

Finalidade

Discos de papel impregnados com antibióticos para uso em antibiograma por difusão em ágar.

Amostras

a- Tipo de Amostras

Colônias provenientes de cultivo bacteriano de 18-24h.

b- Armazenamento e estabilidade

As amostras mantêm-se viáveis para a execução das análises até cerca de 24h de cultivo. Além deste prazo, deve-se fazer repique da cepa, cultivar por mais 24h para depois proceder ao exame.

c- Critério para rejeição

As amostras que já ultrapassaram o prazo máximo de estabilidade devem ser rejeitadas para a análise, devendo ser repicadas em meio apropriado, e usadas as colônias que surgirem após 18-24h de incubação no repique.

Princípio da técnica

O processo consiste em se preparar uma suspensão de bactérias de cultivo recente, inocular esta suspensão na superfície de uma placa de Mueller Hinton Ágar, e depois adicionar os discos de papel impregnados com antibióticos. Após a incubação em estufa, é analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então o tamanho de cada halo pesquisado em uma tabela apropriada .

Procedimento Técnico

Retirar os frascos com os discos da geladeira cerca de 20-30 minutos antes de abri-los, para que adquiram a temperatura ambiente e que se evite sua umidificação.

a- Com uma alça bacteriológica em platina devidamente flambada e resfriada, tocar 4-5 colônias da bactéria em análise com 18-24h de cultivo a 35°C em meio apropriado;

b- Suspende as colônias em solução fisiológica estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala Mac Farland;

c- Embeber um swab estéril na suspensão bacteriana, comprimindo-o contra as paredes do tubo para tirar o excesso, e semear em seguida de forma suave em todas as direções na placa, procurando abranger toda a superfície;

d- Aguardar (não mais que 15 minutos) a superfície do ágar secar;

e- Com auxílio de uma pinça flambada, colocar os monodiscos (ou polidiscos) sobre a superfície do meio inoculado, exercendo uma leve pressão com a ponta da pinça para uma boa adesão dos discos;

f- Incubar a placa com os discos em estufa bacteriológica a 35°C por 18-24h (ou conforme estabelece a rotina do setor de microbiologia do laboratório);

Resultados:

Com o auxílio de uma régua, paquímetro ou dispositivo semelhante, medir o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco, e consultar uma tabela apropriada para determinar se a bactéria em análise é sensível ou não ao antibiótico testado.

Precauções e cuidados especiais

- Seguir padronização técnica para execução da prova (NCCLS);

- Observar critérios para escolha dos antibióticos apropriados para a bactéria em análise;

- Observar a espessura do meio, pois se a camada for muito espessa os halos diminuem, e se for muito delgada, os halos aumentam;
- Caso se prepare o meio de cultura no próprio laboratório, controlar o pH ($7,3 \pm 0,1$) e usar matéria prima com teores controlados de cálcio, magnésio, timina e timidina);
- Suspensões muito concentradas (além do padrão 0,5 da escala Mac Farland) fornecem halos maiores e muito diluídas fornecem halos menores.



R. Cassemiro de Abreu, 521 Vargem Grande
Pinhais - Paraná - CEP 83.321-210
Telefone/fax (41) 3667-1188

Proibida a reprodução total ou parcial do conteúdo deste site, sem o prévio consentimento do proprietário