

Anleitung EDTA-CDT

Test zum Nachweis von Metallo-Betalaktamasen

Materialien

- EDTA-Lösung 0,5 M (pH 8,0)
- geeigneter 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 (≈ 930 µg EDTA)
- Bebrütungstemperatur/-dauer wie bei Resistenztestung nach EUCAST oder CLSI

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 ≥ 6 mm bei Meropenem ist als positiv zu werten (Sensitivität: 94,0 %, Spezifität: 91,1 %)
- *P. aeruginosa*
 - eine Hemmhofvergrößerung ≥ 5 mm bei Imipenem ist als positiv zu werten (Sensitivität: 95,8 %, Spezifität: 70,0 %)
- *A. baumannii*
 - eine Hemmhofvergrößerung ≥ 7 mm bei Imipenem ist als positiv zu werten (Sensitivität: 56,8 %, Spezifität: 80,9 %)

Für diese Spezies ist der Test daher nicht empfehlenswert!

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 und angegebenen Sensitivitäten und Spezifitäten beruhen auf eigenen jahrelangen Untersuchungen an über 30.000 Bakterienisolaten. In Abhängigkeit von der Spezies wird Meropenem oder Imipenem empfohlen.
- Ein positives Ergebnis sollte immer molekularbiologisch bestätigt werden (wegen der teils 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-Betalaktamase 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 und eine unspezifische Hemmung des Teststammes durch EDTA 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.

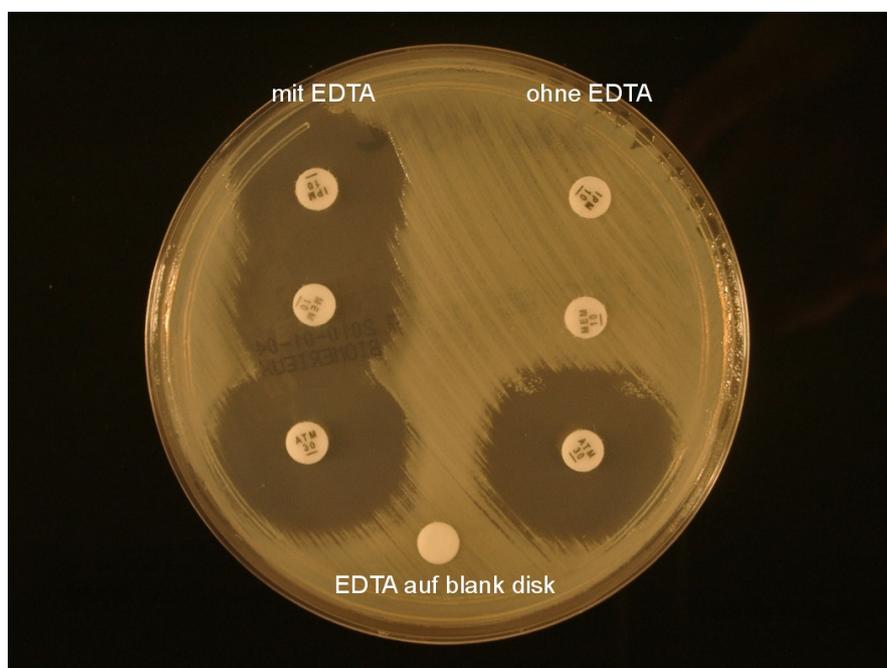


Abbildung 1: EDTA-CDT bei *Serratia marcescens* mit Metallo-Betalaktamase vom Typ VIM-1