



CLSI 药物敏感试验分委员会

CLSI 药物敏感试验新闻

Janet A. Hindler, MCLS, MT(ASCP), F(AAM), 编辑
Audrey N. Schuetz, MD, MPH, D(ABMM), 编辑

美国临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 宣传工作组 (Outreach Working Group, ORWG) 提供本期通讯, 关注近期药敏试验和报告的一些相关问题。我们将会列出一些新的学习资料的链接, 并提醒你在何处可以找到有关CLSI 抗微生物药物敏感试验 (Antimicrobial Susceptibility Test, AST) 委员会会议内容的信息。

CLSI AST分委员会成员

下列组织的抗微生物药物领域专家代表出席和参与了CLSI AST分委员会的会议, 并帮助宣传CLSI的决议信息和药敏试验问题。

美国临床药理学学会感染病实践与研究网络 (ACCP NFD PRN)

美国微生物学学会 (ASM)

公共卫生实验室联合会 (APHL)

美国材料与试验学会 (ASTM International)

美国病理学家学会 (CAP)

欧洲药敏试验委员会 (EUCAST)

美国感染病学会 (IDSA)

儿科感染病学会 (PIDS)

美国医疗保健流行病学学会 (SHEA)

感染病药剂师学会 (SIDP)

敏感性检测企业联合会 (STMA)

CLSI AST委员会做什么?

第1版CLSI AST新闻 (第1卷, 第1期, 2016年春) 介绍了CLSI AST 委员会组织和运作的细节。

- 点击[此处](#)获得该通讯。
- 了解更多关于将来和以往的会议, 点击[此处](#)。
- CLSI 公开发布会议纪要和总结进入[此处](#)。
- 如果你计划参与CLSI AST分会会议, 点击[此处](#) 获得介绍。

有兴趣想成为一名CLSI志愿者吗? 点击[此处](#)了解更多。

请记住, CLSI AST委员会欢迎关于CLSI文件、学习资料或本通讯的任何层面的建议。

本期内容:

专题文章:

应用氟喹诺酮类药物的药代动力学、药效学和更新的革兰阴性菌临床折点来确定最佳剂量 **4**

病例研究:

深入了解肠杆菌科头孢唑林的报告 **9**

实用技巧:

#1 对分离自临床标本的念珠菌, 何时应该做抗真菌药物敏感性试验? **12**

#2 CLSI和EUCAST推荐的纸片扩散法中 (药物) 纸片含量的差异 **17**

热点:

头孢唑啉对MSSA的接种效应 **18**

质量角:

临床研究中的 β 内酰胺类/ β 内酰胺酶抑制剂复合制剂的抗微生物药物敏感试验的质量控制 **20**

网络讲座（Webinars）

想获得近期网络讲座信息请点击 [此处](#)。

存档和免费的应需网络讲座：

近期存档的CLSI网络会议点击 [此处](#)。CLSI会员可免费获得播出6个月后的在线点播网络讲座。近期一些网络会议如下：

- 微生物学实验室质谱应用资源：*Resources for Implementation of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in the Clinical Microbiology Laboratory (2018年11月)*
- 支持抗微生物药物管理项目的累积抗生素谱的准备、运行、促进：*Preparation, Presentation, and Promotion of Cumulative Antibigrams To Support Antimicrobial Stewardship Programs (2018年10月)*
- CLSI药敏文件相关：*CLSI Documents for AST: What's Available for You? (2018年5月，免费)*
- 肠球菌药敏试验：*Current Recommendations for Antimicrobial Susceptibility Testing of Enterococcus spp. (2018年3月，免费)*
- 2018年CLSI M100、M02、M07更新：*CLSI 2018 AST Webinar: M100, M02, and M07 Updates (2018年2月，免费)*

近期网络讲座：

CLSI 2019 药敏试验更新

2019年2月20日周三 | 美国东部时间1:00-2:30 PM

2019年2月21日周四 | 美国东部时间3:00-4:30 PM

主持人：

Janet A. Hindler, MCLS, MT(ASCP), F(AAM)
Los Angeles County Department of Health
Los Angeles, CA

讲者：

Romney M. Humphries, PhD, D(ABMM) Chief
Scientific Officer, Accelerate Diagnostics
Tucson, AZ

Audrey Schuetz, MD, MPH, D(ABMM)

Associate Professor of Laboratory Medicine and Pathology,
Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory
Medicine and Pathology
Mayo Clinic College of Medicine and Science, Rochester, MN

弃用折点的存档

2010年后M100删除的折点及其原因的存档可在[此处](#)获得。

同样地，2017年后M100删除的方法的存档可在[此处](#)获得。

重磅消息！CLSI会议举办教育研讨班

Nicole Scangarella-Oman, GlaxoSmithKline

为配合一月、六月的CLSI委员会周会议，ORWG准备了“鲜活的”教育研讨班，时间通常为AST小组委员会工作组会议开始前的周六晚上。

2018年6月研讨班在圣迭戈举行。题目是“21世纪健康法案中折点与解释分类的实施（Implementation of the 21st Century Cures Act for Breakpoints and Interpretive Categories）”。该研讨班给不同组织提供了表达观点的机会，强调了近期的成绩，讨论了21世纪健康法案落实的既有挑战，也讨论了该法案对微生物学实验室、药物研发支持者、仪器公司、临床医生的影响。讲者包括如下机构的代表：FDA药物评估研发中心（Center for Drug Evaluation and Research，CDER）、FDA

仪器和放射健康中心（Center for Devices and Radiological Health，CDRH）、敏感试验厂商委员会（Susceptibility Testing Manufacturers Association，STMA）、CLSI药敏试验分委员会。汇报后有问答环节，由Romney Humphries主持。

下一次研讨班，2019年1月26日在佛罗里达州圣奥古斯丁（St. Augustine）举行。题目是“PK/PD近期进展及其在设定折点中的应用（Recent Advances in PK/PD and Its Use In Setting Breakpoints）”。

之前研讨班的幻灯片在[此处](#)，以“Education”开头检索，操作简便

未来的 CLSI 药敏会议！

January 27–29, 2019

佛罗里达州圣奥古斯丁

June 16–18, 2019

得克萨斯州达拉斯

January 26–28, 2020

亚利桑那州坦佩

June 14–16, 2020

马里兰州巴尔的摩

更新的CLSI AST文件在这里！

关注下列主要变化汇总。

M100 | 药敏试验执行标准，第29版



主要变化包括：

新设/调整折点

新设：

- Meropenem-vaborbactam：对肠杆菌科的扩散法、MIC法折点
- Cefiderocol：对肠杆菌科、铜绿假单胞菌、不动杆菌属、嗜麦芽窄食单胞菌的研究性MIC法折点
- 阿奇霉素：淋病奈瑟菌MIC折点[之前是流行病学界值 epidemiological cutoff value (ECV)]

调整：

- 头孢洛林Ceftaroline：对金黄色葡萄球菌的扩散法、MIC法折点 [增加了剂量依赖敏感(SDD)的解释分类]
- 环丙沙星：对肠杆菌科、铜绿假单胞菌的扩散法、MIC法折点
- 达托霉素：对肠球菌的MIC折点(增加了SDD解释分类)
- 左氧氟沙星：对肠杆菌科、铜绿假单胞菌的扩散法、MIC法折点

新的推荐

- 黏菌素成为多黏菌素B的指示药，针对铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和肠杆菌科特定成员

更新的推荐

- 头孢他啶艾维巴坦（Ceftazidime-avibactam）：对肠杆菌科，特定抑菌环直径时进行MIC测试的推荐
- 磷霉素：再一次强调了一个评价—该药扩散法、MIC法折点仅仅适用于大肠埃希菌尿路分离株

天然耐药指南更新：

- 克氏柠檬酸杆菌（*Citrobacter koseri*），无丙二酸柠檬酸杆菌群（*Citrobacter amalonicus* group）
- 肺炎克雷伯菌，产酸克雷伯菌，和异栖克雷伯菌（*Klebsiella variicola*）
- 拉乌尔菌属菌种（*Raoultella* spp.）
- 鲍曼不动杆菌/醋酸钙不动杆菌（*A. calcoaceticus*）复合群
- 洋葱伯克霍尔德菌复合群

格式调整 / 位置调整

表格“使用分子方法检测耐药”，现列于M100（之前在CLSI网站上）：

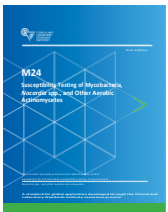
- H1. 用分子生物学和AST方法检测金黄色葡萄球菌对甲氧西林（苯唑西林）结果的报告策略
- H2. 分子和表型药敏试验方法检测肠球菌属万古霉素耐药结果的报告策略
- H3. 分子方法检测肠杆菌科ESBL和碳青霉烯酶结果的报告



M11 | 厌氧细菌的药物敏感试验方法，第9版

- M11目录的重新组织调整，更清晰，便于使用；所有过程都以逐步格式进行展示
- 术语更新，与其他CLSI文件、国际标准化组织命名保持一致
- 删去脆弱拟杆菌群（*Bacteroides fragilis* group），目前用拟杆菌属（*Bacteroides* spp.）和副拟杆菌属（*Parabacteroides* spp.）
- 删去2个表，目前移到M100中。这两个表是：
 - 厌氧菌累积药敏试验报告（之前在M11附件D），现在在M100附件D
 - 美国FDA确认的抗微生物药物推荐分组（之前在M11表1），现在在M100表1C

注释：对厌氧菌的基本药敏试验方法的推荐，无改变。所有厌氧菌推荐参考方法为琼脂稀释法，例外的情况包括拟杆菌属和副拟杆菌属，它们的参考方法还有肉汤稀释法。



M24 | 分枝杆菌属、奴卡菌属、其他需氧放线菌的药敏试验方法，第3版

对分枝杆菌属、奴卡菌属、其他需氧放线菌的药敏试验方法，该标准提供了规程和相关质量控制参数。M24的补充表格在CLSI M62发布。



M62 | 分枝杆菌属、奴卡菌属、其他需氧放线菌的药敏试验执行标准，第1版

该文件对CLSI敏感试验标准M24提供了更新的折点、质量控制表格。M62表格用于CLSI文件M24。



新的依据性文件（Rationale Document）—铜绿假单胞菌、不动杆菌属黏菌素折点

CLSI发布了依据性文件，该文件提供了分委员会决策背后的科学理由，以及确定折点的标准化数据和方法的证据。想获得该依据性文件，请点击[此处](#)。

专题文章

应用氟喹诺酮类药物的药代动力学、药效学和更新的革兰阴性菌临床折点来确定最佳剂量

Eric Wenzler, University of Illinois at Chicago, Chicago, IL

耐药细菌导致了显著的发病率、死亡率和过度的医疗花费，耐药细菌的增长速度快于抗微生物药物的研发速度¹。FDA批准的抗微生物药物剂量代表了对患者人群的估计，使其产生的临床效果能最大限度的适用于“大多数”患者。不幸的是，随着细菌耐药性和医疗复杂程度的增加，这些人群估计已不再适用于“大多数”患者，或至少不适用于那些需要优化抗微生物药物剂量的患者。而幸运的是，抗微生物药代动力学（PK）和药效学（PD）的原则有助于优化给药方案并能为每个患者量身定制治疗方案。

2018年1月的CLSI AST新闻报道介绍了PK、PD的基本原则。本文扩展了这一知识，向临床医师展示在面对具有挑战性的感染患者处置时，如何将PK/PD原则应用于实践。

应用氟喹诺酮类药物的药代动力学、药效学和更新的革兰阴性菌临床折点来确定最佳剂量 (续)

氟喹诺酮类药物药代动力学原则

之前2018年1月的CLSI AST新闻报道将PK总结为: 给予一剂药物后, 体内药物浓度随着时间变化而改变 (evolution) 的过程。为患者制定最佳治疗方案时需评估PK的4个方面, 包括: 吸收、分布、代谢和排泄。

吸收主要适用于口服抗微生物药物, 因为静脉注射的抗微生物药物没有吸收相 (如今抗微生物药物已很少通过局部或肌肉注射途径给予)。对于口服抗微生物药物, 吸收通常指的是生物利用度 (F: 吸收的比例, 以百分比%表示)。*绝对*生物利用度是指口服给药后进入循环的药量与静脉给药量的比值, 而*相对*生物利用度是指一种口服制剂与另一种口服制剂的比较。生物利用度包括药物吸收的速率和程度, 可能受到诸多因素影响, 包括: 胃肠道转运时间、药物崩解和溶解、生理转运蛋白 (即人体内将分子转运到细胞胞质的分子, 例如肾脏内) 的活性、与其他药物和食物的相互作用。在常用的氟喹诺酮类药物中, 左氧氟沙星和莫西沙星的生物利用度几乎为100%, 这意味着给药途径可以在静脉注射和口服给药之间以1:1的比例转换, 无需调整剂量^{2,3}。环丙沙星和德拉沙星 (delafloxacin) 的生物利用度分别为70%和59%, 这意味着口服剂量必须稍高一些, 以匹配静脉注射后的暴露量^{4,5}。

分布最常提到的概念是药物分布容积 (Vd)。由于分布容积不是一个实际的生物学或生理学参数, 因此正确的术语应称之为表观分布容积。Vd是指如果药物在整个身体中的浓度与血浆中的浓度相同, 包含体内药物总量所需的体积。简单地说, 表观分布容积只是将剂量 (以mg或g表示) 转换为浓度 (以 $\mu\text{g/mL}$ 或 mg/L 表示) 所需的转换因子, 正如在人体中测量的一样。Vd通常按体重标准化, 并以L/kg表示。例如, 如果静脉注射1000mg万古霉素, 1小时后患者血液中测得的浓度为17mg/L, 则该剂量必须溶解的表观体积为58.9 L ($1000\text{ mg} / 17\text{ mg/L} = 58.9\text{ L}$, 80 kg患者0.7 L/kg)。分布体积 $\geq 0.7\text{ L/kg}$ 通常认为是大的, 与组织浓度超过血浆浓度和充分渗透到血管外身体部位有关。氟喹诺酮类的vd值在0.6到2L/kg之间, 广泛分布于全身, 包括肺、皮肤、脂肪、肌肉、软骨、骨骼和许多身体分泌物。药物的分布受其固有性质影响, 如分子大小、电荷、亲水性或亲脂性以及蛋白结合率。

代谢主要发生在肝脏和肠道。绝大多数抗微生物药物 (包括氟喹诺酮类) 不能广泛代谢, 而对于有广泛代谢的药物, 那些已形成的代谢产物很少有微生物学活性, 因此对整体性药物疗效没有意义。

消除是抗微生物药物最重要的PK参数, 并以全身清除率 (CL_T): 即单位时间内药物清除的血容量 (如: L/h) 进行讨论。几乎所有的抗微生物药物都主要通过肾脏清除, 受到药物分子量大小、蛋白结合及患者肾脏功能等因素影响。清除率部分用于确定药物的清除半衰期, 即药物在体内浓度减半所需的时间。半衰期是一个更有临床意义的参数, 药物在5个半衰期 (例如, 50%, 75%, 87.5%, 93.8%, 96.9%, 见图1) 后达稳, 即药物浓度在体内处于平衡状态。因此, 给药频率部分基于半衰期, 通常是在至少3个半衰期后给药, 或者剂量从身体中清除约87.5%时。例如, 左氧氟沙星在血浆中的半衰期约为7.5小时, 因此临床每24小时给药一次²。评估患者的清除率和随后的药物半衰期, 用于调整肾功能增加或减少 (包括透析) 患者的给药剂量。

应用氟喹诺酮类药物的药代动力学、药效学和更新的革兰阴性菌临床折点来确定最佳剂量 (续)

氟喹诺酮类药物PK/PD原则: 实例

一名54岁的高加索女性患者由护理机构转入院, 并诊断为铜绿假单胞菌引起的菌血症。根据M100文件2018版⁶, 微生物学实验室报告左氧氟沙星对该分离菌的MIC为 $2\mu\text{g/mL}$, 在敏感范围内。患者的肌酐清除率(CrCl, 用以评估肾功能)为 80 ml/min , 在正常水平。治疗团队希望将静脉用哌拉西林-他唑巴坦逐步降阶梯治疗, 让患者回到护理机构口服左氧氟沙星。口服左氧氟沙星可以治疗此例感染吗? 如果可以, 应该使用多大的剂量?

为了回答这个问题, 我们首先需要知道左氧氟沙星的PK/PD疗效指数, 即AUC/MIC比值。接下来, 我们需要知道革兰阴性病原菌的AUC/MIC目标。AUC/MIC目标值最初是通过体外或体内剂量分级研究(fractionation studies)确定的, 并且(理想情况下)在人类临床研究中得到验证。我们可以参照医院获得性细菌性肺炎患者的临床研究。该研究表明, 当左氧氟沙星AUC/MIC至少达到87时, 病原菌清除率更高⁷。由此, 因为MIC为 $2\mu\text{g/mL}$, 该患者至少需要 174 mg x h/L 的AUC。

下一步我们可以用两种方法来处理这个问题。首先, 以左氧氟沙星说明书为参考, 看看口服剂量可达到多大AUC。健康志愿者的最大口服剂量(每24小时750mg)提供了 $101\pm 20\text{ mg x h/L}$ 的AUC²。根据初步验证, 口服左氧氟沙星似乎并不适用于该患者。但可以使用更精确的计算最终来回答这个问题。为此, 应评估患者的左氧氟沙星的总清除率(CL_T)。这可以通过使用已发表的群体PK研究中的患者特定的CrCl与左氧氟沙星 CL_T 相关的方程来实现, 然后通过方程 $AUC=Dose/CL$ 来确定AUC。理想情况下, 群体PK分析应该是在与问题患者匹配或相似的人群中进行的。在本案例中, 我们将使用社区获得性严重感染患者组的方程式⁸。CL方程式为:

- $5.945 + \text{种族} + (\text{年龄} \times 0.032) + (\text{CrCl} \times 0.07)$
- 针对本例患者: $CL = 5.945 - 1.486 + (54 \times 0.032) + (80 \times 0.07) = 8.33\text{ L/h}$
- 因此, $AUC = 174 = \text{剂量} / 8.33$ 。求解剂量, 为 1449.4mg , 几乎是最大日剂量750mg的两倍。

因此, 尽管在本案例中, MIC属于敏感范畴内, 给予口服左氧氟沙星治疗并不适用于该患者。由于氟喹诺酮类药物口服生物利用度与静脉注射相同, 因此静脉注射左氧氟沙星也不能作为可选项。氟喹诺酮类药物的折点和可实现的全身PK之间的这种不一致已经有多年的认识和报道⁹。这种不一致是导致 CLSI M100文件第29版中氟喹诺酮类药物敏感折点降低的原因之一¹⁰。这种变化的动力来自以下几个因素, 包括氟喹诺酮类药物对革兰阴性病原体MIC增加, PK/PD知识和技术的进步, 以及支持原始折点的临床数据匮乏¹¹。

这一变化的影响部分可以通过评估环丙沙星的PK和修订肠杆菌科细菌的临床折点来检验。从环丙沙星说明书中, 每12小时口服500 mg和750 mg后的AUC分别为 27.4 和 31.6 mg x h/L 。为了达到上述AUC/MIC目标87, 这两种剂量可有效地用于MIC值可达 $0.25\mu\text{g/mL}$ (CLSI M100-ED29中环丙沙星对肠杆菌的最新敏感性折点)。旧折点则认为 0.5 和 $1\mu\text{g/mL}$ 都是敏感的, 但从PK/PD的角度来看, 在肾功能正常的患者中是无法实现的。除了与PK/PD目标相关外, 修订后的折点更接近于EUCAST发布的折点¹²。CLSI已向美国FDA提交了一份合理性文件(rationale document), 其中概述了支持其更改折点的数据, 以便综述并共识。考虑到FDA对修订折点形成共识的日期会有延迟, 已将氟喹诺酮类药物纸片扩散法和微量稀释法与参考方法BMD进行了比较, 以证明更新的2019CLSI折点具有足够的性能¹¹。

应用氟喹诺酮类药物的药代动力学、药效学和更新的革兰阴性菌临床折点来确定最佳剂量 (续)

我们以一例肺炎克雷伯菌肺炎患者为例进一步说明。患者为72岁女性，CrCl为45 ml/min，环丙沙星MIC为0.25 μ g/ml。考虑到患者的年龄和肾功能轻微受损，可推断每12小时服用500 mg或750 mg剂量后，该患者的AUC将会高于说明书中列出的肾功能正常患者AUC。因此，两种剂量都可以达到所需的AUC 21.75 mg \times h/L。我们可以应用一个CrCl和CL_r相关的群体PK方程来验证，该方程来源于44例老年下呼吸道感染患者¹³：

- $CL_r = 8 + 0.21 \times CrCl$
- 因此， $CL_r = 8 \text{ L/h} + 0.21 \times 45 = 17.5 \text{ L/h}$ 。
- $AUC = \text{剂量} / CL_r$ ； $21.75 = \text{剂量} / 17.5$ ； 380.63 mg 。

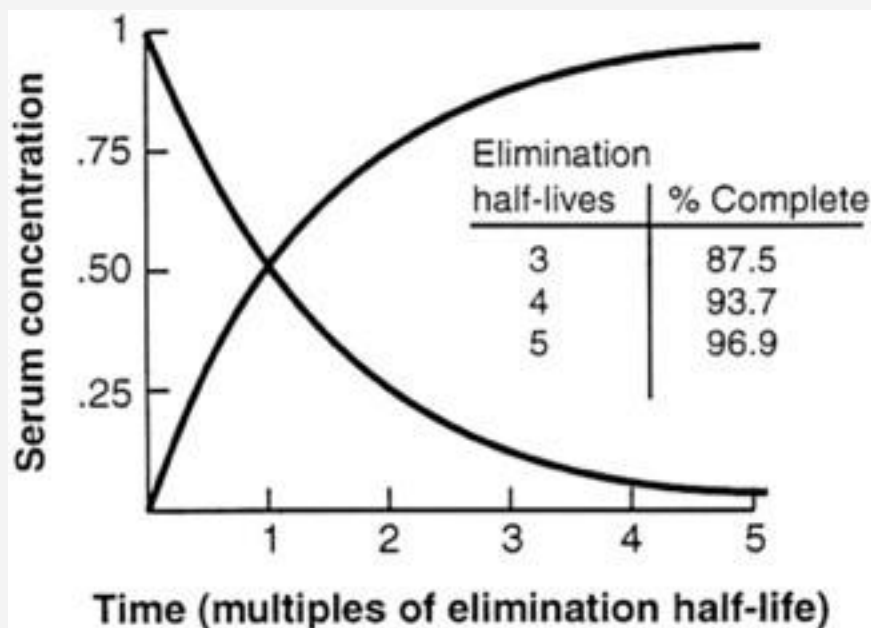
以上推算表明，应避免每12小时750mg的剂量，每12小时500mg的剂量对该患者是足够的，可以降低该老年患者的潜在剂量相关毒性。

总结

以上案例提供了患者实际的给药建议，使我们能够评估抗微生物药物给药方案的合理性，而不仅仅是简单地参考病原菌的MIC，提示应结合感染部位和MIC和PK测量的变异性，对这些原则进行更深层次应用¹⁴。当达到抗微生物药物PK/PD目标时，临床结局最优化的概率最大。由于细菌耐药性和患者临床复杂性的增加，氟喹诺酮类药物的标准群体剂量很少能满足某些患者的PK/PD目标，例如危重症患者、影响PK的病理生理学紊乱的患者，这些患者PK/PD是否能达标将事关生死。因此，临床医生在确定抗微生物药物给药方案时，有必要通过PK/PD原理来理解和使用精确的药物剂量。

应颖秋按：下图中，纵坐标是血清浓度，横坐标是时间（半衰期的倍数）。图中3、4、5是半衰期的倍数，右侧对应百分比是清除的百分比。

图1：达到稳态所需的半衰期及整个药物清除



应用氟喹诺酮类药物的药代动力学、药效学和更新的革兰阴性菌临床折点来确定最佳剂量 (续)

参考文献:

- 1 Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>. Accessed January 26, 2015.
- 2 LEVAQUIN (levofloxacin) [package insert]. Titusville, NJ; Janssen Pharmaceuticals, Inc. Revised September 2008. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/020634s065,020635s071,021721s032lbl.pdf. Accessed March 20, 2017.
- 3 AVELOX (moxifloxacin) [package insert]. Whippany, NJ; Bayer Healthcare Pharmaceuticals, Inc. Revised July 2016. https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/a/avelox/avelox_pi.pdf. Accessed March 20, 2017.
- 4 CIPRO (ciprofloxacin) [package insert]. Whippany, NJ; Bayer Healthcare Pharmaceuticals, Inc. Revised July 2016. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/019537s086lbl.pdf. Accessed March 20, 2017.
- 5 BAXDELA (delafloxacin) [package insert]. Lincolnshire, IL; Melinta Therapeutics, Inc. Revised June 2017. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/208610s000,208611s000lbl.pdf. Accessed January 7, 2019.
- 6 CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- 7 Drusano GL, Preston SL, Fowler C, Corrado M, Weisinger B, Kahn J. Relationship between fluoroquinolone area under the curve: minimum inhibitory concentration ratio and the probability of eradication of the infecting pathogen, in patients with nosocomial pneumonia. *J Infect Dis*. 2004;189(9):1590-1597.
- 8 Preston SL, Drusano GL, Berman AL, et al. Levofloxacin population pharmacokinetics and creation of a demographic model for prediction of individual drug clearance in patients with serious community-acquired infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42(5):1098-1104.
- 9 Haeseker M, Stolk L, Nieman F, et al. The ciprofloxacin target AUC: MIC ratio is not reached in hospitalized patients with the recommended dosing regimens. *J Clin Pharmacol*. 2013;75(1):180-185.
- 10 CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019.
- 11 Humphries RM, Hindler JA, Shaffer K, Campeau SA. Evaluation of ciprofloxacin and levofloxacin disk and Etest using the 2019 Enterobacteriaceae CLSI breakpoints. *J Clin Microbiol*. 2018; 56:01797-18.
- 12 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretations of MICs and zone diameters, version 6. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_6.0_Breakpoint_table.pdf. Accessed December 23, 2015.
- 13 Cios A, Wyska E, Szymura-Oleksiak J, Grodzicki T. Population pharmacokinetic analysis of ciprofloxacin in the elderly patients with lower respiratory tract infections. *Exp Gerontol*. 2014;57:107-113.
- 14 Bulik CC, Bader JC, Zhang L, et al. PK-PD Compass: bringing infectious diseases pharmacometrics to the patient's bedside. *J of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;44(2):161-177.

病例研究

深入了解肠杆菌科头孢唑林的报告

Audrey N. Schuetz, Mayo Clinic, Rochester, MN

Stella Antonara, Nationwide Children's Hospital, Columbus, OH

在2018年春季的CLSI AST新闻中，我们提供了一个研究，阐述了当头孢唑林作为口服头孢菌素替代测试药物用于革兰阴性菌导致的尿路感染时，报告其结果的方法。这些病例只有一个目的，就是研究头孢唑林作为替代药物该如何检测和报告。然而，头孢唑林也可肌肉注射或静脉滴注用于治疗复杂尿路感染。另外，头孢唑林可用于治疗由敏感的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和奇异变形杆菌引起的全身感染。

在此，我们提供两个使用注射头孢唑林治疗的病例和一个使用口服头孢菌素治疗非复杂性尿路感染的病例，如下所示：

病例1 使用头孢唑林治疗复杂性尿路感染的报告

病例2 头孢唑林治疗敏感大肠埃希菌引起的全身感染的报告

病例3 口服头孢地尼治疗尿中分离的克氏柠檬酸杆菌的检测和报告

我们还提供了额外的问答。表1列出了CLSI中推荐的头孢唑林不同用法的判读折点。

表1. CLSI 头孢唑林折点

检测原因	折点 ($\mu\text{g/ml}$)			剂量
	Susc	Int	Res	
预测头孢唑林治疗全身感染	≤ 2	4	≥ 8	
预测头孢唑林治疗uUTI	≤ 16	—	≥ 32	2 g 每 8 h (IM or IV)
治疗uUTI的口服头孢菌素的替代测试药物	≤ 16	—	≥ 32	1 g 每 12 h (IM or IV)

缩写: IM = 肌肉注射; Int = 中介; IV = 静脉滴注; Res = 耐药; Susc = 敏感; uUTI = 非复杂性尿路感染。

病例研究1: 一名35岁的女性急诊患者，伴有排尿困难、血尿和腰痛。依据其临床症状和尿液分析结果，怀疑她患有急性肾盂肾炎。因症状严重，收住院。尿培养结果为：大肠埃希菌，菌量 >100000 cfu/ml。头孢唑林MIC为 $8\mu\text{g/ml}$ 。这种情况下，应使用头孢唑林的哪种判读折点？

病例研究1答案: 鉴于患者病情（急性肾盂肾炎），这是一例复杂性尿路感染。¹根据M100-Ed29，当头孢唑林用于治疗由大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、奇异变形杆菌引起的单纯尿路感染之外的其它感染时，其折点为 $S \leq 2 \mu\text{g/mL}$ ， $I=4 \mu\text{g/mL}$ ， $R \geq 8 \mu\text{g/mL}$ 。实验室很少能从临床得知患者尿路感染是简单的还是复杂的，有时候，临床医生也无法判断。因此，实验室的报告应该提供多个选项，才能让临床有最佳的弹性选择。实验室报告可如表2所示。

深入了解肠杆菌科头孢唑林的报告(续)

表2: 病例研究1实验室报告

标本类型: 尿

微生物: 大肠埃希菌, 菌量 > 100,000 CFU/mL

抗微生物药物	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	解释分类
氨苄西林	> 32	R
头孢唑啉, 复杂性UTI或全身感染	8	R
头孢唑啉, 非复杂性UTI	8	S
环丙沙星	≤ 1	S*
呋喃妥因	≤ 32	S
哌拉西林-他唑巴坦	$\leq 16/4$	S
甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	> 4/76	R

缩写: R, 耐药; S, 敏感; UTI, 尿路感染

*M100第28版折点

综上所述, 临床医生可能会选择另外一种对该菌敏感的药物, 因为在复杂尿路感染时, 头孢唑啉MIC为 $8\mu\text{g/ml}$ 是耐药的。

病例研究2: 一名急诊患者, 男, 50岁, 流浪汉, 大腿脓肿, 发热, 有泌尿系统症状。脓肿培养出甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌, 尿液和血液培养出大肠埃希菌。收住院后, 临床医生用万古霉素和哌拉西林-他唑巴坦经验性治疗。培养结果出来后, 医生有意使用头孢唑啉覆盖金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌。该患者有高胆红素血症, 不能使用头孢曲松。这种情况下, 头孢唑啉应该使用哪种折点?

表3: 病例研究2实验室报告

标本类型: 血

微生物: 大肠埃希菌

抗微生物药物	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	解释分类
氨苄西林	>32	R
头孢唑啉	1	S
环丙沙星	≤ 1	S
呋喃妥因	≤ 32	S
哌拉西林-他唑巴坦	$\leq 16/4$	S
甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	>4/76	R

缩写: R, 耐药; S, 敏感

案例研究2答案: 对于全身感染分离的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和奇异变形杆菌, 头孢唑啉MIC折点为 $S \leq 2\mu\text{g/mL}$ 、 $I = 4\mu\text{g/mL}$ 和 $R \geq 8\mu\text{g/mL}$ 。这个折点适用于以上三种细菌所致非复杂性尿路感染 (uUTI) 之外的其他感染。对该患者, 临床医生可以使用头孢唑啉治疗大肠埃希菌引起的全身感染, 且同时覆盖甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌。在一些使用商品化系统的实验室中, 测试卡中头孢唑啉的最低浓度为 $4\mu\text{g/mL}$ 。如果商品化系统未覆盖至 $4\mu\text{g/mL}$ 以下, 并且仪器报告的MIC小于等于 $4\mu\text{g/mL}$, 则头孢唑啉对该分离株可能是中介 (如果MIC= $4\mu\text{g/mL}$), 也可能是敏感 (如果MIC= $2\mu\text{g/mL}$ 或更低)。实验室需要用其他方法测试头孢唑啉, 以覆盖低于 $4\mu\text{g/mL}$ 的浓度, 并根据全身感染折点报告结果的解释。

深入了解肠杆菌科头孢唑林的报告(续)

案例研究3: 一名32岁女性急诊患者, 排尿困难、血尿。依据尿液分析, 诊断为尿路感染。采集尿液培养后, 医生给病人开了头孢地尼, 带药回家治疗。尿培养结果显示, 克氏柠檬酸杆菌, 菌量 >100000 cfu/ml, 抗微生物药物敏感性试验(AST)结果见表4。医生咨询实验室能否用头孢唑啉预测头孢地尼的结果, 实验室该如何回复?

表4: 病例研究3实验室报告

标本类型: 尿

微生物: 克氏柠檬酸杆菌, 菌量 $> 100,000$ CFU/mL

抗微生物药物	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	解释分类
氨苄西林	> 32	R
环丙沙星	≤ 1	S
呋喃妥因	≤ 32	S
哌拉西林-他唑巴坦	$\leq 16/4$	S
甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	$> 4/76$	R

缩写: R, 耐药; S, 敏感

案例研究3答案: 这是一个女性患者单纯尿路感染的病例。根据CLSI, 头孢唑啉作为口服头孢菌素的替代测试药物仅适用于大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和奇异变形杆菌。进行头孢唑啉替代测试时, 只有这三种细菌有充分数据来保证替代结果的可靠性。因此, 实验室专家应该告诉临床医师, 此病例中, 头孢唑啉的结果不能预测口服头孢菌素类药物(如头孢地尼)的结果。医生可以与患者沟通, 询问她的病情是否有所改善。如果没有好转, 可以更换其他抗微生物药物, 如药敏结果敏感的呋喃妥因。如果坚持要测试头孢地尼的敏感性, 实验室可用MIC法测试分离到的克氏柠檬酸杆菌。头孢地尼的折点在肠杆菌科。但是, 实验室应注意, 对于柠檬酸杆菌属、普罗威登菌属和肠杆菌属不要用纸片法做头孢地尼和氯碳头孢的药敏试验, 因为有过假敏感的报道。

补充问答:**问题#1**

实验室正在对当前CLSI的头孢唑啉折点进行验证研究。商品化系统药敏板上头孢唑啉的最低浓度为 $4\mu\text{g/ml}$ 。实验室如何验证头孢唑啉用于全身感染折点?

答#1

如果最低浓度为 $4\mu\text{g/ml}$, 实验室无法验证或使用全身感染折点。实验室应咨询抗生素管理小组, 了解临床是否经常需要头孢唑啉用于全身感染的药敏结果, 并解释当前的检测情况。尽管头孢唑啉对大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和奇异变形杆菌有折点, 但广泛使用头孢唑啉治疗非尿路感染的可能性不大。如果非尿液分离株有特殊需求要使用头孢唑啉, 实验室可以采用其他AST方法(如纸片扩散法)。尽管如此, 实验室仍能确认尿路感染的折点。

问题#2

在不久的将来, 商品化药敏系统的厂家能否获得当前CLSI版本中头孢唑啉对全身感染和尿路感染折点的FDA认证?

答#2

不大可能。目前FDA的头孢唑啉MIC折点为 $S \leq 1\mu\text{g/ml}$, $I = 2\mu\text{g/ml}$, $R \geq 4\mu\text{g/ml}$, 全身感染和尿路感染折点没有区别。商品化药敏系统必须使用FDA折点。因此, 此类系统不可能很快对当前CLSI头孢唑啉折点进行更新。

参考文献:

- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, et al. International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis*. 2011;52(5):e103–e120.

实用技巧

#1 对分离自临床标本的念珠菌, 何时应该做抗真菌药物敏感性试验?

Cecilia Carvalhaes, JMI Laboratories, North Liberty, Iowa

背景

近年来抗真菌药物使用不断增多, 并且人们已经认识到真菌的某些种具有天然耐药性, 或在治疗中会出现耐药性, 因此对抗真菌药物敏感性试验(antifungal susceptibility testing, AFST)也有了更多需求¹。AFST结果可用于:

- 在某些特定的临床状态, 例如念珠菌血症和粘膜念珠菌病, 预测可能的结果, 指导抗真菌治疗^{2,3}。
- 检测治疗过程中产生的耐药
- 监测当地的敏感性模式(susceptibility pattern), 以指导经验性治疗

尽管念珠菌属菌种是与侵袭性真菌感染相关的最流行的病原体, 但它的每个种都有独特的潜在毒力、药敏谱、和流行病学特征⁴。值得注意的是, 2009年首次报道的耳念珠菌, 对主要抗真菌药物的敏感性都有所下降, 已发展成为可快速传播、进而引起医院内暴发感染的原因之一, 具有很高的病死率^{5,6}。

2017年CLSI把肉汤法和纸片法的药敏试验文件进行合并, 并把菌种特异性的MIC解释折点引入CLSI M60文件⁷。该文件包括最常见念珠菌对特定药物的折点(棘白菌素、氟康唑、伏立康唑, 见表1)。需注意CLSI M60文件并未包含所有念珠菌, 而且也不是对所有进行检测的抗真菌药物都设置了折点。没有折点时, CLSI M59文件中的“流行病学界值(epidemiological cutoff value, ECV)”可用于警示基于MIC值的天然或获得性耐药可能性(见表1)⁹。ECV是MIC值, 推测可用于区分那些“有”和“没有”天然或获得性耐药特征菌株的群体。ECVs不能用于预测治疗的临床结局, 而且药物敏感性的分类(例如, 敏感/中介/剂量依赖敏感/耐药)不应与ECV同时报告。因为它未涉及临床、药效学和药代动力学的相关数据。然而, ECVs有助于检测出那些可能携带抗真菌药物耐药机制的菌株⁸。宁永忠按: 此处引文8和9的标注, 前后顺序反了。

美国感染病学会(Infectious Diseases Society of America, IDSA)和欧洲临床微生物与感染病学会(European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease, ESCMID)推荐对所有临床相关的念珠菌分离株常规进行AFST抗真菌药物敏感性试验。临床相关的分离株是那些分离自血液、身体其它无菌部位包括组织活检、骨和体液, 例如脑脊液、腹腔积液、心包液、胸膜积液和关节液。^{2,3}通常有正常菌群定植的部位, 例如呼吸道、胃肠道、阴道或皮肤, 分离的念珠菌不应认为临床相关, 故这些部位的分离株在通常情况下不常规进行药敏试验。

本文阐述CLSI已设置折点或有ECV推荐的念珠菌药敏试验。CLSI也给出了隐球菌的ECVs, 但本文未包括该试验。CLSI也正在评估对耳念珠菌设置一些抗真菌药物折点的可能性, 但目前还没完成。因此耳念珠菌的药敏试验会在将来的文章中讨论。

微生物学实践状态

基于已发表的CLSI折点、ECVs和文献综述, 表2包含对何时该做AFST的专家意见指南, 表3建议了根据不同念珠菌种的一线 and 二线抗真菌药物敏感性试验的组合, 也参考了发表于一系列杂志的专家意见^{7,8,9,10}。在很多情况下, 决定是否要做抗真菌药物敏感性试验必须基于个体具体分析, 并听取微生物学工作者、感染科医生和其他医疗提供者的意见。

对分离自临床标本的念珠菌, 何时应该做抗真菌药物敏感性试验? (续)

对临床微生物学工作者可能遇到的有关抗真菌药物敏感性试验的几个例子, 评论如下。

1. 从血培养中分离的光滑念珠菌

讨论: 所有分离自血液的念珠菌都应常规进行AFST, 药物至少应包含氟康唑。在这种情况下, 光滑念珠菌通常对唑类药物获得性耐药, 因此引起大家的特殊兴趣¹。应报告氟康唑的MIC值及其敏感性判断结果, 也推荐同时检测棘白菌素^{2,3}。由于目前还没有光滑念珠菌对伏立康唑和泊沙康唑的临床折点, 如果临床要求报告这些药物, 实验室可考虑报告⁹。也可检测两性霉素B的敏感性, 并报告其ECV⁹。

2. 从尿液标本中分离的克柔念珠菌

讨论: 如果念珠菌的某些种分离自尿液, 并证实其与泌尿系感染相关, 则鉴定到种后不必进一步检查。如果需要治疗, 通常会使用氟康唑。棘白菌素由于其药物活性成分很少分泌入尿液, 故不用于治疗泌尿系感染²。如果氟康唑的敏感性不能通过对念珠菌鉴定到“种”来推测, 例如光滑念珠菌通常对氟康唑获得性耐药, 则可进行AFST。如果分离到对氟康唑天然耐药的克柔念珠菌, 则可检测泊沙康唑或两性霉素B的敏感性(见表3)。克柔念珠菌对泊沙康唑和两性霉素B有ECVs(表1)。

3. 从口咽部标本分离的白念珠菌

讨论: 粘膜念珠菌病在免疫低下患者中常见, 这些患者通常已接受抗真菌预防用药。在这些免疫低下患者中, 可进行AFST²。此外当治疗失败时, 或需要排除氟康唑耐药的分离株并确定其它药物的敏感性时, 推荐进行AFST^{2,11}。

4. 从阴道标本中分离的白念珠菌

讨论: 白念珠菌可定植在健康人的皮肤、粘膜表面和生殖道中。因为大约10%-20%的女性在阴道中可携带念珠菌的某些种和其它酵母菌, 在没有感染症状或体征时, 通过培养方法鉴定出的念珠菌是不需要治疗的。然而酵母菌培养仍是诊断女性外阴阴道念珠菌病的“金标准”。当临床已确诊女性外阴阴道念珠菌病而需要治疗时, 局部经验性抗真菌治疗的典型方案包含一种唑类药物或口服氟康唑。总体而言, 唑类药物敏感性试验不用于指导个体治疗, 但在治疗复杂性外阴阴道念珠菌病时, 可进行氟康唑的药敏试验^{2,12}。

5. 从气管吸出物标本中分离的热带念珠菌

讨论: 从呼吸道分离到念珠菌是入住ICU患者经常遇到的情况, 这些患者通常是气管插管或长期气管切开。这几乎总是反映了气道定植而非感染。热带念珠菌具有显著的在医疗器械上形成生物膜的能力。因此对气管吸出物中分离到的热带念珠菌不需要进行AFST^{2,13}。

总之, 实验室对是否需要进行AFST以及对哪种抗真菌药物进行AFST应有清晰的操作流程。选择性地AFST, 并通常尽量把念珠菌鉴定到“种”水平, 尤其是在难治性的侵袭性念珠菌病例中, 已证实是有用的。⁸此外也应定期进行流行病学统计, 以确定当地的敏感谱(susceptibility profile)和每个中心的耐药率。³最后, 用AFST来检测新发耐药和预测新药的潜在治疗效果, 对医学持续进步具有重要意义。

对分离自临床标本的念珠菌, 何时应该做抗真菌药物敏感性试验? (续)

表1. CLSI文件中发布的念珠菌对抗真菌药物的临床折点或ECVs

菌种	唑类				棘白菌素类			多烯类
	氟康唑	伏立康唑	泊沙康唑	伊曲康唑	卡泊芬净	米卡芬净	阿尼芬净	两性霉素B
白念珠菌	BP / ECV	BP / ECV	ECV	—	BP	BP / ECV	BP / ECV	ECV
都柏林念珠菌	ECV	—	—	—	—	ECV	ECV	—
光滑念珠菌	BP / ECV	ECV	ECV	ECV	BP	BP / ECV	BP / ECV	ECV
季也蒙念珠菌	ECV	—	ECV	—	BP	BP / ECV	BP / ECV	—
克柔念珠菌	—	BP / ECV	ECV	—	BP	BP / ECV	BP / ECV	ECV
葡萄牙念珠菌	ECV	—	ECV	ECV	—	ECV	ECV	—
近平滑念珠菌复合群 ^c	BP / ECV	BP / ECV	ECV	—	BP	BP / ECV	BP / ECV	ECV
热带念珠菌	BP / ECV	BP / ECV	ECV	ECV	BP	BP / ECV	BP / ECV	ECV

缩写: BP, 临床折点; ECV, 流行病学界值

^a CLSI M60

^b CLSI M59 (黄磊按: 上表没有找到a和b的标注)

^c 用于近平滑念珠菌复合群的ECV, 也适用于拟平滑念珠菌 (*C. orthopsilosis*) 和似平滑念珠菌 (*C. metapsilosis*)。

表2. 根据样本来源对念珠菌抗真菌药物敏感性试验的推荐(引自Pfaller和Diekema¹⁰, Pfaller⁸)

样本来源	抗真菌药物推荐	评论
	需检测或报告的菌种、药物	
血液	对所有念珠菌, 检测氟康唑和棘白菌素的敏感性	根据表3列举的菌种, 检测额外抗真菌药物的敏感性; 如果怀疑侵袭性感染, 并且怀疑临床初始治疗失败, 应检测两性霉素B、氟康唑、伏立康唑和棘白菌素对念珠菌的敏感性
脑脊液	对所有念珠菌, 检测氟康唑的敏感性	
其它无菌部位(体液、组织、骨、等)	对所有念珠菌, 检测氟康唑和棘白菌素的敏感性	
口咽部	对氟康唑治疗反应不佳, 检测念珠菌分离株对氟康唑的敏感性	根据表3列举的菌种, 检测额外抗真菌药物的敏感性
上呼吸道(痰) 下呼吸道(肺泡灌洗液、气管吸出物) 皮肤/伤口 阴道 尿液	不常规进行AFST	如确有临床意义, 并且医生要求做AFST, 则根据表3列举的念珠菌检测推荐的抗真菌药物的敏感性; 注释: 不要检测尿液分离株对棘白菌素的敏感性

注释: 推荐监测当地的敏感谱 (susceptibility profiles), 并发布抗真菌药物谱 (antifungal antibiogram)。

对分离自临床标本的念珠菌, 何时应该做抗真菌药物敏感性试验? (续)

表3. 基于CLSI文件^{7,8}、Pfaller and Diekema¹⁰和Pfaller⁹文献, 针对念珠菌菌种, 建议的一线 and 二线抗念珠菌药物的药敏试验组合

菌种	唑类 ^a			棘白菌素类 ^{b,c}			多烯类
	氟康唑	伏立康唑	泊沙康唑	伊曲康唑	卡泊芬净	米卡芬净	阿尼芬净
白念珠菌	一线	二线	二线	一线	一线	一线	二线
都柏林念珠菌	一线	二线	二线	-d	一线	一线	二线
光滑念珠菌	一线	二线	二线	一线	一线	一线	二线
季也蒙念珠菌	二线	二线	二线	一线	一线	一线	二线
克柔念珠菌	天然耐药, 不检测	一线	一线	一线	一线	一线	一线
葡萄牙念珠菌	一线	二线	二线	-d	一线	一线	二线
近平滑念珠菌复合群	一线	二线	二线	二线	二线	二线	二线
热带念珠菌	一线	二线	二线	二线	二线	二线	二线

^a伊曲康唑通常对治疗念珠菌引起的感染在临床上是无益的 (not generally clinically useful), 因此没有包含在这个表格中。宁永忠按: 美国伊曲康唑, 只用于浅部黏膜[口咽部、食管、阴道]感染。国内实际有深部应用。

^b至少检测一种棘白菌素类药物。

^c不要检测尿液分离株对棘白菌素的敏感性。

^d没有CLSI发布的临床折点或ECV。

注释: 如果临床有需要, 也可以进行其它抗真菌药物的敏感性试验。

对分离自临床标本的念珠菌, 何时应该做抗真菌药物敏感性试验? (续)

参考文献:

- 1 Pfaller MA, Castanheira M, Lockhart SR, Ahlquist AM, Messer SA, Jones RN. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol*. 2012;50(4):1199-1203.
- 2 Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(4):e1-50.
- 3 Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18 Suppl 7:9-18.
- 4 Pfaller MA, Moet GJ, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Geographic variations in species distribution and echinocandin and azole antifungal resistance rates among *Candida* bloodstream infection isolates: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008 to 2009). *J Clin Microbiol*. 2011;49(1):396-399.
- 5 Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:18026.
- 6 Lockhart SR, Etienne KA, Vallabhaneni S, et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clin Infect Dis*. 2017;64(2):134-140.
- 7 CLSI. *Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts*. 1st ed. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- 8 Pfaller MA. *Invasive fungal infections and approaches to their diagnosis*. In: Sails A, Tang Y, eds. *Methods in Microbiology*. Vol 72. Oxford: Academic Press; 2015:219-287.
- 9 CLSI. *Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing*. 2nd ed. CLSI supplement M59. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- 10 Pfaller MA, Diekema DJ. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. *J Clin Microbiol*. 2012;50(9):2846-2856.
- 11 Patel PK, Erlandsen JE, Kirkpatrick WR, et al. The changing epidemiology of oropharyngeal candidiasis in patients with HIV/ AIDS in the era of antiretroviral therapy. *AIDS Res Treat*. 2012;2012:262471.
- 12 Workowski KA, Bolan GA, Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports/Centers for Disease Control*. 2015;64(RR-03):1-137.
- 13 Negri M, Silva S, Henriques M, Oliveira R. Insights into *Candida tropicalis* nosocomial infections and virulence factors. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(7):1399-1412.

实用技巧

#2 CLSI和EUCAST推荐的纸片扩散法中（药物）纸片含量的差异

Romney M. Humphries, Accelerate Diagnostics, Tucson, AZ

全球众多实验室应用纸片扩散法。纸片扩散法的折点依赖于纸片浸注的抗微生物药物浓度（concentration of antimicrobial），也就是纸片含量（disk content）。纸片上印的数值是药物的微克浓度，并在CLSI M100和M45文件和欧洲抗微生物药物敏感性试验委员会（European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST）折点表格里发布。

药物生产企业和标准化组织努力确定可以清晰地耐药菌株和敏感菌株区分开的纸片含量。此外，也需确保选择的纸片含量对敏感菌株不产生过大的抑菌圈。对于某些抗微生物药物，目前没有可接受的纸片含量，因此不建议此类药物或药物/微生物组合使用纸片扩散法(例如，万古霉素/葡萄球菌)。

CLSI和EUCAST推荐的某些纸片含量有一些差异，且并不是所有的国家都有全部的商业化的药敏纸片（表1）。如果一个美国实验室选择使用EUCAST的折点，FDA评审（FDA-cleared）通过的纸片含量必须符合EUCAST规定，反之亦然。同理，纸片的质量控制范围也是基于纸片含量，实验室也必须保证应用针对他们使用的纸片的正确的质控范围。

表1. CLSI和EUCAST纸片含量存在差异的药物

抗微生物药物	CLSI 纸片含量 (μg)	EUCAST 纸片含量 (μg)
氨苄西林	10	2
头孢噻肟	30	5
头孢洛林	30	5
头孢他啶	30	10
头孢他啶-阿维巴坦	30-20	10-4
庆大霉素 (HLAR肠球菌筛选)	120	30
利奈唑胺	30	10
奈替米星	30	10
呋喃妥英	200	100
青霉素	10 单位*	1 单位*
哌拉西林	100	30
哌拉西林-他唑巴坦	100-10	30-6
万古霉素	30	5

* 纸片含量，以单位（unit）的形式表示，不是以微克的形式

在2017年，CLSI和EUCAST成立一个纸片扩散法联合小组，旨在协调新抗微生物学药物的纸片含量的一致性。

头孢唑啉对MSSA的接种效应

William R. Miller and Cesar A. Arias

UTHealth McGovern Medical School, Houston, TX

甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌(methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA)引起的感染仍然是感染性疾病中发病率和死亡率的重要来源¹。抗葡萄球菌青霉素类药物, 如萘夫西林, 是治疗MSSA的主要药物。与此同时, 头孢唑啉的使用也越来越多。最近的观察性临床研究提示头孢唑啉与萘夫西林具有同等的疗效, 且毒性更低, 剂量方案(dosing schedule)更适宜, 并可提高存活率²。因此, 头孢唑啉已成为临床上治疗MSSA感染的一线用药。

在深部扎根(deep-seated)的MSSA感染(如, 心内膜炎), 头孢唑啉治疗失败有充分的文献证据。这与葡萄球菌产生的一定类型 β 内酰胺酶的活性有关³⁻⁵。这种酶由blaZ基因编码, 基于血清学实验, 可分为四种不同的类型(A、B、C和D), 现在基于氨基酸序列来确定⁶。临床上头孢唑啉治疗失败的型别主要是亚型A和C, 这与头孢唑啉的接种效应(cefazolin inoculum effect, CIE)相关。CIE即当存在大量的细菌时, 头孢唑啉和其他早期头孢菌素会失去治疗效果的一种现象。⁷在体外, 有CIE的菌株表现为: 在标准接种浓度(约 5×10^5 CFU/mL), 最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentrations, MIC)会在敏感范围。当接种浓度高达 5×10^7 或更高时, 头孢唑啉的MIC值可大于 $16 \mu\text{g/mL}$ 。如果缺失BlaZ或功能上因 β 内酰胺酶抑制剂而失活, 这种效应就会消失^{8,9}。

CIE的临床影响是一个活跃的研究领域。2017年, Loubet和他的同事发表一篇关于头孢唑啉与抗葡萄球菌青霉素治疗MSSA菌血症的安全性和疗效的叙述性综述(narrative review), 文中提到尽管目前的研究资料具有局限性, 但是有证据表明两种治疗的死亡率和复发率无明显差异¹⁰。随后发表的两项研究表明, 头孢菌素作为一线治疗用药, CIE的存在可能对MSSA菌血症的临床结局产生影响。最近一项在阿根廷(这里没有抗葡萄球菌的青霉素)开展的前瞻性观察性研究发现¹¹, 77名MSSA菌血症的患者, 高比例的MSSA分离株显示具有CIE(54.5%)。与没有CIE的MSSA感染的患者相比, 具有CIE的MSSA感染的患者其30天全因死亡率(风险比[RR]2.65; 95%置信区间[CI]1.1-6.42)增加。另一项韩国开展的研究, 其中大约22%的患者分离株具有CIE, 比较了萘夫西林和头孢唑啉作用¹²。最重要的是, 与没有CIE的MSSA感染的患者相比, 这些感染了具有CIE的MSSA的病人在使用头孢唑啉后, 更容易出现治疗失败(61.5% vs 28.9%; $p = 0.049$), 且一个月内出现死亡也大大增加(15.4% vs. 0%; $p = 0.047$)。而萘夫西林治疗组, 不考虑接种效应, 却没有看到这样的差异, 说明两组菌株的毒力没有差异。

目前, 检测CIE的唯一方法, 是在标准MIC测试中, 纳入高浓度的细菌接种量。该方法费时费力, 限制了其在临床实验室的运用。此外, CLSI也未对高接种量MIC进行评估和标准化。我们不鼓励在研究型实验室以外运用该技术。同样值得注意的是, M100文件中所描述的 β 内酰胺酶试验是为了鉴定由blaZ基因产生 β 内酰胺酶对青霉素耐药的葡萄球菌¹³。该试验不能确定是否是CIE, 不能用作替代标记(surrogate marker)。快速鉴定MSSA分离株是否具有CIE效应, 将帮助临床医生对病人使用头孢唑啉治疗失败的风险进行识别, 并相应调整治疗。除了节省成本和防止复发外, CIE检测还有可能改善MSSA严重感染患者的预后。

总之, MSSA产生的葡萄球菌 β 内酰胺酶会造成头孢唑啉因CIE而导致治疗失败。新的数据有一些矛盾, 但有观点认为, CIE可能对患者死亡率有直接的临床影响。CIE目前不是临床实验室的常规检测项目。临床分离株的检测请求应等到标准化检测方法发布时。目前应尽快发展快速诊断方法。

头孢唑啉对MSSA的接种效应 (续)

参考文献:

- ¹ Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(3):603-661.
- ² McDanel JS, Roghmann MC, Perencevich EN, et al. Comparative effectiveness of cefazolin versus nafcillin or oxacillin for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infections complicated by bacteremia: a nationwide cohort study. *Clin Infect Dis.* 2017;65(1):100-106.
- ³ Bryant RE, Alford RH. Unsuccessful treatment of staphylococcal endocarditis with cefazolin. *JAMA.* 1977;237(6):569-570.
- ⁴ Kaye D, Hewitt W, Remington J, Turck M. Cefazolin and *Staphylococcus aureus* endocarditis. *JAMA.* 1977;237(24):2601.
- ⁵ Nannini EC, Singh K V, Murray BE. Relapse of type A beta-lactamase-producing *Staphylococcus aureus* native valve endocarditis during cefazolin therapy: revisiting the issue. *Clin Infect Dis.* 2003;37(9):1194-1198.
- ⁶ Richmond MH. Wild-type variants of exopenicillinase from *Staphylococcus aureus*. *Biochem J.* 1965;94:584-593.
- ⁷ Nannini EC, Stryjewski ME, Singh KV, et al. Inoculum effect with cefazolin among clinical isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: Frequency and possible cause of cefazolin treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(8):3437-3441.
- ⁸ Nannini EC, Singh KV, Arias CA, Murray BE. *In vivo* effects of cefazolin, daptomycin, and nafcillin in experimental endocarditis with a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain showing an inoculum effect against cefazolin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(9):4276-4281.
- ⁹ Miller WR, Singh KV, Arias CA, Murray BE. Adjunctive clavulanic acid abolishes the cefazolin inoculum effect in an experimental rat model of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(11):e01158-18
- ¹⁰ Loubet P, Burdet C, Vindrios W, et al. Cefazolin versus anti-staphylococcal penicillins for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(2):171-174.
- ¹¹ Miller WR, Seas C, Carvajal LP, et al. The cefazolin inoculum effect is associated with increased mortality in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(6)ofy123.
- ¹² Lee S, Song K, Jung S, et al. Comparative outcomes of cefazolin versus nafcillin for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a prospective multicentre cohort study in Korea. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(2):152-158.
- ¹³ CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* 27th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

质量角

临床研究中的 β 内酰胺类/ β 内酰胺酶抑制剂复合制剂的抗微生物药物敏感试验的质量控制

Ayuen Lual and Heena Shah, Culture Collections, NIS Laboratories, National Infection Service, Public Health England, UK

Jane E. Ambler, Wockhardt, USA, and Suyog Vaidya, Wockhardt, India

Brian Beck, Microbiologics, USA

“春季刊”发表了一篇文章，作者强调了临床实验室对新型 β 内酰胺类复合制剂进行抗微生物药物药敏试验（AST）重要性^{1,2}。作者认为，随着临床医生可以获得更多的 β 内酰胺复合制剂，CLSI需要推荐更多的质量控制（QC）菌株，以确保这些新型 β 内酰胺组合的两种成分都有效。

对于非苛养菌和 β 内酰胺复合制剂的敏感性试验，M100-S28的纸片扩散法和最低抑菌浓度质控表中分别增加了表4A-2和表5A-3³。对于临床研究中的抗微生物药物，质控范围是按照多实验室参与的CLSI M23第2级质控研究（Tier 2 QC studies）产生的数据建立的⁴。简言之，对于所研究药物的最低抑菌浓度，需要至少7个独立实验室，使用3种不同的培养基，每种质控菌株进行10次重复试验测定。此外，对于相同的实验室对同一质控菌株进行的10次重复试验，也需要使用2种不同的纸片和3种不同的培养基。在M100文件发布之前，CLSI AST质控工作组和CLSI AST分委员会对这些数据进行严格地综述汇核。

对于目前处于III期研究阶段的高剂量 β 内酰胺复合制剂（头孢吡肟-他唑巴坦）^{5,6,7,8}，CLSI建议使用产CTX-M-15 ESBL大肠埃希菌NCTC 13353进行 β 内酰胺酶抑制剂他唑巴坦的质量控制菌株，因CTX-M-15可分解头孢吡肟，他唑巴坦可抑制CTX-M-15作用⁷。最近，确定头孢吡肟-齐达巴坦（zidebactam）（一种新型的二氮杂双环辛烷 β 内酰胺酶抑制剂/ β 内酰胺增强剂，与头孢吡肟联合用药，可以增强其对革兰阴性菌PBP2的高亲和力）的质量控制预期范围^{8,9}，因目前的CLSI质控菌株不能区分头孢吡肟、齐达巴坦和头孢吡肟-齐达巴坦的效力，引入鲍曼不动杆菌NCTC 13304作为新的质控菌株。鲍曼不动杆菌NCTC 13304产生OXA-27，可通过MIC法³和纸片扩散法区分头孢吡肟-齐达巴坦和头孢吡肟或齐达巴坦单独的效力（由CLSI AST分委员会批准，2018年1月）。这些新引入的质控菌株用来监测所用测试材料的质量和测试结果的重现性。随后，在临床研究后期，更多质量控制数据将由药物赞助商前瞻性从各种来源进行收集，包括来自临床试验的AST结果、抗微生物药物监测计划、内部和外部（in-house and external）的体外敏感性研究和商业AST设备开发。这些持续监测数据可以确保准确和可重复的AST结果并重新评估现有的质控预期范围，这些范围因而保持不变、有所改变（移位[shifted]）或扩大（如，至MIC 4倍稀释的范围）⁴，从而与该综述结果尽可能准确一致。

遵循CLSI标准的实验室通常熟悉美国菌种保藏中心（American Type Culture Collection, ATCC®）推荐用于AST的常规质控菌株，但他们可能不太熟悉获得质控菌株的其他途径。遵循CLSI标准进行AST质控菌株的采购和维护是件繁琐的事情。为简化质控菌株程序，世界各地的实验室都在寻找获得质控菌株的来源。菌株保藏机构如英国国家菌种保藏中心（National Collection of Type Cultures, NCTC）和商业化的菌种供应商如Microbiologics的菌株也是CLSI和EUCAST推荐的所有AST质控菌株的常用来源。NCTC是英国的英格兰公共卫生署（Public Health England, PHE）运营的四个菌种保藏中心之一。NCTC收集了近6000种细菌的模式菌株、参考菌株，包括许多独特的携带确定的新型的耐药机制的参考菌株。

如何获得质控菌株

虽然质控菌株可直接从NCTC和ATCC等菌种保藏中心获得，但必要的进口法规和许可要求使接收来自海外菌株的实验室的采购过程复杂化。NCTC菌株可以通过联系Microbiologics和在互联网上搜索“Microbiologics NCTC”来订购。

临床研究中的β内酰胺类/β内酰胺酶抑制剂复合制剂的抗微生物药物敏感试验的质量控制(续)

系列传代培养(迭代[passaging])可引起细菌遗传变异;因此,库存控制菌株不应超过ATCC或NCTC认证菌株的四次传代培养。希望实验室能记录传代次数。检查库存培养物的纯度至关重要,无论它们是保存在珠子中还是斜面上。储存(-60°C或更低)对于质控菌株是很重要的,尤其是推荐用于β内酰胺复合制剂的质控菌株。这些菌株含有编码β内酰胺酶的质粒,已证实质粒会有自发丢失。如果在高于-60°C的温度下储存或重复传代培养,这些菌株可能会失去其耐药特征,质控可能超出可接受的范围。

参考文献:

- 1 Mitchell SL, Humphries RM. New β-lactam combination agents for the treatment of Gram-negative bacterial infections: *what the clinical microbiologist needs to know!* *CLSI AST News Update*. 2018;3(2):4-7.
- 2 Hindler JA. Why all the fuss over quality control of β-lactam combination agents? *CLSI AST News Update*. 2018;3(2):8-11.
- 3 CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- 4 CLSI. *Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters*. 5th ed. CLSI guideline M23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- 5 Sader HS, Castanheira M, Mendes RE, et al. Antimicrobial activity of high proportion cefepime/tazobactam (WCK 4282) against a large number of Gram-negative isolates collected worldwide in 2014. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:e02409-16.
- 6 Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, et al. Potential of high-dose cefepime/tazobactam against multiresistant Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73:126-133.
- 7 Riedel S, Huband MD, Sader HS, et al. Determination of disk diffusion and MIC quality control guidelines for high-dose cefepime-tazobactam (WCK 4282), a novel antibacterial combination consisting of a β-lactamase inhibitor and a fourth-generation cephalosporin. *J Clin Microbiol*. 2017;55(10):3130-3134.
- 8 Livermore DM. The 2018 Garrod lecture: preparing for the black swans of resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2018;dky265.
- 9 Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, et al. *In vitro* activity of cefepime/zidebactam (WCK 5222) against Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2017;7(5):1373-1385.

相关链接:

www.phe-culturecollections.org.uk/NCTC

www.phe-culturecollections.org.uk/AMR

wwwn.cdc.gov/arisolatebank

www.microbiologics.com

宣传工作组 (Outreach Working Group, ORWG) 成员:

Janet Hindler (Co-Chairholder), Los Angeles County Department of Health, USA

Audrey Schuetz (Co-Chairholder), Mayo Clinic, USA

April Abbott, Deaconess Health System, USA

Stella Antonara, Ohio Health Laboratory Services, USA **April**

Bobenchik, Lifespan Academic Medical Center, USA **Mariana**

Castanheira, JMI Laboratories, USA

中文翻译总负责: 王辉 (北京大学人民医院)

审校: 时黎明 (山东省菏泽市立医院)、**宁永忠** (清华大学附属垂杨柳医院)、**鲁炳怀** (中日医院)

Angella Charnot-Katsikas, University of Chicago, USA **Graeme**

Forrest, Oregon Health and Science University, USA **Romney**

Humphries, Accelerate Diagnostics, USA

Nicole Scangarella-Oman, GlaxoSmithKline, USA

Paula Snippes-Vignone, Minnesota Department of Health, USA

Lars Westblade, Weill Cornell Medicine, USA

译者 (按对应内容先后顺序): 宁永忠、应颖秋 (北京大学第三医院)、**张兴** (湖北省武汉市第四医院)、**黄磊** (北京大学第一医院)、**白莉** (国家食品安全风险评估中心)

致谢: 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物和感染分会