

15 października 2019

## **EUCAST RAST – najczęściej zadawane pytania**

W przypadku dodatkowych pytań wiadomości należy przesyłać na adres [emma.k.jonasson@kronoberg.se](mailto:emma.k.jonasson@kronoberg.se)

### **1. Inokulacja podłoża stałego**

#### **1.1 W jaki sposób najłatwiej przenieść krew z butelki z dodatnim posiewem krwi na podłoże stałe?**

Krew można przenieść na płytkę z podłożem stałym za pomocą pipety (po uprzednim przeniesieniu jej do pustej probówki) albo nakraplając krew bezpośrednio z butelki lub strzykawki. Aby uzyskiwać właściwe objętości, ważne jest skalibrowanie procedury do  $125 \pm 25 \mu\text{l}$ .

#### **1.2 Metoda została zwalidowana dla okrągłych płytek o średnicy 90 mm. Czy można stosować płytki innych kształtów i/lub rozmiarów?**

Tak, w metodzie RAST można używać płytek innych kształtów i rozmiarów, ale należy wtedy stosować inną ilość krwi w inokulum. W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących objętości dla różnych rodzajów płytek, należy skontaktować się z EUCAST.

### **2. Odczytywanie stref zahamowania wzrostu**

#### **2.1 Strefy zahamowania wzrostu w naszym laboratorium są niewyraźne lub trudne do odczytania. Co zrobić, by ich odczytywanie było łatwiejsze?**

Strefy zahamowania wzrostu różnią się w zależności od antybiotyku i gatunku drobnoustroju. Niektóre są wyraźne, inne rozmyte. Aby odczytywanie stref zahamowania wzrostu było łatwiejsze, należy zachowywać ostrożność podczas posiewu. Należy unikać zarysowania powierzchni agaru (nie naciskać zbyt mocno), a także upewnić się, że inokulum zostało rozprowadzone równomiernie. Pomocny jest automatyczny inokulator do płytek.

### **3. Ogólna metodyka RAST**

#### **3.1 W naszym laboratorium butelki z dodatnim posiewem krwi przechowywane są w temperaturze pokojowej ponad 3 godziny. Czy mimo to możemy stosować metodę RAST?**

Metoda RAST wg EUCAST została zwalidowana do przechowywania butelek, po otrzymaniu dodatniego wyniku posiewu krwi, do 3 godzin w temperaturze pokojowej lub do 18 godzin w aparacie do hodowli krwi. Jakikolwiek zmiany w tych procedurach powinny zostać zwalidowane dla poszczególnych laboratoriów.

## 4. Wartości graniczne RAST

**4.1 Wyznaczono wartości graniczne RAST dla *Acinetobacter baumannii*. Czy można je stosować dla gatunków z grupy *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. dijkshoorniae*, *A. seifertii*)?**

Wartości graniczne dla *A. baumannii* nie zostały sprawdzone dla innych gatunków z rodzaju *Acinetobacter*. Wszystkie wartości graniczne RAST wg EUCAST należy stosować wyłącznie dla gatunków wymienionych w poszczególnych tabelach.

**4.2 Czy w najbliższym czasie dostępne będą wartości graniczne dla kolejnych gatunków?**

Obecnie nie ma planów ustalenia wartości granicznych dla innych gatunków, jednak planowane jest poszerzenie tabel dla *E. coli*, *K. pneumoniae* i *P. aeruginosa* o kolejne antybiotyki.

## 5. Implementacja metody RAST

**5.1 Czy EUCAST zaleca konkretny protokół lub liczbę badań z zastosowaniem szczepów wzorcowych podczas implementacji metody RAST?**

EUCAST nie przedstawił formalnych zaleceń dotyczących liczby powtórzeń procedury kontroli jakości niezbędnej do zwalidowania systemu. Odpowiednie jest przeprowadzenie minimum 5 badań (każde innego dnia). Wyniki powinny zostać porównane z wartościami oczekiwanymi i dopuszczalnymi zakresami kontroli jakości RAST. Jeśli jest taka potrzeba, należy wprowadzić poprawki, a kontrolę jakości powtórzyć.

**5.2 Czy szczepami wzorcowymi powinny być inokulowane butelki do tlenowego czy beztlenowego posiewu krwi?**

Można stosować dowolny rodzaj butelek, np. tlenowe i beztlenowe.

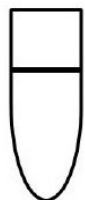
**5.3 Czy podczas wykonywania procedury kontroli jakości RAST można zastosować krew inną niż końska lub barania?**

Metoda została opracowana dla krwi końskiej i baraniej. Zastosowanie innego rodzaju krwi lub dodatków wzrostowych może prowadzić do otrzymania innych stref zahamowania wzrostu i powinno zostać zwalidowane w danym laboratorium.

**5.4 Jak uzyskać prawidłową gęstość zawiesiny szczepu wzorcowego (1 ml zawiesiny o gęstości 100-200 CFU/ml)?**

Należy przygotować zawiesinę o gęstości 0,5 McFarlanda i rozcieńczyć ją 1:1 000 000 przez dwukrotne przeniesienie 1 µl zawiesiny do próbówki z 1 ml soli fizjologicznej. Z ostatniej próbówki należy pobrać 1 ml zawiesiny i przenieść do butelki do posiewu krwi. Szczegóły przedstawiono na poniższym schemacie.

zawiesina szczepu  
wzorcowego o gęstości  
0,5 McFarlanda



1  $\mu$ L



1  $\mu$ L



1000  $\mu$ L



butelka  
do posiewu krwi

Objętość  
soli fizjologicznej:

1 mL

1 mL

Gęstość  
zawiesiny:

$1 \times 10^8$  CFU/mL

$1 \times 10^5$  CFU/mL

$1 \times 10^2$  CFU/mL