

Bakteerien antibioottiherkkyiden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

1 Menetelmäviitteet ja poikkeamat

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated from Animals; Approved Standard – Fourth Edition. CLSI Document VET01-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

CLSI. Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals; Approved Guideline. CLSI document M42-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.

Maljoihin voidaan lisätä myös naudan verta tai hevosen verta, josta punasolut on hajotettu.

2 Menetelmän tarkoitus ja soveltamisala

Menetelmäohje soveltuu useimpien eläimistä eristettyjen, nopeasti kasvavien aerobisten ja fakultatiivisesti anaerobisten bakteerien antibioottiherkkyiden määrittämiseen. Testiolosuhteet, kasvualusta ja antibiootit valitaan tutkittavan bakteerin mukaan. Menetelmä ei sovellu *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Arcanobacterium*, *Listeria*, *Bacillus* tai *Campylobacter* -sukuisten bakteerien eikä anaerobisten bakteerien antibioottiherkkyiden määrittämiseen.

Tätä ohjetta voidaan käyttää soveltuvin osin kasvualustaltaan vaativille bakteereille (esim. *Flavobacterium*). Jos herkkyysmäärittämisessä tehdään tällaisille bakteereille, tuloksia arvioitaessa on otettava huomioon, että erikoiselatusaineet tai poikkeavat kasvatusolosuhteet voivat vaikuttaa herkkyysmäärittämisen tulokseen.

Ellei näiden tekijöiden vaikutusta herkkyystulokseen ole erikseen määritetty, voidaan tulosta pitää korkeintaan suuntaa-antavana.

3 Määritelmä(t)

Mikrobilääkeaineet ovat mikrobien tuottamia tai joko osittain tai kokonaan synteettisesti tuotettuja aineita, jotka tuhoavat toisia mikrobeja tai estävät niiden lisääntymistä. Tässä ohjeessa antibiootilla tarkoitetaan sekä luonnollisia että synteettisiä mikrobilääkeaineita.

Lääkeaineille resistentit bakteerit pystyvät lisääntymään pitoisuudessa, jossa herkät mikrobit kuolevat tai niiden kasvu estyy. Mikrobi luokitellaan kliinisten raja-arvojen perusteella resistentiksi, jos sen kasvun estämiseen tarvittava lääkeainepitoisuus on suurempi kuin pitoisuus, joka ihmisen ja eläimen elimistössä voidaan turvallisesti saavuttaa. I-luokkaan (kts kohta 4) sijoittuvan bakteerin antibiootin sietokyvyn katsotaan

Bakteerien antibioottiherkkyiden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

kohonneen herkkää kantaa korkeammaksi. Tällöin antibiootin normaalilla annostelulla ei mahdollisesti saavuteta riittävää pitoisuutta, ellei antibiootti konsentroidu kohdealueelle.

Luonnollinen resistenssi on mikrobisuku- tai -lajityypillinen ominaisuus. Myös lääkeaineelle alun perin herkätkä mikrobikannat voivat muuttua resistenteiksi. Tämä hankittu resistenssi voi syntyä hyvin monilla mekanismeilla.

Infektiotautia aiheuttavan bakteerin herkkyyttä antibiooteille on tarpeen testata lähinnä silloin, kun todennäköistä vastetta ei ole mahdollista päätellä anamnestisten tietojen perusteella. Tietyille antibiooteille luonnostaan resistentin bakteerin herkkyyttä kyseiselle aineelle on tarpeen testata vain erittäin poikkeuksellisesti.

4 Periaate

Kiekkoherkkyysmenetelmässä tutkittavaa bakteerikantaa levitetään tasaisesti agarmaljan pinnalle. Siirroituksen jälkeen maljalle asetetaan kiekko, josta antibioottia imeytyy elatusaineeseen. Antibiootin pitoisuus elatusaineessa on kääntäen verrannollinen etäisyyteen kiekosta. Etäisyydelle, jossa antibioottipitoisuus on laskenut alle pienimmän bakteerin kasvua estävän tason, muodostuu näkyvän kasvun raja. Estovyöhykkeen halkaisijaa verrataan standardeissa ilmoitettuihin raja-arvoihin. Bakteerit luokitellaan estovyöhykkeiden laajuuden perusteella kyseiselle antibiooteille vastustuskykyisiin eli resistenteihin (R, resistant) ja herkkiin (S, sensitive). Joillakin antibiooteilla käytetään myös vastustuskykyisen ja herkän välivyöhykettä (I, intermediate).

5 Mahdolliset virhelähteet

Estovyöhykkeen reunan tarkka määrittäminen on joidenkin antibioottien osalta tulkinnanvaraista. Alempana (kohta 10) annetaan tarkempia ohjeita määritykseen.

Liian tiheä tai harva kasvusto maljalla voi aiheuttaa epäselvän estovyöhykkeen reunan ja johtaa vyöhykkeen laajuuden ali- tai yliarviointiin. Siirroksen tiheys tulee aina tarkastaa McFarland-standardin avulla.

Kosteus vaikuttaa antibioottien imeytymiseen kiekkoista, minkä takia kiekot tulee ottaa ajoissa lämpenemään. Säilytysastian kuivatusaine tulee regeneroida säännöllisesti.

Epäselviä tai vaikeasti tulkittavia estokehiä voi aiheuttaa antibioottiekon huono kontakti maljapintaan (esim. kiekko tipahtanut annostelijasta tai pinseteistä) tai se, että kiekkoa on siirretty maljalla.

Tutkittavan bakteeriviljelmän tai käytettyjen maljojen kontaminoituminen aiheuttaa virheellisiä tuloksia.

Bakteerien antibioottiherkkyuden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

6 Työturvallisuus

Mikrobiologisessa laboratoriossa työskenneltäessä noudatetaan toimintaohjetta LAB 223.

7 Laitteet ja välineet

- 1) Mikrobiologinen perusvälineistö
- 2) McFarland 0.5-standardi (vertailun apuna nefelometri, ei välttämätön)
- 3) Viljelykaappi 35 ± 2 °C, 28 ± 2 °C, 22 ± 2 °C tai 15 ± 2 °C
- 4) Steriilejä pumpulipuikkoja
- 5) Dreija petrimaljojen pyörittämiseen (ei välttämätön)
- 6) Työntötulkki tai viivain
- 7) Kiekkoannostelija

8 Elatusaineet, antibioottikiekot ja kontrollikannat**8.1 Elatusaineet**

- 1) TSB (Tryptone Soy Broth) veriagar
- 2) tarvittaessa muu ei-selektiivinen agar
- 3) CEM I ("suklaa-") agar
- 4) Fastidious anaerobe (FAA) -agar
- 5) 0.9 % NaCl tai ei-selektiivinen kasvatusliemi (Tryptic soy broth, Brain-Heart Infusion (BHI)-liemi, Müller-Hinton-liemi)
- 6) Müller-Hinton-II-agar (perusalusta)
- 7) Müller-Hinton-agar, jossa 5 % lampaan verta, naudan verta tai hevosen verta, josta punasolut on hajotettu: streptokokit, eräät pasteurellat, osa epätyypillisistä *A. salmonicida*-kannoista
- 8) suklaa-Müller-Hinton-agar: *Histophilus somni*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*
- 9) Laimea (1:7) Müller-Hinton-agar (LMHAG ilman seerumilisää): *Flavobacterium columnare*
- 10) Laimea Müller-Hinton-agar vasikan seerumilisällä (LMHAG): muut kalatauteja aiheuttavat flavobakteerit.

Agarkerroksen paksuuden tulee maljan keskikohdassa olla n. 4 mm. Tällainen paksuus saadaan, kun \varnothing 9 cm maljalle valetaan 22-23 ml agaria.

8.2 Antibioottikiekot

Oxoid - tai vastaavat antibioottikiekot. Säilytys valmistajan ohjeiden mukaan.

8.3 Kontrollikannat

Actinobacillus pleuropneumoniae ATCC 27090
Aeromonas salmonicida ATCC 33658
Enterococcus faecalis ATCC 29212 tai 33186
Escherichia coli ATCC 25922
Flavobacterium psychrophilum NCIMB 1947
Histophilus somni ATCC 700025
Mannheimia haemolytica ATCC 33396
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
Staphylococcus aureus ATCC 25923
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619

8.3.1 Kantojen erityisvaatimuksista

Varmista, onko tutkimallasi kannalla erityisvaatimuksia kasvatusalustan suhteen (CLSI Document M31-A3). Streptokokkien lisäksi eräät muutkin bakteerit, kuten *A. pleuropneumoniae* ja *H. somni*, tarvitsevat kasvaakseen lisäaineita.

Standardin herkkyysrajat streptokokeille, *A. pleuropneumoniae*lle ja *H. somni*lle on määritetty lisäainetta tai lisäaineita sisältävällä alustalla. Jos käytät lisäaineita tutkiessasi muita bakteereita, tarkista tulkitessasi tuloksia, onko niiden käyttö otettu huomioon standardien herkkyysrajoissa.

9 Laadunvarmistus

Testaa elatusaineiden toimivuus ja tutkimuksen suoritustapa sopivien kontrollikantojen (7.3) avulla. Käytä kontrollikantoja vähintään viikoittain sekä aina, kun maljaerä vaihtuu. Rutiinityöskentelyssä rajoitetaan tavallisimpien bakteeriryhmien edustajien testaamiseen. Mikäli elatusainetta käytetään harvemmin kuin kerran viikossa, sen viimeisestä testauksesta saa tutkimushetkellä olla kulunut korkeintaan viikko. Vertaa kontrollikiekkojen tuloksia CLSI:n standardissa M31 ja liitteessä 1 annettuihin arvoihin. Jos tulos ei ole hyväksyttävissä rajoissa, uusi testaus. Jos tämäkään tulos ei ole sallituissa rajoissa, hylkää elatusaine-erä ja selvitä poikkeaman syy.

Varmista lisäksi aina Müller-Hinton -agarjauhe-erän vaihtuessa, että erän tymidiini- ja tymiinipitoisuudet eivät ole liian korkeat, sillä niiden liian korkeat pitoisuudet estävät sulfonamidien ja trimetopriimin vaikutusta. Testaus tymidiinin ja tymiinin varalta tehdään *E. faecalis* ATCC 29212 tai 33186-kannalla ja trimetopriimi-sulfa -kiekoilla (1.25/23.75 µg). Alusta on hyväksyttävä, jos kiekon aiheuttama estovyöhyke 24 h inkuboinnin jälkeen 35 ± 2 °C:ssa on kirkas ja halkaisijaltaan vähintään 20 mm.

Testaa myös jokainen uusi kiekkoerä kontrollikannoilla (7.3).

10 Bakteerikannan antibioottiherkkyiden tutkiminen

10.1 Siirroksen valmistaminen

Tee tutkittavasta mikrobista puhtasviljelmä ei-selektiivisille agarille, esimerkiksi TSB veriagarille (streptokokit), FAA-agarille (*H. somni*), tai CEM I -agarille (*A. pleuropneumoniae* ja *H. somni*). Inkuboi viljelmää seuraavasti:

- ei-selektiivinen agar, ei-vaativat bakteerit: 35 ± 2 °C/ 18 – 24 h
- ei-selektiivinen agar, kalatauteja aiheuttavat flavobakteerit:
 - F. psychrophilum* 15 ± 2 °C/ 48 – 72 h
 - F. columnare* 28 ± 2 °C/ 24 – 48 h
- ei-selektiivinen agar, *A. salmonicida* ja eräät muut kalatautibakteerit (*Yersinia ruckeri*, *Listonella anguillarum*): 22 ± 2 °C/ 24 – 48 h
- TSB veriagar, streptokokit: 35 ± 2 °C/ 16-18 h (tarvittaessa 3-7 % CO₂-ilmakehässä)
- TSB veriagar, osa epätyypillisistä *A. salmonicida* -kannoista: 22 ± 2 °C /24-48 h
- FAA-agar: *H. somni* 35 ± 2 °C/ 20-24 h mikroaerobisesti
- CEM I -agar, *A. pleuropneumoniae* ja *H. somni*, 35 ± 2 °C/ 20-24 h 3-7% CO₂-ilmakehässä

Siirrosta vähintään 4 pesäkkeestä bakteerimassaa 0,9 % NaCl-liuokseen tai ei-selektiiviseen liemeen siten, että suspension sameus vastaa McFarland 0.5 putken sameutta. Kun arvioit sameutta silmämääräisesti, täytyy valaistuksen olla hyvä ja taustan tumma. Tarkastelu on helpointa, kun vertaat standardi- ja bakteerisuspensioita rinnan mustavalkojuovaista taustalevyä vasten. McFarland -standardin ja bakteerisuspension sameutta voi verrata myös mittaamalla molempien sironta nefelometrin avulla. Bakteerisuspension mittausravon tulisi olla alueella 0,75 – 1,25 x standardin mittausravon.

10.2 Esivalmistelut

Kuivaa tarvittaessa (lähinnä samana päivänä valettujen) maljojen pintoja 10-30 min ennen siirrostusta.

Anna annostelijan lämmitä huoneenlämpöiseksi ennen käyttöä. Siirrä jääkaapissa tai pakastimessa säilytetyt avaamattomat antibioottikiekkopakkaukset huoneenlämpöön 1-2 tuntia ennen käyttöä.

10.3 Viljely herkkyysmaljalle ja antibioottikiekkujen lisääminen

Valitse herkkyysmalja:

- Müller-Hinton-II-agar (perusalusta)
 - Müller-Hinton-agar, jossa 5 til-% lampaan verta, naudan verta tai hevosen verta, josta punasolut on hajotettu: streptokokit, *P. multocida*, *M. haemolytica*, osa epätyypillisistä *A. salmonicida*-kannoista
 - suklaa-Müller-Hinton-agar: *H. somni*, *A. pleuropneumoniae*
 - Laimea (1:7) Müller-Hinton-agar: *F. columnare*
-

Bakteerien antibioottiherkkyuden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

- Laimea Müller-Hinton-agar vasikan seerumilisällä: muut kalatauteja aiheuttavat flavobakteerit

Kastele steriili pumpulipuikko suspensiossa 15 minuutin sisällä sen valmistamisesta. Poista ylimääräinen neste pyörittämällä puikkoa putken reunaa vasten ja viljele herkkyysmalja puikolla esimerkiksi dreijaa apuna käyttäen.

Jos viljelet maljan käsin, siirrosta pumpulipuikossa oleva ympäri tiheällä siikkeliikkeenä maljalle. Toista levitys kahdesti 60° kulmassa edelliseen siirrostukseen nähden tasaisen kasvun aikaansaamiseksi.

Anna siirrostettujen maljojen seistä huoneenlämmössä 3-5 min (max. 15 min) ja laita antibioottikiekot maljalle. Aseta kiekot agarille mahdollisimman napakasti, ne eivät saa siirtyä agarin pinnalla asettamisen jälkeen. Oikean asettamisen voit tarkastaa seuraavasti: aseta kiekot maljalle. Odota 15-20 sekuntia ja käännä malja ylösalaisin. Kiekkojen tulee pysyä kiinni agarissa. Aseta ø 9 cm maljalle enintään viisi kiekkoa, streptokokkeja, *H. somni* - ja *A. pleuropneumoniae* -bakteereita tutkittaessa neljä, ja kalatauteja aiheuttavia flavobakteereja tutkittaessa korkeintaan kaksi. Siirrä maljat lämpökaappiin 15 minuutin kuluessa ja inkuboi niitä ylösalaisin. Jätä maljapinojen ympärille ilmatilaa.

Inkuboi maljoja 35 ± 2 °C/16 - 18 h.

Poikkeukset: inkuboi

- streptokokkeja 3-7% CO₂-ilmakehässä 20-24 h
- *H. somni*- ja *A. pleuropneumoniae* -viljelmiä 3-7 % CO₂-ilmakehässä 20-24 h
- *Pasteurella multocida* - ja *Mannheimia haemolytica* -viljelmiä 18-24 h
- *Aeromonas salmonicida* - ja *Listonella anguillarum* -viljelmiä 22 ± 2 °C/24 (-48) h
- *Y. ruckeri* -viljelmiä 22 ± 2 °C/24 (-48) h
- *F. psychrophilum* -viljelmiä 15 ± 2 °C/ 44-48 h ja 68-72 h
- *F. columnare* -viljelmiä 28 ± 2 °C/ 24-28 h ja 44-48 h

Lue stafylokokkien oksasilliini- sekä enterokokkien vankomysiinikiekon tulos 24 h inkuboinnin jälkeen. Lue *S. aureuksen* kefoksitiinitulos 18 tunnin inkubaation jälkeen ja koagulaasinegatiivisten stafylokokkien kefoksitiinitulos 24 tunnin inkubaation jälkeen (huom. kefoksitiini ei sovellu *S. pseudintermedius* -kantojen metisilliiniherkkyuden tutkimiseen). Kuitenkin, jos koagulaasinegatiivinen stafylokokki todetaan resistentiksi jo 18 tunnin inkuboinnin jälkeen, ei inkubointia tarvitse jatkaa.

11 Tulokset

11.1 Tulosten lukeminen

Bakteerikasvuston tulee olla jatkuva ja tasainen, ja estovyöhykkeiden reunojen ehjät ja mahdollisimman selväpiirteiset. Jos kasvusto muodostuu erillisistä pesäkkeistä, uusi testaus.

Mittaa estovyöhykkeen halkaisija millimetrin tarkkuudella kirkkaan estovyöhykkeen reunasta eli kohdasta, jossa bakteerikasvu heikkenee jyrkästi. Valitse mittauspisteet siten, että ne ovat mahdollisimman kaukana viereisistä kiekkoista ja maljan reunasta. Ota estokehän reunassa oleva, vain suurennuslasilla havaittavan huntumaisen kasvun ja pienenpien pesäkkeiden alue mukaan estovyöhykkeeseen.

Bakteerien antibioottiherkkyuden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

Viljele ja testaa uudelleen erilliset (pienetkin) pesäkkeet kirkkaan estovyöhykkeen alueella. Tällaiset pesäkkeet voivat olla merkki heterogeenisestä resistenssistä: alkuperäisen siirroksen bakteeripopulaatiosta vain osa on resistenttejä, tai bakteerisolun resistenssiä ilmentäessään kasvaa heikosti muodostaen vain pieniä pesäkkeitä. Esimerkiksi silloin, kun stafylokokkien mahdollista metisilliiniresistenssiä seulotaan oksasilliinikiekon avulla, resistenssi voi ilmetä heterogeenisenä. Kun määrität metisilliiniresistenssiä oksasilliinikiekkolla, lue malja siten, että valo läpäisee sen.

Enterokokin ja stafylokokin vankomysiiniresistenssi saattaa ilmetä vain siten, että estovyöhykkeen reuna on epäselvä, verrattuna herkkien kantojen estovyöhykkeisiin.

Ei-selektiiviseltä alustalta voi kulkeutua sulfa-trimetopriimille antagonistisia aineita (tymiini, tymidiini), jotka voivat aiheuttaa huntumaista kasvua muuten sulfa-trimetopriimille herkän bakteerin estovyöhykkeen reuna-alueilla. Jos huntumaista kasvua ilmenee, estovyöhykkeeksi mitataan alue, jolla kasvun tiheys on enintään 20 % täysin estokehän ulkopuolella olevan kasvun tiheydestä.

Penisillinaasia tuottavilla kannoilla estokehä saattaa olla yhtä laaja kuin sitä tuottamattomilla kannoilla, mutta estokehän reuna voi olla epätasainen ja siinä voi olla isoja yksittäisiä pesäkkeitä.

Proteus -kantoja testattaessa tarkkarajaisen estokehän sisällä voi esiintyä leviävää kasvua. Tällöin estovyöhyke mitataan tiheän kasvuston reunasta, eikä levinnyttä kasvua oteta huomioon.

11.2 Tulosten ilmoittaminen

Vertaa tuloksia antibiootti- ja bakteeriryhmäkohtaisesti liitteen 2 tai voimassa olevien standardien mukaisesti. Ilmoita tuloksena tutkitun bakteerikannan estovyöhykkeen halkaisija (mm) ja sen mikrobilääkeherkkyys: S (herkkä, susceptible, sensitive), I (keskinkertaisen herkkä, intermediate/epävarma) tai R (vastustuskykyinen, resistentti, resistant). Eräät bakteerit jaotellaan tiettyjen antibioottien suhteen vain S- ja R-ryhmiin. On sovittu, että vaikka bakteerikasvu ulottuu kiekkoon asti (kanta täysin resistentti), niin estokehän suuruudeksi merkitään kiekon halkaisija (yleensä 6 mm).

Tutki stafylokokkien β -laktamaasin tuotto Evira 3566 -menetelmäohjeen mukaisesti. Tutki tarvittaessa esimerkiksi stafylokokkien kefoksitiini-/oksasilliiniresistenssi ja enterokokkien vankomysiiniresistenssi muilla menetelmillä. Ota tulosten tulkinnessa huomioon bakteerin β -laktamaasiaktiivisuus ja mahdollinen ristiresistenssi muiden lääkeaineiden kanssa. Mikäli bakteeri tuottaa β -laktamaasia, penisilliinin, ampicilliinin ja amoksisilliinin herkkyystuloksena ilmoitetaan R riippumatta kiekkoherkkyysmenetelmän tuloksesta. Metisilliiniresistentit stafylokokit ilmoitetaan resistenteiksi kaikille β -laktameille ja β -laktami/ β -laktamaasi-inhibiittorikombinaatioille.

Jos bakteeri on erytromysiinille resistentti (R) ja klindamysiinille herkkä (S), tutki indusoituva klindamysiiniresistenssi menetelmäohjeen Evira 3564 mukaisesti.

Elintarvike- ja rehumikrobiologia

Bakteerien antibioottiherkkyuden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

12 Menetelmän validointi

Menetelmä on validoitu EELAssa v. 2000.

13 Menetelmän status

Kansainvälisen menetelmäkokoelman menetelmä	X
Virallinen menetelmä	<input type="checkbox"/>
Sisäinen menetelmä	<input type="checkbox"/>

14 Laadunvarmistusmenetelmät

Laboratorioiden väliset vertailututkimukset	X
Menetelmävertailut	X
Vertailukantojen/kontrollikantojen käyttö	X
Siirrostetut näytteet	<input type="checkbox"/>
Rinnakkaismääritykset	<input type="checkbox"/>
Kontrollikiekot	<input type="checkbox"/>
Valvontakortit/vihko	<input type="checkbox"/>

15 Viitteet

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated from Animals; Approved Standard – Fourth Edition. CLSI Document VET01-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated from Animals; Second Informational Supplement. CLSI Document VET01-S2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

CLSI. Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals; Approved Guideline. CLSI document M42-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals; First Informational Supplement CLSI document M42/M49-S1. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.

16 Muutokset edelliseen versioon

Edellinen versio Evira 3484/9.
Tarkennettu inkubointilämpötilat ja niiden tarkkuudet CLSI-standardien mukaisiksi.
Päivitetty kohdat 9 ja 11.2.

Elintarvike- ja rehumikrobiologia

Bakteerien antibioottiherkkyuden tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmällä

Ohjeen laatija: Anna-Liisa Myllyniemi

Ohjeen päivittäjä: Katariina Pekkanen, Suvi Nykäsenoja

17 Liitteet

Evira 3484/Liite1 ATCC-kontrollikantojen hyväksyttävät estovyöhykkeiden rajat

Evira 3484/Liite2 Kiekkoherkkyysmenetelmän SIR- tulkintarajat

18 Vastuuhenkilöt

Helsinki: Suvi Nykäsenoja, Katariina Pekkanen

Kuopio: Tarja Pohjanvirta

Oulu: Varpu Hirvelä-Koski

Seinäjoki: Mirja Raunio-Saarnisto