

第二十一章 药敏试验

1. 纳入感控管理的多重耐药菌*

耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌（MRSA）

耐万古霉素的肠球菌（VRE）

产超广谱 β 内酰胺酶（ESBLs）的肠杆菌目细菌

耐碳青霉烯类抗菌药物的肠杆菌目细菌（CRE）

耐碳青霉烯类抗菌药物的鲍曼不动杆菌（CR-AB）

多重耐药/泛耐药的铜绿假单胞菌（MDR/PDR-PA）

多重耐药结核分枝杆菌（MDR-TB）

2. 细菌耐药机制

1) 遗传学机制

染色体介导的耐药

质粒介导的耐药：耐药基因易于传播

2) 生物化学机制

产生灭活抗生素的水解酶或钝化酶

细菌的抗生素作用靶位的改变

渗透屏障、孔蛋白的变化

外排泵出系统

细菌生物膜的形成

3. 药物敏感试验的基本术语（详细解释见书上 P363）

固有耐药

获得性耐药

最小抑菌浓度（MIC）

最小杀菌浓度（MBC）

折点（药敏试验结果解释标准）

多重耐药（MDR）

广泛耐药（XDR）

全耐药（PDR）

抗生素后效应（PAE）

4. 药物敏感试验意义

1) 帮助临床目标性治疗

对于临床目标性治疗，特定分离株的具体药敏试验结果可以用于：

a) 判断经验治疗选药合理

b) 经验治疗效果分析

c) 调整治疗用药

2) 为经验性治疗积累证据

经验性治疗治疗依据：一方面来自医生自身的经验；一方面来自实验室长期不断提供的数据积累

5. 药物敏感试验（AST）定义

药敏试验，是指在体外测定抗菌药物抑制或杀灭细菌的能力，即是测定细菌对抗菌药物的敏感性。

抗菌药物敏感性试验的适应证：某些致病菌或条件致病菌的药敏特点不能从其种属特征上了解时，或其药敏结果易变时，必须做药敏试验。

6. 药物敏感试验用药的选择

选择适合的药物进行药敏试验一般应由临床微生物检验 医师与感染科医师、药师积极协作。同时，参照美国临床实验室标准化委员会（CLSI）所制定的药敏试验执行标准。考虑以下因素：

- 1) 致病菌的固有耐药特点
- 2) 本地流行株的耐药谱和耐药趋势
- 3) 药物的活性和毒性
- 4) 药物的价格及其供应情况
- 5) 代表药物的正确选择

7. 药物敏感试验抗菌药物分组

CLSI 将抗菌药物分成 A、B、C、U 四个主要组别

A 组（常规试验并常规报告药物）

B 组（常规试验，有选择报告药物）

C 组（替代性或补充性抗菌药物，有选择报告药物）

U 组（仅用于或主要用于治疗泌尿道感染的抗菌药物）

O 组（有临床适应症，在美国一般不作为常规测试与报告）

✓ 肠球菌 天然耐药头孢菌素类

A 组：氨苄西林、青霉素

B 组：达托霉素、利奈唑胺、特地唑胺、万古霉素

C 组：高水平庆大霉素、高水平链霉素、达巴万星、奥利万星、特拉万星

U 组：环丙、左氧、磷霉素、呋喃妥因、四环素

✓ 铜绿假单胞菌

A 组：头孢他啶、庆大霉素、妥布霉素、哌拉西林/他唑巴坦

B 组：阿米卡星、氨基糖苷类、头孢吡肟、头孢他啶/阿维巴坦、亚胺培南/瑞来巴坦、头孢洛扎/他唑巴坦、环丙、左氧、多立培南、亚胺培南、美罗培南

8. 药物敏感试验（AST）方法

1) 纸片扩散法

A) 原理

B) 操作步骤：挑取菌落；转种肉汤；比浊；涂布平板；贴药敏纸片；量取抑菌圈直径

C) **结果报告***

- a) 敏感(susceptible, S): 表明该菌株所致感染可使用此种抗微生物药物常规剂量进行治疗，除非存在禁忌证。
- b) 耐药(resistant, R): 耐药是指使用常规推荐剂量的抗菌药物治疗时，该抗菌药在感染部位通常达到的浓度不能抑制该感染菌生长；或者该药对该感染菌的临床疗效尚未在以往的治疗研究中被证实是可靠的；或者 MIC 落在特定细菌发挥耐药机制(如诱导 β 内酰胺酶)的合适范围。
- c) 中介(intermediate, I)
 - ①抗菌药对感染菌的 MIC 接近该药在血液和组织中通常可达到的浓度，感染菌的临床应答率可能低于敏感菌。
 - ②“中介”意味着某些药物在生理浓集的部位(如尿液中的喹诺酮类和 β 一内酰胺类)具有临床效力，或者可用。
 - ③若某药在高剂量使用时是安全的(如 β 一内酰胺类)，则中介意味着高于通常剂量的药物进行治疗可能有效。
 - ④中介还意味它是一个缓冲区，避免微小的、未能控制的技术因素造成重大的结果解释错误，特别是对那些毒性范围窄的药物。
- d) 剂量依赖敏感(susceptible-dose dependent, SDD): 这个概念主要用于真菌的药敏试验，含义类似于细菌药敏试验的“中介”。指分离株的敏感性依赖于对患者的用药方案(较高剂量、增加用药频率，或两者)，应考虑到许可的最大剂量给药方案。

- e) 非敏感(nonsusceptible, NS): 当某新的抗菌药问世时, 由于尚未发现耐药株, 故早期的解释标准只有敏感折点; 当某个分离株的 MIC 值高于该敏感折点时, 就报告为非敏感。

D) 举例

CLSI对嗜麦芽抑菌圈直径的解释标准

| 抗菌药物 | 纸片含药量 (ug/片) | 抑菌圈直径折点(mm) | | |
|-------|-----------------|-------------|-------|-----------|
| | | 敏感S | 中介I | 耐药R |
| 米诺环素 | 30 | ≥ 19 | 15—18 | ≤ 14 |
| 左氧氟沙星 | 5 | ≥ 17 | 14—16 | ≤ 13 |
| 复方新诺明 | 1.25/23.75 | ≥ 16 | 11—15 | ≤ 10 |

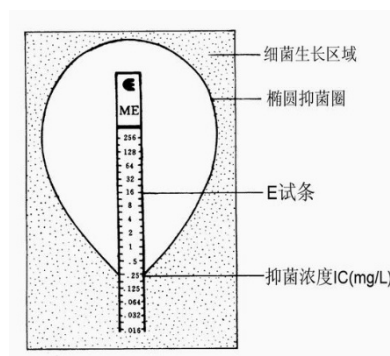
| | 敏感 | | 剂量依赖敏感 | |
|---------------|---------------------|---------|---------------------|-------------------|
| | MIC | 剂量 | MIC | 剂量 |
| 头孢吡肟/ 肠杆菌目 | $\leq 2\text{mg/L}$ | 1g q12h | 4mg/L | 1g q8h 2g q12h |
| | | | 8mg/L或 d=19-24mm | 2g q8h |
| | | | | |

2) 稀释法

- A) 原理: 将抗菌药物做不同浓度的稀释后, 接种一定浓度的待测菌, 通过测试细菌在含不同浓度药物培养基内的生长情况, 定量测定抗菌药物的最低抑菌浓度 (MIC)。
- B) 方法: 肉汤稀释法和琼脂稀释法。
- C) 结果报告: MIC(ug/ml 或 mg/L)数值并判定敏感、中介和耐药
- D) 药敏试验的**金标准**方法。
- E) 举例

CLSI对嗜麦芽MIC的解释标准

| 抗菌药物 | MIC解释标准(mg/L或ug/ml) | | |
|-------|---------------------|-------|------------|
| | 敏感S | 中介I | 耐药R |
| 替卡/棒酸 | ≤ 16 | 32—64 | ≥ 128 |
| 头孢他啶 | ≤ 8 | 16 | ≥ 32 |
| 米诺环素 | ≤ 4 | 8 | ≥ 16 |
| 左氧氟沙星 | ≤ 2 | 4 | ≥ 8 |
| 复方新诺明 | ≤ 40 | — | ≥ 80 |
| 氯霉素 | ≤ 8 | 16 | ≥ 32 |



3) 浓度梯度纸条扩散法【右图】

结合了稀释法和扩散法的原理和特点对细菌药敏试验直接定量的技术。

4) 自动化仪器法 自动化微生物分析仪

严格按各仪器操作程序进行操作，仪器自动测试、读取数据和判定结果

多数有根据细菌耐药规律而设定的专家系统，对于专家系统提示的不可能的或罕见的耐药表型，需对菌株重新纯化、确认和鉴定，必要时可以用 K-B 法进行比对试验。

5) 厌氧菌/真菌药敏试验

各药敏试验方法列表总结如下

| 药敏方法 | 图片 | 优点 | 缺点 |
|----------------------|---|--------------------------------------|---------------------|
| 纸片扩散 K-B 法 |  | 选药灵活、便宜、易懂 | 手工操作费时 |
| 宏量肉汤稀释法 |  | 准确，可靠，可用于研究 | 劳动强度大 |
| 微量肉汤稀释法 (自动仪器法) |  | 可用于厌氧菌、苛氧菌，计算机管理，快速，新药的评价 | 可能有错误 (如诱导型菌) |
| 琼脂稀释法 |  | 精确可靠，可同时测定多株菌，细菌生长情况可查 | 测多个药时劳动强度大，制备平皿费时费力 |
| 梯度扩散法条 (E-test 法) |  | 连续浓度梯度，与琼脂稀释法相关性好，影响因素少，稳定性高，操作简单，省时 | 昂贵 |
| MIC 测试条 |  | 用于替加环素等药物研究 | 国内无注册证 |

9. 抗菌药物的 PK / PD

- 1) 抗菌药物的药代动力学 (PK)，简称药动学，是研究血药浓度随时间动态变化规律的学科。
- 2) 抗菌药物的效应动力学 (PD)，简称药效学，是研究血药浓度和抗菌药物在感染部位的抗微生物效果之间的关系学科。
- 3) 近年来将体外药效学指标 MIC 和体内药动学参数结合起来，即将 PD 与 PK 结合起来，以探讨抗感染治疗中的量-效关系 (如 C_{max}/MIC)，和时效关系 (如 $T > MIC$)，从而来优化给药方案。依据 PD/PK 相结合的研究结果，将抗菌药主要分为浓度依赖性和时间依赖性两大类。

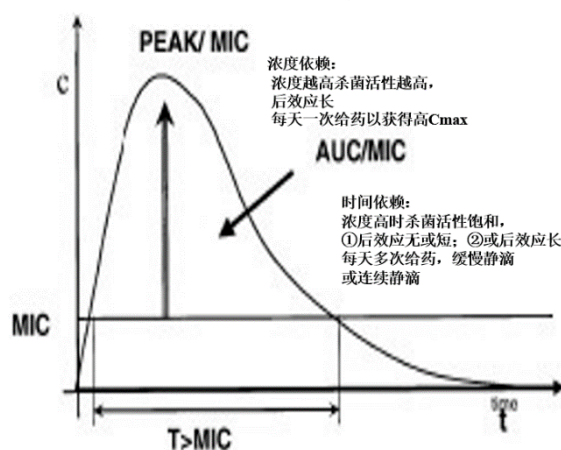
4) 抗菌药物的 PK / PD 分类

A) 浓度依赖型抗生素

- a) 本类抗菌药物的药物浓度越高杀菌作用越强，通常均具有较长的 PAE。其抗菌药物的作用决定于药物的峰浓度 peak concentration or 越大，其抗菌作用越强。
- b) 主要的 PK/PD 参数： $24h$ 药时曲线下面积 (AUC₂₄)/MIC； C_{max}/MIC
- c) 代表药有氟喹诺酮类、氨基糖苷类和硝基咪唑类、两性霉素 B、棘白菌素类

B) 时间依赖性抗生素

- a) 本类抗菌药物的药物浓度在达到临界浓度后 (常为 4-5 倍 MIC) 再增加药物浓度其杀菌作用并不增加，药物进入菌体停留时间较短，多无 PAE，药物浓度降至 $< MIC$ 时细菌恢复生长。因而抗菌药物需要持续长时间保持药物浓度大于 MIC 浓度，才能杀灭细菌。其抗菌作用主要依赖于血药浓度超过 MIC 的时间，超过 MIC 时间越长，即 $T > MIC$ 越大，抗菌作用越好，并不要求有很高的血药浓度。
- b) 其代表类型是 β 内酰胺类、利奈唑胺、万古霉素、大环内酯类和克林霉素。阿奇霉素虽然药物浓度增高杀菌活性会饱和，但有较强的 PAE，其 AUC/MIC 是主要的药效学参数。



10. 药敏试验结果的相对性

- 1) 药敏试验解释标准的确定是以药代动力学中的血药浓度作为依据之一的，而药物在组织中的浓度不一定与血药浓度相同，因此，不同组织感染时，以上述解释标准来判断药物治疗效果可能与临床不完全相符。
- 2) 对一种药物而言 MIC 值越小，代表越敏感。但是不同药物的 MIC 值不能进行横向比较。
- 3) 体外药敏试验只能预测体内的治疗效果，临床用药时需要根据感染部位、给药剂量、用药方式、PK/PD、患者的免疫功能等多方面因素进行选择。
- 4) 抗感染要考虑综合措施，对于一些脓肿，在可能的情况下要切开排脓。——抗菌药不是万能的

11. 细菌耐药性检测

- 1) 表型检测
药敏试验的结果
检测耐药基因的产物
- 2) 基因型检测
分子生物学方法
多为研究性

12. 耐药菌检测试验

- 1) 直接 β 内酰胺酶试验
目前多采用色原法，以头孢硝噻吩为底物，直接与试验菌作用，纸片由黄色变为红色为阳性。检测阳性结果表明：该细菌对所有对青霉素酶不稳定的青霉素（包括青霉素和广谱青霉素）耐药。需要对葡萄球菌、肠球菌、流感嗜血杆菌、淋病奈瑟菌、卡他莫拉菌等常规检测。
- 2) 超广谱 β 内酰胺酶的检测（ESBLs）
ESBLs 由革兰氏阴性杆菌产生，质粒编码，其活性可被克拉维酸抑制，可通过转化、转导、接合、转移等方式传递，易于造成耐药菌流行。检测包括筛查和确证试验。产 ESBLs 的克雷伯菌属、大肠埃希菌和奇异变形杆菌应报告对所有青霉素类、头孢菌素类（包括头孢吡肟）以及氨曲南耐药，但不包括头霉素、碳青霉烯类和含 β -内酰胺酶抑制剂的复合制剂。
- 3) 碳青霉烯酶的检测
A 类、B 类、D 类（A 类酶可被 APB 抑制、B 类酶可被 EDTA 抑制）
- 4) CarbaNP 试验、mCIM、eCIM 试验
- 5) 改良 Hodge 试验

13. 甲氧西林耐药的葡萄球菌（MRS）

- 1) 耐药机制：MecA 基因 \rightarrow PBP2a
- 2) 检测方法：头孢西丁、苯唑西林；纸片扩散法、稀释法
- 3) 结果报告： β -内酰胺类药物均耐药；头孢罗膦除外；多重耐药
- 4) 首选药物：万古霉素

14. 万古霉素耐药的肠球菌（VRE）

- 1) 耐药机制：VanA VanB VanD VanE VanC
- 2) 检测方法：万古霉素-纸片扩散法；中介结果-琼脂稀释法
- 3) 结果报告：万古霉素 抑菌圈直径 MIC 值；多重耐药
- 4) 首选药物：利奈唑胺

15. 青霉素耐药肺炎链球菌（PRSP）

苯唑西林纸片扩散法
OX \geq 20mm 时，报告 P 敏感
OX \leq 19mm 时，做 P 和 CTX/CRO/MEM 的 MIC

16. 高水平氨基糖苷类耐药的肠球菌（HLARE）

纸片扩散法或琼脂稀释法

耐药则意味着 氨基糖苷类药物与作用于细菌细胞壁合成的药物如青霉素、氨苄西林、万古霉素联合无协同作用，这两类药物不能联合应用。

17. 重要耐药菌的同源性检测和预防控制

1) 同源性检测

脉冲凝胶电泳、多位点序列分型、多位点串联重复序列

2) 预防控制

重视重点科室管理、强化预防控制措施、合理使用抗菌药物 、MDR 的监测

18. 治疗性药物浓度监测

治疗药物监测（therapeutic drug monitoring,简称 TDM）是在药代动力学原理的指导下，应用现代化的分析技术，测定患者血液中或其他体液中药物浓度，用于药物治疗的指导与评价。

应用范围：药物的治疗作用和毒性反应均呈血药浓度依赖性，其有效血药浓度范围及中毒浓度已知，并可建立可靠实用的检测方法。

1) 药物的治疗指数小，安全范围狭窄。

2) 具有非线性药代动力学特性的药物，如苯妥英钠，茶碱，水杨酸等。

3) 药代动力学的个体差异很大，如普鲁卡因胺的乙酰化代谢。

4) 合并用药产生相互作用而影响疗效时。

5) 怀疑患者药物过量中毒，尤其中毒症状与剂量不足的症状类似，而临床又不能明确辨别。如普鲁卡因胺、苯妥英钠。

6) 肝肾功能不全使用主要经过肝代谢消除或肾排泄的药物时，以及胃肠道功能不良的患者口服某些药物时。

7) 查找药物治疗无效的原因。不按医嘱用药？产生耐药性？药品质量？个体差异？

8) 常规剂量下出现毒性反应，诊断和处理过量中毒，以及为医疗事故提供法律依据。

常用技术方法：

1) 光谱法

2) 色谱法：高效液相色谱法是多数药物 TDM 的推荐方法。

3) 免疫学方法：是当前 TDM 最常使用的检测方法

4) 毛细管电泳法

5) 离子选择电极法

临床应用：实现个体化用药

1) 药效学个体差异

2) 检测方法

3) 血浆蛋白结合率

4) 其他影响因素

常见 TDM 的药物：

1) 强心苷类：地高辛

2) 抗癫痫药：苯妥英钠

3) 免疫抑制药：环孢素、他克莫司、霉酚酸酯

4) 情感性精神障碍药：抗抑郁药、抗躁狂药

5) 抗心律失常药：普鲁卡因

6) 抗生素：氯霉素、万古霉素、氨基糖苷类

7) 茶碱

8) 抗恶性肿瘤药：甲氨蝶呤

19. 急重症常用的实验检测

- 1) 血常规
- 2) 尿常规
- 3) 动脉血气分析
- 4) 呼吸功能检测
- 5) 肾功能监测
- 6) 心功能检测
- 7) 肝功能检测
- 8) 凝血功能检测

20. 常用急重症检测项目的危急值

危急值的含义

常用的危急值示例：

| 项目名称 | 单位 | 低值 | 高值 |
|------------------|-----------------|------|------|
| WBC | $\times 10^9/L$ | 2.5 | 30 |
| PLT | $\times 10^9/L$ | 50 | |
| Hb | g/L | 50 | 200 |
| PT | S | | 30 |
| APTT | S | | 70 |
| Glu | mmol/L | 2.2 | 22.2 |
| K ⁺ | mmol/L | 2.8 | 6.2 |
| Na ⁺ | mmol/L | 120 | 160 |
| Ca ²⁺ | mmol/L | 1.75 | 3.50 |

21. 急重症特殊检测

- 1) 有机磷农药中毒：血清胆碱酯酶
- 2) CO 中毒：碳氧血红蛋白
- 3) 铅中毒
- 4) 苯中毒
- 5) 乙醇中毒
- 6) 乳酸中毒
- 7) 毒蛇咬伤

22. 常见急重症的实验诊断

- 1) 脓毒性休克
- 2) 多器官功能障碍综合征
- 3) 急性中毒
- 4) 物理因素引起的急重症

重点掌握

1. 常见标本的采集运送的要求
2. 常用的病原学检测方法及其临床意义
3. 艾滋病、梅毒、淋病的实验诊断
4. 常用的药敏试验方法及结果表示
5. 抗菌药的 PK/PD 分类
6. 临床重要的耐药菌的检测