

Антибиотикорезистентность микроорганизмов на поверхности телефона

Ендуткин О.Д.

Биология

11 класс, МАОУ “Политехническая гимназия”, г. Нижний Тагил

Научный руководитель: Кононова Л.А., учитель биологии МАОУ

“Политехническая гимназия”, г. Нижний Тагил

Введение

С каждым годом появляется всё больше антибиотикорезистентных штаммов бактерий, что угрожает усложнением в лечении пациентов с бактериальными заболеваниями. По прогнозу директора Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, академика РАН профессора Василия Акимкина, с проблемой инфекций, «к 2050 году по причине антибиотикорезистентности в мире будет умирать 10 миллионов человек ежегодно, что превзойдет смертность от онкозаболеваний».

Бактерии, в том числе и патогенные, окружают нас повсюду и оседают на различных вещах быта. На сегодняшний день телефон является самым часто используемым предметом повседневной жизни. Телефон постоянно контактирует с руками и лицом. За время использования он собирает множество видов бактерий, некоторые из которых могут быть патогенными.

Проблема, на решение которой направлено исследование

Выявление качественного состава микрофлоры, в частности аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов и их антибиотикорезистентных штаммов на поверхностях телефонов.

Объект и предмет исследования

Объект исследования: Микрофлора с поверхности 3 индивидуальных гаджетов (смартфонов)

Предмет исследования: Особенности морфотипов микрофлоры и её антибиотикорезистентность

Цель

проследить взаимосвязь между антибиотикорезистентностью микроорганизмов на поверхности мобильных телефонов членов семьи и их профессиональной деятельностью.

Задачи исследовательской работы

1. Осуществить посев на плоский агар микроорганизмов с 3 смартфонов
2. Вырастить культуру микроорганизмов
3. Определить морфологию колоний
4. Определить резистентность к ампициллину, если таковая имеется, то проверить устойчивость флоры к цефалоспоринолу

Гипотеза

В зависимости от профессиональной деятельности внутри микропопуляции, которая проживает на одной территории, но выполняет различные профессиональные функции, рост, разнообразие и резистентность к антибиотикам микрофлоры на поверхности телефонов будет различной.

Основные этапы

1. Подготовить питательную среду для выращивания бактериальных колоний с поверхности телефона.
 - a. Стерилизация чашек петри
 - b. Приготовление питательной среды на основе МПА (мясопептонный агар)
 - c. Добавление антибиотика ампициллина в 3 из 6 чашки петри
2. Собрать мазок микроорганизмов с экрана, задней крышки и разъемов, нанести на чашки петри.
3. Наблюдать за развитием микроорганизмов в питательной среде.
4. Попытаться определить колонии микроорганизмов.
5. В случае резистентности микроорганизмов к ампициллину попытаться подавить рост колонии цефалоспорином 3 поколения (цефтриаксон)

6. Сравнить результаты проведения эксперимента.

Методы исследования

Бактериологический эксперимент, наблюдение, анализ, гипотетический метод

Научная новизна

Была использована популяция, проживающая на одной и той же территории, но выполняющие трудовые функции в различных условиях.

Практическая значимость

На основании этого исследования можно создать более усовершенствованные виды антибиотиков или корректировать использование антибиотиков у разных групп людей в зависимости от их профессиональных обязанностей.

Стерилизация чашек Петри [5]

Лабораторную посуду необходимо простерилизовать для чистоты эксперимента.

Чаще всего для стерилизации используют метод автоклавирования, но автоклав у меня отсутствует, поэтому я использовал обычную термическую обработку в духовом шкафу.

Предварительно промытые чашки были помещены в духовой шкаф (по сути является сухожаровым шкафом) при температуре 145°C на 90 минут. После стерилизации посуду нужно остудить.

Изготовление питательной среды [7]

В своём эксперименте я использовал готовую питательную среду на основе готового мясопептонного агара (МПА), который готовят из концентрированного мясопептонного бульона (МПБ).

Эта питательная среда была выбрана ввиду простоты изготовления и пригодности для большинства аэробных микроорганизмов.

Изначально она была в виде порошка. Этот порошок нужно было растворить в дистиллированной воде в соотношении 1:10. Приготовленную суспензию необходимо разогреть, чтобы расплавить.

Таким образом, получилось 3 пробирки по 50 миллилитров. Позже я разлил питательную среду на 6 чашек Петри по 25 миллилитров соответственно. Далее питательная среда должна остыть и затвердеть.

Для полного застывания потребовалось 10 часов при комнатной температуре. Теперь питательная среда готова к посеву.

Сбор микроорганизмов с поверхности телефона [5]

В исследовании микроорганизмов необходимо проводить в асептических условиях, поэтому при сборе материала я надел стерильные хирургические перчатки, маску и шапочку. Также была использована стерильная ватная палочка, которую я предварительно смочил в стерильной дистиллированной воде.

Мазки брал со всей поверхности телефонов, в том числе с труднодоступных. Со своего телефона также взял мазок из разъёма для наушников и зарядки. Особое внимание уделялось труднодоступным местам, где концентрация микроорганизмов значительно выше, то есть в динамиках, микрофонах, под выпирающей частью камеры и под чехлом.

Посев [4]

На готовую питательную (МПА) среду я осуществил посев. Делал это зигзагами. При этом важно сильно не давить на питательную среду. После посева накрыл крышки на чашки Петри и поместил их шкаф, где отсутствует свет.

Условия проведения эксперимента [9]

Я использовал 6 чашек Петри на 3 человека (ученика, медицинского работника отделения анестезиологии-реаниматологии и медицинского работника отделения химиотерапии).

Изначально в половину чашек я смешал с антибиотиком (ампициллином), другая половина была без антибиотика. Важно было проверить резистентность микроорганизмов к антибиотику ампициллин, который способен воздействовать даже на некоторые грамотрицательные бактерии.

В случае антибиотикорезистентности к ампициллину попытался подавить рост колонии, добавляя антибиотик цефтриаксон (цефалоспорин 3 поколения),

проявляющий бактерицидное действие как на грамположительные, так и грамотрицательные бактерии.

На протяжении всего эксперимента соблюдались асептические условия.

1. Наблюдения

Условные обозначения:

Чашка №1 – питательная среда без антибиотика, заселённая микроорганизмами с телефона ученика

Чашка №2 – питательная среда с антибиотиком, заселённая микроорганизмами с телефона ученика

Чашка №3 – питательная среда без антибиотика, заселённая микроорганизмами с телефона химиотерапевта

Чашка №4 – питательная среда с антибиотиком, заселённая микроорганизмами с телефона химиотерапевта

Чашка №5 – питательная среда без антибиотика, заселённая микроорганизмами с телефона анестезиолога-реаниматолога

Чашка №6 – питательная среда с антибиотиком, заселённая микроорганизмами с телефона врача анестезиолога-реаниматолога

В первый день после посева никаких видимых признаков жизнедеятельности микроорганизмов мною обнаружено не было.

То же самое наблюдалось и **на второй день**.

На третий день в чашке №1 появились первые немногочисленные колонии микроорганизмов (белого цвета, непрозрачных, глянцевых, кругообразных,)

На четвёртый день похожие колонии были обнаружены почти на всех чашках, кроме чашек №4 и 6. В моих чашках хорошо различимыми были обе колонии.

На пятый день бактерий стало гораздо больше. Их можно наблюдать на 5 чашках Петри из 6.

Флора с моего телефона, как показывает мой эксперимент, содержит большую концентрацию микроорганизмов. Возможно, такая концентрация микроорганизмов на моих чашках Петри связана с тем, что мазок со своего

телефона я наносил гораздо интенсивнее, чем мазки с телефонов моих родителей на другие чашки, о чём свидетельствуют вмятины на питательной среде.

Также в моей среде №1 начала прорасти плесень. Я принял решение удалить плесень из среды, так как рост плесени мог подавить рост других микроорганизмов.

На других чашках наблюдались те же колонии, что и на моих, но визуально колоний намного меньше. На чашке отца колонии вообще почти не заметны, однако и росли даже на питательной среде с ампициллином.

На 6 день все питательные среды были заселены различными колониями бактерий.

На питательной среде №1 появились новые колонии бурого цвета, округлой формы, жидкой по консистенции.

В среде с антибиотиком №2 последующий рост отсутствовал.

На питательной среде №3 флора стала разнообразнее. Появились жёлтые колонии, маленькие по размеру, округлой формы, непрозрачные. Также появились колонии буро-красного цвета неправильной формы, плотной консистенции, непрозрачные. Похожи на колонии с чашки №1, но отличаются по форме.

На питательной среде №4 колонии бактерий были немногочисленные.

На питательных средах №5 и №6 наблюдались однотипные колонии белого цвета. Различались только концентрацией: на питательной среде с антибиотиком их было визуально меньше.

Мои действия:

На 6 день флора в некоторых чашках Петри сильно разнообразилась. Я решил проверить некоторые штаммы микроорганизмов на антибиотикорезистентность к цефтриаксону (цефалоспорины 3 поколения). Таким образом, я развёл антибиотик до нужной концентрации и аккуратно обработал отдельно интересующие меня колонии. Таким образом, я обработал бурые и жёлтые колонии на чашке №3.

На 7 день:

На чашке №1 стали более отчетливо видны бурые колонии.

На чашке№2 изменений не было.

На чашке№3 рост бурых колоний прекратился. Колонии жёлтого цвета продолжали размножаться, что свидетельствует об их резистентности к цефалоспоринолу.

На чашке№4 колоний бактерий почти не было.

На чашке№5 изменений не было.

На чашке№6 появились маленькие жёлтые колонии, такие же, как и в питательной среде№3. Среда в чаше№6 с ампициллином, отчего мы можем сделать вывод, что эти штаммы резистентны к этому антибиотику.

Мои последующие действия:

Я решил проверить устойчивость всех бактерий к цефалоспоринолу. Для этого я ввел антибиотик методом лункования в каждую среду и оставил их на трое суток.

Результаты

Интересующие меня бурые штаммы перестали расти и обесцветились, из чего я сделал вывод, что они погибли (как на среде№1, так и на среде№3), колонии жёлто-золотистого цвета оказались резистентными к цефалоспоринолу (чашка№3) и резистентными к ампициллину и к цефалоспоринолу 3 поколения (чашка№6), белые колонии оказались все, кроме с чашки№4, резистентными к ампициллину. К цефалоспоринолу резистентными оказались с чашки№1, №2, №5, №6.

Обсуждение результатов наблюдений [2], [3]

Как я писал ранее, в данной научно-исследовательской работе я использовал метод культивирования. Благодаря этому методу я могу предположить, какие микроорганизмы прорастали на питательных средах.

Изначально в моей среде могли расти микроорганизмы мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные (так как среда МПА)

Более точное представление об изучаемой микрофлоре может дать только микроскопия, но подходящего микроскопа в моём распоряжении не оказалось. Поэтому я могу лишь предположить, какие колонии бактерий размножились в мясопептонном агаре.

По морфологическим данным я могу сделать следующие выводы:

1) Колонии белого цвета, глянцевые, в форме геометрически выверенного круга вероятнее всего соответствуют эпидермальную стафилококку (*Staphylococcus epidermidis*) – грамположительные факультативные анаэробы

2) Колонии бурого и красно-бурого цвета, глянцевые, с линейно-дихотомическим ростом в виде грозди винограда, вероятно, являются колониями кишечной палочки (*Escherichia coli*) – грамотрицательные протеобактерии

3) Колонии золотистого цвета, глянцевые, в форме геометрически выверенного круга – золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) – грамположительные бактерии рода стафилококков. Они проявили антибиотикорезистентность как к ампициллину, так и к цефалоспоринолу

О патогенности конкретно этих штаммов говорить нельзя, так как лично не проводил эксперименты, выявляющие их патогенность. Однако, могу с уверенностью сказать, что все представленные микроорганизмы, кроме золотистого стафилококка, являются частью нашей микрофлоры. Носителями золотистого стафилококка, по статистике, являются 25-40% населения земного шара. Золотистый стафилококк является патогенной бактерией, провоцирующей инфекцию кожи, пневмонию, эндокардит, гастроэнтерит. Может также провоцировать абсцедирование гнойного процесса.

Заключение

В результате эксперимента удалось выявить антибиотикорезистентные штаммы микроорганизмов к двум этим антибиотикам.

Наиболее разнообразной флоре на телефоне обладал врач химио-терапевт

Наиболее резистентной флорой – врач анестезиолог-реаниматолог

Наиболее многочисленной флорой (с большей концентрацией) – ученик

Проведённый мною эксперимент подтвердил выдвинутую ранее гипотезу о составе и антибиотикорезистентности микрофлоры с поверхности смартфонов лиц, проживающих на совместной территории, но имеющие различные профессиональные функции.

Антибиотикорезистентность флоры с мобильного телефона оказалась выше у врача анестезиолога-реаниматолога в следствие того, что в силу профессиональных обязанностей используется антибиотикотерапия.

Для предотвращения контаминации гаджетов необходимо более тщательно соблюдать санитарно-гигиенические правила, по возможности не использовать гаджеты во время выполнения профессиональных обязанностей.

Список литературы

1. Биология в 3-х томах Грин, Стаут, Тейлор
2. Микробиология: культивирование и рост бактерий
(http://old.gsu.by/biglib/GSU/Биологический/10_Posobie2_zam81_44str_15ekz_Kонцевая.pdf)
3. Микробиология с вирусологией и иммунологией. К.Д.Пяткин.. — М:"Медицина", 1971.
4. Микробиология учебное издание под ред. Нетрусова, Котовой 2006г
5. Основные методы лабораторных исследований клинической бактериологии
(<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/141265/5225032524.pdf?sequence=1&isAllowed=y>)
6. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии. Прозоркина Н.В.,Рубашкина Л.А. — Ростов-на-Дону:"Феникс", 2002.
7. Приготовление питательных сред и культивирование микроорганизмов
(<https://portal.tpu.ru/SHARED/a/APA/academics/bav/Tab2/cultivation.pdf>)
8. Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. Л.Б.Борисов.. — Медицина, 1992.
9. Условия культивирования микроорганизмов, микробиология
(http://www.himsnab-spб.ru/articles/solutions_for_microbiology_microbiology/the_conditions_of_cultivation_of_microorganisms_microbiology/#:~:text=Условия%20культивирования%2

О микроорганизмов%20Для%20роста,%2C%20температура%2C%20свет%2C%20влажность.&text=Активная%20кислотность%20среды%20(pH)%20имеет, значение%20для%20роста%20многих%20микроорганизмов)

Рис 17