



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 46454—2025/ISO 16256:2021

## 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微生物 药物的体外活性检测微量肉汤稀释 参考方法

Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems—  
Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of  
antimicrobial agents against yeast fungi involved in infectious diseases

(ISO 16256:2021, IDT)

2025-10-05 发布

2026-05-01 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布

## 目 次

前言 .....	III
引言 .....	IV
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 .....	2
4.1 概述 .....	2
4.1.1 稀释板和方法 .....	2
4.1.2 使用一次性微量稀释板的条件 .....	3
4.2 培养基 .....	3
4.2.1 通则 .....	3
4.2.2 肉眼判读法 .....	3
4.2.3 光度判读法 .....	3
4.3 抗真菌药物 .....	3
4.3.1 通则 .....	3
4.3.2 原液的配制 .....	3
4.3.3 工作液的配制 .....	4
4.4 微量肉汤稀释板的制备 .....	6
4.4.1 肉眼判读测试制备——肉眼判读法 .....	6
4.4.2 光度判读测试的制备——光度判读法 .....	6
4.5 微量稀释板的贮存 .....	6
4.6 接种物的制备 .....	6
4.6.1 概述 .....	6
4.6.2 肉眼判读接种物制备 .....	6
4.6.3 光度判读接种物制备 .....	6
4.7 微量稀释板的接种 .....	7
4.8 微量稀释板的孵育 .....	7
4.8.1 概述 .....	7
4.8.2 肉眼判读法 .....	7
4.8.3 光度判读法 .....	7
4.9 MIC 结果读取 .....	7
4.9.1 概述 .....	7
4.9.2 肉眼判读方法 .....	7

4.9.3 光度判读方法 .....	8
4.10 MIC 值的解释 .....	8
5 质量控制(QC) .....	8
附录 A (资料性) RPMI-1640 培养基 .....	11
A.1 概述 .....	11
附录 B (资料性) 0.5 麦氏硫酸钡浊度标准 .....	13
参考文献 .....	14

## 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。

本文件等同采用 ISO 16256:2021《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微生物药物的体外活性检测微量肉汤稀释参考方法》。

本文件做了下列最小限度的编辑性改动：

——为便于理解条款，增加了部分注释（见4.7）。

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（北京市医用生物防护装备检验研究中心）、复旦大学附属华山医院、中国医学科学院北京协和医院、上海市东方医院（同济大学附属东方医院）、温州市康泰生物科技有限公司、山东省医疗器械和药品包装检验研究院、河南省药品医疗器械检验院（河南省疫苗批签中心）、郑州安图生物工程股份有限公司、梅里埃诊断产品（上海）有限公司。

本文件主要起草人：毕春雷、胡付品、杨启文、吴文娟、唐运伟、李承芝、张娟丽、李彬、汪少颖。

## 引　　言

抗微生物药物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常用的抗微生物药物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型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。

稀释法常被用来测定抗微生物药物的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),是抗真菌药物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微生物药物的比较性研究、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。在稀释法试验中,通过检测微生物在含有系列稀释浓度抗微生物药物的一系列琼脂平板(琼脂稀释法)上或肉汤(肉汤稀释法)中能否产生可见生长来确定 MIC。

抗微生物药物的 MIC 值是指在规定的体外试验条件下和规定的时间内,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微生物药物的最低浓度[以毫克每升(mg/L)为单位]。MIC 值可提供微生物对抗微生物药物的敏感性信息,并指导临床医师制定相应治疗决策。由于所用方法可能影响试验结果,为了确保实验室内和室间结果的重现性,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)的抗微生物药物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。

微量肉汤稀释法指的是在微量稀释板上进行的肉汤稀释试验。

本文件所描述的参考方法预期用于酵母样真菌的纯培养物的检测。方法起初显示给出相似的氟康唑 MIC,如果不是完全一致,最大差异在 2 mg/L 内<sup>[3]</sup>。此外,方法显示批准的抗真菌药物两株质控菌株给出的 MIC 结果相似,如本文件中描述,尽管光度法的质量控制结果可略低于肉眼判读法。希望使用本文件进行新的抗真菌药物研究,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,可基于 MIC 结果判读是通过肉眼观察(CLSI 方法)<sup>[5]</sup>还是使用光度法(EUCAST 方法)<sup>[2,10]</sup>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需严格遵守。在 ISO 16256:2012 中,报告的质量控制测试是使用微量肉汤稀释板进行的,生产者未以某种方式处理用于目视或光度计方法的塑料板。

# 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微生物 药物的体外活性检测微量肉汤稀释 参考方法

**警示——**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法规限制的适用性。

## 1 范围

本文件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。本文件描述的参考方法尚未用于双相型真菌的酵母相菌研究,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。这些方法不在本文件范围内。

本文件描述的微量肉汤稀释参考法能通过两种途径之一实现。一是通过肉眼确定 MIC(CLSI 方法)<sup>[1,5]</sup>,第二种途径通过光度法确定 MIC(EUCAST 方法)<sup>[2,10]</sup>。MIC 反映了在规定试验条件下药物的活性,并考虑在其他因素下能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。另外 MIC 分布能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文件的范围。对应于 CLSI 方法和 EUCAST 衍生方法的解释性分类折点查询相应机构提供的最新解释表<sup>[5,15]</sup>。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 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。

ISO 和 IEC 维护的用于标准化的术语数据库网址如下:

- ISO 在线浏览平台:<https://www.iso.org/obp>;
- IEC 电工百科:<https://www.electropedia.org/>。

### 3.1

#### **抗真菌药物 antifungal agent**

能抑制或杀死真菌,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 抗真菌药物——属性

#### 3.2.1

##### **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。