



CNAS-GLXX

临床微生物检验程序验证指南
Guidance on the Verification of Procedures
used in the Clinical Microbiology
(征求意见稿)

中国合格评定国家认可委员会

前言

本文件由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定，是 CNAS 根据临床微生物检验的特性而对 CNAS-CL02: 2012《医学实验室质量和能力认可准则》和 CNAS-CL42:2012《医学实验室质量和能力认可准则在临床微生物学检验领域的应用说明》中有关检验程序验证所做的解释和说明，并不增加或减少其他的要求。

本文件为首次发布。

临床微生物检验程序验证指南

1 范围

本指南适用于申请认可或已经认可的医学实验室规范其临床微生物检验程序验证的技术活动，也可供认可评审员在评审过程中使用。

本指南主要适用于医学实验室临床微生物检验，其他的实验室可参照本指南。

临床微生物检验程序，也称临床微生物检验方法，在本指南中统一称为临床微生物检验程序（以下简称“检验程序”），包括显微镜检查、分离培养和鉴定、药物敏感试验等各项检验活动。

2 规范性引用文件

下列文件对于指南的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

CNAS-CL02: 2012《医学实验室质量和能力认可准则》

CNAS-CL42: 2012《医学实验室质量和能力认可准则在临床微生物学检验领域的应用说明》

CNAS-AL09:《医学实验室认可领域分类》

3.术语和定义（略）

4.检验程序验证

4.1 已确认的检验程序在常规使用前，应经过实验室的独立验证，即验证实验室的能力满足已确认的检验程序要求或达到检验程序的性能指标。

细菌鉴定和药敏系统的验证，应按优先顺序依次选择标准菌株、质控菌株或其它已知菌株对商业鉴定系统（包括自动、半自动、手工）每种板（条/卡/管）的鉴定/药敏结果符合性进行验证。

注：已确认的检验程序是经国家卫生管理部门批准的体外诊断医疗器械使用说明书中规定的程序，或国际公认标准或指南中的，或国家、地区法规中规定的程序。

4.2 实验室应根据分析类型和用途进行验证程序的设计、验证结果的统计学分析、建立

新检验程序的可接受性能标准。验证结果应证明该检验程序可用于检测或准确分析待测物的特点，通常验证计划和可接受标准应在验证开始前确定。验证计划和可接受标准应与该分析物相关的国家/行业标准/权威出版物等保持一致。定义可接受标准的方法之一是根据医学和临床要求确定总允许误差，但通常应用于定量检测。定性检测的可接受标准可以用一致性（符合率）表达。

检验程序验证所使用的标本应为合格的临床标本或从回顾性/前瞻性临床标本中分离的菌株。标本的采集应符合国家、地区法规要求。已通过一种或多种方式确定性能的标准菌株或质控品（如国家或地方临床检验中心使用过的质控菌株）也适用。

在少数情况下，对大量标本进行统计学分析时除了需要临床患者标本，还可能会用到存档和/或回顾性标本。另外，类似的标本可通过使用添加基质的标本和标准菌株获得，不建议只使用标准菌株进行验证。可在阴性标本中添加不同浓度的分析物以获得模拟阳性标本。

4.3 显微镜检查

显微镜检查程序包括涂片制备、染色镜检和结果报告过程。实验室在开展各种类型显微镜检查（如革兰染色、抗酸染色、墨汁染色等）前应对本实验室使用的检验程序进行验证，并由经培训有涂片镜检能力的实验室人员操作。检查方法可包括手工染片法和自动化染片法。所有样品及其盛放容器均应当作为有传染性物质，并按照实验室生物安全要求进行操作。

4.3.1 验证要求

显微镜检查程序的验证应包括能力验证/实验室间比对和实验室内人员比对（当多名人员从事该项目时）。如果没有可获得的能力验证或室间质评，实验室应自行组织实验室间比对（宜与通过认可的实验室比对）。若实验室同时开展手工染片法和自动化染片法，应进行两种方法的实验室内部比对。

4.3.2 比对方案

4.3.2.1 样品数量

每项检查应使用至少 5 份样品进行验证，覆盖全部样品类型，每种样品类型包含阴性和阳性结果。实验室应优先使用已知结果的留样样品，当不可获取时可采用模拟样品。

4.3.2.2 检验程序

按临床标本常规方式处理, 由本岗位工作人员使用实验室检验程序进行涂片制备、染色、镜检、判读。

4.2.2.3 结果报告

根据实验室程序文件规定进行结果报告, 其中抗酸杆菌应根据“分级报告标准”报告镜检结果。

4.2.3 可接受标准

每项检查的比对结果符合率 $\geq 80\%$ 。

4.4 分离培养

4.4.1 血培养

血培养检验程序包括从病人血液采集、运送、接收、孵育及监测的全过程。目前临床实验室广泛使用全自动血培养系统。临床微生物实验室血培养系统性能验证的主要目的是评估系统使用的培养基能否用于培养临床常见微生物（包括酵母菌、厌氧菌、苛养菌等）以及仪器（自动化系统）能否及时检测出血液中的大部分病原菌。

血培养性能验证常用留样验证和血培养系统平行比对两种方法。血培养系统平行比对用于评估验证系统和参比系统检出细菌能力的一致性, 但需要样本量大, 临床采样有难度。留样验证的优点则在于可评估其检测不常见病原菌的能力。实验室可根据医院病人数量和地区、病种特征等具体情况和两种方法的特点选择其中一种适宜的验证方法, 或两种方法同时应用。

4.4.1.1 留样验证

4.4.1.1.1 验证要求

验证应覆盖临床常见微生物, 需氧成人/儿童血培养瓶验证菌株应包括需氧/兼性厌氧革兰阳性菌、需氧/兼性厌氧革兰阴性菌、苛养菌和真菌, 厌氧血培养瓶验证菌株应包括兼性厌氧革兰阳性菌、兼性厌氧革兰阴性菌、专性厌氧菌, 其他特殊用途血培养瓶参照厂家要求选择合适类型菌株进行验证。每种类型至少 1 株, 总体不少于 20 株。应尽可能使用真实患者的临床分离菌株（性能验证用临床留样菌株宜经质谱或 DNA 序列分析确认无误）。对于特殊、苛养菌可使用标准菌株或质控菌株。某些特殊菌株需要在培养瓶中加入无菌、未使用抗生素的商家推荐血液标本, 如不加可能不生长, 如流感嗜血杆菌。

4.4.1.1.2 验证方案

模拟临床血流感染患者的细菌含量，用留样菌株进行一系列稀释，接种细菌的最终浓度为 5-30CFU/瓶。若苛养菌需添加适量的新鲜无菌血液（成人瓶 5-10ml，儿童瓶 1-3ml）后置于血培养系统上进行培养、检测。

4.4.1.1.3 可接受标准

如果在厂家说明书规定时间内检测出所有菌株则该方法通过验证。3 天时间应足以检测出至少 95%的临床相关细菌，须具备苛养菌、真菌、厌氧菌等的检出能力。若未能检出应使用相同菌株进行重复试验来验证。若仍不能检测，实验室和/或制造商应在临床使用该系统前采取纠正措施。如果血培养仪升级，原系统和新系统的差别不大，培养瓶也没有改变，那么由供应商技术代表核查仪器性能即可，无需再次验证。功能核查将对孵育系统和光学系统以及软件是否按照制造商规定运行进行评价。

4.4.1.2 血培养检测系统比对

4.4.1.2.1 验证要求

因血培养检测系统比对要求较高，并非强制要求执行。

检测系统比对允许根据患者情况和实验室条件来评价新系统的性能，通常比对所需临床标本数量应 ≥ 100 例。

4.4.1.2.2 验证方案

同一病人按照同样的采血方法采集血液标本，接种验证血培养瓶和参考血培养瓶中，分别放入各自的培养系统上进行培养、检测。

4.4.1.2.3 可接受标准

与参考方法相比，新培养系统检测符合率至少为 95%。如果未能满足性能要求，则该实验不能通过验证或者制造商和/或使用用户须采取正确的纠正措施并再次进行验证。

4.4.2 一般培养（非血液标本）

一般培养包括各类标本（痰液、尿液、粪便、分泌物、组织等）的细菌、真菌、支原体及厌氧菌等的培养。培养程序包括标本处理、接种、培养基选择和适宜培养条件（温度、气体等）。实验室在开展各种类型标本微生物培养检验前应针对培养目的对本实验室使用的检验程序进行验证。如果没有可获得的能力验证或室间质评，实验室可采用培养基验证方法对培养程序进行验证。使用质控菌株或留样菌株模拟标本进行培养，验证性能是否满足检出要求。

4.4.2.1 验证要求

每项检查每种样品类型至少 1 份标本。

培养基根据其用途主要分为两种：选择性培养基和非选择性培养基。选择性培养基包含能够抑制某些微生物生长的抗生素或化学试剂，非选择性培养基则不含抑制微生物生长的物质，能够促进大多数微生物的生长。无论商品化培养基还是自配培养基，都需要在使用前对培养基性能进行验证，验证菌株可选择质控菌株或临床菌株。

对于某些苛养细菌专用培养基，实验室必须确定该培养基能保证对应苛养细菌的生长。如：厌氧菌、百日咳博德特菌、洋葱伯克霍尔德菌、弯曲菌、螺杆菌、军团菌、淋病奈瑟菌、以及其他需要特殊生长条件的细菌。而对于一些非选择性培养基，如血平板和巧克力平板需保证其能支持大部分细菌的生长。

4.4.2.2 验证方案

美国标准菌种中心（American Type Culture Collection, ATCC）菌株、能力验证/室间质评活动使用的菌株、从临床病人标本分离的具有稳定表型的菌株均可用作验证菌株，实验室对其生化特征及鉴定结果应做好相关记录。

4.4.2.2.1 直接接种法

按照实验室细菌分离培养 SOP 直接接种菌株至培养基上，观察细菌生长情况。如果使用直接接种，应谨慎操作。接种菌量过多或者过少都将掩盖培养基的促进或抑制生长的特性。如果在使用直接接种法时出现验证不合格，则改用标准化菌悬液进行验证。

4.4.2.2.2 标准化菌悬液法

不同实验室之间可进行标准化菌悬液验证比对。较高浓度的菌悬液能够较好测试选择性培养基抑制特定微生物生长的能力。较低浓度的菌悬液则能够验证非选择性培养基充分支持细菌生长的能力。

第一步：菌悬液的准备

（1）直接菌落法：使用培养 18 到 24 个小时的菌落，在 0.85% 无菌生理盐水中制成菌悬液，使其浊度达 0.5 麦氏浊度。

（2）生长法：从 24h 培养物中接种 3 到 5 个菌落至无菌肉汤以此制备悬浮液。孵育数小时使其浊度达 0.5 麦氏浊度。

第二步：接种

（1）验证非选择性培养基

用无菌肉汤或者生理盐水将 0.5 麦氏单位菌悬液进行 1:100 稀释，每个测试平板接种 $10\ \mu\text{l}$ (0.01ml) 悬浮液，均匀涂布。如果菌落过密，则可将菌液稀释 1000 倍后再接种。

(2) 验证选择性培养基

用无菌肉汤或者生理盐水将 0.5 麦氏单位菌悬液进行 1:10 稀释，每个测试平板接种 $10\ \mu\text{l}$ (0.01ml) 悬浮液。如果菌落过密，则可将菌液稀释 100 倍后再接种。

(3) 验证培养管

用 $10\ \mu\text{L}$ (0.01mL) 未稀释的 0.5 麦氏浊度悬浮液进行接种。

培养温度、气体条件和培养时间执行实验室 SOP 文件规定。

4.4.2.3 可接受标准

4.4.2.3.1 在选择性培养基上验证菌株长势良好、菌落大小与预期相符、菌落形态典型，并且能够抑制特定微生物的生长，可判定性能符合要求，验证合格。

4.4.2.3.2 在非选择性培养基上验证菌株长势良好、菌落大小与预期相符、菌落形态典型，血培养基上的溶血类型符合，可判定非选择性培养基验证合格。

4.4.3 活菌计数

临床微生物实验室需对中段尿、肺泡支气管灌洗液等标本进行活菌计数。活菌计数定量培养除验证对病原菌的分离能力外，还需对定量接种环进行验证。定量接种环不如微量加样器准确，但仍不失为半定量培养或者稀释的一种很好的方法，在允许 20% 误差存在时可以使用定量接种环。

4.4.3.1 验证要求

定量接种环使用前应进行验证，一次性定量接种环每批次应抽样验证。

4.4.3.2 验证方案

可以采用钻头法和浸染法两种方法，钻头法适用于重复使用金属环，浸染法适用于重复使用金属环和一次性接种环。

浸染法较易于实施，方法如下：

第一步：配制 Evans blue 染液 (EBD)。用蒸馏水稀释 Evans blue 染液为 1:500、1:1000、1:2000、1:4000。

第二步：用 $1\ \mu\text{l}$ 环取 10 环 EBD 原液至 10ml 蒸馏水中； $10\ \mu\text{l}$ 环取 10 环 EBD 原液至 100ml 蒸馏水中，或至 10ml 蒸馏水中后再稀释 10 倍。

第三步：用722分光光度计600nm波长比色，重复四次。

第四步：计算

1u1环和10u1环分别配置溶液的吸光度应与1:1000EBD稀释液相符。以1:1000稀释液的吸光度为比对测定值，计算接种环定量配制溶液吸光度与比对测定值的偏差。

偏差=检测测定值-比对测定值/检测测定值*100%。

4.4.3.3 可接受标准

允许范围：平均偏差不超过 20%。

4.5 微生物鉴定试验

4.5.1 微生物鉴定系统

包括传统生化鉴定系统、质谱鉴定系统、分子生物学鉴定系统等。本指南主要适用于商业化配套的传统生化鉴定系统，质谱和分子鉴定系统的验证可参考执行，但还需满足该技术的专项要求。

4.5.1.1 验证要求

需选择临床菌株和标准菌株/质控菌株进行。验证试验应覆盖实验室使用的全部卡片种类和/或方法。一些大型医院，其患病人群更复杂、微生物种类更多，这类医院应对更多的菌株进行评估。对于特定地区和机构，考虑到特殊标本不易获取以及病人等因素，验证菌株的选择可适当调整。

4.5.1.2 验证方案

菌株种类的选择应参照厂商说明书，覆盖革兰阳性菌、革兰阴性菌、苛养菌、厌氧菌、念珠菌、隐球菌等。包括临床留样菌株和标准/质控菌株。每种类型应至少 1 株，总体不少于 20 株。按厂家说明书或实验室检测程序规定对验证菌株进行检测，一般要求鉴定至种水平。对于特殊类型的微生物（如棒状杆菌、厌氧菌，芽孢杆菌），可将鉴定到属的水平作为可以接受的性能标准。

4.5.1.3 可接受标准

标准/质控菌株符合率 100%，临床菌株的符合率应在 90%以上。未能满足验证要求，则该检测系统不能通过验证或者制造商和/或使用用户须采取措施。修正后的检测系统应再次进行验证实验。

4.5.2 血清学鉴定试验

血清学鉴定试验包括沙门菌/志贺菌/致病大肠杆菌/弧菌等的血清学分型。

4.5.2.1 验证要求

沙门菌至少包括伤寒沙门菌/甲型副伤寒沙门菌/乙型副伤寒沙门菌/丙型副伤寒沙门菌；志贺菌包括福氏志贺菌、宋内志贺菌、痢疾志贺菌和鲍氏志贺菌四种；致病大肠杆菌/弧菌等根据当地卫生行政管理和实验室情况进行选择。优先选择标准菌株和质控菌株，也可使用参考实验室确认过的留样临床分离株。

4.5.2.2 验证方案

参照实验室操作规程进行操作。每种本地区常见血清型菌株至少 1 株。

4.5.2.3 可接受标准

要求准确率 100%。

4.6. 感染免疫学定性检测

包括艰难梭菌毒素检测、梅毒免疫学检测（RPR/TPPA/TRUST）、肥达外斐试验、真菌免疫学检测（G 试验/GM 试验）等。

4.6.1 验证要求

检测至少 20 份样品，通常阳性样品和阴性样品各占一半。对检测的报告范围进行验证时应包括弱阳性和强阳性样品。若弱阳性样品不好获取，可用适当的基质稀释强阳性样品获得类似的效果。

4.6.2 验证方案

对于未经修改的商业化试剂盒方法来说只需要验证符合率即可，但若该项测试为高度依赖人工操作的实验还应通过不同操作人员进行重复性/重现性的验证。

符合率：将新检测系统的实验结果与参考方法（金标准）进行比较，计算待验证方法的阴阳性符合率。

重复性/重现性应经不同批次进行验证。评估重复性时，应在一个样本批内对至少两个阳性样品、两个阴性样品进行重复测定。然后在不同批次重复这一过程，必要时还要更换操作人员。

4.6.3 可接受标准

符合率：与参考方法相比其符合率应 $\geq 90\%$ 。

重复性/重现性：对于多人多批次检测，结果应完全一致。

4.6.7 抗菌药物敏感性试验

抗菌药物敏感性试验（药敏试验）可分为普通细菌/纸片法和最低抑菌浓度（MIC 法）。

4.7.1 验证要求

药敏试验方法的评估宜既保证药敏试验的准确性，也要确保耐药菌株的检出灵敏性。例如，革兰阳性菌药敏卡应能检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）、革兰阴性菌药敏卡的检测范围应包括超广谱 β -内酰胺酶、碳青霉烯类耐药的检测，细菌覆盖多重耐药肠杆菌科细菌、铜绿假单胞菌和不动杆菌等。药敏卡的选择应遵循生产厂家说明书要求，不应超范围使用。

药敏试验性能验证可使用药敏质控菌株。

4.7.2 验证方案

参考 CLSI 细菌、真菌相关药敏试验操作及判断标准，选择药敏质控标准菌株和药物。连续检测 20—30 天，每一组药物/细菌的抑菌圈直径或最低抑菌浓度（MIC）超出参考范围的频率应不超过（ \leq ）1/20 或 3/30；也可采用替代质控方案，即连续 5 天，每天对每一组药物/细菌重复测定 3 次，每次单独制备接种物，15 个数据中超出参考范围（抑菌圈直径或 MIC）的结果应不超过（ \leq ）1 个，若失控结果为 2-3 个，则如前述，再进行 5 天，每天 3 次重复试验，30 个数据失控结果应不超过（ \leq ）3 个。

4.7.3 可接受标准

在新的药敏试验系统应用于临床前，须满足上述质控要求，通过后在日常检测中转为室内控制要求。应对较大和重大偏差进行分析，以确定特定细菌结果是否受影响并要求限制该细菌和特定抗菌药物在该设备的使用。

附录 A（资料性附录）

全自动微生物鉴定和药敏检测系统性能验证示例

A.1. 验证仪器

A. 1. 1 仪器名称：XXXXX 全自动细菌鉴定系统

A. 1. 2 仪器生产厂家：XXXXX

A. 1. 3 试剂：鉴定试验用革兰阳性菌鉴定卡、革兰阴性菌鉴定卡、奈瑟菌/嗜血杆菌鉴定卡、酵母菌鉴定卡、厌氧菌鉴定卡等，药敏实验用相关试剂。

A.2. 验证目的

A. 2. 1 针对 XXXXXXX 临床微生物室所用的 XXXXX 细菌鉴定/药敏仪，对 10 种标准菌株和 12 种临床常见病原菌的鉴定符合率，对 4 种药敏标准菌株药敏符合率的验证，以确保所用仪器系统运行及试剂盒性能正常。

A. 2. 2 采用已知菌株留样再测，评估符合率。

A.3 细菌选择

大肠埃希菌（ATCC 25922）自 XXXXX

金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）自 XXXXX

肠球菌（ATCC 29212）自 XXXXX

铜绿假单胞菌（ATCC 27853）自 XXXXX

甲型副伤寒沙门菌（ATCC 9150）购于 XXXXX

沙门菌（ATCC14028）购于 XXXXX

副溶血性弧菌（ATCC17802）购于 XXXXX

福氏志贺菌（ATCC12022）购于 XXXXX

宋内志贺菌（ATCC9290）购于 XXXXX

流感嗜血杆菌（ATCC49247）购于 XXXXX

嗜麦芽窄食单胞菌、豚鼠气单胞菌、粘质沙雷菌、屎肠球菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌、新生隐球菌、白念珠菌、热带念珠菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌及具核梭杆菌共 12 株临床分离菌株来自 XXXXX 医院微生物实验室，经 DNA 序列分析确认。

A.4 操作方法

A. 4. 1 将验证菌株从冷冻冰箱中取出，平衡至室温，接种于血平板和特殊培养基，按

培养条件要求孵育 18-24h 。

A. 4. 2 从平板上挑取单个菌落，进行传代培养 2 次。

A. 4. 3 从传代的平板上挑取单个菌落，按不同检测卡的菌悬液浓度要求配置菌液。革兰阳性球菌选择 GP 鉴定卡，革兰阴性杆菌选择 GN 鉴定卡，真菌类的选择 YST 鉴定卡，流感嗜血杆菌选择 NH 鉴定卡、厌氧菌选择 ANC 卡，将卡片按顺序放在载卡架上，输样管插入到菌液管中。自动阅读孵育仓内所有卡片，并将数据传入英文工作电脑，电脑分析所有数据并给予结果，确认无误结果可传至中文电脑，由操作者认可审核。

A. 4. 4 药敏实验：每天使用大肠埃希菌（ATCC 25922），金黄色葡萄球菌（ATCC 29213），肠球菌（ATCC 29212）和铜绿假单胞菌（ATCC 27853）质控菌株进行药敏质控监测，连续监测 20 天。

A.5 验证结果

A. 5. 1 细菌鉴定试验

计算细菌鉴定的符合率：该细菌鉴定/药敏仪对标准菌株和临床菌株的鉴定符合率为 XX%。

A. 5. 2 药敏试验

所检测的标准菌株对实验抗菌药物 MIC 均在质控要求范围内，该仪器所检测的标准菌株对抗菌药物敏感性与预期要求一致性为 100%。

A.6 验证结论

本检测系统验证标准/质控菌株符合率 100%，临床菌株符合率 9X%，满足临床检测性能要求。标准菌株药敏试验结果符合质控要求，性能验证通过。

附录 B（资料性附录）

感染免疫学试验（艰难梭菌毒素检测）验证示例

B.1 验证仪器

- 1.1 仪器名称：XXXXX 系统
- 1.2 仪器生产厂家：XXXXX
- 1.3 试剂：艰难梭菌毒素 A 和毒素 B 酶免疫分析法（EIA）试剂，批号 XXX

B.2 验证目的

实验室拟开展粪便标本艰难梭菌毒素 A 和毒素 B 酶免疫分析法（EIA）检测，更换原检测方法。需对新检测系统进行性能验证以确保所用仪器系统运行及试剂盒性能正常。

B.3 验证方法

- B.3.1 符合率：用两种系统检测 20 例粪便标本（经原检测法检测为 10 例阳性、10 例阴性），计算符合率。
- B.3.2 重现性：分别在三天对阳性和阴性质控试剂盒以及阳性标本（含艰难梭菌的粪便）进行 5 次重复检测以确定重复性/重现性。

由于该试剂盒已通过 CFDA 认证，无需记录其灵敏度及特异性（干扰物）。

B.4 验证结果

艰难梭菌毒素 A/B EIA 验证结果

参数	结果
标本类型	粪便
符合率	符合率：18/20*100%=90%
重复性	100%，定性
重现性	100%，定性
参考范围	艰难梭菌 A、B 毒素阴性

B.5 验证结论

艰难梭菌毒素 A 和毒素 B 酶免疫分析法（EIA）检测性能满足实验室质量要求，可用于临床检测。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局, YY/T 0688.2-2010 《临床实验室检测和体外诊断系统感染病原体敏感性试验与抗菌剂敏感性试验设备的性能评价》, 中国标准出版社, 北京: 2010.
- [2] Verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory . Cumitech 31A. Richard B.Clark. 2009
- [3] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI M100-S25. 2015
- [4] Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media. CLSI M22-A3. 2004
- [5] Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. CLSI M50-A. 2008
- [6] Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eleventh Edition. CLSI M02-A11. 2011
- [7] Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard Ninth Edition. CLSI M07-A9. 2011