

CLSI、EUCAST 和中国耐药判定标准概述

阮紫涵^{1, 2} 黄安雄^{1, 2} 王秀娟^{1, 2} 黄玲利^{1, 2} 郝海红^{1, 2, 3, 4}

(1. 华中农业大学 国家兽药残留基准实验室, 武汉 430070; 2. 华中农业大学 农业农村部畜禽产品质量安全风险评估实验室, 武汉 430070; 3. 华中农业大学深圳营养与健康研究院, 深圳 518000; 4. 中国农业科学院深圳农业基因组研究所 岭南现代农业科学与技术广东省实验室 深圳分中心, 深圳 518000)

摘要: 制定耐药判定标准的意义在于对药敏试验结果进行解释, 以选择合适的药物和最佳的给药方案对动物进行治疗, 是控制耐药性产生的重要手段。目前许多发达国家都成立了制定耐药判定标准的机构, 其中最具影响力和权威的是美国临床和实验室标准协会以及欧盟药敏试验标准委员会两大机构。中国耐药性监测的研究起步较晚, 主要借鉴美国临床和实验室标准协会所设立的耐药判定标准。2017 年, 在欧洲临床微生物和感染病学会和欧洲药敏试验委员会的支持下中国成立了华人药物敏感性试验委员会。近年来, 在中国兽医药品监察所的领导下, 各研究机构人员在耐药判定标准及耐药性监测方面也取得了突破性的进展, 为控制中国抗菌药物耐药性的发展奠定了坚实的基础。本文首先介绍了耐药判定标准的定义和意义, 为微生物研究者提供基本的理解; 然后分别综述美国临床和实验室标准协会与欧盟药敏试验标准委员会的基本情况, 并比较两者在兽用抗菌药物耐药判定标准制定上的差异; 最后对中国兽用抗菌药物耐药性监测和耐药判定标准制定方面的成果进行分析总结。总体来说, 中国在兽用抗菌药物耐药性控制方面处于稳步增长状态, 已经制定的许多耐药判定标准对控制耐药性的发展具有重要意义。但仍有许多兽用抗菌药物缺乏相应的耐药判定标准, 需要更多的研究者在未来找到更加快速、简便和准确的方法, 不断填补、更新兽用抗菌药物的耐药判定标准。

关键词: 兽用抗菌药; CLSI; EUCAST; 折点; 差异

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-0695

Overview of CLSI, EUCAST, and Susceptibility Breakpoints in China

RUAN Zi-han^{1, 2} HUANG An-xiong^{1, 2} WANG Xiu-juan^{1, 2} HUANG Ling-li^{1, 2} HAO Hai-hong^{1, 2, 3, 4}

(1. National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070; 2. MOA Laboratory for Risk Assessment of Quality and Safety of Livestock and Poultry Products, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070; 3. Huazhong Agricultural University, Shenzhen Institute of Nutrition and Health, Shenzhen 518000; 4. Shenzhen Branch, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Genome Analysis Laboratory of the Ministry of Agriculture, Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518000)

Abstract: The significance of establishing susceptibility breakpoints is to interpret the results of drug susceptibility tests, and to select appropriate drugs and optimal dosing regimens in treating animals, which is an important means to control drug resistance. At present, institutions to establish susceptibility breakpoints have been established in many developed countries, among which the most influential and authoritative institutions are the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). The research on drug resistance monitoring in China started relatively late, and mainly drew on the susceptibility breakpoints established by the CLSI. In 2017, with the support of the European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases and EUCAST, the Chinese Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing was established in China. Leading by the China

收稿日期: 2022-06-06

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1800600), 国家自然科学基金项目 (32172914), 中央高校自主创新基金 (2662022DKYJC005)

作者简介: 阮紫涵, 女, 硕士研究生, 研究方向: 兽医药理学及抗菌耐药性; E-mail: ruanzh1998@163.com

通讯作者: 郝海红, 女, 博士, 教授, 研究方向: 兽医药理学及抗菌耐药性; E-mail: haohaihong@mail.hzau.edu.cn

Institute of Veterinary Drug Control (IVDC) in recent years, researchers from various research institutions have also made breakthroughs in susceptibility breakpoints and drug resistance monitoring, laying a solid foundation for controlling the development of antimicrobial resistance in China. This article first introduced the definition and significance of susceptibility breakpoints to provide a basic understanding for microbiological researchers. Then, it reviewed the basic situation of the CLSI and the EUCAST, and compared the differences in the establishment of susceptibility breakpoints between the two. Finally, this article analyzed and summarized the results of China's veterinary antimicrobial resistance monitoring and susceptibility breakpoints. In general, China is in a state of steady growth in the control of veterinary antimicrobial resistance, and many established standards for the determination of resistance are of great significance for controlling the development of resistance. However, there are still many veterinary antibiotics lacking corresponding susceptibility breakpoints, which requires more researchers to find more rapid, simple and accurate methods in the future, and fill and update the susceptibility breakpoints of veterinary antibiotics.

Key words: veterinary antimicrobials; CLSI; EUCAST; breakpoint; difference

众所周知, 抗菌药物耐药性对人类健康和农业生产已经产生了不利影响, 细菌耐药性问题也受到了全世界的关注。各国逐渐认识到加强监测兽用抗菌药物使用的重要性, 积极开展了一系列动物源性病原菌的耐药性监控, 包括相关的流行病学研究, 为评估细菌耐药风险提供了一些基础数据。自 20 世纪以来, 部分发达国家便开始设立了本国的动物源性细菌耐药性监测系统, 如挪威、英国、法国、加拿大^[1]、荷兰^[2]、德国^[3]以及日本^[4]等国家。目前全球公认的最具权威的两大机构分别是美国临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 和欧盟药敏试验标准委员会 (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)。CLSI 是一个综合性的非营利性国际标准方法开发和教育组织, 它的许多临床试验标准和实践被认为是黄金标准。EUCAST 主要致力于协调欧洲药敏试验方法和耐药性判定标准的开发过程, 使其能够规范适用于尽可能多的国家^[5]。

由于耐药性研究起步较晚, 导致缺乏对细菌耐药性的早期认识, 加剧了抗菌药物的滥用^[6]。而不同国家对于抗菌药物的耐药判定标准是不同的, 这与不同国家习惯使用抗菌药物的种类和用量有关, 这就启示我们必须建立起符合我国抗菌药物耐药情况的耐药判定标准^[7]。近年来, 我国在耐药判定标准的制定上进行不断的努力, 成立了耐药监测机构, 制定了许多符合我国抗菌药物的耐药判定标准, 为临床合理使用抗菌药物、指导规范用药提供了依据。此外, 2017 年, 我国经欧洲临床微生物学和感染病学会 (European Society for Clinical Microbiology

and Infectious Diseases, ESCMID) 欧洲药敏试验委员会 (EUCAST) 批准成立了华人抗菌药物敏感性试验委员会 (Chinese Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, ChiCAST)^[8], 这将有利于我国临床微生物学研究所和临床细菌学家更好地了解和遵守药物敏感性测试的国际标准。本文比较了 CLSI 和 EUCAST 两大组织在耐药判定标准制定过程中的差异, 并对中国在兽用抗菌药物耐药判定标准制定方面中取得的成绩进行了总结, 以期对兽用抗菌药物制定耐药判定标准提供可靠的理论数据。

1 耐药判定标准的定义和意义

确定耐药性的标准, 称为折点, 是指最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 或抗菌药物抑菌圈的直径^[9], 用来评估病原体对抗菌药物是否具有抗性, 或仍然保持敏感的依据。当使用推荐治疗剂量就能使 MIC 低于或等于折点或抑菌圈直径等于或大于折点, 表现可能的临床疗效时, 结果报告为敏感; 反之, 可能存在特定的微生物耐药机制, 药物没有表现出分离株的临床疗效, 结果报告为耐药; 当使用标准剂量药物可以在感染部位大量蓄积, 并且治愈疾病, 或者药物虽不能在感染部位蓄积, 但在安全剂量内增加剂量可以治疗疾病时, 报告结果为中介^[10]。如果只用体外药敏试验来确定折点值, 根据折点值可将细菌分为两类: 如果 MIC 值低于折点, 则将它们定义为易感细菌; 如果不是, 它们被定义为耐药菌株^[11]。

制定耐药判定标准需要 3 个参数^[12]: (1) 野生型临界值 (wild-type cut-off, CO_{WT}) / 流行病学临界值 (epidemiological cut-off, ECOFF); (2) 药效学临

界值 (pharmacodynamic cut-off, CO_{PD}); (3) 临床临界值 (clinical cut-off, CO_{CL})。CLSI 和 EUCAST 使用不同的折点制定方法, 但在制定过程方面是相似的, 都需要确定这 3 种临界值, 用于临床实验室的最终报告^[13]。由于临床治疗高度依赖抗菌药物的使用, 耐药性是一个动态的过程, 即使确定耐药性的标准, 也会随着实际情况的变化 (例如相关政策发布和更新) 及时更新^[14]。

耐药性标准的重要性在于开发新药时, 首先要进行体外研究以确认其活性, 并进行临床试验以确定药物、疗效和 MIC 之间的关系。收集的临床分离病原体的药敏数据可用于得出病原体易感程度的结论, 并根据感染部位和感染程度选择合适的治疗方案。如果分离鉴定出病原菌并获得其药敏试验结果, 就可以预测药物的治疗情况。如果已经采取了一些治疗仍未治愈, 可以结合折点数据来分析和确定是否有耐药性或其他因素的存在。综上所述, 建立耐药性标准对于指导临床治疗、协助临床治疗和控制细菌耐药性的出现都具有重要作用。

2 CLSI 耐药判定标准

2.1 CLSI 的概况

CLSI 是世界卫生组织认可的“临床和实验室标准研究所”, 我国常用的许多药敏试验都是参考其制定的标准。CLSI 是一个制定临床试验标准和操作规范的组织, 其目标是在医学领域建立统一的标准和指南, 以解决关键的临床诊断和治疗问题。CLSI 整合来自多个来源的研究数据, 以开发抗菌药物敏感性测试方法、结果解释和质量控制参数。CLSI 敏感性测试委员会由 3 个委员会组成: 抗菌药物敏感性测试委员会、抗真菌药敏试验委员会和兽医抗菌药物敏感试验委员会 (表 1)。

CLSI 折点的可用性体现在多个方面。首先, CLSI 是美国国家标准协会 (American National Standards Institute, ANSI) 指定的国际标准化组织 (International Organization for Standardization, ISO) 技术委员会 212 (ISO/TC 212) 临床实验室检测和体外诊断系统秘书处, ISO/TC 212 负责制定实验室医学和体外诊断检测系统领域的国际标准和指南, 显示出 CLSI 的专业性。其次, CLSI 每年发布一次的

表 1 CLSI 主要委员会信息

Table 1 CLSI main committee information		
委员会 Committee	职责 Responsibility	主要文件 Main documents
抗菌药物敏感性试验 (AST) 小组委员会 Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) Subcommittee	为实验室提供信息, 使其为临床医生选择适当的抗菌治疗提供建议 Provide the laboratory with information to advise the clinician on the choice of appropriate antimicrobial therapy	M100、M23、M11、M07、M02
抗真菌药物敏感性试验委员会 Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee	制定标准和指南, 促进准确的抗真菌药物敏感性试验和适当的报告 Develop standards and guidelines to facilitate accurate antifungal susceptibility testing and appropriate reporting	M54、M59、M60、M61
兽医抗菌药物敏感性试验 (VAST) 委员会 Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing (VAST) Subcommittee	VAST 小组委员会合作制定标准和指南, 确保准确的抗菌药物敏感性试验和适当的报告 The VAST subcommittee collaborated to develop standards and guidelines to ensure accurate antimicrobial susceptibility testing and appropriate reporting	VET01、VET01S、VET03

M100《抗菌药物敏感性试验性能标准》^[15], 其内容包括代表药物选择、抗菌药物敏感性试验判读和质量控制 (quality control, QC) 的最新信息, 显示出其实用性。M100 中提供的数据在全世界范围内被实验者、传染病从业者和抗菌药物药敏试验 (AST) 委员会广泛使用, 其软件应用的算法基于 M100 的信息, 显示出其广泛性。此外, CLSI 文件 M23《体外药敏试验标准和质量控制参数》的开发支持引入和变更 M100 中发布的判读标准, 为申办方提交给监管机构的数据提供指导, 并详细说明 CLSI 药敏试验小组委员会遵循的标准发布或修订 QC 范围和药敏试验判读标准。

2.2 CLSI-VAST 的概况

CLSI 兽医抗菌药物敏感性测试 (CLSI veterinary antimicrobial susceptibility testing, CLSI-VAST) 小组委员会致力于制定和促进从动物体内分离的细菌的体外抗菌药物敏感性测试的性能标准、折点和解释类别; 并且通过开发新的或修订的方法、折点、解

释类别和质量参数来不断完善标准，促进使用这些方法的 用户进行对话。CLSI-VAST 的目标是建立兽医特定折点，以减少对人类折点的依赖。当某些抗菌药物和生物体对所有动物种属均无可用的兽医折点时，将考虑参考人用折点。

目前 CLSI 已经制定的文件中，VET01 和 VET03 分别是 从陆生生物和水生生物中分离的细菌的敏感性试验方法文件^[16-17]，VET02 描述了确立折点所需数据、ECOFF、QC 参数以及如何提供数据进行评价的详细信息^[18]。

3 EUCAST 耐药判定标准

3.1 EUCAST概述

EUCAST 于 1997 年在 ESCMID 的支持下成立，于 2001-2002 年进行了重建，并于 2002 年开始运行。EUCAST 目前的职责是协调现有欧洲药物的临床折点、定义新药的临床折点、设置 ECOFF 并根据需要修改折点、统一抗菌药敏感性测试方法，并开发网站（<https://www.eucast.org/>），提供有关各种抗菌药物的抗菌 MIC 和面积直径分布的免费信息。

EUCAST 提供了关于原理和标准操作程序的文件。前者总结了 EUCAST 可持续性评估标准的基础信息；后者主要包括设置新的抗菌药物折点、协调现有的折点、审查和修订折点、建立区域直径折点的程序和新药的 QC 标准、MIC 分配和 ECOFF 值设置的步骤。

3.2 VET-CAST的概况

抗菌药物敏感性测试兽医委员会（Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Vet-CAST）是 EUCAST 的一个小组委员会，成立于 2015 年。VET-CAST 的主要功能是处理涵盖动物细菌病原体的各个方面和动物源性细菌药敏试验。同时致力于发布免费的标准、指南、ECOFF、PK/PD 折点、临床折点（clinical breakpoints, CBPs）和其他有关 AST 实施的相关信息，为科研工作者参考利用（https://www.eucast.org/ast_of_veterinary_pathogens/）。

到目前为止，VET-CAST 制定了大多数兽用抗菌药物的药敏试验折点，但仍有很多抗菌药物缺少对所有病原菌的折点，或是缺乏一些动物特异性折点（表 2）。这些抗菌药物可能由于没有合适的给药

方案造成滥用，导致治疗人类感染的重要抗菌药物耐药性升高从而治疗失败。

表 2 尚未制定出动物特异性折点的抗菌药物
Table 2 Antibiotics while no animal-specific breakpoints have been established

抗菌药物类别	抗菌药物
Class of antibiotics	Antibiotic
氨基糖苷类	卡那霉素，阿米卡星，链霉素 Kanamycin, Aminoglycosides
Amikacin, Streptomycin	
大环内酯类 Macrolides	红霉素 Erythromycin
叶酸途径抑制剂 Folic acid pathway inhibitor	磺胺类药物、甲氧苄氨 Trimethoprim
Glycopeptides	万古霉素、替考拉宁 Vancomycin, Teicoplanin
其他 Others	氟苯尼考、呋喃妥因、黏菌素、夫西地酸、利福平、甲硝唑 Flufenicol, Nitrofurantoin, Colistin, Fusidic Acid, Rifampicin, Metronidazole

4 CLSI 和 EUCAST 耐药判定标准的差异

自 1993 年 CLSI 版本在中国推出以来，每个版本都由专家翻译。该标准引进历史悠久，修订及时，与临床紧密结合，是中国卫生部颁布的标准。EUCAST 成立于 1997 年，欧洲标准于 2002 年统一，但国内对其研究和应用较少，然而 EUCAST 的专家规则和 ECOFF 为折点的制定提供了较为合理的标准，可作为 CLSI 的补充。

在功能方面，CLSI 的业务涵盖了临床检验医学的各个方面。折点主要由微生物学委员会下属的抗菌药物敏感性实验分会完成，相对比较稳定；相比之下，EUCAST 业务范围较窄，主要专注于药物敏感性试验标准以及协调统一欧洲各个国家或地区的折点。

4.1 折点值及表达形式

CLSI 文件中，仅规定运用折点来区分敏感、中介和耐药，而 EUCAST 在此基础上，提出 ECOFF 的定义，ECOFF 是用来区分野生型菌株和非野生型菌株的 MIC 值，其不考虑临床效力，单纯考察细菌对药物的敏感性情况，所以该值相对稳定，在一定时期内通常不会随样本来源及地区不同而产生差异，在全世界范围内具有广泛应用^[19]。CLSI 设置的耐药判定标准通常低于 EUCAST 所设定的（表 3）。此

外，值得我们注意的有：(1) EUCAST 对葡萄球菌属中不同的细菌对氟喹诺酮类药物制定了不同的折点，而 CLSI 则对所有的葡萄球菌属对氟喹诺酮类药物制定了相同的折点；(2) CLSI 对所有的厌氧菌采用同样的折点，相反 EUCAST 对不同的厌氧菌

分别制定了折点，能够更好地解释药敏试验结果，且 CLSI 只制定了适用于厌氧菌的最小抑菌浓度的折点值，并未制定抑菌圈直径的折点值；(3) 并且 EUCAST 文件还在最后注明每种药物的 PK/PD 的折点值。

表 3 CLSI 和 EUCAST 制定的部分折点的比较
Table 3 Comparison of partial breakpoints established by CLSI and EUCAST

微生物 Microorganism	抗菌药物 Antibacterial agent	MIC 折点 MIC breakpoints/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)						抑菌圈直径折点 Zone diameter breakpoints /mm					
		CLSI			EUCAST			CLSI			EUCAST		
		S ≤	I	R ≥	S ≤	R>		S ≥	I	R ≤	S ≥	R<	
肠杆菌 <i>Enterobacterium</i>	哌拉西林 Iperacillin	16	32–64	128	8	8		17	14–16	16	20	20	
	强力霉素 Oxycycline	4	8	16	-	-		14	11–13	10	-	-	
	左氧氟沙星 Levofloxacin	0.12	0.25–1	2	0.5	1		-	-	-	23	19	
葡萄球菌	氧氟沙星 Ofloxacin	1 ^a	2 ^a	4 ^a	0.001 ^b /0.001 ^a	1 ^b /1 ^c		21 ^a	16–20 ^a	21 ^a	50 ^b /50 ^c	21 ^b /24 ^c	
<i>Staphylococcus</i> spp.	左氧氟沙星 Levofloxacin	1 ^a	2 ^a	4 ^a	0.001 ^b /0.001 ^c	1 ^b /1 ^c		19 ^a	16–18 ^a	15 ^a	50 ^b /50 ^c	22 ^b /24 ^c	
肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	左氧氟沙星 Levofloxacin	2	4	8	0.001	2		17	14–16	13	50	16	
厌氧菌 <i>Anaerobic bacteria</i>	万古霉素 Ancomycin	1	-	-	2	2		17	-	-	16	16	
	美罗培南 Eropenem	4 ^d	8 ^d	16 ^d	1 ^e	1 ^e		NF	NF	NF	28 ^e	28 ^e	
	克林霉 Clindamycin	2 ^d	4 ^d	8 ^d	4 ^e	4 ^e		NF	NF	NF	10 ^e	10 ^e	

注：a：对葡萄球菌属中所有的细菌；b：对金黄色葡萄球菌；c：对凝固酶阴性葡萄球菌；d：适用于所有的厌氧菌；e：仅适用于拟杆菌属；NF：Not formulated，未制定
Note：a：for all bacteria in *Staphylococcus* spp.；b：for *Staphylococcus aureus*；c：for coagulase-negative *Staphylococci*；d：for all *Anaerobes*；e：for *Bacteroides* spp only；NF：Not formulated，not formulated

EUCAST 设置折点的过程 (EUCAST SOP 1.4)^[20] 与 CLSI^[21] 类似，均需要确定 CO_{WT}/ECOFFs、CO_{PD} 和 CO_{CL}。不同之处在于 EUCAST 建立的耐药性折点 (resistance, R) 是基于抗菌药物的最高推荐剂量，缺乏明确的中介值 (intermediate, I)，MIC 结果的表达方式为：S ≤ X μg/mL，R>Y μg/mL；CLSI 则是通过稀释法药敏试验结果与纸片法结果进行平行比较，经过统计分析，得到 I 值和耐药性折点值，其 MIC 结果判定的表达方式为：S ≤ X μg/mL，I=Y μg/mL，R ≥ Z μg/mL。

4.2 药敏试验操作规程细节的差异

CLSI 和 EUCAST 在药敏试验程序细节上的差异主要体现在培养基选择、接种物制备、质控菌种选择、孵育时间等方面 (表 4)。

4.2.1 培养基的选择 除了表中常见细菌 CLSI 和 EUCAST 在培养基选择上的差异外，一方面 EUCAST

使用 MH-F (MH 琼脂 / 肉汤 +5% 脱纤维马血 +20 mg/L β-NAD) 琼脂和肉汤对难以培养的细菌进行药敏试验，而 CLSI 有更详细的规定：如葡萄球菌肉汤的稀释，除了需要阳离子调节的 MHB (cation-adjusted mueller-hinton broth, CAMHB) 外，还需要添加 2% NaCl 或 50 μg/mL 钙；对于淋病奈瑟菌的药敏试验需要使用 GC 琼脂和 1% 的生长补充剂，相比之下，EUCAST 还未确定淋病奈瑟菌的药敏试验纸片扩散标准。

4.2.2 接种物的制备 CLSI 和 EUCAST 规定接种物必须满足 0.5 麦氏浊度标准，但是 CLSI 声明接种物可以通过肉汤培养或菌悬液制备，而 EUCAST 声明推荐使用菌悬液法。此外，EUCAST 文件中，丝状真菌的接种浓度为 (2–5) × 10⁵ CFU/mL，用血细胞计数器计数；CLSI 文件中则要求丝状真菌接种浓度为 (0.4–5) × 10⁴ CFU/mL，采用分光光度计计数。

表 4 CLSI 和 EUCAST 建立耐药判定标准的药敏试验方法比较

Item	CLSI	EUCAST
药敏方法 – 使用的主要培养基 Susceptibility methods - major media used	需氧和兼性厌氧菌：肉汤稀释法、微量肉汤稀释法、纸片扩散法 - Mueller-Hinton 琼脂和肉汤 Aerobic and compatible anaerobes : broth dilution, broth microdilution, and disk diffusion - Mueller-Hinton agar and broth 厌氧菌：琼脂稀释法、微量肉汤稀释法 – 含添加剂的布氏琼脂、肉汤 Anaerobic bacteria : agar dilution, broth microdilution - Brucella agar with additives, and broth	琼脂稀释法、肉汤稀释法、微量肉汤稀释法、纸片扩散法 - Mueller-Hinton 琼脂或肉汤 Agar dilution, broth dilution, microdilution, disk diffusion - Mueller-Hinton agar or broth
建立折点所需的参数 Parameters required to establish breakpoints	MIC 分布, PK/PD, 临床和细菌学结果的相关性 MIC distribution, PK/PD, correlation of clinical and bacteriological findings	体外药物特点、PK/PD, 临床和细菌学结果的相关性 Correlation of in vitro drug characteristics, PK/PD, clinical and bacteriological findings
接种物 Inoculum	接种物标准：0.5 麦氏标准 Inoculum standard : 0.5 McFarland standard 接种物制备：肉汤培养法或菌悬液制备法 Inoculum preparation : broth culture method or bacterial suspension preparation method	接种物标准： 5×10^5 CFU/mL inoculum standard : 5×10^5 CFU/mL 接种物制备：菌悬液制备法 Inoculum preparation : bacterial suspension preparation
质控菌株 Quality control strains	美国微生物保藏所收藏的 ATCC 菌株 ATCC strains in American type culture collection	ATCC, 来自其他国家保藏中心的菌株 ATCC, strains from other national collections
孵育时间 Incubation time	一般为 16–20 h, 特殊细菌除外 Typically 16–20 h, except for special bacteria	一般为 18–20 h, 空肠弯曲菌除外 Typically 18–20 h, except for <i>C. jejuni</i>

4.2.3 质控菌株的选择 CLSI 推荐的质控菌株均为美国微生物保藏中心采集的 ATCC 菌株。除上述菌株外，EUCAST 还可能使用其他国家收集的菌株作为质控菌株。

4.2.4 孵育时间 在 CLSI 中，常规培养细菌的孵育时间通常为 16–20 h，但对难培养的细菌则规定了其他孵育时间。例如，葡萄球菌、巴氏杆菌和溶血性曼氏杆菌需要孵育 18–24 h；睡眠嗜血杆菌、胸膜肺炎放线杆菌、链球菌与李斯特菌需要孵育 20–24 h，而空肠弯曲杆菌最特殊，需要在 36–37℃ 的环境中孵育 48 h 或 42℃ 环境孵育 24 h。EUCAST 除空肠弯曲杆菌在 42℃ 孵育 24 h 外，其余细菌孵育均为 18–20 h。

5 我国在耐药判定标准方面的研究

抗菌药在控制传染病、保持动物健康和食源性产品的安全，对维持公共卫生安全方面至关重要。虽然有 CLSI 和 EUCAST 两大组织制定的折点，但是不同国家之间的病原菌对抗菌药物规定的给药方案存在差异，如果完全按照这两大组织制定的折点可能导致意想不到耐药性的发生。

5.1 我国在耐药性监测方面的成就

2005 年，卫生部建立了“全国抗菌药物临床应用监测网”（Center for Antibacterial Surveillance, CAS, [http : //y.chinadtc.org.cn/login](http://y.chinadtc.org.cn/login)）和全国细菌耐药监测网络（China Antimicrobial Resistance Surveillance System, CARSS, [http : //www.carss.cn/](http://www.carss.cn/)），后者是覆盖全国基本细菌耐药监测的网络，也是构成世界卫生组织（World Health Organization, WHO）全球监测细菌耐药性工作的一部分^[22]。但动物源细菌耐药性研究监测起步较晚，2008 年农业部才建立了动物源性细菌耐药性监测制度^[23]，以更好地实施动物源性细菌耐药性监测计划。据统计，直到 2022 年已经有 23 个耐药性监测实验室单位加入到我国动物源细菌耐药性监测网络，这些监测单位执行农业部动物细菌耐药监测计划的采样要求，开展药敏试验。目前监测的细菌包括大肠杆菌、沙门菌、金黄色葡萄球菌、弯曲杆菌（包括空肠和结肠弯曲杆菌）、肠球菌（包括粪肠球菌和屎肠球菌）、魏氏梭菌、猪链球菌、副猪嗜血杆菌和巴氏杆菌等^[24–25]。此外，通过对上述细菌在中国不同时期、不同地区和不同动物的耐

表 5 我国在动物源性病原菌耐药判定标准方面情况进展

Table 5 Progress in standard for susceptibility breakpoints of animal-borne pathogens in China						
病原菌 Pathogenic bacteria	兽用抗菌药物 Veterinary antimicrobial agents	折点研究进展 Progress in Breakpoint Research				参考文献 References
		野生型临界值 CO _{WT}	药效学临界值 CO _{PD}	临床型临界值	最终确定的折点 Finalized	
		Wild-type cut-off CO _{WT} / (μg · mL ⁻¹)	Pharmacodynamic cut-off/ (μg · mL ⁻¹)	CO _{CL} clinical cut-off CO _{CL} / (μg · mL ⁻¹)	breakpoints/ (μg · mL ⁻¹)	
大肠杆菌 (鸡) <i>Escherichia coli</i> (avian)	COL	8	-	-	-	[37]
	APR	16	-	-	-	[28-29]
	DAN	4	0.54	4	4	[28]
		0.125	-	-	-	[29]
大肠杆菌 (猪) <i>Escherichia coli</i> (swine)	FFC	16	-	-	-	[29]
	APR	32	-	-	-	[30]
	COL	16	-	-	-	[38]
	DAN	8	0.03	-	8	[39]
副猪嗜血杆菌 <i>Haemophilus parasuis</i>	MEQ	32	-	-	-	[40]
	FFC	16	-	-	-	[40]
	AMK	64	-	-	-	[41]
	APR	32	-	-	-	[41]
	GEN	16	-	-	-	[41]
	KAN	32	-	-	-	[41]
	STR	64	-	-	-	[41]
	MIR	32	-	-	-	[41]
	DAN	16	0.7	0.5	16	[42]
		0.0625	-	-	-	[33]
		16	0.5	0.25	16	[43]
	PFX	8	-	-	-	[33]
	NAL	4	-	-	-	[33]
	LOM	4	-	-	-	[33]
	LVX	0.25	-	-	-	[33]
	CIP	0.25	-	-	-	[33]
	MAR	0.0625	-	-	-	[33]
		-	0.5	-	-	[44]
	ENR	0.03125	-	-	-	[33]
	TYL	64	-	-	-	[43]
	TIL	16	1	-	16	[45]
	CTX	4	0.125	0.25-4	4	[34]
		0.125	-	-	-	[19]
	FEP	0.5	-	-	-	[19]
	CEF	-	0.06	-	-	[44]
		0.03125	-	-	-	[19]
	EFT	0.5	-	-	-	[19]
	CEC	16	-	-	-	[19]
	CEL	32	-	-	-	[19]
	AML	1	-	-	-	[19]
	AMP	1	-	-	-	[19]
	PEN	2	-	-	-	[19]

续表 (Continued)

病原菌 Pathogenic bacteria	兽用抗菌药物 Veterinary antimicrobial agents	折点研究进展 Progress in Breakpoint Research				参考文献 References
		野生型临界值 CO _{WT}	药效学临界值 CO _{PD}	临床型临界值	最终确定的折点 Finalized	
		Wild-type cut-off CO _{WT} / (μg · mL ⁻¹)	Pharmacodynamic cut-off/ (μg · mL ⁻¹)	CO _{CL} clinical cut-off CO _{CL} / (μg · mL ⁻¹)	breakpoints/ (μg · mL ⁻¹)	
	OXA	8	-	-	-	[19]
	AMC	0.25	-	-	-	[19]
	IMP	0.25	-	-	-	[19]
	MEM	0.0625	-	-	-	[19]
产气荚膜梭菌 (猪)	AVI	0.25	8	0.125	0.25	[46]
<i>Clostridium</i>	APR	1024	-	-	-	[46]
<i>Perfringens</i>	TIA	0.5	-	-	-	[47]
(swine)						
产气荚膜梭菌 (兔)	VAL	0.5	0.25	-	-	[35]
<i>Clostridium</i>						
<i>Perfringens</i>						
(lepus)						
多杀性巴氏杆菌 (猪)	TIP	4	0.25	-	4	[36]
<i>Pasteurella</i>	TID	4	0.25	-	4	[48]
<i>Multocida</i>						
(swine)						
沙门菌 (猪)	ENR	2	1	-	1	[49]
<i>Salmonella</i>						
(swine)						

注: COL: 黏菌素; APR, 安普霉素; FFC: 氟苯尼考; AMK: 阿米卡星; GEN: 庆大霉素; KAN: 卡那霉素; STR: 链霉素; OFX: 氧氟沙星; NAL: 萘啶酸; LOM: 洛美沙星; LVX: 左氧氟沙星; CIP: 环丙沙星; ENR: 恩诺沙星; TYL: 泰乐菌素; TIL: 替米考星; FEP: 头孢吡肟; CEC: 头孢克洛; CEL: 头孢氨苄; AML: 阿莫西林; AMP: 氨苄西林; PEN: 青霉素; OXA: 苯唑西林; AMC: 阿莫西林-克拉维酸钾; IMP: 亚胺培南; MEM: 美罗培南; AVI: 阿维拉菌素; VAL: 沃尼妙林; TIA: 泰妙菌素; TIP: 替地匹罗辛; DAN: 达氟沙星; MEQ: 乙酰甲喹; MIR: 奇霉素; CEF: 头孢噻肟; MAR: 马波沙星; CTX: 头孢噻肟; EFT: 头孢噻肟; TID: 泰地罗新

Note: COL: Colistin. APR: Apramycin. FFC: Florfenicol. AMK: Amikacin. GEN: Gentamicin. KAN: Kanamycin. STR: Streptomycin. OFX: Ofloxacin. NAL: Nalidixic Acid. LOM: Lomefloxacin. LVX: Levofloxacin. CIP: Ciprofloxacin. ENR: Enrofloxacin. TYL: Tylosin. TIL: Tilmicosin. FEP: Cefepime. CEC: Cefaclor. CEL: Cefalexin. AML: Amoxicillin. AMP: Ampicillin. PEN: Penicillin. OXA: oxacillin. AMC: Amoxicillin- clavulanate potassium. IMP: Imipenem. MEM: Meropenem. AVI: Avilamectin. VAL: Valnemulin. TIA: Tiamulin. TIP: Tidipiloxin. DAN: Danofloxacin. MEQ: Mequindox. MIR: Miramycin. CEF: Cefquinome. MAR: Marbofloxacin. CTX: Cefotaxime, EFT: Ceftiofur. TID: Tildipirosin

药性及发展趋势进行分析总结, 了解中国动物源耐药性的现状、产生原因及耐药趋势, 为我国采取有效措施控制动物源性细菌耐药性提供了依据^[26]。

5.2 我国在耐药判定标准制定方面的研究

在折点的制定方面, 我国的科研者做了许多努力并制定出符合我国耐药性情况的折点值 (表 5)。从表中可以看出, 对产气荚膜梭菌、大肠杆菌、副猪嗜血杆菌、沙门菌和巴氏杆菌的耐药判定标准研究较多, 与我国动物源细菌耐药性检测系统监测的细菌重合, 对耐药性监测工作具有一定帮助; 并且

监测的药物大多是 CLSI 和 EUCAST 尚未制定出折点的抗菌药物^[27], 可为我国临床用药提供一些理论依据。其中, 田二杰^[28]和傅嘉莉^[29]制定的达氟沙星对鸡源大肠杆菌的野生型临界值差距较大 (约 32 倍), 发生这种情况的可能原因有: (1) 采集样品的范围不同。田二杰采集的样品涉及全国各地并且包括多所农业高校赠送的鸡源大肠杆菌, 而傅嘉莉仅在广东省几个地区进行了采样; (2) 采集样品的时间不同。与傅嘉莉相比, 田二杰采集样品的时间更长且包含 4 个季节; (3) 样本量的差异。田二

杰进行测定的鸡源大肠杆菌高达 1 412 株, 远超过 CLSI 规定的 100 株。相比之下, 傅嘉莉只有 363 株的鸡呼吸道大肠杆菌, 样本的丰富度和多样性都较差。因此, 以 4 $\mu\text{g/mL}$ 作为我国达氟沙星对鸡源大肠杆菌的野生型临界值最为合适。李佳瑞^[30] 制定的安普霉素对猪源大肠杆菌的野生型临界值为 32 $\mu\text{g/mL}$, 是丹麦测定 ECOFFs (16 $\mu\text{g/mL}$) 的两倍, 这可能与两国使用抗菌药物的情况有关。同样的情况可以在庆大霉素、链霉素和奇霉素对副猪嗜血杆菌的野生型临界值研究中观察到, 出现这种情况最可能的原因是我国抗菌药物的过度使用^[31-32]。部分研究还通过 PK/PD 模型等制定了一些临床治疗的推荐剂量, 如分别用马波沙星和头孢喹肟治疗副猪嗜血杆菌的最佳推荐给药剂量分别为 16 mg/kg b.w.^[33] 和 4 mg/kg b.w.^[34]; 陶梦婷^[35] 预测用沃尼妙林治疗兔源产气荚膜梭菌的有效剂量为 2.33 mg/kg b.w., 与 EUCAST 推荐的剂量 (3 mg/kg b.w.) 相近, 具有一定的临床指导意义; Lei 等^[36] 首次提出大环内酯类药物替地罗辛对猪多杀性巴氏杆菌的敏感性折点为 4 mg/kg, 并且证明之前的推荐剂量 4 mg/kg 不能够达到理想的杀菌作用, 预测 12.17 mg/kg b.w. 才是充分有效的治疗剂量。从表 5 中可以看出, 大多数研究人员只进行了野生型和 / 或药效临界值研究, 而对 CO_{CL} 的研究几乎没有可用的数据, 且在获得临床相关数据方面的难度大, 使得 CO_{CL} 在制定过程中常常受阻。这提示国家层面上应该多多促进科研人员与养殖人员的交流与合作, 共同努力以获得相关的临床数据^[27]。

6 展望

抗菌药物耐药性是一场全球公共卫生危机, 具有威胁成功治疗细菌感染的能力^[50]。世界卫生组织在 2017 年发布了关于在食源性动物中使用医学上重要的抗菌药物的指南, 建议停止常规使用抗菌药物来促进健康动物的生长和预防疾病^[51]。这一指南希望通过减少抗菌药物在动物中使用来维持抗菌药物在人类医学方面的有效性^[52]。控制耐药性的一个关键是制定出符合本地区的耐药判定标准, 以用于指导临床用药, 防止用药过多造成抗菌药物压力环境, 或用药不足而导致的治疗失败。

虽然近年来我国在动物源细菌的监测和耐药判定标准的制定上已经取得了一些研究进展, 但是有些耐药判定标准只能反映部分地区的耐药性情况, 并不适合应用于全国, 所以还未形成完备的指南。这就需要广大科研工作者努力探索出更加快速、简便和准确的方法来制定出全国适用的兽用耐药判定标准, 以指导临床合理使用抗菌药物、推进新兽药的开发和细菌耐药检测工作。同时, 未来我国需要继续加强对兽用抗菌药物使用的监管和监督, 督促各兽药使用者按照推荐的给药剂量对动物进行细菌感染的预防和治疗, 为实现兽用抗菌药物高疗效、控制耐药性的发展作出应有贡献。

参考文献

- [1] Deckert A, Gow S, Rosengren L, et al. Canadian integrated program for antimicrobial resistance surveillance (CIPARS) farm program: results from finisher pig surveillance [J]. *Zoonoses Public Heal*, 2010, 57: 71-84.
- [2] Mouton JW. Breakpoints: current practice and future perspectives [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2002, 19 (4): 323-331.
- [3] Koeth LM, Leclercq R, Olsson-Liljequist B. Comparison of daptomycin MIC results by DIN, NCCLS, SFM, and SRGA methods for 297 Gram-positive organisms [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2004, 23 (1): 17-24.
- [4] 马苏, 张晶, 杜昕波. 日本兽用抗菌药耐药性监控系统及风险管理 [J]. *中国兽药杂志*, 2015, 49 (05): 58-61.
Ma S, Zhang J, Du XB. The Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System and risk management [J]. *Chin J Vet Drug*, 2015, 49 (05): 58-61.
- [5] EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12. 0. [S]. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2022
- [6] 孙康泰, 张建民, 蒋大伟, 等. 我国动物源细菌耐药性的研究进展及防控策略 [J]. *中国农业科技导报*, 2020, 22 (5): 1-5.
Sun KT, Zhang JM, Jiang DW, et al. Progress and countermeasures of antimicrobial resistance of animal origin bacterial pathogens in China [J]. *J Agric Sci Technol*, 2020, 22 (5): 1-5.
- [7] Gautier-Bouchardon AV. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma* spp [J]. *Microbiol Spectr*, 2018, 6 (4).

- [8] ChiCAST. 华人抗菌药物敏感性试验委员会 [EB] . 2022. [http : www. chicast. org](http://www.chicast.org).
ChiCAST. Chinese Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EB] . 2022, [http : www. chicast. org](http://www.chicast.org).
- [9] Turnidge J, Paterson DL. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints [J] . *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20 (3) : 391-408.
- [10] Stass H, Dalhoff A. The integrated use of pharmacokinetic and pharmacodynamic models for the definition of breakpoints [J] . *Infection*, 2005, 33 (Suppl 2) : 29-35.
- [11] Bywater R, Silley P, Simjee S. Antimicrobial breakpoints-definitions and conflicting requirements [J] . *Vet Microbiol*, 2006, 118 (1-2) : 158-159.
- [12] Kahlmeter G, Brown DFJ, Goldstein FW, et al. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria [J] . *J Antimicrob Chemother*, 2003, 52 (2) : 145-148.
- [13] 杨启文, 朱任媛, 王辉. 药敏试验折点的设定及对临床的指导意义 [J] . *内科急危重症杂志*, 2010, 16 (4) : 181-183.
Yang QW, Zhu RY, Wang H. The setting of sensitivity test breakpoint and its clinical guiding significance [J] . *J Intern Intensive Med*, 2010, 16 (4) : 181-183.
- [14] Giske CG, Turnidge J, Cantón R, et al. Update from the European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) [J] . *J Clin Microbiol*, 2022, 60 (3) : e0027621.
- [15] Wayne, PA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 32th ed [S] . Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022.
- [16] Wayne, PA. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 5th ed. CLSI supplement VET01S [S] . Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- [17] Wayne, PA. Methods for antimicrobial broth dilution and disk susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals. 2nd ed. CLSI guideline VET03 [S] . Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- [18] Wayne, PA. Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters for veterinary antimicrobial agents ; Approved guideline—third edition. CLSI document VET02-A3 [S] . Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- [19] 陈超群, 陈佳莉, 周萱仪, 等. β -内酰胺类药物对副猪嗜血杆菌流行病学临界值的建立及耐药性的测定 [J] . *畜牧兽医学报*, 2021, 52 (11) : 3234-3245.
Chen CQ, Chen JL, Zhou XY, et al. Establishment of epidemiological cut-off values and determination of drug resistance of *Haemophilus parasuis* with β -lactam drugs [J] . *Acta Vet Zootechnica Sin*, 2021, 52 (11) : 3234-3245.
- [20] EUCAST. Setting breakpoints for new antimicrobial agents, EUCAST SOP 1.4 [S] . European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2021.
- [21] Wayne, PA. Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters. 5th ed. CLSI guideline M23 [S] . Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- [22] 马苏. 我国动物源细菌耐药性监测的现状与趋势 [D] . 北京: 中国农业大学, 2015.
Ma S. The current situation and recent trend of the surveillance system of bacterial antimicrobial resistance in animal origin in China [D] . Beijing : China Agricultural University, 2015.
- [23] 袁宗辉, 张苗苗, 戴梦红, 等. 兽药耐药性情况分析 & 防控建议 [J] . *中国兽药杂志*, 2012, 46 (S1) : 7-11.
Yuan ZH, Zhang MM, Dai MH, et al. Analysis of veterinary drug resistance and recommendations for prevention and control [J] . *Chin J Vet Drug*, 2012, 46 (S1) : 7-11.
- [24] 张纯萍, 宋立, 吴辰斌, 等. 我国动物源细菌耐药性监测系统简介 [J] . *中国动物检疫*, 2017, 34 (3) : 34-38.
Zhang CP, Song L, Wu CB, et al. Drug resistance surveillance network for zoonotic bacteria in China [J] . *China Animal Heal Insp*, 2017, 34 (3) : 34-38.
- [25] 郭凯旋, 王湘如, 赵月, 等. 我国动物源细菌耐药性监测及预警的研究进展 [J] . *中国兽药杂志*, 2021, 55 (4) : 79-85.
Guo KX, Wang XR, Zhao Y, et al. Progress in the research of drug resistance monitoring and early warning system of animal-derived bacteria in China [J] . *Chin J Vet Drug*, 2021, 55 (4) : 79-85.
- [26] 宋立, 范学政, 张纯萍, 等. 我国动物源细菌耐药性数据库的建立与应用 [J] . *中国兽药杂志*, 2015, 49 (8) : 64-69.
Song L, Fan XZ, Zhang CP, et al. Development and application of national antimicrobial resistance database of bacterium from animal origin [J] . *Chin J Vet Drug*, 2015, 49 (8) : 64-69.
- [27] 房诗薇, 黄玲利, 谢书宇, 等. 兽用抗菌药耐药判定标准的研究进展 [J] . *中国抗生素杂志*, 2019, 44 (6) : 667-673.

- Fang SW, Huang LL, Xie SY, et al. Study progress on breakpoints of veterinary antibiotics [J]. Chin J Antibiot, 2019, 44 (6): 667-673.
- [28] 田二杰. 鸡源大肠杆菌对达氟沙星和安普霉素的耐药判定标准研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- Tian EJ. Establishment of susceptibility breakpoints for danofloxacin and apramycin against *Escherichia coli* in chickens [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.
- [29] 傅嘉莉. 三种动物专用药物在鸡呼吸道源大肠杆菌的流行病学折点的建立 [D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- Fu JL. Establishment of epidemiological cut-off values for three animal specific drugs against *Escherichia coli* from chicken's respiratory tract [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018.
- [30] 李佳瑞. 安普霉素对猪源大肠杆菌野生型折点及其耐药机制研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- Li JR. Wild-type cutoff and resistance mechanism of apramycin against swine-derived *Escherichia coli* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.
- [31] Zhang RL, Kang YR, Zhang RJ, et al. Occurrence, source, and the fate of antibiotics in mariculture ponds near the Maowei Sea, South China: storm caused the increase of antibiotics usage [J]. Sci Total Environ, 2021, 752: 141882.
- [32] Liu X, Steele JC, Meng XZ. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: a review [J]. Environ Pollut, 2017, 223: 161-169.
- [33] 陈佳莉, 陈超群, 吴雪, 等. 副猪嗜血杆菌对喹诺酮类药物流行病学临界值的建立 [J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48 (11): 4292-4301.
- Chen JL, Chen CQ, Wu X, et al. Establishment of the epidemiological cut-off values of *Haemophilus parasuis* for quinolones [J]. China Animal Husb & Vet Med, 2021, 48 (11): 4292-4301.
- [34] 米坤, 孙达, 郝海红, 等. 副猪嗜血杆菌对头孢喹肟耐药判定标准的建立 [C]. 中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会第十五次学术讨论会论文集, 2019.
- Mi K, Sun D, Hao HH, et al. Establishment of the standard for the determination of resistance of *Haemophilus parasuis* to cefquinoxime [C]. Proceedings of the 15th Symposium of the Veterinary Pharmacology and Toxicology Branch of the Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019.
- [35] 陶梦婷. 沃尼妙林对 A 型产气荚膜梭菌的半体内药动 / 药效学研究及敏感性折点测定 [D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- Tao MT. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship and susceptibility breakpoint of valnemulin against *Clostridium perfringens* in rabbits [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018.
- [36] Lei ZX, Liu QY, Qi Y, et al. Optimal regimens and cutoff evaluation of tildipirosin against *Pasteurella multocida* [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 765.
- [37] 胡婉君. 黏菌素对鸡源大肠杆菌的野生型折点建立及耐药性的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- Hu WJ. Epidemiological cut-off value and resistant characteristics of colistin against *Escherichia coli* from chickens [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.
- [38] 程平. 黏菌素对猪源大肠杆菌野生型折点与体外药效学研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
- Cheng P. Study on the CO_{WT} and *in vitro* pharmacodynamics for colistin against swine-derived *Escherichia coli* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.
- [39] Yang Y, Zhang Y, Li J, et al. Susceptibility breakpoint for danofloxacin against swine *Escherichia coli* [J]. BMC Vet Res, 2019, 15 (1): 51.
- [40] 何涛. 动物源大肠杆菌对乙酰甲喹和氟苯尼考的敏感性折点及分子耐药机制研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- He T. Study on the susceptible breakpoint and molecular resistance mechanism for mequindox and florfenicol against animal-derived *E. coli* [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.
- [41] 周萱仪, 陆友龙, 陈超群, 等. 氨基糖苷类药物对副猪嗜血杆菌的流行折点 [J]. 中国抗生素杂志, 2022. DOI: 10.13461/j.cnki.cja.007257.
- Zhou XY, Lu YL, Chen CQ, et al. Establishment on aminoglycoside epidemiological cut-off values of *Haemophilus parasuis* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2022. DOI: 10.13461/j.cnki.cja.007257.
- [42] 黄啸, 徐紫慧, 黄玲利, 等. 副猪嗜血杆菌对达氟沙星的耐药判定标准研究 [C]. 兰州: 中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会第十五次学术讨论会, 2019.
- Huang X, Xu ZH, Huang LL, et al. Study on determination criteria of drug resistance of *Haemophilus parasuis* to dafoxacin [C]. Lanzhou: Proceedings of the 15th Symposium of the Veterinary

- Pharmacology and Toxicology Branch of the Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019.
- [43] 徐紫慧. 副猪嗜血杆菌对达氟沙星和泰乐菌素的耐药判定标准研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- Xu ZH. Establishment of susceptibility breakpoints for danofloxacin and tylosin against *Haemophilus parasuis* in swine [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018.
- [44] Xiao X, Sun J, Chen Y, et al. *In vitro* dynamic pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modeling and PK/PD cutoff of cefquinome against *Haemophilus parasuis* [J]. BMC Vet Res, 2015, 11: 33.
- [45] Zhang P, Hao HH, Li J, et al. The epidemiologic and pharmacodynamic cutoff values of tilicosin against *Haemophilus parasuis* [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 385.
- [46] 罗讯. 猪产气荚膜梭菌对阿维拉霉素和安普霉素的耐药判定标准研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- Luo X. Establishment of susceptibility breakpoints standards for avilamycin and apramycin against *Clostridium perfringens* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018.
- [47] 冯航. 泰妙菌素对动物源产气荚膜梭菌体外药效学及野生型折点的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- Feng H. Study on the wild type cutoff and *in vitro* pharmacodynamics for tiamulin against animal-derived *Clostridium perfringens* [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2021.
- [48] 雷志鑫. 副猪嗜血杆菌对泰地罗新的耐药判定标准和耐药机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- Lei ZX. Resistant breakpoint and mechanism study for *Haemophilus parasuis* against tildipirosin [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018.
- [49] 潘华芳. 猪沙门菌对恩诺沙星耐药判定标准研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
- Pan HF. Development of enrofloxacin susceptibility breakpoint for *Salmonella* in pigs [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012.
- [50] Antimicrobial resistance: global report on surveillance [M]. 16rd ed Geneva: World Health Organization, 2014.
- [51] Aidara-Kane A, Angulo FJ, Conly JM, et al. World Health Organization (WHO) guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals [J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2018, 7: 7.
- [52] McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial resistance: a one health perspective [J]. Microbiol Spectr, 2018, 6 (2). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017.

(责任编辑 朱琳峰)