



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1728—2021/ISO 16256:2012

临床实验室检测和体外诊断系统 感染性疾病相关酵母样真菌抗菌剂的 体外活性检测参考方法

Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems—
Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial
agents against yeast fungi involved in infectious diseases

(ISO 16256:2012, IDT)

2021-03-09 发布

2022-04-01 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 术语和定义 | 1 |
| 3 试验程序 | 3 |
| 3.1 概述 | 3 |
| 3.2 培养基 | 4 |
| 3.3 抗真菌剂 | 4 |
| 3.4 微量稀释盘的储存 | 7 |
| 3.5 接种菌液的制备 | 7 |
| 3.6 微量稀释盘的接种 | 8 |
| 3.7 微量稀释盘的孵育 | 8 |
| 3.8 MIC 结果读取 | 8 |
| 3.9 MIC 值的解释 | 9 |
| 4 质量控制(QC) | 9 |
| 附录 A (资料性附录) RPMI-1640 培养基 | 13 |
| 附录 B (资料性附录) 0.5 麦氏硫酸钡浊度标准 | 16 |
| 附录 C (资料性附录) 肉眼 MIC 判读程序 MIC 解释的可接受判读时间 | 17 |
| 参考文献 | 18 |

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用翻译法等同采用 ISO 16256:2012《临床实验室检测和体外诊断系统 感染性疾病相关酵母样真菌抗菌剂的体外活性检测参考方法》。

本标准做了下列编辑性修改：

——为便于理解条款，增加了部分注释。

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这些专利的责任。

本标准由国家药品监督管理局提出。

本标准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。

本标准主要起草单位：北京市医疗器械检验所、山东省医疗器械产品质量检验中心、赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

本标准主要起草人：毕春雷、杨忠、王文庆、秦冬立、洪梅。

引 言

抗菌剂体外敏感性试验通常是针对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菌剂可能表现出获得性耐药性的微生物种属。该试验在耐药性监测、敏感性的流行病学研究以及新抗菌剂与现有抗菌剂之间的比较等方面也很重要。

稀释法常被用来测定抗菌剂的最小抑菌浓度(MIC, minimum inhibitory concentration),并代表抗真菌剂敏感性试验的参考方法。MIC法通常用于耐药性监测、为研究和注册目的新抗菌剂的比较性研究、为常规试验产生不明确结果的微生物确立敏感性、常规试验可能不可靠的微生物的试验以及临床需要定量结果的情况。在稀释法测试中,通过检测微生物在含有系列稀释浓度抗菌剂的一系列琼脂平板(琼脂稀释法)上或肉汤(肉汤稀释法)中的能否产生可见生长的情况来确定。

抗菌剂的最小抑菌浓度(MIC值)是指在规定的体外试验条件下,在规定的时间内,能抑制某特定微生物出现肉眼可见或光学可测量生长的抗菌剂的最低浓度(以mg/L为单位)。MIC值指导临床医师了解微生物对抗菌剂的敏感性,从而帮助他们做出治疗决策。由于所用方法可能影响试验结果,为了确保实验室内和空间结果的重现性,实验室需要进行严格的质量控制及标准化。通常认为肉汤稀释法的检测结果(MIC值)在MIC真实终点上下一个倍比稀释度内(即倍比稀释系列的±1个孔或管)是具有重现性的。

肉汤稀释法是一种向含浓度递增(通常是两倍)的抗菌剂的相同体积肉汤的一系列容器中接种已知数量微生物的技术。

肉汤微量稀释法指的是在微量稀释盘上进行的肉汤稀释试验。

本标准所描述的参考方法适用于酵母样真菌的纯培养物的检测。本标准所描述的肉汤微量稀释法与临床和实验室标准化研究院(CLSI)^[1]以及欧洲抗菌剂敏感性试验委员会(EUCAST)^[2]所用的方法实质上是等同的。这些方法显示给出的氟康唑MIC实际上也是相同的,如果不是完全一致,最大差异在2mg/L内^[3]。用其他各种抗真菌剂所做的研究已经列入计划或进行中。希望使用本标准来进行新的抗真菌剂研究,或作为与诊断器械给出MIC结果相比较的参考方法的实验室,宜基于确定MIC读数结果是通过肉眼检查(CLSI方法),还是使用光度法(EUCAST方法)来选择使用哪个程序选项,在任何一种情况下所选程序的细节必须严格遵守。

临床实验室检测和体外诊断系统 感染性疾病相关酵母样真菌抗菌剂的 体外活性检测参考方法

警告——使用本标准可能涉及危险性材料、操作和设备。本标准无意陈述使用本标准所涉及的所有安全问题。使用本标准前,使用者有责任建立适当的安全和健康措施并确定法规限制的适用性。

1 范围

本标准描述了检测酵母样真菌抗真菌药物的敏感性的方法,包括引起感染的念珠菌属和新型隐球菌。这里描述的参考方法还未用于双相型真菌的酵母型菌研究,如皮炎芽生菌和/或荚膜组织胞浆菌荚膜变种。另外在检测丝状真菌(霉菌)标准化中涉及几个未在当前程序阐述的其他问题。丝状真菌肉汤稀释法抗真菌剂药敏试验参考方法已经制定。现在可使用的文件为 CLSI M38 和 EUCAST E.DEF 9.1^[4-8]。

本标准描述的肉汤微量稀释参考法可通过两种途径之一实现,第一种途径通过肉眼确定 MIC (CLSI 方法)^[1],第二种途径通过光度法确定 MIC (EUCAST 方法)^[2]。MIC 反映了在规定试验条件下药物的活性,并在考虑到其他因素下对临床管理目的进行解释,如药物的药理学或抗真菌耐药机制。MIC 结果解释可被分为“敏感”(S)、“剂量依赖性敏感”(S-DD)、“中介”(I)、“非敏感”(NS)或“耐药”(R)。另外 MIC 分布可用于确定野生型或非野生型真菌群落。MIC 值的临床解释不在本标准的范围。对应于 CLSI 方法和 EUCAST 衍生方法的解释性分类折点可查询相应机构提供的最新解释表^[2,9]。推荐常规敏感性试验方法或诊断检验器械与此参考方法进行比较,以保证验证或注册时结果的可比性和可靠性。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

抗真菌剂 antifungal agent

一类可以抑制或杀死真菌,可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。

2.2

抗真菌剂-属性 antifungal agents-properties

2.2.1

效价 potency

受试物活性部分所占比例,通过生物分析方法与相同物质的参考品比较而确定。

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。

2.2.2

浓度 concentration

抗真菌剂在规定体积液体中的量。