

Prueba de inactivación de carbapenémicos

Material necesario

- Tubo con 2 ml de caldo soya
- Sensidisco de meropenem (10 µg)
- Tubo con solución salina (3.0 a 5.0 mL)
- Placa de agar Müeller-Hinton

Fundamento.

Esta prueba se basa en que los microorganismos productores de carbapenemasas degradan el meropenem impregnado en un disco, provocando su hidrólisis e inactivación, y al sacar ese disco y enfrentarlo con una cepa de susceptibilidad a carbapenémicos conocida (*Escherichia coli* ATCC 25922) no ocurre la inhibición. En caso de que la carbapenemasa no esté presente el meropenem no será hidrolizado y podrá inhibir el crecimiento de la cepa de *E. coli*.

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*

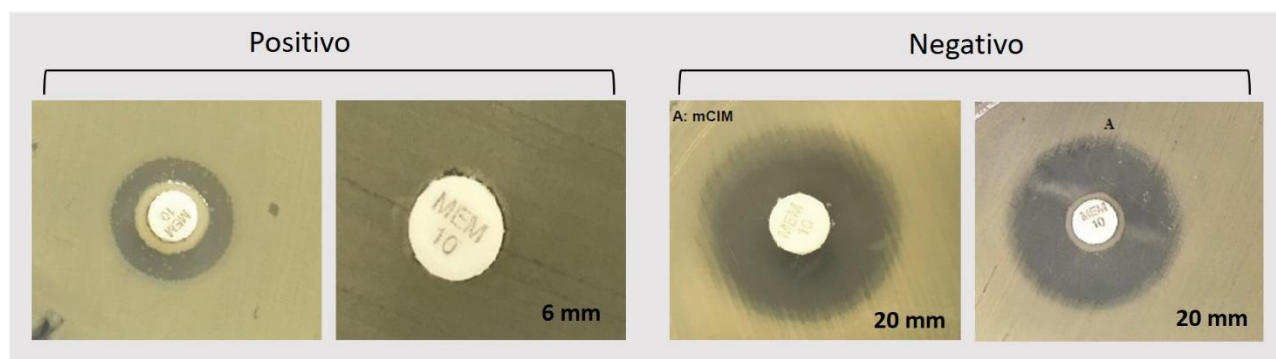
Procedimiento

1. Resuspender una asada (10µL) de la cepa en el tubo con caldo soya tripticasa y homogenizar la muestra por agitación en vortex por 10-15 segundos.
2. Añadir el disco de meropenem en la suspensión utilizando pinzas estériles y asegurarse que quede perfectamente sumergido en el caldo.
3. Incubar a 35°C ± 2°C durante 4 horas.
4. Preparar una suspensión de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 con turbidez equivalente al tubo al 0.5 de McFarland en solución salina.
5. En los primeros 15 minutos posteriores a la preparación del inóculo de *E. coli*, inocular la placa de agar Müeller-Hinton empleando un hisopo estéril utilizando el procedimiento de rutina para difusión en disco.
6. Dejar secar las placas de 3-10 minutos antes de colocar el disco de meropenem.
7. Remover el disco de meropenem del caldo utilizando pinzas estériles o empleando un asa bacteriológica. Tener cuidado de quietar el exceso de caldo presionándolo contra las paredes del tubo.
8. Colocar el disco de meropenem sobre el agar Müeller-Hinton previamente inoculado. En una placa de 100mm se pueden colocar cuatro discos y 8 discos en placas de 150mm.
9. Invertir las placas de agar Müeller-Hinton e incúbelas de 18-24 horas a 35°C ± 2°C.
10. Al día siguiente medir los halos de inhibición y realice la interpretación empleando los siguientes criterios.



Interpretación y reporte

Resultado	Interpretación	Reporte
• Halo de inhibición de 6-15 mm • Presencia de colonias pequeñas en la zona de 16-18mm	Positivo	Cepa productora de carbapenemasas
Halo de inhibición ≥ 19 mm (zona de inhibición clara sin ningún tipo de crecimiento)	Negativo	Cepa no productora de carbapenemasas
• Halo de inhibición de 16-18mm • Halo de inhibición ≥ 19mm pero se observan colonias pequeñas	Indeterminado (repetir la prueba)	Inconcluso a la producción de carbapenemasas



Nota: Se puede observar crecimiento alrededor del disco de meropenem debido al acarreo del microorganismo de estudio, pero debe ser ignorado.