

Micro dilution MIC Test

اولا: تقدير عدد الخلايا البكتيرية باستخدام مقياس ماكفرلاند**Antibiotic Sensitivity Tests McFarland standards**

في علم الأحياء الدقيقة يتم استخدام مقياس ماكفرلاند McFarland standard كمرجع ضابط، لتقدير عكارة المعلق البكتيري بحيث يكون عدد الخلايا البكتيرية في معلق ما معلوم أو على الأقل ضمن مدى معين.

*إعداد مقياس ماكفرلاند McFarland standard : يتم بخلط كميات محددة من كلوريد الباريوم barium chloride وحمض الكبريتيك sulfuric acid ، مما يؤدي إلى تكون راسب من كبريتات الباريوم barium sulfate precipitate يعكس المحلول.

يوجد عدة معايير لمقياس ماكفرلاند، فهناك:

1. 0.5 McFarland standard
2. 1 McFarland standard
3. 2 McFarland standard
4. 3 McFarland standard
5. McFarland standard4

يمكن مقارنة معلق ماكفرلاند بمعلق البكتيريا سواء تم تعليق البكتيريا في محلول ملحي saline أو تم تعليقها في nutrient broth بالنظر، بأن توضع ورقة مخططة بخطوط سوداء خلف كل من مقياس ماكفرلاند ومعلق البكتيريا المراد استخدامه، فإذا تم رؤية الخطوط بنفس درجة الوضوح فهذا يدل على أن عكارة المعلق البكتيري تساوي عكارة مقياس ماكفرلاند المستخدم. كما يمكن تقدير العكارة باستخدام جهاز (OD) Optical Density وقراءة العكارة عند طول موجي 600nm . في حال كان المعلق البكتيري شديد العكارة فإنه يتم تخفيفه وفي حال كان المعلق البكتيري خفيف العكارة يتم زيادة عكاراته ليحاكي مقياس ماكفرلاند المستخدم في المقارنة .

Microdilution MIC Test

اولا: تحضير التركيزات المختلفة من المضاد

يتم بتحضير التركيز الأساسي 10 ملجم/مل ثم يخفف كالتالي

- 1- نقل 1 مل من التركيز الأساسي إلى أنبوبة 9 مل من المذيب فنحصل على التركيز الثاني 1 ملجم /مل
- 2- ينقل 100 ميكرو لتر من التركيز الأساس إلى أنبوبة بها 9.9 مل من المذيب فنحصل على التركيز الثالث 0.1 ملجم /مل.

تحضير التخفيفات المتدرجة من المضاد الحيوي المستخدم:

تحضر التخفيفات من 0.5 إلى 0.128 ملجم /مل

- من التركيز الأول الأساسي (التركيز الأساسي 10 ملجم/مل)

1. ينقل 256 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 128
2. ينقل 128 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 64
3. ينقل 64 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 32
4. ينقل 32 إلى الأنبوبة رقم 16

- من التركيز الأساسي الثاني (التركيز الثاني 1 ملجم /مل)

1. ينقل 160 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 8
2. ينقل 80 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 4
3. ينقل 40 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 2

- من التركيز الأساسي الثالث (التركيز الثالث 0.1 ملجم /مل)

1. ينقل 200 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 1
2. ينقل 100 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 0.5

#463 MIC#

Lap#8#

3. ينقل 50 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 0.25

لا يضاف أي مضاد إلى الأنبوبة 0 ملجم /مل كنترول خالي من المضاد للمقارنه.

التركيز ملجم/ل	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
الحجم المنقول بالميكرو لتر	0	50	100	200	40	80	160	32	64	128	256
التركيز الأساسي	كنترول	التركيز الأساسي الثالث			التركيز الأساسي الثاني			التركيز الأساسي الأول			

ثانياً: تحضير المعلق البكتيري لاختبار MIC

NCCLS Reference Method

لقاح قياسي . عباره عن معلق بكتيري بحيث يكون تركيز اللقاح النهائي به=

$$3 - 5 \times 10^5 \text{ CFU/ml} - 3 - 5 \times 10^4 \text{ CFU/well}$$

طريقة العمل

• ترقم الأنابيب تبعاً للتخفيفات المستخدمه في كل عمود.

اولاً : ينقل 75 ميكرو لتر من كل تخفيف من المضاد الحيوي المستخدم إلى صفيين من الأنابيب.

تحضير اللقاح : يحضر 0.5 ماكفر لاند ويخفف في 1:100 مل من بيئة المرق المغذي لكل الأجناس البكتيرية المختبره

- ينقل حجم مماثل من المعلق البكتيري في كل أنبوبة للأجناس البكتيرية المختبره كل على حده.

- بالإضافة إلى الكونترول:

1. كونترول (1) المرق الوسط الغذائي المستخدم معلق بالبكتيريا المختبره بدون إضافة المضاد الحيوي.
2. كونترول (2) المرق المغذي مع مضاد حيوي بدون معلق بكتيري.

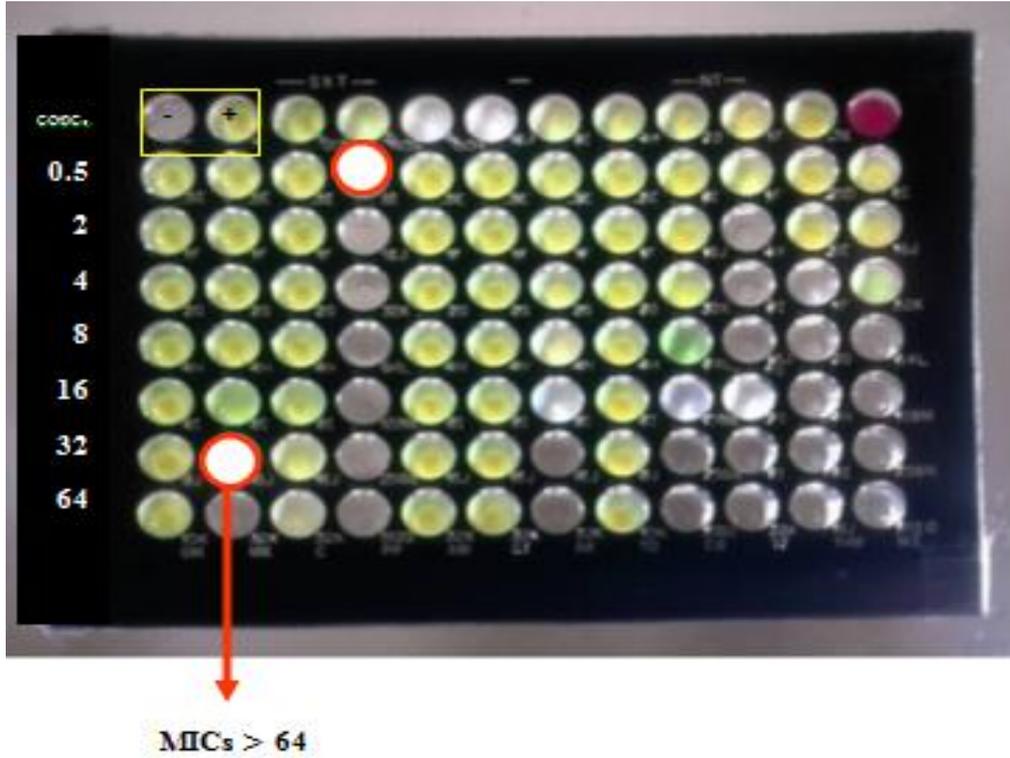
يغطى الطبق Microtiter plate بالبلاستيك ويحضن عند 35 - 37 م لمدة 16 - 20 ساعة وتسجل النتائج.

كيف يستخدم التلقيح للتأكد من نقاوة البكتيريا المختبره

• للتأكد من نقاوة البكتيريا في العينة يجب تلقيح المعلق المحضر على وسط غذائي عام (بعد تلقيح اختبار MIC)

- ✓ قد يحدث التلوث نتيجة وجود أكثر من نوع من البكتيريا على نفس الطبق.
- ✓ يجب فحصها قبل قراءة نتيجة اختبار (MIC بعد 16 - 20 ساعة).
- ✓ يجب التأكد بإعادة تحضينها إذا لم تظهر المستعمرات بوضوح.

قراءة نتيجة اختبار MIC
Read MICs



The Microscan

عبارة عن جهاز يستخدم لتعريف الأنواع المختلفة من البكتيريا سواء الموجبة لجرام أو السالبة لجرام على حد سواء، يتم توصيل هذا الجهاز بكمبيوتر به نظام خاص.

يتم حقن المعلق البكتيري في طبق بلاستيكي Panel يحتوي على فتحات pores كل فتحة مسؤولة عن تفاعل كيميائي معين أو عن مضاد حيوي معين (للبنكتيريا الموجبة لجرام panel خاص ، وللبنكتيريا السالبة لجرام panel خاص).

يتم وضع الأطباق (panels) بعد تلقئها بالمعلق البكتيري المراد تعريفه في الجهاز في أماكن محددة بأرقام معينة، وعند إدخال كل عينة (طبق) في الجهاز، يتم إدخال بيانات المريض الخاصة (اسم المريض، عمره، مكان العزل الذي تم عزل البكتيريا منه وذلك في جهاز الكمبيوتر المتصل بال Microscan).

-تعرف النتيجة بعد 24 أو 48 ساعة من التحضين حيث سيظهر مؤشر يدل على أن العينة المدخلة والتي تحمل رقم معين تم تعريفها.

- يتم طباعة النتيجة من الكمبيوتر والتي تحمل بيانات المريض واسم البكتيريا المعزولة والمضادات الحيوية المناسبة لمعالجته.

