ICS 11.020
CCS C 50

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 411—2024
代替 WS/T 411—2013

抗丝状真菌药物敏感性试验标准
肉汤稀释法

Standards for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi
—Broth dilution method

2024－04－02 发布　　2024－09－01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会　　发 布

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　术语和定义 1
4　抗真菌药物的配制 2
5　培养基的配制 6
6　肉汤稀释法操作步骤 6
7　结果判读与解释 8
8　质量控制 10
附录 A（资料性）　RPMI-1640 干粉肉汤培养基配制方法 12
附录 B（规范性）　肉汤稀释法质控菌株 MIC 范围 14
附录 C（规范性）　体外微量肉汤稀释法 MIC 折点 14
附录 D（规范性）　丝状真菌 ECV 值汇总表 16
附录 E（规范性）　EUCAST 微量肉汤稀释法质控范围、折点和 ECOFF 值 19
参考文献 22

前　　言

本标准为推荐性标准。

本标准代替 WS/T 411—2013《抗丝状真菌药物敏感性试验—肉汤稀释法》，与 WS/T 411—2013 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术内容变化如下：

——范围明确了不适合本行标的真菌种类（见 1）；

——增加了术语和定义中“最低有效浓度”、“流行病学界值”、“野生型”、“非野生型”和“拖尾生长”（见 3.2、3.8、3.9、3.10、3.12）；

——抗真菌药物储存液使用的溶剂、稀释液和检测范围表格分为非皮肤真菌和皮肤真菌，增加了艾莎康唑、阿尼芬净、环吡酮、灰黄霉素、特比奈芬（见 4.4.1）；

——结果解释内容，按 CLSI（Clinical and Laboratory Standard Institute）折点和流行病学界值（CLSI 表述：epidemiological cutoff value，ECV）解释结果；增加了 EUCAST（The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing）折点和流行病学界值（EUCAST 表述：epidemiological cutoff，ECOFF）结果解释，并在附录 E 列出试验条件、质控范围、折点、ECOFF 值等表格（见 7.2、附录 E）；

——增加了结果报告方式，CLSI 及 EUCAST 两种药敏方法相应的报告结果方式（见 7.3）；

——质量控制部分删除了质控频率和检测频率内容，增加：1）按培养基和材料质控、纯度质控、终点判读质控描述；2）日常使用质控菌株的复苏方法（见 2013 年版的 7.5，见 8.2、8.3、8.5.2）；

——更改了附录 A 为相关培养基配制表格，附录 B 为质控菌株 MIC 范围，附录 C 为烟曲霉对伏立康唑的 MIC 折点，附录 D 为丝状真菌 ECV 值汇总表等（见附录 A、附录 B、附录 C、附录 D，见 2013 年版的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D）。

本标准由国家卫生健康标准委员会临床检验标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由国家卫生健康委医疗管理服务指导中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委员会医政司负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：北京医院/国家卫生健康委临床检验中心、中国医学科学院北京协和医院、首都医科大学附属北京友谊医院、北京大学人民医院、北京大学第一医院、首都医科大学附属北京同仁医院、复旦大学附属华山医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院。

本文件主要起草人：胡继红、徐英春、苏建荣、胡云建、王辉、李若瑜、鲁辛辛、章强强、孙自镛、艾效曼。

本标准于2013年首次发布，本次为第一次修订。

抗丝状真菌药物敏感性试验标准 肉汤稀释法

1 范围

本标准规定了微量和宏量肉汤稀释法检测抗丝状真菌药物最低抑菌浓度（Minimal Inhibitory Concentration, MIC）的参考方法。

本标准适用于引起深部真菌感染的产孢丝状真菌的药物敏感性试验，包括曲霉属某些种（*Aspergillus* spp.）及种复合群、镰刀菌属某些种（*Fusarium* spp.）及种复合群、根霉属某些种（*Rhizopus* spp.）和毛霉目*Mucorales*（接合菌纲*Zygomycetes*）、多育节荚孢霉（*Lomentospora prolificans*，原多育赛多孢霉（*Scedosporium prolificans*）和申克孢子丝菌复合群的菌丝相，以及引起皮肤真菌感染的毛癣菌属某些种（*Trichophyton* spp.）、小孢子菌属某些种（*Microsporum* spp.）和表皮癣菌属某些种（*Epidermophyton* spp.）。

本标准不适用于检测双相真菌如皮炎芽生菌（*Blastomyces dermatitidis*）、荚膜组织胞浆菌（*Histoplasma capsulatum*）、粗球孢子菌属（*Coccidioides* spp.）、马尔尼菲篮状菌（*Talaromyces marneffei*）及酵母样真菌的药敏试验，也不适用于检测棘白菌素类对皮肤真菌以及环吡酮、灰黄霉素或特比萘芬类对非皮肤真菌的药敏试验。

2 规范性引用文件

本标准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标准。

3.1

最低抑菌浓度 minimal inhibitory concentration; MIC

肉汤稀释法中，抗真菌药物能抑制微生物生长的最低浓度。

3.2

最低有效浓度 minimal effective concentration; MEC

在最低浓度抗菌药物作用下，与生长对照孔菌丝浑浊生长相比，引起菌丝呈小而圆菌落、非融合生长变化的最低药物浓度。本定义目前仅用于棘白菌素类抗真菌药。

3.3

折点 breakpoint

用于区分菌株为敏感、中介、耐药的最低抑菌浓度（MIC）。

3.4

解释性分类 interpretive category

结果解释分类基于可获得的微生物特性、药代动力学-药效学（PK/PD）参数和临床疗效结果数据。根据建立的折点将药敏结果进行敏感、中介、耐药解释分类。

3.5

敏感 susceptible; S

此浓度的抗真菌药物在体外试验中能抑制真菌生长，当使用推荐剂量时，可能获得良好的临床疗效。

3.6

中介 intermediate; I

菌株的MIC通常可达到常规用药时血液和组织中的药物浓度水平，但反应率可能低于敏感株，不能明确划分为“敏感”或“耐药”。在体外可抑制真菌的生长，但不能确定此浓度的临床疗效。药物在机体生理浓集部位或可用高于正常剂量的药物进行治疗以获得临床疗效。还可作为检测方法固有变异的缓冲区，以防止微小的、不可控的技术因素导致较严重的错误结果，特别是那些毒性范围窄的药物。

3.7

耐药 resistant; R

当使用推荐剂量时，临床治疗很可能失败。

3.8

流行病学界值 epidemiological cutoff value; ECV/ epidemiological cutoff;ECOFF

基于菌株MIC值，将微生物群归类为是否含有获得性耐药和/或突变耐药表型的两个群体（野生型和非野生型）。ECV定义了菌株野生型生物群药物敏感性的上限值（MIC最大值）。

3.9

野生型 wild-type; WT

通过ECV值定义的解释分类，ECV将分离菌株归类为对某种检测的抗真菌药物无获得性耐药机制或无敏感性降低的生物型。

3.10

非野生型 non-wild-type; NWT

通过ECV值定义的解释分类，ECV将分离菌株归类为对某种检测的抗真菌药物具有推测的/已知获得性耐药机制或敏感性降低的生物型。

3.11

效价 potency

抗菌药物中具有抗菌活性的组分，其有效含量通过同类标准物质测定得出，单位通常用mg/g、μg/mg、IU/g，或用百分比表示。

3.12

拖尾生长 trailing growth

在结果读取时间内，随着培养时间的延长，在一定药物浓度范围内菌量减少但仍少量持续生长的现象。

3.13

质量控制 Quality Control; QC

为保证检测的准确性和可重复性而采取的方法或技术。

4 抗真菌药物的配制

4.1 抗真菌药物标准品或参考品

抗真菌药物使用标准品或参考品。使用有效期内的标准品或参考品，按说明书推荐的条件下储存。当把药物从低温环境中取出时，需恢复到室温后再开瓶。

4.2 称量药物

可使用式（1）、式（2）计算药物重量及稀释液体积：

$$m = \frac{\rho \times V}{\tau} \quad (1)$$

$$V = \frac{m \times \tau}{\rho} \quad (2)$$

式中：

m ——药物的重量，单位为毫克（mg）；

ρ ——药物的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

τ ——药物的效价，单位为微克每毫克（μg/mg）；

V ——药物的浓度，单位为毫升（mL）。

4.3 药物储存液（母液）

4.3.1 药物称量

药物称量按照配制储存液的浓度计算，配制储存液浓度至少按检测范围最高浓度的100倍配制储存液。但有些溶解度低的药物应配制较低浓度的储存液。称量应在分析天平上进行，天平应定期校准。

4.3.2 溶剂

溶解时，一些药物需使用非水溶剂溶解，溶剂的信息可参考厂家说明书。溶剂（分析纯）包括：二甲基亚砜（DMSO）、乙醇、聚乙二醇和羧甲基纤维素。

4.3.3 过滤

储存液通常是无菌的，当有特殊要求时应进行无菌膜过滤（过滤细菌常用孔径为0.2 μm，但应避免使用纸张、石棉和玻璃滤器等具有吸附抗真菌药物的材质。

4.3.4 存储

储存液应在无菌塑料管中分装，密封保存于-70 ℃（或-20 ℃～-70 ℃）。从冰箱中取出的当天使用，现用现取，未用完的应丢弃。大多数药物储存液在-70 ℃可保存6个月。

4.4 药物稀释液

4.4.1 药物稀释液浓度范围

药物稀释液及药物浓度检测范围见表1。

表1 抗真菌药物储存液使用的溶剂、稀释液种类及药物浓度检测范围

抗真菌药物	溶剂[a]	稀释液	浓度范围μg/mL
抗非皮肤真菌药物			
两性霉素B	DMSO[b]	培养基[c]	0.0313～16
艾沙康唑	DMSO	培养基	0.0313～16
伊曲康唑	DMSO	培养基	0.0313～16
酮康唑	DMSO	培养基	0.0313～16
泊沙康唑	DMSO	培养基	0.0313～16
伏立康唑	DMSO	培养基	0.0313～16
氟康唑	DMSO	培养基	0.125～64
氟胞嘧啶	DMSO	培养基	0.125～64
卡泊芬净	DMSO	培养基	0.008～4

表 1　抗真菌药物储存液使用的溶剂、稀释液种类及药物浓度检测范围（续）

抗真菌药物	溶剂[a]	稀释液	浓度范围μg/mL
抗非皮肤真菌药物			
阿尼芬净	DMSO	培养基	0.008～4
米卡芬净	DMSO	培养基	0.008～4
抗皮肤真菌药物			
环吡酮	DMSO	培养基	0.06～32
灰黄霉素	DMSO	培养基	0.125～64
氟康唑	DMSO	培养基	0.125～64
伊曲康唑	DMSO	培养基	0.001～0.5
伏立康唑	DMSO	培养基	0.001～0.5
特比萘芬	DMSO	培养基	0.001～0.5
泊沙康唑	DMSO	培养基	0.004～8

[a] 某些溶剂存在潜在毒性，使用前应咨询厂家。
[b] DMSO指二甲基亚砜。
[c] 培养基指RPMI-1640肉汤培养基，如使用商品化RPMI-1640肉汤干粉配制,步骤见表A.1。

4.4.2　水溶性药物稀释液

对于溶于水的抗真菌药物，直接用肉汤1:50稀释。当进行小样本量检测时推荐使用表2的稀释步骤。

表2　水溶性抗丝状真菌药物敏感试验稀释步骤（小样本量皮肤真菌）

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积　+（mL）	培养基　=（mL）	中间浓度　=（μg/mL）	1:5稀释后浓度[a]（μg/mL）
1[b]	5120	储存液	1.0	7.0	640	128
2	640	步骤 1	1.0	1.0	320	64
3	640	步骤 1	1.0	3.0	160	32
4	160	步骤 3	1.0	1.0	80	16
5	160	步骤 3	0.5	1.5	40	8
6	160	步骤 3	0.5	3.5	20	4
7	20	步骤 6	1.0	1.0	10	2
8	20	步骤 6	0.5	1.5	5	1
9	20	步骤 6	0.5	3.5	2.5	0.5
10	2.5	步骤 9	1.0	1.0	1.25	0.25
11	2.5	步骤 9	0.5	1.5	0.625	0.125

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积 +（mL）	培养基 =（mL）	中间浓度 =（μg/mL）	1:5稀释后浓度[a]（μg/mL）
12	2.5	步骤 9	0.5	3.5	0.3125	0.0625

表 2 水溶性抗丝状真菌药物敏感试验稀释步骤（小样本量皮肤真菌）（续）

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积 +（mL）	培养基 =（mL）	中间浓度 =（μg/mL）	1:5稀释后浓度[a]（μg/mL）

[a] 表示 2 倍终浓度。

[b] 配制步骤 1 举例，取 5120 μg/mL 的储存液 1.0 mL，加入 7.0 mL 培养基，得到中间浓度为 640 μg/mL，作为步骤 2 的初始浓度，取 1.0 mL，加入 1.0 mL 培养基，得到中间浓度 320 μg/mL，以此类推；宏量肉汤稀释法取 0.1 mL 中间浓度液与 10 倍浓度接种菌悬液充分混合得到最终药物浓度（终浓度）。

4.4.3 非水溶性药物稀释液

对于非水溶性药物需要先用合适的溶剂配制成终浓度100倍的储存液，然后再用肉汤1:50稀释，针对非皮肤来源真菌标本的药物稀释步骤见表3，针对皮肤来源真菌标本的药物稀释步骤见表4。

表3 非水溶性抗丝状真菌药物敏感试验稀释步骤（非皮肤真菌）

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积 +（mL）	溶剂 = 如DMSO[a]（mL）	中间浓度 =（μg/mL）	1:50稀释后浓度（μg/mL）
1	1600	储存液	-	-	1600	32
2	1600	储存液	0.5	0.5	800	16
3	1600	储存液	0.5	1.5	400	8
4[b]	1600	储存液	0.5	3.5	200	4
5	200	步骤 4	0.5	0.5	100	2
6	200	步骤 4	0.5	1.5	50	1
7	200	步骤 4	0.5	3.5	25	0.5
8	25	步骤 7	0.5	0.5	12.5	0.25
9	25	步骤 7	0.5	1.5	6.25	0.125
10	25	步骤 7	0.5	3.5	3.13	0.0625
11	3.13	步骤 10	0.5	0.5	1.56	0.0313
12	3.13	步骤 10	0.5	1.5	0.78	0.0156

[a] DMSO指二甲基亚砜。

[b] 配制步骤 4 举例，取 1600 μg/mL 的储存液 0.5 mL，加入 3.5 mL 溶剂，得到中间浓度为 200 μg/mL，作为步骤 5 的初始浓度，取 0.5 mL，加入 0.5 mL 溶剂，得到中间浓度 100 μg/mL，以此类推；宏量肉汤稀释法取 0.1 mL 中间浓度液与 10 倍浓度接种菌悬液充分混合得到最终药物浓度（终浓度）。

表4 非水溶性抗丝状真菌药物敏感试验稀释步骤（皮肤真菌）

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积 +（mL）	溶剂 = 如DMSO[a]（mL）	中间浓度 =（μg/mL）	1:50稀释后浓度（μg/mL）
1	6400	储存液	-	-	6400	128
2[b]	6400	储存液	0.5	0.5	3200	64

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积 +（mL）	溶剂 = 如DMSO[a]（mL）	中间浓度 =（μg/mL）	1:50稀释后浓度（μg/mL）
3	6400	储存液	0.5	1.5	1600	32
4	6400	储存液	0.5	3.5	800	16

表 4 非水溶性抗丝状真菌药物敏感试验稀释步骤（皮肤真菌）（续）

配制步骤	浓度（μg/mL）	来源	体积 +（mL）	溶剂 = 如DMSO[a]（mL）	中间浓度 =（μg/mL）	1:50稀释后浓度（μg/mL）
5	800	步骤 4	0.5	0.5	400	8
6	800	步骤 4	0.5	1.5	200	4
7	800	步骤 4	0.5	3.5	100	2
8	100	步骤 7	0.5	0.5	50	1
9	100	步骤 7	0.5	1.5	25	0.5
10	100	步骤 7	0.5	3.5	12.5	0.25
11	12.5	步骤 10	0.5	0.5	6.25	0.125
12	12.5	步骤 10	0.5	1.5	3.13	0.0625
13	12.5	步骤 10	0.5	3.5	1.56	0.0313
14	1.56	步骤 13	0.5	0.5	0.78	0.0156
15	1.56	步骤 13	0.5	1.5	0.39	0.0078
16	1.56	步骤 13	0.5	3.5	0.195	0.0039
17	0.195	步骤 16	0.5	0.5	0.0975	0.0019

[a] DMSO指二甲基亚砜。

[b] 配制步骤 2 举例，取 6400 μg/mL 的储存液 0.5 mL，加入 0.5 mL 溶剂，得到中间浓度为 3200 μg/mL，步骤 3 取 6400 μg/mL 的储存液 0.5 mL，加入 1.5 mL 溶剂，得到中间浓度 1600 μg/mL，以此类推；宏量肉汤稀释法取 0.1 mL 中间浓度液与 10 倍浓度接种菌悬液充分混合得到最终药物浓度（终浓度）。

5 培养基的配制

5.1 RPMI-1640 干粉肉汤培养基的配制

推荐使用RPMI-1640肉汤培养基（配制方法见表A.1），若无商品化RPMI-1640干粉培养基，配方见表A.2。

5.2 含 2%葡萄糖的 RPMI-1640 肉汤培养基

微量肉汤稀释法推荐使用葡萄糖含量为2%的RPMI-1640肉汤培养基，配方见表A.3。

6 肉汤稀释法操作步骤

6.1 微量肉汤稀释法操作步骤

6.1.1 菌悬液的制备

6.1.1.1 非皮肤真菌

应在II型生物安全柜中完成接种和菌悬液的配制等操作。在丝状真菌的药敏操作过程中，应防止对标本、实验室环境和工作人员造成污染[12]。

大多数真菌可在马铃薯葡萄糖培养基（PDA）上经35 ℃培养7 d后接种或直至获得生长良好的孢子；毛霉目、曲霉属及种复合群经48 h培养后可获得孢子；镰刀菌属及种复合群在35 ℃培养48 h～72 h后，再转入25 ℃～28 ℃培养至7 d，一些在PDA上不能产孢或产孢不良的丝状真菌，可以更换更好的适宜产孢的培养基培养。

在1 mL 0.85%无菌盐水含终浓度为0.1%（v/v）的吐温20中加入丝状真菌菌落混匀，若有沉淀物应静置3 min～5 min。将上清转移至无菌试管中，密封后混匀15 s。

采用比浊法测定菌悬液浓度，在530 nm波长时的吸光度分别为：曲霉属及种复合群、皮炎外瓶霉、淡紫紫孢霉、宛氏拟青霉、申克孢子丝菌复合群OD值0.09～0.13；镰刀菌属及种复合群、斑替枝孢瓶霉、奔马赭霉、多育节荚孢霉、根霉属及其他毛霉目OD值0.15～0.17；离蠕孢属和链格孢属OD值0.25～0.3。

然后用肉汤培养基进行1:50稀释，如果检测菌株为申克孢子丝菌，则1:2倍稀释。将接种物稀释至0.8×10^4 CFU/mL（菌落形成单位/mL）～10×10^4 CFU/mL（终浓度的2倍）。最后将0.1 mL菌悬液加入微孔中。

6.1.1.2 皮肤真菌

大多数皮肤真菌在马铃薯葡萄糖培养基上生长良好。但红色毛癣菌需使用燕麦琼脂（见表A.4）经35 ℃培养4 d～5 d或直至获得生长良好的孢子。用1 mL 0.85%无菌盐水制备菌悬液，使用血细胞计数器计数，得到菌悬液浓度为2倍接种终浓度（1×10^3 CFU/mL～3×10^3 CFU/mL）。

6.1.2 接种物稀释液的定量

6.1.2.1 非皮肤真菌

将0.01 mL 1:10稀释的菌悬液接种在沙保罗培养基（Sabouraud Dextrose Agar, SDA）上，计数菌落形成单位（CFU/mL）。28 ℃～30 ℃培养并每日观察计数。培养时间从少于24 h（根霉属）到5 d（多育节荚孢霉）不等。

6.1.2.2 皮肤真菌

将0.01 mL菌悬液接种在沙保罗培养基（SDA）上，计数菌落形成单位（CFU/mL）。28 ℃～30 ℃培养并每日观察计数。培养时间为1 d～7 d.

6.1.3 接种

检测当日，将0.1 mL 2倍终浓度的菌悬液加入微孔中，并加入0.1 mL 2倍终浓度的药物稀释溶剂。对照管中加入0.1 mL 2倍终浓度的菌悬液和0.1 mL肉汤培养基。

6.1.4 培养

推荐在35 ℃条件下培养，培养过程中避免震摇试管，并观察是否存在可见生长。

6.1.4.1 非皮肤真菌培养

某些非皮肤真菌在30 ℃而非35 ℃培养才能生长。不同的抗真菌药物培养时间不同：非棘白菌素类，根霉属和毛霉目培养时间为21 h～26 h，曲霉属及种复合群、镰刀菌属及种复合群、申克孢子丝菌复合群、斑替枝孢瓶霉、皮炎外瓶霉、淡紫紫单孢菌、宛氏拟青霉培养时间为46 h～50 h，多育节荚孢霉培养时间为70 h～74 h；棘白菌素类，曲霉属及种复合群、宛氏拟青霉培养时间为21 h～26 h，多育节荚孢霉培养时间为46 h～72 h。

6.1.4.2 皮肤真菌培养

皮肤真菌的MICs值应在培养4 d后判读。

6.2 宏量肉汤稀释法操作步骤

6.2.1 药物稀释液

按照本标准第4.2条和第4.3条配制药物储存液。然后用RPMI-1640肉汤将储存液1:10稀释，得到10倍终浓度的稀释液。

6.2.2 菌悬液制备

按照本标准第5.1.1条方法制备菌悬液。涡旋震荡混匀15 s后，用肉汤培养基按1:100稀释得到终浓度0.4×10^4 CFU/mL～5×10^4 CFU/mL的菌悬液。

6.2.3 接种和培养

将0.1 mL10倍终浓度的药物稀释液分装在无菌试管中，然后加入0.9 mL菌悬液，35 ℃培养。

7 结果判读与解释

7.1 MIC 和 MEC 值的结果判读

宏量和微量肉汤稀释法质控菌株的结果范围参考见表B.1。

7.1.1 一般情况

判读结果时通过与生长对照孔比较，观察生长抑制情况确定MIC值，烟曲霉体外微量肉汤稀释法MIC折点见表C.1。对于棘白菌素类抗真菌药物使用MEC结果，报告时应注明。

7.1.2 两性霉素 B

生长终点判断标准为100％抑制。MIC值为抑制生长最低抑菌浓度，终点拖尾生长不常见。若出现拖尾现象，常表示有临床相关的耐药存在。

7.1.3 氟胞嘧啶、氟康唑、酮康唑

氟胞嘧啶、氟康唑、酮康唑生长终点定义不如两性霉素B严格，与生长对照孔相比，非皮肤真菌生长抑制50％以上、皮肤真菌生长抑制80％以上判断为终点。

7.1.4 伊曲康唑、泊沙康唑、艾莎康唑、伏立康唑

对于非皮肤真菌，伊曲康唑、泊沙康唑、艾莎康唑和伏立康唑终点定义为100％抑制生长。曲霉属和其它多数非皮肤条件致病霉菌终点拖尾生长不常见，这种情况可能反映临床相关的抗真菌药物耐药性。当检测皮肤真菌对伏立康唑、泊沙康唑、伊曲康唑的MIC时，终点定义为抑制80％以上的生长。

7.1.5 棘白菌素类

虽然对棘白菌素类药物如阿尼芬净、卡泊芬净和米卡芬净生长终点定义不如两性霉素B确定，但是应用MEC生长终点的概念，提高了试验的可重复性。通过与生长对照孔的浑浊生长比较，微孔液面的菌落呈非融合生长状态的最低有效浓度为MEC。如果MEC生长终点不易判读，可通过显微镜下观察菌丝发生小而圆并紧缩生长的最低浓度判读为MEC。

7.1.6 环吡酮、灰黄霉素、特比萘芬

对于皮肤癣菌，环吡酮、灰黄霉素、特比萘芬终点定义不如两性霉素B严格，为抑制80％以上生长。

7.2 结果解释

7.2.1 折点/ECVs 的结果解释

丝状真菌的临床折点尚未建立，但已定义一些曲霉属及种复合群对两性霉素B、卡泊芬净、伊曲康唑、艾沙康唑、泊沙康唑、伏立康唑的ECV值，这些ECV可能有助于识别非野生型（NWT）曲霉属及种复合群的潜在耐药性，但这些终点仅限于体外数据，其临床相关性尚不确定。

无折点的丝状真菌ECVs见表D.1，有折点的丝状真菌ECVs见表D.2。

7.2.2 两性霉素B

肉汤稀释参考方法检测大多数非皮肤真菌和条件致病霉菌的MICs值在0.5 μg/mL～2 μg/mL之间，而曲霉属的中位数在0.5 μg/mL～1 μg/mL之间，土曲霉及种复合群除外（中位数为2 μg/mL）。大多数非皮肤真菌和条件致病霉菌的MICs值在0.5 μg/mL～2 μg/mL之间，土曲霉及种复合群除外（2 μg/mL），而其他丝状真菌如黄曲霉、构巢曲霉、杂色曲霉及种复合群，及一些曲霉属其他种，如烟曲霉、枝顶孢霉、淡紫紫孢霉、尖端赛多孢霉、多育节荚孢霉的MICs可高于2 μg/mL（分布范围为2 μg/mL～16 μg/mL），但MIC高于2 μg/mL治疗失败可能性较大，而MIC低于2 μg/mL可能治疗成功。

7.2.3 氟胞嘧啶

大多数丝状真菌对氟胞嘧啶都不敏感，MIC值都＞64 μg/mL。但曲霉属和暗色真菌例外。

7.2.4 氟康唑

大多数丝状真菌对氟康唑都不敏感，MIC值都＞64 μg/mL。但双相真菌和皮肤真菌例外。

7.2.5 酮康唑

大多数非皮肤真菌的MIC在0.0313 μg/mL～16 μg/mL之间。但研究数据未显示MIC值和疗效的相关性。关于酮康唑的ECVs尚未建立。

7.2.6 伊曲康唑、泊沙康唑、艾莎康唑、伏立康唑

应使用本标准推荐的溶剂进行抗真菌药物溶解，否则可导致结果不准确。

7.2.6.1 非皮肤真菌

非皮肤真菌对伊曲康唑、泊沙康唑、艾莎康唑、伏立康唑的MIC在0.0313 μg/mL～16 μg/mL之间（大多数曲霉属的中位数在0.06 μg/mL～0.5 μg/mL之间）。研究表明某些黑曲霉、烟曲霉和镰刀菌属及种复合群对伊曲康唑、泊沙康唑、艾莎康唑、伏立康唑的敏感性降低并产生交叉耐药。尖端赛多孢霉和淡紫紫孢霉及一些暗色霉菌（如离蠕孢属和链格孢属）对泊沙康唑和伏立康唑的的MICs通常低于4 μg/mL。

7.2.6.2 皮肤真菌

氟康唑、伊曲康唑、泊沙康唑和伏立康唑通常对皮肤癣菌的MIC值较低，但氟康唑也存在MIC较高的情况(≥16 μg/mL），但体外结果与临床疗效有待确定。

7.2.7 棘白菌素类

棘白菌素类主要用于曲霉属检测，而非曲霉属MEC值通常较高（＞4 μg/mL）。卡泊芬净对曲霉属的MEC值在0.016 μg/mL～16 μg/mL之间（中位数多位于0.06 μg/mL～0.25 μg/mL之间），而阿尼芬净和米卡芬净MEC值通常较低。卡泊芬净对曲霉属的MEC值高于ECV的频率因种而异。

7.2.8 环吡酮

环吡酮的MICs≥1 μg/mL，但MIC值和疗效的相关性尚未确定。

7.2.9 灰黄霉素

灰黄霉素的MICs≤1 μg/mL，但MIC值和疗效的相关性尚未确定。

7.2.10 特比萘芬

特比萘芬对大多数皮肤真菌的MICs≤0.25 μg/mL，但已有报道红色毛癣菌的MIC≥0.5 μg/mL，但MIC值和疗效的相关性尚未确定。

7.2.11 EUCAST 折点/ECOFF 结果解释

EUCAST微量肉汤稀释法（附录E）与本标准（参考CLSI）肉汤稀释法步骤基本一致，接种量等条件略有差异。目前CLSI及EUCAST真菌药敏标准检测药物种类和菌种范围不同，实验室可根据临床需要选择方法和判断标准。EUCAST折点/ECOFF普遍稍低于CLSI的折点/ECV。

EUCAST微量肉汤稀释法24 h质控菌株MIC范围见表E.1；丝状真菌体外微量肉汤稀释法24 h MIC折点见表E.2；新增毛癣菌的ECOFF值见表E.3。

7.3 结果报告

7.3.1 按本标准肉汤稀释法操作步骤报告结果

按本文药敏方法检测丝状真菌包括3种类型：

（1）有MIC判断折点，如：伏立康唑对烟曲霉结果报告MIC值及敏感度，见表C.1；

（2）无MIC判断折点但有ECV值，见表D.1，报告MIC值；如果MIC值低于ECV值报告为野生型，并说明该菌株无获得性耐药机制或无敏感性降低；如果MIC值高于ECV值报告为非野生型，并说明该菌株具有推测的/已知获得性耐药机制或敏感性降低；并明确ECV不是折点，不能预测临床治疗效果；

（3）无折点和ECV值：只报告MIC值并说明目前该丝状真菌的临床折点尚未建立。

7.3.2 按本标准附录 E 药敏方法报告结果

按附录E的条件进行微量肉汤稀释试验并同时做质控，见表E.1，结果报告包括2种类型：

（1）有MIC判断折点，见表E.2，两性霉素B、艾沙康唑、伊曲康唑、泊沙康唑及伏立康唑针对烟曲霉、黑曲霉、黄曲霉、构巢曲霉及土曲霉报告MIC值及敏感度；

（2）无MIC判断折点但有ECOFF值，见表E.3如毛癣菌，报告MIC值；如果MIC值低于ECOFF值报告为野生型，并说明该菌株无获得性耐药机制或无敏感性降低；如果MIC值高于ECOFF值报告为非野生型，并说明该菌株具有推测的/已知获得性耐药机制或敏感性降低；并明确ECOFF值不是折点，不能预测临床治疗效果。

8 质量控制

8.1 目的

为了保证实验人员操作和读取结果的正确性，应对试剂、试验条件等同时进行质量控制。质量控制的目的是监控，包括：药敏试验的精度（可重复性）及准确性，试验中使用试剂的性能、条件及说明，测试和读取结果人员的表现。

8.2 培养基和材料的质控

当使用新批次的培养基、培养皿或RPMI-1640肉汤培养基以及微量稀释96孔板、宏量稀释管时应使用表B中列出标准菌株进行药敏试验，检测MIC是否在控。应至少培养1支未接种菌悬液稀释管，检测是否无菌。并记录试验使用材料的批号。

8.3 纯度质控

药敏试验后将待测菌的接种液转种于相应平板并分区划线，确认接种菌液的纯度。

8.4 终点判读质控

应定期进行终点判读质控，以尽量减少试验人员之间的MIC或MEC判读差异。

伊曲康唑和其他三唑类药物适合用于比对试验，并用已确定MIC或MEC值的标准菌株进行终点判读质控。

试验人员应在相同条件下独立判读结果，并与操作熟练人员的结果比对。

8.5 标准菌株的保存

8.5.1 菌种的保存方法

在菌种的保存过程中，应尽可能保持其稳定性，减少突变。应将丝状真菌在马铃薯葡萄糖培养基生长后，于-70 ℃冻存。用10％甘油制成菌悬液或保存在真菌冻存管中，-70 ℃或使用液氮冻存。若短期使用也可在沙保罗培养基培养后2 ℃～8 ℃保存，但不应保存超过3代。

若长期保存，丝状真菌质控菌株在马铃薯葡萄糖培养基、皮肤真菌在沙保罗培养基、红色毛癣菌在燕麦培养基上28 ℃生长7 d。挑选菌落进行药敏试验。若MIC值在质控范围之内（见表B），继续传代培养直至生长良好（通常1 d～7 d）。检查菌株是否为纯培养，然后制备菌悬液。将菌悬液分装在冻存管内，-70 ℃或使用液氮冻存。

8.5.2 日常质控用标准菌株的复苏

将长期保存的标准菌株复苏。丝状真菌在用马铃薯葡萄糖培养基上，红色毛癣菌在用燕麦培养基35 ℃培养4 d～5 d或至分生孢子生长良好；非皮肤真菌35 ℃培养7 d。

挑选4个～5个菌落进行药敏检测，并在胰酶大豆消化琼脂斜面上传代，培养后放置在2 ℃～8 ℃储存。琼脂斜面保存的日常质控用标准菌株应每隔两周从长期保存的菌株复苏、更换一次。

附 录 A
（资料性）
RPMI-1640 干粉肉汤培养基配制方法

RPMI-1640干粉肉汤培养基（1 L）配制过程见表A.1，RPMI-1640肉汤培养基配方见表A.2，含2％葡萄糖改良RPMI-1640肉汤培养基配方见表A.3，燕麦培养基制备配方见表A.4。

表A.1 RPMI-1640 干粉肉汤培养基（1 L）配制过程

步骤	过程
1	10.4 g RPMI-1640 肉汤干粉，34.53 g MOPS[a]，溶解于 900 mL 蒸馏水
2	加入 MOPS(终浓度为 0.165 mol/L)，搅拌至溶解
3	使用 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 7.0（25 ℃）
4	补水至 1 L
5	过滤消毒储存在 4 ℃ 备用
[a] MOPS表示3-(N-吗啡啉)丙磺酸(3-N-morpholino propane sulfonic acid)。	

表A.2 RPMI-1640 肉汤培养基配方表（含谷氨酰胺和酚红，不含碳酸氢盐）

组分	g/L 水	组分	g/L 水	组分	g/L 水
L-精氨酸（游离碱）	0.200	L-脯氨酸	0.020	核黄素	0.0002
无水 L-天冬酰胺	0.050	L-丝氨酸	0.030	盐酸硫胺素	0.001
L-天冬氨酸	0.020	L-苏氨酸	0.020	维生素 B12	0.000005
L-胱氨酸二盐酸	0.0652	L-色氨酸	0.005	硝酸钙.H_2O	0.100
L-谷氨酸	0.020	L-酪氨酸二钠盐	0.02883	氯化钾	0.400
L-谷氨酰胺	0.300	L-缬氨酸	0.020	无水硫酸镁	0.04884
甘氨酸	0.010	生物素	0.0002	氯化钠	6.000
L-组氨酸（游离碱）	0.015	D-泛酸钙	0.00025	无水磷酸氢二钠	0.800
L-羟脯氨酸	0.020	氯化胆碱	0.003	D-葡萄糖	2.000
L-异亮氨酸	0.050	叶酸	0.001	谷胱甘肽	0.001
L-亮氨酸	0.050	肌醇	0.035	酚红钠盐	0.0053
L-赖氨酸盐酸盐	0.040	烟酰胺	0.001		
L-蛋氨酸	0.015	对氨基苯甲酸	0.001		
L-苯丙氨酸	0.015	盐酸吡哆醇	0.001		

表A.3 含2%葡萄糖改良RPMI-1640肉汤培养基配方表

组分	1倍浓度	2倍浓度
蒸馏水	900 mL	900 mL
RPMI-1640干粉	10.4 g	20.8 g
MOPS	34.53 g	69.06 g
葡萄糖	18 g	36 g

表A.4 燕麦培养基配方表

步骤	过程
1	在1 L水中加入100 g 燕麦粉[a]，15 g 琼脂，0.03 g 庆大霉素
2	混匀
3	121 ℃高压灭菌20 min。分装，储存在4 ℃～6 ℃备用
4	质控：阳性：红色毛癣菌形成分生孢子；阴性：不要求，培养基严格用于真菌培养；无菌试验：无生长

[a]. Jessup CJ, Warner J, Isham N, et al. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. J Clin Microbiol. 2000;38(1):341-344.

附　录　B
（规范性）
肉汤稀释法质控菌株MIC范围

丝状真菌肉汤稀释法质控菌株和参考菌株MIC或MEC范围见表B.1[2]。

表B.1 肉汤稀释法质控菌株和参考菌株MIC或MEC范围

菌株名称	菌株类型	药物名称	MIC范围 μg/mL	中位数[a]	范围%	培养时间h
宛氏拟青霉（*Hamigera insecticola*）ATCC MYA-3630	质控菌株	两性霉素B	1～4	2.0	100.0	48
		伊曲康唑	0.06～0.5	0.12	100.0	48
		艾沙康唑	0.06～0.5	0.12	96.7	48
		伏立康唑	0.016～0.12	0.06	100.0	48
		泊沙康唑	0.03～0.25	0.06	99.5	48
		阿尼芬净	≤0.016	N/A	100.0	24
黄曲霉 ATCC 204304[b]	参考菌株	两性霉素B	0.5～4	ND	100.0	48
		伊曲康唑	0.25～0.5	ND	100.0	48
		伏立康唑	0.5～4	ND	100.0	48
		里氟康唑	0.5～4	ND	100.0	48
		泊沙康唑	0.06～0.5	ND	100.0	48
		Manogepix	0.004～0.03	0.008	100.0	24
烟曲霉 ATCC MYA-3626	参考菌株	两性霉素B	0.5～4	2.0	98.7	48
		伊曲康唑	0.25～2.0	1.0	95.7	48
		伏立康唑	0.25～1.0	0.5	100.0	48
		阿尼芬净	≤0.016	N/A	100.0	24
烟曲霉 ATCC MYA-3627	参考菌株	两性霉素B	0.5～4	2.0	99.2	48
		伊曲康唑	≥16	＞16	95.0	48
		伏立康唑	0.25～1.0	0.5	99.2	48
黄曲霉 ATCC MYA-3631	参考菌株	两性霉素B	1.0～8.0	2.0	98.8	48
		伏立康唑	0.5～2.0	1.0	98.3	48
		泊沙康唑	0.12～1.0	0.5	97.1	48
土曲霉 ATCC MYA-3633	参考菌株	两性霉素B	2.0～8.0	4.0	98.3	48
		伏立康唑	0.25～1.0	0.5	99.2	48
		阿尼芬净	≤0.016	N/A	99.6	24
轮生镰刀菌（串珠镰	参考菌株	两性霉素B	2.0～8.0	4.0	99.6	48

菌株名称	菌株类型	药物名称	MIC范围 μg/mL	中位数[a]	范围%	培养时间 h
刀菌） ATCC MYA-3629		伊曲康唑	＞16	＞16	97.9	48
		伏立康唑	1.0～4.0	2.0	100.0	48
		泊沙康唑	0.5～2.0	1.0	98.1	48
	参考菌株 （MEC）	阿尼芬净	＞8	N/A	87.5	48
茄病镰刀菌 ATCC 3636	参考菌株 （MEC）	阿尼芬净	＞8	N/A	87	48
尖端赛多孢霉 ATCC MYA-3635	参考菌株	两性霉素 B	4.0～16	8.0	98.8	72
		伏立康唑	0.5～2.0	1.0	100.0	72
		泊沙康唑	1.0～4.0	2.0	98.3	72
尖端赛多孢霉 ATCC MYA-3634	参考菌株 （MEC）	阿尼芬净[c]	1.0～4.0	2.0	96.7	48～72
须癣毛癣菌 MRL 1957 ATCC MYA-4439	参考菌株	环吡酮	0.5～2	1.0	97.5	96
		灰黄霉素	0.12～0.5	0.25	96.3	96
		伊曲康唑	0.03～0.25	0.06	96.2	96
		泊沙康唑	0.03～0.25	0.06	95.2	96
		特比萘芬	0.002～0.008	0.004	97.9	96
		伏立康唑	0.03～0.25	0.06	95.2	96
红色毛癣菌 MRL 666 ATCC MYA-4438	参考菌株	环吡酮	0.5～2	1.0	97.5	96
		氟康唑	0.5～4	1.0	95.2	96
		伏立康唑	0.008～0.06	0.016	96.1	96

注1：ND指未确定；N/A指不适用；

注2：MIC范围是在规定培养时间内读取的，宏量肉汤稀释法有时为48 h，微量肉汤稀释法为24 h。

注3：ATCC,美国菌种保藏中心。

[a] 中位数在这里指MIC或MEC的最佳质控值；

[b] 黄曲霉ATCC 204304的MIC范围并非来自本标准推荐的试验方法，但这是目前仅有的此株丝状真菌对里氟康唑可重复的MIC范围；

[c] 生长对照孔应培养96 h或直至生长良好（孔底部呈融合生长）。

附 录 C
（规范性）
体外微量肉汤稀释法 MIC 折点

烟曲霉体外微量肉汤稀释法MIC折点见表C.1[2]。

表 C.1 烟曲霉体外微量肉汤稀释法 MIC 折点（μg/mL）

抗真菌药物	菌株名称	MIC折点和判读		
		S	I	R
伏立康唑	烟曲霉	≤ 0.5	1	≥ 2
注：伏立康唑只适用于烟曲霉，不适用于烟曲霉其他复合群。				

附 录 D
（规范性）
丝状真菌 ECV 值汇总表

无折点丝状真菌可用ECV值见表D.1[3]，有折点丝状真菌ECV值见表D.2[3]。

表 D.1 无折点丝状真菌的 ECV 值（μg/mL）

抗真菌药物	菌株名称	ECV [a,b,c]
两性霉素B	黄曲霉	4
	烟曲霉	2
	黑曲霉	2
	土曲霉	4
	杂色曲霉	2
卡泊芬净[d]	黄曲霉	0.5
	烟曲霉	0.5
	黑曲霉	0.25
	土曲霉	0.12
艾沙康唑	黄曲霉	1
	烟曲霉	1
	黑曲霉	4
	土曲霉	1
伊曲康唑	黄曲霉	1
	烟曲霉	1
	黑曲霉	4
	土曲霉	2
泊沙康唑	黄曲霉	0.5
	黑曲霉	2
	土曲霉	1
伏立康唑	黄曲霉	2
	黑曲霉	2
	土曲霉	2

表 D.1 无折点丝状真菌的 ECV 值（μg/mL）（续）

抗真菌药物	菌株名称	ECV [a,b,c]

[a] ECV值基于对97.5％的建模种群的统计数据。ECV可能忽略潜在的耐药菌株（非野生型）。
[b] 测定曲霉属的ECV，三唑类和两性霉素B培养48 h，卡泊芬净培养24 h[1]。
[c] 使用肉汤微量稀释参考方法建立M59中的ECV。如果使用另一种方法进行药敏试验，则在使用ECV之前必须针对肉汤微量稀释法进行验证，正如在使用肉汤微量稀释法建立折点之前必须验证其他方法一样[1]。
[d] 卡泊芬净的最小有效浓度是其最低浓度，与生长对照孔中的菌丝生长相比，卡泊芬净可导致小而圆且紧凑的菌丝生长[1]。

表 D.2 有折点丝状真菌的 ECV 值（μg/mL）

抗真菌药物	菌株名称	ECV [a,b,c]
伏立康唑	烟曲霉	1

[a] ECV值基于对97.5％的建模种群的统计数据。ECV可能忽略潜在的耐药菌株（非野生型）。
[b] 培养48小时后测定曲霉菌的ECV，以检测伏立康唑[1]。
[c] 使用肉汤微量稀释参考方法建立M59中的ECV。如果使用另一种方法进行药敏试验，则在使用ECV之前必须针对肉汤微量稀释法进行验证，正如在使用肉汤微量稀释法建立折点之前必须验证其他方法一样[1]。

附 录 E
（规范性）
EUCAST 微量肉汤稀释法质控范围、折点和 ECOFF 值

EUCAST标准微量肉汤稀释法条件如下，培养基：含2％葡萄糖的RPMI-1640肉汤培养基，MOPS为缓冲液；接种量：1×10^{5} CFU/mL～2.5×10^{5} CFU/mL；培养时间：48 h；结果判读：生长终点判断标准为对两性霉素B和唑类药物完全抑制(MIC)，棘白菌素类生长终点异常(MEC)；质控菌株：烟曲霉ATCC 204305，黄曲霉ATCC 204304。

EUCAST微量肉汤稀释法质控菌株MIC范围见表E.1，丝状真菌体外微量肉汤稀释法MIC折点见表E.2，新增毛癣菌的ECOFF值见表E.3。

表 E.1 EUCAST 微量肉汤稀释法质控菌株 MIC 范围（mg/L）

菌株名称	抗真菌药物	MIC 值范围（μg/mL）	靶值
烟曲霉 ATCC 204305	两性霉素 B	0.25～1	0.5
	伊曲康唑	0.125～0.5	0.25
	伏立康唑	0.25～1	0.5
	泊沙康唑	0.03～0.25	0.06～0.125
黄曲霉 ATCC 204304	两性霉素 B	0.5～2	1
	伊曲康唑	0.125～0.5	0.25
	特比萘芬	0.25～1	0.5
	伏立康唑	0.5～2	1
	泊沙康唑	0.125～0.5	0.25
注： Version 5.0, 2020, http://www.eucast.org			

表 E.2 EUCAST 丝状真菌体外微量肉汤稀释法 MIC 折点（mg/L）

抗真菌药物	菌株名称	MIC折点和判读			
		S	I	R	ATU
两性霉素B	烟曲霉	≤ 1	-	>1	-
	黑曲霉	≤ 1	-	>1	-
艾沙康唑	黄曲霉	≤ 1	#	>2	2
	烟曲霉	≤ 1	#	>2	2
	构巢曲霉	≤ 0.25	-	>0.25	-
	土曲霉	≤ 1	-	>1	-
伊曲康唑	黄曲霉	≤ 1	-	>1	2
	烟曲霉	≤ 1	-	>1	2
	构巢曲霉	≤ 1	-	>1	2
	土曲霉	≤ 1	-	>1	2
泊沙康唑	烟曲霉	≤ 0.125	#	>0.25	0.25
	土曲霉	≤ 0.125	-	>0.25	0.25
伏立康唑	烟曲霉	≤ 1	-	>1	2
	构巢曲霉	≤ 1	-	>1	2

注1：Version 2.0, 2020, http://www.eucast.org;

注2：S-标准给药剂量敏感：当使用标准给药方案治疗成功的可能性很高时，微生物被归类为敏感；I-增加药物暴露敏感：通过调整剂量或增加感染部位的浓度治疗成功的可能性很高时，微生物被归类为“增加药物暴露敏感”；R-耐药：即使增加暴露，也有高概率治疗失败，此时微生物分类为耐药；

注3：ATU：技术不确定性区域；

注4：#表示没有“I”类别，在S和R之间的MIC仅代表ATU，该MIC既对应野生型菌株，也对应非野生型菌株(MIC为1个稀释度)。

表 E.3 EUCAST 新增毛癣菌的 ECOFF 值（mg/L）

抗真菌药物	菌株名称	ECOFF, WT≤
阿莫罗芬	趾间毛癣菌	[0.5]
	红色毛癣菌	[0.125]
伊曲康唑	趾间毛癣菌	[0.25]
	红色毛癣菌	[0.25]
特比萘芬	趾间毛癣菌	[0.125]
	红色毛癣菌	[0.03]
伏立康唑	趾间毛癣菌	[1]
	红色毛癣菌	[0.125]

表 E.3 EUCAST 新增毛癣菌的 ECOFF 值（mg/L）（续）

抗真菌药物	菌株名称	ECOFF，WT≤
注1：Version 2.0, 2020, http://www.eucast.org； 注2：括号[]中的ECOFFs值暂定； 注3：伊曲康唑的MIC分布比正常情况更宽，因此，暂定ECOFF与不确定度和括号中的值有关。		

参 考 文 献

[1] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 3rd Edition, M38, 2017.

[2] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 2nd Edition, M61, 2020.

[3] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing. 3rd Edition, M59, 2020.

[4] Jessup CJ, Warner J, Isham N, et al. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. J Clin Microbiol. 2000,38(1):341-344.

[5] Barry AL, Pfaller MA, Brown SD, et al. Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. J Clin Microbiol. 2000,38(9):3457-3459.

[6] Krisher K, Brown SD, Traczewski MM. Quality control parameters for broth microdilution tests of anidulafungin. J Clin Microbiol. 2004,42(1):490.

[7] Espinel-Ingroff A, Dawson K, Pfaller M, et al. Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. Antimicrob Agents Chemother. 1995,39(2):314-319.

[8] Espinel-Ingroff A, Chaturvedi V, Fothergill A, et al. Optimal testing conditions for determining MICs and minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for uncommon molds: NCCLS collaborative study. J Clin Microbiol. 2002,40(10):3776-3781.

[9] Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Ghannoum M, et al. Quality control and reference guidelines for CLSI broth microdilution method (M38-A document) for susceptibility testing of anidulafungin against molds. J Clin Microbiol. 2007,45(7):2180-2182.

[10] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters. 5th Edition, M23, Wayne, 2018.

[11] Espinel-Ingroff A, Canton E, Fothergill A, et al. Quality control guidelines for amphotericin B, itraconazole, posaconazole, and voriconazole disk diffusion susceptibility tests with nonsupplemented Mueller-Hinton agar (CLSI M51-A document) for nondermatophyte filamentous fungi. J Clin Microbiol. 2011,49(7):2568-2571.

[12] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline,4th Edition, M29-A4, 2014.

[13] Clinical Laboratory Standards Institute(CLSL).Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi.3rd Edition,M38M51S,2022.