

浙江省农产品质量安全学会团体标准

T/ZNZ 099—2021

畜禽源细菌耐药性测定 纸片扩散法

Method for drug resistance surveillance of zoonotic bacteria

-Disk diffusion method

2021 - 12 - 24 发布

2022 - 01 - 24 实施

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。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省农产品质量安全学会提出并归口。

本文件起草单位：浙江省动物疫病预防控制中心、浙江省农业科学院、浙江大学。

本文件主要起草人：周炜，周芷锦，杨华，赵灵燕，陈洁，陈勇，沈红霞，姜中其，倪柏锋，唐标，吉小凤，穆琳，陈凯。

畜禽源细菌耐药性测定 纸片扩散法

1 范围

本文件规定了纸片扩散法检测畜禽源细菌耐药性的方法。

本文件适用于从畜禽及其产品中分离的大肠埃希氏菌、沙门氏菌、肠球菌和金黄色葡萄球菌耐药性的纸片扩散法检测。

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 19489 实验室 生物安全通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

细菌耐药性 antibacterial resistance

细菌对抗菌药物不敏感的现象。

3.2

药敏试验 antibacterial susceptibility testing

测定微生物（本文件特指细菌）在体外对抗微生物药物（本文件特指抗菌药物）敏感性，以指导临床合理选用药物的微生物学试验。

3.3

折点 breakpoint

用于判定测试菌株敏感（Susceptible, S）、中介（Intermediate, I）和耐药（Resistant, R）的最低抑菌浓度。

注：最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)指体外能够抑制肉眼可见的细菌生长的最低药物浓度。

3.4

纸片扩散法 disk diffusion method

将含抗菌药物的纸片贴在已接种待测细菌的琼脂平板上，根据培养后出现在纸片周围的抑菌圈直径，判定细菌对药物敏感性的定性方法。

4 设备和材料

4.1 实验室

应符合 GB 19489 生物安全二级实验室 (BSL-2) 要求。

4.2 仪器设备

需要用到相关仪器设备如下：

- a) 恒温培养箱：精度 ± 1 °C。
- b) 高压灭菌器。
- c) 普通冰箱：0 °C~8 °C，-18 °C以下。
- d) 超低温冰箱。
- e) 天平：感量 0.1 g。
- f) 游标卡尺：精度 0.1 mm。
- g) 药敏纸片分配器或镊子。
- h) 半自动或自动抑菌圈测量仪（选购）。
- i) 商品化 McFarland 标准比浊管或比浊仪。
- j) 灭菌棉拭子。
- k) pH 计或 pH 试纸。

4.2 培养基与试剂

根据检测目标菌株选购：

- a) 商品化运输培养基：半固体、液体均可。
- b) Mueller-Hinton 琼脂 (MHA)：见附录 A 中 A.1。
- c) 胰酪胨大豆肉汤 (TSB)：见 A.2。
- d) 胰酪胨大豆琼脂 (TSA)：见 A.3。
- e) 缓冲蛋白胨水：见 A.4。
- f) 7.5%氯化钠肉汤：见 A.5。
- g) 10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤：见 A.6。

4.3 质控菌株

根据检测目标菌株选择：

- a) 大肠埃希氏菌和沙门氏菌质控菌株：大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) /ATCC 25922；
 - b) 肠球菌和金黄色葡萄球菌质控菌株：金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) /ATCC 25923。
- 质控菌株复苏后，分装并于-70 °C以下保存，用前复苏。如需传代保存，传代不应超过 5 代。

4.4 商品化抗菌药物纸片

根据检测目标菌株与药物选购，药物含量应至少包括本标准规定的浓度（附录 C）。

5 试样的采集与制备

5.1 畜禽肛拭子

取经运输培养基浸润的灭菌棉拭子，插入家畜肛门或家禽泄殖腔 1.5 cm~2.0 cm，轻轻旋转 2 圈~3 圈后，迅速放入 10 mL 缓冲蛋白胨水运输培养基或商品化运输培养基中，加盖密封，0 °C~4 °C 保存。如试料暂存、运输时间不超过 72 h，则也可用灭菌生理盐水作为运输培养基。细菌的培养、分离与鉴定直接使用运输培养基中的采样拭子。

5.2 畜禽产品

迅速无菌采集目标畜禽产品约 25 g，放入无菌容器中，0 °C~4 °C 保存。试样中加入 225 mL 缓冲蛋白胨水，使分散均匀后，用于细菌的培养、分离与鉴定。

5.3 病料

无菌采集新鲜病料约 5 g，放入无菌容器中，0 °C~4 °C 保存。试样中加入 TSA 培养基 25 mL~50 mL，使分散均匀后，用于细菌的培养、分离与鉴定。

5.4 生鲜乳

生鲜乳仅适用于金黄色葡萄球菌的耐药性检测。取未经消毒处理的生鲜乳 10 mL，置灭菌试管中，0 °C~4 °C 保存，不超过 48 h。取生鲜乳试样 1 mL 至盛有 10 mL 7.5% 氯化钠肉汤或 10% 氯化钠胰酪胨大豆肉汤中，振荡混匀。用于细菌的培养、分离与鉴定。

6 测定方法

6.1 细菌的培养和分离

大肠埃希氏菌按附录 B.1 执行；沙门氏菌按附录 B.2 执行；肠球菌按附录 B.3 执行；金黄色葡萄球菌按附录 B.4 执行。若 24 h 内不能进行耐药性测定，培养皿应置 0 °C~4 °C 冰箱暂存。也可挑取典型的单一菌落，冷冻暂存，耐药性测定前复苏。

6.2 标准抗菌药物纸片的准备

6.2.1 抗菌药物纸片的保存和使用

商品化的抗菌药物纸片的使用和保存的方法参见其产品说明书。临用前将抗菌药物纸片从冰箱中取出置室温平衡，并避免产生冷凝水。

6.2.2 抗菌药物纸片的质量控制

抗菌药物纸片的质量控制按附录 C 中 C.4 执行。

6.3 细菌耐药性的测定

6.3.1 接种物制备

挑取纯化用营养琼脂平板上的典型目标菌落，悬浮于 5 mL TSB 或无菌生理盐水中，用 McFarland 标准比浊管或比浊仪校正至 0.5 麦氏单位，细菌浓度相当于 1.5×10^8 CFU/mL。制备好的菌液应在 15 min 内使用。

6.3.2 接种平板

6.3.2.1 方法一：以无菌拭子蘸取菌液，在管壁内轻轻旋转挤压，去掉多余菌液。用拭子均匀涂抹 MHA 表面，重复两次，每次旋转平板约 60 °，确保接种液均匀涂布。最后在琼脂平板边缘涂抹一圈。

6.3.2.2 方法二：在 MHA 表面滴加 300 μL 菌液，用无菌的涂布棒均匀涂布。室温放置 3 min~5 min，待平板上的水分被琼脂完全吸收。

6.3.3 贴药敏纸片

用无菌镊子或药敏纸片分配器按需要逐片贴上标准抗菌药物纸片，轻压使其紧贴在琼脂表面，纸片一旦接触平板就不可再移动。各纸片中心相距应该大于 24 mm，纸片距离平板内缘应大于 15 mm。直径 90 mm 的平板放置不超过 5 个纸片（参见图 1）。

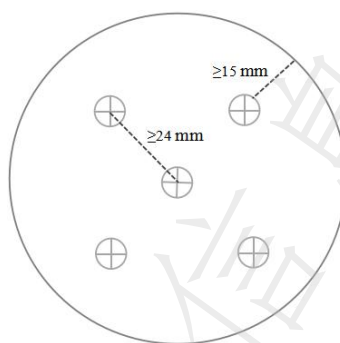


图 1 药敏纸片贴置示意图

6.3.4 细菌培养

贴完纸片后的 15 min 内翻转琼脂平板，于 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $17\text{ h} \pm 1\text{ h}$ 。培养过程中平板宜单独摆放，叠放时不超过 2 个。

6.3.5 抑菌圈判读

取出平板，在透射光下用游标卡尺在平板的背面量取各纸片的抑菌圈直径（包括纸片的直径），抑菌圈的边缘以肉眼见不到细菌明显生长为限。在抑菌圈边缘的只能在放大镜下观察到的微小菌落的生长可忽略不计。也可使用半自动或自动抑菌圈测量仪读取数据。

6.3.6 质量控制

每次进行细菌耐药性测定时，应同步设置质控菌株对照，操作同 6.3.1~6.3.4。测量质控菌株的抑菌圈，其直径在附录 C 规定限度范围之内，试验方成立。

6.4 结果及判断

将各抗菌药物纸片的抑菌圈直径与耐药折点判断标准（按附录 C）进行比较，报告被测细菌对该抗菌药物敏感（S）或中介（I）或耐药（R）。

7 生物安全

7.1 样品采集

畜禽源细菌耐药性的样品采集需严格按照《中华人民共和国生物安全法》、《病原微生物实验室生物安全管理条例》及相关法律法规的要求，未经兽医主管部门许可，不得对可疑或确诊的一类或二类病原生物感染的动物个体/群体进行采样。

7.2 检测过程

畜禽源细菌耐药性的检测过程，应在《兽医实验室生物安全技术管理规范》中规定的生物安全二级实验室条件下进行。试验过程产生废弃物的处置应严格按照 GB 19489 规定执行。菌株管理按照《动物病原微生物菌（毒）种保藏管理办法》执行。

新国兽医微生物安全学会

附录 A
(规范性)
培养基

A.1 Mueller-Hinton 琼脂 (MHA)

A.1.1 配方

| | |
|--------|---------------|
| 牛肉浸膏粉 | 5.0 g |
| 干酪素水解物 | 17.5 g |
| 水溶性淀粉 | 1.5 g |
| 琼脂 | 13.0 g~15.0 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.1.2 制备

除琼脂外,将各成分加入蒸馏水中,煮沸溶解冷却后,调 pH 至 7.3 ± 0.1 ,再加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化,分装,121 °C 高压灭菌 15 min。灭菌完成后,倾注平板,使厚度为 $4 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$ (一般直径 90 mm 的平皿倾注约 20 mL)。该平皿可于 2 °C~8 °C 条件下保存 7 d。接种时,平板表面应湿润,但平皿盖和琼脂表面不能有液滴。

A.2 胰酪胨大豆肉汤 (TSB)

A.2.1 配方

| | |
|---------------|---------|
| 胰酪蛋白胨 (或胰蛋白胨) | 17.0 g |
| 植物蛋白胨 | 3.0 g |
| 氯化钠 | 5.0 g |
| 磷酸二氢钾 | 2.5 g |
| 葡萄糖 | 2.5 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.2.2 制备

将各成分加入蒸馏水中,煮沸溶解冷却后,调 pH 至 7.3 ± 0.1 ,分装,121 °C 高压灭菌 15 min。可于 2 °C~8 °C 条件下保存 14 d 备用。

A.3 胰酪胨大豆琼脂 (TSA)

A.3.1 配方

| | |
|---------------|---------|
| 胰酪蛋白胨 (或胰蛋白胨) | 17.0 g |
| 植物蛋白胨 | 5.0 g |
| 氯化钠 | 5.0 g |
| 琼脂 | 15.0 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.3.2 制备

除琼脂外，将各成分加入蒸馏水中，煮沸溶解冷却后，调 pH 至 7.3 ± 0.2 ，再加入琼脂，加热煮沸，使琼脂溶化，分装， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。灭菌完成后，倾注平板，使厚度为 $4\text{ mm} \pm 1\text{ mm}$ 。该平皿可于 $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 14 d。接种时，平板表面应湿润，但平皿盖和琼脂表面不能有液滴。

A.4 缓冲蛋白胨水（运送培养基）

A.4.1 配方

| | |
|-------|---------|
| 蛋白胨 | 10.0 g |
| 氯化钠 | 5.0 g |
| 磷酸二氢钠 | 9.0 g |
| 磷酸二氢钾 | 1.5 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.4.2 制备

称取各成分溶于 1000 mL 蒸馏水中，调节 pH 至 7.2 ± 0.2 ，分装于三角瓶或试管， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min，备用。

A.5 7.5%氯化钠肉汤

A.5.1 配方

| | |
|------|---------|
| 蛋白胨 | 10 g |
| 牛肉膏粉 | 5 g |
| 氯化钠 | 75 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

A.5.2 制备

称取各成分溶于蒸馏水中，调节 pH 至 7.4 ± 0.1 ，分装于三角瓶或试管， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min，备用。

A.6 10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤

A.6.1 配方

| | |
|-------|---------|
| 胰蛋白胨 | 17.0 g |
| 大豆蛋白胨 | 3.0 g |
| 氯化钠 | 100.0 g |
| 磷酸氢二钾 | 2.5 g |
| 丙酮酸钠 | 10.0 g |
| 葡萄糖 | 2.5 g |

A.6.2 制备

称取本品 135.0 g，加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中，调节 pH 至 7.3 ± 0.2 ，分装于三角瓶或试管， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min，备用。

A.7 营养琼脂

A.7.1 配方

| | |
|-----|--------|
| 蛋白胨 | 10.0 g |
| 牛肉粉 | 3.0 g |
| 氯化钠 | 5.0 g |
| 琼脂 | 15.0 g |

A.7.2 制备

称取本品 33.0 g，加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中，分装于三角瓶或试管，121℃高压灭菌 15 min，备用。接种时，平板表面应湿润，但平皿盖和琼脂表面不能有液滴。

附录 B
(规范性)

大肠埃希氏菌、沙门氏菌、肠球菌与金黄色葡萄球菌的分离

B.1 大肠埃希氏菌的分离鉴定

B.1.1 拭子接种于麦康凯琼脂平板， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18 h~24 h；

B.1.2 挑取粉红色、边缘光滑的可疑菌落，麦康凯琼脂纯化一代，

B.1.3 纯化后可疑菌落接种营养琼脂平板纯化， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养16 h~18 h。

B.1.4 大肠埃希氏菌的鉴定

对于已纯化的菌落，进行生化鉴定或分子生物学鉴定。

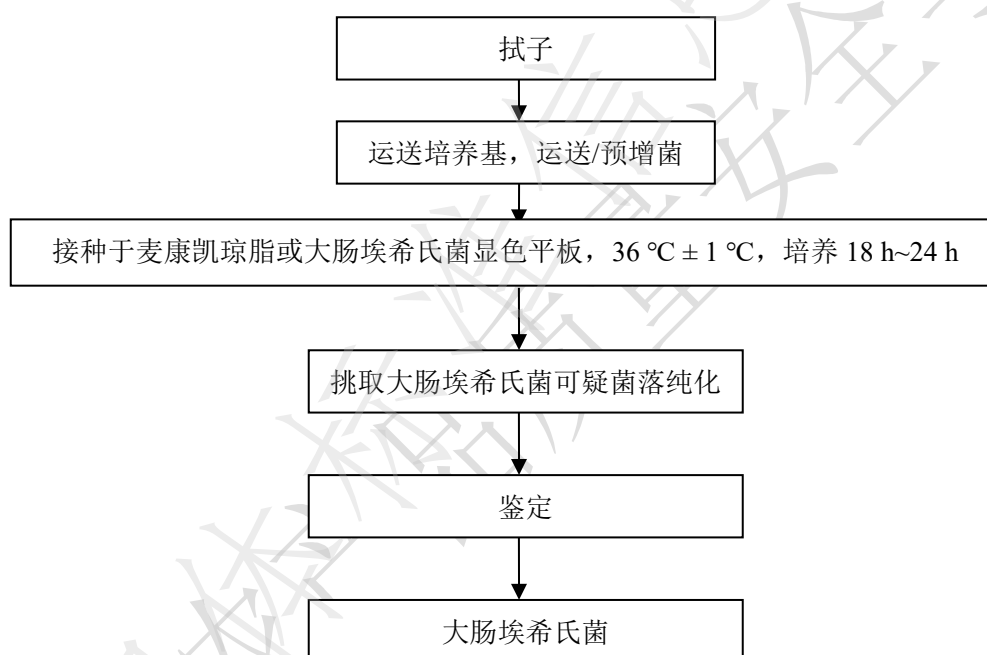


图 B.1 大肠埃希氏菌分离鉴定流程图

B.2 沙门氏菌的分离与鉴定

B.2.1 将拭子置于 SC 增菌液， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h 或 TTB 增菌液， $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。

B.2.2 将菌液混匀，接种沙门氏菌显色培养基， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h~28 h。

B.2.3 挑取沙门氏菌显色培养基上紫色可疑菌落，接种营养琼脂平板， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。

B.2.4 沙门氏菌的鉴定

对于已纯化的菌落，进行生化鉴定或分子生物学鉴定。

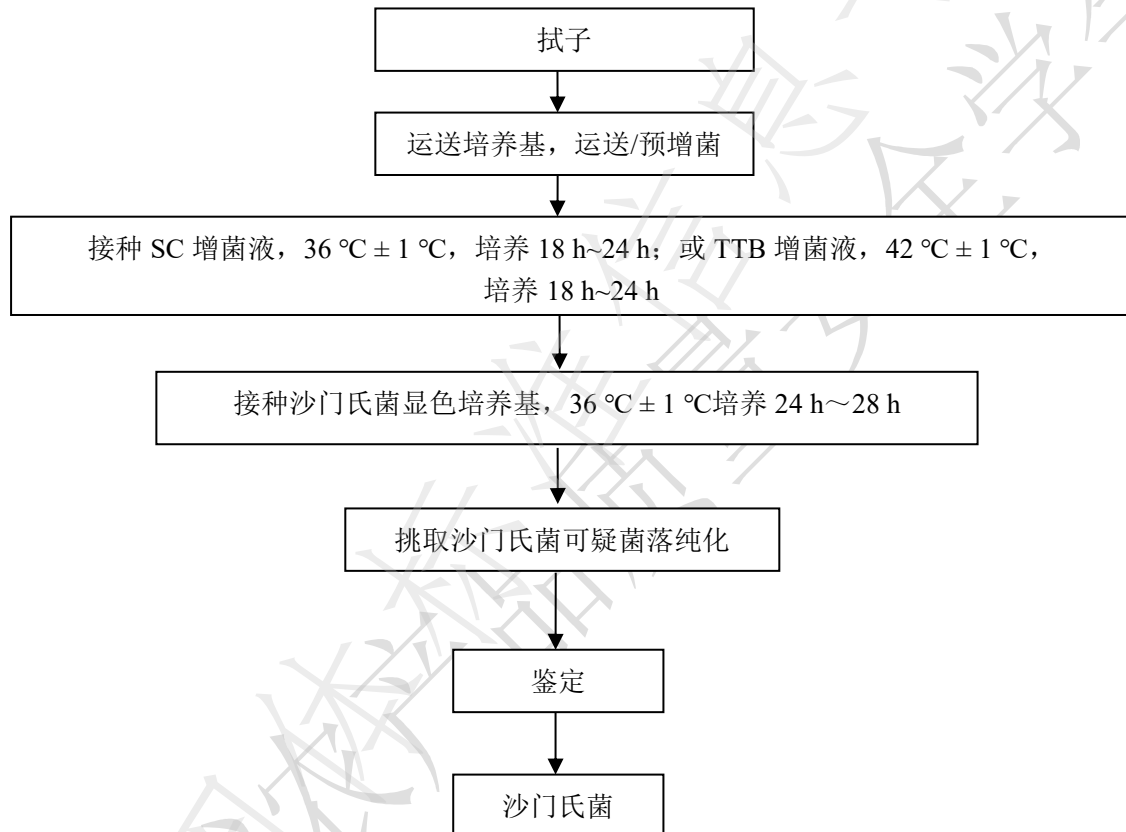


图 B.2 沙门氏菌的分离鉴定流程图

B.3 肠球菌（屎肠球菌和粪肠球菌）的分离与鉴定

B.3.1 拭子接种于肠球菌显色琼脂平板， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18 h~24 h；

B.3.2 挑取红色至紫红色的可疑菌落，显色琼脂上纯化一代，

B.3.3 纯化后可疑菌落接种营养琼脂平板纯化， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养16 h~18 h，待进一步细菌鉴定。

B.3.4 屎肠球菌和粪肠球菌的鉴定：

对于已纯化的菌落，进行生化鉴定或分子生物学鉴定。

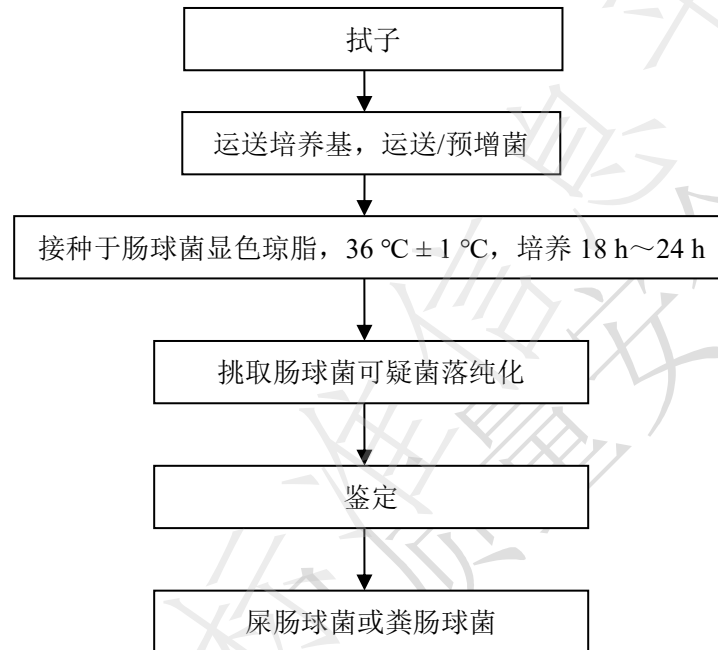


图 B.3 屎肠球菌和粪肠球菌的分离鉴定流程图

B.4 金黄色葡萄球菌的分离与鉴定

B.4.1 将样品匀液于 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。金黄色葡萄球菌在 7.5%氯化钠肉汤中呈混浊生长。

B.4.2 将上述培养物，分别划线接种到显色培养基平板上， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h~48 h。

B.4.3 挑取可疑菌落，用营养琼脂纯化一代。

B.4.4 金黄色葡萄球菌的鉴定：

血浆凝固酶试验：取新鲜配制兔血浆 0.5 mL，放入小试管中，再加入 BHI 培养物 0.2 mL~0.3 mL，振荡摇匀，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱或水浴箱内，每半小时观察一次，观察 6 h，如呈现凝固（即将试管倾斜或倒置时，呈现凝块）或凝固体积大于原体积的一半，被判定为阳性结果。同时以血浆凝固酶试验阳性和阴性葡萄球菌菌株的肉汤培养物作为对照。也可用商品化的试剂，按说明书操作，进行血浆凝固酶试验。

新鲜兔血浆制备：称取柠檬酸钠 3.8 g，加蒸馏水 100 mL，溶解后过滤，装瓶， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。取 3.8%柠檬酸钠溶液一份，加兔全血四份，混好静置（或以 3000 r/min 离心 30 min），使血液细胞下降，即可得血浆。

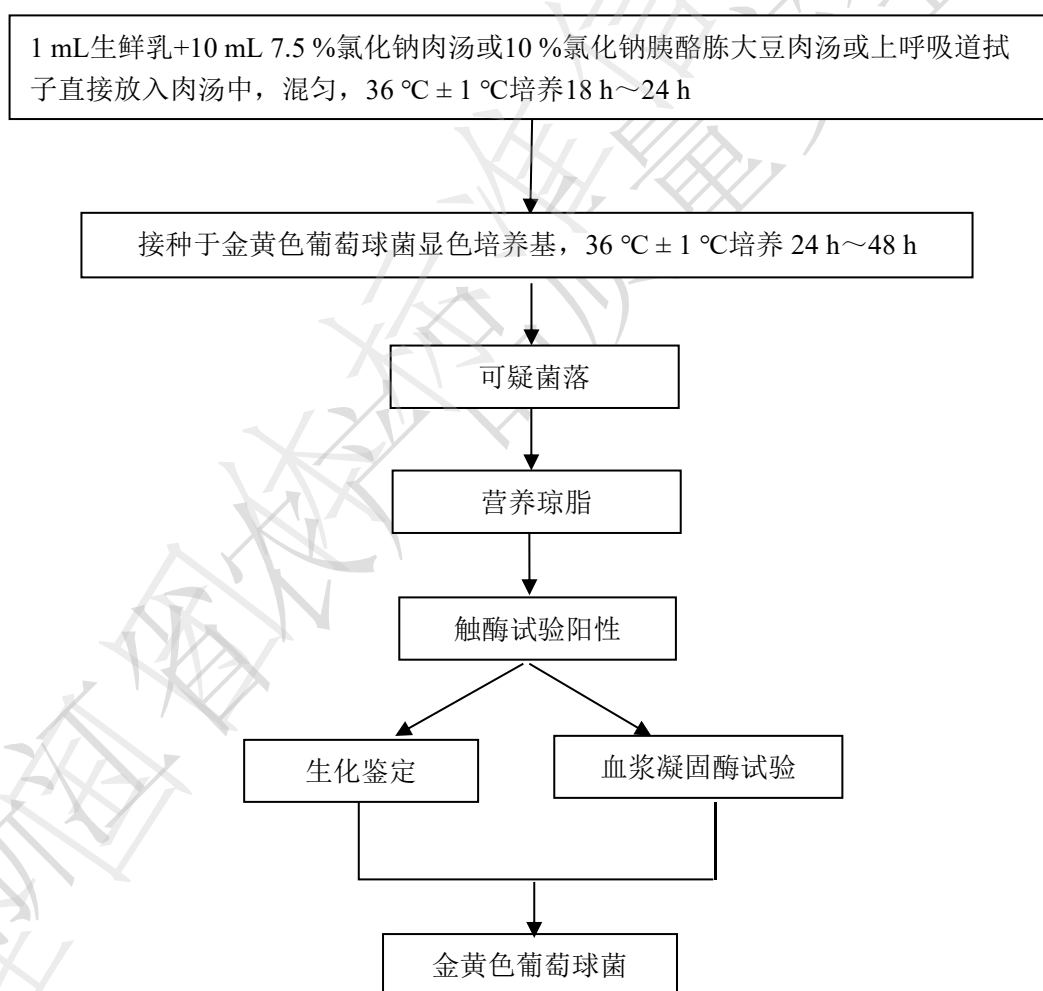


图 B.4 金黄色葡萄球菌的分离鉴定流程图

附录 C
(规范性)

常见抗菌药物的药敏试验判断标准与质控范围

C.1 肠杆菌（大肠埃希菌和沙门氏菌）

肠杆菌（大肠埃希菌和沙门氏菌）对常见抗菌药物的药敏试验判断标准与质控范围，见表 C.1。

表 C.1 肠杆菌对常见抗菌药物的折点判断标准与质控范围

| 分类 | 抗菌药物 | 适用的 细菌 | 纸片含药 量 μg/片 | 抑菌圈直径折点 mm | | | 质控菌株抑菌圈直径 mm | | 耐药性评 定依据 |
|--------------------|---|-----------|-------------------|---------------|-------|-------|-----------------|-----------|-------------|
| | | | | 敏感(S) | 中介(I) | 耐药(R) | ATCC25922 | ATCC35218 | |
| 青霉素类 | 氨苄西林 Ampicillin | 1, 2 | 10 | ≥17 | 14~16 | ≤13 | 15-22 | - | A |
| β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合物 | 阿莫西林/克拉维酸 Amoxicillin/Clavulanic Acid | 1, 2 | 20/10 | ≥18 | 14~17 | ≤13 | - | 17~22 | A |
| 头孢菌素类 | 头孢噻呋 Ceftiofur | 1, 2 | 30 | ≥21 | 18~20 | ≤17 | 26~31 | - | B |
| | 头孢他啶 Ceftazidime | 1, 2 | 30 | ≥21 | 18~20 | ≤17 | 25~32 | - | A |
| 碳青霉烯类 | 美罗培南 Meropenem | 1, 2 | 10 | ≥23 | 20~22 | ≤19 | 28~35 | - | A |
| 氨基糖苷类 | 庆大霉素 Gentamicin | 1, 2 | 10 | ≥15 | 13~14 | ≤12 | 19~26 | - | A |
| | 大观霉素 Spectinomycin | 1, 2 | 100 | ≥14 | 11~13 | ≤10 | 21~25 | - | B |
| 四环素类 | 四环素 Tetracycline | 1, 2 | 30 | ≥15 | 12~14 | ≤11 | 18~25 | - | A |
| 酰胺醇类 | 氟苯尼考 Florfenicol | 1, 2 | 30 | ≥19 | 15~18 | ≤14 | 22~28 | - | B |
| 磺胺类 | 磺胺异恶唑 Sulfisoxazole | 1, 2 | 250 或 300 | ≥17 | 13~16 | ≤12 | 15~23 | - | A |
| | 甲氧苄啶/磺胺甲恶唑 Trimethoprim/Sulfamethoxazo | 1, 2 | 1.25/23.75 | ≥16 | 11~15 | ≤10 | 23~29 | - | A |
| 喹诺酮类 | 恩诺沙星 Enrofloxacin | 1, 2 | 5 | ≥23 | 17~22 | ≤16 | 32~40 | - | B |
| | 氧氟沙星 Ofloxacin | 1 | 5 | ≥16 | 13~15 | ≤12 | 29~33 | - | A |
| | | 2 | - | - | - | - | 29~33 | - | A |
| 多肽类 | 粘菌素 Colistin | 1, 2 | - | - | - | - | 11~17 | - | A |
| 其他类 | 乙酰甲喹 Acetylmequine | 1, 2 | - | - | - | - | - | - | A |

注 1: 1 指大肠埃希菌;
注 2: 2 指沙门氏菌;
注 3: A 指 CLSI M100-S30;
注 4: B 指 CLSI M31-A2。

C.2 肠球菌对常见抗菌药物的折点判断标准与质控范围。

肠球菌对常见抗菌药物的折点判断标准与质控范围，见表 C.2。

表 C.2 肠球菌对常见抗菌药物的折点判断标准与质控范围

| 分类 | 抗菌药物 | 纸片含药量 μg/片 | 抑菌圈（圈）直径折点 mm | | | 质控菌株抑菌圈 （圈）直径 mm | 耐药性评定 依据 |
|--------------------|--|---------------|------------------|-------|-------|---------------------|-------------|
| | | | 敏感（S） | 中介（I） | 耐药（R） | ATCC25923 | |
| 青霉素类 | 青霉素 Ampicillin | 10 unites | ≥15 | - | ≤14 | 26~37 | A |
| | 氨苄西林 Ampicillin ^a | 10 | ≥17 | - | ≤16 | 27~35 | A |
| β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合物 | 阿莫西林/克拉维酸 Amoxicillin/Clavulanic Acid | 20/10 | ≥20 | - | ≤19 | 28~36 | A |
| 头孢菌素类 | 头孢噻呋 Ceftriaxone | / | / | / | / | 27~31 | B |
| | 头孢西丁 Cefprozil | / | / | / | / | 23~29 | A |
| 氨基糖苷类 | 庆大霉素 Gentamicin | 10 | ≥15 | 13~14 | ≤12 | 19~27 | A |
| 四环素类 | 四环素 Tetracycline | 30 | ≥19 | 15~18 | ≤14 | 24~30 | A |
| | 多西环素 Doxycycline | 30 | ≥16 | 13~15 | ≤12 | 23~29 | A |
| 大环内酯类 | 红霉素 Erythromycin | 15 | ≥23 | 14~22 | ≤13 | 22~30 | A |
| | 替米考星 Tilmicosin | 15 | ≥14 | 11~13 | ≤10 | 17~21 | B |
| 酰胺醇类 | 氟苯尼考 Florfenicol | 30 | ≥19 | 15~18 | ≤14 | 22~29 | B |
| 多肽类 | 万古霉素 Vancomycin | 30 | ≥17 | 15~16 | ≤14 | 17~21 | A |
| 喹诺酮类 | 恩诺沙星 Enrofloxacin | 5 | ≥23 | 17~22 | ≤16 | 27~31 | B |
| | 氧氟沙星 Ofloxacin | 5 | ≥18 | 15~17 | ≤14 | 24~28 | A |
| 恶唑烷酮类 | 利奈唑胺 Linezolid | 30 | ≥23 | 21~22 | ≤20 | 25~32 | A |
| 其他 | 泰妙菌素 Tiamulin | 30 | ≥9 | - | ≤8 | 25~32 | B |

注 1：对于肠球菌属，氨基糖苷类（除外高水平耐药筛选）、头孢菌素类、克林霉素和甲氧苄啶/磺胺甲恶唑可以在体外显示活性但临床治疗无效，不应报告为敏感。

注 2：A 指 CLSI M100-S30。

注 3：B 指 CLSI M31-A2

^a 指氨苄西林可预报阿莫西林的活性，可预报不产β-内酰胺酶肠球菌对阿莫西林/克拉维酸的活性。

C.3 金黄色葡萄球菌对常见抗菌药物的折点判断标准与质控范围

金黄色葡萄球菌对常见抗菌药物的折点判断标准与质控范围，见表 C.3。

表 C.3 金黄色葡萄球菌对常见抗菌药物的折点判断与质控范围

| 分类 | 抗菌药物 | 纸片含药量 μg/片 | 抑菌圈（圈）直径折点 mm | | | 质控菌株抑菌 圈（圈）直径 | 耐药性评 定依据 |
|-------|---|-----------------------|---------------|-------|-------|------------------|-------------|
| | | | 敏感（S） | 中介（I） | 耐药（R） | ATCC 25923 | |
| 青霉素类 | 青霉素 Ampicillin | 10 unites | ≥29 | - | ≤28 | 15~22 | A |
| | 苯唑西林 Oxacillin ^a | 30μg 头孢西丁（替代 苯唑西林） | ≥22 | - | ≤21 | 18~24 | A |
| 氨基糖苷类 | 庆大霉素 Gentamicin | 10 | ≥15 | 13~14 | ≤12 | 19~27 | A |
| 四环素类 | 四环素 Tetracycline | 30 | ≥19 | 15~18 | ≤14 | 24~30 | A |
| | 多西环素 Doxycycline | 30 | ≥16 | 13~15 | ≤12 | 23~29 | A |
| 大环内酯类 | 红霉素 Erythromycin | 15 | ≥23 | 14~22 | ≤13 | 22~30 | A |
| 酰胺醇类 | 氟苯尼考 Florfenicol | 30 | ≥19 | 15~18 | ≤14 | 22~29 | B |
| 磺胺类 | 磺胺异恶唑 Sulfisoxazole | 250 或 300 | ≥17 | 13~16 | ≤12 | 24~34 | A |
| | 甲氧苄啶/磺胺甲恶唑 Trimethoprim/Sulfamethoxazole | 1.25/23.75 | ≥16 | 11~15 | ≤10 | 24~32 | A |
| 喹诺酮类 | 恩诺沙星 Enrofloxacin | 5 | ≥23 | 17~22 | ≤16 | 27~31 | B |
| | 氧氟沙星 Ofloxacin | 5 | ≥18 | 15~17 | ≤14 | 24~28 | A |
| 恶唑烷酮类 | 利奈唑胺 Linezolid | 30 | ≥21 | - | ≤20 | 25~32 | A |
| 林可酰胺类 | 克林霉素 Clindamycin | 2 | ≥21 | 15~20 | ≤14 | 24~30 | A |
| 其他 | 泰妙菌素 Tiamulin | 30 | ≥9 | - | ≤8 | 25~32 | B |

注 1: A 指 CLSI M100-S30;
注 2: B 指 CLSI M31-A2。
^a 指苯唑西林纸片扩散法检测金黄色葡萄球菌结果不可靠，建议用肉汤稀释法。

C.4 药物纸片的质控

C.4.1 均匀性试验

以标准质控菌株接种 MHA 平板，每块平板上贴 5 张相同的纸片。36 °C ± 1 °C 培养 17 h ± 1 h，测量记录 5 个抑菌圈直径，最大和最小之差应不超过 1mm。

C.4.2 准确度判断

计算均匀性试验得出的直径的平均值，与标准质控菌株的直径限度范围，按表 C.1 判断纸片的实际含药量与标准量是否一致。