دراسة تأثير المضادات الحيوية على الاحياء المجهرية

Study the effects of antibiotics on microorganisms

- ## الطريقة الثالثة من طرق الانتشار اختبار إي أو اختبار ابسيليون E- test

هو احد طرائق اختبار الانتشار Diffusion انتج لاول مرة عام 1988م وتم تقديمه تجارياً وصناعته من قبل شركة AB Biodisk وبدأ استخدامه من قبل الباحثين عام 1991م .

يتألف هذا الاختبار من شريط مستطيل الشكل تم تعبئته بالمضادات الحيوية (كل شريط خاص بمضاد حيوي معين) ويحتوي الشريط على مناطق كل منطقة تحتوي على تركيز معين من المضاد الحيوي وتكون التراكيز متدرجة من اقل تركيز الى اعلى تركيز ، وبعد ان يتم زراعة البكتريا يوضع الشريط وتحضن الاطباق وتقرأ النتيجة من خلال تحديد التركيز المثبط الادنى من المضاد (Minimum Inhibitory Concentration / MIC وهو اقل تركيز من المضاد الحيوي ادى الى تثبيط نمو البكتريا) ويتم قراءة النتيجة للMIC في منطقة تثبيط النمو (منطقة التقاطع بين الشريط وتثبيط النمو ونحدد التركيز الذي عنده بدأ تثبيط نمو البكتريا).

ملاحظة: الاشرطة يتم حفظها بدرجة -20 درجة مئوية ويتم استخراجها من الفريزر قبل اجراء الاختبار بنصف ساعة .

فائدة استخدام E test (الغرض من إستخدامه)

1- تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC لجميع انواع البكتريا خاصة البكتريا الصعبة النمو Fastidious Bacteria .
2- الكشف عن المستويات الواطئة من مقاومة نمط معين من المضاد الحيوي وتأكيدها (طفرات المقاومة لتراكيز واطئة ومنخفضة من المضاد الحيوي).
3- تحديد MIC بدقة حتى ان كان التركيز واطئاً .

طريقة العمل :

1- **تحضير العالق البكتيري :** ناخذ مستعمرة من البكتريا المدروسة بواسطة لوب معقم بلهب البيرنر بعد ان يبرد وتوضع في انبوب يحوي محلول نورمل سلاين ويتم تعليقها من خلال مزجها باللوب ثم يتم معايرة المعلق البكتيري المحضر مع انبوب ماكفرلاند McFarland القياسي (0.5) ويتم ذلك بوضع العالق البكتيري المعلق مع انبوب ماكفرلاند القياسي (0.5) على وجه بطاقة ويكرهام Wickerham card (وهي بطاقة صغيرة تحتوي على خطوط متوازية بيضاء وسوداء تساعد في تبيان تشابه تركيز المعلق البكتيري المحضر مع انبوب ماكفرلاند القياسي (0.5) وسميت بهذا الاسم نسبة الى العالم ويكرهام الذي حضرها لاول مرة) وكما موضح بالصورة ادناه

ملاحظة :- محلول ماكفرلاند او محلول ثابت العكورة القياسي يستخدم لاعطاء عدد تقريبي للنمو الجرثومي مقداره (1.5 * 10^8) خلية بكتيرية / مليلتر ((ويحضر هذا المحلول من خلال 0.5 مل من محلول كلوريد الباريوم $BaCl_2$ ذو تركيز 1% تقريباً مع 99.5 مل من محلول حامض الكبريتيك بتركيز 1% تقريباً مع المزج المستمر اثناء التحضير))، وعادة تكون انابيب ماكفرلاند مصنعة وجاهزة من قبل شركات عالمية وفي حالة عدو توفرها تحضر بالطريقة انفة الذكر .

2- توضع الماسحة القطنية المعقمة في العالق البكتيري ويتم ازالة السوائل الزائدة من الماسحة عن طريق الضغط وتدوير القطنة داخل الانبوب فوق مستوى السائل.

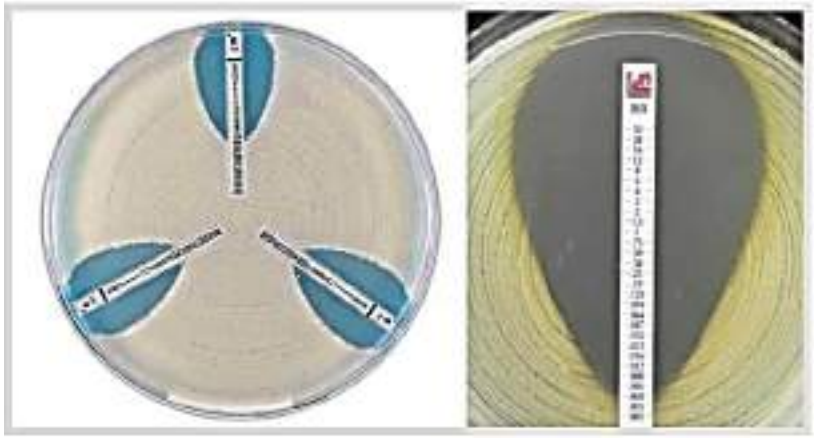
3- تخطط الماسحة القطنية المعقمة المحملة بالعالق البكتيري بثلاث اتجاهات على سطح اكار المولرهنتون للحصول على نمو منتظم.

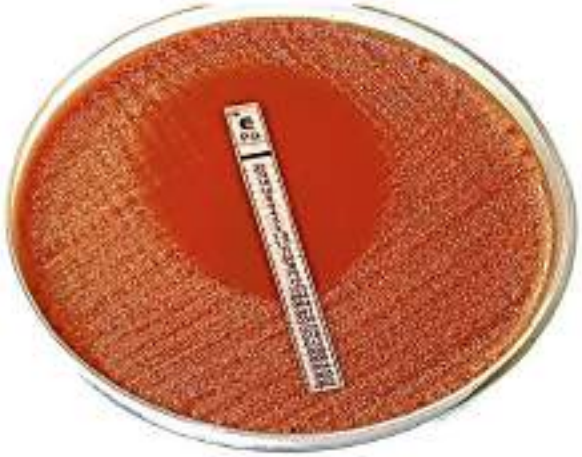
4 - نترك الاطباق تجف لبضعة دقائق تقريبا .

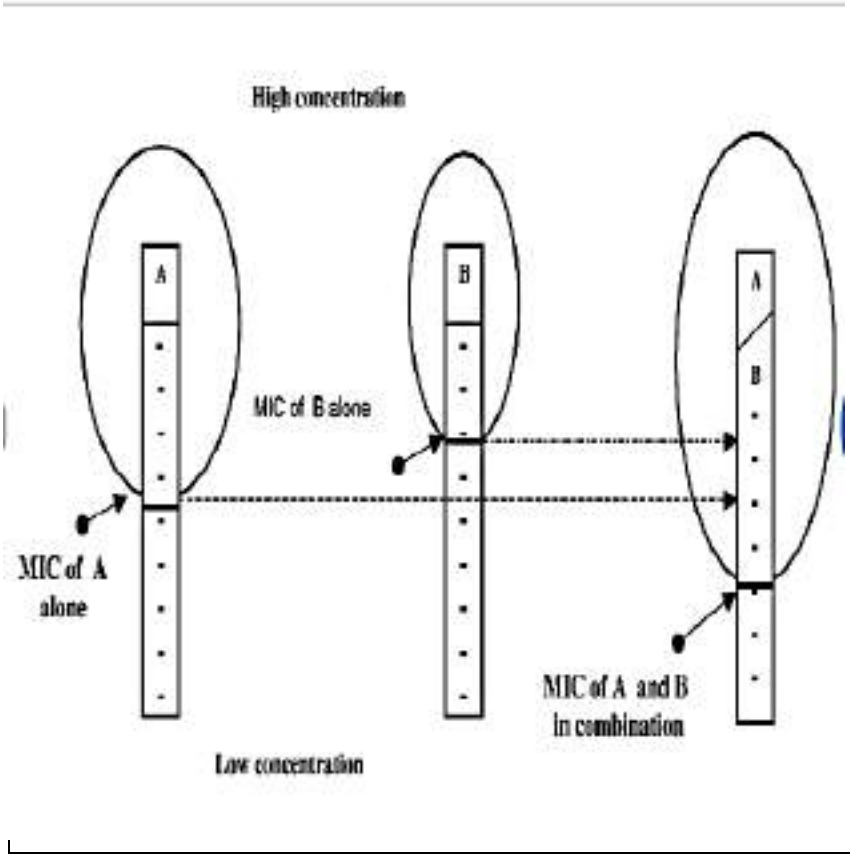
5-يستخرج شريط E test من علبته ويوضع على الطبق المزروع بالبكتريا (كل مضاد له شريط خاص به وبتراكيزه المختلفة التي تم تحضيرها حسب الشركة المنتجة).

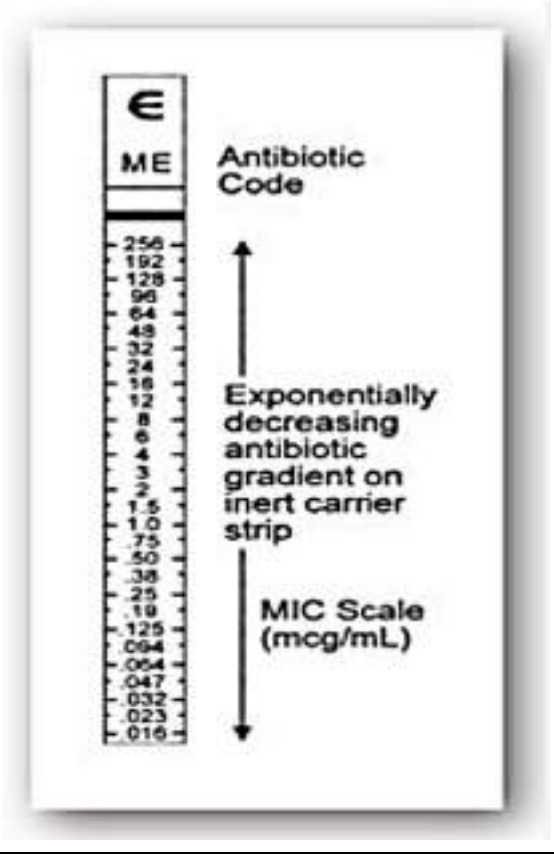
6- تحضن الاطباق المزروعة بدرجة 37 لمدة 24 ساعة وتقرأ النتائج في اليوم التالي.

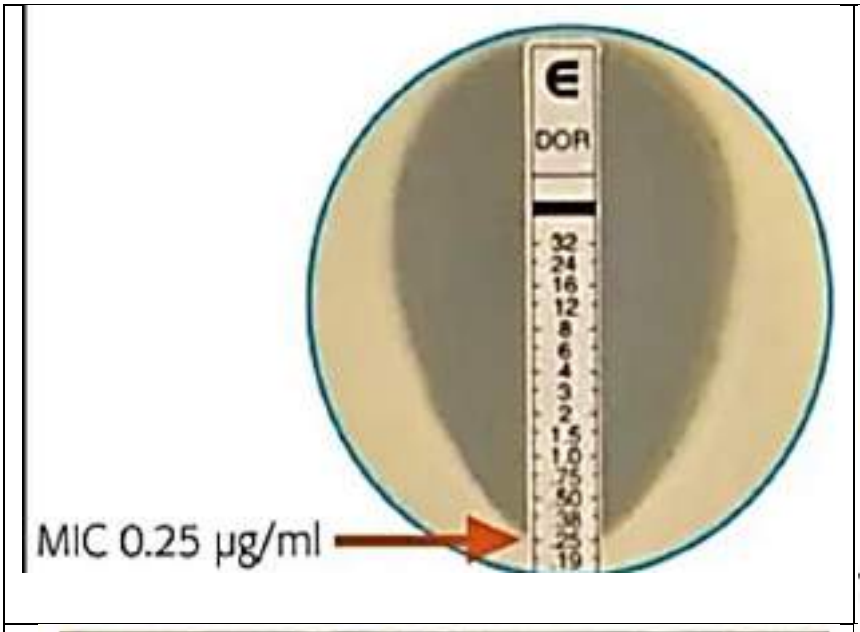
7- كتابة النتائج في تقرير وتصور الاطباق وتدرج مع النتائج .

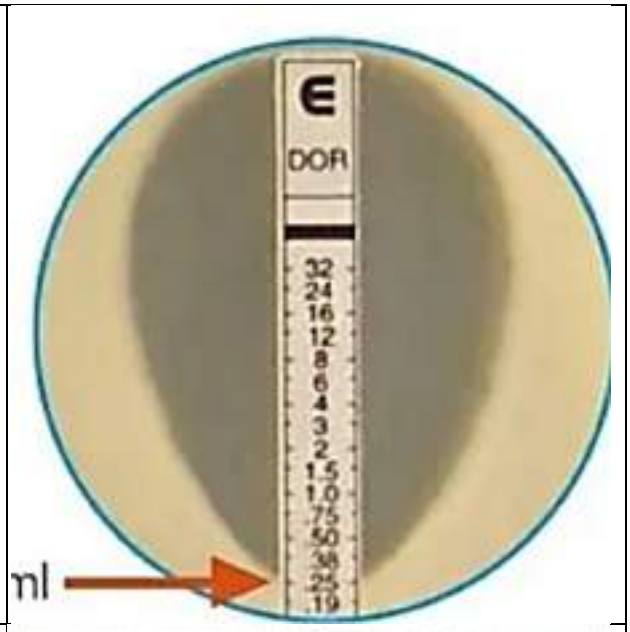


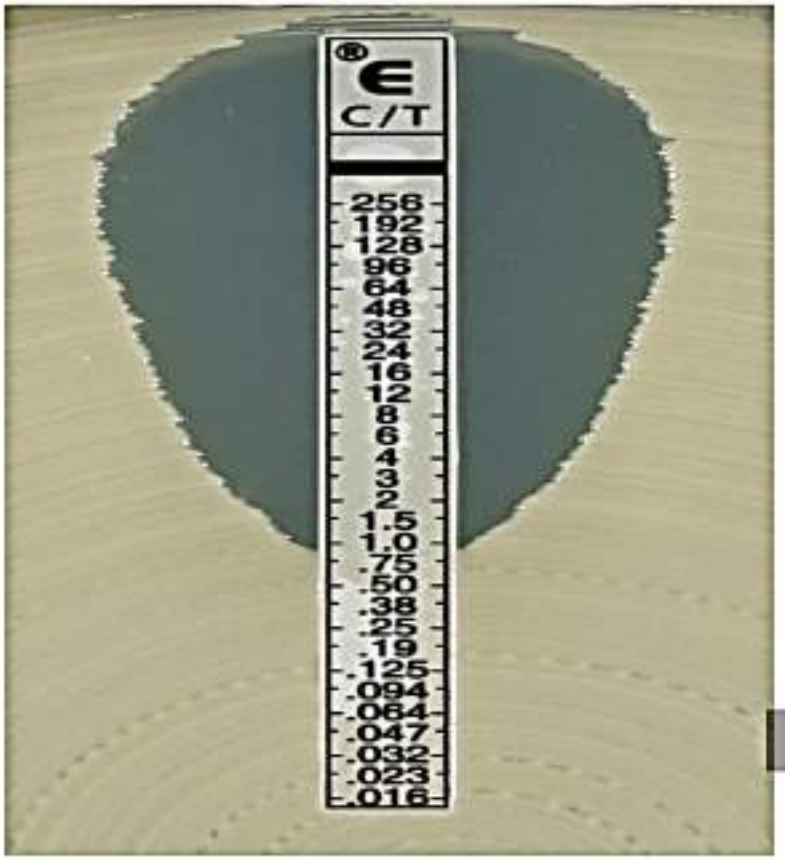



High concentration
A
B
MIC of B alone
MIC of A alone
A
B
MIC of A and B in combination
Low concentration


ME
Antibiotic Code
256
192
128
96
64
48
32
24
16
12
8
6
4
3
2
1.5
1.0
.75
.50
.38
.25
.19
.125
.094
.064
.047
.032
.023
.016
Exponentially decreasing antibiotic gradient on inert carrier strip
MIC Scale (mcg/mL)


E
DOR
32
24
16
12
8
6
4
3
2
1.5
1.0
.75
.50
.38
.25
.19
MIC 0.25 µg/ml


E
DOR
32
24
16
12
8
6
4
3
2
1.5
1.0
.75
.50
.38
.25
.19
ml


E
C/T
256
192
128
96
64
48
32
24
16
12
8
6
4
3
2
1.5
1.0
.75
.50
.38
.25
.19
.125
.094
.064
.047
.032
.023
.016

E
CS
32
24
16
12
8
6
4
3
2
1.5
1.0
.75
.50
.38
.25
.19
.125
.094
.064
.047
.032
.023
.016