

## Gebbruiksvoorschriften NEO-SENSITABS™

Revisie:	DBV0004F
Publicatiedatum:	12.04.2013
Taalversie:	Nederlands

### NEO-SENSITABS™

#### Tabletten voor anti-microbiële gevoeligheidsbepaling

##### Fabrikant

Rosco Diagnostica A/S, Taastrupgaardsvej 30, DK-2630 Taastrup, Denemarken, [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)

##### Gebruik

Neo-Sensitabs zijn tabletten die bij de agar diffusiemethode worden toegepast voor de semi-kwantitatieve *in vitro* bepaling van de gevoeligheid van veelvoorkomende, snelgroeiende niet-commensale organismen, bepaalde commensale pathogene bacteriën en gisten.

##### Principes van de procedure

Neo-Sensitabs bevatten een variëteit aan anti-microbiële stoffen en worden aangebracht op het oppervlak van een geschikt agar medium, dat geënt is met een reïncultuur van klinisch geïsoleerde micro-organismen.

Van niet-commensale organismen, waaronder de *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp. en *Vibrio cholerae*, is de gevoeligheid te bepalen middels een voedingsbodem waaraan geen bloed of andere supplementen toegevoegd worden, zoals een Mueller Hinton II agar (MH). De *Haemophilus influenzae* vereist een Haemophilus testmedium (HTM), de *Neisseria gonorrhoeae* een GC agarbasis (GCA), terwijl voor de *Streptococcus pneumoniae* en overige streptokokken een Mueller Hinton II agar voedingsbodem + 5 % bloed (MH+B) gebruikt dient te worden. Gist dient getest te worden op RPMI-1640 agar of op gemodificeerde Shadomy-agar en voor het testen van anaërobe organismen dienen speciale procedures gevolgd te worden.<sup>1,2</sup>

Na het verstrijken van de incubatietijd worden de voedingsbodems onderzocht en wordt de zonediameter van de remming rondom de tabletten gemeten en vervolgens vergeleken met de zone interpretatietabellen voor de individuele antibiotica, om zo vast te kunnen stellen welke stof(fen) het meest geschikt lijkt(en) voor anti-microbiële therapie.

Neo-Sensitabs voldoen aan de normen volgens de MIC-criteria zoals deze aanbevolen worden door het CLSI (NCCLS).<sup>3,4</sup> en EUCAST. Voorts worden de Neo-Sensitabs aangepast aan de MIC-criteria zoals die aanbevolen worden door "Susceptibility Testing Standardization Groups" van (Frankrijk en het Verenigd Koninkrijk). De interpretatiecriteria voor de zonediameters die door de verschillende landen worden gehanteerd zijn terug te vinden in de Neo-Sensitabs User's Guide ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)).<sup>1</sup>

##### Reagentia

Neo-Sensitabs zijn tabletten met een diameter van 9 mm die kristalfijne anti-microbiële stoffen bevatten die zorgvuldig vermengd zijn met een beschermend granulaat. De tabletten zijn aan beide zijden voorzien van een unieke code die bestaat uit 5 tekens. Neo-Sensitabs worden geleverd in cartridges die 50 tabletten bevatten. De cartridges zijn te gebruiken in combinatie met de Neo-Sensitabs dispenser. Met de dispensers worden 7, 9, 12 of 16 Neo-Sensitabs tegelijk gedispenseerd en omdat de tabletten zich vanzelf hechten op het gebruikte medium, bestaat er geen noodzaak om de tabletten in de voedingsbodem te drukken.

##### Bewaarvoorschriften

1) Controleer bij ontvangst welk temperatuursymbool er op de omverpakking aangegeven staat. Neo-Sensitabs die gemerkt zijn met een temperatuursymbool van 2 °C tot 8 °C dienen in de koelkast bewaard te

worden, terwijl Neo-Sensitabs waarvoor volgens het temperatuursymbool op de omverpakking een bovenwaarde van 25 °C geldt, bij kamertemperatuur bewaard dienen te worden.

2) Indien de Neo-Sensitabs in de koelkast bewaard worden, dient de cartridge voor het openen gedurende 30 – 60 minuten op kamertemperatuur gebracht te worden, om condensatie van water op de tabletten te voorkomen.

3) Neo-Sensitabs die voorzien zijn van het temperatuursymbool 2 °C tot 8 °C kunnen gedurende maximaal 2 maanden bij kamertemperatuur bewaard worden, zonder dat ze aan essentiële werkzaamheid verliezen.

4) Geopende cartridges die in een dispenser geplaatst worden, moeten binnen 2 maanden gebruikt worden in het geval van Neo-Sensitabs die voorzien zijn van het temperatuursymbool 2 °C tot 8 °C, en binnen 12 maanden indien het Neo-Sensitabs betreft die voorzien zijn van een temperatuuraanduiding van minder dan 25 °C.

De vervaldatum die op de cartridges vermeld staat is alleen van toepassing voor cartridges waarvan het deksel gesloten is en die bij de voorgeschreven temperatuur bewaard worden.

### **Voorzorgsmaatregelen**

Houd u aan de gebruiksvorschriften. De prestatie van de Neo-Sensitabs is niet alleen afhankelijk van het potentieel van de tabletten zelf, maar ook van het gebruik van het geschikte inoculum en de agar voedingsbodems, de incubatietemperatuur, de juiste interpretatie van de zonediameter, de juiste bewaarmethode van de Neo-Sensitabs, alsmede van het gebruik van controlekweken.<sup>5</sup>

### **Monsters**

Het monster dient volledig kenmerkend te zijn voor de infectieplaats, d.w.z. dat alles in het werk gesteld dient te worden om een representatief monster te verkrijgen van de betreffende pathogene bacterie. Zie hiertoe de aanwijzingen waarin de voorbereiding van het inoculum behandeld wordt.

### **PROCEDURE**

**Geleverd materiaal:** Neo-Sensitabs volgens aanduiding op etiket.

**Vereiste, niet meegeleverde materialen:** voedingsbodems, reagentia, stammen voor kwaliteitscontrole en laboratoriumuitrusting voor de uitvoering van een gevoeligheidsbepaling met behulp van de agar diffusiemethode via een gestandaardiseerde procedure. Bereid een McFarland 0,5 troebelheidsstandaard door onder constant roeren 0,5 ml 0,048 M BaCl<sub>2</sub> (1.175 % g/v BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) toe te voegen aan 99.5 ml 0,18 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1% (vol/vol)). Het is eveneens mogelijk om hiervoor een gebruiksklaar standaardproduct in te kopen. Voer een controle uit met behulp van een spectrofotometer in een cuvette met een weglengte van 1 cm; de lichtabsorptie bij 625 nm dient tussen de 0,08-0,10 te bedragen.<sup>3,4</sup>

## **I. Gebruiksvorschriften/Bacteriën**

### **I.1. Inoculum standaardisatie volgens CLSI (NCCLS)<sup>3</sup> en EUCAST**

#### ***Rechtstreekse kolonie suspensiemethode:***

Door verschillende morfologisch overeenkomstige koloniën van een 18-24 uren agar voedingsbodem (niet-selectief) te suspenderen in 4-5 ml 0,9 % NaCl-oplossing, kan er een troebelheid verkregen worden die overeenkomt met de BaSO<sub>4</sub> standaard (0,5 McFarland). De methode komt overeen met de standaard CLSI (NCCLS) methode en neemt minder tijd in beslag. Deze methode wordt aanbevolen voor het uitvoeren van tests met commensale organismen als *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, pneumokokken/streptokokken en voor de bepaling van potentiële resistentie van stafylokokken tegen meticilline of oxacilline.<sup>3</sup>

### **I.2. Enten**

a) Binnen 15 minuten doopt u vervolgens een steriel wattenstaafje in de bijgestelde suspensie en maakt u inoculum van het wattenstaafje (swab) vrij door krachtige druk uit te oefenen tegen de binnenzijde van de reageerbuis.

- b) De wattenstaafjes dienen binnen 15 minuten gebruikt te worden om er de voedingsbodems mee te beënten.
- c) Ent het gedroogde oppervlak van de daarvoor bestemde agar voedingsbodem door het gehele oppervlak van de voedingsbodem ermee te bestrijken. Laat het oppervlak van de voedingsbodem vervolgens 3 à 5 minuten en maximaal 15 minuten aandrogen alvorens de Neo-Sensitabs op de voedingsbodems aan te brengen.
- d) Kies de geschikte tabletten bijv. op grond van de aanbevelingen van het CLSI (NCCLS).<sup>6</sup> Gebruik niet meer dan negen Neo-Sensitabs voor voedingsbodems met een diameter van 150 mm en niet meer dan vier Neo-Sensitabs voor voedingsbodems van 100 mm bij de gevoeligheidsbepaling van *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* en *Streptococcus* spp.

### I.3. Incubatie en aflezen van voedingsbodems/platen

- a) Plaats de voedingsbodem met de van agar voorziene zijde naar boven toe binnen 15 minuten in een incubator van 35 °C. *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* en overige streptokokken dienen geïncubeerd te worden in een atmosfeer met toediening van 5 % CO<sub>2</sub>.
- b) Bekijk de voedingsbodems na een incubatietijd van 16-18 uur (voor *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* en overige streptokokken geldt een incubatieperiode van 20 – 24 uur). Een volledige incubatietijd van 24 uur wordt aanbevolen voor de detectie van de Meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) en voor de *Enterococcus* spp. bij de bepaling van resistentie voor vancomycine. Houd de voedingsbodem in het invallende licht en controleer de oxacilline- en vancomycinezones respectievelijk op geringe ontwikkelingen (minuscule kolonies) van meticilline of vancomycine-resistente kolonies die zich binnen de duidelijk herkenbare remzones kunnen vormen. Elke waarneembare groei binnen de remzone duidt op een resistentie voor meticilline of vancomycine. De begrenzingen van de remzones worden gevormd door een groot aantal kleine kolonies bij toepassing van Trimethoprim, sulfonamiden en Trimethoprim + Sulfamethoxazol tabletten. In een dergelijk geval worden de remzones voor wat betreft omvang vergeleken met kolonies van normale afmeting (zonder aandacht te schenken aan geringe groei, waarbij de goed zichtbare omtrekken gemeten worden). Voor nadere gegevens verwijzen we naar de User's Guide Neo-Sensitabs ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)).<sup>1</sup>
- c) De diameters van de zones waarin gehele remming optreedt worden gemeten volgens het protocol dat geldt ten aanzien van globale visuele beoordeling. De zones worden gemeten en afgerond op hele millimeters.

## II. Gebruiksvoorschriften/Gisten

### II.1. Voorbereiding van inoculum

Met het inoculum dient slechts een confluerende groei teweeggebracht te worden. Voor de meeste stammen dient het inoculum ca. 5x10<sup>5</sup>CFU/ ml te bevatten (McFarland 0,5 verdund 1+1 met zoutoplossing). Voor de *Candida krusei* dient een inoculum gebruikt te worden dat overeenkomt met McFarland 0,5 in een mengverhouding van 1:10 en voor *Cryptococcus* spp. dient een inoculum toegepast te worden dat overeenkomt met McFarland 1,0 onverdund.

### II.2. Enten

- a) De voedingsbodems worden gedurende 20 à 25 minuten bij 35 °C gedroogd alvorens deze te enten.
- b) 0,5 ml (9 cm voedingsbodem) of 1,0 ml (14 cm voedingsbodem) van het bereide inoculum wordt over de agar gegoten (vloeimethode) en teveel aangebrachte vloeistof wordt onmiddellijk met een pipet verwijderd.
- c) De onafgedekte voedingsbodem wordt gedurende 10 minuten bij 35 °C gedroogd, waarna de tabletten op het agar-oppervlak worden aangebracht.

### II.3. Incubatie en aflezen van voedingsbodems

Voor de meeste stammen die geïsoleerd zijn uit systemische infecties geldt een incubatie bij 35 °C tot de volgende dag als geschikt. Het onderzoek en het aflezen van de voedingsbodem dient na 18-24 uur te gebeuren. Indien er bij bepaalde stammen nog geen groei waar te nemen is, kunnen de voedingsbodems nog

eens maximaal 24 uur in de incubator geplaatst worden. Voor de stam *Cryptococcus* spp. geldt een incubatieperiode van 42 - 48 uur bij 30 °C.

#### II.4. Meten van de remzones

Bij de polyenen (Amphotericine B en Nystatine) wordt de vrije zone gemeten waarbinnen geen zichtbare groei optreedt. Hier dienen de anti-schimmelkolonies binnen de zone beschouwd te worden als resistente mutanten.. Bij de Azolen, de Imidazolen en bij Terbinafine dienen de zones voor wat betreft omvang vergeleken te worden met kolonies van normale afmetingen. Vaak wordt er een groeizone aangetroffen die bestaat uit deels geremde kolonies die kleiner zijn naarmate ze zich dichterbij de tablet bevinden en groter wanneer ze meer aan de buitenkant van de zone liggen. Deze kleine en middelgrote kolonies zijn geen resistente mutanten. De Neo-Sensitabs van het type Imidazolen/azolen bevatten doxycycline om zo de afleesbaarheid van hun zones te verbeteren. Voor Fluorocytosine dient de zone gemeten te worden tot aan de kolonies van normale omvang. Individuele kolonies binnen de zone zijn gewoonlijk *resistente* mutanten (isoleer deze en voer de test opnieuw uit).

#### INTERNE KWALITEITSCONTROLE

De kwaliteitscontroleprocedure d.m.v. ATCC stammen dient tenminste eenmaal per week uitgevoerd te worden en telkens wanneer er een nieuwe charge agar wordt aangebroken. De gemeten diameter dient te liggen binnen de gecontroleerde zonediametergrenzen die gelden ten aanzien van de specifieke combinatie van Neo-Sensitabs en controlestammen. De grenzen van de controlestammen zijn vermeld in de tabellen en vormen een indicatie voor de juiste uitvoering van de gehele procedure.<sup>1,3</sup>

#### RESULTATEN

Vergelijk de bepaalde zonediameter met die in de tabellen. De resultaten voor een specifiek organisme kunnen omschreven worden als Gevoelig (S), Intermediair (I) of Resistent (R)<sup>3</sup>:

**Gevoelig (S):** De infectie van de onderzochte stam kan geacht worden te reageren op een normale dosering van de anti-microbiële stof die de tablet bevat.

**Indien er uitsluitend "S" criteria gespecificeerd worden:** Bij bepaalde combinaties van organismen/anti-microbiële stoffen, kan de afwezigheid van resistente stammen uitsluiten dat er andere categorieën dan alleen de gevoelige gedefinieerd dienen te worden. Bij stammen die resultaten opleveren die duiden op "niet-gevoelig", dienen de organismen geïdentificeerd en de resultaten van de anti-microbiële gevoeligheidsbepaling bevestigd te worden. Vervolgens dienen de geïsoleerde stammen voor verder onderzoek naar een Referentielab verstuurd te worden.

**Intermediair (I):** De categorie van tussenliggende resultaten impliceert de klinische toepasbaarheid in delen van het lichaam waar de geneesmiddelen in een hoge concentratie aanwezig zijn (zoals in de urine) of wanneer er een hoge dosering van een anti-microbieel middel toegepast kan worden (zoals  $\beta$ -lactamase). De tussenliggende categorie kent verder ook een zogeheten "bufferzone", die de functie heeft te voorkomen dat er kleine, ongecontroleerde technische factoren aanleiding kunnen geven tot discrepanties van de interpretaties; d.w.z. dat indien een zone in het tussenliggende gebied valt, de resultaten als twijfelachtig beschouwd kunnen worden en als er geen alternatieve geneesmiddelen voorhanden zijn, het raadzaam geacht wordt om tot een MIC-bepaling over te gaan.

**Resistent (R):** Het anti-microbiële middel kan in een dergelijk geval niet als aanbevelenswaardige behandeling beschouwd worden.

#### **Screening en controleonderzoeken voor Extended-Spectrum $\beta$ -lactamase (ESBL)**

Overdraagbare plasmide-gemedieerde  $\beta$ -lactamase die weerstand opbouwen tegen derde-generatie cefalosporinen en monobactams (waaronder aztreonam) zijn aangetroffen bij stammen van de *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* en overige Enterobacteriaceae. Deze enzymen worden geclassificeerd als extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) en deze worden in verband gebracht met de klinische resistentie voor monobactams en breed-spectrum cefalosporinen. Bij enkele van deze stammen zullen remzones aangetroffen worden die kleiner zijn dan die van normaal gevoelige stammen, terwijl ze de standaardwaarden overschrijden in het geval van bepaalde breed-spectrum cefalosporinen of aztreonam. Deze stammen zijn te screenen door gebruik te maken van geschikte ESBL screeningwaarden. De meeste

ESBL worden geremd door clavulaanzuur, tazobactam of sulbactam en zijn eenvoudig te traceren middels een tweelaags (tablet) synergie-test.<sup>6</sup> Ceftazidime + Clavulanaat en Cefepime + Clavulanaat lenen zich bij uitstek voor de uitvoering van controle-onderzoeken van ESBL. Nadere gegevens worden vermeld in de Neo-Sensitabs User's Guide ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)).<sup>1</sup> Alle ESBL-stammen dienen gerapporteerd te worden als zijnde resistent voor alle penicillines, cefalosporinen en aztreonam.

#### **Meticilline-resistente stafylokokken**

De screening op MRSA en meticilline (oxacilline) resistentie van coagulase-negatieve stafylokokken dient plaats te vinden m.b.v. Oxacilline 1 µg en Cefoxitine. Resistentie geeft aan dat alle β-lactamase als resistent aangemerkt dienen te worden. Nadere gegevens zijn te vinden in de Neo-Sensitabs User's Guide ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)).<sup>1</sup>

#### **Staphylococcus aureus met verminderde gevoeligheid voor vancomycin (hVISA, VISA(GISA) and VRSA)**

Vancomycin-resistente *Staphylococcus aureus* (VRSA) moet gedetecteerd worden door vancomycin 5 mcg te gebruiken maar de mogelijkheid om VRSA te detecteren is onbekend (m.a.w. niet geëvalueerd sinds een aantal klinische VRSA isolaten zijn gedetecteerd wereldwijd). Stammen met verminderde gevoeligheid voor vancomycin (hVISA en VISA(GISA)) kunnen niet gedetecteerd worden met de huidige diffusie methode. Meer informatie kan verkregen worden in de "Neo-Sensitabs User's Guide" ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)).<sup>1</sup>

#### **Vancomycine-resistente enterokokken (VRE)**

Voor de detectie van VRE middels de diffusiemethode gelden de onderstaande voorschriften:

- 1) Gebruik van Vancomycine 5 µg Neo-Sensitabs;
- 2) Incubatie gedurende de volledige 24 uur;
- 3) Zorgvuldig onderzoek van de remzone.

Gevoelige stammen vertonen een scherpe omlijning, terwijl resistente stammen gekenmerkt worden door een diffuse omlijning. Nadere gegevens zijn te vinden in de Neo-Sensitabs User's Guide ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)).<sup>1</sup>

#### **Hoge aminoglycoside-resistentie (HLR)**

Een hoge resistentie voor aminoglycosiden duidt erop dat een enterokokken isolaat niet synergetisch zal worden beïnvloed door een combinatie van een penicilline of door glycopeptide plus een aminoglycoside. De screening op een hoge resistentie voor gentamicine en streptomycine dient uitgevoerd te worden op enterokokken isolaten afkomstig uit bloed of CSF. Hooggedoseerde Neo-Sensitabs zoals Gentamicine 250 µg, Kanamycine 500 µg en Streptomycine 500 µg worden toegepast voor de screening op dit type van resistentie.

#### **BEPERKINGEN VAN DE DIFFUSIEMETHODEN**

Het doel van het gebruik van Neo-Sensitabs bestaat erin een snelle en betrouwbare anti-microbiële gevoeligheidstest uit te kunnen voeren. Acceptabele resultaten die verkregen worden middels kwalitatief hoogwaardige controlestammen kunnen geen betrouwbare resultaten garanderen met elk soort patiëntmonster. Indien er a-typische of inconsistente resultaten gemeten worden, dient het onderzoek en/of de identificatieprocedure hernieuwd uitgevoerd te worden om er zeker van te zijn dat de resultaten betrouwbaar zijn. Onverwachte resultaten dienen aangetekend te worden en de geïsoleerde stalen zouden naar een referentielab gestuurd kunnen worden voor verder onderzoek.

**Gevaarlijk misleidende resultaten** kunnen geregistreerd worden wanneer er bepaalde anti-microbiële stoffen getest worden op specifieke micro-organismen.<sup>3,6</sup> De resistentiemechanismen van bepaalde soorten zijn moeilijker te herkennen dan bij andere en ofschoon de resultaten ervan in vitro actief lijken, blijken de anti-microbiële stoffen in de klinische praktijk niet doeltreffend te zijn. Het gaat hierbij onder meer om de volgende combinaties:

- Alle β-lactam antibiotica (met uitzondering van oxacilline, meticilline) voor het onderzoek van meticilline-resistente stafylokokken
- Cefalosporinen, aminoglycosiden (met uitzondering van de bepaling van hoge resistentie), clindamycine en trimethoprim + sulfamethoxazol voor het onderzoek van enterokokken
- Eerste- en tweede-generatie cefalosporinen en aminoglycosiden voor het onderzoek van *Salmonella* spp.

en *Shigella* spp.

- Cefalosporinen voor het onderzoek van *Listeria* spp.
- Glycopeptiden tegen *S. aureus* met verminderde gevoeligheid voor vancomycin.
- Cefalosporines en aztreonam tegen ESBL-producerende *E. coli*, *K. pneumoniae* en *P. mirabilis*

Routinematige rapportage van resultaten met stammen die geïsoleerd zijn uit CSF kunnen gevaarlijk misleidend zijn voor de patiëntbehandeling in onderstaande gevallen:

- Stoffen die uitsluitend oraal toegediend worden
- Eerste- en tweede-generatie cefalosporinen (met uitzondering van Cefuroxim natrium)
- Clindamycine
- Macroliden
- Tetracyclinen
- Fluoroquinolonen

Bepaalde anti-microbiële middelen worden in verband gebracht met het optreden van resistentie bij een langere behandelduur. Als gevolg hiervan kunnen geïsoleerde stammen die er aanvankelijk gevoelig voor bleken binnen enkele dagen na de start van de behandeling al resistent zijn. Het meest komt dit voor bij:

- *Enterobacter*, *Citrobacter* en *Serratia* spp. Bij een behandeling met derde-generatie cefalosporinen
- *Pseudomonas aeruginosa* bij behandeling met de meeste anti-microbiële middelen
- Stafylokokken bij behandeling met quinolonen

In wezen beschikken alle stammen van de *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Providencia* spp., *Proteus* spp. (*P. mirabilis* uitgezonderd), *Serratia marcescens* en *P. aeruginosa* over de genen die vereist zijn voor Groep I  $\beta$ -lactamase productie. Om die reden verschaft het bewijs van de in-vitro inductie van het enzym ons geen nuttige informatie. Onderzoekslaboratoria dienen zich te concentreren op de uitvoering van herhaalde onderzoeken (elke 3-4 dagen) van geïsoleerde stammen die herhaaldelijk geogst dienen te worden bij geïnfecteerde patiënten die een behandeling ondergaan om zo tot een selectie van klonen te kunnen komen die essentieel is voor de productie van Groep I  $\beta$ -lactamase.

#### **REFERENTIES:**

- 1) Neo-Sensitabs User's Guide. 2013. [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk).
- 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. 23<sup>rd</sup> Informational Suppl.. CLSI, Wayne, Pa., USA.