

Checklista inför övergång till EUCAST lappdiffusionsmetod (v 1.1)

EUCAST lappdiffusionsmetod bygger på ett konfluerande inokulat (McFarland 0,5) på Mueller Hinton-agar med eller utan tillsats av hästblod och β -NAD. Metodbeskrivning finns på www.eucast.org.

Några viktiga punkter:

- **Det är viktigt att få ett inokulat som är konfluerande och jämnt** för att få jämna zonkanter. Ojämnt inokulat resulterar i svårbedömda zonkanter och kan påverka avläsningen med flera mm. Man kan inokulera plattorna för hand eller med hjälp av en maskin som roterar plattan. I båda fallen behöver man träna upp en teknik som resulterar i jämna inokulat.
- **Det är också viktigt att inte ”överinokulera” plattorna**, dvs att få ett för tjockt inokulat, vilket kan resultera i för små zoner. För att få ett lagom tjockt inokulat kan man ha följande i åtanke:
 - För koliformer och Pseudomonas är det viktigt att trycka bort överflödigt vätska från bomullspinnen innan man inokulerar plattorna
 - För stafylokocker och streptokocker kan bomullspinnen vara lite fuktigare
 - För Haemophilus bör man försöka ha en något torrare pinne än för stafylokocker och streptokocker
- **Det är viktigt att följa ”15-15-15-minutersregeln”** för att få reproducerbara resultat:
 - Inokulera plattorna helst inom 15 minuter från att slamningen är gjord –och alltid inom 60 minuter
 - Applicera antibiotikalapparna inom 15 minuter från att plattan är struken
 - Inkubera plattorna inom 15 minuter från att lapparna är applicerade
- **Följ instruktionerna för avläsning** i [metodbeskrivningen](#). Man ska ta hänsyn till all växt som ses med blotta ögat (100% hämning), vilket gäller för alla antibiotika. Läs Mueller Hinton-plattor utan tillsats från baksidan av plattan mot en svart bakgrund och Mueller Hinton-plattor med tillsats från ovansidan av plattan utan lock.
- **Om man har för lite material** för att slamma till McFarland 0,5 kan man isolera kolonier på morgonen och inkubera till eftermiddagen. I de flesta fall har man växt efter 6 h så att man kan göra resistensbestämningen till dagen efter.
- **Pneumokocker bör tas från en blodplatta** och slammats till McFarland 0,5. Om man tar pneumokocker från en chokladplatta måste man slamma till McFarland 1,0.

Förslag på hur man kan lära ut metoden på laboratoriet

1. Gå igenom metoden i helgrupp med fokus på inokulatberedning och avläsning.
2. Låt alla på laboratoriet läsa zoner från samma platta.
 - a) Börja med att läsa zoner på referensstammar, exempelvis *E. coli* ATCC 25922 och *S. aur* ATCC 29213 med fem relevanta antibiotika per stam. Upprepa proceduren två till tre dagar i rad, jämför resultaten och kontrollera ifall de hamnar inom [EUCAST QC-gränser](#). Leta efter systematiska avvikelser, titta efter hur varje person ligger i förhållande till de andra och diskutera resultaten i helgrupp.
 - b) Upprepa försöket med samma stammar och antibiotika och diskutera resultaten i helgrupp.
 - c) När resultaten börjar närma sig varandra fortsätter ni med referensstammar på Mueller Hinton-plattor med hästblod och β -NAD, *H. influenzae* NCTC 8468 och *S. pneumoniae* ATCC 49619. Diskutera i helgrupp och upprepa igen.
 - d) Fortsätt gärna med några kliniska isolat där enterokocker, grupp A,C,G-streptokocker och Pseudomonas bör ingå.
3. Låt alla träna på att göra egna plattor som resulterar i konfluerande och jämna inokulat. Upprepa ett antal gånger för alla referensstammar som rekommenderas av EUCAST och kontrollera att zonerna (för relevanta antibiotika) hamnar inom EUCAST QC-gränser.