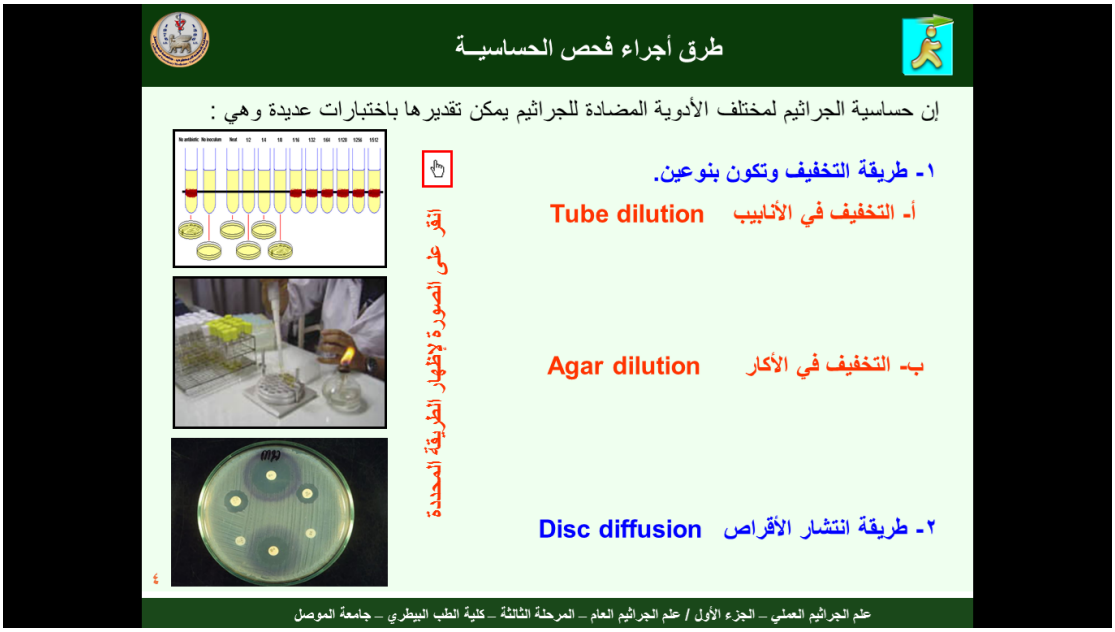
اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic susceptibility testing



التقدير الكمي للحساسية:

تقدر حساسية المايكروبات للمضادات الحيوية المختلفة من خلال قدرة تلك المضادات على تثبيط نمو تلك المايكروبات .وهناك عدة طرق لتقدير حساسية المضادات الحيوية ,منها طرق نوعية ومنها كمية.

الغرض من اجراء اختبار الحساسية هو لمعرفة فيما اذا كان الكائن المسبب للاصابة حساس او غير حساس (مقاوم) لعدد من المضادات التي تكون وثيقة الصلة بعلاج المريض. وقبل اجراء أي اختبار لتقدير الحساسية لابد من مراعاة مايلي:

1- معرفة الخلفية الوراثية للمايكروب in vitro لان بعض الانواع من المايكروبات يحصل بها طفرات.

2- مدى حساسية السلالة قيد الاختبار مقارنة مع افراد النوع الواحد.

3- معرفة نبذة عن المضاد قيد الاختبار مثل سميته, تركيبه ,امتصاصيته من قبل الجسم وعمله أي (mode of action).

طرق تقدير الحساسية:

1) طريقة التخافيف Dilution method

2) اختبار الحساسية بطريقة الانتشار Diffusion methods of sensitivity testing

وسنتطرق في هذا المختبر الى طريقة التخافيف

تعتبر طريقة التخافيف طريقة كمية Quantative تعتمد من حيث المبدا على تحضير سلسة من التراكيز المضاعفة تدريجيا للمضاد في وسط ملائم للنمو ثم اضافة عدد محدد من البكتيريا وملاحظة قدرة المضاد على تثبيط النمو او قتل البكتيريا قيد الاختبار من خلال ملاحظة تكون او عدم تكون العكورة في الانابيب.

ان اختبار الانتشار باستخدام الاقراص Disc method غير مجدية في كثير من الحالات ولا تعطي صورة واضحة عن حساسية البكتيريا كما في الحالات التالية:

1- في حالة استخدام كائن مجهري بطيئ النمو slow growing rate microorganism مثل بكتيريا Mycobacterium tuberculosis (زمن الجيل لها 48 ساعة) حيث ان استخدام طريقة الاقراص تعطي نتائج خاطئة لان انتشار المضاد في الاكار اسرع من نمو البكتيريا لذلك تظهر مناطق التثبيط اكبر من الحالة الاعتيادية (غير حقيقية).

2- في حالة الاحياء المجهرية التي تظهر ظاهرة التموج Swarming كما في بكتيريا ال Proteus وهنا هذه الظاهرة تعيق عملية انتشار المضاد (أي ان مناطق التثبيط اصغر من الاعتيادي).

3- في حالة استخدام مضادات حيوية ذات وزن جزيئي عالي مثل Bacitracin و Polymyxin والتي تنتشر ببطئ في الاكار لذلك فان مناطق التثبيط قد لا تظهر او تكون صغيرة جدا لان نمو البكتيريا اسرع من انتشار المضاد.

لذلك ففي الحالات المذكورة اعلاه يفضل استخدام طريقة التخافيف وفيها يتم تقدير كلا من التركيز المثبط الادنى (Minimal inhibitory concentration - MIC) وهو اقل تركيز يؤدي الى تثبيط نمو البكتيريا قيد الاختبار , والتركيز القاتل الادنى (Minimal bactericidal concentration - MBC) وهو اقل تركيز يؤدي الى قتل البكتيريا قيد الاختبار.

طريقة العمل

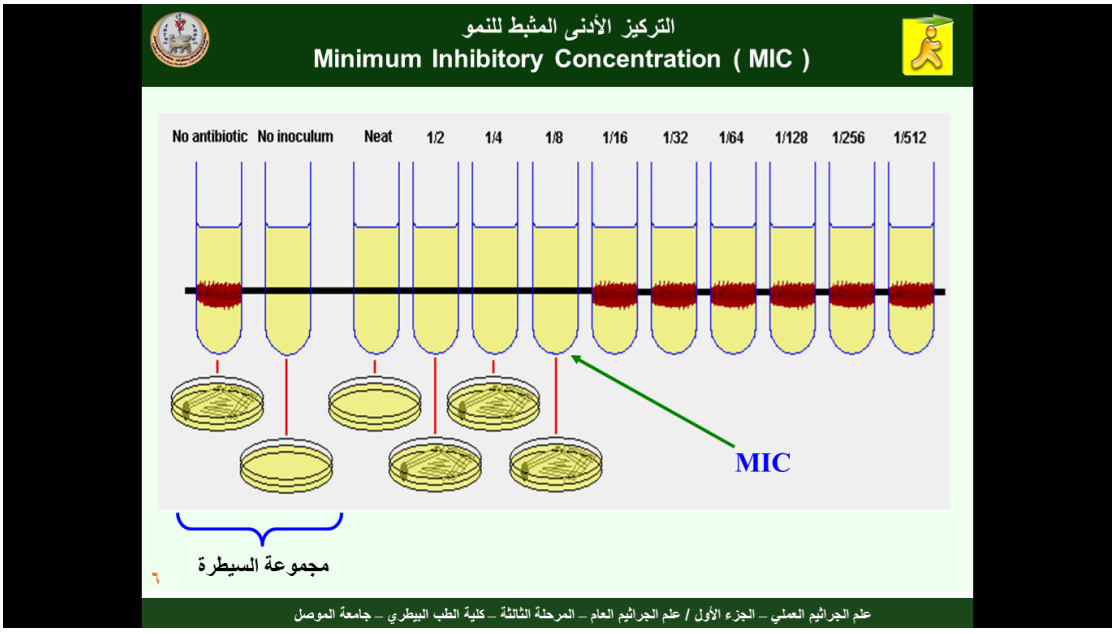
1- تزرع كمية ثابتة من البكتيريا في وسط سائل هو وسط Muller Hinton Broth في انابيب اختبار معقمة بعدد التراكيز المطلوب تحضيرها من المضاد (عدد البكتيريا يتراوح بين 105-106 خلية/مل).

2- يتم اضافة المضاد الحيوي بتراكيز متزايدة بحيث يحتوي الانبوب الاول (رقم 1) على التركيز (صفر) من المضاد Control ثم يليه الانبوب الثاني (رقم 2) الذي يحتوي على اوطا تركيز من المضاد ويليه الانبوب الثالث (رقم 3) الذي يحتوي تركيز ضعف ما موجود في الانبوب رقم 2 وهكذا بالنسبة لبقية الانابيب.

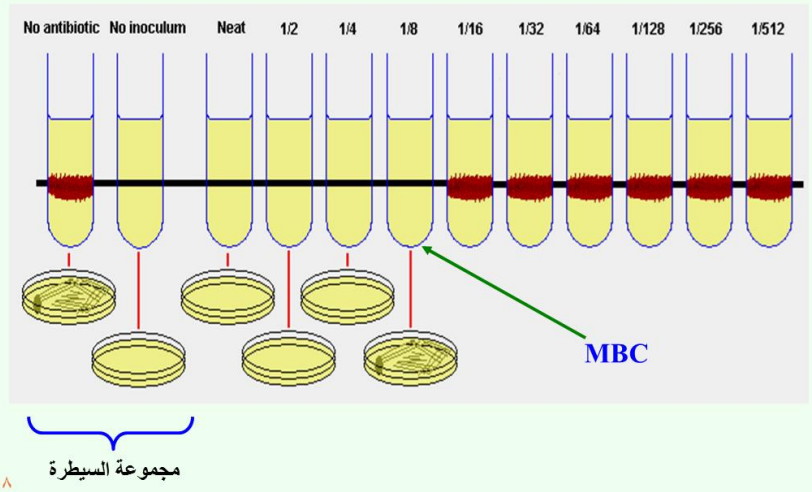
3- تحضن الانابيب جميعا في درجة حرارة ملائمة للبكتيريا المدروسة ويتم فحص الانابيب بعد الحضن للتعرف على أي منها يحتوي نمو بدلالة العكورة اما الانابيب الرائقة فتشير الى عدم حدوث نمو نتيجة فعالية المضاد.

* لتحديد ال MIC : يتم اختبار اول انبوب رائق ياتي بعد سلسلة انابيب عكرة فيكون تركيز المضاد فيه هو ال MIC.

* لتحديد ال MBC : يتم اخذ كمية من الوسط الزرعي (0.1 مل) من الانابيب الرائقة الى طبق فيه وسط زرعي صلب Muller Hinton agar ثم تحضن الاطباق بدرجة 37 م لمدة 24-48 ساعة ثم تلاحظ المستعمرات النامية في كل طبق. يعتبر اول طبق لم يظهر فيه نمو هو MBC.



التركيز الأدنى القاتل للجراثيم
Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

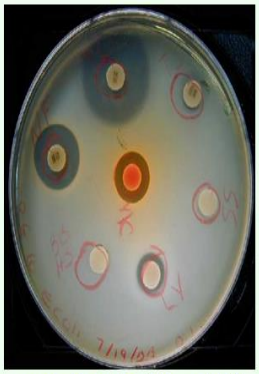


٨

2 - طريقة انتشـار الأقراص Disc diffusion test

- هذه الاختبارات كثيرة الاستعمال وشائعة لكونها بسيطة ، سريعة واقتصادية.
- مبدأ عمل هذا الاختبار يعتمد على استعمال أقراص ورقية مشبعة بالمضاد الحيوي المراد اختبار حساسية الجرثومة له.
- حيث توضع هذه الأقراص على سطح الاكار الذي يحتوى على الجرثومة وتسمى هذه الطريقة بـ (Kirby Bauer method) وتكون الأقراص على نوعين وهي الأقراص المفردة uni disc والتي تكون منفصلة عن بعضها ، والأقراص المتعددة multi disc والتي تكون متصلة مع بعضها.

multi disc الأقراص المتعددة



uni disc الأقراص المفردة

انواع مختلفة من الأقراص المفردة

١١

GM 10
PIP 100
CTX 30