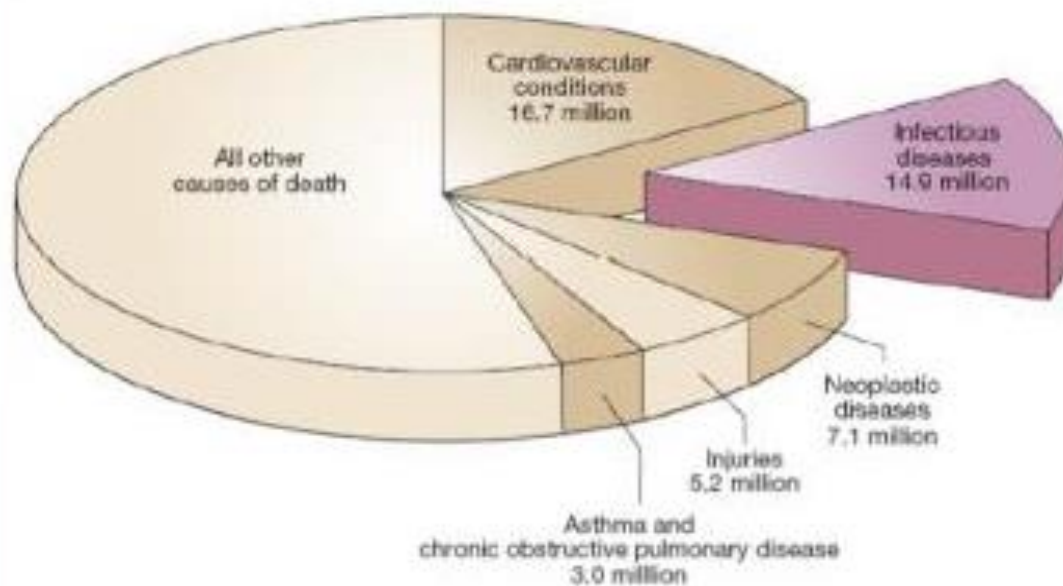


临床微生物检验标本采集及报告解读

天津市第一中心医院检验科
张坚磊

感染病仍然是威胁人类健康的主要疾病

Nature, 2004, 430:242-249



Infectious diseases	Annual deaths (million)
Respiratory infections	3.96
HIV/AIDS	2.77
Diarrhoeal diseases	1.80
Tuberculosis	1.56
Vaccine-preventable childhood diseases	1.12
Malaria	1.27
STDs (other than HIV)	0.16
Meningitis	0.17
Hepatitis B and C	0.16
Tropical parasitic diseases	0.10
Dengue	0.02
Other infectious diseases	1.76

Figure 2 Leading causes of death worldwide. About 15 million (>25%) of 57 million annual deaths worldwide are the direct result of infectious disease. Figures published by the World Health Organization (see <http://www.who.int/whz/en> and ref. 7).

因患感染性疾病死亡人数占全球死亡人数25%

细菌耐药已成为全球关注焦点

- 在全球范围内，“ESKAPE”耐药已成为导致患者发病及死亡的重要原因

Enterococcus faecium(屎肠球菌)-----VRE

Staphylococcus aureus(金黄色葡萄球菌)-----MRSA.VRSA

Klebsiella pneumoniae(肺炎克雷伯菌)-----KPC

Acinetobacter baumani(鲍曼不动杆菌)-----MDR.PDR.XDR

Pseudomonas aeruginosa(铜绿假单胞菌)-----MDR.PDR.XDR

Enterobacter species(肠杆菌)-----CRE

成功抗感染治疗的要素

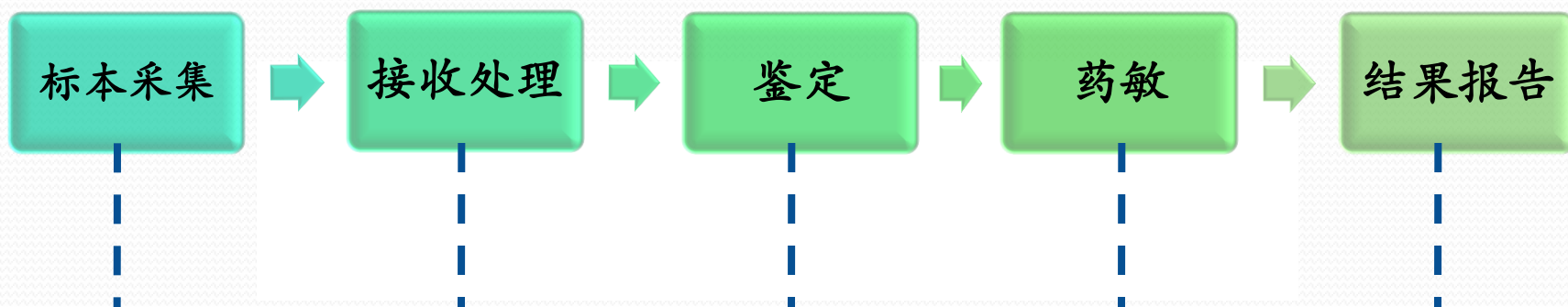
- 成功分离病原菌
- 正确判读微生物培养报告
- 选择恰当的治疗方案

抗感染治疗的瓶颈

- 临床与微生物检验脱节
- 临床与实验室急需加强沟通

- “沟通、理解、合作”是当前临床医生与微生物检验人员之间最缺乏的，也是最应该做到的。

微生物检验结果的影响因素



正确微生物标本采集和运送

才能做到

提高阳性
率

准确病原
学诊断

针对病原
学治疗

合理使用
抗菌药物

主要涉及两个问题

- 采集什么样标本
- 怎样采集标本

正确微生物标本采集和运送

临床医生的理念和行为

- ◆ 确定培养标本检验的适应症
- ◆ 知晓正常菌群和标本的病原谱
- ◆ 确定采集方法

临床护士的理念和行为

- ◆ 了解标本采集的基本要求
- ◆ 知晓标本的处理(多长时间送达实验室)

2013年美国《感染性疾病微生物学实验室诊断应用指南》

◆为了更好地发挥微生物学检测结果在感染病临床诊断中的重要作用，提高微生物检测前标本质量

◆提供微生物标本的选择、采集、运输等方法和处理原则

◆为临床和实验室规范操作提供指导

IOSA GUIDELINES

A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)^{1a}

Ellen J. Baran,^{1,2} J. Michael Miller,³ Melvin P. Weinstein,⁴ Sandra S. Richter,⁵ Peter H. Gilligan,⁶ Richard B. Thomson Jr.,⁷ Paul Shekelle,⁸ Karen C. Carroll,⁹ Son G. Koh,^{10,11} M. Michael Dwyer,^{12,13} Barbara Robinson-Dunn,¹⁴ Joseph B. Schwartzman,¹⁵ Kimberlee E. Chapin,¹⁶ James W. Snyder,¹⁷ Barry A. Forbes,¹⁸ Robin Patel,¹⁹ Jan E. Neuzil,²⁰ and Bobbi S. Prid²¹

¹Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Stanford, California; ²Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ³Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ⁴Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ⁵Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ⁶Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ⁷Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ⁸Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ⁹Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁰Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹¹Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹²Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹³Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁴Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁵Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁶Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁷Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁸Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ¹⁹Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ²⁰Department of Pathology, University of California, San Francisco, California; ²¹Department of Pathology, University of California, San Francisco, California.

The critical role of the microbiology laboratory in infectious disease diagnosis calls for a close, positive working relationship between the physician and the microbiologist who provide enormous value to the health care team. This document, developed by both laboratory and clinical experts, provides information on which tests are valuable and in which contexts, and on tests that add little or no value for diagnostic decisions. Sections are divided into anatomic systems, including Bloodstream Infections and Infections of the Cardiovascular System, Central Nervous System Infections, Ocular Infections, Soft Tissue Infections of the Head and Neck, Upper Respiratory Infections, Lower Respiratory Tract Infections, Infections of the Gastrointestinal Tract, Intrabdominal Infections, Bone and Joint Infections, Urinary Tract Infections, Genital Infections, and Skin and Soft Tissue Infections; or into etiologic agent groups, including Tickborne Infections, Viral Syndromes, and Blood and Tissue Parasitic Infections. Each section contains introductory concepts, a summary of key points, and detailed tables that list suspected agents, the most reliable tests to order, the samples (and volumes) to collect in order of preference, specimen transport devices, procedures, times, and temperature, and detailed notes on specific issues regarding the methods, such as when tests are likely to require a specialized laboratory or have prolonged turnaround times. There is redundancy among the tables and sections, as many agents and assay choices overlap. The document is intended to serve as a reference to guide physicians in choosing tests that will aid them to diagnose infectious diseases in their patients.

Keywords: laboratory diagnosis; microbiology testing; specimen processing; physician laboratory communication; medical laboratories.

血培养 的采集规范

血培养采集的指征

当怀疑血流感染或脓毒症时，应常规行血培养。

怀疑患者有血流感染的症状有：

不明原因的发烧($>38^{\circ}\text{C}$)或体温过低($<36^{\circ}\text{C}$)

白细胞增多 ($>10,000/\mu\text{l}$)，粒细胞减少 ($<1,000/\mu\text{l}$)

休克，寒颤，僵直

严重的局部感染(脑膜炎，心内膜炎，肺炎，肾盂肾炎，腹部术后感染，...)

心率异常加快

低血压或高血压

呼吸频率加快

新生儿可疑菌血症, 可以增加做尿液和脑脊液培养。

关于采血时机

尽可能在患者寒战或开始发热时采血；

在患者接受抗生素治疗前采血；

如患者已经应用抗菌药物进行治疗，应在下一次用药之前采血培养。

皮肤消毒程序，严格执行三步法：

- 1、用75%酒精擦拭静脉穿刺部位待30s以上；
- 2、用1%-2%碘酊作用30s或10%碘伏作用60s，从穿刺点向外画圈消毒, 至消毒区域直径达3cm以上，涂擦穿刺皮肤2遍，待干燥。
- 3、75%酒精脱碘：用75%酒精由内向外方向涂抹去碘酒液，待酒精挥发干燥后采血。

关于采血套数与采血部位

- 成人“一套”血培养应该包括需氧瓶和厌氧瓶各一个

注意：一次穿刺采血，算“一套”，采集第二套应从另一个穿刺点获得。最好从另一侧抽血。多个穿刺部位采血。多部位同时发生污染的几率较小，便于对结果进行判断

- 每位患者每次采血最少2套，3套更好,初发患者，绝不能只采1套标本

- 儿童一般只做需氧培养，但仍需从多个部位采集多次。特殊患者才考虑厌氧培养

Cockrill2004年报告:163位病人,血培养仪

采血套数及血量	1套(20ml)	2套(40ml)	3套(60ml)
检出率	65%	80%	96%

血培养需氧瓶与厌氧瓶出现阳性时间不同

需氧瓶有9%比厌氧瓶早1天报告结果

厌氧瓶有5%比需氧瓶早1天报告结果

因此,只做需氧菌不做厌氧菌培养,将有19%的菌株不能发现,
另有5%的血培养延迟1天报告阳性结果

Khanna P, Collignon P. Anaerobic bottles are still important in blood culture sets. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2001, 20: 217-219

表皮葡萄球菌的临床意义

污染菌? 致病菌

阳性套数	采集套数	临床意义 %	污染可能 %	无法确认 %
1	1	0	97	3
1	2	2	95	3
2	2	60	3	37
1	3	0	100	0
2	3	75	0	25
3	3	100	0	0

采集1套无法判断是病原菌还是污染菌。

2—3套血培养，有助于污染的判断。

采集部位

推荐从外周静脉采集血液标本。

不推荐动脉血，因其诊断价值没有比静脉血更大。

不推荐静脉留置导管，因其常伴有高污染率。如果必须从留置导管内采血，也应同时从外周静脉采集另外一个血培养标本以帮助阳性结果的判读提供解释。

培养瓶的储存温度

不需冷藏，更不能冷冻。保存在15—25℃的室温即可，温度过低会导致对温度敏感的细菌死亡。尽快送检

血流感染和心血管系统感染

表 2 病原体血培养检测

Table 2 Blood culture laboratory diagnosis organized by etiologic agent

病原体	诊断过程	最佳标本选择	运输容器和最佳运输时间
葡萄球菌属、链球菌属、肠球菌属、单核细胞增生利斯特菌、肠杆菌科、假单胞菌属、不动杆菌属	①成人:败血症检测每次培养需 2~4 个血培养瓶 ②婴儿和儿童:每次 2 个或更多血培养瓶	①成人:20~30 ml 血液注入 2 个培养瓶内 ②血量依据患儿的体质量计算(表 3)	接种后的培养瓶常温应尽快送检(微生物在培养瓶内常温可生长)
巴尔通体属	①2 个或更多溶菌离心分离沉淀血培养瓶 ②核酸扩增实验	①将 10 ml 血液注入 1 个离心机 ②5 ml 血浆	①溶菌沉淀培养瓶常温立即送检,并在 8 h 内处理 ②EDTA 管,RT,2 h
军团菌属	①2 个或更多溶菌离心机分离沉淀血培养瓶 ②军团菌属尿抗原检测(1 型)	①将 10 ml 血液注入 1 个溶菌离心机 ②收集清洁 10 ml 中段尿	①溶菌沉淀培养瓶常温立即送检,并在 8 h 内处理 ②密闭容器,RT,2 h
伯内特考克斯体	①间接免疫荧光检测 ②核酸扩增实验	①5 ml 血清 ②5 ml 血浆	①干燥管,RT,2 h ②EDTA 管,RT,2 h
革兰阴性球杆菌	核酸扩增实验	5 ml 血浆	EDTA 管,RT,2 h
酵母菌	①成人:败血症需培养 2~4 个血培养瓶 ②婴儿和儿童:2 个或更多培养瓶进行培养	①成人:20~30 ml 血液注入 2 个培养瓶内 ②在容许的情况下尽量多采集血液标本;每次采集标本量视患儿体质量而定	①接种后的培养瓶应尽快常温送检 ②马拉色霉菌属须补充脂质,推荐进行溶菌离心沉淀培养
丝状和双相型真菌	2 个或更多溶菌离心沉淀血培养瓶	将 10 ml 血液注入 1 个离心机	溶菌沉淀培养瓶常温立即送检,并在 8 h 内处理
分枝杆菌	3 个 AFB-特殊培养瓶	将 5 ml 血液注入 1 个 AFB-特殊培养瓶	培养瓶应立即送检

脑脊液培养 采集规范

中枢神经系统感染（1）

表 5 脑膜炎的实验室诊断

Table 5 Laboratory diagnosis of meningitis

病原体	诊断过程	最佳标本选择	运输容器和最佳运输时间
细菌		脑脊液 血液	无菌容器,需氧培养,RT
肺链球菌属、脑膜炎奈瑟菌、 单核细胞增生李斯特菌、无乳 链球菌属、流感嗜血杆菌、大 肠杆菌、其他肠杆菌科细菌	革兰染色涂片 需氧培养		
分枝杆菌	①AFB 涂片 ②AFB 培养 ③结核杆菌核酸诊断	①②脑脊液 ≥ 5 ml ③1 ml 脑脊液	①②为无菌容器,RT,2 h ③密闭容器,RT,2 h
螺旋体			
苍白密螺旋体(梅毒)	①荧光密螺旋体抗体吸收试验 ②常规:RPR 筛查实验、TPPA 颗粒凝集实验或其他实验 ③EIA 或化学发光法检测 RPR 阳性标本	①脑脊液 ②③1 ml 血清	密闭容器,RT,2 h 干燥管,RT,2 h
伯氏疏螺旋体(莱姆病)	①W-B IgM 和 IgG 确认实验 ②W-B IgM 和 IgG 确认实验 ③核酸扩增实验	①1 ml 血清、1 ml 脑脊液(通过与血清 的比值和标准蛋白浓度计算抗体水平) ②1 ml 脑脊液 ③1 ml 脑脊液	①②干燥管,RT,2 h ③密闭容器,RT,2 h
钩端螺旋体属	①培养(特殊专用培养基) ②凝集试验	①发病 1 周:1 ml 脑脊液、10 ml 血液、 10 ml 尿液 ②发病 2 周:1 ml 脑脊液、10 ml 血液、 10 ml 尿液	①无菌容器,血液需肝素 抗凝,RT ②干燥管,RT,2 h

中枢神经系统感染（2）

病原体	诊断过程	最佳标本选择	运输容器和最佳运输时间
真菌			
新型隐球菌	新型隐球菌抗原检测 革兰染色 需氧培养 真菌培养	1 ml 脑脊液	密闭无菌容器, RT, 2 h
球孢子菌属	抗体试验 Calcofluor 染色 真菌培养	脑脊液或 1 ml 血清	密闭无菌容器, RT, 2 h
病毒			
肠道病毒	核酸扩增实验	1 ml 脑脊液	密闭容器, RT, 2 h
小 RNA 病毒	核酸扩增实验		
单纯疱疹病毒	1 和 2 型核酸扩增实验		
水痘-带状疱疹病毒	核酸扩增实验		
脉络丛脑膜炎病毒	IgM 和 IgG、间接免疫荧光检测	脑脊液和(或)1 ml 血清	密闭容器或干燥管, RT, 2 h
腮腺炎病毒	①IgM 和 IgG ②培养及核酸扩增实验	①脑脊液和(或)1 ml 血清 ②脑脊液、尿液、口腔刮片	密闭(无菌)容器, RT, 2 h; 或病毒运输器皿, 置冰上

注: RPR. 快速血浆反应素

2013年美国《感染性疾病微生物学实验室诊断应用指南》

脑脊液标本处理

标本采集后应置于无菌试管内尽快送检，

绝不可冷藏！！！！

每种检验需要最小量：

细菌培养 $\geq 1\text{ml}$ ，

真菌 $\geq 2\text{ml}$ ，

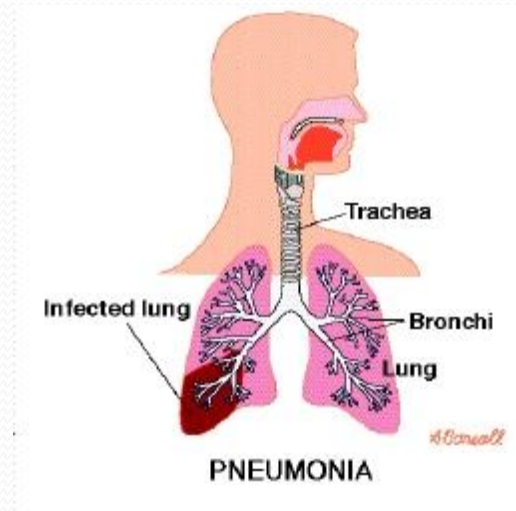
抗酸杆菌 $\geq 2\text{ml}$ 。

呼吸道标本采集

上呼吸道样本



下呼吸道样本



#1



拭子擦取咽部和扁桃体。不要碰触舌头和面颊。

咽部标本培养

主要病原菌：A群β溶血链球菌。
选择性报告：溶血隐秘杆菌

#2 拭子



将拭子擦拭血平皿的1/5区域
(羊血或马血)

#3 接种环



分区画线3或4区

杆菌肽
& SXT 纸片



#4

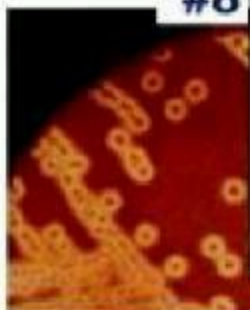
在第一区贴相邻的两纸片：
复方磺胺和杆菌肽

#5

在烛缸中37℃孵育
过夜并检查平板；
若阴性，
继续孵育过夜
总孵育时间=48小时



#8



报告结果：

1+ to 4+ A群β溶血链球菌
或
1+ to 4+ 非A群β溶血链球菌
或
未检出β溶血链球菌

#9

不要报告

咽炎中非致病菌：

- 金黄色葡萄球菌
- 肺炎链球菌
- 流感嗜血杆菌
- 卡他莫拉菌
- α溶血链球菌
- 所有革兰阴性杆菌
- 所有酵母菌

#7



PYR阳性可确定
A群链球菌

杆菌肽



复方磺胺

#6

β溶血菌落，> 0.5 mm，
对复方磺胺耐药，
对杆菌肽敏感=A群链球菌
(触酶阴性)

痰及下呼吸道标本采集指征

痰液标本是临床微生物学检验最常见的标本，但不是下呼吸道感染的最佳标本。有下列体征之一，应进行痰培养：

咳嗽、 咳嗽咳痰是下呼吸道感染最常见的症状。

咯血，包括泡沫血痰、鲜血和痰中带血等。

呼吸困难，呼吸急促或哮喘，常伴有胸痛。

发热伴白细胞增高尤其是中性粒细胞或CRP明显增高。

胸部影像学检查提示有感染可能。

咳痰标本的采集

标本采集方法

医师或护士直视下采集标本。

病人先漱口用牙刷（不用牙膏）清洁口腔和牙齿，，去除表面的菌群。

教育病人深咳，收集从下呼吸道咳出的痰液。

无痰可用3%~5%NaCl 5ml雾吸约5min导痰
也可用物理疗法、体位引流、鼻导管抽吸等法
取痰

痰标本

主要病原菌：肺炎链球菌，克雷伯菌属，流感嗜血杆菌，金黄色葡萄球菌，铜绿假单胞菌。

非病原菌：酵母菌，草绿色链球菌，凝固酶阴性葡萄球菌

#1

病人需用水清洁口腔，
深咳肺部痰，
不要唾液

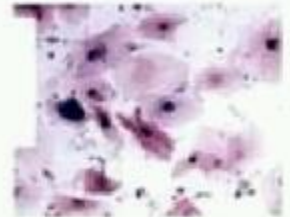


#2

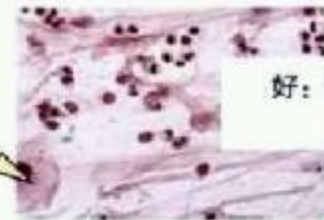
- 进行革兰染色以评价标本是否适于接种。
- 向临床医生尽快报告重要的革兰染色结果



拒绝：大量
扁平上皮细胞



好：很少扁平
上皮细胞



奥普托欣纸片

#3

接种巧克力平皿，
血平皿和麦康
凯平皿



#4

CO₂中
孵育48小时



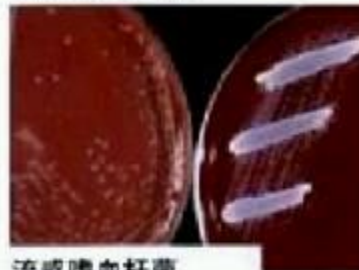
肺炎链球菌

胆汁溶菌+

奥普托欣+

#5

对重要病原菌进行
鉴定&药敏试验



流感嗜血杆菌



金黄色葡萄球菌

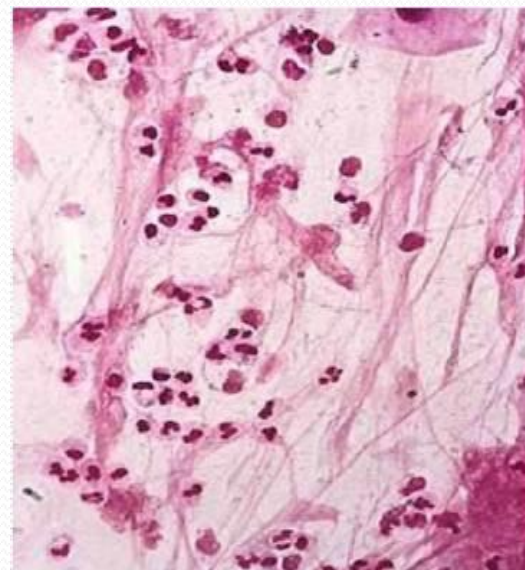
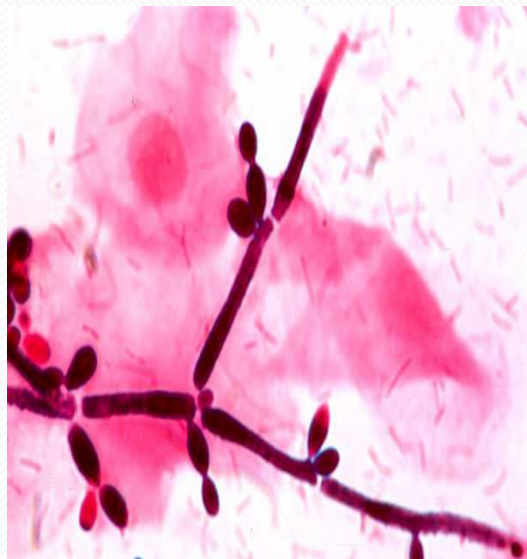
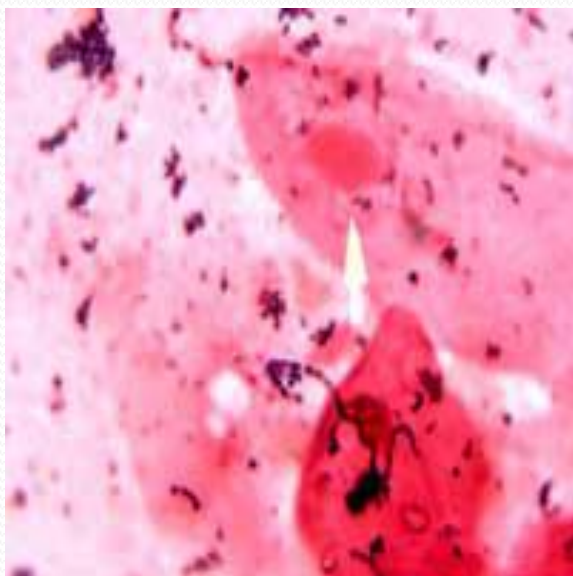
肺炎克雷伯菌



咳痰途经口咽部-不可避免地受到污染

- 唾液中口咽部定植菌的浓度可达 10^8 - 10^9 /ml。
- 研究显示，国内常规痰标本中约半数存在唾液严重污染现象。

痰标本质量-革兰染色评估样本是否合格



不合格标本



合格标本

呼吸道标本的涂片评估模式

肺炎-可接受的

不合格标本

评述

很少的鳞状上皮细胞
<10个每低倍视野

许多鳞状上皮
>10个/低倍视野

可以在玻片上看到许多鳞状上皮细胞,说明在采集时受到了上呼吸道分泌物的污染或口水的污染。

很多的中性粒细胞

很少有或没有中性粒细胞
免疫抑制的病人也会出现
中性粒细胞减少

中性粒细胞和上皮细胞都很少的标本需要培养

很多中性粒细胞混合有形态多样的细菌(革兰氏阴性杆菌,纺锤形,革兰氏阳性球菌)

吸入性肺炎标本革兰氏染色的典型形式,培养只会培养出正常菌群,所以革兰氏染色是用于诊断的方法。

许多或中等量的中性粒细胞,
以一种形态的细菌为主

酵母菌样,酵母菌是一种
很少引起肺炎的细菌,常
由口腔污染

成双革兰氏阳性球菌,短链=肺炎链球菌
革兰氏阳性菌成群排列=金黄色葡萄球菌
革兰氏阴性球杆菌(小)=流感嗜血杆菌
革兰氏阴性杆菌大且肥厚=肺炎克雷伯菌或其他
肠道菌
革兰氏阴性双球菌=卡他莫拉菌

许多不着色的有折射的杆状细菌

可能是肺结核,抗酸杆菌不能被革兰氏染色所染色。

痰培养的送检次数

对于普通细菌性肺炎，痰标本送检每天1次，连续2～3天。不建议24h内多次采集，除非痰液外观性状出现改变；

怀疑分枝杆菌感染者，应连续收集3天清晨痰液送检；

几种下呼吸道感染诊断有确定意义标本

① 血或胸水培养到病原菌

② 纤支镜或人工气道吸引标本

细菌 $>10^5$ cfu/ml (2+)

BALF (支气管肺泡灌洗液) : 细菌 $\geq 10^4$ cfu/ml
(1-2+)

PSB (防污染样本毛刷)、PBALF (防污染灌洗) :
细菌 $>10^3$ cfu/ml (1+)

痰培养的运送和保存

尽快（<2h）送至实验室。

如不能及时送达，应将标本暂存于4℃，但放置时间不可超过24h。

下呼吸道感染

表 6 医疗相关和医院获得性肺炎及呼吸机相关性肺炎实验室诊断

Table 6 Laboratory diagnosis of healthcare-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia

病原体	诊断过程	最佳标本选择	运输容器和最佳运输时间
细菌			
假单胞菌属、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、肠杆菌属某些种、粘质沙雷菌、不动杆菌属某些种、嗜麦芽窄食单胞菌属、金黄色葡萄球菌和甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌	①血培养 ②革兰染色 ③定量或半定量需氧和厌氧培养	①血培养同表 2 ②痰 ③气管内吸取物、支气管肺泡灌洗、防污染样本毛刷取样标本、肺组织	①无菌杯或管, RT, 2 h; 2~24 h, 4℃保存送检
肺炎链球菌属	同上+尿液抗原检测	尿液	无菌容器, RT, 2 h; 24 h~14 d, 2~8℃保存送检
混合厌氧菌(吸取物)	革兰染色, 细菌培养	①防污染样本毛刷取样标本 ②肺组织	①无菌管加入 1 ml 巯基乙酸盐; ②无菌容器, RT, 2 h 或 2~24 h, 4℃保存送检
军团菌属	①缓冲炭酵母浸膏介质上培养, 核酸扩增实验 ②尿抗原检测	①痰、气管内吸取物、支气管肺泡灌洗、防污染样本毛刷取样标本、肺组织 ②尿液	①无菌杯或管, RT, 2 h; 2~24 h, 4℃保存送检 ②无菌容器, RT, 24 h 或 24 h~14 d, 4℃保存送检
真菌			
曲霉属	①真菌染色卡尔科弗卢尔加 KOH, 其他真菌染色 ②真菌培养 ③组织学 ④半乳甘露聚糖(1-3) β -D-葡聚糖类	①气管内提取物 ②支气管肺泡灌洗, 防污染样本毛刷取样标本 ③肺组织 ④血清, 防污染样本毛刷取样标本	①②无菌杯或管, RT, 2 h; 2~24 h, 4℃保存送检 ③无菌杯, RT, 2 h 或 2~14 d, 福尔马林容器, RT ④干燥管, ≤ 5 d, 4℃保存送检; > 5 d, -70℃保存送检; 无菌杯或管, RT, 2 h; 2~24 h, 4℃保存送检
病毒			
流感病毒 A/B、副流感病毒、腺病毒、呼吸道合胞体病毒	①快速抗原检测 ②病毒培养 ③核酸扩增实验	①鼻洗剂、提取物 ②鼻咽拭子 ③气管内提取物, 支气管肺泡灌洗, 防污染样本毛刷取样标本	病毒运输器皿, RT 或 5 d 内, 4℃保存送检; > 5 d, -70℃保存送检

尿培养标本



关于尿液标本

正常人体内的尿液是无菌的，而外尿道有正常菌群寄居。尿液经尿道排出时受到尿道中细菌的污染而混有细菌，但细菌数不超过 1000cfu/ml 。患有泌尿系感染时，尿中的菌数高于 $10^4 \sim 10^5\text{cfu/ml}$ ，因而可以此界限作为诊断泌尿系感染的依据。

尿液培养标本采集注意事项

- (1) 最好留取晨起第一次尿液。
- (2) 采集时必须严格进行无菌操作。
- (3) 用药前送检。
- (4) 不能将尿液接种于增菌培养液中。
- (5) 尿液标本不适合做厌氧菌培养（除非经膀胱穿刺取尿），不适合做支原体培养。

多次收集或24小时尿不能用作培养。

尿培养采集方法

清洁中段尿法：是最常用的方法。

耻骨上膀胱穿刺法

直接导尿

留置导尿管收集尿液

尿培养的运送和保存

室温都有利于病原菌和污染菌会生长繁殖，因此若30min内不能及时培养尿液则必须冷藏，但也不能超过24小时。

泌尿系感染

Table X-1. Laboratory Diagnosis of Cystitis and Pyelonephritis

Etiologic Agents	Diagnostic Procedures	Optimum Specimens	Transport Issues; Optimal Transport Time
Gram-Negative Bacteria			
Enterobacteriaceae: Includes <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp, <i>Proteus</i> spp, others <i>Pseudomonas</i> spp, other nonfermenting gram- negative rods	Routine aerobic culture Gram stain (optional, low sensitivity)	Mid-stream, clean catch or straight cath urine	Closed sterile leakproof container; refrigerate (4°C) or use urine transport tube unless delivery to laboratory ≤1 h is certain.
Gram-Positive Bacteria			
<i>Enterococcus</i> spp <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>saprophyticus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>ureolyticum</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B streptococci)	Routine aerobic culture Gram stain (optional, low sensitivity)	Midstream, clean catch, or straight cath urine	Closed sterile leakproof container; refrigerate (4°C) or use urine transport tube unless delivery to laboratory ≤1 h is certain.
Mycobacteria			
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Mycobacterial culture	First void urine	Prefer >20 mL urine, refrigerate (4°C) during transport
Virus			
Adenovirus	Virus Culture NAAT*	Midstream or clean catch urine	Closed sterile container to laboratory within 1 h
BK Polyoma virus	Quantitative NAAT* from urine, plasma, or serum	Blood Serum	EDTA or Citrate blood collection tube, RT Clot tube, RT

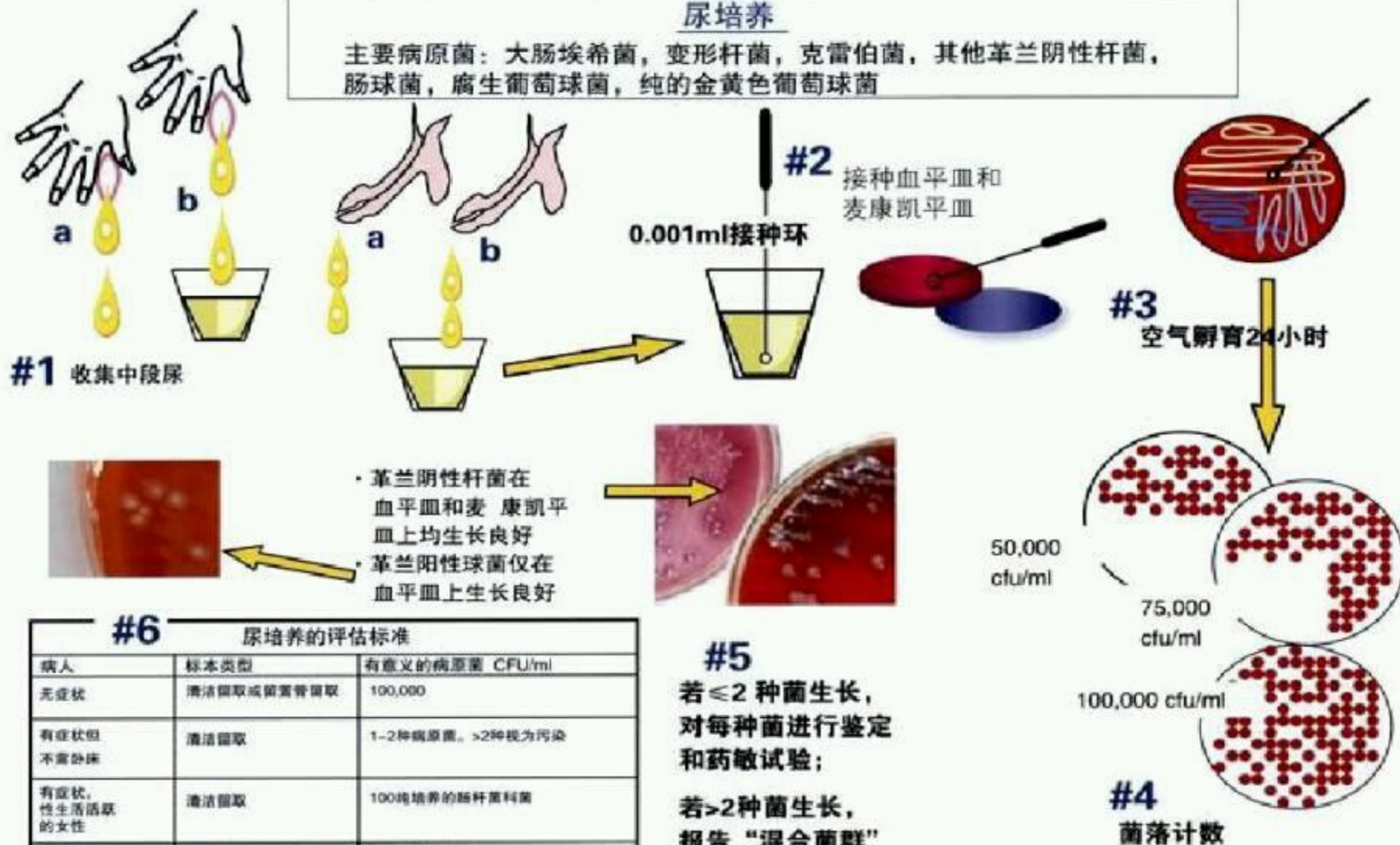
Abbreviations: NAAT, nucleic acid amplification test; RT, room temperature.

* No FDA-cleared NAAT tests available

2013年美国《感染性疾病微生物学实验室诊断应用指南》

尿培养

主要病原菌：大肠埃希菌，变形杆菌，克雷伯菌，其他革兰阴性杆菌，肠球菌，腐生葡萄球菌，纯的金黄色葡萄球菌



#6 尿培养的评估标准		
病人	标本类型	有意义的病原菌 CFU/ml
无症状	清洁留取或留置尿管留取	100,000
有症状但不需卧床	清洁留取	1-2种病原菌。≥2种视为污染
有症状，性生活活跃的女性	清洁留取	100菌培养的肠杆菌科菌
男性	清洁留取	1000潜在病原菌
所有	从导尿管中直接留取	100个所有种类的潜在病原菌
所有	外科或膀胱吸取	任何数量（肉汤培养，厌氧菌）
所有	有争议	任何酵母菌

伤口、皮肤、组织

关于脓液标本

组织或器官的化脓性感染，其病原菌的来源可分为两类：内源性（感染源是炎症局部周围器官中的正常菌群）和外源性（感染源是存在于外界的微生物）。

采集指征

局部组织或器官有化脓性感染表现，应进行细菌培养。

脓、吸取物或组织标本

主要病原菌：金黄色葡萄球菌，化脓链球菌，
其他 β 溶血链球菌，铜绿假单胞菌，其他革兰阴性杆菌。

非病原菌：凝固酶阴性葡萄球菌，少量的棒状革兰阳性杆菌

#1



- 用酒精消毒伤口周围皮肤
- 最好的标本是吸取物和组织
- 最差的标本是拭子

#2



- 接种血平皿和麦康凯平皿，
- 如果是吸取物或组织，
进行革兰染色，
将重要结果通知临床医生



#3

中孵育
48小时



#5



当检出3种或更多病原菌时，
报告一簇假时杂并描述性列出假单胞菌，
金葡菌，变形杆菌，肠道革兰阴性杆菌等。



肺炎克
雷伯菌

#4

对1或2种重要病原
菌进行鉴定
&药敏试验



β 溶血链球菌



金黄色葡萄
球菌为主



混合的2种肠道革兰阴性杆菌：
2种均报告；



铜绿假
单胞菌

抽吸物和组织标本的厌氧培养

主要致病菌: 金黄色葡萄球菌、化脓链球菌、其他 β -溶血链球菌、铜绿假单胞菌、其他革兰阴性杆菌、梭状芽孢杆菌、梭菌属、拟杆菌属、其他厌氧菌

非致病菌: 凝固酶阴性葡萄球菌、少量棒状革兰阳性杆菌

#1

- 用酒精消毒皮肤后或者在手术时采集标本
- 将抽吸物或组织置于厌氧转运小玻璃瓶中
- 拭子不能用于厌氧培养
- 将体液置于血培养瓶和ACD管中



#2

如果为组织，在无菌的小盘上将其捣碎，然后在含硫肉汤中将其研磨成匀浆



#3

- 将研磨后的组织接种于BAP, Mac, Bru, BBE, CM肉汤, & LKV (可选择)
- 革兰染色 & 将重要结果报告给医生



#5

重要厌氧菌进行鉴定 & 药敏试验



• 细胞离心机离心体液

#4

- 在CO₂孵箱中将BAP & Mac 孵育48小时
- 在厌氧环境中孵育5天 (不要暴露于空气中48小时)



#6

接种平皿、革兰染色和厌氧菌专门的药敏试验

卡那霉素 万古霉素 粘菌素



Bru agar - anaerobic
布氏琼脂-厌氧菌



巧克力琼脂-置于CO₂孵箱

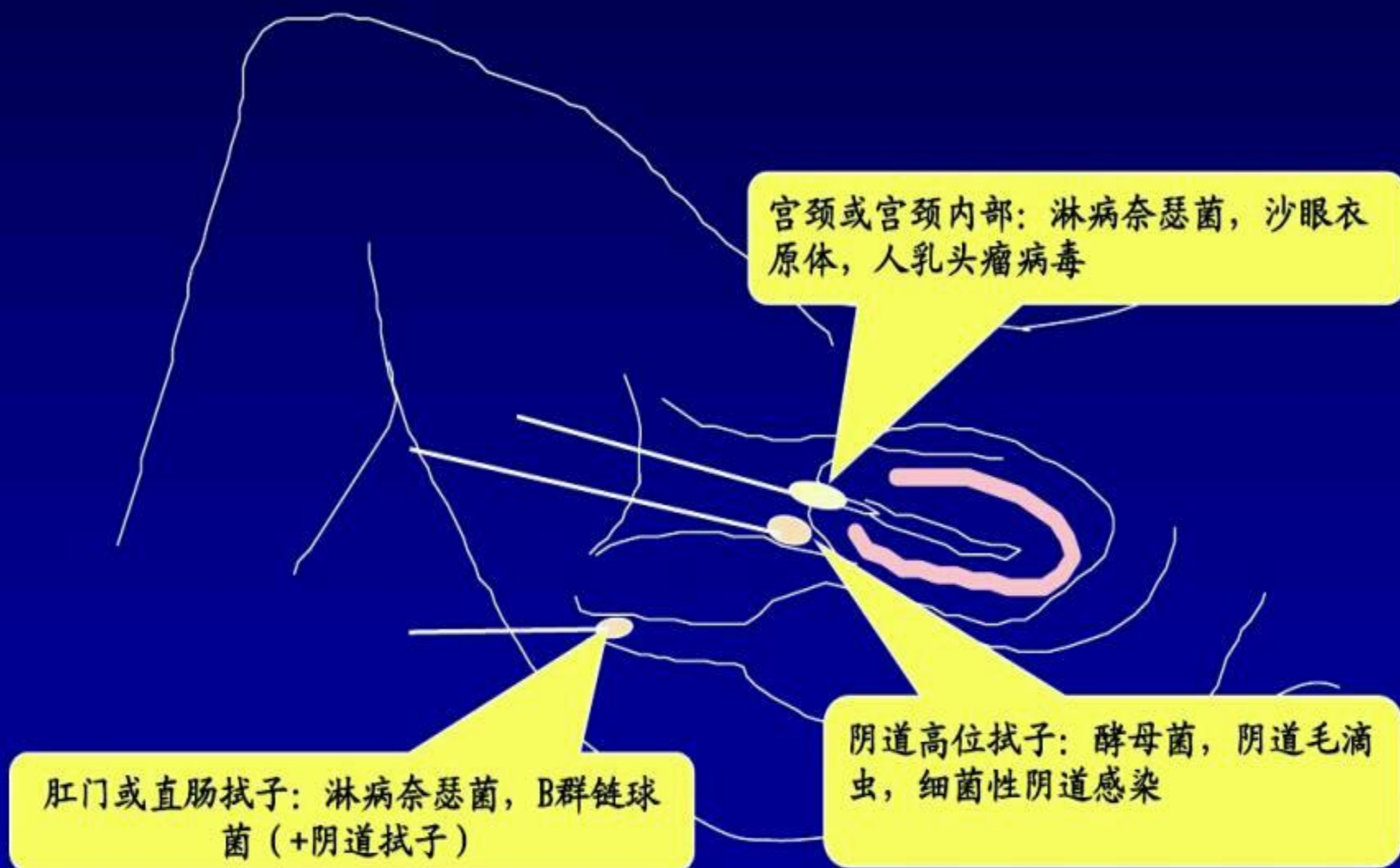
需氧培养时当3或更多的肠道细菌生长, 报告“混合细菌生长”, 并且描述性的列举假单胞菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、肠道革兰阴性杆菌

生殖道标本

Lower Genital Tract Specimens



女性下生殖道标本采集



早发B群链球菌病

1%的新生儿因母亲定植
(10-30%的孕妇)发展为
EOD

50%病死率

25%的美国女性在L&D期间
得到IV预防

长期病症包括: 在30%以上的新
生儿中产生严重精神运动
发展障碍



Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease

Revised Guidelines from CDC

1. 在孕35~37周时的普查培养
 - a. 阴道和直肠拭子
 - b. 肉汤过夜增菌
 - c. 接种于血平板上
 - d. 再孵育过夜和鉴定可疑菌落
2. 任何有GBS菌尿的患者需要在分娩期做好预防
3. 分娩时快速检测敏感性不够

生殖道标本培养

主要病原菌：淋病奈瑟菌，滴虫，酵母菌&女性的细菌性阴道病综合征，
孕妇携带的B群β溶血链球菌

A. 女性的子宫颈或肛拭子



#1 血平皿 & Thayer-Martin平皿

血平皿上的酵母菌



B. 男性的尿道拭子



#1 接种Thayer-Martin培养基 & 革兰染色



T-M培养基上的淋球菌

#2 CO₂孵育72h
T-M培养基上寻找淋球菌，
血平皿上寻找酵母菌

C. 怀孕35-37周的孕妇阴道或肛拭子



#1 营养肉汤中
孵育过夜

#2 血平皿上次代培养检测
B群链球菌

CO₂中孵育48小时



D. 女性的阴道拭子

#1 血平皿上寻找酵母菌，
T-M培养基上寻找淋球菌

#1 革兰染色辅助诊断
细菌性阴道病

将拭子在玻片上
滚动制成一个细胞
厚度的涂片；
寻找“线索细胞”

非病原菌

金黄色葡萄球菌

任何革兰阴性杆菌，包括大肠杆菌
和变形杆菌

B群β溶血链球菌 (GBS)，仅为
孕妇报告

#2

30 min内将拭子置于
0.5ml生理盐水中检测滴虫

微生物报告的解读

- 正确理解阴性检测结果的临床意义

 - 采样、运送流程的质控

 - “真”阴性的解释

- 正确理解细菌在标本中的临床意义

 - 细菌标本的局限性

- 正确理解细菌药敏报告意义

 - 药敏报告的局限性

阴性报告结果的解读 (1)

- 非感染性疾病
- 感染已治愈
- 感染未治愈,但各种原因导致病原体未检出

阴性报告结果的解读 (2)

- 采样运送不当
- 抗菌药物影响
- 苛养菌
- 特殊病原体
- 检验技术受限

一、正常菌群与病原菌

- 正常菌群的概念与分布
- 致病菌与条件致病菌
- 各类标本中的常见病原菌

正常菌群的概念

- **正常菌群：**在人的体表及与外界相通的口腔、鼻咽部、肠道、泌尿生殖道等腔道中寄居着微生物，在正常情况下对宿主无害而有益，这样的微生物为正常微生物群，其中以细菌为主，通称正常菌群。

人体各部位的正常菌群

部 位	主 要 微 生 物
皮肤	葡萄球菌属、八叠球菌、类白喉杆菌、铜绿假单胞菌、痤疮丙酸杆菌、厌氧革兰阳性球菌、青霉菌等
口腔	表葡菌、 α 溶血或不溶血链球菌、肺炎球菌、肠球菌属、奈瑟菌属、卡他莫拉菌、大肠杆菌、嗜血杆菌属、乳酸杆菌属、类白喉杆菌、真杆菌属、梭杆菌属、拟杆菌属、其他厌氧革兰阳性和阴性球菌、白念球菌等
鼻咽腔	葡萄球菌属、 α 和 β 溶血性链球菌、肺炎球菌、奈瑟菌属、嗜血杆菌属、大肠杆菌、变形杆菌属、厌氧球菌、腺病毒、白念珠菌等
眼结膜	表葡菌、类白喉杆菌、丙酸杆菌属等
肠道（空肠末端、回肠、结肠）	大肠杆菌、产气肠杆菌、变形杆菌属、铜绿假单胞菌、葡萄球菌属、八叠球菌、肠球菌属、产气荚膜杆菌、拟杆菌属、双歧杆菌属、真杆菌属、梭菌属、消化球菌、消化链球菌、白念珠菌、埃可(ECHO)病毒、腺病毒等
前尿道	表葡菌、类白喉杆菌、非致病性抗酸杆菌、肠球菌属等
阴道	乳酸杆菌、类白喉杆菌、大肠杆菌、拟杆菌属、肠球菌属、奈瑟菌属、厌氧球菌等

病原菌的分类

病原菌：是指能入侵宿主引起感染的微生物，包括细菌、真菌、病毒等。病原菌按致病性分类如下：

病原菌

致病菌（种类少，毒力强）

条件致病菌（种类多并在不断增加，毒力弱）

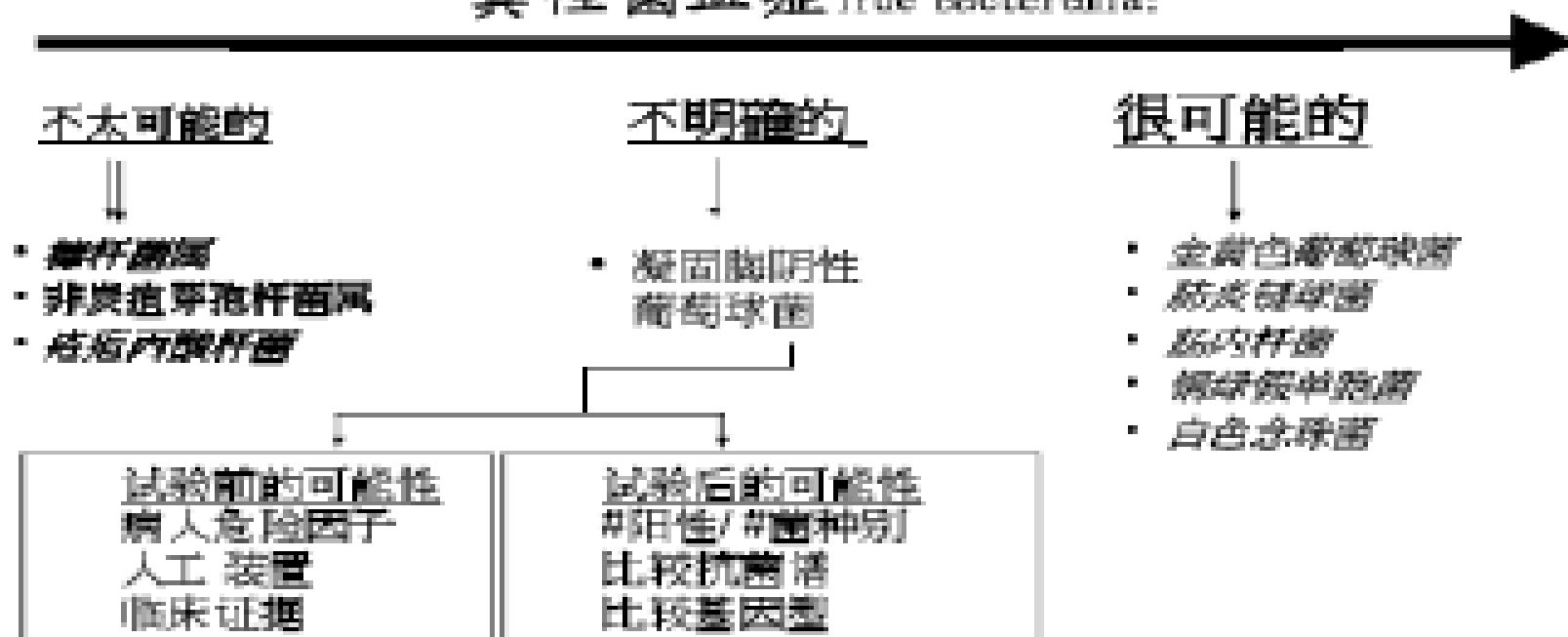
条件致病菌的主要特点

- 毒力弱或无明显毒力；
- 常为耐药菌或多重耐药菌；
- 引起感染的对象是长期使用抗生素，
机体免疫功能下降的患者。

血培养阳性结果的解读

阳性血培养的判断

真性菌血症 True Bacteremia:



血培养的污染问题

- 血培养污染的定义

在几次血培养中单个血培养下列细菌阳性：

- ➔ 凝固酶阴性葡萄球菌

- ➔ 棒状杆菌属

- ➔ 微球菌

- ➔ 丙酸杆菌

- 同一病人血培养中多次发现（至少2份或2份以上）同一细菌，可能与感染有关。单独一次血培养不能区分污染和真正的菌血症

血培养前十位“病原菌”

分离菌	正确 (%)	污染 (%)	不确定 (%)
金黄色葡萄球菌	87.2	6.4	6.4
大肠埃希菌	99.3	0.0	0.7
凝固酶阴性葡萄球菌	12.4	81.9	5.8
肺炎克雷伯菌	100.0	0.0	0.0
肠球菌属	69.9	16.1	14.0
铜绿假单胞菌	96.4	1.8	1.8
肺炎链球菌	100.0	0.0	0.0
白色念珠菌	90.0	0.0	10.0
草绿色链球菌	38.0	49.3	12.7
阴沟肠杆菌	100.0	0.0	0.0

药敏试验与报告解读

- 基本概念
- 药敏试验的临床价值
- 报告解读与相关问题

药敏试验结果的解读

药敏试验的目的：

使用体外试验的方法检测细菌的耐药性，预测抗菌药物的临床治疗效果，并为临床医生针对某一特定的临床感染问题选用药物提供依据----**实施个体化治疗**。

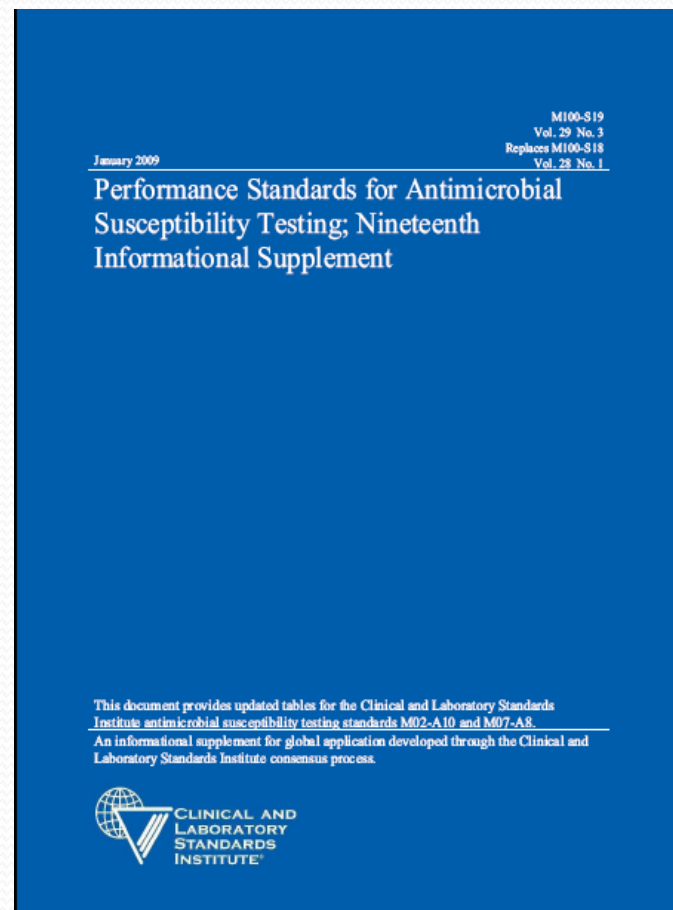
解读注意事项

- 1、药敏试验是参照美国的CLSI推荐的标准制定的。
- 2、细菌全自动分析仪的药敏组合是固定的。
- 3、某些细菌对某类抗生素天然耐药，则不需要做药敏试验。
- 4、试验的药物代表一类药，而不是一种药。

CLSI简介

- **CLSI**(Clinical and Laboratory Standards Institute, 临床实验室标准研究所)：以前称NCCLS（美国临床实验室标准化委员会）。

☞ CLSI根据细菌学、药动学和临床资料设定并定期修订抗生素对不同细菌敏感折点，通过折点将细菌分为敏感（S）、中介（I）、耐药（R）。



CLSI文件中关于敏感、中介、耐药的定义

1、敏感(S)

指被测菌株能被使用推荐剂量在感染部位通常可达到的抗菌药物浓度所抑制。

2、中介(I)

指抗菌药物最低抑菌浓度（MIC）接近血液和组织中通常可达到的浓度，疗效低于敏感菌。还表示药物在生理浓集的部位具有临床效力（如尿液中的喹诺酮类和 β -内酰胺类）或者可用高于正常剂量的药物进行治疗（如 β -内酰胺类）。另外，中介还作为缓冲区，以防止微小的技术因素失控导致较大的错误结果，特别是对那些药物毒性范围窄的药物。

3、耐药(R)

指被测菌株不能被常用剂量抗菌药物所抑制，和/或证明 MIC 或抑菌环直径落在某些特定的微生物耐药机制范围（如 β -内酰胺酶），临床疗效不可靠。

CLSI文件中关于敏感、中介、耐药的定义

- **敏感**: 最高血药浓度 > 4 倍MIC, 使用常规剂量有效;
- **中介**: 最高血药浓度 \approx MIC, 加大剂量或药物浓缩部位有效;
- **耐药**: 最高血药浓度 $<$ MIC, 无效。

CLSI推荐的药敏试验药物分组

表 1 非苛养菌在临床微生物学实验室常规药敏试验和报告中抗菌药物的分组建议

A 组 首选试验 并常规报告的药 物	肠杆菌科 [§]	铜绿假单胞菌 [‡]	葡萄球菌属 [¶]	肠球菌属 [¶]
	氨苄西林 [§]	头孢他啶	阿齐霉素 ^b 或 克拉霉素 ^b 或 红霉素 ^b	氨苄西林 青霉素 [¶]
			克林霉素 ^b	
			苯唑西林(头孢西丁纸片) ^{LM}	
	头孢唑啉 ^a 头孢噻吩 ^a	庆大霉素 妥布霉素	青霉素 ⁱ	
庆大霉素 妥布霉素	哌拉西林	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑		
B 组 [¶] 首选试验 有选择报告的药 物	阿米卡星	阿米卡星	达托霉素 (仅 MIC 法)	达托霉素 (仅 MIC 法)
	阿莫西林/克拉维酸 氨苄西林/舒巴坦 哌拉西林/他唑巴坦 替卡西林/克拉维酸	氨基糖甙		利奈唑胺
				奎奴普汀/达福普汀 [¶]
			利奈唑胺	万古霉素
	头孢呋辛	泰利霉素 ^b		
		多西环素 四环素 ^a		
	头孢吡肟	头孢吡肟		
	头孢西丁	环丙沙星 左氧氟沙星	万古霉素	
	头孢噻肟 ^{§,h,i} 或 头孢曲松 ^{§,h,i}	亚胺培南 美洛培南	利福平 ^d	
	环丙沙星 [§] 左氧氟沙星 [§]	哌拉西林/他唑巴坦 替卡西林		
	厄他培南 亚胺培南 美罗培南			
	哌拉西林			
甲氧苄啶/磺胺甲噁唑 [§]				
C 组 [¶] 补充试验 有选择报告的药 物	氨基糖甙 头孢他啶 (两者系 ESBL 指示药) ⁱ		氯霉素 ^b	庆大霉素 (仅用于筛选高水平耐药 株)
	氯霉素 ^{b,g}		环丙沙星 或 左氧氟沙星 或 氧氟沙星	链霉素 (仅用于筛选高水平耐药 株)
	四环素 ^c		莫西沙星 奎奴普汀/达福普汀 [¶]	
			庆大霉素	
U 组 仅用于泌尿道的 补充试验的药物	羧苄西林	洛美沙星 或 氧氟沙星	洛美沙星 诺氟沙星	环丙沙星 左氧氟沙星 诺氟沙星
	洛美沙星 或 氧氟沙星 诺氟沙星	诺氟沙星	呋喃妥因	呋喃妥因
	呋喃妥因			
	磺胺异噁唑		磺胺异噁唑	四环素 ^c
	甲氧苄啶		甲氧苄啶	

抑菌环直径和最低抑菌浓度 (MIC) 分界值标准

肠杆菌科菌抑菌环直径和MIC解释标准

试验/报告 分组	抗菌药物	纸片含 药量	抑菌环直径 (mm)			MIC 值 (μg/ml)			注 释
			S	I	R	S	I	R	
青霉素类									
A	氨苄西林	10 μg	≥17	14-16	≤13	≤8	16	≥32	4) 氨苄西林和阿莫西林是这类药的代表药。见注释(2)
B	哌拉西林	100 μg	≥21	18-20	≤17	≤16	32-64	≥128	
O	Mecillinam	10 μg	≥15	12-14	≤11	≤8	16	≥32	5) 仅用于泌尿道分离的大肠埃希菌
O	羧苄西林	100 μg	≥23	20-22	≤19	≤16	32	≥64	
O	美洛西林	75 μg	≥21	18-20	≤17	≤16	32-64	≥128	
O	替卡西林	75 μg	≥20	15-19	≤14	≤16	32-64	≥128	
β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合物									
B	阿莫西林/克拉维酸	20/10 μg	≥18	14-17	≤13	≤8/4	16/8	≥32/16	
B	氨苄西林/舒巴坦	10/10 μg	≥15	12-14	≤11	≤8/4	16/8	≥32/16	
B	哌拉西林/他唑巴坦	100/10 μg	≥21	18-20	≤17	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4	
B	替卡西林/克拉维酸	75/10 μg	≥20	15-19	≤14	≤16/2	32/2-64/2	≥128/2	

细菌的耐药性

- **细菌耐药性：**是细菌抵抗抗菌药物杀菌、抑菌作用的一种防御能力，一种生物学的表型。
- **天然耐药（固有耐药）：**耐药性为某种细菌固有的特点称细菌的天然或固有耐药性。天然耐药**非常稳定**，据此就可**预测**某一细菌或可能存在的细菌对某种抗生素是否耐药。
- **获得性耐药：**由于细菌获得耐药基因，使原来敏感的细菌变为耐药称细菌的获得性耐药。获得性耐药是目前临床面临的最主要的耐药问题。获得性耐药**不断在变化** 其变化频率与抗生素应用相关，**不能预测**，需要做药敏试验。

常见细菌的天然耐药情况

表 1

常见菌的天然耐药性

菌属和菌种	天然耐药
全部肠杆菌科细菌	糖肽类、大环内酯类、克林霉素、利奈唑酮、奎奴普丁、莫匹罗星
鲍曼不动杆菌	氨基西林、阿莫西林、第一代头孢菌素
铜绿假单胞菌	氨基西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、第一、二代头孢菌素、头孢唑肟、头孢曲松、萘啶酸、甲氧苄啶
洋葱伯克霍尔德菌	氨基西林、阿莫西林、第一代头孢菌素、多黏菌素 E、氨基糖苷类抗生素
嗜麦芽寡氧单胞菌	全部单剂 β 内酰胺类抗生素、氨基糖苷类抗生素
黄杆菌属	氨基西林、阿莫西林、第一代头孢菌素
克雷伯菌属、变异柠檬酸菌	氨基西林、阿莫西林、羧苄西林、替卡西林
肠杆菌属、弗氏柠檬酸菌	氨基西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、第一代头孢菌素、头孢西丁
摩氏摩根菌	氨基西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、第一代头孢菌素、头孢呋辛、多黏菌素 E、呋喃妥因
普罗维登斯菌属	氨基西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、第一代头孢菌素、头孢呋辛、庆大霉素、奈替米星、妥布霉素、多黏菌素 E、呋喃妥因
奇异变形菌	多黏菌素 E、呋喃妥因
普通变形菌	氨基西林、阿莫西林、头孢呋辛、多黏菌素 E、呋喃妥因
沙雷菌属	氨基西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、第一代头孢菌素、头孢呋辛、多黏菌素 E
小肠结肠炎耶尔森菌	氨基西林、阿莫西林、羧苄西林、替卡西林、第一代头孢菌素
流感嗜血杆菌	青霉素、红霉素、克林霉素
粘膜炎莫拉菌	甲氧苄啶
全部革兰阳性菌	氨基曲南、多黏菌素 E、萘啶酸
肺炎链球菌	甲氧苄啶、氨基糖苷类抗生素
肠球菌	除青霉素和氨基西林外的青霉素类和除头孢硫脒* 外的头孢菌素、低浓度氨基糖苷类
李斯特菌	第三代头孢菌素、氟喹诺酮类

* 国内学者研究结果证明 头孢硫脒对肠球菌有一定的抗菌活性。

药敏试验药物选择

- 药敏试验药物选择原则
- 代表药物在药敏试验中的作用

药敏试验药物选择原则

- **代表性：**所选药物应具有代表性及对同类药物有提示作用，同类药物通常只选择一种或几种代表品种；
- **预报性：**选择药物可对抗菌药物使用或耐药机制有提示作用。如金葡菌对苯唑西林耐药提示对所有 β -内酰胺类耐药；革兰阳性球菌耐庆大霉素提示对氨基糖苷类耐药；肺炎链球菌选择苯唑西林提示青霉素耐药性。如大肠和克雷伯菌药敏中选三代头孢（头孢他啶、头孢噻肟）或氨曲南可提示细菌是否产ESBLs；在肠球菌药敏中选高浓度庆大霉素或链霉素可提示能否采用联合用药方案。
- **特殊性：**选择感染部位有较高浓度的抗菌药。如尿路感染的尿液标本可选择呋喃妥因，中枢神经系统感染的脑脊液可选氯霉素、头孢呋辛等（能通过血脑屏障）。

代表药物在药敏试验中的作用——预报性

菌属和菌种	代表性药物结果	推测其他药物结果
葡萄球菌属	青霉素敏感	其他青霉素类、头孢类和碳青霉烯类敏感
葡萄球菌属	青霉素耐药而 苯唑西林敏感	对青霉素酶不稳定的青霉素类耐药，但对其它青霉素酶稳定的青霉素类、 β -内酰胺/ 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
葡萄球菌属	苯唑西林耐药	对所有的 β -内酰胺类包括所有青霉素类、头孢类、 β 内酰胺酶抑制剂复合物、碳青霉烯类均耐药
葡萄球菌属	红霉素耐药	可能诱导克林霉素耐药，避免或小心使用
非产 β -内酰胺酶的 肠球菌	青霉素敏感	氨苄西林、阿莫西林、氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林、 哌拉西林/他唑巴坦敏感
链球菌属	青霉素敏感	氨苄西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、头孢克洛、 头孢地尼、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢唑肟、头孢曲松、头孢呋辛、头孢 泊肟、亚胺培南、氯碳头孢、美罗培南敏感
肠杆菌科细菌	任何二代或三代头孢菌 素耐药	可能产 β -内酰胺酶，避免使用任何一代或二代头孢菌素
肠杆菌科细菌	任何氨基青霉素耐药	可能产青霉素酶，避免使用氨基和羧基青霉素

特殊耐药机制的解读

常见特殊耐药表型

- ESBLs (产超广谱 β 内酰胺酶)
- MRS (耐甲氧西林葡萄球菌) 包括MRSA (耐甲氧西林金黄色葡萄球菌) 和MRSCN (耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌)
- BL (产 β 内酰胺酶)
- HLAR (高水平氨基糖苷类耐药肠球菌)
- AMPC酶
- 碳青霉烯酶

特殊耐药机制的解读

常见特殊耐药表型

- ESBLs (产超广谱 β 内酰胺酶)
- MRS (耐甲氧西林葡萄球菌) 包括MRSA (耐甲氧西林金黄色葡萄球菌) 和MRSCN (耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌)
- BL (产 β 内酰胺酶)
- HLAR (高水平氨基糖苷类耐药肠球菌)
- AMPC酶
- 碳青霉烯酶

特殊耐药机制的解读

“警告”： 下列抗生素/微生物组合在体外可出现活性，但在临床上无效，不应报告敏感

位置	微生物	不作为敏感报告的抗微生物药
表 2A	产 ESBL 肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、大肠埃希菌和奇异变形杆菌	青霉素类，头孢菌素类和氨基糖苷类
表 2A	沙门菌属、志贺菌属	第一和第二代头孢菌素、头霉素和氨基糖苷类
表 2C	苯唑西林耐药葡萄球菌属	青霉素类， β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂复合制剂，头孢类和亚胺培南
表 2D	肠球菌属	氨基糖苷类(除外高浓度)、头孢菌素类、克林霉素和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑
表 2K	鼠疫耶尔森菌	β -内酰胺类抗菌药物

CLSI 规定不能报敏感的抗菌药和细菌组合

与临床沟通中常见问题

1、我们想用的药物在药敏试验中没有做？

- 可能是天然耐药
- 可能是药物的敏感性被其他药物所预报

与临床沟通中常见问题

2.为什么有的菌报告很多种药物，有的仅报告几种药物？

- 报告的药物种类根据细菌种类的不同而有所不同，如铜绿假单胞菌报告的药物较多，而嗜麦芽窄食单胞菌报告的药物较少

CLSI药敏建议

不动杆菌属 ^j	洋葱伯克霍尔德菌 ^j	嗜麦芽窄食单胞菌 ^j
氨苄西林/舒巴坦	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑
头孢他啶		
环丙沙星 左氧氟沙星		
亚胺培南 美罗培南		
庆大霉素 妥布霉素		
阿米卡星	头孢他啶	*头孢他啶
	*氯霉素 ^d	*氯霉素 ^d
	*左氧氟沙星	左氧氟沙星
哌拉西林/他唑巴坦 替卡西林/克拉维酸	美罗培南	米诺环素
	米诺环素	*替卡西林/克拉维酸
	*替卡西林/克拉维酸	
头孢吡肟		
头孢噻肟 头孢曲松		

与临床沟通中常见问题

3、是否能将所用的药都做药敏试验？

- **没有必要：**通过耐药机制和标志性药物可以预测其他抗菌药物的敏感性
- **没有可能：**不是所用药物都可以做药敏试验（需要药物在体外稳定，需要有操作标准和解释标准）

与临床沟通中常见问题

6、选择药敏报告敏感的药物，为什么临床治疗无效？

体外药敏试验只能预测体内治疗效果，并不等同；一般来说，耐药 = 治疗无效；敏感 \neq 治疗有效。

- 可能不是真正的致病菌（污染或定植菌）
- 细菌本身因素（如诱导耐药，生物被膜）
- 感染部位与药代动力学因素
- 细菌的MIC，给药剂量和用药方式
- 药敏试验药物中有些药物单独使用无效，但可以与其他药物联合用药
- 药物剂型及生物利用度（纯品、商品）

小 结

- 不合格标本=细菌=垃圾;合格标本=细菌=临床治疗
- 药敏试验是用体外试验预测体内治疗效果，对其结果必须正确理解，合理解读。
- 临床实验室检验有自身的局限性
- 检验与临床的沟通和交流非常重要！根据临床症状和初步诊断选择适当的检测方法，才能获得较好的结果。



谢谢！