

# Tentamen Klinisk mikrobiologi, 7,5 p

110328  
13.00-18.00

OBS!!! Kom ihåg att skriva ditt namn överst på de svarsblad du inlämnar.

**LYCKA TILL! Anna, Britt-Inger & co.**

.....  
**ANNAS FRÅGOR Skriv svar på separat blad!**

**1.** Tillväxt av mikroorganismer påverkas av många olika faktorer. Välj något av följande egenskaper: snabbt, långsamt, inte alls. (2p)

- a. En psykrofil bakterie växer \_\_\_\_\_ vid 30°C
- b. En mikroaerofil växer \_\_\_\_\_ i anaerob miljö
- c. En acidofil växer \_\_\_\_\_ i magsäcken hos människan
- d. En mesofil växer \_\_\_\_\_ vid 45°C

**2.** Enzymerna superoxiddismutas och katalas är viktiga för vissa typer av mikroorganismer. Vilka? Hur fungerar enzymerna? Hur reagerar en organism som har förlorat förmågan att bilda ett av dessa. (3p)

**3.** Om man vill studera ett antibiotikas inverkan på mikroorganismer kan man tillsätta antibiotikan under organismens logaritmiska tillväxtfas och sedan fortsätta studera tillväxten genom att följa den genom OD- mätningar. Hur förväntar vi oss att en tillväxtkurva kommer att se ut vid tillsats av penicillin respektive kloramfenikol? Skissa tillväxtkurvorna – glöm inte namn på axlarna och förklara ingående kurvornas utseende och vad man kan utläsa av dem! (5p)

**4.** Du har odlat ett okänt prov på ett substrat som har ett ganska lågt pH och därmed hindrat de flesta bakterier att tillväxa. Men, du har fått två typer av kolonier med olika utseende och vid mikroskopering av de olika ser du följande:



Förklara ingående- beskriv vad bilden visar – och ange även hur kolonierna du mikroskoperade såg ut på din odlingsplatta. (3p)

5. För att reducera antalet mikroorganismer kan olika metoder användas. Man skiljer på sterilisering och desinfektion. Vad innebär de olika? Beskriv två olika metoder för sterilisering respektive desinfektion och förklara mekanismen för dessa. (3p)

6. Vilken nytta och/eller skada kan följande arter utgöra (2p):

- a. *Streptococcus pyogenes*
- b. *Pseudomonas aeruginosa*
- c. *Clostridium tetani*
- d. *Streptococcus thermophilus*

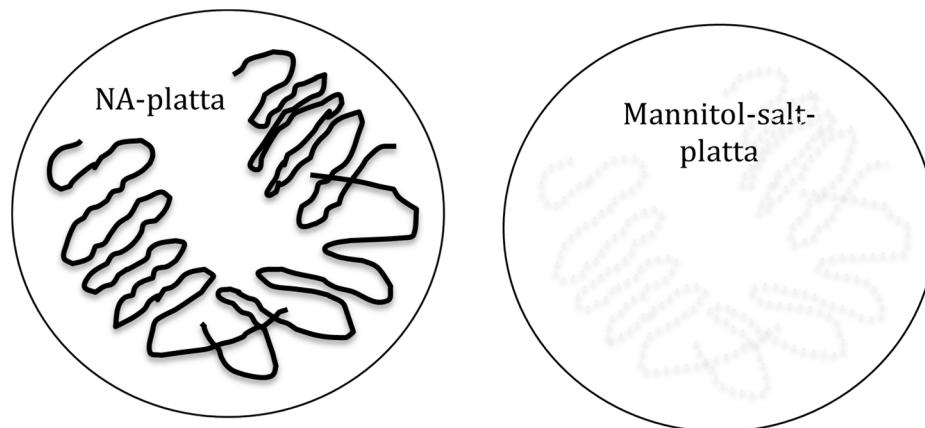
.....  
**BRITT-INGERS FRÅGOR Skriv svar på separat blad!**

7. *Staphylococcus aureus* är en gram-positiv bakterie, den är fakultativt anaerob, har hög salttolerans och är orörlig. Fermentation av glukos leder främst till produktion av mjölksyra. Majoriteten av *S. aureus*-isolaten producerar DNAs, proteas, lipas, kapsel och  $\beta$ -laktamas och många isolat bär en eller flera plasmider.

Rita en bild av en *S. aureus*-cell, bedöm vilka av nedanstående komponenter (a-q) man bör kunna finna hos *S. aureus* och rita in dem i (eller utanför) cellen. (4p)

- a) Cytoplasmamembran
- b) Endospor
- c) Flagell
- d) ATP-syntas (nyttjar elektrokemisk gradient för energiproduktion)
- e) Fosfoglukosisomeras (enzym som omvandlar glukos-6-fosfat till fruktos-6-fosfat)
- f) Kapsel
- g) Kromosom
- h) Lipopolysackarid
- i) Ribosom
- k) Yttermembran
- l) Teikonsyra
- m) Plasmid
- n) Periplasma
- o) Penicillinbindande protein
- p) Peptidoglykan
- q) *rpoB* (gen som kodar för RNA-polymerasets beta-subenhet)

8. En student har gjort renstryk av *Escherichia coli* på en näringsagarplatta (NA-platta) och på en mannitol-saltplatta. Studenten inkuberade plattorna i ett värmeskåp vid 37°C, kom tillbaka dagen därpå och kunde då studera två plattor som såg ut så här:



- Renstryket på NA-plattan har misslyckats, det växer tjockt med bakterier i en sträng över hela plattan, förklara vad studenten gjort för fel och hur man istället bör göra! (1p)
- Det växer absolut ingenting på mannitol-saltplattan (trots att laboranten gjort på precis samma sätt med den), varför inte? (1p)
- Odlingplattor består av petriskålar av plast där odlingsmedium med tillsats av agar hållts i och fått stelna. Hur behandlas petriskålarna och hur behandlas odlingsmediet för att bli helt fria från mikroorganismer? (1p)
- När man odlar *E. coli* i flytande medium använder man oftast ett skakvattenbad eller en skakinkubator istället för i värmeskåp. Varför gör man det? (0,5p)

9. När man studerat en kollektion av 106 kliniska isolat av *Staphylococcus aureus* och sekvenserat deras *gyrA*-gen (som kodar för bakteriens DNA-gyras, målet för antibiotika som hör till klassen kinoloner) fann man ett antal olika varianter.

- Flera av isolaten bar *gyrA*-alleler med tysta mutationer, vad kännetecknar en tyst mutation, vilken effekt har den? (1p)
- ”Lagom är bäst” är ett gammalt ordspråk och det gäller faktiskt även mutationer, förklara varför en ”lagom” mutationsfrekvens är bäst för en organism? (1p)
- De första meticillinresistenta *S. aureus* (MRSA) upptäcktes i början av 1960-talet. Nyligen utförda studier tyder på att resistensen spridit sig horisontellt inom arten men man är osäker på vilken av tre möjliga genöverföringsmekanismer som orsakat spridningen.  
Vilka tre mekanismer handlar det om? Beskriv vad som krävs för att en överföring ska kunna ske mellan en MRSA-cell och en MSSA (meticillinsensitiv *S. aureus*)-cell vid två av dessa mekanismer! (3p)

d) Vid epidemiologiska studier av *S. aureus spa*-typas (Spa-staphylococcal protein A) isolaten. Man PCR-amplifierar bakteriens variabla gen för ProteinA (Spa-staphylococcal protein A) och sekvenserar det DNA-fragment som erhålls. Protein A är ett ytlokaliserat protein som binder antikroppar. På vilket sätt anses det bidra till bakteriens sjukdomsframkallande förmåga? (1p)

e) *S. aureus* producerar även en siderofor vid namn stafyloferrin. På vilket sätt anses den bidra till bakteriens sjukdomsframkallande förmåga? (1p)

*S. aureus*-toxinet exfoliatin A ger en sjukdom som kallas "scalded skin syndrome" där det bildas blåsor i huden - som om den vore skållad av hett vatten - och huden lossnar. Toxinet produceras av den temperata, nakna fagen ETA när den finns som profag hos bakterien och verkar genom att bryta ner proteinet cadherin som finns i desmosomerna i epidermis.

f) Nästan alla bakteriofager beskrivs vara "nakna", vad är det för "klädsel" de saknar, vad består den av? (1p)

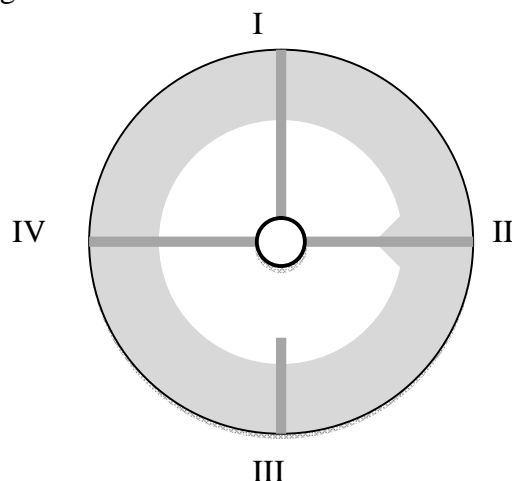
g) Är exfoliatin A ett exotoxin eller ett endotoxin? Motivera ditt svar! (1p)

**10.** *Streptomyces* är jordbakterier med en avancerad sekundär metabolism. *Streptomyces* står för produktionen av streptomycin, kloramfenikol, tetracyklin, vancomycin, cefoxitin och klavulansyra (de två sista beta-laktam antibiotika).

a) Vilken process i bakteriecellen inhiberas av såväl kloramfenikol som streptomycin? (0,5p)

b) Beta-laktamantibiotika inhiberar cellväggssyntes hos bakterier, det gör även vancomycin fast de verkar inte på exakt samma sätt. Vilken skillnad finns mellan vancomycinets och beta-laktamantibiotikas verkningsmekanism? (1p)

Klavulansyra (clavulanic acid) är ett betalaktamantibiotikum med urusel effekt som inte kan ges som monoterapi. Däremot används det som betalaktamas-inhibitor i kombination med andra, effektiva, betalaktam-antibiotika (ex. amoxicillin). Tänk dig att du gjort ett klöverbladstest (precis som på kurslaborationen). Du har sått ut en extremt penicillinkänslig *Micrococcus luteus* över hela ytan av en näringsagarplatta. I plattans mitt har du placerat en lapp med amoxicillin. Mot lappen har du strukit prov från fyra olika isolat (I, II, III och IV). Efter inkubering ser plattan ut som på figuren nedan.



c) Vilken/vilka av de fyra isolaten (I, II, III och IV) bör vara känsliga för amoxicillin? Motivera ditt svar! (0,5p)

d) Vilken/vilka av de fyra isolaten bör vara resistenta mot amoxicillin? Motivera ditt svar! (0,5p)

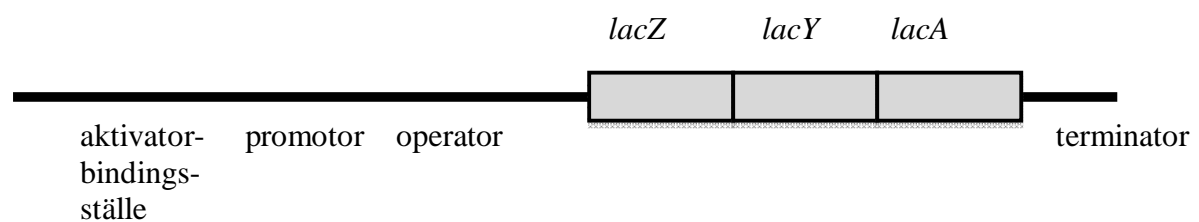
e) Vilken/vilka av de fyra isolaten bör vara känsliga för en amoxicillin+klavulansyrakombination? Motivera ditt svar! (0,5p)

f) För vilken/vilka av de fyra isolaten kan man förvänta sig en synergistisk effekt av en amoxicillin+klavulansyrakombination? Motivera ditt svar (0,5p)

g) *Streptomyces* producerar även natamycin, en fungicidal substans godkänd bl.a. för ytbehandling av ost. Vilken effekt har en fungicidal substans och varför används den för att ytbehandla ostar? (1p)

h) Hur produceras s.k. syntetiska antibiotika (kemoterapeutika)? (0,5p)

**11.** Genreglering gör det möjligt för en organism att anpassa sig efter miljöbetingelserna. Tarmbakterien *Escherichia coli* kan leva på ett flertal kolkällor, bl.a. laktos och glukos. Ett operon med tre gener, det s.k. *lac*-operonet (se schematisk bild nedan), behövs för nedbrytning av laktos.



a) Tänk dig att en svulten *E. coli* cell utsätts för en hög koncentration laktos. Förklara vad som händer med uttrycket av *lac*-operonet och hur förändringen åstadkoms! (1p)

b) Tänk dig att samma *E. coli* cell (som nu lever gott på laktos) dessutom utsätts för en hög koncentration glukos. Förklara vad som händer med uttrycket av *lac*-operonet och hur förändringen åstadkoms! (2p)

c) Uropatogena *E. coli*-isolat producerar pili, uttrycket av pili regleras på transkriptionsnivå, de uttrycks när bakterierna odlas vid 37°C men uttrycks inte vid odling i 26°C. Varför spelar pili en viktig roll för bakteriens möjlighet att orsaka infektion? (1p)

d) Enterotoxigena *E. coli*-isolat producerar ett värme-labilt toxin vars aminosyrasekvens är 82% identisk med kolera-toxinets. Toxinerna binder till samma receptor och påverkar värdcellen på exakt samma sätt. Hur verkar de två toxinerna på epitelceller i tarmen? (1p)

12. Mikrobiologer är väl sådana som stirrar på preparat i mikroskop dagarna i ända! Gör man det, och tar sig en titt på infärgade bakterier, kan man upptäcka att bakterier av olika arter skiljer i form. Ibland kan man av artnamnet förutsäga cellens form. Rita fem-sex bakterier vardera av... (a-f 1,5p totalt)

- a) *Vibrio cholerae*
- b) *Streptococcus mutans*
- c) *Bacillus thuringiensis*
- d) *Staphylococcus epidermidis*
- e) *Neisseria meningitidis* (en diplokok)
- f) *Borrelia afzelii* (en spiroket)

....mikrobiologer ägnar sig naturligtvis mest åt att odla...

g) De kliniska mikrobiologerna odlar gärna på blodagarplattor - men när faecesprover analyseras väljer man andra odlingsmedier. Vilken typ av odlingsmedier används för faecesanalys och varför används inte blodagarplattor? (1p)

h) *Clostridium difficile* orsakar en ibland mycket svårartad diarré. Diagnostiken av *C.* bygger på ELISA-analys av ett bakteriellt enterotoxin. Beskriv hur metoden fungerar och förklara varför den är såväl kvalitativ som kvantitativ. (2p)

i) *Clostridium difficile* brukar betraktas som en opportunistisk patogen. När ökar risken markant att man ska drabbas av en *C. difficile*-infektion? (0,5p)

j) PCR används för att konfirmera antibiotikaresistens hos bakterier som misstänks vara MRSA och VRE. Däremot används inte PCR för att avgöra vilka bakterier som är antibiotikaresistenta eller antibiotikakänsliga – varför fungerar inte PCR-tekniken i detta fall? (1p)

.....  
**MICHAELS FRÅGOR Skriv svar på separat blad!**

13. Viruspartikelns (virionets) morfologi och typ av arvsmassa är två viktiga kriterier vid klassificering av virus i olika familjer, genus, arter och stammar/isolat.

a) Beskriv översiktligt de tre olika huvudtyperna av virionmorfologi. (2,5p)

b) Enkelsträngad arvsmassa i form av RNA kedja (ssRNA) kan förekomma som plus eller minus typ. Redogör för de huvudsakliga skillnaderna mellan hur+ssRNA och –ssRNA virus uttrycker sina gener. (2,5p)

14. Vad är ett antiviralt medel? HIV är ett ytterst anpassningsbart virus som lätt kan mutera och därmed erhålla resistens mot ett antiviralt medel. Ändå så är det möjligt att "stoppa" progressionen hos en HIV-smittad människa m.h.a. antiviral behandling. Hur? (5p)

15. Beskriv översiktligt metoden polymerase chain reaction, PCR. Varför är metoden så ofta använd när det gäller att t ex detektera virus i ett prov? (5p)

.....  
**SUSANNES FRÅGOR Skriv svar på separat blad!**

**16.** Apicomplexans behöver minst två värdorganismer för att sprida sig.

a) Vad heter den som sprider malariaparasiten till människa? (1p)

Malaria-parasiten förökar sig både asexuellt och sexuellt.

b) Vilken av dessa utförs i människans blodomlopp (1p)

c) ...vilken utförs i myggans tarmkanal? (1p)

d) Vilken parasit orsakar "bäverfeber" och vilken parasit upptäcktes i Östersund?  
Vilka symtom ger dessa sjukdomar och hur kan de förebyggas? (2p)