

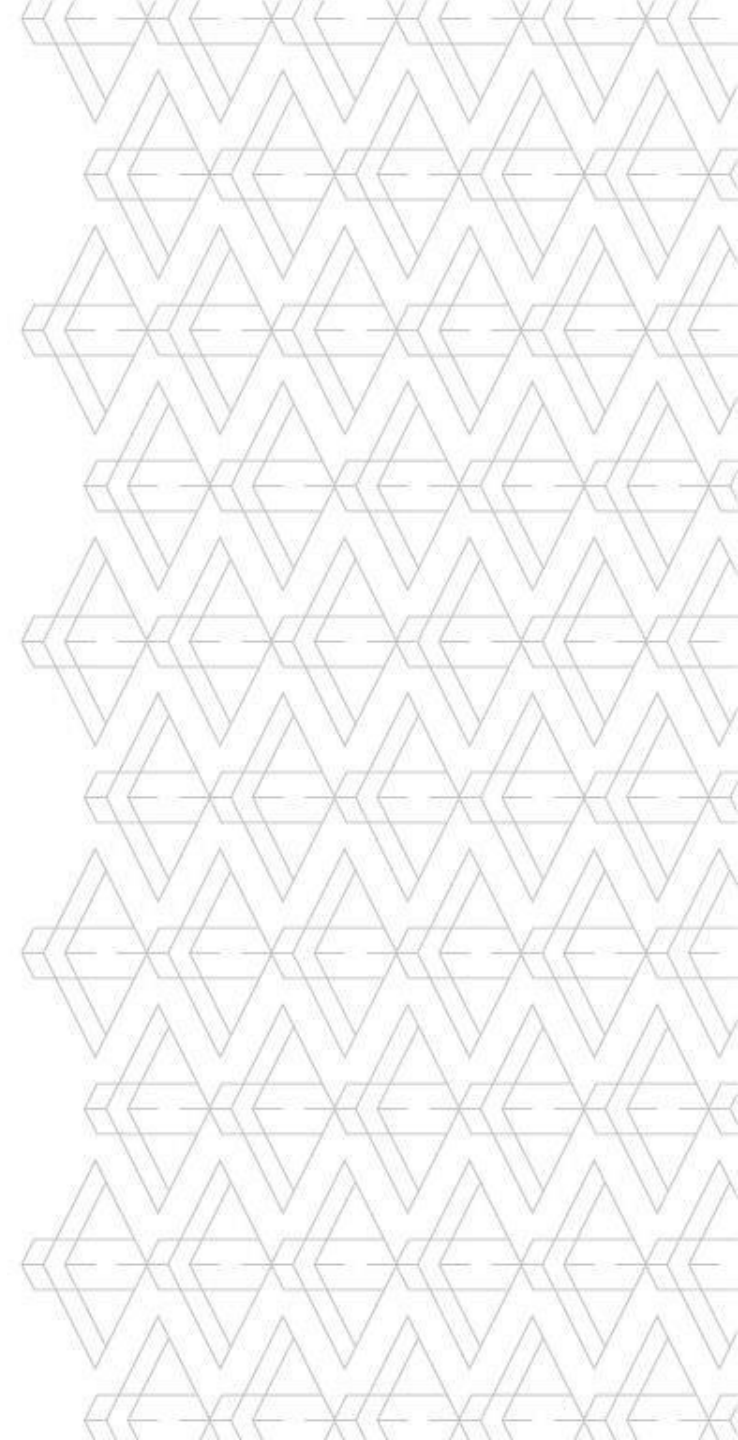


ARGENTA

RAST **konwencjonalnie** **i automatycznie**

Dawid Kościelniak

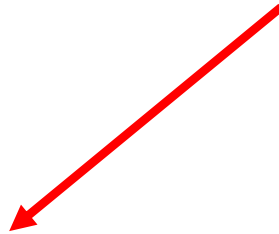
Specjalista ds. Aplikacji



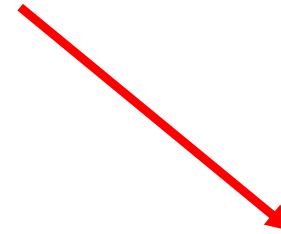
RAST



Szybkie oznaczanie lekowrażliwości bezpośrednio z butelek o dodatnim wyniku posiewu krwi (ang. *rapid antimicrobial susceptibility testing*).



**metoda
konwencjonalna**



metoda automatyczna



ARGENTA

RAST metoda konwencjonalna



Metoda RAST wg EUCAST została opracowana dla metody dyfuzyjno-krażkowej przygotowywanej bezpośrednio z butelek o dodatnim wyniku posiewu krwi i skalibrowana względem wyznaczania MIC metodą mikrorozcieńczeń w bulionie.

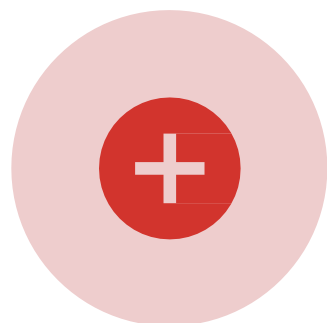


Wyniki mogą być interpretowane wyłącznie przy użyciu tabeli wartości granicznych stref wzrostu wyznaczonych dla RAST, uporządkowanych zgodnie z gatunkiem i czasem odczytu (4, 6 i 8 godzin).

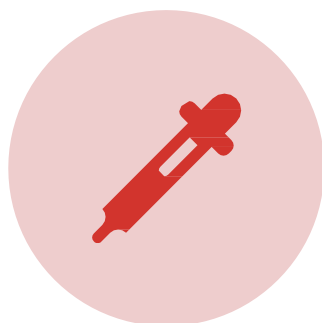


Zostały opracowane również wartości graniczne dla inkubacji 16-20h dla *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* i *S. pneumoniae*.

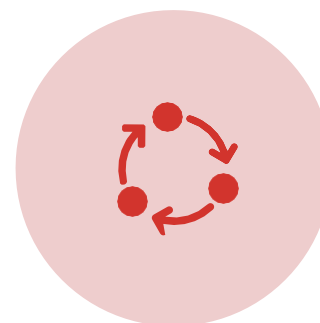
RAST metoda konwencjonalna



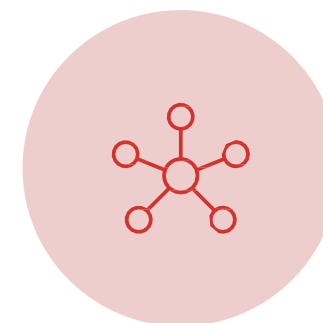
DODATNIAŁ BUTELKĘ
Z POSIEWEM KRWI WYJAĆ
Z APARATU TUŻ PRZED
WYKONANIEM RAST



NA 90 MM PŁYTKĘ
MH/MH-F NAKROPLIĆ
125±25 MIKROLITRÓW
PRÓBKI Z BUTELKI



ZAWIESIŃĘ
ROZPROWADZIĆ
NA POWIERZCHNI AGARU



NAŁOŻYĆ KRAŻKI
4-6 KRAŻKÓW NA PŁYTKĘ

RAST metoda konwencjonalna



Płytki należy odczytywać w ciągu ± 5 minut od wyznaczonego czasu odczytu. Jeśli nie ma możliwości odczytania płytek po 4 (lub 6) godzinach, należy je reinkubować w ciągu 10 minut. Inkubacji nie należy prowadzić dłużej niż 20 godzin.



Średnice stref zahamowania wzrostu należy odczytywać od przodu płytki, po zdjęciu przykrywki i **WYŁACZNIE** wtedy, gdy wzrost jest zlewny, a krawędzie strefy wyraźne.



Izolat musi zostać zidentyfikowany do poziomu gatunku przed interpretacją wyników RAST.



Jeżeli interpretacja wyniku po zakończeniu inkubacji jest niemożliwa, badanie należy przeprowadzić ponownie przy zastosowaniu standardowej metody dyfuzyjno-krażkowej.

RAST metoda konwencjonalna

Drobnoustrój	Czas inkubacji	Podłoże	Warunki inkubacji
<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	4, 6, i 8h 16-20h	MH	35±1°C, warunki tlenowe
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 i 8h 16-20h	MH	35±1°C, warunki tlenowe
<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	4, 6 i 8h	MH	35±1°C, warunki tlenowe
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4, 6 i 8h 16-20h	MH-F	35±1°C, 4-6% CO ₂



RAST metoda konwencjonalna

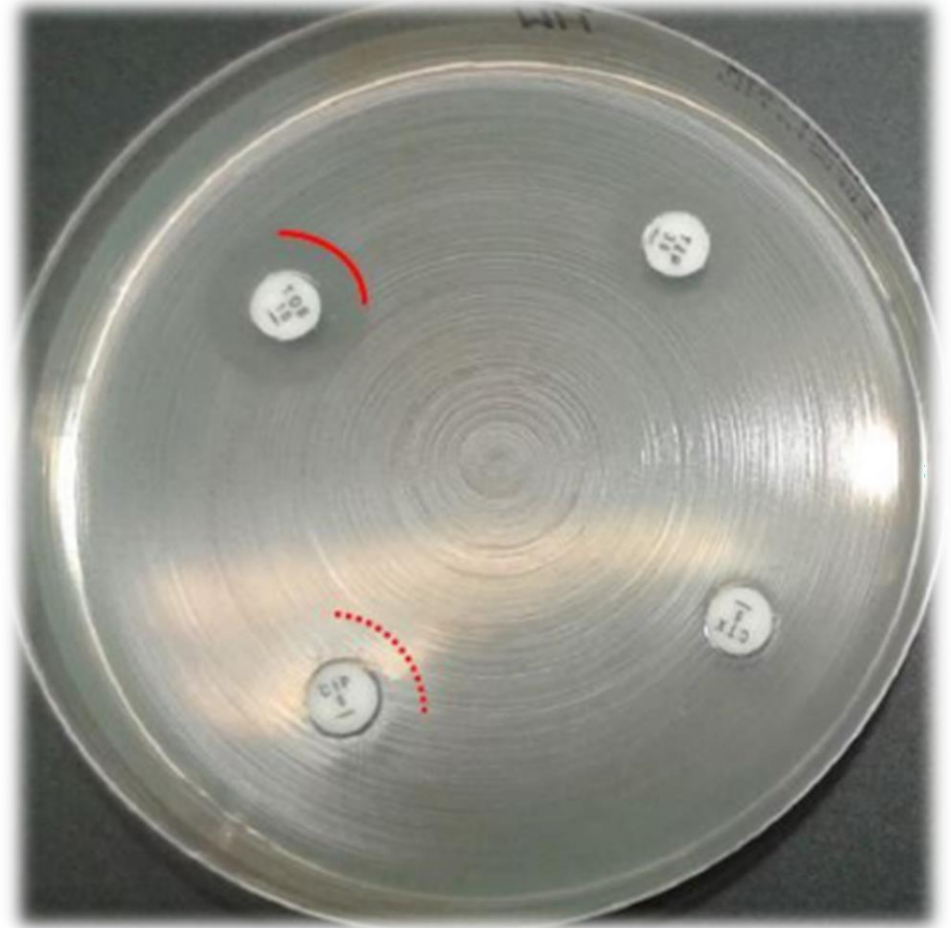
Table 2. The proportion of zone diameters (%) which are possible to read* after 4 – 20 h of incubation.

Organism	4 hours	6 hours	8 hours	16-20 hours
<i>Escherichia coli</i>	90	99	99	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	96	98	98	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	88	97	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	99	100	100	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	55**	91	95	100
<i>Enterococcus faecalis</i>	93	99	100	ND
<i>Enterococcus faecium</i>	44	93	99	ND
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	68	83	95	100

RAST metoda konwencjonalna

Wielkości stref zahamowania wzrostu należy odczytywać, gdy wzrost jest zlewny, a granice stref wyraźne

Płytkę należy odczytywać manualnie, od przodu płytki i ze zdjętą przykrywką, w świetle odbitym

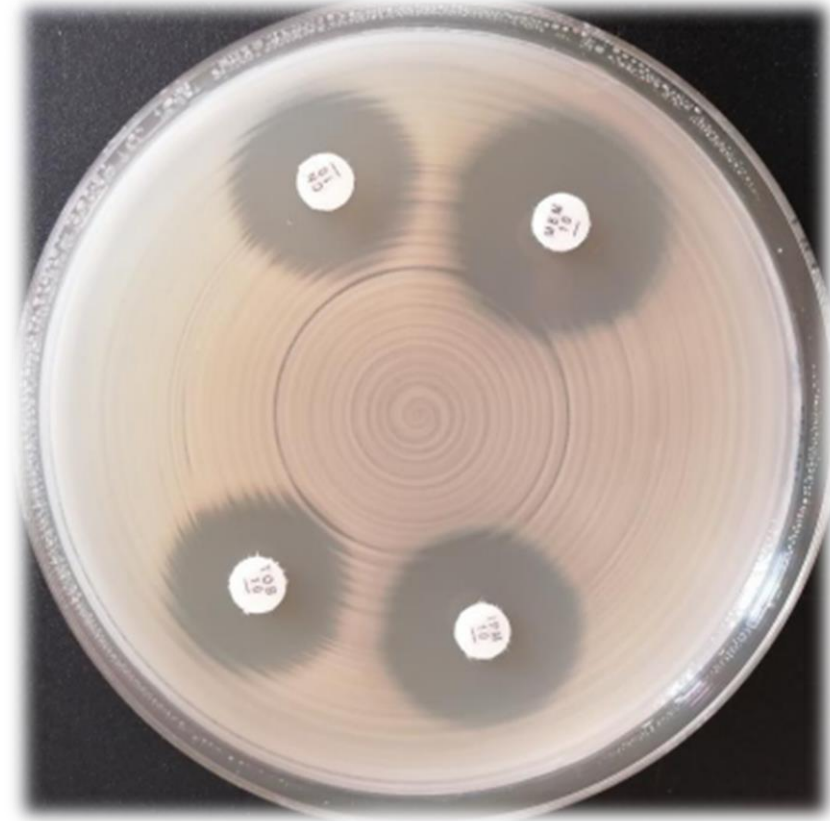


ARGENTA

RAST metoda konwencjonalna



E. coli po 4 godzinach inkubacji



E. coli po 16-20 godzinach inkubacji

RAST metoda konwencjonalna

Escherichia coli

Zone diameter breakpoints for RAST directly from blood culture bottles

EUCAST RAST Breakpoint Tables v. 6.1, valid from 2023-06-07

EUCAST rapid disk diffusion method directly from positive blood culture bottles
Medium: Mueller-Hinton (MH) agar
Inoculum: 125±25 µL directly from a positive blood culture bottle
Incubation: Air, 35±1°C
Incubation time: 4, 6, 8 and 16-20 hours
General reading instructions: Inhibition zones should only be read when the growth is confluent and zone edges are clearly visible.
Reading 4, 6 and 8 hours: Remove the lid and read zone diameters from the front against a dark background illuminated with reflected light.
Reading 16-20 hours: Read zone diameters from the back of the plate against a dark background illuminated with reflected light.
[QC for implementation of RAST](#)

Antimicrobial agent	Disk content (µg)	4 hours			6 hours			8 hours			16-20 hours		
		S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Ampicillin	10	12	10-11	10	13	11-12	11	13	11-12	11	14	12-13	12
Amoxicillin-clavulanic acid	20-10	16	14-15	14	17	15-16	15	17	15-16	15	19	17-18	17
Piperacillin-tazobactam	30-6	17	14-16	14	18	15-17	15	18	15-17	15	17	15-16	15
Temocillin	30	50	13-14	13	50	15-16	15	50	15-16	15	50	17-18	17
Cefotaxime ¹	5	15	13-14	13	16	14-15	14	17	15-16	15	16	14-15	14
Ceftazidime ¹	10	15	12-14	12	16	14-15	14	17	15-16	15	17	15-16	15
Ceftazidime-avibactam	10-4	12	10-11	10	12	10-11	10	12	10-11	10	13	11-12	11
Ceftolozane-tazobactam	30-10	16	14-15	14	18	16-17	16	18	16-17	16	20	16-19	16
Imipenem ²	10	16	12-15	12	17	13-16	13	17	13-16	13	17	12-16	12
Imipenem-relebactam	10-25	13	11-12	11	15	13-14	13	15	13-14	13	17	15-16	15
Meropenem ²	10	17	15-16	15	17	15-16	15	17	15-16	15	15	13-14	13
Meropenem-vaborbactam	20-10	16	12-15	12	16	14-15	14	17	15-16	15	16	14-15	14

Zone diameter breakpoint tables for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles v. 6.1, valid from 2023-06-07



ARGENTA

RAST metoda konwencjonalna – kontrola jakości

W tabelach wartości granicznych dla RAST podane są kryteria dla wyników po 4, 6 i 8h dla pięciu szczepów wzorcowych

E. coli ATCC 25922
S. aureus ATCC 29213
S. pneumoniae ATCC 49619
P. aeruginosa ATCC 27853
E. faecalis ATCC 29212

Oraz dla 4 szczepów wzorcowych dla odczytów 16-20h

E. coli ATCC 25922
P. aeruginosa ATCC 27853
S. aureus ATCC 29213
S. pneumoniae ATCC 49619

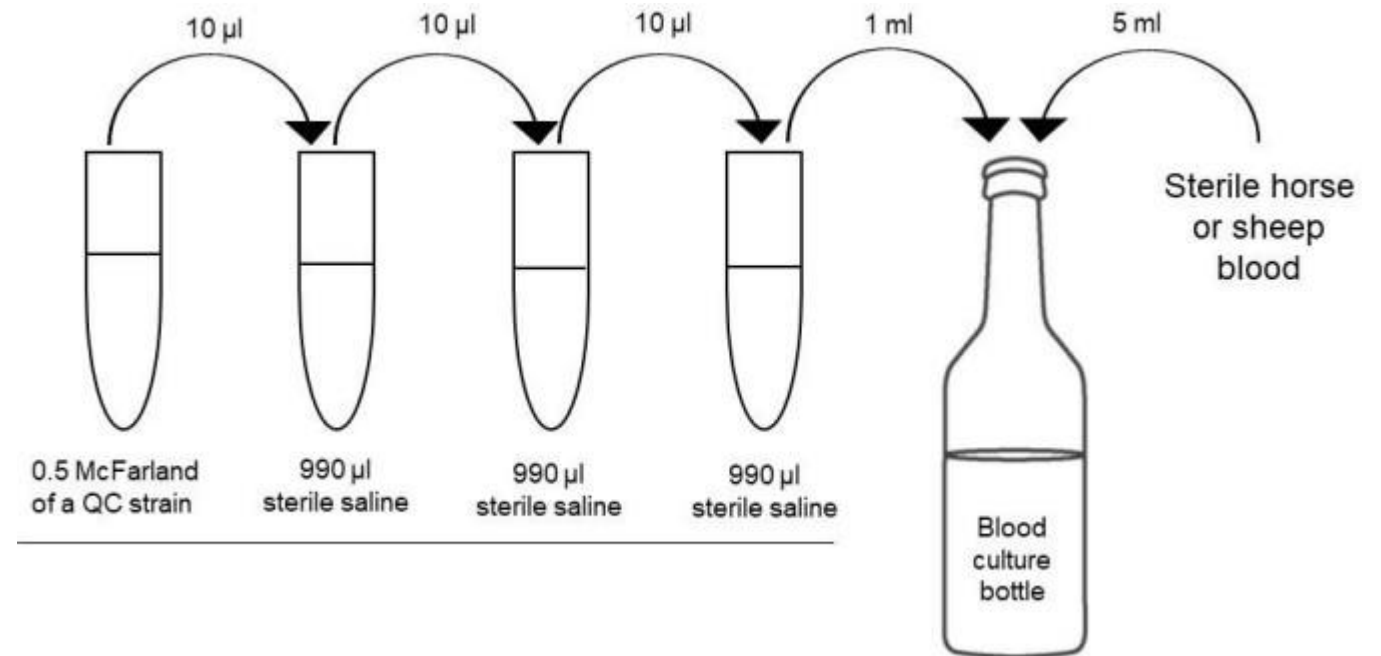


ARGENTA

RAST metoda konwencjonalna – kontrola jakości

Kontrola jakości:

- 1ml zawiesiny szczepu wzorcowego 100- 200 CFU/ml (0,5 McFarlanda rozcieńczone 1:1000 000)
- ok. 5 ml jałowej krwi końskiej lub baraniej



ARGENTA

dRAST

- ✓ Fenotypowe MIC bezpośrednio z dodatnich butelek próbek posiewu krwi
- ✓ Metoda łączy mikrorozcieńczenia w bulionie oraz opatentowane obrazowanie poklatkowe
- ✓ Wbudowany system ekspercki pozwala na uzyskanie wyników zgodnych z wytycznymi EUCAST



ARGENTA

dRAST

- ✓ Bezpośrednio z dodatnich posiewów krwi bez dodatkowej preparatyki
- ✓ Bez przygotowania McFarlanda
- ✓ Załadunek 12 próbek jednocześnie
- ✓ Panele dla najczęściej izolowanych drobnoustrojów gram ujemnych i gram dodatnich
- ✓ Dual mode umożliwiający użytkowanie 24/7
- ✓ Łatwy w obsłudze
- ✓ Brak codziennej konserwacji



ARGENTA

Przebieg pracy

1) Próbka dodatniego posiewu krwi.



2) 300 µl do próbki



3) Załadunek próbki



4) Załadunek materiałów eksploatacyjnych



5) Załadunek paneli

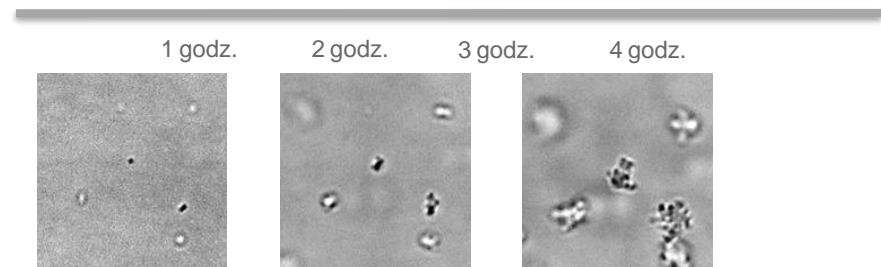
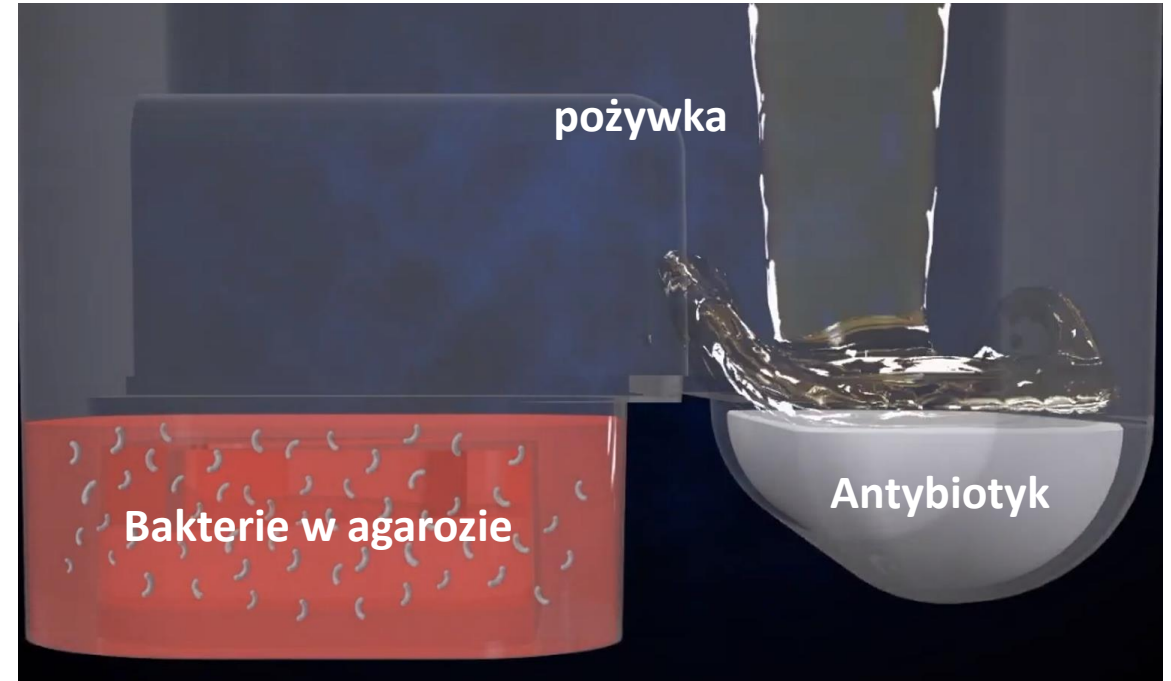


1 Przygotowanie

2 Analiza

Technologia dRAST

Próbka krwi miesza się z płynnym agarom tworząc fazę stałą z unieruchomionymi bakteriami, dodany MHB uwadnia antybiotyki tworząc fazę ciekłą, która dyfunduje do agaru



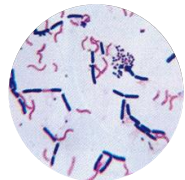
ARGENTA



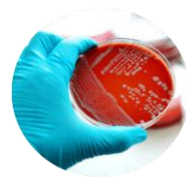
Pobranie krwi



Posiew krwi



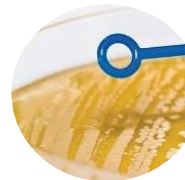
Barwienie Grama



Posiew redukcyjny na płytce



Inkubacja nocna



Zebranie kolonii



Wzorzec McFarlanda



Badanie AST



Dostosowana terapia

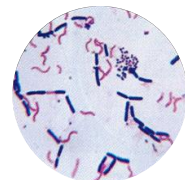
VS.



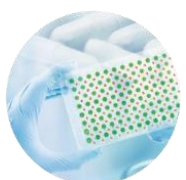
Pobranie krwi



Posiew krwi



Barwienie Grama



dRAST™



Dostosowana terapia

Konwencjonalne badanie wrażliwości na środki drobnoustrojowe vs badanie dRAST™

Konwencjonalne
60 godzin

Hodowla krwi

Czysta kultura

Badanie AST

dRAST™
Krew
24 godziny

Hodowla krwi

dRAST™

ZAOSZCZĘDŹ DWA DNI (od 30 do 50 godzin)

0

20

40

60

#	Sample ID	Gram type		(QC)	Bacteria ID	Status
1	S11223344	positive	negative		S. aureus	complete
2	S22334455	positive	negative		E. faecalis	complete
3	S33445566	positive	negative		E. coli	Incubating
4	S44556677	positive	negative		K. pneumoniae	complete

MAIN MENU FINISH TEST SHOW RESULT

#	Sample ID	Gram type	(QC)	Bacteria ID	Status
	001				
Sample ID: 001					
Unidentified Gram negative Bacilli		Butliauxella izardii			
Acinetobacter baumannii		Acinetobacter anitratus			
A - B	C - E	G - K	L - P	R - S	T - Y
Acinetobacter anitratus		Acinetobacter baumannii			
Acinetobacter calcoaceticus		Acinetobacter genospecies 3			
Acinetobacter genospecies TU13		Acinetobacter haemolyticus			
Acinetobacter johnsonii		Acinetobacter junii			
Acinetobacter lwoffii		Acinetobacter nosocomialis			
MAIN MENU		PREV		NEXT	

Nie znam identyfikacji



Znam identyfikację



AST Results

1.5.x EUCAST 202x

Specimen ID:	2020207	Sample ID:	
Patient Name:	Murphy	First Name:	Elizabeth
Bacteria ID:	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Isolate Number:	
Start:	8/27/2020 8:06:00 AM	End:	7/8/2021 11:34:02 AM
Panel:	QMAC-dRAST GN E19	Lot Number:	IMA18001
dRAST Serial Number:	IJA15001	Kit Expiration Date:	12/31/2021
		Guidelines:	EUCAST 2021 V 11.0-2
		Software Versions:	1.5.x (E:1.5.x)

<input type="checkbox"/>	Antibiotic	dRAST MIC	Raw Result	Interpreted Result		<input type="checkbox"/>	Antibiotic	dRAST MIC	Raw Result	Interpreted Result	
<input type="checkbox"/>	Ampicillin	>16	R	Resistant	↑	<input type="checkbox"/>	Imipenem	0.25	S	S Std Dosing Regime	
<input type="checkbox"/>	Amoxicillin/Clavulanate	>64/2	R	Resistant		<input type="checkbox"/>	Meropenem	≤0.12	S	S Std Dosing Regime	
<input type="checkbox"/>	Piperacillin	≥128	R	Resistant		<input type="checkbox"/>	Amikacin	16	R	Resistant	
<input type="checkbox"/>	Piperacillin/Tazobactam	≤8/4	S	S Std Dosing Regime		<input type="checkbox"/>	Gentamicin	≤1	S	S Std Dosing Regime	
<input type="checkbox"/>	Cefotaxime	16	R	Resistant		<input type="checkbox"/>	Ciprofloxacin	≤0.06	S	S Std Dosing Regime	
<input type="checkbox"/>	Ceftazidime	2	I	S Increased Exp		<input type="checkbox"/>	Levofloxacin	≤0.5	S	S Std Dosing Regime	
<input type="checkbox"/>	Cefepime	≤1	S	S Std Dosing Regime		<input type="checkbox"/>	Colistin	≤0.25	S	S Std Dosing Regime	
<input type="checkbox"/>	Ceftazidime/Avibactam	≤4/4	S	S Std Dosing Regime		<input type="checkbox"/>	Trimethoprim/Sulfamethoxazo	>16/304	R	Resistant	
<input type="checkbox"/>	ESRI	POS	+	Positive							

<input checked="" type="checkbox"/> Result Details:	Ampicillin	Decision Time: 4 h 0 min	Breakpoints: 8 - 8
<input type="checkbox"/> Result Description:	dRAST Result Date: 8/27/2020 12:06	Status: Sent	

Triggered Rules: 40 41 42 45 46 58 95 🔍

Send to LIS

Comments

Demographic Data

Back to Specimen List

|<

<

>

>|

A

B

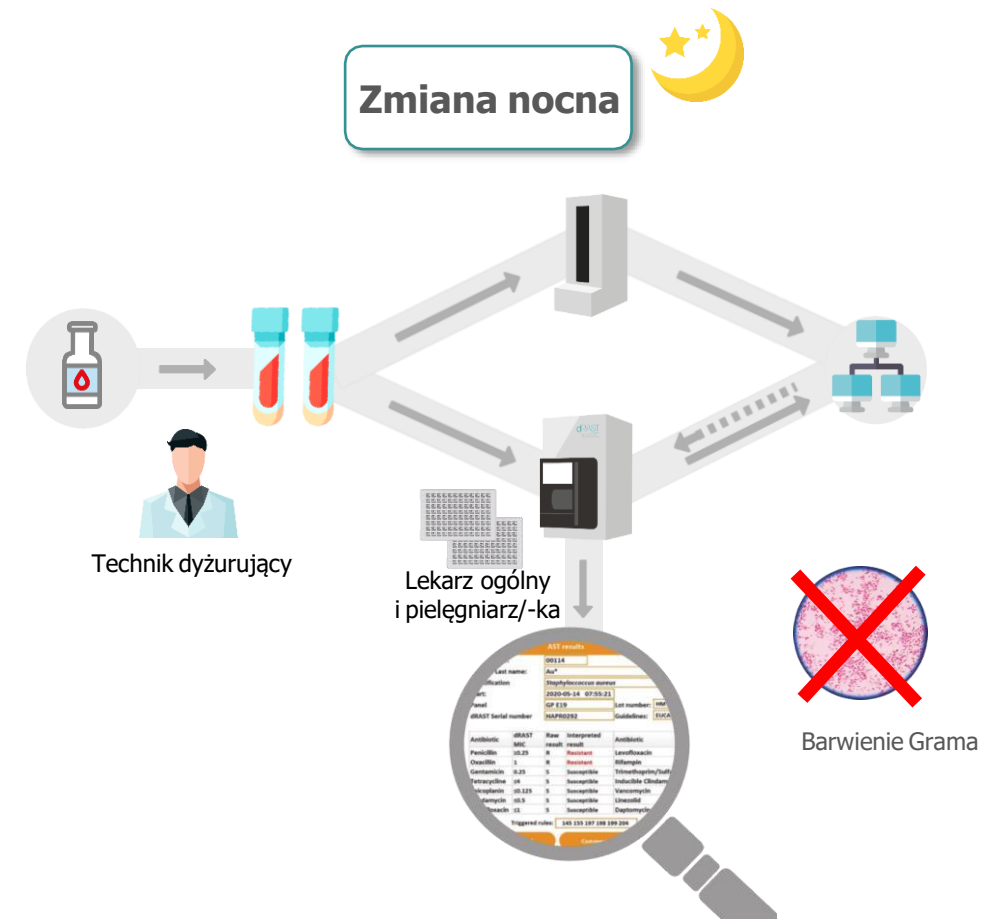
C

T A

Tryb Dual Mode



- **Jedna probówka z jednym niepowtarzalnym numerem próbki** na panel
- 1 Gram-dodatni **LUB** 1 Gram-ujemny



- **Dwie probówki z jednym niepowtarzalnym numerem próbki**
- **Dwa oddzielne panele:** 1 Gram-dodatni i 1 Gram-ujemny

Podsumowanie

SZYBKOŚĆ

Szybkie badanie AST z MIC
bezpośrednio z PBC

KOMPLEKSOWOŚĆ

Pełny System Ekspertki
z algorytmem dynamicznym
na pokładzie

PROSTOTA

Łatwy w użyciu interfejs z krótkim
czasem pracy manualnej



DOSTĘP LOSOWY

Ciągłe ładowanie dla optymalnej obsługi
pacjentów wymagających pilnej pomocy

ELASTYCZNOŚĆ

Uwzględnienie międzynarodowych wytycznych i zaleceń:
EUCAST i CLSI
Dostępny tryb Dual Mode

ŁĄCZNOŚĆ

Dwukierunkowy system LIS z łatwą
integracją identyfikacji bakterii

Dziękuję za uwagę

Dawid Kościelniak

t. 502 190 986

e. d.koscielniak@argenta.com.pl

<https://www.quantamatrix.com/drast/>

<https://www.youtube.com/watch?v=pXFvgySpuRs>

