

多黏菌素类与替加环素及头孢他啶/阿维巴坦药敏方法和报告专家共识

中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会 中华医学会检验医学分会
临床微生物学组 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组
通信作者:王辉,Email:whuibj@163.com

【摘要】 多黏菌素类、替加环素和头孢他啶/阿维巴坦是目前多重耐药和泛耐药革兰阴性菌等感染的治疗选择,业界对其敏感性检测方法操作的标准化、折点和结果的判读、报告等有困惑。中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会、中华医学会检验医学分会临床微生物学组、中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组组织专家对上述问题进行了讨论并撰写了专家共识,对一些关键问题给出了推荐意见和处理方法,希望能为临床处置、实验室工作提供合理、实用的帮助。

【关键词】 抗微生物药物敏感性试验; 多黏菌素类; 替加环素; 头孢他啶/阿维巴坦; 共识

Expert consensus on polymyxins, tigecycline and ceftazidime/avibactam susceptibility testing
Society of Clinical Microbiology and Infection of China International Exchange and Promotion Association for Medical and Healthcare, Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association
Corresponding author: Wang Hui, Email: whuibj@163.com

【Abstract】 Polymyxins, Tigecycline and Ceftazidime/avibactam are treatment options for multidrug-resistant and pan drug-resistant gram-negative bacteria, etc. However, there are problems about the operation standardization, breakpoint, interpretation and report of the susceptibility test. Experts from the Society of Clinical Microbiology and Infection of China International Exchange and Promotion Association for Medical and Healthcare, the Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, and the Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association discussed the above problems, wrote the expert consensus, and gave recommendations for some key issues. Hope to provide reasonable and practical guidance for the clinical management and laboratory work.

【Key words】 Antimicrobial susceptibility testing; Polymyxins; Tigecycline; Ceftazidime-avibactam; Consensus

近年来,多重耐药特别是碳青霉烯类耐药革兰阴性菌感染率逐渐增加,而可供选择的药物有限。一些新抗菌药物陆续在国内外上市,准确可靠的药敏敏感性检测和报告对临床合理用药至关重要。

目前,检测人员对这些抗菌药物敏感性检测操作的标准化、折点的选择、结果判读以及药敏报告屡有困惑。本共识汇集了国内临床微生物学、呼吸病学、感染病学、重症医学、血液病学和临床药学等专

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200719-00619

收稿日期 2020-07-19 本文编辑 武昱

引用本文:中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会,中华医学会检验医学分会临床微生物学组,中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组.多黏菌素类与替加环素及头孢他啶/阿维巴坦药敏方法和报告专家共识[J].中华检验医学杂志,2020,43(10):964-972. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200719-00619.



家的专业意见和建议,结合国内外文献、国内耐药状况和国内药敏方法的可及性,对目前上市的最后防线类药物——多黏菌素类、替加环素和头孢他啶/阿维巴坦的药敏检测方法和折点选择等问题提出了推荐建议。

一、多黏菌素类

(一) 药物特点和国内上市情况

多黏菌素类是一类聚阳离子多肽。主要杀菌机制是药物所带的正电荷与细菌细胞膜上的负电荷脂多糖结合,进而破坏细胞膜发挥杀菌作用^[1]。多黏菌素类抗菌谱窄,主要对肠杆菌目、气单胞菌属和一些非发酵菌(如铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌等)具有体外活性,而革兰阳性菌、厌氧菌、支原体、衣原体、变形杆菌属、摩根菌属、沙雷菌属等对其天然耐药^[2-3]。获得性耐药机制主要包括染色体介导 *phoPQ*、*pmrAB*、*mgrB* 等突变和质粒介导的可移动黏菌素耐药基因 *mcr* 导致。

用于临床抗感染治疗的药物主要有多黏菌素 B 和多黏菌素 E(即黏菌素)两类。注射用硫酸多黏菌素 B、硫酸黏菌素分别于 2017 年 9 月和 2018 年 3 月在我国大陆地区上市。硫酸黏菌素与国外普遍使用的甲磺酸黏菌素不同,前者本身为活性成分,在体内直接起效,而后者需在体内转化为活性的黏菌素才起效,因此硫酸黏菌素与甲磺酸黏菌素的给药剂量不可等量换算。

(二) 药敏试验方法

1. 药敏试验面临的困境:多黏菌素类分子量大,在琼脂内不易扩散,2017 年临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)不再推荐错误率高的纸片扩散法、琼脂扩散法和浓度梯度扩散法(包括 E 试验)^[4-5]。进口自动化检测系统假敏感率高,因无法检测 *mcr* 阳性菌株而被美国食品及药品监督局(Food and Drug

Administration, FDA)召回了相应板条;唯一国际批准和认可的方法微量肉汤稀释法(broth microdilution, BMD)因其手工操作复杂、耗时长,实验室很难常规开展。很多获批的国产药敏检测系统虽然含有多黏菌素类,但其和金标准 BMD 方法的一致性,特别是其对 *mcr* 阳性菌株的检测性能均未见相关文献报道。2020 年,CLSI 仅仅给出了多黏菌素类中介和耐药折点^[6](表 1),而无敏感折点,这更使实验室和临床陷入困境。

2. 药敏试验指征:建议如下情况进行多黏菌素类的药敏试验:(1)在肠杆菌目、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类耐药比例高的医疗机构,常规检测和报告该药的药敏结果。通常认为,碳青霉烯类药物耐药率达到或超过 15%~20% 时,宜开展多黏菌素类的药敏试验。(2)临床分离株确定为感染的病原菌,医生考虑用多黏菌素类治疗时,需补充测试并报告该药的药敏结果。(3)耐药监测、流行病学调查和科学研究需要时。

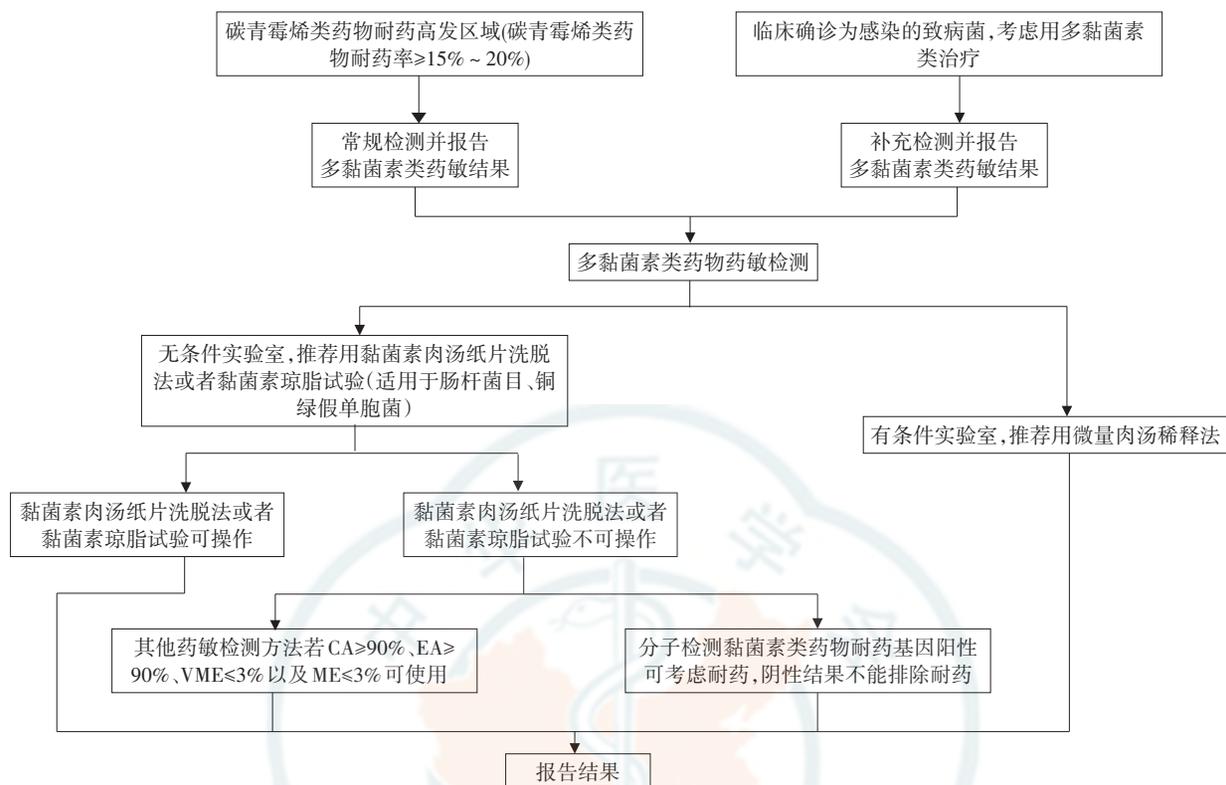
3. 药敏试验方法的选择建议:(1)BMD 是多黏菌素类药敏检测的金标准,有条件的实验室可以开展。(2)黏菌素肉汤纸片洗脱法(colistin broth disk elution, CBDE)和黏菌素琼脂试验(colistin agar test, CAT)用于肠杆菌目、铜绿假单胞菌对黏菌素的敏感性检测,不适用于鲍曼不动杆菌。(3)在体外试验中,黏菌素和多黏菌素 B 是等效药,前者可预测后者的结果,反之亦然。(4)不推荐琼脂稀释法、纸片扩散法和浓度梯度扩散法。(5)目前不推荐自动化或半自动化仪器检测多黏菌素类的耐药性。(6)曾经获批的商品化试剂,需要重新评价其对含 *mcr* 等耐药基因的临床株的检测能力。通过实验室的性能验证后,才可以用于临床。多黏菌素类体外药敏检测流程参考图 1。

4. 推荐的药敏试验注意事项:不同方法的注意

表 1 多黏菌素类的药敏试验折点(mg/L)

菌株名称	药物名称	CLSI M100 2020 版			EUCAST v10.0 版			CLSI M100 2019 版				
		敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药	WT	NWT
鲍曼不动杆菌	多黏菌素 B	-	≤2	≥4	-	-	-	≤2	-	≥4	-	-
	多黏菌素 E	-	≤2	≥4	≤2	-	>2	≤2	-	≥4	-	-
铜绿假单胞菌	多黏菌素 B	-	≤2	≥4	-	-	-	≤2	4	≥8	-	-
	多黏菌素 E	-	≤2	≥4	≤2	-	>2	≤2	-	≥4	-	-
肠杆菌目	多黏菌素 B	-	≤2	≥4	-	-	-	-	-	-	≤2	≥4
	多黏菌素 E	-	≤2 ^a	≥4	≤2	-	>2	-	-	-	≤2	≥4

注:CLSI 为临床和实验室标准化协会,EUCAST 为欧洲药敏试验委员会,WT 为野生株(未检测出相关耐药机制的菌株),NWT 为非野生株(存在某种耐药机制的菌株),“-”为无相关推荐。^a解释见 CLSI M100 2020 版



注:CA 示分类一致性,EA 示基本一致性,VME 示极重大错误,ME 示重大错误

图 1 多黏菌素类体外药敏检测流程图

事项如下。

BMD 法:多黏菌素黏度高,早期 BMD 需要添加表面活性剂聚山梨酯 80,但这会导致药物 MIC 降低并漏检 *mcr* 阳性菌株^[7-9],因此目前不推荐添加聚山梨酯 80。

CBDE 法:10 ml 的阳离子调节 MH 肉汤 (cation-adjusted Mueller-Hinton broth, CAMHB) 管分别加入不同量的 10 μg 黏菌素纸片,使其浓度分别为 0、1、2 和 4 mg/L。加入终浓度为 7.5×10⁵ CFU/ml 的待测菌液,培养 16~20 h 读取结果。要求接种物必须为纯培养,注意检查生长对照管,有些铜绿假单胞菌可能只在近液面生长,读取完全抑制受试菌生长的最低浓度为 MIC。

CAT 法:制备含 0、1、2 和 4 mg/L 倍比稀释的黏菌素琼脂平板,每块平板最多可测 10 株菌。0.5 麦氏浊度菌 1:10 稀释后取 10 μl,用接种环划线于黏菌素琼脂平板,孵育 16~20 h 读取结果。读取时使用透射光检查黏菌素平板,出现菌落或者薄雾状菌膜为生长。目前还没有商品化的 CAT 平板。CAT 法操作较 CBDE 复杂,适合样本量大的实验室。

5. 其他药敏方法的适用性和分子检测技术:实验室若开展其他药敏试验方法(表 2),首先应与参

考方法(BMD)就以下指标进行比对评估:分类一致性(category agreement, CA)、基本一致性(essential agreement, EA)、假敏感(极重大错误,very major error, VME)以及假耐药(重大错误,major error, ME)等,以综合判读其可靠性。可接受的标准是:CA≥90%、EA≥90% (适用时)、VME≤3% 以及 ME≤3%^[10]。

多黏菌素类耐药机制复杂多样,不同菌种耐药机制不同,分子检测不易常规开展。建议有条件的实验室,可以采用实验室自建方法(laboratory developed test, LDT)——多重 PCR 检测 *mcr-1* 到 *mcr-5* 基因^[19]。通常,*mcr* 基因阳性结果考虑耐药,而阴性结果不能排除耐药。建议结合表型检测结果进行解释。

6. 药敏折点的选择:表 1 显示了 CLSI 和欧洲抗微生物药物敏感性委员会(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)关于多黏菌素类药敏折点情况。由于国内用于治疗多重耐药菌和泛耐药菌感染的药物非常有限,考虑治疗用药的可及性和临床的需求,推荐暂时使用 EUCAST 10.0 版的折点^[20],其次可参考 2019 CLSI 文件推荐的流行病学界值(epidemiological cutoff

表 2 多黏菌素类不同药敏检测方法优缺点

方法	菌株	敏感度 (%)	特异度 (%)	优点	缺点	文献
快速黏菌素 NP 试验	肠杆菌目	99.3	95.4	便宜、易操作、2 h 内出结果	pH 的变化会影响其结果的判读;不能区分是质粒介导还是染色体介导;对于低水平耐药的菌株颜色变化不明显	[11]
改良快速黏菌素 NP 试验	<i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌	96.7	100	快速、简单易操作、敏感度、特异度较强	易出现假阴性结果	[12]
Colistin-MAC test	肠杆菌目	96.7	100	可检测 <i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌	不适用于肺炎克雷伯菌;对于 MIC 值降低至原来的 1/4 的菌株需要复核;需要制备特殊的检测板;费时费力成本高	[13]
EDTA 联合纸片试验	<i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌	96.7	89.6	对黏菌素耐药的大肠埃希菌检测结果准确	对 MIC ≤ 2 mg/L 的 <i>mcr-1</i> 阳性菌株无法检测;对 <i>mcr-1</i> 阳性黏菌素耐药的肺炎克雷伯菌不适用	[12]
基于 EDTA 的肉汤稀释法	<i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌	96.7	83.8	对高水平耐药 <i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌检测结果准确	对黏菌素耐药不产 <i>mcr</i> 的大肠埃希菌也表现为阳性结果	[12]
电动电位测定	<i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌	95.1	100	可检测 <i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌	对黏菌素敏感 <i>mcr-1</i> 阳性的大肠埃希菌出现假阴性结果;电解液 pH 值对结果影响大	[12]
液相色谱串联质谱法	多重耐药革兰阴性菌	100	100	可在 90 min 内检出 <i>mcr-1</i> 蛋白的特异性肽	对仪器的依赖性强,对试剂的要求高,需要更多的 <i>mcr-1</i> 阳性菌株来验证	[14]
质谱法	革兰阴性菌	-	-	15 min 内出结果;高通量、精确、快速、经济;可以区分染色体介导还是质粒介导的黏菌素耐药	对仪器的依赖性强,检测黏菌素耐药需要调换模式	[15]
侧流层析免疫法	肠杆菌目	100	98.0	15 min 内可检测出 <i>mcr-1</i> 阳性的肠杆菌目细菌,对于 <i>mcr-2</i> 的阳性菌株也可检测	对 <i>mcr-1</i> 耐药基因阳性但是表达水平低或者不表达的菌株易出现假敏感	[16]
CBDE±EDTA	肠杆菌目	100	95.8	操作简单;可初步鉴定质粒介导的黏菌素耐药	会出现假阳性的结果;阳性结果需要复核	[17]
黏菌素琼脂斑点筛选试验	肠杆菌目	100	100	敏感度、特异度高,可初步鉴定质粒介导的黏菌素耐药	黏菌素在琼脂上扩散慢,结果可靠性需要更多的研究数据证实	[18]

注:NP 为 Nordmann/Poirel 试验,EDTA 为乙二胺四乙酸,CBDE 为黏菌素肉汤纸片洗脱法,*mcr* 为黏菌素耐药基因,MIC 为最低抑菌浓度;“-”示无数据

value, ECV)^[21],暂不使用 2020 年 CLSI 新版折点^[6]。如使用,请在报告单备注该药仅有中介和耐药折点,而无敏感判断的折点。

各医疗机构药事委员会或抗菌药物管理委员会,可召集临床微生物学、临床医生(至少包括感染科、呼吸科、重症医学科、血液科等)、临床药师和感控同仁,对上述判定标准进行讨论和确认。

7. 多黏菌素类的药敏结果报告:当体外试验结果中有其他多种药物敏感时,不报告多黏菌素类的药敏结果。如报告,建议报告其具体 MIC 值和结果解释(图 2)。建议报告单备注:(1)黏菌素的 MIC 值可用于预测多黏菌素 B 的 MIC 值。(2)该药临床疗效有限,需关注肾毒性。(3)如需使用,应给予负荷剂量,并根据肾功能给予最大推荐剂量。(4)如可

能,多黏菌素类应和其他活性药物联合使用。(5)折点不适用于多黏菌素类吸入疗法,尚未建立吸入剂型折点。给药剂量等见文献[22]。

二、替加环素

(一)药物特点和国内上市情况

替加环素是甘氨酸环素类抗菌药物,是半合成四环素米诺环素的衍生物,2012 年初在我国批准上市^[23]。该药主要是与细菌核糖体 30S 亚基结合,阻碍氨酰-tRNA 进入核糖体 A 位点,通过抑制细菌蛋白质合成而发挥抗菌作用^[24]。其抗菌谱广,对革兰阳性球菌、革兰阴性杆菌(不包括铜绿假单胞菌及部分变形杆菌)、厌氧菌以及非典型病原体等都具有良好的抗菌活性^[25]。其耐药主要是由于染色体介导的耐药结节分化家族(resistance-nodulation

XXX 医院临床微生物学实验室药敏报告单				
姓名:XX	性别:XX	年龄:XX	标本类型:血	
科室:XX	病房:XX	病床:XX	病历号:XX	
ID号:XX	送检医生:XX	诊断:发热待查	申请项目:需氧培养	
涂片结果:阳性血培养瓶涂片找到革兰阴性杆菌				
培养结果:肺炎克雷伯菌 耐药表型:CRE(碳青霉烯耐药肠杆菌目)			阳性报警时间:8小时	
抗菌药物	折点或 ECV(mg/L)	KB 直径(mm)	MIC(mg/L)	解释分类
改良碳青霉烯灭活试验(mCIM)				阳性
EDTA-碳青霉烯灭活试验(eCIM)				阴性
丝氨酸型碳青霉烯酶 ^a				阳性
哌拉西林/他唑巴坦	≤16/≥128		≥128	R
替卡西林/克拉维酸	≤16/≥128		≥128	R
氨曲南	≤4/≥16		≥64	R
头孢他啶	≤4/≥16		≥64	R
头孢吡肟	≤2/≥16		≥32	R
亚胺培南	≤1/≥4		≥16	R
美罗培南	≤1/≥4		≥16	R
环丙沙星	≤0.25/≥1		≥4	R
左氧氟沙星	≤0.5/≥2		≥8	R
阿米卡星	≤16/≥64		≥64	R
妥布霉素	≤4/≥16		≥16	R
米诺环素	≤4/≥16		≥16	R
多西环素	≤4/≥16		≥16	R
替加环素 ^b	≤2/≥8		1.00	S
黏菌素 ^c	≤2		≤0.5	WT 或者 S
备注:该菌为 CRE,需加强院感管理,防止院内传播				
^a 该菌株产丝氨酸型碳青霉烯酶,提示头孢他啶/阿维巴坦体外可能有活性				
^b 替加环素血药浓度峰值为 0.63~0.87(mg/L)。建议根据 MIC 调整剂量并联合用药				
^c 1.黏菌素的 MIC 值可用于预测多黏菌素 B 的 MIC 值				
2.该药不作为优先选择的抗菌药物,建议优先选择其他有活性的抗微生物药物治疗				
^c 3.如需要,给予负荷剂量时,根据肾功能给予最大推荐剂量				
^c 4.黏菌素报“WT”时,参考 CLSI M100 2019 版的流行病学界值;报“S”时,参考 EUCAST 10.0 版本 2020 年折点				
报告单缩写:S:敏感 I:中介 R:耐药 ECV:流行病学界值 WT:野生型,未检测出相关耐药机制的菌株				
送检时间:XXX	接收时间:XXX	报告时间:XXX	检验者:XX	审核者:XX
实验室地址:XX	联系电话:XX			

图2 药敏试验结果报告单示例

cell division, RND)主动外排系统激活所致。

(二)药敏试验方法

1.药敏试验面临的困境:替加环素理化性质不稳定,不宜在光线或空气中久置。金标准 BMD 操作复杂,耗时长。E 试验检测 MIC 值偏高,在我国尚未获批;MIC 试条(MIC test strip, MTS)适合科研用。Vitek 2 系统检测的替加环素药敏结果在验证阶段缺少足够的耐药菌株,且整体 MIC 偏高,假耐药菌株多^[26-27]。BD Phoenix 系统的检测结果存在较高的中介相关错误^[28];国产半自动和自动化系统在产品说明书中未注明限制条件,也未见相关性验证和评估的报告或文献。需要关注的是,这些板子

中替加环素的浓度范围各异,如天地人(TDR One-96 和 NF-96)板为 1~8 mg/L 4 个浓度,而珠海美华肠杆菌板为 0.25、1 和 2 mg/L 3 个浓度,而珠海迪尔 DL-96 板仅包含 0.25 mg/L 和 0.5 mg/L 两个浓度。纸片扩散法检测时应仔细判读靠近折点的结果。

2.药敏试验指征:建议碳青霉烯类耐药革兰阴性菌发生率高(超过 15%)的医疗机构常规检测和报告替加环素的药敏结果。建议对腹腔感染病原菌常规检测和报告药敏结果。其他药敏试验时机同多黏菌素类。

3.药敏试验方法的选择:BMD 是替加环素药敏检测的金标准。可检测快速生长的需氧菌或兼性

厌氧菌,不适用于厌氧菌。纸片扩散法可用于检测常见的快速生长菌和部分苛养菌,若结果敏感可直接报告;中介或耐药时,需用其他方法进行结果复核。使用自动化仪器(包括国产品牌)时,首先要关注药敏板中替加环素的浓度范围是否和折点相匹配,其次一定要选取不同表型的菌株进行性能验证,通过后方可使用。建议对于进口自动化药敏系统,如结果敏感可直接报告;中介或耐药时,均需要用其他方法进行复核(如BMD);不推荐使用E试验方法进行检测^[29]。替加环素药敏检测和报告流程参见文献[23]。

4. 推荐的药敏试验注意事项:进行微量肉汤稀释法时,配制替加环素母液以及倍比稀释液应注意避光保存,不宜在空气中久置,肉汤必须为实验当天配制新鲜的肉汤。琼脂稀释法检测某些菌种对替加环素药敏时,检测结果略高于BMD^[30-31]。替加环素的纸片保存非常重要,纸片保存应低于8℃,干燥、避光保存。

5. 其他药敏方法的适用性和分子检测技术:替加环素耐药机制复杂,主要是外排系统高表达,且表型和基因型之间匹配度很低。因此目前尚无其他表型和分子技术可用于检测病原菌对替加环素的耐药性及其相关机制。

6. 药敏折点的选择:CLSI没有替加环素的药敏折点。对于大多数菌属,美国FDA和中国国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)折点和EUCAST的MIC折点很相似,而最大区别在于肠杆菌目(表3),EUCAST折点比FDA折点低很多。本文建议使用FDA/NMPA折点。对于纸片扩散法,由于EUCAST

无中介折点,报告结果很容易出现假耐药或假敏感,因此建议使用FDA/NMPA折点。

7. 药敏结果报告建议:(1)报告替加环素药敏结果时,应注明所用的折点来源。(2)不检测天然耐药的细菌,如铜绿假单胞菌、摩根摩根菌、变形杆菌属、普罗威登斯菌等。(3)当待测菌对多种药物敏感时,不建议报告待测菌对该药的药敏结果。(4)不报告泌尿道标本分离的菌株对该药的药敏结果。(5)对于碳青霉烯类耐药的肠杆菌目细菌,建议报告MIC值,并在备注中提示联合用药。

目前替加环素给药剂量为:首剂100 mg,然后50 mg/12 h。静脉输注时间为每12小时给药一次,每次约30~60 min。研究显示该剂量偏低,会影响治疗效果^[32]。建议沟通或会诊时提示临床。

三、头孢他啶/阿维巴坦

(一)药物特点和国内上市情况

头孢他啶/阿维巴坦是FDA批准的第一个用于治疗碳青霉烯类耐药肠杆菌目所引起感染的新型β内酰胺合剂。2019年5月该药在我国上市。其主要抗菌机制是阿维巴坦抑制多种类型的β内酰胺酶,进而保护头孢他啶的杀菌作用^[33]。阿维巴坦对各类β内酰胺酶有广泛的抑制活性,包括A类酶[如cefotaximase (CTX-M)-15、*K. pneumoniae* carbapenemase (KPC)-2等]、C类酶和某些D类酶[如oxacillinase (OXA)-48],但对B类金属酶无抑制能力^[34]。头孢他啶/阿维巴坦对大多数产AmpC、KPC和超广谱β内酰胺酶(extended-spectrum β-lactamase, ESBL)的肠杆菌目有活性,但对铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌的活性基本取决于头孢他啶的敏感性^[35]。文献报道编码KPC-2/3酶、AmpC

表3 替加环素的药敏试验折点

菌株名称	FDA/NMPA						EUCAST(v10.0)					
	MIC(mg/L)			纸片扩散法(mm)			MIC(mg/L)			纸片扩散法(mm)		
	敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药
葡萄球菌属	≤0.5	-	-	≥19	-	-	≤0.5	-	>0.5	≥19	-	<19
链球菌属(除肺炎链球菌)	≤0.25	-	-	≥19	-	-	≤0.125	-	>0.125	≥19	-	<19
肺炎链球菌	≤0.06	-	-	≥19	-	-	-	-	-	-	-	-
肠杆菌目	≤2	4	≥8	≥19	15~18	≤14	≤0.5	-	>0.5	≥18	-	<18
粪肠球菌	≤0.25	-	-	≥19	-	-	≤0.25	-	>0.25	≥20	-	<20
屎肠球菌	-	-	-	-	-	-	≤0.25	-	>0.25	≥22	-	<22
流感嗜血杆菌	≤0.25	-	-	≥19	-	-	-	-	-	-	-	-
厌氧菌	≤4	8	≥16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
不动杆菌属 ^a	≤2	4	≥8	≥16	13~15	≤12	-	-	-	-	-	-

注:FDA为美国食品药品监督管理局,NMPA为国家药品监督管理局,EUCAST为欧洲药敏试验委员会,MIC为最低抑菌浓度,“-”为无相关推荐。^a不动杆菌属折点可参考文献[10]

酶、CTX-M 酶、OXA-48 酶的基因发生突变均可介导宿主菌对头孢他啶/阿维巴坦耐药^[36]。

(二) 药敏检测方法

1. 药敏试验面临的困境: 头孢他啶/阿维巴坦上市不久, 目前国内没有任何商品化的检测试剂可供选择。法国生物梅里埃公司 E 试验、美国 BD 公司自动化药敏板正在注册申报中; 而纸片扩散法尚未获得国家药监部门批准。

2. 药敏试验指征: 因目前尚无不可及的商品化方法, 不建议常规测试该药的药敏试验。出现碳青霉烯耐药肠杆菌目和铜绿假单胞菌, 且临床有迫切需求或者进行流行病学调查和科研需要时, 可以进行该药的药敏试验。

3. 药敏试验方法的选择: 微量肉汤稀释法是检测该药药敏的金标准, 可用于大型耐药监测和有条件开展相关检测的实验室。

当无已注册的商品化试剂可选时, 建议采用改良碳青霉烯灭活试验(modified carbapenem inactivation method, mCIM)和 EDTA 碳青霉烯灭活试验(EDTA-carbapenem inactivation method, eCIM)确定目标菌株所产碳青霉烯酶的表型。当菌株产丝氨酸型碳青霉烯酶时(mCIM⁺/eCIM⁻), 提示该药对该菌株可能有体外活性。有条件的实验室, 也可采用商品化获批的碳青霉烯酶分子技术检测碳青霉烯酶的基因型。当头孢他啶/阿维巴坦的商品化试剂获得我国药监部门批准且通过实验室性能验证后, 可以用于临床检测。目前推荐的头孢他啶/阿维巴坦体外药敏检测流程图见图 3。

4. 推荐的药敏试验注意事项: 进行体外 MIC 检测时, 应将阿维巴坦的浓度固定在 4 mg/L。文献报道, E 试验检测头孢他啶/阿维巴坦药敏的准确性和 BMD 接近^[37]。应该注意, CLSI 与 EUCAST 推荐使用的药敏纸片药物含量不同, CLSI 为 30/20 μg, 而 EUCAST 为 10/4 μg。对于肠杆菌目, 纸片扩散法会出现假敏感和假耐药现象^[37]。纸片扩散法的抑菌圈直径在 20~22 mm 时, 需用 MIC 方法进行复核。

5. 其他药敏方法的适用性和分

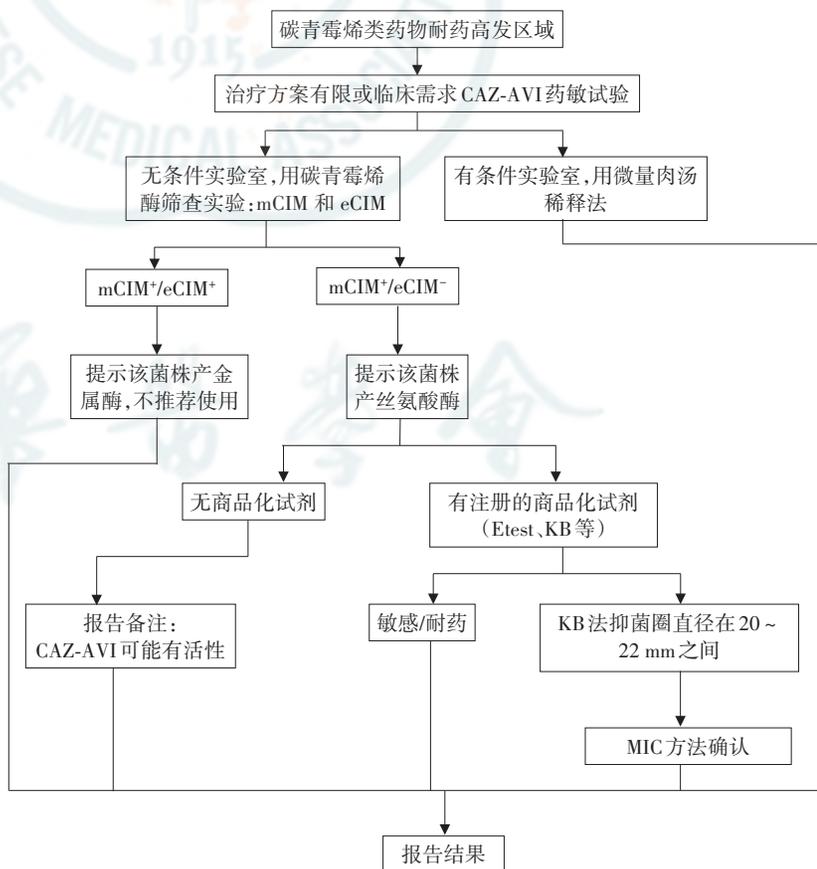
子检测技术: 目前尚无其他表型和分子检测技术直接用于检测头孢他啶/阿维巴坦的耐药性。

表 4 头孢他啶/阿维巴坦的药敏试验折点

菌株名称	折点来源	MIC(mg/L)		纸片扩散法(mm)	
		敏感	耐药	敏感	耐药
肠杆菌目	CLSI(M100 2020)	≤8/4	≥16/4	≥21	≤20
	FDA(2019)	≤8/4	≥16/4	≥21	≤20
	EUCAST(v10.0)	≤8/4	>8/4	≥13	<13
铜绿假单胞菌	CLSI(M100 2020)	≤8/4	≥16/4	≥21	≤20
	EUCAST(v10.0)	≤8/4	>8/4	≥17	<17
	FDA(2019)	≤8/4	≥16/4	≥21	≤20

注: MIC 为最低抑菌浓度, FDA 为美国食品和药品管理局, EUCAST 为欧洲药敏试验委员会, CLSI 为临床和实验室标准化协会

6. 药敏折点的选择: 头孢他啶/阿维巴坦只有适用于肠杆菌目和铜绿假单胞菌的折点, 且 CLSI、FDA、EUCAST 的 MIC 折点一致(表 4), 而无适用于鲍曼不动杆菌的折点。由于 CLSI 推荐使用的纸片药物含量和 EUCAST 不同, 判读时建议使用 CLSI 折点。无论对于纸片扩散法还是测试 MIC 的方法, 该药只有敏感和耐药折点, 无中介折点。



注: CAZ-AVI 为头孢他啶/阿维巴坦, mCIM 为改良碳青霉烯灭活试验, eCIM 为 EDTA 碳青霉烯灭活试验

图 3 头孢他啶/阿维巴坦体外药敏检测流程图

7. 结果报告:对于没有折点的菌属,不应检测并报告该药的药敏结果。BMD 的药敏结果可以直接报告。而当纸片法的结果在折点附近时,宜用测试 MIC 的方法复核后再报告。对于肠杆菌目,由于客观条件而无法进行药敏时,可根据 mCIM/eCIM 的结果,在“备注”中初步判断该药的药敏结果。

综上,快速、准确、可操作性强的药敏试验方法对改善临床治疗效果和预后有重要作用。新药上市后,当临床面对多重耐药菌时,有使用新抗菌药物的需求。这要求临床微生物学实验室积极和临床沟通,充分发挥医疗机构药事委员会或抗菌药物管理委员会作用,确定本实验室的操作流程,为临床合理用药提供依据。同时,也希望生产厂商提前布局,尽快推动和选择优质的商品化试剂并获得注册批件,为实验室和临床提供更多的抗感染“武器”。本共识是基于目前的标准与现状制定的,在应用时还需关注相关进展与变化。

执笔人:王辉(北京大学人民医院检验科),宁永忠(清华大学附属垂杨柳医院检验科),周朝娥(北京大学人民医院检验科)

专家组成员(按姓氏汉语拼音排序):安友仲(北京大学人民医院重症医学科),曹彬(中日友好医院呼吸与危重症医学科),陈佰义(中国医科大学附属第一医院感染科),陈宏斌(北京大学人民医院检验科),褚卓卓(中国医科大学附属第一医院检验科),顾兵(徐州医科大学附属医院检验科),胡必杰(复旦大学附属中山医院感染科),胡继红(国家卫生健康委临床检验中心),胡志东(天津大学总医院检验中心),黄晓军(北京大学人民医院血液科),贾伟(宁夏医科大学总医院检验科),孔旭东(中日友好医院药剂科),廖康(中山大学附属第一医院检验科),刘根焰(南京医科大学第一附属医院抗菌药药效动力学研究室),鲁炳怀(中日友好医院呼吸与危重症医学科),吕火焯(浙江省人民医院临检中心),吕媛(北京大学药理所),马筱玲(中国科学技术大学附属第一医院检验科),倪语星(上海交通大学医学院附属瑞金医院临床微生物室),宁永忠(清华大学附属垂杨柳医院检验科),尚游(华中科技大学同济医学院附属协和医院重症医学科),余丹阳(解放军总医院第一医学中心呼吸内科),王辉(北京大学人民医院检验科),王明贵(复旦大学附属华山医院抗生素研究所),王世富(山东大学齐鲁儿童医院检验科),王一民(中日友好医院呼吸与危重症医学科),吴文娟(同济大学附属东方医院检验科),许建成(吉林大学白求恩第一医院),余方友(同济大学附属上海市肺科医院检验科),余跃天(上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科),俞云松(浙江大学医学院附属邵逸夫医院感染科),张文宏(复旦大学附属华山医院感染科),赵建宏(河北医科大学第二医院检验科)

利益冲突 所有作者均声明没有利益冲突

参 考 文 献

- [1] Urakawa H, Yamada K, Komagoe K, et al. Structure-activity relationships of bacterial outer-membrane permeabilizers based on polymyxin B heptapeptides[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(5): 1771-1775. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.01.040.
- [2] Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections[J]. Clin Infect Dis, 2005, 40(9):1333-1341. DOI: 10.1086/429323.
- [3] Li J, Nation RL, Milne RW, et al. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria[J]. Int J Antimicrob Agents, 2005, 25(1): 11-25. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2004.10.001.
- [4] Bardet L, Rolain JM. Development of new tools to detect colistin-resistance among enterobacteriaceae strains[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2018, 2018:3095249. DOI: 10.1155/2018/3095249.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S27. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-seven edition [S]. Wayne, PA: CLSI 2017.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S30. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: thirty edition [S]. Wayne, PA: CLSI 2020.
- [7] Hindler JA, Humphries RM. Colistin MIC variability by method for contemporary clinical isolates of multidrug-resistant Gram-negative bacilli[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(6): 1678-1684. DOI: 10.1128/JCM.03385-12.
- [8] Brown MR, Winsley BE. Synergism between polymyxin and polysorbate 80 against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. J Gen Microbiol, 1971, 68(3): 367-373. DOI: 10.1099/00221287-68-3-367.
- [9] Sader HS, Rhomberg PR, Flamm RK, et al. Use of a surfactant (polysorbate 80) to improve MIC susceptibility testing results for polymyxin B and colistin[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 74(4):412-414. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.08.025.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS/T639-2018 中国卫生行业标准-抗菌药物敏感性试验的技术要求. 2018-12-11.
- [11] Nordmann P, Jayol A, Poirel L. Rapid detection of polymyxin resistance in enterobacteriaceae[J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22(6): 1038-1043. DOI: 10.3201/eid2206.151840.
- [12] Esposito F, Fernandes MR, Lopes R, et al. Detection of colistin-resistant MCR-1-positive *Escherichia coli* by use of assays based on inhibition by EDTA and zeta potential [J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(12): 3454-3465. DOI: 10.1128/JCM.00835-17.
- [13] Coppi M, Cannatelli A, Antonelli A, et al. A simple phenotypic method for screening of MCR-1-mediated colistin resistance[J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24(2): 201.e1-e3. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.08.011.
- [14] Wang H, Chen Y, Strich JR, et al. Rapid detection of colistin resistance protein MCR-1 by LC-MS/MS [J]. Clin Proteomics, 2019, 16: 8. DOI: 10.1186/s12014-019-

- 9228-2.
- [15] Dortet L, Bonnin RA, Pennisi I, et al. Rapid detection and discrimination of chromosome-and MCR-plasmid-mediated resistance to polymyxins by MALDI-TOF MS in *Escherichia coli*: the MALDIxin test[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(12): 3359-3367. DOI: 10.1093/jac/dky330.
- [16] Volland H, Dortet L, Bernabeu S, et al. Development and multicentric validation of a lateral flow immunoassay for rapid detection of MCR-1-producing enterobacteriaceae [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(5): e01454-18. DOI: 10.1128/JCM.01454-18.
- [17] Bell DT, Bergman Y, Kazmi AQ, et al. A novel phenotypic method to screen for plasmid-mediated colistin resistance among enterobacteriales [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(5): e00040-19. DOI: 10.1128/JCM.00040-19.
- [18] Gonzales Escalante E, Yauri Condor K, Di Conza JA, et al. Phenotypic detection of plasmid-mediated colistin resistance in enterobacteriaceae [J]. J Clin Microbiol, 2020, 58(3): e01555-19. DOI: 10.1128/JCM.01555-19.
- [19] Rebelo AR, Bortolaia V, Kjeldgaard JS, et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes [J]. Euro Surveill, 2018, 23(6): 17-00672. DOI: 10.2807/1560-7917. ES. 2018.23.6. 17-00672.
- [20] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0.2020-01-01.
- [21] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S29. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-nine edition [S]. Wayne, PA: CLSI 2019.
- [22] 中国研究型医院学会危重医学专业委员会, 中国研究型医院学会感染性疾病循证与转化专业委员会. 多黏菌素临床应用中国专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(10): 1194-1198. DOI: 10.3760/cma. j. issn.2095-4352.2019.10.003.
- [23] 王辉, 俞云松, 王明贵, 等. 替加环素体外药敏试验操作规程专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(7): 584-587. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2013.07.004.
- [24] 辛海莉, 刘强, 闫赋琴. 替加环素临床应用合理性分析[J]. 中国药业, 2019, 28(23): 81-84. DOI: 10.3969/j. issn.1006-4931.2019.23.026.
- [25] 中国医药教育协会感染疾病专业委员会, 中华结核和呼吸杂志编辑委员会, 中国药学会药物临床评价研究专业委员会. 抗菌药物超说明书用法专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2015, 38(6): 410-444. DOI: 10.3760/cma. j. issn.1001-0939.2015.06.005.
- [26] Zarkotou O, Pournaras S, Altouvas G, et al. Comparative evaluation of tigecycline susceptibility testing methods for expanded-spectrum cephalosporin-and carbapenem-resistant gram-negative pathogens[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(11): 3747-3750. DOI: 10.1128/JCM.02037-12.
- [27] Lat A, Clock SA, Wu F, et al. Comparison of polymyxin B, tigecycline, cefepime, and meropenem MICs for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* by broth microdilution, Vitek 2, and Etest[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(5): 1795-1798. DOI: 10.1128/JCM.02534-10.
- [28] Idelevich EA, Büsing M, Mischnik A, et al. False non-susceptible results of tigecycline susceptibility testing against Enterobacteriaceae by an automated system: a multicentre study[J]. J Med Microbiol, 2016, 65(8): 877-881. DOI: 10.1099/jmm.0.000281.
- [29] Torrico M, González N, Giménez MJ, et al. Influence of media and testing methodology on susceptibility to tigecycline of Enterobacteriaceae with reported high tigecycline MIC[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(6): 2243-2246. DOI: 10.1128/JCM.00119-10.
- [30] Bradford PA, Petersen PJ, Young M, et al. Tigecycline MIC testing by broth dilution requires use of fresh medium or addition of the biocatalytic oxygen-reducing reagent oxyrase to standardize the test method[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(9): 3903-3909. DOI: 10.1128/AAC.49.9.3903-3909.2005.
- [31] Curcio D, Fernández F. Comment on: Effect of different Mueller-Hinton agars on tigecycline disc diffusion susceptibility for *Acinetobacter spp*[J]. J Antimicrob Chemother, 2008, 62(5): 1166-1167. DOI: 10.1093/jac/dkn328.
- [32] Gong J, Su D, Shang J, et al. Efficacy and safety of high-dose tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. Medicine (Baltimore), 2019, 98(38): e17091. DOI: 10.1097/MD.00000000000017091.
- [33] Shirley M. Ceftazidime-avibactam: a review in the treatment of serious gram-negative bacterial infections[J]. Drugs, 2018, 78(6): 675-692. DOI: 10.1007/s40265-018-0902-x.
- [34] Bonnefoy A, Dupuis-Hamelin C, Steier V, et al. In vitro activity of AVE1330A, an innovative broad-spectrum non-beta-lactam beta-lactamase inhibitor[J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 54(2): 410-417. DOI: 10.1093/jac/dkh358.
- [35] Ehmman DE, Jahic H, Ross PL, et al. Kinetics of avibactam inhibition against Class A, C, and D β -lactamases[J]. J Biol Chem, 2013, 288(39): 27960-27971. DOI: 10.1074/jbc.M113.485979.
- [36] Wang Y, Wang J, Wang R, et al. Resistance to ceftazidime-avibactam and underlying mechanisms[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2019, 22: 18-27. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.12.009.
- [37] Wang Q, Zhang F, Wang Z, et al. Evaluation of the Etest and disk diffusion method for detection of the activity of ceftazidime-avibactam against Enterobacteriales and *Pseudomonas aeruginosa* in China[J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 187. DOI: 10.1186/s12866-020-01870-z.