Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение

«Белоярская средняя общеобразовательная школа №1»

Белоярский муниципальный округ

ПРОЕКТ

на тему «Натуральные пробиотики и здоровье кишечника человека

Автор:

ученица 10 Б класса

Коростелева Полина Михайловна

Руководитель: Валякина Оксана Георгиевна

учитель химии МАОУ «Белоярская СОШ №1»

Контактный телефон: +79506341859

ovalyakina@mail.ru

п.г.т. Белоярский

2025 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение 3

Глава 1. Анализ источников информации. «Мир внутри нас», которому нужно помогать

1.1. Микробиом как отдельный орган 6

1.2. Микробиота кишечника 10

1.3. Дисбиоз («дисбактериоз») 14

1.4. Всё о пробиотиках: история возникновения, определение, механизм действия, натуральные пробиотики 17

Глава 2. Исследование. Пробиотические продукты под микроскопом

2.1. Окрашивание по Граму, методика подсчёта клеток крови по камере Гаряева, работа с микроскопом: теория 20

2.2. Окрашивание препаратов по методике Грама, подсчёт бактерий по камере Гаряева с использованием микроскопа 24

Вывод 43

Заключение 44

Источники информации 46

Приложение 1 49

Приложение 2 50

Приложение 3 52

Приложение 4 53

Приложение 5 54

Приложение 6 55

Приложение 7 56

Приложение 8 57

Приложение 9 58

Приложение 10 59

Приложение 11 60

Приложение 12 61

Приложение 13 62

Приложение 14 63

Введение

Проблемная ситуация:

«Большинство людей, едва заслышав о бактериях, тут же вспоминают о болезнях. На деле болезнетворны лишь три процента бактерий; остальные либо безвредны для человека, либо даже полезны. По существу, мы обитаем в океане бактерий. Как человек, так и бактерии привыкли друг к другу, выработали своего рода взаимный иммунитет».

Майкл Крайтон

Если из космоса посмотреть на Землю, то нас, людей, не будет видно. Земля из космоса выглядит округлой светящийся точкой, приглядевшись к которой можно увидеть людей, живущих в разных условиях: в мегаполисах, в деревнях, в суровых северных регионах, в области тропических лесов или по краю пустынных местностей. Мы везде.

Если мы точно также будем приглядываться к человеку, то заметим, что каждый отдельно взятый человек является своего рода космосом. Земля – это различные системы органов. А эту Землю, как и мы, люди, населяют другие существа – бактерии. Приглядевшись к нашим системам органов, можно различить наших внутренних жителей.

Также наш организм можно сравнить не только с космосом, но и с целой экосистемой, в которой также находится совокупность живых организмов и сред их обитания, в которой осуществляется общий обмен веществ и энергии.

Сообщество наших внутренних жителей называется «микробиом». Вес микробиома зависит от массы тела и составляет от 1,2 до 3,5 кг. Эти бактерии обитают и внутри нас и снаружи. Они важны для формирования, развития и укрепления нашего иммунитета, переваривания пищи, синтеза отдельных витаминов, защиты организма от некоторых инфекций, вызванных патогенной флорой. Кишечник – абсолютный лидер, приютивший в себе максимальное количество самых разнообразных обитателей, формирующих микробиоту

кишечника. Но, к сожалению, в кишечнике чаще всего и страдают наши бактерии, для которых человеческий организм, как дом родной

Тяжёлые болезни, приём антибиотиков, стресс – всё это является причинами возникновения дисбиоза – это нарушение соотношения полезных бактерий и условно-патогенных. Но человек может помочь микробиоте кишечника: регулярное употребление пищевых продуктов, богатых пробиотиками, оказывает благоприятное воздействие на организм человека, улучшая состав и биологическую активность микробиоты кишечника. Йогурт, кефир, квашеная капуста, квас, сметана, сыр, ряженка, творог – всё это натуральные пробиотики, которых объединяет наличие в них положительных, полезных и нужных бактерий, которые необходимы для поддержания здоровья кишечной микробиоты.

Но какой же продукт выбрать, если человек решит помочь своему организму и будет основываться на количестве полезных, нужных бактерий в нём?

Эта тема важна для меня и для каждого из нас, так как поддержание здоровья кишечника – важная составляющая хорошего самочувствия и психологического состояния человека, ведь кишечник и мозг тесно связаны между собой. Лично для меня эта тема важна, потому что я планирую поступать в медицинский университет, где микробиота кишечника, роль бактерий в данной экосистеме, дисбиоз, его лечение и профилактика рассматриваются достаточно подробно. Также этот проект я планирую отправить на конкурс «Первые шаги в медицину», по итогам которого мой проект могут опубликовать в сборнике научных работ.

Проблемный вопрос: в каком натуральном пробиотике больше всего полезных для нас бактерий?

Цель: выявление натурального пробиотика с наибольшим количеством бактерий

Задачи:

1. Дать полную характеристику понятий «микробиом» и «микробиота кишечника», «дисбиоз» и проанализировать основные проявления дисбиоза кишечника;
2. Изучить историю появления пробиотиков, их механизм действия и практическое применение;
3. Проанализировать существующие на рынке натуральные пробиотики и выбрать для подробного изучения образцы;
4. Изучить технологию окраски по Граму и методику подсчёта клеток по камере Горяева, провести окрашивание для проверки наличия полезных бактерий и провести подсчёт микроорганизмов при помощи микроскопа и камеры Горяева;
5. Сравнить количество бактерий в натуральных пробиотиках с количеством бактерий в выбранных лекарственных пробиотиках;
6. Создать итоговые сравнительные таблицы с данными о количестве бактерий в пробиотиках.

Гипотеза: если в продуктах питания содержаться бактерии, то мы можем использовать их для поддержания здоровья кишечника, но не для полного восстановления микробиоты

Объект исследования: натуральные пробиотики

Предмет исследования: бактерии в натуральных пробиотиках

Методы исследования: анализ литературы по изучаемой теме, окрашивание по Граму, методика подсчёта клеток по камере Горяева, сравнение результатов эксперимента

Продукт: сравнительная таблицы «Бактерии в натуральных пробиотиках», «Лекарственные препараты и натуральные пробиотики», «Суточная норма употребления натуральных пробиотиков и лекарственных препаратов для полного восстановления микробиоты кишечника»

Глава 1. Анализ источников информации

«Мир внутри нас», которому нужно помогать

1.1. Микробиом как отдельный орган

«Бактерии являются – вы скоро это увидите – дирижёрами нашего оркестра эмоций, поведения, наших заболеваний…».

Габриэль Перлемутер

С момента первых исследований бактерий кишечника, описанных более 300 лет назад в работах Антони ван Левенгука, а впоследствии Л. Пастера, Р. Коха, И.И. Мечникова, представления о роли микроорганизмов, составляющих внутреннюю среду организма человека, за последние годы во многом изменились. По мере изучения генов в условиях современного окружения человека, формирующегося под влиянием научно-технического прогресса, стереотипов в питании, гигиене, общекультурных ценностей, накапливается всё больше данных, многие из которых имеют высокодостоверные доказательства, что биологическая среда человека изменчива и представлена различными типами микроорганизмов, заселяющих все экологические ниши организма [4; стр.7].

Микробное сообщество организма было признано фундаментальным фактором, определяющим физиологию и патологию каждого человека и расширяющим возможности генома хозяина. Это означает, что с помощью микроорганизмов человек способен выполнять функции, которые не кодируются собственным геномом, например, микробиом, сформировавшийся в процессе эволюции участвует в контроле оптимального уровня метаболических процессов в организме, имеет серьёзное значение для поддержания здоровья человека и профилактики болезней, участвует в обеспечении защиты от бактериальных патогенов [4,8; стр.7., стр.9].

Понятие *«микробиом»* было впервые внедрено в 2001 г. для обозначения коллективных геномов микробных популяций человека, также под

микробиомом подразумевают совокупность генов в организме. Микробиом человека состоит не только из бактерий, но также из археев и эукариот, таких как простейшие, грибов и нематод, вирусов, коллективно называемых *virome*. Изучают микробиом на метагеномном уровне. Количество работ по метагеномике постоянно растёт, появляется всё больше данных о значении микробиоты различных локусов организма в норме и патологии [4; стр.8].

Микробиота – это термин, который используется для характеристики микробиоценоза отдельных органов и систем (кишечник, кожа, плацента, грудное молоко и т.д.), генетического материала и взаимоотношений внутри экологической ниши в определенный период времени на определенной географической территории [4; стр.8].

Изучение микробиоты различных сообществ имеет фундаментальное значение. Исследования общих и частных взаимосвязей внутри микробиоты в различных организмах и средах, значение и вклад различных типов микроорганизмов в поддержание гомеостаза, механизмы ответа на раздражители внешней среды необходимы для оптимизации исследований в области экологии и молекулярной биологии. Хотя изучение микробиоты человека стало возможным только за последние 20 лет благодаря развитию геномных исследований, биоинформатики термин «микробиота» был использован еще в середине 40-х годов прошлого века при описании микробной контаминации бактериями полости рта, а «микробиомом» обозначили коллекцию микробных генов в конкретной экосистеме [4; стр.9]. Весь масштаб изменений представлений о взаимоотношении макро- и микроорганизмов можно ощутить, если вспомнить, что в 1903 г. еще на тот момент будущий лауреат Нобелевской премии И.И. Мечников опубликовал книгу «Этюды о природе человека», в которой писал: «Теперь уже нет ничего дерзновенного в утверждении, что не только слепая кишка со своим придатком, но даже все толстые кишки человека излишни в нашем организме и что удаление их привело бы к очень желательным результатам». Как ответ на

«вредное» воздействие заселяющих кишечник микроорганизмов Мечников разработал свою знаменитую простоквашу. С тех пор прошло более 100 лет, а мы все еще учимся видеть представителей микробиоты не как наших врагов, а как соседей и друзей. Многие педиатры и терапевты лечили и продолжают лечить даже минимальные изменения в анализах мочи и кала. И это принципиально неверная позиция: разнообразие микробиоты – это во многих случаях залог здоровья [1; стр.249].

Организм человека заселен примерно 500 видами микроорганизмов, составляющими его нормальную микробиоту. На каждую клетку организма человека приходится 10 бактериальных клеток. По подсчетам ученых, каждый взрослый человек имеет в организме от 1,5 до 3 кг микробов. Около 60% всех бактерий находится в кишечнике [3; стр.370]. Было установлено, что связанная с человеком микробиота состоит из не менее чем 40 000 бактериальных штаммов в 1800 родах, которые содержат до 10 млн отличающихся от человека генов [4; стр.9].

Современное описание микробиоты как генетического сообщества микроорганизмов человека принадлежит нобелевскому лауреату Joshua Lederberg (1925-2008) и рассматривается как единый организм с индивидуальными генетически признаками [4; стр.9].

В сложившихся микробиотах количественный и качественный состав микробного сообщества специфичен, стационарен и обладает способностью к аутостабилизации (способность биологического объекта к стабилизации значения какого-либо фактора на определённом уровне за счёт работы его внутренних механизмов). Бактерии обладают способностью чувствовать плотность популяции и быстро отвечать на нее индукцией определенных генов. Этот тип регуляции получил название *Quorum sensing* (QS) – чувство кворума. Это свойство основано на действии низкомолекулярных сигнальных молекул различной природы, синтезируемых бактериями [3; стр.370].

Основными микробиотами организма человека являются кожа, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), дыхательная и мочеполовая системы. Открытыми биотопами, сообщающимися с внешней средой, являются кожа, расположенные до голосовой щели отделы респираторного тракта, ротовая полость, ЖКТ, слизистые оболочки глаз, носа, передней уретры, вагина. В норме от микробов свободными являются кровь, ликвор, синовиальная жидкость, костный мозг, брюшная полость, плевральная полость, матка, простата, почки, мочевой пузырь. В организме человека естественная микробиота любых отделов подразделяется на постоянную и транзиторную [3; стр.370-371].

Постоянная (резидентная, индигенная или аутохтонная) микробиота представлена микроорганизмами, постоянно присутствующими в том или ином биотопе организма. Она относительно стабильна по составу. *Транзиторная (непостоянная, случайная или аллохтонная) микробиота* не способна к длительному существованию в организме, она состоит из особей, занесенных извне [3; стр.371].

Постоянную микробиоту в свою очередь подразделяют на *облигатную* и *факультативную* [3; стр.371].

Облигатная микробиота является основой микробиома, она противодействует заселению микробиоты посторонними микроорганизмами, выполняет 372 защитные функции. Доля облигатной микробиоты в составе биоценоза в несколько раз выше, чем доля факультативной составляющей. *Факультативная микробиота* составляет меньшую часть микробиоценоза [3; стр.371-372].

Количество микроорганизмов у взрослого человека составляет около 1014 особей. Разные участки тела человека заселены микроорганизмами по-разному [3; стр.372].

(*Приложение 1*)

1.2. Микробиота кишечника

Совокупный вес всех микробов человека составляет от 3 до 5% от общего веса человека, больше, чем мозг или сердце. Их количество в десять раз превышает число наших собственных клеток. Установлено пять мест в нашем теле (биотопов), где их концентрация максимальная: желудочно-кишечный тракт, кожа, дыхательные пути, полость рта, мочеполовая система [8; стр.56]. С 2007 года учёные работают над созданием карты расселения бактерий в организме человека. Для этого у большой группы людей были взяты мазки из различных мест тела: в трёх точках в полости рта, в подмышечной впадине, на лбу и т.д. Было выявлено, что часть микробиома в организме человека сосредоточена в кишечнике, который представляет собой как бы отдельный экстракорпоральный орган. [9,11; стр.56., стр.176].

Кишечный эпитоп играет ключевую роль в физиологии и поддержании гомеостаза организма человека. Результаты мета-геномных исследований показали, что большинство кишечных микробов являются представителями видов *Actinobacteria* (роды *Bifidobacterium* и *Colinsella*), *Bacteroidetes* (роды *Bacteroides* и *Prevotella*), *Firmicutes* (роды *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Eubacterium* и *Ruminococcus*), *Proteobacteria* (*Enterobacter spp*.). Но более 99% микробов, населяющих кишечник, не культивируются или плохо культивируются, т.е. в ответ на действие неблагоприятных факторов прекращают рост на питательных средах, но сохраняют жизнеспособность [9; стр.56].

Микробиота кишечника выполняет множество функций, включая защитную, иммуномодулирующую, метаболическую, детоксикационную, а также участвует в молекулярно-генетических процессах, регуляции перистальтики кишечника и др. [9; стр.56].

Но перед тем, как начать выполнять свои функции микробиота кишечника должна сформироваться. Если беременность протекает нормально, то ребёнок во внутриутробном периоде стерильнее, чем помещение

операционной после тщательной обработки. Материнские лёгкие и кишечник фильтруют всё, что будет доставлено в организм малыша, поэтому ребёнок получает кислород и питательные вещества через кровоток, в котором нет ни единой бактерии. Всё благодаря иммунной системе матери. Плод окутан плодным пузырём, который отделяет его от мышечной стенки матки, но и та, в свою очередь, также образует прочный защитный каркас. При такой защите к ребёнку не проникнет ни один паразит, ни один вирус или бактерия, ни один грибок [11; стр.190].

Но это исключительное состояние в процессе онтогенеза человека. Ни на каком другом этапе жизни мы не изолированы настолько от внешнего мира и не находимся под такой мощною защитой [11; стр.190].

Прежде чем мы познакомимся со своей матерью, сначала во время родов нам приходится знакомится с микроорганизмами её тела – это в первую очередь микробиота влагалища, затем – контакт с кожей с человеком в резиновых перчатках, потом – с какими-то пелёнками. Первые колонии бактерий начинают заселять организм ребёнка изнутри и снаружи. Некоторым бактериям требуется около 20 минут, чтобы произвести следующее поколение себе подобных [11; стр.191-192]. Отмечается, что в первые месяцы жизни микробиота неустойчива, в ней преобладают бифидобактерии, причем их количество коррелирует с количеством у матери и зависит от способа кормления (грудное или искусственное вскармливание). Количество бифидобактерий падает на протяжении всей жизни. Уже примерно к 3-6 годам микробиота кишечника стабилизируется и приобретает состав, как у взрослых людей [4; стр.21-22]. До этого в нашем кишечнике отмечается постоянная перестановка сил, серьёзные бактериальные баталии [11; стр.192].

Частично мы сами выбираем те бактерии, которые будут жить с нами дальше: всё, что попадает в наш рот, в дальнейшем становится составляющим элементом микробиоты кишечника [11; стр.192].

По окончании периода лактации в микробиоте кишечника малыша происходит целая революция: меняется рацион питания, поэтому нужны новые разновидности бактерий. Уже имеющиеся бактерии в зависимости от типа питания могут накапливать дополнительные свойства или утрачивать имеющиеся. Например, у африканских детей в кишечнике присутствуют бактерии, которые синтезируют всевозможные компоненты для расщепления пиши, содержащей растительные волокна. У европейских детей таких бактерий нет, так как овощи и мясо они получают в виде пюре [11; стр.195].

По некоторым данным, ценные бактерии могут передаваться по наследству [11; стр.196].

Известно, что первые бактерии, населяющие наш кишечник, закладывают фундамент будущего нашего организма. Полезные микроорганизмы не только облегчат пищеварение малышу, но и обеспечат формирование у него надёжной иммунной системы [11; стр.197].

Но у детей, появившихся на свет в результате кесарева сечения, формирование микробиоты кишечника идёт гораздо дольше: первые поселения образуются спустя месяцы и даже дольше [11; стр.198].

Микробиота кишечника считается взрослой при достижении человеком трёхлетнего возраста – кишечник может полноценно функционировать и работать [11; стр.199]. Микробиота начинает обеспечивать трофику кишечного эпителия и барьерную функцию по защите кишечника от колонизации оппортунистическими и патогенными микроорганизмами и обмену веществ, синтез витаминов, метаболизм пищевых компонентов, холестерина, желчных кислот, начинает регулировать моторику кишечника и содействовать формированию иммунитета. Несмотря на огромное разнообразие микроорганизмов, в микробиоте кишечника взрослого человека доминируют *Bacteroidetes* и *Firmicutes* при значительно более низкой доле *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. При этом микробиота каждого человека индивидуальна и различается как на видовом, так и на штаммовом уровне [4; стр.22-23].

Самыми известными представителями кишечной микробиоты являются роды *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, которые относятся к типам *Firmicutes* и *Actinobacteria* соответственно.

Род *Lactobacillus*. Лактобактерии включают более 30 видов и обнаруживаются начиная с ротовой полости. Лактобактерии – неспорообразующие грамположительные палочки. Они блокируют рецепторы клеток слизистой оболочки кишечника от адгезинов ПМ, тем самым обеспечивают его колонизационную резистентность. Немаловажную роль лактобактерии играют в регуляции иммунитета, стимулируя синтез иммуноглобулинов и интерферона. В процессе жизнедеятельности лактобактерии подавляют гнилостные, гноеродные, газообразующие ПМ, а также возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ), участвуют в процессах глюкозообразования. Лактобактерии выполняют огромную работу в организме, потому показаны при большом количестве заболеваний (от запоров до онкологии) и в первую очередь, могут справиться с ДК. Однако они могут способствовать развитию кариеса, вызывать гнойновоспалительные процессы (эндокардиты, менингиты, пневмонии, септицемии и др.) [7; стр.7]

Род *Bifidobacterium*. Бифидобактерии – грамположительные неспорообразующие облигатно-анаэробные палочки, они составляют от 40 до 95% от общего числа выделенных бактерий в зависимости от возраста. Бифидобактерии выполняют различные функции:

- осуществляют физиологическую защиту кишечного барьера от проникновения микробов и токсинов во внутреннюю среду организма, т.е. формируют колонизационную резистентность кишечника;

- активно противостоят ПМ за счёт того, что вырабатывают органические жирные кислоты;

- синтезируют такие важные вещества как витамины, аминокислоты и белки;

- способствуют усилению процессов всасывания через стенку кишечника ионов кальция, железа, витамина Д;

- обладают защитным иммуномодулирующим действием, регулируют функции клеточного иммунитета, индуцируют выработку секреторных иммуноглобулинов, интерферона, лизоцима, усиливают пролиферативные реакции клеток пейеровых бляшек в стенке кишечника. В клеточной стенке бифидобактерий содержится большое количество мурамил-дипептида, который активирует образование В-, Т-лимфоцитов и макрофагов, обеспечивающих устойчивость иммунной системы к инфекционным заболеваниям.

Всё вышеперечисленное послужило основанием для создания препарата бифидумбактерин в Московском НИИ ЭМ в 1967 г. Г.И. Гончаровой и А.М. Лянной, который до сих пор является одним из наиболее эффективных и перспективных препаратов для лечения ДК [7; стр.6-7].

1.3. Дисбиоз («дисбактериоз»)

Дисбиоз («дисбактериоз») кишечника – это клинико-лабораторный (клинико-микробиологический) синдром, развивающийся вторично при ряде заболеваний и клинических синдромов и характеризующийся изменением количественного и качественного (видового) состава микробных ассоциаций в определённых биотопах (толстая и тонкая кишка) с транслокацией её различных представителей в несвойственные им микробиоты, протекающий с метаболическими и иммунологическими расстройствами, которые, постепенно нарастая, становятся причиной появления клинической симптоматики [10; стр.677].

Простыми словами, *дисбиоз («дисбактериоз») кишечника* – это количественное и качественное изменение состава нормальной микробиоты, приводящее к развитию или усугублению патологического процесса [3; стр.382].

Считается, что термин «дисбактериоз кишечника» был предложен выдающимся российским учёным-инфекционистом А.Ф. Билибиным. Однако, как показал ретроспективный анализ, приоритет в использовании этого термина принадлежит A. Nissle, который первым применил его в 1916 г [10; стр.677].

Но основателем учения о дисбиозе («дисбактериозе») кишечника должен быть признан один из корифеев отечественной медицины, Нобелевский лауреат И.И. Мечников (1845-1916), который первым обратил внимание на роль кишечной микробиоты в жизнедеятельности организма человека и её значение в противодействии инфекции, благодаря феномену бактериального антагонизма. Он писал: «Многочисленные ассоциации микробов, населяющих кишечник человека, в значительной мере определяют его духовное и физическое здоровье» [10; стр.678]. Кроме того, он предположил, что «кишечная аутоинтоксикация», и вызываемое ею старение, может быть уменьшена модификацией кишечной микробиоты и замещением протеолитических микробов, которые продуцируют токсические вещества, включающие фенолы, индолы и аммиак при переваривании белков – полезными микробами [6; стр.4].

Причины развития дисбиоза [3; стр.382]*:*

- заболевания желудочно-кишечного тракта инфекционной или неинфекционной природы;

- нерациональное применение антибиотиков и химиопрепаратов;

- неполноценное (несбалансированное) питание (особенно у детей первого года жизни);

- стрессовые ситуации;

- злокачественные новообразования;

- хирургические вмешательства;

- гормональные нарушения;

- иммунодефицитные состояния

Таким образом, дисбиоз – это не самостоятельное заболевание, а клинико-лабораторный синдром, который может наблюдаться при самых разных заболеваниях [3; стр.382].

Микробиологические показатели дисбиоза [3; стр. 382]*:*

- снижение численности одного или нескольких постоянных видов;

- потеря бактериями тех или иных признаков или приобретение новых свойств;

- повышение численности транзиторных видов;

- появление новых, несвойственных данному биотопу видов;

- ослабление антагонистической активности нормальной микробиоты.

Стадии дисбиоза [3; стр.382-383]*:*

I стадия – компенсированная (латентная, субклиническая). В эту стадию происходит уменьшение количества одного из представителей постоянной микробиоты без количественного изменения других представителей. Клинических 383 симптомов в компенсированную стадию не выявляется. При выявлении этой стадии рекомендуется соответствующая диета.

II стадия – субкомпенсированная. В эту стадию наблюдается снижение количества или полная элиминация нескольких представителей постоянной микробиоты и увеличение содержания условно-патогенных микроорганизмов. Клинически эта стадия проявляется дисфункцией кишечника, местными воспалительными процессами, стоматитом. Рекомендуются диета, функциональное питание, пробиотики, пребиотики и синбиотики.

III стадия – декомпенсированная. В эту стадию превалирует условно патогенные микроорганизмы. Отдельные представители распространяются за

пределы биотопа и появляются в тех органах и тканях, в которых они обычно не встречаются. Клинически эта стадия характеризуется выраженной дисфункцией кишечника, воспалительными процессами в тех или иных органах, вплоть до септических форм. Для коррекции дисбактериоза в эту стадию проводят селективную деконтаминацию (назначение антибиотиков – фторхинолонов, монобактамов, аминогликозидов) и длительную коррекцию нормальной микробиоты с помощью пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков.

Основные симптомы дисбиоза кишечника [7; стр.16-17]:

- наиболее характерным симптомом ДК является расстройство стула;

- второй симптом дисбиоза – метеоризм;

- часто симптомом дисбиоза выступают монотонные, тянущего и распирающего характера боли в животе, усиливающиеся во второй половине дня, сопровождающиеся метеоризмом, в некоторых случаях – сильные коликообразные;

- гиповитаминоз витаминов группы В (глоссит, ангулярный стоматит, изменения кожи, ногтей, волос, развитие хронической пищевой крапивницы и ряд других отклонений).

1.4. Всё о пробиотиках: история возникновения, определение, механизм действия, натуральные пробиотики

История возникновения

Интерес к применению пробиотиков имеет более чем вековую историю. В 1899 г. французский исследователь Анри Тиссье впервые изолировал от новорожденного бифидобактерию, названную им *Bacillus bifidus communis*. Тиссье считал, что бифидобактерии могут вытеснять микроорганизмы, вызывающие диарею, и рекомендовал применение бифидобактерий у новорожденных с этим заболеванием [4; стр.31]

Также в начале XX века положительный эффект для здоровья человека от приема простокваши с живыми лактобактериями был обнаружен И.И. Мечниковым. Он разработал диету с включением молока, ферментированного бактерией, которую он назвал «Болгарской бациллой» [6,4; стр.4., стр.31].

В попытке изменить или заместить кишечную микробиоту при лечении нарушений в пищеварительном тракте использовались живые непатогенные бактерии. В 1917 г., до того, как сэр Александр Флеминг открыл пенициллин, немецкий ученый Альфред Ниссле изолировал непатогенный штамм *Escherichia coli* из фекалий солдата, который не пострадал от этой болезни, после чего штамм кишечной палочки *Nissle* 1917 стал применяться при сальмонеллезе и дизентерии [6,4; стр.4., стр.31]

В 1930 г. японский ученый Минору Широта изолировал штамм *Shirota Lactobacillus casei* для лечения дизентерии. Пробиотик с этим штаммом присутствует на рынке с 1935 г [4; стр.31]

Определение [3; стр.383]

Пробиотики представляют собой препараты, содержащие живые микроорганизмы (представители нормальной микробиоты кишечника, бактерии, выделенные из организма животных, объектов внешней среды). Такие бактерии должны обладать антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам и оказывать позитивные влияние на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма хозяина путем стабилизации и оптимизации функций его нормальной микробиоты.

Механизм действия пробиотиков

Несмотря на существенное разнообразие и широкое применение пробиотических штаммов, их механизмы действия окончательно не изучены. Функции пробиотиков во многом схожи с таковыми у представителей нормальной кишечной микробиоты человека, однако их эффект может

различаться в зависимости от рода, вида или даже штамма. Пробиотики действуют на экосистему ЖКТ, влияя на иммунные механизмы в слизистой оболочке, взаимодействуя с симбиотическими или потенциально патогенными микробами, генерируя продукты метаболического обмена, такие как короткоцепочечные жирные кислоты и коммуницируя с клетками хозяина посредством химических сигналов [5,6; стр.67., стр.9].

Основные механизмы взаимодействия пробиотиков и организма человека представлены в таблице [4,6; стр.32., стр.9-10].

(*Приложение 2*)

Но молочнокислые бактерии, как самые известные для нас бифидо- и лактобактерии, так и менее известные, но не менее важные, как лактококки и термофильный стрептококк, содержаться не только в лекарственных препаратах, но и в пищевых продуктах, которые человек часто употребляет каждый день, поддерживая здоровье кишечника.

Сбалансированным рационом можно заметно улучшить состояние микробиоты кишечника и, как следствие, всего организма, так как наш кишечник имеет огромный арсенал различных сигнальных веществ, электроизоляционного материала для нервов, волокон и рычагов переключения, а таким же разнообразием инструментов обладает всего лишь один орган – головной мозг, который руководит нашим организмом – достаточно уделить особое внимание пище с высоким содержанием пробиотиков [11; стр.153].

Кстати, кисломолочные продукты (йогурт, сыр, сметана, кефир и т.д.), являющиеся самыми известными источниками полезных штаммов, далеко не единственный их представитель. Те, кто страдает непереносимостью лактозы, могут выбрать другие виды пробиотических продуктов: квашеная капуста, яблочный уксус (*не стоит употреблять в чистом виде!*), квас, кимчи, солёные огурцы.

Глава 2. Исследование

Пробиотические продукты под микроскопом

2.1. Окрашивание по Граму, методика подсчёта клеток крови по камере Гаряева, работа с микроскопом: теория

Сложные методы окрашивания применяются для детального изучения структуры бактериальной клетки. При сложных методах окрашивания используют несколько красителей. В лабораторной практике из сложных методов окрашивания наиболее часто применяют методы Грама (идентификация грамположительных и грамотрицательных бактерий), Циля-Нельсена (окрашивание кислотоустойчивых бактерий), Бурри-Гинса (выявление капсулы), Ожешко (окрашивание спор) и некоторые другие. Сложные методы окрашивания микробов представлены в приложении 2 к настоящему разделу [3; стр.173].

Впервые этот метод окрашивания микроорганизмов описал в 1884 г. датский бактериолог Г. К. Грам [3; стр.175].

Метод Грама является самым универсальным сложным методом окрашивания бактерий. Все бактерии при окрашивании по Граму распределяются на две группы: грамположительные (грампозитивные) и грамотрицательные (грамнегативные). Грамположительные микроорганизмы окрашиваются в фиолетовый (синий) цвет, грамотрицательные – в красный (розовый) цвет. Отношение к окраске по Граму является важным тинкториальным признаком, который учитывается при идентификации бактерий [3; стр.173].

Методика окрашивания бактерий по Граму [3; стр.174]*:*

1. На фиксированный препарат наносят несколько капель раствора генцианового фиолетового или помещают полоску фильтровальной бумаги, на которую наливают раствор красителя. Краситель выдерживают в течение 1-2

минут, после чего избыток красителя сливают или снимают фильтровальную бумагу.

2. Не промывая препарата, наносят несколько капель раствора Люголя и выдерживают в течение 1-2 минут до почернения препарата. Избыток красителя сливают.

3. На препарат наносят несколько капель этилового спирта (96%) и выдерживают в течение 30 секунд. После этого спирт сливают, препарат промывают водой, избыток воды сливают.

4. На препарат наносят несколько капель раствора фуксина и выдерживают в течение 1-2 минут. Избыток красителя смывают водой.

5. Препарат высушивают фильтровальной бумагой и досушивают на воздухе.

Метод Грама в модификации А.В. Синева предусматривает использование фильтровальной бумаги, пропитанной генциановым фиолетовым, приготовленным по следующему рецепту: генциановый фиолетовый – 1 г, спирт этиловый 96% - 100 мл, глицерин – 5 мл. Фильтровальную бумагу пропитывают красителем, высушивают и нарезают полосками по размеру покровного стекла. При окрашивании на фиксированный мазок помещают полоску фильтровальной бумаги, наносят несколько капель дистиллированной воды и выдерживают в течение 2 минут. После этого бумагу снимают, оставшуюся жидкость сливают, препарат промывают водой. Затем на препарат последовательно наносят раствор Люголя на 2 минуты, этиловый спирт на 20-30 секунд и снова промывают водой. В заключении на препарат на 1-2 минуты наносят раствор фуксина, избыток красителя смывают водой, препарат высушивают при комнатной температуре или фильтровальной бумагой [3; стр.174-175].

Этапы окрашивания бактерий по Граму и результаты окрашивания представлены в таблице [3; стр.175].

(*Приложение 3*)

Окрашивание микроорганизмов по Граму зависит от строения и химического состава клеточной стенки бактерий [3; стр.175].

В клеточной стенке грамположительных бактерий содержится большое количество пептидогликана и тейхоевых кислот, с которыми генциановый фиолетовый в присутствии раствора Люголя образует комплекс. Этот комплекс не вымывается этиловым спиртом, поэтому клетка прочно удерживает генциановый фиолетовый. Кроме того, при обработке препарата этиловым спиртом сужаются поры в слое пептидогликана, что также препятствует выходу комплекса из клеточной стенки. Такие бактерии окрашиваются генциановым фиолетовым и в последующем не воспринимают фуксин, в результате чего клетки имеют фиолетовую окраску [3; стр.175].

У грамотрицательных микроорганизмов не образуется прочного соединения генцианового фиолетового и йода с компонентами клеточной стенки. На последующих этапах красители легко вымываются этиловым спиртом. Такие клетки дополнительно окрашиваются фуксином в красный (розовый) цвет [3; стр.175-176].

При выполнении окрашивания по Граму необходимо соблюдать технику безопасности.

(*Приложение 4*)

Но, чтобы подсчитать количество бифидо- и лактобактерий, необходимо использовать методику подсчёта клеток по камере Гаряева.

Во многих сферах микробиологии количественный учет микроорганизмов не менее важен, чем качественный. Это касается как почвенной или водной микробиологии, так и медицинской. Во всех случаях необходимо оценить бактериальную нагрузку чего-либо микроорганизмами: в первом случае для того, чтобы сделать экологическое описание той или иной

среды, а во втором – чтобы оценить степень заражения и назначить адекватную терапию [2; стр.27].

Оценивать количество микроорганизмов можно различными способами [2; стр.27-28]:

- *прямым подсчетом* различными методами (в камере Горяева, методом Виноградского – Брида, на мембранных фильтрах, капиллярным методом);

- *косвенными методами*, основанными на разведении суспензии клеток и высевом их на питательные среды (методом Коха) и на расчете различных показателей, изменяющихся в зависимости от количества микроорганизмов (оптическая плотность в нефелометрическом методе).

Камера Горяева – особое предметное стекло с нанесенной на него микроскопической стекой. Подсчет клеток в камере Горяева осуществляется в больших или малых квадратах сетки в зависимости от размеров микроорганизмов. Сетка нанесена на поверхность стекла, расположенного строго на 0,1 мм ниже, чем соседние площадки. Они используются для притирания специального толстого покровного стекла к камере. Образование радужных колец (колец Ньютона) в месте площадок говорит о том, что притирание прошло успешно и объем камеры соответствует заявленному [2; стр.28].

Подсчёт клеток в камере Горяева [2; стр.32-33]*:*

Притереть покровное стекло к предметному до появления радужных колец на местах притирки. Появление колец Ньютона означает, что объем камеры в таком положении точно равен за явленному. Внести каплю суспензии под покровное стекло капилляром или самплером.

Микроскопировать с объективом ×40 или ×20. Подсчитывать все клетки микроорганизмов, находящиеся внутри большого квадрата, а также на пограничных линиях, если они большей частью находятся в данном квадрате. Клетки, большая часть которых находится в другом квадрате, не

подсчитываются. Если клетки пересекаются пограничной линией пополам, то их считают только на двух смежных сторонах квадратов, например, на левой и нижней.

После подсчета около 600 клеток необходимо подсчитать среднее количество клеток в большом квадрате сетки и подставить результат в формулу подсчета общего количества клеток в 1 мл суспензии по формуле:

$$M = \frac{1000 * a}{h * S} * n$$

где M – число клеток в 1 мл суспензии; a – среднее число клеток в большом квадрате сетки; n – коэффициент разведения суспензии; h – глубина камеры; S – площадь квадрата сетки. Глубина камеры и площадь квадрата сетки (или объем камеры) указаны на самой камере.

При работе с камерой Горяева необходимо соблюдать технику безопасности.

(*Приложение 4*)

Препараты необходимо смотреть под объективом микроскопа (в моём случае это цифровой микроскоп), при работе с которым необходимо соблюдать технику безопасности.

(*Приложение 4*)

2.2. Окрашивание препаратов по методике Грама, подсчёт бактерий по камере Горяева с использованием микроскопа

Для подробного изучения я выбрала следующие натуральные пробиотики: йогурт и кефир без фруктовых или ягодных добавок, сметану и ряженку от Ирбитского молочного завода.

Для окрашивания препаратов по Граму я приобрела набор на маркетплейсе Wildberries (арт. 229518306). В данный набор входят генциан-виолет – 1 шт (100 мл); раствор Люголя – 1 шт (100 мл); фуксин Циля – 1 шт

(10 мл). Также отдельно была куплена фильтровальная бумага (арт. 66703369), чашки Петри (арт. 189212186), камера Горяева (арт. 114787597), пипетки 0,5 мл (арт. 221570966)

Чтобы проверить, присутствуют ли в продуктах бактерии, я провела окрашивание по Граму. Сам же подсчёт я проводила без окрашивания в камере Горяева.

С помощью окрашивания продукта я провела анализ продукта на наличие в нём бактерий.

Пипеткой я капала неразведённый кефир на предметное стекло и вторым предметным стеклом делала тонкий мазок, который на стекле был практически незаметен (важно сделать мазок тонким, так как если он будет толстым, то бактерий не будет видно). Мазок зафиксировала с помощью зажигалки.

(Приложение 5)

На фиксированный мазок положила кусочек фильтровальной бумаги, который пропитала 1 мл раствора генцианового фиолетового карболового, выдержала при комнатной температуре 2 минуты. Сняла фильтровальную бумагу и слила краску, не промывая водой, налила на мазок 1 мл раствора Люголя, выдержала при комнатной температуре 2 минуты. Слила раствор Люголя и, не промывая водой, погрузила стекло в 96% этиловый спирт.

(Приложение 6)

Держала я стекло примерно 30 секунд, пока мазок не обесцветился, и пока от него не перестали отходить струйки краски. Извлечённое из спирта стекло промыла дистиллированной водой (промывала долго, чтобы на препарате не было сгустков) и залила поверхность мазка рабочим раствором фуксина, который развела заранее (развела 1 мл фуксина основного карболового концентрированного в 9 мл дистиллированной воды), и выдержала 1 минуту. Слила краску со стекла и промыла мазок дистиллированной водой.

(Приложение 7)

Капли воды со стекла убрала с помощью фильтровальной бумаги и оставила сушится в наклонном положении.

(Приложение 8)

Я микроскопировала препарат под увеличением ×2000. Среди артефактов, которые часто попадают на предметное стекло, мне удалось обнаружить бактерии. К сожалению, бифидо- и лактобактерии отличить друг от друга практически невозможно, так как это палочковидные бактерии и окрашиваются они идентично.

(Приложение 8)

Окрашивание по Граму питьевого йогурта (без фруктовых/ягодных добавок), сметаны и ряженки я проводила аналогичным образом и обнаружила в них бактерии.

(Приложение 9)

Так как в кефире мною были найдены бактерии, я приступила к подсчёту количества микроорганизмов с помощью камеры Горяева.

Перед началом приготовления препарата я взяла камеру Горяева и покровное стекло, которое я притёрла с помощью сильных нажатий и проведения стеклом по боковым пластинкам камеры в противоположные стороны. Через некоторое время я заметила кольца Ньютона – покровное стекло притёрлось.

(Приложение 10)

С помощью пипетки, объём которой равен 0,5 мл, в ёмкость я налила 5 мл кефира и 50 мл воды. Перемешала и дождалась максимально возможного растворения натурального пробиотика.

(Приложение 10)

Кефир я развела дистиллированной водой в соотношении 1:10, так как при меньшем разведении число бактерий в большом квадрате превышало число 10.

Каплю суспензии я внесла через бороздку камеры, под покровное стекло. Подождала 3 минуты, чтобы бактерии осели и при микрокопировании были видны в одной плоскости.

(Приложение 10)

Препарат я смотрела под увеличением ×2000. Необходимо было подсчитать 600 бактерий в больших квадратах камеры Горяева, в том числе и в больших квадратах, которые поделены на 16 маленьких квадратов. Подсчитав 600 бактерий, я вывела среднее количество бактерий (*a*) в 1 большом квадрате. Среднее количество бактерий (*a*) в большом квадрате я высчитала по формуле:

$$a = \frac{x}{N}$$

где *x* – количество бактерий (600), а *N* – количество квадратов, в которых я насчитала данное количество бактерий.

$$a_1 = \frac{600}{169} = 3{,}6 \text{ (бакт)}$$

Для более точного определения количества бактерий подсчёт я повторяла 3 раза, каждый раз заново монтируя камеру и заполняя её исследуемой взвесью. Во второй подсчёт среднее количество бактерий было равно:

$$a_2 = \frac{600}{186} = 3{,}2 \text{ (бакт)}$$

В третий подсчёт среднее количество бактерий было равно:

$$a_3 = \frac{600}{211} = 2{,}8 \text{ (бакт)}$$

Таким образом среднее количество бактерий в 1 квадрате равно:

$$a_{\text{итог}} = \frac{3{,}6 + 3{,}2 + 2{,}8}{3} = 3{,}2\ (\text{бакт})$$

Я высчитывала количество бактерий, используя формулу подсчёта общего количества клеток в 1 мл суспензии:

$$M = \frac{1000 * a}{h * S} * n$$

Среднее количество клеток (a) = 2; глубина камеры (h) = 0,1 мм^2; площадь квадрата сетки (S) = 0,04 мм^2; коэффициент разведения (n) = 10. Таким образом, число клеток в 1 мл суспензии (M) равно:

$$M = \frac{1000 * 3{,}2}{0{,}1 * 0{,}04} * 10 = 8\,000\,000 = 8 * 10^6\ (\text{КОЕ/мл})$$

Расчёты:

Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)

$$a_1 = \frac{600}{169} = 3{,}6\ (\text{бакт})$$

$$a_2 = \frac{600}{186} = 3{,}2\ (\text{бакт})$$

$$a_3 = \frac{600}{211} = 2{,}8\ (\text{бакт})$$

$$a_{\text{итог}} = \frac{3{,}6 + 3{,}2 + 2{,}8}{3} = 3{,}2\ (\text{бакт})$$

$$M = \frac{1000 * 3{,}2}{0{,}1 * 0{,}04} * 10 = 8\,000\,000 = 8 * 10^6\ (\text{КОЕ/мл})$$

(Приложение 11)

Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)

$$a_1 = \frac{600}{169} = 3{,}6\ (\text{бакт})$$

$$a_2 = \frac{600}{200} = 3 \text{ (бакт)}$$

$$a_3 = \frac{600}{225} = 2{,}6 \text{ (бакт)}$$

$$a_{\text{итог}} = \frac{3{,}6 + 3 + 2{,}6}{3} = 3 \text{ (бакт)}$$

$$M = \frac{1000 * 3}{0{,}1 * 0{,}04} * 10 = 7\,500\,000 = 75 * 10^5 \text{ (КОЕ/мл)}$$

(Приложение 12)

Сметана

Отсутствует 600 клеток (максимальное количество – 282)

$$a_1 = \frac{282}{225} = 1{,}3 \text{ (бакт)}$$

$$a_2 = \frac{271}{225} = 1{,}2 \text{ (бакт)}$$

$$a_3 = \frac{246}{225} = 1 \text{ (бакт)}$$

$$a_{\text{итог}} = \frac{1{,}3 + 1{,}2 + 1}{3} = 1{,}2 \text{ (бакт)}$$

$$M = \frac{1000 * 1{,}2}{0{,}1 * 0{,}04} * 10 = 3\,000\,000 = 3 * 10^6 \text{ (КОЕ/мл)}$$

(Приложение 13)

Ряженка

Отсутствует 600 клеток (максимальное количество – 259)

$$a_1 = \frac{259}{225} = 1{,}2 \text{ (бакт)}$$

$$a_2 = \frac{220}{225} = 1 \text{ (бакт)}$$

$$a_3 = \frac{213}{225} = 0{,}9 \text{ (бакт)}$$

$$a_{\text{итог}} = \frac{1{,}2 + 1 + 0{,}9}{3} = 1 \text{ (бакт)}$$

$$M = \frac{1000 * 0{,}1}{0{,}1 * 0{,}04} * 10 = 2\,500\,000 = 25 * 10^5 \text{ (КОЕ/мл)}$$

(Приложение 14)

Данные я внесла в сравнительную таблицу «Бактерии в натуральных пробиотиках», в которой указала количество бактерий, указанное на этикетках продуктов или на просторах интернета, а также количество бактерий, которое я посчитала в ходе практической части моего проекта.

Продукты	**Бифидобактерии и лактобактерии**	
	Количество, указанное на этикетке/на просторах интернета, КОЕ/мл	**Количество, выявленное в ходе эксперимента, КОЕ/мл**
Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)	10^7	8 * 10^6
Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)	10^7	75 * 10^5
Сметана	10^7	3 * 10^6
Ряженка	10^7	25 * 10^5

Таблица 3. Бактерии в натуральных пробиотиках

Вывод: самым богатым продуктом по количеству бактерий является кефир. Меньше всего бактерий оказалось в ряженке. Предполагаю, что это вызвано большим содержанием жира, который препятствовал нормальному окрашиванию бактерий, а в последующем нормальному рассматриванию

бактерий без окрашивания в камере Горяева, в которой я видела в основном лишь капли жира, а мест, где отсутствовали жировые капли, было крайне мало. В кефире я выявила самое приближённое количество бактерий к количеству, указанному на упаковке. На 500 000 микроорганизмов меньше оказалось в кефире. В сметане и ряженке количество бактерий совершенно не соответствует заявленному количеству на упаковке. Возможно, на данные результаты повлияло разбавление натуральных пробиотиков дистиллированной водой.

Чтобы понять, можно ли использовать натуральные пробиотики для поддержания микробиоты кишечника, не прибегая к лекарственным препаратам (*Внимание! Не для лечения, а для поддержания, т.е. для профилактики. Я никого не призываю к лечению дисбиоза с помощью натуральных пробиотиков!*), я выбрала пробиотические лекарственные препараты, в составе которых имеется несколько видов бактерий: «FloBiox», «ProBiox Extra», «Линекс Форте», «Флорин Форте».

В инструкции я посмотрела, какое количество капсул за один раз необходимо принимать. В составе препаратов указано количество бактерий каждого вида в 1 капсуле. Я посчитала общее количество всех видов бактерий, которое человек получит за один приём препарата.

Например, в пробиотике «N» количество лактобактерий равно 10^3, а количество бифидобактерий – 10^2, тогда я складываю 10^3 и 10^2 и получаю общее количество всех бактерий = $10^3 + 10^2 = 1100$ (бакт), а если необходимо принять 2 капсулы за раз, то умножаю полученное число на 2 = 1100 * 2 = 2200 (бакт), таким образом, получаю количество бактерий, которое получит человек за разовый приём лекарственного препарата).

Расчёты:

«FloBiox»

Необходимо принять 1 капсулу.

Количество получаемых бактерий:

$$10^9 + 10^9 = 2 * 10^9 = 2\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

«ProBiox Extra»

Необходимо принять 1 капсулу.

Количество получаемых бактерий:

$$4{,}5 * 10^9 + 25 * 10^9 + 0{,}5 * 10^9 = 30 * 10^9 = 30\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

«Линекс Форте»

Необходимо принять 1 капсулу.

Количество получаемых бактерий:

$$2 * 10^9 = 2\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

«Флорин Форте»

Необходимо принять 2 капсулы.

Количество получаемых бактерий:

$$5 * 10^7 + 5 * 10^7 = 10^8 = 10^8 * 2 = 200\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Мы никогда не употребляем по 1 мл какого-либо продукта, поэтому, чтобы подсчитать количество бактерий, которое мы получим при разовом употреблении пробиотического продукта я взяла стандартный объём стакана и столовой ложки: 250 мл и 15 мл соответственно.

Расчёты:

Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)

1 стакан = 250 мл

$$250 * 8 * 10^6 = 2 * 10^9 = 2\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)

1 стакан = 250 мл

$$250 * 75 * 10^5 = 1{,}875 * 10^9 = 1\,875\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Сметана

1 столовая ложка = 15 мл

$$15 * 3 * 10^6 = 4{,}5 * 10^7 = 45\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Ряженка

1 стакан = 250 мл

$$250 * 25 * 10^5 = 6{,}25 * 10^8 = 625\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Проведя расчёты, я получила количество получаемых нами бактерий при употреблении необходимой дозы лекарственного препарата и при употреблении стакана пробиотического напитка или столовой ложки натурального пробиотика. Полученные данные я внесла в сравнительную таблицу «Лекарственные препараты и натуральные пробиотики».

Лекарственный препарат	**Количество бактерий, полученных за 1 приём**	**Натуральный пробиотик**	**Количество бактерий, полученных за 1 приём**
«FloBiox»	$2 * 10^9$	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)**	$2 * 10^9$
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)	$1{,}875 * 10^9$
		Сметана	$4{,}5 * 10^7$
		Ряженка	$6{,}25 * 10^8$

«ProBiox Extra»	$30 * 10^9$	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)**	$2 * 10^9$
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)	$1{,}875 * 10^9$
		Сметана	$4{,}5 * 10^7$
		Ряженка	$6{,}25 * 10^8$
«Линекс Форте»	$2 * 10^9$	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)**	$2 * 10^9$
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)	$1{,}875 * 10^9$
		Сметана	$4{,}5 * 10^7$
		Ряженка	$6{,}25 * 10^8$
«Флорин Форте»	$2 * 10^8$	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)**	$2 * 10^9$
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)	$1{,}875 * 10^9$
		Сметана	$4{,}5 * 10^7$
		Ряженка	$6{,}25 * 10^8$

Таблица 4. Лекарственные препараты и натуральные пробиотики

Вывод: пробиотик «ProBiox Extra» содержит самое большое количество бактерий и ни один натуральный пробиотик по-своему количеству не находится рядом с данным лекарственным препаратом. В пробиотике «Флорин Форте» находится самое маленькое количество бактерий и количество пробиотических микроорганизмов во всех продуктах, кроме сметаны, превышает количество в лекарственном препарате. При употреблении 250 мл кефира мы можем получить ±2 000 000 000 бактерий, как и при приёме «FloBiox» и «Линекс Форте». Но при употреблении столовой ложки сметаны мы получим количество бактерий, которое намного ниже, чем у пробиотика с самым маленьким содержанием микроорганизмов.

Полностью восстановить микробиоту кишечника натуральными пробиотиками не получится. Но для того, чтобы понять, сколько нам необходимо употребить натурального пробиотика в день и в течение какого количества времени для восстановления микробиоты кишечника, я провела расчёты.

В инструкции к применению лекарственных пробиотиков написано количество капсул, которое необходимо употреблять в день и в течение определённого количества времени.

Например, в инструкции лекарственного препарата «N» указано, что в течение 30 дней необходимо принимать 1 капсулу в день, тогда я умножаю количество бактерий (например, $2 * 10^9$) в 1 капсуле данного пробиотика на количество капсул, которое необходимо принять за месяц, чтобы полностью восстановить микробиоту кишечника, и получаю количество бактерий, которое необходимо получить за 30 дней, чтобы микробиота кишечника восстановилась: $30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^9 = 60\ 000\ 000\ 000$ (бакт).

Расчёты:

«FloBiox»

1 капсула/день, 30 дней.

$$30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^9 = 60\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

«ProBiox Extra»

1 капсула/день, 30 дней.

$$30 * 30 * 10^9 = 9 * 10^{11} = 900\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

«Линекс Форте»

1 капсула/день, 30 дней.

$$30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^9 = 60\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

«Флорин Форте»

2 капсулы 3 раза в день = 6 капсул/день, 10 дней.

$$10 * 6 * 2 * 10^8 = 12 * 10^9 = 12\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Если при подсчёте необходимого количества к употреблению натуральных пробиотиков выяснялось, что, например, 15 мл сметаны в день употреблять недостаточно, то я увеличивала количество употребляемой сметаны в день, например, брала не 15 мл, а 20 мл.

Расчёты:

Для лекарственного пробиотика «FloBiox»

Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 250 мл/день

$$250 * 8 * 10^6 = 2 * 10^9 = 2\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^{10} = 60\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 266,7 мл/день

$$266{,}7 * 75 * 10^5 = 2{,}00025 * 10^9 = 2\,000\,250\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2{,}00025 * 10^9 = 6{,}00075 * 10^{10} = 60\ 007\ 500\ 000 \text{ (бакт)}$$

Сметана

Необходимо употребить 666,7 мл/день

$$666{,}7 * 3 * 10^6 = \ 2{,}0001 * 10^9 = 2\ 000\ 100\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2{,}0001 * 10^9 = 6{,}0003 * 10^{10} = 60\ 003\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Ряженка

Необходимо употребить 800 мл/день

$$800 * 25 * 10^5 = \ 2 * 10^9 = 2\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^{10} = 60\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Для лекарственного пробиотика «ProBiox Extra»

Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 3750 мл/день

$$3750 * 8 * 10^6 = \ 30 * 10^9 = 30\ 000\ 000\ 000 \text{(бакт)}$$

$$30 * 30 * 10^9 = 9 * 10^{11} = 900\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 4000 мл/день

$$4000 * 75 * 10^5 = \ 30 * 10^9 = 30\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 30 * 10^9 = 9 * 10^{11} = 900\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Сметана

Необходимо употребить 10000 мл/день

$$10000 * 3 * 10^6 = \ 30 * 10^9 = 30\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 30 * 10^9 = 9 * 10^{11} = 900\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Ряженка

Необходимо употребить 12000 мл/день

$$12000 * 25 * 10^5 = 30 * 10^9 = 30\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 30 * 10^9 = 9 * 10^{11} = 900\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Для лекарственного пробиотика «Линекс Форте»

Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 250 мл/день

$$250 * 8 * 10^6 = 2 * 10^9 = 2\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^{10} = 60\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 266,7 мл/день

$$266{,}7 * 75 * 10^5 = 2{,}00025 * 10^9 = 2\,000\,250\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2{,}00025 * 10^9 = 6{,}00075 * 10^{10} = 60\,007\,500\,000 \text{ (бакт)}$$

Сметана

Необходимо употребить 666,7 мл/день

$$666{,}7 * 3 * 10^6 = 2{,}0001 * 10^9 = 2\,000\,100\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2{,}0001 * 10^9 = 6{,}0003 * 10^{10} = 60\,003\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Ряженка

Необходимо употребить 800 мл/день

$$800 * 25 * 10^5 = 2 * 10^9 = 2\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

$$30 * 2 * 10^9 = 6 * 10^{10} = 60\,000\,000\,000 \text{ (бакт)}$$

Для лекарственного пробиотика «Флорин Форте»

Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 150 мл/день

$$150 * 8 * 10^6 = \ 12 * 10^8 = 1\ 200\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$10 * 12 * 10^8 = 12 * 10^9 = 12\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок)

Необходимо употребить 160 мл/день

$$160 * 75 * 10^5 = \ 12 * 10^8 = 1\ 200\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$10 * 12 * 10^8 = 12 * 10^9 = 12\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Сметана

Необходимо употребить 4000 мл/день

$$400 * 3 * 10^6 = \ 12 * 10^8 = 1\ 200\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$10 * 12 * 10^8 = 12 * 10^9 = 12\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Ряженка

Необходимо употребить 480 мл/день

$$480 * 25 * 10^5 = \ 12 * 10^8 = 1\ 200\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

$$10 * 12 * 10^8 = 12 * 10^9 = 12\ 000\ 000\ 000 \text{ (бакт)}$$

Количество бактерий за курс лечения	**Лекарственный препарат (капсула/день, курс)**	**Натуральный пробиотик (мл/день)**
$6 * 10^9$	**«FloBiox»** 1 капсула/день, 30 дней.	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)** 250 мл/день

		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок) 266,7 мл/день
		Сметана 666,7 мл/день
		Ряженка 800 мл/день
$9 * 10^{11}$	**«ProBiox Extra»** 1 капсула/день, 30 дней.	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)** 3750 мл/день
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок) 4000 мл/день
		Сметана 10000 мл/день
		Ряженка 12000 мл/день
$6 * 10^{9}$	**«Линекс Форте»** 1 капсула/день, 30 дней.	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)** 250 мл/день
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок) 266,7 мл/день
		Сметана

		666,7 мл/день
		Ряженка 800 мл/день
$12 * 10^9$	**«Флорин Форте»** 2 капсулы 3 раза в день = 6 капсул/день, 10 дней.	**Кефир (без фруктовых/ягодных добавок)** 150 мл/день
		Йогурт питьевой (без фруктовых/ягодных добавок) 160 мл/день
		Сметана 4000 мл/день
		Ряженка 480 мл/день

Таблица 5. Суточная норма употребления натуральных пробиотиков и лекарственных препаратов для полного восстановления микробиоты кишечника

Вывод по исследованию: таким образом, полностью восстановить микробиоту кишечника пробиотическими продуктами во многих случая физически невозможно, даже опасно, например, если в день съедать 4 л сметаны в день, то человеку станет просто плохо. Также стоит учитывать тот факт, что не все бактерии в полноценном виде окажутся в кишечнике, предварительно подвергшись воздействию со стороны желудочного и кишечного соков. Но натуральные пробиотики всё же можно использовать для профилактики заболевания.

Таким образом, мною были проведены: окрашивание по Граму, подсчёт клеток в камере Горяева и несколько расчётов. В каждом выбранном натуральном пробиотике я выявила бактерии.

В кефире, по моим подсчётом, находится самое большое количество пробиотических микроорганизмов – 8 * 10^6 (8 000 000 КОЕ/мл), и при употреблении данного натурального пробиотика мы получим самое большое количество бактерий среди натуральных пробиотиков. Меньше всего микроорганизмов – в ряженке – 25 * 10^5 (2 500 000 КОЕ/мл), но при употреблении стакана данного продукта мы получим больше микроорганизмов, чем при употреблении ложки сметаны, но такой результат связан именно с количеством употребляемого продукта.

Моей задачей было узнать количество получаемых бактерий именно при стандартном приёме каждого продукта, не подгоняя всё под определённое количество. Но несмотря на это кефир содержит даже в 1 мл самое большое количество бактерий.

Для полного восстановления микробиоты кишечника натуральные пробиотики не подходят: в большинстве случаев необходимо употребить большое количество продукта, что может вызвать плохое самочувствие. Но самым оптимальным вариантом являются кефир и йогурт, так как, выпивая каждый день в течение месяца 150 – 266,7 мл данных продуктов, мы получим такое же количество бактерий, какое получим при приёме «FloBiox», «Линекс Форте» и «Флорин Форте».

Но всё же для лечения их лучше не использовать, так как в бутылке кефира может оказаться гораздо меньшее количество бактерий – это будет зависеть от условий хранения, условий транспортировки, количества дней с момента вскрытия упаковки, так как к концу срока годности количество бактерий всё же снижается.

Вывод

Таким образом, работая с источниками информации, мною была дана полная характеристика понятий «микробиом» и «микробиота кишечника». Микробиом – коллективные геномы микробных популяций человека,

совокупность генов в организме. Микробиота – это термин, который используется для характеристики микробиоценоза отдельных органов и систем, генетического материала. Подробно изучила клинико-лабораторный синдром «дисбиоз» – это количественное и качественное изменение состава нормальной микробиоты, приводящее к развитию или усугублению патологического процесса.

Изучила историю появления пробиотиков, их механизм действия и практическое применение. Пробиотики представляют собой препараты, содержащие живые. История появления пробиотиков начинается ещё в 1899 году, когда французский исследователь Анри Тиссье впервые изолировал от новорожденного бифидобактерию. Механизмы действия пробиотиков окончательно не изучены. Функции пробиотиков во многом схожи с таковыми у представителей нормальной кишечной микробиоты человека, однако их эффект может различаться в зависимости от рода, вида или даже штамма.

Для более подробного изучения натуральных пробиотиков я выбрала кефир, питьевой йогурт, сметану и ряженку. Изучила технологию окраски по Граму, методику подсчёта клеток по камере Горяева и полученные знания применила на практике, обнаружив под микроскопом бактерии. Провела расчёты и внесла результаты в таблицу «Бактерии в натуральных пробиотиках».

Сравнила количество бактерий в натуральных пробиотиках с количеством бактерий в выбранных лекарственных пробиотиках: «FloBiox», «ProBiox Extra», «Линекс Форте», «Флорин Форте» – провела расчёты и результаты внесла в таблицу «Лекарственные препараты и натуральные пробиотики».

Провела расчёты для вычисления необходимого количества употребляемого натурального пробиотика для полного восстановления микробиоты кишечника. Полученные данные внесла в таблицу «Суточная

норма употребления натуральных пробиотиков и лекарственных препаратов для полного восстановления микробиоты кишечника».

Заключение

Цели и задачи, поставленные в работе выполнены.

В частности, выявлен натуральный пробиотик с наибольшим количеством бактерий. Даны полные характеристик понятиям «микробиом», «дисбиоз» и проанализированы основные проявления дисбиоза кишечника. Изучена история появления пробиотиков, их механизм действия и практическое применение. Проанализированы существующие на рынке натуральные пробиотики и выбраны для подробного изучения опытные образцы. Изучена технология окраски по Граму, методика подсчёта клеток в камере Горяева, проведено окрашивание для проверки наличия полезных бактерий и проведён подсчёт микроорганизмов при помощи микроскопа и методики подсчёта клеток по камере Горяева. Выполнено сравнение количества бактерий в натуральных пробиотиках с количеством бактерий в выбранных лекарственных пробиотиках. Составлены итоговые сравнительные таблицы с данными о количестве бактерий в натуральных пробиотиках.

В ходе работы над проектом поставленная мною гипотеза подтвердилась. Данными продуктами полностью заменить лекарственные препараты невозможно, т.е. привести в порядок микробиоту кишечника во время дисбиоза, например, одной лишь сметаной, не получится, так как она содержит в себе недостаточное количество бактерий. А, чтобы получить необходимое количество бактерий за курс лечения, нужно употребить большое количество сметаны, что вызовет плохое самочувствие. Также стоит учитывать, что не все микроорганизмы смогут адсорбироваться на слизистой кишечника, пркдварительно подвергшись воздействию со стороны желодочного и кишечного соков.

Но для профилактики абсолютно все натуральные пробиотики подойдут, т.к. в них содержатся бактерии, и, учитывая тот факт, что к концу срока годности количество микроорганизмов снижается, все они полностью и разом не исчезнут, так как их содержание в 1 мл равно даже не 1 000, а минимум 2 500 000, т.е. к концу срока годности минимум 2 500 микроорганизмов в продукте останется, т.к. содержание бактерий в последние дни в 3 раза меньше, чем в первые дни после производства.

Источники информации

1. Капелович, М.Б. Микробиом человека, респираторные вирусные инфекции и пробиотики: польза для практической работы. Интервью с доктором медицинских наук, профессором, заведующей кафедрой педиатрии имени академика Г.Н. Сперанского ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, заслуженным врачом РФ Ириной Николаевной Захаровой//Педиатрия. Consilium Medicum. 2021. №3. С.249-254. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiom-cheloveka-respiratornye-virusnye-infektsii-i-probiotiki-polza-dlya-prakticheskoy-raboty (дата обращения: 28.10.2024, 30.10.2024)

2. Лавренчук Л.С. Микробиология: практикум/ Л.С. Лавренчук, А.А. Ермошин; М-во науки и высш. образования Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2019. – 107 с. – ISBN 978-5-7996-2618-1

3. Литусов Н.В. Общая микробиология. Электронное учебное пособие (издание второе, исправленное и дополненное). – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2020. – 562 с.

4. Никонов, Е.Л. Микробиота/Никонов, Е.Л., Попова Е.Н – Москва: 2019. – 254 с. – ICBN 978-5-89084-058-5 – Текст: непосредственный

5. Практические рекомендации Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека (НСОИМ) и Российской

гастроэнтерологической ассоциации (РГА) по применению пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков и обогащенных ими функциональных пищевых продуктов для лечения и профилактики заболеванийгастроэнтерологического профиля у детей и взрослых/ Ивашкин, В.Т., Маев, И.В., Абдулганиева, Д.И., Алексеенко, С.А., Горелов, А.В., Захарова, И.Н., Зольникова, О.Ю., Ивашкина, О.Ю., Корочанская, Н.В., Маммаев, С.Н., Полуэктова, Е.А., Трухманов, А.С., Усенко, Д.В., Успенский, Ю.П., Цуканов, В.В., Шифрин, О.С., Бережная, И.В., Ивакшин, К.В., Лапина, Т.Л., Масленников, Р.В., Николаева, С.В., Сугян, Н.Г., Ульянин, А.И//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.2021. №2 Т.31. С.65-91. URL: https://congress-med.ru/assets/files/2022/2022-rossijskie-rekomendaczii-po-primeneniyu-probiotikov,-prebiotikov-i-sinbiotikov.pdf?ysclid=m1glwr1ie2333192897 (дата обращения: 01.12.2024, 05.12.2024).

6. Пробиотики и пребиотики/Francisco Guarner (Председатель, Испания), Mary Ellen Sanders (Сопредседатель, США), Rami Eliakim (Израиль), Richard Fedorak (Канада), Alfred Gangl (Австрия), James Garisch (Южная Африка), Pedro Kaufmann (Уругвай), Tarkan Karakan (Турция), Aamir G. Khan (Пакистан), Nayoung Kim (Южная Корея), Juan Andrés De Paula (Аргентина), Balakrishnan Ramakrishna (Индия), Fergus Shanahan (Ирландия), Hania Szajewska (Польша), Alan Thomson (Канада), Anton Le Mair (Нидерланды)//Статья написана для сайта «Глобальные практические рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации». 2017. URL: https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-russian-2017.pdf (дата обращения: 01.11.2024, 01.12.2024, 05.12.2024)

7. Солдаткин П.К. Дисбактериоз кишечника: учебное пособие. Министерство здравоохранения Российской федерации государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Амурская государственная медицинская академия». – Благовещенск: 2015. – 44 с.

8. Стома И.О., Микробном человека / И.О. Стома, И.А. Карпов; Белорусский государственный медицинский университет, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии. – Минск: 2018. – 122 с. – ISBN 978-985-6913-91-7 – Текст: непосредственный

9. Харитонова, Л. А., Григорьев, К. И., Борзакова С. Н. Микробиота человека: как новая научная парадигма меняет медицинскую практику//Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019. №1 Т.161. С.55-63. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiota-cheloveka-kak-novaya-nauchnaya-paradigma-menyaet-meditsinskuyu-praktiku (дата обращения: 28.10.2024)

10. Циммерман, Я.С. Учение о дисбиозе («дисбактериозе») кишечника: состояние проблемы и новые тенденции//Клиническая медицина. 2017. №8 Т.95. С.677-686. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/uchenie-o-disbioze-disbakterioze-kishechnika-sostoyanie-problemy-i-novye-tendentsii (дата обращения: 01.11.2024, 04.11.2024, 30.11.2024)

11. Эндерс, Джулия., Очаровательный кишечник. Как самый могущественный орган управляет нами/Джулия Эндерс; перевод с немецкого А.А. Перевощиковой, А.В. Политиковой. – Москва: Эксмо, 2023. – 352с. – 150000 экз. – ISBN 978-5-699-81351-3

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1

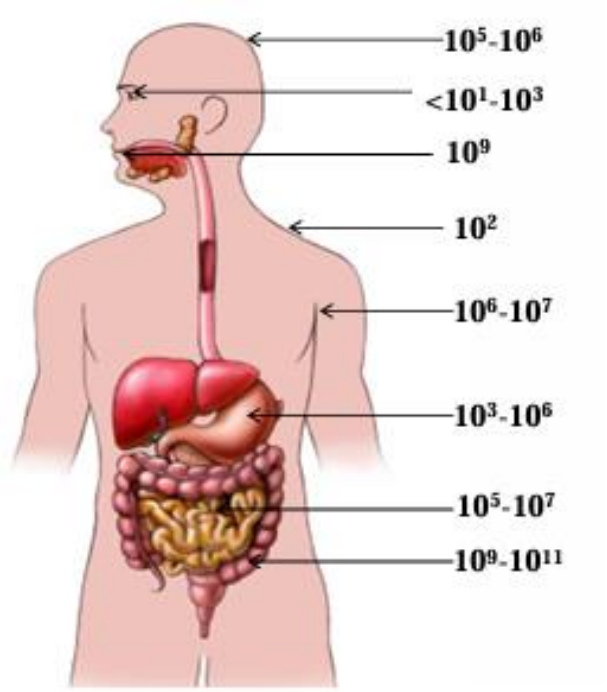


Рис. 1. Распределение бактерий в организме человека

Приложение 2

Иммунологические эффекты	1. Активация локальных макрофагов и стимуляция продукции IgA как локально, так и системно 2. Модулирование цитокинового ответа 3. Индукция толерантности к пищевым антигенам
Неиммунологические эффекты	1. Участие в переваривании пищи и конкуренция за питательные вещества с патогенными бактериями 2. Изменение местного уровня кислотности (pH) с созданием неблагоприятной среды для патогенных микроорганизмов 3. Продукция бактериоцинов для подавления роста патогенных бактерий 4. Удаление супероксидных радикалов 5. Стимуляция продукции эпителиальных муцинов 6. Повышение функции кишечного барьера 7. Конкуренция с патогенными микробами за рецепторы адгезии

	8. Модификикация токсинов, продуцируемых патогенными микроорганизмами

Таблица 1. Механизмы взаимодействия пробиотиков и организма человека [4,6; стр.32., стр.9-10]

Приложение 3

Краситель	**Продолжительность окрашивания**	**Результат окрашивания**	
		Грамположительные	**Грамотрицательные**
Генциановый фиолетовый	1-2 минуты	Синие	Синие
Раствор Люголя	1-2 минуты	Синие	Синие
Этиловый спирт	30 секунд	Синие	Бесцветные
Фуксин	1-2 минуты	Синие	Красные

Таблица 2. Этапы окрашивания по Граму [3; стр.175]

Приложение 4

Техника безопасности во время использования реагентов для окрашивания по Граму:

1. Необходимо пользоваться лабораторными перчатками;
2. Не принимать пишу, не курить и не пить во время проведения окрашивания;
3. После работы с пробами и реактивами тщательно вымыть руки и открытые участки кожи с использованием дезинфекционных средств;
4. Лабораторную работу необходимо проводить в точном соответствии с описанием в методических указаниях;
5. По окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола.

Техника безопасности при работе с камерой Горяева:

1. При эксплуатации необходимо соблюдать правила безопасности при работе со стеклянными изделиями;
2. Изделия не должны подвергаться резким ударам в процессе эксплуатации.

Техника безопасности при работе с цифровым микроскопом:

1. Оберегайте устройство от влаги, не касайтесь мокрыми руками, не допускайте воздействия воды;
2. Не допускайте воздействия высоких температур;
3. Не оставляйте вблизи приборов отопления или в других местах, где возможен нагрев корпуса прибора;
4. Микроскоп следует отсоединить от компьютера, если он не будет использоваться в течение длительного периода времени.

Приложение 5



Рис. 2. Окрашивание по Граму. Капля неразведённого кефира



Рис. 3. Окрашивание по Граму. Мазок кефира



Рис. 4. Окрашивание по Граму. Фиксирование мазка зажигалкой

Приложение 6

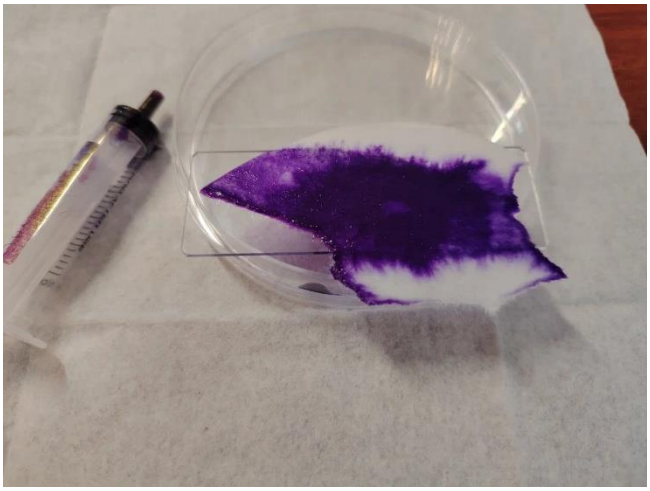


Рис. 5. Окрашивание по Граму. Мазок с фильт.бумагой и фиол.карболовым

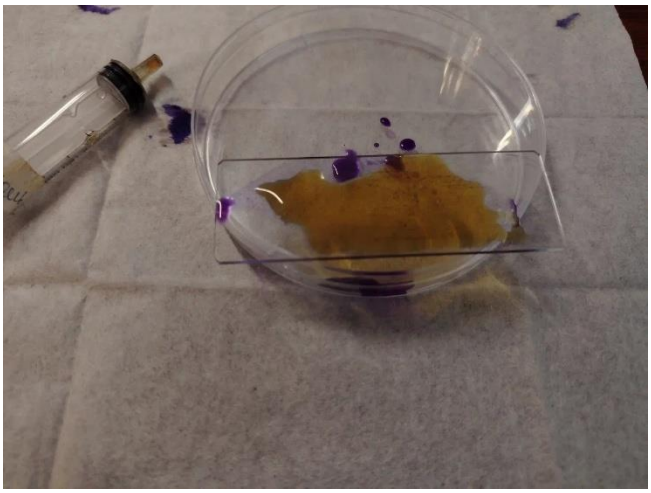


Рис. 6. Окрашивание по Граму. Нанесение люголя

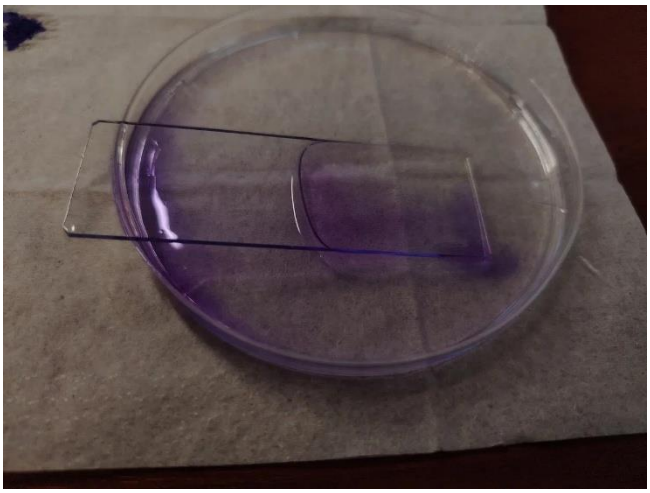


Рис. 7. Окрашивание по Граму. Промывание препарата в спирте

Приложение 7

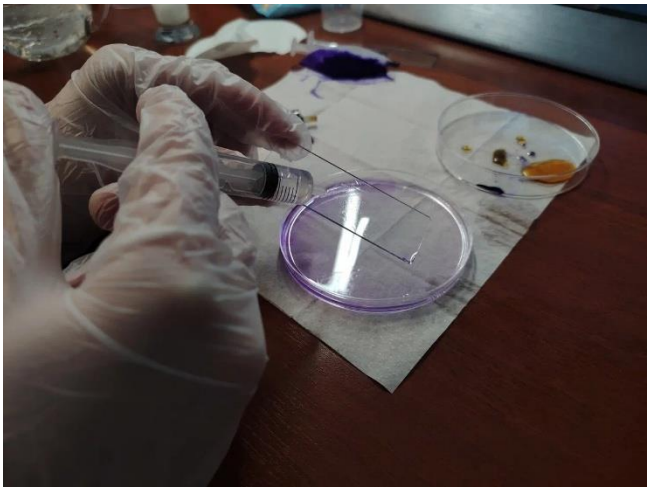


Рис. 8. Окрашивание по Граму. Промывание водой

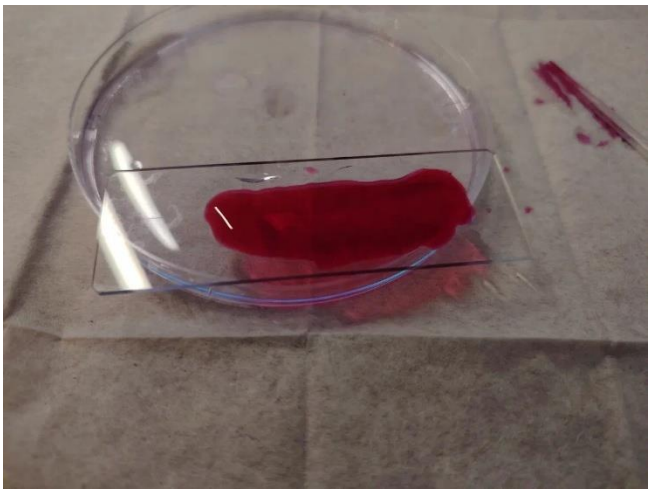


Рис. 9. Окрашивание по Граму. Нанесение фуксина



Рис. 10. Окрашивание по Граму. Промывание водой

Приложение 8



Рис. 11. Окрашивание по Граму. Впитывание излишек воды фильт.бумагой

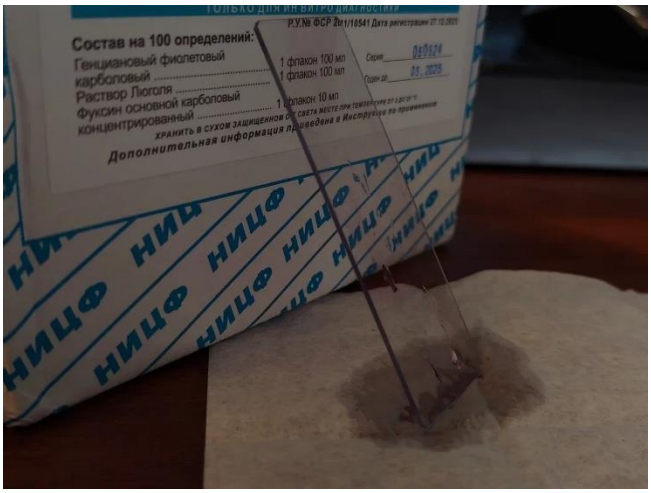


Рис. 12. Окрашивание по Граму. Сушка препарата

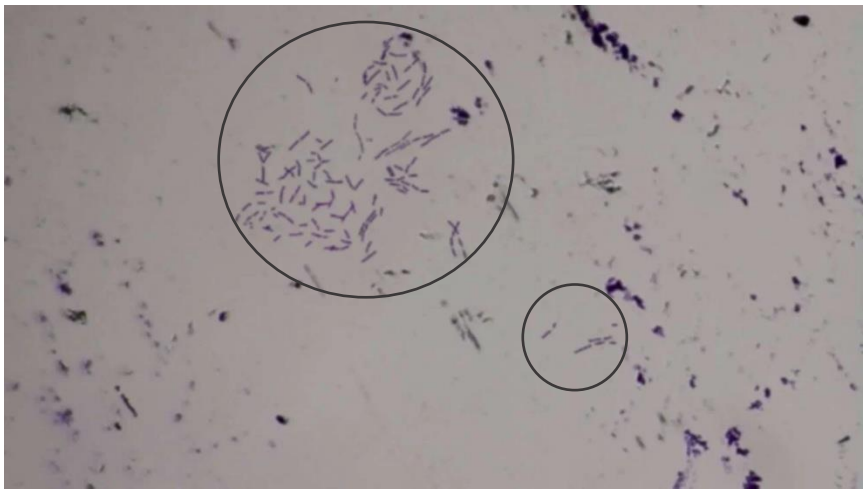


Рис. 13. Окрашивание по Граму. Кефир

Приложение 9

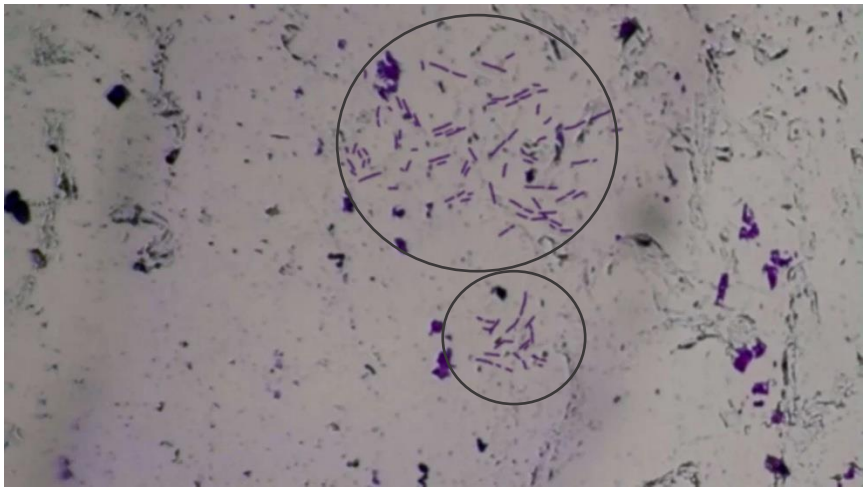


Рис. 14. Окрашивание по Граму. Ряженка

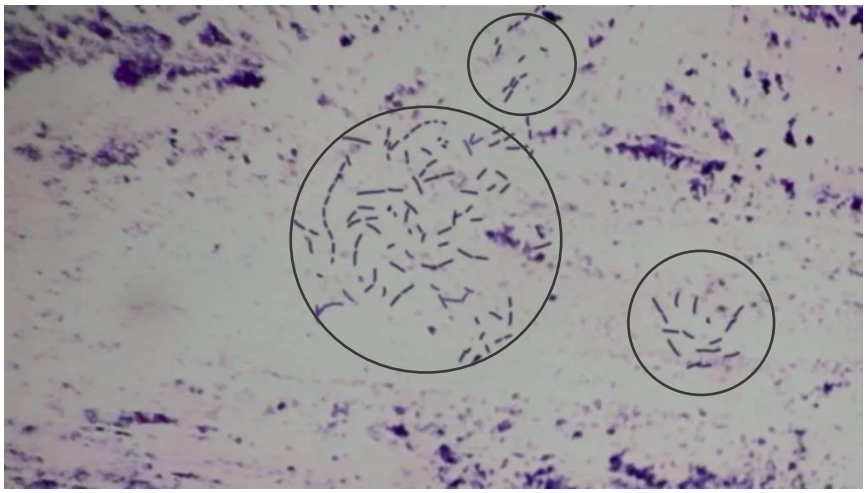


Рис. 15. Окрашивание по Граму. Сметана

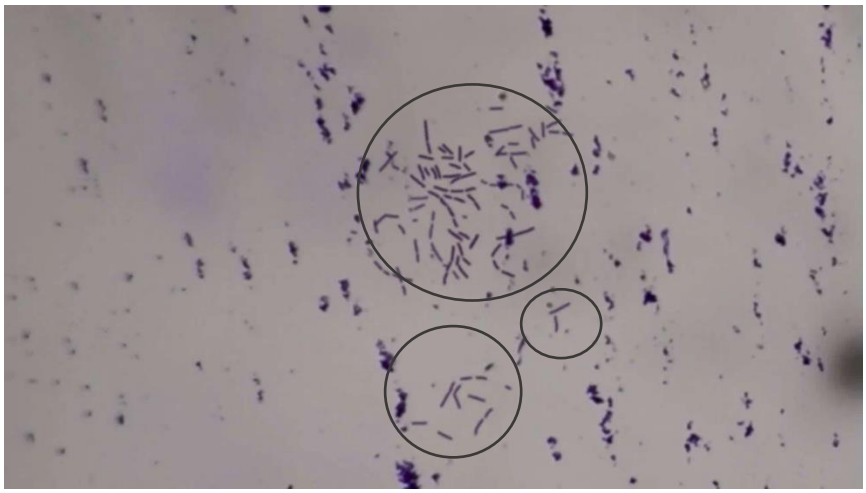


Рис. 16. Окрашивание по Граму. Йогурт

Приложение 10

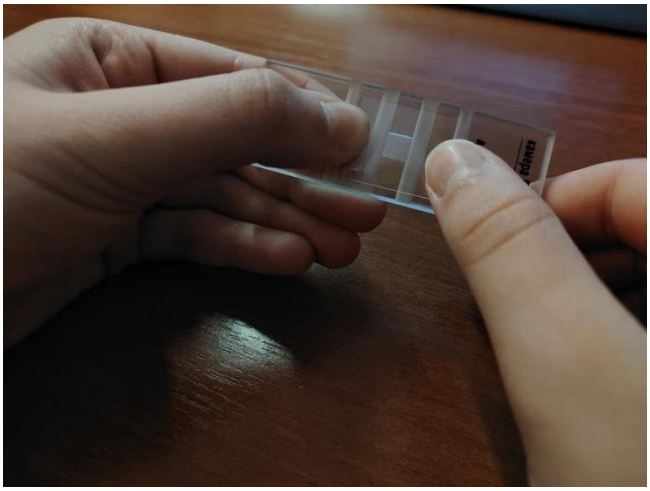


Рис. 17. Камера Горяева. Притирание покровного стекла



Рис. 18. Камера Горяева. Раствор кефира и дестиллированной воды



Рис. 19. Камера Горяева. Внесение суспензии

Приложение 11

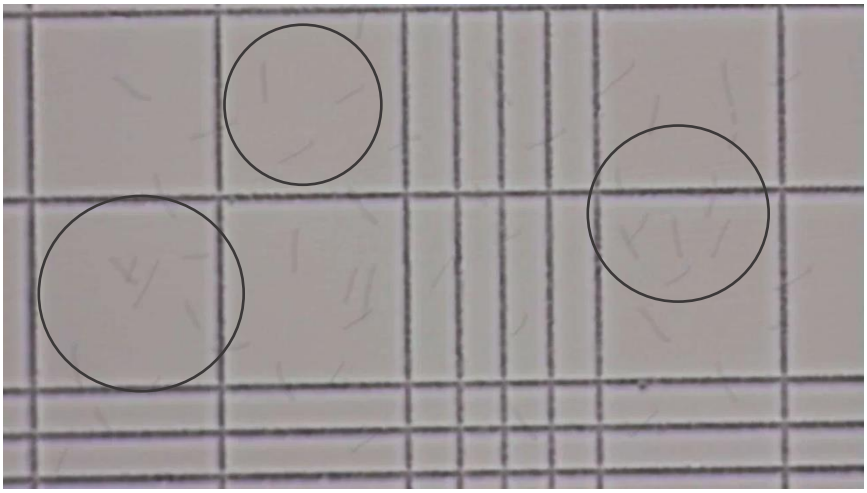


Рис. 17. Камера Горяева. Кефир. Первая проба

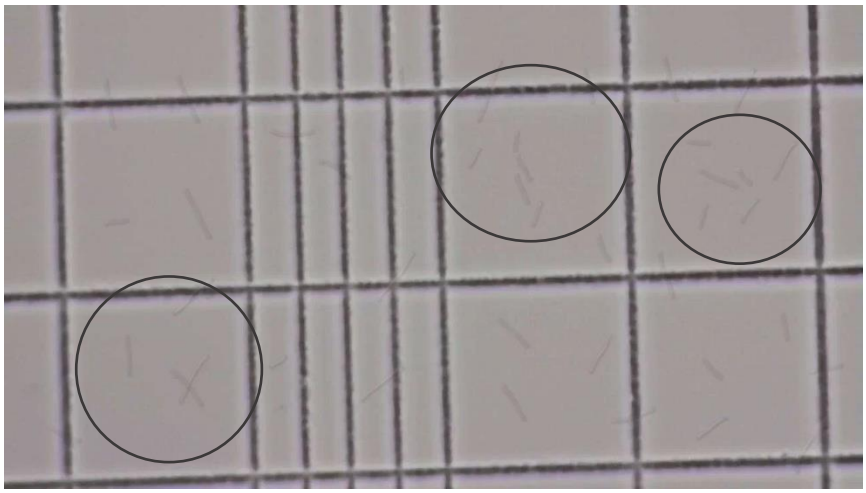


Рис. 18. Камера Горяева. Кефир. Вторая проба

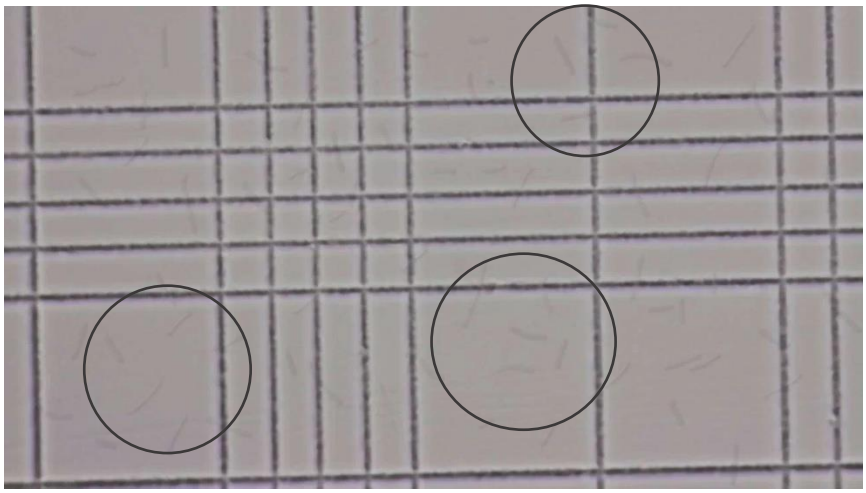


Рис. 19. Камера Горяева. Кефир. Третья проба

Приложение 12

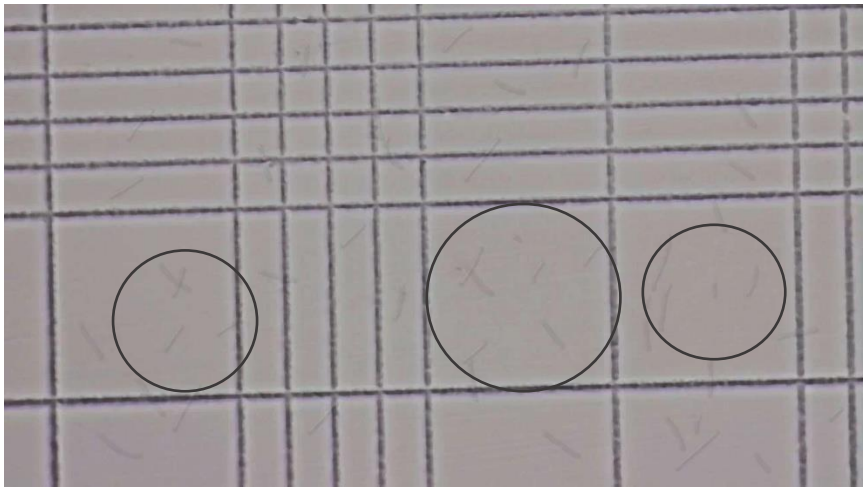


Рис. 20. Камера Горяева. Йогурт. Первая проба

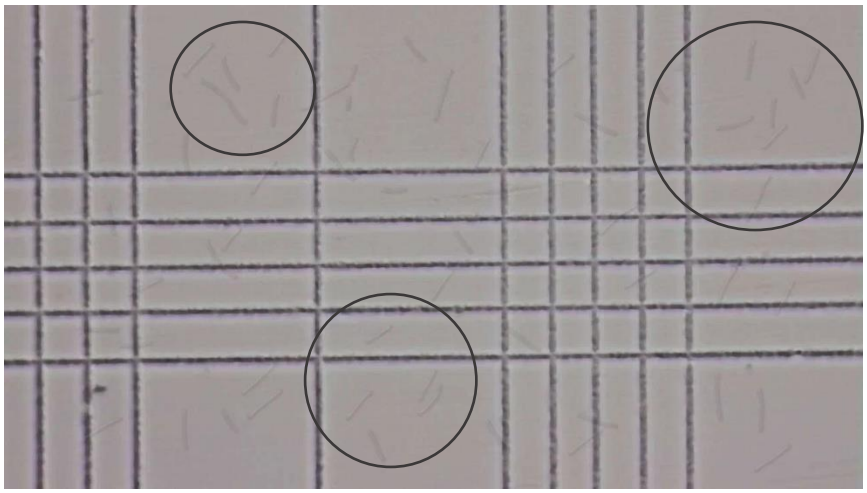


Рис. 21. Камера Горяева. Йогурт. Вторая проба

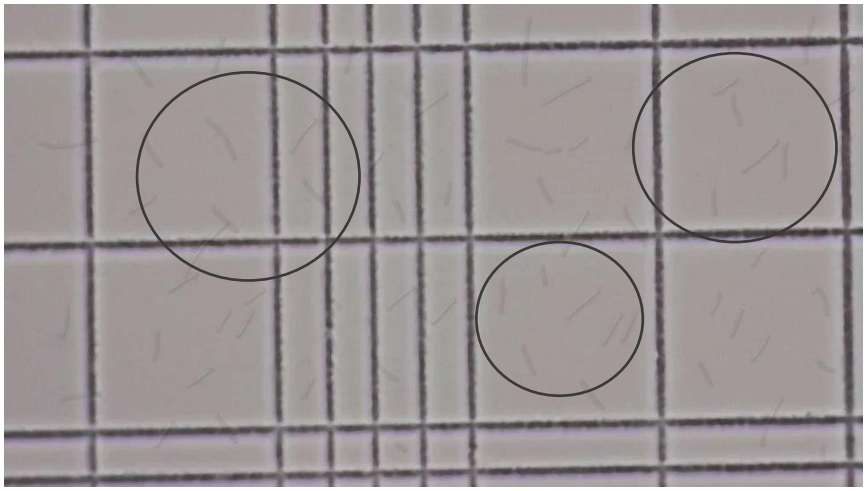


Рис. 22. Камера Горяева. Йогурт. Третья проба

Приложение 13

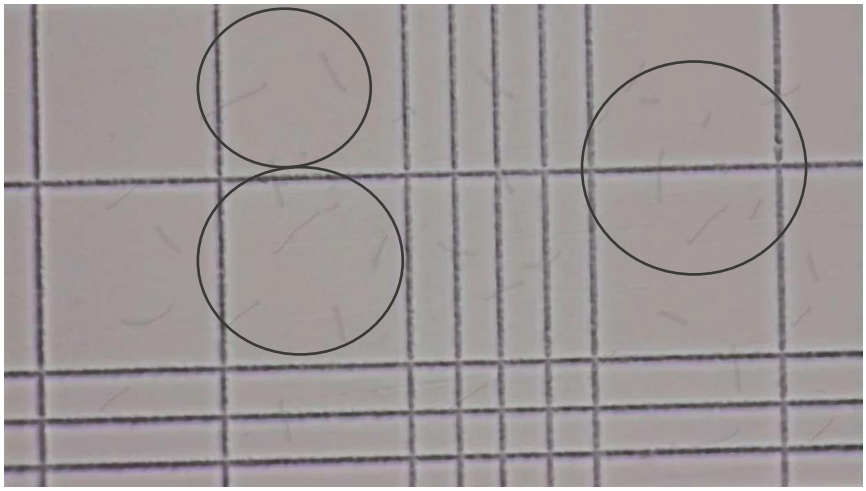


Рис. 23. Камера Горяева. Сметана. Первая проба

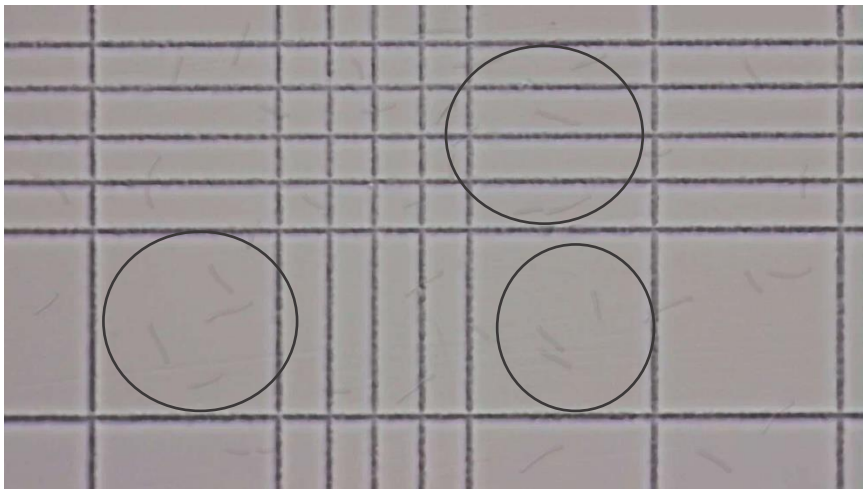


Рис. 24. Камера Горяева. Сметана. Вторая проба

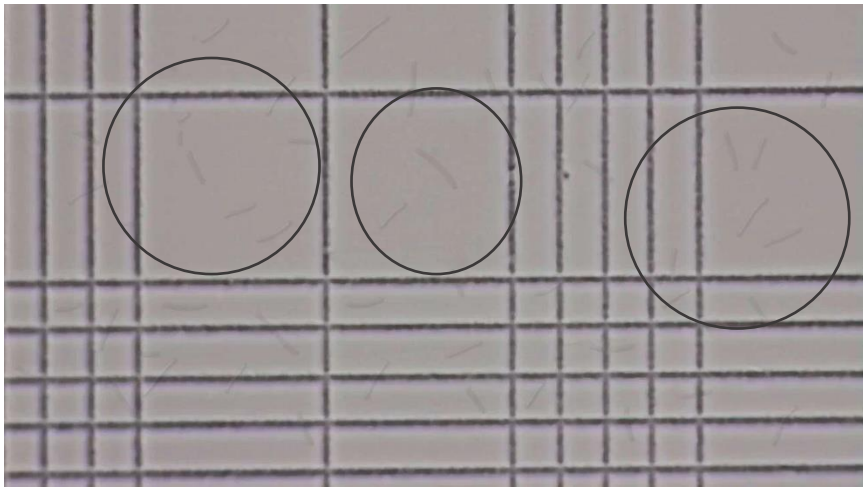


Рис. 25. Камера Горяева. Сметана. Третья проба

Приложение 14

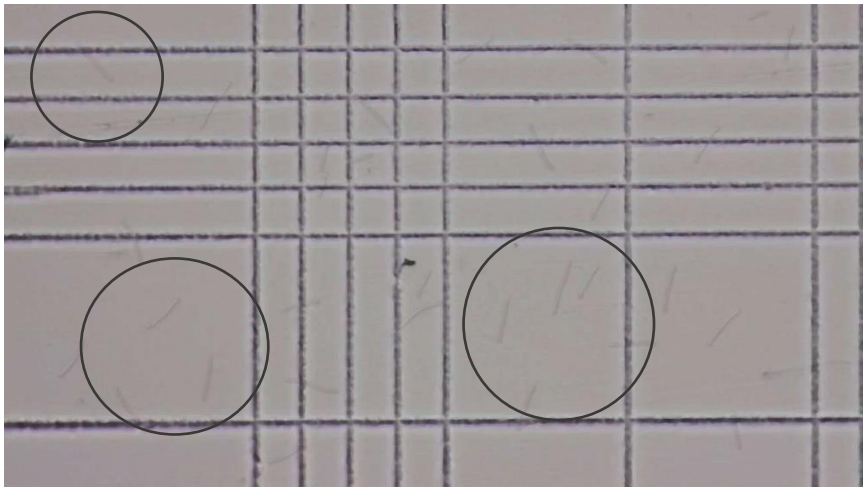


Рис. 26. Камера Горяева. Ряженка. Первая проба

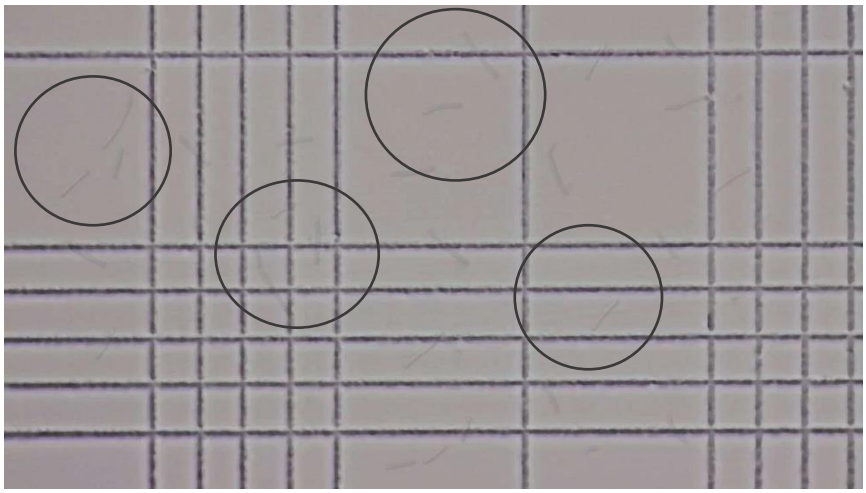


Рис. 27. Камера Горяева. Ряженка. Вторая проба

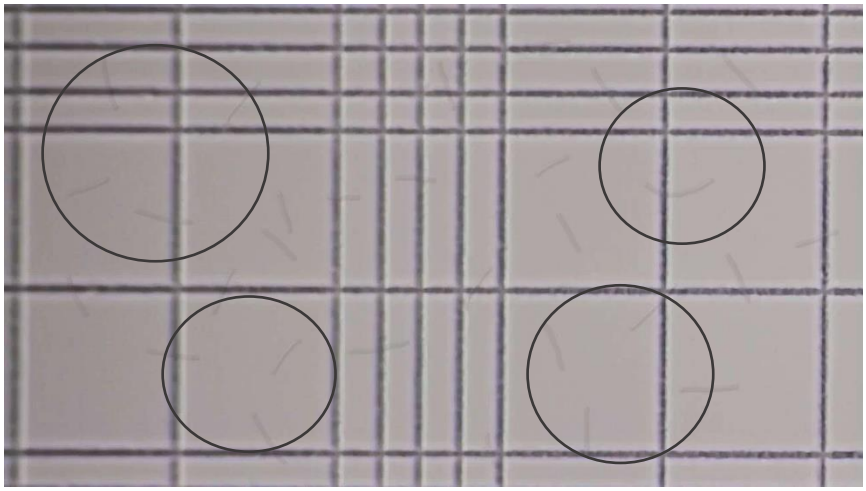


Рис. 28. Камера Горяева. Ряженка. Третья проба