



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXX—20XX/ISO 20776-2:2021
代替 YY/T 0688.2-2010

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微生物药物敏感性 试验设备的性能评价 第2部分：与肉汤 微量稀释参考方法比对的抗微生物药物 敏感性试验设备性能评价

Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of
infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test —
Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices against reference
broth micro-dilution
(ISO 20776-2:2021, IDT)
(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

国家药品监督管理局 发布

目 次

前 言	iii
引 言	v
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 试验方法	5
4.1 概述	5
4.2 方法	5
5 数据分析与可接受标准	7
5.1 受试设备的准确度	7
5.2 受试设备的质量控制（QC）	8
5.3 受试设备的再现性	8
5.4 研究相关文件	8
附录 A	9
附录 B	12
附录 C	14
参考文献	16

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。

本文件是依据 ISO 20776—2: 2021《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微生物药物敏感性试验设备的性能评价 第2部分：与肉汤微量稀释参考方法比对的抗微生物药物敏感性试验设备性能评价》进行编写的。

为便于使用，本文件相对于国际标准原文还做了下列编辑性修改：

- 用小数点“.”代替作为小数点的逗号“,”；
- 删除国际标准原文中的前言。

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。

本文件中使用的任何产品的商品名或商标是为了方便本文件使用者，并不表示对该产品的认可。

此第二版取消并代替第一版 YY/T 0688.2-2010/ISO 20776—2:2007，其已被技术性改版。

相比较上一版主要变更如下：

- 更改了本文件的标题，以更好地与预期信息保持一致（见标题，2010年版的标题）；
- 增加了引言（见引言）。
- 更改了第3章，如下：
 - 删除了分类符合、敏感、中介、耐药、非敏感、较大偏差、次要偏差、重大偏差、折点试验和抑菌环直径的定义（见2010年版的3.1.1、3.3.1、3.3.2、3.3.3、3.3.4、3.6.1、3.6.2、3.6.3、3.4、3.15）；
 - 增加了当前分离株的定义（见3.11.1），删除了新鲜分离株、新近分离株的定义（见2010年版的3.9.1、3.9.2）；
 - 增加了再现性（见3.9）、测试方法偏倚（见3.10.3）、灵敏度分析（见3.10.4.1）、特异性分析（见3.10.4.2）、细菌生物群（见3.16）的定义；
 - 增加了定性测试（见3.7）的定义，删除了折点测试的定义（见2010年版的3.4）；
 - 更改了最低抑菌浓度试验、折点、质量控制、偏差的定义（见3.4、3.6、3.8、3.10.1，2010年版的3.12、3.3、3.6）；
 - 重新排序第4章（试验方法）（见第4章）；
 - 将性能评估的一般要求作为单独的部分移至测试方法下的概述（现更名为概述，试验方法下的4.1条）（见4.1条）；
 - 更改了质量控制部分，（见4.2条），并参考 EUCAST 和 CLSI 文件的质量控制范围；
 - 更改了4.2.1条（参考方法）部分以增加变异性（见4.2.1，2010年版的5.2.5）；
 - 更改了4.2.2条（菌株选择）（见4.2.2，2010年版的5.2.1）并纳入了当前分离株（见3.11.1）的新定义；
 - 更改了4.2.5条（再现性测试）（见4.2.5，2010年版的5.2.4）；

- 更改了 4.2.8 条（偏差辨别试验）（见 4.2.8，2010 年版的 5.2.7）；
- 合并了数据分析和可接收标准条款（见第 5 章，2010 年版的 5.3、5.4）；
- 更改了 5.1 条（被测设备的准确性），删除分类符合（见 5.1，2010 年版的 5.4.1）；
- 更改了 MIC 设备的数据分析以删除分类符合。增加了偏倚要求（见 5.1.1、5.1.2，2010 年版的 5.2.7）；
- 删除了对折点 AST 设备的接受（见 2010 年版的 5.2.4）；
- 增加了定性 AST 设备的验收标准规定，并包括灵敏度和特异性要求（见 5.1.3）；
- 更改了受试设备质量控制和受试设备再现性（见 5.2 和 5.3，2010 年版的 5.4.2、5.4.3）；
- 更改了参考文献（见参考文献，2010 年版的参考文献）；
- 增加了附录 A - MIC 试验的性能评估，附录 B - 偏倚分析的基本原理，以及附录 C - 定性测试的敏感性和特异性分析（见附录 A、附录 B、附录 C）。

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/TC136）归口。

本文件主要起草单位：

本文件主要起草人：

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低抑菌浓度(MIC),MIC法用于细菌耐药性监测、定义和鉴别野生型表型、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。

抗微生物药物的最低抑菌浓度是指在规定的体外条件下,规定的时间内,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),即熟知的MIC。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。质控(QC)菌株的MIC分布范围一般在三个倍比稀释度范围内,并有一主要的中心值,但也可以有四个倍比稀释度范围。

肉汤微量稀释法是指在微量稀释板中进行肉汤稀释试验。肉汤微量稀释法是目前全球最常用的抗微生物敏感试验方法之一。

本文件是ISO 20776-2第2版。本文件旨在根据标准肉汤微量稀释参考方法(ISO 20776-1)评估抗微生物试验设备,使用在琼脂上过夜培养易于生长的需氧细菌纯培养物并在含有标准化Mueller-Hinton肉汤(体积 $\leq 200\ \mu\text{l}$)的标准化微量稀释板中生长良好,可能需要根据所测试的抗微生物药物进行调整。

本修订文件中详述的定量MIC和定性评估测量了使用抗菌试验设备进行的测试的准确性、再现性和质量控制,这些试验设备根据标准肉汤微量稀释参考方法生成MIC值。本文件不包括抗微生物药物琼脂纸片扩散法试验。

本文件已在MIC试验是体外测试的前提下进行了修订,试验会受实验室内和实验室间测定变化的影响。在对任何衍生试验和参考方法进行比较时,仅应用分析性能的指标而不是结果解释是适当的。出于这个原因,并且因为解释性类别已从第二版ISO 20776-1修订中删除,分类符合(CA)及其相关术语不再适用,如美国食品和药物管理局(FDA)、临床和实验室标准协会(CLSI) M23文件和其他国际文件所述。当唯一的变化是折点变化(检测本身以外)时,避免对CA进行评估也有助于减少自动重新评估检测性能的要求。

本文件适用于标准发布后开始的新的性能评价;在本文件接受日期之前进行的研究不宜需要使用这些标准重新设计和/或重新分析。在这些标准或接受本文件之前进行的研究遵循研究当时的标准实践或指南。

对于超过3个倍比稀释度的衍生试验,分析性能使用以设计为以基本符合(EA)和偏倚衡量准确度、以及仅使用EA来衡量精密度的工具进行评估。对于1-3浓度的衍生试验,分析性能使用标准的灵敏度和特异性方式进行评估。

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微生物药物敏感性试验设备的性能评价 第2部分：与肉汤微量稀释参考方法比对的抗微生物药物敏感性试验设备性能评价

1 范围

本文件确立了抗微生物药物敏感性试验（AST）设备的可接受性能标准。这些设备在医学实验室用于测定细菌对抗微生物药物的最低抑菌浓度（MIC）。

本文件规定了 AST 设备的要求和评价这些设备性能的程序。本文件定义了是如何进行 AST 设备性能评估。

本文件用于指导制造商进行性能评价研究。

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。

ISO 20776—1 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）

3 术语和定义

就本文件而言，以下术语和定义适用。

ISO和IEC在以下地址维护用于标准化的术语数据库：

— ISO在线浏览平台：网址为<https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia：可在<http://www.electropedia.org/>获得

3.1

抗微生物药物敏感性试验设备 antimicrobial susceptibility test device

AST 设备 AST device

设备，包括用于获得测试结果的所有指定组件，这些测试结果允许使用特定抗微生物药物对细菌进行 MIC 测定。

注：特定组件包括接种器、一次性用品和试剂、用于进行试验的培养基、以及读数仪或分析仪。非特定组件，如拭子、移液器和试管，不是 AST 设备的一部分。

3.2

参考方法 reference method

专家认可的分析方法，或被各方以协议作为参考，其可给出或被认为可给出被测物的可接受参考值。

注：就本文件而言，采用 YY/T 0688.1 / ISO 20776-1 描述的参考方法。该参考方法描述了测定抗微生物药物最小抑菌浓度（3.3）的稀释程序。

[来源：ISO/TS 22176：2020，3.1.20，修改-增加注]

3.3

最低抑菌浓度 minimum inhibitory concentration, MIC

在规定的体外试验条件下,在规定的时段,能抑制细菌出现肉眼可见生长的最低(抗微生物药物)浓度。

注: MIC 用 mg/L 表示。

3.4

最低抑菌浓度试验 minimum inhibitory concentration test

MIC 试验 MIC test

能够确定 MIC (3.3) 的试验,该试验覆盖至少 4 个连续倍比稀释度范围,并且可满足基本符合(EA) (3.10.2) 能够确定。

3.5

稀释范围内 MIC 试验结果 on-scale MIC test result

稀释范围内最低抑菌浓度试验结果 on-scale minimum inhibitory concentration (MIC) test result

最低抑菌浓度(MIC)试验(3.4)中,在 MIC 终点以下至少有一个稀释度中有生长,并且 MIC 终点以上至少在一个稀释度中不生长时的结果。

3.6

折点 breakpoint, BP

参数的特定值,如 MIC (3.3),基于它,细菌可归为诸如“敏感”(S)或“耐药”(R)的不同临床类别。

注:关于最新折点值,可参见应用参考方法(3.2)的机构的最新出版物(如 CLSI^[2]和 EUCAST^[3])。

3.7

定性试验 qualitative test

主要目的是提供定性结果的测试。

例如:使用折点(3.6)或筛查浓度。

注:此类测试有 1-3 个倍比稀释的有限范围。

3.8

质量控制 quality Control, QC

使用仔细挑选的具有给定预期最低抑菌浓度 MIC (3.3) 结果的菌株。

注:用于质控微生物抗微生物药物的 MIC 宜在最新版本的 CLSI M100 文件^[2]或 EUCAST 质量控制文件^[4]中给出的范围内。不可能提供一个单一的质量控制表。

3.9

再现性 reproducibility

试验重复进行时得到结果一致性的程度,如 MIC 结果。

3.10

试验方法评价相关术语

3.10.1

偏差 discrepancy

受测方法[最低抑菌浓度（MIC）试验(3.4)或定性试验(3.7)]结果与参考方法[3.2]的差异超出基本符合(EA) (3.10.2)的范围(MIC 试验)，或超出灵敏度和特异性范围（定性试验）。

3.10.2

基本符合 essential agreement, EA

抗微生物药物敏感性试验（AST）设备(3.1)得到的最低抑菌浓度（MIC）(3.3)结果在参考方法（3.2）确定的 MIC 值相差在正负一个倍比稀释度之内。

注 1：用于 MIC 设备。

注 2：本概念的另一种表达：

$$\frac{N_{EA} \times 100}{N}$$

式中：N_{EA} 是 EA 结果的菌株数目。

N 是测试的菌株总数目。

注 3：总 EA 以百分数表达。

3.10.3

被测方法的偏倚 bias of the test method

被测设备结果的评估，以确定结果与参考方法（3.2）的差异是否明显偏离或主要在一个方向上。

注：用于最低抑菌浓度（MIC）（3.4）试验。

3.10.4

灵敏度分析相关术语

3.10.4.1

灵敏度分析 sensitivity analysis

〈筛查或折点（3.6）试验〉受试设备结果与参考方法的阳性或高于已公布的折点（3.6）结果之间一致性度量。

注 1：当参考结果被解释为阳性时，也可以认为是阳性百分比一致性。

注 2：用于定性测试（3.7）。见表 1。

表 1-定性(筛查或折点)试验的灵敏度分析

		参考方法		合计
		(-) 或不生长	(+) 或生长	
受试方法	(-) 或不生长	a	b	a+b
	(+) 或生长	c	d	c+d
合计		a+c	b+d	(a, b, c, d) 之和
灵敏度 = 100 × [d / (b + d)]				

3.10.4.2

灵敏度分析

〈三稀释度定性试验 (3.7)〉受试设备结果与参考方法（3.2）在稀释范围高端有 MIC（3.3）的结果一致性的量度。

注：用于定性试验 (3.7)。见表 2。

表 2-三稀释度定性测试灵敏度分析

		参考方法			合计
		≤MIC 低值	MIC 中间值	≥MIC 高值	
受试方法	≤MIC 低值	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a+b+c</i>
	MIC 中间值	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>d + e + f</i>
	≥MIC 高值	<i>g</i>	<i>h</i>	<i>i</i>	<i>g + h + i</i>
合计		<i>a+d+g</i>	<i>b+e+h</i>	<i>c + f + i</i>	和 (<i>a~i</i>)
灵敏度 = 100 × [<i>i</i> / (<i>c + f + i</i>)]					

3.11

细菌分离株相关术语

3.11.1

当前分离株 contemporary isolate

在过去六个月内从临床样本中分离的菌株，该样本已进行了最低限度的传代培养。

注：理想情况下，它们是连续和前瞻性收集的。这些分离物可以在使用前冷冻。

3.11.2

贮存株 stock isolate

由临床样品中获取的已被保留、贮存的分离株或由菌种保藏单位得到的菌株。

注：通常引入贮存株是由于它们具有已知的或罕见的耐药机制，或是不常分离到的细菌种/属，而这些种/属为特定抗微生物药物敏感性的指示菌株。当前分离株（3.11.1）中不太可能存在此类生物体用于评估。没有要求分离物是在多口时间前获得的。

3.12

协调员 coordinator

由制造商或研究员（3.13）授权负责整个性能评估的人员。

3.13

研究者 investigator

在特定机构负责执行性能评估的人。

3.14

评估计划 evaluation plan

对计划的性能评估的描述。

3.15

评估报告 evaluation report

对性能评估的描述和结论。

3.16

细菌生物群 bacterial organism group

具有相似特征的一组相关细菌属和种。

4 试验方法

4.1 概述

生产商或研究者负责按照评估计划启动和执行性能评估。生产商应规定所有管理和执行性能评估人员的责任。

生产商或研究者应指定一个对性能评估和评估报告全面负责的协调员。可包括一个协调员，该协调员应评估和文件化使用的标准。并指明哪些性能指标符合要求。

制造商进行的评估应包括使用当前和库存菌株进行的准确性、再现性和质量控制（QC）测试，至少三个不同实验室进行。其中最多一个可以是制造商的实验室。或者，这些研究可以在模拟三个地点的单一地点进行（例如，多个用户/仪器、地理上不同的微生物来源）。这个单一地点可以在制造商的实验室内。完整的测试方案宜关注制造商最常用的使用说明或主要方法。

或者，包含制造商使用说明的变化（例如，接种程序或设备的手工读取）或其他次选方法的研究宜包括如下所述的重现性和 QC 部分。这些研究可以在模拟三个地点的单一地点进行（例如，多个用户/仪器、地理上不同的微生物来源）。这个单一地点可以在制造商的实验室内。

对应于某微生物群（例如革兰阴性发酵杆菌）的已发布折点变更或对质量控制范围变更对受试设备的而做的变更不宜要求重新测试或重新分析所有细菌分离物，如果这些变更涉及受试设备中先前验证的浓度。可以使用比最终产品更宽的稀释序列对受试设备进行初始评估，以提供全面的评估，而为日常使用提供的产品稀释度给出灵活性。

4.2 方法

4.2.1 参考方法

参考方法应如 ISO 20776-1 所述。

参考方法程序可以在所有测试地点对受试设备同时执行，或者在一个地点对研究中测试的所有分离株进行，这个地点可以是制造商的。如果参考方法和受试设备在同一地点进行试验，参考方法和受试设备应在同一天，自同一接种源设立。

参考方法的变异性可以在 AST 设备研究之前或期间确定。可以使用单个参考方法测试点。如果注意到参考变异性，结果宜表明需要在单个地点执行参考测试以消除变异性，或执行参考方法的重复测试，在这种情况下使用重复测试的众数或中位值。

注：在某些情况下，除了参考方法 MIC 结果外，还可以使用其他公认方法的结果来仲裁结果。例如检测特定耐药基因的试验，如 *mecA* 基因（编码苯唑西林耐药）或基因产物（PBP 2a），被广泛采用并被认为是检测葡萄球菌苯唑西林耐药的参考方法。

4.2.2 菌株选择

评估方案宜包含与抗微生物药物相关的至少 300 个临床分离株（100 个/地点）。每个患者每种细菌应只取一个分离株。该集合宜包涵在设备的预期用途范围内尽可能多的属和物种的分离株。宜包括尽可能多的代表对抗微生物药物不同程度敏感性的不相关菌株。

集合不宜偏重单一种或种复合群，除非该设备预期仅用于该种或种复合群。贮存株可用于补充当前

临床分离株，以提供具有不同耐药机制的菌株。一个合理的方法是每个地点使用 25 株当前分离株和 75 株贮存株。如果设备旨在测试单个属或种，则所有地点总共宜研究至少 100 株分离株。如果可能，总体上至少应检测 25 株在稀释范围内的分离株，以获得意义的偏倚估计。

应规定一组至少 10 株菌株，以评估 AST 设备的实验室内和实验室间再现性。质量控制菌株集合应至少包括 AST 设备说明书中定义的菌株以及提供在稀释范围内结果所需的任何其他菌株。

4.2.3 质量控制 (QC)

应在参考设备或受试设备上性能测试的参考和受试设备上每天进行质控菌株测试。

质控菌抗微生物药物的 MIC 宜在最新版本的 CLSI M100 文件^[2]或 EUCAST 质量控制文件^[4]中给出的范围内。不可能提供一个单一的质量控制表。对于当前的质量控制范围，宜参考采用此肉汤微量稀释参考方法 (CLSI 和 EUCAST) 组织的最新出版物。

CLSI 或 EUCAST 描述的一些标准质量控制菌株在最终测试方法配置中可能没有在稀释范围内的结果。受试方法可以有 CLSI 或 EUCAST 并未描述的额外质量控制菌株，这些菌株是测试程序的必要的一部分。这些菌株采用的质量控制范围宜按照制造商在 AST 设备说明书中所述。

4.2.4 参考方法的质控 (QC)

如果任何一个抗微生物药物/质控菌组合用参考方法检测时超出质控范围，并且该抗微生物药物只有一个稀释范围内质控菌株，应重复当天对抗微生物药物的参考方法的所做测试。如果参考方法和受试设备在同一地点同时测试，则应重复当天的所有测试。

对于有两个或更多稀释范围内 MIC 结果的质控菌株的抗微生物药物，以下适用：

- a) 如果用参考方法检测时一个抗微生物药物/质控菌组合的 QC 结果超出质控范围，而其他质控在期望范围内，如果在下一个测试日的结果在期望值范围内，则该天的该抗微生物药物/细菌组合可被接受。
- b) 如果连续两天内用参考方法检测时任何抗微生物药物/质控菌组合的 QC 结果都超出质控范围，应重复测试该抗微生物药物参考方法和受试设备两天的结果。
- c) 如果一天内用参考方法检测时任何抗微生物药物/质控菌组合的两个或更多稀释范围内质控菌的 QC 结果超出范围，应重复测试抗微生物药物参考方法和受试设备当天的所有试验。

4.2.5 受试设备的再现性测试

在评估受试设备的每个地点，至少选择 10 个菌株（只要可能，包括对被测抗微生物药物长稀释系列的具有在稀释范围内 MIC 测试结果的菌株），每个菌株作 3 个重复测试，试验时间应不少于 3 天。最终报告中宜注明在稀释范围内菌株的数量。最终的测试配置很可能仅包含测试的稀释度子集。

4.2.6 分离株试验方案

对设备的分离株测试，包括 QC 和再现性，应按照生产商的使用说明进行。将受试设备结果与参考方法的 MIC 或定性结果进行比较。

4.2.7 接种物制备

受试设备接种物的标准化制备应按照生产商的使用说明进行。

4.2.8 偏差辨别试验

对于 MIC 试验结果对参考方法超出基本符合（EA）范围的微生物，可以进行偏差辨别测试。另外，偏差辨别也可用于定性测试。在这种情况下，偏差被定义为与参考方法不一致的结果。如果有合理的技术错误证据（如测试了混合培养，错误培养条件），应重复参考方法和受试方法，并应使用产生的重复结果替换原来的结果。

如果没有明显技术错误迹象，可用分别制备的细菌接种悬液以参考方法和测试方法同时进行三个平行的重复试验来确认偏差。或者，对偏差的结果，以分别制备的细菌接种悬液以参考方法和测试方法进行一次两个平行的重复试验，并与最初的试验结果产生三个结果用于分析。当进行附加试验以调查偏差时，还宜测试相同数量的具有一致性结果的分离株。一致的分离株的选择宜根据相似的微生物类型和/或相似的测试结果，如果可行，每种分离株均采用两种方法进行三次检测。

偏差辨别测试后的测试方法和参考方法结果的最终解释将基于比较两种方法的三次测试的众数或中位数（见表 3）。

表3 附加试验结果的解释

分离株	MIC 试验						
	测试方法			参考方法			众数/中位数 基本符合（EA）
	初始	附加	众数/中位数	初始	附加	众数/中位数	
A	1	1、2、2	2	4	2、4、4	4	是
B	1	1、2、4	2	4	2、4、4	4	是
C	8	2、2、4	2	1	1、2、4	2	是
D	1	1、1、2	1	4	2、4、4	4	否
定性试验							
E	+	+, +, +	+	-	+, +, +	+	是

4.2.9 被评估的系统

被评估设备的所有组件（如光密度计、读数仪、光学系统、解释性算法）应与上市的设备配置相当。用于 AST 研究的评估计划不应偏离生产商规定的标准程序。

5 数据分析与可接受标准

5.1 受试设备的准确度

5.1.1 概述

对于 MIC 设备，应计算总体 EA 和偏倚。对于定性设备，应计算灵敏度和特异性。

5.1.2 MIC 设备

MIC AST 设备和参考方法的结果相比时宜始终具备总 EA≥90%并且偏倚不超过±30%。总体 EA 宜至少由革兰阳性、革兰阴性发酵和革兰阴性非发酵微生物分别测试，并宜对不同参考方法的微生物（例

如，链球菌属）分别计算。此外，如果观察到超过±30%的偏倚将对偏倚进行单独分析，如果未通过偏倚辨别测试解决，则将在标示中添加注释。

宜对偏差进行分析，以确定特定细菌群是否受到影响并要求限制该细菌和特定抗微生物药物在该设备的使用（参见附录 A 和附录 B）。

5.1.3 定性 AST 设备

定性 AST 设备和参考方法的结果相比时宜始终具备灵敏度和特异性≥95%。总灵敏度和特异性宜至少由革兰阳性、革兰阴性发酵和革兰阴性非发酵微生物分别测试，并宜对不同参考方法的微生物（例如，链球菌属）分别计算。

宜对偏差进行分析，以确定特定细菌种或细菌生物群是否受到影响并要求限制该细菌种或群和特定抗微生物药物在该设备的使用（见 4.2.8 和附录 C）。

5.2 受试设备的质量控制（QC）

在设备的评估研究期间，对于来自所有地点组合的至少 95%的结果，在受试设备上测试的 QC 菌株宜在 CLSI 或 EUCAST 的最新 QC 标准中规定的预期范围内。如果测试方法采用 CLSI 或 EUCAST 未描述的其他质量控制菌株，则这些菌株在评估研究期间获得的结果至少宜有 95%在制造商描述的预期范围内。

5.3 受试设备的再现性

受试设备的再现性是通过将受试设备与其自身进行比较，而不是与参考肉汤微量稀释板进行比较。MIC 装置的重现性应在众数/中位数的正负一个倍比稀释范围内，或对于≥95%的结果，最多在该抗微生物药物的三个稀释倍数的范围。对定性或三稀释度 MIC 装置的再现性应给出≥95%的结果的一致性。

5.4 研究相关文件

在开始评价之前应写出产品描述和评价计划。应作出最终报告，清晰指明被测设备相对于参考方法对每个微生物群和/或属与每个抗微生物药物的性能。对每个抗微生物药物应说明设备的性能。应列出参加评价研究的实验室。

附录 A

(资料性)

评价 MIC 试验的性能

MIC 试验的性能基于两个指标，即基本符合（EA）和偏倚。基本符合(EA)提供了测试方法和参考方法之间一致性的度量。偏倚提供了受试结果与参考方法相比准确度的度量。有偏倚的测试其结果始终高于或低于参考方法。

对于基本符合（EA）的计算，受试方法和参考方法要比较的 MIC 范围宜相同。如果参考方法 MIC 值的实际范围比受试方法宽，则小于受试方法报告的最低 MIC 的值应与对应于测试低端的 MIC 合并。同样，大于受试方法能报告的最高 MIC 的 MIC 应与对应于测试高端的 MIC 合并。

举个例子，假设受试方法给出以下 MIC：≤2、4、8、16、32 和 >32。在临床测试期间，参考方法获得的 MIC 范围从 ≤0.5 到 >128。表 A.1 和 A.2 示例说明了到对参考结果分布的调整，以计算基本符合（EA）。

表 A.1 实际参考方法的 MIC 范围和结果频率

≤ 0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
44	85	92	48	13	3	8	3	1	3

表 A.2 计算基本符合（EA）的参考方法 MIC 范围和结果频率

≤ 2	4	8	16	32	> 32
221	48	13	3	8	7

基本符合定义为 AST 设备或受试方法获得的 MIC 结果在参考方法的 MIC 值的正负一倍稀释范围内。总体而言，基本符合率计算为 $100 \times (\text{EA 内的分离株} / \text{总分离株})$ 。可接受的总体基本符合率为 ≥90%。表 A.3 和 A.4 总结了如何确定基本符合。

表 A.3 MIC 比较

		参考方法						合计
		≤ 2	4	8	16	32	> 32	
受试方法	≤ 2	154 ^a	17	0	0	0	0	171
	4	66	30	8	1	1	0	106
	8	1	1	1	0	0	0	3
	16	0	0	3	0	2	0	5
	32	0	0	1	2	3	3	9
	> 32	0	0	0	0	2	4	6
合计		221	48	13	3	8	7	300
^a 阴影单元格代表在 EA 范围的结果。								

表 A.4 MIC 倍比稀释差异分布（受试方法 MIC-参考方法 MIC）

	基本符合
--	------

≤ -3	-2	-1	0	+1	+2	$\geq +3$	(EA)
1	1	30 ^a	192	74	2	0	296/300 98.7%
^a 阴影单元格代表在 EA 范围的结果							

为了评估偏倚，目标是比较受试结果大于参考方法的百分比和受试结果小于参考方法的百分比。无偏倚的测试会具有相对相等的百分比。对于本文件中定义的方法，使用了所有可用数据，包括在 MIC 范围末端出现的结果。

为了演示偏倚计算，考虑表 A.2 中列出的参考结果的分布。只有在参考方法 MIC ≤ 2 到 32 时，受试结果才可能大于参考方法。

A. 要确定大于参考方法的受试结果百分比，完成以下操作：

- 计数参考方法为 MIC ≤ 2 到 32 且受试方法 MIC 大于参考方法的分离株的数量
- 计数参考方法为 MIC ≤ 2 到 32 的分离株总数
- 将步骤 1 中的数字除以步骤 2 中的数字并乘以 100

使用表 A.3:

——参考方法 MIC ≤ 2 至 32 且受试方法 MIC 大于参考方法的分离株的数量：
(66+1+1+3+1+2+2) = 76

——参考方法 MIC ≤ 2 至 32 的分离株数量：(221+48+13+3+8) = 293

—— $100 \times (76 / 293) \approx 25.9\%$

B. 要确定小于参考方法的测试结果百分比，完成以下操作：

- 计数参考方法 MIC 为 4 到 > 32 且受试方法 MIC 小于参考方法的分离株数量
- 计数参考方法 MIC 为 4 至 > 32 的分离株总数
- 将步骤 1 中的数字除以步骤 2 中的数字并乘以 100

使用表 A.3:

——参考方法 MIC 为 4 至 > 32 且受试 MIC 小于参考方法的分离株数量是 (17+8+1+2+1+3) = 32

——参考方法 MIC 为 4 至 > 32 的分离株数量为 (48+13+3+8+7) = 79

—— $100 \times (32 / 79) \approx 40.5\%$

计算偏倚的最后一步是找出大于参考方法的结果百分比与小于参考方法的结果百分比之间的差异。在示例中，这就是 25.9%-40.5% 或 -14.6%。介于-30.0%到 30%之间的偏倚被认为是可以接受的。

偏倚基于所有分离株。当偏倚不满足在 $\pm 30\%$ 以内的标准时，可以考虑如下。第一，可以完成额外的测试来检查测试偏倚是否可以归因于测试或随机变化。第二，如果偏倚无法解决，宜给出标示，描述偏倚来源，例如在稀释范围的 MIC 范围或微生物群。

重要的是要注意，为了计算偏倚，在稀释范围内分离株的总数应为 25 株。此限制将在 MIC 范围内分离株数量有限的情况下获得人为高百分比的风险降至最低。此情形的一个例子会是当存在分离株具

有耐药性或升高的 MIC 有限时。当不可能计算偏倚时，EA 变成唯一性能指标。

附录 B

(资料性)

偏倚分析的基本原理

在比较受试方法和参考方法之间的 AST 结果时，有可能观察到较高的基本符合（EA），而受试方法提供的结果始终高于或低于参考方法。这种情况表明测试方法的结果存在偏倚，因此，在检查 AST 方法性能时评估偏倚变得很重要。偏倚通常提供受试结果与参考方法相比准确性的度量。

作为本文件中描述的偏倚分析的目的，考虑以下内容。创建了两种 AST 方法之间的稀释度差异分布，以说明评估偏倚的必要性。该分布是基于有可能达到高水平的基本符合（EA）时对多种抗微生物药物临床数据的审核。该数据包括不同类别的抗微生物药物、不同的微生物群和不同数量的稀释范围内分离株。根据这些数据，表 B.1 中给出的分布代表了受试方法和参考方法结果之间稀释度差异的平均对称分布。

表 B.1 受试方法和参考方法 MIC 结果之间的稀释度差异分布

≤-2	-1	0	+1	≥+2	基本符合（EA）
1.5%	7.0%	83.0%	7.0%	1.5%	97.0%

表 B.2 显示了一个理论方法来说明测试偏差偏倚如何影响结果。为了计算+30%的偏倚，使用了以下过程：

- 如果偏倚为 +30%，则分布列中 70%的结果将不受影响，30%将转移到下一个更高的稀释度。
- 对于≤-2 列，1.5% 的 70%为 1.05%，或 1.1%，修约到最接近的十分位。因此 1.1% 的结果保留在分布的这一列中。
- 对应于 -1 的列变为 7% 的 70% 加上 1.5% 的 30%。或者，4.9%+0.5% 变成大约 5.4%。
- 依此类推，从一列到下一列。

相同的过程适用于所在列和不同的偏倚水平，以估计结果总体结果分布的变化。

表 B.2 偏倚对受试和参考 MIC 结果之间稀释度差异分布的影响

偏倚	≤-2	-1	0	+1	≥+2	基本符合（EA）
无	1.5%	7.0%	83.0%	7.0%	1.5%	97.0%
+30%	1.1%	5.4%	60.2%	29.8%	3.5%	95.4%
+40%	0.9%	4.8%	52.6%	37.4%	4.3%	94.8%
+50%	0.7%	4.3%	45.0%	45.0%	5.0%	94.3%

应用偏倚后分布的变化表明需要进行这种类型的分析。然而，这个示例的假设是每个分离株都可

以向任一方向移动。MIC 处于可报告结果范围极端值的分离株不能只表现出一个方向的偏倚。因此，偏倚分析分为两组：参考 MIC 低于可能最高结果的分离株和参考 MIC 高于最低可能结果的分离株。通过对每组数据的分析，可以确定测试结果大于参考值的百分比和结果小于参考值的百分比。这两个百分比之间的差异成为测试偏倚的估计值。

通过检查表 B.2 中的偏倚影响和审核临床数据来确定在 -30% 和 +30% 区间内的偏倚接受标准。超出给定区间的差异与 MIC 差异分布的明显偏离相关。

关于选择每组中可用于分析的最小分离株数以计算偏倚，使用至少 25 株在稀释范围内的分离株作为临界值提供了检测到高水平偏倚（至少 50%）的合理概率，不会产生当真实百分比相对较小（10% 或更少）时错误指示不可接受偏倚的风险。

附录 C

(资料性)

定性测试的灵敏度和特异性分析

表 C.1 概括地描述了对定性筛查或折点试验的灵敏度和特异性计算方法。

表 C.1-定性(筛查或折点)试验的分析

		参考方法		合计
		(-) 或不生长	(+) 或生长	
受试方法	(-) 或不生长	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>
	(+) 或生长	<i>C</i>	<i>d</i>	<i>c+d</i>
合计		<i>a+c</i>	<i>b+d</i>	(<i>a, b, c, d</i>) 之和

$$\text{灵敏度} = 100 \times [d / (b + d)]$$

$$\text{特异性} = 100 \times [a / (a + c)]$$

表 C.2 示例涵盖了定性测试情形，此时受试和参考结果的比较可以总结在 2×2 表中。结果是二项分布的：
+ 或 -, ≤*a* 或 ≥*b*，其中 *a* 和 *b* 表示 MIC 值。

表 C.2-定性(筛查或折点)试验的分析示例

		参考方法		合计
		(-)	(+)	
受试方法	(-)	168	3	171
	(+)	7	159	166
合计		175	162	337

$$\text{灵敏度} = 100 \times [159 / (3 + 159)]$$

$$= 100 \times (159 / 162)$$

$$= 98.1\%$$

$$\text{特异性} = 100 \times [168 / (168 + 7)]$$

$$= 100 \times (168 / 175)$$

$$= 96.0\%$$

表 C.3 概括地描述了计算三稀释度定性测试的灵敏度和特异性的方法。

表 C.3-三稀释度定性测试分析

		参考方法			合计
		≤MIC 低值	MIC 中间值	≥MIC 高值	

受试方法	≤MIC 低值	a	b	C	$a+b+c$
	MIC 中间值	d	e	F	$d+e+f$
	≥MIC 高值	g	h	I	$g+h+i$
合计		$a+d+g$	$b+e+h$	$c+f+i$	$(a-i)$ 之和

$$\text{灵敏度} = 100 \times [i/(c+f+i)]$$

$$\text{特异性} = 100 \times [a/(a+d+g)]$$

表 C.4 示例涵盖了受试和参考结果的比较可以总结在 3×3 表中的定性测试情形。示例可以是：
≤ x、y 或 ≥ y，其中 x、y 和 z 代表 MIC 值。

表 C.4-三稀释度定性测试分析示例

		参考方法			合计
		≤2	4	≥8	
受试方法	≤2	154	1	1	156
	4	6	3	3	12
	≥8	2	3	129	134
合计		162	7	133	302

$$\text{灵敏度} = 100 \times [129 / (1 + 3 + 129)]$$

$$= 100 \times (129 / 133)$$

$$= 97.0\%$$

$$\text{特异性} = 100 \times [154 / (154 + 6 + 2)]$$

$$= 100 \times (154 / 162)$$

$$= 95.1\%$$

参考文献

- [1] ISO/TS 22176:2020, *Cosmetics — Analytical methods — Development of a global approach for validation of quantitative analytical methods*
- [2] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Informational Supplement M100 Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA. (Most recent version)
- [3] Clinical breakpoints – bacteria. EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (For the latest version see https://eucast.org/clinical_breakpoints/)
- [4] Routine internal quality control as recommended by EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (For the latest version see; http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/qc_tables)