

Биомиметический костный имплантат для челюстно-лицевой хирургии

Общая постановка задачи

Для обеспечения остеокондуктивных свойств имплантата, а также зачастую остеоиндуктивных свойств, важным является подход биомиметики, заключающийся в формировании скаффолда с архитектурой, имитирующей микроструктуру и свойства нативной кости.

Группе разработчиков необходимо изготовить пористый биорезорбируемый имплантат со структурой, имитирующей трабекулярную кость, для возмещения дефектов костной ткани малого объёма в челюстно-лицевой хирургии и проверить его *in vitro* на потенциальную цитотоксичность количественно – с помощью MTS-теста и качественно – описать морфологию клеток в культуре с помощью световой микроскопии.

Описание материала и архитектуры имплантата

1) Материал:

- Основой материала должен являться биорезорбируемый полимер или полимерный композиционный материал, являющийся биоактивным или содержащий биоактивный компонент.
- Материал должен быть легкодоступен на рынке (полилактид, поликапролактон и т.д.);
- При необходимости ввода биоактивного наполнителя (кальцийфосфатная керамика, волластонит, магнийсодержащие наполнители и т. п.) в полимерный материал должен быть использован простой метод смешения (в растворе (с нетоксичным растворителем) или в твердом порошковом состоянии).
- Материал должен быть пригоден для создания пористого имплантата на его основе методом послойной 3D-печати (FDM-принтер) или любым другим методом (термопрессование, выщелачивание растворимого агента (соли), вспенивание и т. д.).

2) Имплантат (пример на рисунке 1):

– Архитектура имплантата должна имитировать структуру трабекулярной кости: иметь аналогичную объемную пористость (не менее 50 %), размер пор (в диапазоне 50-1000 мкм).

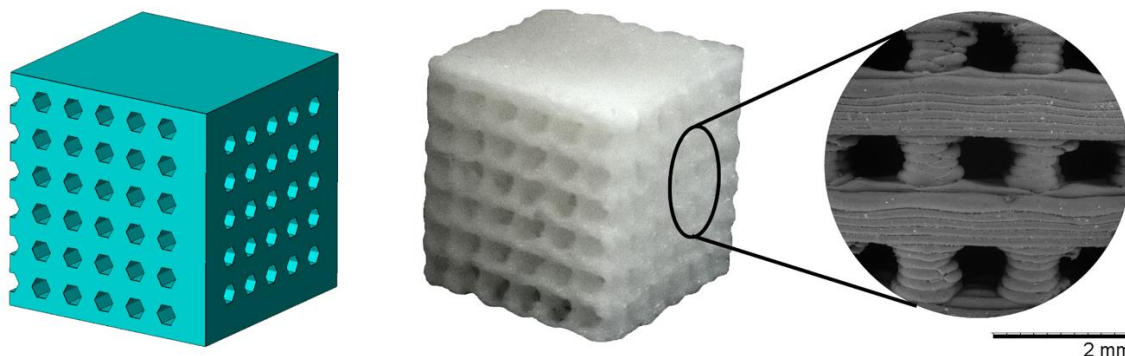


Рисунок 1 – Пример 3D-модели и пористого имплантата, полученного методом 3D-печати из полилактида/гидроксиапатита со средним размером пор 700 мкм и объёмной пористостью 50 % (разработка НИТУ «МИСиС»)

Тестовые испытания

1. Все операции во время проведения тестовых испытаний должны быть зафиксированы письменно в лабораторном журнале. Информация в журнале должна исчерпывающе описывать проведённые эксперименты и позволять повторить опыты в точности или с необходимыми изменениями (ставя целью проверить другой материал для имплантата, к примеру). Кроме того, необходимо вести конспект теоретической базы выполнения кейса и представить его во введении к лабораторному журналу.

2. Оценка объёмной пористости путем взвешивания на аналитических весах имплантата заданного объема 1 см³ и куба аналогичного объёма, выполненного из того же материала с рассчитанной плотностью, но без пор.

3. Оценка размера пор методом анализа снимка поверхности имплантата, полученного на оптическом или сканирующем электронном

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

микроскопе. Оцениваются размеры пор в видимой области снимка, и рассчитывается средний размер пор.

4. Анализ набухания/водопоглощения материалом имплантата в ходе выдерживания в воде или буферном растворе, или SBF, или клеточной среде RPMI или DMEM (+10% сыворотки, 1 мМ глутамин) в течение фиксированного количества времени при 37 °С. Образцы взвешиваются либо через равные промежутки времени, либо при недостаточном времени испытания в начальный и конечный момент испытания. При наличии нескольких измерений строится график зависимости массы образца от времени выдержки. Опыты проводят как минимум в трёх параллельных или последовательных сериях экспериментов, рассчитывают средние значения

и стандартные ошибки среднего.

5. При наличии ИК-спектрометра производится получение и анализ ИК-спектров методом НПВО (нарушенное полное внутреннее отражение) имплантата до и после тестов на водопоглощение. Причём образец после теста на водопоглощение должен быть высушен.

6. Должна быть произведена оценка цитотоксичности предложенного для использования материала *in vitro*.

6.1 В качестве такой среды сейчас обычно используют синтетическую среду (например, RPMI-1640 или DMEM) с добавлением 10 % сыворотки, 1мМ глутамин, антибиотиков и антимикотиков (для страховки от проростов бактерий и грибов), и других компонентов (в зависимости от клеточной линии и ее потребностей). Выбирают тестовую клеточную линию (например, аденокарциномы молочной железы мыши 4Т1 или меланомы мыши – В16-F10). Клетки размораживают из стоков, хранящихся в жидком азоте, размножают в культуральном «матрасе», пересевают в планшет для MTS-теста, рассчитав оптимальную плотность

посадки, и в лунки планшета с осевшими на дне клетками помещают образец полученного материала/имплантата для инкубации в течение 24 или 48 ч.

6.2 При культивировании клеток млекопитающих вне организма – *in vitro* – питательную среду меняют по мере её истощения (1–2 раза в неделю), клетки культивируют в CO₂-инкубаторе 37° для клеток млекопитающих, 5 % CO₂) и процентное содержание углекислого газа. Обязательным условием культивирования клеток является соблюдение стерильности.

6.3 Наблюдения за живыми клетками и их морфологией регистрируются в виде фотографий, сделанных с помощью цифровых камер, совмещённых с микроскопами. По внешней морфологии живых клеток можно судить об их состоянии, насколько условия культивирования им подходят, есть ли отличия от культивируемых в контрольных условиях, без добавления тестируемого материала MTS-тест должен быть использован для оценки цитотоксичности *in vitro*. Это колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток. НАДФ-Н-зависимые оксидоредуктазные ферменты в митохондриях живых клеток способны восстанавливать тетразолиевый краситель (MTS-реагент), который добавляют к клеткам в ходе выполнения теста в формазановый продукт. Этот продукт реакции имеет пурпурное окрашивание, а исходная смесь среда + реагент имеет жёлтый цвет. Бланки – лунки без клеток, но со средой и реагентом также включают в анализ для того, чтобы вычесть их значения из значений опытных лунок впоследствии). На реакцию отводят 4 часа в CO₂-инкубаторе. Таким образом, чем больше живых клеток и чем выше их активность, тем по истечении времени инкубации насыщеннее будет пурпурное окрашивание в лунке. Степень, насколько потемнела среда в опытных и контрольных лунках, оценивают на спектрофотометре, измеряя оптическую плотность по поглощению света длиной волны 490 нм через 4 часа после добавления теста. Опыты проводят как минимум в трёх сериях экспериментов.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

Вычисляют процент выживших клеток относительно положительного контроля. Для проверки работоспособности теста ставят не только положительный, но и отрицательный контроли. Для отрицательного контроля можно использовать ядовитые добавки (например, содержащие серебро) или противоопухолевый препарат доксорубицин.

6.4 Если образцы имплантатов, которые планируется применять в живом организме – *in vivo*, не вызывают каких-либо изменений в клетках, то их количество спустя, например, 24 или 48 часов, в лунке с тестируемыми образцами становится таким же, как и в положительном контроле. Если образцы материалов, добавленные в лунки с клетками в среде, вызывают какой-либо цитотоксичный эффект, то количество клеток в лунках с ними будет ниже, чем в контрольных, соответственно, окраска среды после инкубации с MTS-реагентом будет не такой тёмной, как в положительном контроле. Результаты представляют в процентном отношении - % выживших клеток в опыте и контролях, принимая положительный контроль за 100 %.

Получение питательных веществ из микроводорослей

Процесс питания представляет собой усвоение живым организмом поступивших веществ, необходимых для пластических и энергетических потребностей организма. С биологической точки зрения питание обеспечивает организм источниками энергии, субстратами для биосинтеза, витаминами и минеральными веществами, водой.

Существующие нормы питания определяют объём потребления пищевых веществ, основываются на данных научных исследований обмена жиров, белков, углеводов, воды, минеральных веществ, витаминов у различных групп населения.

Физиологические потребности взрослого населения:

- белки (50 % из них – животного происхождения): от 65 до 117 г/сутки для мужчин, от 58 до 87 г/сутки для женщин;
- жиры: от 70 до 154 г/сутки для мужчин, от 60 до 102 г/сутки для женщин;
- углеводы: от 257 до 586 г/сутки (50 – 60 % от энергетической суточной потребности);
- макроэлементы, в частности, кальций 1000 мг/сутки (1200 мг/сутки после 60 лет);
- микроэлементы, в частности: йод 130 – 200 мкг/сутки, железо 8 – 10 мкг/сутки (15 – 20 мкг/сутки для женщин).

Помимо традиционных продуктов питания, привычных для человека на протяжении многих лет, перспективными источниками питательных веществ являются водоросли и микроводоросли. Рассмотрим некоторые из них.

Спирулина – это цианобактерия (синезелёная водоросль). Растёт преимущественно в щелочных озёрах Африки (Чад, Кения, Эфиопия), Азии,

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

Южной и Центральной Америки. Является пищевой добавкой и культивируется по всему миру.

Биомасса спирулины содержит большое количество различных питательных веществ. Она состоит из белка (70 %) и жиров (7 %).

Большинство жирных кислот в спирулине – это омега-3 жирные кислоты (EPA, DHA и ALA), которые важны для надлежащего нервного, мозгового и сердечно-сосудистого здоровья и должны быть получены с пищей, поскольку мы не можем синтезировать их в нашем теле. Зелёная водоросль содержит линолевую кислоту (GLA), которая поддерживает иммунную систему.

Приблизительно 20 % веса спирулины составляют преимущественно сложные углеводы.

Спирулина содержит широкий спектр витаминов и минералов — особенно водоросль богата витаминами В, К и С, кальцием, калием, и др. 100 г спирулины обеспечат вас:

- кальцием (12 %);
- калием (39 %);
- медью (35 %);
- витамином К (25 %);
- витамином С (17 %).

Хлорелла принадлежит к группе синезелёных водорослей.

Её биомасса содержит меньше белка, чем спирулина (45 %), но имеет полный спектр аминокислот, необходимых человеку.

До 20 % состава хлореллы составляют жирные кислоты — такие как омега-3 (особенно ALA) и омега-6, 25 % хлореллы составляют углеводы, 5 % – нерастворимые волокна.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

10 % хлореллы — набор витаминов и минералов, таких как цинк, фосфор, кальций, витамин А и многие другие витамины группы В.

100 г хлореллы обеспечат вас:

- витамином В12 (80 %);
- витамином С (13 %);
- кальцием (27 %);
- магнием (10 %);
- цинком (60 %).

Подберите оптимальное соотношение указанных биологических объектов для наиболее полного обеспечения потребностей человека в питательных веществах на сутки и разработайте технологию получения этого продукта.

Этапы работы над кейсом:

- Проанализируйте текст и выделите пять любых питательных веществ, необходимых человеку и входящих в состав предложенных микроводорослей. Определите необходимое количество каждого из питательных веществ в сутки.
- Рассчитайте наиболее полное по набору питательных веществ соотношение микроводорослей, исходя из указанных суточных потребностей человека в нутриентах. Запишите полученные данные в таблицу.
- Рассчитайте объём микроводорослей, необходимый для получения расчётного количества ценных и питательных веществ.
- Разработайте технологию получения необходимого количества биомассы водорослей.
- Проведите лабораторное исследование по разработанной технологии.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

- Проведите лабораторный анализ на определение каждого из пяти выбранных в п. 1 веществ.
- Данные занесите в итоговую таблицу.
- Материалы и оборудование:
 - растительное сырьё;
 - вода дистиллированная;
 - спирт этиловый;
 - реактивы для проведения качественных реакций на питательные вещества, набор химической посуды;
 - спиртовка, аналитические весы;
 - питательные среды для культивирования микроорганизмов;
 - культуры микроорганизмов;
 - стеклянные колбы, качалка, калориметр;
 - бактериологические петли, сменные наконечники для автоматической пипетки;
 - автоматические пипетки разных объёмов, ламинар, термостат, автоклав!
 - фотобиореактор или его лабораторный аналог для выращивания биомассы водорослей.

Требования к представлению решения кейса:

Рассмотрите, какие вещества необходимы человеку в питании и в каком количестве, какие водоросли содержат эти вещества в своём составе, рассчитайте необходимое количество водорослей и их соотношение. Рассмотрите способы выращивания биологических объектов. Получите биомассу водорослей по составленной схеме из выбранных биологических объектов. С помощью качественных реакций подтвердите наличие

**Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль**

питательных веществ в готовом продукте. Экспериментально подтвердите или опровергните расчётные предварительные данные.

Технологии получения питательных веществ из полезных растений.

Человечество на протяжении многих веков использует травы и растения в качестве источника полезных веществ, применяя их в пищу или используя

в медицинских целях. В современной медицине растительное сырьё выращивают на специально оборудованных высокотехнологичных площадках в промышленных масштабах. Далее полученный урожай обрабатывают, извлекают наиболее ценные вещества и производят различные препараты или иные полезные продукты.

Спектр используемых растений очень широк. Ниже приведены некоторые из них.

Календула, ноготки (*Caléndula*)

Семейство: Астровые или Сложноцветные.

Тип растения: двулетник или летник.

Отношение к свету: светолюбивое.

Отношение к влаге: предпочитает умеренное увлажнение.

Зимовка: в средней полосе не зимует.

Почва: предпочитает садовые почвы.

Сроки цветения: лето (июль-август).

Высота: среднее (50 – 100 см), низкое (10 – 50 см).

Стебли ветвистые, прямостоячие, толстые, ребристые, опушённые. Листья расположены в очередном порядке, простые, овальные, удлинённые. Соцветия – одиночные корзинки на длинных цветоносах. Язычковые цветки многочисленные, жёлтые, оранжевые; трубчатые – мелкие, иногда тёмные. Цветёт с конца июня и до заморозков.

Нивяник, поповник, садовая ромашка (*Leucánthemum*)

Семейство: Астровые или Сложноцветные.

Тип растения: многолетник, двулетник или летник.

Отношение к свету: светолюбивое.

Отношение к влаге: предпочитает умеренное увлажнение.

Зимовка: зимостойкое.

Почва: предпочитает садовые почвы.

Сроки цветения: лето (июль-август).

Высота: среднее (50 – 100 см)

Это короткокорневищные многолетние травянистые растения с прямыми, маловетвистыми облиственными стеблями, высотой 80 – 100 см. Листья цельные, в очередном порядке. Соцветие – крупные корзинки, расположенные на концах стеблей. Краевые цветки – белые (реже жёлтые), срединные – жёлтые. Время цветения – один вид в начале лета, второй – в конце.

Подберите оптимальное соотношение указанных биологических объектов для наиболее полного обеспечения потребностей человека в питательных веществах на сутки и разработайте технологию получения этого продукта.

Базилик, рейган (*Ocimum*)

Яснотковые.

Тип растения: однолетник.

Условия выращивания: открытый грунт.

Отношение к свету: светолюбивое.

Отношение к влаге: умеренно влаголюбивое.

Зимовка: не зимует.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

Растение до 60 см высотой, цветет жёлтыми, белыми, розовыми цветами с июня по сентябрь. Мелколиственный базилик выращивается в комнатных условиях и в тепличных комбинатах на салатных линиях, так же, как декоративное растение в озеленении.

Разработайте технологию получения полезных веществ из растительного сырья. Проведите расчёт времени, необходимого для выращивания выбранных биологических объектов, объём и примерную концентрацию вещества, необходимую для воздействия на микроорганизмы. Подтвердите наличие предполагаемых полученных веществ экспериментально при реализации разработанной технологии.

Этапы работы над кейсом:

- Проанализируйте химические и биологически активные вещества, которые можно получить из ромашки, календулы и базилика. Какие из них обладают бактерицидным эффектом?

- Разработайте технологию выращивания указанных в п. 1 биологических объектов с получением вещества, обладающего бактерицидным эффектом. Какое оборудование нужно использовать и какое количество времени будет затрачено на каждую стадию?

- Прорастите семена ромашки, календулы и базилика. В лаборатории на чашках Петри (из расчёта 2 чашки на каждое вещество) с микроорганизмами проверьте бактерицидный эффект исследуемых образцов (проростков).

- Занесите расчётные и полученные данные в таблицу. О наличии каких полезных веществ мы можем судить в каждом случае? Проанализируйте и опишите полученный результат.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

- Материалы и оборудование:
- растительное сырьё;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый;
- реактивы для проведения качественных реакций на искомые вещества, набор химической посуды;
- спиртовка, аналитические весы;
- питательные среды для культивирования микроорганизмов;
- культуры микроорганизмов;
- чашки Петри, пробирки, бактериологические петли, сменные наконечники для автоматической пипетки;
- автоматические пипетки разных объёмов, ламинар, термостат, автоклав;
- сити-ферма или её лабораторный аналог для выращивания биомассы растений.

Требования к представлению решения кейса:

Рассмотрите, какие полезные вещества и в каком количестве могут содержать растения. Какие из указанных объектов содержат эти вещества в своём составе, рассчитайте необходимое количество растений и их соотношение. Рассмотрите способы выращивания биологических объектов. Получите биомассу растений по составленной схеме из выбранных биологических объектов. С помощью качественных реакций и экспериментов с микроорганизмами подтвердите наличие указанных веществ в готовом продукте. Экспериментально подтвердите или опровергните расчётные предварительные данные.

А вы чем ополаскиваете?

В норме в полости рта присутствуют более 300 морфологически и биохимически различных групп или видов бактерий. До настоящего времени не все бактериальные штаммы, выделенные из полости рта человека, классифицированы. Многочисленные исследования доказали высокую патогенность бактерий во время развития воспалительных процессов в ротовой полости, что, в конечном счёте приводит к снижению иммунитета.

Сегодня при выборе средств для профилактики и лечения заболеваний пародонта особое внимание уделяется противовоспалительным и антибактериальным свойствам ингредиентов. Однако синтетические лекарственные препараты, оказывая бактерицидное и бактериостатическое действие на микроорганизмы полости рта, приводят к уничтожению микрофлоры всей полости рта и к селекции устойчивых вариантов возбудителей. Поэтому предлагаются различные средства с ингредиентами природного происхождения, которые могут ингибировать рост бактерий.

Предложите на основе литературных данных, подтверждённых экспериментом, состав и технологию получения раствора для полоскания полости рта на основе как минимум двух разных видов лекарственного растительного сырья.

Этапы работы над кейсом:

- Рассмотреть состав микрофлоры полости рта, определить бактерии, ответственные за развитие заболеваний пародонта.
- Среди лекарственного растительного сырья выбрать два, согласно литературным данным обладающих/потенциально обладающих антибиотической активностью в отношении бактерий, ответственных за

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

развитие заболеваний пародонта, назвать, какие вещества в составе сырья отвечают за это действие.

- Рассмотреть методы получения экстрактов из лекарственного растительного сырья.
- Разработать технологическую схему процесса получения раствора для полоскания рта на основе как минимум двух видов лекарственного растительного сырья.
- Подтвердить с помощью качественных реакций наличие как минимум одного антибактериального компонента из каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте.
- Определить количественное содержание как минимум одного антибактериального компонента из каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте.
- Провести эксперимент по изучению антибиотической активности готового продукта в отношении бактерий, вызывающих заболевание пародонта.

Материалы и оборудование:

- лекарственное растительное сырье;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый;
- реактивы для проведения качественных реакций на вещества, обладающие антибиотической активностью;
- реактивы для определения количественного содержания веществ, обладающих антибиотической активностью;
- набор химической посуды для проведения экстракции, качественных реакций, количественного определения;
- электрическая плита, аналитические весы;

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

- бюретка/рН-метр/спектрофотометр – для определения количественного содержания веществ, обладающих антибиотической активностью;
- питательные среды для культивирования микроорганизмов;
- культуры микроорганизмов, например, в качестве образца грамположительных бактерий – *Bacillus subtilis* 534 (Споробактерин®), грамотрицательных - *E.coli* M17 (Колибактерин®);
- набор расходных материалов для проведения эксперимента по изучению антибиотической активности методом бумажных дисков: чашки Петри, бактериологические петли, пинцет, бумажные диски, сменные наконечники для автоматической пипетки;
- автоматические пипетки разных объёмов, денситометр, ламинар, термостат, автоклав.

Требования к представлению решения кейса:

В ходе решения кейса объясните, какие микроорганизмы составляют микрофлору полости рта человека и вызывают там воспалительные процессы. Выясните, какое лекарственное растительное сырьё и за счёт каких компонентов обладает антибактериальным действием, в отношении каких микроорганизмов. Рассмотрите методы получения экстрактов на основе лекарственного растительного сырья. Получите экстракт по составленной схеме из выбранного сырья. С помощью качественных реакций подтвердите наличие как минимум одного антибактериального компонента для каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте. Определите количественное содержание как минимум одного антибактериального компонента из каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте. Подтвердите антибактериальное действие готового продукта.

А вы чем ополаскиваете?

В норме в полости рта присутствуют более 300 морфологически и биохимически различных групп или видов бактерий. До настоящего времени не все бактериальные штаммы, выделенные из полости рта человека, классифицированы. Многочисленные исследования доказали высокую патогенность бактерий во время развития воспалительных процессов в ротовой полости, что, в конечном счёте приводит к снижению иммунитета.

Сегодня при выборе средств для профилактики и лечения заболеваний пародонта особое внимание уделяется противовоспалительным и антибактериальным свойствам ингредиентов. Однако синтетические лекарственные препараты, оказывая бактерицидное и бактериостатическое действие на микроорганизмы полости рта, приводят к уничтожению микрофлоры всей полости рта и к селекции устойчивых вариантов возбудителей. Поэтому предлагаются различные средства с ингредиентами природного происхождения, которые могут ингибировать рост бактерий.

Предложите на основе литературных данных, подтверждённых экспериментом, состав и технологию получения раствора для полоскания полости рта на основе как минимум двух разных видов лекарственного растительного сырья.

Этапы работы над кейсом:

- Рассмотреть состав микрофлоры полости рта, определить бактерии, ответственные за развитие заболеваний пародонта.
- Среди лекарственного растительного сырья выбрать два, согласно литературным данным обладающих/потенциально обладающих антибиотической активностью в отношении бактерий, ответственных за

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

развитие заболеваний пародонта, назвать, какие вещества в составе сырья отвечают за это действие.

- Рассмотреть методы получения экстрактов из лекарственного растительного сырья.
- Разработать технологическую схему процесса получения раствора для полоскания рта на основе как минимум двух видов лекарственного растительного сырья.
- Подтвердить с помощью качественных реакций наличие как минимум одного антибактериального компонента из каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте.
- Определить количественное содержание как минимум одного антибактериального компонента из каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте.
- Провести эксперимент по изучению антибиотической активности готового продукта в отношении бактерий, вызывающих заболевание пародонта.

Материалы и оборудование:

- лекарственное растительное сырье;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый;
- реактивы для проведения качественных реакций на вещества, обладающие антибиотической активностью;
- реактивы для определения количественного содержания веществ, обладающих антибиотической активностью;
- набор химической посуды для проведения экстракции, качественных реакций, количественного определения;
- электрическая плита, аналитические весы;

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

- бюретка/рН-метр/спектрофотометр – для определения количественного содержания веществ, обладающих антибиотической активностью;
- питательные среды для культивирования микроорганизмов;
- культуры микроорганизмов, например, в качестве образца грамположительных бактерий – *Bacillus subtilis* 534 (Споробактерин®), грамотрицательных - *E.coli* M17 (Колибактерин®);
- набор расходных материалов для проведения эксперимента по изучению антибиотической активности методом бумажных дисков: чашки Петри, бактериологические петли, пинцет, бумажные диски, сменные наконечники для автоматической пипетки;
- автоматические пипетки разных объёмов, денситометр, ламинар, термостат, автоклав.

Требования к представлению решения кейса:

В ходе решения кейса объясните, какие микроорганизмы составляют микрофлору полости рта человека и вызывают там воспалительные процессы. Выясните, какое лекарственное растительное сырьё и за счёт каких компонентов обладает антибактериальным действием, в отношении каких микроорганизмов. Рассмотрите методы получения экстрактов на основе лекарственного растительного сырья. Получите экстракт по составленной схеме из выбранного сырья. С помощью качественных реакций подтвердите наличие как минимум одного антибактериального компонента для каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте. Определите количественное содержание как минимум одного антибактериального компонента из каждого вида используемого лекарственного растительного сырья в готовом продукте. Подтвердите антибактериальное действие готового продукта.

Дело в биотиках

Значение кишечной микрофлоры человека трудно переоценить. Она играет ключевую роль в усвоении многих нутриентов, детоксикации метаболитов, поступающих в кишечник, синтезе витаминов и многих биологически активных веществ, регуляции моторики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), белкового, жирового и углеводного обмена, антиканцерогенной защите и многих других жизненно важных процессах. Не случайно нарушения кишечного микробиоценоза существенно влияют на здоровье человека. С другой стороны, болезни человека негативно сказываются на составе кишечного микробиоценоза.

Пребиотики играют ключевую роль в жизнеобеспечении микроорганизмов ЖКТ человека. Это пищевые ингредиенты, которые не перевариваются ферментами человека и не усваиваются в верхних отделах ЖКТ, стимулируют рост и жизнедеятельность полезной микрофлоры. Основным свойством пребиотиков является их избирательное стимулирование полезной для человеческого организма кишечной микрофлоры, к которой в первую очередь относятся бифидобактерии и лактобациллы.

Перспективными источниками веществ, обладающих пребиотической активностью, являются экстракты растений, которые широко применяются в народной медицине для профилактики и лечения различных заболеваний.

Предложите на основе литературных данных, подтверждённых экспериментом, состав и технологию получения двухкомпонентного жидкого экстракта, обладающего пребиотическими свойствами, на основе растительного сырья.

Этапы работы над кейсом:

- Рассмотреть классы пребиотических веществ и механизмы их действия на кишечную микрофлору человека.
- Рассмотреть, какое растительное сырьё содержит вещества, потенциально обладающие пребиотическими свойствами, выбрать два наиболее перспективных вида растительного сырья, обосновать выбор.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

- Рассмотреть методы выделения и очистки веществ, обладающих пребиотическими свойствами, из выбранного растительного сырья с целью получения жидкого экстракта.
- Разработать технологическую схему получения двухкомпонентного жидкого экстракта, обладающего пребиотическими свойствами, на основе растительного сырья.
- С помощью качественных реакций подтвердить наличие веществ, обладающих пребиотическими свойствами, из каждого вида используемого растительного сырья в готовом продукте.
- Провести эксперимент по изучению пребиотических свойств готового продукта в отношении бифидобактерий или лактобацилл.

Материалы и оборудование:

- растительное сырьё;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый;
- реактивы для проведения качественных реакций на вещества, обладающие пребиотической активностью;
- набор химической посуды для проведения экстракции, качественных реакций;
- электрическая плита, аналитические весы;
- питательные среды для культивирования микроорганизмов;
- культуры микроорганизмов, например, в качестве образца бифидобактерий - *Bifidobacterium bifidum* (Бифидумбактерин форте®), лактобацилл – *Lactobacillus acidophilus* (Лактобактерин®);
- набор расходных материалов для проведения эксперимента по изучению пребиотической активности: чашки Петри, пробирки, бактериологические петли, сменные наконечники для автоматической пипетки;
- автоматические пипетки разных объёмов, денситометр, ламинар, термостат, автоклав.

Требования к представлению решения кейса:

Рассмотрите, какие вещества относятся к пребиотикам, какое растительное сырьё содержит эти вещества в своем составе. Рассмотрите способы получения жидких экстрактов, содержащих пребиотические вещества.

Московская предпрофессиональная олимпиада школьников
Заключительный этап
Кейсовые задачи
Технологическое направление. Биотехнологический профиль

Получите экстракт по составленной схеме из выбранного сырья. С помощью качественных реакций подтвердите наличие веществ, обладающих пребиотическими свойствами, из каждого вида используемого растительного сырья в готовом продукте. Экспериментально подтвердите пребиотические свойства готового продукта в отношении бифидобактерий или лактобацилл.