

Anleitung EDTA-CDT

Test zum Nachweis von Metallo-Betalaktamasen

Materialien

- EDTA-Lösung 0,5 M (pH 8,0)
- geeigneten Mueller-Hinton-Agar
- Antibiotikaplättchen: Imipenem 10 µg, Meropenem 10 µg
- Blank-Plättchen ohne Antibiotikabeschickung

Durchführung

- Mueller-Hinton-Agarplatte wird mit Teststamm inokuliert wie für eine Resistenzbestimmung nach CLSI oder EUCAST
- je zwei Plättchen Imipenem und/oder Meropenem sowie ein Blank-Plättchen werden aufgelegt
- auf je eines der Antibiotika-Plättchen sowie das Blank-Plättchen wird 5 µl EDTA-Lösung pipettiert (\approx 930 µg EDTA)
- Bebrütungstemperatur/-dauer wie bei Resistenztestung nach CLSI oder EUCAST

Qualitätskontrolle

- *P. aeruginosa* NRZ-01058 (Hemmhofdurchmesser für Imipenem und Meropenem: ca. 13 mm; Metallo-Betalaktamase ausgeschlossen)
- *P. aeruginosa* NRZ-00425 (Metallo-Betalaktamase vom Typ VIM-2)
- *E. cloacae* NRZ-00239 (Metallo-Betalaktamase vom Typ VIM-1)

Auswertung

- *Enterobacteriaceae*
 - eine Hemmhofvergrößerung \geq 6 mm bei Meropenem ist als positiv zu werten (Sensitivität 100%, Spezifität 84,7%)
- *P. aeruginosa*
 - eine Hemmhofvergrößerung \geq 5 mm bei Imipenem ist als positiv zu werten (Sensitivität 95,6%, Spezifität 78,3%)
- *A. baumannii*
 - eine Hemmhofvergrößerung \geq 9 mm bei Imipenem ist als positiv zu werten (Sensitivität 93,8%, Spezifität 99,8%; die Testcharakteristika wurden nur anhand weniger NDM-positiver Stämme ermittelt und sind als vorläufig zu betrachten)

Hinweise und Limitationen

- Der Test kann ausschließlich Metallo-Betalaktamasen nachweisen. Ein negatives Ergebnis schließt andere Carbapenemasen nicht aus.
- In der Literatur sind zahlreiche Versionen des EDTA-CDT beschrieben, die sich in der Menge des zugegebenen EDTA, in den verwendeten Carbapenemen und den empfohlenen Grenzwerten für die Hemmhofvergrößerung unterscheiden. Die hier verwendete Menge von EDTA (930 µg) beruht auf dem Artikel von Pitout et al., J Clin Microbiol 2005; 43: 3129-3135.
- Die vom NRZ derzeit empfohlenen Grenzwerte beruhen auf eigenen Untersuchungen und sind

- vorläufig. In Abhängigkeit von der Spezies wird Meropenem oder Imipenem empfohlen.
- Ein positives Ergebnis sollte immer molekularbiologisch bestätigt werden (wegen der geringen Spezifität und weil die Detektion des Metallo-Betalaktamase-Gens epidemiologisch bedeutsam ist).
 - Bei Verwendung von Mueller-Hinton-Agar bestimmter Hersteller kann die Rate an falsch-positiven Ergebnissen deutlich erhöht sein (bei entsprechendem Verdacht ist eine Qualitätskontrolle mit dem Metallo-Betalaktamase-negativen *P. aeruginosa* NRZ-01058 sinnvoll).
 - Bei Verwendung von Mueller-Hinton-Agar bestimmter Hersteller gelingt die Detektion von Metallo-Betalaktamasen nicht, daher ist eine Qualitätskontrolle mit einem positiven Stamm, z. B. *E. cloacae* NRZ-00239 unabdingbar.
 - Eine Hemmung um das Blank-Plättchen herum kann Hinweis auf ein falsch-positives Ergebnis sein.
 - Optional kann auch je zwei mal ein Plättchen mit Aztreonam aufgelegt werden: Ist dabei ebenfalls eine Hemmhofvergrößerung zu beobachten, kann dies ein Hinweis auf ein falsch-positives Ergebnis sein.

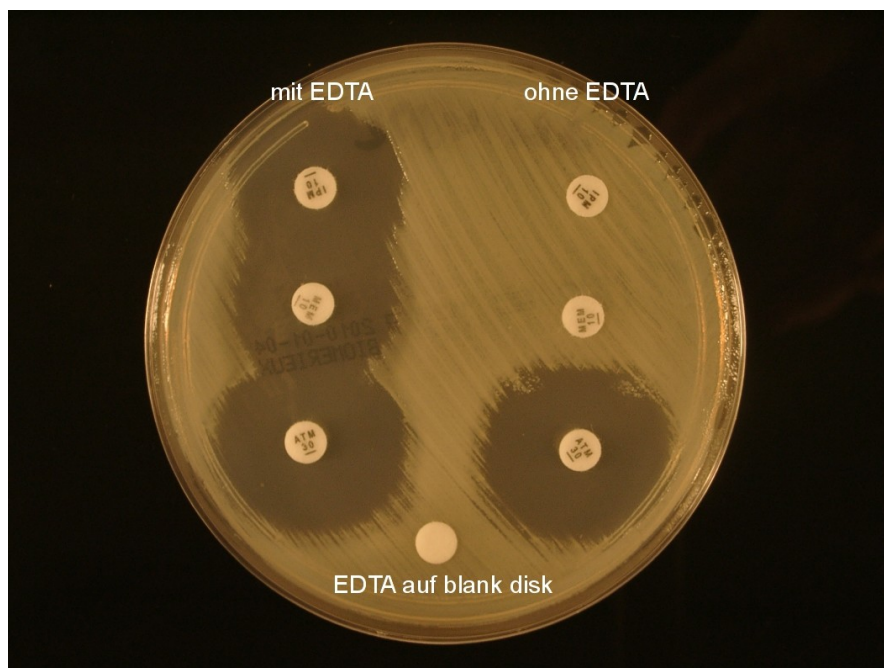


Abbildung 1: EDTA-CDT bei *Serratia marcescens* mit Metallo-Betalaktamase vom Typ VIM-1