

**SOP. PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTANDAR****REVISION N°1 ENERO 2013**

PRUEBA DEL ANTIBIOGRAMA CON MULTIDISCOS

INTRODUCCION

Se pueden usar una serie de técnicas para determinar la susceptibilidad *in vitro* de las bacterias a los agentes antimicrobianos. En la mayoría de los laboratorios clínicos, se utiliza de rutina el método de la difusión en agar, para las bacterias comunes de desarrollo rápido.

El método estándar recomendado comúnmente por el CLSI (1) está basado en la técnica descrita por Bauer et al. (2).

De todos los medios disponibles el agar Mueller-Hinton fue elegido para realizar este método.

TECNICA

Seleccionar al menos cuatro a cinco colonias aisladas del mismo tipo morfológico desde el agar de la placa de cultivo.

Traspasar las colonias a un tubo que contenga cuatro a cinco ml de caldo de cultivo apropiado, tal como el caldo de soya caseína.

Incubar el cultivo a 35° C hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar preparado agregando 0.5 ml de BaCl₂ 0.048 M (1.175% p/v) a 99,5 ml de H₂SO₄ 0.36 N (1% v/v). (Esta se ajusta con solución fisiológica o caldo). Estándar McFarland N° 0.5 (DO a 625 nm debería ser 0.08 a 0.10).

Sembrar la superficie seca de la placa de agar Mueller-Hinton con una tórula estéril a través de toda la superficie, en tres direcciones, previo haber eliminado el exceso de caldo presionando y rotando la tórula en las paredes del tubo, sobre el nivel del caldo.

Volver a tapar la placa y esperar unos 3 a 5 minutos (no más de 15 minutos) para que se absorba cualquier exceso de humedad antes de aplicar los sensidiscos.

Colocar el Multidisco SDA, con pinzas estériles, en la superficie del agar inoculado, presionar levemente cada disco para asegurar un completo contacto con la superficie del agar.

Como algunos de los antimicrobianos difunden casi instantáneamente, no se debe mover la argolla una vez que los sensidiscos han hecho contacto con el agar.

Invertir la placa e incubar a 35° C después de 15 minutos de haber aplicado el multidisco.

Examinar las placas después de 16 a 18 hrs. de incubación y medir los diámetros de los halos de las zonas de inhibición (20 a 24 hrs. para *N.gonorrhoeae* o para *Sthaphylococos* Meticilina -resistentes).

La medición del halo de la zona completa de inhibición se realiza a corta distancia de un fondo negro iluminado con luz reflejada, excepto para Linezolid, Oxacilina y Vancomicina, los cuales deben leerse con luz transmitida.

Comparar el tamaño de las zonas medidas con aquellas de la tabla.(CLSI ENERO 2010 M100 -S20)

LIMITACIONES DEL METODO

Microorganismos de lento desarrollo, anaerobios estrictos y capnófilos no se les aplica este método.

S. aureus "Meticilina -resistente" presentan problemas, estas cepas parecen tener una resistencia clínica aumentada a las penicilinas y cefalosporinas, aunque parezcan ser susceptibles *in vitro*.

CONSERVACION

Los multidiscos se deben mantener en refrigeración (2 a 8° C ó a -14° C ó menos, hasta su uso).

Discos conteniendo compuestos B-lactámicos, deben mantenerse siempre congelados para asegurar la potencia, se puede mantener una cantidad en uso entre 2 a 8° C durante una semana.

Sacar del refrigerador 1 a 2 hrs. antes de ser usados y permitir que alcancen la temperatura ambiente antes de ser abiertos.

REFERENCIAS

1.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993 December, NCCLS Document Vol. 13 N° 24, Villanova, PA.

2.- Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and Turck. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *Am.J.Clin.Pathol.* 45:493-496.