

Microdilution MIC Test

الهدف من التجربة: تحديد ومعرفة MIC لكل مضاد والمقارنة بينهم.

طريقة العمل:

أولاً: تحضير التركيزات المختلفة من المضادات الحيوية التالية: Chloramphenicol، Gentamicin ، Ampicillin ،Augmentin

يتم بتحضير التركيز الأساسي ١٠ ملجم/مل ثم يخفف كالتالي:

- 1- نقل ١ مل من التركيز الأساسي إلى أنبوبة ٩ مل من المذيب فنحصل على التركيز الثاني ١ ملجم /مل
- 2- ينقل ١٠٠ ميكرو لتر من التركيز الأساس إلى أنبوبة بها ٩,٩ مل من المذيب فنحصل على التركيز الثالث ٠,١ ملجم /مل.

تحضير التخفيفات المتدرجة من المضاد الحيوي المستخدم:

من التركيز الأول الأساسي (التركيز الأساسي ١٠ ملجم/مل)

١. ينقل ٢٥٦ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ١٢٨
٢. ينقل ١٢٨ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٦٤
٣. ينقل ٦٤ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٣٢
٤. ينقل ٣٢ ميكرو لتر إلى الأنبوبة رقم ١٦

- من التركيز الأساسي الثاني (التركيز الثاني ١ ملجم /مل)

١. ينقل ١٦٠ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٨
٢. ينقل ٨٠ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٤
٣. ينقل ٤٠ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٢

- من التركيز الأساسي الثالث (التركيز الثالث ٠,١ ملجم /مل)

١. ينقل ٢٠٠ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ١
٢. ينقل ١٠٠ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٠,٥
٣. ينقل ٥٠ ميكرو لتر إلى الأنبوبة ٠,٢٥

لا يضاف أي مضاد إلى الأنبوبة ٠ ملجم /مل كنترول خالي من المضاد للمقارنة.

	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠	١١	١٢
التركيز النهائي ملجم/مل	٠,٢٥	٠,٥	١	٢	٤	٨	١٦	٣٢	٦٤	١٢٨	كنترول (-)	كنترول (+)
الحجم المنقول بالميكرو لتر	٥٠	١٠٠	٢٠٠	٤٠	٨٠	١٦٠	٣٢	٦٤	١٢٨	٢٥٦	٣٠٠	لا شيء
المصدر	من التركيز الثالث			من التركيز الثاني			من التركيز الأول				١٢٨	-
الحجم من المرق	٢٥٠	٢٠٠	١٠٠	٢٦٠	٢٢٠	١٤٠	٢٨٦	٢٣٦	١٧٢	٤٤		٣٠٠

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 المستخدمة في كل عمود.

أولاً: ينقل ٧٥ ميكرو لتر من كل تخفيف من المضاد الحيوي المستخدم إلى صفيين من الأنابيب.

تحضير اللقاح: يحضر ٠,٥ ماكفراند ويخفف في ١٠٠:١ مل من بيئة المرق المغذي لكل الأجناس البكتيرية المختبرة.

ينقل حجم مماثل من المعلق البكتيري في كل أنبوبة الأجناس البكتيرية المختبرة كل على حده.

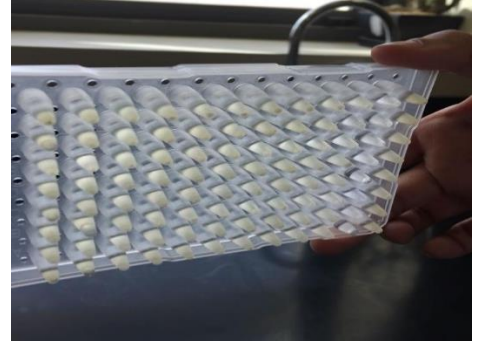
- بالإضافة إلى الكونترول:

١. كونترول (١) المرق الوسط الغذائي المستخدم ملتح بالبكتيريا المختبرة بدون إضافة المضاد الحيوي. (+)

٢. كونترول (٢) المرق المغذي مع مضاد حيوي بدون معلق بكتيري. (-)

يغطي الطبقة Microtiter plate بالبلاستيك ويحضر عند ٣٧ - ٣٥ م لمدة ٢٠ - ١٦ ساعة وتسجل النتائج.

النتائج:



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
E.coli	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	+++
Staphylococcus	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	+++
Pseudomonas	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++

المناقشة:

لم تظهر عكارة أي نمو بكتيري (Pseudomonas) عند Well رقم ١٠ حرف G وتركيزه ١٢٨ وهذا يدل على قدرة المضاد (Chlorophenol) عند هذا التركيز لتثبيط النمو لذلك هو تركيز MIC لهذا المضاد.

ولاحظنا ظهور نمو بكتيري في كل Well مما يدل على مقاومة جميع الأنواع البكتيرية (E. coli, Staphylococcus) لهذه المضادات عند كل من هذه التراكيز لذا لا يمكن تحديد تركيز مثبط للنمو MIC عند هذه التراكيز ومن الممكن تحضير تراكيز أخرى من المضادات بشرط أن يكون أعلى من التراكيز السابقة.

نورة الربيعه، طرفة الفصام، هند الدخيل، هديل الدرسوني، سارة الدلحي