

**Муниципальное бюджетное образовательное учреждение
«Лицей № 25 города Димитровграда»**

**VII межмуниципальный форум научных и творческих достижений учащихся
Ульяновской области «Море талантов»**

Секция «Естественные науки и современный мир»

**Исследовательская работа по теме
«Изучение антибиотикорезистентности
бактерий»**

**Автор работы
ученик 11 класса А
Брусенский Руслан Русланович
Руководитель:
Шаяхметова В. В.**

**г. Димитровград
Содержание**

Введение.....	3
Глава 1. Теоретическая часть	
1.1 Что такое «антибиотикорезистентность»?.....	3-4
1.2. Причины антибиотикорезистентности.....	4-5
1.3. Влияние антибиотикорезистентности на организм человека.....	5
Глава 2. Практическая часть	
2.1. Приготовление питательной среды.....	5
2.2. Высеивание культуры микроорганизмов.....	5
2.3. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.....	6
2.4. Опыт по изучению проявления резистентности.....	6-7
Глава 3. Способы решения проблемы антибиотикорезистентности.....	7-8
Выводы.....	8
Заключение.....	8
Список литературы.....	8
Приложение.....	9-11

Введение

С начала эры антибиотиков эти препараты использовались для лечения широкого спектра заболеваний. Чрезмерное применение антибиотиков стало основной причиной повышения уровня устойчивости к антибиотикам. Основная проблема заключается в том, что врачи готовы назначать антибиотики плохо осведомленным больным, которые считают, что антибиотики могут вылечить почти все болезни, в том числе вирусные инфекции, например, обычную простуду. При бесконтрольном, как сейчас потреблении антибиотиков в скором времени буквально все заболевания станут тяжёлыми или летальными, так как не будут поддаваться лечению.

Чрезмерное использование антибиотиков стало одним из главных факторов, способствующих развитию устойчивости к антибиотикам.

Гипотеза исследования: микроорганизмы легко приспосабливаются к антибиотикам, поэтому необходимо использовать их с осторожностью.

Цель исследования: изучить резистентность микроорганизмов по отношению к антибиотикам, выяснить правила использования антибиотиков.

Задачи:

1. Изучить понятие «антибиотикорезистентность»;
2. Выяснить причины и последствия антибиотикорезистентности;
3. Провести опыты, доказывающие наличие резистентности микроорганизмов по отношению к антибиотикам;
4. Изучить способы решения проблемы антибиотикорезистентности;
5. Разработать памятку для населения о правильном отношении к антибиотикам.

Предмет исследования: микроорганизмы

Объект исследования: резистентность микроорганизмов

Методы исследования: анализ источников информации, метод высеивания и воздействие антибиотиками.

Создание таких проектов подталкивает к более глубокому изучению химии и биологии, а точнее: органической химии, микробиологии, бактериологии, фармакологии, вирусологии, и в какой-то степени психологии, так как для лечения болезней нужно тщательно изучить пациента. Следовательно, этот проект поможет мне разобраться с дальнейшим выбором профессии и улучшит мои знания в естественно-научной области.

Глава 1. Теоретическая часть

1.1. Что такое «антибиотикорезистентность»?

Антибиотикорезистентность (от антибиотик и резистентность) — феномен устойчивости штамма возбудителей инфекции к действию одного или нескольких антибактериальных препаратов, снижение чувствительности (устойчивость, невосприимчивость) культуры микроорганизмов к действию антибактериального вещества [1].

Резистентность к антимикробным препаратам (РАП) проявляется, когда микроб эволюционирует, чтобы стать более или полностью устойчивым к противомикробным препаратам, которыми ранее его можно было лечить. Этот более широкий термин охватывает также устойчивость к антибиотикам, который применяется к бактериям и антибиотикам. Резистентность возникает одним из трех способов: природная резистентность у некоторых типов бактерий; генетическая мутация; или путем приобретения резистентности одними видами бактерий от других. Резистентность может появляться спонтанно вследствие произвольных мутаций; или чаще всего в результате постепенного накопления со временем, и из-за неправильного применения антибиотиков или противомикробных препаратов. Лечение резистентных микроорганизмов становится все более затрудненным, требует использования альтернативных лекарственных препаратов или более высоких доз — что может быть более дорогостоящим или более токсичным. Микробы, устойчивые к нескольким противомикробным препаратам, называются мультирезистентными (МР); или иногда супербактериями. Резистентность к антимикробным препаратам неуклонно растет, принося ежегодно миллионы смертей. В настоящее время несколько инфекций стали абсолютно неизлечимыми вследствие резистентности. Все классы микробов развивают резистентность (грибки, резистентность к апроотивогрибковым средствам; вирусы, резистентность противовирусным препаратам простейшие, резистентность к противопротозойным средствам; бактерии, резистентность к антибиотикам) [2].

1.2. Причины антибиотикорезистентности

Многие считают, что резистентность микроорганизмов является исключительно результатом нерационального использования антибиотиков. Однако резистентность к антимикробным препаратам будет развиваться даже при их правильном применении. В связи с тем, что в современной медицине антибиотики являются незаменимым классом препаратов и их использование необходимо, появление резистентных микроорганизмов будет неизбежным нежелательным явлением при их применении. В настоящее время возникла крайняя необходимость пересмотреть многие режимы антибактериальной терапии, которые, вероятно, и оказывают непосредственное влияние на появление полирезистентных штаммов микроорганизмов в условиях стационара.

Увеличение бактериальной устойчивости связано с объемом предписываемых антибиотиков, а также нарушением дозировок при приеме антибиотиков. Ненадлежащее назначение антибиотиков обусловлено рядом причин, в том числе в тех случаях, когда люди настаивают на лечении антибиотиками, врачи предписывают их, так как они чувствуют, что у них нет времени для объяснения, почему они не нужны, и врачи не знают, когда назначать

антибиотики, или они слишком осторожны по медицинским и/или юридическим причинам [2].

Почти половина антибиотиков, используемых человеком, не нужны и не уместны. Например, треть людей считают, что антибиотики эффективны для лечения обычной простуды, простуда является наиболее распространенной причиной назначения антибиотиков и даже если антибиотики бесполезны против вирусов. Один прием антибиотиков даже при соблюдении режима лечения приводит к увеличению риска резистентности микроорганизмов к этому антибиотику в организме человека, в период от месяца и, возможно, до года.

Причины широкого применения антибиотиков включают:

- повышение глобальной доступности в течение долгого времени, начиная с 1950-х годов;
- неконтролируемые продажи антибиотиков во многих странах с низким или средним уровнем дохода, где их можно получить без рецепта, что потенциально приводит к применению антибиотиков без предписания врача. Это может привести к возникновению резистентности у любых оставшихся бактерий [3].

1.3. Влияние антибиотикорезистентности на организм человека

- Накопление антибиотиков в следствии антибиотикорезистентности бактерий приводит к общему ухудшению состояния здоровья заболевшего.
- Устойчивые штаммы бактерий могут привести заболевание в хроническую и неизлечимую форму.
- Так же увеличивается процесс лечения из-за приспособляемости микроорганизмов к антибиотикам [2].

Глава 2. Практическая часть

2.1. Приготовление питательной среды

Методика приготовления питательной среды взята из сети Интернет и является общепринятой на основе агар-агара с использованием чашек Петри [5].

Оборудование: чашки Петри, 7 грамм агар-агара, стакан тёплой воды, 1,5-2 стакана куриного бульона, принадлежности для разливания.

Питательная среда готовится на основе агар-агара, к 7 граммам которого добавляется 1 стакан тёплой воды. Нагреваю этот раствор в течение 5 минут. Добавляю 1.5-2 стаканов куриного бульона. Разливаю раствор по чашкам Петри. Остужаю (см. Приложение 1).

2.2. Высеивание культуры микроорганизмов

Достаём готовые питательные среды из холодильника. Согреваем их до комнатной температуры. В перчатках при помощи ватной палочки аккуратно засеиваем микроорганизмы с нужной нам поверхности (с грязных рук).

Посаженную культуру убираем в тёплое и тёмное место на 18 - 32 часа (см Приложение 2 и 5).

2.3. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

Данная методика описана в статье на официальном сайте, указанном в списке литературы [4]. Я немного отошёл от данной методики, так как для каждой концентрации веществ использовал колонии с разных чашек Петри.

Основываясь на нижеприведённой методике, я провёл опыт:

На поверхность плотной питательной среды, засеянной сплошным газоном исследуемой культурой, накладывают не более 6 дисков, пропитанных антибиотиками, на расстоянии не менее 2 см друг от друга. Регистрация результатов проводится через 18-24 часов инкубирования в термостате по диаметру зоны отсутствия роста вокруг дисков с антибиотиками. Наличие роста вокруг диска свидетельствует о нечувствительности данного микроба к антибиотику. Для интерпретации результатов используются специальные таблицы.

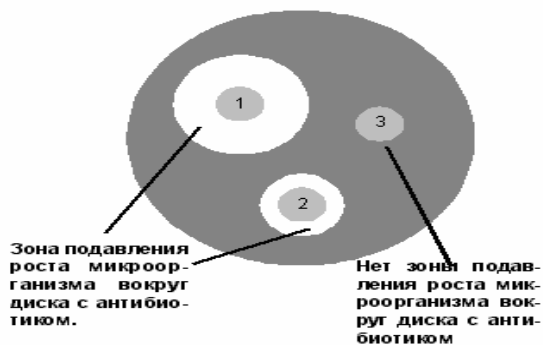


Рисунок 1. Определение чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом:

1 – микроорганизм **чувствителен** к антибиотику;

2 – микроорганизм **умеренно резистентен** к антибиотику;

3 – микроорганизм **устойчив** к антибиотику.

На поверхность питательной среды, засеянной культурой, наложил бумажные диски, пропитанные антибиотиками разной концентрации (1% и 5%), на расстоянии не менее 2 см друг от друга. Через 18 часов инкубирования определил диаметр зоны отсутствия роста вокруг дисков с антибиотиками. Наличие роста вокруг диска свидетельствовало о нечувствительности микроорганизмов к антибиотику (см. Приложение 3).

Выводы:

1. Не все бактерии погибают после использования антибиотиков.
2. Даже большие концентрации растворов антибиотиков уничтожают бактерии не полностью.

2.4. Опыт по изучению проявления резистентности

Выжившие микроорганизмы при помощи ватной палочки перенес на новую питательную среду. Дал колонии разрастись и повторил опыт с антибиотиками. Провел замеры расхождения вокруг диска с антибиотиками. Результаты занес в таблицу.

Табл. 1. Результаты опыта по формированию резистентности у микроорганизмов.

Р-р Амоксицилина в %	Зона подавления роста (диаметр расхождения колонии в мм)	
	1 засеивание культуры	2 засеивание резистентной культуры
1%	4	3
5%	6	4

Из данных таблицы сделал вывод, что уже во втором поколении микроорганизмы оказались более устойчивы к антибиотикам, так как зона подавления роста уменьшилась. Чем выше концентрация антибиотика, тем ниже выживаемость бактерий. Но даже повышенные концентрации антибиотиков полностью не уничтожают бактерии (см. Приложение 3 и 4).

Выводы:

1. Чем выше концентрация антибиотика, тем ниже выживаемость бактерий.
2. Бактерии способны приспосабливаться, значит присутствует резистентность.
3. Повышенные концентрации антибиотиков по-прежнему полностью не уничтожают бактерии.

Глава 3. Способы решения проблемы антибиотикорезистентности

Практические рекомендации (на уровне Министерства Здравоохранения РФ):

1. Разрабатывать и приводить в исполнение мероприятия административного контроля:
 - политику применения антибиотиков и больничные формуляры;
 - протоколы, соблюдение которых позволит быстро выявить, изолировать и проводить лечение пациентов, колонизированных или инфицированных резистентными к антибиотикам штаммами бактерий, что в свою очередь будет способствовать предотвращению распространения инфекций в стационаре.
2. Разработать систему, позволяющую проводить мониторинг использования антибиотиков (выбор препарата, дозы, пути введения, кратности, количества курсов), оценивать его результаты и на их основе создавать соответствующие рекомендации, а также концентрировать ресурсы на эти цели.
3. Разрабатывать образовательные программы и проводить обучение, направленное на повышение уровня знаний соответствующего медицинского персонала, касающихся: результатов нерационального использования антибиотиков, значения строгого выполнения мероприятий инфекционного контроля в случаях развития инфекций, вызванных полирезистентными штаммами бактерий и соблюдения общих принципов инфекционного контроля.
4. Использовать междисциплинарный подход для стратегического решения проблемы антибиотикорезистентности.

Рекомендации по преодолению антибиотикорезистентности:

1. Лечить заболевания «ударными дозами» антибиотиков.
2. Не использовать гомеопатию, в том числе не лечиться крайне маленькими дозами.
3. Не производить длительного лечения, более 10 дней.
4. Не использовать антибиотики без назначения врача
5. Не пытаться лечить вирусные заболевания (простуду) при помощи антибиотиков
6. Поддерживать иммунитет для скорейшего выздоровления и более простого протекания заболевания.
7. Строго следовать инструкциям, предписанным врачом.

Выводы

В ходе исследовательской работы я:

1. Изучил понятие «антибиотикорезистентность»;
2. Выяснил причины и последствия антибиотикорезистентности;
3. Провел опыты, доказывающие наличие резистентности микроорганизмов по отношению к антибиотикам;
4. Изучил способы решения проблемы антибиотикорезистентности;
5. Разработал памятку для населения о правильном отношении к антибиотикам.

Заключение

Моя гипотеза подтвердилась, так как в ходе проведённых опытов я доказал, что микроорганизмы легко приспосабливаются к антибиотикам, поэтому необходимо использовать их с осторожностью. При неправильном подборе антибиотиков и их дозировке бактерии внутри организма человека будут расти и мутировать, следовательно, будут обладать антибиотикорезистентностью, которая не позволит легко избавиться от заболевания.

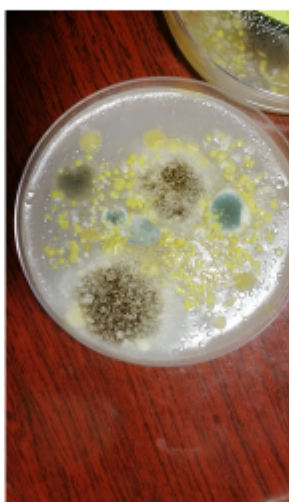
Список литературы

1. Антибиотики [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Антибиотики>
2. Антибиотикорезистентность [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Антибиотикорезистентность>
3. Бактерии [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Бактерии>
4. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://studfiles.net/preview/5243154/page:6/>
5. Требования микроорганизмов к питательным веществам [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://studfiles.net/preview/3005951/>

Приложение 1 – приготовление питательной среды



Приложение 2 – высевание культуры

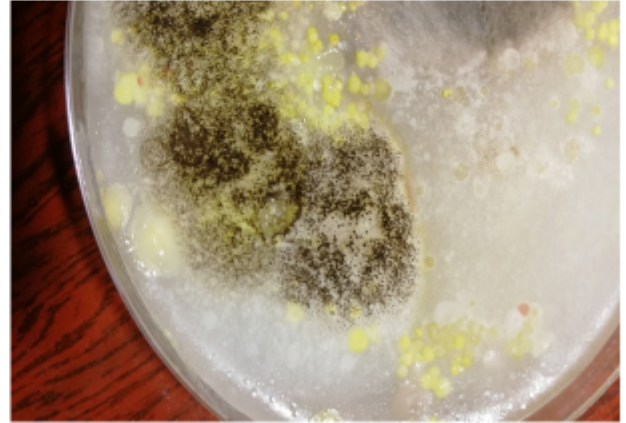


Приложение 3 - диаметры расхождения колоний 1 и 2 поколения

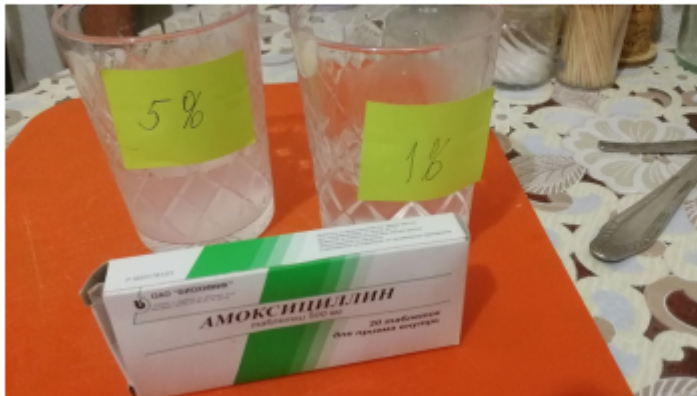
Поколение 1



Поколение 2



Приложение 4 – дозировка антибиотика



Приложение 5 - выведение чистой
резистентной культуры

