

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**I WPROWADZENIE**

Bulion Mueller Hinton II Broth posiada określone stężenie kationów w odniesieniu do jonów wapnia i magnezu. Jest stosowany do ilościowej oceny wrażliwości gram-dodatnich i gram-ujemnych bakterii aerobowych na różnorodne środki zwalczające drobnoustroje.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

1. Inokulować reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - a. Inokulować próbówki za pomocą sterylnych pipet przy użyciu rozcieńczenia zawierającego około 1000 CFU/0,1 mL. Dokładnie wymieszać.
 - b. Inkubować próbówki z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w warunkach tlenowych. Uwzględnić próbówkę nieinokulowaną jako kontrolę wzrostu.
2. Zbadać próbówki po upływie 18 – 24 h pod względem wzrostu.
3. Oczekiwane wyniki

Mikroorganizmy	ATCC	Odzysk
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Wzrost
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Wzrost
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Wzrost
* <i>Staphylococcus aureus</i>	29213	Wzrost

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Ocenić próbówki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo ocenić reprezentatywne próbówki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne istniejące wady fizyczne.
3. Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $7,3 \pm 0,1$.
4. Inkubować reprezentatywne próbówki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze $20 - 25^\circ\text{C}$ i $30 - 35^\circ\text{C}$ i ocenić po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE**IV PRZEZNACZENIE**

Bulion Mueller Hinton II Broth jest przeznaczony do użycia w ilościowych procedurach badania wrażliwości szybko rosnących bakterii tlenowych i fakultatywnie beztlenowych izolowanych z próbek klinicznych. Ma niską zawartość tyminy i tymidyny oraz jest dostosowany do stężeń jonów wapnia i magnezu zalecanych w normie CLSI M7-A7.¹

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Rozwój oznaczeń laboratoryjnych do określania aktywności środków zwalczających drobnoustroje przebiega równolegle do rozwoju tych środków. W 1929 roku Fleming użył techniki seryjnego rozcieńczania do zmierzenia najniższego stężenia penicyliny zapobiegającego rozwojowi drobnoustrojów w bulionie.² Ericsson i Sherris opublikowali znakomity przegląd różnych metod badania wrażliwości i związków między metodami rozcieńczania i dyfuzji.³

Rammelkamp i Maxon byli jednymi z pierwszych stosujących badanie rozcieńczenia w próbówce w celu określenia metodą *in vitro* wrażliwości bakterii izolowanych z próbek klinicznych.⁴ Rozwój tego badania wynikał z potrzeby dowiedzenia się, dlaczego niektórzy pacjenci zakażeni bakterią *Staphylococcus aureus* nie reagują na leczenie penicyliną.

Technika rozcieńczania w próbówce (rozcieńczanie bulionu) polega na wystawianiu bakterii w podłożu płynnym na działanie zmniejszających się stężeń środków zwalczających drobnoustroje, uzyskiwanych metodą seryjnych dwukrotnych rozcieńczeń.

Mieszanina składająca się z drobnoustrojów, środka odżywczego i środka zwalczającego drobnoustroje jest inkubowana w temperaturze 35°C przez 16 – 20 h. Najniższe stężenie środka zwalczającego drobnoustroje, przy którym nie pojawia się widoczny wzrost, określa się jako minimalne stężenie hamujące (MIC).

Bulion Mueller Hinton Broth jest podłożem zwykle używanym do badań wrażliwości bakterii na rozcieńczenia środków zwalczających drobnoustroje. Podłoże jest uzupełnione solami wapnia i magnezu w celu wytworzenia poprawnych minimalnych stężeń hamujących na aminoglikozydy i bakterie *Pseudomonas aeruginosa*.¹

Termin „mikrorozcieńczenie” pojawił się w literaturze w 1970 roku w celu opisu badań minimalnego stężenia hamującego wykonywanych przy użyciu objętości roztworu środka zwalczającego drobnoustroje 0,1 mL lub mniejszych.⁵ Związki między wartościami MIC uzyskanymi metodami mikrorozcieńczeń i rozcieńczeń w próbówce opisano jako wynoszące pomiędzy 85 i 96%.^{6,7}

Procedura jakościowego badania wrażliwości na środki zwalczające drobnoustroje metodą dyfuzji na krążkach została wystandaryzowana w 1966 roku.⁸ Powodem badania wrażliwości metodą określania najmniejszego stężenia hamującego, a nie dyfuzji na krążkach jest to, że można w ten sposób uzyskać informacje ilościowe. Dostarcza ona także informacji na temat związku między ilością środka zwalczającego drobnoustroje wymaganą do zahamowania wzrostu drobnoustroju w warunkach *in vitro* oraz możliwym do osiągnięcia stężeniem we krwi, w moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym lub żółci przy różnym dawkowaniu. Sugerowano, że w przypadku leczenia zakażeń uogólnionych dawka leku powinna osiągać szczytowe stężenie w miejscu zakażenia dwa do czterech razy większe niż wynosi wartość MIC, natomiast w przypadku zakażeń układu moczowego należy osiągnąć szczytowe stężenie leku w moczu przekraczające wartość MIC od 10 do 20 razy.⁹ Jednakże skuteczna terapia przeciwdrobnoustrojowa zależy także od wielu innych czynników.¹⁰

VI ZASADY PROCEDURY

Kwaśny hydrolizat kazeiny i wyciąg wołowy dostarczają substancji odżywczych do wzrostu badanych drobnoustrojów. Składniki te są wybierane pod kątem niskiej zawartości tyminy i tymidyny, jak określono za pomocą wartości MIC dla *Enterococcus faecalis* i trimetoprimu-sulfametoksazolu (SXT). Stężenie jonów wapnia i magnezu jest dostosowane do dostarczania ilości zalecanych w normie CLSI¹, aby uzyskać poprawne wartości MIC dla aminoglikozydów i *Pseudomonas aeruginosa*. pH dostosowano do specyfikacji w normie M7-A7.

Środki zwalczające drobnoustroje są przygotowywane w seryjnych 2-krotnych rozcieńczeniach w bulionie Mueller Hinton II Broth i zaszczipiane hodowlą testową do osiągnięcia stężenia końcowego 5×10^5 CFU/mL. Po przeprowadzeniu inkubacji w temperaturze 35 °C obecność zmętnienia wskazuje wzrost drobnoustroju. Najniższe stężenie środka zwalczającego drobnoustroje powodujące brak wzrostu stanowi wartość MIC dla drobnoustroju w odniesieniu do danego środka.

VII ODCZYNNIKI

Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted)

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Wyciąg wołowy.....	3,0 g
Kwaśny hydrolizat kazeiny	17,5 g
Skrobia.....	1,5 g

*Skorygowany i/lub uzupełniony odpowiednimi solami do osiągnięcia 20 – 25 mg/L wapnia i 10 – 12,5 mg/L magnezu oraz zgodnie z dodatkowymi wymaganiami w celu spełnienia kryteriów działania.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

Wykonywanie wszystkich procedur wymaga przestrzegania aseptycznych technik i środków ostrożności związanych z zagrożeniem mikrobiologicznym. Gotowe probówki, pojemniki zawierające próbki oraz inne skażone materiały po użyciu i przed usunięciem należy wysterylizować w autoklawie.

Przechowywanie: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 25 °C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. W podłożach przechowywanych do momentu użycia w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znaleźć można w odpowiednim piśmiennictwie.^{11,12} Probki należy pobierać przed podaniem czynnika przeciw drobnoustrojom. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted)

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Mueller Hinton II Broth Cation-Adjusted (bulion Mueller Hinton II z określonym stężeniem kationów) może być używany do testów MIC i do przygotowania roztworów środków zwalczających drobnoustroje do procedury mikro- lub makro-rozcieńczeń. Szczegóły przygotowania środków zwalczających drobnoustroje zawiera 1 pozycja piśmiennictwa.

1. Standaryzacja inokulum

a. Używając techniki aseptycznej, zebrać trzy do pięciu izolowanych hodowli tego samego drobnoustroju z inkubowanej przez 18 do 24 h płytki z agarem sojowym **Trypticase** z 5% krwi owczej (TSA II) i inokulować w 5 mL bulionu Mueller Hinton II Broth.

b. Inkubować 2 – 6 h w temperaturze 35 °C. Okresowo sprawdzać zmętnienie w porównaniu ze standardem zmętnienia McFarland (0,5 mL 0,048 M BaCl₂ [1,175% w/obj. BaCl₂•2H₂O] do 99,5 mL 0,18 M [0,36N] H₂SO₄ [1% obj./obj.]).

1) Jeśli są porównywalne, przejść do punktu 3, Inokulacja roztworów środka zwalczającego drobnoustroje.

- 2) Jeśli mętność jest za duża, rozcieńczyć w warunkach aseptycznych dodatkowym bulionem Mueller Hinton II Broth i powtórzyć kontrolę zmętnienia. Jeśli zmętnienie jest porównywalne ze standardem, przejść do punktu 3, Inokulacja roztworów środka zwalczającego drobnoustroje.
 - 3) Jeśli zmętnienie jest niewystarczające, kontynuować inkubację. Kiedy zmętnienie jest porównywalne ze standardem, przejść do punktu 3, Inokulacja roztworów środka zwalczającego drobnoustroje.
 - 4) Zawiesiny drobnoustrojów testowych muszą zostać użyte w ciągu 15 minut od standaryzacji.
2. Alternatywna bezpośrednia standaryzacja inokulum
- Można także użyć hodowli w fazie stabilnej. W tej metodzie należy pominąć punkt 1b i po prostu zawiesić wystarczającą ilość hodowli w bulionie do osiągnięcia zmętnienia o wartości 0,5 standardu McFarlanda.
3. Inokulacja roztworów środka zwalczającego drobnoustroje
- a. Ilość inokulum zależy od używanej procedury.¹ Wystandardyzowane inokulum przygotowane zgodnie z opisem powyżej będzie zawierać $1 - 2 \times 10^8$ CFU/mL. Ostateczne stężenie w studzience (lub próbówce) powinno wynosić 5×10^5 CFU/mL (nie CFU/próbówkę lub studzienkę).
 - b. Metoda makrorozcieńczania (próbówka)

Jeśli objętość roztworu środka zwalczającego drobnoustroje w próbówce wynosi 1 mL, rozcieńczyć wystandardyzowane inokulum w stosunku 1:100 w bulionie Mueller Hinton II Broth (0,1 mL do 10-mL próbówki bulionu). Dodać 1,0 mL dostosowanego inokulum do każdej próbówki zawierającej środek zwalczający drobnoustroje i 2,0 mL do sterylnej pustej próbówki w celu kontroli wzrostu.
 - c. Metoda mikrorozcieńczeń

W tej metodzie roztwory środka zwalczającego drobnoustroje są przygotowane na sterylnych plastikowych tacach z okrągłymi lub stożkowymi studzienkami. Objętość wynosi 0,05 lub 0,1 mL w każdej studzience. Jeśli objętość studzienki wynosi 0,1 mL, rozcieńczyć inokulum w stosunku 1:10 i dodać 0,005 mL inokulum na studzienkę, używając replikatora. Jedna studzienka na każdej tacy powinna zawierać 0,1 mL bulionu bez środka zwalczającego drobnoustroje (studzienka kontroli wzrostu).

Jeśli do inokulum jest używany zakraplacz (0,05 mL) i objętość roztworu środka zwalczającego drobnoustroje wynosi 0,05 mL, daje to rozcieńczenie 1:2. Dlatego należy rozcieńczyć inokulum w stosunku 1:100 i dodać 0,05 mL do każdej studzienki, aby uzyskać stężenie 5×10^5 CFU/mL (5×10^4 CFU/studzienkę). Dodać 0,05 mL inokulum do studzienki zawierającej 0,05 mL bulionu bez środka zwalczającego drobnoustroje (studzienka kontroli wzrostu). Po zakończonej inokulacji tac należy przykryć je taśmą lub szczelną pokrywą, aby zapobiec parowaniu.
4. Inkubacja
- Inkubować próbówki lub tace (nie więcej niż cztery w stosie) w temperaturze 35 °C przez 16 – 20 h (nie używać inkubatora CO₂).
- Hodowle kontrolne należy uwzględniać przy każdorazowym wykonywaniu testu wrażliwości lub co tydzień, jeśli można udokumentować zadowalające wyniki zgodnie z normą CLSI.¹ Prawidłowa kontrola jakości zakresów MIC znajduje się w normie M100-S16 (M7), dołączonej do dokumentu CLSI M7-A7.¹

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, krajowych lub federalnych, wymogami akredytacji i rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich wytycznych CLSI i przepisów CLIA dotyczących metod kontroli jakości.

X WYNIKI

Minimalne stężenie hamujące (MIC) środka zwalczającego drobnoustroje dla konkretnego drobnoustroju jest najniższym stężeniem, przy którym dochodzi do zahamowania wzrostu drobnoustroju. Wzrostu dowodzi zmętnienie lub osad. Badanie niektórych drobnoustrojów wobec trimetoprimu/sulfametoksazolu lub sulfonamidów nie zawsze daje ewidentne wyniki. W przypadku podwajających się rozcieńczeń trimetoprimu/sulfametoksazolu wzrost może być częściowo zahamowany. Taki wzorzec zazwyczaj wskazuje widoczne ograniczenie wzrostu, a następnie albo małe granulki (zwykle o mniejszej niż 1 mm średnicy) w pozostałych studzienkach, albo wyraźne ograniczenie wzrostu, a następnie niewielkie, lecz wykrywalne stopniowe różnicowanie rozmiaru granulek. W takich wypadkach wynik MIC należy wskazywać jako najniższe stężenie środka do zwalczania drobnoustrojów, poniżej którego nie występuje dalsze zmniejszenie rozmiaru granulek lub ilości zmętnienia.

Drobnoustrój może być wrażliwy, pośredni lub oporny na dany środek do zwalczania drobnoustrojów zależnie od wartości MIC. Standardy do interpretacji wartości MIC przy różnych lekach można znaleźć w dokumencie CLSI M100-S16 (M7)¹ lub uzyskać od producenta leku.

UWAGA: Dodatkowe tabele do dokumentu CLSI M7-A7, zawierające sprawdzone tabele środków do zwalczania drobnoustrojów i standardy interpretacyjne, są publikowane okresowo. Należy przestrzegać zaleceń podanych w najnowszych tabelach. Aby uzyskać informacje na temat aktualnych publikacji, należy się skontaktować z serwisem technicznym BD pod numerem telefonu (800) 638-8663. Pełne standardy i dodatki można zamówić w Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898. Telefon: (610) 688-0100.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. Szczegółowe informacje i opisy zalecanych procedur można znaleźć w stosownej literaturze.¹¹⁻¹³

Nie określono działania tego podłoża dla wszystkich drobnoustrojów, które można wyizolować z próbek klinicznych. Jeśli wzrost jest nieodpowiedni, np. nie można zauważyć gołym okiem zmętnienia, wartości MIC mogą być nieprawidłowe. Należy zawsze uwzględnić wzrost w próbówce kontrolnej lub studzienice zawierającej inokulowane podłoże, ale niezawierającej środka zwalczającego drobnoustroje. Jeśli wzrost nie jest widoczny, należy powtórzyć badanie lub użyć alternatywnej procedury.

W próbkach klinicznych mogą występować drobnoustroje wymagające tyminy lub tymidyny.¹⁴ Te drobnoustroje nie wykazują wzrostu w bulionie Mueller Hinton II Broth zawierającym niskie stężenia tyminy i tymidyny. Drobnoustroje o wysokich wymaganiach odżywczych, takie jak *Haemophilus*, *Neisseria* i pewne paciorkowce nie rosną na tym podłożu lub rosną słabo.

Temperatury inkubacji powyżej zalecanej temperatury 35 °C mogą powodować fałszywą wrażliwość w przypadku gronkowców metycyloopornych (MRSA).¹⁵ Te drobnoustroje należy badać z oksacyliną w bulionie zawierającym 2% NaCl, stosując metodę bezpośredniej standaryzacji inokulum i inkubować przez 24 h.¹⁶

Użycie nieprawidłowego stężenia zawiesiny bakteryjnej do inokulacji roztworów zwalczających drobnoustroje może powodować uzyskanie nieprawidłowych wartości MIC.

Szczepy *S. aureus* i koagulazo-ujemne gronkowce odporne na metycylinę należy określać jako odporne na cefemy i inne beta-laktamy, niezależnie od wyników badań *in vitro*.

Szczepy gronkowców i paciorkowców wytwarzających beta-laktamazę mogą dawać fałszywe wartości MIC dla ampicyliny lub penicyliny i należy je badać na obecność beta-laktamazy.¹⁷ Zalecaną procedurą jest użycie krążków **BBL Cefinase**.

Wrażliwość drobnoustroju *in vitro* na określony środek zwalczający drobnoustroje nie oznacza, że środek ten będzie skuteczny jako środek leczniczy *in vivo*. Aby uzyskać szczegółowe informacje na temat interpretacji wyników, należy się zapoznać z odpowiednimi pozycjami piśmiennictwa.^{9,10,17-22}

Dokładne wykrycie paciorkowców opornych na wankomycynę wymaga inkubacji przez 24 h oraz starannego badania próbek lub studzienek pod kątem śladowego wzrostu.

Wysoka oporność na aminoglikozydy wskazuje, że wyizolowany szczep paciorkowców nie jest wrażliwy na leczenie skojarzone z zastosowaniem penicyliny lub glikopeptydu plus aminoglikozydu. Do badań przesiewowych pod kątem tego typu oporności można użyć badań wysokiego stężenia gentamycyny (500 µg/mL) i streptomycyny (1000 µg/mL). Nie należy badać innych aminoglikozydów, ponieważ ich aktywność przeciw paciorkowcom nie przekracza aktywności gentamycyny lub streptomycyny.¹

Omówienie metod wykrywania rozszerzonego spektrum, laseczek Gram-ujemnych wytwarzających β-laktamazę i innych ograniczeń badania przedstawiono w dokumentach CLSI M7-A7.¹

Opisany powyżej bulion Mueller Hinton II Broth nadaje się do badań wrażliwości patogenów tlenowych wykazujących szybki wzrost, jednak nie jest odpowiednim podłożem dla bakterii o większych wymaganiach odżywczych. Jeśli badania MIC mają być przeprowadzone na bakteriach o większych wymaganiach odżywczych, podłoże, procedury kontroli jakości i kryteria interpretacji muszą zostać zmodyfikowane w celu dopasowania do każdego drobnoustroju, np. *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* i *Streptococcus pneumoniae*.¹

Zjawisko pominiętego rozcieńczenia:

W badaniach wrażliwości na rozcieńczenia bulionu niekiedy występuje pominięcie studzienki lub roztworu. Pominięte studzienki lub roztwory mogą powodować przerwanie wzorca „wzrost – brak wzrostu” w rzędzie studzienek lub serii próbek. W wyniku tego uzyskuje się wiele wyników w serii rozcieńczeń konkretnego środka przeciw drobnoustrojom. Pominięcie może powodować jedna z następujących przyczyn: zmienność genetyczna bakterii, zanieczyszczenie, pogorszenie jakości lub brak środka zwalczającego drobnoustroje lub nieprawidłowa technika inokulacji studzienek.

Zaleca się, aby wartości MIC nie zgłaszać w przypadku wykazującego pominięcia połączenia: środek zwalczający drobnoustroje – drobnoustrój. Skonsultować się z lekarzem, aby określić, czy trzeba powtórzyć badanie.

XII CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie podłoża Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted) są badane pod kątem charakterystyki wydajnościowej. Reprezentatywne próbki partii poddaje się analizie z bakteriami *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) i *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) za pomocą inokulowania próbek ilością około 1000 CFU/0,1 mL. Po 18 – 24 h inkubacji w temperaturze 35 ± 2 °C wszystkie drobnoustroje wykazują wzrost.

Ponadto reprezentatywne próbki partii są testowane na obecność zawartości wapnia i magnezu za pomocą badania absorpcji atomowej lub chromatografii jonowej.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
297701	BD BBL Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), 5 mL, opakowania po 10 probówek rozmiaru K
298268	BD BBL Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), 5 mL, pudełko po 100 probówek rozmiaru K
297310	BD BBL Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), butelka 250 mL
297963	BD BBL Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), butelka 400 mL

XIV PIŚMIENICTWO

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved standard: M7-A7. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 7th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pa.
2. Fleming, A. 1929. On the antimicrobial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Br. J. Exp. Pathol. 10:225-236.
3. Ericsson, H.M., and Sherris, J.H. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect B Suppl. 217:1-90.
4. Rammelkamp, C.H., and T. Maxon. 1942. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the action of penicillin. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 51:386-389.
5. Gavan, T.L., and M.A. Town. 1970. A microdilution method for antibiotic susceptibility testing: an evaluation. Am. J. Clin. Pathol. 53:880-885.
6. Harwick, H.J., P. Weiss, and F. Fekety, Jr. 1968. Application of microtitration techniques to bacteriostatic and bactericidal antibiotic susceptibility testing. J. Lab Clin. Med. 72:511-516.
7. Marymount, J.H., and R.M. Wentz. 1966. Serial dilution antibiotic sensitivity testing with the microtiter system. Am. J. Clin. Pathol. 45:548-561.
8. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45:493-496.
9. Petersdorf, R.G., and J.J. Plorde. 1963. The usefulness of *in vitro* sensitivity tests in antibiotic therapy. Ann. Rev. of Med. 14:41-56.
10. Thornsberry, C. 1991. Antimicrobial susceptibility testing: general considerations, p. 1059-1064. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
13. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual. of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Maskell, R., O.A. Okubadejo. R.H. Payne, and L. Pead. 1977. Human infections with thymine-requiring bacteria. J. Med. Microbiol. 11:33-34.
15. Thornsberry, C., J.Q. Carouthers, and C.N. Baker. 1973. Effect of temperature on the *in vitro* susceptibility of *Staphylococcus aureus* to penicillinase-resistant penicillins. Antimicrob. Agents Chemother. 4:263-269.
16. Thornsberry, C., and L.K. McDougal. 1983. Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci. J. Clin. Microbiol. 18:1084-1091.
17. Thornsberry, C., T.L. Gaven, and E.H. Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. Voss, S.R., and J.D. MacLowry. 1977. Antibacterial levels in various body fluids in the normal individual, p. 293-322. In D. Seligson (ed.), Sect. E, Clinical microbiology, vol 11, CRC handbook series in clinical laboratory science. CRC Press, Inc., Cleveland.
19. Datton, H.P. 1982. State of the art of antimicrobial agent susceptibility testing: A clinical microbiologist's view. ASM News 48:513-517.
20. Sahm, D.F., M.A. Neuman, C. Thornsberry, and J.E. McGowan, Jr. 1988. Cumitech 25, Current concepts and approaches to antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.E. McGowan, Jr. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
21. Jorgensen, J.H., J.D. Turnidge, and J.A. Washington. 1999. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods, p. 1526-1543. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
22. Neumann, M.A., D.F. Sahm, C. Thornsberry, and J.E. McGowan, Jr. 1991. Cumitech 6A, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing: a practical guide. Coordinating ed. J.E. McGowan, Jr. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD