

## 7<sup>η</sup> ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ

### ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ - ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

Η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας ενός αντιμικροβιακού παράγοντα έναντι κάποιου παθογόνου μικροοργανισμού είναι θεμελιώδους σημασίας για τον καθορισμό της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής έναντι της ασθένειας που προκαλείται από τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό. Η μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί για τον σκοπό αυτό πρέπει να είναι απλή, αξιόπιστη και να δίνει αποτελέσματα σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Με τη μέθοδο Kirby-Bauer η αποτελεσματικότητα ενός αντιμικροβιακού παράγοντα εκτιμάται βάση του μεγέθους της ζώνης παρεμπόδισης που εμφανίζεται γύρω από ένα δισκίο που είναι εμποτισμένο με ορισμένη συγκέντρωση του αντιμικροβιακού παράγοντα. Η ζώνη παρεμπόδισης μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την πυκνότητα του εμβολίου, την ικανότητα διάχυσης στο θρεπτικό υπόστρωμα και τον τύπο του θρεπτικού υποστρώματος. Η μέθοδος Kirby-Bauer αποτελεί μέθοδο αναφοράς στην οποία λαμβάνονται υπ' όψην όλες οι προαναφερόμενες παράμετροι.

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή ο υπό εξέταση μικροοργανισμός εμβολιάζεται από υγρή καλλιέργεια στην επιφάνεια τρυβλίου που περιέχει θρεπτικό υπόστρωμα Mueller - Hinton. Το pH του υλικού πρέπει να είναι μεταξύ 7.2-7.4 και το πάχος του υποστρώματος 4mm. Για ορισμένους μικροοργανισμούς απαιτείται προσθήκη 5% πρόβειου αίματος. Τα δισκία της υπό εξέταση ουσίας τοποθετούνται στην επιφάνεια του υποστρώματος με ειδικό μηχανισμό ή με αποστειρωμένη λαβίδα.

Μετά την πάροδο 16-18 ωρών επώασης εξετάζονται τα τρυβλία για την εμφάνιση ζωνών παρεμπόδισης και μετρώνται οι διάμετροι των ζωνών με ακρίβεια χιλιοστού. Η αποτελεσματικότητα κάθε ουσίας εκτιμάται βάση κατάλληλων πινάκων και προσδιορίζεται η ευαισθησία κάθε μικροοργανισμού έναντι της ουσίας.

#### Υλικά :

- Τρυβλίο Petri με θρεπτικό υπόστρωμα Mueller-Hinton
- Τρυβλίο με καλλιέργεια *Saccharomyces cerevisiae*
- Υγρές καλλιέργειες *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp.
- Λαβίδα
- Δισκία εμποτισμένα με τα αντιβιοτικά :
  - Τετρακυκλίνη 30 μg
  - Καναμυκίνη 30 μg
  - Ριφαμπικίνη 2 μg
  - Αμπικιλίνη 10 μg

1. Ενημερώσου με ποιόν μικροοργανισμό θα εργαστείς.
2. Σημείωσε το όνομα του μικροοργανισμού στο τρυβλίο σου.
3. Εμβολίασε το τρυβλίο σου κάνοντας επίστρωση σε όλη την επιφάνεια με τη βοήθεια βαμβακοφόρου στυλεού, αφού πρώτα αφαιρέσεις την περίσσεια του υγρού πιέζοντας στα τοιχώματα του σωλήνα (εικ.1, 2).
4. Άφησε την επιφάνεια του θρεπτικού υποστρώματος να στεγνώσει 3-5 λεπτά πριν τοποθετήσεις τα δισκία των αντιβιοτικών.
5. Τοποθέτησε τα δισκία των αντιβιοτικών σε αντιδιαμετρικές θέσεις στην επιφάνεια του τρυβλίου με τη βοήθεια λαβίδας. Για να εξασφαλιστεί η επαφή του δισκίου με το άγαρ πίεσε το δισκίο πάνω στο θρεπτικό υλικό (εικ.3).
6. Επάασε τα τρυβλία ανεστραμμένα στους 37 °C για 16 έως 18 ώρες.
7. Μέτρησε με χάρακα τη διάμετρο των ζωνών παρεμπόδισης για κάθε αντιβιοτικό (Εικ.4).
8. Κατέταξε το κάθε στέλεχος σε ευαίσθητο, μέτριας ευαισθησίας και ανθεκτικό για κάθε αντιβιοτικό με βάση τον κατάλληλο πίνακα.

