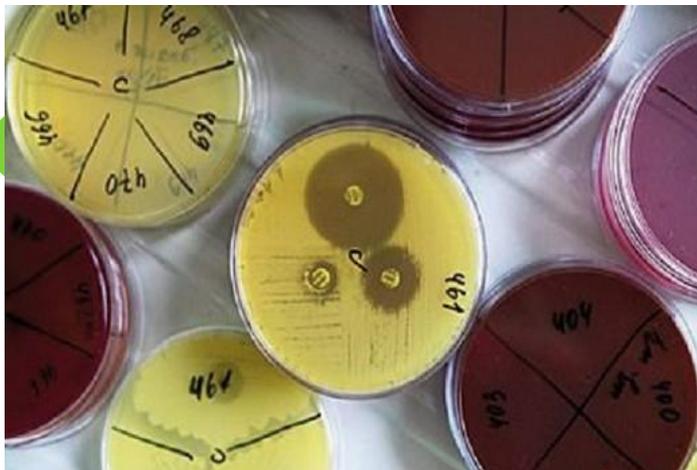


**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.**

**РЕФЕРАТИВНАЯ РАБОТА НА ТЕМУ:
«МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОВ»**



**Подготовила : Игнатенко А.А.
студентка 4 курса
Фармацевтический факультет
402 группы
Волгоград 2018г**

СОДЕРЖАНИЕ

- Введение
- 1 Микробиологическое исследование антибиотиков
 - 1.1 Методы разведений
 - 1.2 Турбидиметрические методы
 - 1.3 Методы диффузии в агар
- Заключение
- Список использованной литературы



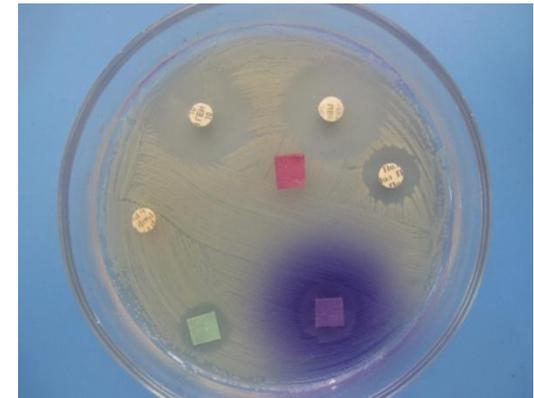
ВВЕДЕНИЕ

- Антибиотики – органические соединения, образуемые микроорганизмами и обладающие способностью в незначительных концентрациях избирательно тормозить рост других микроорганизмов или убивать их. Для того чтобы быть хорошим лечебным средством, каждый антисептик должен обладать несколькими основными свойствами.
- Антибиотик должен при низкой концентрации (не выше 10-50 мкг/мл) убивать болезненные микроорганизмы или, по крайней мере, останавливать их размножение. Иными словами, препарат должен обладать в очень низкой концентрации бактерицидными или хотя бы бактериостатическим действием.
- Активность антибиотика против болезнетворных микроорганизмов не должна сколько-нибудь существенно снижаться под действием жидкостей тела, как, например, сыворотка крови, лимфа, гной
- Воздействие на микроорганизмы должно быть быстрым. Болезнетворные микроорганизмы не должны приобретать устойчивость (резистентность) против антибиотика быстрее, чем антибиотик подавит их размножение.
- Антибиотик не должен ни в коей мере вредить макроорганизму (человеку). Он не должен обладать токсичностью ни непосредственно после введения разовой дозы, ни хронически, т.е. после многократного введения в течение нескольких дней. Он не должен также наносить вред тканям макроорганизма при непосредственном контакте с препаратом, например при парентеральном введении.
- Антибиотик не должен существенно снижать иммунологические реакции, в частности, нарушать образование антигенов, вырабатываемых организмом против болезнетворных микробов. Равным образом препарат не должен нарушать фагоцитоз.
- Антибиотик не должен препятствовать процессу выздоровления.
- Указанными свойствами различные антибиотики обладают лишь до известной степени. Из всех применяемых антибиотиков наиболее полно указанным выше требованиям удовлетворяет пенициллин. Применение антибиотиков в настоящее время не ограничивается лишь областью медицины. Антибиотики с огромным успехом используют как добавки в корма сельскохозяйственных животных, для лечения заболеваний растений, как средства, предотвращающие инфицирование в бродильной, консервной и других отраслях промышленности.



КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ

- В процессе производства требуется определить содержание антибиотика в культуральной жидкости в ходе ферментации, во всех промежуточных продуктах при выделении и очистке и, наконец, в готовом препарате. Для этого применяют большое количество самых разнообразных биологических и химических методов.
- Количество антибиотиков выражают в так называемых единицах действия (ЕД).
- Активность антибиотических препаратов в твёрдом состоянии выражается количеством единиц в 1 мг вещества. Содержание антибиотика в культуральной жидкости, в концентратах и растворах выражается числом единиц в 1 мл жидкости.
- Количественное определение антибиотиков можно. Преимуществом же микробиологических методов является их намного большая специфичность: посторонние примеси, содержащиеся в испытуемых образцах, не влияют в такой степени на результаты, как это бывает при химических методах.
- Микробиологически можно определить и содержание таких антибиотиков, химические и физико-химические свойства которых ещё подробно неизвестны.



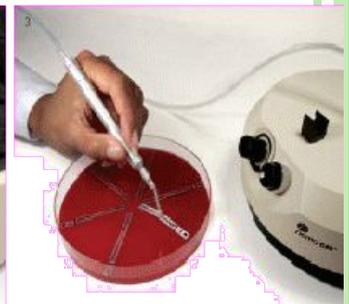
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОВ

- К первой группе относятся методы серийных разведений и турбидиметрические методы;
- Ко второй группе – методы диффузии в агар на чашках и методы диффузии в агар в капиллярах или пробирках.



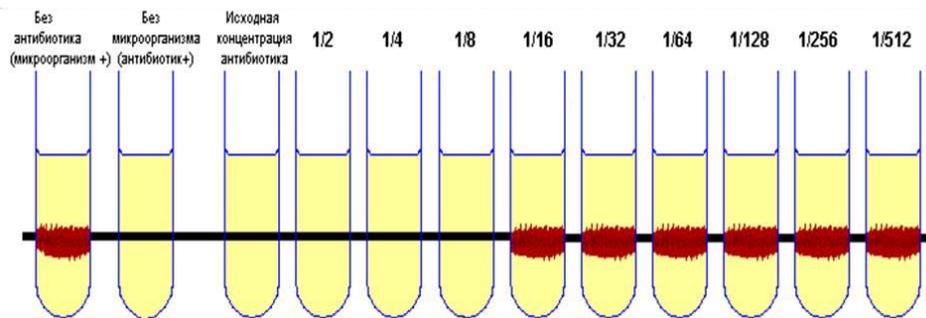
ОСНОВНЫМИ ТРЕБОВАНИЯМИ, КОТОРЫЕ НЕОБХОДИМО ПРЕДЪЯВЛЯТЬ К МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДАМ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ, ЯВЛЯЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ.

- 1. Точность.
- 2. Чувствительность.
- 3. Простота техники эксперимента.
- 4. Наиболее короткое время инкубации.



МЕТОДЫ РАЗВЕДЕНИЙ

- Принципом методов разведений является определение количества антибиотика, которое полностью подавляет рост тест-культуры. При этом раствор анализируемого образца с неизвестным содержанием антибиотика и раствор стандарта с известным содержанием антибиотика разводят в геометрической прогрессии питательной средой, предварительно засеянной тест-культурой. По истечении необходимого времени инкубации определяют максимальное разведение образца и стандарта, которое ещё подавляет рост тест-культуры. Путём сравнения этих разведений вычисляют активность исследуемого образца. Вместе с тем главным преимуществом методов разведений является их высокая чувствительность, возможность определять очень малые количества антибиотиков, а в некоторых случаях – и короткое время (около 3 часов), необходимое для получения результатов.
- При определении содержания антибиотиков в жидкостях тела методом серийных разведений можно использовать индикаторы, реагирующие на изменение рН или окислительно-восстановительного потенциала в процессе роста тест-микроба, например бромкрезоловый красный, метиленовый синий, тимоловый синий, водный синий или феноловый красный и др.



- Минимальная подавляющая концентрация (МПК), или *minimal inhibitory concentration (MIC)* – это самая низкая концентрация антибиотика, выражаемая в мкг/мл, при которой полностью подавляется видимый рост микроорганизма.



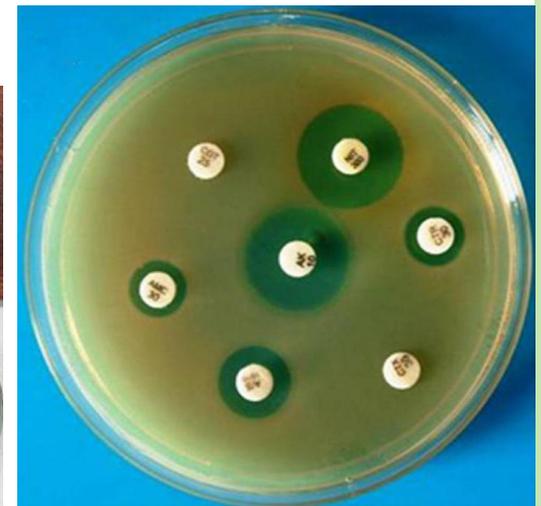
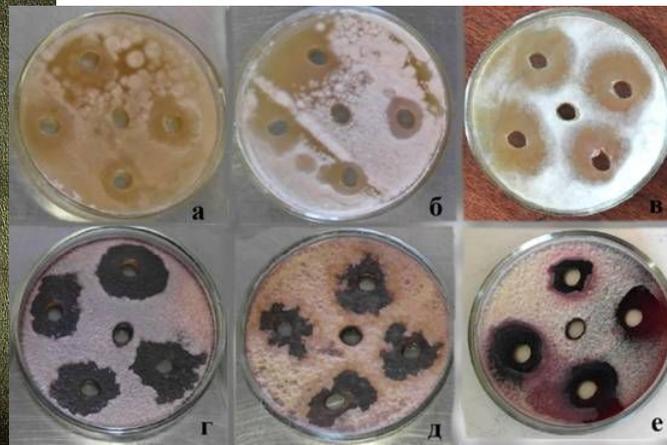
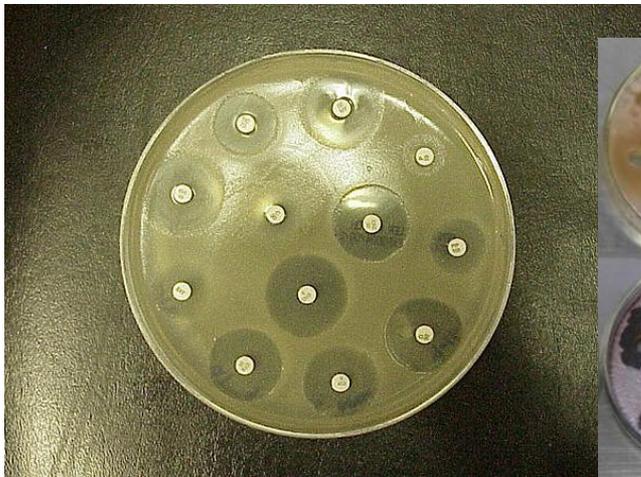
ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

- Принципом, на котором основаны эти методы, является измерение задержки роста тест-организма, проявляющейся в большем или меньшем помутнении питательной среды. Для измерения помутнения используют фотоэлектрические нефелометры. Путём сравнения интенсивности задержки роста, вызванной действием неизвестного количества антибиотика со стандартной кривой, выражающей степень задержки, вызываемой известными количествами антибиотика, производят вычисление активности анализируемого образца. Турбидиметрические методы по сравнению с методами диффузии обычно являются сравнительно менее точными, так как микроорганизм, растущий на жидких питательных средах, при рабочих условиях проведения анализа более чувствителен к изменчивым факторам внешней среды.



МЕТОДЫ ДИФФУЗИИ В АГАР

- Методы диффузии в агар на чашках основаны на том, что антибиотик диффундирует из испытуемого образца в питательную агаровую среду, засеянную чувствительной к данному антибиотику культурой. Вокруг образца образуется круглая зона, в пределах которой тест-культура не растёт. Начало этому методу положила оксфордская группа исследователей, которая разработала так называемый метод с цилиндриками. По этому раствор антибиотика (образца и стандарта) заливают в полые цилиндрики, помещённые на поверхность засеянной тест-микробами агаровой среды в чашках Петри. Определение активности производят путём сравнения величин зон задержки роста у образца и стандарта при одном и том же разведении.
- При методах диффузии в агар на чашках образующиеся зоны задержки не являются точно круглыми, и, следовательно, измерение их диаметра в разных направлениях даёт непостоянные и тем самым недостаточно точные результаты. От этого недостатка свободны линейные методы диффузии, при которых измеряется задержка роста, получавшаяся вследствие диффузии раствора антибиотика лишь в одном измерении. При этих методах раствор антибиотика либо наливают на засеянную тест-микробами питательную среду в пробирке, либо засеянную питательную среду насасывают в стеклянные капилляры, которые погружают затем в раствор антибиотика. Рост и здесь может быть выявлен вследствие гемолиза или изменения окраски индикатора, добавленного к агаровой питательной среде. Весь процесс может быть в ряде операций механизирован и автоматизирован.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Готовые антибиотики контролируют химически, микробиологически и фармакологически и проверяют клинически. Химический контроль предусматривает прежде всего определение содержания антибиотика с помощью некоторых химических методов, описываемых подробно в Фармакопее.
- Биологическая активность играет важнейшую роль в оценке химиотерапевтических свойств того или иного антибиотика, поэтому естественно стремление научных и практических работников применять микробиологический контроль в производстве, клинике и лаборатории. Однако в ряде случаев незаменимыми являются физико-химические методы определения активности антибиотических. В данной работе были рассмотрены методы, которые наиболее часто используются для анализа антибиотиков.



СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.

- Герольд М., Вондрачек М., Несачек Я., Доскочил И. Антибиотики. – Москва: "Медицина", 2013.
- Кашкин П. Н., Безбородов А. М., Елинов Н. П., Цыганов В. А. Антибиотики. – "Медицина", Ленинградское отделение, 2001.
- Государственная фармакопея.- 13-е изд.- Вып. I, - М.: Медицина, .
- Блинов, Хохлов. Бумажная хроматография антибиотиков.
- Блок Р. Аналитические методы белковой химии. М 2007; 470.
- Дэвени Е., Гергей Я. Аминокислоты, пептиды и белки. М: Мир 2011.



Спасибо за внимание!