

抗菌药物敏感试验中需注意的问题

孙长贵

作者单位:310013 杭州市,解放军第 117 医院检验科暨南京军区医学检验质量控制中心

细菌耐药性已成为一个日益严重的全球性公共卫生问题,突出表现在产生耐药的速度越来越快,耐药的程度越来越重,耐药的细菌越来越多,耐药的频率越来越高,耐药造成的后果越来越棘手,耐药造成的负担越来越沉重。因此,药敏试验的作用显得愈加重要。由于细菌耐药的机理和程度各不相同,选择正确的药敏试验方法和指征,了解有关知识,控制各种影响因素,对做好抗菌药物敏感试验,获得正确结果至关重要。本文就抗菌药物敏感试验中需注意的问题做一简要论述。

1 正确选择药敏试验指征

药敏试验的目的是检出细菌的耐药性,确定病原菌对哪种药物有耐药性,避免医生将其作为治疗用药。只有已知可能出现耐药的菌株,并且属于引起感染的致病菌,或引起免疫功能低下患者感染的条件致病菌,才需要做药敏试验,若属于正常菌群的污染菌或与感染无关的细菌则无需做药敏试验。当已知引起感染的细菌对某种抗菌药物高度敏感时(如化脓链球菌对青霉素),通常也不需要进行药敏试验^[1,2]。

在某些情况下,起初对某种抗菌药物敏感的菌株,在开始治疗一段时间后可发展为中介或耐药。因此,随后从身体相同部位分离出的相同菌株,为检测是否已发展为耐药,应进行药物敏感性试验。这种由敏感发展为耐药的过程可短到在治疗后 3-4 d 内即出现。目前,已注意到在用第三代头孢菌素治疗肠杆菌属、枸橼酸杆菌属和沙雷菌属,所有抗菌药物治疗铜绿假单胞菌以及喹诺酮类治疗葡萄球菌中最常出现上述情况;金黄色葡萄球菌在延长疗程期间对万古霉素敏感菌株可发展为对万古霉素中介^[3]。

2 正确选择药敏试验方法及解释标准

常规药敏试验方法包括纸片扩散法、肉汤稀释法(包括常量肉汤稀释法和微量肉汤稀释法)、琼脂稀释法和浓度梯度法,每种方法都有它的优缺点和适用性。对于常见的需氧快速生长的细菌,如肠杆菌科、葡萄球菌、肠球菌、链球菌、铜绿假单胞菌、不动杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、嗜麦芽窄食单胞菌、流感和副流感嗜血杆菌、淋病奈瑟菌和脑膜炎奈瑟菌等,纸片扩散法和测定最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)方法均适用。其他非肠杆菌科细菌,纸片扩散法

不适用,需测定 MIC 的方法均适用。上述细菌执行美国临床实验室标准化协会(clinical and laboratory standards institute, CLSI)M100-S21 文件中的解释标准^[3]。

对于 CLSI M100-S21 文件中未包括的非常见分离菌或苛养菌抗菌药物试验方法和解释标准,参见 CLSI 指南 M45-A2^[4]。M45-A2 文件中包括的微生物有乏养菌属、颗粒链菌属(以前称营养缺陷或营养变异链球菌)、嗜水气单胞菌复合群、芽孢杆菌(不包括炭疽芽孢杆菌)、空肠/大肠弯曲菌、幽门螺杆菌、棒状杆菌(包括白喉棒状杆菌)、红斑丹毒丝菌、凝聚杆菌[包括以前的嗜血杆菌属嗜沫簇(嗜沫嗜血杆菌、副嗜沫嗜血杆菌和惰性嗜血杆菌和伴放线凝聚杆菌)]、心杆菌、侵蚀艾肯菌、金氏杆菌、乳杆菌、明串珠菌属、产单核李斯特菌、卡他莫拉菌、巴斯德菌属、片球菌、潜在生物恐怖病原菌、霍乱弧菌及其他弧菌等。

对于还没有解释标准的微生物,通常执行肉汤稀释或琼脂稀释法测定 MIC。

3 抗菌药物的选择

抗菌药物的选择必须遵循合理、科学、经济、得当的原则,应根据 CLSI M100-S21 文件^[3]中推荐的依感染菌的属种来选择抗生素的组别。A 组为首选药物, B 组为可选择性报告的首选药物, C 组为次选报告的药物, U 组只用于泌尿道感染细菌试验的药物。同时,选择药物时应注意以下几点:(1)根据抗菌药物的抗菌谱;(2)根据某些特殊的耐药机制;(3)根据抗菌药物的药代动力学特点;(4)根据流行病学资料;(5)所选药物具有代表性或具有提示性;(6)对分离于脑脊液中的细菌,某些药物不作为选择药物进行常规试验与报告,包括仅通过口服途径给药的药物、第一、二代头孢菌素(头孢唑辛注射剂除外)、头霉素类、克林霉素、大环内酯类、四环素类和氟喹诺酮类等;(7)了解菌株的天然耐药性。

4 药敏试验结果的评价与报告

4.1 出现“非敏感”结果 由于试验方法对某些药物检测还不够精确,或由于没有收集到足够的耐药菌株来制定折点, CLSI 药敏试验指南对这些药物除了“敏感”以外没有标明任何其他分类。如果检测结果提示“非敏感”,应确证微生物鉴定和药敏试验结果。

4.2 出现不可能的结果 如铜绿假单胞菌对头孢唑啉、氨苄西林或复方新诺明敏感;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)对青霉素类敏感;肠杆菌科细菌对第一代喹诺酮类敏感而对环丙沙星耐药等,此类结果须找出原因并加以纠正。

4.3 需要修正的结果 耐庆大霉素的革兰阳性球菌即使出现对阿米卡星、奈替米星敏感,也应报告耐药;葡萄球菌、淋病奈瑟菌等 β -内酰胺酶阳性的细菌,如测得对青霉素类药物敏感,应报告耐药;MRSA 应报告对所有 β -内酰胺类药物耐药。

4.4 需确认的药敏试验结果 对未曾报告过、非常见表型的细菌,应确认药敏试验和菌株鉴定结果^[3]。

5 特殊耐药表型和耐药酶的检测

特殊耐药表型和耐药酶的检测,如 MRSA、诱导克林霉素耐药、高水平莫匹罗星耐药、耐万古霉素肠球菌、高水平氨基糖苷类耐药、改良 Hodge 试验、超广谱 β -内酰胺酶(extended spectrum β -lactamases, ESBLs)、葡萄球菌和卡他莫拉菌 β -内酰胺酶等试验,严格执行推荐的试验方法。若执行新的头孢菌素和碳青霉烯类药物折点,则常规工作中无需检测 ESBLs 和碳青霉烯酶^[3]。关于产 I 型新德里金属 β -内酰胺酶细菌(超级细菌)的实验室诊断,国家卫生部推荐通过表型筛查、表型确认和基因确证三个步骤进行确认^[5,6]。

6 2011 年 CLSI M100-S21 文件主要更新内容^[3]

6.1 更改和删除的内容

6.1.1 对 19 个表格和附录进行重新命名、编号和安置 例如“表 1 常规试验和报告抗菌药物分组(非苛养微生物)”更改为“表 1A 常规试验和报告抗菌药物分组(非苛养微生物)”、“表 3 纸片扩散试验—用于监控准确性的质控菌株允许范围(mm)(使用不加血液或其他添加剂的 M-H 培养基测试非苛养菌)”更改为“表 3A 纸片扩散:非苛养微生物质控范围(未加添加剂的 M-H 培养基)”、“附录 B 抗菌药物敏感性试验质量控制菌株”更改为“附录 C 抗菌药物敏感性试验质量控制菌株”。

6.1.2 删除了某些表格及内容 如删除“表 1B 潜在生物恐怖病原菌试验和报告抗菌药物”;删除“表 2I 霍乱弧菌抑菌圈直径和 MIC 解释标准”;删除“表 2K 潜在生物恐怖病原菌 MIC 解释标准($\mu\text{g/mL}$):炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶尔森菌、鼻疽伯克霍尔德菌、假鼻疽伯克霍尔德菌、土拉热弗朗西斯菌和布鲁菌”;删除“表 2L 幽门螺杆菌 MIC 解释标准”。删除幽门螺杆菌 QC 范围和试验条件;删除潜在生物恐怖病原菌 QC 菌株的 QC 范围(以前的表 4C 和 4D)。上述表格被移到 CLSI 指南 M45 中。

警告表中删除“表 2A 产 ESBLs 肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、大肠埃希菌和奇异变形杆菌”的列表内容。目前,修订

的头孢菌素折点已发布。

6.2 新增内容 新增“表 1C 测试厌氧菌抗菌药物推荐分组”。新增“表 2J 厌氧菌 MIC 解释标准”。新增“表 4D 厌氧菌质量控制范围(琼脂稀释法)”；新增表 4E 厌氧菌质量控制范围(肉汤微量稀释法)。新增“附录 B 固有耐药—肠杆菌科”。新增“附录 E 各种厌氧微生物累积抗菌药物敏感性报告”。

6.3 其他 肠杆菌科(表 2A)增加某些抗菌药物给药方案信息及执行新的折点时的报告建议;新修订头孢唑啉折点及给药方案,修订后的头孢唑啉折点为:①纸片扩散法,S(敏感) ≥ 23 mm,I(中介)为 20~22 mm,R(耐药) ≤ 19 mm;②测定 MIC 法,S ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$,I=4 $\mu\text{g/mL}$,R ≥ 8 $\mu\text{g/mL}$ 。

铜绿假单胞菌(表 2B-1)增加某些抗菌药物给药方案信息及执行新折点时的报告建议;增加头孢他啶、头孢吡肟和氨曲南给药方案;删除头孢唑肟、头孢哌酮、拉氧头孢、头孢曲松和头孢噻肟,由于这些药物不再可获得或对铜绿假单胞菌具有有限适应症。

葡萄球菌属(表 2C)、肠球菌属(表 2D)和 β -溶血链球菌(表 2H-1)增加了来源于下呼吸道分离株不报告达托霉素的信息。

7 结束语

目前,由于细菌对抗菌药物耐药的严重性及耐药机制的复杂性,一个耐药菌株对同一种药物可同时具有多种耐药机制,一个耐药菌株也可因同时具有多种耐药基因而引起对多种药物同时耐受,加之药敏试验方法影响因素多,新的观点和知识不断更新,给常规工作中获得正确药敏试验结果带来难度和挑战。因此,微生物学检验工作者应加强对相关知识的学习和掌握,了解药敏试验中需注意的问题,控制试验影响因素,为临床提供相对正确的药敏试验结果。

8 参考文献

- 1 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M02-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009, 29: 1-47.
- 2 Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Eighth Edition. CLSI document M07-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009, 29: 1-59.
- 3 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011, 31: 1-163.
- 4 Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or

Fastidious Bacteria; Approved Guideline—Second edition. CLSI document M45-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010, 30:1-77.

99-101.

6 中华人民共和国卫生部. 产 NDM-1 泛耐药肠杆菌科细菌感染诊疗指南(试行版), 2010.

5 孙长贵. 产 NDM-1 酶细菌研究进展. 实验与检验医学, 2011, 29:

(收稿日期: 2011-08-04)

(本文编辑: 杨军)

第四届世界癌症大会分会之肺癌大会: 肺癌治疗的现状与前景

由国家外国专家局国外人才信息研究中心、中国医药生物技术协会主办, 百奥泰国际会展(大连)有限公司承办的第四届世界癌症大会——肺癌分会, 将于 2011 年 11 月 7 日在北京举行。

本次会议为参会人员提供最前沿的科技资讯、传递行业发展趋势和最新动向, 是肺癌研究领域的年度盛会。大会除主题论坛外, 将组织肺癌生物学和技术、肺癌药物发现与开发、临床肿瘤学, 诊断学和治疗、非小细胞肺癌和小细胞肺癌及其干预、临床前景, 手术, 护理和姑息治疗、肺癌护理管理九大科技论坛和分会活动。大会将召集 30 多个国家的百余位国内外肺癌及相关专业领域的学术带头人来参加学术交流。大会同时设置了企业和产品展示、项目对接、各种交流洽谈会等。另为科研人员和青年学者设置了学术展区, 展出最新的学术研究、科研成果、合作项目介绍以及博士后招募等信息。

1 会议议题

第一分会: 肺癌生物学和技术

专场 1-1: 分子流行病学, 病理学和预防

专场 1-2: 肺癌分子生物学

专场 1-3: 肺癌和免疫学

专场 1-4: 肺癌分子表达谱

专场 1-5: 转化研究和临床试验

第二分会: 肺癌药物发现与开发

专场 2-1: 分子靶标确认, 药物设计和发现化学

专场 2-2: 免疫治疗和其它生物疗法的进展

专场 2-3: 抗血管生成和抗血管药物

专场 2-4: 抑制细胞生长

专场 2-5: 凋亡诱导剂

专场 2-6: 基因治疗

第三分会: 临床肿瘤学, 诊断学和治疗

专场 3-1: 肺部恶性肿瘤和转移

专场 3-2: 肺癌多元化治疗

专场 3-3: 预测/诊断生物标记

专场 3-4: 肺癌联合化学疗法趋势

专场 3-5: 肺癌影像学, 放射疗法和辅助疗法

第四分会: 非小细胞肺癌和小细胞肺癌及其干预

专场 4-1: 非小细胞肺癌早期: I、II 期

专场 4-2: 非小细胞肺癌 III 期和靶向治疗

专场 4-3: 非小细胞肺癌 IV 期和靶向治疗

专场 4-4: 非小细胞肺癌的个体化治疗

专场 4-5: 可以用手术治疗的非小细胞肺癌

专场 4-6: 小细胞肺癌

第五分会: 临床前景, 手术, 护理和姑息治疗

专场 5-1: 手术治疗和肺癌管理

专场 5-2: 维持疗法—肿瘤疼痛治疗和护理

专场 5-3: 姑息治疗

第六分会: 专题讨论会

专题讨论会 1: 写作与出版指南: 与国际癌症杂志和期刊编辑会面

专题讨论会 2: 烟草控制和关注化学预防

专题讨论会 3: 临床研究方法论

专题讨论会 4: 肺癌护理管理

2 联系人及联系方式

联系人: 侯佩佩

会议日期: 2011-11-7 至 2011-11-9

电话: 0411-39674209; 13390515632

举办地点: 北京国际会议中心

传真: 0411-84796897

邮箱: wcccl@bitconferences.cn