הן קבוצה של חומרים כימיים שמכילים מולקולה של סולפונאמיד, שהוא מעכב תחרותי של PABA. ה-PABA הוא חומר בשרשרת יצירת חומצה פולית שנחוצה לגידול החיידק.

הסולפה מתחרה עם PABA, ולכן לא נוצרת חומצה פולית.

3. איזה טיפול תציעו לאדם שסובל ממחלה זיהומית שגורם לה, למשל, *St. albus*? או חיידק אחר שבו השתמשו בניסוי?

בצילוס סובטילוס – רגישות גבוהה לפניצילין.
סטפילוקוקוס אלבוס – רגישות גבוהה לפניצילין.
אי. קולי – רגישות לטרציקלין.

4. האם כדאי להשתמש באנטיביוטיקה בעלת טווח פעולה רחב? מדוע?

אנטיביוטיקה בעלת טווח כיסוי רחב משמעותה יכולת להרוג זנים רבים של חיידקים. מחד גיסא, תכונה זו רצויה, שהרי כך "מכסים" גם את המקרים שבהם מדובר בחיידק לא טיפוסי שגורם לזיהום. מאידך גיסא, יש חיסרון גדול בשימוש באנטיביוטיקות רחבות טווח, והוא היווצרות עמידות של חיידקים בפניהן.

5. כיצד תסבירו את התופעה של עמידות לאנטיביוטיקה?

אנטיביוטיקה יכולה לנטרל חיידקים בארבע דרכים שונות: היא יכולה להפריע לבניית דופן התא, לשבש את בניית חלבוני התא או את אבני הבניין של הגנים החידיקיים, לשנות את חדירות קרום התא (הממברנה) של החיידק או לעכב תהליכים מטבוליים בתא החיידק.

קיימים כמה מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה: מוטציה יכולה לחסום את יכולת האנטיביוטיקה לחדור דרך קרום התא של החיידק; היא יכולה לגרום לתא לפלוט מתוכו את האנטיביוטיקה אחרי שכבר חדרה פנימה, דרך תעלות בקרום התא; ויכולים גם לחול שינויים באנזימים בתוך תא החיידק שמאפשרים להם לפרק אנטיביוטיקה שחדרה לתא או לנטרל חלקים ממנה. מאחר שלאנטיביוטיקה יש אתר מטרה מוגדר בתא החיידק, קיימים גם מנגנונים שגורמים לשינוי של אתר המטרה שלה, כך שהאנטיביוטיקה לא מצליחה "לזהות" את האתר האמיתי שעליו היא פועלת.



בתמונה: מבחן רגישות לאנטיביוטיקה בצלחת פטרי עם חיידקים
צילום: shutterstock

עם תום הניסוי מומלץ להיכנס לאתר "מבעד למיקרוסקופ" בקישור הבא: <https://bit.ly/2LiVxW0> <---- לשונית "מיקרואורגניזמים" <----- "סטרפטוקוקוס", ובלשונית "תהליכים בתא" <----- "מחידק למושבה".

מומלץ להקריין לכלל הכיתה.

שלב ב' – עבודה קבוצתית: "מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה"

יש לחלק את הכיתה לצוותים.

התחלקו לצוותים לפי הנחיית המורה. כל צוות יקבל קישור לכתבה ויכין סקירה קצרה (של כחמש דקות) שאותה יציג בפני הכיתה על פי הקריטריונים הבאים:

- נושא הכתבה. התאריך שבו התפרסמה
- תיאור התופעה או הבעיה המוצגת בכתבה
- גישות שמרניות לפתרון הבעיה
- הפתרונות החדשניים המוצעים לבעיה
- אפשרויות ליישום ברפואה או בחיי היום-יום

הקישורים לכתבות:

- "מסלול עוקף אנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2lyxSmN>
- "המוציא אנטיביוטיקה מן הארץ": <https://bit.ly/2Chgc73>
- "האם נגיפים יכולים לשמש תחליף לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2kes8Ab>
- "מנגנוני עמידות לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2ly4QDM>
- "התנאי המוקדם לפיתוח עמידות": <https://bit.ly/2Lhe45f>
- "עמידות לאנטיביוטיקה – תקווה חדשה": <https://bit.ly/2GCj0hl>

כל צוות יציג לחברי הכיתה סקירה שלא תעלה על חמש דקות.

שלב ג' – צפייה בסרטונים בנושא אנטיביוטיקה

לאחר הסקירות של כל הצוותים לחברי הכיתה, לסיכום הפעילות, צפו במליאה בסרטונים שבקישורים הבאים:

- "עמידות לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2LjcTol>
- "פלסמידים": <https://bit.ly/2IW53jC>
- "המנגנון הקטלני של העמילואידים": <https://bit.ly/2IRg9Y1>
- "מחקר עמידות לאנטיביוטיקה": <https://bit.ly/2JDfDca>
- "מה גורם לעמידות לאנטיביוטיקה?" <https://bit.ly/2Lt9sZP>

ניסוי: השפעת אנטיביוטיקה על חיידקים – עיכוב התרבות במצע מזון מוצק.

מטרת הניסוי: לבדוק את השפעתם של חומרים אנטיביוטיים שונים על חיידקים מזנים שונים.

מהלך העבודה

1. סמנו בתחתית צלחת פטרי סטרילית את שם החיידק, ומספרים 1-4 במקום הנחת הדסקיות. דאגו לסמן במרחקים שווים משפת הצלחת ובין הדסקיות.
2. בעזרת מחט זריעה סטרילית מרחו שכבה אחידה וצפופה של חיידק מזן אחד על גבי המצע. אפשר לפזר את החיידקים על פני מצע הגידול בעזרת מקל דרגלסקי סטרילי.
3. הקפידו על חשיפה מינימלית לאוויר ושמרו על ניקיון התרבית. המתינו מספר דקות עד לייבוש הצלחת. הניחו דסקיות שמכילות חומרים אנטיביוטיים שונים מעל למספרים שסימנתם קודם לכן. להעברת הדסקיות השתמשו במלקטת. במעבר בין הצלחות העבירו את המלקטת באש. דאגו לכך שהדסקיות תהיינה דבוקות היטב על פני האגר.
- אפשר לראות את התוצאות לאחר 24 שעות בטמפרטורה של 37°C.
- מידת השפעת האנטיביוטיקה תימדד על פי קוטר ההילה (במ"מ) סביב כל דסקית. "הילה" רחבה יותר מעידה על מידת השפעה גדולה יותר של האנטיביוטיקה.
4. השלימו את הטבלה (רשמו את קוטר ההילה שמדדתם לאחר 24 שעות בעבור כל זן חיידק).

סוג האנטיביוטיקה				זן החיידק
טורציקלין	אמוקסיצילין (מוקסיפן)	פניצילין	סולפה	
				אשריכיה קולי (E. coli)
				בצילוס סובטיליס (Bacillus subtilis)
				סטפילוקוקוס אלבוס (St. albus)

5. דאגו למלא את קובץ האקסל הכיתתי בתוצאותיכם בהנחיית המורה.