

临 床 微 生 物 学 教 育 丛 书

CLINICAL MICROBIOLOGY EDUCATIONAL SERIES

主编

倪语星 王金良
徐英春 胡必杰 孙自镛

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

抗微生物药物敏感性

GOOD LABORATORY
PRACTICES

试验规范

(第二版)



上海科学技术出版社

3

临 床 微 生 物 学 教 育 丛 书
CLINICAL MICROBIOLOGY EDUCATIONAL SERIES

主编

倪语星 王金良
徐英春 胡必杰 孙自镛

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

抗微生物药物敏感性

GOOD LABORATORY
PRACTICES

试验规范

(第二版)

上海科学技术出版社

3

图书在版编目(CIP)数据

抗微生物药物敏感性试验规范/倪语星等主编. —2版
上海: 上海科学技术出版社, 2009.5
(临床微生物学教育丛书)
ISBN 978-7-5323-9744-0

I. 抗... II. 倪... III. 抗微生物性-药物过敏-试验-规范 IV. R965.3-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 025311 号

上海世纪出版股份有限公司 出版、发行
上海科学技术出版社

(上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235)

新华书店上海发行所经销

常熟市兴达印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 7.5

字数: 90 千字

2002 年 10 月第 1 版

2009 年 5 月第 2 版 2009 年 5 月第 3 次印刷

ISBN 978-7-5323-9744-0/R·2643

定价: 25.00 元

本书如有缺页、错装或损坏等严重质量问题,
请向工厂联系调换

内容提要

本书借鉴国际上最新的观念、方法，并结合我国的实际情况，介绍了进行药敏试验的指征、常规试验中抗菌药物的选择、药敏试验结果的报告、药敏试验方法、革兰阳性球菌和革兰阴性细菌耐药问题的检测、厌氧菌体外药物敏感试验、分枝杆菌的药物敏感试验、奴卡菌属的耐药性检测和抗真菌药物敏感试验等内容，其目的在于建立一整套适合我国情况、具有可操作性的标准化操作规范。

本书可为广大临床微生物学工作者及从事感染性疾病专业的临床医生参考使用，为抗微生物药物敏感性试验规范化提供了参考工具。

主编

倪语星 王金良 徐英春 胡必杰 孙自镛

作者

蒋小飞 韩立中 孙景勇

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

前言

临床微生物学诊断在感染性疾病及相关疾病的诊断、治疗、预防以及研究工作中起着越来越重要的作用。它既是实验诊断的重要组成部分，又是医学领域相对独立的学科。

在我国，临床微生物学诊断这一学科的发展相对滞后，与实验诊断的其他学科相比，尚未受到应有的、足够的重视。

医学发展的现状，尤其是感染性疾病发展的形势，要求我们必须充分重视并努力加强临床微生物学诊断这一学科的发展。

其理由：

第一，新的病原体及其所致的新的感染性疾病不断出现。WHO 已发布近 30 年来明确肯定的 30 余种新病原体，其数目现仍在不断增加。尤其是以疯牛病为代表的新病原体 prion（国内部分专家提议译为朊粒）的确定，改变了我们对传统病原体的认识，无疑对病原体的实验诊断提出新的挑战。

第二，许多传统的老病原体出现了临床新问题，对实验诊断提出了新的要求，如霍乱弧菌 O139，多种多样的致腹泻大肠埃希菌，引起中毒性休克综合征的葡萄球菌和链球菌，迅速增加的性传播性疾病病原体，基因变异的乙型、丙型肝炎病毒等，迫使实验诊断手段必须不断改进才能与之相适应。

第三，新、老病原体的耐药性明显增强，不仅带来治疗上的困难，也向实验诊断提出挑战。许多耐药细菌，如耐甲氧西林葡萄球菌（MRSA 和 MRCNS）、耐万古霉素肠球菌（VRS）、耐青霉素肺炎链球菌（PRSP）、低

耐万古霉素金黄色葡萄球菌 (VISA)、产超广谱 β 内酰胺酶 (ESBL)、金属酶及多重耐药的肠杆菌、非发酵菌、耐多药的结核分枝杆菌等已成为临床治疗中的棘手问题。病毒的耐药性也日趋严重。这不仅要求用正确、迅速的手段检出,而且要给临床解释性判读提供可能存在的耐药机制。

第四,临床微生物学诊断技术日新月异,明显地提高了诊断的敏感性、特异性和及时性,其突出表现是分子生物学技术的进步,微生物的基因检测手段和检验的自动化或半自动化正在改变着微生物检验的面貌。

这一切要求临床微生物学检验工作者重新学习、更新知识、改进技术、提高水平,于是“临床微生物学教育丛书”就应运而生了。

本丛书编写的指导思想及其特点是:

一、突出规范化操作这一中心。就微生物学诊断的主要领域各成一分册,如血培养操作规范、抗微生物药物敏感性试验规范(第一版)、细菌性腹泻实验诊断规范等已出版。

二、重在规范常规检验技术,介绍国内外认可的、最为适用的、可靠的技术方法,同时力求反映微生物实验诊断的最新成果与信息。

三、吸取美国微生物学会(ASM)的 CUMITECH 先进经验,又努力结合我国的实际情况,力求兼具先进性与实用性。

四、每分册均由国内富有经验的专家编写并集体讨论,由香港专家指导审阅,由香港中文大学微生物科主任司徒永康教授主审。

全体编审者热切希望本丛书能为规范我国的微生物学检验技术做出努力,但规范也要随着技术发展而改变,正如 CUMITECH 仍在不断更新一样。我们希望本丛书在国内同仁们的实践中不断完善。我们真诚期待大家的评论与指正。

主 编

目 录

2	一、进行药敏试验的指征
4	二、常规试验中抗菌药物的选择
	(一) 药物分类 4
	(二) 常规药敏试验的选药原则 6
	(三) 预测药物 7
14	三、药敏试验结果的报告
17	四、药敏试验方法
	(一) 纸片扩散法 18
	(二) 稀释法 27
	(三) E 试验 36
	(四) 联合药物敏感试验 36
	(五) 药敏试验的操作流程 37
40	五、革兰阳性球菌耐药问题的检测
	(一) 葡萄球菌 40
	(二) 肠球菌 47
	(三) 肺炎链球菌 54
59	六、革兰阴性细菌耐药问题的检测
	(一) β 内酰胺酶介导的耐药性问题 59
	(二) 临床上重要 β 内酰胺酶 61
	(三) 革兰阴性杆菌 β 内酰胺酶的检测 65
	(四) 不发酵革兰阴性杆菌耐药问题的检测 69
	(五) 耐氨苄西林和氯霉素的流感嗜血杆菌 75
	(六) 卡他莫拉菌对青霉素的耐药性 83
	(七) 对青霉素和四环素耐药的淋病奈瑟菌 85

(八) 对青霉素或利福平耐药的脑膜炎奈瑟菌...89

90

七、厌氧菌体外药物敏感试验

(一) 培养基.....90

(二) 抗菌药物.....91

(三) 方法.....93

(四) 质控菌株.....93

94

八、分枝杆菌的药物敏感试验

(一) 抗分枝杆菌药物.....94

(二) 结核分枝杆菌体外药敏实验.....95

(三) 快速生长的分枝杆菌体外药敏实验.....97

102

九、奴卡菌属的耐药性检测

106

十、抗真菌药物敏感试验

(一) 临床常用抗真菌药物.....106

(二) 抗真菌药物药敏试验.....106

109

参考文献

检测病原微生物对抗微生物药物的敏感性是临床微生物实验室最重要的任务之一。抗微生物药物敏感性试验（药敏试验）的主要目的是预测抗微生物药物的治疗效果，并帮助临床医生针对某一特定的临床感染问题选择最合适的药物。随着医疗条件的不断改善和医疗技术的不断提高，在临床微生物学的实验室诊断领域也发生了很多变化，药物敏感性试验便是其中一个方面。由于新病原体和新耐药机制的出现、新抗微生物药物在感染治疗中的应用以及各种自动化仪器的快速发展，对从事药敏试验的临床微生物学实验室也提出了更高的要求：必须能够提供准确的数据，需将这些数据予以正确的解释，并及时向临床报告。

本文参考了国内外的最新文献，对药物敏感性试验及相关问题加以详细讨论，为临床微生物学实验室在药敏试验的方法选择、实验操作、抗菌药物的选择、结果报告和解释提供有益的帮助。

一、进行药敏试验的指征

为保证治疗效果，对引起某感染的任何病原菌，若不能从该菌的种属特征可靠地推知其对抗菌药物的敏感性，就需要进行药敏试验。尤其当病原菌是属于对常用抗微生物药物能产生耐药的菌种时，就更需进行药敏试验。

细菌的耐药机制包括产生药物灭活酶、改变药物的作用靶位及改变药物的摄取和主动外排等。有些细菌对抗菌药物的敏感性可以预知，因而经验性治疗被广泛认可，若感染是由公认的对某一高效药物敏感的微生物引起，就很少需要进行药敏试验，如A群和B群链球菌感染不需要常规做青霉素、其他 β 内酰胺类及万古霉素的敏感试验。但是，当链球菌感染来自对青霉素过敏患者，就需检测这些菌株对红霉素或其他大环内酯类的耐药性。同样，对分离自尿标本的腐生葡

萄球菌也不推荐进行常规药敏试验，因为通常用于治疗急性、不复杂尿道感染的抗菌药物（如呋喃妥因、甲氧苄啶 $\pm$ 磺胺甲噁唑或氟喹诺酮）在尿液中的浓度对此菌是有效的。此外，药敏数据在细菌耐药性监测、流行病学调查和新药研制中也很重要。

在对每一种可能致病的细菌进行敏感试验时，使用的菌落都应选自原始的琼脂平板，鉴定种属的过程常与此同时进行。不同菌种的混合物不能在同一药敏平皿上进行试验。除非在紧急情况下（如血培养阳性），一般应避免用临床标本直接做药敏试验。若直接用临床标本进行了药敏试验，必须按标准方法重做第二次。当感染的性质不清楚、标本内含数种混合生长的细菌或正常菌群，而且这些细菌与感染的关系很小时，通常不必做药敏

试验，因其试验结果可能会误导临床治疗。

患者的临床反应是判断体外药敏试验是否正确的最终标准。同一患者连续分离培养出的同一细菌，若最初药敏试验显示为敏感株，随后临床出现可疑的耐药反应，则是需重复进行药敏试验的有力指征。如缺少临床表现，由于患者所在的医院不同，接受的治疗不同，标本的类型不同等，对

间隔多长时间需重复进行药敏试验无法确定一个共同的标准，需要实验室人员与临床医生商讨决定。尤其是对一些耐药性容易改变的菌种应特别注意，如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致感染、用喹诺酮类治疗葡萄球菌属所致感染和用各种抗菌药物治疗铜绿假单胞菌所致感染的过程中都可能发生耐药性的变化。

二、常规试验中抗菌药物的选择

(一) 药物分类

目前应用于临床的抗菌药物主要分为 β 内酰胺类、糖肽类、氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类、喹诺酮类、磺胺类及其他一些单一药物类。

1. β 内酰胺类抗菌药物 都具有由四个基团构成的核心 β 内酰胺环,其主要的模式是抑制细胞壁的合成。根据 β 内酰胺环的附加环状结构或取代基团的特点, β 内酰胺类抗菌药物可进一步分为青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类或单环内酰胺类等。青霉素的抗菌谱主要包括不产 β 内酰胺酶的革兰阳性菌和一些苛养革兰阴性菌。酰胺基青霉素(以氨苄西林和阿莫西林为代表)对更多的革兰阴性菌具有活性,包括一些肠杆菌科的细菌。羧基青霉素(以羧苄西林和替卡西林

为代表)和脲基青霉素(以美唑西林和哌拉西林为代表)对革兰阴性菌有相当广的抗菌谱,包括许多假单胞菌属和伯克霍德菌属的细菌。耐青霉素酶青霉素(邻氯西林、双氯西林、甲氧西林、萘夫西林和苯唑西林等)主要对革兰阳性菌有活性,包括产青霉素酶的葡萄球菌。

2. β 内酰胺酶抑制剂复合药 由一种 β 内酰胺类药物和一种酶抑制剂(抗菌活性很小,主要功能是抑制某些 β 内酰胺酶)组成,目前应用于临床的 β 内酰胺酶抑制剂主要有三种:克拉维酸、舒巴坦和他唑巴坦,复合药中单独青霉素部分对产 β 内酰胺酶细菌的药敏结果不能推测该菌对复合药的敏感性。

3. 头孢菌素类抗菌药物 不同的头孢菌素类抗菌药物(包括头霉素)

对革兰阴性和革兰阳性菌有不同的抗菌谱, 根据对耐药性更强的革兰阴性菌的抗菌活性程度不同, 分为“一代”、“二代”、“三代”和“四代”头孢菌素, 每一特定的组或每代头孢菌素并不都具有相同的抗菌活性谱, 所以每组中可选几种药进行常规药敏试验。

4. 碳青霉烯类抗菌药物 与青霉素类结构稍有不同, 此类抗菌药物对 β 内酰胺酶的水解有更强的抵抗力, 对许多革兰阴性和革兰阳性菌具有广谱抗菌活性。

5. 单环酰胺类抗菌药物 是只有一个环的 β 内酰胺, 目前, 氨曲南是美国 FDA 批准使用的唯一的单环酰胺类抗菌药物, 对需氧的革兰阴性菌具有活性。

6. 糖肽类抗菌药物 具有复杂的化学结构, 其主要作用模式也是抑制细胞壁的合成, 不过其作用位点与 β 内酰胺类不同, 此类抗菌药物主要对革兰阳性菌有活性。万古霉素已用于治疗青霉素过敏患者革兰阳性菌引起的感染, 对治疗耐 β 内酰胺的革兰阳性菌引起的感染也很有用, 如耐苯唑西林的金黄色葡萄球菌 (MRSA) 和某些肠球菌。

7. 氨基糖苷类抗菌药物 在核糖体水平抑制细菌蛋白质的合成, 本类抗菌药物中的不同成员受氨基糖苷类钝化酶的影响各不相同, 所以其抗菌谱也有些不同。氨基糖苷类抗菌药物主要用于治疗需氧革兰阴性杆菌所致感染或与作用于细胞壁的抗菌药物 (如青霉素、氨苄西林或万古霉素) 协同联合应用来治疗某些耐药的革兰阳性菌, 如肠球菌。

8. 大环内酯类抗菌药物 是一类结构紧密相关的抗菌药物, 是在核糖体水平抑制细菌蛋白质的合成, 目前应用于临床的几种本类抗菌药物主要是针对革兰阳性或苛养革兰阴性菌所致的感染。

9. 四环素类抗菌药物 可在核糖体水平抑制某些革兰阳性和革兰阴性菌的蛋白质合成, 本类药物的抗菌谱密切相关, 除个别例外, 常规试验只需检测四环素的敏感性。

10. 喹诺酮类 包括很多密切相关的药物, 其功能是抑制许多革兰阳性和革兰阴性菌的 DNA 旋转酶的活性, 由于在抗菌谱上的一些差异, 本类药物需要分别进行药敏试验。

11. 磺胺类抗菌药物 包含数种

药物，能够抑制细菌的叶酸代谢，因此具有相似的抗菌谱。磺胺异噁唑是最常用的治疗泌尿系感染的磺胺类药物之一，因而是体外药敏试验的合适选择，磺胺异噁唑常与甲氧苄啶一起作为复合药进行试验，复合在一起可连续抑制某些革兰阳性和革兰阴性菌叶酸代谢的两个步骤。

12. 单一药物类 包括抑制蛋白质合成的氯霉素、克林霉素、利奈唑胺，作为RNA合成抑制剂的利福平，仅用于治疗泌尿道感染、在核糖体水平抑制蛋白质合成和组装的呋喃妥因以及用于治疗泌尿道感染、抑制细胞壁合成酶的奎奴普丁/达福普丁。

(二) 常规药敏试验的选药原则

针对所分离的病原菌，临床微生物实验室有责任为临床检测和报告最适合的抗微生物药物。目前应用于临床的抗菌药物的数目不断增多，对大多数实验室来说不可能将所有的药物均进行药敏试验，而且随着自动化仪器在临床微生物实验室应用的不断增加，受仪器本身设计和成本的限制，进一步地限制了药敏试验抗菌药物的

数目和选择的灵活性。此外由于抗菌药物的不合理应用，细菌的耐药性成为一个日益严重的问题，新的耐药机制不断被发现，也使得抗菌药物的选择更加复杂。因此，需恰当限制常规药敏试验中抗菌药物的数目。

在选择抗菌药物进行常规药敏试验时应考虑以下因素：①药敏试验所选用的抗菌药物应包含于本单位的处方手册中，否则将造成抗菌药物的不合理使用。②临床微生物实验室所服务的医疗机构的类型、规模及患者的构成不同，其药敏试验的要求也不同，如在大型三级医院以免疫力低下和慢性重症住院患者为主，与主要以门、急诊患者为主的一级医院相比，更容易分离到高耐药性的致病菌，所以在进行常规药敏试验时前者需要选择比后者抗菌谱更广的抗菌药物。③菌种类型和敏感性的不同，对抗菌药物的选择也会有很大的影响。因为不同菌种的耐药机制可能不同，用于治疗这些菌种所致感染的最适抗菌药物也不同。一般来说这些菌种的敏感性可通过本单位近期总结的耐药性监测数据来预测。由于在不同的医院环境中细菌敏感性的分布和耐药菌株的流行情

况不同,不能将其他医院或所在地区、国家的药敏统计数据来代替本院的预测数据,即使不同医院的患者和病原菌的构成可能有相似之处。

(三) 预测药物

尽管目前临床上使用的抗菌药物数目很多,但其中的很多药物具有相同或相似的体外活性,其差别主要在药理学、毒性及价格等方面,因此在很多情况下一一种抗菌药物可作为其他一种或几种密切相关的抗菌药物的代表(预测药物)进行常规药敏试验,通过这些预测药物的药敏结果来预测菌株对同类药物的敏感性的做法也在国际上得到普遍认可。这样可充分减少药敏试验中抗菌药物的数目,且使商品化系统(自动化仪器)进行常规药敏试验成为可能,如根据葡萄球菌对青霉素和苯唑西林的敏感性可推测其对目前临床上使用的所有 β 内酰胺类抗菌药物的敏感性:对青霉素敏感的葡萄球菌对其他青霉素类、头孢菌素类、 β 内酰胺酶抑制剂复合药、碳青霉烯类也敏感;对青霉素耐药而苯唑西林敏感的菌株对不耐酶的青霉素

(如氨苄西林、阿莫西林和哌拉西林等)耐药,但对其他耐酶的青霉素、 β 内酰胺酶抑制剂复合药、相关头孢菌素类和碳青霉烯类敏感;而耐苯唑西林菌株则对目前所有 β 内酰胺类抗菌药物耐药,所以没有必要对上述抗菌药物都进行药敏试验。同样其他一些推测也是可行的,尤其是当细菌对某一类型抗菌药物的早期成员显示敏感时,可推测其对同类型药物的其他成员也敏感。在常规药敏试验中常用的代表药物及其所代表的药物范围见表1。

考虑到临床疗效、耐药性的流行、尽可能减少耐药性的产生、价格、SDA规定和医保等因素,关于目前首选与次选药的一致推荐意见和一些特殊问题,NCCLS/CLSI出版了临床微生物实验室对各种非苛养菌和苛养菌进行常规药敏试验和报告时的选药指南(表2和表3)。表中的药物可满足绝大多数临床实验室的常规需要,在此表中各种抗菌药物针对具体的菌种或菌群被分成许多纵列,每一列又根据不同的选择要求分成A, B, C, U等不同的组,其中A组药物用于常规和首选试验,其结果也应常规报告;B组包含一些临床上重要、特别针对医院感染

的抗菌药物，可用于首选试验，但只是选择性地报告临床。例如当细菌对A组同类药物耐药时，可选择性报告B组中的一些结果。B组其他报告指征包括以下几点：特定的标本来源（如第三代头孢菌素对脑脊液中的肠道杆菌，或者磺胺甲噁唑/甲氧苄啶对泌尿道的分离菌株）；多种细菌感染；多部位感染；对A组药过敏、耐受或无效的病例；以流行病学调查为目的向感染控制部门报告。C组包括替代性或补充性抗菌药物，可在以下情况进行试验：某些单位潜在有对数种基本药物（特别是同类的，如 β 内酰胺类或氨基糖苷类）局部流行或广泛流行的耐药菌株；治疗对基本药物过敏的患者；治疗少见菌的

感染（如氯霉素对肠道外分离的沙门菌属或耐万古霉素的肠球菌）；以流行病学调查为目的向感染控制部门报告。U组包含某些仅用于治疗泌尿道感染的抗菌药物（如呋喃妥因和某些喹诺酮类药物），这些药物对除泌尿道以外的感染部位分离的病原菌不应常规报告，其他具有较广治疗指征的药物也可包括于U组，其主要针对一些特定的泌尿道致病菌（如铜绿假单胞菌）。表中的小框中是一些类似的药物，同一框内的药物的结果解释和临床效力都很相似，因此不必重复试验，而“或”字表示一组相关的药物，其抗菌谱和结果解释几乎完全相同，所以通常在每个小框中只选择一种药物进行试验。

表1 药敏试验中常用的试验药物及其代表的药物

试 验 药 物	菌 种	药敏结果可被推测的抗菌药物
苯唑西林	葡萄球菌属	所有青霉素、头孢菌素、 β 内酰胺/酶抑制剂复合药、碳青霉烯类和氯碳头孢
四环素	所有（除了葡萄球菌属和不动杆菌属）	多西环素、米诺环素、金霉素、地美环素、土霉素、美他环素
红霉素	革兰阳性球菌	罗红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、地红霉素
克林霉素	所有	林可霉素
氨苄西林	肠球菌属	青霉素
青霉素	葡萄球菌属、淋病奈瑟菌	苯氧甲基青霉素、苯氧乙基青霉素、氨苄西林、阿莫西林、巴氨西林、氨环己西林、海他西林、羧苄西林、美洛西林、阿洛西林、替卡西林、哌拉西林