



Krajowy Ośrodek
Referencyjny
ds. Lekowrażliwości
Drobnoustrojów

CIM - Carbapenem Inactivation Method

Elżbieta Literacka

Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej
Narodowy Instytut Leków

Warszawa

2019

Schemat wykonania i interpretacja testu CIM



Masę bakteryjną badanego izolatu (całe oczko ezy 10 μ l) zawiesić w 400 μ l H₂O. Dobrze wymieszać na wortexie.



Dodać krążek z meropenemem (10 μ g)



Inkubacja*
2h 35 \pm 2°C
Enterobacterales
Pseudomonas spp



Po inkubacji krążek z meropenemem położyć na podłożu agarowym Mueller-Hinton posianym zawiesiną 0,5 McF szczepu *E. coli* ATCC 25922



Inkubacja
18-24h 35 \pm 2°C



Odczyt stref zahamowania wzrostu

+

Szczep wytwarza karbapenemazę

-

Szczep nie wytwarza karbapenemazy

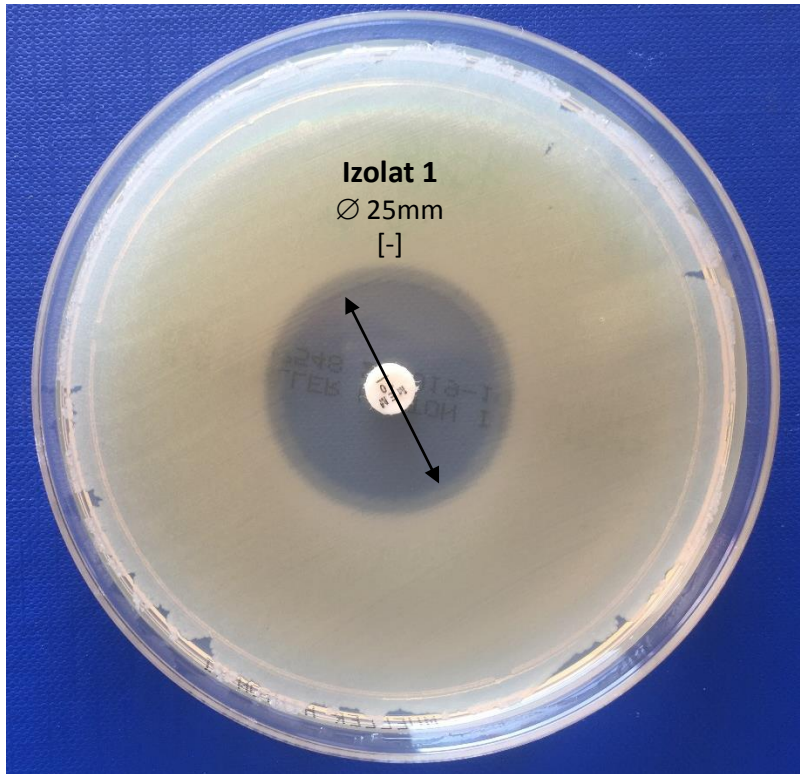
*Dla szczepów *Acinetobacter* spp. inkubacja trwa 4h

Test CIM – zasady odczytu i interpretacji

Odczyt testu polega na zmierzeniu średnicy strefy zahamowania wzrostu szczepu wzorcowego *E. coli* ATCC 25922 wokół krążka z meropenemem.

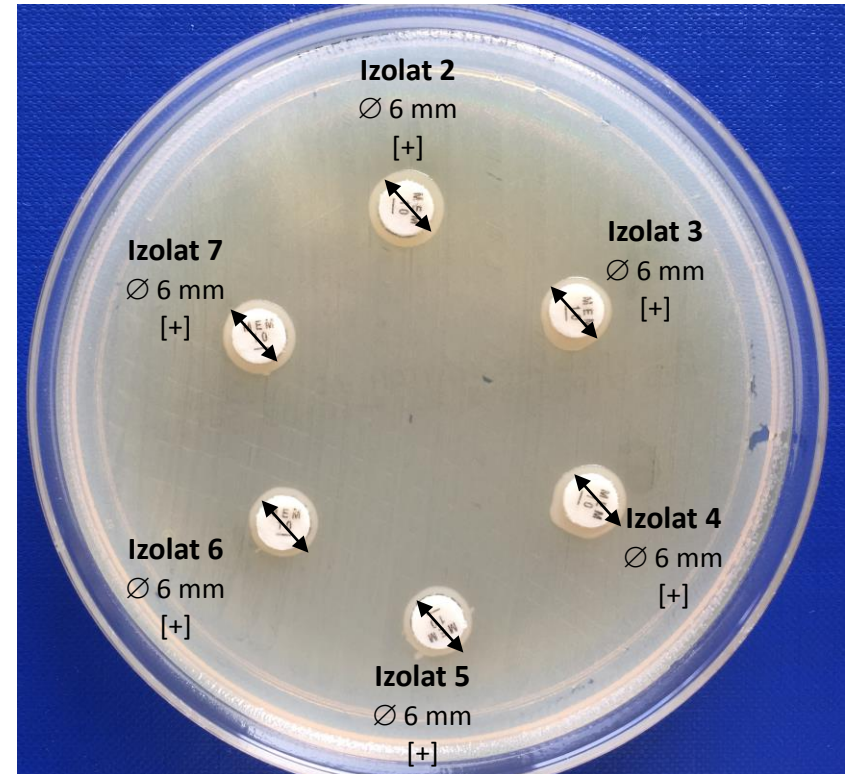
Kryteria interpretacji (KORLD):

- Ø ≤17 mm – wynik dodatni – wykryto karbapenemazę
- Ø 18-19 mm – wynik wątpliwy
- Ø ≥20 mm – wynik ujemny – nie wykryto karbapenemazy



Wynik ujemny

Izolaty nr 1 nie wytwarzają karbapenemazy, Ø 25 mm

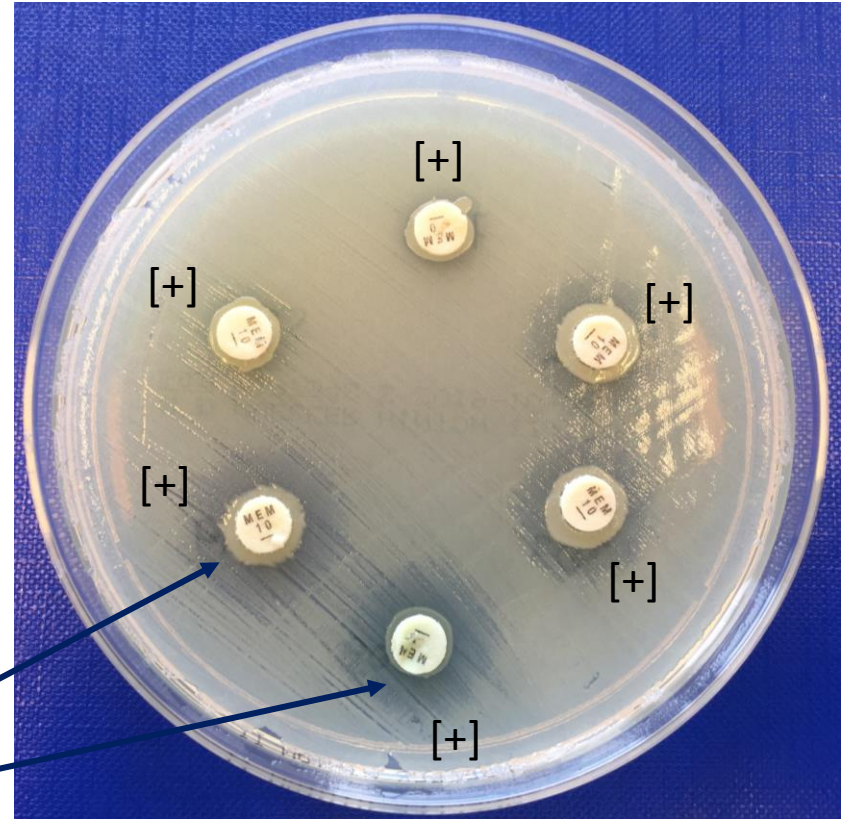
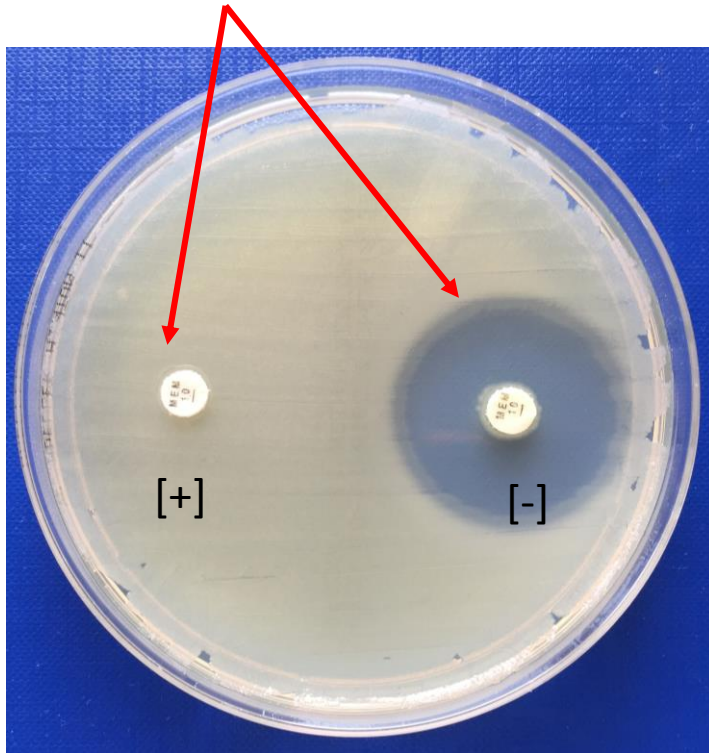


Wynik dodatni

Izolaty nr 2-7 wytwarzają karbapenemazę, Ø 6 mm

Test CIM – zasady odczytu i interpretacji

Najczęstszy obraz wyników uzyskiwanych w teście CIM:
Wyraźna, duża strefa zahamowania wzrostu – **wynik ujemny**
Całkowity brak strefy zahamowania wzrostu – **wynik dodatni**

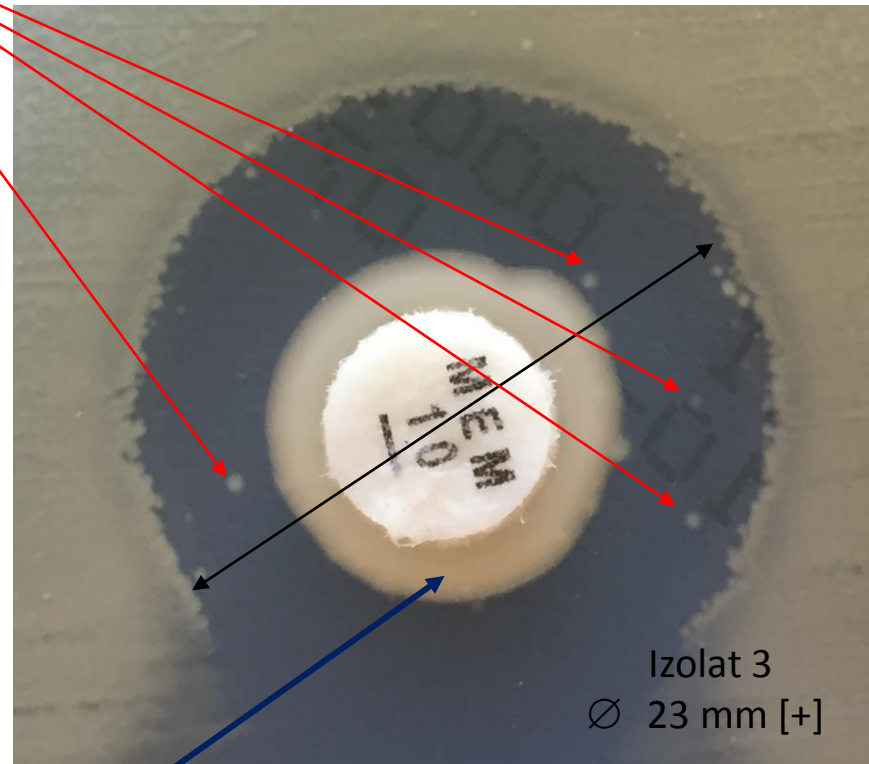
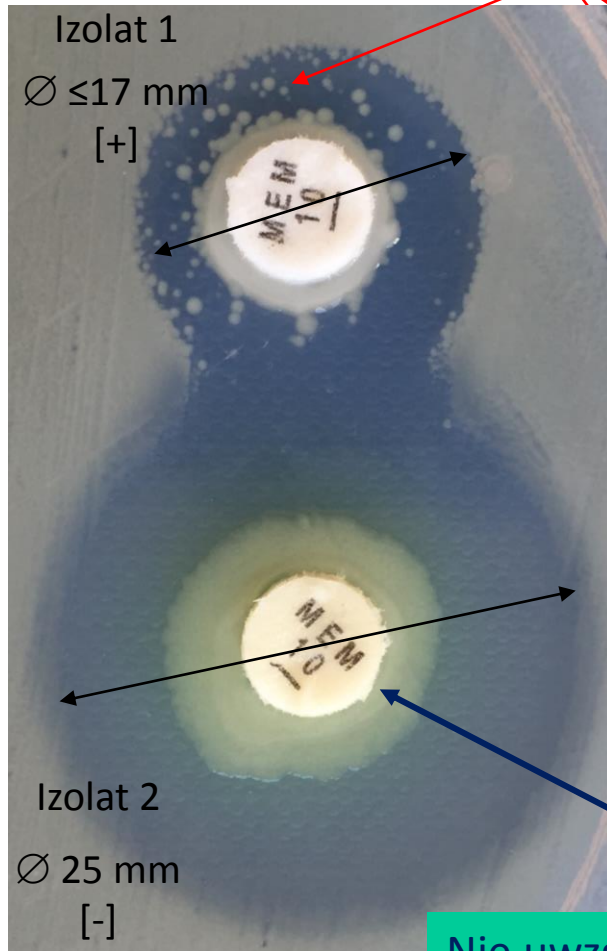


Brak wyraźnej strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z meropenemem, ale widoczny jest intensywny wzrost szczepu *E. coli* ATCC 25922 pod krążek – **wynik dodatni**.

Test CIM – zasady odczytu i interpretacji

Pojedyncze kolonie w strefie zahamowania wzrostu $\varnothing > 17$ mm

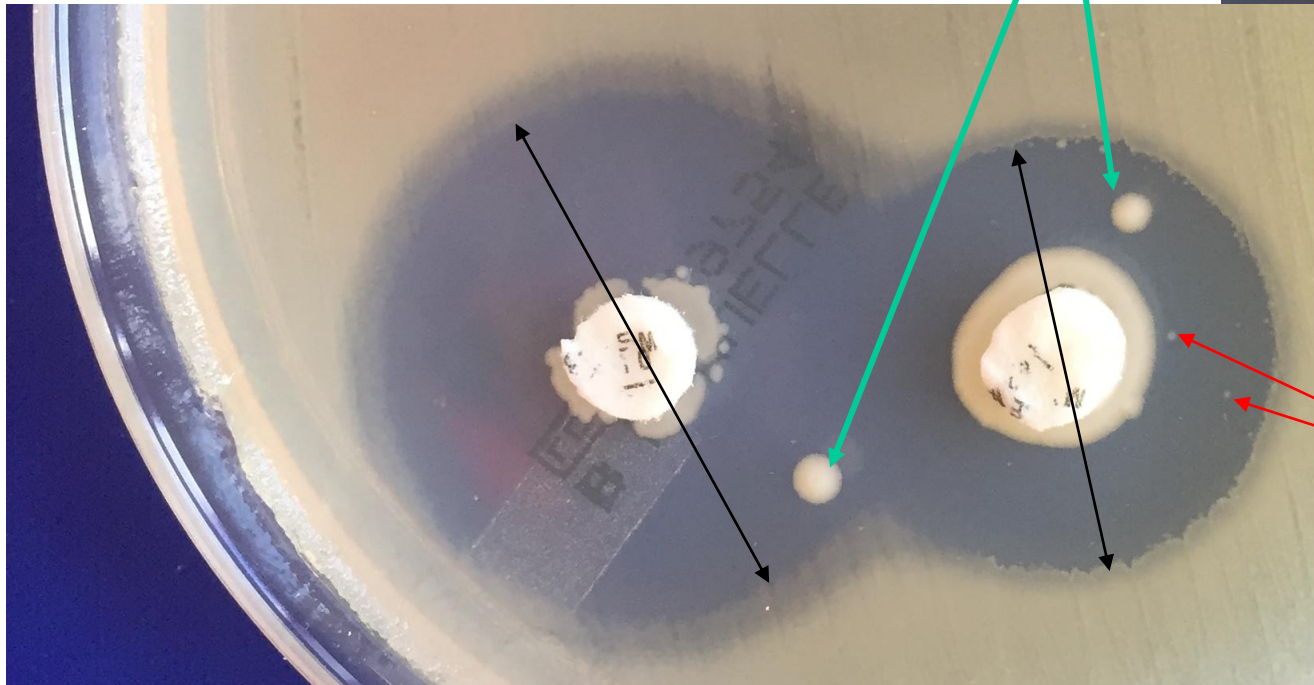
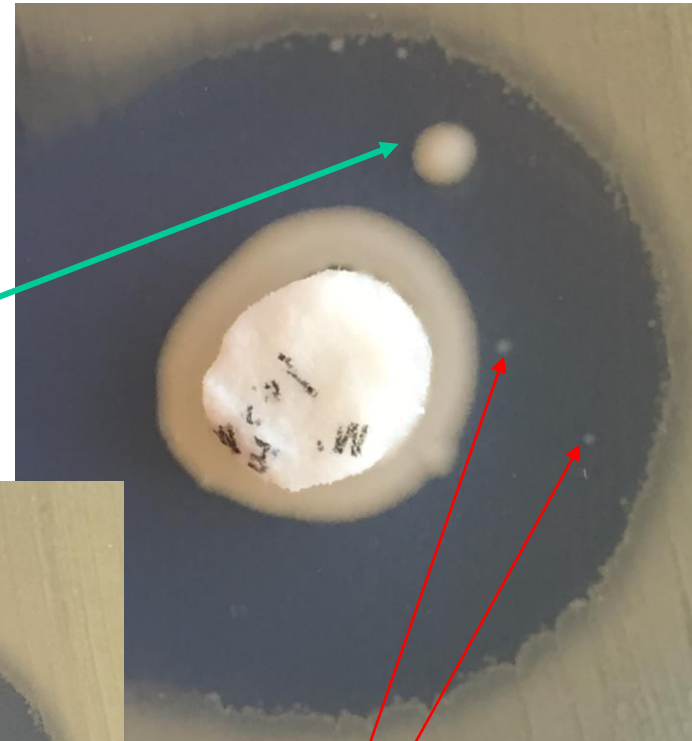
Najczęściej jest to wynik dodatni testu CIM, wskazujący na występowanie karbapenemazy w badanym izolacie bakterii. Test należy powtórzyć przedłużając inkubację krążka (MEM) z zawiesiną bakteryjną do 4h.



Nie uwzględniamy rozlanego wzrostu wokół krążka z meropenemem.

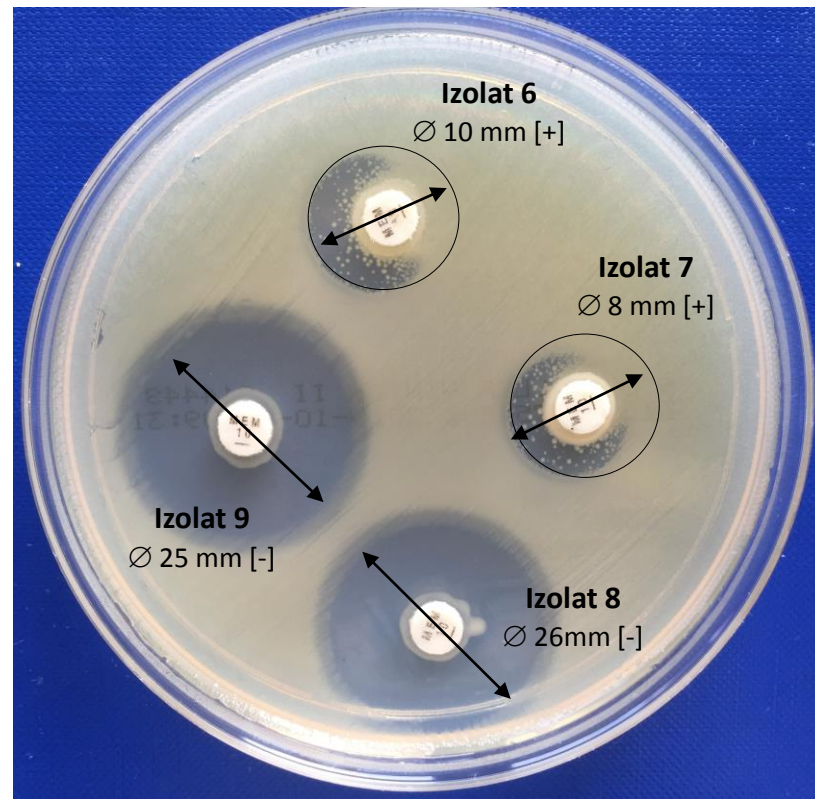
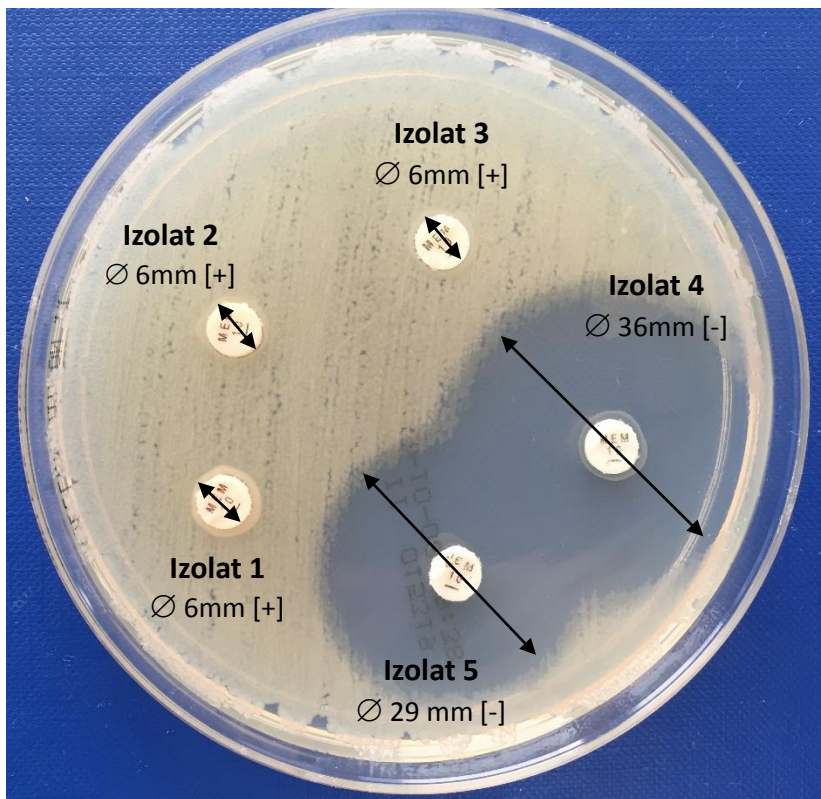
Test CIM – zasady odczytu i interpretacji

Prawdopodobnie efekt przypadkowego rozprysku zawiesiny bakteryjnej, znajdującej się na krążku antybiogramowym podczas przenoszenia krążka na płytkę agarową. **Nie uwzględniamy przy odczycie.**

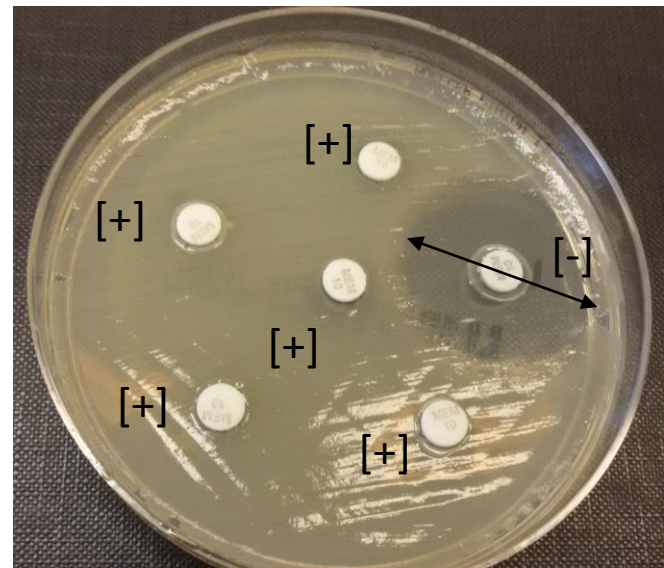
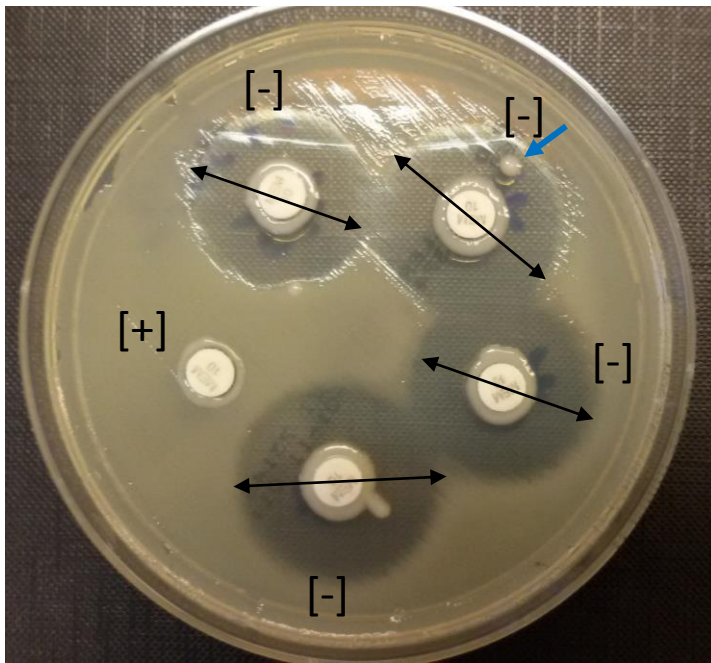
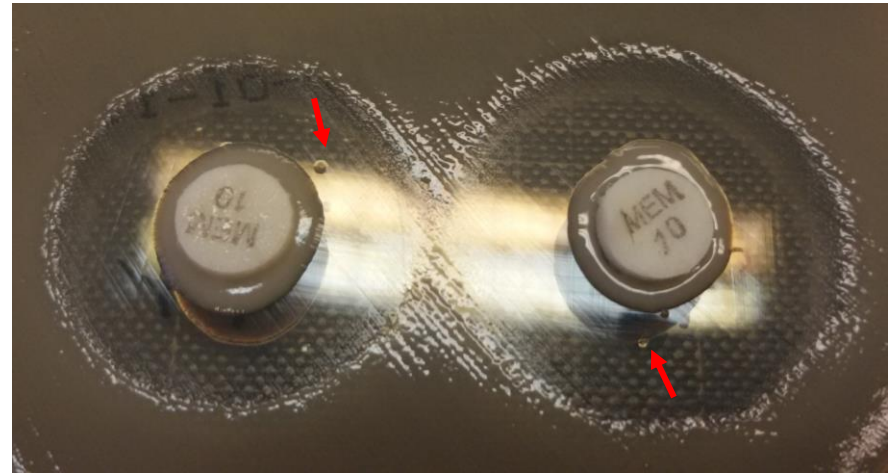
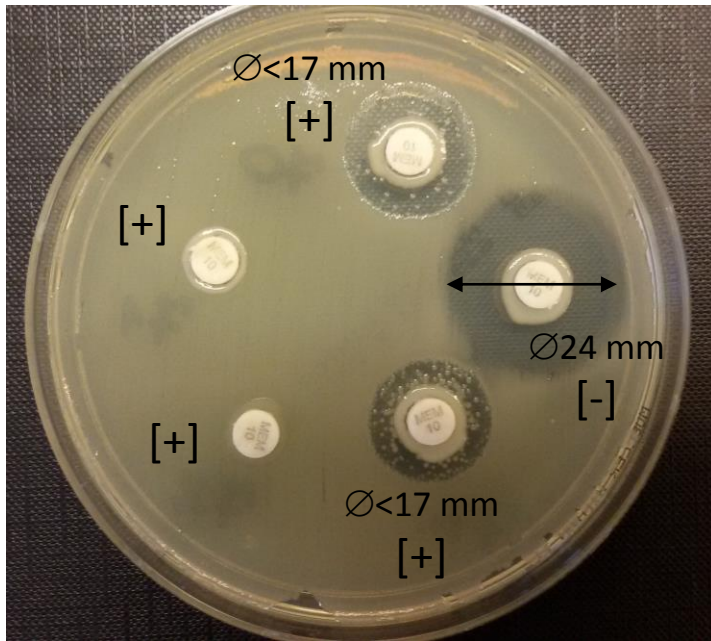


Małe kolonie w strefie zahamowania wzrostu najczęściej świadczą o **wyniku dodatnim.**

Test CIM – wyniki i interpretacja



Test CIM - wyniki i interpretacja



Test CIM – wyniki

Enterobacterales, Pseudomonas spp., Acinetobacter spp.

K. van der Zwaluw i wsp., PLoS One. 2015

Wstępna walidacja testu dla 30 izolatów: KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48, SPM, AIM, BIC, DIM, OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-143, SIM – dla wszystkich izolatów uzyskano dodatni wynik testu CIM; wyniki testu CIM dla 694 izolatów zawarto w tabeli.

n=694	n	CIM +	CIM-
PCR(+)	137		
IMP	2	2	0
KPC	5	5	0
NDM	17	17	0
OXA-48	42	42	0
VIM	44	43	1*
OXA-23	12	10	2**
PCR(-)	557	7***	550

* przy powtórnym oznaczeniu uzyskano wynik dodatni testu CIM

** *Acinetobacter* spp. – po 4h inkubacji krążka zawierającego meropenem z zawiesiną bakterii uzyskano wynik dodatni

*** dotyczy pałeczek niefermentujących;

4 izolaty PCR (+) dla karbapenemaz BIC (n=2), IMP, OXA-72

E. Literacka i wsp., KORLD - wyniki testu CIM dla 560 izolatów

n=560	n	CIM +	CIM-
PCR (+)	436		
KPC	45	45	0
NDM	227	227	0
OXA-48	43	43	0
VIM	62	55	7*
OXA-23**	20	20	0
OXA-24**	36	36	0
OXA-58**	3	3	0
PCR(-)	124	0	124

* *Pseudomonas* spp. – przy powtórnym oznaczeniu uzyskano wynik dodatni, z wyjątkiem 1 izolatu

** u pałeczek *Acinetobacter* spp. OXA-23, -24, -58

często obserwuje się niepełną hydrolizę meropenemu

(Ø >17 mm/pojedyncze kolonie w strefie zahamowania wzrostu)

CORRESPONDENCE

Iran, J. Chemother., lipiec 2016
245 *Pseudomonas* spp.

MHT, MCarbaNP, CIM, PCR
CIM / PCR 100% czułość i swoistość
dla MCarbaNP - 4 izolaty - wynik f(+)
MHT niska czułość i swoistość

specific method for ph
isolates compared with

Comparison of the carbapenem
inactivation method (CIM) and
modified carbapenem inactivation
method (mCIM) for the detection of
carbapenemase-producing
organisms



MIC >2 µg/mL (range 0.125 µg/mL to >32 µg/mL). A head-to-head comparison of the CIM and mCIM was performed using all 96 isolates (67 carbapenemase-producing isolates and 29 non-carbapenemase producing isolates). The 67 St Vincent's Pathology isolates were subcultured from original isolates stored in glycerol at -70°C. Isolates were subcultured onto MacConkey agar for determination of purity and then a repeat subculture was made on Columbia agar with 5% sheep blood (SBA) for testing. Isolate identification was confirmed by MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Germany) and resistance was avoided to prevent resistance and number of passages of isolates was unknown. The CIM was the original method as described by [ref], using a 10 µL loop the test

Australia, Pathology, grudzień 2018
CIM czułość 97.9%, swoistość 96.5%

J Microbiol Methods. 2016 Sep;128:48-51. doi: 10.1016/j.mimet.2016.06.019. Epub 2016 Jun 18.

Comparison of the
methods for carb

Yamada K¹, Kashiwa M

Author informati

Abstract

We compared three s
produced false-negati
these isolates. Altho

Microb Drug Resist. 2016 Jun 21. [Epub ahead of print]

VIM-1, VIM-2, and GES-5 Carbapenemases Among
Istanbul, Turkey.

Malkoçoğlu G¹, Aktaş E¹, Bayraktar

Author information

Abstract

Worldwide increase in carbapenem resistance and
aeruginosa infections. In this study, investigation
clinical specimens in a tertiary hospital was aim
inactivation method" (CIM) was used for phenot
blaOXA-48, and blaGES-5 genes

Japonia, J Microbiol Methods., wrzesień 2016
Dobry test dla laboratoriów klinicznych

Turcja, Microb Drug Resist., czerwiec 2016
84 *P. aeruginosa* odporne na karbapenemy
PCR (KPC, NDM, IMP, VIM, OXA-48)
CIM (+) dla 3 izolatów / PCR (VIM, n=2; GES-5, n=1)

Carbapenemases are significant challenges in treatment of *Pseudomonas*
in carbapenem-resistant *P. aeruginosa* isolates recovered from
P. aeruginosa isolates were examined. "Carbapenem
of blaKPC, blaNDM, blaIMP, blaVIM,
were identified by sequence
of high-risk clones

[Evaluation of carba
Enterobacteriaceae s

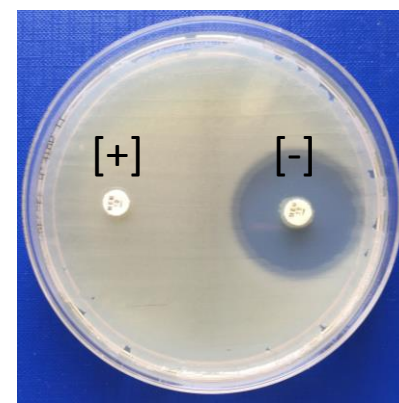
Turcja, Mikrobiyol Bul., lipiec 2016
56 Enterobacteriaceae (+)
(n=56, 38 OXA-48, 8 VIM, 7 IMP, 1 NDM,
1 KPC, OXA-48+VIM;
78 izolatów (-)
Czułość i swoistość 100%

High Prevalence
Metallo-β-Lactamase-Producing
Enterobacter cloacae From Three
Tertiary Hospitals in China

Chiny, Frontiers in Microbiology, sierpień 2019
Czułość 100, swoistość 89.5%.

the presence of the 38 blaOXA-48, 8 blaVIM, 7 blaIMP, 1 blaNDM-1, 1 blaKPC-2 and 1 blaOXA-48+blaVIM genes had been previously determined

Test CIM



Dodatni wynik testu CIM jednoznacznie potwierdza występowanie karbapenemazy w badanym szczepie.

Dla każdej partii szczepów badanych w teście CIM należy dołączyć szczep *E. coli* ATCC 25922, jako kontrolę ujemną.

Test należy wykonywać zgodnie z procedurą:

- dla bakterii wyhodowanych na podłożu agarowym Columbia
- krążek z meropenemem należy inkubować z zawiesiną badanego szczepu przez:
2 godziny (*Enterobacterales*, *Pseudomonas* spp.)
4 godziny (*Acinetobacter* spp.)

Test CIM – podsumowanie

- Wiarygodny test do wykrywania karbapenemaz MBL (NDM, VIM, IMP), KPC, OXA-48, OXA-23, -24, -58, -72 u *Enterobacterales*, *Pseudomonas* spp. i *Acinetobacter* spp.
- Wyniki testu CIM należy zawsze interpretować w odniesieniu do wyników uzyskanych przy użyciu innych metod.
- Wykonanie testu jest możliwe w każdym laboratorium mikrobiologicznym.
- Bardzo dobry test zarówno do badania pojedynczych szczepów, jak i w dużych badaniach przesiewowych.
- Test CIM może być stosowany zamiennie z testem Carba NP do wykrywania karbapenemaz, w zależności od potrzeb laboratorium.
- Test CIM jest stosowany w diagnostyce referencyjnej KORLD.
- Szczegóły wykonania i interpretacji podane są na stronie www.korld.edu.pl