



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی و
میکروبیولوژی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



آزمایشگاه میکروب ۲

آنتی بیوگرام

زمینه ی نظری

- در علم میکروبی شناسی به این دسته از دارو ها که بروی باکتری ها اثر می گذارند آنتی بیوتیک می گویند . هر دسته از آنتی بیوتیک ها بر روی باکتری خاصی تاثیر دارد و این دارو ها بر روی ویروس و یا سایر میکروارگانیسم ها تاثیری نخواهند داشت.
- این تست به ما نشان می دهد که کدام یک از آنتی بیوتیک ها بر روی میکروب مورد نظر موثر است . همانطور که می دانید نمونه های گرفته شده برای بخش میکروبیولوژی متفاوت هستند . اما نمونه ها هر چی که باشند (خون، مایع مغزی-نخائی، مدفوع ، ادرار ، خلط و ..) در آخر معمولا آنتی بیوگرام می شوند تا داروی موثر تجویز شود.



کاربرد تست آنتی بیوگرام و روشهای تست حساسیت دارویی باکتری ها

• آنتی بیوتیکها مواد شیمیایی هستند که بصورت سنتتیک یا طبیعی از قارچ ها و باکتری ها استخراج می شوند. طیف فعالیت ضد میکروبی داروهای مختلف، متفاوت است. بعضی از آنها دامنه فعالیت بسیار محدودی داشته و تنها بر روی یک گروه از میکروارگانیسم ها موثر می باشند. برخی دیگر بطور وسیع الطیف بر روی بسیاری از میکروارگانیسم ها تاثیر دارند. بنابراین این سوال در ذهن ایجاد می شود که ما از کجا بدانیم کدام آنتی بیوتیک بر روی چه باکتری هایی موثر است؟

• جواب سوال ما **تست آنتی بیوگرام** است که بصورت روتین در آزمایشگاه

های تشخیصی انجام می گیرد. در واقع می توان اذعان داشت که در عفونت های میکروبی، آزمایشگاه دارو را تجویز می کند نه پزشک.



زمینه ی نظری

- تعیین حساسیت باکتری ها به مواد ضد میکروبی توسط یکی از دو روش اصلی زیر صورت می-گیرد:

- ۱- رقیق کردن ۲- انتشار

- استفاده از یک روش استاندارد شده که تمام عوامل مؤثر بر فعالیت ضد میکروبی را کنترل می کند، اهمیت دارد.

- روش رقیق کردن:

- این روش معمولاً به صورت دیسک پلیت، قطره پلیت و سیلندر پلیت انجام می شود.



- در این روش مقادیر درجه‌بندی شده و مشخصی از مواد آنتی بیوتیکی داخل محیط کشت مایع یا جامد قرار داده می‌شوند. معمولاً دو بار رقیق سازی مواد ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سپس به محیط کشت، باکتری مورد آزمایش اضافه می‌گردد و در انکوباتور قرار می‌گیرد.

- قدم آخر پیدا کردن آن مقداری از آنتی بیوتیک است که بتواند از رشد باکتری‌ها جلوگیری کند یا آن‌ها را بکشد. مزیت استفاده از روش‌های رقیق کردن آب گوشت این است که می‌توان نتایج کمی را به دست آورد که نشانگر مقداری از دارو است که مهار یا کشتن میکروارگانیسم را سبب می‌شود.



اصول آنتی بیوگرام

• اصول آنتی بیوگرام بر پایه دو اصطلاح میکروب شناسی است یعنی:

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) .

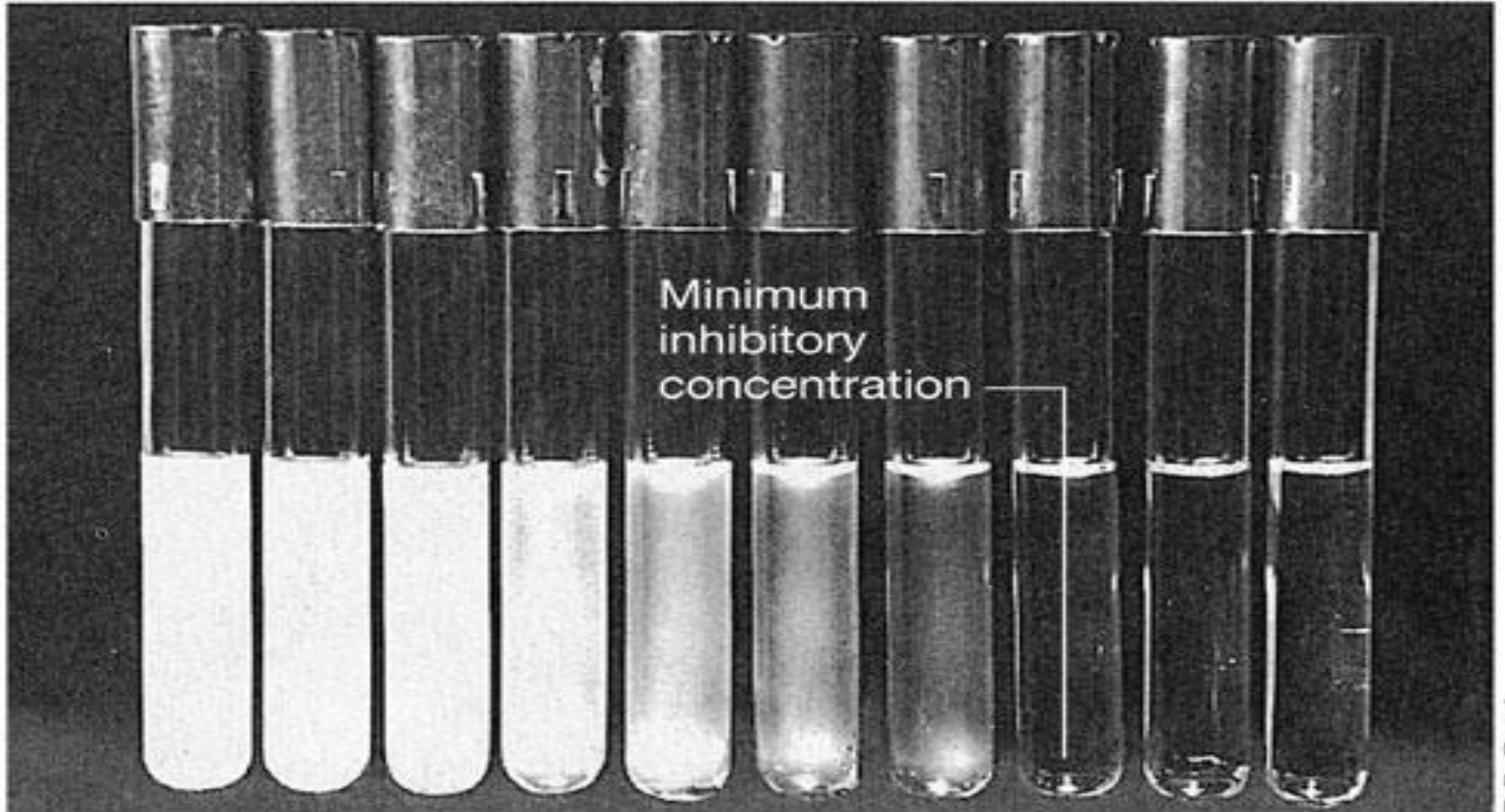
Minimum Bactericidal Concentration (MBC) .



• آزمایش حداقل غلظت مهاری (MIC) روش دیگری است. در این روش غلظت آنتی بیوتیک لازم برای مهار کردن رشد یک نمونه تلقیح شده استاندارد در شرایط تعریف شده را با دقت بیشتری اندازه گیری می کنند.

• یک روش رقیق سازی میکروسکوپی نیمه خودکار در این روش به کار می رود که در آن مقادیر تعریف شده ای از آنتی بیوتیک در حجم اندک و مشخصی از آب گوشت حل شده و تعداد استاندارد شده ای از میکروارگانیسم ها در داخل آن تلقیح می گردند.



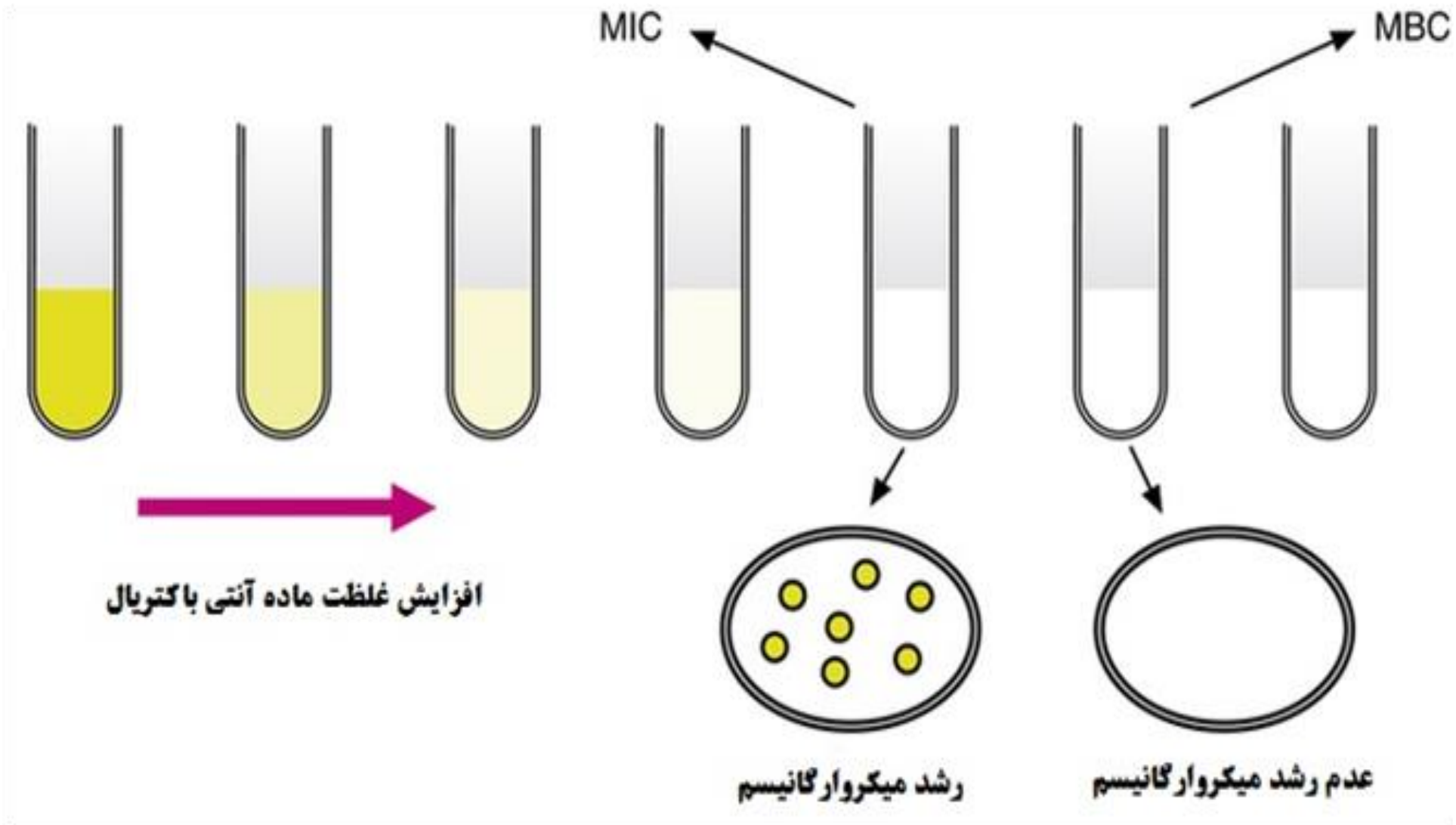


T. D. Brock

- حداقل غلظت مهاری (MIC)، آخرین ظرف آب گوشت (کمترین غلظت آنتی بیوتیک) است که شفاف (یعنی بدون رشد میکروبی) باقی می‌ماند. حداقل غلظت مهاری، تخمین بهتری از مقدار احتمالی آنتی بیوتیک مورد نیاز برای مهار رشد میکروارگانیسم در بدن فراهم می‌کند و بنابراین به تنظیم مقدار آنتی بیوتیک لازم برای بیمار کمک می‌نماید.

- علاوه بر این‌ها، با تهیه کشت مجدد از آب گوشت شفاف بر روی محیط جامد بدون آنتی بیوتیک، می‌توان اثرات باکتری کشی آنتی بیوتیک را تخمین زد. نتیجه به دست آمده، مثلاً کاهش واحدهای تشکیل دهنده کلنی به میزان ۹۹/۹٪ کمتر از نمونه کنترل، حداقل غلظت کشنده باکتری یا MBC خوانده می‌شود.



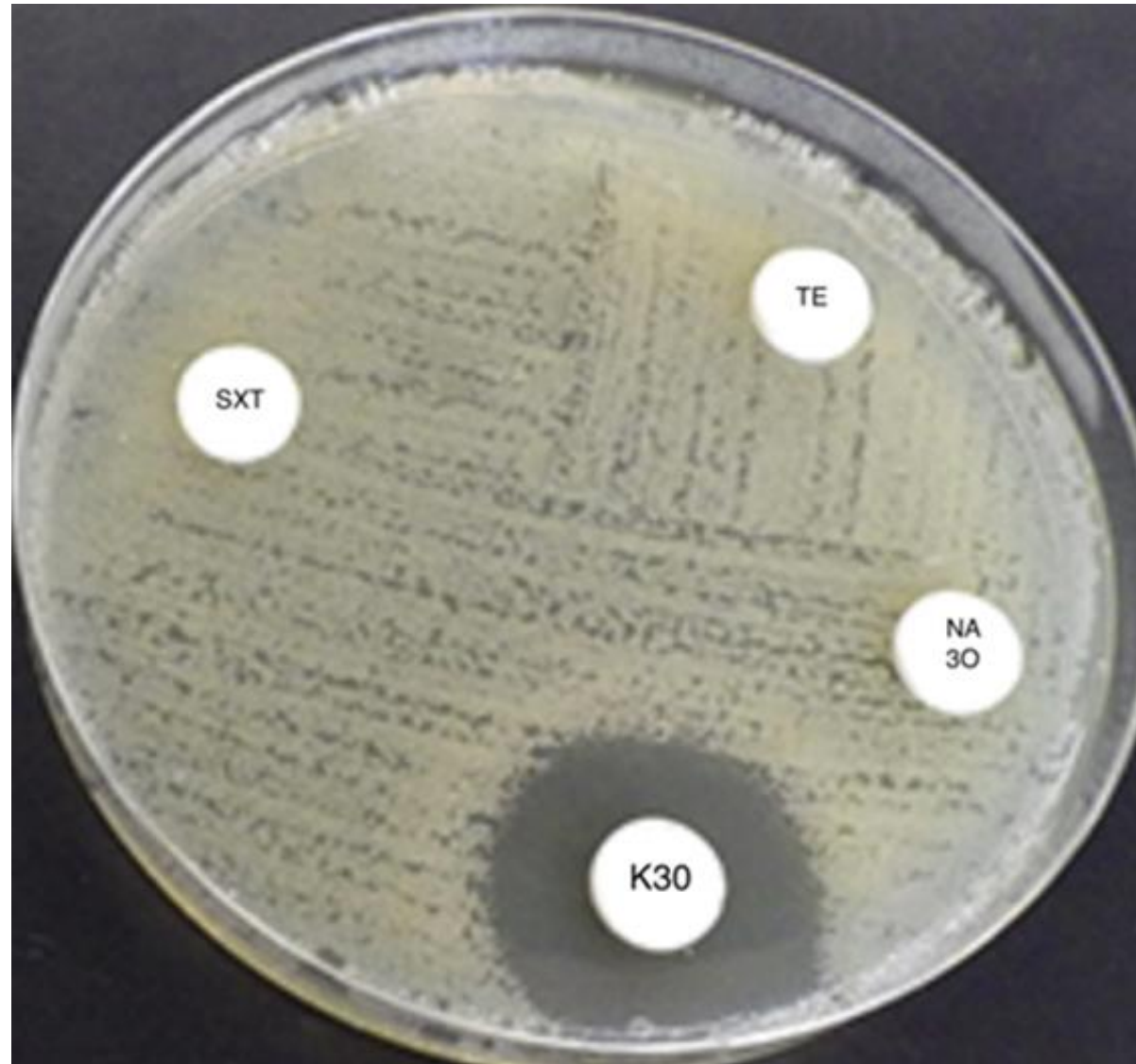


• روش انتشار

• آزمایش انتشار از دیسک برای تعیین حساسیت که کاربرد رایجی دارد، می‌بایست به صورت منطقی مورد استفاده قرار گرفته و با دقت و تأمل تفسیر گردد. به طور کلی، فقط یکی از اعضای هر رده مواد ضد میکروبی در این آزمایش نشان داده می‌شوند.

• شایع ترین روش مورد استفاده، آزمون انتشار در صفحه است. یک صفحه کاغذ صافی حاوی مقادیر اندازه گیری شده‌ی مواد ضد میکروبی بر سطح یک محیط کشت جامد که به آن ارگانوسم‌های آزمایش تلقیح شده است، قرار داده می‌شود. پس از انکوباسیون، قطر ناحیه‌ی شفاف دور مواد ضد میکروبی ریخته شده که بر اثر مهار رشد باکتری پدید آمده، به عنوان شاخص قدرت مهاری ماده ضد میکروبی در برابر ارگانوسم مورد آزمایش در نظر گرفته می‌شود.





تهیه کننده : سهیلا عباسی

- این روش علاوه بر واکنش مواد ضد میکروبی و میکروارگانیزم به عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلفی مانند ماهیت و قدرت انتشار محیط کشت و پایداری مواد ضد میکروبی و اندازه مولکولی مواد ضد میکروبی هم وابسته است. از طرف دیگر، استاندارد کردن شرایط، تعیین حساسیت ارگانیزم را امکان پذیر می‌سازد.

- ارتباط بین لگاریتم حداقل غلظت مهار کننده در آزمون‌های رقیق کردن و قطر محدوده‌ی مهار شده در آزمون‌های انتشار را می‌توان با رسم منحنی‌های رگرسیون نشان داد.

- با استفاده از یک صفحه برای هر آنتی بیوتیک، تحت شرایط استاندارد، می‌توان مقاومت یا حساسیت میکروارگانیزم را نسبت به وضعیت استاندارد به دست آورد. (از طریق مقایسه با اندازه‌ی استاندارد ناحیه‌ی مهار شده دور صفحه توسط همان آنتی بیوتیک).



- اندازه مناطق مه‌ار رشد، بر حسب ویژگی‌های مولکولی مواد ضد میکروبی مختلف، متفاوت است. بنابراین اندازه منطقه مه‌اری یک ماده ضد میکروبی را نمی‌توان با اندازه منطقه مه‌اری ماده ضد میکروبی دیگری که بر همان ارگانیسم تأثیر دارد مقایسه کرد.

- با این وجود، برای هر ماده‌ی خاص، اندازه این منطقه را می‌توان با یک استاندارد مقایسه نمود. مشروط بر این که محیط کشت، حجم نمونه تلقیح شده و سایر شرایط به دقت کنترل و تنظیم شده باشند. به این ترتیب تعریف یک قطر حداقل منطقه مه‌اری برای هر ماده ضد میکروبی امکان پذیر می‌شود، که نشان دهنده حساسیت یک نمونه جدا شده در تکنیک انتشار از دیسک می‌باشد.



روش های مختلف انجام تست تعیین حساسیت داروئی

- . Disk diffusion (Kirby Bauer)
- . Broth micro-dilution MIC (NCCLS) متد رفرنس
- . Etest



• روش انتشار دیسک در آگار (Disk diffusion) یکی از روش های روتین و کاربردی در آزمایشگاه می باشد. در این روش دیسک های حاوی آنتی بیوتیک روی محیط کشت جامد قرار می گیرند. این دیسک ها هم اندازه بوده و با

غلظت های مشخصی از آنتی بیوتیک آغشته شده اند. محیط کشت مورد استفاده

در این **تست مولر هینتون آگار** نام دارد. آنتی

بیوتیک از دیسک به محیط اطراف منتشر شده و مانع از رشد نمونه میکروبی مورد نظر می شود. با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد به سادگی می توان حساسیت باکتری را نسبت به آنتی بیوتیک ها تعیین نمود.



Quality Control of Antimicrobial Susceptibility Tests

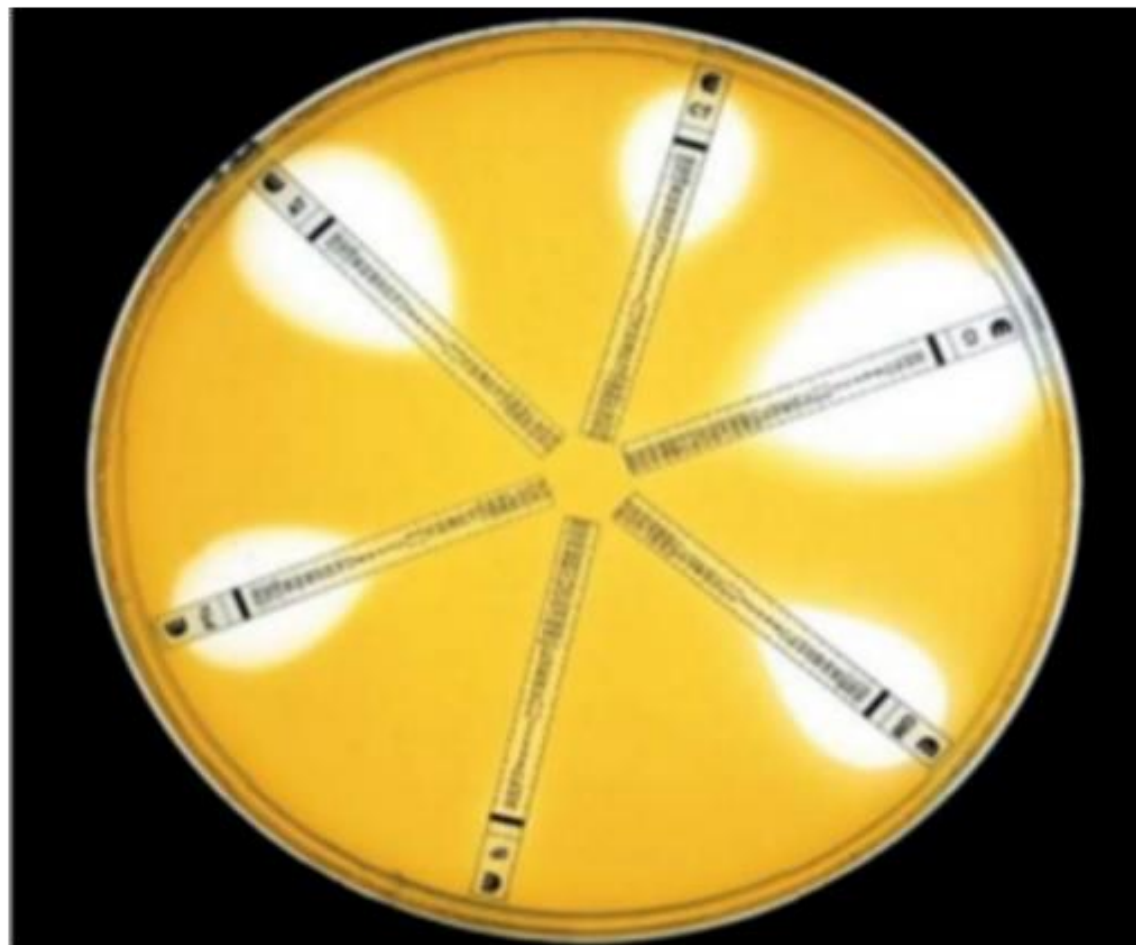


آزمایش Etest

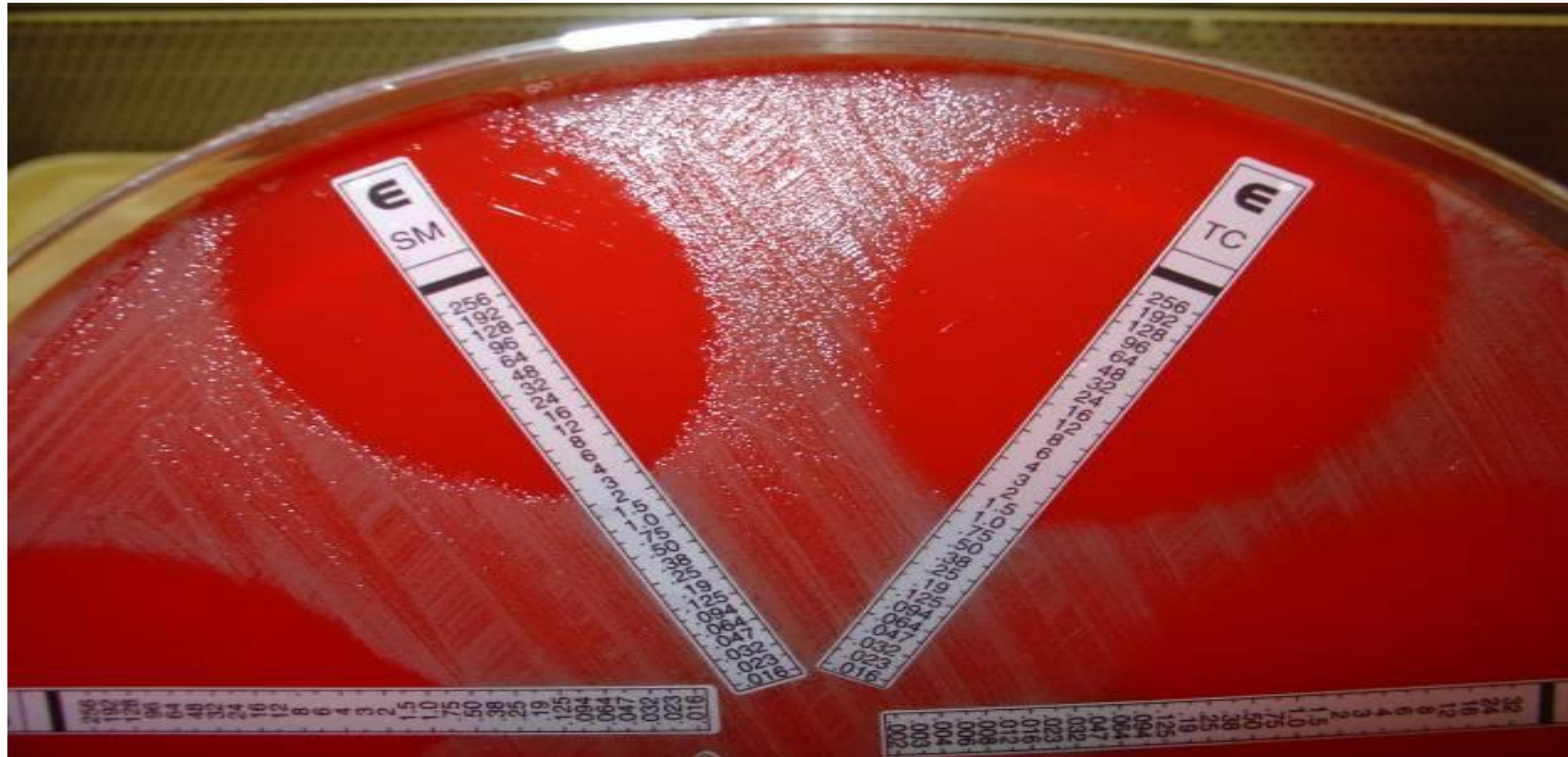
• روش دیگر تعیین حساسیت دارویی باکتری ها، آزمایش Etest می باشد. در این روش باکتری مورد آزمایش به روش خطی در سه جهت بر سطح آگار کشت داده می شود. نوار های پلاستیکی مخصوص Etest بصورت شعاعی بر سطح آگار قرار داده می شود. هر نوار بصورت گرادیان غلظت توسط یک آنتی بیوتک آغشته شده است. ابتدای نوار که از غلظت کمتری برخوردار است به سمت مرکز پلیت قرار دارد. پس از کاشت نوار ها، پلیت را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد نگهداری کرده، سپس هاله بیضوی شکل عدم رشد نمایان می شود.



تست آنتی بیوگرام به روش Etest



Etest – antimicrobial gradient method



وسائل و موارد مورد نیاز برای تست انتی بیوگرام "دیسک دیفیوژن

- لوله حاوی نیم مک فارلند
- لوله حاوی یک سی سی سرم فیزیولوژی استریل
- دیسک های انتی بیوگرام
- باکتری خالص در محیط کشت مناسب
- محیط کشت مولر هینتون آگار
- خط کش
- دیسک های آنتی بیوگرام
- چراغ الکی
- پنس استریل، سواب ، انس ، شعله ، هود ، چراغ



محیط نیم مک فارلند

محیط نیم مک فارلند محیطی در تست آنتی بیوگرام است که میزان کدر بودن نمونه خود را با آن مقایسه می کنیم. این محیط حاوی $10^8 \times 1/5$ باکتری است. نحوه تهیه این محیط در آزمایشگاه به شرح زیر است:

- ۰/۵ سی سی از کلرور باریوم ۰/۱٪
- ۹۹/۵ سی سی از اسیدسولفوریک ۰/۱٪



• ۶ ماه در تاریکی و در ظرف در بسته که به وسیله آتش بسته شده است می تواند مورد استفاده قرار گیرد. اما با این اوصاف، اگر در هر زمان رسوبی در لوله مشاهده شد ، محیط غیر قابل استفاده خواهد بود.

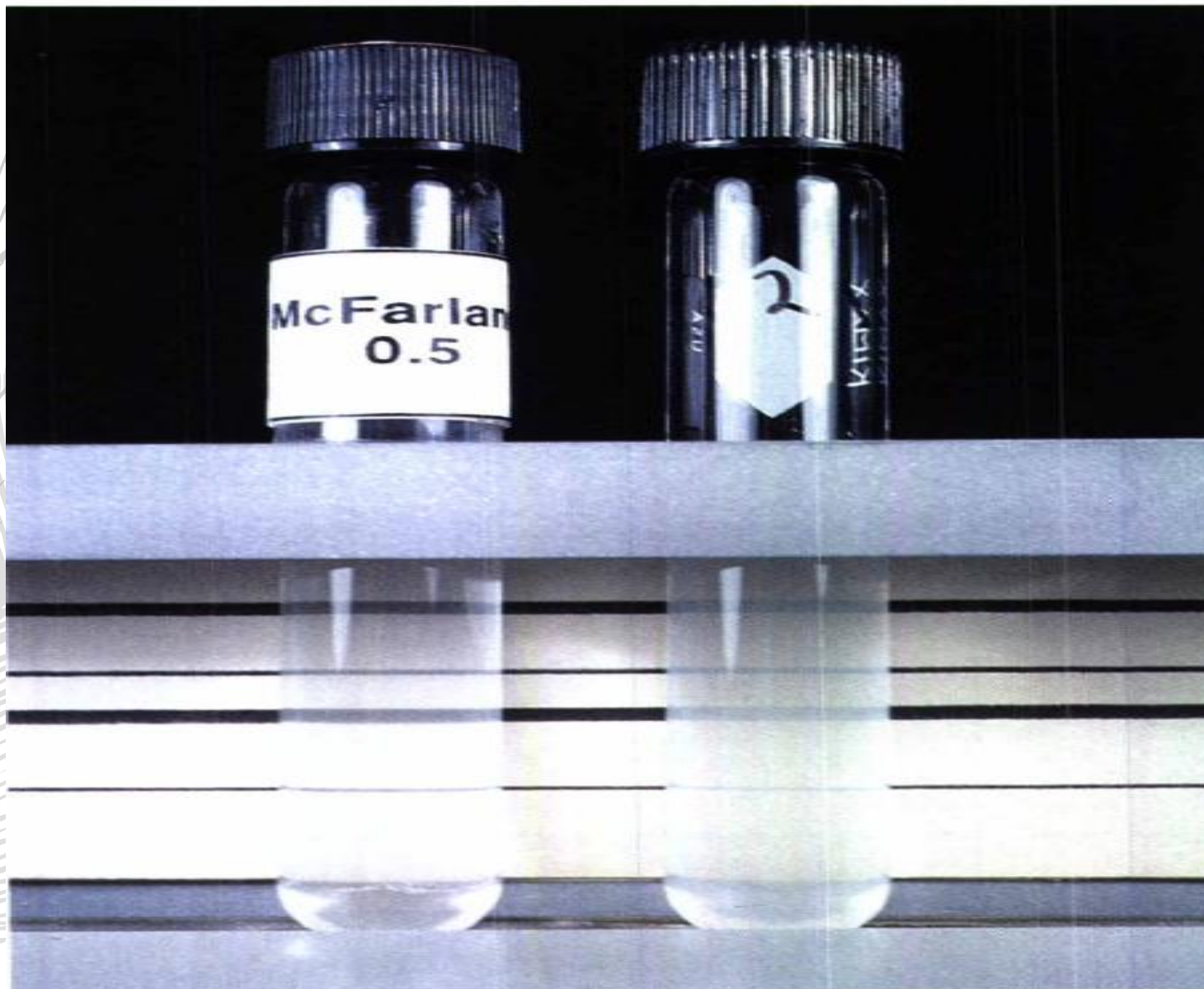
• زمانی که می خواهیم از این محیط استفاده کنیم باید آنرا به خوبی هم بزنییم و جهت مقایسه کدورت لوله کشت با لوله مک فارلند، استفاده از یک زمینه سفید با خطوط سیاه و نور کافی توصیه می شود این اقدام بویژه جهت باکتری‌هایی مثل هموفیلوس، گنوکک و پنوموکک که در محیط آبگوشت به خوبی رشد نمی کنند توصیه می شود.



MacFarland 0.5 and Adjusted Test Organism



25



تهیه کننده : سهیلا عباسی



روش کار

- بعد از ایزوله کردن باکتری ، مقداری از کلونی باکتری را به وسیله انس (نه لوپ) برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل می کنیم . باید در نظر داشت که چون ، در تست آنتی بیوگرام میزان کدر بودن برای ما خیلی مهم است ، بنابراین در انتخاب مقدار نمونه باید دقت کنیم تا نمونه را بیشتر یا کمتر از نیم مک فارلند برنداریم .

- اگر میزان کدورت کمتر از نیم مک فارلند باشد، مقداری دیگر از نمونه را در سرم فیزیولوژی استریل حل می کنیم و یا اگر میزان کدر بودن ، بیشتر از نیم مک فارلند باشد در این صورت باید مقداری سرم فیزیولوژی استریل اضافه کرد تا به کدورت مناسب و برابر با نیم مک فارلند برسیم .



- بعد از تهیه محلول هموزن خود ، با سواب استریل محلول را به هم زده و بعد از آبکشی کردن سواب ، (برای آب کشی ، سواب را با قدرت به دیواره لوله تکیه داده و فشار دهید تا آب آن گرفته شود .) آن را به محیط کشت مولر هینتون انتقال می دهیم و به طور کامل به وسیله سواب ، محیط کشت را به صورت چمنی کشت می دهیم به طوری که هیچ محلی در محیط از قلم نیافتد.



- بعد از کشت، دیسک های انتی بیوگرام که قبل از نیم ساعت از تست ، بیرون یخچال قرار داده شده اند را انتخاب و بر روی محیط کشت انتقال می دهیم .
- باید ذکر کنم که نحوه قرار دادن دیسک ها در محیط کشت مولر هینتون ، به صورت دایره ای است و فاصله این دیسک ها از هم دیگر حدود ۳۰ میلیمتر باشد و باید از دیواره هم ۱۵ میلیمتر فاصله داشته باشند . در ضمن فاصله این دیسک ها را می توان با توجه به تجربه خود کم و یا زیاد کنیم.
- دیسک های مورد استفاده هم باید با نوع باکتری ایزوله شده ما مناسب باشد مثلا هیچ وقت برای باکتری گرم منفی ، پنی سیلین قرار نمی دهیم چون نسبت به آن مقاوم هستند و یا اینکه آنتی بیوتیک کلروامفینیکل را برای کشت ادرار قرار نمی دهیم چون این انتی بیوتیک نمی تواند وارد مجاری ادراری شود و...



بعد از قرار دادن دیسک ها ، در پلیت را بسته و به مدت ۲۴ ساعت آنها را در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ، انکوبه می کنیم (لازم به ذکر است که بنابه به تحقیقات تازه محققین ، دمای انکوبه برای آنتی بیوگرام به ۳۵ درجه کاهش یافته است و مدت زمان آن هم به ۱۶ تا ۱۸ ساعت کاهش یافته است). بعد از ۲۴ ساعت پلیت را زیر چراغ بررسی می کنیم.

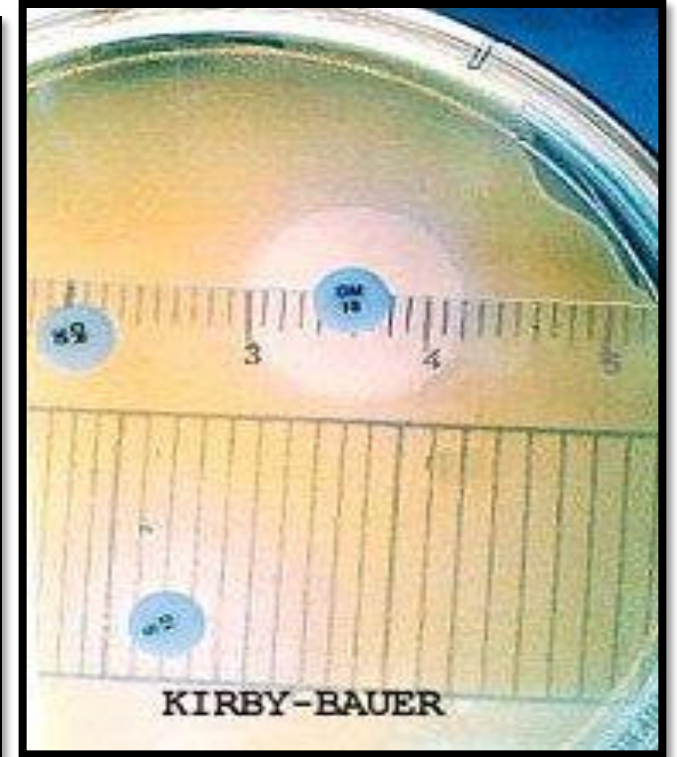
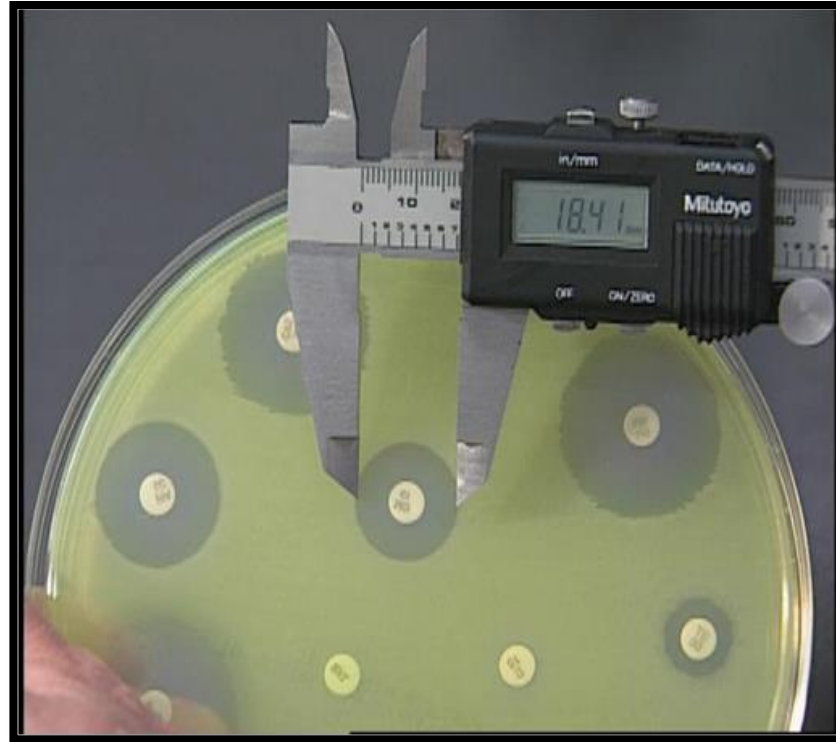
آنگاه می باید قطر هاله عدم رشد را با خطکش اندازه گیری کرد و با توجه به جدول همراه دیسک ها ، گزارش تست آنتی بیوگرام خود را برای هر یک از آنتی بیوتیک ها ، به

صورت **حساس (Susceptible) ، مقاوم (Resistant)** و یا **نیمه**

حساس (Intermediate) گزارش می شود.



Measuring Conditions



Calipers

Ruler



نحوه خواندن و گزارش کردن

بعد از انکوبه ، محیط ما باید به صورت زیر باشد:

همان طور که مشاهده می کنید در اطراف برخی از دیسک ها هاله روشن وجود دارد که این نشان دهنده حساس بودن آن باکتری به آن دیسک است و باید حساس گزارش شود . همچنین در اطراف بعضی از دیسکها هیچ گونه هاله ای نیست در این حالت این باکتری را باید نسبت به آن دیسک مقاوم گزارش داد . اگر طبق جدول خود هیچ یک از حالات فوق مشاهده نشود در اینصورت نیمه حساس را گزارش می کنیم



تهیه کننده : سهیلا عباسی



چند نکته مهم:

- در اندازه گیری از خط کش معمولی و یا ویژه این کار استفاده کنید.
- همیشه امتداد خط کش باید از وسط دیسک عبور کند.
- همیشه قطر اندازه گیری می شود.
- باید در تست انتی بیوگرام ، نگاه بدبینانه ای داشت . یعنی اینکه کوتاهترین مسیر را برای تعیین حساسیت انتخاب می کنیم.
- اگر در اطراف دیسک خط هایی کشیده شده باشد در این صورت باید از آخرین خطی که بعد از آن دیگر کلونی نیست تعیین حساسیت کرد.
- اگر در اطراف دیسک حتی یک کلونی هم باشد باید از همان جا تا دیسک را اندازه گیری کرد نه کل هاله را.
- همیشه به محل هاله دقت کنید بازم می گم همیشه و کوتاهترین مسیر را انتخاب کنید.
- دیسک ها و هاله ها را در زیر نور بررسی کنید



محیط کشت در آنتی بیوگرام

- محیط مورد استفاده در روش دیسکی **مولر هینتون** است.
- و در پلیت به قطر ۱۰۰ میلی متر حدود ۲۵-۳۰ میلی لیتر محیط مولر هینتون می ریزیم و قطر مورد نظر حاصل می گردد. جهت اجتناب از خشک شدن سطح محیط باید پلیتها را در کیسه های پلاستیکی نگهداری نمود.
- پس از تلقیح محیط آنتی بیوگرام در فاصله حداکثر ۱۵ دقیقه می باید دیسکهای آنتی بیوتیک را در سطح آگار با فاصله مناسب از یکدیگر قرار داد. سپس به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در انکوباتور ۳۵ درجه سانتی گرام نگهداری نمود. روشهای اصلاح شده در باکتریهای سخت رشد نیز یکی دیگر از روش ها است در بعضی از باکتریهای سخت رشد از محیط های کشت اختصاصی استفاده می شود مانند : محیط کشت **HTM** در **هموفیلوس ها**.



دیسک های مورد استفاده در آنتی بیوگرام

- همان طور که در بالا هم گفتم ، باید از دیسک های مناسب باکتری ایزوله شده استفاده کرد. انتخاب نوع دیسک ها بسیار مهم است چون از یک طرف باید قضیه مقاوت دارویی را در نظر بگیریم و از طرف دیگر باید سلامت فرد را هم در نظر بگیریم برای نمونه:
- بسیاری از باکتری ها کم کم به آنتی بیوتیک ها مخلفت مقاوم می شوند که این می تواند عمر آنتی بیوتیک ها را کم کم به سوی افول هدایت کند.
- و یا اینکه مصرف خود سر و یا اضافی که حاصل اشتباه فردی و یا اشتباه تکنیکی در تست آنتی بیوگرام است می تواند عوارض گوناگونی داشته باشد . مثلا استفاده زیاد از سولفونامید ها باعث بیماری های عصب شنوایی و یا بیماری های کلیوی خواهد شد و یا اینکه مصرف زیاد پنی سیلین باعث تروبو سائیتوپنی و مصرف زیاد تتراسایکلین باعث گرانولوسیتوپنی خواهد شد.
- **نگهداری دیسک ها :** دیسک ها باید در یخچال و یا در فریز نگه داری شوند . اگر دیسک ها به صورت **STOCK** هستند در دمای فریز باید نگه داری شوند اما دیسک ها به صورت روتین تا یک ماه در دمای یخچال نگه داری می شوند.
- **کنترل کیفی :** به کمک سوشهای استاندارد و با مراجعه به جدول مربوطه می بایست نسبت به کنترل کیفی روند آنتی بیوگرام اقدام نمود



چند نکته:

- اگر باکتری ایزوله شده کوکسی گرم مثبت مانند **استافیلوکوک طلائی** (اورئوس) باشد در این صورت دو دیسک کلیندامایسن و اریتروماایسن را در کنار هم و مقداری نزدیک تر قرار می دهیم . چون کلیندامایسن باعث می شود تا ژن القا کننده در اریتروماایسن فعال شود . در واقع دیسک **کلیندامایسن** فعال کننده ژن خاموش **اریتروماایسن** است.
- **آمینوگلیکوزید ها** بر روی باکتری های بی هوازی تاثیر می گذارند.
- **کلروامفینیکل** در نمونه ادراری استفاده نمی شود چون وارد ادرار نمی شود.
- **ونکوماایسن ، اریتروماایسن ، کلیندامایسن ، پنی سیلین** و چند تا دیگه بر روی باکتری های گرم مثبت تاثیر می دارند .
- دیسک **ایمپینم** هم بر روی گرم مثبت و هم بر روی گرم منفی تاثیر دارد ولی باید در عفونت های شدیدی استفاده شد تا مقاومت ایجاد نشود.
- **سفالکسین** که بر روی گرم مثبت و منفی تاثیر دارد به صورت خوراکی است.
- **تتراسایکلین** آنتی بوتیک وسیع الطیفی است و معمولا به صورت موضعی استفاده می شود.
- در اخر هم باید ذکر کنم که دیسک ها را بر اساس نوع بیمارستان و یا نوع محل تست می توان تغییر داد و یا مکان و فاصله انها را هم تغییر داد و این که بسیاری از مراحل تست به صورت عالی انجام گیرند باید تجربه کافی داشت و همیشه سعی کنید که به بهترین نحو کار خود را انجام دهید





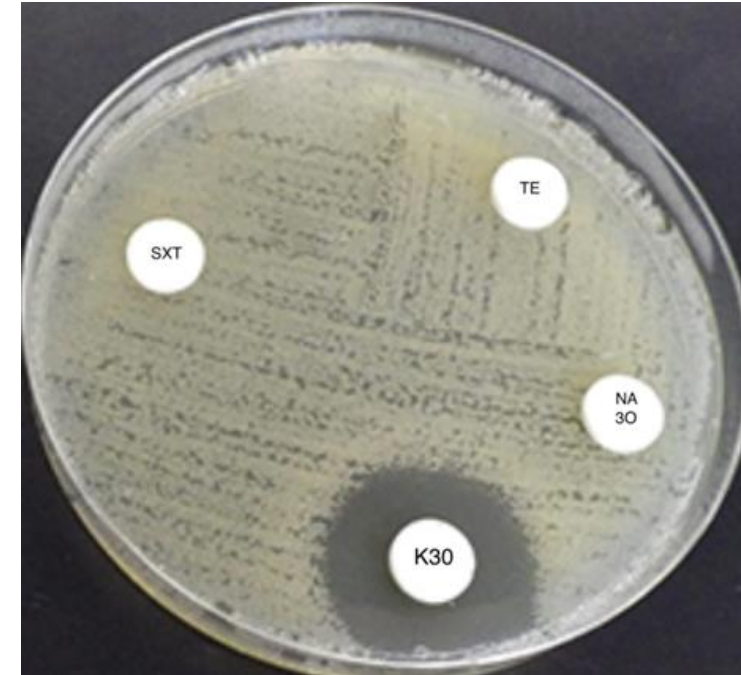
محلزله جهت انتخاب آنتی بیوتیک مناسب برای جداسازی

گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
استافیلوکوکوس آرنئوس انزوکوکینا	انزوکوکینا	E. coli	سودوموناس
پنی سیلین	پنی سیلین	آمپی سیلین	حتتامیسیر
بانوگر اسیلین	آمپی سیلین	سفالوتین	کارتر سیلین
متی سیلین	سفالوتین	کانامیسین	پلی میکسین
سفالوتین	ارثروماسین	حتتامیسین	کانامیسین
ارثروماسین	کتر آمیکسین	پلی میکسین	کتر آمیکسین
کلینداماسین	تراسیکسین	تراسیکسین	تراسیکسین
کتر آمیکسین	کتر آمیکسین	کتر آمیکسین	کتر آمیکسین
تراسیکسین	سیرودیسین	سیرودیسین	سیرودیسین
حتتامیسین	نالدیکسین	نالدیکسین	نالدیکسین
کانامیسین	سولونامیدها	سولونامیدها	سولونامیدها



تفسیر نظر هاله معایب از رشد آنتی بیوتیکها (Z.O.I)

قدرت دیسک		آنتی بیوتیک با داروی ششانی ضد میکروبی	
مقاوم	حساسیت متوسط	حساس	قدرت دیسک
۱۱ با کسر	۱۳-۱۲	۱۴ با کسر	۱۰ میکروگرم
۲۰	۲۸-۲۱	۱۹	۱۰
—	—	۲۹	۱۰
۸	۱۲-۹	۱۳	۱۰ واحد
۱۱	۱۵-۱۲	۱۶	۱۰ میکروگرم
۱۲	۱۷-۱۵	۱۸	۳۰
۱۴	۱۷-۱۵	۱۸	۳۰
۱۲۰	۱۷-۱۳	۱۸	۳۰
۸	۱۰-۹	۱۱	۱۰
۱۳	۱۷-۱۴	۱۸	۱۵
۱۳	۱۷-۱۴	۱۸	۳۰
۹	۱۳-۱۰	۱۴	۵
۱۰	۱۲-۱۱	۱۳	۱
۱۳	۱۸-۱۴	۱۹	۳۰



• اندازه قطر هاله عدم رشد به عوامل گوناگونی بستگی دارد که عبارتند از:

• سرعت انتشار آنتی بیوتیک در محیط کشت

• غلظت آنتی بیوتیک

• تعداد باکتری تلقیح شده

• سرعت رشد باکتری

• میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی بیوتیک

• دوره انکوباسیون

• عمق آگار تهیه شده



کنترل کیفی:

- هدف از برنامه کنترل کیفی پایش و ارزیابی موارد زیر می باشد:
صحت و دقت روش انجام آزمایش تعیین حساسیت مواد و وسایل به کار برده شده در این آزمایش عملکرد افرادی که آزمایش را انجام داده و نتایج بدست آمده را قرائت می نمایند. به منظور دست یابی بهینه به این اهداف در دسترس داشتن سویه های کنترل کیفی تهیه شده از مراکز معتبر ضروری است.



• سویه های کنترل کیفی پیشنهادی توسط CLSI عبارتند از:

• Escherichia coli ATCC 25922

• Escherichia coli ATCC 35218

• Haemophilus influenza ATCC 49247

• Haemophilus influenza ATCC 49766

• Klebsiella pneumonia ATCC 700603

• Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226

• Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

• Staphylococcus aureus ATCC 25923

• Streptococcus pneumonia ATCC 49619

• E.coli ATCC 35218 فقط به عنوان یک میکروارگانیسم کنترلی برای ترکیبات ممانعت کننده بتالاکتاماز، مثل ترکیبات حاوی کلاولانیک اسید، سولباکتام یا تازوباکتام پیشنهاد می شود.



. **Enterococcus faecalis ATCC 29212** (یا **E. faecalis ATCC 33186**) برای ارزیابی محیط مولر هینتون آگار با دیسک تری متوپریم/سولفامتوکسازول استفاده می شود.

. در محیط کشت قابل قبول، هاله عدم رشد واضحی به قطر **20 mm** یا بزرگتر ایجاد می شود. درحالیکه در محیط های کشت غیرقابل قبول، هاله عدم رشد ایجاد نمی شود یا در داخل هاله، رشد کم مشاهده می شود و یا هاله ای با قطر کمتر از **20 mm** ایجاد می گردد. این کار به منظور بررسی مقادیر غیرقابل قبول تیمیدین در محیط کشت مزبور است.

. **Enterococcus faecalis ATCC 29212** همچنین برای کنترل دیسکهای آمینوگلیکوزید با دوز بالا به کار می رود.

. **Klebsiella pneumonia ATCC 700603** به عنوان یک سویه کنترلی برای آزمایشات **ESBL** به کار برده می شود.



کنترل کیفیت قطر هاله عدم رشد سویه کنترلی / دیسک آنتی بیوتیکی:

• سویه های کنترل کیفی را باید به روش استاندارد آزمایش **disk diffusion** و با استفاده از همان مواد و روشی که برای سویه های جدا شده از نمونه های کلینیکی استفاده می شود آزمایش و نتایج را با جداول ۳ و **CLSI3A** مقایسه و بررسی نمود. محدوده قطر هاله عدم رشد قابل قبول برای هر سویه کنترلی نسبت به یک دیسک آنتی بیوتیکی در جداول فوق فهرست شده است.

چنانچه تغییر در میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از خطا در روش انجام آزمایش نباشد، احتمالاً ناشی از تغییر در حساسیت ذاتی باکتری نسبت به آن آنتی بیوتیک می باشد. در این صورت لازم است کشت تازه از سوش کنترل تهیه شود.

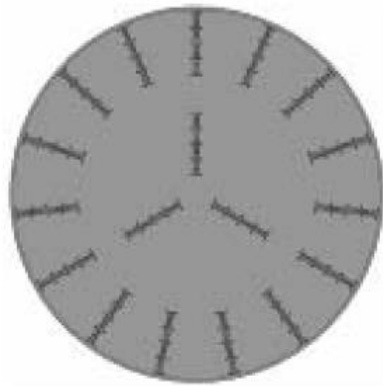


• آزمایش کنترل کیفیت را باید در چه فواصل زمانی انجام داد؟

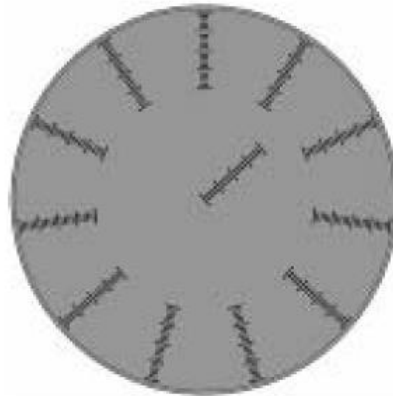
• انجام آزمایش روزانه برای هر سویه کنترلی با یک دیسک آنتی بیوتیکی باید ۲۰ روز متوالی آزمایش تعیین حساسیت انجام و نتایج با مقادیر قابل قبول اشاره شده در جداول فوق مقایسه گردد.



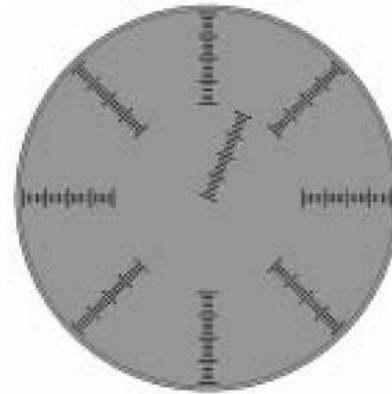
تست آنتی بیوگرام دیسکی با روش پلیت های مدرج



پلیت ۱۲۰ میلی متر



پلیت ۱۰۰ میلی متر



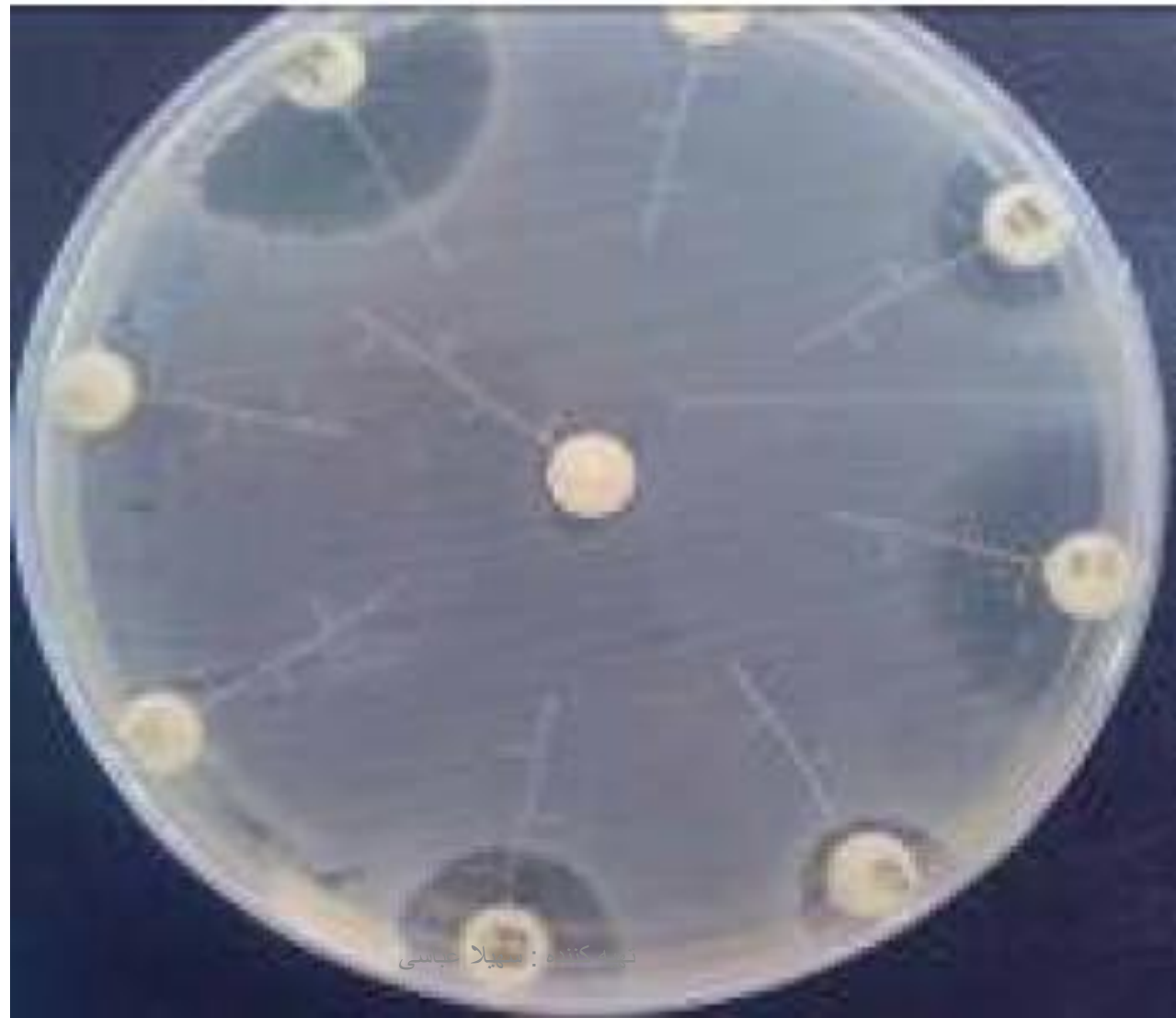
پلیت ۸۴ میلی متر

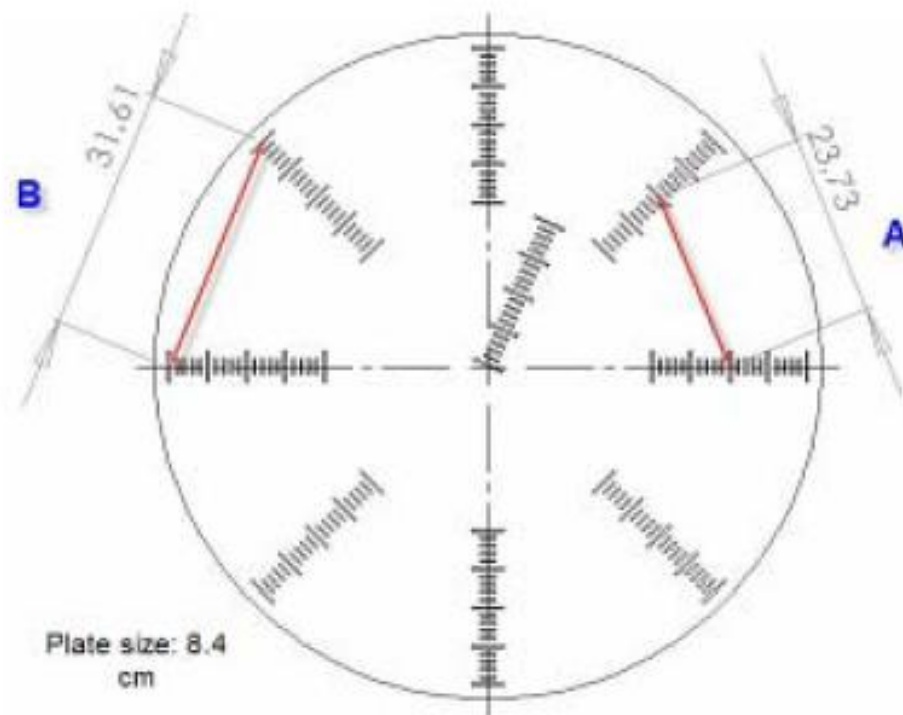


پلیت ۶۰ میلی متر

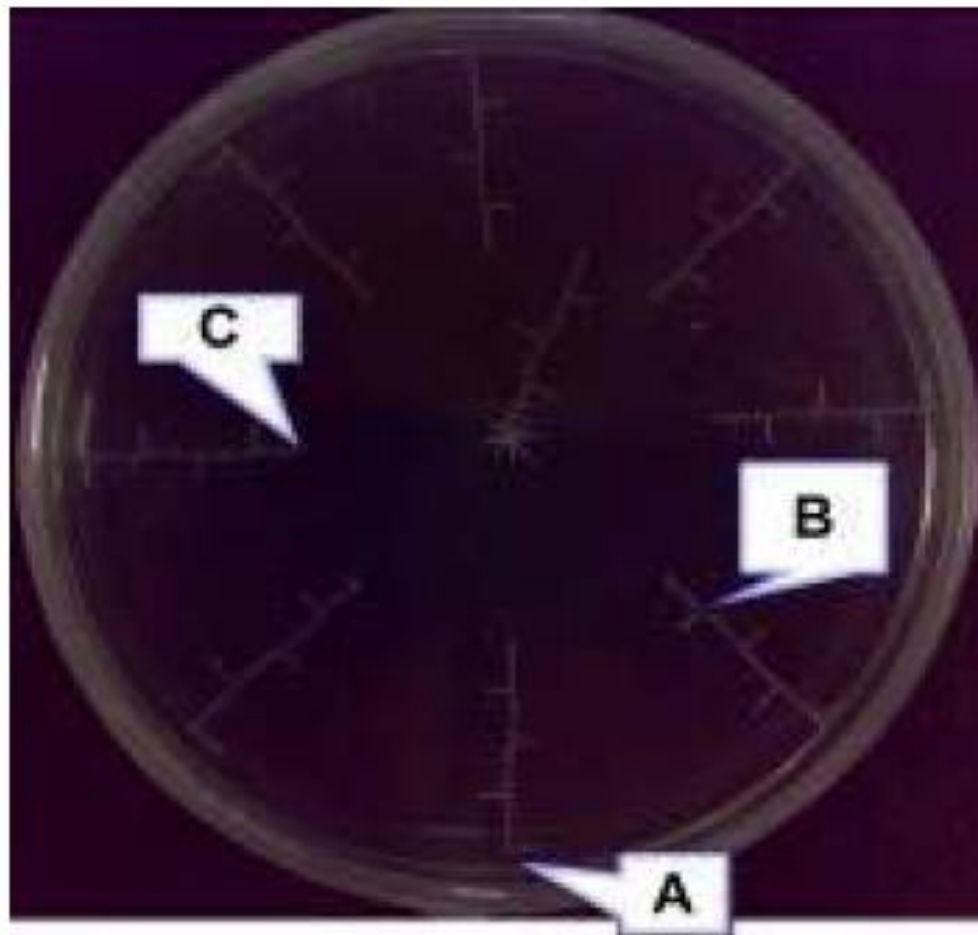


تست آنتی بیوگرام دیسکی با روش پلیت های مدرج

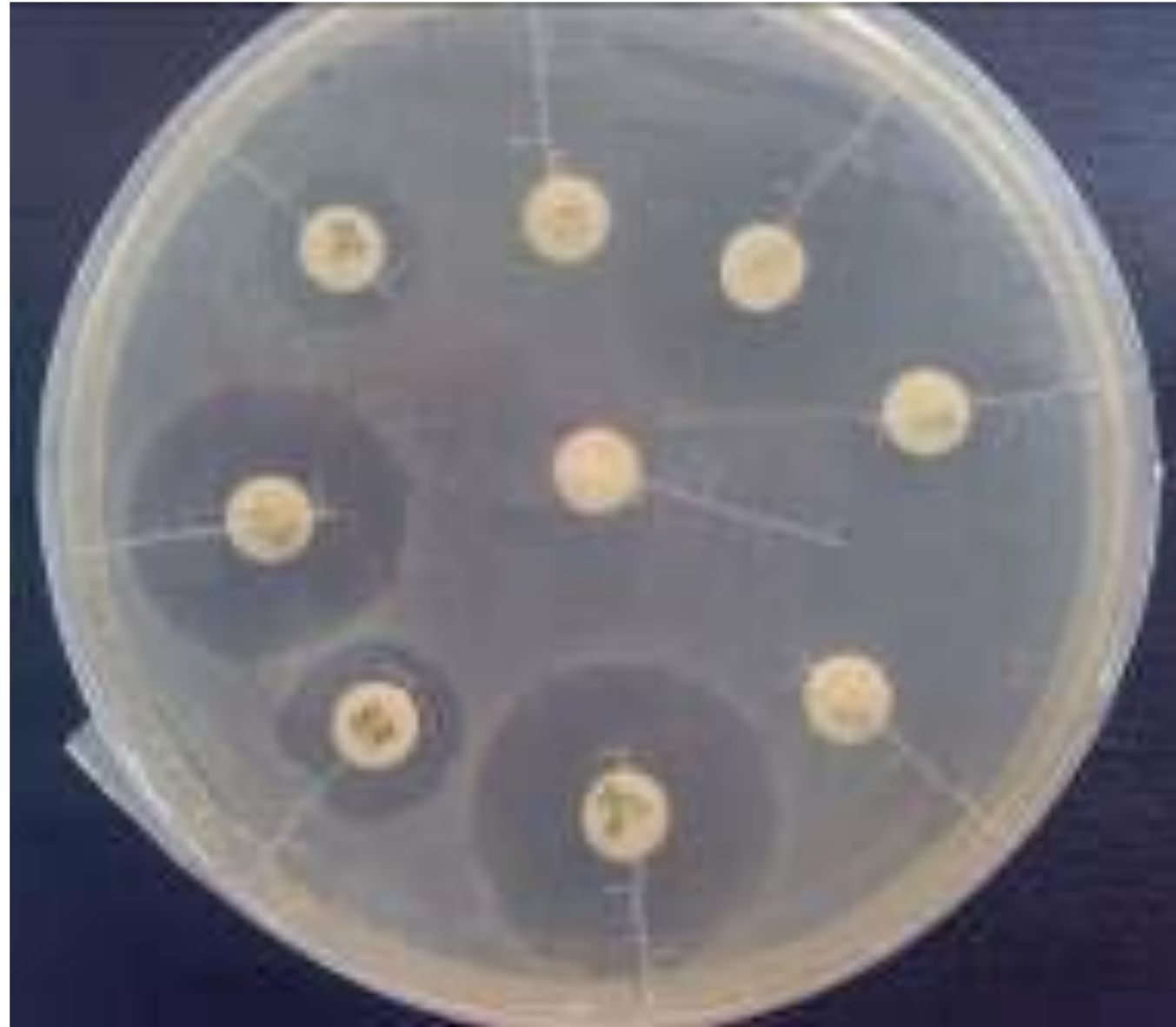




تصویر ۳: آماده سازی پلیت مدرج و حداکثر فاصله خطوط (A) فاصله قطر هاله عدم رشد ایجاد شده در محل دیسک گذاری قدیمی بدون تداخل به میلی متر (B) قطر هاله عدم رشد ایجاد شده در محل دیسک گذاری جدید بدون تداخل به میلی متر



تصویر شماره ۲: محل های قرار گیری دیسک های آنتی بیوتیک در آزمایش
های انجام شده در پلیت ۸۴ میلی متری



تهیه کننده : سهیلا عباسی

Use of Disk Dispensers

Advantages

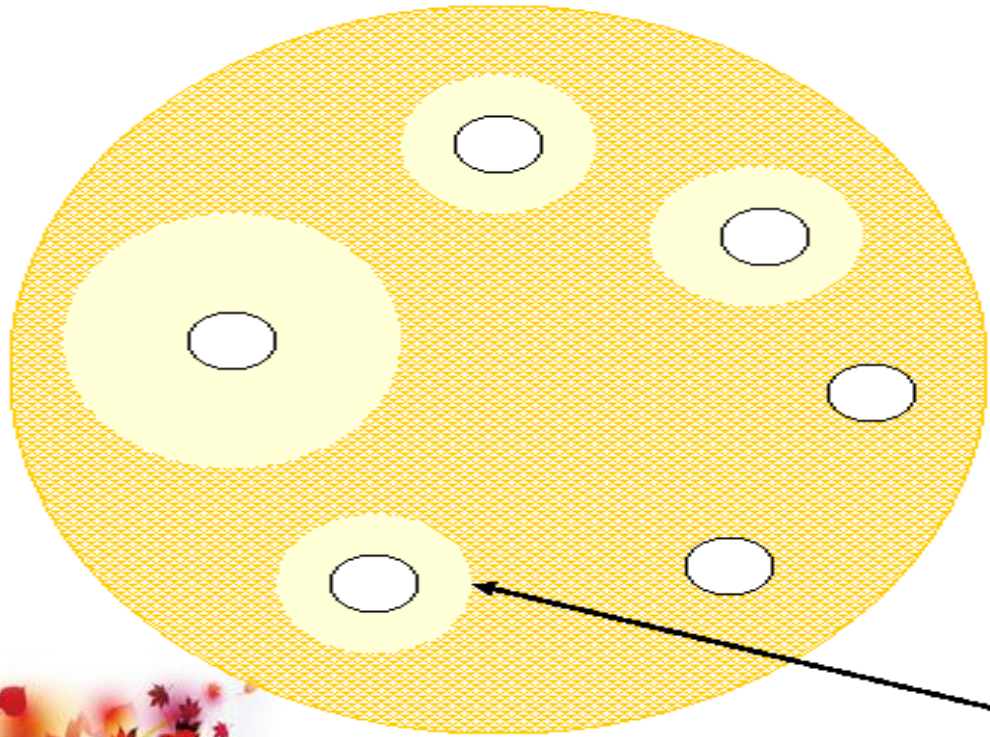
- ❖ practical, rapid
- ❖ increase reproducibility

Risks:

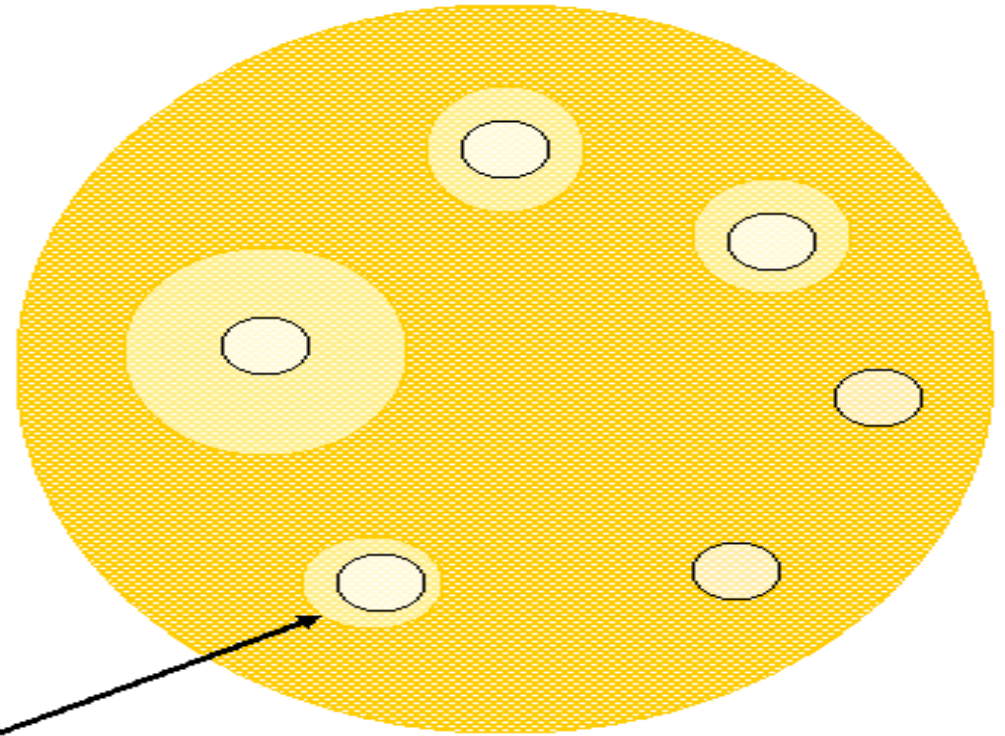
- ❖ contamination
- ❖ reduces personal judgment skills



Disk Susceptibility Testing Problems

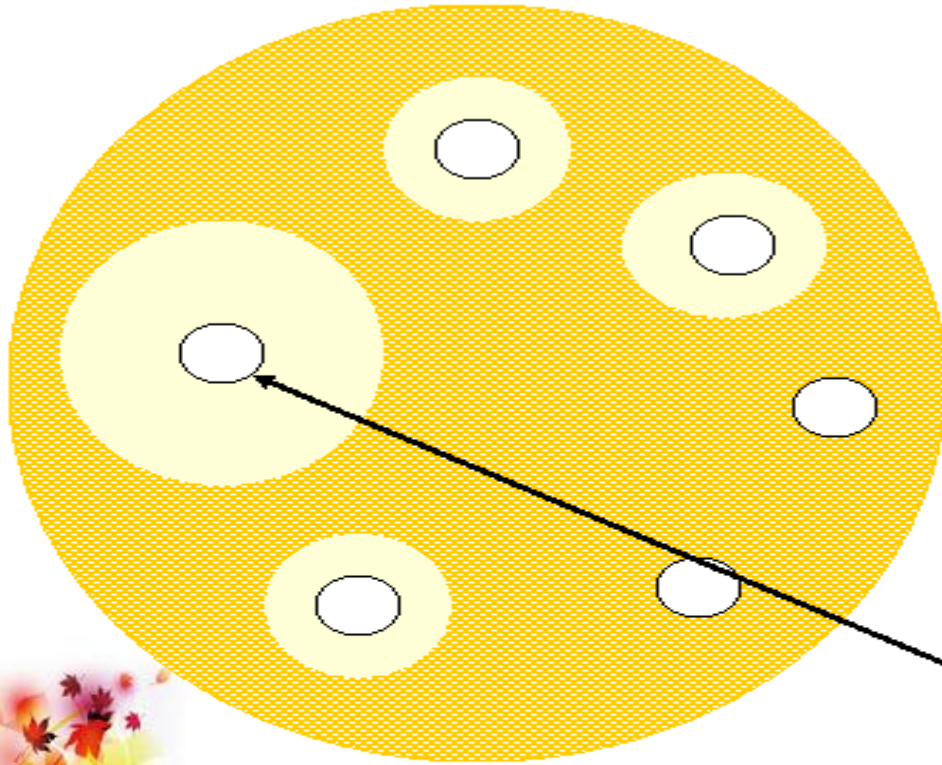


Disks Properly
Aligned and Spaced

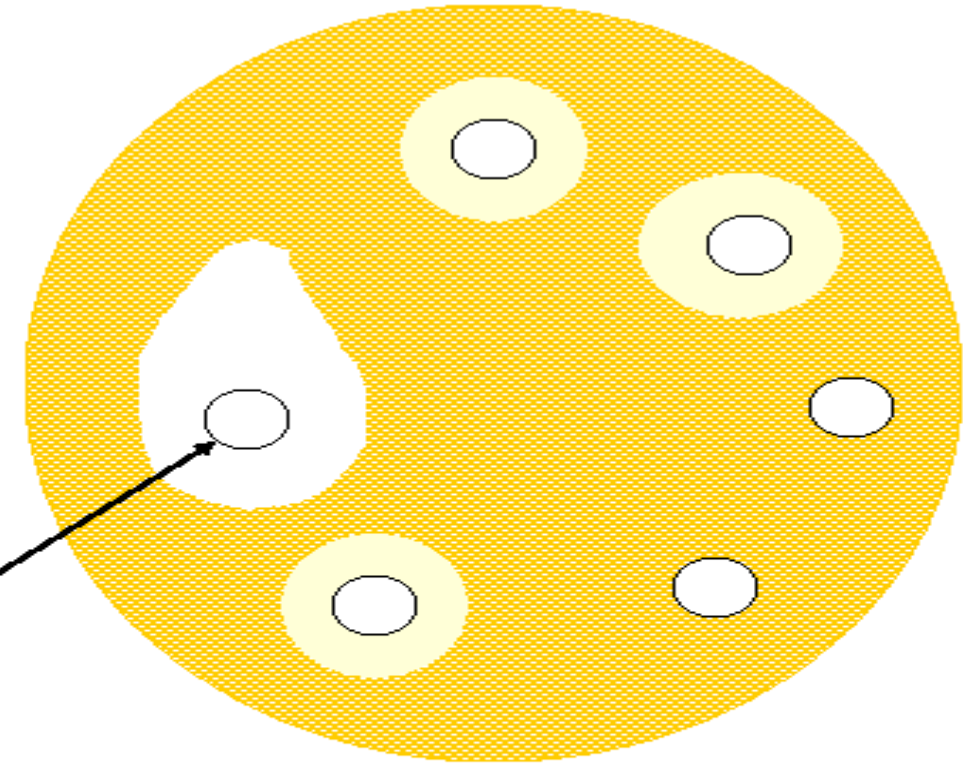


Disks Aligned and Spaced
Inoculum too HEAVY

Disk Susceptibility Testing Problems



Disks Properly
Aligned and Spaced



Zone space distorted
because disk not
properly applied

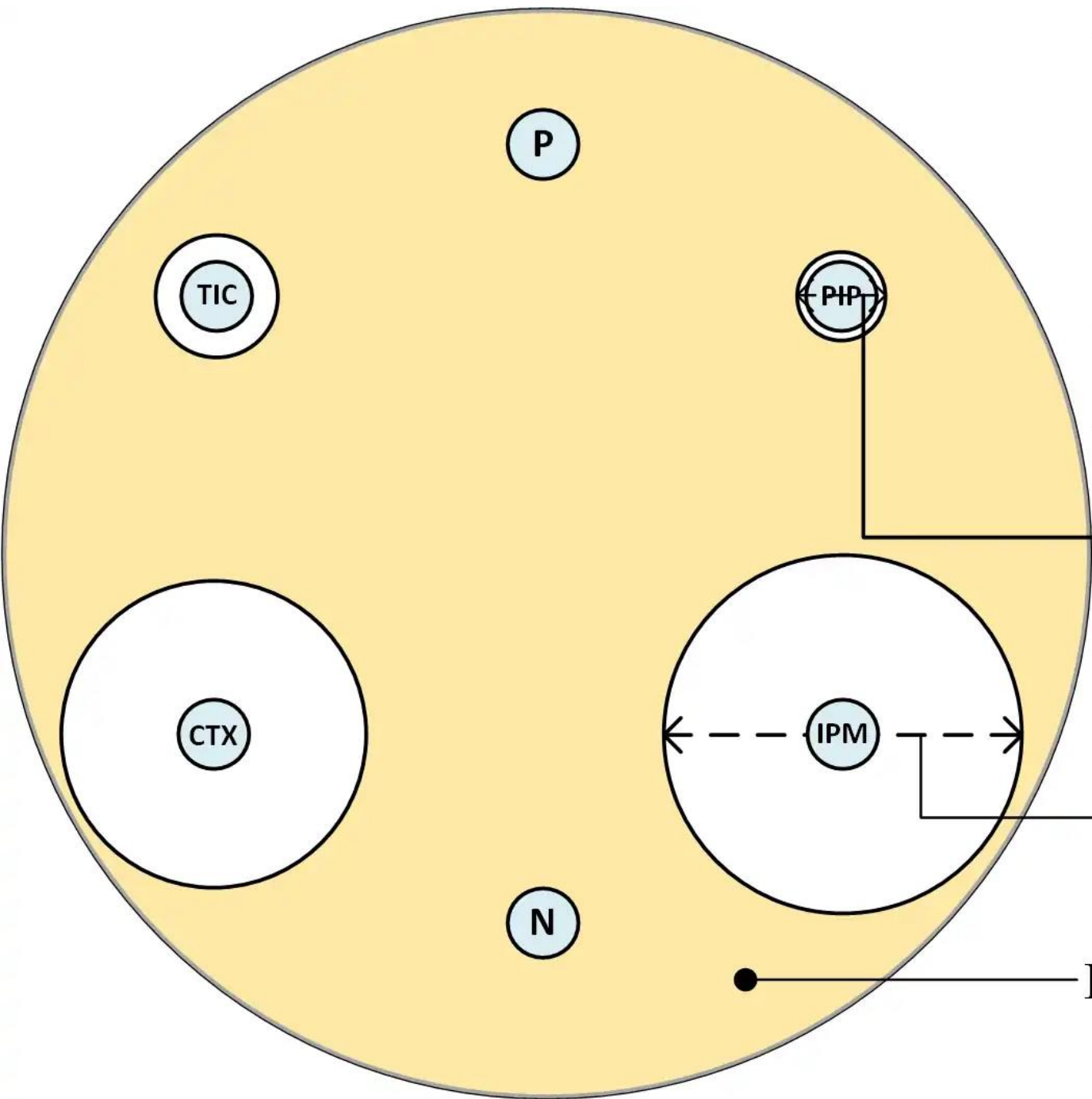




تکلیف شماره ۲

- یک آنتی بیوتیک را انتخاب کنید و از جدول میزان حساسیت و مقاومت آن را به میلیمتر پیدا کنید و به ایمیل من بفرسید و اثر آن بر روی چه میکروارگانیسم هایی است؟





	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints		
	Susceptible (S)	Intermediate (I)	Resistant (R)
PIP	≥ 21	18–20	≤ 17
IPM	≥ 23	20–22	≤ 19

Zone of inhibition = 8 mm

PIP => R

IPM => S

Zone of inhibition = 27 mm

Bacterial culture

با تشکر از حسن توجه شما

مهرت و محبتت را با ما در میان

