



# **Intern kvalitetskontroll Varför, när och hur?**

Erika Matuschek

Jenny Åhman

Gunnar Kahlmeter

NordicASTs workshop 2016

# **Rutinmässig kvalitetskontroll**

## **Lappdiffusion**

# Rutinmässig kvalitetskontroll

- Kontrollera material och utrustning
  - Agarplattor
  - Antibiotikalappar
  - Inkubatorer
  - mm
- Kontrollera utförandet
  - Inokulat
  - Strykning av plattor
  - Avläsning
  - mm

## AST of bacteria

- [Organization](#)

---

- [EUCAST News](#)

---

- [Clinical breakpoints](#)

---

- [Expert rules and intrinsic resistance](#)

---

- [Resistance mechanisms](#)

---

- [Guidance documents](#)

---

- [MIC distributions and ECOFFs](#)

---

- [Zone distributions and ECOFFs](#)

---




... Disk diffusion methodology

**AST of bacteria**

- [Media preparation](#)
- [MIC determination](#)
- [Disk diffusion methodology](#)**
- [Disk diffusion implementation](#)
- [Compliance of manufacturers](#)
- [Breakpoint tables](#)
- [QC Tables](#)
- [Calibration and validation](#)
- [Warnings!](#)
- [Guidance documents](#)
- [Projects and data submission](#)
- [MIC testing services from EUCAST](#)
- [Previous versions of documents](#)

### EUCAST Disk Diffusion Test Methodology

EUCAST has developed a disk diffusion test based on MH media and calibrated to EUCAST clinical breakpoints. Updates are published regularly.

-  [EUCAST Disk Diffusion - Manual](#) (v 5.0, 26 January, 2015)
  -  [EUCAST Disk Diffusion - Slide Show](#) (v 5.0, 26 January, 2015)
  -  [EUCAST Disk Diffusion - Reading Guide](#) (v. 4.0, 19 June, 2014)
- This document was reviewed January 2015. Revisions were not necessary.

For translations to other languages - see → [Translations](#).  
For previous versions of documents - see → [Previous versions](#).



www.nordicast.org



Nordic Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

NordicAST Organisation **Metoder** Brytpunktstabeller Resistenspaneler Kvalitetskontroll FAQ Nationale komitteer

Metoder

**EUCASTs lappdiffusionsmetod**

Förklarande metoddokument

Metodutveckling

## Metodbeskrivningar EUCASTs lappdiffusionsmetod

[Metodbeskrivning -bildspel v 5.0 \(svenska\)](#)

[Avläsningsguide v 4.0 \(svenska\)](#)

[Checklista vid övergång till EUCASTs lappdiffusionsmetod \(svenska\)](#)

## Metodbeskrivningar EUCAST hemsida (engelska)

[Tillverkning av substrat](#)

[Manual](#)

[Bildspel](#)

[Avläsningsguide](#)

# Rekommenderade referensstammar

## Rutinmässig kvalitetskontroll

Organism	Nummer	Karaktäristik
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	Känslig, vildtyp
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	Känslig, vildtyp
<i>S. aureus</i>	ATCC 29213	$\beta$ -laktamas
<i>E. faecalis</i>	ATCC 29212	Känslig, vildtyp
<i>S. pneumoniae</i>	ATCC 49619	Nedsatt känslighet för bensylpenicillin
<i>H. influenzae</i>	ATCC 49766	Känslig, vildtyp
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	Känslig, vildtyp

# Rekommenderade referensstammar

## Rutinmässig kvalitetskontroll

Organism	Nummer	Karaktäristik
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	Känslig, vildtyp
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	Känslig, vildtyp
<i>S. aureus</i>	ATCC 29213	$\beta$ -laktamas
<i>E. faecalis</i>	ATCC 29212	Känslig, vildtyp
<i>S. pneumoniae</i>	ATCC 49619	Nedsatt känslighet för bensylpenicillin
<i>H. influenzae</i>	ATCC 49766	Känslig, vildtyp
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	Känslig, vildtyp
<b>För kontroll av inhibitorkomponenten i kombinationslappar</b> (amoxicillin-klavulansyra och piperacillin-tazobaktam)		
<i>E. coli</i>	ATCC 35218	TEM-1 $\beta$ -laktamas
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 700603	SHV-18 ESBL
<i>S. aureus</i>	ATCC 29213	$\beta$ -laktamas

Rutinmässig intern kvalitetskontroll bör utföras dagligen, eller åtminstone fyra dagar per vecka.

# Utförande och bedömning

- Kvalitetskontrollen skall alltid läsas och bedömas innan de kliniska isolaten läses
- Bedömningen görs på resultaten från de senaste 10 konsekutiva mätningarna
  - Om två eller fler av 10 mätningar ligger utanför intervallet krävs felsökning (se [www.eucast.org](http://www.eucast.org) eller [www.nordicast.org](http://www.nordicast.org))
- Var uppmärksam på trender och på zoner som upprepade gånger hamnar över eller under målvärdet (target)

# Kvalitetskontrollgränser

**Range = tillåtet intervall**

Dag-till-dag-variation

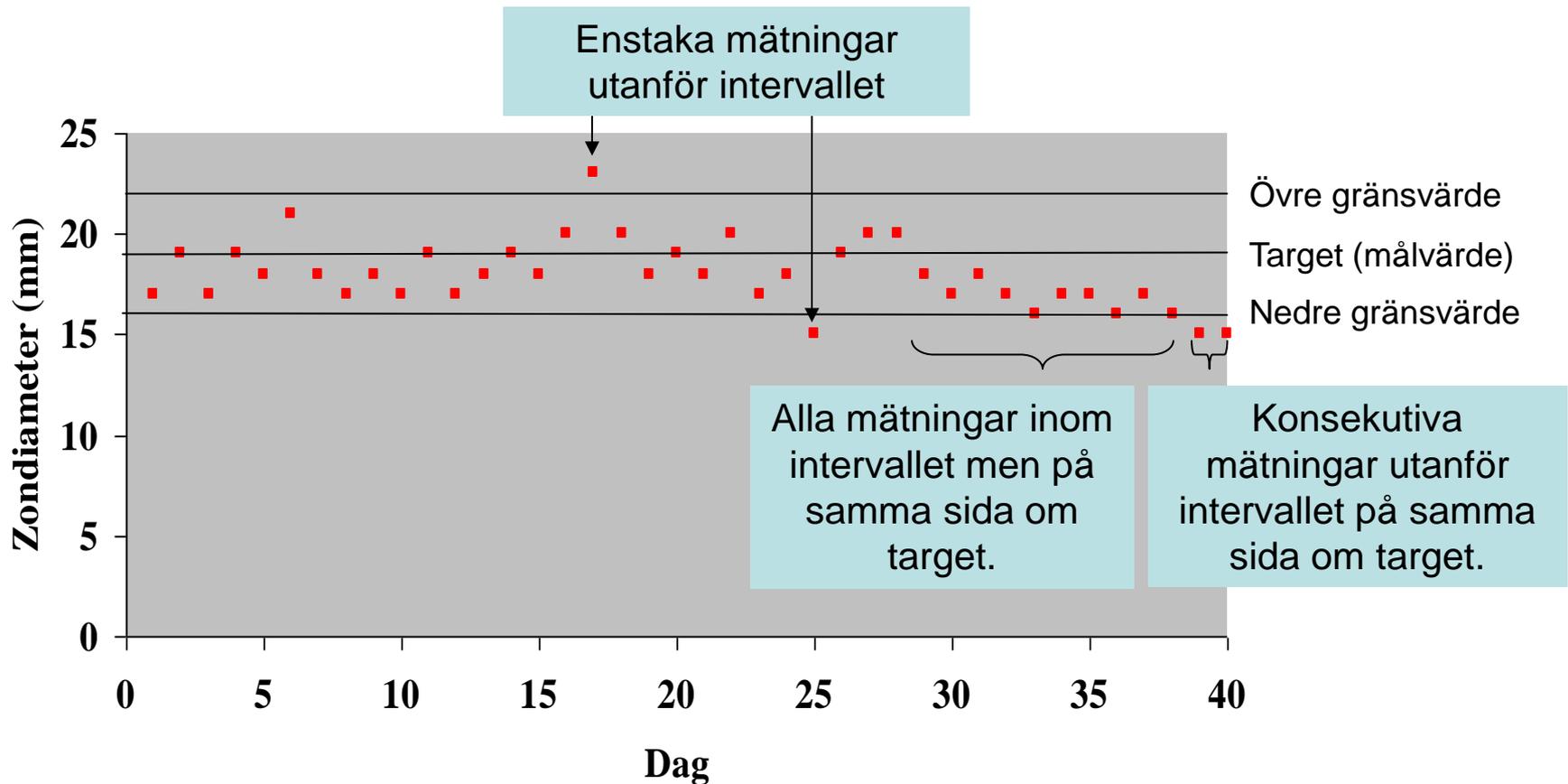
Viss variation i material

Antimicrobial agent	Disk content (µg)	Inhibition zone diameter (mm)	
		Target	Range
Amikacin	30	23	19-26
Amoxicillin-clavulanic acid	20-10	21	18-24
Ampicillin	10	19	15-22

**Target = målvärde**

Medelvärdet från upprepade mätningar (≥10) bör vara på target ± 1 mm

# Övervakning av QC-resultat



Effekt av daglig jämfört med veckovis kvalitetskontroll!

# Exempel *E. coli* ATCC 25922, rutindata Växjö

ESCHERICHIA COLI ATCC 25922

AMPICILLIN 18.5 ( 15 - 22 enh.)

---

160125	20
160122	18
160121	18
160120	19
160118	20
160115	20
160114	16
160113	17
160111	18
160107	19

---

Medelvärde 18.5 CoV: 7.3 %

ESCHERICHIA COLI ATCC 25922

MECILLINAM 27 ( 24 - 30 enh.)

---

160125	27
160122	28
160121	29
160120	28
160118	27
160115	29
160114	30
160113	30
160111	29
160107	29

---

Medelvärde 28.6 CoV: 3.8 %

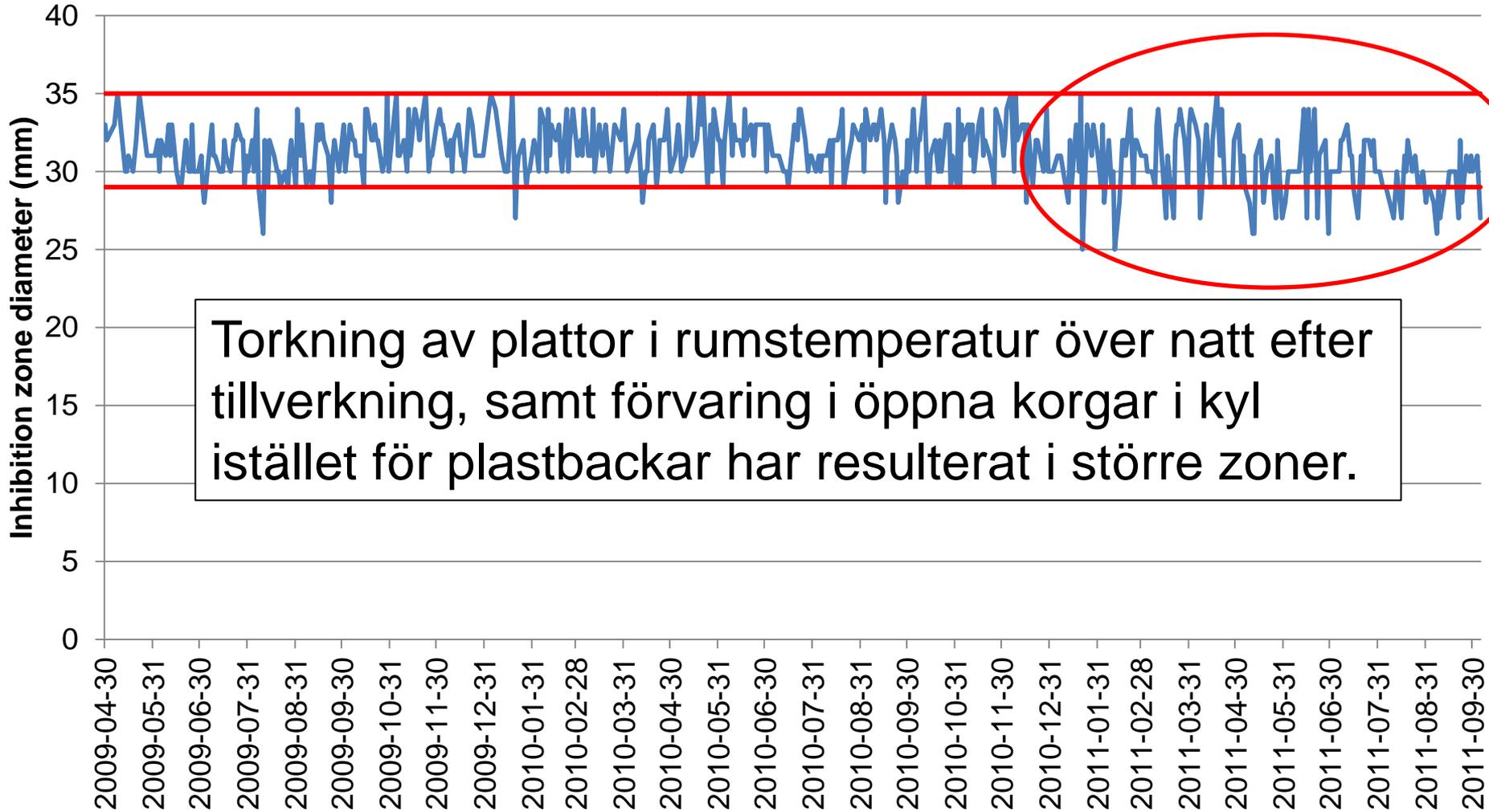
*E. coli* ATCC 25922  
Mecillinam 10 µg

24-30 mm (27 mm)

151105	28
151106	27
151109	28
151111	29
151112	29
151113	28
151116	28
151118	29
151119	29
151120	28
Medelvärde	28.3 CoV: 2.4 %
151123	29
151125	28
151126	28
151127	28
151130	29
151202	27
151203	28
151204	28
151207	29
151209	28
Medelvärde	28.2 CoV: 2.2 %
151210	28
151211	27
151214	27
151216	27
151217	28
151218	27
151221	28
151223	28
151226	26
151230	26
Medelvärde	27.2 CoV: 2.9 %

Rutinmässig kvalitetskontroll: Agar från tre leverantörer, 10-15 BMA

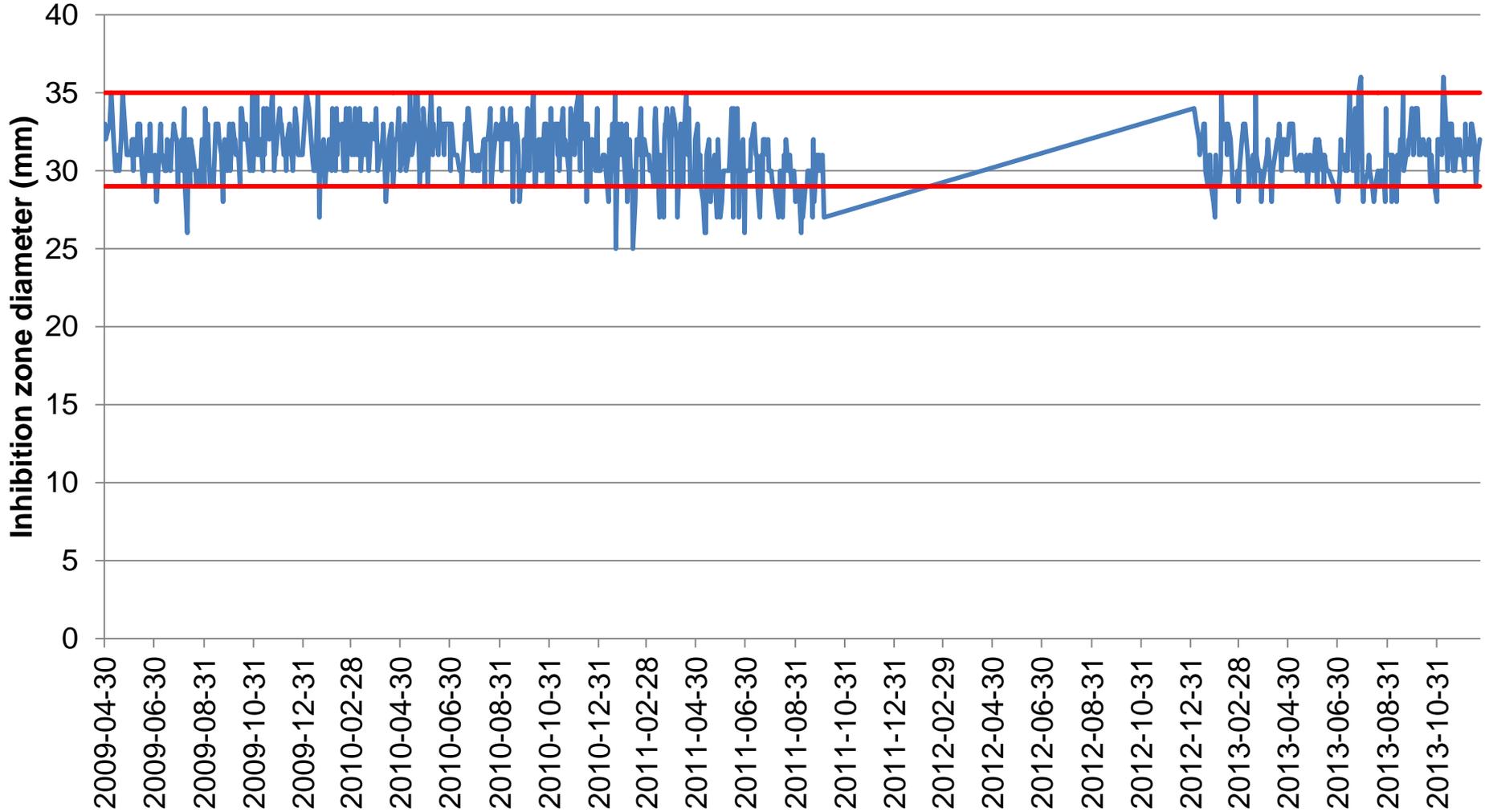
### *H. influenzae* NCTC 8468 with cefotaxime 5 µg



Torkning av plattor i rumstemperatur över natt efter tillverkning, samt förvaring i öppna korgar i kyl istället för plastbackar har resulterat i större zoner.

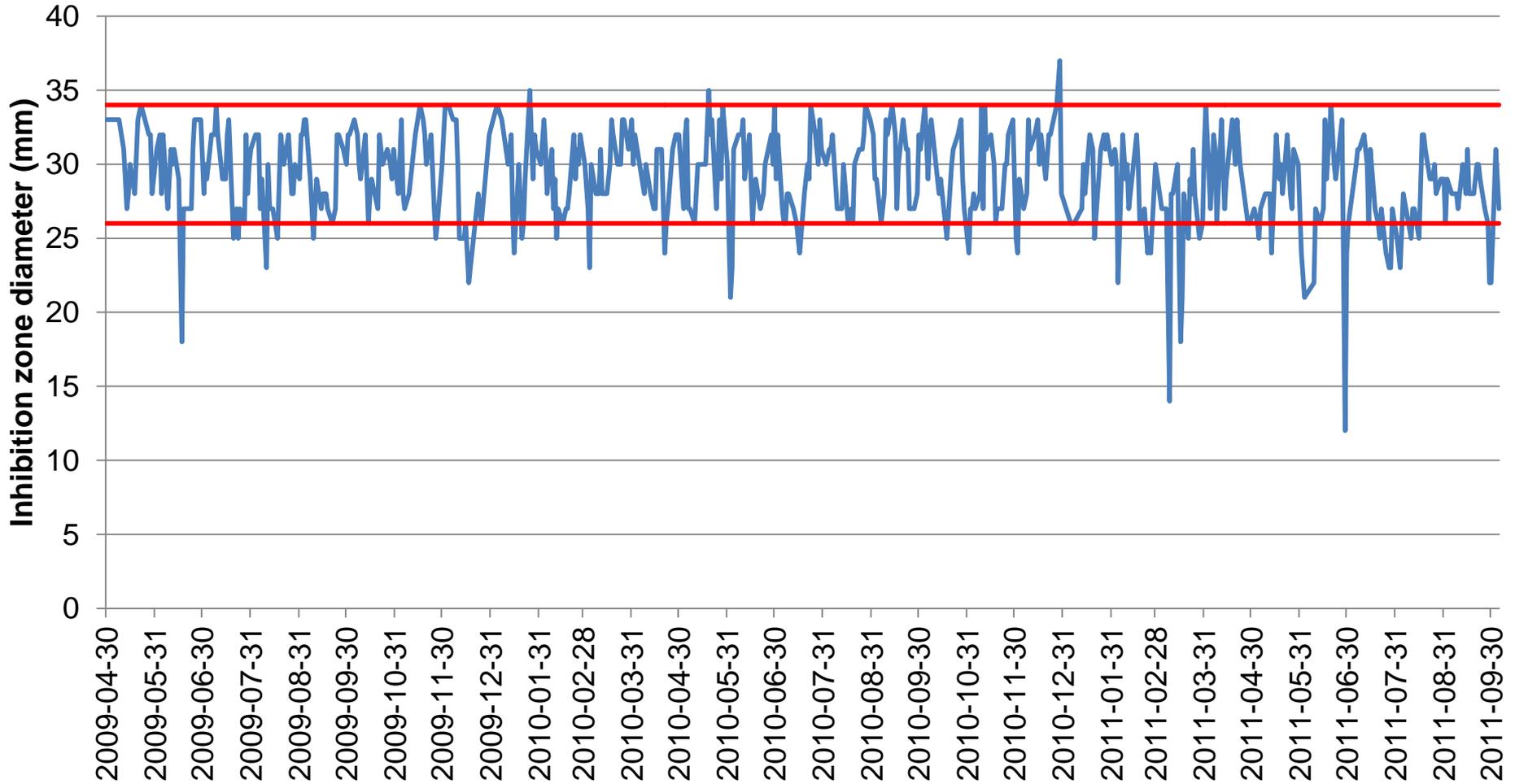
Rutinmässig kvalitetskontroll: Agar från tre leverantörer, 10-15 BMA

***H. influenzae* NCTC 8468 with cefotaxime 5 µg**



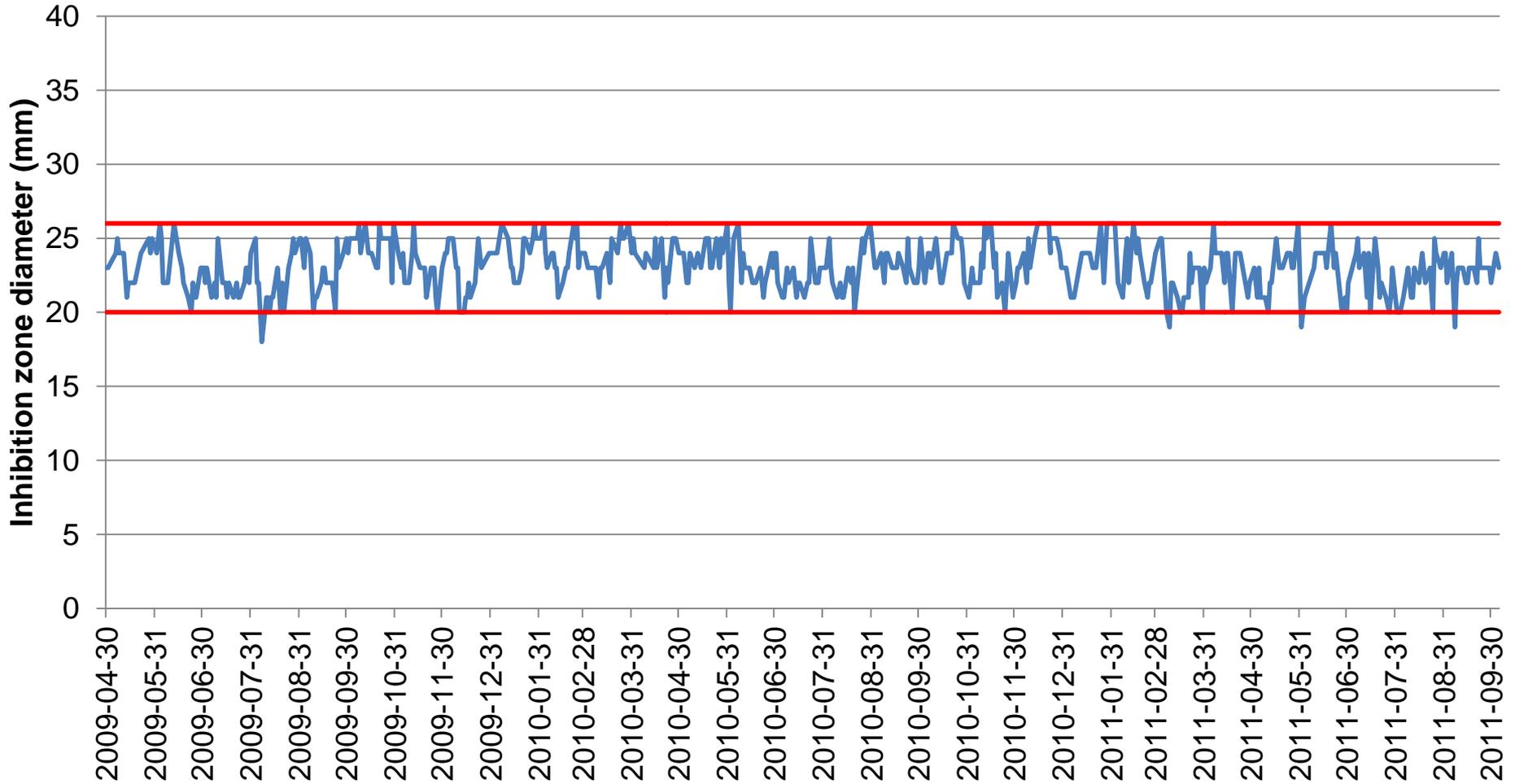
Rutinmässig kvalitetskontroll: Agar från tre leverantörer, 10-15 BMA

***H. influenzae* NCTC 8468**  
**with trimethoprim-sulfamethoxazole 25 µg**



Rutinmässig kvalitetskontroll: Agar från tre leverantörer, 10-15 BMA

***S. pneumoniae* ATCC 49619  
with trimethoprim-sulfamethoxazole 25 µg**



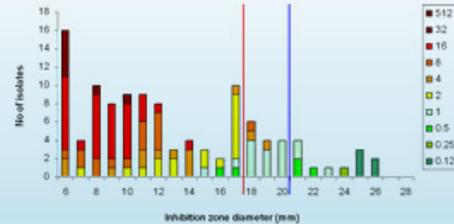
# Frågor & diskussion

# **Jämförelse med referensdistributioner**

## MIC distributions and ECOFFs

- Organization
- EUCAST News
- Clinical breakpoints
- Expert rules and intrinsic resistance
- Resistance mechanisms
- Guidance documents
- MIC distributions and ECOFFs**
- Zone distributions and ECOFFs
- AST of bacteria
- AST of mycobacteria
- AST of fungi
- AST of veterinary pathogens
- Frequently Asked Questions (FAQ)
- Meetings
- Presentations and statistics
- Documents
- Translations
- Information for industry
- Links
- Contacts

E.coli with cefotaxime 5 ug  
112 non-consecutive isolates  
chose because of resistance



MIC distributions and ECOFFs 

## MIC distributions and ECOFFs

[Link to the website with MIC distributions and ECOFFs](#)

The website gives MIC distributions (and since 2010 inhibition zone diameter distributions generated with the new EUCAST disk diffusion method) for a wide range of organisms and antimicrobial agents, including antifungals.

The distributions are based on collated data from a total of more than 24000 MIC distributions from worldwide sources. The distributions include MICs from national and international studies such as resistance surveillance programs (Alexander, BSAC, ECO-SENS, MYSTIC, NORM and SENTRY), as well as MIC distributions from published articles, the pharmaceutical industry, veterinary programmes and individual laboratories. Histograms display wild type organisms, together with EUCAST clinical breakpoints and epidemiological cut-off values (ECOFFs). The distributions should **never be referred to in any epidemiological context** since data from many time periods and many countries have been aggregated.

Contributions of MIC and/or Zone diameter distributions can be made using the following Excel file templates:

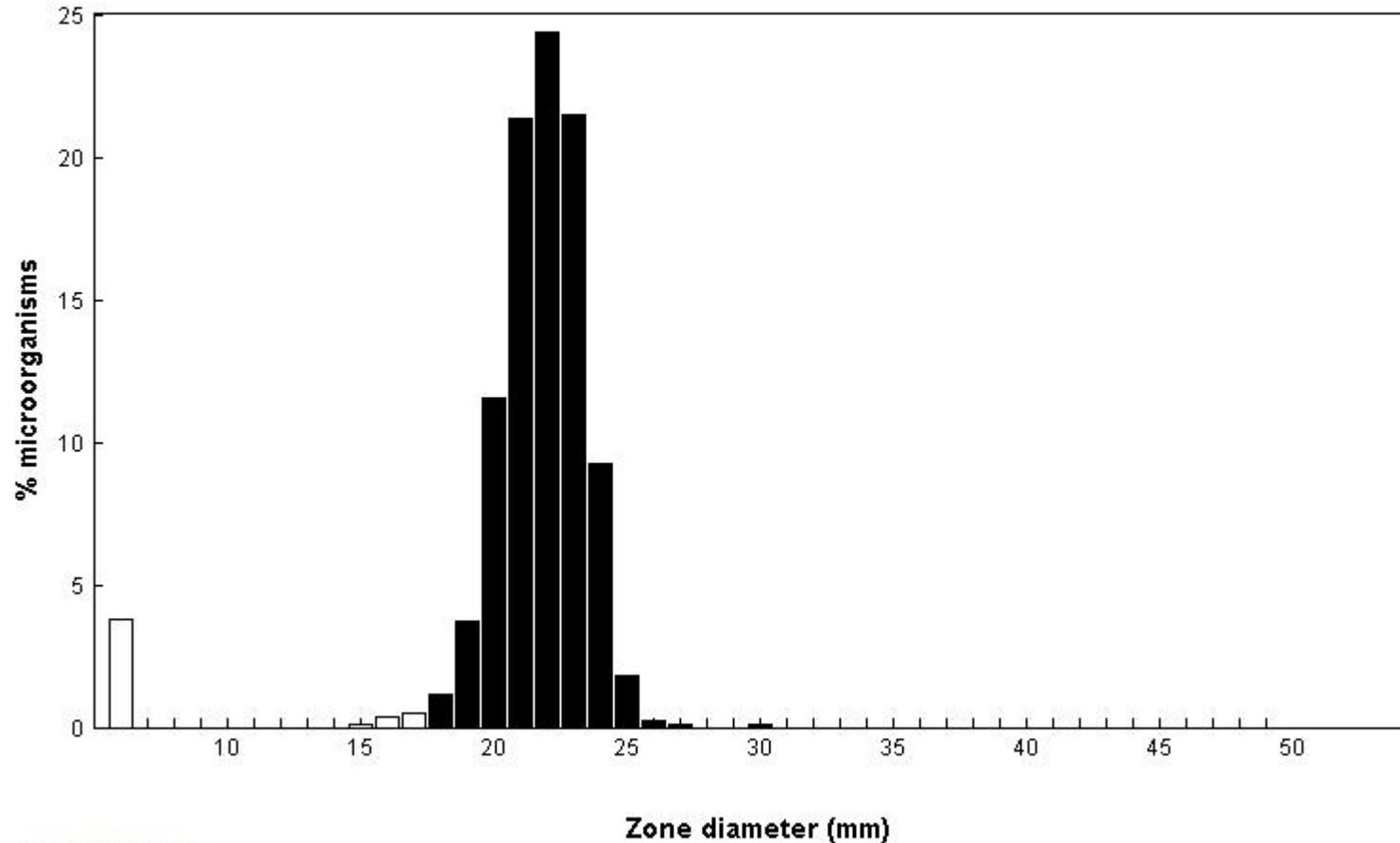
- MIC distributions organised by  agent or  species
- Zone diameter distributions organised by  agent or  species

Please send the completed file to [Gunnar Kahlmeter](#) or [Erika Matuschek](#), EUCAST,



**Amikacin / Escherichia coli**  
**International wild type zone diameter distribution - Reference database 2016-04-26**  
**EUCAST disk diffusion method**

Distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



Disk content: 30

Epidemiological cut-off (ECOFF): 18 mm (MIC = 8 mg/L)

Wildtype (WT) organisms:  $\geq$  18 mm (MIC = 8 mg/L)

787 observations (4 data sources)

# Zondiameterdistributioner på EUCASTs websida

- Grunddata kommer från EUCAST-laboratoriet, men data från andra laboratorier läggs till efter hand
- Varje distribution är baserad på zoner framtagna med
  - Mueller Hinton-agar från minst tre leverantörer
  - Lappar från 1-5 leverantörer
- Data kontrolleras alltid mot QC-data innan import

# Jämförelse med referensdistributioner

- Metodologiska problem upptäcks inte alltid med rutinmässig kvalitetskontroll
  - QC-gränserna är satta för att tillåta viss variation
- Jämförelse med referensdistributioner kan ge information om:
  - Systematiska avvikelser
  - Problem med lappar och/eller media
  - Problem med specifika art/antibiotikakombinationer
- Jämför medianen för vildtypspopulationen för
  - QC-stammar
  - Kliniska isolat

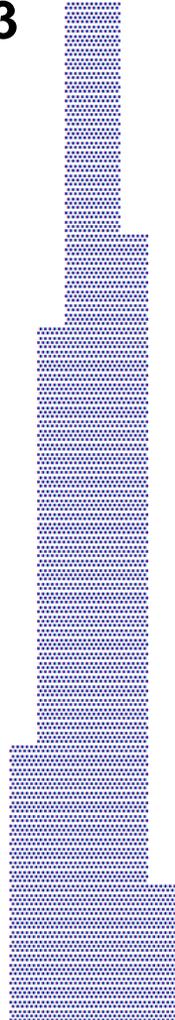
# Jämförelse med referensdistributioner

***S. aureus* ATCC 29213**

\*\*

BAKT. : STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 29213  
ANTIB. : ERYTROMYCIN 15  
192 st. stammar.

Range: 24-29 mm  
Median: 26-27 mm



# Jämförelse med referensdistributioner

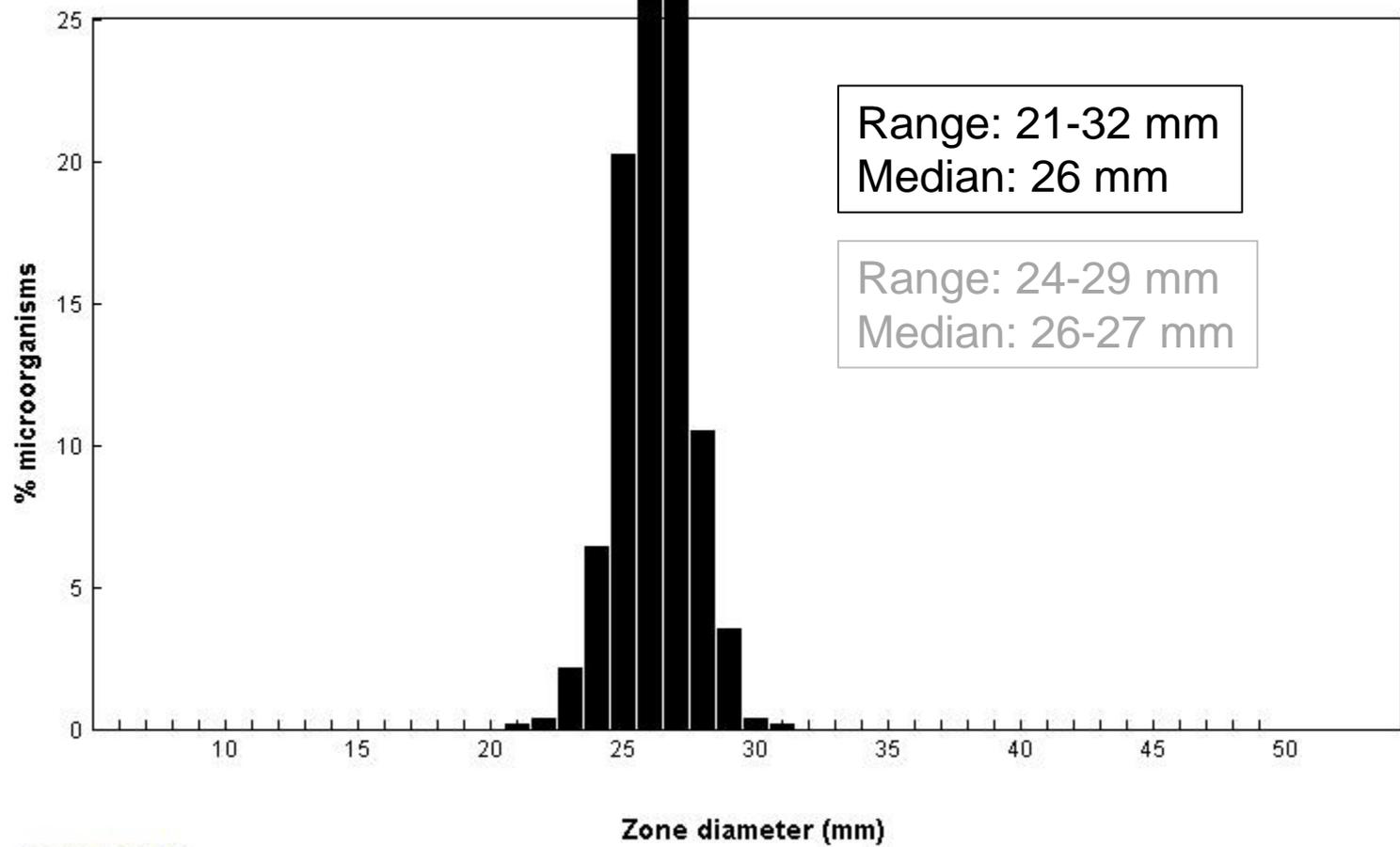
<http://mic.eucast.org/Eucast2/>

**Erythromycin / Staphylococcus aureus ATCC 29213**

**International wild type zone diameter distribution - Reference database 2015-02-23**

**EUCAST disk diffusion method**

Distributions include collated data from multiple sources, geographic areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



Disk content: 15  
Epidemiological cut-off (ECOFF): 21 mm (MIC -)  
Wildtype (WT) organisms:  $\geq 21$  mm (MIC -)

514 observations (7 data sources)

# Jämförelse med referensdistributioner

***S. aureus***  
**clinical isolates**

BAKT. : STAPHYLOCOCCUS AUREUS  
ANTIB. : ERYTROMYCIN 15  
3163 st. stammar.

S ≥ 21 mm

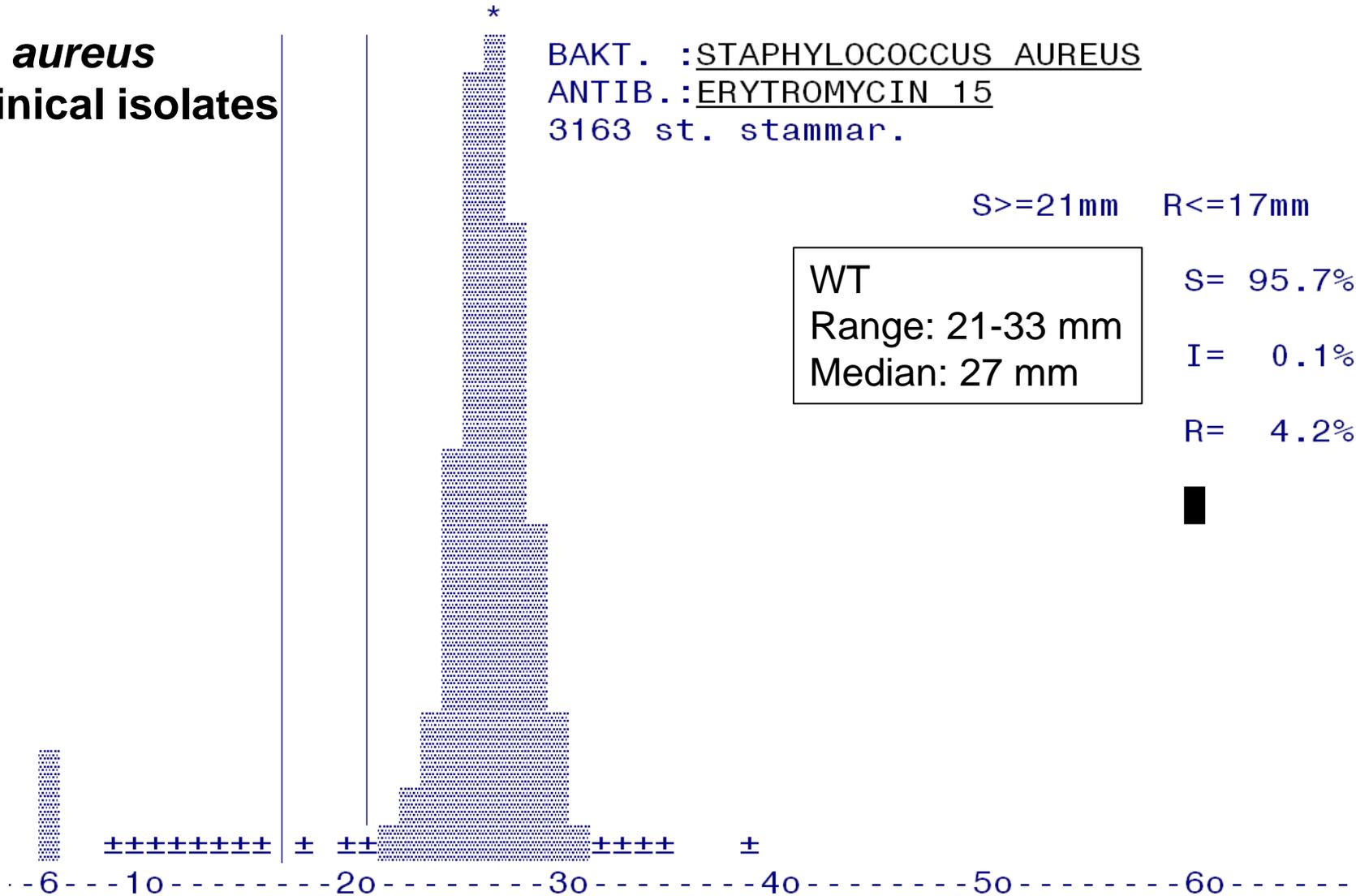
R ≤ 17 mm

WT  
Range: 21-33 mm  
Median: 27 mm

S = 95.7%

I = 0.1%

R = 4.2%



# Jämförelse med referensdistributioner

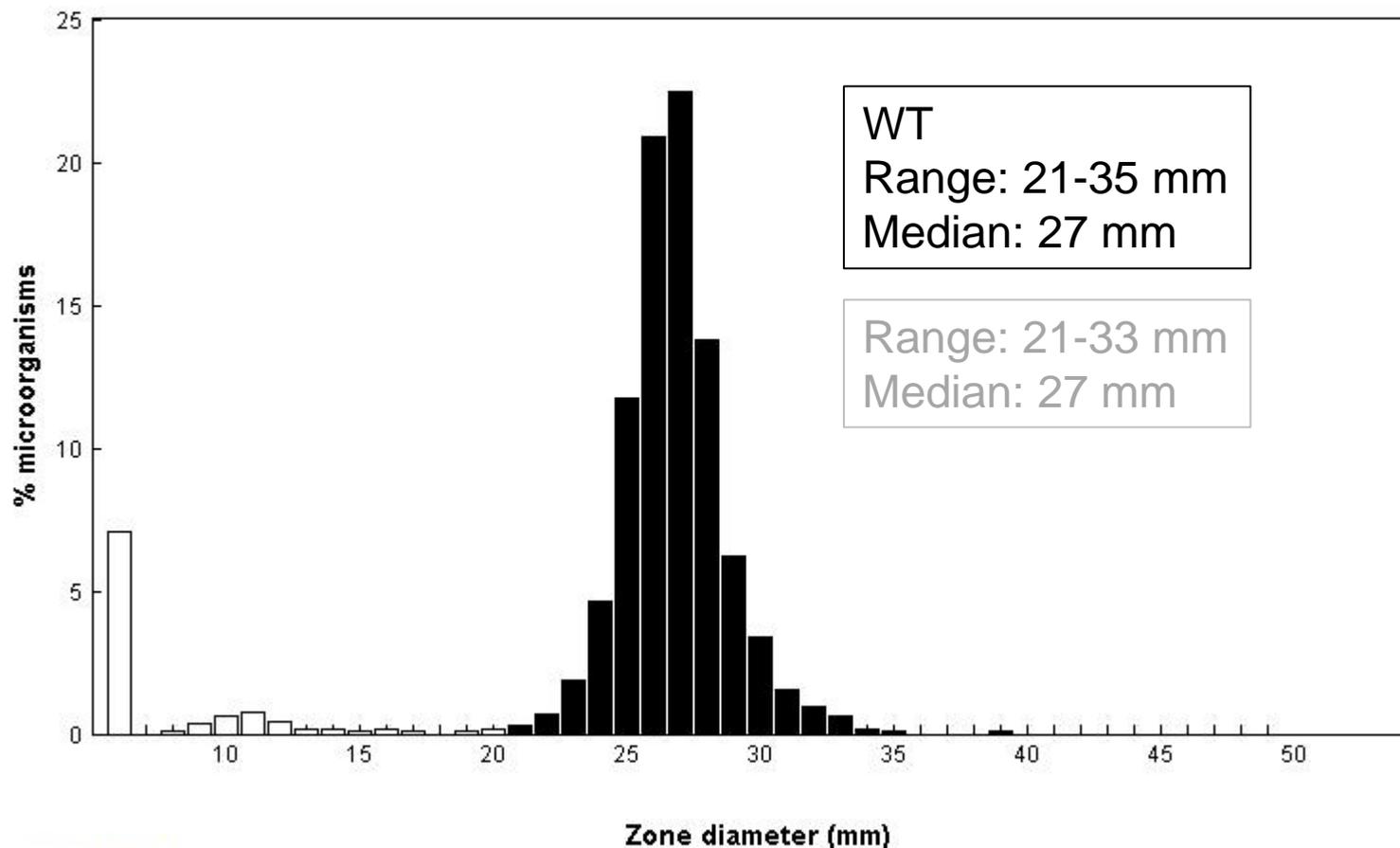
<http://mic.eucast.org/Eucast2/>

**Erythromycin / *Staphylococcus aureus***

**International wild type zone diameter distribution - Reference database 2014-09-09**

**EUCAST disk diffusion method**

Distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



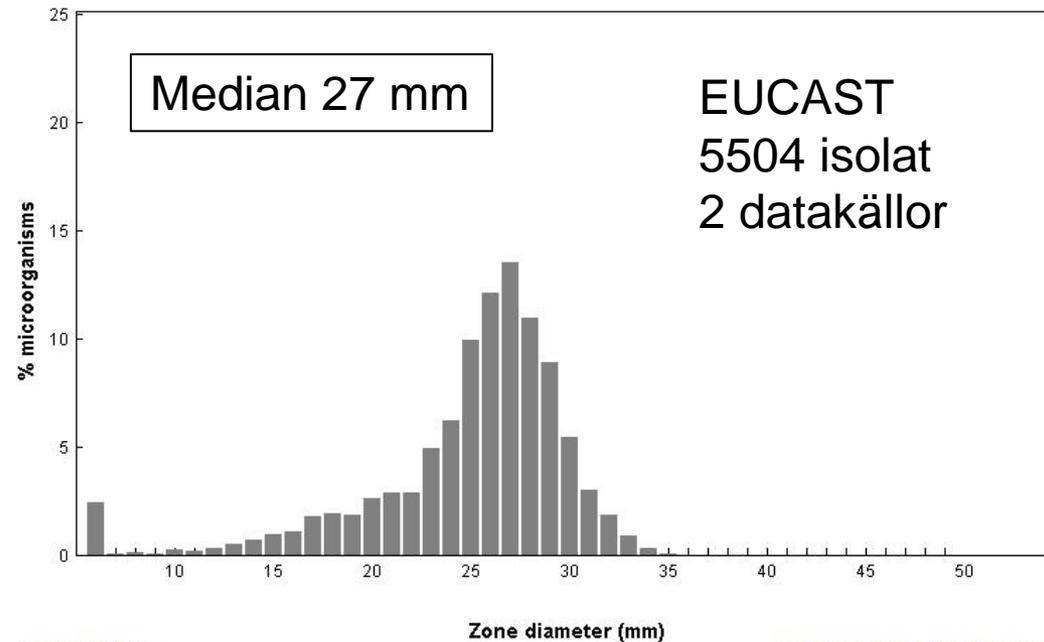
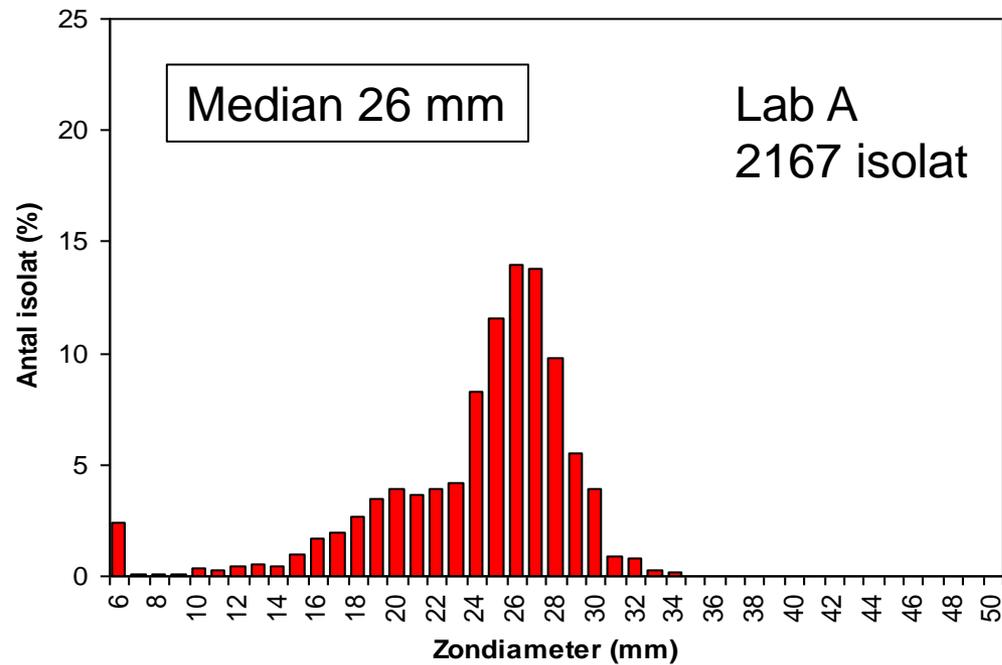
Disk content: 15

Epidemiological cut-off (ECOFF): 21 mm (MIC = 1 mg/L)

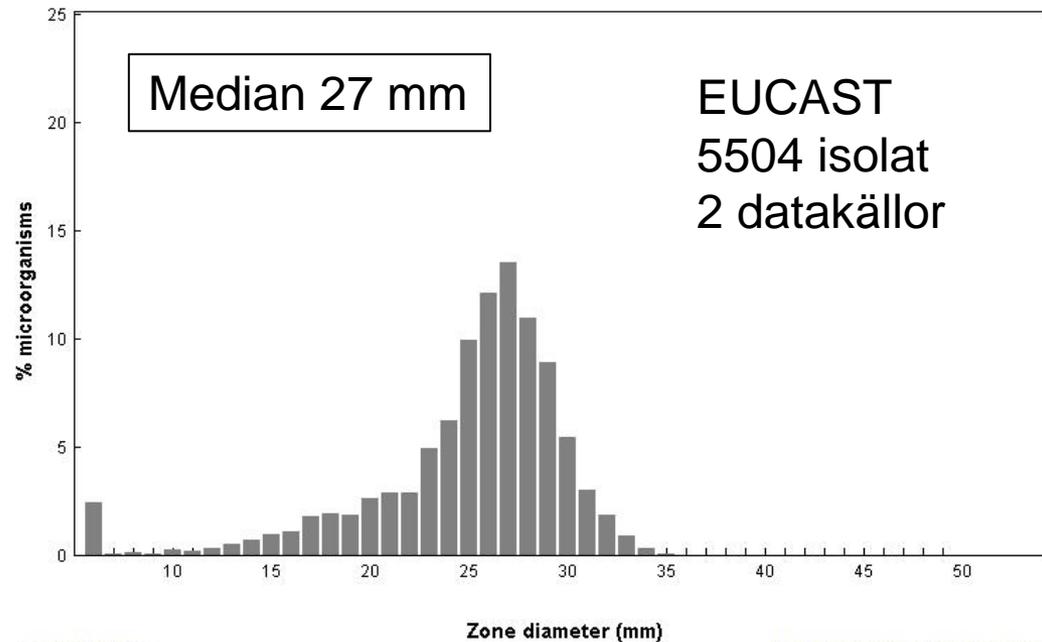
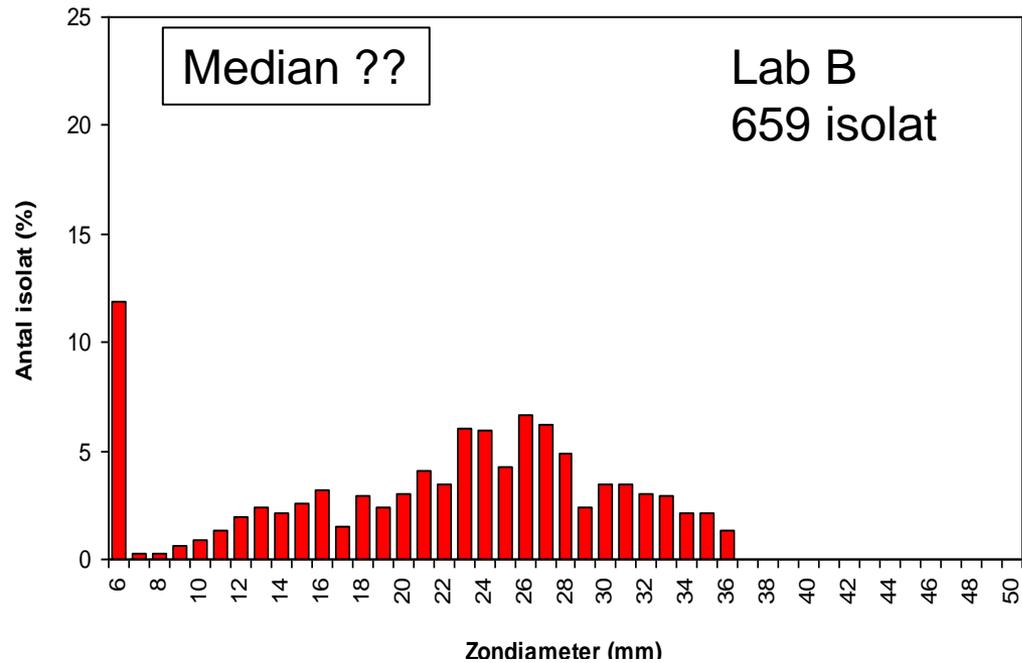
Wildtype (WT) organisms:  $\geq 21$  mm (MIC = 1 mg/L)

11242 observations (9 data sources)

# *E. coli* Mecillinam



# *E. coli* Mecillinam



# Frågor & diskussion

# Felsökning

# Potentiella felkällor (I)

- Antibiotikalappar
  - Fel antibiotikalapp
  - Fel lappstyrka
  - Minskat antibiotikainnehåll i lappen
    - Nedbrytning under lagring och hantering
    - Utgångsdatum passerat

- Byt till nytt rör eller ny lot!

# Potentiella felkällor (II)

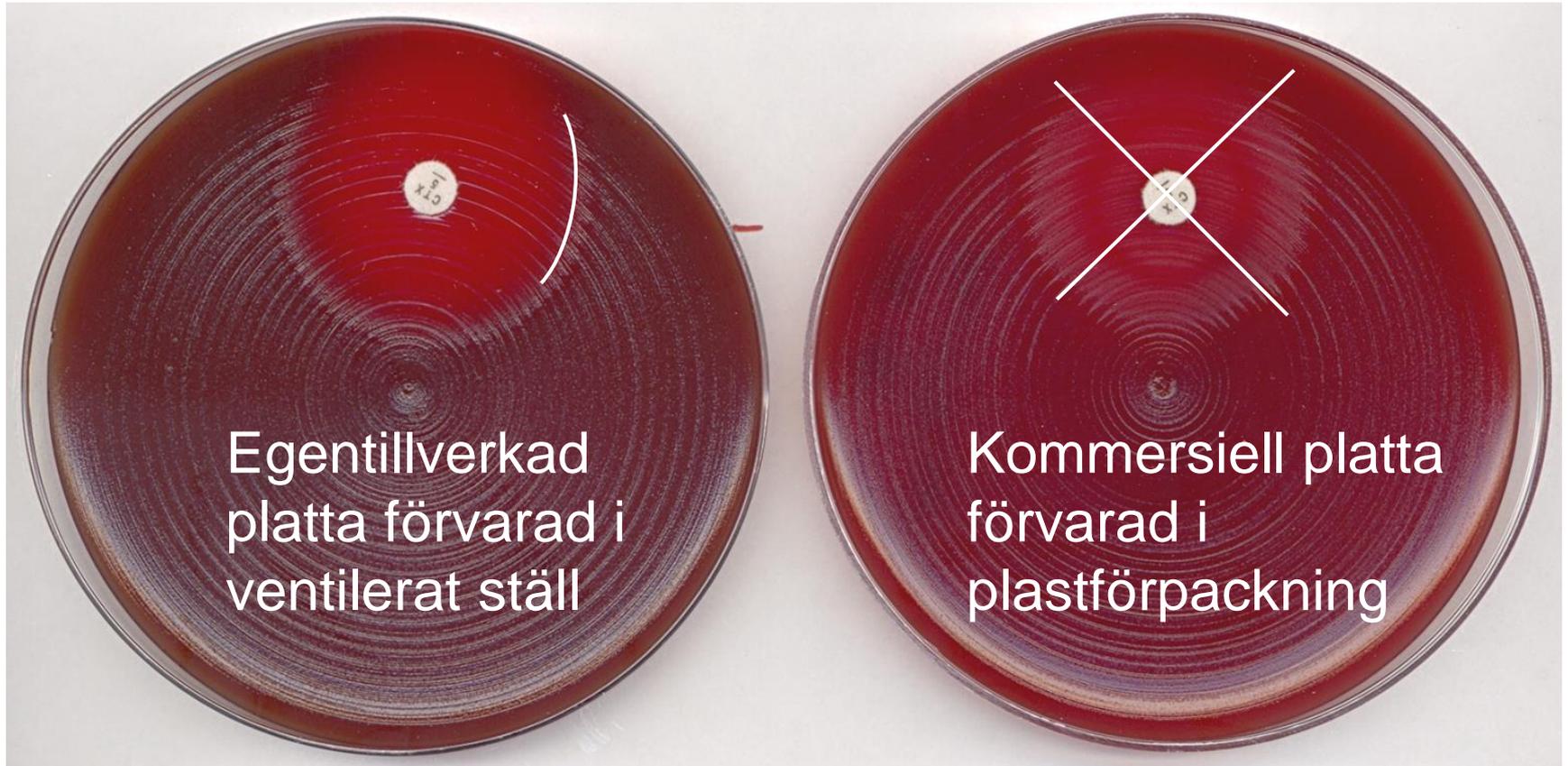
- Medium
    - Divalenta katjoner, tymidin, pH etc
    - Tillsatser: Hästblod och  $\beta$ -NAD
    - Agardjup (4 mm  $\pm$  0.5 mm)
    - Tillverkning och förvaring
      - Hållbarhet?
      - Fuktiga plattor?
- Gör batchkontroll vid inköp av agar
  - Kontrollera agardjup för varje ny batch
  - Se över tillverkning och förvaring

# Torkning och förvaring av MH-F

MH-F plattor som förvaras i plastpåse eller annan försluten förpackning kan behöva torkas före användning. På detta sätt undviks fukt som annars kan ge problem med otydliga zonkanter och/eller dimma i zon.



# Torkning och förvaring av MH-F



Om droppar kan ses på insidan av locket är plattan för fuktig!

- Packa upp plattor från plastförpackningar vid kylförvaring
- Torka vid behov plattorna i 35°C, ca 15 min utan lock

# Potentiella felkällor (III)

- Ej följt metodbeskrivningen
    - 15-15-15-minutersregeln
    - Felaktigt inokulat
    - Inkuberingstemperatur/-miljö
    - Inkuberingstid (16-20h)
- Se över rutiner för resistensbestämning
  - Utbilda (ny och gammal) personal

# Potentiella felkällor (IV)

- Avläsning
  - Belysning och bakgrund
  - Otydliga zonkanter
  - Växt/hemolys
- För många lappar på plattan
  - Interaktioner och överlappande zoner
- Genomför regelbundna avläsningsövningar för all personal
- Kontakta EUCAST-laboratoriet för support

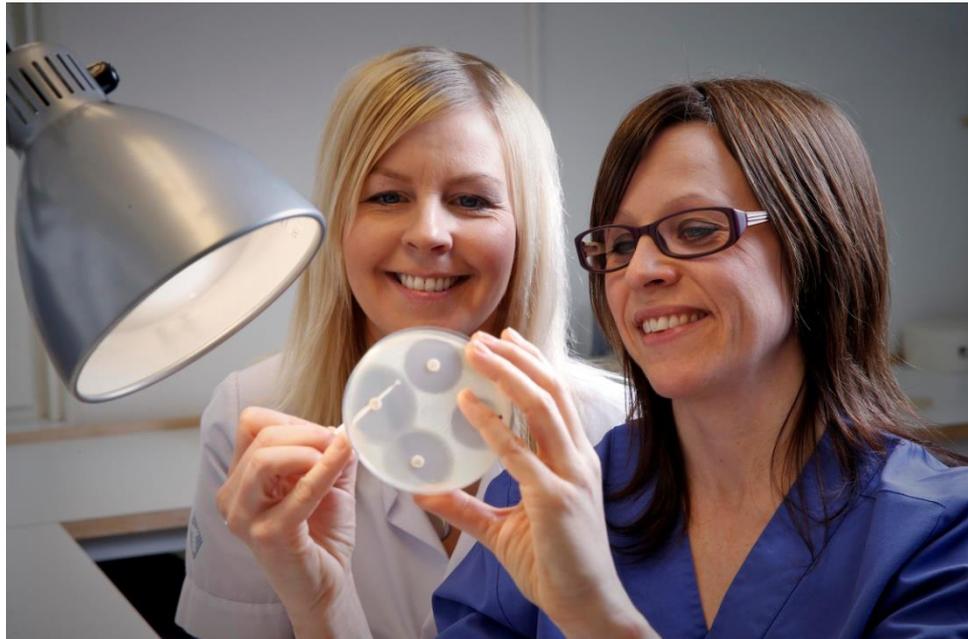
# Potentiella felkällor (V)

- Kvalitetskontrollstam
  - Fel stam
  - Ej färsk
  - Kontamination
  - Mutation
- Ta upp ny QC-stam från stamförråd

# Frågor och/eller problem?

Kontakta oss!

[erika.matuschek@escmid.org](mailto:erika.matuschek@escmid.org)



# Frågor & diskussion

# **Kvalitetskontroll av gradienttester**

# Gradienttester

- Etest (bioMérieux)
- M.I.C.Evaluator (Oxoid/Thermo Fisher)
- MIC Test Strip (Liofilchem)
  
- Alla gradienttester ska hanteras och förvaras enligt leverantörens rekommendation.

# Kvalitetskontroll gradienttester

- QC när man öppnar en ny lot
- Frekvens därefter är beroende av antibiotika, förpackning, förvaring och hantering.
- Testa med en känslig QC-stam för att upptäcka minskad antibiotika-koncentration.

# NordicAST rekommendation

<b><i>E. coli</i> ATCC 25922</b>
Amoxicillin-klavulansyra
Aztreonam
Cefalexin
Cefepim
Cefotaxim
Ceftazidim
Ceftriaxon
Ciprofloxacin
Doripenem
Ertapenem
Fosfomicin
Imipenem
Levofloxacin
Mecillinam
Meropenem
Moxifloxacin
Nitrofurantoin
Norfloxacin
Ofloxacin
Piperacillin-tazobaktam
Trimetoprim
Streptomycin

<b><i>S. aureus</i> ATCC 29213</b>
Azitromycin*
Cefoxitin
Ceftaroline
Ceftobiprol
Daptomycin
Erytromycin*
Fusidinsyra
Klaritromycin*
Klindamycin*
Kloramfenikol
Mupirocin
Quinupristin-dalfopristin
Rifampicin
Roxitromycin*
Teikoplanin
Telitromycin
Vankomycin

<b><i>E. faecalis</i> ATCC 29212</b>
Trimetoprim-sulfametoxazol

<b><i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853</b>
Amikacin
Colistin
Gentamicin
Netilmicin
Tobramycin

<b><i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619</b>
Amoxicillin
Ampicillin
Bensylpenicillin
Cefpodoxim
Cefuroxim
Doxycyklin
Linezolid
Minocyklin
Tetracyklin
Tigecyklin

\*Observera att gradienttester för makrolider och klindamycin kan ge för höga värden vid inkubation i CO<sub>2</sub>

# Kontroll av inhibitor-komponenten

- Amoxicillin-klavulansyra
- Piperacillin-tazobaktam
- Ceftolozan-tazobaktam
  
- Testas med:
  - *E. coli* ATCC 35218
    - TEM-1  $\beta$ -laktamasproducerande
  - *K. pneumoniae* ATCC 700603
    - SHV-18 ESBL-producerande

# Utvärdering av QC-resultat

- Kontrollera mot MIC-gränser i EUCAST QC-tabeller.
- Ej godkänd kontroll:
  - Upprepa testet, uteslut andra felkällor.
- Upprepade underkända kontroller:
  - Öppna ny förpackning.
- Om ny förpackning ej är godkänd:
  - Kontakta leverantören.

# Frågor & diskussion