

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ТУР

Таблица заполняется жюри

№ задания	Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итого
1	1	Новосимов	1	Новосимов	1
2	4	Новосимов	4	Новосимов	4
3	4	Новосимов	4	Новосимов	4
4	4	Новосимов	4	Новосимов	4
5	4	Новосимов	4	Новосимов	4
6	2	Новосимов	2	Новосимов	2
7	4	Новосимов	4	Новосимов	4
8	3	Новосимов	3	Новосимов	3
9	5	Новосимов	5	Новосимов	5
10	4	Новосимов	4	Новосимов	4
11	4	Новосимов	4	Новосимов	4
12	1	Новосимов	1	Новосимов	1
13	2	Новосимов	2	Новосимов	2
14	4	Новосимов	4	Новосимов	4
15	4	Новосимов	4	Новосимов	4
16	4	Новосимов	4	Новосимов	4

54

ШИФР

Э	21	0	-1	4
---	----	---	----	---

**Уважаемый участник! Перед выполнением
конкурсной работы заполните аккуратно
и разборчиво, без помарок и зачёркиваний**

ЛИНИЯ ОТРЕЗА ✂

Внимание!

Оценивание работ конкурсантов производится ЦЕЛЫМИ числами. Дробные числа для оценивания работ как теоретического, так и проектного туров НЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ.

Максимальное количество баллов за сообщение - 18

Всего количество баллов за проектный тур - 38

ФИО Затворкин Лев

Территория, ОО: Звездное, ФГКОУ Переское СВУ

Название работы: Искусство всевозможных антибактериальных препаратов на основе всевозможных условно-патогенных микроорганизмов в. coli

шкала оценки сообщений

Показатели		Градации	Баллы
выступление	1. Соответствие сообщения заявленной теме, цели и задачам проекта	соответствует полностью	2
		есть несоответствия (отступления)	1
		в основном не соответствует	0
	2. Структурированность (организация) сообщения, которая обеспечивает понимание его содержания	структурировано, обеспечивает	2
		структурировано, не обеспечивает	1
		не структурировано, не обеспечивает	0
	3. Культура выступления - чтение с листа или рассказ, обращенный к аудитории	рассказ без обращения к тексту	2
		рассказ с обращением к тексту	1
		чтение с листа	0
	4. Доступность сообщения о содержании проекта, его целях, задачах, методах и результатах	доступно без уточняющих	2
		доступно с уточняющими вопросами	1
		недоступно с уточняющими	0
	5. Целесообразность, инструментальность наглядности, уровень её использования	целесообразна	2
		целесообразность сомнительна	1
		не целесообразна	0
	6. Соблюдение временного регламента сообщения (не более 7 минут)	соблюдён (не превышен)	2
		превышение без замечания	1
		превышение с замечанием	0
дискуссия	7. Чёткость и полнота ответов на дополнительные вопросы по существу сообщения	все ответы чёткие, полные	2
		некоторые ответы нечёткие	1
		все ответы нечёткие/неполные	0
	8. Владение специальной терминологией по теме проекта, использованной в сообщении	владеет свободно	2
		иногда был неточен, ошибался	1
		не владеет	0
	9. Культура дискуссии - умение понять собеседника и аргументировано ответить на его вопросы	ответил на все вопросы	2
		ответил на большую часть вопросов	1
		не ответил на большую часть вопросов	0

35

188

Всего баллов:

Проверил:

Степанов *Иван*

Внимание! Оценивание работ конкурсантов производится ЦЕЛЫМИ числами. Дробные числа для оценивания работ как теоретического, так и проектного туров НЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ.

Максимальное количество баллов за рукопись проекта - 20

<i>шкала оценки рукописи проекта</i>		
<i>Показатели</i>	<i>Градация Баллы ^</i>	
1. <i>Обоснованность и актуальность темы проекта - целесообразность аргументов, подтверждающих актуальность темы проекта</i>	обоснована; аргументы целесообразны	2
	обоснована; целесообразна часть	1
	не обоснована, аргументы отсутствуют	0
2. <i>Конкретность, ясность формулировки цели, задач, а также их соответствие теме проекта</i>	конкретны, ясны, соответствуют	2
	неконкретны, неясны или не соответствуют	1
	цель и задачи не поставлены	0
	явно нецелесообразна или отсутствует	0
3. <i>Теоретическая значимость обзора - представлена и обоснована модель объекта, показаны её недостатки</i>	модель полная и обоснованная	2
	модель неполная и слабо обоснованная	1
	модель объекта отсутствует	0
4. <i>Значимость работы для оценки возможного экологического риска в рассматриваемой области</i>	приведена оценка экологического риска	2
	оценка экологического риска частична	1
	нет оценки экологического риска	0
5. <i>Значимость работы для снижения возможного экологического риска в рассматриваемой области</i>	предлагаются мероприятия для снижения	2
	снижение риска рассматриваются фрагментарно	1
	снижение риска не рассматривается	0
6. <i>Обоснованность методик доказана логически и/или ссылкой на авторитеты и/или приведением фактов</i>	применение методик обосновано	2
	методики обоснованы не достаточно	1
	методики не обоснованы	0
7. <i>Наглядность (многообразие способов) представления результатов - графики, гистограммы, схемы, фото</i>	использованы все возможные способы	2
	использована часть способов	1
	использован только один способ	0
8. <i>Дискуссионность (полемичность) обсуждения полученных результатов с разных точек зрения, позиций</i>	приводятся и обсуждаются разные позиции	2
	разные позиции приводятся без обсуждения	1
	приводится и обсуждается одна позиция	0
9. <i>Соответствие содержания выводов содержанию цели и задач</i>	соответствуют; гипотеза оценивается	2
	частично; гипотеза только упоминается	1
	не соответствуют; гипотеза не оценивается	0
10. <i>Оформление рукописи (введение, лит. обзор, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, литература)</i>	грамотно структурирована (все разделы)	2
	имеются не все разделы, неуд. список лит-	1
	оформлена небрежно	0

17

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э10-14

Задание 1

Ответьте на вопрос. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 2 балла.

Экология стала бурно развиваться, а также интегрироваться с другими науками. Множество памятных документов связаны с экологическим состоянием территорий и носят международный характер.

Балл:	1 1	Проверил:	Гусев Новосиль
-------	-----	-----------	----------------

Задание 2

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. Отрасль экологии, направленная на развитие всех направлений деятельности человека, в том числе, экологички, без вреда для окружающей среды. Понимание связей между обществом и природой.
2. Общество - обособившаяся от природы, но тесно связанная с ней её часть, понимание этих связей прикладной экологией является путём развития всех сфер деятельности общества.

Балл:	4 4	Проверил:	Гусев Новосиль
-------	-----	-----------	----------------

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э-10-14

Задание 3

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

- | |
|--|
| 1. Уменьшение популяции какого-либо вида контролируется механизмом обратной отрицательной связи, в том числе, им контролируются и всплески численности. |
| 2. У агробиотенноза не замкнутый круговорот веществ для какого-либо вида, (тапи) в агробиотеннозе может избыток нужного ресурса быть и малое количество хищников. |

Балл: 44	Проверил: Сергей Новиков
----------	--------------------------

Задание 4

Приведите два положения. За положение от 0 до 2 баллов. Ответьте на вопрос. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

- | |
|--|
| 1. Индивидуалтауци - поведением специальных приспособлений |
| 2. Обшая дегенерация - упрощение строения. |

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э-10-14

3. У гидрораптанов, и общая дегенерация направлена на приспособления к узким диапазонам условий. Существуют условия которые могут быть оптимальны для одного и тем самым для другого.

Балл: 4 4 Проверил: *Юсупов* Новоселов

Задание 5

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. При увеличении ^{численности} вида повышается конкуренция внутри вида на какой-либо ресурс, также увеличивается количество хищников на данный вид во многих случаях. Численность вида снижается.

2. При увеличении численности вида понижается конкуренция внутри вида на какой-либо ресурс, также уменьшается количество хищников на данный вид во многих случаях. Численность вида повышается.

Балл: 4 4 Проверил: *Юсупов* Новоселов

Задание 6

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1. Появление цветов и листьев на деревьях, созревание плодов.

2. Зачастую причиной является антропогенная деятельность, влияющая на изменение климата, состав почвы и прочее

3. При протекании какой-либо фазы может означать повышение ресурса для какого-либо организма, но узкой реакцией недостатка одного ресурса может привести к смене экосистемы данной территории

Балл:	2 2	Проверил:	Юсуп Новосиль
-------	-----	-----------	---------------

Задание 7

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. У более узкой ниши меньше число видов, стоящих ниже их по пищевой цепи, а значит, меньше шансов вступить в конкуренцию с другими видами за какой-либо ресурс.

2. У более широкой ниши больше число видов, стоящих ниже их по пищевой цепи, а значит, недостаток одного ресурса иногда можно компенсировать другим ресурсом.

Балл:	4 4	Проверил:	Юсуп Новосиль
-------	-----	-----------	---------------

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э-10-14

Задание 8

Ответьте на вопрос. За вариант от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1.	Между видами возможна конкуренция, так как у близких видов схожие потребности. В результате один вид может вытеснить другой.
2.	Виды могут вступить в симбиоз, например, сотрудничество, добывая питание вместе.

Балл:	33	Проверил:	Толстопупов / Новоселов
-------	----	-----------	-------------------------

Задание 9

Ответьте на вопрос и приведите три условия. За ответ на вопрос и каждое положение от 0 до 2 баллов. Всего за задание 8 баллов.

1.	Уязвимость любого вида в экосистеме контролируется механизмом обратной отрицательной связи.
2.	Много необходимых (нужных) ресурсов для данного вида.

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э-10-14

3. Мало конкурентов на мужские ресурсы у данного вида.
4. Мало хищников, потребителей данного вида.

Балл: 55 Проверил: *Сергей Новоселов*

Задание 10

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. На ранних этапах преобладали хемосинтезирующие т.к. было мало света и много не прореагировавших веществ.
2. На поздних ^{та} этапах преобладает фотосинтез, т.к. много света, а не прореагировавших веществ гораздо меньше.

Балл: 44 Проверил: *Сергей Новоселов*

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э-10-14

Задание 11

Ответьте на вопрос. Отметьте три положения. За положение от 0 до 2 баллов.
Всего за задание 6 баллов.

1.	Разрушение места обитания многих животных и растений
2.	Нарушение водного баланса.
3.	Может привести к засолению почв.

Балл:	4 4	Проверил:	Сергей Новосильцев
-------	-----	-----------	--------------------

Задание 12

Ответьте на вопрос. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 2 балла.

1.	И тигр, и белый медведь являются стенобионтами и могут жить лишь в условиях своей экосистемы, если условия их экосистем меняются, то изменяется состояние их популяций.
----	---

Балл:	1 1	Проверил:	Сергей Новосильцев
-------	-----	-----------	--------------------

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э-10-14

Задание 13

Приведите два положения. За положение от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. При продвижении с севера на юг биоразнообразие увеличивается. А при продвижении с юга на север биоразнообразие уменьшается.
2. Наибольшее биоразнообразие наблюдается на стыке природных зон, чем на самих природных зонах.

Балл: 2 2	Проверил: <i>Юсуп Новоселов</i>
-----------	---------------------------------

Задание 14

Приведите два положения. За положение от 0 до 2 баллов. Ответьте на вопрос. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1. (Суравкас) природные условия. Комфортные
2. (Изонялуня тот) другие районы ⁶⁴ горных и долинных) связаны друг с другом.

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

3-10-19

3. Уровневые условия и изоляция от других районов герани и биотамии.

Балл:

4 4

Проверил:

Юсуп Новоселов

Задание 15

Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1.

Когда в развитых странах началась крайне бурно развиваться производительность, страны не следили за состоянием окружающей среды. Когда состояние среды сильно ухудшилось, страны обратили на неё внимание.

2.

Экологический кризис можно избежать если:
1) сделать менее вредное производство.

2) следить за состоянием окружающей среды.

3) принимать меры по защите и восстановлению окружающей среды.

Балл:

4 4

Проверил:

Юсуп Новоселов


ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2019 ГОД
10 КЛАСС

Э10-14

Задание 16

Приведите три положения. За положение от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1.	В развивающихся странах ещё не произошёл экономический кризис, и его можно предотвратить.
2.	Экономический кризис в одной стране может негативно влиять на другие страны.
3.	В развивающихся странах могут обитать редкие и эндемичные растения и животные, кото- рые обитают только в этой стране.

Балл:	44	Проверил:		Новоселов
-------	----	-----------	--	-----------

Федеральное государственное казенное общеобразовательное учреждение
«Пермское суворовское военное училище
Министерства обороны Российской Федерации»



**Изучение влияния антибактериальных препаратов на
жизнеспособность условно-патогенного микроорганизма *Escherichia coli***

Автор: Затворницкий Лев Евгеньевич
суворовец 3 взвода 1 роты (10 класса),

Руководитель:

Елтышева Ирина Валерьевна,
кандидат биологических наук,
преподаватель отдельной дисциплины
(биология)

Пермского суворовского военного училища

Научный консультант:

Масленникова Ирина Леонидовна,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
ИЭГМ УрО РАН

пгт Звёздный,
2018

Оглавление

	стр.
Введение	3
1. Обзор литературы	
1.1. <i>Escherichia coli</i> как условно-патогенный микроорганизм	5
1.2. Антибактериальные препараты: многообразие и принципы действия	7
2. Материалы и методы исследования	
2.1. Исследуемый штамм и среда культивирования	10
2.2. Антибактериальные препараты	10
2.3. Методы исследования	12
3. Результаты и их обсуждение	
3.1. Влияние антибиотиков на жизнеспособность <i>E. coli</i>	13
3.2. Влияние препарата пиобактериофага поливалентного на жизнеспособность <i>E. coli</i>	14
3.3. Сравнение влияния хлорамфеникола и препарата пиобактериофага поливалентного на жизнеспособность <i>E. coli</i>	15
Заключение	18
Список используемых источников	20

Введение

Устойчивость бактерий к антибиотикам — актуальная проблема в наземных или водных средах. Загрязнение окружающей среды антибиотиками происходит через больничные сточные воды и неочищенные городские сточные воды. Антибиотики загрязняют окружающую среду через отходы жизнедеятельности человека, животных и фармацевтической промышленности. Вместе с отходами антибиотиков в окружающую среду попадают антибиотикорезистентные бактерии. Так как бактерии быстро размножаются, резистентные бактерии, которые попадают в окружающую среду, реплицируют гены резистентности. Кроме того, бактерии, несущие гены резистентности обладают способностью передавать эти гены другим видам с помощью горизонтального переноса генов. Таким образом, даже если конкретный антибиотик больше не вводится в окружающую среду, гены резистентности к антибиотикам будут сохраняться благодаря горизонтальному переносу.

По мнению Всемирной организации здравоохранения, устойчивость бактерий к антибиотикам является сегодня одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человечества, продовольственной безопасности и развития [13]. Разработка новых препаратов антибиотиков отстаёт от темпов эволюции микроорганизмов. Эта проблема обозначена в статьях учёных [4], [8].

В нашей стране бактериофаги для нужд медицины производятся и применяются уже почти 80 лет. Сегодня Россия остается мировым лидером по выпуску этих эффективных и безопасных антибактериальных средств. Однако практикующие врачи при лечении бактериальных инфекций чаще назначают препараты антибиотиков.

Целью нашего исследования является изучение влияния антибактериальных препаратов (антибиотиков хлорамфеникола, ампициллина и пиобактериофага поливалентного) на жизнеспособность условно-патогенного микроорганизма *Escherichia coli* (далее – *E. coli*).

1. Обзор литературы

1.1. *Escherichia coli* как условно-патогенный микроорганизм

Кишечная палочка (*Escherichia coli*) впервые была выделена из испражнений человека Т. Эшерихом в 1885 году.

Бактерии *E. coli*, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae* – факультативные анаэробы, хорошо растут на обычных питательных средах, по Граму окрашиваются отрицательно. Температурный оптимум для роста 37 °С, но способны к росту в диапазоне температур от 10 до 45 °С, с оптимальным значением рН 7,2–7,5. *E. coli* к питательным средам непритязательна. На обычном агаре через сутки роста образуются мелкозернистые молочно-голубоватого цвета колонии диаметром 2—3 мм. На бульоне дает равномерное помутнение.

Бактерии *E. coli* устойчивы к воздействиям факторов внешней среды, а потому могут в течение длительного времени сохраняться в жизнеспособном состоянии в воде, почве и фекальных массах. В то же время кишечные палочки погибают при кипячении и воздействии на них формалина, хлорной извести, фенола, сулемы, едкого натра и 1% раствора карболовой кислоты.

Бактерии *E. coli* используются в международных стандартах как санитарный показатель фекального загрязнения питьевой воды и пищевых продуктов. Основанием для этого послужил тот факт, что в фекалиях вместе с кишечной палочкой могут присутствовать и патогенные микроорганизмы, поэтому, чтобы не применять специальных трудоемких методов для их выявления, пользуются показателем общего загрязнения. Таким индикатором и являются бактерии *E. coli* – постоянные обитатели толстого кишечника, обнаружение которых указывает на то, что среда загрязнена содержимым кишечника и кишечными бактериями, среди которых могут быть и патогенные формы [7].

Бактерии *E. coli*, находясь в симбиотических отношениях с организмом человека, оказывают положительную роль в процессе пищеварения, витаминном балансе, а также в создании местного кишечного иммунитета.

Однако при некоторых обстоятельствах этот вид микроорганизмов способен вызвать различные патологические состояния: колиты, энтериты, циститы, холециститы, сепсис [10].

К таковым следует отнести:

- 1) применение антибиотиков, гормонов, иммунодепрессантов, лучевой терапии;
- 2) хирургические операции, особенно на органах желудочно-кишечного тракта;
- 3) длительное воздействие неблагоприятных экологических факторов в быту и на производстве;
- 4) острые кишечные инфекции, различные хронические заболевания желудка, кишечника и печени;
- 5) нервно-психический стресс;
- 6) голодание, нерациональное питание, авитаминоз [1].

При анализе микробиологического исследования раневого отделяемого пациентов отделения гнойной хирургии установлено, что среди грамотрицательной микрофлоры преобладали *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*. Общая доля грамотрицательных патогенов в этиологической структуре составляет 35,7%. На долю грамположительных микроорганизмов приходится 63,1% случаев гнойно-септических заболеваний. Среди них доминирует *Staphylococcus aureus* [9].

1.2. Антибактериальные препараты: многообразие и принципы действия

К антибактериальным препаратам относят антисептики, антибиотики, бактериофаги.

Препараты, относящиеся к антисептикам, не обладают избирательностью противомикробного действия, но в соответствующих концентрациях они губительно влияют на большинство микроорганизмов. Антисептики используются обычно при лечении инфицированных ран, поражений слизистых оболочек и в ряде других ситуаций. Наиболее широко применяются такие антисептики как этиловый спирт, спиртовой раствор бриллиантового зелёного, спиртовой раствор йода, хлоргексидина глюконат, пероксид водорода, карболовая кислота (фенол). Однако некоторые антисептики обладают токсическим, раздражающим и повреждающим кожу эффектом, впитываются с поверхности кожи и слизистых в кровь.

Первый природный антибиотик был открыт в 1929 г. английским бактериологом А. Флемингом. При изучении плесневого гриба *Penicillium notatum*, препятствующего росту бактериальной культуры, А. Флеминг обнаружил вещество, задерживающее рост бактерий, и назвал его пенициллином. В 1940 г. Г. Флори и Э. Чейн получили очищенный пенициллин. В 1945 г. А. Флеминг, Г. Флори и Э. Чейн стали Нобелевскими лауреатами.

В зависимости от источника получения различают шесть групп антибиотиков:

- антибиотики, полученные из грибов рода *Penicillium*, *Cephalosporium* (пенициллины, цефалоспорины) и др.;
- антибиотики, полученные из актиномицетов; представители рода *Streptomyces* являются продуцентами стрептомицина, эритромицина, левомицетина, нистатина и многих других антибиотиков;

- антибиотики, продуцентами которых являются бактерии. Чаще всего с этой целью используют представителей родов *Bacillus* и *Pseudomonas*. Примерами антибиотиков данной группы являются полимиксины; бацитрацин;

- антибиотики животного происхождения; из рыбьего жира получают эктерицид;

- антибиотики растительного происхождения. К ним можно отнести фитонциды, которые выделяют лук, чеснок, другие растения. В чистом виде они не получены, так как являются чрезвычайно нестойкими соединениями. Антимикробным действием обладают многие растения, например ромашка, шалфей, календула;

- синтетические антибиотики.

Действие антибиотиков на микроорганизмы связано с их способностью подавлять те или иные биохимические реакции, происходящие в микробной клетке. В зависимости от механизма действия различают пять групп антибиотиков:

- 1) антибиотики, нарушающие синтез клеточной стенки (ампициллин);

- 2) антибиотики, нарушающие молекулярную организацию и синтез клеточных мембран (полимиксины, полиены);

- 3) антибиотики, нарушающие синтез белка; это наиболее многочисленная группа препаратов (тетрациклины, левомицетин);

- 4) антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот (например, хинолоны нарушают синтез ДНК, рифампицин – синтез РНК);

- 5) антибиотики, подавляющие синтез пуринов и аминокислот (сульфаниламиды).

Антибиотикотерапия может привести к таким осложнениям, как токсическое действие (в первую очередь, на печень и почки), дисбиозы, аллергические реакции, иммунодепрессивное действие (левомицетин подавляет антителообразование, тетрациклин угнетает фагоцитоз) [2].

При продолжительном воздействии антисептиков и антибиотиков бактерии могут адаптироваться к воздействию этих средств.

Бактериофаги – вирусы бактерий, обладающие способностью специфически проникать в бактериальные клетки, репродуцироваться в них и вызывать их лизис. Фаги состоят из двух основных химических компонентов – нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и белка.

Фаги более устойчивы к действию химических и физических факторов, чем бактерии. Инактивация большинства фагов наступает при температуре 65-70 °С. Длительное время они сохраняются при высушивании в запаянных ампулах, замораживании при температуре -185 °С в глицерине. Фенол и этиловый спирт не оказывают существенного влияния на фаги, высокочувствительны фаги к формалину и кислотам.

Процесс поражения бактериальных клеток бактериофагом включает этапы:

- 1) адсорбция бактериофагов на бактериальных клетках
- 2) инъекция нуклеиновой кислоты бактериофага внутрь клетки
- 3) репликация копий нуклеиновой кислоты бактериофага
- 4) синтез белковых молекул
- 5) сборка фаговых частиц
- 6) выход зрелых фагов и смерть бактерии.

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой характеризуется определенной степенью специфичности. По специфичности действия различают поливалентные фаги, способные взаимодействовать с родственными видами бактерий, моновалентные фаги, взаимодействующие с бактериями определенного вида, и типовые фаги, взаимодействующие с отдельными вариантами (типами) данного вида бактерий.

Фаги используют в диагностике инфекционных болезней: с помощью известных (диагностических) фагов проводят идентификацию выделенных культур микроорганизмов. Фаги применяют для лечения и профилактики инфекционных болезней. Перед применением препарата бактериофага необходимо определить чувствительности микроорганизма к действию конкретного бактериофага.

2. Материалы и методы исследования

2.1. Исследуемый штамм и среда культивирования

В проводимом исследовании использовался штамм *E.coli TGI*. Это генно-инженерный штамм, в геном которого встроены lux-оперон светящейся бактерии *Photobacterium luminescens*. Максимальная люминесценция бактерий данного штамма наблюдается при $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, при данной температуре проводили культивирование бактерий в термостате. Данный штамм является резистентным к ампициллину, т.к. ген люциферазы встроены в плазмиду, содержащую ген фермента, разрушающего ампициллин. Штамм является быстрорастущим, тиамин-ауксотрофным, не использующим лактозу [14]. Штамм был создан в МГУ В.С. Даниловым и др. [3].

Для культивирования использовали среду LB-бульон (Luria-Bertani). Состав среды: 1 л H_2O , 10 г триптона, 5 г дрожжевого экстракта, 5 г NaCl ; pH 7,0-7,2.

2.2. Антибактериальные препараты

В проводимом исследовании изучали влияние антибиотиков ампициллина, хлорамфеникола и фиобаактериофага поливалентного на жизнеспособность *E.coli*.

Ампициллин – антибиотик группы пенициллинов. Ампициллин блокирует фермент белкового синтеза – транспептидазу, препятствуя образованию пептидных связей и нарушая поздние этапы синтеза пептидогликана клеточной стенки делящегося микроорганизма. Устойчивость некоторых бактерий к пенициллинам связана с продукцией особых ферментов – β -лактамаз, разрушающих β -лактам, к которым относятся антибиотики пенициллинового ряда [11].

Для исследования мы использовали порошок ампициллина для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения производителя ОАО «Синтез» (г. Курган, Россия). Антибиотик ампициллин мы

различных форм гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний, в том числе хирургических инфекций (нагноения ран, гнойных поражений кожи, ожогов и др.). При лечении нагноений ран и ожогов препарат применяют в виде орошения, аппликаций, повязок, введения в дренаж в дозе 5–50 мл в зависимости от очага поражения не менее 1 раз в день, курс лечения 10–15 дней. Для профилактики внутрибольничных хирургических инфекций препарат используют для обработки послеоперационных и свежееинфицированных ран в дозе 5–50 мл в зависимости от очага поражения ежедневно однократно в течение 5–7 дней [6].

2.3. Методы исследования

Для исследования влияния антибактериальных препаратов на жизнеспособность *E. coli* использовали ночную культуру. Для этого за 12 часов до постановки эксперимента делали посев *E. coli* в LB-бульон.

В работе использовали 2 модели:

1. Модель с исходной концентрацией клеток *E. coli* 1×10^8 клеток/мл рассматривали как осложненную гнойно-септическую рану: 6 мл ночной культуры + 6 мл LB-бульона (далее в тексте – концентрированная культура).

2. Модель с исходной концентрацией клеток *E. coli* 1×10^6 клеток/мл рассматривали как неосложненную рану: 200 мкл ночной культуры + 20 мл LB-бульона (далее в тексте – разведенная культура).

Культуры выращивали в белых и прозрачных 96-луночных планшетах в термостате статически при 37 °С в течение 24 ч.

Изучали действие антибиотиков в следующих концентрациях: 100; 50; 25; 12; 6; 3; 1,5; 0,7; 0,3; 0,15; 0,07; 0,03 мкг/мл. В лунку планшета добавляли 20 мкл раствора антибиотика и 180 мкл культуры. Опыт проводили для ампициллина в 1-кратной повторности (отрицательный контроль), для хлорамфеникола в разных концентрациях в 3-кратной повторности. Для изучения влияния полифага на жизнеспособность *E. coli* готовили раствор

фармакологического препарата полифага и культуры, разрезанной или концентрированной, в соотношениях: 1:1 (100 мкл препарата полифага + 100 мкл культуры), 1:3 (50 мкл препарата полифага + 150 мкл культуры), 1:9 (20 мкл фага + 180 мкл культуры), 1:19, 1:39, 1:79, 1:159, 1:319, 1:639. Опыты проводили в 3-кратной повторности.

В контрольные варианты лунок добавляли 180 мкл культуры в 20 мкл физиологического раствора (0,9% -ный NaCl).

В ходе эксперимента измеряли оптическую плотность и люминесценцию культуры через 10 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 22 ч после посева. Измерения проводили с помощью мультипланшетного ридера Synergy H1 (Biotek. США). У культур, посеянных в прозрачные планшеты, измеряли оптическую плотность, у культур, посеянных в белые планшеты, измеряли люминесценцию.

3. Результаты и их обсуждение

3.1. Влияние антибиотиков на жизнеспособность *E. coli*

Ампициллин не подавил рост культуры в обеих моделях исследования, выполняя роль отрицательного контроля в нашем эксперименте (таблица 1, приложение).

Анализ графиков, изображённых в приложениях 2, 3 показывает, что в течение 4 часов хлорамфеникол в концентрациях 100; 50 мкг/мл подавлял рост концентрированной культуры *E. coli*. В разрезанной культуре *E. coli* антибиотик с меньшими концентрациями 100; 50; 25; 12; 6; 3; мкг/мл также подавлял размножение бактерий по сравнению с контролем через 4 ч, что доказывают результаты двух измерений (приложения 4, 5).

Через 22 часа отрицательная динамика оптической плотности концентрированной и разрезанной культуры *E. coli* выражена при концентрациях антибиотика 100; 50; 25; 12 мкг/мл (приложения 2, 4); отрицательная динамика люминесценции выражена в той или иной степени при концентрациях 100; 50; 25; 12; 6; 3 мкг/мл (приложения 3, 5).

В разреженной культуре подавление роста антибиотиками выражено сильнее, чем в концентрированной.

При низких концентрациях хлорамфеникола: 1,5; 0,7; 0,3; 0,15; 0,07; 0,03 мкг/мл его влияние на концентрированную и разреженную культуру *E. coli* отсутствует.

Таким образом, ампициллин не обладает бактериостатическим действием на исследуемый штамм *E. coli*. Антибиотик хлорамфеникол сильнее подавляет рост разреженной культуры *E. coli*. Бактериостатическое действие хлорамфеникола через 4 и 22 часа выражено лучше при высоких концентрациях антибиотика - 100; 50 мкг/мл во всех вариантах измерения (концентрированная и разреженная культуры, оптическая плотность и люминесценция); через 22 часа выражено бактериостатическое действие хлорамфеникола при концентрациях 25 и 12 мкг/мл для концентрированной и разреженной культуры.

3.2. Влияние препарата полибактериофага поливалентного на жизнеспособность *E. coli*

Анализ графиков, изображённых в приложениях 6-9 показывает, что через 4 часа препарат бактериофага при всех вариантах начального объёмного соотношения с культурой *E. coli* подавил жизнеспособность и концентрированной, и разреженной культуры.

Через 22 часа разница в трендах графиков контрольного и опытных вариантов была весьма значительна и для концентрированной, и для разреженной культуры. Графики опытных вариантов через 22 часа собираются практически в одной точке, близкой к «0». Исключение составляет график динамики оптической плотности концентрированной культуры *E. coli*.

Таким образом, бактериостатическое действие препарата полибактериофага поливалентного выражено при всех исследуемых

В разреженной культуре подавление роста антибиотиками выражено сильнее, чем в концентрированной.

При низких концентрациях хлорамфеникола: 1,5; 0,7; 0,3; 0,15; 0,07; 0,03 мкг/мл его влияние на концентрированную и разреженную культуру *E. coli* отсутствует.

Таким образом, ампициллин не обладает бактериостатическим действием на исследуемый штамм *E. coli*. Антибиотик хлорамфеникол сильнее подавляет рост разреженной культуры *E. coli*. Бактериостатическое действие хлорамфеникола через 4 и 22 часа выражено лучше при высоких концентрациях антибиотика - 100; 50 мкг/мл во всех вариантах измерения (концентрированная и разреженная культуры, оптическая плотность и люминесценция); через 22 часа выражено бактериостатическое действие хлорамфеникола при концентрациях 25 и 12 мкг/мл для концентрированной и разреженной культуры.

3.2. Влияние препарата полибактериофага поливалентного на жизнеспособность *E. coli*

Анализ графиков, изображённых в приложениях 6-9 показывает, что через 4 часа препарат бактериофага при всех вариантах начального объёмного соотношения с культурой *E. coli* подавил жизнеспособность и концентрированной, и разреженной культуры.

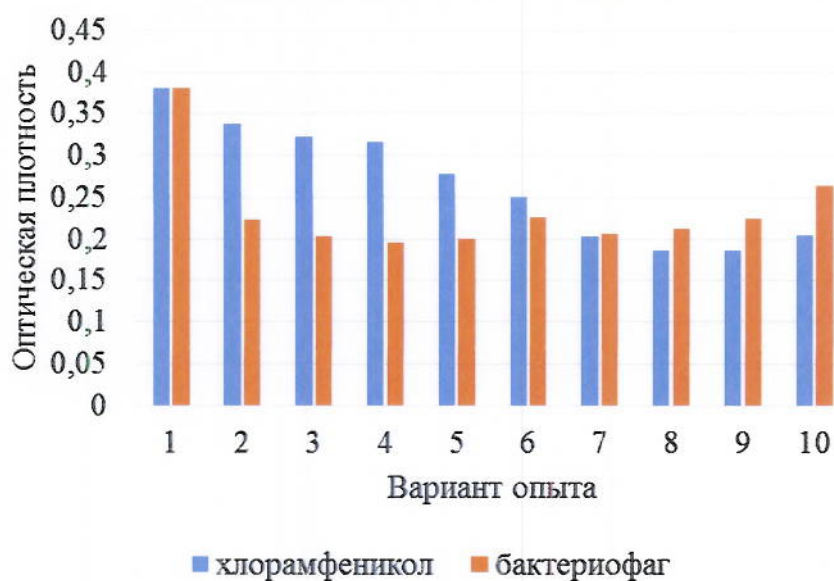
Через 22 часа разница в трендах графиков контрольного и опытных вариантов была весьма значительна и для концентрированной, и для разреженной культуры. Графики опытных вариантов через 22 часа собираются практически в одной точке, близкой к «0». Исключение составляет график динамики оптической плотности концентрированной культуры *E. coli*.

Таким образом, бактериостатическое действие препарата полибактериофага поливалентного выражено при всех исследуемых

Рис. 1. Оптическая плотность концентрированной культуры *E. coli* через 4 часа выдержки с антибактериальным препаратом



Рис.2. Оптическая плотность разреженной культуры *E.coli* через 4 часа выдержки с антибактериальным препаратом



Варианты опыта: Хлорамфеникол в концентрации: 1–контроль, 0мкг/мл, 2–0,3мкг/мл, 3–0,7мкг/мл, 4–1,5мкг/мл, 5–3мкг/мл, 6–6мкг/мл, 7–12мкг/мл, 8–25мкг/мл, 9–50мкг/мл, 10–100 мкг/мл.

Пиобактериофаг поливалентный в соотношении с культурой: 1-контроль, 2-1:639, 3-1:319, 4-1:159, 5-1:79, 6-1:39, 7-1:19, 8-1:9, 9-1:3, 10-1:1.

Рис. 3. Оптическая плотность концентрированной культуры *E. coli* через 22 часа выдержки с антибактериальным препаратом

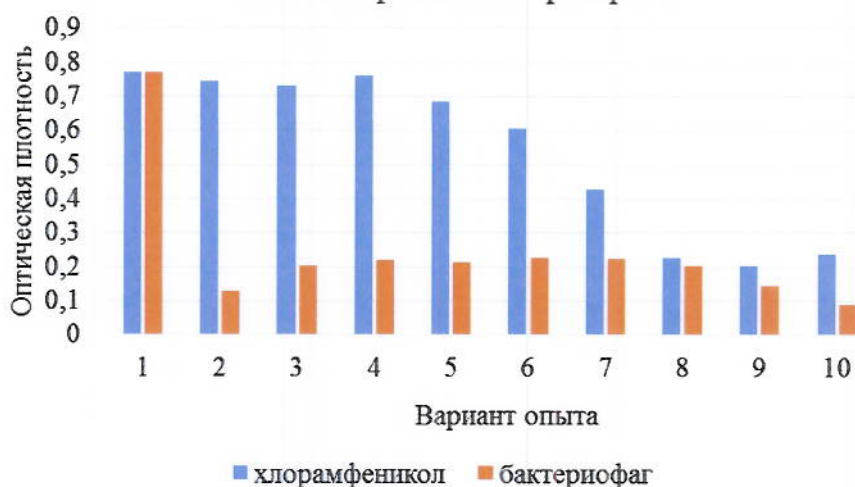
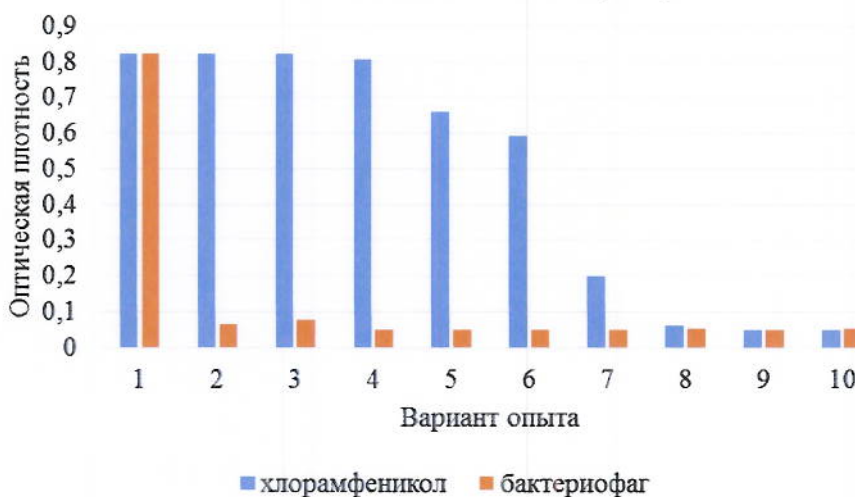


Рис.4. Оптическая плотность разреженной культуры *E. coli* через 22 часа выдержки с антибактериальным препаратом



Варианты опыта: Хлорамфеникол в концентрации: 1–контроль, 0мкг/мл, 2–0,3мкг/мл, 3–0,7мкг/мл, 4–1,5мкг/мл, 5–3мкг/мл, 6–6мкг/мл, 7–12мкг/мл, 8–25мкг/мл, 9–50мкг/мл, 10–100 мкг/мл.

Пиобактериофаг поливалентный в соотношении с культурой: 1–контроль, 2–1:639, 3–1:319, 4–1:159, 5–1:79, 6–1:39, 7–1:19, 8–1:9, 9–1:3, 10–1:1.

Заключение

В результате нашего исследования получены следующие выводы:

1. Люминесценция и оптическая плотность позволяют выявить бактерицидные свойства как антибиотика хлорамфеникола, так и пиобактериофага поливалентного в обеих экспериментальных моделях.

2. В модели «неосложненная рана» действие пиобактериофага поливалентного проявлялось раньше и не зависело от исходной дозы, в отличие от хлорамфеникола.

3. В модели «осложненная гнойно-септическая рана» низкие концентрации хлорамфеникола не оказывали влияние на подавление роста и метаболизма *E. coli*, в то время как пиобактериофаг поливалентный эффективно снижал рост бактерий в соответствии с данными оптической плотности и люминесценции.

Рабочая гипотеза подтвердилась: препарат пиобактериофага поливалентного по сравнению с антибиотиком хлорамфениколом является не менее эффективным, чем антибиотик при высоких концентрациях, и более эффективным при низких концентрациях средством, подавляющим жизнеспособность микроорганизма *E. coli*.

Практические рекомендации. На основании полученных данных об эффективном подавлении жизнеспособности разреженной культуры *E. coli* пиобактериофагом поливалентным рекомендуем использовать его для обработки свежееинфицированных ран и послеоперационных швов для профилактики гнойных осложнений, вызванных условно-патогенным микроорганизмом *E. coli*.

Результаты, полученные в нашем исследовании, и литературные данные о том, что бактериофаги - препараты, которые лишены недостатков антибиотиков и антисептиков: уничтожают бактерии, не взаимодействуя с клетками человеческого организма, не вызывают дисбактериоз, подавление иммунитета, не оказывают токсического воздействия на организм; позволяют нам сделать заключение о преимуществе препаратов бактериофагов над

препаратами антибиотиков. При формировании у бактерий адаптаций, позволяющих избежать гибели при поражении фагом, у бактериофагов формируются адаптации, повышающие их бактериостатические свойства – бактерии и бактериофаги коэволюционируют.

Данным исследованием мы хотели привлечь внимание биологов, врачей, фармацевтов к альтернативным способам терапии гнойно-септических заболеваний с целью снижения загрязнения окружающей среды антибиотиками.

Список используемых источников

1. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник. – М., 2005. – 736 с.
2. Воробьев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М., 2004. – 688 с.
3. Данилов, В.С. Сенсорные биолуминесцентные системы на основе lux-оперонов разных видов люминесцентных бактерий / В.С. Данилов, А.П. Зарубина, Г.Е. Ерошников // Вестник МГУ, серия 16, Биология. – 2002. – №3. – С.20–23.
4. Ефременкова, О. Антибиотики: жизнь продолжается / О. Ефременкова // Наука и жизнь. – 2006. – №8. – С.48 - 54.
5. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения ЛЕВОМЕКОЛЬ. Производитель ОАО «НИЖФАРМ», Россия. – 2017 г.
6. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения ПИОБАКТЕРИОФАГ ПОЛИВАЛЕНТНЫЙ ОЧИЩЕННЫЙ. Производитель ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, филиал г. Уфа. – 2017 г.
7. Лысак, В.В. Микробиология: учеб. пособие. Минск, 2007. – 426 с.
8. Намазова-Баранова, Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л.С. Намазова-Баранова, А.А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Том14, № 5. – С. 341 – 354.
9. Салмина, Т.А. Опыт применения пиобактериофага поливалентного очищенного для лечения гнойных ран при длительном и неэффективном лечении антибактериальными препаратами / Т.А. Салмина, А.И. Цыгипало, А.С. Шкода // Трудный пациент. – 2016. – Том 14, №10–11. – С. 23-29.
10. Ильина Н.А., Карпеева Е.А., Гусева И.Т. E. coli как условно-патогенные бактерии кишечника человека // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – № 9. – С. 60-62; URL: <http://www.top-technologies.ru/ru/article/view?id=24205> (дата обращения: 28.03.2018).

11. Практическое руководство по антиинфекционной терапии. Под редакцией Стречунского Л.С., Белоусова Ю.Б. Козлова С.Н; URL: <http://www.antibiotic.ru/ab/082-83.shtml> (дата обращения 18.03.2018).

12. Присада, Т.В. Фаги атакуют. Отечественная история производства и применения бактериофагов / Т. В. Присада, М. Г. Ефимова, А. Н. Дабижева, Н. Н. Ворошилова // Наука из первых рук. – 2016. – Том 70, № 4. – С. 22-31; URL: <https://scfh.ru/papers/fagi-atakuyut/> (дата обращения: 28.03.2018)

13. Устойчивость к антибиотикам. Информационный бюллетень ВОЗ; URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/ru/> (дата обращения: 30.03.2018)

14. E. coli genotypes [электронный ресурс] URL: https://openwetware.org/wiki/E._coli_genotypes#TG1_.28Lucigen.29 (дата обращения 17.03.2018).

ПРИЛОЖЕНИЯ

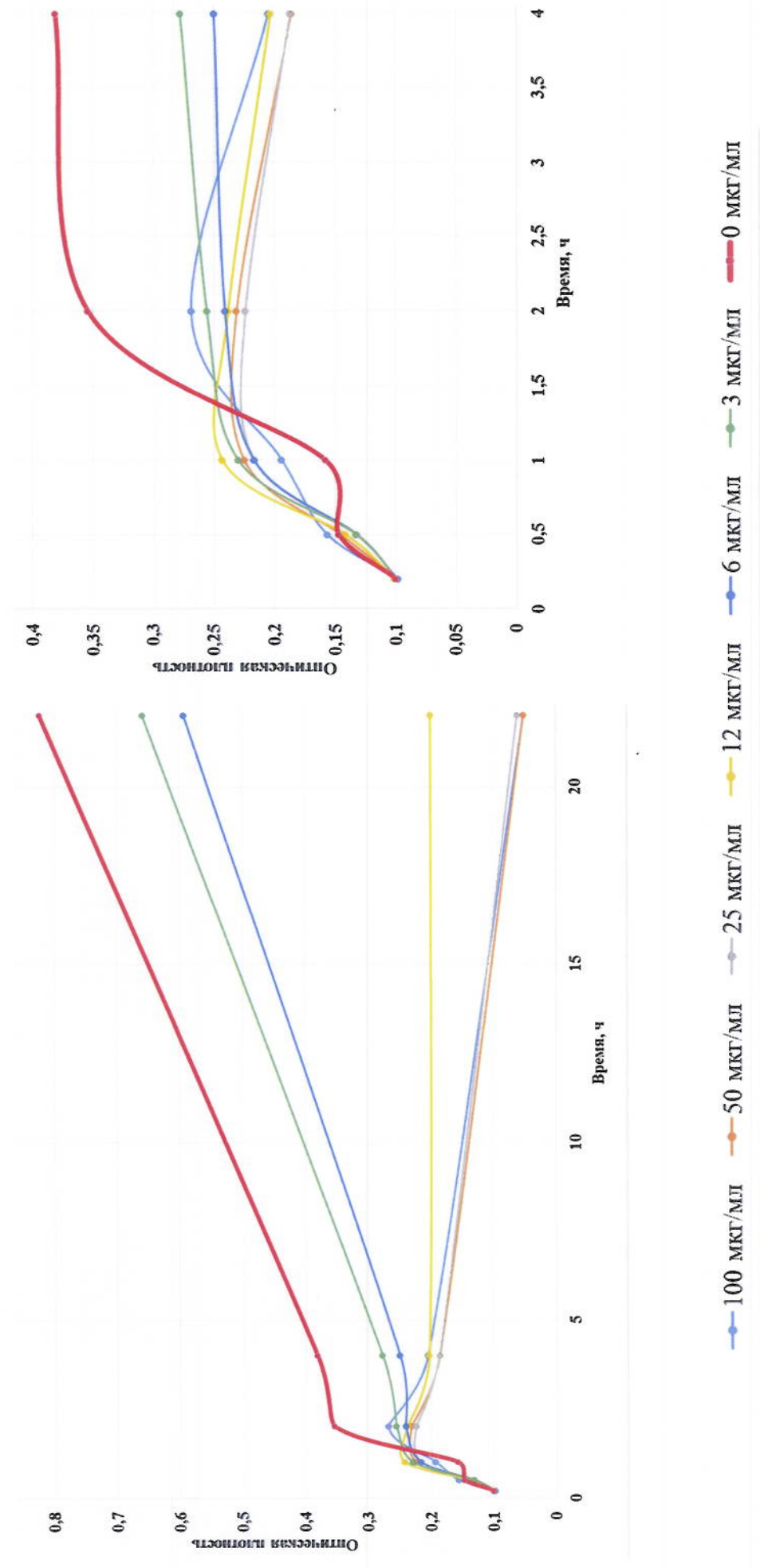
Оптическая плотность культуры *E.coli* при культивировании с ампициллином

Время, ч	Концентрация ампициллина, мкг/мл													
	Вид	0	0,03	0,07	0,15	0,3	0,7	1,5	3	6	12	25	50	100
0,2	К	0,316	0,331	0,335	0,329	0,336	0,331	0,337	0,334	0,333	0,336	0,336	0,335	0,321
	Р	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,099	0,099	0,100	0,100	0,100	0,100	0,099
0,5	К	0,396	0,424	0,413	0,412	0,401	0,399	0,416	0,407	0,422	0,424	0,440	0,433	0,407
	Р	0,147	0,151	0,142	0,135	0,137	0,130	0,119	0,134	0,135	0,134	0,140	0,176	0,157
1	К	0,490	0,493	0,528	0,518	0,519	0,510	0,536	0,527	0,578	0,567	0,601	0,568	0,503
	Р	0,158	0,186	0,243	0,225	0,250	0,247	0,238	0,246	0,226	0,259	0,258	0,292	0,190
2	К	0,569	0,645	0,582	0,563	0,565	0,555	0,573	0,564	0,582	0,565	0,584	0,565	0,585
	Р	0,354	0,347	0,299	0,276	0,284	0,294	0,292	0,288	0,282	0,302	0,276	0,271	0,265
4	К	0,545	0,553	0,519	0,528	0,555	0,546	0,565	0,546	0,564	0,558	0,588	0,572	0,552
	Р	0,381	0,383	0,343	0,327	0,325	0,331	0,335	0,337	0,340	0,343	0,295	0,325	0,325
22	К	0,770	0,758	0,791	0,777	0,787	0,792	0,808	0,775	0,803	0,810	0,809	0,798	0,789
	Р	0,823	0,785	0,857	0,843	0,835	0,845	0,845	0,847	0,859	0,829	0,785	0,802	0,777

К – концентрированная культура, Р – разреженная культура

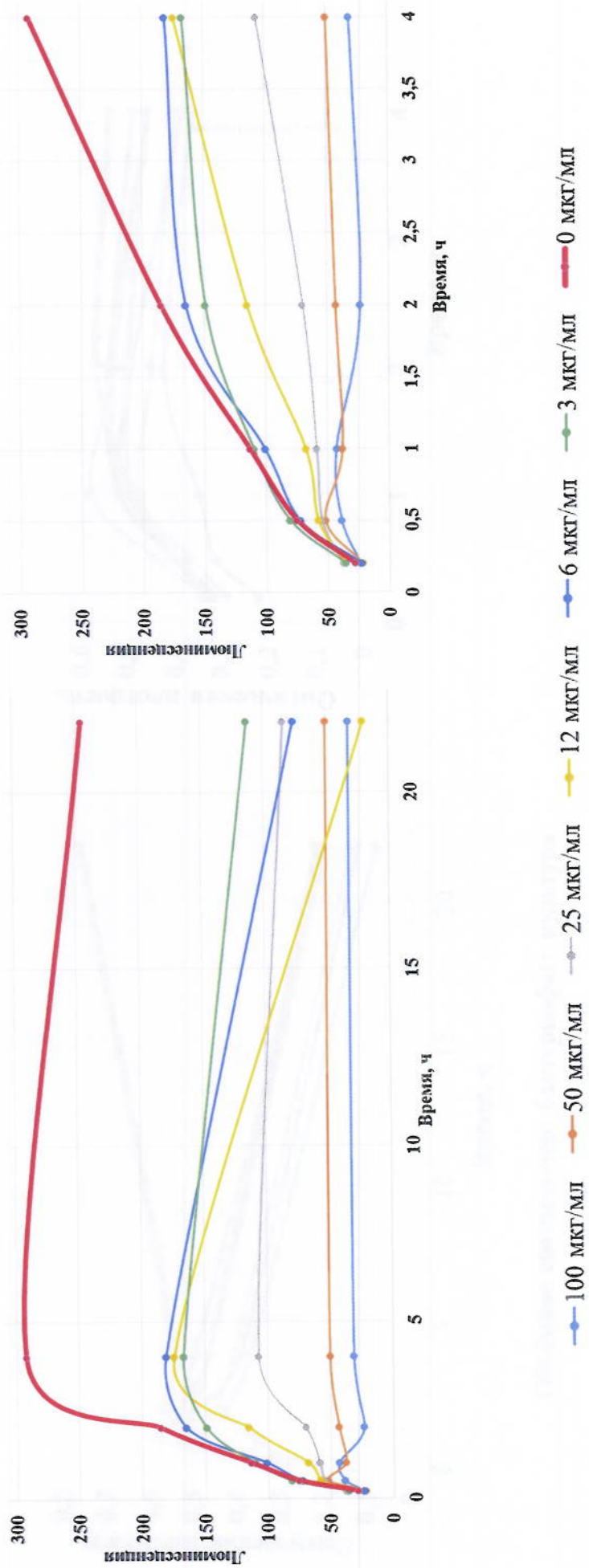
Приложение 4

Динамика оптической плотности разреженной культуры *E. coli* при действии разных концентраций хлорамфеникола

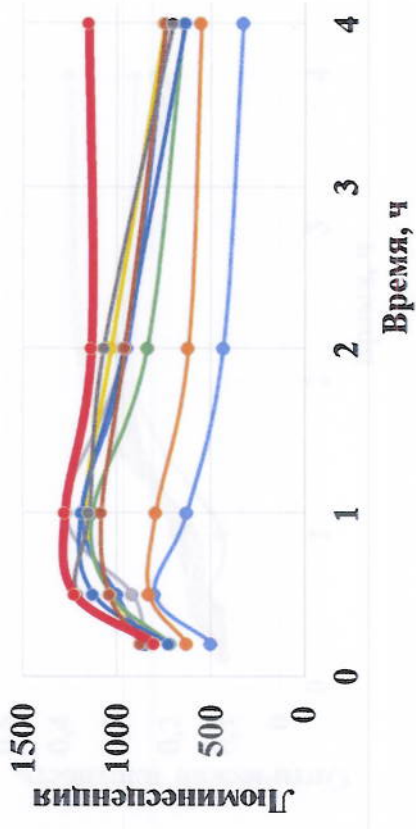
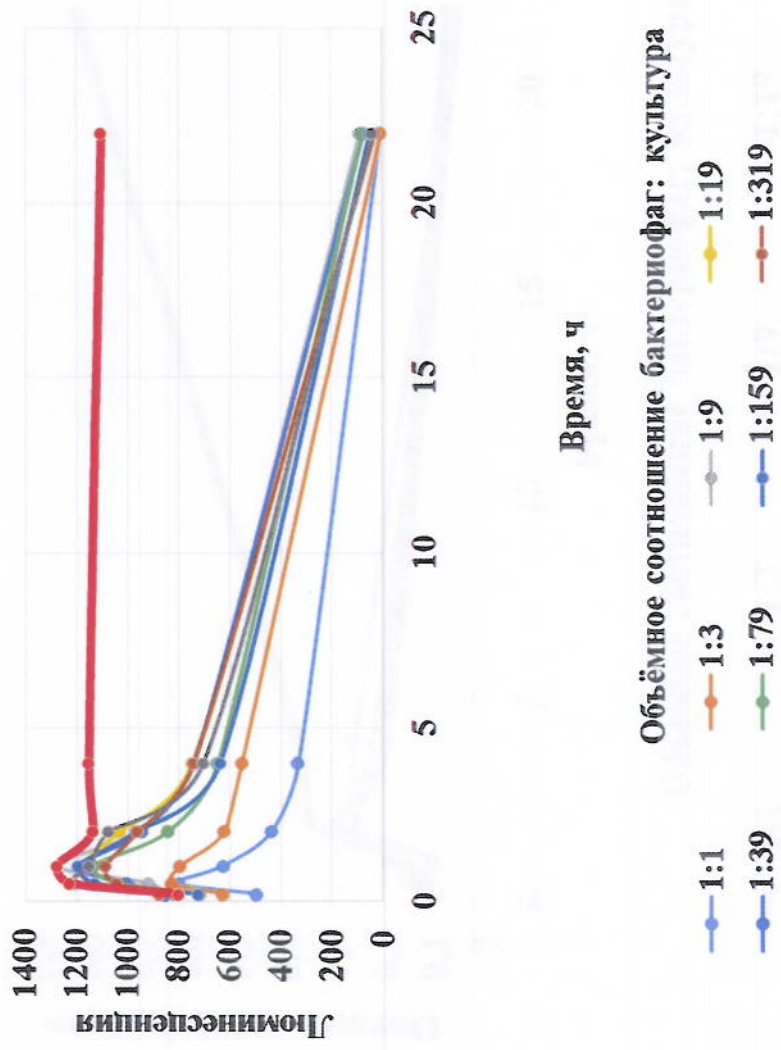


Приложение 5

Динамика люминесценции разреженной культуры *E. coli* при действии разных концентраций хлорамфеникола



Динамика люминесценции концентрированной культуры *E. coli* при действии препарата пибактериофага поливалентного



Динамика люминесценции разреженной культуры *E. coli* при действии препарата пибактериофага поливалентного

