**Міністерство освіти і науки України**

**Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка**

Заочне відділення

Кафедра загальної біології

**ГНАТЮК ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА**

**ДИПЛОМНА РОБОТА**

**ЧУТЛИВІСТЬ ДЕЯКИХ ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО АНТИБІОТИКІВ ЦЕФАЛОСПОРИНІВ ІІІ ПОКОЛІННЯ**

Науковий керівник:

к.б.н., доцент кафедри

загальної біології

Смикун Наталія Василівна

Чернігів - 2008

# Зміст

ВСТУП

[РОЗДІЛ 1](#_Toc194796520) АНТИБІОТИКИ: ІСТОРІЯ ВІДКРИТТЯ, ДОБУВАННЯ, ПРИНЦИПИ ЗАСТОСУВАННЯ, КЛАСИФІКАЦІЯ

1.1 Історія відкриття антибіотиків

1.2 Джерела добування антибіотиків

1.3 Значення антибіотиків в медицині

1.4 Принципи класифікації та застосування антибіотиків

1.5 Ускладнення антибіотикотерапії. Резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, способи її подолання

РОЗДІЛ 2 ОБ`ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об`єкти дослідження

[2.2 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків за методом дифузії в агар](#_Toc194796530)

2.3 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків методом серійних розведень

2.4 Проведення посіву з метою визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотика методом розведення на рідкому поживному середовищі

[РОЗДІЛ 3](#_Toc194796533) ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ АНТИБІОТИКІВ

3.1 Дослідження ефективності застосування антибіотику лораксону та лоразидиму при обструктивних уропатіях у дітей

3.2 Дослідження чутливості збудників негоспітальних пневмоній дітей до деяких антибіотиків

РОЗДІЛ 4 ВИКОРИСТАННЯ ВІДОМОСТЕЙ ПРО АНТИБІОТИКИ В ШКІЛЬНОМУ КУРСІ БІОЛОГІЇ

4.1 Методичні рекомендації щодо проведення уроку-семінару на тему: „Хвороби людини, які викликаються вірусами” в 11-ому класі

4.2 Методичні розробки уроку на тему „Основні напрямки сучасної біотехнології” для учнів 11-тих класів

ВИСНОВКИ

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

# ВСТУП

**Актуальність**. Антибіотики, почавши свій тріумфальний хід в області лікування інфекційних хвороб, у короткий час завоювали надзвичайну популярність серед лікарів усіх спеціальностей.

Заслужену славу створили антибіотикам небувалі в історії нашої науки успіхи в лікуванні захворювань, казавшихся раніш невиліковними, і величезне зниження смертності при різних, у тому числі й особливо небезпечних інфекційних хворобах. Досить згадати історію пеніциліну.

Стрептоміцин почали з успіхом застосовувати при туберкульозному менінгіті і за допомогою стрептоміцину було досягнуто різке зниження летальності при чумі. Надалі його застосування було поширено на деякі інші інфекції.

Використання препаратів типу, хлороміцетину для лікування кишкових інфекцій і рикетсіозів, групи тетрацикліну при риккетсиозах, бруцельозі, туляремії створило виняткові можливості в лікуванні інфекційних захворювань. Немає такої спеціальності в медицині, у якій антибіотики не застосовувалися б досить широко.

Зараз уже стало очевидним, що сфера застосування антибіотиків перевищила сферу їхньої можливої дії.

Г. Я Кивман (1956) вказує, що в даний час не існує жодного антибіотика, при якому не спостерігалося б у тім або іншому відсотку випадків ускладнень". Кох і його співавтори (Е. Koch; H. Bonn; F. Heіss u. R. Schneіder, 1953) [4] вважають: "Установлено, що широко застосовуваний пеніцилін за певних умов представляє небезпечну отруту для людини".

Ще точніше висловлюється Перрин Лонг: "Всі антибіотики - отрути, який треба користуватися з обережністю, після міркування". На жаль, у результаті безладного застосування антибіотиків усе частіше й частіше появлялисьсообщения про важкі побічні дії цих препаратів, що приводять в окремих випадках навіть до загибелі хворого.

**Предмет дослідження** – можливості використання антибіотиків в медичній практиці.

**Об`єкт дослідження** – антибіотики та їх вплив на розвиток мікроорганізмів.

**Мета** роботи полягає в тому, щоб з`ясувати можливості та проблеми використання антибіотиків в медичній практиці.

Для досягнення поставленої нами мети вирішувались **завдання**:

1. ознайомитись з літературними джерелами відкриття, добування, застосування антибіотиків;
2. виділити штами мікроорганізмів в сечі хворих дітей на урологічні захворювання та штами мікроорганізмів в мокроті хворих дітей на негоспітальну пневмонію;
3. дослідити чутливість виділених штамів S. рпеитопіае, Н. іnfluenzae, М. сatarrhalis, Е. соlі, М. рпеитопіае до антибіотиків методом серійних розведень та методом розведення на рідкому поживному середовищі.

# РОЗДІЛ 1

# АНТИБІОТИКИ: ІСТОРІЯ ВІДКРИТТЯ, ДОБУВАННЯ, ПРИНЦИПИ ЗАСТОСУВАННЯ, КЛАСИФІКАЦІЯ

## 1.1 Історія відкриття антибіотиків

Антибіотики (від грец. anti — проти, bios — життя) — це речовини біологічного походження, а також їх похідні синтетичні та напівсинтетичні аналоги, які вибірково пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів. Термін "антибіотики" запропонував З. Ваксман у 1942 р.

Явище антагонізму між різними живими істотами було відоме давно і використовувалося в народній медицині. Ще в 1640 р. у книзі "Ботанічний театр", виданій у Лондоні, були повідомлення про мазь із моху, якою лікували рани. У 1871 р. російський професор В.О. Монасеїн повідомив про здатність плісені знищувати мікроорганізми. У 1872 р. професор О.Г. Полотебнов повідомив про результати лікування гнійних ран порошком із спор грибів пеніциліума та аспергілуса. У 1877 р. французький учений Л. Пастер спостерігав, що гнилісні бактерії пригнічують ріст збудників сибірки і передбачив можливість використати явище антагонізму для лікування інфекційних хвороб [2].

Можливість використання мікроорганізмів або продуктів їхнього обміну для лікування захворювань була відкрита дуже давно, хоча в той час і не була відома причина їхньої лікувальної дії. Гриби й інші мікроорганізми дійсно застосовувалися як засоби для лікування людей, про що ми можемо прочитати в стародавніх документах. Завдяки швидкому й інтенсивному розвиткові мікробіології, початок якому поклала Pasteur (друга половина XІ сторіччя), стали накопичуватися наукові дані, причому деякі з них для відкриття антибіотиків і розробки їхнього виробництва мали значну історичну цінність і інтерес. Увага піонерів цієї швидко розвиненої нової області науки не могла пройти повз явище антагонізму й антибиоза в ґрунті, травному тракті й у ряді інших областей. У той час ці наукові дані не могли ще знайти для себе практичного застосування, незважаючи на те що у своїх працях Pasteur і Joubert (1877), а також Е. Н. Павловский (1887) і І. І. Мечников (1894) ясно вказували на те, що деякі мікроорганізми можуть бути дуже діючим засобом для знищення патогенних і інших бактерій. У той же час було також уперше встановлене, що гриби з роду Penіcіllіum мають властивості, що у даний час іменуються антибіотичними (В. А. Манассеин, 1871; А. Г. Полотебнов, 1872; Tyndall, 1876). Це відкриття не одержало, однак, практичного застосування, так що наріжний камінь у справі застосування антибіотиків у медицині і розробки їхнього виробництва заклав тільки Flemіng по прошествии більш 50 років. Спостереження, що привело до відкриття пеніциліну, Flemіng зробив у 1928 р. Він працював у лондонському госпіталі Сэнт-Мэри з величезною кількістю штамів Staphylococcus aureus, вирощуючи у своїй лабораторії цю культуру на чашках Петри. На одній з чашок виросла колонія якогось гриба ("цвіль"). Біля неї утворився округлий простір, у якому колонії стафілококів були явно затримані у своєму росту, залишалися прозорими і лизировались (мал. 1).Flemіng виділив цей гриб і досліджував його незвичайні антибіотичні властивості. Так був зроблений перший крок до відкриття пеніциліну. У 1932 р. Clutterbuck, Lowell і Raіstrіck установили, що культуру Флеминга [2], що була спочатку віднесена до виду Penіcіllіum rubrum, можна вирощувати і на синтетичних живильних , середовищах однак їм не удалося виділити пеніцилін у чистому виді через його хімічну нестійкість. Цей факт установив у 1935 р. також і Reіd. Тільки в 1940 р. оксфордской групі вчених (Florey, Chaіn, Heatley і ін.) удалося знайти практичний метод виділення й очищення пеніциліну. Протягом наступного року препарат був успішно застосований у декількох випадках важкого стафілококового і стрептококового сепсису. Тому що під час війни в Англії відчувався недолік хіміотерапевтичних препаратів і, зокрема, сульфаніламідів, то це відкриття придбало велике практичне значення. Подальша робота науково-дослідних установ, вищих навчальних закладів і промислових підприємств Англії і США привела в дуже короткий час до розвитку виробництва пеніциліну у великих масштабах.

У ході другої світової війни питання вивчення пеніциліну, його виробництва і клінічного застосування розроблялися також і в деяких інших країнах світу. Так, наприклад, у Радянському Союзі успішно працювала по цій проблемі група дослідників під керівництвом З. В. Ермольевой; у Чехословакии найбільших успіхів досягли співробітники колишнього підприємства Б. Фрагнера в Мехолупах. Вже в 1944 р. вони одержали речовину, названа ними "микоин БФ 510", що після всебічного мікробіологічного і фармакологічного вивчення було успішно застосоване в клініці для лікування декількох важких захворювань. При наступному порівнянні цього препарату з імпортним пеніциліном було встановлено, що микоин 510 збігався по своїй дії з першими закордонними препаратами аморфного пеніциліну. Однак одержувати цей препарат у той час можна було лише в дуже невеликих кількостях, що не йдуть ні в яке порівняння із сучасним промисловим виробництвом, заснованим на використанні високоспеціализованого устаткування [11].

Крім пеніциліну, ще до створення його виробництва було відоме вже кілька інших антибіотиків. Так, Gratіa і Dathova у 1924 р. відкрили актиноміцетин; Dubos у 1939 р. відкрив грамицидин і тироцидин; Alsberg і Black у 1913 р. відкрили пеніцилоїнову кислоту і т.д. Але всі ці антибіотики стали знову предметом вивчення тільки в зв'язку із широкими дослідженнями в області антибіотиків, початок яким поклало освоєння виробництва пеніциліну.

Відкриття наступних антибіотиків, що є в даний час звичайними засобами лікування великої кількості інфекційних захворювань, на відміну від відкриття пеніциліну стало наслідком систематичної роботи, навмисно спрямованої на рішення цієї задачі. Так, Waksman [11] у 1944 р. відкрив стрептоміцин, Ehrlіch у 1947 р. - хлорамфеникол, Duggar у 1948 р. - хлортетрациклин і т.д. Розробка виробництва цих антибіотиків проходила в умовах, коли вже були освоєні методи глибинної ферментації пеніциліну, що могли бути прийняті без істотних змін і для виробництва нових антибіотиків.

Науково обґрунтував явище антагонізму серед мікробів видатний український вчений І.І. Мечников. Вивчаючи роль гнилісних бактерій кишок в інтоксикації та старінні організму людини, він виявив антагоністичну дію проти них молочнокислих бактерій. Для пригнічення розвитку гнилісної мікрофлори він пропонував уживати в їжу кисле молоко, яке містить Lactobacterium bulgaricum. Пізніше було доведено антагоністичну дію В. bifidum та Е. соlі на збудників кишкових інфекцій. Російський учений Л.Г. Перетц рекомендував уживати колі-кисляк з активним штамом ешерихій — М 17.

У 1896 р. італійський лікар Б. Гозіо із запліснявілих зерен рису виділив зелений мікроскопічний гриб, а з культуральної рідини цього гриба — невелику кількість кристалічної речовини, яка згубно діяла на бактерії. По суті це був перший антибіотик. Водночас німецькі вчені Р. Еммерих та О. Лев виділили з фільтрату бульйонної культури синьогнійної палички піоціоназу й довели, що вона згубно діє на численні патогенні мікроорганізми. Український учений М.Ф. Гамалія [2] виділив з культури тієї самої палички препарат піокластин. Але практична користь від застосування перших антибіотиків була незначною. Одні з них виявилися токсичними для організму людини, інші — малоефективними або справляли непостійну дію.

Пріоритет у відкритті антибіотиків належить видатному англійському мікробіологу Александеру Флемінгу. У 1928 р. у фільтраті бульйонної культури зеленого плісеневого гриба Penicillium notatun він виявив антибіотик, який знищував культуру золотистого стафілокока, проти якого були безсилі відомі на той час хімічні препарати. Цей антибіотик назвали пеніциліном за назвою гриба-продуцента. У чистому вигляді цей антибіотик виявився нестійким, тому А. Флемінгу не вдалося виділити його з фільтрату.

Це зробили англійські хіміки Г. Флорі, Е. Чепін і Н. Хітлі у 1940 р. Пеніцилін виявився ефективним у лікуванні менінгіту, сепсису, бешихи, газової гангрени, гнійних ран та інших хвороб [9].

У Радянському Союзі пеніцилін уперше виділили академік З.В. Єрмольєва і Т.І. Балезіна в 1942 р. з плісеневого гриба Penicillium crustosum, що мало велике значення для врятування життя поранених у роки війни.

Промислове виробництво пеніциліну розпочалося в США з 1943 р. під керівництвом Г. Флорі та Н. Хітлі. Вони розробили методи очищення й виділення пеніциліну. Згодом було розшифровано структуру пеніциліну, що відкрило шлях до синтетичного способу виробництва пеніциліну та його похідних. Після відкриття пеніциліну почалася нова ера в розвитку медицини — післяантибіотикова. Висока лікувальна ефективність пеніциліну сприяла активному пошуку нових антибіотиків, який триває й нині. У 1944 р. виділено стрептоміцин, ефективний проти збудника туберкульозу; у 1945 р. — хлортетрациклін, у 1947 р. — хлорамфінекол, які виявилися ефективними проти багатьох грам-позитивних і грамнегативних мікроорганізмів. Кожного року виявляли близько 20 нових антибіотиків і зараз їх нараховується понад 6000. У клінічній практиці використовують 2—3 % антибіотиків, отриманих з природних джерел. Це пояснюється тим, що деякі з них виявилися надто токсичними для макроорганізму або малоефективними. Для удосконалення фармакокінетичної та лікувальної дії природних антибіотиків отримують напівсинтетичні й синтетичні їх аналоги. При цьому "ядро" молекули природного антибіотика зберігають, оскільки воно забезпечує зв'язок антибіотика з мішенню в бактеріальній клітині.

## 1.2 Джерела добування антибіотиків

Джерелами добування антибіотиків природного походження є плісеневі гриби, актиноміцети, бактерії, а також тканини тварин і рослин. Найактивнішими продуцентами антибіотиків є актиноміцети. З них виділено стрептоміцин, циклосерин, тетрациклін, хлороміцетин, лінкоміцин, ністатин, леворин тощо. З плісеневих грибів виділено пеніцилін, цефалоспорини. Група антибіотиків бактеріального походження має менше практичне значення. До них належать: граміцидин, коліформін, поліміксини. Тканини тварин також містять речовини, які вибірково уражують певні види мікроорганізмів. Це — еритрин (виділяють з еритроцитів різних тварин), екмолін (з луски риби), інтерферони, інтерлейкіни, лізоцим тощо.

Антибіотики, які містяться в рослинах, у 1928 р. відкрив Т.П. Токін [11] і назвав їх фітонцидами. За хімічним складом переважна більшість фітонцидів належить до складних ефірів, тому вони леткі й нестійкі і їх складно виділити в чистому вигляді. До антибіотиків рослинного походження належать: аліцин (часник), іманін (звіробій), хлорофіліпт (листя евкаліпту), рафанін (зерна редиски), хлорелін (хлорелла), уролесан (комбінований рослинний препарат).

При виділенні антибіотиків з мікроорганізмів спочатку шляхом селекції виділяють штами продуцентів антибіотиків, які в сотні разів продуктивніші за "дикі штами". Так, якщо штам Флемінга продукував 2 ОД пеніциліну в 1 мл культуральної рідини, то сучасні штами продукують не менше 10 000 ОД. Оскільки більшість антибіотиків накопичуються в культуральній рідині, то продуценти антибіотиків вирощують протягом 48 год. або кількох діб у 10—50-тонних ферментерах за оптимальних умов для розвитку й розмноження. Після фільтрування культуральної рідини антибіотики виділяють різними методами залежно від їх природи: шляхом екстракції органічними розчинниками або іонообмінними смолами й очищують від домішок.

Антибіотики випускають у стерильних флаконах (порошок або розчин), таблетках, капсулах, а також у вигляді мазі, суспензії.

Біологічну активність перевіряють мікробіологічним методом на тест-культурах мікроорганізмів. Активність пеніциліну перевіряють на тест-культурі S. aureus, більшість антибіотиків — на тест-культурі бацил ґрунту В. subtilis, В. mycoides. Іноді застосовують хімічний метод.

Біологічну активність антибіотиків вимірюють у міліграмах (мг), а також у міжнародних одиницях (ОД — одиниця дії). Для більшості антибіотиків 1 ОД — це 1 мкг чистого препарату, для пеніциліну — 0,6 мкг. 1 ОД пеніциліну — це мінімальна його кількість, яка затримує ріст стандартного штаму стафілокока в 50 мл поживного середовища.

## 1.3 Значення антибіотиків в медицині

Відкриття пеніциліну й інших антибіотиків привело до революційного перевороту в лікуванні багатьох інфекційних захворювань. Не менше значення антибіотики придбали і для профілактики інфекцій, особливо в хірургії і травматології (при пораненнях, відкритих переломах, опіках і т.д.). Не дивно тому, що хворі часто самі прибігають до лікування антибіотиками, вірячи в їхній "чудодійну" силу. Тут необхідно звернути увагу на те, що жоден антибіотик не діє на "усі хвороби". Наприклад, на хворобі, викликувані вірусами малих розмірів (вірусний грип, поліомієліт, хвороба Боткіна і т.п.), жоден з відомих у даний час антибіотиків скільки-небудь ефективно не діє. Навіть і для лікування бактеріальних захворювань не існує універсального антибіотика, тому що кожен препарат має свій порівняно обмежений спектр дії [12]. Тому при всякому захворюванні, що передбачається лікувати антибіотиками, повинен проводитися ретельний мікробіологічний аналіз, що і покаже, який антибіотик з'явиться найбільш активним проти збудника даного захворювання. У результаті багаторічної практики з'ясувалося, що далеко не байдуже, чи будуть антибіотики призначатися хворому цілеспрямовано або ж безсистемно. Для кожного відомого сьогодні антибіотика описані випадки алергійних реакцій, хоча і випадків, що спостерігаються лише в невеликому числі. Якщо в хворого виявляється підвищена чутливість, його не можна лікувати повторно тим же антибіотиком. Хлорамфенікол, наприклад, може викликати поразки кровотворних органів, на щастя, лише в незначному відсотку випадків; однак їхнє число зростає при тривалому застосуванні препарату. Найбільша ж небезпека неправильного застосування антибіотиків полягає в поширенні хвороботворних мікроорганізмів, стійких до даного антибіотика. Якщо дози антибіотика недостатні, то мікроб може придбати стійкість до нього і виживати як при даних, так і при багаторазово збільшених дозах. Стійкість можуть придбати не тільки збудники гострого захворювання, від якого хворого лікують, але і бактерії, що живуть в організмі як сапрофіти, наприклад Escherіchіa colі. Щоб попередити виникнення стійкості, необхідно точно виконувати наступні вимоги [5].

1. Лікувати антибіотиками випливає лише в тих випадках, коли ясно встановлене, що дане інфекційне захворювання викликане саме мікробами, чуттєвими до даного антибіотика, або ж коли затягування вже початого лікування грозить небезпекою.

2. Ніколи не слід зменшувати дози і не збільшувати запропонованих інтервалів між введеннями або прийомами антибіотика.

3. Ніколи передчасно не припиняти вже почате лікування антибіотиком, тобто продовжувати вводити антибіотик протягом декількох днів після спаду температури хворого до норми.

4. Якщо потрібно застосовувати антибіотик местно у великій кількості, то завжди варто вводити цей препарат одночасно у виді ін'єкцій звичайними дозами або перорально [2].

Навпаки, помилковим є досить розповсюджене уявлення про те, що антибіотики в того самого хворого втрачають свою активність, якщо лікування виробляється кілька разів. Якщо внаслідок неправильних доз не виникла стійкість хвороботворних мікробів і якщо в хворого не розвилася підвищена чутливість до антибіотика, то той самий антибіотик може повторно застосовуватися для лікування з таким же успіхом, як і колись.

## 1.4 Принципи класифікації та застосування антибіотиків

Антибіотики класифікують за такими основними ознаками: за спектром і спрямованістю біологічної дії, хімічним складом та молекулярним механізмом дії на мікробну клітину.

За спектром дії розрізняють антибіотики вузького й широкого спектра дії. Антибіотики вузького спектра дії активні щодо певної групи мікроорганізмів. Бензилпеніцилін, еритроміцин, олеандоміцин активні переважно щодо грампозитивних мікроорганізмів. Монобактамні антибіотики (азтреонам) активні у відношенні грамнегативних мікроорганізмів. Антибіотики широкого спектра дії (цефалоспорини, фторхінолони, карбапенеми) пригнічують ріст і розмноження грампозитивних і грамнегативних типових та нетипових форм бактерій. Найширший спектр дії характерний для п'яти груп антибіотиків: β-лактамні, фторхінолони, аміноглікозиди, тетрацикліни, хлорамфінекол. Антибіотики можуть спричинювати бактерицидну та бактеріостатичну дію на мікроорганізми. До бактерицидних належать пеніциліни, цефалоспорини, фторхінолони, аміноглікозиди; до бактеріостатичних — левоміцетин, тетрацикліни, макроліти [11].

За спрямованістю біологічної дії антибіотики поділяють на чотири основні групи: антибактеріальні, протигрибкові, противірусні, протипухлинні.

Антибактеріальні антибіотики пригнічують ріст і розвиток бактерій. До цієї групи належить більшість відомих антибіотиків.

Протигрибкові антибіотики специфічно пригнічують ріст патогенних грибів. Для лікування захворювань, спричинених дріжджеподібними грибами, використовують ністатин, леворин, для лікування глибоких і генералізованих мікозів, дерматомікозів — гризеофульвін, амфотерицин Б та інші препарати.

Противірусна активність виражена в інтерферонів, інтерлейкінів. Вони порушують розмноження вірусу в чутливій клітині.

Протипухлинні антибіотики пригнічують розмноження клітин злоякісних пухлин. Рубоміцин ефективний у лікуванні хоріонепітеліоми матки й гострих лейкозів, актиноміцин — аденокарциноми нирки, брунеоміцин — лімфогранулематозу, олівоміцин пригнічує швидкометастазуючі пухлини. Вони блокують транскрипцію або порушують синтез ДНК.

За хімічним складом антибіотики належать до органічних сполук. Це можуть бути ациклічні органічні сполуки — полієни (ністатин, амфотерицин Б); ароматичні гетероциклічні сполуки (гризеофульвін); макроліди містять у молекулі макроциклічне лактонне кільце, пов'язане з одним або кількома вуглеводними залишками (еритроміцин, олеандоміцин, лінкоміцин, кла-ритроміцин — клацид, спіраміцин, азитроміцин — сумамед); антрацикліни (рубоміцин); аміноглікозиди, молекули яких складаються із залишків аміноциклітів та вуглеводів (стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, мономіцин, гентаміцин); поліпептиди — білки (граміцидин, поліміксин, лізоцим, коліцини); молекули тетрациклінів (окситетрациклін, метациклін, хлортетрациклін та ін.) складаються з чотирьох конденсованих бензольних кілець з різними радикалами; бета-лактамні антибіотики — гетероциклічні сполуки з бета-лактамним кільцем (пеніциліни, цефалоснорини); до нетрадиційних бета-лактамних препаратів відносять карбапенеми, оксапенеми; глікопептидні антибіотики (ванкоміцин, ристоміцин). Останнім часом широко застосовуються фторхінолони — гетероциклічні сполуки, які містять два конденсованих шестичленних кільця — ципробан, ципрофлок-сацин (ципринол), левофлоксацин, моксифлоксацин, норфлоксацин [13].

За молекулярним механізмом дії на мікробну клітину антибіотики поділяють на групи залежно від мішені в бактеріальній клітині:

порушують синтез клітинної стінки бактерій — пеніцилін, ристоміцин, ванкоміцин, новобіоцин; тому вони більш активні щодо молодих клітин, які ростуть, і не діють на клітини, що перебувають у стадії спокою. Порушуючи синтез пептидоглікану, вони сприяють перетворенню нормальної бактеріальної клітини на L-форму. При видаленні антибіотика мікробна клітина, якщо вона не загинула, з L-форми знову перетворюється на нормальну, що призводить до рецидиву (повернення клінічних ознак хвороби) інфекцій;

порушують синтез білків у бактеріальній клітині на рівні 70S рибосом — тетрацикліни, макроліди, левоміцетин;

пригнічують синтез білків у бактеріальній клітині п одночасно порушують трансляцію генетичного коду — аміноглікозиди;

пригнічують синтез нуклеїнових кислот у бактеріальній клітині та клітинах макроорганізму, трансляцію ДНК — актиноміцини; пригнічують реплікацію ДНК — міаміцин; синтез ДНК — брунеоміцин, рубоміцин; інактивують РНК-полімеразу — рифампіцин, ДНК-гірази (фермент, що упорядковує просторову структуру ДНК у бактеріальній клітині) — хінолони;

порушують цілісність цитоплазматичної мембрани — протигрибкові, полієни руйнують вегетативні клітини патогенних грибів, але не діють на їх спори.

Після визначення хімічної структури більшості антибіотиків було зроблено спроби здійснити їх хімічний синтез. Левоміцетин отримують лише хімічним способом — синтетичний антибіотик, а виробництво хімічним синтезом пеніциліну, граміцидину виявилось економічно недоцільним.

Розроблено методи вдосконалення властивостей природних антибіотиків частковою зміною хімічної структури їх. Так було отримано напівсинтетичні антибіотики. Особливо великих успіхів досягнуто в отриманні напівсинтетичних пеніцилінів та цефалоспоринів — найбільш уживаних антибіотиків [21].

Бензилпеніцилін (відомий під назвою пеніцилін) був отриманий шляхом приєднання бензильної групи до ядра молекули природного пеніциліну (6-амінопеніциланової кислоти — 6-АПК). Бензилпеніцилін має сильну хіміотерапевтичну активність, малотоксичний. Недоліком його є вузький спектр дії, чутливість до пеніцилінази (ферменту бактерій, який руйнує його молекулу), втрата активності в кислому й основному середовищі (руйнується в травному тракті). Шляхом заміни бензильної групи на молекулу іншої органічної сполуки отримано сотні напівсинтетичних пеніцилінів. Саме так отримали пеніциліни, стійкі до пеніцилінази, — метицилін, до кислої реакції шлункового соку — оксацилін, амоксил, ампіцилін. Напівсинтетичні пеніциліни — активні до грампозитивних і грамнегативних мікробів, тобто мають широкий спектр дії.

Цефалоспорини продукуються грибами роду Cephalosporium. Основним структурним компонентом його молекули є 7-аміно-цефалоспоринова кислота, яка за структурою схожа на 6-АПК. Базовим препаратом є цефазолін — бактерицидний препарат широкого спектра дії, стійкий до пеніцилінази, але він виявився малоактивним до менінгокока, синьогнійної палички, бактероїдів. Зміною хімічної структури отримано цефалоспорини II, III і IV поколінь.

Цефалоспорини II покоління (цефаклор, цеамандол, цефокситин, цефуроксим) більш активні до грамнегативної мікрофлори, у тому числі й бактероїдів, ешерихій, клебсієл, протеїв, але менш активні до стафілококів та стрептококів.

Цефалоспорини III покоління (цефотаксим, цефоперазон, цефтазидим, цефтриаксон) мають широкий спектр дії на грам-негативні бактерії, зокрема на гемоглобінофільну паличку, нейсерії, ентеробактерії, синьогнійну паличку, збудника бореліозу (спірохету, що спричинює хворобу Лайма) [22].

Цефалоспорини IV покоління (цефепім, цемфіром) більш активні щодо ентеробактерій, псевдомонад (синьогнійної палички), грампозитивних коків.

З антибіотиків слід використовувати препарати, які мають високу вибірковість і активність щодо збудника, через що їх називають етіотропними (від грец. aitia — причина і tropos — спрямування), тобто такими, що діють на причину (збудника) хвороби. Вони повинні бути петоксичними для макроорганізму, зберігати антибактеріальну дію в рідинах, тканинах організму, добре всмоктуватися й розподілятися із організмі, забезпечуючи ефективні концентрації в ньому протягом тривалого часу, зберігати стабільність за звичайних умов зберігання.

Успіхи антибіотикотерапії залежать від чутливості збудника до препарату, ефективного способу його введення, форми патологічного процесу, фази захворювання, стану захисних механізмів організму. Антибіотики, найбільш ефективні при певному виді інфекції, до яких чутлива більшість штамів даного збудника, називаються препаратами першого вибору (першого ряду). Препарати другого ряду (альтернативні, від лат. alter — один із двох) призначають тоді, коли препарати першої групи неефективні, або коли штам виділеного збудника найбільш чутливий саме до них. Антибіотики резерву використовують в особливих випадках, коли антибіотики першого і другого ряду виявляються неефективними, спричинюють багато ускладнень.

До основних принципів раціональної антибіотикотерапії належать:

— виділення та ідентифікація збудника, визначення чутливості його до антибіотиків;

— вибір найбільш активного і найменш токсичного препарату;— визначення оптимальних доз і методів уведення антибіотиків в організм хворого для створення в рідинах і тканинах терапевтичної концентрації;

— своєчасний початок лікування й продовження його до повного закріплення терапевтичного ефекту;

— урахування можливості побічної дії антибіотиків, особливо якщо у хворого є індивідуальні порушення функцій внутрішніх органів (печінки, нирок);

— комбінація антибіотиків між собою або з іншими препаратами для підсилення антибактеріального ефекту (найчастіше використовують комбінації пеніцилінів та аміноглікозидів, тетрациклінів та макролідів, пеніцилінів та сульфаніламідних препаратів) [22].

Тривалість курсу антибіотикотерапії залежить від виду збудника, ефективності обраного препарату, стану макроорганізму. Антибіотики, як правило, швидко виводяться з організму, тому їх потрібно вводити кілька разів на добу. Це ускладнює лікування, особливо при ін'єкційному введенні препарату. Зручніше вводити препарати пролонгованої (від пізньолат. prolongatio — збільшити довжину, тобто подовженої) дії. Так, біцилін-1 уводять 4 або 2 рази на місяць, біцилін-2 — 1 раз на 4—6 діб, біцилін-5 — 1 раз на 3 тиж (дітям до 8 років) або 1 раз на місяць (дітям після 8 років і дорослим).

## 1.5 Ускладнення антибіотикотерапії. Резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, способи її подолання

Використання антибіотиків врятувало життя мільйонів людей. Завдяки їм знизились кількість післяопераційних ускладнень, захворюваність і смертність від інфекцій, підвищилась ефективність лікування інфекційних захворювань, збільшився середній вік людини. Разом з тим антибіотикотерапія та антибіотикопрофілактика може призвести до негативних наслідків [27].

Антибіотики здатні формувати алергійний стан. Як правило, при повторному їх уведенні виникають алергійні реакції різного ступеня вираженості: шкірні висипи, дерматит, риніт, розвиток астматичного стану, кон'юнктивіт, але найбільш небезпечними є набряк Квінке (особливо набряк гортані) та анафілактичний шок, наслідком яких може бути смерть, тому перед застосуванням антибіотика проводять шкірні проби або з'ясовують у хворого, чи проявлялися в нього раніше алергійні реакції на антибіотики.

Вживання антибіотиків широкого спектра дії може призвести до дисбактеріозу. Унаслідок пригнічення нормальної мікрофлори активується умовно-патогенна: стафілококи, протей, клостридії (С. difficile), гриби роду Candida, які виявляються стійкими до цих антибіотиків, тому поряд з антибіотиками призначають протигрибкові препарати й вітаміни.

Токсична дія виникає при тривалому застосуванні препаратів. Вона може проявлятися на загальному стані організму (нудота, блювання, зниження апетиту) або справляти органотропну фармакодинамічну дію. Так, тетрациклін уражує печінку, нирки, спричинює гіповітаміноз, подразнення слизової оболонки травного тракту, порушує розвиток кісток, зубів (його не рекомендують призначати дітям до 14 років); левоміцетин уражує кістковий мозок, що призводить до порушення процесу кровотворення; стрептоміцин, гентаміцин уражують вестибулярний апарат і слуховий нерв; цефалоспорини порушують функцію нирок (нефротоксичні); циклосерин, гризеофульвін, поліміксин уражують периферійні нерви й ЦНС. Деякі антибіотики (тетрацикліни, левоміцетин) спричинюють тератогенну (від грец. teratos — виродок, страховисько) дію, що призводить до патології розвитку плода, тому їх не рекомендують вживати вагітним. Вживання бактерицидних препаратів при інфекційних захворюваннях, зумовлених грамиегативною мікрофлорою, унаслідок масової загибелі бактерій і виділення в організм великої кількості ендотоксинів може призвести до ендотоксинового шоку.

Тривале вживання антибіотиків може спричинити пригнічення імунітету.

До негативних наслідків можуть призвести також індивідуальні відхилення обміну речовин у макроорганізмі, порушення функцій печінки, нирок. Так, при хронічному алкогольному ураженні печінки в крові хворого швидко накопичується надлишок антибіотиків, що призводить до токсичної дії їх на орнанізм [4].

Особливо багато ускладнень спричинюють антибіотики при наявності антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів.

Резистентність (від лат. resisto — опірність) — це здатність мікроорганізмів розмножуватися за наявності терапевтичних концентрацій лікувальних препаратів. Резистентні штами мікроорганізмів стали з`являтися відразу після вживання антибіотиків і з часом їх кількість зростає лавиноподібно. Так, у 40-віроки XX ст. штами стафілококів, резистентні до пеніциліну, становили 2—3 %, у 1955 р. — 60—80 %, наприкінці XX ст. — 90— 98 %. Особливо швидко формується резистентність у типових бактерій, повільніше — у нетипових бактерій та інших груп мікроорганізмів: спірохет, рикетсій, хламідій, мікоплазм, грибів, найпростіших.

Резистентність може бути природна й набута.

Природна (видова) резистентність пов'язана з відсутністю "мішені" або з недосяжністю її внаслідок слабкої проникності клітинної стінки. Вона не залежить від первинного контакту з антибіотиками. Так, мікоплазма нечутлива до пеніциліну через відсутність клітинної стінки; бактерії стійкі до протигрибкових препаратів.

Набута резистентність пов'язана зі змінами в геномі бактеріальної клітини. Можливі два варіанти генетичних змін. Один з них пов'язаний з мутаціями у своїх генах, другий — з проникненням у бактеріальну клітину додаткових генів через плазміди й транспозони. Ці гени називаються r-гени (гени резистентності). Один транспозон передає резистентність до одного антибіотика, а оскільки одна плазміда містить кілька транспозонів, то вона може контролювати резистентність до кількох антибіотиків. Так формуються плазміди множинної резистентності у бактерій (R-плазміди). Мікробних клітин, які отримують гени резистентності й піддаються мутації в одній популяції, порівняно небагато, тому резистентні штами формуються внаслідок селекції. Антибіотик знищує чутливі клітини в популяції мікроорганізмів і сприяє розмноженню клітин-мутантів [15].

Вважають, що фонд генів, які зумовлюють антибіотикорезистентність, знаходиться в клітинах продуцентів антибіотиків і зумовлює самозахист цих продуцентів. При тісному контакті патогенних мікроорганізмів з продуцентами антибіотиків у природних умовах (ґрунті, кишках тварин і людей) іде обмін генетичним матеріалом.

Механізми набутої антибіотикорезистентності складні й різноманітні, але можна виділити кілька основних:

1) руйнування молекули антибіотика. Цей механізм лежить в основі формування резистентності до бета-лактамних антибіотиків (пеніцилінів, цефалоспоринів). Резистентні бактерії утворюють ферменти бета-лактамази (наприклад пеніциліназу);

2) модифікація структури молекули антибіотика. Під впливом мікробних ферментів (фосфатрансфераза тощо) антибіотик перетворюється на неактивну форму. Цей механізм лежить в основі формування резистентності до тетрациклінів, аміноглікозидів, макролідів;

3) зміна структури ''мішені", чутливої до антибіотиків. Унаслідок мутації структури білка рибосом 70S формується резистентність до аміноглікозидів, макролідів; ферменту ДНК-гірази — до хіполонів; РНК-полімерази — до рифампіцину; пеніцилінзв'язувальних білків (транспептидаз) у цитоплазматичній мембрані бактеріальної клітини — до бета-лактамних антибіотиків;

4) формування механізму активного виведення антибіотика з бактеріальної клітини, коли він ще не досяг своєї "мішені" — один з варіантів формування стійкості до тетрациклінів.

Є багато причин, які сприяють масовій селекції й поширенню резистентних штамів мікроорганізмів. До них належать: безконтрольне й нераціональне застосування антибіотиків для лікування; застосування антибіотиків без необхідності для профілактики інфекційних хвороб; вживання продуктів харчування, що містять антибіотики, — м'яса, молока (іноді тварин лікують антибіотиками, які використовують для лікування людей, — тетрациклінами) [22].

Резистентність мікроорганізмів — велика проблема медицини, тому важливе значення має пошук методів її подолання. До них належать:

1) застосування нових препаратів, які відрізняються від діючих за хімічною структурою молекули і є більш ефективними;

2) комбінація антибіотиків з різним механізмом дії на мікробну клітину;

3) заборона використовувати для лікування антибіотики, до яких у даному регіоні з'явилися резистентні форми мікроорганізмів;

4) заборона використовувати у ветеринарній практиці антибіотики, якими лікують людей;

5) заборона використовувати продукти харчування, які містять залишкову кількість антибіотиків, більшу від допустимих меди-кобіологічних норм;

6) дотримання інструкції щодо застосування препарату (доза, термін і спосіб використання);

7) визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків.

Отже, застосування антибіотиків без перевірки на чутливість до них мікроорганізмів є небезпечним для хворих і призводить до великих економічних витрат.

# РОЗДІЛ 2

# ОБ`ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

## 2.1 Об`єкти дослідження

Дослідження проводилося на базі ОДЛ (Обласної дитячої лікарні м. Чернігова).

Проведення бактеріологічного дослідження сечі серед дітей хворих на урологічні захворювання сприяло виявленню мікроорганізмів: Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter agglomerans, Escherichia coli, Citrobacter freundii, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis. Мікроорганізми ідентифікували за зовнішніми ознаками, використовували визначники мікроорганізмів. Вивчали чутливість до антибіотиків III покоління лораксону та лоразидиму.

Лораксон. Цефалоспориновий антибіотик ІІІ покоління широкого спектру дії для парентерального введення. Бактерицидна активність обумовлена пригніченням синтезу клітинної стінки бактерій. Відрізняється стійкістю до дії більшості бета-лактамаз грамнегативних і грампозитивних мікроорганізмів.

Лоразидим. Цефалоспориновий антибіотик ІІІ покоління для парентерального введення. Діє бактерицидно (порушує синтез клітинної стінки мікроорганізмів). Має широкий спектр дії. Стійкий до дії більшості бета-лактамаз. Діє на багато штамів, які виявляють стійкість до ампіциліну й ін. Цефалоспоринів [21].

Мікробіологічне дослідження мокроти хворих дітей на негоспітальну пневмонію (НП) дозволило виявити такі мікроорганізми: Streptococcus рпеитопіае, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis.

Обстежили 60 хворих. Усі пацієнти — діти віком від 3 до 7 років серед них: 10 - хворі з обструктивними уропатіями при надходженні до стаціонару (бактеріологічне дослідження сечі), 50 мають захворювання на НП (негоспітальну пневмонію) з нетяжким перебігом (досліджували мокроту, яка була отримана після глибокого відкашлювання до прийому їжі та до початку проведення антибактеріальної терапії).

## 2.2 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків за методом дифузії в агар

У клінічній практиці слід використовувати ті лікувальні препарати, які найбільш активні щодо збудника захворювання. В обов'язок практичної бактеріологічної лабораторії входить визначення чутливості до лікувальних препаратів мікроорганізмів, виділених із організму хворого. На підставі визначення чутливості виділеного збудника до різних лікувальних препаратів вибирають оптимальний препарат для лікування хворого, а також розроблюють найбільш ефективну схему антибіотикотерапії [27].

При визначенні чутливості оптимальним є використання чистої культури мікроорганізмів, яку виділяють до початку антибіотикотерапії. Але в екстрених випадках для отримання орієнтовних даних допускається використання для посіву патологічний матеріал: мокротиння, кал, гній, сеча, ексудат та ін. Після виділення чистої культури мікроорганізмів дослідження повторюють.

За чутливістю до лікувальних препаратів мікроорганізми поділяють на 3 групи: чутливі, помірно стійкі й стійкі.

До чутливихвідносять ті штами мікроорганізмів, ріст яких пригнічується під дією препарату в концентрації, яка створюється в сироватці крові хворого в разі використання терапевтичних доз препарату.

До помірно стійких відносять штами мікроорганізмів, для пригнічення росту яких потрібна концентрація препарату, яку можна створити при введенні його максимально допустимих доз.

Стійкими вважають штами мікроорганізмів, ріст яких не пригнічується препаратом у концентраціях, які можна створити при використанні максимально допустимих доз.

У зв'язку з тим що ступінь чутливості мікроорганізмів, залежить від умов постановки досліду, то для отримання достовірних результатів необхідно використовувати паперові диски промислового виробництва, стандартні поживні середовища й чітко дотримуватися інструкції щодо проведення дослідження [27].

Диски з антибіотиками випускають у флаконах по (100 ± 5) штук. Диски гігроскопічні, тому у флакон вкладають силікагель — індикатор синього або блакитного кольору й шар гігроскопічної вати. За наявності вологи силікагель-індикатор змінює забарвлення до бузкового або рожевого. Диски з таких флаконів використовувати не можна. Зберігають флакони з дисками в сухому темному місці за температури не вищій ніж 10 °С. Термін зберігання вказано на етикетці. Перед використанням флакони з дисками витримують за кімнатної температури протягом 1 год.

Стандартні середовища використовують трьох типів. Середовища № 1 і № 2 подібні за складом: на 1000 мл поживного бульйону додають 15 г агару (в агарі не повинно бути надлишку Са2+і Mg2+), 3 г натрію гідрофосфату; після стерилізації рН 7,2—7,4. Ці середовища відрізняються між собою тим, що поживне середовище № 1 готують на поживному бульйоні Хоттінгера, а № 2 — на м`ясо-пептонному бульйоні (МПБ), розведеному фізіологічним розчином у відношенні 1:2.

Середовище № 3 — це сухе поживне середовище АГВ (сухе поживне середовище для визначення чутливості мікробів до антибіотиків). При його виготовленні користуються вказівками, що є на етикетці.

Для гемофільних мікроорганізмів у ці поживні середовища додають 5 % дефібринованої або гемолізованої крові. Середовище розливають по 20 мл у стерильні чашки Петрі (діаметр чашок 100 мм). Підготовлені чашки можна зберігати в холодильнику за температури 10 °С не більше ніж 7 діб. Перед посівом поверхню середовища підсушують за кімнатної температури, для цього їх витримують при злегка відкритій чашці протягом 30—40 хв.

Для посіву використовують 18—20-годинну агарову культуру бактерій або патологічний матеріал. При використанні агарової культури її спочатку змивають невеликою (4—5 мл) кількістю фізіологічного розчину натрію хлориду. Можна використати 18—20-годинну бульйонну культуру. Суспензію або бульйонну культуру розводять ізотонічним розчином натрію хлориду до густоти оптичного стандарту № 10 (1 млрд. мікроорганізмів на 1 мл суспензії), а при використанні середовища № 3 — до стандарту № 5 (500 млн. мікроорганізмів на 1 мл суспензії). Для цього суспензію чи бульйонну культуру стерильною піпеткою переносять у стерильну пробірку, яка за діаметром, товщиною стінок і кольором скла відповідає пробірці оптичного стандарту. Густоту інокулята порівнюють з густотою оптичного стандарту і в разі необхідності додають ізотонічний розчин натрію хлориду до потрібної густоти. Отриману мікробну суспензію (інокулят) розводять повторно ще в 10 разів тим самим ізотонічним розчином. Розведений інокулят в об'ємі 1—2 мл наносять піпеткою на поверхню середовища і, похитуючи чашку, рівномірно розподіляють по всій поверхні середовища; надлишок інокуляту переносять у дезінфікуючий розчин. Чашку знову підсушують за кімнатної температури протягом 10—15 хв.

За допомогою пінцета накладають диски на однаковій відстані один від одного і на відстані 2 см від краю чашки. На одну чашку — не більше 6 дисків [27].

Культивують мікроорганізми за температури 35—37 °С протягом 18—20 год.

Для контролю відтворення й точності результатів у випадку визначення чутливості при кожній постановці тесту паралельно зі штамами, які досліджуються, необхідно використовувати еталонні штами: Е. coli (ATCC 25922), S. aureus (ATCC 25923) і P. aeruginosa (ATCC 27853).

Якщо діаметри зон затримки росту еталонних штамів виходять за встановлені межі, то результати визначення чутливості будуть необ'єктивними й свідчитимуть про незадовільну якість середовищ, дисків або порушення методики постановки тесту.

Проведення посіву з метою визначення чутливості мікроорганізмів до хіміопрепаратів та антибіотиків методом дифузії в агар.

Під час роботи з живою культурою обов`язково дотримувались правил техніки безпеки!

Алгоритм "Проведення посіву з метою визначення чутливості мікроорганізмів до хіміопрепаратів та антибіотиків методом дифузії в агар"'.

поставити чашку Петрі з поживним середовищем із злегка відкритою кришкою для підсушування (на 30—40 хв), потім закрити чашку кришкою;

підготувати культуру мікроорганізмів (інокулят) до посіву;

підписати чашку Петрі (вказати назву середовища, номер аналізу, назву культури, дату посіву);

провести посів інокулята піпеткою на поживне середовище;

поставити чашку зі злегка відкритою кришкою для підсушування поверхні середовища (на 10—15 хв), потім закрити чашку кришкою;

поставити чашку донизу дном біля спиртівки;

взяти у праву руку пінцет, зафламбувати його;

взяти у ліву руку флакон з дисками, зняти з нього пробку мізинцем правої руки, зафламбувати отвір флакона;

взяти пінцетом один диск, зафламбувати отвір флакона, закрити його пробкою, поставитина стіл;

лівою рукою злегка підняти кришку чашки й покласти диск на поверхню середовища, придавити його злегка бланшами пінцета.

Чашку тримати біля полум'я на відстані не далі ніж 10 см. Пінцет фламбувати кожного разу перед тим, як узяти новий диск; при накладанні наступних дисків чашку обертати так, щоб зручно було накладати диски; дотримуватися вимог асептики [27];

накласти рівномірно інші диски;

поставити чашку в термостат догори дном.

Методика обліку результатів дослідження.

Для визначення результатів дослідження чашки ставлять догори дном на темну матову поверхню (облік у відбитому світлі) або тримають чашку проти джерела світла (облік у світлі, яке проходить крізь чашку). Лінійкою вимірюють діаметр зони затримання росту мікроорганізмів з точністю до 1 мм, включаючи діаметр дисків. Якщо в зоні затримання росту мікроорганізмів є колонії, то це свідчить про присутність сторонньої мікрофлори або гетерорезистентність окремих штамів даної культури.

Результати оцінюють за таблицею, яка знаходиться в упаковці з дисками. У таблиці зазначено межі значень діаметрів зон затримання росту мікроорганізмів для стійких, помірно стійких і чутливих штамів у міліметрах, а також значення мінімальних пригнічувальних концентрацій (МПК) антибіотиків у мікрограмах на мілілітр розчину для помірно стійких і чутливих штамів мікроорганізмів [23].

Одержані значення діаметрів зон затримання росту мікроорганізмів порівнюють із зазначеними в таблиці й відносять досліджувані штами до однієї з трьох категорій чутливості, а також визначають МПК. У відповіді вказують не розмір діаметрів зон затримання росту мікроорганізмів, а ступінь чутливості штаму мікроорганізмів до лікувальних препаратів та МПК.

## 2.3 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків методом серійних розведень

Цей метод можна виконувати із двох модифікаціях — на рідкому й на щільному поживному середовищі. Це точний кількісний метод. Його використовують у наукових дослідженнях і особливо важливих випадках у лабораторіях лікувальних і профілактичних закладів.

Для постановки досліду треба мати: чисту культуру мікроорганізмів, що досліджується, основний розчин антибіотика (32 ОД/см3), МПБ на переварі Хоттінгера, який містить 1,2— 1,4 г/дм3 амінного азоту.

Чисту культуру готували у вигляді мікробної суспензії. Для цього 18—20-годинну агарову культуру розводили ізотонічним розчином натрію хлориду до густоти оптичного стандарту № 10. Таким чином, отримали суспензію культури мікроорганізмів з концентрацією 109 клітин у 1 мл її. Потім у дві пробірки наливали по 9,9 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. У 1-шу пробірку вносили 1 мл суспензії культури мікроорганізмів, розведеної до 109 клітин в 1 мл, перемішували, отримали суспензію 107 клітин в 1 мл. Потім 1 мл суспензії 107 клітин в 1 мл переносили у 2-гу пробірку, перемішували, отримали культуру 105 клітин в 1 мл. Розводили антибіотик з основного його розчину (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

**Отримання основного розчину антибіотика**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Етапи роботи | Показники для приготування основного розчину пеніциліну | Концентрація препарату в 1 мл отриманого розчину, ОД/мл |
| 1-й | Флакон 300 000 ОД + 10 мл стерильної дистильованої води (№1) | 30 000 |
| 2-й | 0,1 мл розчину № 1 + 9,9 мл стерильної дистильованої води (№ 2) | 300 |
| 3-й | 1,6 мл розчину № 2 + 13,4 мл МПБ | 32 |

## 2.4 Проведення посіву з метою визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотика методом розведення на рідкому поживному середовищі

Алгоритм "Проведення посіву з метою визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотика методом розведення на рідкому поживному середовищі":

виготовити мікробну суспензію 105 мікробних клітин в 1 мл;

приготувати основний розчин антибіотика;

поставити в штатив 12 стерильних пробірок;

підписати пробірки: 1 — номер аналізу, номер пробірки й кількість антибіотика — 16 ОД. На всіх останніх пробірках — порядковий номер пробірки (2, 3... 10) і кількість антибіотика (8 ОД, 4 ОД і т. д.); на пробірці № 11 — "КК" (контроль культури); на пробірці № 12 — КС (контроль середовища);

внести в усі 12 пробірок по 1 мл МПБ;

внести у 1-шу пробірку 1 мл основного розчину антибіотика (32 ОД/мл), перемішати;

перенести 1 мл рідини з 1-ї пробірки в 2-гу, перемішати; 1 мл перенести з 2-ої пробірки в 3-тю й т. д. до пробірки № 10;

вилити 1 мл рідини з 10-ї пробірки в банку з дезінфекційним розчином;

Кожний інгредієнт беруть окремою піпеткою. У всіх пробірках повинен бути однаковий об'єм рідини [27];

внести у пробірки № 1 — 11 по 1 мл культури, що досліджується, у розведенні 100 000 клітин в 1 мл (105 клітин в 1 мл);

штатив з пробірками поставити в термостат на 18—24 год. (температура — 37 °С).

Методика визначення результатів дослідження.

Результати починають визначати з контрольних пробірок. В 11-й пробірці "КК" повинен бути ріст культури (помутніння середовища), у пробірці "КС" середовище повинне бути прозорим. Потім розглядають дослідні пробірки. Відзначають останню пробірку, в якій середовище залишається прозорим. Кількість антибіотика в цій пробірці і є його мінімальною дозою, здатною пригнічувати ріст мікроорганізмів. У відповіді вказують мінімальну концентрацію антибіотика, що пригнічує ріст мікроорганізмів.

Проведення посіву з метою визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків методом серійних розведень на щільному поживному середовищі.

Алгоритм "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків методом серійних розведень на щільному поживному середовищі":

виготовити мікробну суспензію 107 мікробних клітин в 1 мл;

виготовити з основного розчину двократне розведення антибіотика в 10 пробірках [23];

поставити в штатив 10 пробірок, в яких міститься по 9,9 мл розплавленого й охолодженого до 45 °С МПА; пронумеруйте їх від 1 до 10,11-та пробірка — контроль середовища;

поставити перед штативом 11 стерильних порожніх чашок Петрі, підписати на кожній чашці номер аналізу, порядковий номер і кількість антибіотика (16 ОД, 8 ОД 4 ОД і т.д.); на 11-й чашці - "КС";

вилити з 1-ї пробірки розчин антибіотика в 1-шу пробірку з агаром, перемішти, вилити у 1-шу чашку Петрі;

вилити з 2-ї пробірки розчин антибіотика в 2-гу пробірку з агаром, перемішати, вилити у 2-гу чашку Петрі і т. д., до 10;

з 11-ї пробірки вилити МПА в 11-ту чашку Петрі, витримати до охолодження МПА;

зробити бактеріологічною петлею посів культури, що досліджується (у розведенні 107 клітин мікроорганізмів и 1 мл), на 11 чашках Петрі штрихом;

поставити чашки Петрі в термостат догори дном на 16—20 год. (температура 37 °С).

Методика визначення результатів дослідження.

Урахування результатів починають з контрольної чашки, на якій повинен бути ріст культури. Потім розглядають дослідні чашки. Мінімальну пригнічувальну концентрацію антибіотика (МПК) визначають за останньою чашкою, в якій є повна затримка росту мікроорганізмів, і вказують її у відповіді.

# РОЗДІЛ 3

# ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ АНТИБІОТИКІВ

## 3.1 Дослідження ефективності застосування антибіотику лораксону та лоразидиму при обструктивних уропатіях у дітей

На сучасному етапі одним з обов'язкових компонентів в комплексному лікуванні гнійної хірургічної інфекції у дітей залишається антибактеріальна терапія. Затримка з застосуванням останньої значно підвищує ризик розвитку несприятливого виходу. Максимально більш раннє призначення антибіотиків широкого спектру дії особливо доцільно, коли мова йде про небезпеку генералізації інфекції. Саме цим визначений часто емпіричний, ще до ідентифікації виду збудника з вогнища запалення, вибір антибіотика. При госпіталізації хворого вибір антибактеріальних препаратів частіше грунтується на відомих і розповсюджених варіантах домінуючої бактеріальної чутливості при даній патології. Як показує клінічний досвід, зараз найбільш ефективними є цефалоспорини ІІІ покоління (лораксон, лоразидим). Застосування їх в якості монотерапії в максимальних вікових дозах виправдано у дітей будь-якого віку як при локальній інфекції м'яких тканин (флегмона, абсцес, лімфоаденіт), так і в якості стартової терапії при потенціально септичних станах (гострий гематогенний остеомієліт, гостра деструктивна пневмонія, перитоніт) [21]. Контролем ефективності антибактеріальної терапії служили традиційні загальноклінічні симптоми: зниження і нормалізація температури, покращення апетиту; місцеві: зменшення болю, набряку, інфільтрації, кількості гнійного виділення у вогнищі запалення; лабораторні критерії: зменшення лейкоцитозу і лейкоцитарного індексу, інтоксикації, швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ).

Серед нефроурологічної патології питома вага обструктивних уропатій у дітей сягає 10-15%. В останні роки висів Pseudomonas aeruginosa з сечі хворих складає 19%. Труднощі при проведенні антибактеріальної терапії ускладнень інфекцій сечовивідних шляхів пов'язані з порушенням уродинаміки, наявністю в сечовивідних шляхах чужорідних предметів (дренажів) в післяопераційному періоді, інвазивними діагностичними та лікувальними заходами. В цьому плані пошук нових підходів до антибактеріальної терапії дітей з обструктивними уропатіями є вельми актуальним [32]. Нами була вивчена ефективність застосування лораксону для лікування цієї патології. Під наглядом було 10 дітей у віці від 11 місяців до 5 років з обструктивним пієлонефритом обумовленим, в 7 випадках міхурово-сечовивідний рефлексом I-IІ ступеня, в 3 - обструктивним мегауретером. Всім дітям проведено обстеження, яке включало загальний аналіз сечі, крові, бактеріологічні обстеження сечі (до та після терапії). При бактеріологічному досліджені сечі виявлений широкий спектр мікроорганізмів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Мікроорганізми, виділені з сечі хворих на**

**обструктивні уропатії при надходженні до стаціонару**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Мікроорганізм | Кількість виділених культур, % | |
| До проведення лікування | Після проведення лікування |
| Pseudomonas aeruginosa | 28 | 15 |
| Enterobacter agglomerans | 16 | 12 |
| Escherichia coli | 16 | 10 |
| Citrobacter freundii | 8 | 6 |
| Proteus mirabilis | 8 | 5 |
| Staphylococcus epidermidis | 20 | 14 |
| Enterococcus faecalis | 4 | 2 |

Обстежені нами діти були розподілені на 2 групи. Першу групу склали 5 дітей, яким антибактеріальна терапія проводилась лораксоном в дозі 50-100 мг/кг внутрішньом`язево (в/м) через 24 години за 3-4 дні до оперативного втручання та протягом 4-5 днів після операції. Другу групу склали 5 дітей, яким призначались інші цефалоспорини III покоління.

В першій групі дітей вже на перший день відмічалось зниження частоти загальних симптомів: лихоманки, болів в животі, суттєво знижувалась виразність сечового синдрому [32]. На 2 добу зникнення загальних симптомів відмічено практично у всіх дітей першої групи, тоді як в другій групі ця симптоматика зникала лише на 3-4 день лікування. Нормалізація бактеріологічних аналізів сечі у хворих, які отримували лораксон також наступала раніше, ніж при використанні інших антибіотиків.

Проведені спостереження показали, що позитивна клініко-лабораторна динаміка від початку лікування лораксоном і лоразидимом відмічається при локальній інфекції на 2,5±0,5 добу і 4,8±1,2 добу при тяжкому перебігу захворювання. Тривалість повного курсу лікування визначалася індивідуально з урахуванням клініко-лабораторного моніторинга і в середньому склав від 5,3±1,2 діб при місцевій до 12,6±2,4 діб при генералізованій хірургічній інфекції. У 28% дітей, хворих на гнійну хірургічну інфекцію при її тяжкому перебігу монотерапія лораксоном або лоразидимом була посилена комбінацією з аміноглікозидами. В жодному випадку в дослідній групі хворих не було відмічено побічних реакцій.

Таким чином, використання у дітей з обструктивними уропатіями лораксона в передопераційному та післяопераційному періодах призводить до більш ранньої санації сечі, нормалізації клініко-лабораторних показників на 1-2 добу раніше, ніж при звичайній антибіотикотерапії.

## 3.2 Дослідження чутливості збудників негоспітальних пневмоній дітей до деяких антибіотиків

В дослідження включали хворих лише за умови їх добровільної згоди батьків хворих дітей віком від 3 до 7 років з метою та об'ємом запланованих обстежень, необхідністю призначення антибактеріальної терапії та можливим ризиком виникнення її побічних ефектів. Основні критерїї включення пацієнтів у дослідження: наявність клінічних та рентгенологічних ознак пневмонїї, яка виникла у них в амбулаторних умовах та мала нетяжкий перебіг, який не зумовлював необхідність в госпіталізацїї; виділення хворим мокроти, яка відповідала критеріям доцільності проведення її мікробіологічного дослідження; а також відсутність попередньої антибактеріальної терапії [25]. Діагноз негоспітальної пневмонії (НП) нетяжкого перебігу встановлювали на основі аналізу даних клінічного, рентгенологічного та лабораторних методів досліджень.

Усі обстежені були поділені на 2 групи. До складу 1-ї групи дослідження включили 25 хворих на НП з нетяжким перебігом без наявності супутньої патологи та інших «модифікуючих» факторів. До 2-ї групи увійшли 25 хворих на НП з нетяжким перебігом з наявністю супутньої патології (хронічні обструктивні захворювання легень, ниркова та серцева недостатність, цереброваскулярні захворювання, цукровий діабет, хронічні захворювання печінки різної етіології, психічні розлади, хронічний алкоголізм) та/або інших «модифікуючих» факторів.

Для виявлення основних етіологічних агентів НП досліджували мокроту, яка була отримана після глибокого відкашлювання до прийому їжі та до початку проведення антибактеріальної терапії. Доцільність подальшого проведення мікробіологічного дослідження мокроти визначали за результатами аналізу забарвленого за Грамом мазка — наявність не менше 25 лейкоцитів та не більше 10 епітеліальних клітин в полі зору (X100). Кількісну оцінку мікробної популяцїї, яка вегетує в мокроті, проводили шляхом посіву на відповідні щільні поживні середовища.

Результати дослідження мокроти вважали діагностично значущими у разі виявлення потенційного патогену в титрі не нижче 106 колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 мл [3].

При дослідженні мокроти та сироватки крові у 25 хворих 1-ї групи виділили 3 найбільш поширені штами етіопатогенів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Видовий склад та кількість етіопатогенів НП у хворих 1-ї групи**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Мікроорганізм | Кількість хворих | |
| Абс. число | % |
| Streptococcus рпеитопіае | 12 | 48 |
| Haemophilus influenzae | 7 | 28 |
| Moraxella catarrhalis | 6 | 20 |

Основним збудником НП у хворих цієї групи виступав Streptococcus рпеитопіае (у 59,2% випадків), з яких резистентними до пеніцилінів та амінопеніцилінів були 6,7% штамів, до захищених амінопеніцилінів — 4,4% (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Резистентність до антибактеріальних препаратів основних етіопатогенів НП у хворих 1-ї групи, %**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Антибіотик | Мікроорганізм | | | |
| S. рпеитопіае (n=12) | Н. influenzae  (n=7) | М. catarrhalis  (n=6) | |
| Пеніцилін | 6,7 | 16,7 | 50,0 | |
| Ампіцилін | 6,7 | 16,7 | 50,0 | |
| Карбеніцилін | 6,7 | 16,7 | 50,0 | |
| Еритроміцин | 6,7 | - | 50,0 | |
| Рифампіцин | 2,2 | 0 | 0 | |
| Цефалексин | 6,7 | 16,7 | 0 | |
| Цефазолін | 6,7 | 16,7 | 0 | |
| Цефокситин | 0 | 0 | 0 | |
| Цефуроксим | 0 | 0 | 0 | |
| Цефоперазон | 2,2 | 0 | 0 | |
| Цефотаксим | 0 | 0 | 0 | |
| Цефтазидим | 2,2 | 0 | 0 |
| Ципрофлоксацин | 4,4 | 0 | 0 |
| Офлоксацин | 4,4 | 0 | 0 |
| Норфлоксацин | - | 0 | 0 |
| Ванкоміцин | 0 | - | - |

Примітка: „-” - дослідження не проводилось

Ця стійкість зумовлена модифікацією пеніцилінзв'язуючого білка, який знаходиться в стінці клітини даного мікроорганізму. Привертає увагу наявність у цих штамів S. рпеитопіае асоційованої резистентності до макролідів та цефалоспоринів І покоління. Крім того, у 4,4% штамів S. рпеитопіае виявили стійкість до фторхінолонів II покоління. В той же час усі штами цього збудника були чутливими до фторхінолонів III покоління (левофлоксацину) [5].

Менш поширеним збудником НП у таких хворих була Haemophilus influenzae — 7,9% випадків. Резистентними до пеніцилінів, амінопеніцилінів, цефалоспоринів І покоління та гентаміцину були 16,7% штамів цього збудника. У 2,6% пацієнтів НП була зумовлена Moraxella catarrhalis. Резистентними до пеніцилінів, амінопеніцилінів, еритроміцину та гентаміцину були 50,0% виділених штамів.

Основним механізмом резистентності виділених штамів Н. influenzae та М. catarrhalis до β-лактамних антибіотиків є вироблення β-лактамаз. Наведені результати дослідження свідчать, що S. рпеитопіае та Н. influenzae зберегли клінічно значущу природну чутливість до більшості антибіотиків.

Досить актуальною є поширеність атипових збудників, які у 27,6% пацієнтів зумовили виникнення НП: Мycoplasma рпеитопіае — у 17,1% і Сhlamydophila рпеитопіае — у 10,5%. Слід відмітити, що у 4 пацієнтів виявили поєднання S. рпеитопіае з М. рпеитопіае, у 3 — Н. influenzae з М. рпеитопіае.

При дослідженні мокроти та сироватки крові у 25 хворих 2-ї групи виділили 94 штами етіопатогенів. Основним збудником НП у хворих цієї групи також виступав S. рпеитопіае (у 33,3 % випадків) (табл. 3.4), з яких резистентними до пеніцилінів, амінопеніцилінів та захищених амінопеніцилінів були 6,4% виділених штамів за рахунок модифікації пеніцилінзв'язуючого білка в стінці клітини даного мікроорганізму (табл. 3.5). Як і у пацієнтів попередньої групи, виявили асоційовану резистентність S. рпеитопіае до макролідів та цефалоспоринів І та II покоління, а також у 4,3% штамів — до фторхінолонів II покоління. В той же час усі штами цього збудника були чутливими до фторхінолонів III покоління (левофлоксацину).

Таблиця 3.4

**Видовий склад та кількість етіопатогенів НП у хворих 2-ї групи**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Мікроорганізм | Кількість хворих | |
| Абс. число | % |
| S. рпеитопіае | 10 | 33,3 |
| Н. influenzae | 8 | 30 |
| М. catarrhalis | 2 | 10 |
| Е. соlі | 3 | 16,7 |
| М. рпеитопіае | 2 | 10 |

Таблиця 3.5

**Резистентність до антибактеріальних препаратів основних етіопатогенів НП у хворих 2-ї групи, %**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Антибіотик | Мікроорганізм | | | | |
| S. рпеитопіае (n=10) | Н. influenzae  (n = 9) | М. catarrhalis (n=3) | М. рпеитопіае (n=3) | Е. соlі (n=5) |
| Пеніцилін | 6,4 | 5,3 | 50,0 | — | 60,0 |
| Ампіцилін | 6,4 | 5,3 | 50,0 | 50,0 | 40,0 |
| Карбеніцилін | 6,4 | 5,3 | 50,0 | 50,0 | 40,0 |

Продовження таблиці 3.5

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Еритроміцин | 4,3 | — | 0 | — | — |
| Рифампіцин | 2,1 | 0 | 0 | 50,0 | 20,0 |
| Цефалексин | 6,4 | 5,3 | 50,0 | — | — |
| Цефазолін | 6,4 | 5,3 | 0 | — | — |
| Цефокситин | 2,1 | 0 | 0 | 50,0 | 20,0 |
| Цефуроксим | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Цефаперазон | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Цефотаксим | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Цефтазидим | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ципрофлоксацин | 4,3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Офлоксацин | 4,3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Норфлоксацин | — | 0 | — | — | — |
| Ванкоміцин | 0 | — | — | — | — |

Більше значення у виникненні НП у хворих 2-ї групи мала Н. influenzae, яку виявили у 30 % випадків. Резистентними до пеніцилінів, аміно-пеніцилінів та цефалоспоринів І покоління були 5,3% штамів цього збудника.

У 10 % пацієнтів НП була зумовлена М. catarrhalis. Резистентними до пеніцилінів, аміно-пеніцилінів та цефалоспоринів І покоління були 50,0% виділених штамів. На такому ж рівні була поширеність та антибіотикорезистентність штамів М. рпеитопіае, які виділили у пацієнтів цієї групи [15].

Дещо більшою була поширеність Е. соlі — 16,7 % випадків, які мали клінічно значущий рівень резистентності (60—40%) до пеніцилінів, амінопеніцилінів та хлорамфеніколу, однак меншою мірою — до рифампіцину та цефалоспоринів II покоління.

Основним механізмом резистентності виділених штамів Н. influenzae, M. catarrhalis, М. рпеитопіае та Е. соlі до β-лактамних антибіотиків є продукція β-лактамаз.

Наведені результати дослідження свідчать, що S. рпеитопіае та Н. influenzae зберегли клінічно значущу природну чутливість до антибіотиків.

Таким чином, у хворих на НП з нетяжким перебігом, що не потребують госпіталізації, основним збудником залишається S. рпеитопіае, який викликає захворювання більше, ніж в 50% випадків, і зберігає високий (більше 90%) рівень чутливості до β-лактамів та макролідів.

# РОЗДІЛ 4

# ВИКОРИСТАННЯ ВІДОМОСТЕЙ ПРО АНТИБІОТИКИ В ШКІЛЬНОМУ КУРСІ БІОЛОГІЇ

# 4.1 Методичні рекомендації щодо проведення уроку-семінару на тему: „Хвороби людини, які викликаються вірусами” в 11-ому класі

Мета: освітня: формування системи біологічних понять, визначених даною темою, формування вмінь, розглянути особливості виникнення та механізм перебігу захворювань органів дихання, детально проаналізувати особливості протікання негоспітальної пневмонії та уропатій, користуватися образотворчими засобами наочності, користування оптичними приладами і лабораторним обладнанням, вміння екранними посібниками, таблицями.

виховна: продовжити формувати науковий світогляд на основі знань про особливості дихальної системи, взаємозв`язок будови та функцій, вплив навколишнього середовища на виникнення та перебіг захворювань органів дихання, особливості лікування, сприяти санітарно-гігієнічному вихованню учнів.

розвиваюча: пов`язані з формуванням і розвитком у процесі вивчення даного розділу особистих якостей учнів: тренування пам`яті, розвиток вмінь для здійснення таких розумових операцій, як аналіз, синтез, порівняння, зіставлення, виділення головного, другорядного, узагальнення, висновки.

Поняття і терміни: інфекційні захворювання, органи дихання, негоспітальна пневмонія, обструктивні уропатії.

Обладнання та матеріали: таблиці, ілюстрації.

Література: 2, 6, 12, 14.

Час проведення: 90 хв.

Хід заняття.

І. Попередня підготовка за темами: „Негоспітальна пневмонія”, „Обструктивні уропатії”.

ІІ. Оголошення теми та завдань семінару.

ІІІ. Організація роботи над питаннями семінару у робочих групах.

Кожна група отримує завдання обговорити попередньо підготовлену інформацію до теми.

ІV. Фронтальне обговорення проблематики семінару за результатами роботи робочих груп.

Негоспітальна пневмонія

Статист (1-й учень). В Україні в 2003-2007 рр. захворюваність дорослих на пневмонію складала 4,3-4,7 на 1 000 населення, а смертність – 10,0-13,3 на 100 тис. населення, тобто померли 2-3% з тих, хто захворів на пневмонію. За даними офіційної статистики, в 2001 р. у Росії серед осіб віком 18 років та старше було зареєстровано 440 049 випадків пневмонії (3,9 на 1000). Однак ці показники не відображають рівень справжньої захворюваності. Так, згідно з результатами зарубіжних епідеміологічних досліджень захворюваність дорослих (18 років та старше) на негоспітальну пневмонію (НП) коливається в широкому діапазоні: від 1-11,6 випадку на 1 000 осіб молодого та середнього віку і до 25-44 – на 1 000 осіб старших вікових груп (65 років та старше). У США щорічно реєструють 3-4 млн. хворих на НП, з яких близько 900 тис. госпіталізують. З числа останніх безпосередньо від НП щорічно помирають більше 60 тис. осіб. Протягом року загальна кількість дорослих хворих (18 років та старше) на НПУ в 5 країнах Європи (Великобританія, Франція, Італія, Німеччина, Іспанія) перевищує 3 млн. осіб. При НП найнижчу летальність (1-3%) реєструють в осіб молодого та середнього віку без супутніх захворювань. В осіб старших вікових груп за наявності супутніх захворювань (хронічні обструктивні захворювання легень, злоякісні новоутворення, алкоголізм, цукровий діабет, захворювання нирок та печінки, серцево-судинні захворювання та ін.), а також у випадку тяжкого перебігу НП цей показник досягає 15-30%.

В Україні в 2006 р. термін непрaцездатності внаслідок пневмонії становив 13,1 дня на 100 працюючих, в середньому – 19,5 дня на 1 прaцюючого. В США пневмонія призводить до щорічної втрати більше 150 млн. робочих днів, а загальні витрати на лікування хворих становлять понад 10 млрд. доларів.

Одними з основних та найавторитетніших джерел інформації для лікарів з питань діагностики та лікування хворих на НП є клінічні рекомендації (консенсуси), підготовлені провідними спеціалістами за результатами проспективних рандомізованих порівняльних, належно контрольованих досліджень з урахуванням постулатів доказової медицини. На жаль, проведення досліджень такого рівня в Україні поки що утруднене через наявну економічну ситуацію. Тому слід враховувати, в першу чергу, дані, які отримані в сусідніх країнах з подібною до нашої системою охорони здоров'я.

Розроблені клінічні рекомендації підлягають уточненню, як правило, кожні 3-5 років. Це в повній мірі стосується і рекомендацій щодо діагностики та лікування хворих на НП, що були прийняті в Україні в 1998 р. (Наказ МОЗ України № 311 від 30.12.1999 р., «lнструкція про діагностику, клінічну класифікацію та лікування пневмонії»). За минулі 5 років відбулися деякі зміни уявлень про це захворювання та його лікування, а саме:

– поглибились знання з питань епідеміології респіраторних інфекцій, з'явились нові методи діагностики, переосмислені значення та місце традиційних методів дослідження хворих на НП;

– отримані численні дані щодо підвищення резистентності до антибіотиків основних респіраторних патогенів;

– розроблені та широко застосовуються критерії оцінки факторів ризику несприятливого перебігу НП у дорослих;

– стали доступними нові антибіотики, насамперед «респіраторні» фторхінолони.

Лікар (2-й учень). Пневмонія – гостре інфекційне захворювання, переважно бактеріальної етіології, яке характеризується вогнищевим ураженням респіраторних відділів легень та наявністю внутрішньо-альвеолярної ексудації.

Оскільки пневмонія, за визначенням, є гострим інфекційним захворюванням, вживання означення «гостра» в діагнозі «пневмонія» є зайвим, тим більше, що термін «хронічна пневмонія» не використовується.

У Міжнародній класифікації хвороб, травм та причин смерті ІХ (1975) та Х (1992) перегляду пневмонія чітко відокремлена від інших вогнищевих запальних захворювань легень неінфекційного походження. Так, із рубрики «Пневмонія» вилучені захворювання, які зумовлені фізичними (променевий пневмоніт) чи хімічними («бензинова пневмонія») факторами або ж мають алергічне (гіперсенситивний пневмоніт, «еозинофільна пневмонія») чи судинне (інфаркт легені внаслідок тромбоемболії гілок легеневої артерії) походження. З цієї ж рубрики вилучені також запальні процеси в легенях, спричинені облігатними патoгенами бактеріальної або вірусної природи, – їх розглядають у рамках відповідних нозологічних форм (Курикетсіоз, чума, черевний тиф, кір та ін.).

Класифікація пневмонії, яка найбільш повно відображає особливості її перебігу та дозволяє вибрати етіотропну терапію, безумовно, повинна грунтуватись на етіологічному принципі. Однак на практиці своєчасна етіологічна діагностика пневмонії ускладнена через недостатню інформативність та значну тривалість традиційних мікробіологічних досліджень.

У багатьох країнах світу, в тому числі й в Україні, використовують класифікацію, що враховує умови виникнення захворювання, особливості інфікування тканини легень, а також стан імунної реактивності організму хворого. Це дозволяє з досить високим ступенем імовірності передбачити можливого збудника захворювання. За цією класифікацією виділяють такі види пневмонії:

– негоспітальна (позалікарняна, розповсюджена, амбулаторна) – пневмонія, що виникла поза лікувальним закладом;

– нозокоміальна (госпітальна) – пневмонія, що виникла через 48 год і пізніше після госпіталізації хворого до стаціонару за відсутності будь-якого інфекційного захворювання в інкубаційний період на час госпіталізації хворого;

– аспіраційна;

– пневмонія в осіб з тяжкими порушеннями імунітету (природжений імунодефіцит, ВІЛ-інфекція, ятрогенна імуносупресія).

Найбільше практичне значення має поділ пневмонії на негоспітальну (набуту поза лікувальним закладом) та нозокоміальну (набуту в лікувальному закладі). Такий поділ не пов'язаний із тяжкістю перебігу захворювання, а основним та єдиним критерієм розподілу є те оточення, в якому розвинулася пневмонія. Крім того, залежно від тяжкості розрізняють пневмонії легкого, середньо-тяжкого та тяжкого перебігу. Однак досі не вироблено чітких критеріїв щодо розподілу пневмонії легкого та середньо-тяжкого перебігу. Оскільки обсяг діагностичних та лікувальних заходів при пневмонії такого ступеня тяжкості майже однаковий, доцільно об’єднати їх в одну групу – пневмонію з нетяжким перебігом. Ознаки тяжкого перебігу НП, які мають вирішальне значення у виборі місця лікування хворого, обсягу діагностичних досліджень та тактики антимікробної терапії, наведені далі.

Інфекціоніст (3-й учень). Етіопатогенез пневмонії. Протиінфекційний захист нижніх дихальних шляхів здійснюється за допомогою механічних факторів (аеродинамічна фільтрація, розгалуження бронхів, надгортанник, кашель та чихання, коливальний рух війок миготливого епітелію слизової оболонки бронхів), а також механізмів неспецифічного та специфічного клітинного і гуморального імунітету. Причинами розвитку запальної реакції в респіраторних відділах легень можуть бути як зниження ефективності захисних механізмів макроорганізму, так і масивність дози мікроорганізмів та/або їх підвищена вірулентність.

Виділяють чотири шляхи інфікування, які з різною частотою зумовлюють розвиток пневмонії:

– аспірація вмісту ротоглотки;

– вдихання аерозолю, що містить мікроорганізми;

– гематогенне поширення мікроорганізмів з позалегеневого вогнища інфекції (ендокардит з ураженням тристулкового клапана, септичний тромбофлебіт вен таза);

– безпосереднє поширення інфекції з уражених тканин сусідніх органів (наприклад, абсцес печінки) або внаслідок інфікування під час проникних поранень грудної клітки.

Аспірація вмісту ротоглотки – основний шлях інфікування респіраторних відділів легень при НП. За нормальних умов ряд мікроорганізмів, наприклад Streptococcus рnеumonіае, можуть колонізувати ротоглотку, але нижні дихальні шляхи залишаються при цьому стерильними. Мікроаспірація вмісту ротоглотки – фізіологічний феномен, який відбувається у 40-70% здорових осіб під час сну. Однак кашльовий рефлекс, відрегульований механізм мукоциліарного кліренсу, антибактеріальна активність альвеолярних макрофагів та секреторних імуноглобулінів забезпечують елімінацію інфікованого секрету з нижніх дихальних шляхів та їхню стерильність. У разі порушення цих механізмів «самоочищення» трахеобронхіального дерева, наприклад при респіраторній вірусній інфекції, коли порушується функція війок епітелію бронхів та знижується фагоцитарна активність альвеолярних макрофагів, створюються сприятливі умови для розвитку пневмонії. В окремих випадках самостійним патогенетичним фактором можуть бути масивність дози мікроорганізмів або проникнення до респіраторних відділів легень навіть поодиноких високовірулентних мікроорганізмів, стійких до дії захисних механізмів макроорганізму, що також призводить до розвитку пневмонії. Інгаляція аерозолю, який містить мікроорганізми, – менш поширений механізм розвитку пневмонії і має основне значення при інфікуванні облігатними мікроорганізмами, наприклад Legionella spp.

Ще менше значення (за частотою виявлення) мають гематогенне (наприклад, Staphylococcus spp.) та безпосереднє поширення збудника з вогнища інфекції.

У сучасних рекомендаціях по лікуванню хворих на НП підкреслюється бажаність встановлення етіологічного діагнозу для обгpунтування призначення етіотропної терапії, що суттєво підвищує вимоги до рівня мікробіологічного дослідження клінічного матеріалу, отриманого у хворих. Однак майже у 50% пацієнтів навіть за умови використання всіх можливих методів дослідження не вдається визначити етіологію захворювання (з урахуванням атипових, вірусних та анаеробних збудників). Це зумовлено як відсутністю доступного тесту, за допомогою якого можна ідентифікувати всі потенційні збудники захворювання, так і наявністю обмежень у кожного із застосованих тестів. Наприклад, для виявлення більшості мікроорганізмів використовують методи бактеріоскопії пофарбованого за Грамом мазка мокротиння та посів мокротиння на відповідні живильні середовища. Однак ці тести не придатні для виявлення Mycoplasma рnеumоnіае, Chlamydophyla (Chlamydia) рnеumоnіае, Legionella spp. та деяких інших збудників. Крім того, необхідно враховувати можливу наявність змішаної інфекції, а саме поєднання типових бактеріальних (наприклад, Streptococcus рnеumоnіае) та атипових збудників (Mycoplasma рnеumоnіае, Chlamydophyla рnеumоnіае, Legionella spp.), що спостерігається в 10-40% випадків.

З урахуванням наведених особливостей патогенезу пневмонії очевидно, що її етіологія пов'язана з мікрофлорою верхніх дихальних шляхів. Серед численних видів мікроорганізмів, які колонізують верхні дихальні шляхи, тільки деякі (з підвищеною вірулентністю) здатні у разі проникнення до респіраторних відділів легень зумовлювати розвиток запальної реакції навіть при мінімальних порушеннях захисних механізмів. Залежність видового складу мікрофлори верхніх дихальних шляхів від характеру навколишнього середовища, в якому перебуває індивід, його віку та загального стану здоров'я дає можливість прогнозувати етіологію пневмонії.

Склад збудників НП має деякі відмінності у пацієнтів залежно від тяжкості перебігу захворювання та відповідно від необхідного місця проведення лікування – амбулаторно чи в умовах стаціонару (терапевтичне відділення або відділення реанімації та інтенсивної терапії – ВРІТ).

У пацієнтів з НП нетяжкого перебігу, які не потребують госпіталізації, етіологія захворювання вивчена недостатньо через незначну кількість відповідних досліджень. У хворих цієї категорії частота етіологічно неверифікованої пневмонії становить 40-50%. При засіві мокротиння частіше (у 9-36% випадків) виявляють Streptococcus рnеumоnіае. Однак результати серологічних досліджень свідчать про суттєве значення Mycoplasma рnеumоnіае (в 13-37% випадків) та Chlamydophyla рnеumоnіае (до 17%). В 5-10% випадків збудником НП є Haemophilus influenzae, в 0,4-2,8% – Legionella spp., у 0,2-1,3%– грамнегативні ентеробактерії, в 10-13% – віруси.

У 20-70% хворих на НП, які потребують госпіталізації у відділення терапевтичного профілю, не вдається визначити збудників захворювання. За даними позитивних результатів мікробіологічного дослідження, домінуючим патогеном є Streptococcus рnеumоnіае (у 11-39% випадків), рідше визначають Haemophilus influenzae (у 4,0-9,5%), Legionella spp. (у 3,6-7,5%), Моrахеllа (Branhamella) catarrhalis (у 1,2-3,1%), Staphylococcus aureus (у 0,8-3,8%), грамнегативні ентеробактерії (у 1,0-5,3%), Mycoplasma рnеumоnіае (у 4,1-14,6%), Chlamydophyla рnеumоnіае (у 3,1-13,1%) та віруси (у 8,9-12,8%).

Основними збудниками НП тяжкого перебігу, яка загрожує життю пацієнта та є показанням для госпіталізації у ВРІТ, є Streptococcus рnеumоnіае (у 21-22% випадків), Legionella spp. (у 5,5-17,8%), Haemophilus influenzae (у 3,8-5,3%), Staphylococcus aureus (у 7,0-8,7%), грамнегативні ентеробактерії (у 1,6-8,6%), Mycoplasma рnеumоnіае (у 2,0-2,7%) та віруси (у 4,0-9,7%). За наявності у пацієнтів з НП тяжкого перебігу специфічних факторів ризику, наприклад бронхоектазів, серед потенційних збудників може бути Pseudomonas aeruginosa. Однак в 50-60% випадків етіологія НП з тяжким перебігом залишається невстановленою.

Фармацевт (4-й учень). Антибіотикорезистентність основних збудників НП. В останні роки в усіх країнах світу відзначено підвищення резистентності Streptococcus рnеumоnіае. Haemophilus influenzae та Моrахеllа catarrhalis до антибактеріальних препаратів, причому досить часто вони є мультирезистентними, тобто стійкими до антибіотиків трьох класів і більше. Встановлені як загальні, так і регіональні тенденції розвитку антибіотикорезистентності, які слід враховувати при розробленні стратегії і тактики лікування хворих на НП. На жаль, в Україні на сьогодні відсутні достовірні дані щодо антибактеріальної стійкості цих патогенів, тому доцільно враховувати результати досліджень, проведених в інших країнах, у першу чергу в Росії, Чехії, Словаччині та Польщі.

Особливе занепокоєння спеціалістів викликає підвищення резистентності Streptococcus рnеumоnіае до пеніциліну, оскільки такі штами досить часто можуть бути стійкими і до багатьох інших антибактеріальних препаратів. Основний механізм резистентності Streptococcus рnеumоnіае до пеніциліну пов'язаний з появою мутантної ДНК у генах, що кодують пеніцилінзв'язувальні білки (ПЗБ). Модифікація ПЗБ може призводити до розвитку резистентності не тільки до пеніцилінів, а й до інших β-лактамних антибіотиків, наприклад цефалоспоринів. У ряді випадків спостерігається перехресна резистентність між цими групами антибіотиків. Поширеність резистентних пневмококів до антибактеріальних препаратів суттєво відрізняється в різних країнах і навіть у межах однієї країни. За сукупними даними, отриманими в Alexander Pгoject у 2001 р., найбільш високі показники стійкості Streptococcus рnеumоnіае до пеніциліну були виявлені у Гонконгу. При цьому 6% штамів мали проміжний (МПК від 0,1 до 1 мг/л), 73,8% – високий (МПК і 2 мг/л) рівень резистентності. В інших регіонах Азії також відзначали досить високі показники стійкості пневмокока до пеніциліну: в Японії 23,6 та 39,9% штамів були відповідно помірнорезистентними та резистентними, в Сінгапурі – 16,5 та 36,1%, у Саудівській Аравії – 44 та 17,9%.

В Європі найбільш високі рівні резистентності Streptococcus рnеumоnіае до пеніциліну були зареєстровані у Франції (17,2% помірностійких та 45,3% резистентних штамів), Іспанії (9,9 та 37,4% відповідно), Словаччині (15,5 та 15,5% відповідно) та Польщі (5 та 17,2% відповідно). Однак у Чехії стійкість Streptococcus рnеumоnіае до пеніциліну була невисокою (відповідно 1 та 2%). У Росії резистентність Streptococcus рnеumоnіае до β-лактамних антибіотиків, за даними дослідження ПеГАС-І (2005), також не є суттєвою проблемою. Лише 9% штамів збудника були нечутливими до пеніциліну, з яких 7% – помірнорезистентними та 2% – високорезистентними. Чутливість Streptococcus рnеumоnіае до амоксициліну та амоксициліну/клавуланової кислоти становила 99,5%.

Резистентність Streptococcus рnеumоnіае до макролідів, за даними Alexander Project (2001), коливалася від 0,5% у Кенії до 82,2% у Гонконгу. В Європі такі штами виявлені в Чехії в 2%, у Польщі – в 6,7%, у Словаччині – в 11,3%, в Іспанії – в 57,1% і у Франції в 58,1% випадків. За даними дослідження ПеГАС-I (2005), в Росії резистентність цього збудника до макролідних антибіотиків становила 4,4-4,6%, при цьому від 39,1 до 43,5% штамів пневмокока з проміжним рівнем стійкості до пеніциліну були резистентними до макролідів. У Канаді серед штамів Streptococcus рnеumоnіае, чутливих до пеніциліну, резистентність до макролідів становила 4,7%, а серед стійких до пеніциліну – 14,7%, у США – 6,1 та 78,1% відповідно.

Основний механізм резистентності Haemophilus influenzae до β-лактамних антибіотиків полягає в продукуванні β-лактамаз, які гідролізують амінопеніциліни та цефалоспорини І покоління. Решта β-лактамних антибіотиків, як правило, зберігають високу активність по відношенню до цього збудника. За даними дослідження PROTEKT, проведеного в 20 країнах світу в 2001-2006 рр., у середньому 10-15% штамів Haemophilus influenzae продукують β-лактамази. Найбільш високі рівні β-лактамазопозитивних штамів цього збудника були виявлені в Північній Америці (28,7%), Мексиці (23,7%), Саудівській Аравії (24,7%), Сінгапурі (24%), Гонконгу (20%). У той же час у Бразилії висівали 18,6% β-лактамазопозитивних штамів Haemophilus influenzae, у Кенії – 13,5%, у Південній Африці – 7%, в Японії – 8%, а в Європі – 12,3%. На європейському континенті поширеність β-лактамазопродукуючих штамів Haemophilus influenzae коливається в широких межах: від 41,6% у Франції до 0,3% в Росії.

Моrахеllа catarrhalis

На сьогодні встановлено, що 90-100% штамів Моrахеllа catarrhalis продукують β-лактамази, які зумовлюють гідроліз природних і незахищених напівсинтетичних пеніцилінів, а також цефалоспоринів І покоління. Резистентність до макролідів виявляють украй рідко.

Обструктивні уропатії

Терапевт (1-й учень). Обструктивні уропатії – група урологічних захворювань, які супроводжуються порушенням відтоку сечі та підвищенням внутрішньомисочкового тиску, розширенням чашечково-мисочкового сегмента, розвитком вторинного пієлонефриту з поступовою атрофією ниркової паренхіми.

Обструкція сечових шляхів може мати:

– функціональний характер при:

• нейрогенних розладах сечопуску

• міхурово-сечовідному рефлюксі

• вроджених нервово-м’язових дефектах мисково-сечовідного з’єднання, сечоводів, сечового міхура

– органічний характер при:

• аномаліях сечової системи (синдром Фралея, гідронефроз, уретерогідронефроз, мегауретер)

• інтраміхурових обструкціях (контрактура шийки сечового міхура, клапани, дивертикули, стеноз сечовипускного каналу)

• у результаті травм

• при стисненні пухлинами, конкрементами.

Обструктивні уропатії (ОУ), зважаючи на різноманітність причин, що їх зумовлюють, належать до патологічних станів, які найчастіше зустрічаються в урологічній практиці.

Основним проявом обструкції того чи іншого відділу верхніх сечовидільних шляхів є формування гідронефрозу (ГН). Частота зустрі-чальності ГН становить до 7% серед урологічних стаціонарних хворих. З них майже половина випадків є уродженими, що діагностуються в дитячому віці. Серед дорослого населення найчастіше хворіють особи працездатного віку — 18 — 45 років. За останнє десятиріччя серед причин нефректомій ГН перемістився з 3-го на 4-те місце, складаючи 9,7 % випадків.

Лікар-діагност (2-й учень). Для діагностики ОУ все ширше використовують ультразвукове дослідження (УЗД), яке приваблює своєю неінвазивністю та відсутністю променевого навантаження на пацієнта. Це дає можливість застосовувати сонографію серед таких контингентів населення, як діти, вагітні жінки, потерпілі від катастрофи на ЧАЕС, особи похилого віку. Чутливість методу у визначенні наявності обструкції становить 84,0— 91,8 %, специфічність — 85,0—92,8 %. При зіставленні результатів УЗД й інших методів виявлено пряму кореляцію з даними оглядової, екскреторної та ретроградної урографій, діуретичної радіоізотопної ренографії.

Однією з важливих діагностичних ознак присутності обструкції є розширення збиральної системи нирки, тобто той чи інший ступінь гідронефрозу. В літературі зустрічаються різні погляди на те, який стан збиральної системи нирки при УЗД вважати нормальним, а який — дилатацією чашково-мискової системи (ЧМС). На думку одних авторів, най-вірогіднішою ознакою дилатації є стан, при якому передньозадній розмір ниркової миски перевищує 2,5 см. Інші науковці вважають ознакою ГН такий стан, при якому розширені миска і чашки, а також визначається їх злиття.

Отже, УЗД з використанням допплерометрії посідає одне з важливих місць у діагностиці ОУ. Як видно з численних джерел, сонографіядозволяє визначити не тільки структурний стан нирок і сечоводів, але й провести додаткові дослідження ниркових судин, оцінити ева-куаторну спроможність верхніх сечовидільних шляхів. Необхідно віддавати перевагу комплексному дослідженню, що охоплює оцінку структури нирок та змін судинної архітектоніки і гемодинаміки з одночасною оцінкою пасажу сечі верхніми сечовидільними шляхами. Це допомагає докладно вивчити структурно-функціональний стан верхніх сечовидільних шляхів, визначити компенсаторні можливості ураженої та контралатеральної нирок, тим самим одержати більш цілісну картину захворювання. Такий підхід, на наш погляд, сприяє правильному та своєчасному вибору оперативної чи консервативної лікувальної тактики, в ряді випадків дозволяє зберегти повноцінну функцію нирки.

Нефролог (3-й учень). При порушенні відтоку сечі утворюються передумови для приєднання інфекції, що ускладнює перебіг основного процесу. У перебігу запального процесу автор виділяє 4 фази, що розвиваються послідовно залежно від стадії морфологічних змін структури нирок. Окремо виділена 0-фаза — реактивна, яка характеризує реакцію нирки (як і інших паренхіматозних органів) у відповідь на будь-яку інфекцію. Вона визначається тим чи іншим ступенем підвищення ехогенності паренхіми, пов'язаним з інтерстиціальною інфільтрацією: 1-ша фаза — інфільтративна, відповідає гострому серозному пієлонефритові та зумовлена набряком проміжної тканини і лейкоцитарною інфільтрацією. Ехографічно ця фаза проявляється поєднанням транзиторної гетерогенності та підвищення ехогенності паренхіми, зниженням диференцировки пірамід, стовщенням стінок миски та чашок; 2-га фаза — ексудативна — виникнення дрібних гіпоехогенних ділянок (зон гнійної інфільтрації) з тенденцією до їх росту і злиття; 3-тя фаза — гнійно-деструктивна — виявлення зон гнійного роз-плавлення у вигляді анехогенних осередків, відповідних апостемі, карбункулу, абсцесу або екстравазату сечі. Репаративна 4-та фаза характеризується припиненням розвитку та поступовим регресом патологічних змін.

Значним контингентом пацієнтів з обструктивними уропатіями є вагітні. Частота захворювань сечовидільної системи, що призводять до розвитку ГН під час вагітності, досить висока. За даними різних авторів, частота зустрі-чальності пієлонефриту у вагітних становить 11 %, сечокам'яної хвороби — 0,3—0,8 %. Дещо рідше виявляються вади розвитку нирок і верхніх сечовидільних шляхів. Дослідники, які вивчали ренальну гемодинаміку під час нормального перебігу вагітності, вказують на відсутність достатньої різниці у них IR із встановленим у аналогічного контингенту здорових невагітних жінок.

Підсумки уроку.

1. В ході проведення уроку-семінару ми детально познайомилися з особливостями перебігу таких захворювань як негоспітальна пневмонія та обструктивні уропатії.

2. З`ясували, що в процесі лікування захворювань, викликаних вірусами найбільш ефективними являються цефалоспорини ІІІ покоління.

## 4.2 Методичні розробки уроку на тему „Основні напрямки сучасної біотехнології” для учнів 11-тих класів

Мета: освітня:формування системи біологічних понять, визначених даною темою, формування вмінь, розглянути особливості використання методів біотехнології, значення біотехнології для сучасного розвитку наукової діяльності, користування оптичними приладами і лабораторним обладнанням, вміння користуватися дошкою, зошитом, робота з підручником та таблицями.

виховна:продовжити формувати науковий світогляд на основі знань про напрямки сучасної біотехнології, особливості застосування біотехнології у виробництві медичних препаратів, можливість використання методів біотехнології в генній інженерії.

розвиваюча:пов`язані з формуванням і розвитком у процесі вивчення даного розділу особистих якостей учнів: тренування пам`яті, розвиток вмінь для здійснення таких розумових операцій, як аналіз, синтез, порівняння, зіставлення, виділення головного, другорядного, узагальнення, висновки.

Література: 11, 24.

Базові поняття і терміни:біотехнологія, генна інженерія, плаз-міди, клітинна інженерія, культура клітин, клон, клону-вання організмів.

Обладнання та матеріали:таблиці зі схемами введення гена до молекули ДНК бактеріальної клітини, методики клонування шпорцевої жаби.

Концепція уроку**:** спочатку показати традиційні методи використання мікроорганізмів у господарській діяльності людини, а потім підвести до розуміння сучасних біотехнологіч-них методів, розглянути моральні проблеми, що постають перед дослідниками, які займаються генетичною та клітинною інженерією.

**Структура і зміст уроку**

**I.** **Актуалізація опорних знань і мотивація навчальної діяльності**

**Запитання** до **учнів.**

1) Що ви знаєте про виробництво: а) хліба, сиру, вина, молочнокислих продуктів; б) антибіотиків?

2) Який зміст ви вкладаєте в слова «генна інженерія»?

3) Що ви чули про клонування?

**II.** **Сприйняття та усвідомлення учнями нових знань**

**Розповідь учителя.**

Досягнення біотехнології та її основні напрямки

Поява нових методів досліджень у генетиці призвела до створення принципово нових методів селекції. Раніше генетичне різноманіття форм рослин і тварин (а це вихідний матеріал для селекції) експериментально створювалося методами гібридизації, поліплоїдії, мутагенезу. Тепер учені можуть досягати ще більшого різноманіття завдяки маніпулюванню окремими клітинами живого організму, окремими хромосомами й окремими генами. З'явилися нові напрямки сучасної генетики: клітинна інженерія, хромосомна інженерія й генна інженерія. Принципова відмінність нових методів від традиційно використовуваних у селекції полягає в цілеспрямованому, а не випадковому розширенні меж мінливості генотипу, у планованому різноманітті вихідного матеріалу для селекції. Треба зазначити, що ці методи більше застосовуються поки що в селекції рослин.

Клітинна інженерія пов'язана з культивуванням окремих клітин або тканин на спеціальних штучних середовищах. Виявилося, що окремі рослинні клітини (на відміну від клітин,тварин) у таких штучних умовах мають тотипотентність, тобто здатні до регенерації (формування) повноцінних рослин. Ця здатність була використана для селекції.

Хромосомна інженерія пов'язана з можливостями заміщення окремих хромосом у рослин або додавання нових. Отримані таким шляхом форми називаються заміщеними лініями, або доповненими лініями.

Під генною інженерією зазвичай розуміють штучне перенесення потрібних генів від одного виду зайвих організмів (бактерій, тварин, рослин) в інший вид, часто дуже далекий за своїм походженням. Щоб здійснити перенесення генів (або трансгенез), необхідно виконати такі складні операції:

а) виділення з клітин бактерій, -тварин або рослин тих генів, які иамічезд для перенесення. Іноді цю операцію замінюють штучним синтезом потрібних генів, якщо такий виявляється можливим;

б) створення спеціальних генетичних конструкцій (векторів), у складі яких намічені гени будуть пересаджуватися в геном іншого виду. Такі конструкції, крім самого гена, повинні містити все необхідне для керування його роботою (промотори, термінатори) і гени-«репортери», які будуть повідомляти, що перенесення успішно здійснене;

в) інтеграція генетичних векторів спочатку в клітину, а потім . у геном іншого виду і вирощування змінених клітин у цілі організми (регенерація).

Рослини й тварини, геном яких змінений у результаті таких генно-інженерних операцій, одержали назву трансгенних рослин або тварин.

**ІІІ. Узагальнення, систематизація й контроль знань і вмінь учнів**

Фронтальна бесіда за питаннями:

1) Яким чином можуть бути використані біотехнологічні процеси?

2) На чому засновані методи біологічної оцінки стічних вод?

3) Як називається прикладна галузь молекулярної біології, що розробляв методи перебудови геномів організмів шляхом видалення або введення окремих генів чи їх груп?

4) Що являють собою плазміди?

**IV. Самостійна робота учнів** в робочих зошитах за дидактичними картками

Картка № 1.

1) Як називається галузь біотехнології, що використовує методи виділення й культивування клітин?

3) Що дозволяє зробити методика клонування?

4) Чим відрізняється генна інженерія від клітинної?

Картка № 2.

1) Що таке клон?

2) Які основні досягнення біотехнології вам відомі?

3) Що таке генна інженерія?

**V.** **Домашнє завдання**

§ 53 підручника (с. 242—247).

# ВИСНОВКИ

1. Антибіотики — це речовини біологічного походження, а також їх похідні синтетичні та напівсинтетичні аналоги, які вибірково пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів. Джерелами добування антибіотиків природного походження є плісеневі гриби, актиноміцети, бактерії, а також тканини тварин і рослин. Найактивнішими продуцентами антибіотиків є актиноміцети. Відкриття пеніциліну й інших антибіотиків привело до революційного перевороту в лікуванні багатьох інфекційних захворювань. Не менше значення антибіотики придбали і для профілактики інфекцій, особливо в хірургії і травматології.
2. Антибіотики класифікують за такими основними ознаками: за спектром і спрямованістю біологічної дії, хімічним складом та молекулярним механізмом дії на мікробну клітину. За спектром дії розрізняють антибіотики вузького й широкого спектра дії. За спрямованістю біологічної дії антибіотики поділяють на чотири основні групи: антибактеріальні, протигрибкові, противірусні, протипухлинні.
3. Антибіотики здатні формувати алергійний стан. Вживання антибіотиків широкого спектра дії може призвести до дисбактеріозу. Токсична дія виникає при тривалому застосуванні препаратів.
4. Основними методами, які застосовуються для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків є: метод дифузії в агар, методом серійних розведень, метод розведення на рідкому поживному середовищі.
5. В результаті бактеріологічного дослідження сечі серед дітей хворих на урологічні захворювання виділено такі мікроорганізми: Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter agglomerans, Escherichia coli, Citrobacter freundii, Proteus mirabilis, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis. Мікробіологічне дослідження мокроти хворих дітей на негоспітальну пневмонію (НП) дозволило виявити такі мікроорганізми: Streptococcus рпеитопіае, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis.
6. В результаті проведеного дослідження виявлено, що використання для лікування у дітей обструктивних уропатій антибіотику ІІІ покоління лораксону призводить до зниження кількості патогенних мікроорганізмів. Аналіз використання антибіотиків І – ІІІ покоління для лікування негоспітальної пневмонії свідчить, що найбільш ефективними є антибіотики ІІІ покоління.
7. Результати дослідження можна впроваджувати для розширення змісту навчального матеріалу шкільного курсу біології в 11-ому класі.

# СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Албинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1978. – 392 с.
2. Антибиотики. / Под ред. Кашкина П.М. – М.: Медицина. 1970. – 240 с.
3. Атабеков И.Г. Практикум по общей вирусологии. – М.: Из-во Московского университета, 1981. – 191 с.
4. Борисов Л.Б., Козьмин-Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С. Руководствок лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. — М.: Медицина, 1993. - 232 с.
5. Бугринский С.Г. Антибиотики и их применение. // Медицина Украины. - 1995. - №3. - С.43 – 45.
6. Васильева В.С, Комар В.И., Цыркунов В.М. Практика инфекциониста. — Минск: Вышэйш. шк., 1994. — 324 с.
7. Ватутин Н.Т. Повреждения сердца результат применения антрациклинов. //Український кардіологічний журнал. – 1998. - №2. - С.72 – 77.
8. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології: Навч. посібник. – К.: Либідь, 2001. – 144 с.
9. Вершигора А.Ю., Бранцевич Л.Г., Василевская И.А. и др. Общая микробиология. - К.: Вища шк. Головное изд-во, 1988. - 342 с.
10. Генкель Л.А. Микробиология с основами вирусологии. - М.: Просвещение, 1974. - 270 с.
11. Герасименко В.Г. Биотехнология. - К.: Вища школа, 1989.- 343 с.
12. Герольд М. Антибиотики. - М.: Медицина. 1966. – 284 с.
13. Гусев М. В., Минова Л. А. Микробиология. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992. - 448 с.
14. Дмитриева Н.В. Превентивное применение антибиотиков в терапевтической клинике. // Антибиотики и химеотерапия. - 2000. - т. 45. - № 9. - С. 20-25.
15. Домникова Н.П. Предшествующее назначение антибиокальных препаратов - фактор развития низкоминальной пневмонии. // Пульматологоия. – 1998. - № 1. – С. 23 – 27.
16. Егоров А.М. Антибиотики и проблемы формакоэнзимологии. // Антибиотики и химеотерапии. - 2000. - Т.5. - №9. - С. 3-6.
17. Западнюк И.П. Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте. – К.: Госмедиздат УССР, 1962. - 200 с.
18. Каплін М.М. Імунна система: фізіологія і патологія. – Суми: СумДУ, 2002. - 131 с.
19. Коротяев А.И., Бабичев С А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. – СПб.: Специальная лит., 1998. – 592 с.
20. Ланчини Антибиотики. – М.: Мир, 1985. - 272 с.
21. Либов А.Л. Побочное действие антибиотиков. - Л.: Медгиз, 1958. – 187 с.
22. Мікробіологічні та фармакологічні основи раціонального застосування антибіотиків. // К.А.Посохова, С.І. Климнюк. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 131 с.
23. Медицинская микробиология. / Под ред. В.И. Покровского. – М.: Медицина, 1998. - 1200 с.
24. Микробиология, вирусология, иммунология. / Под ред. Л.Б. Борисова, А.М. Смирновой. — М.: Медицина, 1994. - 528 с.
25. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Агропромиздат, 1987. – 368 с.
26. Планельс Х.Х. Побочные явления при антибиотикотерапии бактериальных инфекций. – М.: Медицина, 1965. – 124 с.
27. Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилина Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология. – М.: ГЭОТАР «Медицина», 2000. - 380 с.
28. Пяткін КД., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. – К.: Вища шк., 1992. - 431 с.
29. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). – М.: Медицина, 1973. – 160 с.
30. Черкес Ф.К., Богоявленская А.Б., Вельская И.Л. Микробиология. – М.: Медицина, 1987. – 512 с.
31. Черномордик А.Б. Рациональное применение антибиотиков. - К.: Здоровье, 1973. – 332 с.
32. Яковлев С.Н. Современный взгляд на приминение антибиотиков в стационаре. //Инфекционный контроль. - 2003. - №1. - С. 49 – 52.
33. Яковлева О.А. Действие антибиотиков и муколиитческие средства при респираторных инфекциях. //Украинский пульмонологический журнал. - 1997. - №2. - С. 57 – 60.