

COLISTÍN DROP TEST (MÉTODO DE LA GOTA)



Febrero 2019

- **Consideraciones Generales:**

La prueba de Colistín Drop es un método de screening para la evaluación de la sensibilidad a colistín.

Se fundamenta en el agregado de una gota (10 ul) de una solución de colistín sulfato de concentración de 16 ug/ml, sobre la superficie de una placa de MH previamente hisopada con una suspensión bacteriana problema (turbidez de 0.5 McFarland).

Se puede aplicar a Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.

- **Materiales:**

- ✓ Agua destilada estéril.
- ✓ Placas de agar Muller Hinton (MH).
- ✓ Caldo Muller Hinton ajustado en cationes (CA-MHB).
- ✓ Discos de colistín 10 ug.
- ✓ Estándar de turbidez 0.5 McFarland.
- ✓ Estufa ($35 \pm 2^\circ\text{C}$).
- ✓ Micropipeta graduable y tips estériles.
- ✓ Ansa.

- **Procedimiento:**

- 1) Preparación de la solución de colistín sulfato de 16 ug/ml de concentración a partir de discos comerciales de colistín (10 ug): suspender 8 discos en 5 ml de CA-MHB. Dejar reposar 1 hora. Retirar y descartar los discos. El caldo remanente es la solución de trabajo. Se puede almacenar hasta 1 año a 4°C .

Se sugiere controlar una vez al mes la esterilidad de la solución mediante incubación overnight a 35°C de 100 ul de la misma y observación de desarrollo de turbidez. En caso que ello ocurra, descartar la solución.

- 2) Hisopar la superficie de agar MH con una suspensión bacteriana equivalente al 0,5 de McFarland del aislamiento a ensayar. Preferentemente dejar reposar la placa con su tapa colocada aprox. 15 min sobre la mesada para el secado del inóculo.
- 3) Depositar una gota (10 ul) de la solución de colistín sulfato 16 ug/ml sobre la superficie de MH ya inoculada.

- 4) Reservar las placas por 15 minutos a temperatura ambiente para permitir la absorción de la gota, luego invertirlas, e incubar de 16 a 18 horas a 35 °C.
- 5) Posterior a la incubación, observar presencia o ausencia de zona de inhibición.

NOTA: para la preparación de caldo MH ajustado en cationes consultar:

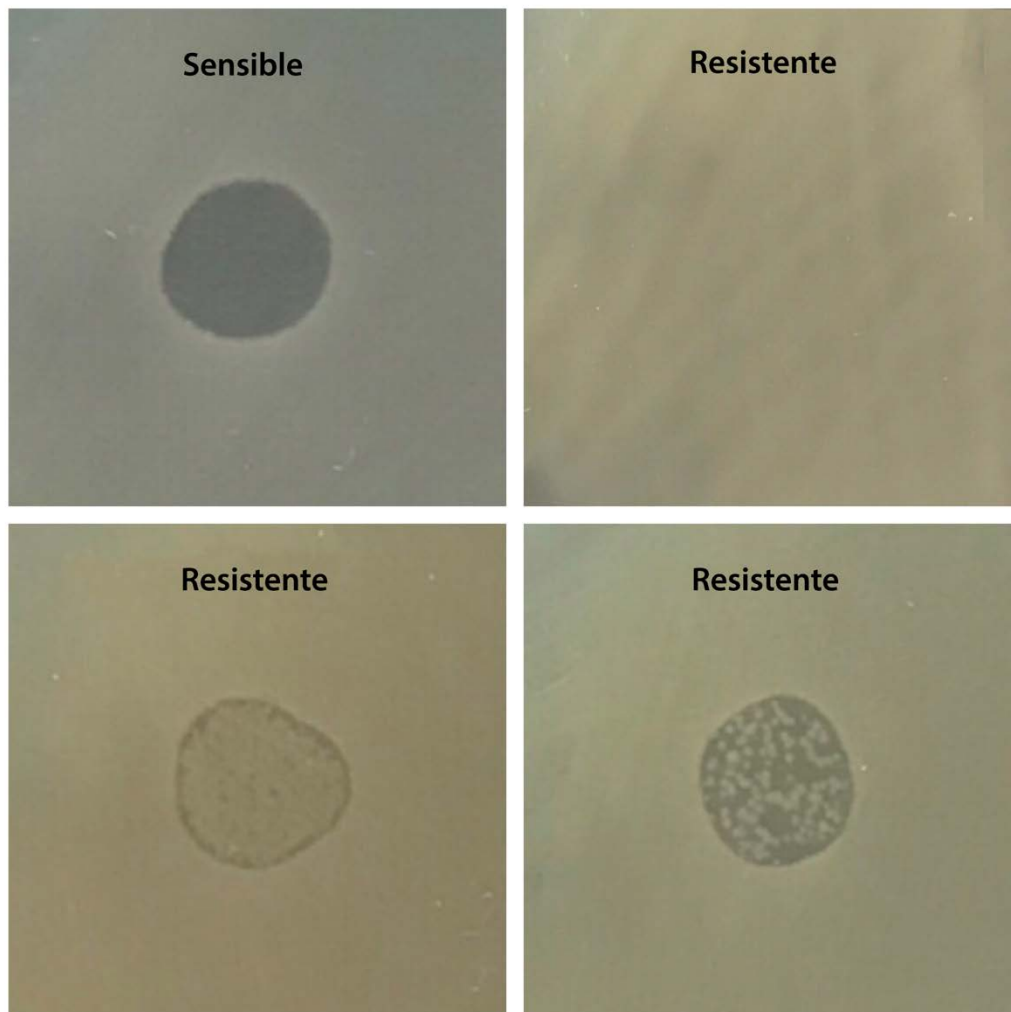
<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-CIM-microdiluci%C3%B3n-COL-version1-Julio-2017.pdf>

- **Interpretación de resultados:**

El aislamiento se categoriza como:

- ✓ **COLISTIN SENSIBLE:** presencia de zona de inhibición, de cualquier diámetro.
- ✓ **COLISTIN RESISTENTE:** ausencia de zona de inhibición.

Aclaración: Colonias dentro de la zona de inhibición o pátina de crecimiento es indicativo de subpoblaciones hetero-resistentes, en estos casos, la cepa es categorizada como **resistente**.



Referencia:

F. Pasteran, D. Danze, C. Cabrera, C. Lucero, A. Menocal, E. Albornoz, I. Castillo, M. Rapoport, P. Ceriana, P. Gaggioli, A. Corso. Development and validation of simple tests (agar spot, colistin drop, 1ml-broth disk elution MIC and tablet pre-diffusion) as an alternative to improve accuracy in screening chromosomal and plasmid-mediated colistin resistance in Gram-negative bacill. ECCMID 2018. O0952

Servicio Antimicrobianos - INEI - MALBRÁN