

CRIBADO DE RESISTENCIA A COLISTINA

Introducción. Esta metodología permite la detección de cepas resistentes a colistina, por el uso de una sola concentración de antibiótico (2 µg/mL). Se utiliza un disco de colistina que se coloca en medio líquido para permitir que el antibiótico eluya al medio.

Material necesario

- Cultivo joven en agar sangre, agar soya o agar Müeller Hinton
- Sensidiscos de colistina de 10 µg
- Caldo Müeller Hinton con cationes ajustados (MHCA) (ver anexo 1 en las páginas siguientes)
- Tubos estériles
- Tubos con 2 mL de solución salina estéril
- Pipeta automática para dispensar 17 µL
- Incubadora aerobiosis

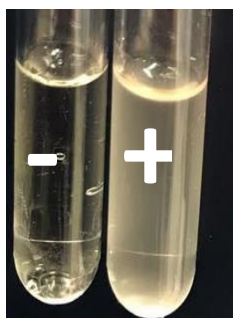
Aplica para:

Pseudomonas aeruginosa, complejo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*, *Klebsiella aerogenes*, complejo *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Raoultella ornithinolytica*

Procedimiento:

1. Etiquetar dos tubos estériles como
 - A. Control crecimiento
 - B. Problema
2. Añadir 5 mL de caldo Müeller Hinton a cada uno.
3. Colocar un sensidisco de colistina en condiciones de esterilidad en el tubo **B**.
4. Incubar por 30 min a 37°C o una hora a temperatura ambiente (Concentración final de colistina, 2 µg/mL)
5. Hacer una suspensión de la cepa a estudiar en 2 mL de solución salina y ajustar la turbidez al tubo 0.5 de McFarland (aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL).
6. En los primeros 15 minutos posteriores a la preparación del inóculo agregar 17 µL de la suspensión bacteriana de la cepa problema a los tubos **A y B** (5.1×10^5 UFC/mL).
7. Mezclar cada tubo suavemente e incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18-20 horas.
8. Observar el crecimiento al día siguiente y realizar la interpretación

9. Interpretación:



Interpretación	A	B
Susceptible o salvaje	+	-
Resistente o no salvaje	+	+
Inválido	Cualquier otra combinación	

Observaciones:

- En un resultado inválido se debe repetir el ensayo.
- En aislamientos **RESISTENTES**, confirmar por micro o macrodilución en caldo en los laboratorios de referencia de la red
- En aislamientos **SUSCEPTIBLES**, se descarta la resistencia.

Reporte:

P. aeruginosa y *A. baumannii*

- Susceptible: $\leq 2 \mu\text{g/mL}$
- Resistente: $\geq 4 \mu\text{g/mL}$

Enterobacterias

- Salvaje: $\leq 2 \mu\text{g/mL}$
- No salvaje: $\geq 4 \mu\text{g/mL}$

Control de calidad:

Realizar el mismo procedimiento usando la cepa control susceptible y la cepa control resistente como cepas problemas.

Cepas control

Control susceptible: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Control resistente o no salvaje: cualquier aislamiento clínico de *Proteus* spp.

Elaborado por:

Luis Esaú López Jácome, Rafael Franco Cendejas y Paola Bocanegra Ibarias

Anexo 1. Procedimiento para la preparación de medio Mueller Hinton con cationes ajustados (MHCA)

Indicaciones para la preparación

Utilizar la base de medio Mueller-Hinton (MMH) deshidratado comercialmente disponible. Existen dos formas:

- Medio Mueller Hinton ya ajustado en cationes por el fabricante: Verificar lo que se especifica en la etiqueta. Esta fórmula no requiere un ajuste adicional de cationes si se prepara de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.
- Medio Mueller Hinton sin cationes ajustados, en cuyo caso el contenido de cationes es generalmente inadecuado. (si no lo dice la etiqueta, no tiene cationes ajustados).

Material suministrado en la Red

- 1) Bolsa con polvo de medio MHB sin cationes añadidos (22 gramos de medio para preparar un litro, Marca BD, Ref 211443, Lote: 7214730)
- 2) Dos viales Eppendorf con:
 - a) 1 mL de solución de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 mg de Mg^{++}/mL)
 - b) 2 mL de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10 mg de Ca^{++}/mL)

Procedimiento

- a) Disolver el polvo de medio en un litro de agua
- b) Esterilizar en autoclave y dejar enfriar de 2 a 8°C (primero temperatura ambiente y luego refrigeración)
- c) Agregar la totalidad del volumen de los dos viales proporcionados, adicionar primero el tubo con Mg^{++}
- d) Dispensar 5 mL a cada tubo
- e) Congelar hasta su uso.

Referencias:

CLSI M7-A10, 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard.

CLSI M100, 27th Edition, 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.