



“CHINET 中国细菌耐药监测网”技术方案

(2019 年版)

细菌性感染遍布于内、外、妇、儿等临床各科，针对病原菌正确选用抗菌药是治疗有效的关键。进行细菌耐药监测，为临床提供合理用药依据，是世界卫生组织为遏制细菌耐药性发生发展的战略措施。根据我国卫生部卫办医发〔2012〕84号《抗菌药临床应用管理办法》要求，二级以上医院应当建立临床微生物室，开展细菌耐药监测工作。由于不同地区的二级医院的科室设置、收治的感染和病种、病原菌及其对抗菌药的敏感性等与三级医院不同，因此有必要同时对二级医院、三级医院，包括儿童医院开展细菌耐药性监测。“CHINET中国细菌耐药监测网”从2005年建网初期的8所医院，发展目前已有50余所医疗机构参与（网址：www.chinets.com），年监测菌株数量达20万株。为更好做好细菌耐药监测工作，在历年技术方案基础上，结合当前耐药菌的发展趋势及合理用药指导原则，整理形成“CHINET中国细菌耐药监测网”技术方案。

本技术方案适用于“CHINET中国细菌耐药监测网”和“上海市细菌真菌耐药监测网”各成员单位。各成员单位按此技术方案中要求的药敏试验材料、监测方法和判断标准进行细菌耐药监测并向临床报告药敏试验结果。

一. 方法学

采用纸片扩散法（Kirby-Bauer）、自动化仪器法、微量稀释法或 E-test，所有药敏试验方法应遵循以下原则。

1. 药敏试验方法必须遵循 CLSI 文件当年规定的原则和质控要求；
2. 采用自动化仪器法的单位，须按技术方案要求补充仪器未包含的抗菌药品种；
3. 自动化仪器药敏卡上的抗菌药浓度范围须覆盖 CLSI 判断标准。

二. 抗菌药监测品种

1. **肠杆菌科细菌**：阿米卡星、庆大霉素、氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦*、头孢唑啉、头孢呋辛、头孢西丁、头孢噻肟（或头孢曲松）、头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、左氧氟沙星、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、呋喃妥因、磷霉素**、多黏菌素 B 或黏菌素***、替加环素****、头孢他啶/阿维巴坦。

备注：

*参考头孢哌酮的标准（纸片扩散法抑菌圈直径 $\leq 15\text{mm}$ 耐药、 $16\text{-}20\text{mm}$ 中介、 $\geq 21\text{mm}$ 敏感；稀释法 $\text{MIC} \geq 64\mu\text{g/ml}$ 耐药、 $32\mu\text{g/ml}$ 中介、 $\leq 16\mu\text{g/ml}$ 敏感）；

**报告尿标本分离大肠埃希菌的磷霉素药敏试验结果；其他细菌建议积累监测资料。

***目前 CLSI 仅有流行病学折点。对于产气克雷伯菌（以前称产气肠杆菌）、阴沟肠杆菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和解鸟氨酸拉乌尔菌中的碳青霉烯类耐药菌株，可将黏菌素的药敏试验结果按流行病学折点报告敏感性。多黏菌素 MIC 值可预测多黏菌素 B 的敏感性。

****按 FDA 判断标准报告药敏试验结果（MIC 为敏感 $\leq 2\text{mg/L}$ 、耐药 $\geq 8\text{mg/L}$ ；纸片法抑菌圈直径 $\geq 19\text{mm}$ 为敏感、 $\leq 14\text{mm}$ 为耐药）；因自动化仪器或纸片扩散法在检测替加环素对病原菌的敏感性时可能会出现假中介和假耐药结果，在报告此结果前需采用其他方法进行复核确认，包括微量肉汤稀释法、MTS 法和纸片扩散法（含替加环素复敏液）。

2. **沙门菌属和志贺菌属细菌：**氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢曲松*、左氧氟沙星**（或环丙沙星）、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、氯霉素和阿奇霉素***

备注：

* < 16 岁骨骼系统未发育完全的小儿应报头孢曲松的结果；

**注意要使用喹诺酮类药物对沙门菌属的判断标准

***阿奇霉素 CLSI 目前仅有对伤寒沙门菌的判断标准，其他沙门菌属和志贺菌属细菌仅限于 ECV 折点

3. **铜绿假单胞菌：**阿米卡星、庆大霉素、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦*、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星、多黏菌素 B 或黏菌素**

备注：

*参考头孢哌酮（2010 年 CLSI M100-S20）的标准（纸片法抑菌圈直径 $\leq 15\text{mm}$ 耐药、 $16\text{-}20\text{mm}$ 中介、 $\geq 21\text{mm}$ 敏感；稀释法 $\text{MIC} \geq 64\mu\text{g/ml}$ 耐药、 $32\mu\text{g/ml}$ 中介、 $\leq 16\mu\text{g/ml}$ 敏感）；

** 目前 CLSI 仅有 MIC 法判断标准。

4. **不动杆菌属**：阿米卡星、庆大霉素、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦*、头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星或左氧氟沙星、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、米诺环素、多黏菌素 B 或黏菌素**、替加环素***

备注：

*参考头孢哌酮的标准（纸片扩散法抑菌圈直径 $\leq 15\text{mm}$ 耐药、 $16\text{-}20\text{mm}$ 中介、 $\geq 21\text{mm}$ 敏感；稀释法 $\text{MIC} \geq 64\mu\text{g/ml}$ 耐药、 $32\mu\text{g/ml}$ 中介、 $\leq 16\mu\text{g/ml}$ 敏感）；

**目前 CLSI 仅有 MIC 法判断标准。

***按 FDA 判断标准报告药敏试验结果（MIC 法 $\leq 2\text{mg/L}$ 敏感、 $R \geq 8\text{mg/L}$ 耐药；纸片法抑菌圈直径 $\geq 16\text{mm}$ 敏感、 $\leq 12\text{mm}$ 耐药）

5. **嗜麦芽窄食单胞菌**：哌拉西林/他唑巴坦*、头孢哌酮/舒巴坦**、头孢他啶***、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、米诺环素、氯霉素***、

备注：

*无 CLSI 标准，参考 CLSI 文件中铜绿假单胞菌的判断标准

**参考头孢哌酮的标准（纸片扩散法抑菌圈直径 $\leq 15\text{mm}$ 耐药、 $16\text{-}20\text{mm}$ 中介、 $\geq 21\text{mm}$ 敏感；稀释法 $\text{MIC} \geq 64\mu\text{g/ml}$ 耐药、 $32\mu\text{g/ml}$ 中介、 $\leq 16\mu\text{g/ml}$ 敏感）；

***目前 CLSI 仅有 MIC 法标准。

6. **洋葱伯克霍尔德菌**：哌拉西林/他唑巴坦*、头孢哌酮-舒巴坦**、头孢他啶、美罗培南、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、米诺环素、氯霉素***、左氧氟沙星***

备注：

*无 CLSI 标准，参考 CLSI 对铜绿假单胞菌的标准

**参考头孢哌酮的标准（纸片扩散法抑菌圈直径 $\leq 15\text{mm}$ 耐药、 $16\text{-}20\text{mm}$ 中介、 $\geq 21\text{mm}$ 敏感；稀释法 $\text{MIC} \geq 64\mu\text{g/ml}$ 耐药、 $32\mu\text{g/ml}$ 中介、 $\leq 16\mu\text{g/ml}$ 敏感）；

***目前 CLSI 仅有 MIC 法标准。

7. **其他非肠杆菌科细菌***：阿米卡星、庆大霉素、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦**、头孢噻肟（或头孢曲松）、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、氯霉素、黏菌素

备注：

*纸片法结果不可靠，需用 MIC 方法测定；

**参考头孢哌酮的标准（纸片扩散法抑菌圈直径 $\leq 15\text{mm}$ 耐药、 $16\text{-}20\text{mm}$ 中介、 $\geq 21\text{mm}$ 敏感；稀释法 $\text{MIC} \geq 64\mu\text{g/ml}$ 耐药、 $32\mu\text{g/ml}$ 中介、 $\leq 16\mu\text{g/ml}$ 敏感）；

8. **流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌***：氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦（或阿莫西林/克拉维酸）、头孢呋辛、头孢曲松（或头孢噻肟）**、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、左氧氟沙星（或莫西沙星）**、阿奇霉素**和氯霉素。

备注：

*药敏试验受条件限制的单位，须检测 β -内酰胺酶，菌株保存后统一运送至中心实验室进行抗菌药敏感性试验； β -内酰胺酶阴性但氨苄西林耐药株亦需统一运送至中心实验室进行复核确认。

**罕见耐药菌株。发现此类耐药菌株需再次菌种鉴定，并用 MIC 方法测定。如确认需将菌株保存后统一运送至中心实验室进行复核确认。

9. **卡他莫拉菌***：阿莫西林-克拉维酸、头孢呋辛**、头孢曲松（或头孢噻肟）***、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、左氧氟沙星***、阿奇霉素***、克林霉素**、氯霉素

备注：

*药敏试验受条件限制的单位，须检测 β -内酰胺酶，菌株保存后统一运送至中心实验室进行抗菌药敏感性试验；

**目前仅有 MIC 法药敏试验判断标准；

***目前仅有 MIC 法敏感标准，罕见耐药株；

10. **淋病奈瑟菌属***：青霉素、头孢曲松、头孢克肟、四环素、环丙沙星、大观霉素

备注：

*无需常规药敏试验，但在治疗失败时应考虑进行药敏试验。

11. **脑膜炎奈瑟球菌***：青霉素、头孢曲松或头孢噻肟、美罗培南、阿奇霉素**、米诺环素**、环丙沙星**、氯霉素**、利福平**

备注：

*分离到此菌株应按生物安全条例立即送上级 CDC 临床微生物实验

**仅适用于脑膜炎球菌感染密切接触者预防，CLSI 的标准不适用于侵袭性脑膜炎球菌感染者治疗

12. **葡萄球菌属**：庆大霉素、青霉素*、头孢西丁(苯唑西林**)、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、红霉素、克林霉素(含 D 试验)、万古霉素***、利奈唑胺****、左氧氟沙星、



利福平和磷霉素*****

备注:

*青霉素抑菌圈直径 $\geq 29\text{mm}$ 或 $\text{MIC} \leq 0.12\mu\text{g/mL}$ 时, 报告结果前需进行青霉素酶诱导试验;

**以头孢西丁结果报告葡萄球菌对苯唑西林的敏感性 (假中间葡萄球菌和施氏葡萄球菌需采用苯唑西林纸片法或 MIC 法);

***万古霉素对葡萄球菌属的药敏需采用稀释法测定 MIC;

****对于万古霉素、利奈唑胺不敏感的菌株需重复鉴定和药敏试验, 不敏感菌株需统一运送至中心实验室进行复核确认。

*****目前 CLSI 无该抗菌药判断标准, 建议积累监测资料;

13. 肠球菌属*: 庆大霉素 ($120\mu\text{g}/\text{片}$)、氨苄西林、左氧氟沙星、万古霉素**、利奈唑胺**、呋喃妥因***和磷霉素***。

备注:

*除高浓度庆大霉素和链霉素外, 该属细菌不适宜进行对氨基糖苷、头孢菌素类、克林霉素和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑体外药敏试验。虽然它们中的某些菌株可表现体外药敏试验时的敏感性, 但在临床上并不有效, 故不应该向临床报告敏感。

**对万古霉素或利奈唑胺不敏感的菌株需重复菌种鉴定和药敏试验, 不敏感菌株需统一运送至中心实验室进行复核确认。VRE 可疑菌株需增加万古霉素和替考拉宁的 MIC 测定 (Etest 或微量肉汤稀释法), 亦可将菌株统一运送至中心实验室进行复核确认 (包括耐药基因分子分型)。

***药敏试验报告仅限于尿液标本分离的粪肠球菌, 其他标本来源的粪肠球菌、以及屎肠球菌 CLSI 无判断标准, 建议积累监测资料

14. 肺炎链球菌: 青霉素(苯唑西林 $1\mu\text{g}/\text{片}$) *、阿莫西林-克拉维酸**、头孢噻肟***、头孢曲松***、美罗培南***、红霉素、克林霉素、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、左氧氟沙星或莫西沙星、万古霉素、利奈唑胺、氯霉素、利福平、。

备注:

*当 $1\mu\text{g}/\text{片}$ 苯唑西林的抑菌圈直径 $\geq 20\text{mm}$ 时报告该菌对青霉素敏感, 若 $\leq 19\text{mm}$ 时, 需测定青霉素 MIC 值;

**目前 CLSI 只有 MIC 判断标准;

***分离自脑脊液的肺炎链球菌，应同时采用稀释法或 Etest 测定青霉素、头孢噻肟、头孢曲松和美罗培南以及万古霉素等抗生素的 MIC 值。

15. **β -溶血性链球菌***：青霉素、头孢曲松、红霉素、克林霉素、万古霉素、利奈唑胺、左氧氟沙星、氯霉素

备注：

* β -溶血包括具有 A(化脓链球菌)、C 或 G 群抗原形成较大菌落的化脓性链球菌和具有 B 群(无乳链球菌)抗原的菌株。对来自围产期妇女阴道分泌物的 B 群(无乳链球菌)要求进行“D 试验”，并将“D 试验”结果报告临床。

16. **草绿色链球菌***：青霉素**、头孢曲松、万古霉素、利奈唑胺、红霉素、克林霉素、左氧氟沙星、氯霉素

备注：

*具有 A、C、F 或 G 群抗原(咽峡炎链球菌，以前称为米勒链球菌)形成较小菌落 β -溶血的菌株被考虑分到草绿色菌群，应使用草绿色菌群解释标准；草绿色菌群也包括缓症链球菌、口腔链球菌、血液链球菌、唾液链球菌、中间型链球菌、星座链球菌、变异链球菌和牛链球菌；

**对分离自血液与正常无菌部位(如，脑脊液、血液、骨)的草绿色链球菌，应该用 MIC 法测试氨苄西林和青霉素的 MIC 值。

三. 监测菌种要求

1. 需监测的临床分离菌（表 1），必须鉴定到种；
2. 葡萄球菌属细菌必须明确属甲氧西林（苯唑西林）耐药或敏感的属性；
3. 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌和奇异变形杆菌应明确头孢曲松或头孢噻肟的敏感性；
4. 肺炎链球菌须明确其对青霉素的敏感性；
5. 结核分枝杆菌、真菌和厌氧菌不列入细菌耐药监测范围

表 1. 建议监测的细菌

英文名称	中文名称
<i>Acinetobacter</i> spp.	不动杆菌属
<i>Burkholderia cepacia</i>	洋葱伯克霍尔德菌
<i>Citrobacter</i> spp.	枸橼酸杆菌属
<i>Enterobacter</i> spp.	肠杆菌属
<i>Enterococcus</i> spp.	肠球菌属
<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌
<i>Haemophilus influenzae</i>	流感嗜血杆菌
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	副流感嗜血杆菌
<i>Klebsiella</i> spp.	克雷伯菌属
<i>Morexella catarrhalis</i>	卡他莫拉菌
<i>Morganella</i> spp.	摩根菌属
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	淋病奈瑟菌
<i>Neisseria meningitidis</i> **	脑膜炎奈瑟菌
<i>Proteus</i> spp.	变形杆菌属
<i>Providencia</i> spp.	普罗威登菌属
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	铜绿假单胞菌
<i>Salmonella</i> spp.	沙门菌属
<i>Serratia</i> spp.	沙雷菌属
<i>Shigella</i> spp.	志贺菌属
<i>Staphylococcus aureus</i>	金黄色葡萄球菌
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	凝固酶阴性葡萄球菌（血液等无菌部位）
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (urine)	腐生葡萄球菌（尿液）
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	嗜麦芽窄食单胞菌
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	肺炎链球菌
<i>S.treptococcus</i> β -hemolytic group	β -溶血性链球菌
<i>S.treptococcus viridans</i> group	草绿色链球菌（血液等无菌部位）

四. 特殊耐药菌检测要求（不包含分子生物学检测方法）

1. 苯唑西林耐药葡萄球菌（MRS）（表2）：*mecA*基因介导的苯唑西林（OXA）耐药性（金葡菌和路邓葡萄球菌）按照纸片扩散法或稀释法药敏试验操作步骤，行30 μ g/片头孢西丁（FOX）纸片法对受试葡萄球菌的药敏试验，或头孢西丁或苯唑西林的稀释法药敏试验；33-35 $^{\circ}$ C孵育16~18h，结果按下表所列报告：

表2. 甲氧西林耐药葡萄球菌的检测

方法学	金葡菌和路邓葡萄球菌*		表皮葡萄球菌		凝固酶阴性葡萄球菌**		假中间和施氏葡萄球菌***	
	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药
FOX纸片法	≥22mm	≤21mm	≥25mm	≤24mm	≥25mm	≤24mm	无	无
FOX稀释法	≤4μg/ml	≥8μg/ml	无	无	无	无	无	无
OXA稀释法	≤2μg/ml	≥4μg/ml	≤0.25μg/ml	≥0.5μg/ml	≤0.25μg/ml ^④	≥0.5μg/ml****	≤0.25μg/ml	≥0.5μg/ml
OXA纸片法	无	无	≥18mm	≤17mm	无	无	≥18mm	≤17mm
结果报告	OXA敏感	OXA耐药			OXA敏感	OXA耐药	OXA敏感	OXA耐药

注意事项:

*若采用头孢西丁和苯唑西林同时检测金葡菌和路邓葡萄球菌，只要任一结果为耐药，则应报告受试菌为MRS菌株；

**仅适合于除路登葡萄球菌、表皮葡萄球菌、假中间葡萄球菌和施氏葡萄球菌之外的其他凝固酶阴性葡萄球菌；

***仅适合假中间葡萄球菌和施氏葡萄球菌，只有苯唑西林纸片法和稀释法检测其中的MRS菌株，头孢西丁纸片法和稀释法均不适合；

****对于表皮葡萄球菌外其他苯唑西林MIC值为0.5μg/ml~2μg/ml的凝固酶阴性葡萄球菌引起的严重感染，推荐用mecA基因或PBP2a基因测试的分子生物学诊断法，或用头孢西丁纸片扩散法，确认其含有mecA后，向临床报告MRS。

2. 葡萄球菌中青霉素酶诱导试验

青霉素抑菌圈直径为≥29mm或MIC值为≤0.125μg/ml的菌株，需进行青霉素酶诱导试验。具体操作：将受试菌用无菌接种环在MH药敏平板上均匀按4区划线，在第1区和第2区的交界处贴上10μg/片的青霉素纸片。33℃~37℃孵育16h~18h后，如抑菌圈边缘清晰，如同“绝壁（cliff现象）”，或边缘有菌苔堆积者为β内酰胺酶产生株；亦可进行头孢硝噻吩试验显示红色，即为诱导酶试验阳性。如果抑菌圈边缘如同“沙滩”模糊，头孢硝噻吩试验不显示颜色变化者，即为诱导酶阴性。诱导酶试验阳性者，即使青霉素体外试验敏感也要修正报告为耐药。

3. 万古霉素和利奈唑胺耐药革兰阳性球菌

对万古霉素或利奈唑胺等不敏感的革兰阳性球菌，需重复菌株的鉴定和采用稀释法进行药敏试验（含Etest），对VRE菌株需增加利奈唑胺或替考拉宁稀释法药敏。如果确认为耐药者需保存，集中送中心实验室进行复核确认（表3）。

表3. 万古霉素和利奈唑胺耐药革兰阳性球菌

抗菌药（方法）		金葡菌		凝固酶阴性葡萄球菌		肠球菌属	
		敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药
万古霉素	纸片法	无	无	无	无	≥17mm	≤14mm*
	稀释法	≤2μg/ml	≥16μg/ml	≤4μg/ml	≥32μg/ml	≤4μg/ml	≥32μg/ml*
替考拉宁	纸片法					≥14mm	≤10mm*
	稀释法					≤8μg/ml	≥32μg/ml
利奈唑胺	纸片法	≥21mm	≤20mm	≥21mm	≤20mm	≥23mm	≤20mm
	稀释法	≤4μg/ml	≥8μg/ml	≤4μg/ml	≥8μg/ml	≤2μg/ml	≥8μg/ml

*糖肽类或利奈唑胺纸片法药敏试验结果观察需注意应用透射光阅读结果，只要抑菌圈内有1个菌落生长即可判断为耐药。纸片法结果为耐药者需用MIC法确认

*耐药菌株需用E-test或稀释法进行确认获得MIC值，或分子生物学检测耐药基因；

4. 青霉素不敏感肺炎链球菌

按CLSI的要求，以1μg/片苯唑西林纸片药敏试验预测青霉素的敏感性；若苯唑西林抑菌圈直径≥20mm者即为青霉素敏感菌株（PSSP），抑菌圈直径≤19mm者需采用稀释法或Etest获得青霉素的MIC值，根据MIC值判断菌株对青霉素的敏感性（表4）。

表4. 肺炎链球菌青霉素敏感性的判断标准

方法学	脑膜炎来源的肺炎链球菌		除脑膜炎来源的其他肺炎链球菌	
1μg/片苯唑西林	抑菌圈≥20mm	PSSP	抑菌圈≥20mm	PSSP
	抑菌圈≤19mm	必须用青霉素E-试验或稀释法再次试验和确认		
青霉素稀释法或Etest	MIC值≤0.06μg/ml	PSSP	MIC值≤2μg/ml	PSSP
	无	无	MIC值= 4μg/ml	PISP
	MIC值≥0.125μg/ml	PRSP	MIC值≥8μg/ml	PRSP

5. B群(无乳链球菌)“D试验”

诱导型克林霉素耐药葡萄球菌中较为多见，在链球菌属细菌中亦有报道。D-试验采用纸片法原理检测确认革兰阳性菌存在的诱导型克林霉素耐药性。将0.5麦氏浊度的受试菌液均匀涂布于MH药敏平板，稍晾干；将15μg/片的红霉素的纸片和2μg/片克林霉素的纸片贴于上述平板中；两纸片间距15mm-26mm。孵育过夜。如红霉素耐药，且邻近红霉素纸片侧的克林霉素出现似英文字母D字形的抑菌环，即为D试验阳性；则提示受试菌为诱导型克林霉素耐药株；反之为D试验为阴性。对分离自围产期妇女阴道分泌物的B群(无乳链球菌)进行“D试验”，其临床意义在于有些围产期妇女如对青霉素严重过敏，不能采用β-内酰胺类治疗，此可考虑采用克林霉素。但是如果受试菌株为诱导型克林霉素耐药者，而在不进行D-试验的情况下报告克林霉素敏感，将会误导临床用药。

6. 碳青霉烯类耐药革兰阴性杆菌

包括碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌(CRE)和碳青霉烯类耐药的铜绿假单胞菌(CRPA)和鲍曼不动杆菌(CRAB)。凡药敏试验结果为碳青霉烯类耐药菌株,建议进行复核确认(表5、表6、表7)。

表5. 碳青霉烯类抗生素对肠杆菌科细菌的判断标准

抗生素*	纸片法 (抑菌圈直径)			稀释法 (MIC值)	
	(含量)	敏感	耐药	敏感	耐药
亚胺培南**	(10μg/片)	≥23mm	≤19mm	≤1μg/ml	≥4μg/ml
美罗培南	(10μg/片)	≥23mm	≤19mm	≤1μg/ml	≥4μg/ml
厄他培南	(10μg/片)	≥22mm	≤18mm	≤0.5μg/ml	≥2μg/ml

*上述任一碳青霉烯类品种的耐药者均为CRE菌株

**变形杆菌属、摩根菌属、普鲁威登菌属中亚胺培南耐药者,需参考美罗培南和厄他培南的结果;

表6. 碳青霉烯类抗生素对铜绿假单胞菌的判断标准

抗生素*	纸片法 (抑菌圈直径)			稀释法 (MIC值)	
	(含量)	敏感	耐药	敏感	耐药
亚胺培南	(10μg/片)	≥19mm	≤15mm	≤2μg/ml	≥8μg/ml
美罗培南	(10μg/片)	≥19mm	≤15mm	≤2μg/ml	≥8μg/ml
多立培南	(10μg/片)	≥19mm	≤15mm	≤2μg/ml	≥8μg/ml

*上述任一碳青霉烯类品种的耐药者均为CRE菌株

表7. 碳青霉烯类抗生素对不动杆菌属的判断标准

抗生素*	纸片法 (抑菌圈直径)			稀释法 (MIC值)	
	(含量)	敏感	耐药	敏感	耐药
亚胺培南	(10μg/片)	≥22mm	≤18mm	≤2μg/ml	≥8μg/ml
美罗培南	(10μg/片)	≥18mm	≤14mm	≤2μg/ml	≥8μg/ml
多立培南	(10μg/片)	≥18mm	≤14mm	≤2μg/ml	≥8μg/ml

*上述任一碳青霉烯类品种的耐药者均为CRE菌株

五. 细菌耐药性监测质量的控制

为保证细菌耐药监测资料的准确性,需对进行质量控制。要求如下:

1. 细菌的鉴定和药敏试验质量控制

(1) 时间: 每年 10 月份,按规定菌种集中运送至中心实验室。

(2) 细菌: 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金葡菌、粪肠球菌、屎肠球菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌;

(3) 株数: 每种菌 20 株,收集满即止,剔除同一患者相同部位分离的重复菌株。



(4) 菌种保存: 按医院菌种保存方法进行保存。之后统一由中心实验室委托快递公司至各医院收取菌种集中运输。

2. 特殊耐药细菌的再鉴定和药敏试验确证工作 (全年), 菌种保存的方法同上。

(1) 万古霉素或利奈唑胺不敏感的革兰阳性球菌;

(2) 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌 (血液等无菌部位);

(3) 碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌 (血液等无菌部位)

六. 细菌耐药监测资料统计及汇总

1. 数据汇总方式: 以在线上报的方式每 6 个月传送一次细菌耐药监测数据;

2. 资料核对及处理: 中心实验室在收到各医院的细菌耐药监测数据后, 对数据中的各种问题进行检查与核对, 包括资料输入的正确性、药敏试验结果存在的问题等, 并提取这些错误资料单独制成一个文件反馈至各单位, 进行复核确认。

3. 资料统计及汇总: 以 WHONET 最新版本软件进行数据统计和分析、资料汇总、形成专题, 总结成文。

4. 各成员单位制作 PPT 或壁报在“CHINET 中国细菌耐药监测网”中期和总结会上汇报本单位半年或全年的细菌耐药监测工作。

CHINET 中国细菌耐药监测网

上海市细菌真菌耐药监测网

复旦大学附属华山医院抗生素研究所

2018 年 12 月 26 日

附件 1. 关于磷霉素、黏菌素 (或多黏菌素 B)、替加环素、头孢哌酮-舒巴坦药敏试验以及碳青霉烯酶检测方法注意点

附件 2. CHINET 细菌耐药性监测网技术方案 (2019 年版) 推荐革兰阴性菌耐药性监测的抗菌药品种

附件 3. CHINET 细菌耐药性监测网技术方案 (2019 年版) 推荐 革兰阳性菌和苛养菌、少见菌耐药性监测的抗菌药品种

附件 1. 关于磷霉素、黏菌素（或多黏菌素 B）、替加环素、头孢哌酮-舒巴坦药敏试验以及碳青霉烯酶检测方法注意点

一. 磷霉素药敏试验判断标准

1. 本品与其他抗菌药无交叉耐药；文献报道其对产 ESBLs/AmpC 酶等多重耐药株均有较强的抗菌活性。
2. CLSI 已建立的判断标准仅对分离自尿液标本的大肠埃希菌和粪肠球菌。每天的药敏试验需对上述细菌报告磷霉素的敏感性，对于 CLSI 还未建立判断标准的菌株，尚不需要向临床报告，但需要保留药敏结果于 WHONET 资料文件夹内。
3. 如有需要采用 EUCAST 判断标准，则必须按 EUCAST 规范要求执行

表 1. CLSI 和 EUCAST 关于磷霉素的判断标准

细菌	CLSI			EUCAST		
	标本	纸片（200μg）	MIC	标本	纸片	MIC
大肠埃希菌	尿	≥16；≤12	≤64，≥256	-	-	≤32，≥64
其他肠杆菌科细菌	-	-	-	-	-	≤32，≥64
粪肠球菌	尿	≥16；≤12	≤64，≥256	-	-	-
葡萄球菌属	-	-	-	-	-	≤32，≥64

二. 黏菌素（或多黏菌素 B）药敏试验判断标准

1. 目前 CLSI 除铜绿假单胞菌和不动杆菌属有黏菌素和多黏菌素 B 判断标准外，其他细菌均尚未建立，但肠杆菌科中的产气克雷伯菌、阴沟肠杆菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和解鸟氨酸拉乌尔菌已有黏菌素的流行病学折点（ECV 值）
2. 对于 CLSI 还未建立药敏试验判断标准的细菌，尚不需要向临床报告。但临床遇到 CRE 和 XDR 时，需要某些肠杆菌科细菌的黏菌素药敏资料时可按 ECV 界值判断为 WT（野生型）和 NWT（非野生型）。
3. 黏菌素和多菌素 B 的药敏试验，CLSI 判断标准仅限于 MIC 测定法，纸片法和 Etest 法均不适宜；
4. 如采用 EUCAST 判断标准，必须按 EUCAST 规范要求执行

表 2. 黏菌素（或多黏菌 B）的判断标准

抗菌药	CLSI			EUCAST		
	铜绿假单胞菌	不动杆菌属	肠杆菌科*	铜绿假单胞菌	不动杆菌属	肠杆菌科
黏菌素 (10μg)	≤2, ≥4	≤2, ≥4	WT≤2, NWT≥4	≤4, ≥8	≤2, ≥4	≤2, ≥4
多黏菌素 B (300μg)	≤2, ≥8	≤2, ≥4	-	-	-	-

*: 流行病学折点

三. 替加环素药敏试验判断标准

1. 替加环素是甘氨酸环素类抗菌药，体外抗菌活性强、抗菌谱广；文献报道其对革兰阳性菌中的 MRSA、VRE、PRSP 等以及革兰阴性杆菌中的产 ESBLs/AmpC 酶、CRE 和 XDR 等菌株均有良好的抗菌作用；
2. 尚未发现与其他抗生素存在交叉耐药，不受 β-内酰胺酶（包括 ESBLs）、靶位修饰、大环内酯类外排泵或靶位酶影响（旋转酶/拓扑异构酶）等耐药机制影响；
3. 研究显示，实验室采用自动化仪器或纸片法测定细菌对替加环素的敏感性时，可能会出现假中介或耐药结果，需采用标准的微量肉汤稀释法或替加环素 MTS 法进行复核确认（敏感结果可直接报告）。但由于绝大多数实验室难以开展标准的微量肉汤稀释法，加之替加环素 MTS 条价格较高，导致无法常规开展对“中介”或“耐药”菌株的复核。目前建议采用替加环素纸片添加复敏液的方法，对自动化仪器或常规纸片法显示为中介或耐药的菌株进行复核，操作方法如下。
 - (1) 操作方法同 CLSI 推荐的纸片扩散法，但需在替加环素纸片上滴加 6 μl/mL 替加环素复敏液（复敏液对革兰阴性杆菌无抑菌活性），过夜孵育后量取抑菌圈直径，按判断标准判断敏感、中介或耐药（表 3）。



图 1. 纸片扩散法检测细菌对替加环素的敏感性

A. 含替加环素复敏液纸片（22mm）；B. 不含替加环素复敏液纸片（18mm）；

(2) 上海 9 所医院的多中心研究结果显示, 与常规纸片法药敏试验结果相比, 含替加环素复敏液纸片法检测结果与标准微量肉汤稀释法结果的一致性更好(表 3)。

表 4. 不同方法检测细菌对替加环素的敏感性结果比较

细菌	方法	耐药率	中介率	敏感率
肺炎克雷伯菌 (466 株)	微量肉汤稀释法	0.6	2.4	97.0
	纸片扩散法 (常规)	10.8	36.3	52.9
	纸片扩散法 (复敏液)	1.3	17.8	80.9
鲍曼不动杆菌 (255 株)	微量肉汤稀释法	0	3.5	96.5
	纸片扩散法 (常规)	5.5	38.8	55.7
	纸片扩散法 (复敏液)	0	1.2	98.8

4. 参考文献: (1) 王辉, 倪语星, 陈民钧等. 新型甘氨酸环素类抗菌药替加环素的体外药敏试验操作规程. 中华检验医学杂志, 2009; 32: 1208; (2) 王辉, 俞云松, 王明贵, 倪语星等. 替加环素的体外药敏试验操作规程专家共识. 中华检验医学杂志, 2013; 36: 584.

表 4. FDA 关于替加环素对临床主要病原菌的判断标准

细菌	MIC($\mu\text{g/ml}$)			抑菌圈直径(mm)		
	S	I	R	S	I	R
金葡菌 (含 MRSA)	≤ 0.5	-	-	≥ 19	-	-
肺炎链球菌	≤ 0.06	-	-	≥ 19	-	-
粪肠球菌 (含 VSE)	≤ 0.25	-	-	≥ 19	-	-
肠杆菌科细菌	≤ 2	4	≥ 8	≥ 19	15-18	≤ 14
鲍曼不动杆菌	≤ 2	4	≥ 8	≥ 16	13-15	≤ 12

四. 头孢哌酮-舒巴坦药敏试验判断标准

1. 头孢哌酮-舒巴坦系酶抑制剂舒巴坦与第三代头孢菌素头孢哌酮的复合制剂。舒巴坦与头孢哌酮合用后, 可以保护后者不被 β 内酰胺酶, 包括超广谱 β 内酰胺酶 (ESBLs) 水解, 使头孢哌酮的抗菌作用增强, 抗菌谱扩大。对肠杆菌科细菌、铜绿假单胞菌和不动杆菌属等均具有良好的抗菌作用
2. 目前 CLSI 没有头孢哌酮-舒巴坦酶抑制剂复合制剂的判断标准, 参考文献表示可以采用头孢哌酮单药的判断标准解释细菌对头孢哌酮-舒巴坦的敏感性试验的结果, 如: Barry AL, et al. Tests and Quality Control Guidelines for the Cefoperazone-Sulbactam Criteria for Disk Susceptibility Combination. *J Clin Microbiol*, 1988; 26(1): 13.

表 5. 头孢哌酮/舒巴坦对临床分离菌的判断标准

细菌	MIC($\mu\text{g/ml}$)			抑菌圈直径 (mm)			推荐依据
	S	I	R	S	I	R	
肠杆菌科	≤ 16	32	≥ 64	≤ 21	16-20	≥ 15	CLSI M100S-28 th P33
铜绿假单胞菌	≤ 16	32	≥ 64	≤ 21	16-20	≥ 15	CLSI M100S-20 th P53
不动杆菌属	≤ 16	32	≥ 64	≤ 21	16-20	≥ 15	CLSI M100S-15 th P40 (纸片法) 和 P108 (稀释法)
嗜麦芽窄食单胞菌	≤ 16	32	≥ 64	≤ 21	16-20	≥ 15	
洋葱伯克霍尔德菌	≤ 16	32	≥ 64	≤ 21	16-20	≥ 15	

五. 肠杆菌科细菌中碳青霉烯酶的检测方法

1. 产生碳青霉烯酶是肠杆菌科细菌对碳青霉烯类耐药最主要的机制。碳青霉烯酶可直接水解破坏碳青霉烯类抗菌药。由于碳青霉烯酶基因大多位于可移动基因元件上，导致其很容易在不同肠杆菌科细菌以及其他革兰阴性杆菌间转移，在短时间内可导致大范围的流行播散。目前我国临床分离的 CRE 菌株主要产生 A 类 KPC 型碳青霉烯酶、B 类 NDM 型金属酶和 D 类 OXA-48 型碳青霉烯酶（如 OXA-181 和 OXA-232 型碳青霉烯酶）等。
2. 目前实验室检测碳青霉烯酶的方法众多，不同方法各具特色。主要包括改良 Hodge 试验（因存在假阳性和假阴性结果，2018 年 CLSI 文件已取消该方法用于碳青霉烯酶的检测）、Carba_NP 试验、改良碳青霉烯灭活试验（Modified carbapenem Inactivation Method, mCIM）、酶抑制剂增强试验、免疫金标试验以及分子生物学方法等。本研究推荐采用 3-氨基苯硼酸和 EDTA 联合酶抑制剂增强试验法检测肠杆菌科细菌中的碳青霉烯酶，操作简单，结果容易阅读，简要操作步骤如下。
 - (1) 操作方法同 CLSI 推荐的纸片扩散法；
 - (2) 以 3-氨基苯硼酸（600 μg /片）和 EDTA（292 μg /片）分别作为 KPC 型碳青霉烯酶和金属 β 内酰胺酶抑制剂，含酶抑制剂合剂的抑菌圈直径与单药相差 $\geq 5\text{mm}$ 以上，即可判断该受试菌株产生 A 类碳青霉烯酶（主要为 KPC 酶）、B 类金属酶或同时产两种类型的碳青霉烯酶（图 2）。

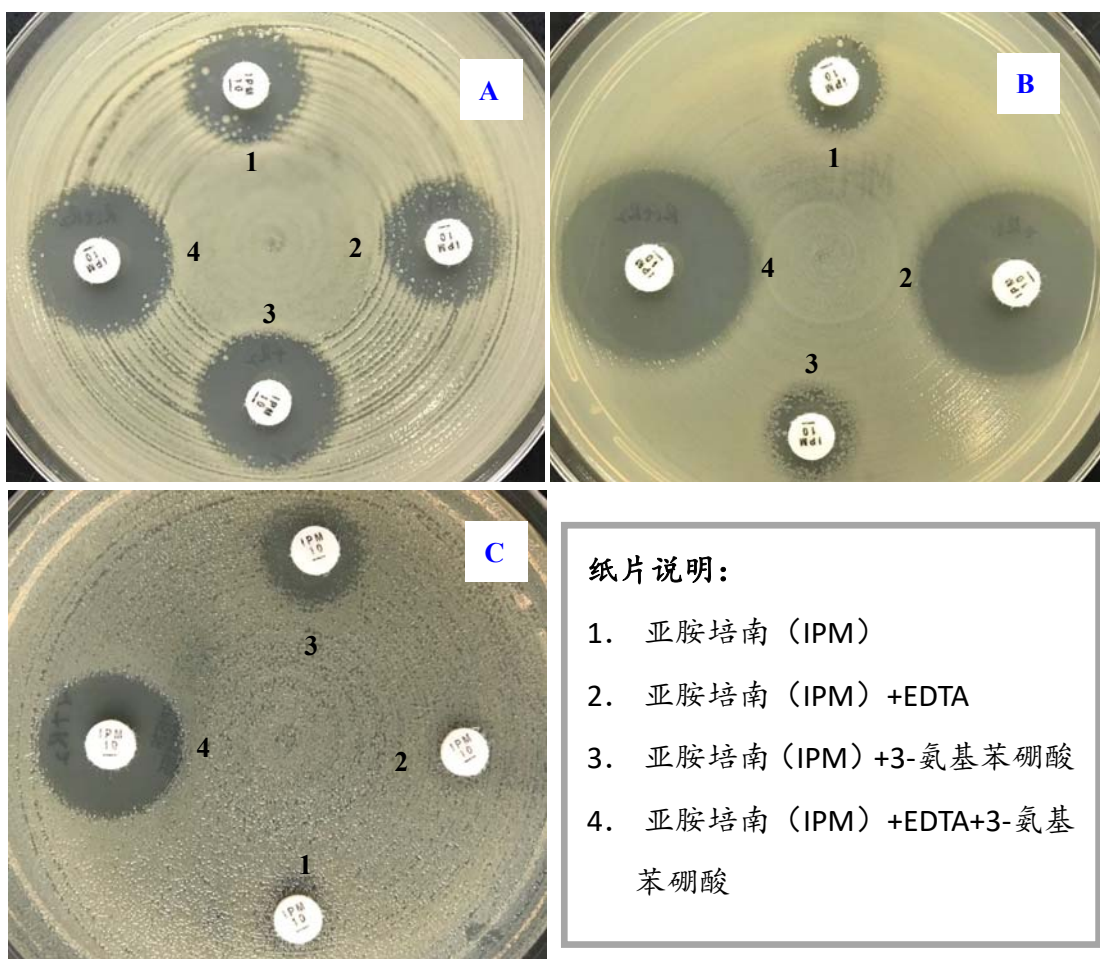


图 2. 3-氨基苯硼酸和 EDTA 联合酶抑制剂增强试验检测碳青霉烯酶

A: 产 KPC-2 型碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌; B: 产 NDM-1 型金属酶肺炎克雷伯菌; C: 同时产 KPC-2 型碳青霉烯酶和 NDM-1 型金属酶肺炎克雷伯菌;

3. 参考文献: (1) Yohei Doi, Brian A. Potoski, Jennifer M. Adams-Haduch, et al. Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-type β -Lactamase by use of a boronic acid compound. J Clin Microbiol 2008; 46:4083–4086.



附件 2. CHINET 细菌耐药性监测网技术方案（2019 年版）推荐革兰阴性菌耐药性监测的抗菌药品种

分类	肠杆菌科	沙门菌属和志贺菌属	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	其他非肠杆菌科
A	氨苄西林	氨苄西林	头孢他啶	氨苄西林/舒巴坦	左氧氟沙星	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	头孢他啶
A	头孢唑林		庆大霉素	头孢他啶	美罗培南		庆大霉素
A	庆大霉素		哌拉西林/他唑巴坦	环丙沙星或左氧氟沙星	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑		
A				亚胺培南			
A				美罗培南			
A				庆大霉素			
B	阿米卡星		阿米卡星	阿米卡星	头孢他啶	头孢他啶	阿米卡星
B	氨苄西林/舒巴坦	氨苄西林/舒巴坦	氨基糖苷类	哌拉西林/他唑巴坦	米诺环素	左氧氟沙星	氨基糖苷类
B	哌拉西林/他唑巴坦			头孢吡肟		米诺环素	头孢吡肟
B	头孢唑林						环丙沙星 或 左氧氟沙星
B	头孢噻肟	头孢曲松					亚胺培南
B	头孢吡肟		头孢吡肟				美罗培南
B	头孢西丁						哌拉西林/他唑巴坦
B	亚胺培南		亚胺培南				甲氧苄啶/磺胺甲噁唑
B	美罗培南		美罗培南				
B	左氧氟沙星	左氧氟沙星	环丙沙星 或 左氧氟沙星	米诺环素			
B	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑		甲氧苄啶/磺胺甲噁唑			
C	头孢他啶	氯霉素			氯霉素	氯霉素	头孢噻肟
C							氯霉素
U	磷霉素						
U	呋喃妥因						
O	头孢哌酮/舒巴坦	磷霉素	头孢哌酮	头孢哌酮/舒巴坦	哌拉西林/他唑巴坦	头孢哌酮/舒巴坦	头孢哌酮/舒巴坦
O	替加环素		头孢哌酮/舒巴坦	替加环素	头孢哌酮/舒巴坦	哌拉西林/他唑巴坦	
O	黏菌素或多黏菌素 B		哌拉西林	黏菌素或多黏菌素 B			
O			黏菌素或多黏菌素 B				黏菌素或多黏菌素 B
Inv	头孢他啶/克拉维酸	阿奇霉素					
Inv	头孢噻肟/克拉维酸						



附件 3. CHINET 细菌耐药性监测网技术方案（2019 年版）推荐 革兰阳性菌和苛养菌、少见菌耐药性监测的抗菌药品种

	葡萄球菌属***	肠球菌属***	肺炎链球菌	β 溶血链球菌	α 溶血链球菌	流感嗜血杆菌	卡他莫拉菌
A	青霉素	氨苄西林	红霉素	克林霉素	青霉素	氨苄西林	阿莫西林-克拉维酸
A	苯唑西林或头孢西丁		青霉素(苯唑西林纸片法)	红霉素			头孢呋辛
A	红霉素		甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	青霉素			甲氧苄啶/磺胺甲噁唑
A	克林霉素						
A	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑						
B	万古霉素	万古霉素	头孢曲松	头孢曲松或	头孢曲松或	氨苄西林/舒巴坦	
B	利奈唑胺	利奈唑胺	头孢噻肟	头孢噻肟	头孢噻肟	头孢曲松 或	头孢曲松或
B	利福平					头孢噻肟	头孢噻肟
B			克林霉素				
B			左氧氟沙星				
B			莫西沙星			左氧氟沙星	左氧氟沙星
B						莫西沙星	
B			美罗培南	万古霉素	万古霉素	美罗培南	
B			万古霉素				
C	庆大霉素	庆大霉素(120μg/片)	阿莫西林-克拉维酸		克林霉素	或阿莫西林-克拉维酸	
C	左氧氟沙星			左氧氟沙星	红霉素	头孢呋辛	
C			氯霉素	氯霉素	氯霉素	氯霉素	氯霉素
C			利奈唑胺	利奈唑胺	利奈唑胺	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	
C			利福平			阿奇霉素	阿奇霉素
U		磷霉素					克林霉素
U		呋喃妥因					
		左氧氟沙星					
O	磷霉素			美罗培南	美罗培南		
O					左氧氟沙星		
Inv	替加环素	替加环素	替加环素			测 β-内酰胺酶	测 β-内酰胺酶