

MICROBIOLOGIA BÁSICA E APLICADA BMM-0413

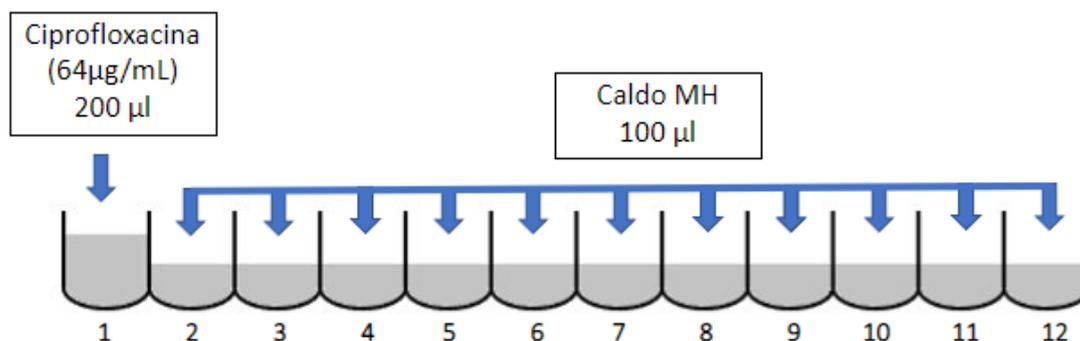
AULA PRÁTICA N° 4. Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM)

Define-se antibiótico como um agente antimicrobiano que mata ou inibe o crescimento de um micro-organismo. A atividade antimicrobiana de um agente pode ser medida determinando a menor quantidade desse agente necessário para inibir o crescimento de um micro-organismo, essa quantidade é denominada Concentração Mínima Inibitória (CMI). Uma das principais metodologias é a “microdiluição em caldo”, esta utiliza placas de Elisa estéreis, com 96 poços, com o fundo em formato de “U” para permitir a melhor visualização do crescimento bacteriano.

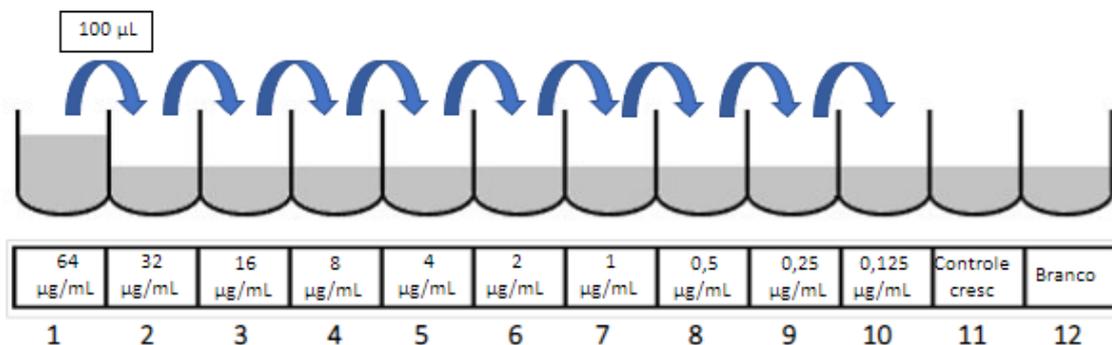
Para realizar a CIM recomenda-se o caldo Mueller-Hinton (MH) para organismos facultativos ou organismos aeróbios de crescimento rápido. O caldo MH apresenta uma boa reprodutibilidade, permite o crescimento satisfatório da maioria dos patógenos e possui baixos teores de inibidores. A escolha dos antibióticos é realizada de acordo a manuais internacionais como o CLSI (Manual Clinical and Laboratory Standards Institute) e/o EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) e a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que definem padrões e diretrizes para realização e interpretação de testes de sensibilidade aos antimicrobianos.

Prática: Microdiluição em caldo

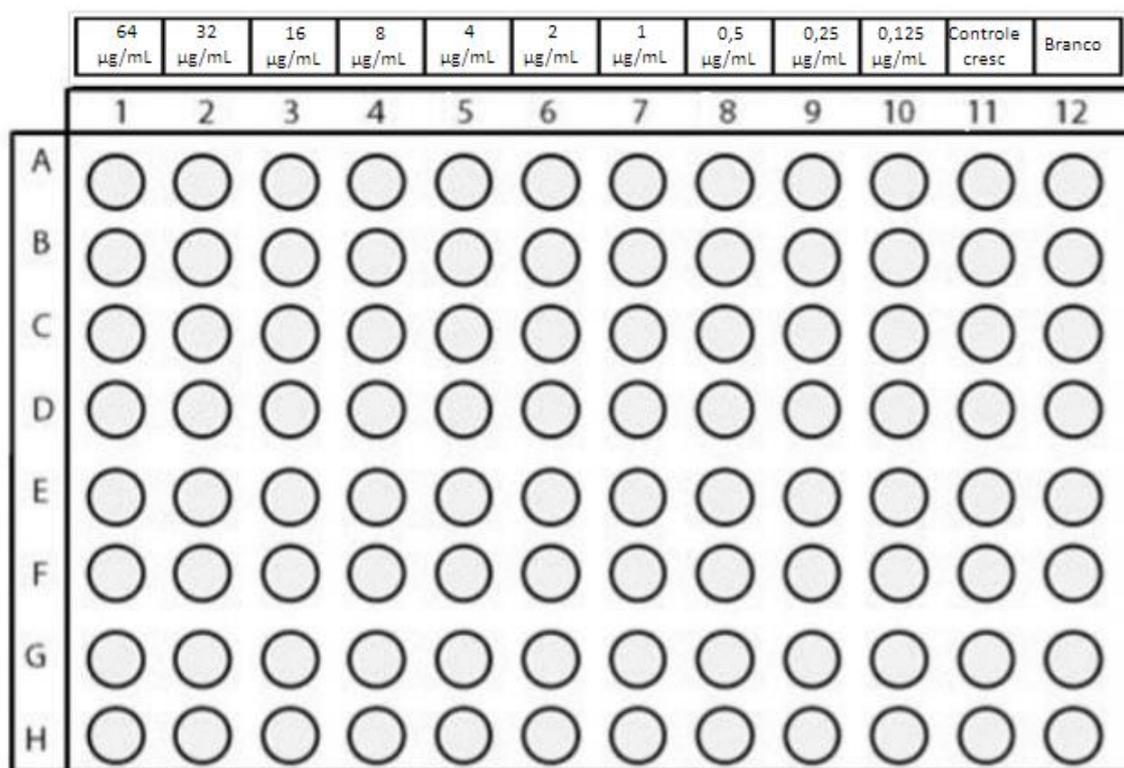
1. Preparar 1mL de ciprofloxacina em concentração de 64µg/mL a partir de uma solução estoque de 2mg/mL ($C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$).
2. A partir da solução preparada anteriormente colocar 200µl nos poços coluna 1, e para os poços da coluna 2 até a 12 colocar 100µl de caldo MH, como segue na figura:



3. Com ajuda da pipeta no volume de 100µl realizar diluição seriada desde o poço 1 até o poço 10, como segue na figura:



Como resultado a placa terá a seguinte disposição:



4. Finalmente será inoculada a bactéria de interesse a qual se encontra em uma concentração de 5×10^4 a 10^5 UFC/mL. Para isto colocar 5µl da cultura overnight de *Escherichia coli* nos poços 1 até 11, trocando as ponteiras em cada poço e lembrando que o poço 12 **não deve ser inoculado** já que é o controle de esterilidade do caldo MH.

5. Incubar 37°C por 16 a 20 horas. Após a incubação, a leitura da placa com a determinação da CIM será realizada visualmente. Pontos de corte S: $\leq 0,25$; I: 0,5; R: ≥ 1 . (CLSI, 2022).

Referências

https://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/metodos2.1.htm
The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) provides standards and guidelines ... June 23-28, 2022 | Rosemont (Chicago), IL. Volunteer With CLSI.