

اختبار حساسية الجراثيم للصادات الحيوية Antibiotic Sensitivity test

الهدف من إجراء الاختبار هو تحديد فعالية الصاد الحيوي اتجاه الجرثوم المسبب لحالة مرضية ما بعد عزله وتحديد ذلك بغية وصف العلاج الناجح للمريض. ولتحقيق ذلك يمكن اتباع إما طريقة غير مباشرة (من مزرع جراثيم نقي) أو طريقة مباشرة (عينة مرضية، بول، دم، براز ... الخ)

متى يجب إجراء الفحص؟:

- 1- بناء على طلب الطبيب عندما تكون الجرثومة معندة للخيار الأول من الصادات.
- 2- للحد من الاستخدام الخاطئ للصادات.
- 3- عدم توفر أحد الصادات تجارياً.
- 4- يجب إجراء هذا الفحص دوماً للكشف عن ظاهرة المقاومة للصادات الحيوية.

ما هي العوامل التي تؤثر في اختيار الصاد الحيوي؟:

- إن أهم العوامل التي تؤثر في اختيار الصاد الحيوي هي :
- * عمر المريض (هناك صادات يحظر إعطاؤها للأطفال مثلا)
- * الحالة الفيزيولوجية (حمل، إرضاع، قصور كبدي أو كلوي)
- * مكان الخمج فإذا كان سطحي يمكن أن نستخدم صاد موضعي وإذا كان عميق يجب استخدام صاد ذو توافر حيوي جيد
- * حساسية المريض لصاد معين مثل البنسلين.
- * ويجب الأخذ بعين الاعتبار أيضا سعر الصاد وتوافره التجاري

طرق إجراء الاختبار:

يمكن إجراء الاختبار إما بطريقة الأقراس أو بطريقة التمديد broth dilution test، ونحن في هذه المحاضرة سنقتصر على إجراء طريقة الأقراس لأنها الأكثر انتشارا وهي الطريقة المطبقة بشكل عملي في المخابر.

طريقة انتشار الأقراس disk diffusion :

- تتم باستخدام طبق بتري يحوي على آغار موللر هنتون بحيث يكون عمق الآغار 4 ملم.
- 1- نستخدم عدة مجموعات من أقراص الصادات حيث كل قرص له رمز محدد وتركيز معين من الصاد (يجب إخراجها من البراد قبل نصف ساعة من العمل).
 - 2- نقوم بفرش العينة إما من مزرع الجراثيم أو من الآفة مباشرة وذلك بفرش العينة بكثافة مع تدوير الطبق عدة مرات.
 - 3- نترك الطبق ليحفظ عدة دقائق ثم نقوم بتطبيق أقراص الصادات بحيث تكون المسافة بين كل قرصين متجاورين 2.5 سم. والمسافة بين القرص وحافة الطبق 1.5 سم، ثم نضع الأطباق في الحاضنة .
- إن الذي يحدث هو أن الجرثوم ينمو والصاد ينتشر، فتظهر هالة من عدم النمو الجرثومي حول قرص الصاد الحيوي تدعى منطقة التثبيط zone inhibition.

بعد ذلك نقوم بقياس قطر الهالة بواسطة مسطرة ونقارن طول القطر مع جداول خاصة وتكون النتيجة:

* إما الجرثوم حساس للصاد الحيوي ويرمز له بالحرف (S) Sensitive.

* أو متوسط الحساسية للصاد الحيوي ويرمز له بالحرف (I) Intermediate.

* أو مقاوم للصاد الحيوي ويرمز له بالحرف (R) Resistance.



Table 5. CLSI-recommended reference MIC and zone diameter breakpoints for *S. aureus*⁴

Antimicrobial agent	Disc content (µg) *	Zone diameter breakpoints (nearest mm)*			MIC standard (µg/mL)*		
		S	I	R	S	I	R
Methicillin	5	≥ 14	10-13	≤ 9	≤ 8	—	≥ 16
Oxacillin	1	≥ 13	11-12	≤ 10	≤ 2	—	≥ 4
Cefoxitin	30	≥ 22	—	≤ 21	≤ 4	—	≥ 8
Vancomycin	—	—	—	—	≤ 2	4-8	≥ 16
Teicoplanin	30	≥ 14	11-13	≤ 10	≤ 8	16	≥ 32
Clindamycin	2	≥ 21	15-20	≤ 14	≤ 0.5	1-2	≥ 4
Daptomycin	—	—	—	—	≤ 1	—	—
Linezolid	30	≥ 21	—	—	≤ 4	—	—
Rifampin	5	≥ 20	17-19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4
Quinupristin-dalfopristin	15	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75	≥ 16	11-15	≤ 10	≤ 2/38	—	≥ 4/76

S – Susceptible; I – Intermediate resistance; R – Resistant

*Reproduced, with permission, from CLSI publication M100-S19, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Table 2C. Copies of the current edition may be obtained from Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA. www.clsi.org

وسط مولر هنتون Muller –Hinton Agar:

يعتبر وسط مولر هنتون وسط منمي عام حيث أنه يدعم نمو أغلب أنواع الجراثيم يحوي في تركيبه على:

- خلاصة مرق اللحم والكازئين كمصادر الكربون والنيتروجين والفيتامين والحموض الأمينية
 - كما يحوي 0.15 % نشاء لامتناسص أي نواتج استقلاب سامة ممكن أن تحد من عمل الصادات.
 - كمية منخفضة من أملاح المغنزيوم والبوتاسيوم حتى لا تمنع انتشار الصادات.
 - كمية منخفضة من الحموض الأمينية التيميديين و تيمين لأنها تتداخل مع عمل صادات السلفاميدات والتريميتوبريم.
- يمكن أن يضاف له دم بنسبة 5% عند إجراء الاختبار على العقديات.

بعض الأخطاء المرتكبة عند إجراء اختبار التحسس للصادات:

- 1- عدم ضبط كمية الجراثيم المزروعة: فإذا كانت الكمية قليلة يمكن أن يحدث تحسس كاذب, وإذا كانت الكمية كبيرة عندئذ تعطي مقاومة كاذبة.
- 2- إجراء اختبار التحسس على مزيج جرثومي, يفضل إجراء الاختبار على كل جرثومة لوحدها.
- 3- عدم ضبط ثخانة وسط التحسس: فالأوساط الرقيقة تعطي تحسس كاذب والأوساط السميكة تعطي مقاومة كاذبة.
- 4- عدم انتظار فترة كافية قبل وضع أقراص الصادات: حيث أن الرطوبة الزائدة على الطبق تؤدي إلى انحلال الصادات وامتزاجها مع بعضها مما يؤدي إلى نتائج خاطئة.
- 5- عدم ترك مسافة كافية بين الأقراص: مما يؤدي إلى تداخل الهالات مع بعضها وتشويش النتيجة.
- 6- سوء تخزين الأقراص مما يؤدي إلى تخرب الصادات و فقدان الفعالية.
- 7- الاعتماد على التقدير الشخصي في قياس قطر الهالات وتقييم النتيجة دون الانتباه لنوع الصاد ودون الرجوع إلى الجداول المرفقة.