



# 中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0688.1—2023/ISO 20776-1:2019

代替 YY/T 0688.1—2008

## 感染病原体敏感性试验与抗微生物 药物敏感性试验设备的性能评价 第 1 部分：抗微生物药物对感染性 疾病相关的快速生长需氧菌的体外 活性检测的肉汤微量稀释参考方法

Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices—Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases

(ISO 20776-1:2019, IDT)

2023-03-14 发布

2023-11-01 实施



国家药品监督管理局 发布

## 目 次

前言 .....	I
引言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 试验程序 .....	3
4.1 概述 .....	3
4.2 培养基 .....	3
4.3 抗微生物药物 .....	3
4.3.1 概述 .....	3
4.3.2 原液的配制 .....	3
4.3.3 工作液的配制 .....	3
4.3.4 微量稀释盘的制备 .....	4
4.3.5 微量稀释盘的储存 .....	4
4.4 接种菌液的制备 .....	4
4.4.1 概述 .....	4
4.4.2 肉汤培养法 .....	4
4.4.3 直接菌悬液法 .....	4
4.5 微量稀释盘的接种 .....	5
4.6 微量稀释盘的孵育 .....	5
4.7 结果的判读 .....	5
4.8 MIC 结果可能给出不可靠结果的特殊试验情况 .....	5
5 质量控制 .....	6
附录 A (资料性) Mueller-Hinton 肉汤培养基 .....	7
附录 B (资料性) 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液 .....	10
附录 C (资料性) 肉汤稀释法敏感性试验中抗微生物药物工作液稀释系列的制备 .....	16
附录 D (资料性) 特殊试验情况 .....	17
参考文献 .....	18

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 YY/T 0688.1—2008《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 第 1 部分：抗菌剂对感染性疾病相关的快速生长需氧菌的体外活性检测的参考方法》，与 YY/T 0688.1—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了成为仅含肉汤微量稀释法的性能文件；
- b) 删除了 S、I、R 折点定义和信息(见 2008 年版的 2.5.1、2.5.2 和 2.5.3)；
- c) 更改了嵌入表格的位置(见附录 B、附录 C、附录 D,2008 年版的表 1、表 2 和表 3)；
- d) 删除了质量控制范围表(见 2008 年版的表 4)；
- e) 更改了文件中所用抗微生物药物的溶剂和稀释剂的表格(见附录 B,2008 年版的表 1)；
- f) 更新了目前使用的特定抗微生物药物的特殊培养基和方法性能的资料(见附录 D,2008 年版的表 3)。

本文件等同采用 ISO 20776-1:2019《感染病原体敏感性试验与抗微生物药物敏感性试验设备的性能评价 第 1 部分：抗微生物药物对感染性疾病相关的快速生长需氧菌的体外活性检测的肉汤微量稀释参考方法》。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)归口。

本文件起草单位：北京市医疗器械检验研究院、中国医学科学院北京协和医院、上海市临床检验中心、碧迪医疗器械(上海)有限公司。

本文件主要起草人：毕春雷、童明庆、徐英春、王敬华、田静。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2008 年首次发布为 YY/T 0688.1—2008；

——本次为第一次修订。

## 引 言

抗微生物药物体外敏感性试验通常是针对于可能导致疾病的微生物,尤其是那些被认为对频繁使用的抗微生物药物呈现耐药性的微生物种属。除此之外,该试验在细菌耐药性监测及其流行病学研究以及新抗微生物药物与现有抗微生物药物之间的比较等方面也很重要。

抗微生物药物敏感性试验用稀释法来测定抗微生物药物的最小抑菌浓度(MIC),是抗微生物药物敏感性试验的参考方法。MIC法用于细菌耐药性监测、定义鉴别野生型表型、新抗微生物药物比较性测试、对于常规方法所得结果不可靠或临床需要定量结果的微生物试验,确定在常规检测中得出模棱两可结果的微生物的敏感性。对于稀释法测试,某抗微生物药物对于特定微生物的MIC值是通过观察微生物分别在含有系列稀释浓度的该抗微生物药物的一系列肉汤(肉汤稀释法)中或琼脂平板(琼脂稀释法)上的可见的生长能力来确定的。

抗微生物药物的最小抑菌浓度(MIC)是指在规定的体外条件下,规定的孵育时间内,能抑制某特定微生物出现肉眼可见生长的抗微生物药物的最低浓度(以mg/L为单位)。MIC值有助于临床医师了解微生物对抗微生物药物的敏感性从而帮助他们制定合理的用药方案。为保证室内和室间肉汤MIC试验的重现性,需要严格的质量控制和标准化。MIC通常在两到三个倍比稀释度范围,并有一主要的中心值。

肉汤稀释法:一种向一系列相同体积的含某抗微生物药物溶液的浓度(通常是几何级数)递增的肉汤培养基中接种已知固定量某微生物的方法。

肉汤微量稀释法:在微量稀释盘中进行肉汤稀释试验。

本文件所描述的方法旨在测试需氧菌的纯培养物,这些细菌在Mueller-Hinton琼脂平板和含标准化Mueller-Hinton肉汤(体积 $\leq 200 \mu\text{L}$ )的标准化的微量稀释盘微孔中经过夜孵育均易于生长。根据所测试抗微生物药物不同可能需要调整。

本文件所描述的肉汤稀释法本质上与许多国家目前所用的方法是一致的,以及美国临床和实验室标准化协会(CLSI)和欧洲抗微生物药物敏感性试验委员会(EUCAST)所发布方法,所有这些方法都是在Ericsson和Sherris所描述方法的基础上发展而来的。

# 感染病原体敏感性试验与抗微生物 药物敏感性试验设备的性能评价 第1部分:抗微生物药物对感染性 疾病相关的快速生长需氧菌的体外 活性检测的肉汤微量稀释参考方法

警告——使用本文件可能涉及危险性材料、操作和设备。本文件无意陈述使用本文件所涉及的所有安全问题。使用本文件前,使用者有责任建立适当的安全和健康措施并确定任何其他限制的适用性。

## 1 范围

本文件描述了测定抗微生物药物 MIC 值的一种参考方法——肉汤微量稀释法。MIC 值能给医生作为一个指导,其反映抗微生物药物在规定的体外试验条件下的抗菌活性,还应考虑诸如药物药理学、药代动力学或细菌耐药机制等其他因素。这可使细菌归类为“敏感(S)”“中介(I)”或“耐药(R)”。另外, MIC 值的分布能用于确定野生型或非野生型细菌群落。尽管 MIC 值的临床解释超出了本文件的范围,但为了便于临床解释,对某些抗微生物药物-细菌组合基本方法进行调整是必要的。这些调整包含在本文件单独的附录中。为了确保试验结果的可比性与可靠性,其他药敏试验方法(如纸片扩散法或诊断试验器械)有必要和本参考方法比较进行确认。

本文件适用于采用肉汤微量稀释法测定 MIC 值。

## 2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**抗微生物药物 antimicrobial agent**

一类可以抑制或杀死微生物,可能用于抗感染治疗的生物来源的、半合成的或合成的物质。

注:消毒剂、灭菌剂和防腐剂不在此定义范围内。

### 3.2

**效价 potency**

药物活性的一种量度,用产生给定强度药效所需的量来表示。

注:效价可表达为受试物中组分以毫克每克(mg/g)的质量分数,或以国际单位每克(IU/g)的活性含量,或以体积分数或质量分数的百分含量或摩尔数每升的物质的量浓度(摩尔分数)。

### 3.3

**浓度 concentration**

在规定体积溶液中抗微生物药物的量。

注 1: 浓度以毫克每升(mg/L)来表示。

注 2: mg/L 是 ISO 指定的单位。

3.4

**原液 stock solutions**

用于进一步稀释的初始浓度溶液。

3.5

**最小抑菌浓度 minimum inhibitory concentration; MIC**

在规定的体外试验条件下,在规定的孵育时间内,能抑制细菌出现肉眼可见生长的最低浓度。

注: MIC 以毫克每升(mg/L)表示。

3.6

**折点 break points; BP**

用于界定受试细菌对药物敏感性的临床类别是“敏感”“中介”和“耐药”的特定参数值,如 MIC 值。

注: 关于折点的最新解释,可参考应用本参考方法的机构的最新出版物(例如 CLSI 和 EUCAST)。

3.7

**野生型 wild type**

对某抗微生物药物没有已知耐药机制的菌株。

3.8

**参考菌株 reference strains**

有特定分类编号的,且抗微生物药物敏感性表型和(或)基因型确定及稳定的菌株。

注: 参考菌株是从菌种保藏机构获得并作为质量控制,其通常以储存培养物的形式进行保存,试验所用工作培养物均来源于此。

3.9

**肉汤稀释法 broth dilution**

一种在容器中加入适当体积抗微生物药物溶液,该抗微生物药物浓度采用递增(通常两倍)增加,再加入适当体积的含一定接种量菌液肉汤的技术。

注: 该方法的目的是确定 MIC 值。

3.10

**微量稀释法 micro-dilution**

在微量稀释盘中进行的肉汤稀释试验,每孔最终工作液体积不超过 200  $\mu$ L。

3.11

**液体培养基/肉汤 broth**

用于细菌体外培养的液体培养基。

注: 对于肉汤参考方法,培养基是标准化的 Mueller-Hinton 肉汤(见附录 A)。

3.12

**接种量 inoculum**

依据接种后终体积计算出的细菌在最终菌药混合物中的数量。

注: 接种量以每毫升的菌落形成单位(CFU/mL)来表示。

3.13

**接种量效应 inoculum effect**

由接种量 CFU/mL 的改变所导致的 MIC 值的变化。

## 4 试验程序

### 4.1 概述

本试验是在聚苯乙烯微量稀释盘中进行的。该方法首先是抗微生物药物工作液的配制,然后每孔加抗微生物药物工作液 50  $\mu\text{L}$ (接种物添加量体积也是 50  $\mu\text{L}$ ),或者每孔工作液为 100  $\mu\text{L}$ (接种物的接种量最多不超过 10  $\mu\text{L}$ )。

### 4.2 培养基

应使用 Mueller-Hinton 肉汤,见附录 A。

### 4.3 抗微生物药物

#### 4.3.1 概述

受试抗微生物药物可直接从制造商或通过可靠的商业来源获得,但不能以临床使用的药物制剂作为受试物。抗微生物药物应以粉剂供应,具有批号、效价、失效日期及推荐的保存条件细节。抗微生物药物应在供应商推荐温度下使用干燥剂避光保存于密闭容器中。吸湿剂宜分装成小份,在每次试验情况下使用其中之一。

为避免凝结水分,在打开装有受试物的容器之前,应将其恢复至室温。

#### 4.3.2 原液的配制

抗微生物药物需要使用校准过的分析天平称量。配制抗微生物药物标准溶液时,应根据受试物的效价,通过公式(1)和公式(2)计算出所需的受试物的质量或稀释溶剂的体积。

$$m = \frac{V \times \rho}{P} \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$V = \frac{m \times P}{\rho} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

$m$  —— 抗微生物药物(干粉)的质量,单位为克(g);

$V$  —— 稀释剂的体积,单位为升(L);

$\rho$  —— 原液的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

$P$  —— 抗微生物药物(干粉)的效价,单位为毫克每克(mg/g)。

虽然某些抗微生物药物的溶解度是个限制因素,但抗微生物药物原液的质量浓度宜为 1 000 mg/L 或更高。原液的实际配制浓度取决于工作液(系列稀释浓度梯度)的配制方法。除非生产商有特殊的配制稀释要求,抗微生物药物宜用无菌蒸馏水溶解并稀释。某些抗微生物药物需要用特殊的溶剂来溶解(见附录 B)。

注:对于当前文件附录 B 中还未列的新抗微生物药物,咨询制造商对特定抗微生物药物最适合的溶剂和稀释液信息。通常配好的抗微生物药物工作液没必要进行消毒。如果必要,抗微生物药物工作液宜采用膜过滤除菌,但除菌前后的样品宜通过分析进行比较以确保未发生吸附损失。

除非原液有在特定储存条件下的稳定性信息,每个实验批均宜新鲜配制。

#### 4.3.3 工作液的配制

试验用抗微生物药物工作液浓度范围的选择取决于试验菌株和抗微生物药物本身这两方面的因素,所选浓度范围对于相应的参考菌株来说,应能够确定所有可能得出的终点 MIC 值。抗微生物药物

工作液倍比稀释系列以 Mueller-Hinton 肉汤配制并围绕 1 mg/L 展开。工作液系列不宜通过逐步稀释获得。而是参照附录 C 所述程序。除非抗微生物药物溶液有在指定储存条件下的稳定性信息,所有工作液均宜当天配制当天使用。

#### 4.3.4 微量稀释盘的制备

微量稀释盘每孔加入 2 倍的所需终浓度的抗微生物药物工作液 50  $\mu\text{L}$ ,或每孔加入 100  $\mu\text{L}$  所需终浓度的抗微生物药物工作液。

宜至少保留一个加入 50  $\mu\text{L}$  或 100  $\mu\text{L}$  不含抗微生物药物的培养基的孔以作为每株试验菌的生长对照。同样,宜设置一个仅加入 100  $\mu\text{L}$  无抗微生物药物培养基但不接种的阴性对照孔。

#### 4.3.5 微量稀释盘的储存

充装好的微量稀释盘可以立即使用,也可以储存至不超过 3 个月或直到记录的质量控制或其他证据表明抗微生物药物降解。除非稀释盘中的抗微生物药物在较高温度时是稳定的,否则制备好的稀释盘应密封于塑料袋中迅速置于温度在  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下的环境中进行储存。

稀释盘不应存放于可自动除霜的冰箱里,融化的抗微生物药物溶液不应被复冻,因为反复冻融可加速某些抗微生物药物(特别是  $\beta$ -内酰胺类抗生素)的降解。

冷冻稀释盘从冰箱取出后,2 h 内解冻,并在 4 h 内接种。

### 4.4 接种菌液的制备

#### 4.4.1 概述

接种菌液的标准化对于肉汤稀释法抗微生物药物敏感性试验结果的准确性和可重复性是非常关键的。因此,每个分离菌株都应按照本参考程序进行纯度检查和活菌菌落计数。

#### 4.4.2 肉汤培养法

接种物可通过稀释肉汤培养物或通过用无菌接种环或棉签在非选择性琼脂培养基上过夜培养物中的选取几个形态相似的菌落(如可能)悬浮到肉汤中来制备。悬浮菌落时,应选择形态相似的菌落,以避免其他种菌的污染或同种菌的非典型变异体。

所用的肉汤不应对被测抗微生物药物有拮抗作用。接种后的肉汤置于  $(35\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$  环境中孵育直到浊度大于或等于 0.5 麦氏标准(McFarland standard),如有需要时,培养物可用生理盐水或肉汤调节浊度至 0.5 麦氏标准;这能通过光度设备(波长选取 625nm,1cm 光径的比色杯,其吸光度为 0.08~0.13)来实现,或使用合适的经校准过的比浊仪。此外,还能够用目视法,通过比较透过菌悬液和 0.5 麦氏标准悬液观察黑色线条获得相同清晰度来实现(菌悬液与 0.5 标准液应使用相同大小的试管盛装)。其他任何能给出可重复 CFU/mL 的方法也能够使用。接种菌液的终浓度应为  $5\times 10^5$  CFU/mL(目标范围为  $2\times 10^5$  CFU/mL~ $8\times 10^5$  CFU/mL)。

注: 0.5 麦氏标准能够通过将 0.5 mL 体积的 0.048 mol/L 的  $\text{BaCl}_2$  溶液(即 11.72 g/L 的  $\text{BaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶液)加至 99.5 mL 0.18 mol/L 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液中来制备,持续搅拌以维持悬浊。

#### 4.4.3 直接菌悬液法

用无菌接种环从非选择营养性琼脂培养基上挑取几个形态相似的菌落[经过  $(35\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$  环境中孵育 18 h~24 h,除非需要更长的孵育时间],悬于无菌肉汤或生理盐水中,按 4.4.2 中所描述的肉汤培养法,调节菌悬液浊度至 0.5 麦氏标准。

对于所有微生物来说,最终接种物中活细胞数(以 CFU/mL 计)取决于培养物生长阶段,此效应对



于苛养菌最为突出,如肺炎链球菌,此情况下使用陈旧培养物能显著降低菌悬液中的活细胞数量。

对于常见的相关细菌,按上述任何方法正确调节制备的菌悬液细菌量含  $1 \times 10^8$  CFU/mL  $\sim$   $2 \times 10^8$  CFU/mL。

将按上述方法制备调整好的接种物用肉汤稀释以给出最终细胞数浓度  $5 \times 10^5$  CFU/mL(目标范围为  $2 \times 10^5$  CFU/mL  $\sim$   $8 \times 10^5$  CFU/mL)。具体的稀释步骤取决于所用试验菌株和接种物分配所用的方法。对许多革兰阴性细菌(如大肠埃希菌)而言,稀释步骤为先将 0.1 mL 标准菌悬液(0.5 麦氏标准,  $1 \times 10^8$  CFU/mL)加到 9.9 mL 肉汤中,得到  $1 \times 10^6$  CFU/mL 的菌悬液(1:100 倍稀释),再将 50  $\mu$ L 此浓度的菌悬液加入微量稀释盘孔内等体积(50  $\mu$ L)抗微生物药物工作液中,菌液的终浓度即为  $5 \times 10^5$  CFU/mL。如果微量稀释盘孔中已经装有 100  $\mu$ L 抗微生物药物肉汤,在向微量稀释盘孔中添加体积不超过 10  $\mu$ L 稀释菌悬液前,宜准备恰当的稀释以使得最终接种量达到  $5 \times 10^5$  CFU/mL。根据初步试验中的菌落计数,可能需要对 0.5 麦氏标准悬浮液进行不同稀释。

#### 4.5 微量稀释盘的接种

为了保持活细胞数浓度(CFU/mL),接种菌悬液标准化后应在 30 min 内接种至微量稀释盘上。对于每孔抗微生物药物工作液量为 50  $\mu$ L 的稀释盘(见 4.3),每孔接种 50  $\mu$ L 菌液(见 4.4);而对于每孔抗微生物药物工作液量为 100  $\mu$ L 的稀释盘,则每孔接种的菌液体积最多不宜超过 10  $\mu$ L。

对试验菌悬液应进行活菌计数,以确保试验孔约含  $5 \times 10^5$  CFU/mL。应通过稀释盘接种完成后迅速从生长对照孔中取 10  $\mu$ L 用 10 mL 的肉汤或生理盐水稀释,再取此稀释终液 100  $\mu$ L 涂布到适宜的琼脂平板表面,过夜孵育后(12 h  $\sim$  18 h)进行菌落计数,每个平板菌落数量应该在 20  $\sim$  80 之间,如果菌落数量超出此范围,宜采取纠正措施,以确保适当的接种量制备。

#### 4.6 微量稀释盘的孵育

接种好的微量稀释盘在孵育之前,应密封于聚乙烯袋中,或用密封盖或用粘胶封条封住,以防止失水浓缩。为防止孵育不均匀,稀释盘叠放时高度不宜超过 4 块,叠放在顶层的稀释盘上宜覆盖单层密封盖。

除非另有规定,对大多数抗微生物药物-细菌组合微量稀释盘在(35  $\pm$  1)  $^{\circ}$ C 空气环境中孵育(18  $\pm$  2)h,不宜使用二氧化碳增强的环境。

#### 4.7 结果的判读

只有当受试菌株充分生长(即阳性生长对照孔底部出现沉淀或明显混浊)、未接种的或阴性生长对照孔(如存在)没有细菌生长、接种菌液符合纯培养且活菌浓度符合要求被确认,才可进行结果判读。每孔试验菌株的生长量和阳性生长对照孔进行比较, MIC 值记录为能完全抑制细菌可见生长的最低抗微生物药物浓度。对此也有例外情况(如利奈唑胺的终点拖尾、磺胺类药物的部分抑制、某些抑菌剂的不完全抑制),需要用户特别注意。

#### 4.8 MIC 结果可能给出不可靠结果的特殊试验情况

在某些情况下,抗微生物药物的 MIC 值可能不反映其相关活性,因此对于这些抗微生物药物试验结果的解释可能需要做适当的修改以便于临床应用。有些情况下,参考方法应进行修改,如改变孵育条件或调整培养基。另外,用标准参考稀释法进行试验时,细菌的某些耐药机制,如  $\beta$ -内酰胺酶、外排泵的表达和药物作用靶位的改变不一定总能表达,针对这些情况,对 MIC 结果的解释宜慎重,或提供其他信息以指导临床治疗。附录 D 中给出的几种抗微生物药物-细菌组合需要引起特别的关注。

## 5 质量控制

试验结果的质量通过同时进行的质控菌株来监测。储存质控菌株宜以冻干形式保存或在 $\leq -60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境中冷冻保存。质控菌株的工作培养物可通过参考菌株的储存培养物在非选择营养性琼脂培养基上传代培养获得。可进行进一步传代培养,仅可从第一代工作培养物传代,且使用时间不能超过一周。如果可获得,在进行测试的每一天至少宜测试两个相关 QC 菌株。质控培养物的试验菌落和常规培养物以相同方式处理。且各质控菌株对各抗微生物药物的 MIC 检测结果宜在最新版 CLSI M100 文件或 EUCAST 质量控制文件规定的范围内。不可能提供单一的质量控制表。培养基、参考方法、抗微生物药物粉末制造商等的差异可能会造成 QC 范围的一些差异,从而影响实验室测试结果。此外,随着时间的推移,质量控制范围可能会调整,因为新的信息变得可以获取,而这些信息并未反映在本文件中。最后,本文件中未包含的新抗微生物药物可能会增加。肉汤微量稀释抗菌药物敏感性性能的标准宜限制质量控制范围的大部分差异,但实验室和微量稀释设备制造商宜参考确认的文件,以确保遵守规定的范围。

## 附录 A

(资料性)

## Mueller-Hinton 肉汤培养基

## A.1 概述

除了二价阳离子以外的添加剂或其他附加成分,如果不是受试细菌生长所必需的,均不宜添加。

## A.2 非苛养菌的抗微生物药物敏感性试验用 Mueller-Hinton 肉汤

## A.2.1 概述

非苛养菌的抗微生物药物敏感性试验用标准培养基为 Mueller-Hinton 肉汤,配方中的基础成分如下:

- 用 300 g 牛肉制备的脱水牛肉浸膏;
- 酸水解酪蛋白 17.5 g;
- 玉米淀粉 1.5 g;
- 补足蒸馏水至 1 000 mL

pH 调至 7.2~7.4

几乎所有的 Mueller Hinton 肉汤都是由不同的制造商在商业上制备的。所有由这些制造商的干粉制备的肉汤都是相似的,并且遵循培养基的基础配方。

## A.2.2 添加的阳离子和其他成分

肉汤培养基中宜含有足够浓度的阳离子以满足细菌充分生长的需要,同时使得操作者能够确定所测得的质控菌株的 MIC 值应在 CLSI 和 EUCAST 文件中所示的相应范围中。

对新制备批的 Mueller-Hinton 肉汤培养基可接受的阳离子含量可能需要检测,具体方法可采用电感耦合等离子体(ICP)光谱法或火焰原子吸收光谱法(FAAS)。

如需添加钙离子及镁离子,先制备 10 g/L 阳离子溶液的氯化钙溶液(称取 3.68 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶于 100 mL 去离子水中)及氯化镁溶液(称取 8.36 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶于 100 mL 去离子水中),膜过滤除菌后置于 2 °C~8 °C 保存。每升肉汤培养基中加入 0.1 mL 上述 10 g/L 的阳离子溶液可使阳离子质量浓度增加 1 mg/L。在 2 °C~8 °C 条件下,边加边搅拌。

实验证明,对大部分抗微生物药物—细菌组合来说,调节培养基中的钙离子质量浓度到 20 mg/L~25 mg/L 和镁离子质量浓度到 10 mg/L~12.5 mg/L,可获得准确的质控结果。在本文件中,关于 Mueller-Hinton 肉汤中的试验指的是阳离子调整后的 Mueller-Hinton 肉汤。

对于抗菌药物敏感性试验可重现性需要对 Mueller-Hinton 肉汤的阳离子含量进行额外调整的情况,参考 A.2.3。

## A.2.3 检测特定菌属和其他抗微生物药物对标准 Mueller-Hinton 肉汤微量稀释肉汤培养基的调整

## A.2.3.1 链球菌属

链球菌药敏试验所用的 Mueller-Hinton 肉汤培养基中宜添加溶血马血至最终体积浓度为 2.5%~5%。血液宜从信誉良好和可靠的供应商那里获得,宜有红细胞压积的信息(不少于 30%)。通过无菌操作将脱纤维血和无菌蒸馏水等体积混合,在 -20 °C 条件下反复冻融直到细胞完全溶解(可能需要 5 个~7 个循环)。通过离心使溶液澄清。溶液澄清对于判读是必不可少的。溶液未能澄清可能是由于

溶血或离心不充分造成的。重复离心操作可提高溶液的澄清度。制得此溶血制备物即为体积浓度 50% 的原液。

#### A.2.3.2 磺胺类和甲氧苄啶

试验用培养基中所含的胸腺嘧啶脱氧核苷的质量浓度应小于 0.03 mg/L, 这种培养基也适用于其他抗微生物药物的敏感性试验。

#### A.2.3.3 替加环素

替加环素应在 Mueller-Hinton 肉汤培养基制备好后的 12 h 内测试, 一旦制备好, 除非在规定的 12 h 内新鲜使用, 否则微量稀释盘应冷冻。

#### A.2.3.4 脂糖肽类 [达巴万星(Dalbavancin)、特拉万星(Televancin)和奥利万星(Oritivancin)]

对于达巴万星、特拉万星和奥利万星的敏感性试验, 试验用 Mueller-Hinton 肉汤培养基中宜添加聚山梨醇酯-80(体积分数 0.002%)。

#### A.2.3.5 头孢地尔(Cefiderocol)

为了测试这种铁载体头孢菌素制剂, Mueller-Hinton 肉汤首先用铁螯合化合物消除铁。然后将培养基补充回标准浓度的钙、镁和锌。

#### A.2.3.6 葡萄球菌的苯唑西林检测

肉汤微量稀释法可能不能可靠地检测由 *mec A* 或 *mec C* 基因带来的耐药性。宜采用如下对试验的修改, 以增强对耐药性的检测:

- 在测试苯唑西林时, 在肉汤中加入最终浓度为 20 g/L 的氯化钠;
- 孵育时间满 24 h;
- 孵育温度最高 35 °C;
- 使用直接悬浮法制备细菌接种物。

对于某些菌株类型, 即使在使用这些条件时, 耐药性的表达太低, 以至于其不能在获得的 MIC 中反映出来。尤见于 *mec C* 阳性分离株。检测 *mec A* 或 *mec C* 基因是检测苯唑西林耐药的参考方法。

#### A.2.3.7 达托霉素

Mueller-Hinton 肉汤培养基应补充钙离子至终浓度 50 mg/L  $\text{Ca}^{2+}$ 。

#### A.2.3.8 碳青霉烯类

对于碳青霉烯类药物、亚胺培南和美罗培南, 已证明最终锌质量浓度宜小于 3 mg/L。其他碳青霉烯类药物最佳活性所需锌的质量浓度尚未文件化, 但宜在相同范围内。

#### A.2.3.9 糖肽类

宜培养 24 h 后读取 MIC, 以给出更一致和可靠的结果。

#### A.2.3.10 多黏菌素类(黏菌素)

虽然在过去一直是通常的做法, 但在多黏菌素类、黏菌素和多黏菌素 B 药物的测试时, 不宜在培养基中添加聚山梨醇酯-80 或其他表面活性剂。

#### A.2.4 缺少国际化的补充培养基问题

目前,还不能发现在需氧菌及兼性厌氧菌抗微生物药物敏感性参考试验及其质量控制中可能出现的所有问题。培养基对试验结果影响的某些数据存在于未经同行评议的资料中或制造商的材料中,新抗微生物药物将对培养基的“标准”制备提出挑战。操作者应确保其满足标准质量控制参数,对于所出现的新问题做国际交流,从而使本文件内容得以定期更新。已知的特定问题(例如,苛养菌的测试或世界不同地域对标准 Mueller-Hinton 肉汤的特定附加要求使得该培养基有差异)包含在附录 D 中,以使读者了解这些测试问题。

注:对于当前本文件中未包含的其他新制剂,读者可参考最新的 CLSI 和 EUCAST 文件版本以及制造商信息。

## 附录 B

(资料性)

## 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液

特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液见表 B.1。

表 B.1 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液

抗微生物药物	溶剂	稀释液
阿米卡星 (Amikacin)	水	水
阿莫西林 (Amoxicillin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
氨苄西林 (Ampicillin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 8.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 8.0
阿贝卡星 (Arbekacin)	水	水
阿维巴坦 (Avibactam)	水	水
阿奇霉素 (Azithromycin)	体积分数 95% 乙醇或冰乙酸 <sup>a</sup>	肉汤
阿洛西林 (Azlocillin)	水	水
氨曲南 (Aztreonam)	饱和碳酸氢钠溶液	水
贝西沙星 (Besifloxacin)	甲醇	水
比阿培南 (Biapenem)	质量分数 0.85% 氯化钠	质量分数 0.85% 氯化钠
卡达唑胺 (Cadazolid)	二甲基亚砜	水或肉汤
羧苄西林 (Carbenicillin)	水	水
头孢克洛 (Cefaclor)	水	水
头孢羟氨苄 (Cefadroxil)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢孟多 (Cefamandole)	水	水
头孢唑林 (Cefazolin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
头孢卡品 (Cefcapene)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0
头孢地尼 (Cefdinir)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢托仑 (Cefditoren)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢吡肟 (Cefepime)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
头孢他美 Cefetamet	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢地尔 (Cefiderocol)	生理盐水	水
头孢克肟 (Cefixime)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0
头孢甲肟 (Cefmenoxime)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.8	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.8
头孢美唑 (Cefmetazole)	水	水
头孢地嗪 (Cefodizime)	水	水
头孢尼西 (Cefonicid)	水	水
头孢哌酮 (Cefoperazone)	水	水
头孢噻肟 (Cefotaxime)	水	水

表 B.1 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液 (续)

抗微生物药物	溶剂	稀释液
头孢替坦 (Cefotetan)	二甲基亚砷	水
头孢替安 (Cefotiam)	水	水
头孢西丁 (Cefoxitin)	水	水
头孢唑兰 (Cefozopran)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0
头孢匹罗 (Cefpirome)	水	水
头孢泊肟 (Cefpodoxime)	质量浓度 0.1% 碳酸氢钠溶液	水
头孢沙定 (Cefroxadine)	0.1 mol/L 盐酸	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
头孢丙烯 (Cefprozil)	水	水
头孢洛林 (Ceftarolline)	二甲基亚砷加至总体积 30%	生理盐水
头孢他啶 (Ceftazidime)	饱和碳酸氢钠溶液 <sup>b</sup>	水
头孢特仑 (Cefteram)	1/15 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0	1/15 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0
头孢布烯 (Ceftibuten)	1/10 体积二甲基亚砷	水
头孢唑肟 (Ceftizoxime)	水	水
头孢吡普 (Ceftobiprole)	二甲基亚砷加冰乙酸 <sup>c</sup>	水, 用力涡旋
头孢洛赞 (Ceftolozane)	水或生理盐水	水或生理盐水
头孢曲松 (Ceftriaxone)	水	水
头孢呋辛 (Cefuroxime)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
头孢噻吩 (Cephalothin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢氨苄 (Cephalexin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢匹林 (Cephapirin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
头孢拉定 (Cephradine)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	水
氯霉素 (Chloramphenicol)	体积分数 95% 乙醇	水
西诺沙星 (Cinoxacin)	加半量水, 然后加 1 mol/L 氢氧化钠溶解	水
环丙沙星 (Ciprofloxacin)	水	水
克拉霉素 (Clarithromycin)	甲醇或冰乙酸 <sup>a</sup>	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.5
克拉维酸 (Clavulanic acid)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
克林沙星 (Clinafloxacin)	水	水
氯唑西林 (Cloxacillin)	水	水
克林霉素 (Clindamycin)	水	水
黏菌素 (Colistin d)	水	水
达巴万星 (Dalbavancin)	二甲基亚砷	水和二甲基亚砷 <sup>c</sup>
达托霉素 (Daptomycin)	水	水

表 B.1 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液 (续)

抗微生物药物	溶剂	稀释液
德拉沙星 (Delafloxacin)	加半量水, 然后滴加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶解	水
地贝卡星 (Dibekacin)	水	水
地红霉素 (Dirithromycin)	冰乙酸 <sup>a</sup>	水
多利培南 (Doripenem)	质量分数 0.85% 氯化钠	质量分数 0.85% 氯化钠
强力霉素 (Doxycycline)	水	水
依诺沙星 (Enoxacin)	加半量水, 用最小体积 0.1 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后加水至总体积	水
依拉环素 (Eravacycline)	水	水
厄他培南 (Ertapenem)	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2
红霉素 (Erythromycin)	体积分数 95% 乙醇或冰乙酸 <sup>a</sup>	水
法罗培南 (Faropenem)	水	水
非达霉素 (Fidaxomicin)	二甲基亚砷	水
非那沙星 (Finafloxacin)	水	水
氟罗沙星 (Fleroxacin)	加半量水, 用最小体积 0.1 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后加水至总体积	水
氟氧头孢 (Flomoxef)	水	水
氟氯西林 (Flucloxacillin)	0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0	水
磷霉素 (Fosfomicin)	水	水
夫西地酸 (Fusidic acid)	水	水
加雷沙星 (Garenoxacin)	水 (搅拌)	水
加替沙星 (Gatifloxacin)	水 (搅拌)	水
吉米沙星 (Gemifloxacin)	水	水
庆大霉素 (Gentamicin)	水	水
吉普达星 (Gepotidacin)	二甲基亚砷	水
格雷沙星 (Grepafloxacin)	水, 滴加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶解	水
艾拉普林 (Iclaprim)	二甲基亚砷	水
异帕米星 (Isepamicin)	水	水
亚胺培南 (Imipenem)	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2
交沙霉素 (Josamycin)	甲醇	水
卡那霉素 (Kanamycin)	水	水
来法莫林 (Lefamulin)	水	水
左氧氟沙星 (Levofloxacin)	半量水, 最小量 1 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后用水加至总体积	水



表 B.1 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液 (续)

抗微生物药物	溶剂	稀释液
左那氟沙星 (Levonadifloxacin)	27.5 mg/L L-精氨酸水溶液	水
林可霉素 (Lincomycin)	水	水
利奈唑胺 (Linezolid)	水	水
Linopristin-flopristin	二甲基甲酰胺 (DmF) 至 25% 终体积/水溶剂	水
洛美沙星 (Lomefloxacin)	水	水
氯碳头孢/劳拉卡比 (Loracarbef)	水	水
美西林 (Mecillinam)	水	水
美罗培南 (Meropenem)	水	水
甲氧西林 (Methicillin)	水	水
甲硝唑 (Metronidazole)	二甲基亚砷	水
美洛西林 (Mezlocillin)	水	水
米诺环素 (Minocycline)	水	水
拉氧头孢磷酸氢二铵 [Moxalactam (diammonium salt) <sup>1</sup> ]	0.04 mol/L 盐酸 (静置 1.5 h~2 h)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
莫西沙星 (Moxifloxacin)	水	水
莫匹罗星 (Mupirocin)	水	水
那库巴坦 (Nacubactam)	水	水
萘夫西林 (Nafcillin)	水	水
纳非霉素 (Nafithromycin)	半量水, 然后滴加冰乙酸溶解 (乙酸浓度不超过 2.5 mg/L)	水
萘啶酸 (Nalidixic acid)	半量水, 最小量 1 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后用水加至总体积	水
奈替米星 (Netilmicin)	水	水
硝唑尼特 (Nitazoxanide)	二甲基亚砷	水
硝羟喹啉 (Nitroxoline)	二甲基亚砷	水
呋喃妥因 (Nitrofurantoin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 8.0 或二甲基亚砷	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 8.0
诺氟沙星 (Norfloxacin)	半量水, 最小体积 0.1 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后用水加至总体积	水
氧氟沙星 (Ofloxacin)	半量水, 最小体积 0.1 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后用水加至总体积	水
甲苯磺酸奥玛 (Omadacycline)	水	水
奥利万星 (Oritavancin)	0.002% 聚山梨酯-80 水溶液	0.002% 聚山梨酯-80 水溶液
苯唑西林 (Oxacillin)	水	水

表 B.1 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液 (续)

抗微生物药物	溶剂	稀释液
奥泽沙星 (Ozenoxacin)	0.1 mol/L 氢氧化钠	水
帕尼培南 (Panipenem)	水	水
帕珠沙星 (Pazufloxacin)	水	水
培西加南 (Pexiganan)	水	水
青霉素 (Penicillin)	水	水
哌拉西林 (Piperacillin)	水	水
多粘菌素 B (Polymyxin B)	水	水
普拉米星 (Plazomicin)	水	水
普卢利沙星 (Prulifloxacin)	二甲基亚砷	水
喹奴普丁-达福普丁 (Quinupristin-dalfopristin)	水	水
雷莫拉宁 (Ramoplanin)	水	水
阿祖培南 (Razupenem)	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2
瑞来巴坦 (Relebactam)	水	水
利福平 (Rifampicin)	甲醇	水
利福昔明 (Rifaximin)	甲醇	0.1mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.4 + 0.45% 十二烷基磺酸钠
罗红霉素 (Roxithromycin)	甲醇	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 8.0
塞克硝唑 (Secnidazole)	二甲基亚砷	水
西他沙星 (Sitafloxacin)	0.1 mol/L 氢氧化钠	水
索利霉素 (Solithromycin)	冰乙酸	水
司帕沙星 (Sparfloxacin)	水	水
大观霉素 (Spectinomycin)	水	水
链霉素 (Streptomycin)	水	水
舒巴坦 (Sulbactam)	水	水
磺酰胺 (Sulphonamides)	最小体积 2.5 mol/L 氢氧化钠溶解, 然后用水加至总体积	水
磺胺甲恶唑 (Sulfamethoxazole)	半量热水和最小量 2.5 mol/L 氢氧化钠溶解	水
磺胺异恶唑 (Sulfisoxazole)	半量热水和最小量 2.5 mol/L 氢氧化钠溶解	水
舒他西林 (Sultamicillin)	甲醇	水
硫培南 (Sulopenem)	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2, 涡旋溶解	0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.2
舒罗托霉素 (Surotomycin)	水	水
他唑巴坦 (Tazobactam)	水	水
泰比培南 (Tebipenem)	水	水

表 B.1 特定抗微生物药物原液制备的溶剂和稀释液 (续)

抗微生物药物	溶剂	稀释液
特地唑胺 (Tedizolid)	二甲基亚砆 <sup>a</sup>	甲基亚砆
替考拉宁 (Teicoplanin)	水	水
替拉万星 (Telavancin)	二甲基亚砆	甲基亚砆
泰利霉素 (Telithromycin)	冰乙酸 <sup>a</sup>	水
替莫西林 (Temocillin)	水	水
四环素 (Tetracycline)	水	水
替卡西林 (Ticarillin)	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0	0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.0
替加环素 (Tigecycline)	水	水
替硝唑 (Tinidazole)	二甲基亚砆	水
噻唑尼特 (Tizoxanide)	二甲基亚砆	甲基亚砆
妥布霉素 (Tobramycin)	水	水
妥苏沙星 (Tosufloxacin)	氢氧化钠 0.1 mol/L	水
甲氧苄啶 (Trimethoprim)	0.05 mol/L 乳酸或 0.05 mol/L 盐酸, 最终 10% 体积用水	水
甲氧苄啶盐 (如乳酸盐) (Trimethoprim, if lactate)	水	水
丙大观霉素 (Trospectomycin)	水	水
法硼巴坦 (Vaborbactam)	甲基亚砆	水
万古霉素 (Vancomycin)	水	水
<p>注 1: 附录 B 中溶剂及稀释液的信息主要是经 CLSI 许可下, 源于其文件 M100 第 28 版 (抗微生物药物敏感性试验执行标准第 28 版 CLSI M100 信息增刊, 2018)。由于该信息是定期更新的, 查看自 CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA. 提供的最新版本。</p> <p>注 2: 关于所选抗微生物药物原液的溶剂及稀释液的更详细的信息, 请参考欧洲药典和美国药典。</p>		
<p><sup>a</sup> 如果用冰乙酸作为溶剂, 具体的溶解步骤为: 先加入原液总体积的一半的蒸馏水, 再逐滴加入冰乙酸直至抗微生物药物完全溶解, 乙酸在原液中的终浓度不应超过 2.5 mg/L, 冰乙酸即 99% (体积分数) 的乙酸。</p> <p><sup>b</sup> 所用无水碳酸钠的质量恰好是所用头孢他啶的 10%。碳酸钠溶解在所需的大部分水中。抗微生物药物溶解在碳酸钠溶液中, 并用水加至所需体积。该溶液尽快使用, 但不超过 25 °C 的温度能下储存 6 h。</p> <p><sup>c</sup> 每 1.5 mg 头孢吡普 (Ceftobiprole), 先加入二甲基亚砆与冰乙酸按体积比 10:1 混合的混合液 110 μL, 用涡旋振荡器剧烈振荡 1 min, 然后间歇 15 min, 用蒸馏水稀释至 1.0 mL。</p> <p><sup>d</sup> 黏菌素 (Colistin) 在抗微生物药物敏感性试验中的具体形式为黏菌素硫酸盐, 而不是黏菌素的甲基磺酸盐 (甲磺酸)。</p> <p><sup>e</sup> 达巴万星 (Dalbavancin) 起始原液的配制质量浓度不宜超过 1 600 mg/L, 中间的 100×原液浓度的储存液应用二甲基亚砆稀释起始原液获得, 最终原液为用补加有 0.002% (体积分数) 的聚山梨醇酯-80 的阳离子调整过的 Mueller-Hinton 肉汤 (CAMHB), 从而使得最终二甲基亚砆在每孔中的浓度不会超过 1%。</p> <p><sup>f</sup> 拉氧头孢磷酸氢二铵盐非常稳定, 但其中的拉氧头孢几乎全部以纯 R 型异构体存在, 而拉氧头孢的临床应用形式为 R 型与 S 型异构体的 1:1 混合物, 故拉氧头孢磷酸氢二铵盐用 0.04 mol/L 的盐酸充分溶解后应静置反应 1.5 h~2.0 h, 使其中的 R 型拉氧头孢转化为等量异构体。</p> <p><sup>g</sup> 特地唑胺 (Tedizolid) 起始原液的配制质量浓度不宜超过 1 600 mg/L, 中间的 100×原液浓度的储存液应用二甲基亚砆稀释起始原液获得, 最终原液为用阳离子调整过的 Mueller-Hinton 肉汤 (CAMHB), 从而使得最终二甲基亚砆在每孔中的浓度不会超过 1%。</p>		

## 附 录 C

(资料性)

## 肉汤稀释法敏感性试验中抗微生物药物工作液稀释系列的制备

肉汤稀释法敏感性试验中抗微生物药物工作液稀释系列的制备见表 C.1。

表 C.1 肉汤稀释法敏感性试验中抗微生物药物工作液稀释系列的制备

原液中抗微生物药物 质量浓度/(mg/L)	原液体积/mL	肉汤体积 <sup>a</sup> /mL	得到的抗微生物 药物质量 浓度/(mg/L)
5120	1	9	512
512	1	1	256
512	1	3	128
512	1	7	64
64	1	1	32
64	1	3	16
64	1	7	8
8	1	1	4
8	1	3	2
8	1	7	1
1	1	1	0.5
1	1	3	0.25
1	1	7	0.125

<sup>a</sup> 稀释所用的肉汤与敏感性试验所用相同。任何成分添加应在抗微生物药物稀释前完成以保持要求的浓度。

**附 录 D**  
(资料性)  
特殊试验情况

### D.1 概述

本附录包含一些测试情况,当使用的肉汤微稀释法国际上还没有完全标准化时,或者 Mueller-Hinton 肉汤微稀释测试可能无法提供可靠的结果的情况。然而重要的是实验室需要了解这些情况,以便收集数据,并最终将其纳入国际标准的体系。在所有情况下, Mueller-Hinton 培养基都被用作测试这些药物的基础。随着时间的推移,可能会出现其他测试情况,需要确认以将其纳入国际标准。

### D.2 特殊试验情况

#### D.2.1 苛养需氧菌和兼性厌氧菌(例如嗜血杆菌)

目前使用两种方法尚未完全比较。嗜血杆菌试验培养基由 CLSI 文件化, Mueller-Hinton 苛养菌 (MH-F) 肉汤由 EUCAST 文件化。读者要参考最新版本的 CLSI 和 EUCAST 文件,以获得有关培养基制备、测试和质量控制结果的信息。当这些方法的比较试验完成并经过验证后,本文件将被更新,以包括这些微生物的抗菌药物敏感性试验参考方法。

#### D.2.2 米西林胺(Mecillinam)

研究表明,用 Mueller-Hinton 肉汤微量稀释法做米西林胺(Mecillinam)试验会导致严重的终点拖尾,因此不推荐。琼脂稀释或纸片扩散法提供稳定的可重复结果。

#### D.2.3 磷霉素(Fosfomycin)

肉汤微量稀释法可能给出不可靠的结果,宜使用琼脂稀释法作为参考方法。试验用琼脂培养基中宜补充终浓度为 25 mg/L 的 6-磷酸-葡萄糖。

## 参 考 文 献

[1] Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 7th ed. Approved Standard M7-A7, Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA [2006].

[2] Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth microdilution. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Discussion Document E.Def 5.1. Clin Microbiol Infect, (2003), vol 9 (issue 7 insert). pp. 1-10. (see [http://www.eucast.org/documents/publications\\_in\\_journals/](http://www.eucast.org/documents/publications_in_journals/))

[3] ERICSSON, H.M., and J.C. Sherris,. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study, Acta Pathol Microbiol Scand. (1971), sect. B 217 (suppl). pp. 1-90.

[4] McFARLAND J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Amer Med Assoc. (1907), vol 49. pp. 1176-1178.

[5] MOOSDEEN, F., J.D. WILLIAMS, and A. SECKER. Standardization of inoculum size for disc susceptibility testing: a preliminary report of a spectrophotometric method. J Antimicrob Chemother. (1988), vol. 21. pp. 439-443.

[6] MUELLER, J.H., and J. HINTON. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc Soc Exper Biol Med. (1941), vol. 48. p. 330.

[7] MORRISON, G. H. In Critical Reviews in Analytical Chemistry. (1969), vol. 14 (28A), CRC Press, Boca Raton, Florida

[8] BARRY, A.L., G.H. MILLER, C. THORNSBERRY, et al. Influence of cation supplements on activity of netilmicin against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. Antimicrob Agents Chemother. (1987), vol 31. pp. 1514-1518.

[9] BARRY, A.L., L.B. RELLER, G.H. MILLER, et al. Revision of standards for adjusting the cation content of Mueller-Hinton broth for testing susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. J. Clin Microbiol. (1992), vol. 30. pp. 585-589.

[10] D'AMATO, R.F., J.M. SWENSEN, G A. McKINLEY, et al. Quantitative antimicrobial susceptibility test for *Streptococcus pneumoniae* using inoculum supplemented with whole defibrinated sheep blood. J Clin Microbiol. (1987), vol. 25. pp. 1753-1756.

[11] SWENSEN J.M., and C. THORNSBERRY. Susceptibility tests for sulfamethoxazole-trimethoprim by broth microdilution procedure. Curr Microbiol. (1978), vol. 1. pp. 189-193.

[12] BRADFORD P.A., P.J. PETERSEN, M. YOUNG, et al. Tigecycline MIC testing by broth dilution requires Use of fresh medium or addition of the biocatalytic oxygen-reducing reagent oxyrase to standardize the test method. Antimicrob Agents Chemother. (2005), vol. 49. pp. 3903-3909.

[13] RENNIE, R.P., L KOETH, R.N. JONES, et al. Factors influencing broth microdilution antimicrobial susceptibility test results for dalbavancin, a new glycopeptide agent. J. Clin. Microbiol. (2007), vol. 45. pp. 3151-3154.

[14] AKINOBU, I., T. TORU NISHIKAWA, S. MATSUMOTO, et al. Siderophore cephalosporin cefiderocol utilizes ferric iron transporter systems for antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. (2016), vol. 60. pp. 7396-7401.

[15] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 28th ed. Informational Supplement M100-S28, Wayne, PA Clinical and Laboratory Standards Institute (2018).

[16] Routine internal quality control as recommended by EUCAST European 532 Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (for the latest version see; [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/qc\\_tables](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/qc_tables)).

[17] Media preparation for EUCAST disc diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, (EUCAST). (for the latest version see; [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/media\\_preparation/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/media_preparation/))

[18] FUCHS, P.C., A.L BARRY, and S.D. BROWN, Daptomycin susceptibility tests: interpretive criteria, quality control and effect of calcium on in vitro tests. *Diag Microbiol Infect Dis.* (2000). vol. 38. pp. 51-58.

[19] DALY, J.S., R.A. DODGE, R.H. GLEW, et al. Effect of zinc concentration in Mueller-Hinton agar on susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem. *J. Clin Microbiol.* (1997), vol. 35. pp. 1027-1029.

[20] SKOV, R., N. FRIMOT-MOLLER, P. MENDAY, et al. Susceptibility testing of urinary isolates of *Escherichia coli* to mecillinam using NCCLS methodology. *International J Antimicrob Agents.* (2005), vol. 25. pp. 198-202.

---

中华人民共和国医药  
行业标准  
感染病原体敏感性试验与抗微生物  
药物敏感性试验设备的性能评价  
第1部分:抗微生物药物对感染性  
疾病相关的快速生长需氧菌的体外  
活性检测的肉汤微量稀释参考方法  
YY/T 0688.1—2023/ISO 20776-1:2019

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
各地新华书店经销

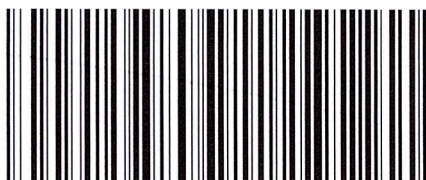
\*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 46 千字  
2023年3月第一版 2023年3月第一次印刷

\*

书号:155066·2-37035 定价 36.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换  
版权专有 侵权必究  
举报电话:(010)68510107



YY/T 0688.1-2023



码上扫一扫 正版服务到