

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ТУР

Таблица заполняется жюри

№ задания	Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итого
1	2	Тесса	2	Новосилов	2
2	2	И	2	Новосилов	2
3	4	Новосилов	4	Тесса	4
4	3	Тесса	4	И	4
5	6	И	6	Новосилов	6
6	2	Новосилов	2	Тесса	2
7	3	Тесса	3	И	3
8	4	И	4	Новосилов	4
9	6	Новосилов	6	Тесса	6
10	3	Тесса	3	И	3
11	4	И	4	Новосилов	4
12	4	Новосилов	4	Тесса	4
13	1	Тесса	1	Андрей	1
14	0	И	0	Андрей	0
15	4	Андрей	4	И	4
16	4	Тесса	4	Новосилов	4
17	6	Новосилов	6	И	6

ШИФР			
1	1	1	8

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

595

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

Задание 1

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

1. Экология бурно развивается как самостоятельная наука и сильно связана со многими науками, в том числе и биологическими

2. Экология влияет на большинство сфер общества, растёт уровень экологического образования, принимаются политические решения, появляется понятие „зелёная экономика“

3. Выявление экологических требований - непрерывное условие реализации, так как человек обязан следить за состоянием окружающей среды.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
2	Зееее	2	Мовшиов	2

Задание 2

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

1. Наблюдаются климатические изменения и изменение сред обитания

2. Насекомые приспособлены к менее широкому спектру условий, чем млекопитающие, поэтому различного рода изменения сильнее сказываются на насекомых.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
2		2	Новиков	2

Задание 3

Укажите условия. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. Да, попугайчик может расти, но при определенных условиях

2. 1) Коэффициент выживаемости птенцов должен быть максимально высоким

2) У особей этого вида птицы должна быть высокая продолжительность жизни

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
4	Новиков	4		4

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

Задание 4

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

1. И плодовитость и смертность способны контролировать численность популяции
2. Да, могут; При высокой плодovitости может наблюдаться высокая смертность, которая будет уменьшать количество не только детенышей, но и остальных особей.
Множество эмбрионов внутри акулы падает от удушья и рождается только один.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
3	<i>[Signature]</i>	3	<i>[Signature]</i>	3

Задание 5

Укажите факторы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1. Конкуренция, как внутривидовая, так и межвидовая, которые вступают в борьбу за ресурсы (территория, добыча, партнёр, и т.д.)
2. Паразиты, при увеличении численности популяции увеличивается численность паразитов, способных вызвать повышение смертности, и, как следствие, сокращение численности особей в популяции

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

3. Хищники, при увеличении численности популяции может возрасти количество хищников, которые будут уменьшать численность особей в популяции

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
6		6	Новосилов	6

Задание 6

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

Высокая рождаемость, так как (количество пелургов) ёлкасть фредс увеличилась, то её хватает на большее количество особей, которое будет увеличиваться в следствие высокой рождаемости

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
2	Новосилов	2		2

Задание 7

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

1. Виды с узким спектром условий остаются в условиях, привлекательных для них. => численность вида меньше колеблется

11 18

2. Измерения проводятся более шавно =>
у организмов высе шанс приспособиться,
и не погибнуть.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
3		3		3

Задание 8

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

1. Из-за повышения температура вешная мерзлота начинает таять и, как следствие, выделение метана увеличивается.

2. Метан является одним из парниковых газов, следовательно, выделение метана усиливает парниковый эффект, следовательно температура повышается

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
4		4	Новосилов	4

Задание 9

Укажите направления. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 8 баллов.

1. Парниковый эффект вызовет потепление мирового океана и изменение ареалов обитания организмов
2. Из-за повышения CO_2 увеличится количество продуцентов
3. Из-за повышения температура воды увеличивается её способность переносить O_2 , следствие - обеспечение экосистем.
4. CO_2 может соединиться с водой в угольную кислоту и вызвать смерть некоторых животных

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
6	Ковалев	6	Ковалев	6

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

Задание 10

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

1. При сжигании нефти и газа образуется меньше CO_2 , чем при сжигании угля.

2. Следующий глобальный переход будет совершён в сторону альтернативных источников энергии на пример: гидроэлектростанции, а также солнечные, геотермальные, ветряные и приливные.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итого
3	<i>Госев</i>	3	<i>М</i>	3

Задание 11

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

1. Это происходит из-за большого выброса парниковых газов

2. Документы направлены на выработку международных соглашений и уменьшение выбросов парниковых газов для снижения парникового эффекта

3. Да, так как вместе с CO_2 вылетают различные загрязняющие среду вещества

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
4		4	Новосилов	4

Задание 12

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

1. Речь идёт о выделении парниковых газов, так как большинство договоров об их уменьшении не имеют реальной силы.

2. Уменьшение выделения парниковых газов, главным образом: переходом к альтернативным источникам энергии и электромобилям.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
4	Новосилов	4		4

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

Задание 13

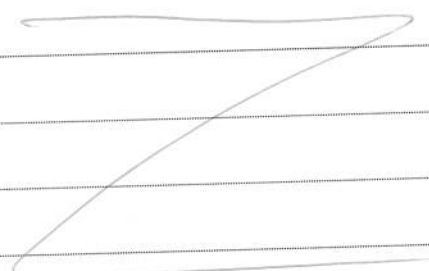
Ответьте на вопросы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1. Уменьшение числа перелётов вызывает уменьшение выбросов CO_2
2. Одежда и обувь может производиться из кожи и шкур животных, уменьшение приобретения новой одежды уменьшает количество используемых животных
3. Уменьшение потребления мяса уменьшает забой скота \Rightarrow животные не умирают.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
1	<i>Сергей</i>	1	<i>Андрей</i>	1

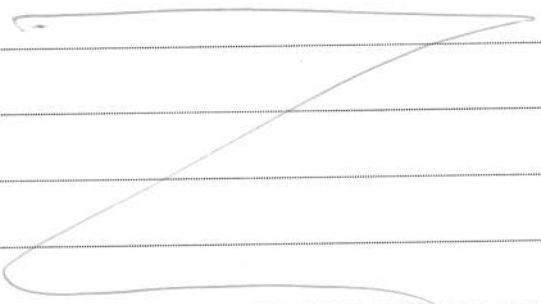
Задание 14

Укажите аргументы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 4 балла.

1. 

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

2.



Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
0	<i>Еф.</i>	0	<i>Мран</i>	0

Задание 15

Укажите направления. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1. Зелёная экономика направлена на уменьшение выделений различных веществ в среду и соблюдение экологических требований

2. Низкоуглеродная экономика направлена на уменьшения выделения CO_2

3. Экономика замкнутого цикла направлена на вторичное использование отходов производства

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
4	<i>Мран</i>	4	<i>Еф.</i>	4

ВСЕРОССИЙСКАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО ЭКОЛОГИИ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЭТАП - 2020 ГОД
11 КЛАСС

Задание 16

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

1. Уменьшение числа перелётов вызывает уменьшение выбросов CO_2
2. Одежда и обувь может производиться из шкур и кот животных, уменьшение приобретения новой одежды уменьшает количество использованных животных
3. Уменьшение потребления мяса уменьшает забой скота \Rightarrow животные не умирают.

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итог
4	Савин	4	Новосилов	4

Задание 17

Укажите проблемы. За ответ от 0 до 2 баллов. Всего за задание 6 баллов.

1. При использовании бумаги с двух сторон уменьшается её потребление, а следовательно, уменьшается вырубка деревьев

2. При уменьшении вырубки деревьев увеличивается ~~вырубка~~ уничтожение лесов, а следовательно ~~увеличивается~~ уменьшается угроза уменьшения видового разнообразия

3. При увеличении производства сумки ~~увеличивается~~ уменьшается количество ^{образованных} опасных отходов

Балл	Проверил	Балл	Проверил	Итого
6	Ковшиков	6	Я.	6

ФИО участника: Затворинский Лев Евгеньевич

Территория, ОО: г. Пермь

Название работы: Влияние антропогенной деятельности на изменение микробиоты кишечника и ее роль в развитии дисбиоза кишечника у детей. Влияние условий среды на развитие микробиоты кишечника и ее роль в развитии дисбиоза кишечника. Влияние условий среды на развитие микробиоты кишечника и ее роль в развитии дисбиоза кишечника.

Общий балл (максимальное количество баллов за проект - 36):

30

Члены жюри: Банников М.А. [подпись]
Козлова М.А. [подпись]

Максимальное количество баллов за рукопись проекта - 18.

Критерий	Показатель	Балл
Творческий подход и оригинальность работы	Представлены полностью, не вызывают сомнений	2
	Представлены частично	1
	Отсутствуют	0
Структурированность, четкость и лаконичность изложения	Текст структурирован, чёткий стиль изложения	2
	Текст недостаточно чётко структурирован	1
	Структура текста и форма изложения неудовлетворительны	0
Логика изложения	Представлена полностью, не вызывает сомнений	2
	Представлена частично, есть недочёты	1
	Не представлена или есть серьезные нарушения, не прослеживается	0
Соответствие темы, цели и задач содержанию работы и выводам	Полное соответствие	2
	Не полное соответствие, есть отклонения	1
	Нет соответствия, серьезные отклонения	0
Обоснованность темы (введение)	Представлена полностью	2
	Представлена частично	1
	Отсутствует или не убедительна	0
Адекватность подходов и методов исследования (материал и методы)	Полное соответствие подходов и методов поставленной цели	2
	Не полное соответствие	1
	Не соответствует или вызывает сомнения	0
Соответствие объема выполненной работы и результатов исследования для достижения цели работы (результаты)	Соответствует, достаточный объем выполненной работы и результатов для обоснования выводов	2
	Не полностью соответствует	1
	Не соответствует	0
Обоснованность критического обзора состояния проблемы (обсуждение и библиография)	Представлен достаточный критический обзор	2
	Недостаточно полный	1
	Отсутствует или есть серьезные пробелы	0
Обоснованность выводов (выводы)	Полностью обоснованы	2
	Обоснованы частично	1
	Отсутствует удовлетворительное обоснование	0

Критерий	Показатель	Балл
Адекватность (соответствие) выступления заявленной теме и выполненному проекту	Полностью соответствует	2
	Не полностью раскрывает суть и основные Положения проекта	1
	Выступление не соответствует теме заявленного проекта	0
Выстроенность, логика выступления	Полностью логически выстроенное представление проекта	2
	Есть недочёты в представлении проекта	1
	Логика выступления не просматривается или вызывает сомнение	0
Лаконичность и четкость выступления	Чёткий и ясный стиль выступления	2
	Есть недочёты в форме представления проекта	1
	Стиль изложения затрудняет понимание сути проекта	0
Владение материалом, способность отвечать на вопросы	Свободное владение материалом	2
	Неполные ответы	1
	Затруднения с ответами	0
Способность ведения дискуссии, убедительность аргументации, демонстрация заинтересованности	Убедительно и заинтересованно	2
	Затруднения в ведении дискуссии	1
	Неубедительно	0
Постановка проблемы (актуальность, приоритетность)	Полностью аргументирована	2
	Представлена лишь схематично	1
	Не убедительна, вызывает серьезные сомнения	0
Обоснованность логики выполнения проекта	Полностью обоснована, логика выполнения проекта не вызывает сомнений	2
	Обоснована не полностью	1
	Отсутствует или вызывает серьезные сомнения	0
Обоснованность положений, выносимых на защиту проекта	Полностью обоснованы	2
	Частично обоснованы	1
	Есть необоснованные положения или обоснование неубедительно	0
Обоснование значимости работы и перспектив дальнейших исследований	Представлено полностью, убедительно	2
	Представлено неполно	1
	Не представлено, не убедительно, вызывает сомнения	0

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



**Изучение эффективности использования антибактериальных препаратов
для подавления роста смешанной культуры условно-патогенных
микроорганизмов *Escherichia coli* и *Staphylococcus epidermidis***

Автор: суворовец 11 В класса
Затворницкий Лев Евгеньевич,
Руководитель: преподаватель
отдельной дисциплины (биология),
кандидат биологических наук
Елтышева Ирина Валерьевна

Пермский край, 2019

Оглавление

Введение	3
1. Обзор литературы	5
1.1. <i>E. coli</i> и <i>S. epidermidis</i> как условно-патогенные микроорганизмы.....	5
1.2. Этиология раневой инфекции и гнойно-воспалительных заболеваний	6
1.3. Принцип действия антибактериальных препаратов.....	7
2. Материалы и методы исследования	9
2.1. Исследуемые штаммы и среды культивирования	9
2.2. Антибактериальные препараты	9
2.3. Методы исследования	10
3. Результаты и их обсуждение.....	12
3.1. Влияние антибактериальных препаратов на жизнеспособность <i>E. coli</i> и <i>S. epidermidis</i> в моновидовых и смешанной культуре	12
3.2. Влияние антибактериальных препаратов на жизнеспособность <i>E. coli</i> и <i>S. epidermidis</i> в моновидовых и смешанной культуре в 2%-ном растворе NaCl .	14
3.3 Сравнение способов применения, противопоказаний и побочного действия цефтриаксона, пиобактериофага поливалентного, хлоргексидина ..	17
Выводы и практические рекомендации	18
Список используемых источников.....	19

Введение

Успехи в синтезе и применении антибиотиков не решили проблемы лечения инфекционных заболеваний и профилактики постхирургических осложнений гнойных инфекций.

Устойчивость бактерий к антибиотикам — актуальная проблема в наземных или водных средах. 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. Широкое применение антибиотиков привело к появлению высоковирулентных множественнорезистентных вариантов бактерий. Разработка новых препаратов антибиотиков отстаёт от темпов эволюции микроорганизмов, эта проблема обозначена в статьях учёных [7, 12].

Примерно 50% всех госпитальных инфекций в настоящее время вызываются резистентными к антимикробным препаратам микроорганизмами [14]. Одними из доминирующих видов в развитии инфекций являются *Staphylococcus epidermidis* [4, 10, 14] и *Escherichia coli* [4, 13].

К антибактериальным препаратам относят антисептики, антибиотики, бактериофаги. Сегодня Россия остается мировым лидером по выпуску бактериофагов [17]. Однако в литературе мало данных об использовании препаратов бактериофагов для лечения и профилактики различных инфекций [1, 13].

Целью исследования является изучение эффективности использования

антибактериальных препаратов (антибиотиков хлорамфеникола и цефтриаксона, пиобактериофага поливалентного и антисептика хлоргексидина) для подавления роста смешанной культуры условно-патогенных микроорганизмов *Escherichia coli* и *Staphylococcus epidermidis* (далее – *E. coli* и *S. epidermidis*).

Задачи:

1. Изучить влияние антибактериальных препаратов (антибиотиков хлорамфеникола и цефтриаксона, пиобактериофага поливалентного и хлоргексидина) на жизнеспособность условно-патогенных микроорганизмов *E. coli* и *S. epidermidis* в смешанной культуре в условиях физиологического раствора и повышенного содержания NaCl.

2. Оценить уровень люминесценции *E. coli* в составе смешанной культуры при действии антибактериальных препаратов в условиях физиологического раствора и повышенного содержания NaCl.

3. Сравнить способы применения, противопоказания и побочные действия антибактериальных препаратов, которые наиболее эффективно подавляют рост условно-патогенных микроорганизмов *E. coli* и *S. epidermidis* в смешанной культуре.

Практическая значимость работы заключается в том, чтобы подобрать наиболее эффективные антибактериальные препараты для лечения инфекционных заболеваний и профилактики послеоперационных осложнений, возбудителями которых являются одновременно *E. coli* и *S. epidermidis*.

Новизна исследования заключается в том, что изучено влияние антибактериальных препаратов разного принципа действия на бактерии *E. coli* и *S. epidermidis* в смешанной культуре на фоне повышенного содержания NaCl (2%).

Исследование проводилось на базе лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

1. Обзор литературы

1.1. *E. coli* и *S. epidermidis* как условно-патогенные микроорганизмы

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 [11].

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 [16]. К таковым следует отнести: применение антибиотиков, гормонов, иммунодепрессантов, лучевой терапии; хирургические операции, длительное воздействие неблагоприятных экологических факторов в быту и на производстве; острые кишечные инфекции, различные хронические заболевания органов пищеварения; нервно-психический стресс; голодание, авитаминоз [2].

Staphylococcus epidermidis относится к семейству *Micrococcaceae*. Клетки стафилококков имеют форму правильных шаров диаметром 0,5–1,5 мкм. Они располагаются поодиночке, парами, но чаще образуют группы клеток, напоминающие гроздь винограда. Неподвижны, спор не образуют, грамположительны, факультативные анаэробы. Характерное свойство стафилококков – способность большинства штаммов расти на питательных средах, содержащих 15 % NaCl или 40 % желчи. Бактерии вида *S. epidermidis* являются частью нормальной микрофлоры кожи и слизистых человека и животных [6].

Стафилококки играют большую роль при смешанных инфекциях: их обнаруживают вместе со стрептококками при раневых инфекциях, дифтерии, туберкулезе, ангинах, гриппе и других острых респираторных заболеваниях [11]. В последние годы участились случаи гнойно-септических инфекций у людей,

возбудителем которых является *S. epidermidis*. Наряду с другими видами стафилококков он значительно чаще стал регистрироваться при госпитальных инфекциях, особенно у больных в отделениях интенсивной терапии и хирургических отделениях [9]. Обладая выраженной способностью к образованию биопленок на поверхностях различных материалов, в том числе на поверхностях полимерных и металлических медицинских устройств, бактерии *S. epidermidis* составляют около 80% штаммов, участвующих в биоматериал-ассоциированных инфекциях [15].

1.2. Этиология раневой инфекции и гнойно-воспалительных заболеваний

Этиологическая структура раневой инфекции зависит от типа и локализации раны, времени и места инфицирования. При бытовых, производственных, боевых ранениях микроорганизмы проникают в рану с поверхности ранящего орудия, одежды, поврежденного участка кожи и органов, содержащих собственную микрофлору. Эти условно-патогенные микроорганизмы обладают низкой вирулентностью и чувствительностью к антибиотикам и антисептикам.

Во время пребывания в больничном стационаре может происходить инфицирование раны другими видами возбудителей или тем же видом, но иным вариантом. Как правило, вновь попавшие в рану микроорганизмы относятся к больничным штаммам, они устойчивы к факторам неспецифической защиты организма хозяина и антимикробным препаратам. В результате происходит вытеснение внебольничных вариантов из раны.

Возбудителями гнойно-воспалительных процессов при ранениях кожи и мягких тканей являются золотистый и эпидермальный стафилококки, реже — пиогенный стрептококк, протей, синегнойные бактерии, энтеробактерии, бактероиды. На начальных этапах гнойно-воспалительных процессов в ране нередко обнаруживаются монопопуляции, на последующих этапах возрастает процент смешанных инфекций.

После спонтанного или хирургического вскрытия часто происходит суперинфекция больничными штаммами того же вида или вторичная инфекция другими видами, чаще грамотрицательными бактериями (кишечной палочкой, протеем, синегнойными бактериями). Постинъекционные абсцессы и флегмоны вызываются больничными штаммами тех же видов, как и послеоперационные инфекции. Вторичная инфекция чаще носит смешанный характер с преобладанием грамотрицательных бактерий [2].

Развитие инфекционного процесса в боевой и послеоперационной ране приводит к поверхностным и глубоким гнойным абсцессам, гнойно-некротическим процессам. Инфицированная рана может стать причиной бессимптомной бактериемии, при которой кровь выполняет транспортную функцию для микроорганизмов, резко истощая компенсаторные механизмы больного; септикопиемии – развития вторичных гнойных очагов во внутренних органах, при массивном поступлении в кровь бактерий и их токсинов может развиваться бактериемический или токсико-септический шок. Генерализованной формой инфекции является сепсис – состояние, которое характеризуется размножением возбудителя в крови вследствие снижения иммунных механизмов [3].

1.3. Принцип действия антибактериальных препаратов

К антибактериальным препаратам относят антисептики, антибиотики, бактериофаги.

В проводимом исследовании изучали влияние антибиотиков хлорамфеникола, цефтриаксона, пиобактериофага поливалентного и хлоргексидина на жизнеспособность смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis*.

Хлорамфеникол - продукт жизнедеятельности микроорганизма *Streptomyces venezuelae* - является одним из ранних природных антимикробных препаратов, он был получен в конце 40-х годов. Бактериостатическое действие

данного препарата связано с нарушением синтеза белка рибосомами. Хлорамфеникол действует на многие грамположительные и грамотрицательные бактерии [18]. Хлорамфеникол является компонентом мази «Левомеколь», которая используется для лечения гнойных ран в первой (гнойно-некротической) фазе раневого процесса.

Цефтриаксон – цефалоспориновый антибиотик III поколения. Активен в отношении грамположительных и грамотрицательных аэробов. Бактерицидная активность обусловлена подавлением синтеза муреина - компонента клеточной стенки бактерий [18].

Препарат фиобактериофаг поливалентный предназначен для лечения и профилактики различных форм гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний, вызванных бактериями *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* [18]. Процесс поражения бактериальных клеток бактериофагом включает этапы: адсорбция бактериофагов на бактериальных клетках; инъекция нуклеиновой кислоты бактериофага внутрь клетки; репликация копий нуклеиновой кислоты бактериофага; синтез белковых молекул; сборка фаговых частиц; выход зрелых фагов и смерть бактерии.

Хлоргексидин обладает антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, вирусов, дрожжеподобных грибов рода *Candida* [18]. В низких концентрациях хлоргексидин снижает проницаемость цитоплазматических мембран, при этом происходит торможение дыхательных процессов, транспорта веществ и метаболизм патогена. При более высоких концентрациях хлоргексидина происходит кристаллизация мембраны, что приводит к потере её целостности. Этот процесс в конечном итоге ведёт к гибели клеток. Высокая эффективность хлоргексидина обусловлена его способностью связываться с клетками многослойного плоского эпителия и вызывать более длительный эффект как при использовании в качестве средства для обработки рук, так и при обработке кожи [8].

2. Материалы и методы исследования

2.1. Исследуемые штаммы и среды культивирования

В проводимом исследовании использовался референтный штамм *S. epidermidis* ATCC 29887 и штамм *E. coli* TGI.

Штамм *E. coli* TGI – генно-инженерный штамм, в геном которого встроены lux-оперон светящейся бактерии *Photobacterium luminescens*. Максимальная люминесценция бактерий данного штамма наблюдается при температуре 37 °С. Данный штамм является резистентным к ампициллину, т.к. ген люциферазы встроены в плазмиду, содержащую ген фермента, разрушающего ампициллин [5].

Для культивирования использовали среду LB-бульон (Luria-Bertani). Состав среды: 1 л H₂O, 10 г триптона, 5 г дрожжевого экстракта, 5 г NaCl; pH 7,0-7,2. В часть питательных сред добавляли NaCl до конечной концентрации 2%.

Среды для селективного роста: LB с добавлением ампициллина (100 мкг/мл) — для селективного роста *E. coli* и LB с добавлением NaCl (3%-ный) — для селективного роста *S. epidermidis*.

2.2. Антибактериальные препараты

Для исследования использовали субстанцию-порошок Хлорамфеникол (Chloramphenicol) (Northeast pharmaceutical group Co., Ltd Китай), порошок Цефтриаксон (ОАО «Синтез», Курган), препарат Пиобактериофаг поливалентный очищенный (ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, филиал г. Уфа), водный раствор хлоргексидина биглюконата 0,05%-ного, (ОАО «Самарамедпром»).

Конечные концентрации антибактериальных препаратов были выбраны с учетом ингибирования роста бактерий:

1. Хлорамфеникол – 50 мкг/мл;
2. Цефтриаксон – 100 мкг/мл;

3. Разведение бактериофага 1:12;
4. Разведение хлоргексидина 1:12.

2.3. Методы исследования

Для исследования влияния антибактериальных препаратов на жизнеспособность микроорганизмов использовали ночные культуры *E. coli* и *S. epidermidis*, выращенные на шейкере при 37 °С. Для этого за 12 часов до постановки эксперимента делали посеы одиночных колоний *E. coli* и *S. epidermidis* в LB-бульон. Ночные культуры разводили в 100 раз, что соответствовало 10⁶ КОЕ/мл (КОЕ – колониеобразующая единица).

В работе использовали 2 модели:

1. Рост моновидовых и смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis* при действии антибактериальных препаратов рассматривали как модель лечения раны в стационарных условиях («чистая рана»).

2. Рост моновидовых и смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis* при действии антибактериальных препаратов в условиях повышенного содержания соли (2%-ный раствор NaCl) соответствовал условиям развития микрофлоры на фоне секреции потовых желез, что являлось моделью лечения «раны в полевых условиях».

В качестве контроля выращивали смешанную культуру без добавления антибактериальных препаратов, а также моновидовые культуры микроорганизмов.

Варианты опыта:

1. *E. coli* + *S. epidermidis*
2. *E. coli*
3. *S. epidermidis*
4. *E. coli* + *S. epidermidis* + хлорамфеникол
5. *E. coli* + *S. epidermidis* + цефтриаксон
6. *E. coli* + *S. epidermidis* + пиобактериофаг поливалентный

7. *E. coli* + *S. epidermidis* + хлоргексидин
8. *E. coli* + *S. epidermidis* + NaCl
9. *E. coli* + NaCl
10. *S. epidermidis* + NaCl
11. *E. coli* + *S. epidermidis* + NaCl + хлорамфеникол
12. *E. coli* + *S. epidermidis* + NaCl + цефтриаксон
13. *E. coli* + *S. epidermidis* + NaCl + пиобактериофаг поливалентный
14. *E. coli* + *S. epidermidis* + NaCl + хлоргексидин

Культивирование проводили в прозрачных 96-луночных планшетах в термостате статически при 37°C в течение 24 ч. В лунки планшета добавляли по 200 мкл каждой смеси в 8-кратной повторности.

В ходе эксперимента измеряли оптическую плотность культуры, люминесценцию через 0, 2, 4, 6 и 22 ч. Измерения проводили с помощью мультипланшетного ридера Synergy H1 (Biotek, США).

Через 2 и 24 ч делали 10-кратные разведения культуры, которые затем высевали на твёрдые питательные среды для селективного роста *E. coli* и *S. epidermidis*. Через сутки подсчитывали число колоний, результат представляли в виде числа КОЕ/мл.

Таким образом, для изучения эффективности антибактериальных препаратов использовали методы измерения оптической плотности, люминесценции и метод выращивания культур на селективных средах.

Математическую обработку результатов проводили с помощью программы Excel: находили среднее значение и стандартное отклонение для оптической плотности, люминесценции, числа колоний.

3. Результаты и их обсуждение

3.1. Влияние антибактериальных препаратов на жизнеспособность *E. coli* и *S. epidermidis* в моновидах и смешанной культуре

Динамика оптической плотности смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis* и моновидах культур в физиологическом растворе представлена на рисунке 1. Через 24 часа оптическая плотность смешанной культуры в вариантах опыта с антибактериальными препаратами снижена по сравнению с контрольными вариантами опыта. Значительное снижение оптической плотности наблюдается при действии цефтриаксона, полифага и хлоргексидина.

Измерение люминесценции смешанной культуры подтверждает бактерицидные свойства всех исследуемых антибактериальных препаратов в отношении *E. coli* (Рис. 2).

При оценке жизнеспособности клеток на селективных средах выявлено, что через 24 часа рост *E. coli* и *S. epidermidis* в составе смешанной культуры был подавлен при действии полифага, хлоргексидина и цефтриаксона (Рис. 3).

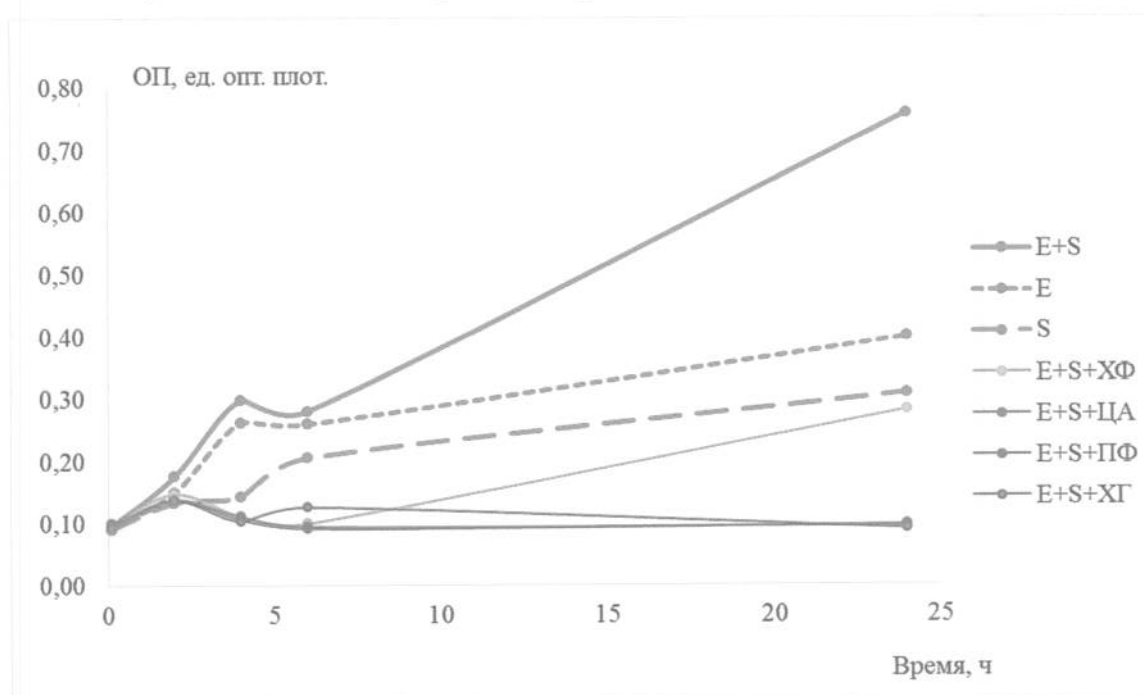


Рис. 1. Динамика оптической плотности моновидах и смешанной культур *E. coli* и *S. epidermidis* при действии антибактериальных препаратов
Примечание: ХФ—хлорамфеникол; ЦА—цефтриаксон, ПФ—полифаг, ХГ— хлоргексидин

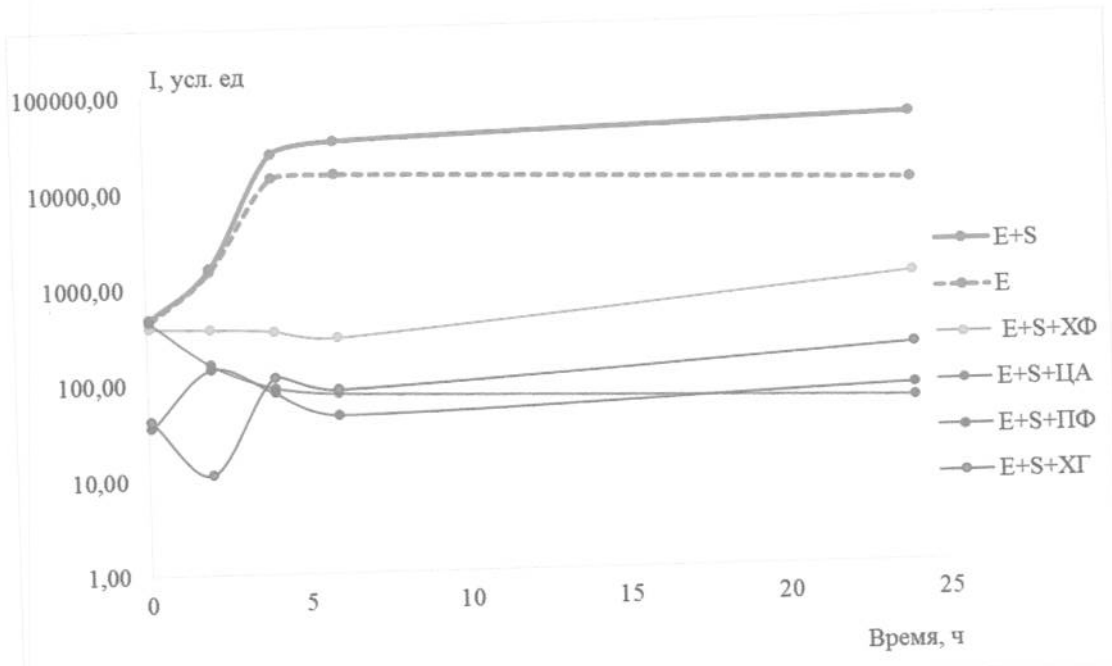


Рис. 2. Динамика люминесценции *E. coli* в моновидовой и смешанной культурах при действии антибактериальных препаратов*

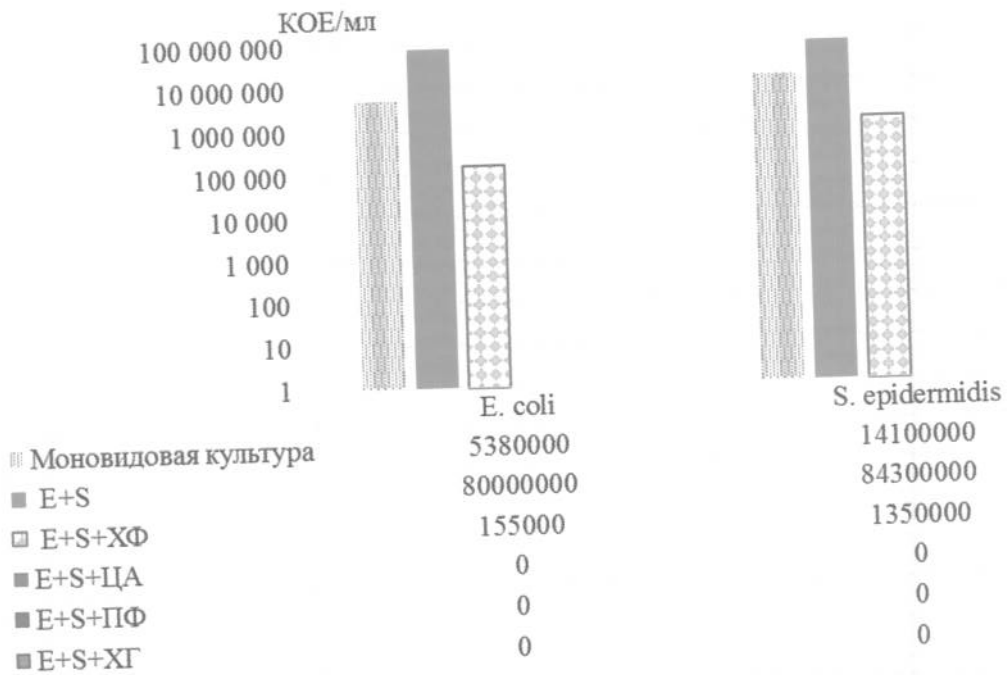


Рис. 3. Жизнеспособность *E. coli* и *S. epidermidis* в моновидовых и смешанной культурах при действии антибактериальных препаратов*
 *Примечание: ХФ—хлорамфеникол; ЦА—цефтриаксон, ПФ—полифаг, ХГ—хлоргексидин

При действии хлорамфеникола рост *S. epidermidis* подавляется незначительно. Несмотря на наличие жизнеспособных клеток *E. coli* при действии хлорамфеникола, их физиологическая активность снижена на основании результатов люминесценции (Рис. 2).

По результатам всех измерений наиболее эффективно подавляют рост *E. coli* и *S. epidermidis* в смешанной культуре в модели «чистая рана» цефтриаксон, полибактериофаг поливалентный и хлоргексидин.

3.2. Влияние антибактериальных препаратов на жизнеспособность *E. coli* и *S. epidermidis* в моновидовых и смешанной культуре в 2%-ном растворе NaCl

Динамика оптической плотности смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis* в 2%-ном растворе хлорида натрия представлена на рисунке 4. На рисунке видно, что через 24 часа оптическая плотность смешанной культуры в вариантах опыта с хлорамфениколом, цефтриаксоном, хлоргексидином снижена по сравнению с контрольными вариантами опыта. Значения оптической плотности в опытах с цефтриаксоном и хлоргексидином меньше, чем в опыте с хлорамфениколом. Полифаг не подавлял рост смешанной культуры.

Методом селективных сред выявлено, что через 24 часа рост смешанной культуры был подавлен в вариантах опыта с хлоргексидином и цефтриаксоном. Полифаг через 24 часа подавил рост *E. coli* в смешанной культуре, но колонии *S. epidermidis* в посевах обнаружены. Хлорамфеникол полностью не подавляет рост смешанной культуры, но через 24 часа заметна большая эффективность данного препарата по отношению к *E. coli* (Рис. 5).

Измерение люминесценции смешанной культуры в 2%-ном растворе хлорида натрия подтверждает бактерицидные свойства всех исследуемых антибактериальных препаратов в отношении *E. coli* (Рис. 6). Обнаружено, что 2% раствор NaCl подавляет рост *E. coli*, но не так эффективно, как антибактериальные препараты (Рис. 7).

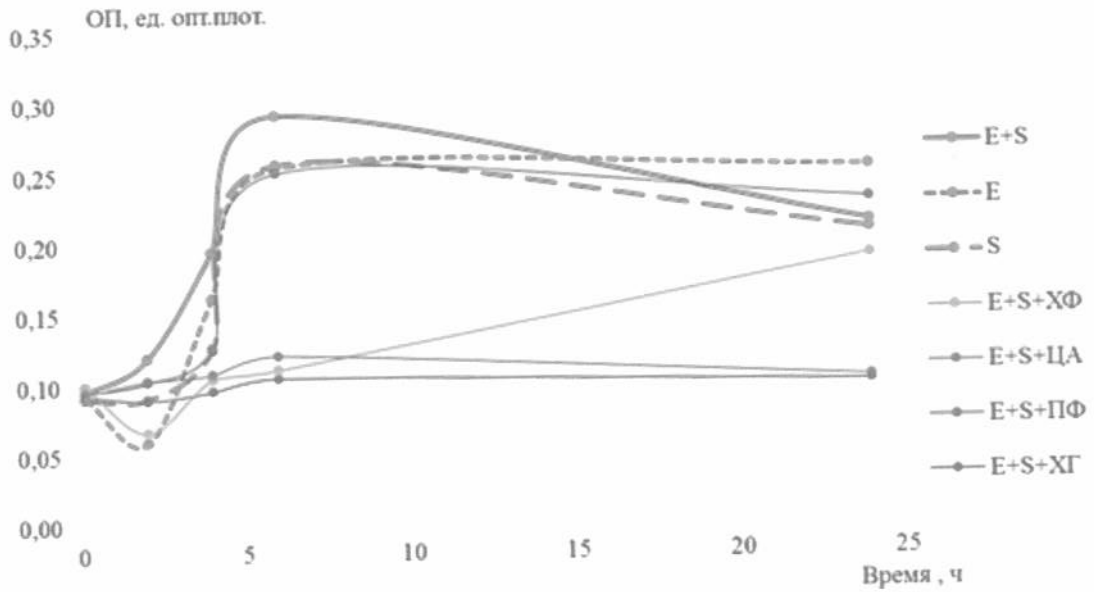


Рис. 4. Динамика оптической плотности моновидовых и смешанной культур *E. coli* и *S. epidermidis* при действии антибактериальных препаратов в 2%-ном растворе NaCl*

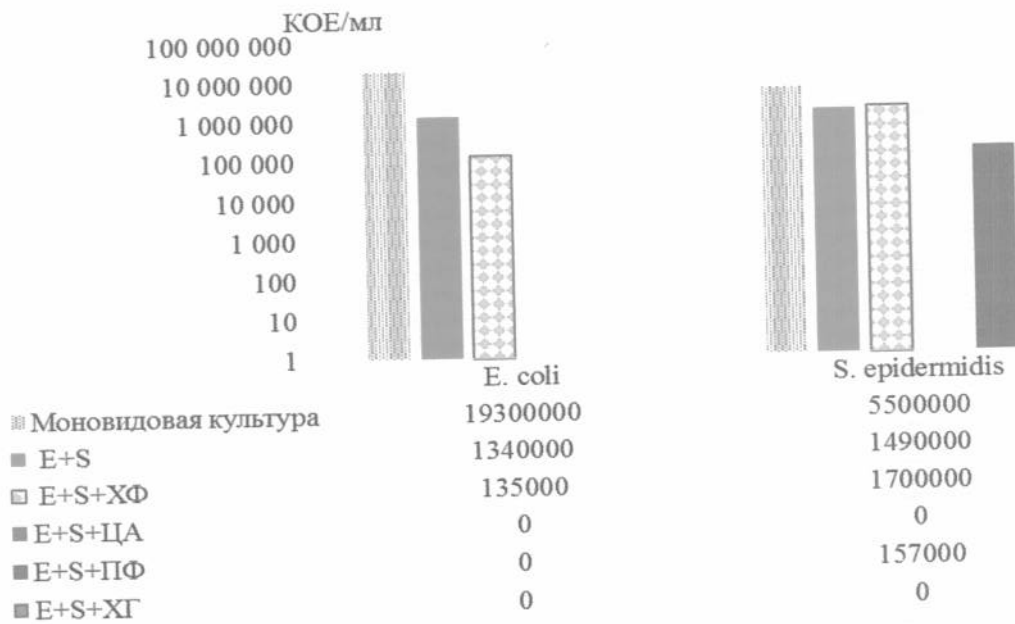


Рис. 5. Жизнеспособность *E. coli* и *S. epidermidis* в моновидовых и смешанной культурах при действии антибактериальных препаратов в 2%-ном растворе NaCl*

*Примечание: ХФ—хлорамфеникол; ЦА—цефтриаксон, ПФ—полифаг, ХГ—хлоргексидин

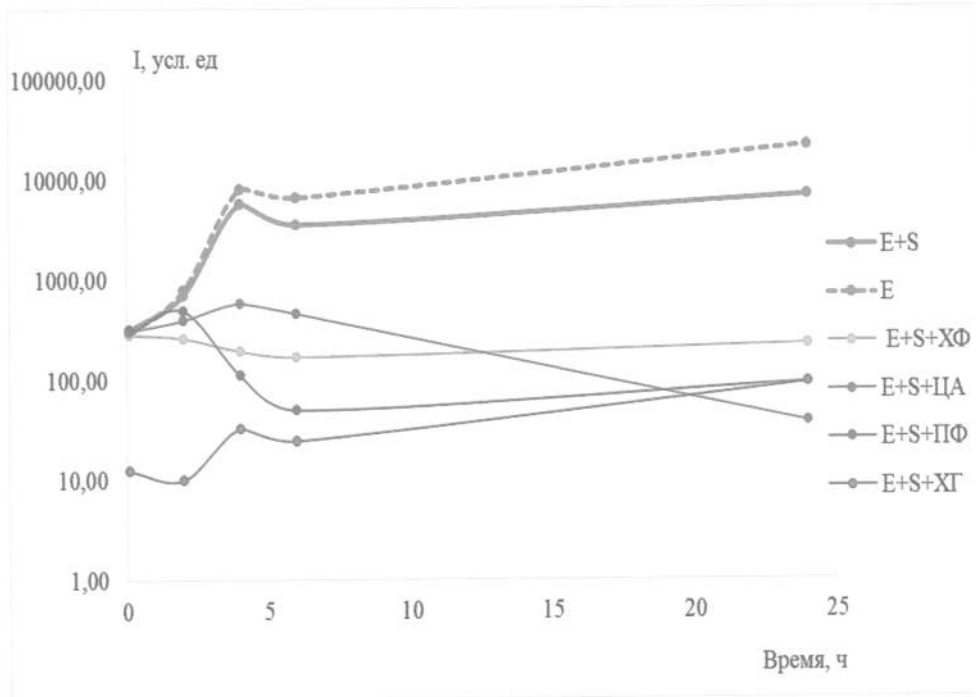


Рис. 6. Динамика люминесценции *E. coli* в моновидовой и смешанной культурах при действии антибактериальных препаратов в 2%-ном растворе NaCl*

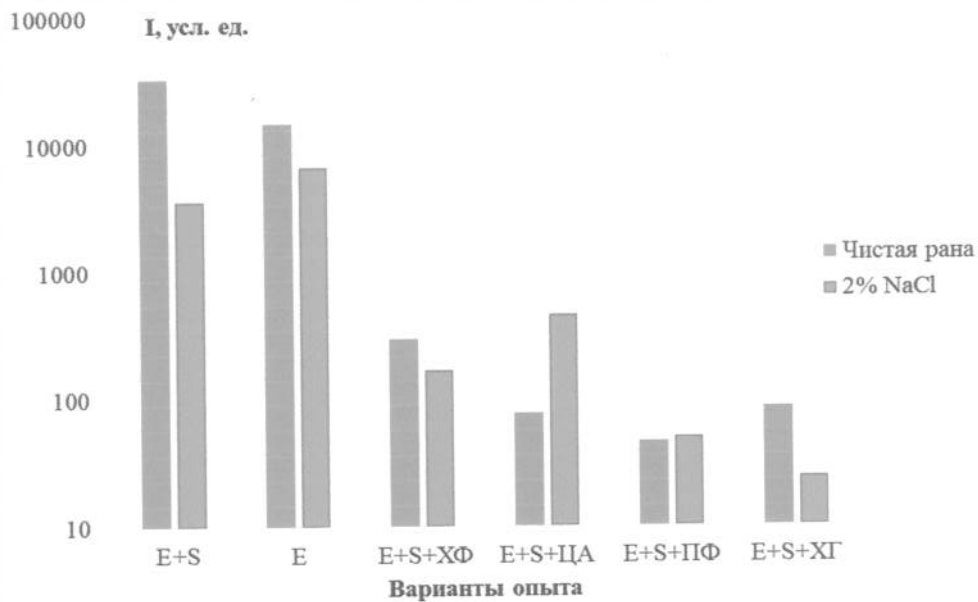


Рис. 7. Сравнение люминесценции *E. coli* в моновидовой и смешанной культурах при действии антибактериальных препаратов в физиологическом растворе и в 2%-ном растворе NaCl через 6 часов*

*Примечание: ХФ—хлорамфеникол; ЦА—цефтриаксон, ПФ—полифаг, ХГ—хлоргексидин

По результатам всех измерений наиболее эффективно подавляют рост смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis* в 2%-ном растворе NaCl хлоргексидин и цефтриаксон. Согласно полученным результатам *S. epidermidis* не чувствителен к хлорамфениколу и полифагу в исследуемом растворе.

3.3 Сравнение способов применения, противопоказаний и побочного действия цефтриаксона, пиобактериофага поливалентного, хлоргексидина

Мы изучили способ применения, противопоказания и побочные действия антибактериальных препаратов, подавляющих рост смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis*.

Хлоргексидин применяется наружно; пиобактериофаг поливалентный — местно (в виде орошений, примочек), внутripолостно (полости ран, абсцессов, носа, среднего уха, мочевого пузыря), внутрь, ректально (высокие клизмы); цефтриаксон внутривенно и внутримышечно в условиях стационара [18].

При наличии альтернативных вариантов лечения стоит учесть, что только у препарата пиобактериофага поливалентного не установлены побочные действия и имеется только одно противопоказание — гиперчувствительность к его компонентам [18].

Выводы и практические рекомендации

По результатам исследования получены следующие выводы:

1) Жизнеспособность *E. coli* и *S. epidermidis* в составе смешанной культуры наиболее эффективно подавляли цефтриаксон, пиобактериофаг поливалентный и хлоргексидин; в условиях 2%-ного NaCl действие пиобактериофага поливалентного на *S. epidermidis* не проявлялось.

2) Уровень люминесценции *E. coli* в составе смешанной культуры снижен при действии всех исследуемых антибактериальных препаратов.

3) Из всех исследуемых антибактериальных препаратов только у пиобактериофага поливалентного не установлено побочного действия, а единственным противопоказанием является индивидуальная непереносимость.

Практическое использование результатов исследования:

На основании полученных данных об эффективном подавлении жизнеспособности смешанной культуры *E. coli* и *S. epidermidis* пиобактериофагом поливалентным рекомендуется использовать его для лечения инфекционных заболеваний военнослужащих и профилактики послеоперационных осложнений, возбудителями которых являются одновременно *E. coli* и *S. epidermidis*. Но в полевых условиях обработка ран пиобактериофагом поливалентным может быть не эффективна и экономически не выгодна.

Данное исследование направлено на привлечение внимания биологов, врачей, фармацевтов к альтернативным способам терапии гнойно-септических заболеваний с целью снижения загрязнения окружающей среды антибиотиками и формирования антибиотикорезистентности у бактерий.

По мнению Всемирной организации здравоохранения устойчивость бактерий к антибиотикам является сегодня одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человечества, продовольственной безопасности и развития.

Список используемых источников

1. Акимкин, В. Г. Эпидемиологическая эффективность применения бактериофагов для профилактики острых респираторных инфекций бактериальной этиологии в организованных коллективах / В. Г. Акимкин, А. В. Алимов, В. С. Поляков // Бактериология. – 2016. – Том 1. – № 1. – С. 80–87.
2. Борисов, Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : учеб. / Л. Б. Борисов. – Москва, 2005. – 736 с.
3. Воробьев, А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / А. А. Воробьев. – Москва, 2004. – 688 с.
4. Воробьева, О. Н. Микробиологический мониторинг возбудителей внутрибольничных инфекций в отделении экстренной хирургии / О. Н. Воробьева, Л. И. Денисенко, Т. Н. Штанова, Л. М. Соседова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – №4. – С. 61–67.
5. Данилов, В. С. Сенсорные биолюминесцентные 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.
6. Дерябин, Д. Г. Стафилококки: экология и патогенность. Екатеринбург: УрО РАН, 2000. – 239 с.
7. Ефременкова, О. Антибиотики: жизнь продолжается / О. Ефременкова // Наука и жизнь. – 2006. – №8. – С. 48–54.
8. Зверьков, А. В. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков / А. В. Зверьков, А. П. Зузова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – Том 15. – № 4. – С. 279–285.
9. Козлова, Ю. Н. Генетическая и биохимическая характеристика стафилококков, встречающихся в Новосибирске / Ю. Н. Козлова, Н. В. Фоменко, В. В. Морозова и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Том 21. – № 8. – С. 952–958.

10. Корниенко, М. А. Биохимические и генетические особенности реализации патогенности госпитальными штаммами *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus haemolyticus*: Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / М. А. Корниенко. - Москва, 2016. – 186 с.
11. Лысак, В. В. Микробиология: учеб. пособие / В. В. Лысак. – Минск, 2007. – 426 с.
12. Намазова-Баранова, Л. С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л. С. Намазова-Баранова, А. А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Том 14. – № 5. – С. 341–354.
13. Салмина, Т. А. Опыт применения пхиобактериофага 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.
14. Фадеева, Т. В. Актуальные проблемы госпитальной инфекции: реинфицирование, суперинфицирование и резистентность возбудителей к антимикробным препаратам // Т. В. Фадеева, С. А. Верещагина, Э. А. Габриэль, А.С. Коган // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – №5. – С. 298–301.
15. Götz, F. Staphylococcus and biofilms / F. Götz // Molecular Microbiology. – 2002. – Vol. 43. – № 6. – P. 1367–1378.
16. Ильина, Н. А. *E. coli* как условно-патогенные бактерии кишечника человека [Электронный ресурс] / Н. А. Ильина, Е. А. Карпеева, И. Т. Гусева // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – № 9. – С. 60–62. – Режим доступа : <http://www.top-technologies.ru/ru/article/view?id=24205>.
17. Присада, Т. В. Фаги атакуют. Отечественная история производства и применения бактериофагов [Электронный ресурс] / Т. В. Присада, М. Г. Ефимова, А. Н. Дабижева, Н. Н. Ворошилова // Наука из первых рук. – 2016. – Том 70. – № 4. – С. 22–31. – Режим доступа: <https://scfh.ru/papers/fagi-atakuyut/>.
18. Регистр лекарственных средств России [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru>.