

## Método de predifusión con Tabletas Rosco-Neosensitabs®



**Adaptado de "Insert for Kit for Detection of COLISTIN resistance in Enterobacteriaceae, P.aeruginosa and Acinetobacter - (98018)"**

**Versión 2- Agosto 2017**

### Consideraciones generales:

La prueba se fundamenta en la predifusión de colistín (antimicrobiano de alto peso molecular) en agar por un período más prolongado al de la difusión estándar, previo al crecimiento bacteriano.

La prueba se realiza en placas de agar Mueller-Hinton (MH) como las comúnmente utilizadas para realizar antibiograma por difusión. Las tabletas de colistín de 10 µg, pueden conservarse a temperatura ambiente, según las recomendaciones del fabricante.

Este procedimiento es válido para Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.

### Procedimiento:

1. Colocar una tableta de COL 10 µg, sobre la superficie seca de una placa de agar MH, sin inocular. Nota: en una misma placa se podrán colocar hasta dos tabletas para evaluar dos cepas distintas (foto)
2. Incubar la placa **2hs** en estufa a **35-37°C**.
3. Retirar la placa de la estufa y con un suave golpe, remover la tableta del agar.
4. Dejar la placa pre-difundida a **temperatura ambiente** durante **18-22hs**. antes de usar.
5. Pasado este período de tiempo la placa puede usarse o conservarse en frío (4°C) durante una semana.
6. Para inocularla, hisopar la superficie del agar pre-difundido con una suspensión bacteriana equivalente al 0,5 de Mc Farland del aislamiento a ensayar. Incubar en aerobiosis a **35-37°C por 18-20hs**.
7. Medir la zona de inhibición generada e interpretar de acuerdo a las recomendaciones del fabricante:

	<b>Sensible</b>	<b>Intermedio</b>	<b>Resistente</b>
<b>Enterobacterias</b>	≥ 16 mm	15-12 mm	≤ 11 mm
<b>P. aeruginosa</b>	≥ 16 mm	15-12 mm	≤ 11 mm
<b>Acinetobacter spp.</b>	≥ 20 mm	19-14 mm	≤ 13 mm

NOTA: Esta metodología permite detectar la resistencia a colistín mediada tanto por mecanismos tradicionales (cromosómicos) como plasmídicos transferibles (MCR).

Evaluación de la metodología en el Laboratorio Nacional de Referencia:

Para evaluar esta metodología, se compararon los resultados de predifusión con tabletas con los obtenidos por microdilución en caldo para colistín (BMD- método de referencia) en conjunto a la detección del gen *mcr-1* por PCR (resistencia plasmidica transferible a colistín).

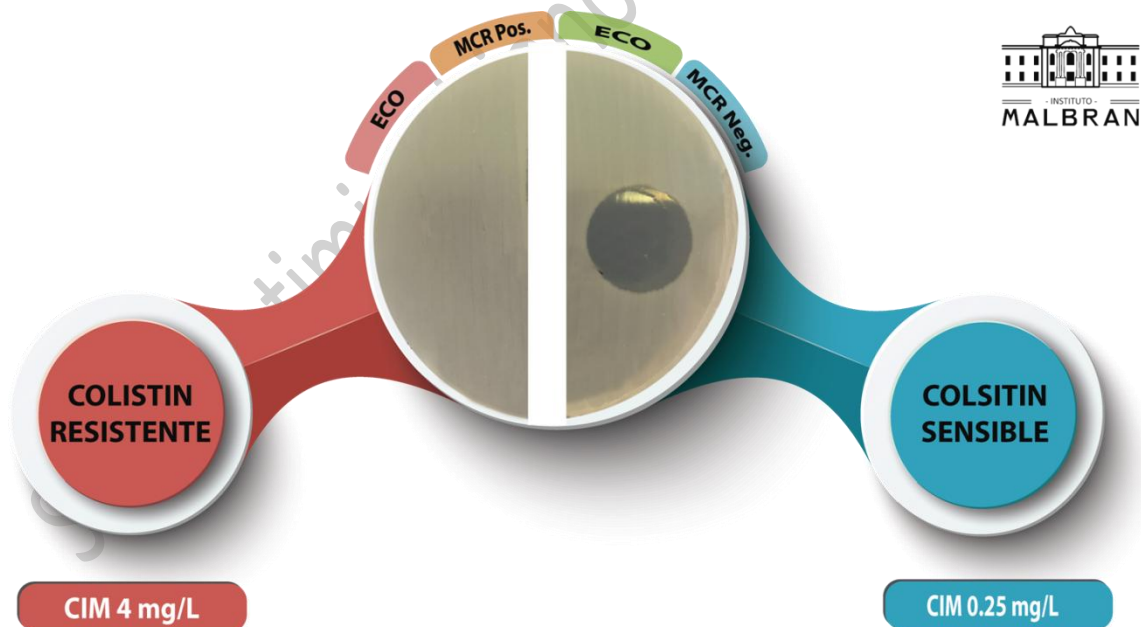
Se incluyeron en esta evaluación 260 aislamientos clínicos: 200 Enterobacterias, 30 *P.aeruginosa* y 30 *Acinetobacter* spp.

Resultados:

Grupo Bacteriano	Método de referencia	Punto de corte (mm)	% CA	% VME (falsa S)	% ME (falsa R)	% minor
<i>Acinetobacter</i> spp.	BMD (CLSI)	S ≥20 R ≤13	100	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	BMD (CLSI)	S ≥16 R ≤11	97	0	0	3
Enterobacterias	BMD (CLSI) y PCR <i>mcr-1</i>	S ≥16 R ≤11	98.5	0	0	1.5

CA: Concordancia en la categoría; VME: Error muy mayor; ME: Error mayor; minor: Error menor.

Ejemplo:



Referencias:

- Inserto Kit Tabletas de colistín Rosco Neosensitabs: Kit for Detection of COLISTIN resistance in *Enterobacteriaceae*, *P.aeruginosa* and *Acinetobacter* - (98018) – 27/02/2016. [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)