

تأثير العوامل الحيوية على فسيولوجيا البكتيريا



By: Amal Alghamdi

توجد البكتيريا في بيئاتها مختلطة مع غيرها من الكائنات الحيه الدقيقه

Mixed Culture

لمثل هذه المعيشه تاثير واضح على نمو تلك الكائنات وتأقلمها في بيئاتها .

غالبا مايكون للكائن الدقيق طرقا مختلفه للمحافظه على بقائه
في مثل هذه البيئات .



انواع التضاد الحيوي

أولاً:

التضاد الطبيعي:

ويتم في وجود نمو نشط للكائن المضاد.

ثانياً:

المضادات الحيوية:

دراسة التضاد باستخدام التحضيرات التجارية من المضادات الحيوية.



التضاد الحيوي و المضادات الحيوية

المضادات الحيوية Antibiotics

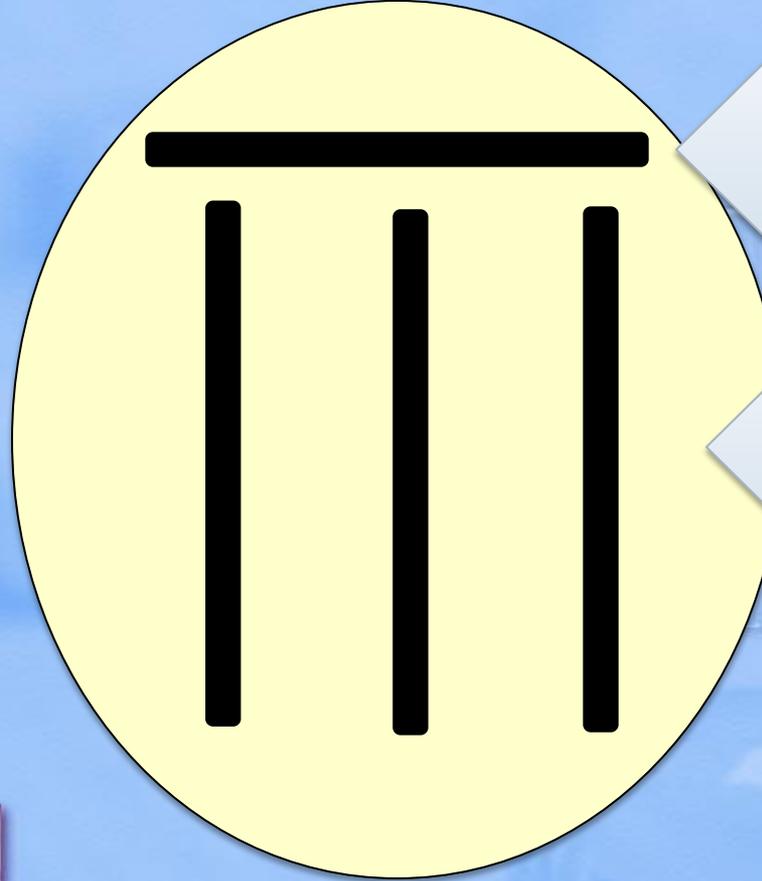
عبارة عن مواد كيميائية عضوية تتكون نتيجة للتفاعلات الأيضية لبعض الأحياء الدقيقة والتي تكون ذات تأثير مبيد أو موقف لنمو أو نشاط غيرها من الكائنات الحية الدقيقة بتركيزات قليلة.



التضاد الطبيعي (الحيوي)

معيشة كائنين معا يعمل احدهما على احداث ضرر بالكائن الاخر نتيجة لافرازه مادة كيميائية.

طريقة دراسة التضاد الطبيعي



نمو الكائن المضاد

المزارع تحت الاختبار

Lauria Bertani Agar
(LB)

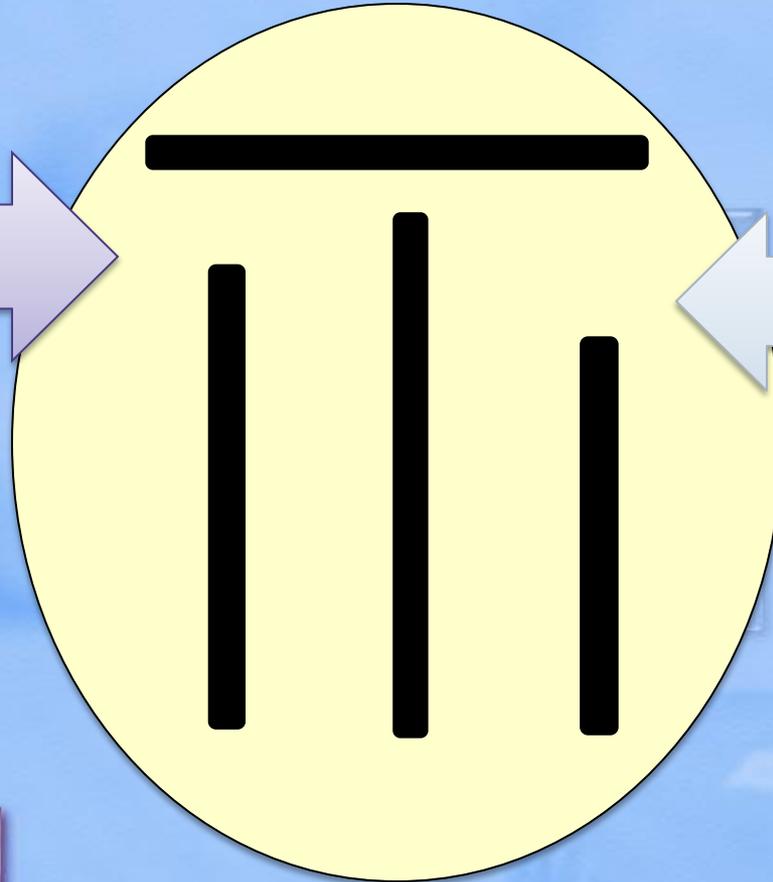
By: Amal Alghamdi



الطبق بعد التحضين

Inhibition zone

Inhibition zone



By: Amal Alghamdi



تأثير المضادات الحيوية على فسيولوجيا البكتيريا

Effect of Antibiotics on Bacterial Physiology



By: Amal Alghamdi

طرق تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا Mode of Action

• قد يؤثر على أحد العمليات التالية في الخلية البكتيرية:

- تصنيع الجدار الخلوي (مثل: Penicillin، Cephalosporin، Bactiricin، Vancomycin).
- تصنيع البروتين (مثل: Cholramphenicol، Tetracyclins، Streptomycins، Erythromycin، Gentamycin).
- تضاعف الحمض النووي DNA (مثل: Quinolones).
- تصنيع الحمض النووي RNA (مثل: Rifampin).
- تصنيع بعض المكونات الأيضية الرئيسية (مثل: Sulfanilamide).
- الغشاء البلازمي (مثل: Bolymyxin B).



اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Sensitivity Test

- يهدف إلى تحديد حساسية عزلة من البكتيريا لمدى من المواد العلاجية.
- وقد تستخدم كوسيلة لدراسة ظهور طفرات مقاومة من البكتيريا لتركيزات محددة من المضاد الحيوي.
- له ارتباط وثيق مع تعريف الأنواع البكتيرية.
- تُقاس الحساسية بتحديد أقل تركيز من المضاد الحيوي مثبت لنمو السلالة البكتيرية بعد ٢٤ ساعة من التحضين وهو ما يُسمى

**Minimum Inhibitory Concentration
(MIC)**



طرق دراسة تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا

- تُستخدم المضادات الحيوية المحضرة تجارياً للتعرف إلى تأثيرها دون الحاجة لاستعمال الكائن المضاد المفرز لها.
- طرق دراسة المضادات الحيوية المحضرة تجارياً:

١. طريقة الأقراص Disk diffusion method

وتُسمى Bauer - Kirby method

٢. طريقة التخفيف في وسط سائل

Broth dilution method

أوفي وسط صلب Agar dilution method .

٣. طريقة الطبق المتدرج Gradient Plate Method

ويستخدم حالياً طريقة متطورة عنها تسمى E-test

By: Amal Alghamdi

.(Epsilometer)

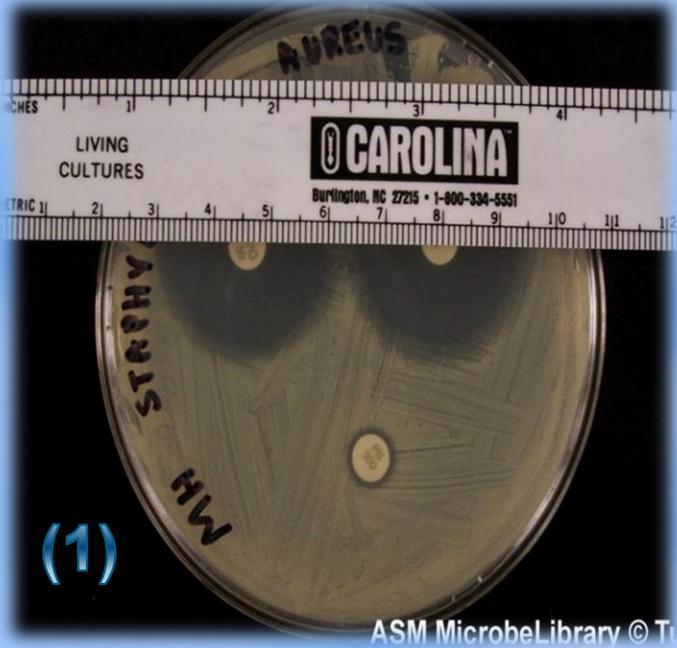


١- طريقة أقراص ورق الترشيح Disk Diffusion Method

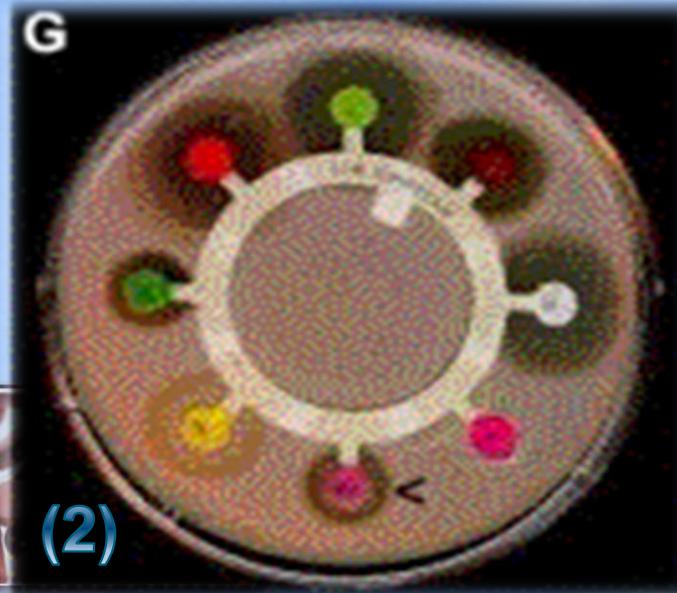
- تعتمد على استخدام أقراص مجهزة من ورق الترشيح محملة بتركيزات معلومة من المضاد الحيوي، وهناك نوعان منها:

1. الأقراص المفردة Unidisk

2. الأقراص المتعددة Multidisk



(1)



(2)

By: Amal Alghamdi

١- طريقة أقراص ورق الترشيح Disk Diffusion Method

• الأدوات المستخدمة:

مزارع نقية حديثه لأنواع بكتيرية مختلفة، أوساط غذائية ملائمة لدراسة حساسية المضاد (Mueller-Hinton media أو Blood Agar media)، أقراص محملة بمضادات حيوية مختلفة معلومة التركيز، ملقط .

• الخطوات:

١- بعد تعقيم الوسط الغذائي يلحق بالبكتيريا ثم يُصب في أطباق بتري معقمة, ثم تترك لتتصلب .

٣- تنقل الأقراص باستخدام ملقط معقم بالتلبيب الكحولي ، بحيث يوضع أكثر من قرص على أبعاد متساوية تقريباً .

٤- تحضن الطباق عند ٣٧ م لمدة ١٨ - ٢٤ ساعة .

٥- تدون الملاحظات بقياس قطر منطقة التثبيط

Inhibition zone وتسجل النتائج حسب الجدول التالي.





اختبار الانتشار خلال الأقراص، تظهر مناطق رائقه
Inhibition zones حول الأقراص المحملة
كل منها بتركيز معروف من المضاد الحيوي.

By: Amal Alghamdi

جدول قياسي لتقدير درجة حساسية susceptibility او تأثير متوسط Intermediate أو مقاومة Resistant لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية

Zone Diameter (mm) Interpretation Chart

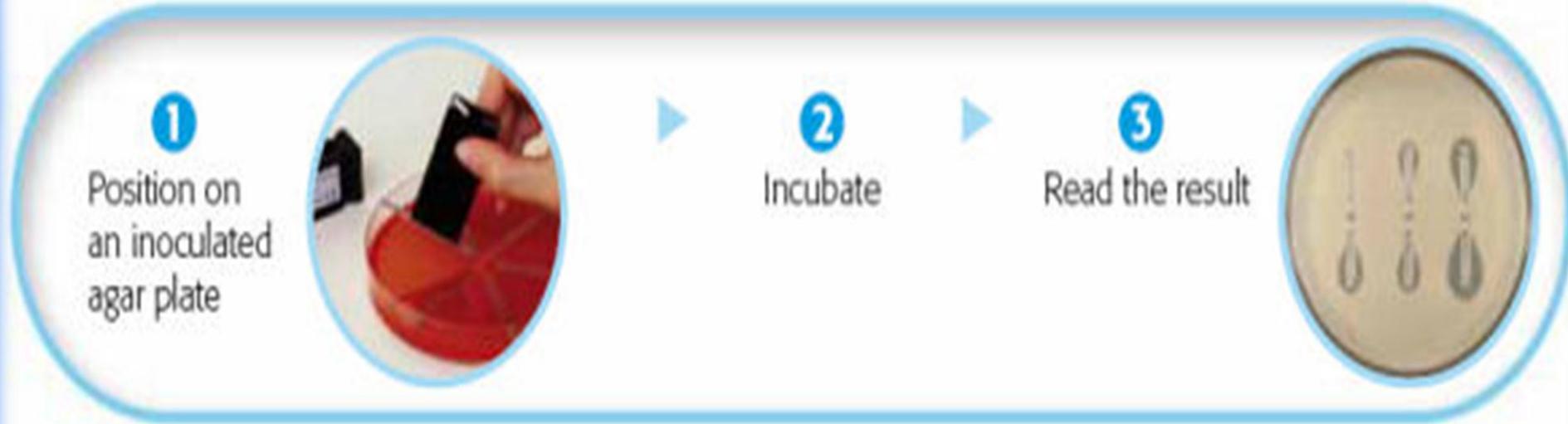
Antibiotic	Resistant	Intermediate	Susceptible
Tetracycline	= 14	15-18	= 19
Ciprofloxacin	= 15	16-20	= 21
Enoxacin	= 14	15-17	= 18
Erythromycin	= 13	14-22	= 23
Penicillin Staphylococci	= 28		= 29
Oxacillin Staphylococci	= 10	11-12	= 13
Tobramycin	= 12	13-14	= 15
Ceftriaxone	= 13	14-20	= 21
Kanamycin	= 13	14-17	= 18
Clindamycin	= 14	15-20	= 21
Piperacillin Gram negatives	= 17	18-20	= 21
Ampicillin Gram negative enterics	= 13	14-16	= 17
Staphylococci	= 28		= 29

٢ - طريقة (E-test (Epsilometer):

- تعتمد على استخدام مجموعه معروفه من ١٥ تركيز مختلف من المضاد الحيوي المختار محمله على شريط من البلاستيك.
- يستخدم هذا الشريط لتحديد نطاق التركيز الادنى المثبط لنمو البكتيريا من المضاد.



❖ خطوات إجراء اختبار E-test:



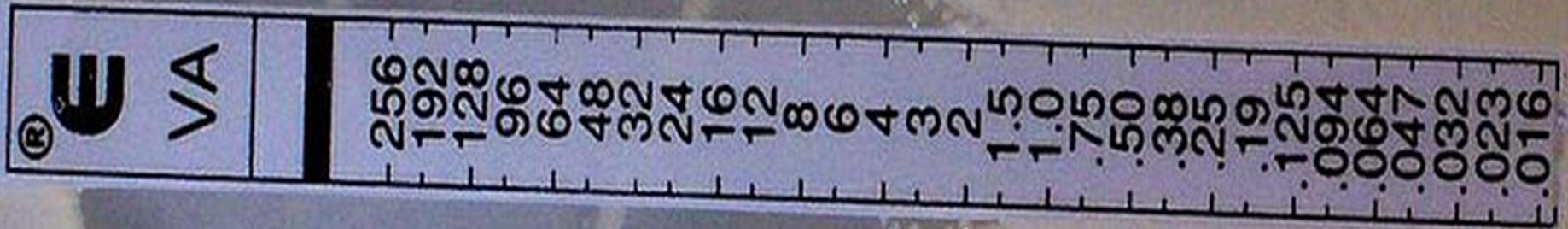
بعد مرور فترة التحضين يلاحظ ظهور شكل القطع الناقص حول الشريط بطريقة مرتبطة مع تركيز المضاد **MIC** (ميكروجرام /مل)، وهذه القيمة تتوافق مع تركيز المضاد **MIC** المساعد لاختيار العلاج الأمثل للمرضى.

By: Amal Alghamdi



مثال:

اختبار E-test من المضاد الحيوي Vancomycin لبكتيريا من نوع *Staphylococcus aureus*



By: Amal Alghamdi



اختبار **Etest** باستخدام المضاد الحيوي **Bio-Stat** وهي تقنية تعطي تدرجاً من المضاد الحيوي وتعتمد على الانتشار؛ ويمكن تحديد **MIC** من خلال هذه التقنية وموضحاً على الشريط عند نقطة اختفاء منطقة انعدام النمو.

By: Amal Alghamdi

