

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

团 体 标 准

T/CVMA XXXXX—XXXX

动物及其制品中细菌耐药性的测定 琼脂扩散法

Determination of Bacterial Resistance in Animals and Their Products

Agar Diffusion Method

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中国兽医协会 发布

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。

本文件由中国兽医协会提出并归口。

本文件起草单位：中国农业大学动物医学学院、新疆农业大学动物医学学院

本文件主要起草人：夏利宁、蔡建星、轩慧勇、王莘莘、郝智慧、胡龙飞



动物及其制品中细菌耐药性的测定 琼脂扩散法

1 范围

本文件规定了动物及其制品中细菌耐药性的测定琼脂扩散法的术语和定义、原理、试剂或耗材、抗菌药物的确定、菌株的选择、抗菌药物琼脂扩散法试验、结果判定的要求。

本文件适用于动物及其制品中分离的葡萄球菌、大肠埃希氏菌、沙门氏菌和肠球菌等常见细菌耐药性的检测，其他来源细菌的耐药性测定可参考本方法执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验

GB/T 4789.6 食品卫生微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验

DB 51/T 2083 动物源性肠球菌分离鉴定操作规程

3 术语和定义

以下术语和定义适用于本文件。

3.1

最低抑菌浓度 Minimal inhibitory concentration; MIC

在琼脂或肉汤稀释法药物敏感性检测试验中能抑制肉眼可见的微生物生长的最低抗菌药物浓度。

3.2

琼脂扩散法 Agar Diffusion Method

将不同剂量的抗菌药物，分别加于高压并冷至 50 °C~60 °C 的定量琼脂培养基中，混匀，倾注成无菌平板，即为含有药物浓度递减的培养基，接种测试菌于该培养基上，经培养后观察被检菌生长情况，最低药物抑制细菌生长者，即最小抑菌浓度（MIC）。

4 试剂与材料

4.1 生理盐水，7.5%

4.2 水，符合 GB/T 6682 二级水的要求

4.3 甲醇

4.4 NaOH

4.5 磷酸盐缓冲液，pH 6.0

5 器材与耗材

5.1 微量移液器：0.1 μL~2.5 μL，0.5 μL~10 μL，1 μL~100 μL，100 μL~1000 μL

- 5.2 电子天平
- 5.3 自动压力蒸汽灭菌器
- 5.4 电热恒温干燥箱
- 5.5 超净工作台
- 5.6 八道移液器 (0.5 uL -10 uL): 温度精确 1 °C
- 5.7 分析天平: 感量为 0.0001 g 和 0.01 g
- 5.8 分光光度计: 波长范围为 190 nm~900 nm
- 5.9 平皿: 直径为 90 mm, 底部平整
- 5.10 高速冷冻离心机
- 5.11 冰箱
- 5.12 PCR 扩增仪
- 5.13 电泳成套设备
- 5.14 凝胶成像系统
- 5.15 超纯水仪
- 5.16 恒温培养箱: 温度精确 1 °C
- 5.17 瓶口移液器: 5 mL~50 mL
- 5.18 48 孔板重复铺板器

6 培养基的确定

- 6.1 营养肉汤培养基 (NB) 符合附录 A.1 的规定。
- 6.2 营养肉汤琼脂, 符合附录 A.2 的规定。
- 6.3 Mueller-Hinton 琼脂 (MH 肉汤) 培养基, 符合附录 A.3 的规定。
- 6.4 MH 肉汤培养基 (Mueller-Hinton Broth, MH (B)), 符合附录 A.4 的规定。
- 6.5 BP (Baird-Parker) 琼脂, 符合附录 A.5 的规定。
- 6.6 亚硫酸铋卵黄增菌液, 符合附录 A.6 的规定。
- 6.7 琼脂粉, 符合附录 A.7 的规定。
- 6.8 麦康凯培养基, 符合附录 A.8 的规定。
- 6.9 氯化镁孔雀绿增菌液 (MM), 符合附录 A.9 的规定。
- 6.10 SS (Salmonella Shigella Agar, SS) 琼脂, 符合附录 A.10 的规定。
- 6.11 沙门氏菌显色培养基, 符合附录 A.11 的规定。
- 6.12 BHI 肉汤, 符合附录 A.12 的规定。
- 6.13 胰酪胨大豆琼脂 (TSA), 符合附录 A.13 的规定。

7 抗菌药物的确定

7.1 选择兽医临床常规使用并报告的基本抗菌药物, 以及治疗效果较好的抗菌药物, 结合当地的病原菌特征和用药规定、实验室条件等来确定, 并且予以补充。

8 菌株的选择

8.1 实验菌株

8.1.1 主要分为质控菌株和临床分离的病原菌株。

8.2 质控菌株包括:

8.2.1 大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) ATCC25922;

8.2.2 大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) ATCC35218 (仅用于 β -内酰胺酶抑制剂复合药物的质

控);

8.2.3 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC29213;

8.2.4 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC43300 (仅用于耐甲氧西林/苯唑西林的金黄色葡萄球菌测定);

8.2.5 粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) ATCC29212;

8.3 使用稳定的质控菌株, 传代不得超过 5 代。

8.4 病原菌株: 送检的待测菌株在血平板上于 37 °C±1 °C 恒温培养箱培养 16 h~24 h, 选择符合被检菌特性的细菌进行药物敏感性试验。

8.5 当病原菌出现耐药性时, 应进行药敏试验; 已确定为敏感的菌株, 不必进行药敏试验。

9 测定方法

9.1 细菌的培养、分离和鉴定

9.1.1 金黄色葡萄球菌的增菌培养、分离和鉴定按 GB 4789.10 进行。

9.1.2 沙门氏菌的增菌培养、分离和鉴定按 GB 4789.4 进行。

9.1.3 大肠埃希氏菌的增菌培养、分离和鉴定按 GB/T 4789.6 进行。

9.1.4 肠球菌的增菌培养、分离和鉴定按 DB51/T 2083 进行。

9.1.5 经鉴定为金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠埃希氏菌和肠球菌的菌株移种到胰酪胨大豆琼脂 (TSA) 平板上, 37 °C±1 °C 培养 16 h~24 h。若不能及时进行耐药性测定, 应置 0 °C~4 °C 冰箱保存。耐药性测定前传代。

9.2 琼脂扩散法试验

9.2.1 抗菌药物的制备和储存稀释

9.2.1 抗菌药物母液的制备和保存

9.2.1.1 采用无菌试管稀释抗菌药物, 试管口应封闭, 利用二倍稀释法稀释抗菌药物, 按照附录 B 操作。

9.2.1.2 将制备好的试剂在 0.22 μm 微孔滤膜除菌或高压灭菌, 储备液置于 -80 °C 保存备用。

9.2.1.3 阿莫西林/克拉维酸、庆大霉素、阿米卡星、氧氟沙星、氟苯尼考、四环素、克林霉素、利福平、环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星、头孢噻唑、氨苄西林、安普霉素、卡那霉素、多黏菌素、氯霉素、红霉素、米诺霉素、多西环素、利奈唑胺和万古霉素保存母液浓度为 5120 μg/mL, -80 °C 冰箱备用; 利用蒸馏水稀释终浓度为 320 μg/mL, -20 °C 冰箱备用。

9.2.2 抗菌药物的稀释

9.2.2.1 选择合适的抗菌药物稀释液进行药物稀释, 稀释液需要量按照公式计算。公式如下: 稀释液体积=抗菌药物实际称量×效价/抗菌药物保存液浓度, 按照附录 B 操作。

9.3 待测菌株的制备

9.3.1 菌悬液制备

9.3.1.1 将质控菌株与待测菌株分别接种于 MH 琼脂平板并置于 37 °C±1 °C 恒温培养箱培养 16 h~24 h, 挑选 1 个~2 个典型单菌落用无菌接种环接 1 环加到 10 mL 生理盐水, 用比浊仪将菌液调至 0.5 麦氏单位 (此时菌液浓度为 10⁸ CFU/mL), 再用灭菌 MH 肉汤将菌液稀释 100 倍至 10⁶ CFU/mL 备用。

9.4 检测琼脂平板制备

9.4.1 高压琼脂培养基

9.4.1.1 高压灭菌 MH 琼脂培养基，待冷却到 50 °C~60 °C，备用。

9.4.2 抗菌药物的稀释

9.4.2.1 取灭菌的 90 mm 平板 36 个，用灭菌蒸馏水将药物依次倍比稀释成 320 µg/mL、160 µg/mL、80 µg/mL、40 µg/mL、20 µg/mL、10 µg/mL、5 µg/mL、2.5 µg/mL、1.25 µg/mL、0.625 µg/mL、0.3125 µg/mL、0.15625 µg/mL 12 个浓度梯度，每种浓度 3 个平行。药液现用现配。

9.4.3 制备含有抗菌药物的平皿

9.4.3.1 首先在 12 个灭菌平板内平皿边侧依次标记 32 µg/mL、16 µg/mL、8 µg/mL、4 µg/mL、2 µg/mL、1 µg/mL、0.5 µg/mL、0.25 µg/mL、0.125 µg/mL、0.0625 µg/mL、0.03125 µg/mL、0.015625 µg/mL，用 5 mL 移液器吸取 1.5 mL 不同浓度梯度的药液加至平皿内。

9.4.3.2 然后用瓶口移液器移取已经冷却至 50 °C~60 °C 的 MH 培养基 13.5 mL 缓慢加入上述加药的平皿中轻轻摇匀（加入平皿中的琼脂不可有小气泡，如有小气泡，用移液器将气泡戳破尽量转移至平皿壁边上），使平皿内药液终浓度依次为 320 µg/mL、160 µg/mL、80 µg/mL、40 µg/mL、20 µg/mL、10 µg/mL、5 µg/mL、2.5 µg/mL、1.25 µg/mL、0.625 µg/mL、0.3125 µg/mL、0.15625 µg/mL 12 个浓度梯度。

9.4.3.3 待琼脂自然冷却后，盖上平皿，加药琼脂平皿配制完成。

9.4.3.4 同时需准备 1 个无药的 MH 琼脂平板做阴性对照，确保整个实验是无菌操作。

9.4.3.5 所有药物平板应保持表面干燥，不可有肉眼可见的水珠。

9.4.4 菌液的制备

9.4.4.1 将 9.3.1 制备的菌悬液混合均匀，按照下图顺序一个 96 孔培养板加 28 个菌样，每个孔加 200 µL 菌液，阳性对照选择大肠杆菌（ATCC25922）或金黄色葡萄球菌（ATCC29213）或肠球菌（ATCC29212），阴性对照只加 200 µL MH 肉汤。

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| A | 样品1 | 样品3 | 样品6 | 样品9 | 样品11 | 样品14 | 样品15 | 样品17 | 样品20 | 样品23 | 样品25 | 样品28 |
| B | 样品1 | 样品4 | 样品6 | 样品9 | 样品12 | 样品14 | 样品15 | 样品18 | 样品20 | 样品23 | 样品26 | 样品28 |
| C | 样品1 | 样品4 | 样品7 | 样品9 | 样品12 | 阳性对照 | 样品15 | 样品18 | 样品21 | 样品23 | 样品26 | 阳性对照 |
| D | 样品2 | 样品4 | 样品7 | 样品10 | 样品12 | 阳性对照 | 样品16 | 样品18 | 样品21 | 样品24 | 样品26 | 阳性对照 |
| E | 样品2 | 样品5 | 样品7 | 样品10 | 样品13 | 阳性对照 | 样品16 | 样品19 | 样品21 | 样品24 | 样品27 | 阳性对照 |
| F | 样品2 | 样品5 | 样品8 | 样品10 | 样品13 | 阴性对照 | 样品16 | 样品19 | 样品22 | 样品24 | 样品27 | 阴性对照 |
| G | 样品3 | 样品5 | 样品8 | 样品11 | 样品13 | 阴性对照 | 样品17 | 样品19 | 样品22 | 样品25 | 样品27 | 阴性对照 |
| H | 样品3 | 样品6 | 样品8 | 样品11 | 样品14 | 阴性对照 | 样品17 | 样品20 | 样品22 | 样品25 | 样品28 | 阴性对照 |

图 1 96 孔培养板加样图

9.4.5 48 孔板重复铺板器铺板

9.4.5.1 用图 2 48 孔板重复铺板器按图 3 琼脂板菌液铺板图示铺菌液。

9.4.5.2 48 孔板铺板器底座是直径为 3mm 的 48 个圆柱体套管，套管长 3/4 英寸，直径 0.125 英寸。

9.4.5.3 所有套管都为圆形。确保铺到药物平板上的菌液量是相同的。

9.4.5.4 质控菌株作为阳性对照，空白 MH 肉汤作为阴性对照。

9.4.5.5 铺板是从标记为 0.015625 $\mu\text{g/mL}$ 、0.03125 $\mu\text{g/mL}$ 、0.0625 $\mu\text{g/mL}$ 、0.125 $\mu\text{g/mL}$ 、0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、4 $\mu\text{g/mL}$ 、8 $\mu\text{g/mL}$ 、16 $\mu\text{g/mL}$ 、32 $\mu\text{g/mL}$ 的低浓度到高浓度的平板顺序铺菌液，铺板结束将平板正放 15min~20min 待菌液凝固后，倒置 37°C \pm 1°C 恒温培养箱培养 16 h~24 h。



图 2 48 孔板重复铺板器图

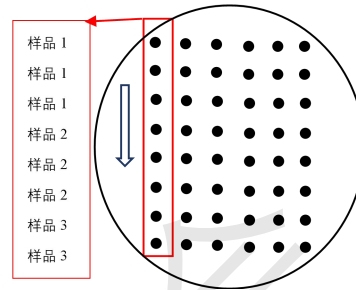


图 3 样品菌液铺满琼脂平板

10 结果判定

10.1 按 CLSI M100-S21 2020^[1] 标准判断结果如果在 MIC 判断终点，金黄色葡萄球菌 ATCC29213 和大肠埃希氏菌 ATCC25922 为质控菌株和病原菌相应的耐药、中介、敏感值符合附录 C 的规定。

10.2 药物敏感性试验结果读取时：平板应置于黑色不反光的表面上，记录 MIC 值，单个小点状菌落或接种物所致的轻微不清晰的菌落可忽略不计。

10.3 如果在 MIC 值终点附近持续存在多个菌落，也就是有俗称的跳孔现象：如若存在一个跳孔现象，应读最高的 MIC；多个跳孔时则不能报告结果，需重新做药物敏感性试验。

10.4 如果出现菌液低浓度不生长，高浓度生长的现象，首先考虑铺菌液的时候是否按照低浓度到高浓度的顺序制备，其次就是菌液的浓度是否调整至同一水平也就是 0.5 麦氏浊度，调整这两个方面的内容后，重新做药物敏感性试验。

参考文献

[1] CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020

附录 A
(资料性)
相关试剂的配制

A.1 营养肉汤培养基 (Nutrient Broth, NB)

A.1.1 成分

| 名称 | 数量 |
|-----|---------|
| 蛋白胨 | 5.0 g |
| 牛肉膏 | 3 g |
| 氯化钠 | 5 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.1.2 制备

将各成加入 1000 mL 灭菌蒸馏水中，煮沸溶解，调节 pH 值至 7.2~7.4，于高压蒸汽灭菌器中，121 °C 士 1°C 灭菌 20 min。

A.2 营养琼脂

A.2.1 成分

| 名称 | 数量 |
|-----|---------|
| 蛋白胨 | 5.0 g |
| 牛肉膏 | 3 g |
| 氯化钠 | 5 g |
| 琼脂 | 15 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.2.2 制备

称取本品 33g，加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中，分装三角瓶，121 °C 高压灭菌 15 min，备用。

A.3 Mueller-Hinton 琼脂 (MH 琼脂) 培养基

A.3.1 成分

| 名称 | 数量 |
|--------|---------|
| 牛肉粉 | 2.0 g |
| 可溶性淀粉 | 1.5 g |
| 酸水解酪蛋白 | 17.5 g |
| 琼脂 | 15g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.3.2 制备

准确称取牛肉粉 2.0 g, 可溶性淀粉 1.5 g, 酸水解酪蛋白 17.5 g, 琼脂 15g, 量取 1000 mL 蒸馏水, 使用搅拌器搅拌使其完全溶解, 使用 pH 酸度计测定 pH 值(pH 要求 7.2~7.6), 置于 121°C, 20 min 高压灭菌。

A.4 Mueller-Hinton 肉汤 (MH 肉汤) 培养基

A.4.1 成分

| 名称 | 数量 |
|--------|---------|
| 牛肉粉 | 2.0 g |
| 可溶性淀粉 | 1.5 g |
| 酸水解酪蛋白 | 17.5 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.4.2 制备

精确称取 MH 肉汤培养基粉末 24 g, 纯水完全溶解后, 定容至 1 L, 121 °C 高压灭菌 20 min 备用。

A.5 BP (Baird-Parker) 琼脂

A.5.1 成分

| 名称 | 数量 |
|------|---------|
| 胰蛋白胨 | 10.0 g |
| 牛肉浸粉 | 5 g |
| 酵母浸粉 | 1 g |
| 丙酮酸钠 | 10 g |
| 甘氨酸 | 12 g |
| 氯化理 | 5 g |
| 琼脂 | 20 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.5.2 制备

精确称取本品 63 g, 加热溶解与 950 mL 蒸馏水, 分装每瓶 95 mL, 121 °C 高压灭菌 15 min。临用前加热融化琼脂, 冷却至 50 °C 左右, 与每 95 mL 培养基中加入常温解冻的卵黄亚碲酸钾增菌剂 5 mL 摇匀后倾入无菌平皿备用。

A.6 亚硫酸铋卵黄增菌液

每 95 mL Baird-Parker 琼脂基础添加 1 支亚硫酸铋卵黄增菌液。

A.7 琼脂粉

配制固体培养基时加入本品含量约为 1.2%~15% 配制半固体培养基时，加入本品含量约为 0.3%~0.6%。

A.8 麦康凯培养基

A.8.1 成分

| 名称 | 数量 |
|-----|----------|
| 蛋白胨 | 20.0 g |
| 乳糖 | 10 g |
| 牛胆盐 | 5 g |
| 氯化钠 | 5 g |
| 中性红 | 0.0075 g |
| 琼脂 | 12 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.8.2 制备

称取本品 52.0 g，加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中，121 °C 高压灭菌 15 分钟，备用。

A.9 氯化镁孔雀绿增菌液 (MM)

A.9.1 成分

| 名称 | 数量 |
|-------|---------|
| 蛋白胨 | 4.5 g |
| 氯化镁 | 16.8 g |
| 氯化钠 | 7.2 g |
| 磷酸二氢钾 | 1.44 g |
| 孔雀绿 | 0.036 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.9.2 制备

称取本品 30 g，加入蒸馏水 1000 mL，搅拌加热煮沸至完全溶解，分装三角瓶，121 °C 高压灭菌 15 min。

A.10 SS 琼脂

A.10.1 成分

| 名称 | 数量 |
|------|--------|
| 牛肉浸粉 | 20.0 g |
| 月示胨 | 10 g |

| | |
|-------|----------|
| 乳糖 | 5 g |
| 三号胆盐 | 5 g |
| 枸橼酸盐 | 8.5 g |
| 硫代硫酸钠 | 8.5 g |
| 枸橼酸铁 | 1 g |
| 中性红 | 0.025 g |
| 煌绿 | 0.00033g |
| 琼脂 | 17.0 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.10.2 制备

称取本品 63.53 g，溶解于 1000 mL 蒸馏水中，加热煮至沸，不必高压蒸气灭菌，冷至 45 °C~50 °C，倒成平板。

A.11 沙门氏菌显色培养基

A.11.1 成分

| 名称 | 数量 |
|--------|--------|
| 特殊营养物质 | 21.0 g |
| 显色剂 | 0.25 g |
| 琼脂 | 15 g |
| 蒸馏水 | 200 mL |

A.11.2 制备

称取本品 7.26 g 加入 200mL 蒸馏水，加入添加剂 3 mL，加热煮沸溶解并不停搅拌，加热 1 min~2 min。使用 pH 酸度计测定 pH 值（pH 要求 7.2~7.6），冷却至 45 °C~50 °C 时，倾入无菌平皿。

A.12 BHI 肉汤

A.12.1 成分

| 名称 | 数量 |
|---------|-------|
| 牛脑浸粉 | 4.0 g |
| 牛肉浸粉月示脲 | 4.0 g |
| 蛋白胨 | 5 g |
| 酪蛋白胨 | 16 g |
| 葡萄糖 | 2 g |
| 氯化钠 | 5 g |
| 磷酸氢二钠 | 2.5 g |

| | |
|-----|---------|
| 琼脂 | 13.5 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.12.2 制备

称取本品 52.0 g，加热搅拌溶解于 1000 mL 蒸馏水中，121 °C 高压灭菌 15 分钟，备用。

A.13 胰酪胨大豆琼脂（TSA）

A.13.1 成分

| 名称 | 数量 |
|------|--------|
| 胰蛋白胨 | 15 g |
| 大豆胨 | 5 g |
| 氯化钠 | 5 g |
| 琼脂 | 15 g |
| 蒸馏水 | 200 mL |

A.13.2 制备

称取本品 40.0 g，加热搅拌溶解于 1000 mL 蒸馏水中，121 °C 高压灭菌 15 分钟，备用。

附录 B
(资料性)
抗菌药物母液制备

| 抗菌药物 | 溶剂 | 母液浓度 μg/mL | 终浓度 μg/mL |
|---------------|---|---------------|--------------|
| 阿莫西林/ 克拉维酸 | pH6.0 磷酸盐缓冲液 | 5120 | 320 |
| 庆大霉素 | 蒸馏水 | 5120 | 320 |
| 阿米卡星 | 蒸馏水 | 5120 | 320 |
| 氧氟沙星 | 1/2 的水, 最少量体积的 1mol/L 的 NaOH 溶解, 用水 添加至所需要的体积 | 5120 | 320 |
| 氟苯尼考 | 蒸馏水 | 5120 | 320 |
| 四环素 | 蒸馏水 | 5120 | 320 |
| 克林霉素 | 蒸馏水 | 5120 | 320 |
| 利福平 | 甲醇 | 5120 | 320 |
| 环丙沙星 | 蒸馏水 | 5120 | 320 |
| 诺氟沙星 | 加入 5 ml 蒸馏水, 之后滴加 1 ml/L 的 NaOH 直到溶 解, 再用灭菌蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 恩诺沙星 | 加入 5 ml 蒸馏水, 之后滴加 1 ml/L 的 NaOH 直到溶 解, 再用灭菌蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 头孢噻唑 | pH 6.0 的 0.1 mol/L 磷酸缓盐冲液进行溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 氨苄西林 | pH 8.0 的 0.1 mol/L 磷酸缓盐冲液助溶, 再用 pH 6.0 的 0.1 mol/L 磷酸缓盐冲液进行溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 安普霉素 | 使用灭菌蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 卡那霉素 | 使用灭菌蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 多黏菌素 | 使用灭菌蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 氯霉素 | 95%乙醇溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 红霉素 | 95%乙醇溶解, 蒸馏水定容 | 5120 | 320 |
| 多西环素 | 蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 米诺环素 | 蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |
| 利奈唑胺 | 95%乙醇溶解, 蒸馏水定容 | 5120 | 320 |
| 万古霉素 | 蒸馏水溶解并定容 | 5120 | 320 |

附录 C
(资料性)

质控菌株测试范围和判定标准

| 类别 | 药物名称 | ATCC 29212 ($\mu\text{g/mL}$) | ATCC 29213 ($\mu\text{g/mL}$) | ATCC 25922 ($\mu\text{g/mL}$) |
|---------------|------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 青霉素类 | 氨苄西林 | 0.5-2 | 0.5-2 | 2-8 |
| 耐酶青霉素类 | 苯唑西林 | 0.015-0.06 | 0.12-0.5 | 2-8 |
| 头孢烯类 | 头孢噻吩 | - | - | 0.25-1 |
| 苯丙醇类 | 氯霉素 | 4-16 | 2-16 | 2-8 |
| 酰胺醇类 | 氟苯尼考 | 2-8 | 2-8 | 2-8 |
| 大环内酯类 | 红霉素 | 1-4 | 0.25-1 | - |
| 氨基糖苷类 | 阿米卡星 | 64-256 | 1-4 | 0.5-4 |
| | 庆大霉素 | - | 0.12-1 | 0.25-1 |
| 四环素类 | 四环素 | 8-32 | 0.12-1 | 0.5-2 |
| | 多西环素 | 2-8 | 0.12-0.5 | 0.5-2 |
| | 米诺环素 | 1-4 | 0.06-0.5 | 0.25-1 |
| 噁唑烷酮类 | 利奈唑胺 | 1-4 | 1-4 | 0.5-2 |
| 糖肽类 | 万古霉素 | 1-4 | 0.5-2 | 4-8 |
| β -内酰胺类 | 阿莫西林 | - | 0.12-0.5 | 2-8 |
| 氨基糖苷类 | 安普霉素 | - | - | 2-16 |
| | 卡那霉素 | 16-64 | - | 1-4 |
| 多肽类 | 多黏菌素 | - | - | 0.25-2 |
| 安沙霉素类 | 利福平 | 0.5-4 | 0.004-0.016 | - |
| 林可霉素类 | 克林霉素 | - | 0.06-0.25 | - |
| 喹诺酮类 | 环丙沙星 | 0.25-2 | 0.12-0.5 | 0.004-0.015 |
| | 诺氟沙星 | 2-8 | - | 0.004-0.015 |
| | 恩诺沙星 | - | 0.03-0.125 | 0.008-0.03 |

注：氟苯尼考和阿莫西林/克拉维酸属于动物专用兽药，参考地方标准 DB31/T 1160 畜禽养殖过程细菌耐药性监测技术规范里的折点数值；“-”代表无。

试验菌株测试范围和判定标准 (μg/mL)

| 类别 | 药物名称 | 肠球菌 MIC | | | 金葡 MIC | | | 大肠 MIC | | | 沙门 MIC | | |
|--------|------|---------|------|-----|--------|----------|------|--------|--------|-----|--------|-------|-----|
| | | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R |
| 青霉素类 | 氨苄西林 | ≤8 | - | ≥16 | ≤0.25 | 0.25-0.5 | ≥0.5 | ≤16 | 32 | ≥64 | ≤8 | 16 | ≥32 |
| 耐酶青霉素类 | 苯唑西林 | ≤8 | 16 | ≥32 | ≤16 | - | ≥32 | ≤8 | 16 | ≥32 | -- | -- | -- |
| 头孢烯类 | 头孢噻吩 | ≤8 | 16 | ≥32 | - | 16 | ≥32 | ≤8 | 16 | ≥32 | ≤8 | 16 | ≥32 |
| 苯丙醇类 | 氯霉素 | ≤2 | 4 | ≥8 | - | 16 | ≥32 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| 酰胺醇类 | 氟苯尼考 | ≤0.5 | 1-4 | ≥8 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤16 | - | ≥32 | ≤16 | - | ≥32 |
| 大环内酯类 | 红霉素 | ≤16 | 32 | ≥64 | ≤0.5 | 0.5-8 | ≥8 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| 氨基糖苷类 | 阿米卡星 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤16 | 32 | ≥64 | ≤16 | 32 | ≥64 | ≤16 | 32 | ≥64 |
| | 庆大霉素 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤4 | 8 | ≥64 | ≤4 | - | ≥8 | ≤4 | - | ≥8 |
| 四环素类 | 四环素 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤4 | 8 | ≥16 |
| | 多西环素 | ≤2 | 4 | ≥8 | - | 8 | ≥16 | ≤4 | 8 | ≥16 | -- | -- | -- |
| | 米诺环素 | ≤4 | 8-16 | ≥32 | - | 8 | ≥16 | ≤4 | 8- | ≥16 | -- | -- | -- |
| 噁唑烷酮类 | 利奈唑胺 | ≤1 | 2 | ≥4 | ≤4 | - | - | ≤1 | 2 | ≥4 | -- | -- | -- |
| 糖肽类 | 万古霉素 | ≤16 | 32 | ≥64 | ≤2 | - | - | ≤16 | 32 | ≥64 | -- | -- | -- |
| 喹诺酮类 | 环丙沙星 | ≤2 | 4 | ≥8 | ≤1 | 1-4 | ≥4 | ≤1 | 2 | ≥4 | ≤1 | 2 | ≥4 |
| | 诺氟沙星 | - | 8 | ≥16 | -- | -- | -- | ≤2 | 4 | ≥8 | ≤2 | 4 | ≥8 |
| | 恩诺沙星 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | ≤0.25 | 0.25-1 | ≥2 | ≤0.25 | 0.5-1 | ≥2 |
| | 氧氟沙星 | ≤8 | 16 | ≥32 | ≤0.5 | 1 | ≥2 | ≤0.12 | 0.25-1 | ≥2 | ≤8 | 16 | ≥32 |
| β-内酰胺类 | 阿莫西林 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤4 | -- | ≥8 | ≤4 | 8 | ≥16 | ≤8 | 16 | ≥32 |
| 氨基糖苷类 | 安普霉素 | ≤16 | - | ≥32 | - | - | - | ≤16 | 32 | ≥64 | ≤16 | - | ≥32 |
| | 卡那霉素 | ≤16 | 32 | ≥64 | - | - | - | - | - | - | ≤16 | 32 | ≥64 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|-------|------|----|---|----|------|-----|----|----|----|----|----|----|----|
| 多肽类 | 多黏菌 | ≤2 | 4 | ≥8 | - | - | - | ≤2 | 4 | ≥8 | ≤2 | 4 | ≥8 |
| 安沙霉素类 | 利福平 | - | - | - | 1 | 2 | 4 | - | - | - | -- | -- | -- |
| 林可霉素类 | 克林霉素 | - | - | - | ≤0.5 | 1-2 | ≥4 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |

注：“-”表示：无；“--”表示：未查找到相关折点值。

中国兽医协会
CVMA