Sensitivity test or Diffusion Test or Antibiotic sensitivity test

اختبار الحســـاسية

هي طريقة مختبرية لتحديد مدى تعرض الكائنات الحياة للعاج بالمضادات الحيوية، وعادة ما يتم إجراء اختبار حساسية المضادات الحيوية لتحديد أي من المضادات الحيوية سيكون الاكثر نجاحا في علاج العدوى البكتيرية في الجسم الحي. أي ان الهدف من ذلك هو قياس الحساسية ألي عزلة بكتيرية لمجموعة من المضادات الحيوية.

طرق قياس حساسية المضاد للمايكروبات Methods of Antimicrobial Susceptibility Testing

تنقسم طرق اختبار الحساسية المضاد للميكروبات الى أنواع اعتمادا على المبدأ المطبق في كل نظام وتشمل:

1) Diffusion انتشار & Dilution تخفيف : E-Test method.
2) Dilution تخفيف : Minimum Inhibitory Concentration الحد الأدنى لتركيز المثبط.
3) Diffusion انتشار : Kirby- Bauer method طريقة انتشار الأقراص.

نظرية تكوين منطقة التثبيط The theory of zone formation

يتم إجراء اختبارات حساسية القرص على سطح الاكار، حيث يتم وضع قرص صغير من ورق الترشيح، محمل بكمية محددة من المضادات الحياة، على سطح طبق أكار تم تلقيح بالفعل بعالق البكتيريا وبهذه العملية ينتشر المضاد الحيوي خارج القرص إلى أكار، على طول تدرج تركيز، حيث يتم تحضين الاطباق لمدة 16–18 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية. فإذا كانت السلالة الجرثومية حساسة للمضادات الحيوية، فستحدث منطقة تثبيط (بدو نمو) حول القرص.

قطر المنطقة يعتمد على عدد من العوامل بما في ذلك:

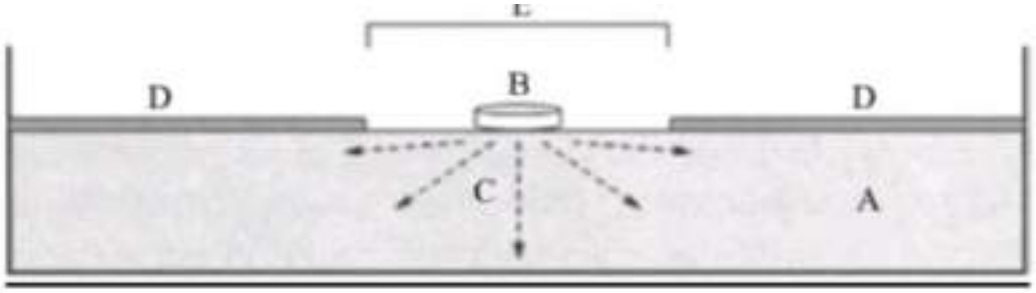
1-كمية المضادات الحيوية داخ القرص.

2-درجة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.

3-الخواص الفيزيائية والكيميائية للمضادات الحيوية.

4- عمق الاكار (مل).

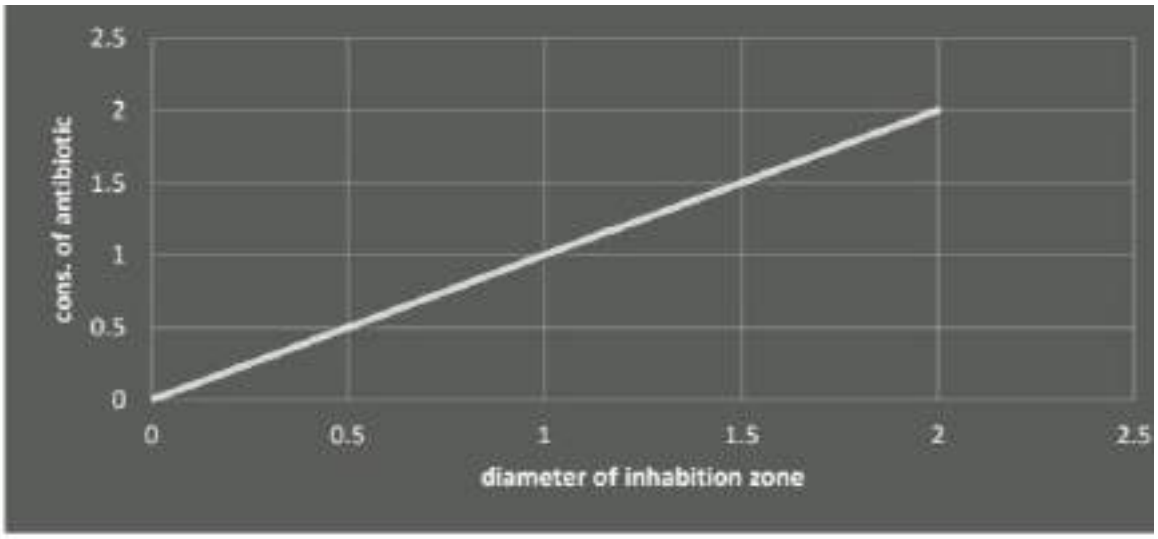
5- تركيز البكتيريا في الوسط يتطلب نمو نصف متموج.



Disk sensitivity test. A – agar; B – antibiotic disc; C – antibiotic diffuses into agar along concentration gradient; D – bacterial growth on surface of agar after 18 hours of incubation; E – zone (diameter) of inhibition.

يتم قياس قطر مناطق تثبيط بالمليمتر، ويتم التسجيل على إن الكائن الحي حساس أو مقاوم استنادا إلى نقاط توقف النمو على سبيل المثال (mm18 > = مقاومة). من عيوب اختبار القرص أنه عادة ما يكون من الممكن فقط وضع ستة أقراص م المضادات الحيوية بحد أقصى على طبق الاكار الأساسي

- العلاقة بين تركيز المضادات الحيوي وقطر منطقة تثبيط هي العلاقة اللوغارتمية وشكل المنحنى يأخذ خط مستقيم. كما هو موضح ادناه



العوامل التي تؤثر على نتائج اختبار الحساسية Factors that effecting in the results of the sensitivity test

1- درجة حموضة الوسط (PH) Mueller – Hinton agar عند التحضير.
يجب ان يكون متوسط درجة حموضة الاكار بين7.2 و 7.4 في درجة حرارة الغرفة ، اذا كان الرقم الهيدروجيني منخفضا للغاية.، فستبدو بعض الادوية فاقدة الفعالية (على سبيل المثال aminoglycosides) ،بينما بعض الادوية الأخرى لها نشاط مفرط (على سبيل المثال tetracyclines). اذا كان الرقم الهيدروجيني مرتفعا جدا، فيمكن ان تظهر تأثيرات معاكسة.

2- الرطوبة: قبل الاستخدام مباشرة، يجب وضع الاطباق في حاضنة 35 درجة مئوية أو وضعها في Hood بدرجة حرارة الغرفة وتكون الا طباق مفتوحة جزئية حتى تتبخر الرطوبة الموجودة على سطح الطبق وعادة تستغرق هذه الخطوة (10 إلى 30 دقيقة) يجب أن يكون السطح رطباً، ولكن يجب عدم ظهور قطرات من الرطوبة على سطح الوسط أو على أغطية طبق بتري عند تلقيح الاطباق.

3- كثافة اللقاح :Inoculum density عادة ما يتم الحصول على النتائج مثالية عن طريق مقارنتها مع أنبوب McFarland القياسي.
4- توقيت استعمال القرص: إذا تركت الاطباق بعد زرعها بالسلالة البكتيرية في درجة حرارة الغرفة لفترات أطول من الوقت القياسي، فقد يحدث تكاثر البكتيرية قبل استعمال الاقراص فيؤدي هذا الى انخفاض في قطر المنطقة وقد يؤدي الى تسجيل سلالة حساسة على أنها مقاومة للمضاد.

5- درجة حرارة الحضانة: تحضن اختبارات الحساسية عادة عند 37 درجة مئوية للنمو الامثل. إذا تم خفض درجة الحرارة يتم تمديد الوقت اللازم للنمو الفعال. وتنتج منا طق تثبيط أكبر في درجات الحرارة المرتفعة فيبدو الوسط بأكمله حساس للمضاد.
6- فترة الحضانة: تعتمد معظم التقنيات فترة حضانة تتراوح بين 16 و 18 ساعة.
7- المسافة بين أقراص المضادات الحيوية: إذا كان عدد المضادات المستخدمة للاختبار كثيرة، طبقين اواكثر فان القطر يكون 14 سم هو الافضل.

طريقة العمل:

1- تحضير وسط المولر هنتون اكار الذي يستخدم في اختبار الحساسية.
2- نأخذ عالق بكتيري محضن لمدة 24-48 ساعة يستخدم للاختبار ويقارن مع محلول ماكفرلاند McFarland القياسي (0.5)
ملاحظة -: محلول ماكفرلاند او محلول ثابت العكورة القياسي يستخدم لاعطاء عدد تقريبي للنمو الجرثومي مقداره (1.5×10^8) خلية / مليلتر.

3- توضع مسحة القطن المعقم في العالق البكتيري ويتم ازالة السوائل الزائدة من المسحة عن طريق الضغط وتدوير القطنة داخل الانبوب فوق مستوى السائل.

4- تخطط المسحة بثلاث اتجاهات على سطح اكار المولرهنتون للحصول على نمو منتظم.

5- نترك الاطباق تجف لمدة 5 دقائق تقريبا

6-يستخدم ملقط معقم او موزع اقراص وتوضح اقراص المشبعة بتركيز ثابت من المضاد على سطح الاكار بأبعاد متساوية.

7- تحضن بدرجة 37 لمدة 24 ساعة

8-بعد التحضين يتم قياس اقطار التثبيط المتكونة حول القرص بالمسطر بالمليمتر.