اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Sensitivity test

تعد طريقة Kirby Bauer المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية من أكثر الطرق الشائعة الاستعمال روتينيا في مختبرات التشخيص وتسمى أيضا طريقة الانتشار بالأقراص Disc- diffusion method . تعتمد على تلقيح البكتيريا قيد الاختبار على وسط زرعي صلب في طبق بتري وتستعمل اقراص تحوي على المضادات الحيوية المختلفة بتراكيز مختلفة، توضع على سطح الوسط الملقح خلال فترة الحضن ينتشر المضاد من القرص الى الوسط فاذا كان الكائن حساس للمضاد تظهر مناطق انعدام النمو حول القرص، وكلما كانت الحساسية أكبر كان قطر منطقة التثبيط أكبر.

- **العوامل المؤثرة على نتائج اختبار الانتشار**

1. معدل انتشار المضاد الحيوي Diffusion rate of antibiotic .
2. مكونات الوسط Medium constituents .
3. عمق الوسط Depth of the medium .
4. كثافة اللقاح Density of inoculum .
5. مدة الحضانة Incubation period .
6. مدة انتهاء صلاحية الأقراص Expiration period of discs .

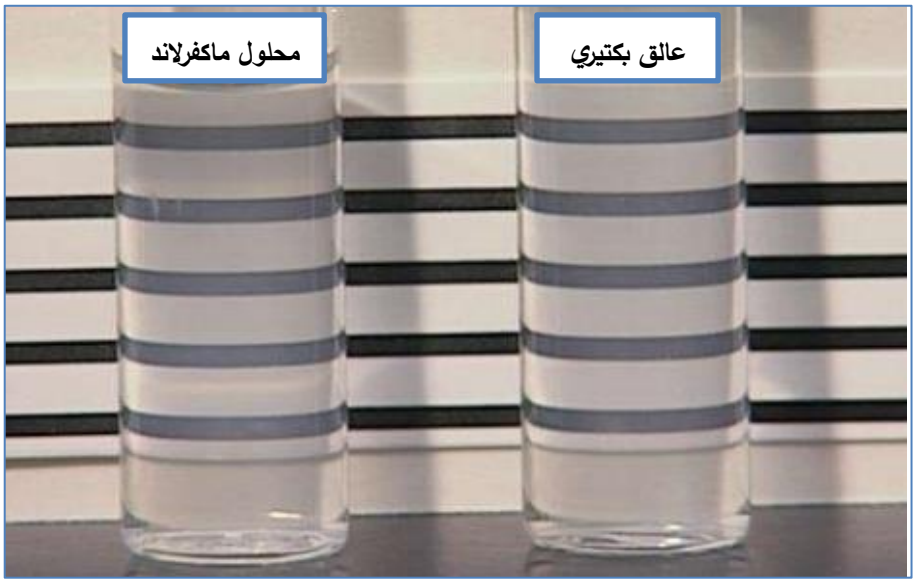
- **الوسط المناسب لأجراء اختبار الحساسية**

1. محتوياته يجب ان تكون معروفة تماما.
2. يجب ان لا يكون إغنائي بحيث يدعم النمو السريع للبكتيريا.
3. يجب ان لا يحدث أي تغيير في ال pH اثناء النمو.
4. يجب ان لا تكون محتوياته مضادة لأي عامل مضاد للبكتيريا.
5. يجب ان يكون متساوي التوتر Isotonic تقريبا.

محلول ماكفرلاند القياسي McFarland Standard

يحضر محلول ماكفرلاند القياسية McFarland Standard رقم **0.5** من تفاعل **0.05** مل من محلول كلوريد الباريوم المائي $BaCl_2.2H_2O$ بتركيز **1 %** (w/v) مع **9.95** من حامض الكبريتيك H_2SO_4 بتركيز **1 %** (v/v). يحفظ المحلول في قنينة معتمة لمنع التبخر، ويخزن في الظلام عند درجة حرارة **24** درجة مئوية ، يكون المحلول صالح لأكثر من **6** أشهر. يستعمل هذا المحلول لإعطاء عدد تقريبي للنمو الجرثومي **colony forming units (1.5 x 108 CFU/ mL)** عند أجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية.

محاليل ماكفرلاند القياسية



مقارنة العالق البكتيري مع محلول ماكفرلاند

- **تحضير اللقاح :**

1. باستعمال عروة تلقيح معقمة نأخذ **3- 5** مستعمرات ذات مظهر مماثل وننقلها إلى أنبوب اختبار يحتوي على محلول الملح الفسلجي. إذا كان اللقاح يحضر من مزرعة نقية نأخذ عروة مملوءة loopful من النمو.
2. يرج أنبوب الاختبار لحين الحصول على عالق بكتيري متجانس.
3. نأخذ أنبوب اختبار اخر ونضع فيه محلول ماكفر لاند.
4. نقارن عكورة العالق البكتيري مع محلول ماكفر لاند رقم **0.5** ، اذا كان العالق البكتيري اكثر كثافة من محلول ماكفر لاند نضيف المزيد من المحلول الملحي الفسلجي مع المزج لحين الوصول الى عكورة مساوية لعكورة محلول ماكفر لاند. اما إذا كانت عكورة محلول ماكفر لاند أكثر من عكورة العالق سوف نضيف المزيد من المستعمرات الى العالق مع المزج لحين الوصول الى عكورة مساوية لعكورة محلول ماكفر لاند.

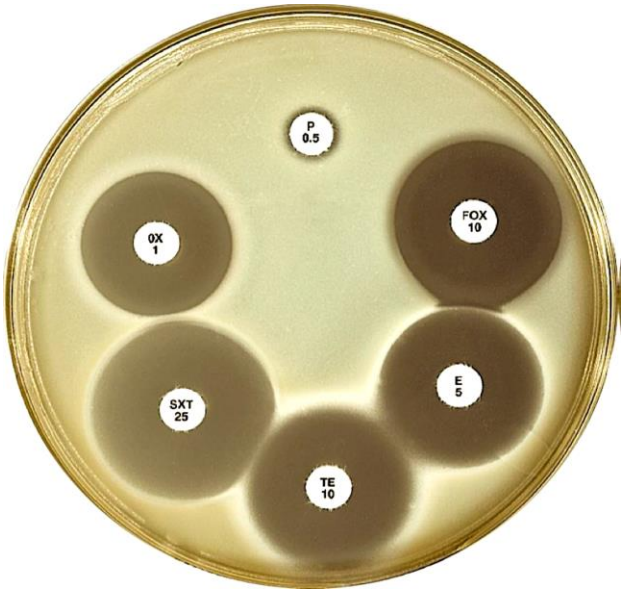
ملاحظة / يمكن قياس عكورة العالق البكتيري باستعمال جهاز متخصص وهو كاشف عكورة العالق Suspension turbidity detector

Suspension turbidity detector

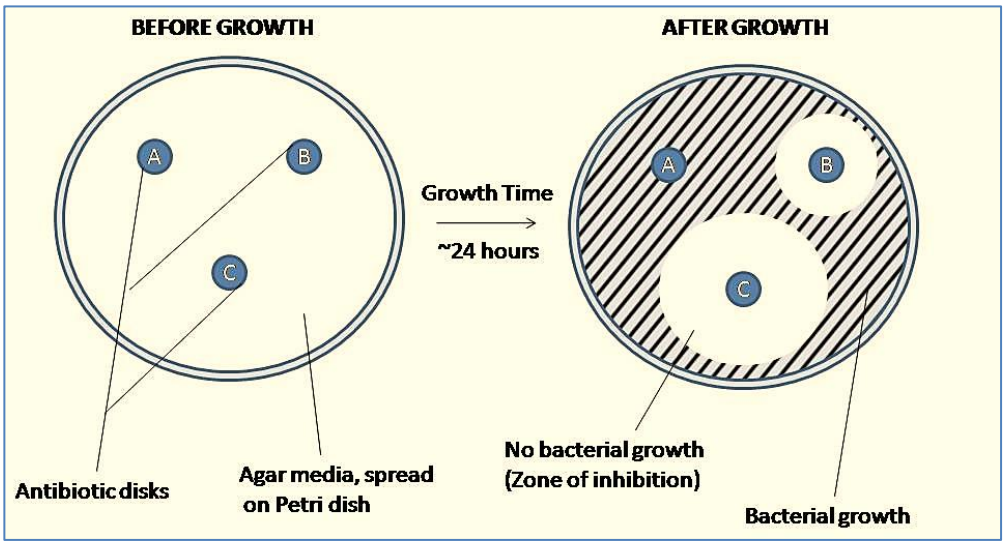
- **طريقة العمل :**

1. يحضر وسط مولر هنتون الصلب Muller hinton agar ويصب في اطباق. يعد هذا الوسط من أفضل الاوساط المختبرية لأنه ينمي اغلب البكتيريا الممرضة.
2. نأخذ مسحة قطنية ونغمرها في اللقاح ثم نلقح بها سطح الوسط بالكامل.
3. نترك الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق ليجف اللقاح ، هذه المدة قد تزيد عن ذلك لكن يجب ان لا تتجاوز **15** دقيقة.
4. باستعمال ملقط معقم نضع أقراص المضادات على سطح الوسط الصلب ثم نضغط بالملقط بخفة على القرص.
5. تحضن الاطباق لمدة **18** ساعة (لا تزيد عن **24** ساعة) في درجة **37** م.
6. تقرا مناطق التثبيط حول كل قرص بضمنها قطر القرص بالملم وتسجل النتائج. تقسم العزلات إلـى **حساسـة Sensitive ومقاومـة Resistant** اعتمـاداً علـى القياسـات العالميـة للـ **NCCLS**.

ملاحظة / نضع 5-6 أقراص في الطبق الذي فطره 10 سم ، اما الطبق الذي قطره 15 سم نضع فيه 12 قرص.



اقطـار التثبيـط



قياس قطر منطقة التثبيط (بالملم)