

УДК 577.18(07)
ББК 28.072я7
С 34

Рецензент
кандидат биологических наук, Е.С. Алешина

- Сизенцов А.Н.**
С 34 **Методы определения антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности: методические указания к лабораторному практикуму / А.Н. Сизенцов. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2009. – 102 с.**

Методическое указание состоит из 4 разделов, которые включают наглядный материал, описание методик проведения и контрольные вопросы для самоподготовки.

Методические указания предназначены для выполнения лабораторных занятий по дисциплине специализации «Методы определения антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности» в 7 семестре по специальности 020209 «Микробиология» очной формы обучения.

ББК 28.072я7

© Сизенцов А.Н., 2009
© ГОУ ОГУ, 2009

Содержание

Ведение	5
1 Выделение продуцентов антибиотических веществ и методы определения их биологического действия	7
1.1 Выделение микроорганизмов-антагонистов	8
1.2 Основные методы выделения микроорганизмов-продуцентов антибиотиков	10
1.3 Методы идентификации микроорганизмов продуцентов антибиотических веществ	13
1.3.1 Идентификации видов актиномицетов-антагонистов	15
1.4 Методы выделения и очистки антибиотиков	21
1.4.1 Антимикробный спектр и токсичность	21
1.4.2 Лечебные свойства антибиотиков	22
1.4.3 Лабораторный регламент	23
1.5 Пути повышения антибиотикообразующей способности микроорганизмов	25
1.5.1 Селекция наиболее активных форм продуцентов антибиотиков	256
1.6 Изучение условий культивирования выделенных штаммов микроорганизмов-продуцентов антибиотиков	30
1.6.1 Сохранение штаммов продуцентов антибиотиков в активном состоянии	31
1.7 Определение антибиотической активности микроорганизмов	32
1.7.1 Методы определения антибиотической активности микроорганизмов, выросших на твердых питательных средах ...	32
1.7.2 Определение антибиотической активности микроорганизмов при культивировании их в жидких питательных средах	37
1.7.3 Определение противовирусного действия антибиотиков	38
1.7.4 Определение противофаговой активности	49
1.7.5 Определение противоопухолевого действия антибиотиков	40
1.8 Методы количественного определения антибиотиков	44
1.8.1 Биологические методы количественного определения антибиотиков	44
1.8.1.1 Метод последовательных разведений	44
1.8.1.2 Диффузионные методы	48
1.8.1.3 Турбидиметрические методы	51
1.8.2. Химические и физико-химические методы определения различных групп антибиотиков	52
2 Показания для исследования чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам	56
2.1 Механизмы антибиотикорезистентности общие закономерности ...	57
2.1.1 Механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам отдельных групп	58

2.1.2 Множественная устойчивость, связанная со снижением проницаемости	66
2.2 Борьба с антибиотикорезистентностью бактерий	67
3 Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам	70
3.1 Общая характеристика методов	70
3.1.1. Основные этапы проведения тестирования	71
3.1.1.1 Приготовление питательных сред для определения чувствительности	71
3.1.1.2 Приготовление суспензии исследуемых микроорганизмов (инокулюма)	72
3.1.2. Методы серийных разведений	73
3.1.2.1 Приготовление растворов АБП для методов серийных разведений	73
3.1.2.2 Метод серийных разведений в бульоне	75
3.1.2.3 Метод серийных разведений в агаре	78
3.1.3 Общие замечания по методам серийных разведений	80
3.2 Диско-диффузионный метод (ДДМ)	80
4. Контроль качества определения чувствительности микроорганизмов	86
4.1 Контроль чистоты роста культуры	86
4.2 Контроль качества питательных сред	86
4.3 Интегральный контроль качества определения чувствительности	88
4.4 Хранение контрольных штаммов	88
4.5 Частота проведения контроля качества	89
5. Экзаменационные вопросы по дисциплине «Антибиотики»	90
6. Литература рекомендуемая для изучения дисциплины.....	92
Обозначения и сокращения	93
Приложение А	94

Введение

Антимикробная терапия сыграла решающую роль в лечении инфекционных заболеваний человека в XX веке, так как благодаря использованию антибиотиков существенно уменьшилась смертность людей от инфекции, сократились сроки клинических проявлений заболеваний и число постинфекционных осложнений. Со времени открытия пенициллина в 20-х годах были разработаны и синтезированы сотни антимикробных препаратов, десятки из которых в настоящее время доступны для клинического применения.

Вместе с тем, использование антибиотиков не оказало существенного влияния на частоту появления и распространения инфекций, на что возлагались большие надежды в первые годы эры антимикробной терапии. Нерациональное применение, а порой, и злоупотребление противомикробными препаратами, способствовало эволюции микроорганизмов с развитием у них различных механизмов устойчивости к действию антибиотиков. Вследствие этого, участились случаи неудач при лечении инфекционных болезней антибиотиками.

Различают естественную (природную) и приобретенную устойчивость (резистентность) микроорганизма к действию антимикробного агента. Естественная устойчивость является видо- или родоспецифичной и является стабильным признаком. Приобретенная устойчивость вначале формируется у отдельных штаммов какого-либо вида или рода, а в дальнейшем возможно ее широкое как внутри-, так и межвидовое распространение.

Генетические механизмы формирования устойчивости связаны либо с мутациями в имеющихся генах микроорганизма, либо с приобретением микроорганизмом новой для него генетической информации в результате конъюгации, трансдукции или трансформации. Детерминанты резистентности могут возникать как на хромосомах, так и на плазмидах.

Появление все большего числа новых антибиотиков и увеличение числа штаммов с приобретенной резистентностью требует ужесточения требований к стандартизации существующих методов оценки антибиотикорезистентности и разработки новых подходов к интерпретации результатов. Наиболее принципиальные изменения в методологии оценки антибиотикорезистентности и интерпретации результатов связаны с разработкой:

- концепции интерпретационного учета результатов оценки антибиотикочувствительности, основанной на моделировании генотипа исследуемого микроорганизма с последующей корректировкой данных, получаемых *in vitro*, и выдачей клинически ориентированных рекомендаций по лечению;
- концепции групповых препаратов, позволяющей существенно сократить объем исследований при получении достоверных результатов;
- системы контроля качества оценки антибиотикочувствительности, позволяющей существенно снизить вероятность получения ошибочных результатов;