المسح الكشفي عن المضادات الحية

نورة الكبيسي

تعريفه :

اختبار نشاط المضادات الحيوية والكائنات التي تنتجها واختبار فعاليتها في المختبر وعلى الحيوان للتمهيد لتصنيعها وتسويقها طبياً .

خطواته :

أولاً : عزل الميكروبات من مصادرها الطبيعية :

- إن الظروف الطبيعية لاكتشاف مضاد حيوي جديد هو اكتشاف للكائن الذي ينتجه .
- أغلب ما يدرس ككائنات منتجة للمضادات الحيوية بشكل كبير هي البكتيريا والأكيتنومايسيتس والفطريات .
- يعتمد اختبار البيئة الزراعية الصناعية على نوع الميكروب المراد عزله من المصدر الطبيعي.

الكائن الدقيق	نوع البيئة المستخدمه في المسح	امثلة
البكتريا والأكتينومايستس	أ. تحتاج إلى بيئات معقدة وغنية. ب. درجة pH لابد أن تبدو بدرجة قاعدية لكي تمنع نمو الفطريات.	Nutrient Agar, **Muller Hunton Agar**
الفطريات	أ. لابد من منع تلوثها بالبكتيريا وذلك بضبط درجة الحموضة كي تكون حامضية . ب. في بعض الأحيان تضاف مثبطات للبكتريا لعزل بيئة نقية من الفطرياات ومن هذة المثبطات Bengal red أو تآزر مع ستريبتومايسين ستوبيتومايسين.	Malt Extract Agar

نورة الكبيسي

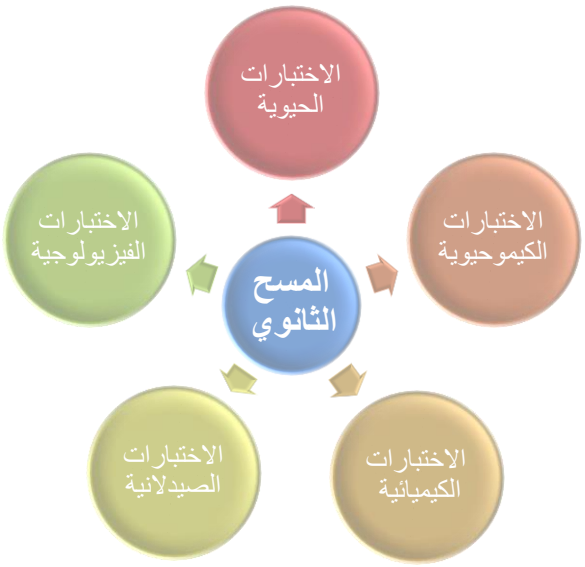
ثانياً : المسح الأولي عن المضادات الحيوية :

- المسح الأولي يتضمن طريقين من الاختبارات :

طريق الاختبارات التقليدية	طريق الاختبارات الحديثة
• ترتكز على تتبع النشاط الميكروبي في بيئة الآجار. • تستخدم في هذة الميكروبات *E.coli* و *Staphylococcus aures* وبعض أنواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام. • جميعها تستخدم لقياس نشاط النضاد الحيوي .	• طرق القياس بمعايير وأجهزة متنوعة. • تتضمن عمليات المسح الابتدائي عدد (5 - 6) خطوات.

ثالثا : المسح الثانوي عن المضادات الحيوية :

يتضمن :



نورة الكبيسي

مصـــطلحات هـــامة

المصطلح	التـــــعريف
ANTIMICROBIAL	مضاد **الميكروبات** وهو مادة طبيعية أو مصنعة أو شبه مصنعه لها القدرة على قتل أو تثبيط الميكروبات.
ANTIBACTERIAL	مضاد **البكتيريا** وهو يقتل أو يثبط النمو البكتيري.
ANTIFUNGAL	مضاد **الفطريات** يستعمل لمعالجة الإصابات الفطرية.
ANTIPARASITIC	مضاد **للطفيليات** يعمل على قتل أو تثبيط الطفيليات.
ANTIVIRAL	مضاد **الفيروسات** وهو يستخدم لمعالجة الاصابات الفيروسية.
ANTISEPTIC	**المطهر** وهو مادة تعمل على تعقيم الأسطح الخارجية كالجلد وهي ليست سامة.
DISINFECTANTS	المطهرات تعمل على قتل الكائنات المجهرية التي على الأجهزة والأدوات لأنها سامة.
SANITIZER	يخص الصحة وهو عوامل تقلل عدد الميكروبات لمستويات آمنة لا توجد إزالة كلية للميكروبات.
ANTIBIOTICS	**مضادات حيوية** : وهي مواد كيمائية تقتل أو تثبط الميكروبات.

نورة الكبيسي

صفات الجودة في المضاد الحيوي:

- قدرتها على إبادة عدد من الميكروبات.
- أن لا تنتخب سلالة مقاومة لها من الميكروب.
- غيرسام وخالي من الأعراض الجانبية.
- أن لا يسبب الحساسية.
- سرعة الانتشار والوصول الى مكان العدوى.
- أن يكون مستقرا كيميائيا.
- أن يكون سهل الإنتاج و منخفض التكلفه.
- لا يقضي على الفلورا الطبيعيه Normal flora.

عند الكشف عن نشاط المضاد الحيوي يجب معرفة تأثير ونشاط المضاد الحيوي بطريقتين:

1 - هل ينتج مضاد حيوي أو هل المادة المعزولة لها عمل مضاد

2- معرفة حساسية الميكروبات تجاه المضاد الحيوي

- المضادات الحيوية من حيث مصادرها:

مواد كيميائية عضوية طبيعية : البنسلين .

- أول من أطلق مصطلح **Antibiotic** على المضادات الحيوية هو العالم الأوكراني سليمان إبراهيم واكسمان .
- اكتشف المضاد **Streptomycin** وقد حاز على جائزة نوبل في علم وظائف الأعضاء.

نورة الكبيسي

- في السابق كان مصطلح **antibiotic** يستخدم للدلالة على المواد ذات المصدر الطبيعي لكن هذا المصطلح أصبح أشمل من ذلك ليشمل الصناعي والطبيعي وشبه الطبيعي.

مصادر المضادات الحيوية من الأصل الميكروبي:

مصدر المـــضاد الحيوي	الـــكائن الحي الدقيق
البكتيريا مثل : Bacitracin	*Bacillus licheniformis*
الفطريات الخيطية :البكتيريا الشعاعية **مثل:** Streptomycin	*Streptomyces griseus*
الفطريات مثل: Penicillin	*Penicillium notatum*

يعتمد عمل المضاد الحيوي تجاه نمو معين على عدة عوامل:

1. تركيز المضاد الحيوي .
2. طبيعة وسط النمو.
3. كثافة النمو.
4. مرحلة و نمو الكائن الحي .
5. نسبة ظهور الطفرات المسببة لمقاومة المضاد.

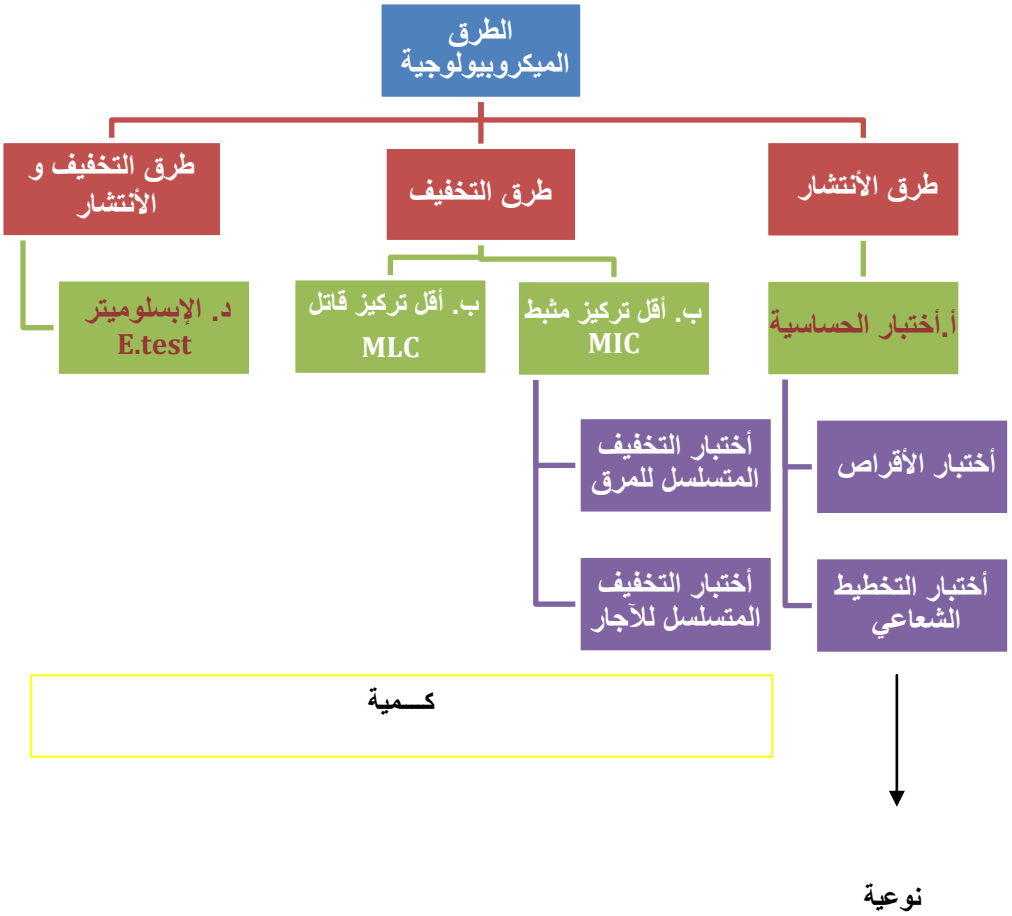
قياس نشاط المضادات الحيوية

Measuring Antibiotic activity

عن طريق إختبارات داخل الأنبوب *In vitro* ثم يحول ما يكافئ هذ المقادير حين يراد استعمالها في داخل جسم الكائن الحي *In vivo*.

الطـــرق الميكروبيولوجية

هي الطرق التي تعتمد على زرع البكتيريا في البيئات الصناعية لتحديد نشاط المضاد الحيوي ، ومنها



Antibiotic Sensitivity Tests

اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية

هو اختبار يجرى للتنبؤ بنجاح أو فشل المضاد الحيوي في العلاج ، حيث تقاس استجابة نمو الكائن الدقيق المعزول لدواء معين (مضاد) ونتائج هذه الاختبارات تستخدم لاختيار المضاد المناسب مقرونة مع المعلومات السريرية للعلاج الأمثل للمريض.

- **الأهداف الرئيسية لهذه الاختبارات هي:**

1- كدليل للعلاج: من خلال معرفة حساسية الميكروب لتركيز معين من المضاد.

2- كأداة للتنبؤ بالوبائية: من خلال تحديد ظهور سلالات مقاومة من العوامل الممرضة الرئيسية e. g. *Shigella,Salmonella typhi*

3- استمرار مراقبة نمط الحساسية في أكثر السلالات انتشارا مثل المكورات العنقودية، العصيات سالبة الجرام :

e. g. *Staphylococci, Gram-negative bacilli*

ما يجب معرفته عند اجراء اختبار الحساسية للمضادات الميكروبية

(Antimicrobial Susceptibility Testing -AST)

- ✓ ماهو الميكروب تحت الاختبار؟
- ✓ ما هي طرق الاختبار المستخدمة؟
- ✓ ما هي المضادات الحيوية التي سيتم اختبارها؟
- ✓ كيفية تحليل النتائج وكتابة التقرير؟

التحضير للاختبار

1. تنقية الميكروب محل الدراسة .
2. تحضير المعلق البكتيري ويتم تقدير عدد الخلايا في المعلق بإحدى الطرق التالية:

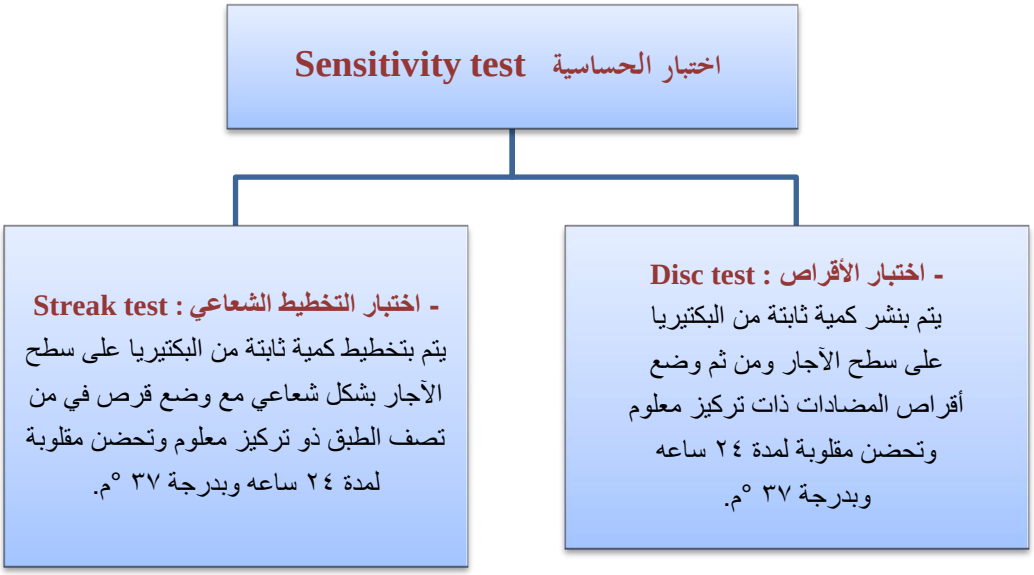
The optical density (OD) at 600nm (Spectrophotometry)

Turbidity standard (McFarland) routinely performed.

3-اختيار المضادات للاختبار:

أ.المضادات التي تتوفر في معظم المستشفيات والتي ينبغي أن يتم بها الفحص الروتيني لكل سلالة.

- تعيين الأدوية التي يتم اختبارها فقط بناء على طلب خاص من الطبيب أو عندما يكون الكائن المسبب للمرض مقاوم للعقاقير الخيار الأول أو أسباب أخرى عندما يكون هناك) حساسية من دواء، أو بسبب عدم توافره(كل ما سبق جعل إجراء اختبارات الحساسية مبررا للحصول على المضاد الأنسب).



المواد و الأدوات :

1- بيئة آجار ميلر هنتون **(Mueller Hinton Agar)**

تتكون من : beef infusion, peptone, and starch and Robust red algae (Solieria robusta) Source of Agar

2- مزارع بكتيرية + **Turbidity test**

3- مضادات حية.

4- Swaps

طريقة العمل :

- تحضر أطباق بتري تحتوي على بيئة آجار مولر هنتون.

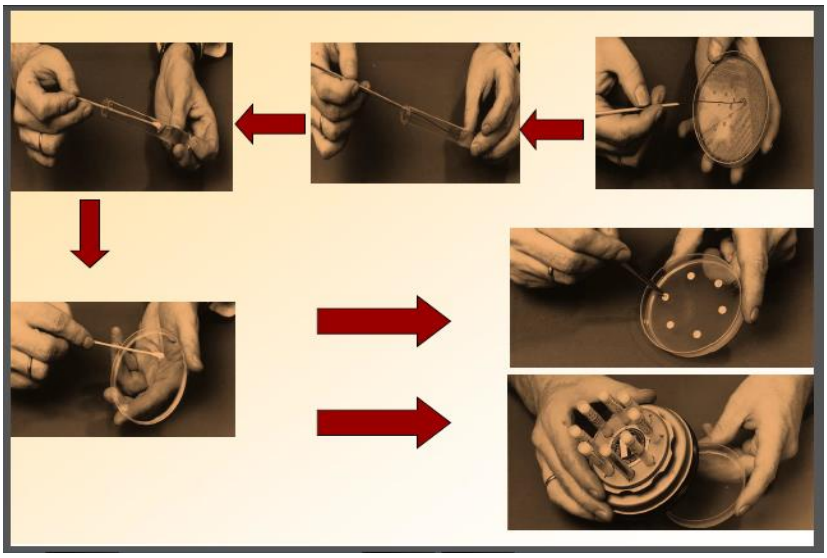
- يحضر معلق للمزرعة الكتيرية النقية حديثة العمر بواسطة أبرة التلقيح المعقمة حيث :

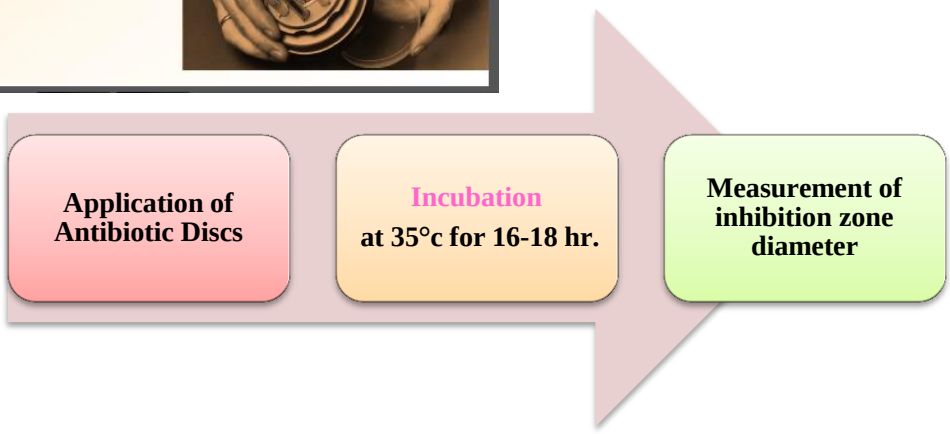
يؤخذ مقدار من المزرعة (3-5) مستعمرات وتنقل الى أنبوبة تحتوي على 5 مل من السلاين للحصول على تركيز مكافئ لمقياس McFarland 10^8 CFU/ml 0.5 وترج الأنبوبة.

- يلقح سطح الطبق من المعلق البكتيري السابق بواسطة Cotton swap.

- توضع أقراص من المضادات الحيوية على أبعاد متساوية على سطح الطبق الملقح بالمزرعة البكتيرية بواسطة ملقط معقم بالتلهيب الكحولي.

McFarland standards (left to right) 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, positioned in front of a Wickerham card. McFarland standards are used to prepare bacterial suspensions to a specified turbidity. In the Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol, the bacterial suspension of the organism to be tested should be equivalent to the 0.5 McFarland standard.





العوامل المؤثرة على حجم منطقة التثبيط:

1. كثافة المعلق .
2. توقيت وضع أقراص المضاد :
3. حيث أن ترك الأطباق لفترة طويلة في درجة حرارة المعمل بعد وضع الاقراص قد يسبب تكون هالات صغيرة.
4. درجة حرارة التحضين .
5. وقت التحضين :

6. الوقت المثالي مابين 16-18 ساعة و أقل من ذلك لاتظهر النتائج بشكل سليم.

7. عمق الآجار (4مم) : كلما زاد العمق زاد قطر التثبيط.

8. التباعد المناسب بين الأقراص : 2.5 سم لتجنب تداخل منطقة التثبيط.

9. مكونات البيئة :تؤثر على نمو الميكروب وانتشار المضاد الحيوي خلالها.