

Gebrauchsanweisung für NEO-SENSITABS™

Version:
Stand:
Sprache:

DBV0004G
06.05.2024
Deutsch

NEO-SENSITABS™

zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung

Hersteller

ROSCO Diagnostica ApS, Stensmosevej 24A, DK-2620 Albertslund, Denmark, www.rosco-diagnostics.com

Verwendungszweck

Neo-Sensitabs sind Tabletten für die halbquantitative In-vitro-Empfindlichkeitsprüfung von häufig vorkommenden, schnell wachsenden anspruchlosen Organismen, bestimmten anspruchsvollen bakteriellen Pathogenen und Hefen unter Anwendung der Agar-Diffusionsmethode.

Verfahrensprinzip

Neo-Sensitabs, die eine Anzahl verschiedenartiger antimikrobieller Substanzen enthalten, werden auf die Oberfläche eines geeigneten Agars aufgebracht, der zuvor mit einer Reinkultur klinischer Isolate beimpft wurde.

Anspruchslose Organismen wie *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*-Spezies, *Pseudomonas*-Spezies, *Acinetobacter*-Spezies, *Enterococcus*-Spezies oder *Vibrio cholerae* können auf dem Medium ohne Zugabe von Blut oder weiteren Nährstoffen (z. B. Mueller-Hinton-II-Agar; MH) getestet werden. Für *Haemophilus influenzae* ist ein Haemophilus-Testmedium (HTM), für *Neisseria gonorrhoeae* GC-Agar-Basis (GCA) und für *Streptococcus pneumoniae* sowie andere Streptokokken ist Mueller-Hinton-II-Agar mit 5 % Blut (MH+B) erforderlich. Hefe sollte auf RPMI-1640-Agar oder modifiziertem Shadomy-Agar getestet werden. Anaerobe Organismen erfordern spezielle Verfahren.^{1,2}

Nach der Inkubation werden die Platten wie folgt untersucht: Die Durchmesser der Hemmzonen um die Tabletten herum werden gemessen und mit den Interpretationstabellen für die einzelnen Antibiotika verglichen, um den oder die für eine antimikrobielle Therapie am besten geeigneten Wirkstoff(e) zu ermitteln.

Neo-Sensitabs sind gemäß der vom CLSI (NCCLS) und EUCAST empfohlenen MHK Grenzwerte standardisiert.^{3,4} Daneben sind Neo-Sensitabs auf die MHK Grenzwerte abgestimmt, die von den in Ländern Frankreich und Großbritannien existierenden Standardisierungsgremien für Empfindlichkeitsprüfungen empfohlen werden. Die länderspezifischen Interpretationskriterien für die Hemmzonen sind im "Neo-Sensitabs User's Guide" aufgeführt (www.rosco-diagnostics.com).¹

Reagenzien

Neo-Sensitabs sind Tabletten mit 9 mm Durchmesser. Sie enthalten kristalline antimikrobielle Substanzen, die gründlich mit einem schützenden Granulat vermengt wurden. Jede Tablette ist beidseitig mit einem fünfstelligen Code bedruckt. Neo-Sensitabs werden in Kartuschen zu je 50 Tabletten ausgeliefert. Die Kartuschen sind geeignet für den Einsatz in einem Neo-Sensitabs Dispensiergerät. Die Dispensiergeräte geben jeweils 7, 9, 12 oder 16 Neo-Sensitabs ab. Da die Tabletten von selbst an dem Medium haften, ist kein zusätzlicher mechanischer Druck erforderlich.

Aufbewahrung

- 1) Prüfen Sie bei Erhalt das Temperatursymbol auf der Umverpackung. Neo-Sensitabs mit dem Temperatursymbol und den Intervallangaben "2 °C bis 8 °C" sind im Kühlschrank aufzubewahren. Neo-Sensitabs mit der Temperaturkennzeichnung "bis 25 °C" können bei Zimmertemperatur gelagert werden.

- 2) Aus dem Kühlschrank entnommene Kartuschen mit Neo-Sensitabs müssen vor dem Öffnen auf Zimmertemperatur erwärmt werden (30 bis 60 min), damit auf den Tabletten kein Kondenswasser entsteht.
- 3) Neo-Sensitabs mit der Temperaturkennzeichnung "2 °C bis 8 °C" können bis zu 2 Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, ohne dass ihre Wirksamkeit entscheidend nachlässt.
- 4) Geöffnete Kartuschen im Dispensiergerät sind innerhalb von 2 Monaten (Neo-Sensitabs mit Temperaturkennzeichnung "2 °C bis 8 °C") bzw. innerhalb von 12 Monaten (Neo-Sensitabs mit Temperaturkennzeichnung "bis 25 °C") zu verbrauchen.

Das auf den Kartuschen angegebene Verwendbarkeitsdatum gilt nur für verschlossene Kartuschen bei vorschriftsmäßiger Lagerung.

Vorsichtsmaßnahmen

Befolgen Sie die Gebrauchsanweisung. Die Zuverlässigkeit der Tests ist nicht nur von der Leistungsfähigkeit von Neo-Sensitabs abhängig, sondern auch von einem geeigneten Inokulum, geeigneten Agar-Platten, der Inkubationstemperatur, einer korrekten Interpretation der Zonendurchmesser, der richtigen Lagerung des Präparats und der Verwendung von Vergleichskulturen.⁵

Untersuchungsmaterial

Das zu untersuchende Material muss typisch für das infizierte Gewebe sein. Es sollte also unbedingt versucht werden, eine repräsentative Probe der betreffenden pathogenen Bakterien zu erhalten. Siehe Anweisungen zur Vorbereitung des Inokulums.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Material: Neo-Sensitabs je nach Kennzeichnung.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Kulturmedien, Reagenzien, Bakterienstämme zur Kontrolle sowie die Laborausstattung, die für eine Empfindlichkeitsprüfung im Standardverfahren nach der Agar-Diffusionsmethode erforderlich ist. Stellen Sie einen 0,5-McFarland-Trübungsstandard her, indem Sie 0,5 ml einer 0,048 M BaCl₂-Lösung (1,175 % [Gew./Vol.] BaCl₂·2H₂O) unter ständigem Rühren einer Menge von 99,5 ml 0,18 M H₂SO₄ (1% [Vol./Vol.]) zugeben. Alternativ kann auch ein fertiger Standard gekauft werden. Den Trübungsstandard mit Hilfe eines Spektralphotometers mit Vergleichsküvette bei einer Schichtdicke von 1 cm überprüfen; die Absorption bei 625 nm muss zwischen 0,08 und 0,10 liegen.^{3, 4}

I. Gebrauchsanweisung für Tests mit Bakterien

I.1. Standardisierung des Inokulums gemäß CLSI (NCCLS) 3 und EUCAST

Direkte Suspensionsmethode:

Durch Suspendieren mehrerer morphologisch gleichartiger Kolonien von einer 12 bis 24 Stunden lang inkubierten Agar-Platte nicht selektives Agar in 4–5 ml 0,9%-iger NaCl-Lösung kann eine Trübung entsprechend dem BaSO₄-Standard (0,5 McFarland) erreicht werden. Diese Methode entspricht dem CLSI (NCCLS)-Standardverfahren und ist weniger zeitaufwändig. Die Methode eignet sich besonders zum Testen anspruchsvoller Organismen wie *Haemophilus*-Spezies, *N. gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, Pneumokokken, Streptokokken und zum Prüfen von Staphylokokken auf eine potentielle Resistenz gegen Methicillin oder Oxacillin.³

I.2. Inokulation

- a) Innerhalb von 15 min einen sterilen Wattetupfer in das korrekt eingestellte Inokulum tauchen und dann fest gegen die obere Innenwand des Röhrchens drücken, um überschüssige Flüssigkeit auszudrücken.
- b) Testplatten innerhalb von 15 Minuten mit Wattetupfer inokulieren.

- c) Die trockene Oberfläche einer geeigneten Agar-Platte durch Ausstreichen des Tupfers über die gesamte Platte inokulieren. Vor dem Aufbringen der Neo-Sensitabs auf das Medium die Oberfläche 3 bis 5 min, jedoch höchstens 15 min trocknen lassen.
- d) Wählen Sie die geeigneten Tabletten aus, z. B. anhand der CLSI (NCCLS)-Empfehlung.⁶ Bei der Untersuchung auf *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* und *Streptococcus*-Spezies höchstens neun Neo-Sensitabs je 150-mm-Platte bzw. vier Neo-Sensitabs je 100-mm-Platte verwenden.

I.3. Inkubation und Untersuchung der Platten

- a) Die Platten nach 15 min mit der Agar-Seite nach oben bei 35 °C in einen Inkubator geben. *Haemophilus*-Spezies, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und andere Streptokokken sollten in einer mit 5 % CO₂ angereicherten Atmosphäre inkubiert werden.
- b) Die Platten nach einer Inkubationszeit von 16–18 h (20–24 h für *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und andere Streptokokken) untersuchen. Für *Staphylococcus aureus* (MRSA) wird eine Inkubationszeit von 24 h empfohlen, um Methicillin-resistente Organismen nachzuweisen. Gleiches gilt für *Enterococcus*-Spezies mit etwaiger Vancomycin-Resistenz. Platte gegen eine Lichtquelle halten und die Oxacillin- und Vancomycin-Zonen auf leichtes Wachstum (kleinste Kolonien) Methicillin- bzw. Vancomycin-resistenter Kolonien innerhalb der sichtbaren Hemmzonen prüfen. Schon das geringste Wachstum innerhalb der Hemmzone zeigt eine Methicillin- bzw. Vancomycin-Resistenz an. Bei Trimethoprim-, Sulphonamid- und Trimethoprim+Sulfamethoxazol-Tabletten bildet sich an den Außenrändern der Hemmzonen eine große Anzahl kleiner Kolonien. In diesen Fällen werden die Hemmzonen Durchmesser anhand der Ausbreitung normal großer Kolonien ermittelt (leichtes Wachstum ignorieren und deutlich sichtbaren Rand messen). Weitere Einzelheiten entnehmen Sie dem "User's Guide" für Neo-Sensitabs (www.rosco-diagnostica.com).¹
- c) Die Durchmesser der Hemmzonen, die bei Sichtprüfung eine vollständige Hemmung aufweisen, werden gemessen. Die Zonendurchmesser werden auf den nächsten Millimeter gerundet.

II. Gebrauchsanweisung Tests mit Hefen

II.1. Vorbereiten des Inokulums

Das Inokulum sollte ein zusammenhängendes Wachstum ermöglichen. Für die meisten Stämme eignet sich ein Inokulum mit etwa 5×10^5 KBE/ml (0,5 McFarland, 1:1 verdünnt mit Kochsalzlösung). Für *Candida krusei* ist ein Inokulum entsprechend 0,5 McFarland (verdünnt 1:10), und für *Cryptococcus*-Spezies ein Inokulum entsprechend 1,0 McFarland (unverdünnt) zu verwenden.

II.2. Inokulation

- a) Die Platten werden vor der Inokulation 20–25 min lang bei 35 °C getrocknet.
- b) 0,5 ml (9-cm-Platte) bzw. 1,0 ml (14-cm-Platte) des vorbereiteten Inokulums auf die Agar-Oberfläche gießen; überschüssige Flüssigkeit sofort mit einer Pipette entfernen.
- c) Die offene Platte 10 min bei 35 °C trocknen, anschließend die Tabletten auf die Agar-Oberfläche aufbringen.

II.3. Inkubation und Untersuchung der Platten

Für die meisten Stämme, die aus systemischen Infektionen isoliert wurden, ist eine Inkubation bei 35 °C über Nacht ausreichend. Die Untersuchung und Interpretation der Platten kann nach 18–24 h erfolgen. Falls bei bestimmten Stämmen dann noch kein Wachstum sichtbar wird, können die Platten für bis zu 24 h reinkubiert werden. Bei *Cryptococcus*-Stämmen sollte die Inkubation bei 30 °C für 42–48 h erfolgen.

II.4. Messen der Hemmzonen

Bei Polyenen (Amphotericin B und Nystatin) wird die freie Zone ohne sichtbares Wachstum gemessen. Bei diesen Antimykotika müssen innerhalb der Hemmzone wachsende Kolonien als resistente Mutationen betrachtet werden. Die Zonen für Azole, Imidazole und Terbinafin werden bis zur Grenze des Wachstums normal großer Kolonien gemessen. Häufig tritt hier das Wachstum teilweise gehemmter Kolonien auf, die in unmittelbarer Nähe der Tablette kleiner sind als am Rand der eigentlichen Zone. Bei diesen kleinen und mittelgroßen Kolonien handelt es sich nicht um resistente Mutationen. Neo-Sensitabs mit Imidazolen/Azolen enthalten Doxycyclin; dies ermöglicht ein besseres Erkennen der Zonenränder. Bei Fluorocytosin wird die Zone des Wachstums normal großer Kolonien gemessen. Bei einzelnen Kolonien innerhalb der Hemmzone handelt es sich in der Regel um *resistente* Mutationen (isolieren und erneut testen).

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Mindestens einmal wöchentlich sowie bei jedem Einsetzen einer neuen Agar-Charge sollte eine Qualitätskontrolle unter Verwendung von ATCC-Stämmen durchgeführt werden. Der gemessene Zonendurchmesser muss sich innerhalb der für die jeweilige Kombination aus Neo-Sensitabs und Vergleichsstamm festgelegten Kontrollzonengrenze befinden. Die Zonengrenzen für die Kontrollstämmen sind in den Tabellen angegeben und gelten als Indikator für die korrekte Durchführung der gesamten Prozedur.^{1,3}

ERGEBNISSE

Vergleichen Sie die erfassten Zonendurchmesser mit den Angaben in der Tabelle. Die Ergebnisse für einen bestimmten Organismus werden als "suszeptibel" (S), "intermediär" (I) bzw. "resistent" (R) angegeben:³

Suszeptibel (S): Die Infektion durch den getesteten Erreger dürfte aller Erwartung nach auf eine normale Dosis des in der Tablette enthaltenen antimikrobiellen Wirkstoffes reagieren. **Falls ausschließlich "S"-Kriterien angegeben sind:** Im Falle einiger Kombinationen aus Organismen und antimikrobiellen Substanzen schließt die Abwesenheit resistenter Stämme eine Einstufung in eine andere als die Suszeptibilitätskategorie aus. Bei Stämmen, deren Ergebnis eine Einstufung als "nicht empfindlich" nahe legt, empfiehlt sich eine Überprüfung der Identität des Organismus sowie der Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung. Die Isolate sollten dann für weitere Tests an ein Vergleichslabor gegeben werden. **Intermediär (I):** Die Kategorie "Intermediär" impliziert eine klinische Anwendbarkeit in Körperregionen, in denen mit einer Konzentration des antimikrobiellen Wirkstoffs zu rechnen ist (z. B. Harnwege), oder wenn eine hohe Dosis des Wirkstoffs verabreicht werden kann (z. B. Beta-Lactame). Die intermediäre Kategorie schließt zudem eine "Pufferzone" ein, durch die die Entstehung von Diskrepanzen auf Grund kleinerer, jedoch unkontrollierbarer technischer Faktoren vermieden werden soll. Ist ein erfasster Zonendurchmesser also dieser Kategorie zuzuordnen, kann nicht von einem eindeutigen Ergebnis ausgegangen werden; falls keine alternativen Wirkstoffe verfügbar sind, ist ein MHK-Test angezeigt. **Resistent (R):** Der antimikrobielle Wirkstoff ist in diesem Fall nicht für die Behandlung geeignet.

Screening und Vergleichstests für Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)

In einigen Stämmen von *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* und anderen Enterobacteriaceae sind gelegentlich übertragbare, Plasmid-induzierte Beta-Lactamasen festgestellt worden, die eine Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation sowie gegen Monobactame (z. B. Aztreonam) hervorrufen. Diese Enzyme fallen in die Kategorie der "Extended-Spectrum Beta-Lactamasen" (ESBL) und werden mit einer klinischen Resistenz gegenüber Monobactamen und Breitspektrum-Cephalosporinen in Verbindung gebracht. Einige der zugehörigen Stämme weisen Hemmzonen auf, die zwar kleiner sind als die der normalen empfindlichen Stämme, jedoch oberhalb der Standard Grenzwerte für einige Breitspektrum-Cephalosporine sowie für Aztreonam liegen. Diese Stämme können anhand geeigneter ESBL-Screening-Grenzwerte untersucht werden. Die meisten ESBL werden durch Clavulansäure, Tazobactam oder Sulbactam inhibiert und lassen sich mit einem Zwei-Tabletten-Synergietest schnell erkennen.⁶ Ceftazidim + Clavulanat und Cefepim + Clavulanat sind gut geeignet für ein Vergleichstest auf ESBL. Weitere Einzelheiten entnehmen Sie dem "User's Guide" für Neo-Sensitabs und Detection of resistance mechanisms (www.rosco-diagnostics.com).¹ ESBL-Stämme sind grundsätzlich als resistent gegen alle Penicilline und Cephalosporine sowie gegen Aztreonam anzugeben.

Staphylococcus aureus mit eingeschränkter Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin (hVISA, VISA (GISA) und VRSA)

Der Nachweis von VRSA (Vancomycin resistente *Staphylococcus aureus*) sollte mit Vancomycin 5 µg erfolgen – allerdings gibt es noch keine verlässlichen Studien zur Nachweisbarkeit von VRSA, da weltweit bisher nur wenige klinische VRSA-Isolate zur Verfügung stehen. Stämme mit eingeschränkter Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin (hVISA und VISA (GISA)) können mit der gegenwärtigen Methode nicht nachgewiesen werden. Weitere Informationen hierzu finden Sie im Neo-Sensitabs User's Guide und Detection of resistance mechanisms (www.rosco-diagnostics.com).¹

Methicillin-resistente Staphylokokken

Die Untersuchung Coagulase-negativer Staphylokokken auf eine Resistenz gegen MRSA und Methicillin (Oxacillin) wird unter Verwendung von Oxacillin 1 µg und Cefoxitin durchgeführt. Liegt eine solche Resistenz vor, sind alle Beta-Lactame als resistent anzugeben. Weitere Einzelheiten entnehmen Sie dem "User's Guide" für Neo-Sensitabs (www.rosco-diagnostics.com).¹

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)

Die Erkennung von VRE unter Verwendung der Diffusionsmethode erfordert Folgendes:

- 1) Vancomycin 5 µg Neo-Sensitabs
- 2) Inkubation über 24 Stunden
- 3) Sorgfältige Untersuchung der Hemmzone

Empfindliche Stämme weisen einen klar definierten Hemmzonenrand auf, während resistente Stämme einen diffusen Rand erzeugen. Weitere Einzelheiten entnehmen Sie dem "User's Guide" für Neo-Sensitabs (www.rosco-diagnostics.com).¹

Hochgradige Aminoglycosid-Resistenz

Eine hochgradige Resistenz gegen Aminoglycoside zeigt an, dass bei einem Enterokokken-Isolat durch eine Kombination aus Penicillin oder Glycopeptid plus Aminoglycosid kein Synergieeffekt erzielt werden kann. Die Untersuchung auf hochgradige Gentamicin- und Streptomycin-Resistenz sollte an Enterokokken-Isolaten aus dem Blut oder der Hirnflüssigkeit durchgeführt werden. Für diese Resistenzuntersuchung werden Neo-Sensitabs mit hohem Wirkstoffgehalt verwendet, z. B. Gentamicin 250 µg, Kanamycin 500 µg oder Streptomycin 500 µg.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN DER DIFFUSIONSMETHODE

Neo-Sensitabs sind für eine schnelle und genaue antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung vorgesehen. Zufriedenstellende Ergebnisse aus Vergleichstests mit Kontrollorganismen garantieren keine genauen Resultate für alle aus Patienten isolierten Proben. Wo atypische oder abweichende Ergebnisse auftreten, sollte die Untersuchung bzw. die Zuordnung zu den einzelnen Kategorien wiederholt werden, um ausreichende Zuverlässigkeit zu erzielen. Unerwartete Ergebnisse sollten aufgezeichnet und die betreffenden Isolate für weitere Tests an ein Vergleichslabor gegeben werden.

Gefährliche irreführende Ergebnisse können dann auftreten, wenn bestimmte antimikrobielle Substanzen an bestimmten Mikroorganismen getestet werden.^{3,6} Bei einigen Spezies sind die Resistenzmechanismen schwerer zu erkennen als bei anderen, und einige Ergebnisse können in vitro als wirksam erscheinen, obgleich die antimikrobielle Substanz klinisch keine Wirkung zeigt. Insbesondere handelt es sich um folgende Kombinationen:

- alle Antibiotika auf Beta-Lactam-Basis (Ausnahmen: Oxacillin, Methicillin) gegen Methicillin-resistente Staphylokokken
- Cephalosporine, Aminoglycoside (Ausnahme: Untersuchung auf hochgradige Resistenz), Clindamycin und Trimethoprim + Sulfamethoxazol gegen Enterokokken
- Cephalosporine der 1. und 2. Generation und Aminoglycoside gegen *Salmonella*-Spezies und *Shigella*-Spezies
- Cephalosporine gegen *Listeria*-Spezies
- Glykopeptide gegen *S. aureus* mit eingeschränkter Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin
- Cephalosporine und Aztreonam gegen ESBL-produzierende *E. coli*, *K. pneumoniae* und *P. mirabilis*

Routinemäßige Tests mit aus der Hirnflüssigkeit isolierten Erregerstämmen können in folgenden Fällen irreführend Ergebnisse liefern und gefährlich für die Behandlung des Patienten sein:

- ausschließlich oral verabreichte Mittel
- Cephalosporine der 1. und 2. Generation (Ausnahme: Cefuroxim Natrium)
- Clindamycin
- Macrolide
- Tetracycline
- Fluoroquinolone

Einige antimikrobielle Wirkstoffe werden mit der Entstehung einer Resistenz bei langfristiger Therapie in Verbindung gebracht. Das bedeutet, dass zunächst empfindliche Isolate bereits einige Tage nach Beginn der Behandlung resistent werden können. Dies tritt am häufigsten in folgenden Fällen auf:

- bei *Enterobacter*, *Citrobacter* und *Serratia*-Spezies in Verbindung mit Cephalosporinen der 3. Generation
- bei *Pseudomonas aeruginosa* in Verbindung mit den meisten antimikrobiellen Wirkstoffen
- bei Staphylokokken in Verbindung mit Quinolonen

Im Prinzip besitzen alle Isolate von *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Providencia*-Spezies, *Proteus*-Spezies (Ausnahme: *P. mirabilis*), *Serratia marcescens* und *P. aeruginosa* die Gene für die Produktion von Beta-Lactamase der Gruppe I. Ein Nachweis der In-vitro-Induktion dieses Enzyms ist somit in den meisten Fällen wenig sinnvoll. Im Labor sollte man sich hier vielmehr auf Wiederholungstests konzentrieren, die während der Therapie etwa alle 3 bis 4 Tage an Isolaten des Patienten durchgeführt werden, um eine etwaige Selektion von Klonen festzustellen, die Beta-Lactamase der Gruppe I produzieren.

WEITERE INFORMATIONEN:

- 1) Neo-Sensitabs User's Guide. www.rosco-diagnostics.com.
- 2) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standard M11-A6. 6th ed. NCCLS, Wayne, Pa., USA.
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2009. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M2-S10. NCCLS, Wayne, Pa., USA.
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for bacteria isolated from animals. Approved Standard M31-A2. 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa., USA.
- 5) Ericsson H.M. and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic susceptibility testing. Report of an international collaborative study. Acta Path. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl. 217: 1-90.
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S23. 23rd Informational Suppl.. CLSI, Wayne, Pa., USA.