

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://studservis.ru/gotovye-raboty/kurovaya-rabota/218708>

Тип работы: Курсовая работа

Предмет: Микробиология

Содержание

Введение 3

1 Методы исследования активности антибиотиков 5

1.1 Общая характеристика методов 5

1.2 Приготовление питательных сред для определения чувствительности, этапы проведения тестирования и нормативные документы 17

2 Сравнительная характеристика двух методик определения активности антибиотиков 23

2.1 Определение активности антибиотиков методом серийных разведений 23

2.2 Определение активности антибиотиков методом диффузии в агар 28

Заключение 33

Список литературы 35

ВВЕДЕНИЕ

Лечение инфекционных болезней стало возможным благодаря использованию антибиотиков. Их применение уменьшило смертность людей от инфекции и сократило длительность клинических проявлений заболеваний.

На сегодняшний день синтезировано большое количество антибиотиков, доступных в процессе клинического применения.

При этом наличие антибиотиков не оказало влияния на сам процесс появления и распространения инфекционных заболеваний. Причем, нерациональное использование противомикробных препаратов вызвало эволюцию микроорганизмов, повышение уровня их устойчивости. Именно с этим связана актуальность изучения методов тестирования антибиотиков на их активность по отношению к микроорганизмам.

Антибиотики представляют собой химические вещества, синтезируемые микроорганизмами. Они могут выделяться из природных источников, либо в ходе химического синтеза. Эти активные вещества имеют способность к избирательному подавлению возбудителей разных заболеваний:

- простейших,
- бактерий,
- грибов.

Антимикробная активность антибиотиков будет определяться по уровню их способности к угнетению роста микроорганизмов, с этой целью используют ряд методов.

Значение антимикробной активности антибиотиков выражают в ЕД, то есть в единицах действия или "мкг" на единицу объема препарата. Большая часть антибиотиков имеют следующее соответствие:

- 1 ЕД или 1 мкг соответствуют 1 мкг активного вещества. Есть же виды химических веществ, которые характеризуются особым количественным выражением единицы.

При проведении процесса определения антимикробной активности применяют стандартные образцы.

Активность стандартных образцов должна соответствовать международным стандартам. Если данного соответствия нет, то можно использовать химические стандартные образцы, для которых антимикробная активность будет рассчитана по физико-химическим показателям качества.

Рекомендации, указанные на этикетках стандартных образцов указывают их правильное хранение и применение.

Цель работы: охарактеризовать методы активности антибиотиков.

Для достижения цели решался ряд задач:

- общая характеристика методов определения активности антибиотиков,
- Сравнительная характеристика двух методик определения активности антибиотиков: метод серийных разведений и метод диффузии в агар.

1 Методы исследования активности антибиотиков

1.1 Общая характеристика методов

Для определения активности антибиотиков необходимо правильно выбрать методы.

Традиционными считают микробиологические методы определения.

В исследовании активности антибиотиков в современной науке используют большое количество методов:

- хроматографические,
- спектроскопические,
- биологические,
- химические методы.

Есть и другая классификация методов:

1. Диффузионные методы, к которым можно отнести:

- дискодиффузионный метод,
- метод Е-тестов (градиентный метод),
- другие диффузионные методы.

2. Методы разведений, среди которых выделяют:

- метод разведения в жидкой питательной среде (бульоне),
- метод разведения в агаре ,
- микрометод разведения в жидкой питательной среде

3. Тонкослойная хроматография (ТСХ)-биоавтография:

- Диффузия в агар,
- Прямая биоавтография,

4. Кривая зависимости «время — летальное действие» (time-kill assay).

5. Анализ биолюминесценции АТФ

6. Метод проточной цитофлуориметрии.

Антимикробная активность препарата представляет собой наличие у него способности уничтожать микроорганизмы или подавлять их рост.

Действие вещества можно разделить на:

- бактерицидное действие вещества,
- бактериостатическое действие вещества.

В отношении противогрибковых препаратов говорят о фунгицидной и фунгистатической активности.

Активность антибиотиков и других антимикробных препаратов определяют в разных условиях:

- в ходе производства,
- в процессе изучения процесса фармакокинетики препарата у животных или человека;
- в процессе применения препарата для химиотерапии.

Присутствие антибиотика можно обнаружить:

- в культуральной жидкости,
- в виде химически чистого вещества,
- в составе лекарственных форм,
- в составе биологических жидкостей [3, с. 123].

Для каждого метода необходимо подобрать стандартное вещество, которое бы использовалось при сравнении и построении калибровочной кривой. Чтобы добиться точности метода будет необходимо выполнить определенное количество повторных определений и статистическими методами обработать результаты.

Микробиологические методы количественного определения антибиотиков - это самые широко распространенные методы. В их основе лежат:

- биологическое действие антибиотика на используемый тест-организм,
- чувствительность антибиотиков к данному препарату.

В 1906 году исследователь Омелянский говорил о том, что биологические методы имеют ряд преимуществ при количественном учете разных веществ.

По его мнению, использование бактерий дает для химической науки новый источник реактивов, во много раз более точных и более специализированных, чем те, какими располагала эта наука до сих пор».

Однако биологические методы определения антибиотиков имеют и недостатки: длительность проведения анализов, зависимость точности результатов от многих внешних факторов и т. п. Точность биологических методов обычно составляет $\pm 10 \%$.

Микробиологические методы количественного определения антибиотиков основаны на способности

антибиотиков подавлять рост микроорганизмов. Активность исследуемого антибиотика оценивают по эффективности подавления чувствительных микроорганизмов. Сравнивают в данном случае стандартный образец данного антибиотика и образец исследуемого антибиотика [5, с. 112].

Антибиотики могут представлять собой смесь веществ, в связи с этим характеристика количества активного вещества в исследуемом образце антибиотика будет включать:

- массу антибиотика,
- массовую долю вещества,
- единицы действия (ЕД).

Единица действия - это масса антибиотика в минимальном количестве, имеющая возможность подавлять процесс развития тест- микроорганизма в данном объеме питательной среды.

1 Единица действия имеет соответствие 1 мкг чистого антибиотика, например:

- тетрациклин,
- стрептомицин.

Исключением из данного правила может быть, например, натриевая соль бензилпенициллина, так как ее 1 ЕД равна 0,5958 мкг данного вещества.

Данные методы, которые являются самыми распространенными при анализе активности антибиотиков, характерны недостатками, к которым можно отнести:

- низкая чувствительность,
- низкий уровень специфичности,
- сниженный уровень надежности,
- высокий уровень трудоемкости и большая длительность периода пробоподготовки. Именно поэтому получили распространение методы иммунохимического анализа [11, с. 98].

Методы гомогенного поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) и твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) применяют в лекарственном мониторинге и антибиотикотерапии.

Метод гомогенного поляризационного флуоресцентного иммуноанализа дает возможность для более точного определения и высокой скорости анализа. При этом твердофазный иммуноферментный анализ наиболее чувствителен из рассматриваемых двух методов.

Метод иммуноаффинной экстракции является перспективным направлением биоаналитической химии, с помощью данного метода можно добиться повышения чувствительности и избирательности методов определения.

Турбидиметрия является методом, в котором используют количественный анализ по интенсивности света, который поглощен взвешенными частицами.

Турбидиметрический метод – это метод, в котором при добавлении определенных количеств антибиотиков, можно наблюдать подавление роста клеток микроорганизмов, это явление называют бактериостатическим эффектом. После чего наблюдается гибель бактерий, и мы видим, снижение интенсивности поглощенного света [10, с. 131].

Среда, в которой будет идти определение активности антибиотика в турбидиметрическом методе, имеет жидкое агрегатное состояние.

Уровень мутности среды при наличии в ней сульфосалициловой или других кислот говорит о том, какова степень угнетения роста микроорганизма.

Для окрашенных растворов данный метод не будет актуален.

1. Аратская А.А. Жидкостная хроматография: теоретические основы. - Дзержинск, 1997. - 42 с.
2. Белоусов Ю.Б. Дженирики - мифы и реалии // Remedium. - 2013. - М7-8. - С. 4-9.
3. Битуева А.В. Современные исследования в биохимии. - Улан-Удэ: Мир, 2016. - 172 с.
4. Буланова А.В., Полякова Ю.Л. Хроматография в медицине и биологии. - Самара: Самарский университет, 2016. - 116 с.
5. Даванков В.А., Яшин Я.И. Сто лет хроматографии // Вестн. Рос. Акад. наук. - 2013. -Т.73. - С. 637-646.
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии. - М.: Академия, 2013. - 248 с.
7. Жиркова Л.Л. Новый математический подход при определении концентрации антибиотиков методом диффузии в агар // Антиб.химиотер. - 2013. -С. 14-19.
8. Кеда Б.И. Всесоюзная конференция по применению хроматографии в биологии и медицине // Лабораторное дело. - 2014. - С. 444-447.
9. Карпов О.И. Оригинальные препараты и копии макролидов: тенденции противостояния // Фарматека. - 2014. - МЗ-4. - С. 83-7.

10. Ламберт ПА., Конвей Б.Р. Сравнение фармацевтического качества генерических препаратов цефтриаксона и Роцефина // Клин.микробиол. антимикроб. химиотер. - 2014. - Т.6.-. - С. 260-272.
11. Писарев В.В., Смирнова Л.Б. Оценка сравнительной фармакокинетики воспроизведенных лекарственных средств, содержащих рибавирин // Химия - 2018. -. -С. 23-25.
12. Решедько Г.К. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом // Методические рекомендации. Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии. - М.: Мир, 2013- 213 с.
13. Колупаев В.Е. Антибиотикограмма: диско-диффузионный метод. Интерпретация результатов. - М.: Химия. - 322 с.
14. Ициксон Л.Б., Брауде Е.В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. – М: Наука, 2014 - 213 с.
15. Ушакова Е.А. Проблемы фальсификации лекарственных средств: фокус на антимикробные препараты // Клин.микробиол. антимикроб. химиотер. - 2015. - - С. 167-173.
16. Царенко С.В. Новая стратегия использования антибиотиков в нейрореаниматологии: эффективность in vivo при «неэффективности» in vitro // Клин.анестезиол. реаниматол. - 2016. - Т.3.- С. 36-45.
17. Чарушин В.А. Борьба с инфекционными заболеваниями // Соросовский образовательный журнал. - 2012. - Т.6.- С. 64-72.
18. Шаповалова О.М. Хроматографические методы анализа: Метод.пособие для спец. курса. -М., 2017. - 109 с.

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://studservis.ru/gotovye-raboty/kursovaya-rabota/218708>