



Carbapenem Inactivatie Methode (CIM)

Inleiding:

Om snel en eenvoudig te bepalen of een Gram-negatief* isolaat in staat is om meropenem actief af te breken door carbapenemase-activiteit kan de CIM worden uitgevoerd¹. *De methode is getest en gevalideerd met *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. en *Acinetobacter* spp.

Principe:

Een meropenem-bevattende disk (die ook voor diskdiffusie gebruikt wordt) wordt geïncubeerd met een suspensie van het te testen isolaat. De disk wordt vervolgens op een dek van een meropenem-gevoelige stam geplaatst en de plaat wordt geïncubeerd. Als het isolaat carbapenemases produceert, zal het meropenem in de disk tijdens de incubatie geïnactiveerd worden. Er ontstaat geen remmingszone rondom de disk, het onderzochte isolaat is dus een carbapenemase-vormer. Als het te onderzoeken isolaat geen carbapenemase produceert, zal het meropenem in de disk niet worden afgebroken en ontstaat er een remmingszone rondom de disk.

Protocol

1. Neem van het te testen isolaat minstens een **volle 10 µl öse** cultuur vanaf een schapenbloedagar of een Mueller-Hinton agarplaat (MHA) en suspendeer de bacteriën in 400 µl water
2. Gebruik een OXA48-positief isolaat als positieve controle en *Escherichia coli* ATCC 25922 als negatieve controle
3. Voeg hier een disk meropenem (10 µg) aan toe, zorg ervoor dat deze volledig ondergedompeld is in de suspensie
4. Incubeer **minstens** twee uur (bij voorkeur 4 uur) bij 35°C, bij voorkeur in een heating block of waterbad
5. Beënt een MHA met een 0.5 McFarland suspensie (komt overeen met een OD₅₅₀ van 1.25) van *E. coli* ATCC 25922 in fysiologisch zout met een swab in drie richtingen
6. Haal met een 10 µl öse de disk meropenem uit de suspensie en plaats deze op de beënte MHA plaat (op één MHA plaat 90mm Ø kunnen maximaal vijf disks geplaatst worden)
7. Incubeer de MHA minstens zes uur (indien het resultaat binnen één werkdag bekend moet zijn) maar bij voorkeur overnacht bij 35°C
8. Aflezen en beoordelen:
 - Wanneer er geen remmingszone zichtbaar is, dan heeft het isolaat het meropenem in de disk afgebroken en is de uitslag "carbapenemase-activiteit aangetoond"
 - Wanneer er een remmingszone zoals bij de negatieve controle zichtbaar is, dan heeft het isolaat het meropenem in de disk niet afgebroken en is de uitslag "carbapenemase-activiteit niet aangetoond"
 - In sommige gevallen is een duidelijk kleinere remmingszone (minstens 4 mm kleiner dan de negatieve controle) zichtbaar. Een dergelijk resultaat is aanleiding om de test te herhalen. Indien dit resultaat bij herhaling gevonden wordt, is het resultaat van de test dubieus. Stuur dergelijke isolaten ook naar het RIVM voor confirmatie

NB. Omdat de bacteriesuspensie niet afgedood wordt, kunnen er met de meropenem disk levende bacteriën meekomen die groei op de MHA rondom de disk veroorzaken. Deze groei dient genegeerd worden in de beoordeling

1 K. van der Zwaluw, A. de Haan, G. N. Pluister, H. J. Bootsma, A. J. de Neeling and L. M. Schouls, 'The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods', *PLoS One*, 10 (2015), e0123690.