

**PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD****I INTRODUCCION**

Mueller Hinton II Broth (caldo Mueller Hinton II) presenta ajuste de cationes para iones de calcio y magnesio, y se utiliza para pruebas de sensibilidad cuantitativas de bacterias aerobias gram negativas y gram positivas, con una variedad de agentes antimicrobianos.

**II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS**

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
  - a. Utilizando pipetas estériles, inocular los tubos con una dilución que contenga aproximadamente 1000 CFU/0,1 mL. Mezclar bien.
  - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a  $35 \pm 2$  °C en una atmósfera aerobia. Incluir un tubo sin inocular, como control de crecimiento.
2. Examinar los tubos después de 18–24 h para detectar el crecimiento.
3. Resultados previstos

<b>Organismos</b>	<b>ATCC</b>	<b>Recuperación</b>
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Crecimiento
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Crecimiento
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Crecimiento
* <i>Staphylococcus aureus</i>	29213	Crecimiento

\*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

**III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL**

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del Producto".
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de en busca de conformidad a la especificación de  $7,3 \pm 0,1$ .
4. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días si hay indicios de contaminación microbiana.

**INFORMACION DEL PRODUCTO****IV USO PREVISTO**

**Mueller Hinton II Broth** está diseñado para su uso en procedimientos cuantitativos para pruebas de sensibilidad de bacterias aerobias de rápido crecimiento y anaerobias facultativas aisladas de muestras clínicas. Su fórmula incluye un bajo contenido de timina y timidina y se ajusta a las concentraciones de iones de calcio y magnesio recomendadas en la norma de CLSI M7-A7<sup>1</sup>.

**V RESUMEN Y EXPLICACION**

El desarrollo de las pruebas de laboratorio para determinar la actividad de los agentes antimicrobianos se ha llevado a cabo en paralelo con el desarrollo de dichos agentes. Fleming utilizó en 1929 una técnica de dilución en serie para medir la concentración mínima de penicilina que impedía el crecimiento de un organismo de prueba en el caldo<sup>2</sup>. Ericsson y Sherris han publicado un excelente estudio de los diversos métodos para pruebas de sensibilidad y la relación entre los métodos de dilución y de difusión<sup>3</sup>.

Rammelkamp y Maxon estuvieron entre los primeros que utilizaron la prueba de dilución en tubo para determinar la sensibilidad antimicrobiana *in vitro* de las bacterias aisladas de muestras clínicas<sup>4</sup>. El desarrollo de esta prueba parte de la necesidad de saber por qué algunos pacientes infectados con *Staphylococcus aureus* no respondían al tratamiento con penicilina.

La prueba de dilución en tubo (dilución de caldo) conlleva la exposición de las bacterias a menores concentraciones de agentes antimicrobianos en medio líquido, habitualmente mediante una dilución 1:2 en serie.

La mezcla, formada por microorganismos, medio nutriente y agente antimicrobiano, se incuba a 35 °C durante 16 – 20 h. La menor concentración de agente antimicrobiano en la que no se produce crecimiento visible se define como la concentración mínima inhibitoria (CMI).

El caldo Mueller Hinton es el medio utilizado habitualmente para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana con dilución. Este medio se suplementa con sales de calcio y magnesio para producir las CMI correctas con aminoglucósidos y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>1</sup>.

El término “microdilución” apareció en publicaciones de 1970 para describir las pruebas de concentración mínima inhibitoria con volúmenes de hasta 0,1 mL de solución de agente antimicrobiano<sup>5</sup>. Se han descrito correlaciones entre el 85 y el 96% entre los valores de CMI mediante metodologías de microdilución y de dilución en tubo<sup>6,7</sup>.

El procedimiento de sensibilidad antimicrobiana cualitativa con difusión en disco se ha estandarizado desde 1966<sup>8</sup>. El fundamento de la preferencia de la prueba de sensibilidad de CMI antes que la prueba de difusión en disco es que la primera proporciona información cuantitativa. Proporciona una correlación entre la cantidad de agente antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento de un organismo *in vitro* y las concentraciones alcanzables en sangre, orina, líquido cefalorraquídeo o bilis, mediante diferentes dosis. Se ha sugerido que, en el tratamiento de infecciones sistémicas, la dosis del fármaco debe alcanzar una concentración máxima en el lugar de la infección, en una proporción de 2 a 4 veces superior al valor de CMI, mientras que para las infecciones de las vías urinarias, se debe alcanzar una concentración máxima en orina de 10 a 20 veces el valor de CMI<sup>9</sup>. No obstante, la terapia antimicrobiana eficaz también depende de muchos otros factores<sup>10</sup>.

## VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El hidrolizado ácido de caseína y extracto de carne bovina proporcionan nutrientes para el crecimiento de organismos de prueba. Dichos componentes se seleccionan por su bajo contenido de timina y timidina según lo determinan los valores de CMI con *Enterococcus faecalis* y sulfametoxazol-trimetoprima (SXT). Las concentraciones de iones de calcio y magnesio se ajustan para proporcionar las cantidades recomendadas por CLSI<sup>1</sup> y así producir los valores de CMI correctos con aminoglucósidos y *Pseudomonas aeruginosa*. El pH se ha ajustado según las especificaciones presentadas en el documento M7-A7.

Los agentes antimicrobianos se preparan en diluciones de 1:2 en serie en Mueller Hinton II Broth y se inoculan con el cultivo de prueba para lograr una concentración final de  $5 \times 10^5$  UFC/mL. Después de la incubación a 35 °C, la presencia de turbidez indica el crecimiento de los organismos. La concentración más baja del agente antimicrobiano que no muestra crecimiento es el CMI de ese organismo para dicho agente.

## VII REACTIVOS

### Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted)

Fórmula aproximada\* por litro de agua purificada

Extracto de carne bovina .....	3,0	g
Hidrolizado ácido de caseína .....	17,5	g
Almidón .....	1,5	g

\*Ajustada y/o suplementada con sales adecuadas para proporcionar 20 – 25 mg/L de calcio y 10 – 12,5 mg/L de magnesio, así como conforme a criterios de rendimiento.

**Advertencias y precauciones:** Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso.

Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

**Instrucciones para el almacenamiento:** Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Reducir al mínimo la exposición a la luz.

**Deterioro del producto:** No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

## VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes<sup>11,12</sup>. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

## IX PROCEDIMIENTO

**Material suministrado:** Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted)

**Materiales necesarios pero no suministrados:** Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

**Procedimiento de análisis:** Emplear técnicas asépticas.

Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted) puede utilizarse para la preparación de inóculos para pruebas de CMI y para preparación de diluciones antimicrobianas para procedimientos de microdilución o macrodilución. Los detalles para la preparación de agentes antimicrobianos se proporcionan en la referencia 1.

1. Normalización de inóculo
  - a. Empleando técnicas asépticas, seleccionar 3 – 5 colonias aisladas del mismo organismo de una placa de agar de soja **Trypticase** con sangre de carnero al 5% (TSA II) de 18 – 24 h e inocular en 5 mL de Mueller Hinton II Broth.
  - b. Incubar de 2 a 6 h a 35 °C. Comprobar periódicamente la turbidez en comparación con el patrón de turbidez de McFarland (0,5 mL de 0,048 M BaCl<sub>2</sub> [1,175% p/v BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O] a 99,5 mL de 0,18 M [0,36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1% v/v]).
    - 1) Si son comparables, continuar en el paso 3, Inoculación de diluciones de agentes antimicrobianos.
    - 2) En caso de turbidez excesiva, diluir asépticamente con más Mueller Hinton II Broth y repetir la comprobación de turbidez. Si la turbidez es comparable con la del patrón, continuar en el paso 3, Inoculación de diluciones de agentes antimicrobianos.
    - 3) En caso de turbidez insuficiente, continuar la incubación. Cuando la turbidez sea comparable con la del patrón, continuar en el paso 3, Inoculación de diluciones de agentes antimicrobianos.
    - 4) Las suspensiones de organismos de prueba deben utilizarse dentro de los 15 min de normalización.
2. Estandarización directa de inóculo alternativa.

También puede utilizarse un cultivo de fase estacionaria. En este método, omitir el paso 1b y sencillamente suspender suficientes colonias en el caldo para lograr un valor equivalente al patrón de turbidez de 0,5 de McFarland.
3. Inoculación de diluciones de agentes antimicrobianos
  - a. La cantidad de inóculo depende del procedimiento utilizado<sup>1</sup>. El inóculo normalizado preparado anteriormente contiene aproximadamente 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL. La concentración final en un pocillo (o tubo) debe ser de 5 x 10<sup>5</sup> UFC/mL (no UFC/tubo o pocillo).
  - b. Método de macrodilución (tubo)

Si el volumen de solución de agente antimicrobiano en el tubo es de 1 mL, diluir el inóculo normalizado a 1:100 en Mueller Hinton II Broth (añadir 0,1 mL a un tubo con 10 mL de caldo). Añadir 1,0 mL del inóculo ajustado a cada tubo con agente antimicrobiano y 2,0 mL a un tubo vacío estéril como control de crecimiento.
  - c. Método de microdilución

En este método, las diluciones de agentes antimicrobianos se realizan en bandejas de plástico estériles con pocillos redondos o cónicos. Cada pocillo tiene un volumen de 0,05 o 0,1 mL. Si el pocillo tiene un volumen de 0,1 mL, diluir el inóculo a 1:10 y añadir 0,005 mL del inóculo por pocillo, mediante un replicador. Un pocillo de cada bandeja debe contener 0,1 mL de caldo sin agente antimicrobiano (pocillo de control de crecimiento).

Si se utiliza un dropper (0,05 mL) para el inóculo y el volumen de solución antimicrobiana es de 0,05 mL, se obtiene una dilución de 1:2. Por consiguiente, diluir el inóculo a 1:100 y añadir 0,05 mL a cada pocillo para obtener la concentración final de 5 x 10<sup>5</sup> UFC/mL (5 x 10<sup>4</sup> UFC/pocillo). Añadir 0,05 mL de inóculo a un pocillo con 0,05 mL de caldo sin agente antimicrobiano (pocillo de control de crecimiento). Después de inocular las bandejas, cubrir con cinta o tapa bien ajustada para evitar la evaporación.
4. Incubación

Incubar los tubos o bandejas (apiladas de cuatro en cuatro como máximo) a 35 °C durante 16 – 20 h (no utilizar una incubadora de CO<sub>2</sub>).

Se deben incluir los cultivos de control siempre que se realicen las pruebas de sensibilidad, o bien semanalmente, si se puede documentar un rendimiento satisfactorio conforme al criterio del CLSI<sup>1</sup>. Los intervalos correctos de CMI de control de calidad se encuentran en M100-S16 (M7), que se incluye con el documento de CLSI M7-A7<sup>1</sup>.

#### Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

## X RESULTADOS

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antimicrobiano para un organismo concreto es la concentración menor que logra inhibir el crecimiento de dicho organismo. El crecimiento se indica mediante turbidez o sedimento. Algunos microorganismos, al analizarse con trimetoprima/sulfametoxazol o sulfonamidas solamente, no siempre presentan resultados bien definidos. En el caso de duplicar diluciones de trimetoprima/sulfametoxazol, puede producirse un "arrastre" de crecimiento. Tal patrón por lo general muestra una reducción evidente en la cantidad de crecimiento y, luego partículas pequeñas de sedimento (a menudo de menos de 1 mm de diámetro) en el resto de los pocillos, o una reducción evidente en la cantidad de crecimiento y luego una leve pero detectable graduación del tamaño de las partículas de sedimento. En dichos casos, el criterio de valoración de CMI se debe identificar como la concentración mínima de agente antimicrobiano más allá de la cual no se puede reducir el tamaño del sedimento ni el nivel de turbidez.

Un organismo puede dar resultado sensible, intermedio o resistente para un agente antimicrobiano determinado, según el valor de CMI. Las normas de interpretación para los valores de CMI con diversos fármacos pueden encontrarse en el documento de CLSI M100-S16 (M7)<sup>1</sup> o se pueden obtener del laboratorio farmacéutico.

NOTA: Se publican periódicamente tablas complementarias al documento de CLSI M7-A7, con tablas de agentes antimicrobianos y normas de interpretación revisadas. Consultar en las tablas más recientes las recomendaciones vigentes. Para obtener información acerca de las publicaciones actuales, llamar al Servicio técnico de BD. La norma completa y las tablas complementarias pueden solicitarse al Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, EE.UU. Teléfono: (610) 688-0100.

## XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados<sup>11-13</sup>.

No se ha establecido la eficacia de este medio para todos los microorganismos que podrían aislarse de muestras clínicas. Si el crecimiento no es adecuado, es decir, la turbidez no puede detectarse a simple vista, los valores de CMI tal vez no sean válidos. Siempre incluir un tubo o pocillo de control de crecimiento con el medio inoculado pero sin agente antimicrobiano. Si se detecta crecimiento, repetir la prueba o utilizar un procedimiento alternativo.

Las muestras clínicas pueden contener microorganismos que requieren timina o timidina<sup>14</sup>. Dichos organismos tal vez no crezcan en Mueller Hinton II Broth, formulado con bajos niveles de timina y timidina. Los organismos exigentes tales como *Haemophilus*, *Neisseria* y determinados estreptococos tampoco crecen o crecen débilmente en este medio.

Las temperaturas de incubación superiores a la recomendada (35 °C) pueden producir resultados sensibles falsos de los estafilococos resistentes a la metilina (MRSA)<sup>15</sup>. Estos organismos deben analizarse con oxacilina en caldo con NaCl al 2%, utilizando el método de normalización directa de inóculo e incubarse durante no menos de 24 h<sup>16</sup>.

El uso de concentraciones incorrectas de suspensión bacteriana para inoculación de diluciones antimicrobianas puede generar valores de CMI incorrectos.

Las cepas de *S. aureus* y estafilococos negativos a la coagulasa y resistentes a la metilina deben informarse como resistentes a las cefemas y otros betalactámicos, independientemente del resultado de la prueba *in vitro*.

Las cepas de estafilococos y enterococos productores de betalactamasa pueden producir valores falsos de CMI para penicilina o ampicilina y deben analizarse para determinar la presencia de betalactamasa<sup>17</sup>. Un procedimiento recomendado es el uso de **BBL Cefinase** discs.

La sensibilidad *in vitro* de un organismo a un agente antimicrobiano específico no necesariamente significa que tendrá eficacia como agente terapéutico *in vivo*. Consultar las referencias correspondientes para obtener detalles acerca de la interpretación de los resultados<sup>9,10,17-22</sup>.

La detección exacta de los enterococos resistentes a la vancomicina requiere incubación durante no menos de 24 h; examinar los tubos o pocillos cuidadosamente para determinar si presentan signos de crecimiento débil<sup>1</sup>.

La resistencia de alto nivel a aminoglucósidos es una indicación de que un aislado de enterococo no se verá afectado sinérgicamente por una combinación de penicilina o glicopéptido más aminoglucósido. Para determinar este tipo de resistencia pueden utilizarse pruebas con alta concentración de gentamicina (500 µg/mL) y estreptomina (1.000 µg/mL). No es necesario analizar otros aminoglucósidos, porque sus actividades contra los enterococos no superan las de la gentamicina o de la estreptomina<sup>1</sup>.

Para leer más información acerca de la detección de bacilos gram negativos productores de betalactamasa de amplio espectro, consultar el CLSI document M7-A7<sup>1</sup>.

Mueller Hinton II Broth descrito anteriormente para los patógenos aerobios de crecimiento rápido no es adecuado para pruebas de sensibilidad de organismos exigentes. Si han de realizarse pruebas de CMI con organismos exigentes, el medio, los procedimientos de control de calidad y los criterios de interpretación deben modificarse para su adecuación a cada organismo; por ejemplo, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Streptococcus pneumoniae*<sup>1</sup>.

Fenómeno de pocillos omitidos:

En las pruebas de sensibilidad con dilución de caldo puede ocurrir que se omitan pocillos o diluciones. Esta anomalía causa una interrupción en el patrón de crecimiento/no crecimiento en una fila de pocillos serie de tubos. Como resultado, se obtienen varios criterios de valoración en una serie de diluciones de un antimicrobiano específico. La omisión puede tener cualquiera de las siguientes causas: variabilidad genética bacteriana, contaminación, deterioro o ausencia de agente antimicrobiano o técnica incorrecta de inoculación de pocillos.

Se recomienda que no se incluyan resultados de CMI para una combinación de agente antimicrobiano/organismo que muestre omisiones. Consultar al médico para determinar si se necesita repetir la prueba.

## XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted) se analizan para determinar las características de rendimiento. Se analizan muestras representativas del lote con *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) inoculando los tubos con aproximadamente 1000 CFU/0,1 mL. Después de una incubación de 18–24 h a 35 ± 2 °C, todos los organismos muestran crecimiento.

Además, se analizan muestras representativas del lote para determinar el contenido de calcio y magnesio mediante ensayo de absorción atómica o cromatografía de iones.

## XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
297701	<b>BD BBL</b> Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), 5 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño K
298268	<b>BD BBL</b> Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), 5 mL, caja de 100 tubos de tamaño K
297310	<b>BD BBL</b> Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), frasco de 250 mL
297963	<b>BD BBL</b> Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted), frasco de 400 mL

## XIV BIBLIOGRAFIA

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. Peard. 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. Datt, 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.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite [www.bd.com/ds](http://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