

利用 CLSI M100 文件提高临床微生物检验带教带学能力*

李泰阶¹, 刘志明^{2△}

(广西医科大学第一附属医院:1. 检验科;2. 胃肠腺体外科, 南宁 530021)

摘要: 美国临床和实验室标准协会(CLSI)是美国国家标准协会最早认定的标准制定机构,其制定的微生物临床检验标准及操作规范被视为相关检验领域的金标准。临床微生物室教师充分利用 CLSI M100 文件,结合工作实际,通过系统化、规范化、标准化的带教带学,让实习同学对药物敏感试验的相关知识有深入的理解并熟练掌握,提高临床微生物检验带教带学能力。

关键词: 临床和实验室标准协会; 临床微生物检验; 教学

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 04. 056

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2017)04-0564-02

临床微生物检验是一门实践性、应用性要求很强的学科,是检验医学中非常重要的专业之一。它综合了临床医学、免疫学、医院流行病学和细菌耐药监测等多方面的知识和技能,为临床感染性疾病的快速准确诊断和有效治疗提供方案。检验专业实习同学在临床微生物室实习时间较短,为了让实习同学在有限的时间内掌握临床微生物药物敏感试验的相关知识,临床微生物室教师充分利用 CLSI M100 文件^[1],结合工作实际,通过系统化、规范化、标准化的带教带学,让实习同学对药物敏感试验的相关知识有深入的理解并熟练掌握。

1 美国临床和实验室标准协会(CLSI) M100 文件简介

CLSI 是美国国家标准协会最早认定的标准制定机构,其制定的微生物临床检验标准及操作规范被视为相关检验领域的金标准。自 1998 年,卫生部把 CLSI 制定的药敏标准定为我国的部颁标准。CLSI M100 文件主要涉及抗菌药物分组、各类细菌的 CLSI 的药敏折点及室内质控标准等,由表 1~8、附录和术语组成^[2-3]。

2 CLSI M100 文件学习要点

2.1 CLSI M100 文件表 1 的学习要点 表 1 的主要内容是建议临床实验室常规药敏试验及报告中要选择的药物。临床微生物室工作人员从标本中分离出致病菌后,应当进行药物敏感试验。抗菌药物种类繁多,选择哪些药物进行药物敏感试验是必须解决的首要问题。CLSI M100 文件表 1 把临床分离的细菌进行分类,同时将抗菌药物进行分组,A 组为首选试验并常规报告的抗菌药物;B 组为首选试验并选择性报告的抗菌药物;C 组为补充试验并选择性报告的抗菌药物;U 组为补充试验仅适用于泌尿道分离的抗菌药物。实验室从尿液中分离出大肠埃希菌后,药物敏感试验应当采用 CLSI M100 文件表 1 中的肠杆菌科标准,按照抗菌药物分组要求选择 A、B、C、U 组药物进行药物敏感试验^[4-5]。

2.2 CLSI M100 文件表 2(A-J)的学习要点

2.2.1 表 2 的适用范围 表 2 的主要内容是每组细菌药敏试验的判断标准,包括试验条件,质控建议,常规试验和报告中应选择药物推荐和判断折点等^[6]。表 2 学习的难点是每个表的适用范围,换个角度来说临床分离的细菌应当采用哪个标准来进行药物敏感试验的折点判断。肠杆菌科的细菌采用表

2A;非发酵菌采用表 2B;葡萄球菌采用表 2C;肠球菌采用表 2D 等。非发酵菌采用表 2B 又细分为 5 个表,铜绿假单胞菌采用表 2B1;不动杆菌属采用表 2B2;洋葱伯克霍尔德菌采用表 2B3;嗜麦芽窄食单胞菌采用表 2B4;表 2B5 适用范围:除铜绿假单胞菌、不动杆菌属、洋葱伯克霍尔德菌、嗜麦芽窄食单胞菌、鼻疽伯克霍尔德菌和假鼻疽伯克霍尔德菌以外的非发酵菌。弧菌科细菌采用 CLSI M45 号文件标准,而不是采用 CLSI M100 文件表 2B5。肺炎链球菌采用表 2G;β 溶血链球菌采用表 2H1;草绿色链球菌采用表 2H2。

2.2.2 表 2 的部分耐药规则 肠杆菌科细菌中的沙门菌属和志贺菌属,对头孢一代、头孢二代、头孢霉素类和氨基糖苷类药物天然耐药。沙门菌与非沙门菌在环丙沙星和左氧氟沙星的判断折点不同。CLSI M100 文件新增头孢吡肟对肠杆菌科剂量依赖性敏感(SDD)判断标准^[7]。采用现行标准,不用常规开展超广谱 β 内酰胺酶实验和改良 Hodge 试验^[8-9]。四环素敏感可推导米诺环素和多西环素敏感,但中介和耐药不能推导米诺环素和多西环素中介和耐药^[10]。非发酵菌中的铜绿假单胞菌,临床诊断为囊性纤维化患者,药敏试验应延长至 24 h 判断;重复分离株治疗 3~4 d 后,应重新检测药敏。嗜麦芽窄食单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌对多种抗菌药物天然耐药,药物敏感试验药物较少,部分药物只有肉汤稀释法。适用于表 2B5 的细菌只有肉汤稀释法的标准,没有纸片扩散法标准。

金黄色葡萄球菌/路登葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌在苯唑西林、头孢西丁、万古霉素判断折点不同。苯唑西林、万古霉素药物敏感试验仅有 MIC 法。判断葡萄球菌对 β 内酰胺类药物的敏感度时,仅需检测苯唑西林和青霉素的敏感度。苯唑西林耐药,推导其他所有 β 内酰胺类药物耐药。苯唑西林敏感,同时青霉素耐药,推导葡萄球菌对不耐酶的青霉素耐药(氨苄西林、阿莫西林、羧苄西林、哌拉西林和替卡西林),对耐酶的青霉素敏感。苯唑西林敏感,同时青霉素敏感,应检测该菌株是否产 β-内酰胺酶。β-内酰胺酶阴性,修正青霉素为耐药;β-内酰胺酶阴性,青霉素为敏感。红霉素耐药,克林霉素中介或敏感时,需进行克林霉素诱导耐药试验。

肠球菌属药敏试验中氨苄西林敏感可预测阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/三唑

* 基金项目:广西壮族自治区卫生厅科研资助项目(桂卫 Z2012092)。

△ 通信作者, E-mail: liuzhiminggy@163. com。

巴坦的敏感度;但不能预测青霉素敏感度。青霉素敏感可预测氨苄西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/三唑巴坦的敏感度。对万古霉素耐药的屎肠球菌报告奎奴普汀/达福普汀。

非脑膜炎分离的肺炎链球菌药敏试验中苯唑西林抑菌圈 ≥ 20 mm 时,可预测青霉素敏感,最低抑菌浓度(MIC) ≤ 0.06 $\mu\text{g/mL}$,可预报氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸等多种 β -内酰胺类抗菌药物敏感。苯唑西林抑菌圈 < 20 mm 时,应检测青霉素、头孢噻肟、头孢曲松、美罗培南的 MIC 值。红霉素可预报阿奇霉素、克拉霉素和地红霉素的敏感和耐药。左氧氟沙星敏感可预报吉米沙星、莫西沙星敏感;但吉米沙星或莫西沙星敏感不能预报左氧氟沙星敏感。

大菌落化脓性 β -溶血群菌株包括携带 A(化脓链球菌)、C 或 G 群抗原和 B 群抗原(无乳链球菌)应采用表 2H1 的判断标准。青霉素敏感则视为对多种 β -内酰胺类抗菌药物敏感;仅用于 A 群 β -溶血链球菌的药物包括头孢克洛、头孢丙烯、头孢布烯、头孢呋辛、头孢泊肟和头孢匹林。红霉素可预报阿奇霉素、克拉霉素和地红霉素的敏感和耐药。小菌落的 β -溶血菌株携带有 A、C、F 或 G 群,咽峡炎链球菌过去称为“米勒链球菌”抗原,这些细菌作为草绿色菌群的一部分,应使用表 2H2 草绿色链球菌的判读标准。

2.3 CLSI M100 文件表 3 的学习要点 表 3 主要介绍了检测特殊耐药类型的菌株或菌群的筛选试验或其他试验。它包括了肠杆菌科的超广谱 β -内酰胺酶的初筛试验和确认试验;碳青霉烯酶确认试验。葡萄球菌属的 β -内酰胺酶的筛选试验;苯唑西林耐药筛选试验;葡萄球菌和肠球菌对万古霉素的筛选试验。阳性球菌的诱导克林霉素耐药筛选试验。肠球菌对高水平氨基糖苷类耐药的筛选试验。带教教师在讲解这部分内容时,应当严格按照标准执行试验,同时应强调执行试验的前提条件。

2.4 CLSI M100 文件表 4、5 的学习要点 表 4、5 提供了 CLSI 推荐质控菌株的纸片扩散法和 MIC 法的质控范围,质控频率,质控脱靶的解决指南。临床微生物室应根据实验室工作实际,选择相关的抗菌药物和标准菌株,按照 CLSI 文件的标准、频率开展室内质量控制,发现失控后应分析原因。分析原因时包括药物的浓度、药物是否失效、标准菌株的质量、药敏平板的质量、菌液浓度、操作人员的熟练程度等多个因素的影响。

2.5 CLSI M100 文件附录的学习要点 附录 A 主要涉及药敏试验结果和细菌的鉴定结果,需要进一步确认的建议。附录 A 中的细菌药敏试验出现 I 类或 II 类情况时,应当重新试验进行表型确认。附录 B 涉及细菌的天然耐药,细菌对某类抗菌药物体外试验敏感,但体内试验无效。实验室在报告该细菌对该抗菌药物敏感试验时应当删除该药物或者修正为耐药。

2.6 CLSI M100 文件术语的学习要点 术语主要包括抗菌药物分类、通用名称、给药途径、药物缩写等。同学们在学习时应当熟练掌握抗菌药物的基础知识,同时掌握抗菌药物的作用机制。CLSI M100 文件是临床微生物检验工作中非常重要的标准。临床微生物室工作人员必须严格按照 CLSI M100 文件里的标准执行,才能获得正确的实验结果,才能为临床感染性疾病的快速准确诊断和有效治疗提供方案^[1]。临床微生物室教师充分挖掘 CLSI M100 文件,结合工作实际,通过系统化、规范化、标准化的带教带学,让实习同学对药物敏感试验的相关知识有深入的理解并熟练掌握,提高临床微生物检验带教带学能力。

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-25 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Wayne PA, UAS; CLSI, 2015.
- [2] 张雅薇,王辉. 2016 年 CLSI M100S(第 26 版)主要更新内容解读[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(3): 165-169.
- [3] 张雅薇,王辉. 2015 年 CLSI M100-S25 主要更新内容介绍[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(4): 229-232.
- [4] 孙长贵,成军,杨燕. 2015 年 CLSI M100-S25 文件主要更新内容解读[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(4): 241-245.
- [5] 张雅薇,王辉. 2014 年 CLSI M100-S24 主要更新内容解读[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(4): 256-260.
- [6] 孙长贵,陈民钧. 临床微生物学实验室应关注 CLSI 文件 M100 变化[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(8): 673-675.
- [7] 林伟苗,邱芳华,李秋明,等. CLSI 头孢吡肟折点改变对肠杆菌科细菌的药敏变化分析[J]. 广州医药, 2016, 47(2): 14-17.
- [8] 刘文静,杨启文,徐英春,等. 2010 年 CLSI 三代头孢菌素折点改变对我国大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌及奇异变形杆菌药物敏感性结果解释的评估[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(10): 942-947.
- [9] 江洋,许伟伟,熊自忠,等. CLSI 三代头孢菌素新旧折点对判定大肠埃希菌药物敏感性及其产 ESBLs 菌株分布的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(3): 335-337.
- [10] 黄秋兰,候慧丽,范德平,等. CLSI 头孢菌素新、旧药敏折点对产 ESBLs 菌药物敏感性结果评估[J]. 实用预防医学, 2013, 20(2): 142-144.
- [11] 王辉,史红. 引进 CLSI 微生物检验标准促进实验室标准化进程[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(6): 485-487.

(收稿日期:2016-09-10 修回日期:2016-11-01)