

روش‌های رایج فنوتایپی در شناسایی کارباینمازها

دکتر محمد رهبر

بخش میکروب شناسی آزمایشگاه جامع سلامت

مقدمه

- کاربایتم ها (به عنوان مثال، مروپنم ، ایمي پنم ، ارتا پنم و دوری پنم با طیف فعالیت ضد باکتریایی گسترده، یک کلاس از آنتی بیوتیک های بتالاکتام متفاوت از پنی سیلین هستند.. کاربایتم ها اولین بار در سال 1980 میلادی معرفی شدند. آنها معمولاً به عنوان آخرین انتخاب در درمان عفونت های جدی ناشی از سویه های مقاوم چند دارویی باسیل های گرم منفی استفاده می شوند.

مقدمه

- مقاومت به کارباینم ها در میان باکتری‌های گرم منفی (MDR-GNB) عمدتاً مرتبط با تولید کارباینمازها می‌باشد. بخاطر ارتباط کارباینماز ها در مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های بتالاکتام و سایر کلاس های آنتی بیوتیک ها، مانند فلوروکینولون ها، کوتریموکسازول و آمینوگلیکوزیدها، این مساله در حال حاضر به یک نگرانی فزاینده در مراکز بهداشتی درمانی در سراسر جهان تبدیل شده است .

چالش‌های شناسایی تشخیص آزمایشگاهی کارباینها

- شناسایی ایزوله‌های تولید کننده KPC به خصوص در آزمایشگاه میکروب شناسی بالینی مساله چالش برانگیز است. حضور KPC همیشه مربوط به مقاومت سطح بالا به کارباینها نبوده، ولی ممکن است سبب نوسانات MIC در محدوده حساس و یا متوسط شود. این افزایش MIC ممکن است توسط پرسنل آزمایشگاه مورد توجه قرار نگیرد مگر اینکه آزمایش‌های تأییدی فنوتیپی یا ژنوتایپی به کار گرفته شوند.

شناسایی کارباینماز توسط روش‌های حساسیت آنتی بیوتیکی

- اگر چه روش‌های جدید مولکولی و فنوتیپی برای تشخیص کارباینماز در پاتوژن‌های گرم منفی معرفی شده‌اند، اما هنوز نیاز به تست‌های ساده و مطمئن‌تر است. اولین گام در تشخیص کارباینماز، استفاده از روش‌های شناسایی براساس آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی در سویه‌های بالینی است. این روش‌ها شامل دیسک دیفیوژن، میکرودايلوشن برات، روش‌های گرادیان ضد میکروبی (به عنوان مثال نوارهای E-test) و چندین سیستم خودکار تجاری موجود به عنوان مثال، سیستم‌های VITEK شرکت بیومریکس (Marcy L'Etoile, France)، سیستم میکروب شناسی خودکار Phoenix سیستم‌های BD Diagnostics و MicroScan WalkAway شرکت زیمنس (Dade Behring, West Sacramento, CA) می باشند.

روش‌های فنوتیپی شناسایی کارباپنمازها

- در حالی که برخی از آزمایشات ممکن است برای شناسایی باکتری‌های تولیدکننده کارباپنماز استفاده شوند، در سال‌های اخیر روش‌های فنوتیپی بطور فزاینده‌ای در بسیاری از آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی بالینی بکار گرفته می‌شود که بهترین آنها عبارتند از:

منسوخ شده است Modified Hodge Test (MHT)

Carba NP test

The Carbapenem Inactivation Method (CIM),

MHT

- در این روش برای تشخیص باکتریهای مولد کارباینماز از دیسک های 10 میکرو گرمی ارتاینم ویا مروپنم استفاده می کنند .
- روش:- ابتدا یک سوسپانسیون میکروبی معادل کدورت نیم مک فارلند از اشریشیا کولی ATCC 25992 تهیه کرده و آنرا با نرمال سالین 10/1 رقیق کنید. از سوسپانسیون تهیه شده در محیط مولر هینتون به روش دیسک دیفیوژن کشت دهید و 3-10 دقیقه صبر کنید تا سطح محیط کشت خشک شود و سپس با یک پنس استریل یک عدد دیسک ارتاینم ویا مروپنم را در وسط محیط مولر هینتون قرار دهید و با نوک پنس فشار مختصری بر روی دیسک بدهید تا دیسک به سطح مولر هینتون بچسبد.

MHT

- - با استفاده از لوپ 10 میکرولیتری و یا سواب استریل 3-5 عدد از کلونی باکتری مورد آزمایش و همچنین سویه کنترل مثبت و منفی را برداشت نموده و بطور جداگانه بصورت خطی از لبه دیسک بطرف لبه پلیت کشت دهید. توصیه می شود طول خط کشت بطول 20-25 میلی لیتر باشد. تعداد سویه های مورد آزمایش در یک پلیت بستگی به اندازه آن دارد در صورت استفاده از پلیت های با قطر 15 میلی متری می توان بیش از یک نمونه بیمار را آزمایش کرد. پلیت ها را بمدت 16-18 ساعت در دمای 35 درجه سانتیگراد انکوبه نمائید

MHT

- 3- پلیت ها را از لحاظ افزایش رشد سویه های مورد آزمایش و سویه های کنترل کیفی در محل تلاقی خط کشت با لبه دیسک بررسی کنید. افزایش رشد و تشکیل شکل برگ شبدری نشان دهنده مثبت بودن برای تولید آنزیم کارباینماز می باشد.
- توجه داشته باشید بعضی از میکروارگانیسم ها ممکن است موادی را ترشح کنند که مانع از رشد اشریشیا کولی ATCC 25992 گردد و یک ناحیه شفاف دیده شود در اینگونه موارد آزمایش قابل تفسیر نمی باشد

MHT

- 3- پلیت ها را از لحاظ افزایش رشد سویه های مورد آزمایش و سویه های کنترل کیفی در محل تلاقی خط کشت ، با لبه دیسک بررسی کنید. افزایش رشد و تشکیل شکل برگ شبدری نشان دهنده مثبت بودن برای تولید آنزیم کارباینماز می باشد.
- توجه داشته باشید بعضی از میکروارگانیسم ها ممکن است موادی را ترشح کنند که مانع از رشد اشریشیا کولی ATCC 25992 گردد و یک ناحیه شفاف دیده شود در اینگونه موارد آزمایش قابل تفسیر نمی باشد

MHT



Figure 3. An Example of an Indeterminate Result. (1) A clinical isolate with an indeterminate result; and (2) a clinical isolate with a negative result.

MHT

- توجه 1- در بررسی های که بر روی تعداد زیادی از از ایزوله های آنتروباکتریاسه صورت گرفته است آزمایش (MHT) دارای حساسیت و ویژگی بیش از 90% بوده است **ولی حساسیت ویژگی ای آزمایش برای تایپ - کارباینماز ای کلبسیلا پنمونیه متغیر بوده است.**
- توجه 2- اطلاعاتی در خصوص مفید بودن (MHT) برای تشخیص تولید کارباینماز ها در باسیل گرم منفی غیر تخمیری وجود ندارد.
- توجه 3- این تست از CLSI M100-S27 اقتباس شده است از سال 2018 و در CLSI M100-s28 این تست منسوخ شده است.

آزمایش Carba – NP

- این آزمایش جهت تشخیص احتمالی تولید آنزیم کارباپنماز در انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا کاربرد دارد. هدف از این آزمایش استفاده از آن در مطالعات اپیدمیولوژی و کنترل عفونت می باشد. در حال حاضر استفاده از این آزمایش بطور روتین توصیه نمی شود.

Carba NP

- -آب مقطر
- -پودر استاندارد ایمینم
- -معرف تجاری جهت استخراج پرو تئین باکتریائی
Hcl buffer سولفات روی حاوی 7 مولکول آب
pH Tris = 4/7
- -پودر فنل رد
- -محلول NaOH یک نرمال
- - محلول اسید کلریدریک 10%
- -لوله های میکرو سا نتریفیوژ 5/1 میلی لیتری شفاف
- -لوپ یک میکرولیتری

Carba NP

- ظرف جهت نگهداری محلول های تهیه شده
- از مواد اشاره شده در بالا جهت تهیه محلول های زیر استفاده کنید
- -محلول سولفات روی 10 میلی مول
- - محلول 0.5% فنل رد
- - محلول 0.1 نرمال هیدروکسید سدیم
- - محلول A Carba- NP
- محلول B Carba- NP (محلول A Carba- NP)

روش آزمایش

- دو عدد لوله میکرو سانتریفیوژ را انتخاب کرده ویکی را a و دیگری را b برای هر ایزوله نامگذاری کنید. ارگانایسم کنترل کیفی، و معرف کنترلی تلقیح نشده.
- 100 میکرولیتر از معرف استخراج کننده پروتئین را به هر کدام از لوله ها اضافه کنید

Carba NP

- برای هر کدام از ایزوله های مورد آزمایش یک لوپ میکرولیتری پر از روی بلاد آگار 24 ساعته برداشت کرده و در لوله های a, b حل کنید. هر کدام از لوله ها را ورتکس کنید (لوله های کنترل تلقیح فقط باید حاوی معرف استخراج پروتئین باکتریائی باشد و هیچ ارگانισμού داخل آن تلقیح نشده باشد). توجه : برای سوسپانسیون میکروبی از محیط انتخابی ویا محیط های حاوی آنتی بیوتیکی استفاده نکنید .

Carba NP

- 100 میکرولیتر از محلول را به لوله a اضافه کنید
- 100 میکرولیتر از محلول را به لوله b اضافه کنید
- لوله را بخوبی ورتکش کنید
- لوله را تا دو ساعت در دمای 35 درجه سانتی گراد گرماگذاری کنید ایزوله ها ئیکه که نتایج آنها قبل از 2 ساعت مثبت شده باشند می توان آنها را بعنوان تولید کننده کارباینماز در نظر گرفت.

Carba NP

استراتژی های خواندن تست

- لوله کنترل معرف را که باکتری به آنها تلقیح نشده است قرائت نمائید
- هر دو لوله بایستی رنگشان قرمز و یا قرمز متمایل به نارنجی باشند
- اگر هر کدام از لوله ها رنگ دیگری داشته باند آزمایش اعتبار ندارد
- **لوله های را که باکتری به آنها تلقیح شده است قرائت نمائید.**
- لوله a باید قرمز و یا قرمز - نارنجی باشد
- اگر لوله a رنگ دیگری داشته باشد آزمایش ارزش ندارد
- لوله تلقیح شده b را قرائت نمائید
- رنگ قرمزیو یا قرمز - نارنجی = منفی
- نارنجی کم رنگ ، زرد تیره ، و یا زرد = مثبت
- نارنجی = فاقد ارزش

Carba -NP

- نکات
- یک تغییر رنگ جزئی ممکن است با اضافه کردن ایمی پنم در محلول A مشاهده شود لذا در موارد مشکوک لوله مربوط به بیمار را با لوله کنترل معرف مقایسه کنید
- برای آزمایش های فاقد اعتبار
- معرف های سویه های کنترل کیفی و لوله تلقیح نشده کنترلی حاوی معرف را کنترل کنید
- تجزیه معرفها ممکن است منجر به نتایج فاقد اعتبار گردد. یک نتیجه فاقد اعتبار

Carba -NP

نتایج آزمایش بیماران و کنترل کیفی		
تفسیر	لوله b محلول B	لوله a محلول A (بعنوان کنترل داخلی)
منفی عدم وجود کارباینماز	قرمز یا قرمز نارنجی	قرمز یا قرمز نارنجی
مثبت از لحاظ تولید کارباینماز	نارنجی کم رنگ ، زرد تیره یا زرد	قرمز یا قرمز نارنجی
فاقد اعتبار	نارنجی	قرمز و یا قرمز-نارنجی
فاقد اعتبار	هر رنگی که باشد	نارنجی کم رنگ ، زرد تیره یا زرد

Carba –NP test Renaults



Carba -NP

- با اضافه کردن ایمی پنم به به محلول A یک تغییر رنگ مختصر ممکن است اتفاق بیفتد. در صورتیکه در تفسیر نتایج جای سوال باشد لوله های بیماران را با لوله های تلقیح نشده کنترلی مقایسه نمائید
- در صورتیکه نتایج فاقد ارزش باشد موارد زیر را در نظر بگیرید.
- -معرفهای سویه های کنترل کیفی و همچنین معرف های کنترل هائی را که به آنها باکتری تلقیح نکرده اید را کنترل کنید

Carba -NP

- تجزیه معرف ها ممکن است منجر به نتیجه غیر معتبر گردد. یک نتیجه غیر معتبر در لوله حاوی معرف غیر تلقیح شده نشان دهنده مشکل در محلول A و یا محلول B است. pH محلول A را چک کنید. اگر pH کمتر از 8/7 باشد یک محلول تازه A و B تهیه کنید
- -آزمایش معرف کنترل ها را تکرار کنید
- اگر آزمایش تکرار شده نیز فاقد اعتبار شد از روشهای مولکولی استفاده کنید

Carba -NP

- گزارش نتایج
- در صورتیکه ایزوله مورد آزمایش تولید کارباینماز کرده باشد آنرا مثبت گزارش کنید
- اگر ایزوله مورد آزمایش تولید کارباینماز نکرده باشد آنرا منفی گزارش کنید
- سویه کنترل مثبت و کنترل منفی
- کلبسیلا پنمونیه ATCC BAA 1705 کارباینماز مثبت
- کلبسیلا پنمونیه ATCC BAA 1706 کارباینماز منفی

Carba NP

- نتایج معرف های تلقیح نشده لوله های کنترل a و b بایستی منفی باشند قرمز و یا قرمز - نارنجی). سایر نتایج آزمایش هائی را که در همانروز با یک سری ساحت از مواد انجام داده شده است غیر معتبر می باشند.
- نکته 1- آزمایش Carba - NP بواسطه نتایج حاصله که بر روی تعداد زیادی از ایزوله های انتروباکتریاسیه و سودوموناس آئروژینوزا انجام شده وحساسیت ویژگی آن بیش از 90% بوده است توصیه شده است

Carba NP

- نکته 2 - توجه داشته باشید مطالعات نشان داده است که استفاده از این آزمایش جهت تشخیص کارباپنماز در اسینتوباکتر دارا ی حساسیت خیلی پائین (3/21 %) بوده است لذا از این روش برای تشخیص تولید آنزیم کارباپنماز استفاده نمی شود نکته 3- قبل از انجام آزمایش Carba -NP باید MIC باکتری مورد آزمایش طبق دستورالعمل CLSI تعیین گردد در صورتی که MIC باکتری مورد آزمایش در مقابل ایمپینم ویا مروپنم بین 2-4 $\mu\text{g/ml}$ ویا 2 $\mu\text{g/ml}$ و برای ارتاپنم باشد در اینصورت مشکوک به تولید کارباپنماز بوده و انجام آزمایش Carba -NP توصیه می گردد.

دستورالعمل تولید معرفهای آزمایش Carba – NP

- الف – طرز تهیه 10 mM محلول سولفات روی
- 4/1 گرم از سلفات روی $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ را وزن نمائید
- پودر را به 500 میلی لیتر آب اضافه کنید
- بخوبی مخلوط کنید
- محلول را در دمای اتاق نگهداری کنید
- توجه : پایداری این محلول یکسال می باشد

Carba -NP

- ج- طرز تهیه هیدروکسید سدیم 0.1 نرمال
- 1-20 میلی لیتر از هیدروکسید سدیم 1 نرمال را به 180 میلی لیتر آب مقطر اضافه کنید
- 2-در دمای اتاق نگهداری کنید
- توجه :پایداری این محلول یکسال می باشد
- طرز تهیه محلول Carba -NP A
- در داخل یک بشری با گنجایش 25-50 میلی لیتری 2 میل لیتر از محلول فنل رد 0.5% را به 6/16 میلی لیتر آب اضافه کنید
- 180 میل لیتر از سلفات روی 10 mM اضافه کنید
- pH محلول را با هیدروکسید سدیم 0.1 نرمال به 7.8 ± 0.1 برسانید (اگر pH خیلی قلیائی باشد برای تنظیم pH آن از اسید کاریدریک 10% استفاده کنید)
- توجه : محلول را دور از نور نگهداری کنید.مدت زمان اتقضای این محلول دو هفته می باشد.
-

Carba NP

- طرز تهیه محلول Carba –NP B
- 1- حجم محلول B را مشخص نمائید برای هر بیمار و یا کنترل های کیفی داخلی وی لوله های تلقیح نشده 100 میکرولیتر در نظر بگیرید
- 10-20-2 میلیگرم از پودر ایمی پمنم را توزین کنید

Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)

- آزمایش (mCIM) برای تعیین تولید کارباپنمازها در آنتروباکتریاسیه و سودوموناس آئروژینوزا بکار می رود در حالیکه آزمایش eCIM به همراه (mCIM) برای افتراق متالو بتا لاکتاماز از سرین کارباپنماز در آنتروباکتریاسه کاربرد دارد.

mCIM

- مواد لازم
- محیط مایع TSB (2 میلی لیتر)
- دیسک 10 میکرو گرمی مروپنم
- لوپ یکبار مصرف با حجم 1 و 10 میکرو لیتری
- نوترینت برات (TSB بعنوان مثال TSB / BHI) ویا نرمال سالین 3-5 میلی لیتر
- محیط مولر هینتون آگار (پلیت های 100 ویا 150 میلی متری)
- سویه استاندارد حساس به مروپنم
- 0.5 M EDTA فقط برای آزمایش eCIM

mCIM

- روش کار
- یک لوپ پر (لوپ یک میکرولیتری) از کلونی باکتری مورد آزمایش (آنتروباکتریاسیه) ویا در خصوص سودوموناس آئروژینوزا (یک لوپ پر 10 میکرولیتری از کلونی باکتری را برداشت کرده و آنرا در داخل 2 میلی لیتر از TSB حل کنید
- بمدت 15-10 ثانیه ورتکس کنید
- با استفاده از یک عدد پنس استریل یک عدد دیسک مروپنم را در داخل سوسپانسیون میکروبی حاوی TSB بیندازید
- لوله را بمدت 4 ساعت در دمای 35 درجه سانتیگراد انکوبه کنید (15 دقیقه $\pm$)
- یک سوسپانسیون میکروبی معادل کدورت نیم مک فارلند از اشریشیا کولی ATCC 25992 در نرمال سالین تهیه کنید.

mCIM

- اشیشیاکولی را طبق روش استاندارد دیسک دیفیوژن در سطح مولر هینتون آگار کشت دهید.
- با استفاده از یک لوپ 10 میکرو متری دیسک موجود در لوله حاوی سوسپانسیون را از داخل لوله برداشت کرده و سطح آنرا به به کناره لوله فشار دهید تا مایع اضافی آن گرفته شود. و سپس دیسک مروپنم را در محیط مولر هینتون آگاری که در روی آن از اشیشیا کولی ATCC 25992 را کشت داده اید قرار دهید. بر روی هر پلیت می توانید 4 عدد دیسک مروپنم قرار دهید.
- پلیت را برگردانید و آنرا بمدت 18-24 ساعت در دمای 35 انکوبه کنید
- قطر هاله ممانعت از رشد اطراف دیسک مروپنم را انده گیری کنید.

mCIM

- روش آزمایش eCIM
- توجه : آزمایش eCIM برای آنتروباکتریاسه اختیاری می باشد اگر بخواهید این آزمایش را انجام دهید بشرح زیر عمل کنید.
- برای هر ایزوله يك لوله دیگری که حاوي 2 ميلي لیتر TSB (طبق بند 1) تهیه نموده و آنرا eCIM نامگذاری فرمائید.
- 20 میکرولیتر از 0.5M EDTA را به 2 ميلي لیتر از TSB که قبلا تهیه کرده اید اضافه کنید تا غلظت نهائی آن به 5mM EDTA برسد
- بقیه آزمایش را طبق بندهای 9-1 انجام دهید
- 4-دیسک های مروپنم را که قبلا به هرکدام از لوله های حاوي , mCIM (TSB eCIM) انداخته اید طبق دستورالعمل بالا در آورده و در روي محیط مولر هینتون اگر که در روي آن اشریشیا کولی ATCC 25992 کشت داده اید قرار دهید. (توجه برای آزمایش eCIM از سویه کنترل کیفی دیگری استفاده نمائید

mCIM تفسیر نتایج آزمایش

- کار با پنماز مثبت
- - اگر قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف دیسک مروپنم بین 6-15 میلی متر باشد و یا در داخل هاله ممانعت از رشد با قطر 16-18 میلیمتر کلونی های ریزی نوک سنجاقی رشد کرده باشند سوپیه مورد آزمایش تولید کننده آنزیم کارباینماز بوده و KPC مثبت می باشد.
- - اگر باکتری مورد آزمایش تولید آنزیم کارباینماز کرده باشد ، مروپنم موجود در دیسک هیدرولز گردیده و مانع از رشد اشیشا کولی ATCC 25992 شده باشد و یا رشد آنرا محدود خواهد کرد.

mCIM

- کاربردینماز منفی
- -در باکتریهای کاربردینماز منفی قطر هاله ممانعت از رشد 19 ملی متر ویا بیشتر خواهد بود. اگر باکتری مورد آزمایش کاربردینماز تولید نکرده باشد مروپنم موجود در دیسک هیدرولیز نشده و لذا مروپنم از رشد اشیریشیا کولی ATCC 25992 مانعت خواهد کرد.

mCIM

- جواب حد واسط
- -اگر قطر هاله ممانعت از رشد 16-18 میلیمتر باشد
- -قطر هاله ممانعت از رشد 19 میلی متر ویا بیشتر باشدولی در داخل هاله ممانعت از رشد **کلونی های ریز نو سنجاقی مشاهده گردد**
- -در اینصورت وجود ویا عدم وجود کارباینماز را نمی توان رد ویا تأیید کرد.

eCIM

- تفسیر آزمایش eCIM
- متالو بتالاکتامتر مثبت
- -اگر قطر هاله ممانعت از رشد در آزمایش eCIM در مقایسه با **CIM 5 میلی متر ویا بیشتر افزایش یافته باشد** (بعنوان مثال اگر قطر هاله ممانعت از رشد در آزمایش mCIM مساوی 6 میلیمتر و در eCIM 15 میلی متر باشد اختلاف آنها 9 میلی متر خواهد بود که از 5 میلی متر بیشتر است) فقط در آزمایش eCIM اگر در داخل ناحیه ممانعت از رشد کلونی ریز سوزنی رشد کرده باشد از آنها صرفنظر نمائید

eCIM

- - اگر باکتری مورد آزمایش آنزیم متالوبتا لاکتاماز تولید کرده باشد **فعالیت کارباینماز در حضور EDTA مهار خواهد شد بطوریکه مروپنم موجود در دیسک بطور موثر مانند مروپنم موجود در لوله بدون EDTA هیدرولیز نخواهد شد** و این امر موجب مهار رشد اشرشیا کولی حساس به مروپنم خواهد شد و باعث افزایش قطر هاله ممانعت از رشد در روش eCIM در مقایسه با روش mCIM خواهد شد.

eCIM

- متالو بتا لاکتاماز منفي
- اگر افزایش قطر هاله ممانعت از رشد در روش eCIM در مقایسه با قطر هاله ممانعت از رشد در روش mCIM مساوی 4 میلیمتر و یا کمتر باشد (بعنوان مثال قطر هاله ممانعت از رشد با روش mCIM 6 میلیمتر و با روش eCIM 8 میلی متر باشد در اینصورت اختلاف قطر هاله ممانعت از رشد با دو روش 2 میلیمتر خواهد بود) در اینصورت باکتری مورد آزمایش از لحاظ متالو بتا لاکتاماز منفي مي باشد(از رشد کلوني هاي ریز نوک سوزني در داخل هاله ممانعت از رشد در روش eCIM صرف نظر کنید)
- اگر باکتری مورد آزمایش تولید سرین کارباینماز کرده باشد فعالیت کارباینماز تحت تاثیر حضور EDTA قرار نخواهد گرفت و قطر هاله ممانعت از رشد در حضور EDTA در مقایسه با روش mCIM کمتر از 4 میلیمتر خواهد بود

mCIM



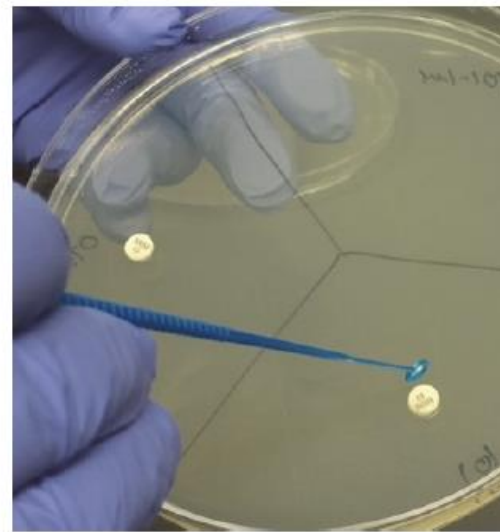
A



B



C



D

Figure 1: Remove the meropenem disk with a 10µL loop (A) and drag the loop against the inside edge of the tube to expel any excess liquid (B). Use the same loop to remove the disk from the tube (C) and place it on the MHA plate (D) previously inoculated with the meropenem-susceptible *E. coli* (ATCC® 25922) indicator strain.

mCIM

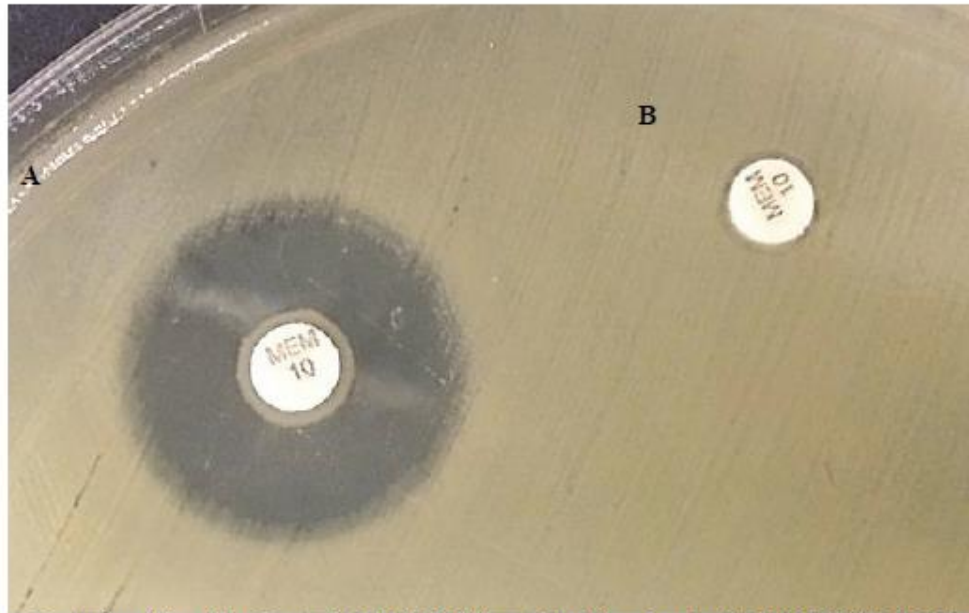


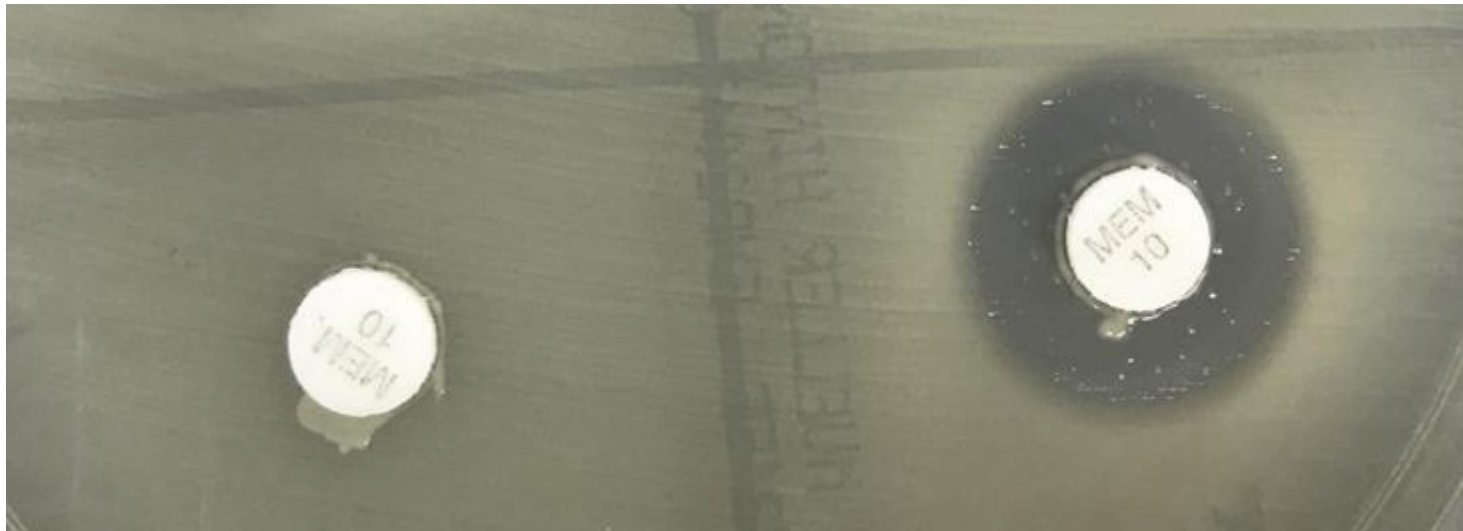
Figure 2a: mCIM results for QC strains. Negative Control: BAA1706 (A) and Positive Control: BAA1705 (B). NOTE: A narrow ring of growth around the meropenem disk as seen with the negative control (A) results from carryover of the test organism in the TSB broth and should be ignored.

mCIM



Figure 2b: Example of carbapenemase producing isolates. NOTE: Positive mCIM result.

Continue..



**Result: positive mCIM and
eCIM ? Report: metallo- β -
lactamase detected**

Continue..



**diameter for eCIM vs zone
diameter for mCIM. [?] Result:
positive mCIM and negative
eCIM [?] Report: spring**

mCIM

- [PLoS One](#). 2015; 10(3): e0123690.
- Published online 2015 Mar 23.
doi: [10.1371/journal.pone.0123690](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123690)
- PMCID: PMC4370852
- PMID: [25798828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25798828/)
- **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**