

前 言

对临床标本分离出细菌时,一般经过鉴定后还需做抗菌药物敏感试验,常用方法为纸片法。该方法结果准确、可靠,并对临床有一定参考价值。本标准是在卫生部颁发的“全国临床检验操作规程”(第二版)的基础上,参考国际常用标准,结合中国国情及卫生系统的实际情况和要求,特制定本标准。

本标准从2000年5月1日起实施。

本标准由中华人民共和国卫生部医政司提出。

本标准起草单位:北京医科大学人民医院检验科、卫生部临床检验中心。

本标准主要起草人:张 正、高 屹、叶应妩。

本标准由卫生部委托卫生部临床检验中心负责解释。

中华人民共和国卫生行业标准

纸片法抗菌药物敏感试验标准

WS/T 125—1999

Standard of antibiotics
susceptibility test (Kirby—Bauer method)

1 范围

本标准规定了临床抗菌药物敏感试验标准(纸片法),包括该方法原理和适用性、敏感度定义、常规检测药物的选择、试剂、操作步骤、结果解释、质量控制方法,一些细菌的药敏实验的补充说明。

本标准适用于各医疗、教学、科研单位及各级有关管理部门。

2 定义

本标准采用下列定义。

2.1 敏感 susceptible

表示由被测菌株所引起的感染可以用常用剂量该抗菌药物治愈。禁忌症除外。

2.2 中介 intermediate

指最小抑菌浓度(MIC)接近药物的血液浓度或组织浓度,疗效低于敏感菌。还表示被测菌株可以通过提高剂量(如 β -内酰胺类药物)被抑制,或在药物生理性浓集的部位(如尿液)被抑制。另外,中介还作为“缓冲域”,以防止由微小的技术因素失控,导致较大的错误结果。

2.3 耐药 resistant

被测细菌不能被常用剂量抗菌药物抑制,或属于具有特定耐药机理(如 β -内酰胺酶),临床治疗效果不佳。

3 适用性

纸片法药敏试验由快速生长的致病菌标定,适合肠杆菌科、葡萄球菌、肠球菌、铜绿假单胞菌、不动杆菌。经适当改动可用来测定嗜血杆菌、淋病奈瑟菌和链球菌。对于使用培养基不同、孵育环境不同或生长率不同的菌类,不能用纸片法做药敏试验。

4 常规测定药物选择指南和报告原则

所有抗菌药物均采用公认的名称以避免混淆。

4.1 选择指南

为使常规药敏试验合理,应限制测定药物的数量。

表1和表2按特定菌或菌群分A,B,C,U,O组,将各种抗生素按优先次序排列,供常规实验室选择。表中每格中的一组相似抗生素,疗效相似,不必重复选择。选择的药物应与医院常用药物吻合。

4.2 常规报告原则

表1和表2中,A组的药物是常规首选药物,对每一特定的菌类应做出相应的报告。

B组包括了临床上重要的药物,特别是对医院感染,可作为首选药。报告的条件是:只有当A组中

中华人民共和国卫生部 1999-12-09 批准

2000-05-01 实施

同类药物不敏感时才报告。

C 组包括替代或后备药物,适用情况包括:治疗某些地方性或流行性疾病,或对首选药(特别是同类药,如β-内酰胺类或氨基糖甙类药物)多重耐药的菌株;治疗对首选药过敏的病人;治疗不常见的菌种(如氯霉素治疗沙门菌,或某些假单胞菌)等。

U 组包括仅限于泌尿系统使用的药物(如呋喃妥因和有机酸类),这些药不应测定除泌尿系统外其他部位感染的细菌。

O 组包括治疗有效,但一般不作为常规测定的药物。

表 1 对非苛养菌的抗微生物药分组

主要测试抗微生物药	肠杆菌科	铜绿假单胞菌和不动杆菌属	葡萄球菌属	肠球菌属
A ¹⁾ (首选药)	氨苄西林	头孢他啶	苯唑西林	青霉素或 氨苄西林
	头孢唑啉 头孢噻吩	庆大霉素	青霉素	
	庆大霉素	替卡西林 哌拉西林		
B ¹⁾ (首选药)	阿米卡星	阿米卡星	阿奇霉素或 克拉霉素或 红霉素	万古霉素
	阿莫西林/克拉维酸或 氨苄西林/舒巴坦 哌拉西林/三唑巴坦 替卡西林/克拉维酸	氯曲南 头孢哌酮	克林霉素	
	头孢孟多或 头孢呋辛			
	头孢美唑			
	头孢哌酮	环丙沙星		
	头孢西丁		甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	
	头孢噻肟或 头孢唑肟或 头孢曲松	亚胺培南	万古霉素	
	环丙沙星或 左氧氟沙星	妥布霉素		
	亚胺培南			
	哌拉西林 替卡西林			
	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑			
C ¹⁾ (补充)	氯曲南 头孢他啶	头孢唑肟或 头孢曲松	氯霉素	庆大霉素(只用于筛 选高水平耐药菌)
	氯霉素	氯霉素 奈替米星		
	卡那霉素	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	环丙沙星或 左氧氟沙星或 氧氟沙星	链霉素(只用于筛 选高水平耐药菌)
	奈替米星		庆大霉素	
	四环素		利福平	
	妥布霉素		四环素	

表 1 (完)

主要测试抗微生物药	肠杆菌科	铜绿假单胞菌和不动杆菌属	葡萄球菌属	肠球菌属
U ¹⁾ (尿)	羧苄西林	羧苄西林	洛美沙星或诺氟沙星	环丙沙星 左氧氟沙星 诺氟沙星
	洛美沙星或诺氟沙星或氧氟沙星	头孢唑肟	呋喃妥因	呋喃妥因
	呋喃妥因	左氧氟沙星或洛美沙星或诺氟沙星或氧氟沙星	磺胺异恶唑	四环素
	磺胺异恶唑	磺胺异恶唑	甲氧苄啶	
	甲氧苄啶	四环素		

1) A 为首选药, B 为首选药有选择地报告, C 为备用药有选择地报告, U 为仅适用于尿标本的抗微生物药。横线间药有共同交叉耐药或交叉敏感, 一般药敏试验选一种即可。

表 2 对苛养菌的抗微生物药分组

主要测试抗微生物药	嗜血杆菌属	淋病奈瑟氏菌	肺炎链球菌	其他链球菌 (除肺炎链球菌)
A ¹⁾	氨苄西林		红霉素	红霉素
	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑		青霉素	青霉素或 氨苄西林
			甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	
B ¹⁾	头孢噻肟或 头孢他啶或 头孢唑肟或 头孢曲松		左氧氟沙星或 氧氟沙星	氯霉素
	头孢唑辛钠(针剂)		四环素	克林霉素
	氯霉素		万古霉素	万古霉素
C ¹⁾	阿奇霉素或 克拉霉素	头孢克肟或 头孢噻肟或 头孢唑肟或 头孢曲松	氯霉素	头孢噻肟或 头孢曲松
	头抱克洛或 头抱克肟	头抱美唑 头抱西丁 头抱呋辛	利福平	氧氟沙星
	头抱呋辛酯(口服)	环丙沙星或 氧氟沙星		
	环丙沙星或 左氧氟沙星或 洛美沙星或 氧氟沙星	青霉素		
	亚胺培南	大观霉素		
	利福平	四环素		
	四环素			

1) A、B、C 各组意义同表 1。

5 试剂

5.1 Mueller-Hinton 琼脂

5.1.1 制备 Mueller-Hinton 琼脂

按产品说明用干粉培养基制备。高压灭菌后立即放 40~50℃ 水浴。平皿置水平台上, 倾倒入平皿, 琼脂厚度为 4 mm。内径 14 cm 的平皿需培养基约 60~70 mL, 内径 9 cm 平皿约需 25~30 mL。玻璃或塑料平皿均可使用, 但皿底应平坦。待平板冷至室温, 留下当日使用的, 其他放入冰箱(2~8℃)保存。平板须在 7 日内用完。每批制备的平板, 应抽样放 30~35℃ 24 h 以上, 检查是否无菌。抽样的平板不可再用。

5.1.2 pH

每批 Mueller-Hinton 琼脂, 制备时应检查 pH。将 pH 电极浸入融化的琼脂培养基中。或将琼脂放烧杯中融化, 然后使其凝固在 pH 电极上。或使用平面电极。培养基的 pH 室温下应为 7.2~7.4。测 pH 应在琼脂凝固后进行。

5.1.3 水分

使用时, 琼脂表面应潮湿, 但不应有水珠。培养时, 平皿盖上也不应有水珠。

5.2 药敏纸片的保存

药敏纸片应保存在干燥环境。在 8℃ 以下冷藏, 或 -14℃ 以下冷冻保存。 β -内酰胺类药的纸片应密封冷冻保存, 仅取出少量作为日常使用, 在冰箱里保存约一周。有些不稳定的抗生素(如依米配能、头孢克拉、棒酸合剂)须冷冻保存, 用时取出。纸片在使用前 1~2 h 从冰箱取出, 暖至室温再打开, 以避免出现冷凝水。纸片启封后应放入可密封的有干燥剂的容器中。纸片只能在有效期内使用, 过期应弃去。

5.3 标准比浊管

用硫酸钡比浊管(0.5 麦氏单位标准比浊管), 标定接种菌液浓度。

比浊管制备方法: 取 0.048 mol/L 氯化钡(BaCl_2) [1.175% (W/V) $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] 0.5 mL, 加到 99.5 mL 的 0.18 mol/L 硫酸(1%, V/V)溶液中, 制成比浊管。用光径为 1 cm 的分光光度计测定吸光度来标定比浊管。0.5 麦氏单位标准比浊管在 625 nm 波长的吸光度应为 0.08~0.1。选管径与制备菌液试管相同的螺口试管, 每管分装 4~6 mL。将试管帽拧紧, 放室温暗处保存。比浊管用前在旋转振荡器上混匀。如出现大颗粒, 应更换。每个月更换比浊管或复验比浊管的浊度。

6 操作步骤

6.1 制备接种菌液

6.1.1 增菌法

选琼脂平板上形态相同的菌落至少 4~5 个, 用接种环挑其顶部, 移至 4~5 mL 肉汤或大豆酪蛋白消化液中。放置 35℃ 培养至菌液浓度达到或超过比浊管浓度(一般需 2~6 h), 浓度约 $1\sim 2 \times 10^8$ cfu/mL。用生理盐水或肉汤校正菌液浓度至与麦氏单位标准比浊管相同。可用光电比浊。

6.1.2 直接菌悬液法

可直接用过夜培养的菌落(必须用无选择性培养基, 如血平板)在盐水或肉汤中制备接种菌液。菌液浓度调至 0.5 麦氏单位标准比浊管。此法亦适用于在肉汤培养基中生长不好的细菌如嗜血杆菌、淋病奈瑟菌及葡萄球菌的甲氧西林或苯唑西林的药敏试验。

6.2 接种平板

校正的菌液须在 15 min 内使用。用一无菌棉拭子蘸取菌液, 并在上端管壁旋转挤压几次, 去掉过多的菌液。用拭子涂布整个琼脂平板表面。Mueller-Hinton 琼脂平板用前应烘干。反复涂布几次, 每次将平皿旋转 60 度, 保证涂布均匀。

6.3 贴纸片

接种平板后, 贴上药敏纸片。用镊子或针尖压一下纸片使其与培养基表面贴牢。纸片要贴得均匀,

纸片与纸片中心距离不得小于 24 mm。原则上,直径 150 mm 的平板贴 12 张纸片,直径 100 mm 平板贴 6 张纸片。贴上纸片 15 min 内,须把平板倒放在 35℃ 孵箱中。

6.4 测量抑菌环

经 16~18 h 培养后,观察结果。菌液浓度合适且涂得好,抑菌环规则,细菌呈融合生长。手持平皿从背面目测检查每块平板,借反射光(黑色无反光背景),用卡尺、普通尺或特制的模板量取抑菌环直径,测量抑菌环直径须包含纸片直径,单位为毫米。培养基中如果加了血液,须打开平皿盖,借反射光,从正面量抑菌环。葡萄球菌和肠球菌,须培养 24 h 后,经透射光检查苯唑西林和万古霉素的抑菌环内有无耐药菌株的生长。抑菌环内有任何生长都判断为耐药。

肉眼见不到细菌明显生长的区域为抑菌环边缘,有很难辨认的细小菌落者不算。如抑菌环内有大量菌落长出,须再移种出来,重新鉴定,重新做敏感试验。变形菌在某些抗菌药物纸片周围可弥漫生长到抑菌的区域内,但抑菌环边缘清楚,弥漫生长不算。甲氧苄胺嘧啶和磺胺药的拮抗剂会支持细菌生长,因而测这类药时可忽略轻微生长(80%以上受抑制),以浓密生长的区域作为抑菌环的界限。

7 结果解释

参照表 3~表 10 的标准对抑菌环的大小作出解释,以敏感、中介或耐药的形式报告结果。

表 3 肠杆菌科用的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量 μg	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
A	氨苄西林	10	≤13	14~16	≥17	≥32	≤8	(1) 该类包括氨苄西林和阿莫西林
B	哌拉西林	100	≤17	18~20	≥21	≥128	≤16	
B	替卡西林	75	≤14	15~19	≥20	≥128	≤16	
U	羧苄西林	100	≤19	20~22	≥23	≥64	≤16	
β-内酰胺/β-内酰胺抑制剂复合物								
B	阿莫西林/克拉维酸或	20/10	≤13	14~17	≥18	≥16/8	≤8/4	
B	氨苄西林/舒巴坦	10/10	≤11	12~14	≥15	≥32/16	≤8/4	
B	哌拉西林/他唑巴坦	100/10	≤17	18~20	≥21	≥128/4	≤16/4	
B	替卡西林/克拉维酸	75/10	≤14	15~19	≥20	≥128/2	≤16/2	
头孢类(包括头孢菌素类、头孢类、卡巴头孢类、苯唑头孢类)								(2) 对于沙门氏菌属和志贺氏菌属一、二代头孢,无论体外结果如何,均报耐药 (3) 克雷伯菌和大肠埃希氏菌以下药折点可提示 ESBLs 株:氨曲南(≤27 mm)、头孢他啶(≤22 mm)、头孢噻肟(≤27 mm)、头孢曲松(≤22 mm)两药有参考价值。ESBLs 株不论在体外药敏中对头孢霉素和氨曲南是否敏感,临床均报耐药 (4) 用三代头孢治疗时,肠杆菌、枸橼酸菌和沙雷菌可发展耐药性,故临床需反复测试

表 3(续)

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量 μg	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
A	头孢唑啉	30	≤14	15~17	≥18	≥32	≤8	(5) 头孢噻吩可用来预测下列药的活性: 头孢噻吩、头孢唑啉、头孢拉定。至于头孢唑啉、头孢唑啉应个个都测试, 因为有些分离株当对头孢噻吩耐药时仍可以对这些药敏感
A	头孢噻吩	30	≤14	15~17	≥18	≥32	≤8	
B	头孢孟多或 头孢呋辛酯(口服)或 头孢呋辛钠(针剂)	30	≤14	15~22	≥23	≥32	≤4	
B	头孢美唑	30	≤12	13~15	≥16	≥64	≤16	
B	头孢哌酮	75	≤15	16~20	≥21	≥64	≤16	
B	头孢西丁	30	≤14	15~17	≥18	≥32	≤8	
B	头孢噻肟	30	≤14	15~22	≥23	≥64	≤8	(6) CSF 中分离菌应报告头孢噻肟或头孢曲松的敏感性
B	头孢唑肟	30	≤14	15~19	≥20	≥32	≤8	见评论(3)
B	头孢曲松	30	≤13	14~20	≥21	≥64	≤8	
C	头孢他啶	30	≤14	15~17	≥18	≥32	≤8	见评论(3)
O	头孢克洛	30	≤14	15~17	≥18	≥32	≤8	
O	头孢克肟	5	≤15	16~18	≥19	≥4	≤1	(7) 不能测试摩根菌属
O	拉氧头孢	30	≤14	15~22	≥23	≥64	≤8	
碳青霉烯类								
B	亚胺培南	10	≤13	14~15	≥16	≥16	≤4	
单酰胺菌素类								
C	胺曲南	30	≤15	16~21	≥22	≥32	≤8	见评论(3)
氨基糖甙类								(8) 因临床沙门菌属和志贺菌属使用氨基糖甙无效, 故不做此项工作
A	庆大霉素	10	≤12	13~14	≥15	≥8	≤4	
B	阿米卡星	30	≤14	15~16	≥17	≥32	≤16	
C	卡那霉素	30	≤13	14~17	≥18	≥25	≤6	
C	奈替米星	30	≤12	13~14	≥15	≥32	≤12	
C	妥布霉素	10	≤12	13~14	≥15	≥8	≤4	
O	链霉素	10	≤11	12~14	≥15	—	—	
四环素类								
C	四环素	30	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	(9) 四环素是四环素类的代表药
O	米诺环素	30	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	

表 3(完)

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量 μg	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
喹诺酮类								
B	环丙沙星或	5	≤15	16~20	≥21	≥4	≤1	
B	左氧氟沙星	5	≤13	14~16	≥17	≥8	≤2	
U	洛美沙星或	10	≤18	19~21	≥22	≥8	≤2	
U	诺氟沙星或	10	≤12	13~16	≥17	≥16	≤4	
U	氧氟沙星	5	≤12	13~15	≥16	≥8	≤2	
O	奈啶酸	30	≤13	14~18	≥19	≥32	≤8	(10) 仅适用于尿液分离菌
Inv	氟罗沙星	5	≤15	16~18	≥19	≥8	≤2	
其他抗生素								
B	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	1.25/ 13.75	≤10	11~15	≥16	≥8/152	≤2/38	
C	氯霉素	30	≤12	13~17	≥18	≥32	≤8	(11) 从尿道分离菌常规不报告
U	呋喃妥因	300	≤14	15~16	≥17	≥128	≤32	
U	磺胺药	250 或 300	≤12	13~16	≥17	≥350	≤100	(12) 磺胺异恶唑纸片能代替当前使用的磺胺制剂
U	甲氧苄啶	5	≤10	11~15	≥16	≥16	≤4	
注								
1 试验条件——培养基:Mueller-Hinton 琼脂;接种液:液体生长法或直接菌落悬液法;培育:35 C;空气;16~18 h。								
2 推荐的质控用菌株为大肠艾希菌 ATCC 25922(质控允许范围见表 11)。								
3 建议:对于沙门菌属和志贺菌属,常规试验和报告需包括一喹诺酮类和 TMP/SMZ。对于胃肠外分离的沙门菌属,还一定要测试并报告氯霉素及某一三代头孢菌素结果。								
4 表中 A,B,C,U 意义见表 1 说明。“O”为临床非常规用药,可根据我国情况选用。								

表 4 铜绿假单胞菌和不动杆菌属用的抑菌环直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量 μg	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
A	替卡西林	75	≤14	—	≥15	≥128	≤64	用于铜绿假单胞菌
A	哌拉西林	100	≤14	15~19	≥20	≥128	≤16	用于不动杆菌属
A	哌拉西林	100	≤17	—	≥18	≥128	≤64	用于铜绿假单胞菌
A	哌拉西林	100	≤17	18~20	≥21	≥128	≤16	用于不动杆菌属
U	羧苄西林	100	≤13	14~16	≥17	≥512	≤128	用于铜绿假单胞菌
U	羧苄西林	100	≤19	20~22	≥23	≥64	≤16	用于不动杆菌
β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合物								
O	氨苄西林/舒巴坦	10/10	≤11	12~14	≥15	≥32/16	≤8/4	(1) 不动杆菌属耐药可报告对其他加酶抑制剂抗生素耐药
O	哌拉西林/他唑巴坦	100/10	≤17	—	≥18	≥128/4	≤64/4	用于铜绿假单胞菌
O	哌拉西林/他唑巴坦	100/10	≤17	18~20	≥21	≥128/4	≤16/4	用于不动杆菌

表 4(完)

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量 μg	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
O	替卡西林/克拉维酸	75/10	≤14	—	≥15	≥128/2	≤64/2	用于铜绿假单胞菌
		75/10	≤14	15~19	≥20	≥128/2	≤16/2	用于不动杆菌
头孢类(包括:头孢菌素类,头霉素类)								
A	头孢他定	30	≤14	15~17	≥18	≥32	≤8	
B	头孢哌酮	75	≤15	16~20	≥21	≥64	≤16	
C	头孢噻肟或	30	≤14	15~22	≥23	≥64	≤8	
C	头孢曲松	30	≤13	14~20	≥21	≥64	≤8	
U	头孢唑肟	30	≤14	15~19	≥20	≥32	≤8	
O	拉氧头孢	30	≤14	15~22	≥23	≥64	≤8	
碳青霉烯类								
B	亚胺培南	10	≤13	14~15	≥16	≥16	≤4	
单环 B 内酰胺类								
B	氨曲南	30	≤15	16~21	≥22	≥32	≤8	
氨基糖甙类								
A	庆大霉素	10	≤12	13~14	≥15	≥8	≤4	
B	阿米卡星	30	≤14	15~16	≥17	≥32	≤16	
B	妥布霉素	10	≤12	13~14	≥15	≥8	≤4	
C	奈替米星	30	≤12	13~14	≥15	≥32	≤12	
四环素类								
U	四环素	30	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	(2) 四环素系四环素类的代表药
O	米诺霉素	30	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	
喹诺酮类								
B	环丙沙星	5	≤15	16~20	≥21	≥4	≤1	
U	左氧氟沙星或	5	≤13	14~16	≥17	≥8	≤2	
U	洛美沙星或	10	≤18	19~21	≥22	≥8	≤2	
U	诺氟沙星或	10	≤12	13~16	≥17	≥16	≤4	
U	氧氟沙星	5	≤12	13~16	≥16	≥8	≤2	
其他抗生素								
C	氯霉素	30	≤12	13~17	≥18	≥32	≤8	(3) 从尿道分离菌常规不报告
C	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	1.25/ 23.75	≤10	11~15	≥16	≥8/152	≤2/38	
U	磺胺药	250 或 300	≤12	13~16	≥17	≥350	≤100	(4) 磺胺异恶唑纸片能代替当前使用的磺胺制剂
注								
1 试验条件——培养基:Mueller-Hinton 琼脂;接种液:液体生长法或直接菌落悬液法;培育:35℃,空气;16~18 h。								
2 推荐的质控用菌株为铜绿假单胞菌 ATCC 27853(质控允许范围见表 11)。								
3 建议 (1) 除铜绿假单胞菌和不动杆菌属外非肠杆菌科应该用稀释法试验;(2) 在长期用各种抗生素治疗过程中铜绿假单胞菌可能发生耐药,故在治疗中或重复分离菌株时应重新测试。								

表 5 葡萄球菌属的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗微生物药	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								(1) a. 青霉素敏感的葡萄球菌对其他青霉素,β-内酰胺酶抑制剂复合物,头孢类和碳青霉烯类也敏感。b. 青霉素耐药,苯唑西林敏感的菌株对β-内酰胺酶不稳定的青霉素耐药,但对其他β-内酰胺酶稳定的青霉素,β-内酰胺酶抑制剂复合物,相关的头孢类和碳青霉烯类敏感。c. 耐苯唑西林的葡萄球菌对目前所有的β-内酰胺酶类抗生素耐药。因此,对很多其他的β-内酰胺酶类抗生素敏感或耐药结果可以通过只检测青霉素和苯唑西林而得到
A	青霉素	10 单位	≤28	—	≥29	β-内酰胺酶	≤0.1	(2) 金黄色葡萄球菌中青霉素耐药,苯唑西林敏感的菌株产β-内酰胺酶,最好用10单位的青霉素纸片代替氨苄西林纸片。青霉素应该用来检测所有对β-内酰胺酶不稳定的青霉素的敏感性,如氨苄西林,阿莫西林,阿洛西林,羧苄西林,美洛西林,哌拉西林和替卡西林。同样的,β-内酰胺酶试验阳性表明对这些药耐药
A	甲氧西林或	5 μg	≤9	10~13	≥14	≥16	≤8	(3) 在抗葡萄球菌的药物中,耐β-内酰胺酶的青霉素类,苯唑西林,甲氧西林的检测结果适用于其他耐青霉素酶的青霉素类。苯唑西林不易降解,因此它更易于检测出葡萄球菌异源性耐药株
A	苯唑西林	1 μg	≤10	11~12	≥13	≥4	≤2	(4) 用透光检查苯唑西林纸片抑菌圈内轻微生长的菌落(将平皿举起对着光线) (5) 绝大多数的 MRS 通常对多种抗生素耐药,包括β-内酰胺类,氨基糖甙类,大环内酯类,克林霉素和四环素,观察到多重耐药性应该是对甲氧西林可能耐药的线索。这可以通过用含苯唑西林-盐的琼脂筛选试验进行证实 (6) 凝固酶阴性葡萄球菌中对苯唑西林/甲氧西林耐药用含苯唑西林-盐琼脂筛选试验能最可靠地检出

表 5(续)

试验/报告 分组	抗微生物药	纸片 含量	抑菌圈直径, mm			相对应 MIC 折点, $\mu\text{g}/\text{mL}$		评 论
			R	I	S	R	S	
O	氨苄西林	10 μg	≤ 28	—	≥ 29	β -内酰胺 酶	≤ 0.25	(7) 氨苄西林和阿莫西林的代 表药
β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂复合药								见评论(1)
O	阿莫西林/克拉维酸	20/10 μg	≤ 19	—	≥ 20	$\geq 8/4$	$\leq 4/2$	
O	氨苄西林/舒巴坦	10/10 μg	≤ 11	12~14	≥ 15	$\geq 32/16$	$\leq 8/4$	
O	哌拉西林/他唑巴坦	100/ 10 μg	≤ 17	—	≥ 18	$\geq 16/4$	$\leq 8/4$	
O	替卡西林/克拉维酸	75/10 μg	≤ 22	—	≥ 23	$\geq 16/2$	$\leq 8/2$	
头孢类								见评论(1)
O	头孢克洛	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	头孢孟多	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	头孢唑啉	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	头孢美唑	30 μg	≤ 12	13~15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	头孢哌酮	75 μg	≤ 15	16~20	≥ 21	≥ 64	≤ 16	
O	头孢噻肟	30 μg	≤ 14	15~22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
O	头孢西丁	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	头孢他啶	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	头孢唑肟	30 μg	≤ 14	15~19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
O	头孢曲松	30 μg	≤ 13	14~20	≥ 21	≥ 64	≤ 8	
O	头孢呋辛酯(口服)	30 μg	≤ 14	15~22	≥ 23	≥ 32	≤ 4	
O	头孢呋辛钠(不经肠道)	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	头孢唑啉	30 μg	≤ 14	15~17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	拉氧头孢	30 μg	≤ 14	15~22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
碳青霉烯类								见评论(1)
O	亚胺培南	10 μg	≤ 13	14~15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
糖肽类								
B	万古霉素	30 μg	—	—	≥ 15	≥ 32	≤ 4	(8) 所有抑菌圈 ≤ 14 mm 的葡 萄球菌分离株应该进行 MIC 方法的测试, 临检中心核实
氨基糖甙类								
C	庆大霉素	10 μg	≤ 12	13~14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
O	阿米卡星	30 μg	≤ 14	15~16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
O	卡那霉素	30 μg	≤ 13	14~17	≥ 18	≥ 25	≤ 6	
O	奈替米星	30 μg	≤ 12	13~14	≥ 15	≥ 32	≤ 12	
O	妥布霉素	10 μg	≤ 12	13~14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	

表 5(完)

试验/报告 分组	抗菌生物药	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
大环内酯类								
B	阿奇霉素或	15 μg	≤13	14~17	≥18	≥8	≤2	(9) 不对泌尿道分离株进行常规的报告
B	克林霉素或	15 μg	≤13	14~17	≥18	≥8	≤2	
B	红霉素	15 μg	≤13	14~22	≥23	≥8	≤0.5	
四环素类								
C	四环素	30 μg	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	(10) 四环素是所有四环素类药物的代表
O	米诺环素	30 μg	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	
喹诺酮米								
								(11) 长期应用喹诺酮类治疗过程中,葡萄球菌属可以发展其耐药性。因此,在治疗中应重复测试
C	环丙沙星	5 μg	≤15	16~20	≥21	≥4	≤1	
C	左氧氟沙星	5 μg	≤13	14~16	≥17	≥8	≤2	
C	氧氟沙星	5 μg	≤12	13~15	≥16	≥8	≤2	
U	洛美沙星	10 μg	≤18	19~21	≥22	≥8	≤2	
U	诺氟沙星	10 μg	≤12	13~16	≥17	≥16	≤4	
其他								
B	克林霉素	2 μg	≤14	15~20	≥21	≥4	≤0.5	见评论(9)
B	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	1.25/ 23.75 μg	≤10	11~15	≥16	≥8/152	≤2/38	
C	氯霉素	30 μg	≤12	13~17	≥18	≥32	≤8	见评论(9)
C	利福平	5 μg	≤16	17~19	≥20	≥4	≤1	(12) Rx: 利福平不能单独用于化疗
U	呋喃妥因	300 μg	≤14	15~16	≥17	≥128	≤32	
U	磺胺类	250 或 300 μg	≤12	13~16	≥17	≥350	≤100	(13) 磺胺异恶唑纸片可用来代表当前使用的磺胺制剂
U	甲氧苄啶	5 μg	≤10	11~15	≥16	≥16	≤4	
注								
1 试验条件——培养基:Mueller-Hinton 琼脂;接种液:直接菌落悬液法;培育:35℃,空气;16~18 h;测苯唑西林需 24 h。								
2 推荐的质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 25923(质控允许范围见表 11)。								
3 注意:对于耐苯唑西林/甲氧西林的金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌(MRS),头孢类和其他 β-内酰胺类,如阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、替卡西林/克拉维酸、哌拉西林/他唑巴坦和亚胺培南可在体外显示活性但临床上无效,因此这些分离株不应该报告为敏感。								

表 6 肠球菌属的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
A	青霉素或	10 单位	≤14	—	≥15	≥16	≤8	(1) 氨苄西林的结果可用于判断不产β-内酰胺的肠球菌对阿莫西林/克拉维酸和氨苄西林/舒巴坦对的敏感性。 (2) 青霉素的敏感性可用于预测不产β-内酰胺的肠球菌对氨苄西林、阿莫西林、酰胺氨苄西林类、氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林和哌拉西林/他唑巴坦的敏感性
A	氨苄西林	100 μg	≤16	—	≥17	≥16	≤8	
糖甙类								
B	万古霉素	30 μg	≤14	15~16	≥17	≥32	≤4	(3) 在做万古霉素检测中,应培养 24 h,有菌落生长现象了表示耐药,不能确定者可做 MIC
四环素类								
U	四环素	30 μg	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	(4) 四环素是所有四环素类的代表
U	米诺环素	31 μg	≤14	15~18	≥19	≥16	≤4	
奎诺酮类								
U	环丙沙星	5 μg	≤15	16~20	≥21	≥4	≤1	
U	左氧氟沙星	5 μg	≤13	14~16	≥17	≥8	≤2	
U	诺氟沙星	10 μg	≤12	13~16	≥17	≥6	≤4	
其他								
U	呋喃妥因	300 μg	≤14	15~16	≥17	≥128	≤32	
O	氯霉素	30 μg	≤12	13~17	≥18	≥32	≤8	(5) 从泌尿道分离的菌株常规不测试
高水平耐氨基糖甙类(HLAR)的纸片扩散筛选试验								
C	庆大霉素(HLAR)	120 μg	≤6	7~9	≥10	≥500	≤500	(6) 如果抑菌圈为 7~9 mm,此试验无法定论,应当使用其他方法测 MIC
C	链霉素(HLAR)	300 μg	≤6	7~9	≥10	—	—	(7) 对于链霉素,微量肉汤稀释法的 MIC>1 000 μg/mL,琼脂稀释法的 MIC>2000 μg/mL,即为耐药
注								
1 试验条件——培养基:Mueller Hinton 琼脂;接种液;液体生长法或直接菌落悬液法;培育:35℃;空气;16~18 h;测万古霉素需 24 h。								
2 推荐使用质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 25923,质控允许范围见表 11,高水平耐氨基糖甙类(HLAR)使用粪肠球菌 ATCC 2912 为指控制菌株。								
3 对肠球菌属,据临床情况,建议仅进行青霉素类,糖甙类,四环素,奎诺酮类等药敏实验。								
4 进行大剂量氨基糖甙类(庆大霉素及链霉素)实验如果敏感,可预测该药与青霉素,氨苄西林及万古霉素的协同效应。								

表7 嗜血杆菌属的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点, $\mu\text{g/mL}$		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
A	氨苄西林	10 μg	≤ 18	19~21	≥ 22	≥ 4	≤ 1	(1) 氨苄西林的药敏结果应当可以预测阿莫西林的敏感性。直接 β -内酰胺酶试验可以快速检测氨苄西林和阿莫西林的耐药 (2) 少见的 β -内酰胺酶阴性而氨苄西林耐药的流感嗜血杆菌(BLNAR 株)应认为耐阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、头孢克洛、头孢他美、头孢呋辛和绿碳头孢,即使一些 BLNAR 株体外显示为敏感
B	氯霉素	30 μg	≤ 25	26~28	≥ 29	≥ 8	≤ 2	
β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂复合药								见评论(5)
O	阿莫西林 克拉维酸或	20/10 μg	≤ 19	—	≥ 20	$\geq 8/4$	$\leq 4/2$	
O	氨苄西林 舒巴坦	10/10 μg	≤ 19	—	≥ 20	$\geq 4/2$	$\leq 2/1$	
头孢类(包括头孢菌素、头霉素、碳头孢烯类和氧头孢烯类)								见评论(5)
B	头孢噻肟或	30 μg	—	—	≥ 26	—	≤ 2	
B	头孢他啶或	30 μg	—	—	≥ 26	—	≤ 2	
B	头孢唑肟或	30 μg	—	—	≥ 26	—	≤ 2	
B	头孢他啶	30 μg	—	—	≥ 26	—	≤ 2	
B	头孢呋辛钠	30 μg	≤ 16	17~19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
C	头孢克洛或	32 μg	≤ 16	17~19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
C	头孢克肟	5 μg	—	—	≥ 21	—	≤ 1	
C	头孢尼西	30 μg	≤ 16	17~19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
C	头孢呋辛酯	30 μg	≤ 16	17~19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
O	头孢布烯	30 μg	—	—	≥ 28	—	≤ 2	
碳青霉烯类								
C	亚胺培南	10 μg	—	—	≥ 16	—	≤ 4	
单环内酰胺类								
C	氨基南	30 μg	—	—	≥ 26	—	≤ 2	
大环内酯类								
C	阿奇霉素或	15 μg	—	—	≥ 12	—	≤ 4	
C	克拉霉素	15 μg	≤ 10	11~12	≥ 13	≥ 32	≤ 8	
四环素类								
C	四环素	30 μg	≤ 25	26~28	≥ 29	≥ 8	≤ 2	
奎诺酮类								
C	环丙沙星或	5 μg	—	—	≥ 21	—	≤ 1	

表 7(完)

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
C	左氧氟沙星或	5 μg	—	—	≥17	—	≤2	
C	洛美沙星或	10 μg	—	—	≥22	—	≤2	
C	诺氟沙星	5 μg	—	—	≥16	—	≤2	
其他								
A	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	1.25/ 23.75 μg	≤10	11~15	≥16	≥4/76	≤0.5/ 9.5	
B	氯霉素	30 μg	≤25	26~28	≥29	≥8	≤2	
C	利福平	5 μg	≤16	17~19	≥20	≥4	≤1	
注								
1 试验条件——培养基:嗜血杆菌试验用培养基(HTM);接种液:直接菌落悬液法;孵育:35℃;5%二氧化碳;16~18 h;								
2 推荐使用质控菌株为流感嗜血杆菌 ATCC 49247 和大肠埃希菌 ATCC 35218(用于β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合药),质控允许范围见表12。								
3 对致死性感染患者的所有血和脑脊液中分离的流感嗜血杆菌,常规应当只报告氨苄西林、一种三代头孢菌素和氯霉素的药敏结果,其它适应于流行病学监测。								

表 8 淋病奈瑟菌的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
C	青霉素	10 单位	≤26	27~46	≥47	≥2	≤0.06	(1) β-内酰胺酶阳性预示着青霉素、氨苄西林和阿莫西林的耐药
头孢类(包括头孢菌素、头霉素、碳头孢烯类和氧头孢烯类)								
见评论(5)								
C	头孢克肟或	5 μg	—	—	≥31	—	≤0.25	
C	头孢噻肟或	30 μg	—	—	≥31	—	≤0.5	
C	头孢唑肟或	30 μg	—	—	≥38	—	≤0.5	
C	头孢曲松	30 μg	—	—	≥35	—	≤0.25	
C	头孢美唑	30 μg	≤27	28~32	≥33	≥8	≤2	
C	头孢替坦	30 μg	≤19	20~25	≥26	≥8	≤2	
C	头孢西丁	30 μg	≤23	24~27	≥28	≥8	≤2	
C	头孢呋辛	30 μg	≤25	26~30	≥31	≥4	≤1	
O	头孢他啶	30 μg	—	—	≥31	—	≤0.5	
四环素类								
C	四环素	30 μg	≤30	31~37	≥38	≥2	≤0.25	(2) 淋球菌对 30 μg 的四环素纸片的抑菌圈直径≤19 mm,通常提示这是一株质粒介导的四环素耐药的淋球菌
喹诺酮类								
O	环丙沙星或	5 μg	≤27	28~35	≥36	≥1	≤0.06	
	氧氟沙星	5 μg	≤24	25~30	≥31	≥2	≤0.25	

表 8(完)

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
O	洛美沙星	10 μg	—	—	≥36	—	≤0.12	
其他								
O	大观霉素	100 μg	≤14	15~17	≥18	≥128	≤32	
注								
1 试验条件——培养基:含 1%特定的生长补充品的 GC 培养基;接种液:直接菌落悬液法;孵育:35℃;5%二氧化碳;20~24 h。								
2 推荐使用质控菌株为淋病奈瑟菌 ATCC 49226,质控允许范围见表 13。								
3 对于脑膜炎奈瑟菌、氨苄西林、青霉素和利福平的纸片扩散试验不可靠,应当使用 MIC 方法。								

表 9 肺炎链球菌的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
(1)肺炎链球菌对苯唑西林的抑菌圈≥20 mm(MIC<0.06 μg/mL)的菌株对青霉素敏感,可以认为对其他青霉素类及多数头孢类基本敏感								
A	青霉素	1 μg 苯唑西林	—	—	≥20	—	≤0.06	
糖甙类								
B	万古霉素	30 μg	—	—	≥17	—	≤1	
大环内酯类								
(2)红霉素可预测其他大环内酯类敏感和耐药 (3)泌尿道分离者不做								
A	红霉素	15 μg	≤15	16~20	≥21	≥1	≤0.25	
O	阿奇霉素	15 μg	≤13	14~17	≥18	≥2	≤0.5	
O	克拉霉素	15 μg	≤16	17~20	≥21	≥1	≤0.25	
四环素类								
B	四环素	30 μg	≤18	19~22	≥23	≥8	≤2	
喹诺酮类								
B	左氧氟沙星	5 μg	≤13	14~16	≥17	≥8	≤2	
B	氧氟沙星	5 μg	≤12	13~15	≥16	≥8	≤2	
其他								
A	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	1.25/ 23.75 μg	≤15	16~18	≥19	≥4/76	≤0.5/ 9.5	
C	氯霉素	30 μg	≤20	—	≥21	≥8	≤4	(4)同(3)
C	利福平	5 μg	≤16	17~18	≥19	≥4	≤1	

表 9(完)

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
O	克林霉素	2 μg	≤15	16~18	≥19	≥1	≤0.25	(5)同(3)
注								
1 试验条件——培养基:含 1%~5%羊血的 Mueller-Hinton 琼脂;接种液:直接菌落悬液法;孵育:35℃;5%二氧化碳;20~24 h;								
2 推荐使用质控菌株为肺炎链球菌 ATCC 49619,质控允许范围见表 14。								
3 对青霉素,头孢噻肟或头孢曲松,头孢唑辛,亚胺培南等肺炎链球菌感染最好使用 MIC 方法测药敏。								

表 10 非肺炎链球菌的其他链球菌的抑菌圈直径解释标准和相对应的最小抑菌浓度(MIC)折点

试验/报告 分组	抗生素	纸片 含量	抑菌圈直径,mm			相对应 MIC 折点,μg/mL		评 论
			R	I	S	R	S	
青霉素类								
A	青霉素或	10 单位	≤19	20~27	≥26	≥4	≤0.12	(1) 对青霉素敏感的链球菌可以认为对多数头孢霉素类敏感 (2) 折点仅适用于 β-溶血链球菌。青霉素、氨苄西林和苯唑西林的纸片扩散试验对于草绿色链球菌不可靠
A	氨苄西林	10 μg	≤18	19~25	≥29	≥8	≤0.25	
头孢类(包括头孢菌素、头霉素、碳头孢烯类和氧头孢烯类)								
C	头孢噻肟或	30 μg	≤25	26~27	≥28	≥2	≤0.5	
C	头孢曲松	30 μg	≤24	25~26	≥27	≥2	≤0.5	
糖甙类								
B	万古霉素	30 μg	—	—	≥17	—	≤1	
大环内酯类								
(3) 用红霉素可以预测其它大环内酯类药的敏感和耐药 (4) 对从泌尿道分离的菌株不做药敏								
A	红霉素	15 μg	≤15	16~20	≥21	≥1	≤0.25	
O	阿奇霉素	15 μg	≤13	14~17	≥18	≥2	≤0.5	
O	克拉霉素	15 μg	≤16	17~20	≥21	≥1	≤0.25	
四环素类								
B	四环素	30 μg	≤18	19~22	≥23	≥8	≤2	
喹诺酮类								
C	氧氟沙星	5 μg	≤12	13~15	≥16	≥8	≤2	(5) 折点仅适用于 β-溶血链球菌
B	左氧氟沙星	5 μg	≤13	14~16	≥17	≥8	≤2	
其他								
B	氯霉素	30 μg	≤17	18~20	≥21	≥16	≤4	(6)同(4)
B	克林霉素	2 μg	≤15	16~18	≥19	≥1	≤0.25	(7)同(4)
注								
1 试验条件——培养基:含 1%~5%羊血的 Mueller-Hinton 琼脂;接种液:直接菌落悬液法;孵育:35℃;5%二氧化碳;20~24 h。								
2 推荐使用质控菌株为肺炎链球菌 ATCC 49619,质控允许范围见表 14。								
3 从通常无菌的部位(如脑脊液、血、骨等)分离的草绿色链球菌应当用 MIC 的方法测试其对青霉素的敏感性。								
4 因为化脓链球菌不必做青霉素的药敏试验,但是,一些无乳链球菌菌株对青霉素的药敏结果可能为中介;								

8 质量控制

8.1 目的

质控的目的是监测以下几方面：药敏试验操作的精密度与准确度，试验中试剂的情况，操作者的工作情况。

8.2 质控菌株

为了控制精密度和准确度，须从可靠来源获得质控菌株。质控菌株包括：大肠埃希菌 ATCC 25922，大肠埃希菌 ATCC 35218，铜绿假单胞菌 ATCC 27853，金黄色葡萄球菌 ATCC 25923，粪肠球菌 ATCC 29212 或 ATCC 33186，流感嗜血杆菌 ATCC 49247，流感嗜血杆菌 ATCC 49766，淋病奈瑟菌 ATCC 49226，肺炎链球菌 ATCC 49619。粪肠球菌 ATCC 29212 还用于高浓度庆大霉素纸片的质控。

日常用的质控菌株，在大豆酪蛋白消化液琼脂上或强化的巧克力琼脂 4~8℃ 保存，每周传一代。如具备有长期保存的条件，最好长期保存。日常使用的质控菌株应至少一个月更换一次，由冻干保存菌种移种或购买新菌种。

8.3 抑菌环质量控制界限

表 11、12、13、14 列出了一个质控菌株抑菌环直径允许出现的最大和最小值范围。一般情况下，每 20 个测定结果只允许有 1 个失控（即超出表中所列的控制范围）。20 个连续测定中有一个以上的结果失控都必须对操作进行修正（一旦出现第二个失控结果，马上修正）。修正后，继续观察连续 20 次测定的结果。

表 11 常用抗微生物药对三种监控微生物纸片敏感试验允许范围 (d =mm)

抗微生物药	纸片含量	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	大肠埃希氏 ATCC 25922	铜绿假单胞 ATCC 27853
阿米卡星	30 μ g	20~26	19~26	18~26
阿莫西林/克拉维酸	20/10 μ g	28~36	19~25	—
氨苄西林	10 μ g	27~35	16~22	—
氨苄西林/舒巴坦	10/10 μ g	29~37	20~24	—
阿奇霉素	15 μ g	21~26	—	—
氨曲南	30 μ g	—	28~36	23~29
羧苄西林	100 μ g	—	23~29	18~24
头孢克洛	30 μ g	27~31	23~27	—
头孢孟多	30 μ g	26~34	26~32	—
头孢唑啉	30 μ g	29~35	23~29	—
头孢他美	10 μ g	—	24~29	—
头孢克肟	5 μ g	—	23~27	—
头孢美唑	30 μ g	25~34	26~32	—
头孢唑酮	75 μ g	24~33	28~34	23~29
头孢噻肟	30 μ g	25~31	29~35	18~22
头孢西丁	30 μ g	23~29	23~29	—
头孢他啶	30 μ g	16~20	25~32	22~29
头孢布烯	30 μ g	—	27~35	—
头孢唑肟	30 μ g	27~35	30~35	12~17
头孢曲松	30 μ g	22~28	29~35	17~23
头孢呋辛	30 μ g	27~35	20~26	—
头孢噻吩	30 μ g	29~37	15~21	—
氟霉素	30 μ g	19~26	21~27	—
环丙沙星	5 μ g	22~30	30~40	25~33

表 14(完)

抗微生物药	纸片含量	ATCC 49619(直径 mm)
头孢克洛	30 μg	24~32
头孢克肟	5 μg	16~23
头孢曲松	30 μg	30~35
头孢噻吩	30 μg	26~32
头孢噻肟	30 μg	30~35
万古霉素	30 μg	20~27
氧氟沙星	5 μg	16~21
左氧氟沙星	5 μg	20~25

8.4 质控测定的次数

每批新的 Mueller-Hinton 琼脂或新的抗菌药物纸片必须用质控菌株检测。质控菌株每天与常规药敏试验一起测定,来监测整个操作过程。只有在实验结果合乎要求后,才可减少监测次数。同常规标本一起连续测定质控菌株 30 天。每种药物对每种细菌,30 个抑菌环中,超出质控允许范围的应不多于三个。达到要求,以后每周至少应测一次。如果试剂有变动,须连续监测。每周监测一次时,如发现有不合要求的结果,应立即改为每日监测,寻找原因,及时解决。

9 一些特殊细菌药敏试验的补充说明

Mueller-Hinton 培养基只适用于快速生长的细菌,此种培养基上不生长的细菌,须用特定的培养基。

9.1 嗜血杆菌药敏试验

9.1.1 培养基

嗜血杆菌药敏试验需用嗜血杆菌试验培养基(HTM),配方:Mueller-Hinton 琼脂,15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD),15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牛血红素,5 mg/mL 酵母粉,pH7.2~7.4。

配制 HTM,先配制血红素贮存液:50 mg 血红素溶于 100 mL 0.01 mol/L 热氢氧化钠溶液中,搅拌至粉末完全溶解。此贮存液 30 mL 加到 1 000 mL Mueller-Hinton 琼脂中,再加入 5 g 酵母粉。高压灭菌,冷却后,加入 3 mL NAD 贮存液(50 mg NAD 溶于 10 mL 蒸馏水,过滤除菌)。

9.1.2 操作步骤

直接用过夜培养的巧克力平板上的菌落在 Mueller-Hinton 肉汤或生理盐水中调制菌悬液,用比浊仪与 0.5 麦氏单位标准比浊管比浊,校正浓度。合格的菌液浓度为:1~4 $\times 10^8$ cfu/mL。菌液须在 15 min 内使用。

其他步骤按 6.2 操作。直径 150 mm 平板最多贴 9 张纸片。平板放 5%~7% CO_2 环境,35 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育 16~18 h ,测量抑菌环直径。

9.1.3 判定结果

嗜血杆菌应测的药物见表 2,按表 7 列出的抑菌环解释标准判定结果。

9.2 淋病奈瑟菌

9.2.1 培养基

淋病奈瑟菌药敏试验用的培养基是加有 1% 添加剂的 GC 琼脂。

9.2.2 操作步骤

直接用过夜培养的巧克力平板上的菌落在 Mueller-Hinton 肉汤或生理盐水中调制菌悬液,用比浊仪与 0.5 麦氏比浊管比浊,校正浓度。菌液须在 15 min 内使用。

其他步骤按 6.2 操作,不同之处在于:直径 150 mm 平板至多贴 9 张纸片,直径 100 mm 平板至多贴 4 张。平板放 5%~7% CO_2 环境 35 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20~24 h 后,测量抑菌环直径。

9.2.3 判定结果

淋病奈瑟氏菌应测的药物见表 2,按表 8 列出的抑菌环解释标准判定结果。

注:在 10U 青霉素纸片周围,抑菌环直径 ≤ 19 mm 的菌株,一般均产生 β -内酰胺酶,应再做 β -内酰胺酶。

9.3 肺炎链球菌和其他链球菌药敏试验

9.3.1 培养基

用加 5%脱纤维羊血的 Mueller-Hinton 琼脂做肺炎链球菌和其他链球菌的药敏试验。

9.3.2 操作步骤

直接用过夜培养的血平板上的菌落在 Mueller-Hinton 肉汤或生理盐水中调制菌悬液,用比浊仪与 0.5 麦氏单位标准比浊管比浊,校正浓度。菌液须在 15 min 内使用。

其他步骤按 6.2 操作,不同处在于:直径 150 mm 平板至多贴 9 张纸片,100 mm 平板至多贴 4 张。平板放 5%CO₂ 环境 35℃ 孵育 20~24 h 后,测量抑菌环直径。

9.3.3 判定结果

苯唑西林药敏结果只能推测肺炎链球菌对青霉素的药敏,肺炎链球菌和其他链球菌应测的药物见表 2,按表 9 列出的抑菌环解释标准判定结果。

注:对青霉素敏感的菌株,苯唑西林抑菌环直径 ≥ 20 mm。耐药和相对耐药的菌株抑菌环直径 ≤ 19 mm,须测最小抑菌浓度(MIC)。

9.4 甲氧西林耐药的葡萄球菌药敏试验

用苯唑西林而不是甲氧西林或乙氧西林检测耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)。因此,使用 1 μ g 苯唑西林纸片。

用直接菌悬液法(6.1.2)接种。检测 MRS 必须在 35℃ 孵育满 24 h(而不是 16~18 h)。借透射光仔细检查苯唑西林纸片周围抑菌环内有无细小菌落或轻微弥漫生长,有为阳性。如果纸片法结果有疑问,须以筛选试验验证。

9.5 耐药肠球菌药敏试验

9.5.1 青霉素/氨苄西林药敏试验

此类菌株应测 β -内酰胺酶。

9.5.2 万古霉素药敏试验

肠球菌的纸片法万古霉素药敏试验,平板必须孵育满 24 h,借透射光仔细检查抑菌环内有无小菌落或弥漫生长。结果为中介时应测 MIC。

9.5.3 氨基糖甙类高水平耐药试验

用高浓度庆大霉素(120 μ g)和链霉素(300 μ g)纸片筛选这类耐药菌株。无抑菌环为耐药,抑菌环 ≥ 10 mm 为非高水平耐药。抑菌环在 7~9 mm 之间再用稀释法筛选试验测定。

9.6 测定产超广谱 β -内酰胺酶的革兰阴性杆菌

克雷白菌和大肠埃希菌的临床分离株如果对头孢泊污、头孢他定、氨曲南、头孢胺噻肟或头孢三嗪的抑菌环减小,提示具有超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)。细菌产生 ESBL 时,加入棒酸,抑菌环增大。ESBL 测定的可靠方法尚在研究之中。目前可参考表 1 和表 3。

表 15 抗微生物药国内常用商品名

抗微生物药原名	译文	商品名
Amikacin	阿米卡星	丁胺卡那霉素
Amoxicillin/clavulanic acid	阿莫西林/克拉维酸	安灭菌,安美汀,奥格门汀
Ampicillin/sulbactam	氨苄西林/舒巴坦	优力新,舒氨新
Azithromycin	阿奇霉素	泰力特,希舒美
Aztreonam	氨曲南	菌克单
Carbenicillin	羧苄西林	羧苄青霉素

表 15(完)

抗微生物药原名	译 文	商 品 名
Cefaclor	头孢克洛	希刻劳
Cefamandole	头孢孟多	头孢羟唑
Cefazolin	头孢唑啉	先锋 V
Cefixime	头孢克肟	世福素
Cefmetazole	头孢美唑	先锋美他醇
Cefoperazone	头孢哌酮	先锋必素
Cefotaxime	头孢噻肟	凯福隆
Cefoxitin	头孢西丁	美福仙
Ceftazidime	头孢他啶	复达欣, 凯复定
Ceftibuten	头孢布烯	先力腾
Ceftizoxime	头孢唑肟	益保世灵
Ceftriaxone	头孢曲松	罗氏芬, 菌必治, 头孢三嗪
Cefuroxime	头孢呋辛	西力辛
Ciprofloxacin	环丙沙星	悉复欢, 特美力
Clarithromycin	克拉霉素	克拉仙
Clindamycin	克林霉素	氯林可霉素
Imipenem	亚胺培南	泰能, 伊米配能, 亚胺硫霉素
Minomycin	米诺环素	美满霉素, 二甲胺四环素
Moxalactam	拉氧头孢	噻吗啉
Netilmicin	奈替米星	立克菌星, 乙基西梭霉素
Norfloxacin	诺氟沙星	氟哌酸
Ofloxacin	氧氟沙星	氟嗪酸, 奥复星
Piperacillin	哌拉西林	氧哌嗪青霉素
SMZ	磺胺甲恶唑	复方新诺明, 复方磺胺
Ticarcillin	替卡西林	羧噻吩青霉素
Ticarcillin/clavulanic acid	替卡西林/克拉维酸	特美汀