

تقدير عدد الخلايا البكتيرية باستخدام مقياس ماكفرلاند

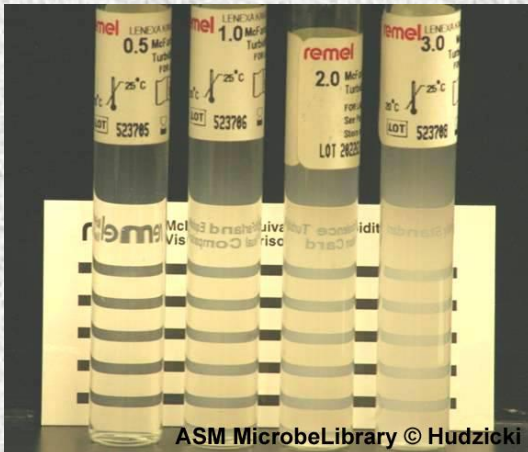
في علم احياء الدقيقة يتم استخدام مقياس ماكفرلاند standard McFarland كمرجع ضابط، لتقدير عكارة المعلق البكتيري بحيث يكون عدد الخلايا البكتيرية في معلق ما معلوم أو على الاقل ضمن مدى معين

*** إعداد مقياس ماكفرلاند standard McFarland** يتم بخلط كميات محددة من كلوريد الباريوم chloride barium وحمض الكبريتيك acid sulfuric ، مما يؤدي إلى تكون راسب من كبريتات الباريوم precipitate sulfate barium . يعتكر 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. 4 McFarland standard

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) Density Optical 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 عكارتة ليحاكي مقياس ماكفرلاند المستخدم في المقارنة.



Microdilution MIC Test

والا: تحضير التركيزات المختلفة من المضاد

يتم بتحضير التركيز الاساسي 10 ملجم/مل ثم يخفف كالتالي:

- 1- نقل 1 مل من التركيز الاساسي إلى أنبوبة 9 مل من المذيب فنحصل على التركيز الثاني 1 ملجم /مل
 - 2- ينقل 100 ميكرو لتر من التركيز الاساس إلى أنبوبة بها 9.9 مل من المذيب فنحصل على التركيز الثالث 1.0 ملجم /مل .
- تحضير التخفيفات المتدرجة من المضاد الحيوي المستخدم :

تحضر التخفيفات من 5.0 إلى 128.0 ملجم /مل

-من التركيز الأول الاساسي التركيز الاساسي 10 ملجم/مل (1)

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 الاساسي الثاني (لتركيز الثاني 1 ملجم /مل 1)

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 1.0 ملجم /مل)

1-ينقل 200 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 1

2-ينقل 100 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 0.5

3-ينقل 50 ميكرو لتر إلى الأنبوبة 0.25

لا يضاف أي مضاد إلى الأنبوبة 0 ملجم /مل كونترول خالي من المضاد للمقارنة

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

ثانيا: تحضير المعلق البكتيري

اللقاح القياسي: عبارة 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 تبعا للتخفيفات المستخدمة في كل عمود.

اولا : ينقل 75 ميكروليتر من كل تخفيف من المضاد الحيوي المستخدم إلى صفيين من الأنابيب

تحضير اللقاح : يحضر 5.0 ماكفرلاند ويخفف في 1:100 مل من بيئة المرق المغذي لكل الأجناس البكتيرية المختبرة

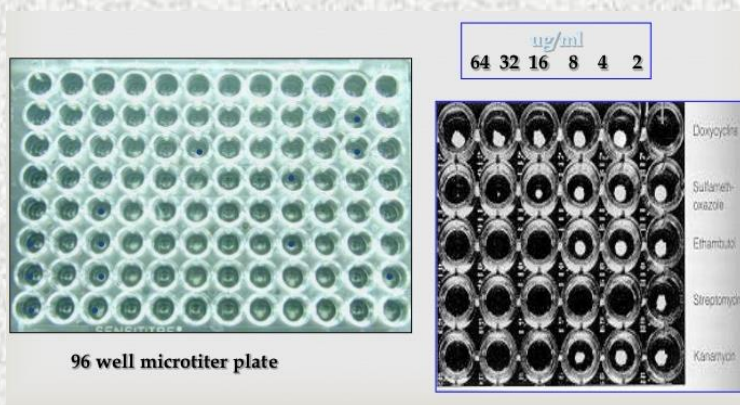
-ينقل حجم مماثل من المعلق البكتيري في كل أنبوبة للأجناس البكتيرية المختبرة كل على حده

بالإضافة إلى الكونترول:

1- كونترول (1) المرق الوسط الغذائي المستخدم ملقح بالبكتيريا المختبرة بدون إضافة المضاد الحيوي

2 - كونترول (2) المرق المغذي مع مضاد حيوي بدون معلق بكتيري

يغطي الطبقة plate Microtiter بالبلاستيك ويحضر عند 35 - 37 م لمدة 16 - 20 ساعة وتسجل النتائج



The Micro scan

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 مسنولة عن تفاعل كيميائي معين أو عن مضاد حيوي معين . (للبكتيريا الموجبة لجرام panel خاص ، وللبكتيريا السالبة لجرام panel خاص)

- يتم وضع الأطباق panels بعد تلقيحها 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-Micro scan

-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.

