

Instructivo Prueba de CarbaNP



Lote 01

Fecha de elaboración: 7 de mayo de 2018

Estabilidad, manejo y precauciones

1. Almacenar en refrigeración los reactivos A y C.
2. Almacenar en congelación el reactivo B. (cualquier temperatura de congelación disponible)
3. Cuando se vaya a realizar alguna prueba, sacar del congelador inmediatamente antes.
4. Una vez descongeladas las pruebas a usar, **sacudir las ligeramente** para asegurarse que todo el reactivo está en el fondo.
5. No descongelar las pruebas que no se vayan a usar. Si se descongela alguna de más, desechar y no usar.
6. La solución A y B deben presentar una coloración rojiza, si presenta cambios significativos de color no debe utilizarse.

Fundamento.

La prueba de CarbaNP se basa en la hidrólisis *in vitro* de imipenem por un lisado bacteriano, que se detecta por los cambios en los valores de pH utilizando un indicador ácido base (rojo fenol).

Selección de cepas a probar:

- Enterobacterias o *Pseudomonas aeruginosa* con resultado intermedio o resistente a uno o más de los carbapenémicos (ertapenem, imipenem o meropenem)
- La prueba no es útil para *Acinetobacter baumannii*

Reactivos

Reactivo A: Solución de trabajo

Reactivo B: Solución de trabajo más antibiótico (imipenem)

Reactivo C: Solución de lisis

Material necesario (no proporcionado)

- Pipeta automática para dispensar 100 μ l
- Tubos estériles (Eppendorf u otros tubos estériles disponibles en el laboratorio)
- Cultivo joven en agar sangre, agar soya o agar Mueller Hinton. No puede usarse MacConkey o EMB.
- Congelador
- Incubadora aerobiosis
- Ampolleta de imipenem (imipenem/cilastatina) 500 mg/500 mg

Procedimiento

Preparar 2 tubos estériles nuevos y etiquetar como:

Tubo A: Control interno

Tubo B: Problema

1. Atemperar la solución A y B que se encuentran en refrigeración y congelación, respectivamente.
2. Añadir 200 μ L del buffer de lisis (reactivo C) en el tubo etiquetado como control interno (Tubo A).
3. Suspender una asada de la cepa a estudiar en los 200 μ L de reactivo C y agitar en vórtex.
4. Transferir 100 μ L de la suspensión al tubo B (Problema).

5. Añadir 100µL del reactivo A al tubo A (control interno) y agitar en vórtex.
6. Adicionar 100µL del reactivo B al tubo B (problema) y agitar en vórtex.
7. Incubar ambos tubos a 37°C y revisarlos cada 30 min. Buscar cualquier cambio de color del problema con respecto al control interno. Incubar los tubos hasta dos horas para descartar como negativo.

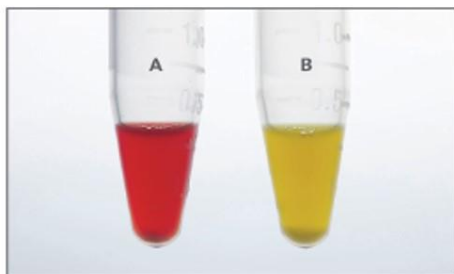
Control de calidad

Realizar el mismo procedimiento usando la cepa control productora de carbapenemasas (control positivo) y la cepa no productora (*Escherichia coli* ATCC 25922) que se proporcionarán.

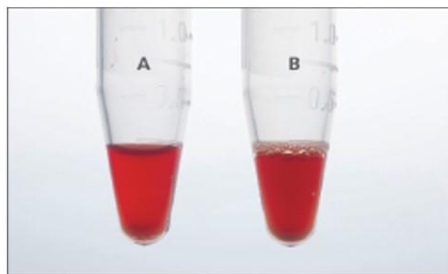
Interpretación y reporte

Tubo 1 (control interno)	Tubo 2 (problema) + antibiótico	Interpretación	Reporte
Rojo o naranja rojizo	Rojo o naranja rojizo	Negativo	Cepa no productora de carbapenemasas
Rojo o naranja rojizo	Naranja claro, amarillo claro u oscuro	Positivo	Cepa productora de carbapenemasas
Rojo o naranja rojizo	Naranja	Inválido (repetir la prueba)	Inconcluso a la producción de carbapenemasas
Naranja, naranja claro, amarillo oscuro o claro	Cualquier color	Inválido (repetir la prueba)	Inconcluso a la producción de carbapenemasas

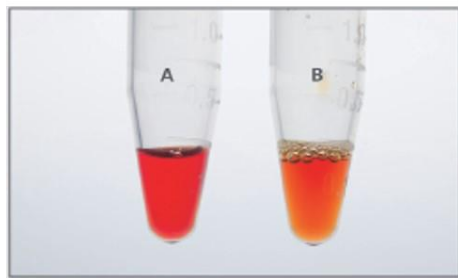
Positivo



Negativo



Negativo



Inválido

