

关于药敏试验及药敏试验 结果分析



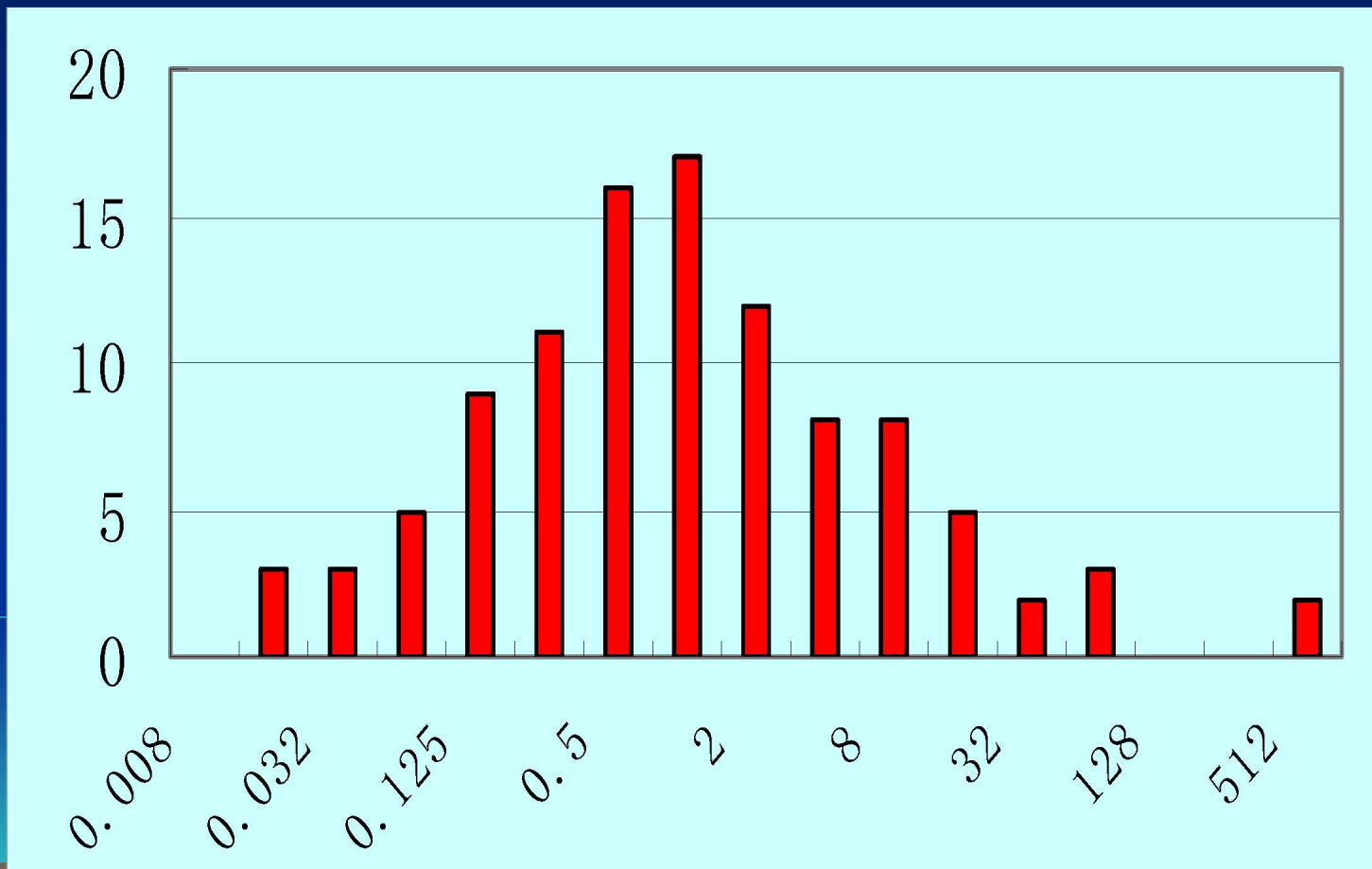
一、药敏试验

- MIC：在与微生物生长速率有关的特定时间间隔内，通常是18—24小时，能够抑制被测菌生长的最低药物浓度。
- 对倍稀释的优点：
 - 操作容易
 - 敏感株的MIC呈正态分布
 - 区分异常(R)与敏感(S)的菌群

药敏试验折点的建立

1. MIC的分布
 2. 药代动力学和药效学
 3. 临床疗效和细菌清除率
 4. 抑菌圈直径的分布 ...
- 统计学的线性回归
- 计算错误率：尽可能减少极重要误差 (假敏感率)
- 定 MIC的折点
- 定抑菌圈折点

MIC的分布



药代动力学和药效学

- 药代动力学：药物吸收，分布，代谢，排泄

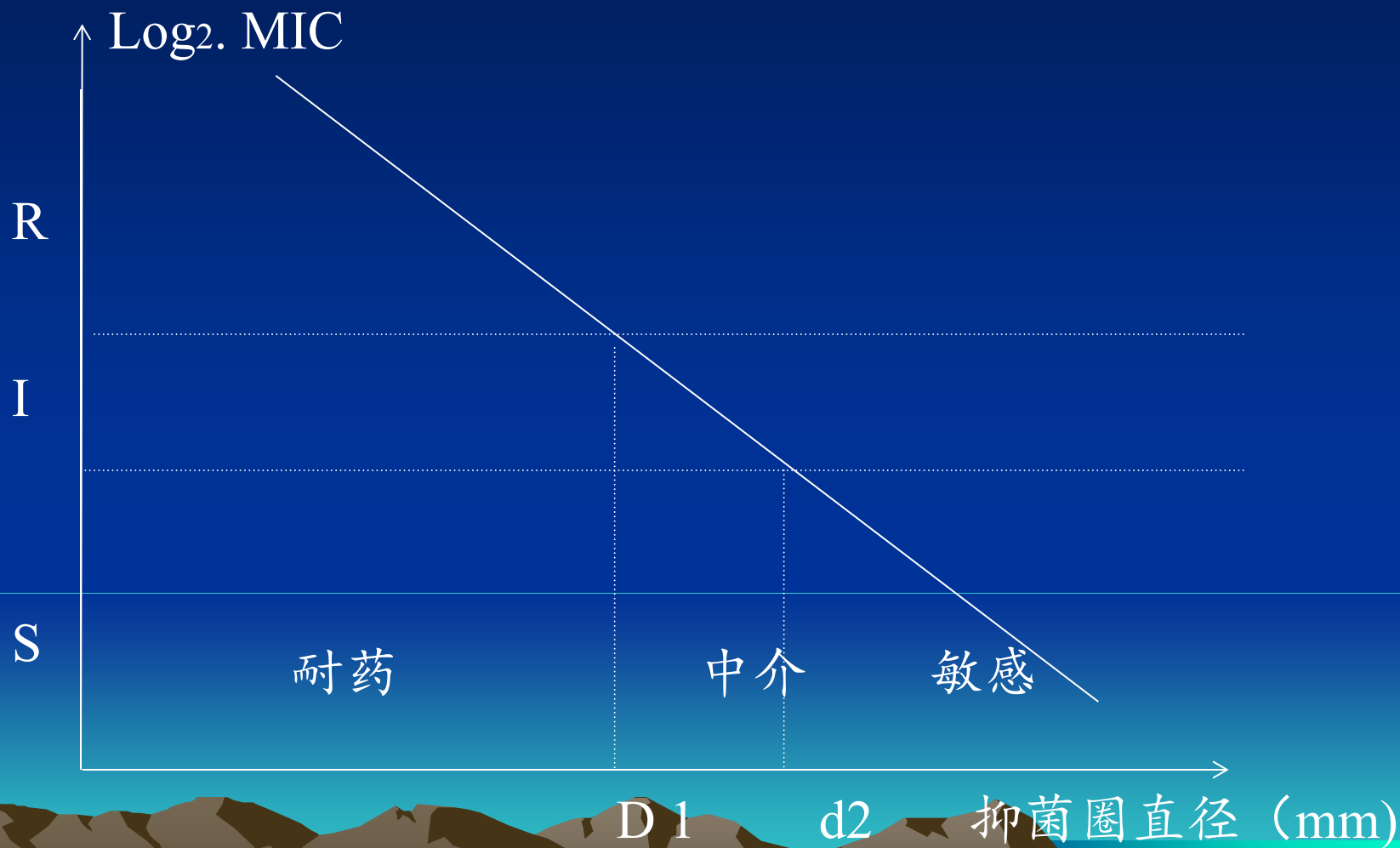
- 药效学：药物对机体的作用

- 时间依赖型（%T>MIC）： β -内酰胺类，大环内酯类

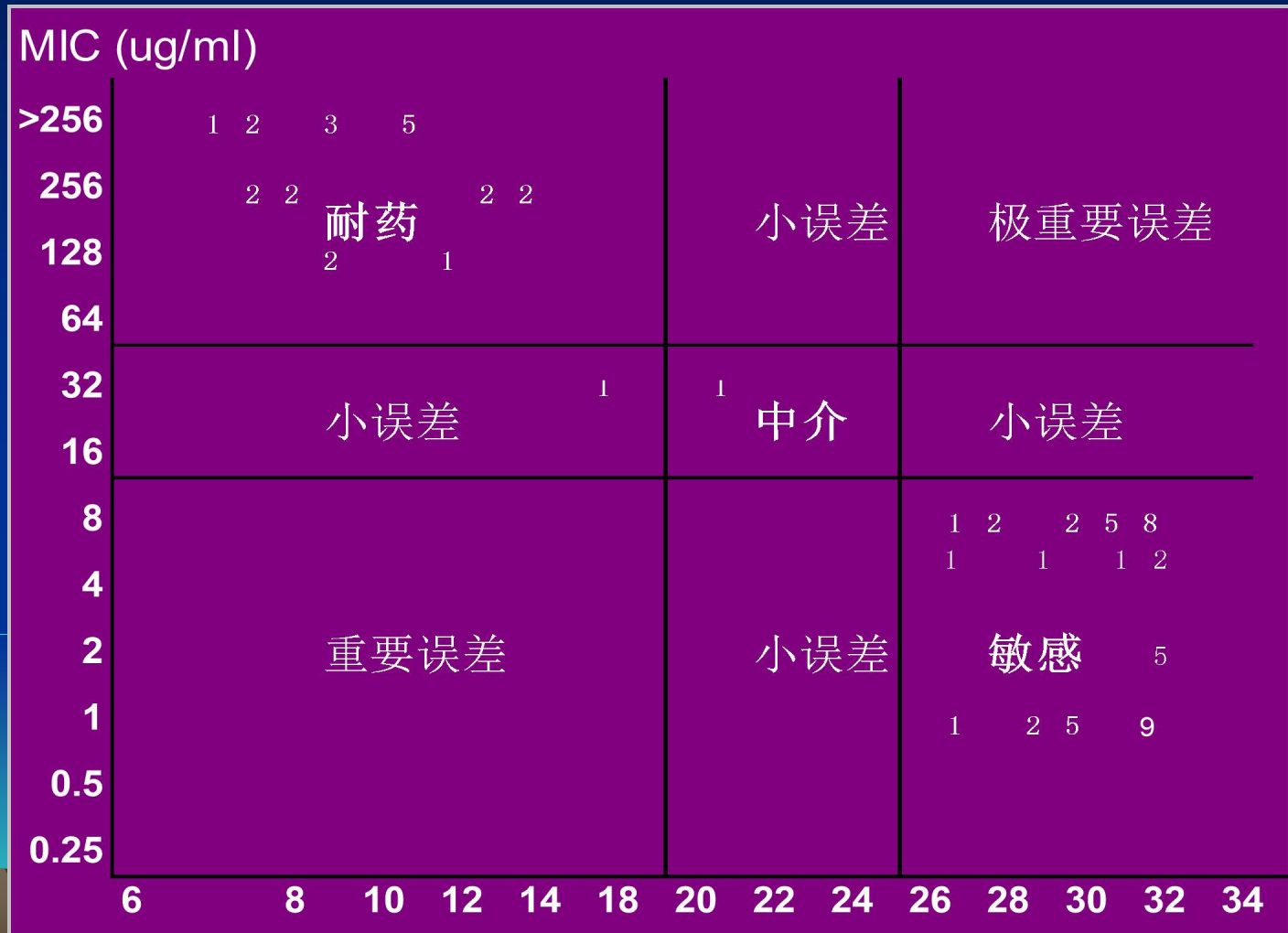
- 浓度依赖型（AUC/MIC比率）：AGS, FQ

— 这些参数可用于计算具有最佳药效的给药方

MIC与抑菌圈直径的线性关系



抑菌圈直径与MIC的关系



不同国家的判定折点

—可能不同

- 原因：
 - 用药剂量不同，服药的间隔不同
 - 评价敏感时较保守
 - 更强调检测出耐药株（即特定的耐药群）
 - 技术因素：接种、培养基

敏感性分类(NCCLS的定义)

- **敏感 (Susceptible)**
 - 用常规用量治疗有效
 - 常规用药时达到的平均血药浓度超过细菌的MIC 5倍以上。
- **耐药 (Resistance)**
 - 用常规用量治疗不能抑制细菌的生长
 - MIC高于药物在血、体液中可能达到的浓度

敏感性分类 (2)

- 中介 (*Intermediate*)
 - MIC接近血、体液中药物的浓度，治疗反应率低于敏感株
 - 药物生理浓集部位有效 (尿—FQ)
 - 加大用药剂量可能有效
 - 缓冲区：防止操作的系统误差造成重大结果的判定错误

药敏试验的方法学

- 半定量...纸片扩散法 (抑菌圈直径)
- MIC法:
 - 稀释法(肉汤、琼脂)
 - 自动化仪法
 - 抗生素连续梯度法 (Etest)
 - 流式细胞仪

药敏试验方法的选择

- 纸片法有独特之处
 - 选药灵活、便宜、易懂
- MIC法：商品肉汤法 (自动化法)↑
 - 可用于厌氧菌、苛氧菌
 - 计算机管理
 - 快速，但可能有错误（如诱导型菌）
 - 新药的评价

药敏试验方法1（纸片扩散法）

- 材料：浸有一定Abs的干燥的园滤纸片
- 步骤：制备菌悬液—涂平板—贴纸片—孵育—卡尺测量抑菌圈直径—判定R、I、S
- 优点：选药灵活、便宜、一个平皿可测多个药
- 缺点：影响因素多
- 适用于快生长菌、部分苛养菌

纸片扩散法—影响因素

- MIC
- 接种菌量
- 细菌生长率
- 抗生素含量、扩散性
- 平皿厚度
- 温度，预孵育时间

纸片扩散法—标准化

- NCCLS: 美国实验室标准化委员会 (National Committee for Clinical Laboratory Standards)
- 每年修订更改
 - 包括质控
 - 新药的判定标准
 - 特殊耐药性的检测

NCCLS的法规

- 规定纸片含量、接种浓度、培养基、平皿厚度、判定标准、质控
- 规定常规测试报告的抗生素
- 不同的药判定标准不同
- 不同的菌判定标准也不同

常规测试并报告的药物分组(1)

肠杆菌科

绿脓和非肠杆菌科

一级

氨苄

头孢他啶

唑林，庆大

庆大，替卡，哌拉

二级

阿米卡星

阿米卡星

氨苄/舒，阿莫/克

吡肟，哌酮，氨曲

南

头孢肤肟，头霉

环丙，亚胺培南，

替卡/克

噻肟，曲松，环丙

妥布，磺胺

亚胺培南，替卡，哌拉

三级

氨曲南，头孢他啶

头孢曲松

卡那，奈替，妥布

氯霉素，奈替

四环素 氟喹素

常规测试并报告的药物分组(2)

葡萄球菌

一级	苯唑，青霉素
二级	红霉素类 克林，万古
三级	氯霉素

肠球菌

青霉素，氨苄
万古霉素
庆大

常规测试并报告的药物分组(3)

流感嗜血杆菌

肺炎链球菌

一级
素

氨苄，青霉素

青霉素，红霉

TMP/SMZ

TMP/SMZ

二级

头孢肤肟，噻肟

氧氟，四环素

他啶，氯霉素

万古霉素

三级
平

阿奇，头孢克罗

氯霉素，利福

环丙，亚胺培南

利福平，四环

素

预报用药(一)

测试药 菌名 推测其它药物的敏感性

- 苯唑西林 葡萄球菌 所有 β -内酰胺类
- 四环素 所有（除葡萄球菌和不动杆菌）
多西环素，米诺环素
- 红霉素 G+球菌 罗红，克拉，阿奇
- 克林霉素 所有 林可霉素

预报用药(二)

测试药 菌名 推测其它药物的敏感性

- 氨苄西林 肠球菌 青霉素
- 青霉素G 葡萄球菌 氨苄, 美洛, 替卡
- 头孢噻吩 肠杆菌科 拉定, 头孢氨苄, 克罗
- 奈啶酸^S 肠杆菌科 所有FQ^S
- 万古霉素^S 所有 替考拉宁^S

纸片扩散法操作规程(一)

- 培养基：MH (重复性好，低抑制剂，营养好)
 - 厚度：4mm
 - PH：7.2~7.4
 - pH低时，氨基糖甙,大环内酯 ↓
 - pH高时，青霉素类的活性 ↑
 - 离子浓度 (Ca^{2+} , Mg^{2+})
 - 影响氨基糖甙类、四环素对Pae活性
 - 高时，抑菌圈↓;

纸片扩散法操作规程(二)

- 接种：
 - 纯的新鲜菌落，0.5号麦氏比浊管
 - 菌悬液在15分钟内种入平皿内
- 纸片中心的间距 $\geq 24\text{mm}$
- 孵育：CO₂影响Ags, Tet, Macrolides
- 质控：
 - ATCC25922, 35218
 - ATCC27853, ATCC25923

纸片扩散法结果的判定

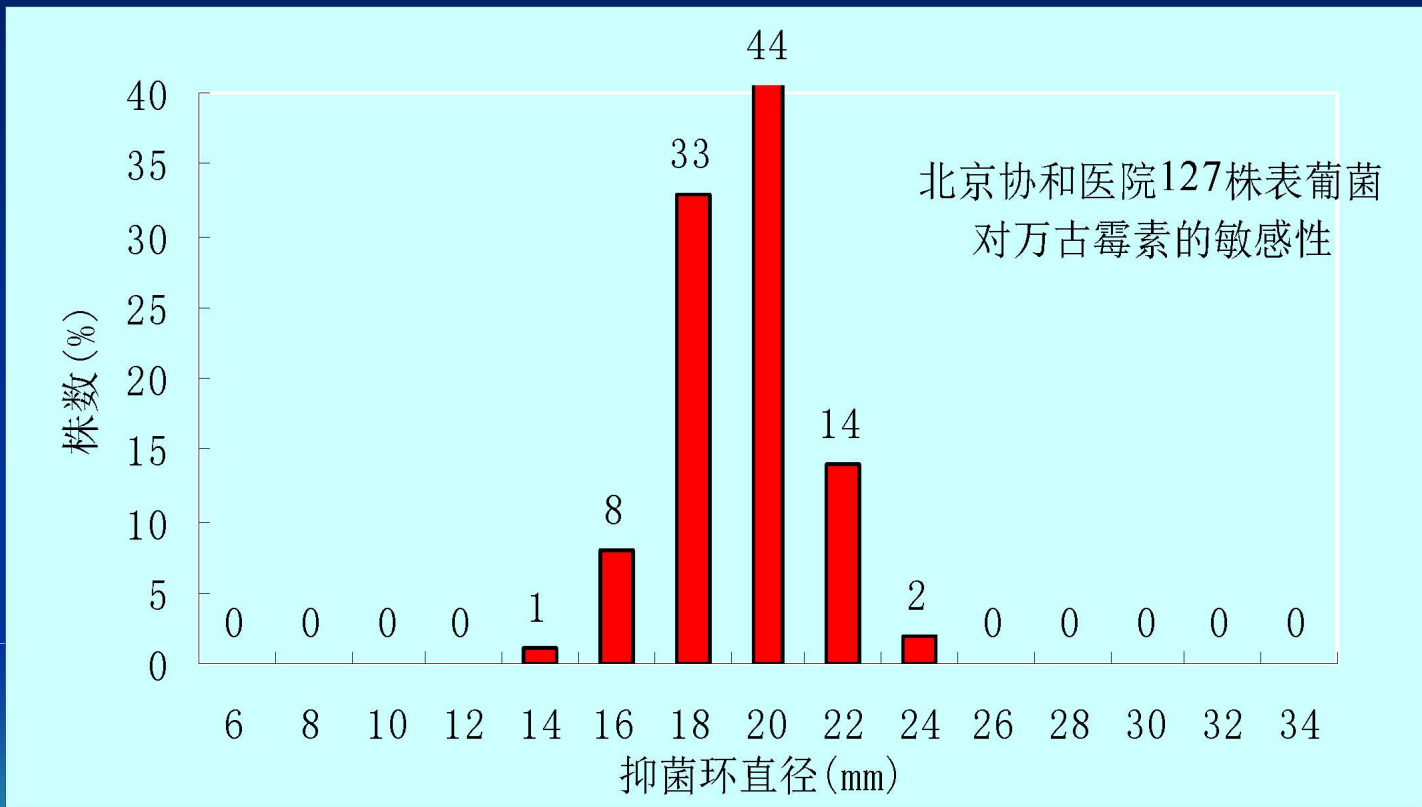
1. 先看菌名（鉴定到种）
2. 不同的药物使用不同的折点

药名	菌名	R	S	菌株1	菌株2
Pip/Taz	绿脓	≤ 17	≥ 18	<u>16R</u>	<u>30S</u>
CAZ	绿脓	≤ 14	≥ 18	<u>16I</u>	<u>19S</u>

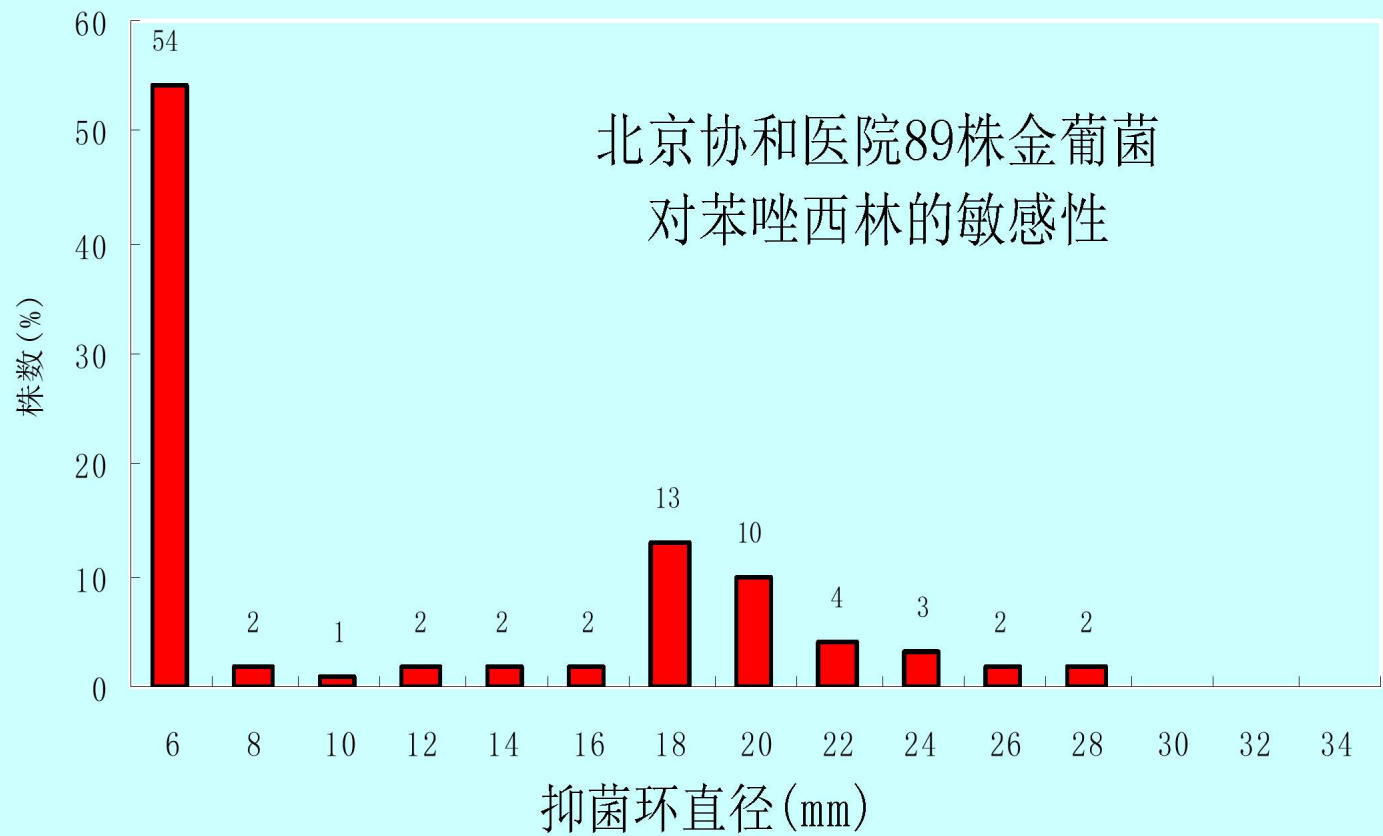
3. 同是S时，偏离敏感折点越高的药，

MIC越低，活性也越高

抑菌圈的分布



抑菌圈的分布



非NCCLS系统的扩散试验

方法	国家	学会	培养基	评论
比较法 MICs	UK	BSAC	Iso-Sensitest	不校正
Stokes MICs	UK	BSAC	Iso-Sensitest	不校正
SFM 相近	法国	SFM	MH	与NCCLS
DIN 相近	德国	DIN	MH	与NCCLS
SIR 低	瑞典	SMS	PDM—ASM	MIC相关值

药敏试验的错误来源(一)

- 每个系统特有的局限性（快生长菌）
- 培养基（成分、厚度、pH、离子浓度）
- 各种材料的正确保存 (纸片—20℃)
- 操作步骤
 - 纯菌、35℃、16—28h
 - 葡萄球菌、肠球菌 24h

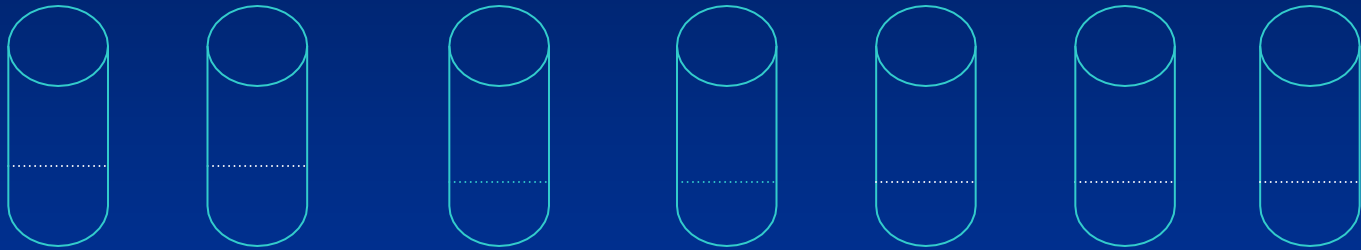
药敏试验的错误来源(二)

- 体内、体外试验的不一致性
- 某些菌测某些药，结果有误
 - 头孢菌素、氨基糖甙类：沙门菌、志贺菌
 - 头孢菌素：李斯特菌属
 - 头孢菌素、氨基糖、克林、TMP/SMZ：肠球菌
 - Beta-内酰胺类：MRS
- 即使敏感，也应报告耐药

问题菌和耐药机制

- 有些菌无标准化的药敏试验
 - 棒杆菌、芽胞杆菌、气单胞菌、巴斯德菌
- 某些耐药机制需要多种检测方法
 - 诱导型：VanB, Bush I型酶
 - MRS的异质型表达
 - ESBL
- 药敏可能无法检出新出现的耐药，VISA

药敏试验方法2—肉汤稀释法



4

8

16

32

64

128

256 ug/ml

混



混

清

抗生素倍比稀释，种菌 10^5 CFU/ml，孵育 35°C ，
16-20h，判读

药敏试验方法2—肉汤稀释法

- 调节离子浓度的MH肉汤
- 宏量肉汤法（2ml, 13x100mm）
- 微量肉汤法（0.1ml, 微量板） 自动化仪
- 优点：准确，可靠，可用于研究
- 缺点：
 - 劳动强度大
 - 细菌生长情况不可查

药敏试验方法3—琼脂稀释法



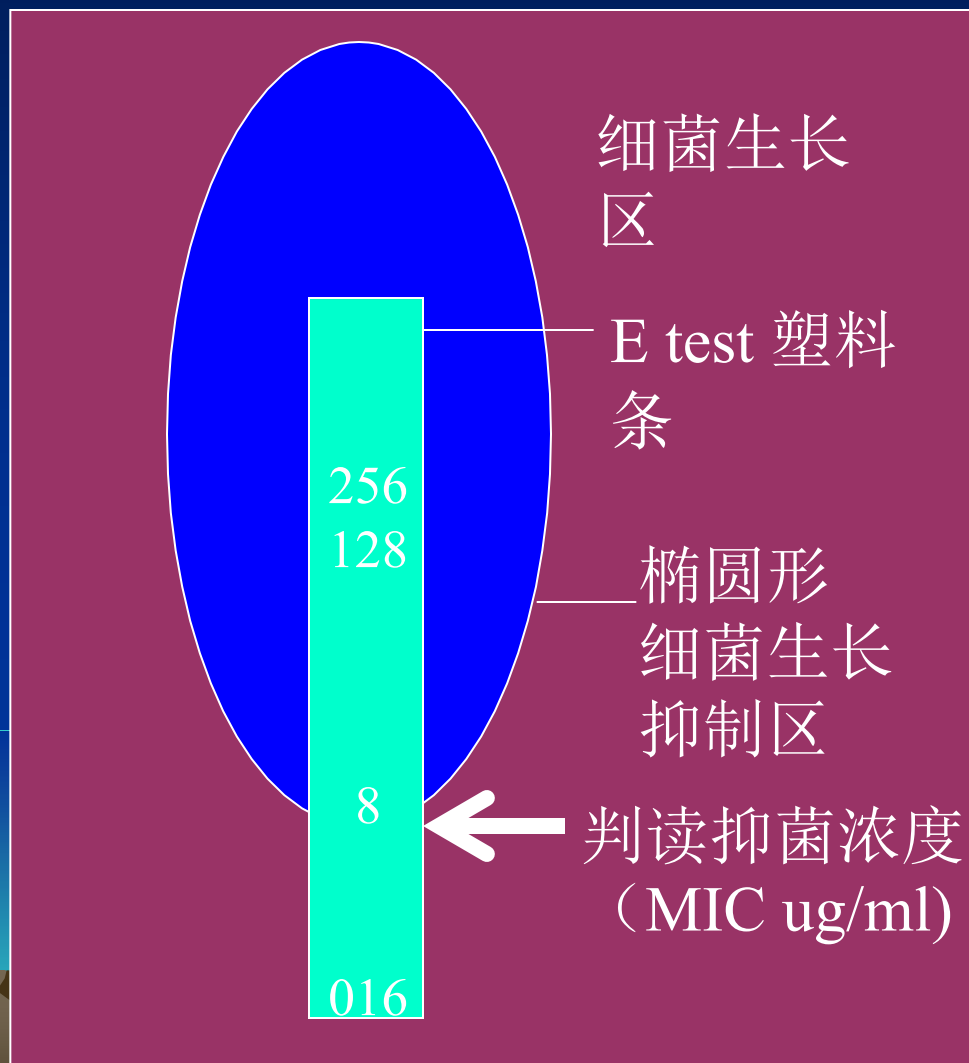
浓度 16 32 64 128 256
ug/ml

制备含对倍抗生素浓度梯度的平板，制备菌悬液，
点种菌， 10^4 /每个点，孵育，判读结果

药敏试验方法3—琼脂稀释法

- 优点：金标准 精确可靠
 - 可同时测定多株菌（40株）
 - 细菌生长情况可查
- 缺点：
 - 测多个药时劳动强度大
 - 制备平皿费时费力

药敏试验方法4—E test 法



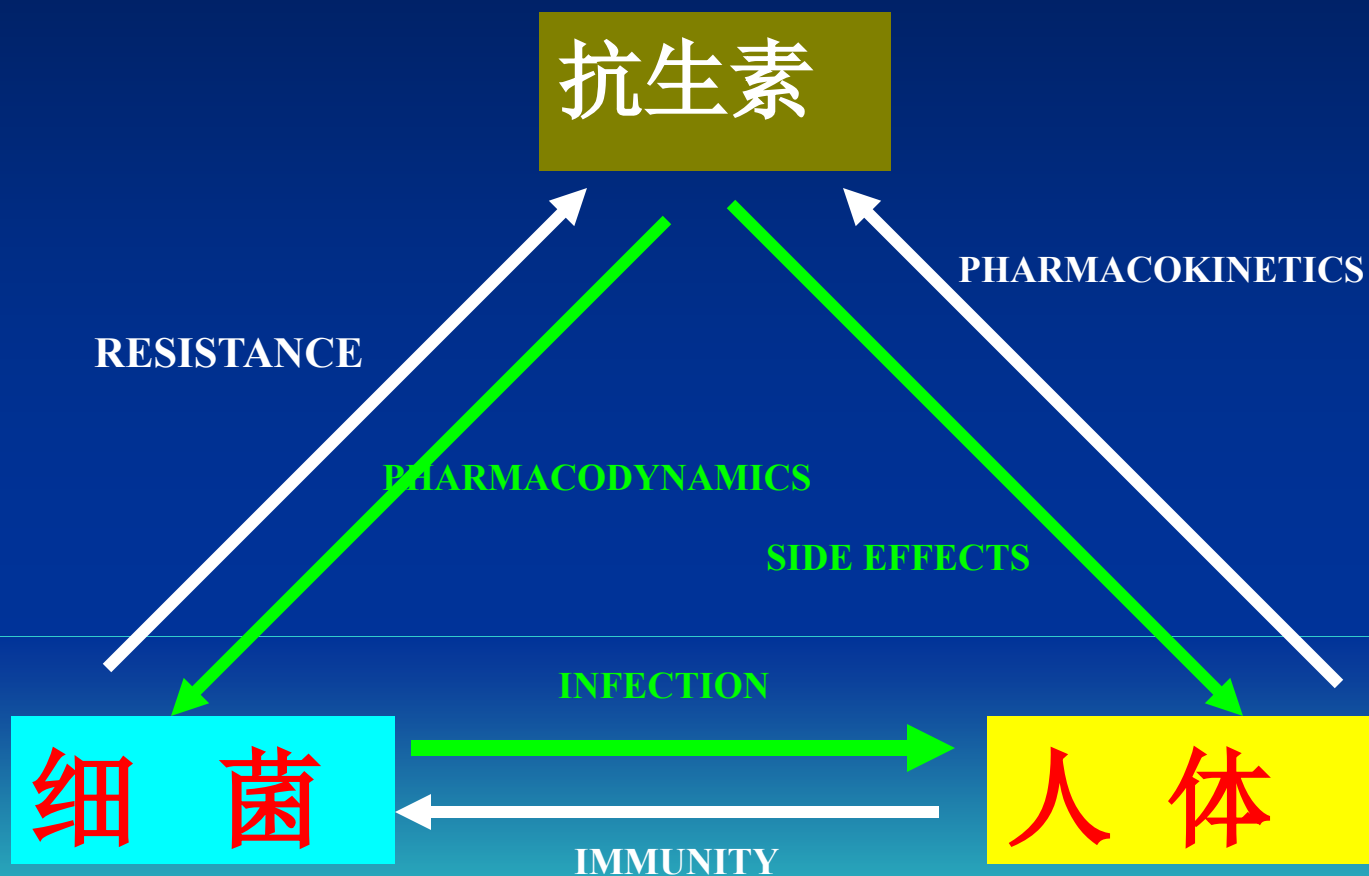
药敏试验方法4—E test 法

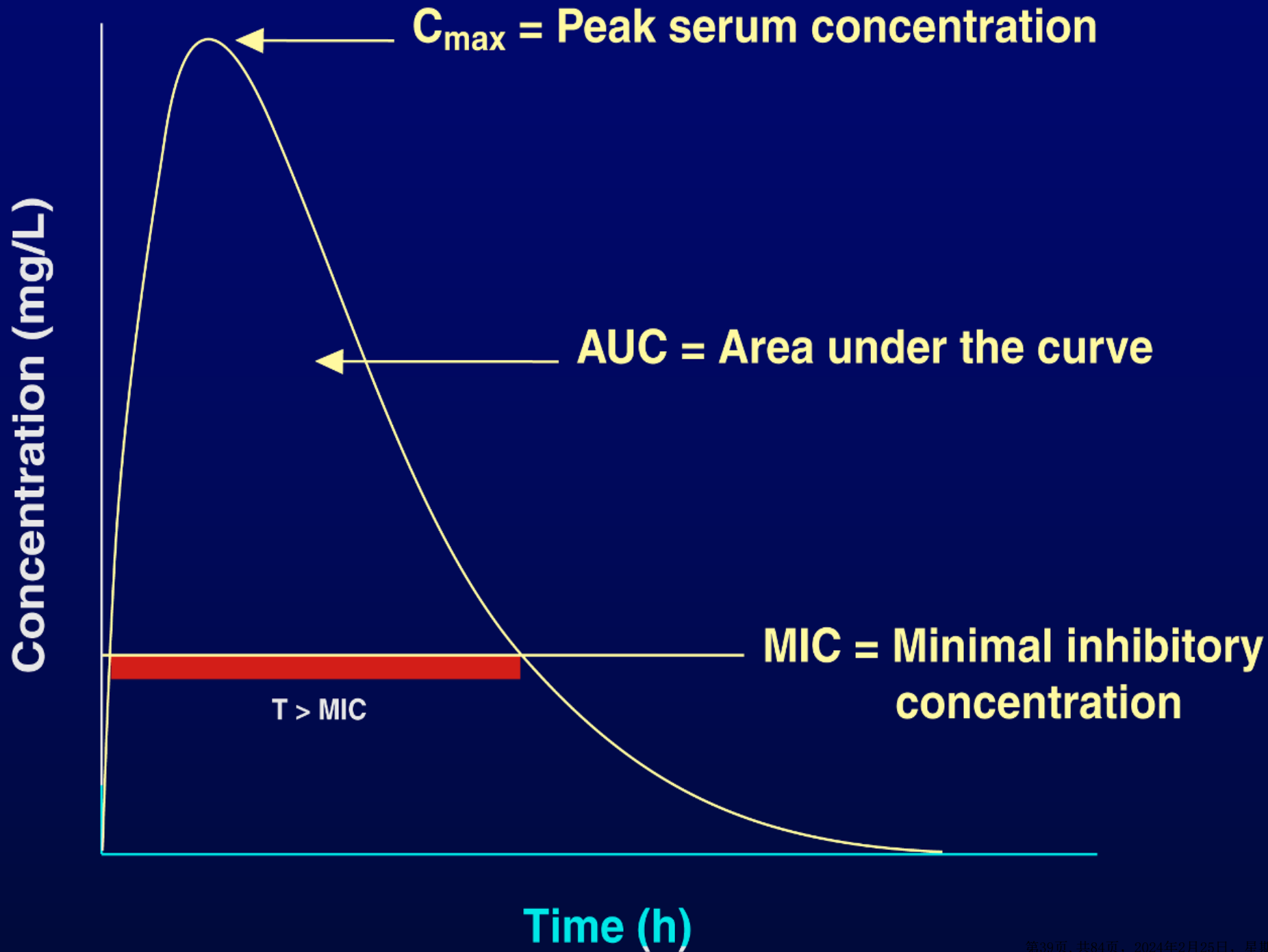
- 优点
 - 连续浓度梯度，与琼脂稀释法相关性好
 - 影响因素少，稳定性高
 - 操作简单，省时
- 缺点：昂贵
- 用途：快生长菌，苛养菌，厌氧菌，酵母菌，分枝杆菌

评价药物体外抗菌活性的指标

- MIC_{50} , MIC_{90} , MIC 均值, MIC 范围, R, I, S
- MIC_{50} / MIC_{90} : MIC 从小到大排列, 位于第50 / 90百分位菌株的MIC值
- 单纯比较 MIC_{50} , MIC_{90} 是片面的, 还要同时看平均MIC及MIC范围
- 同时结合 R, I, S, (不同药物血浓度不同, 安全范围不同)

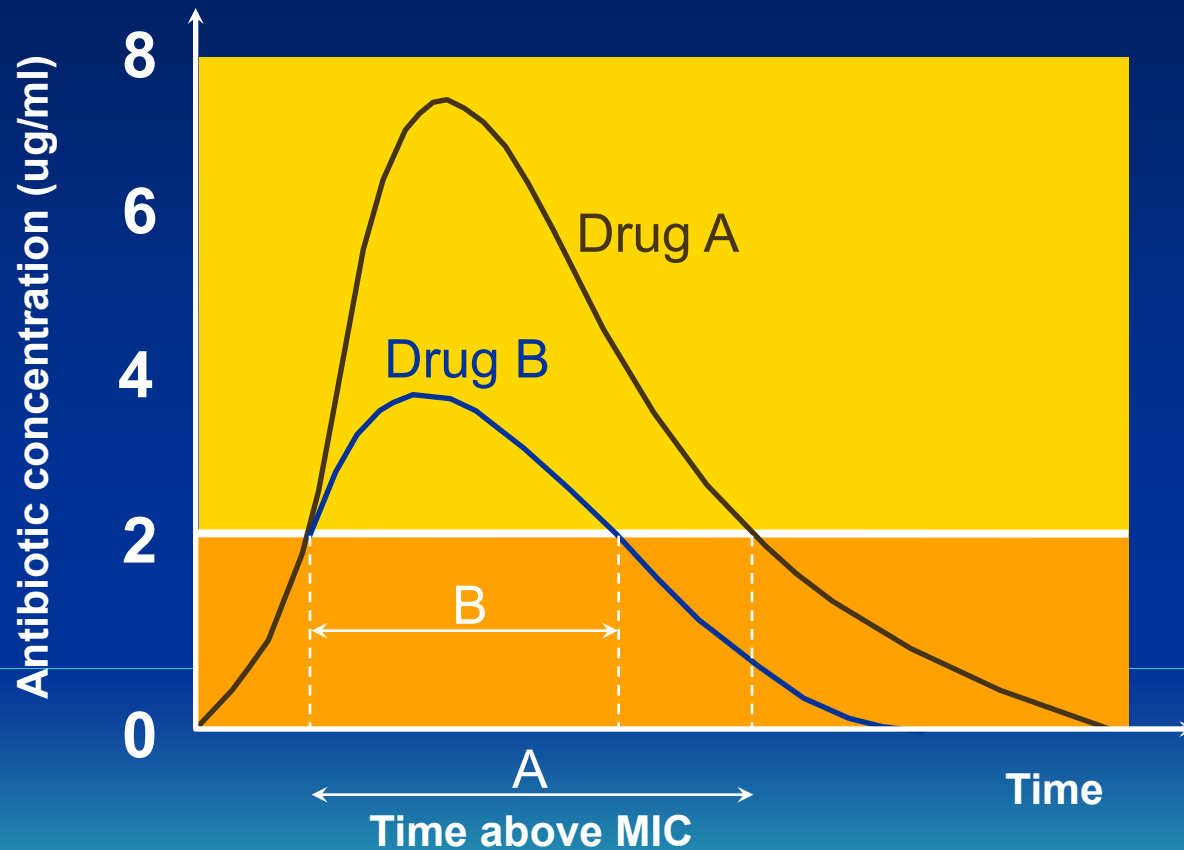
抗生素、细菌、人体





Time above MIC

Correlation of serum pharmacokinetics with MIC (susceptibility) of an organism

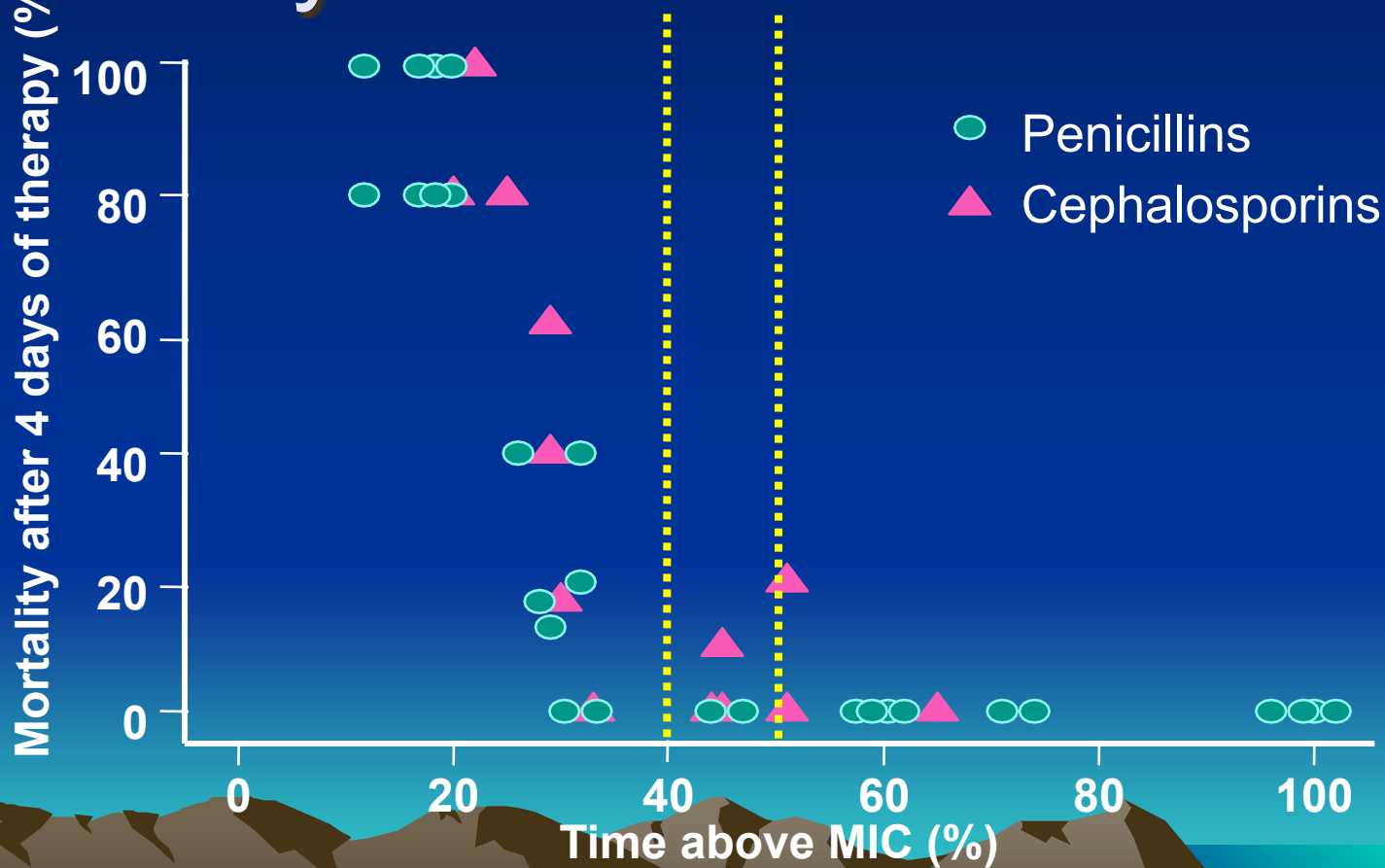


Drug A present at concentration of 2 ug/ml for 50% of dosing interval

Drug B present at concentration of 2 ug/ml for 30% of dosing interval

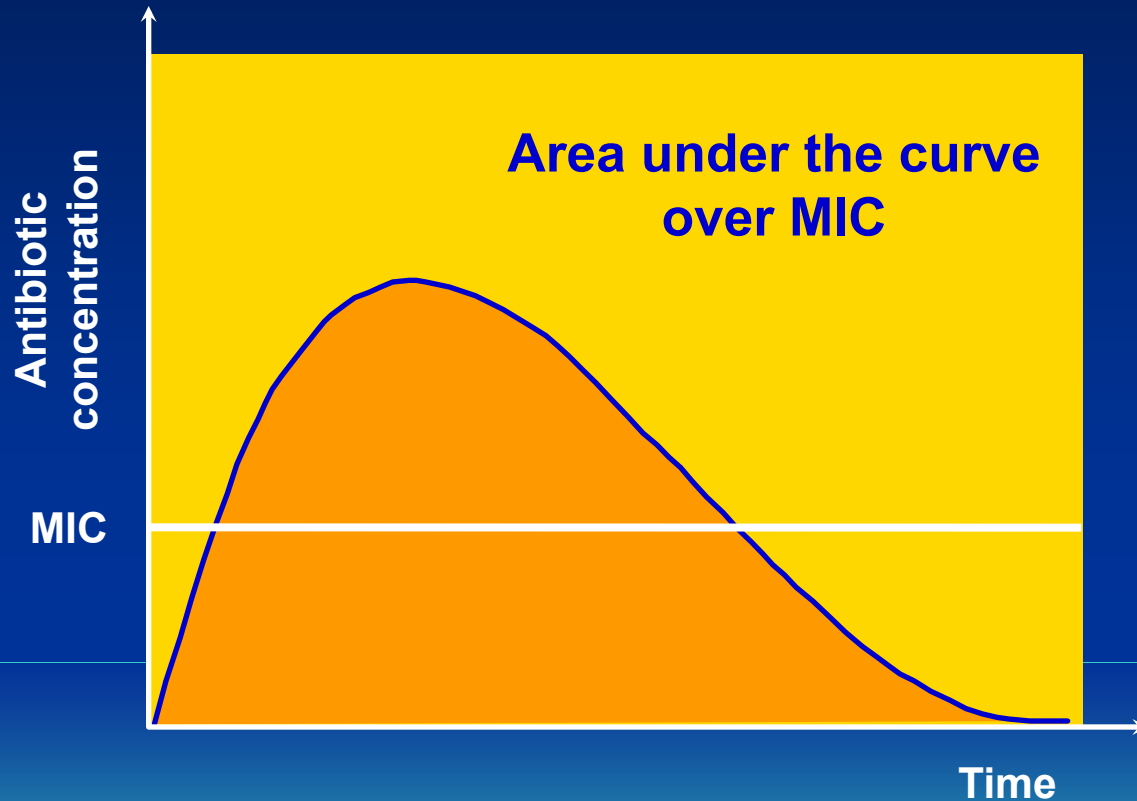
Relationship between Time above MIC and

Efficacy in animal infection models



24-hr AUC/MIC

Correlation of serum pharmacokinetics with MIC (susceptibility) of an organism



24-hr AUC/MIC is correlated with outcome of infection, the magnitude required for success and MIC at which this occurs becomes the PD breakpoint

Slide no

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/375230113024011134>