



多药耐药菌病原学检测技术发展方向

▲华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科 简星 王华芳

血液系统疾病的患者因其疾病本身特点，常处于严重免疫功能不全状态，易合并重症感染，且由于多药耐药菌呈逐年上升趋势，导致感染可供选择的抗感染治疗方案有限，导致血液系统疾病患者原发病的治疗过程复杂化，甚至使治疗失败，是血液病患者潜在的威胁之一。

据报道，在发生感染性休克后，有效的抗菌药物治疗每延迟1 h，患者平均生存率平均下降7.6%，且在感染性休克发生的最初6 h内使用不合适的抗菌药物治疗会导致患者死亡风险增加5倍。因此，早期快速的感染病原学诊断和及时充分有效的抗感染治疗可遏制感染的进展，改善患者的临床预后，同时减轻患者的经济负担。

血液系统疾病并发的多药耐药菌现有的主要微生物病原学检测方法包括表型鉴定和基因型鉴定两方面。各级医疗中心可根据微生物的流行病学选择合适的检测方法。随着病原学检测技术的研究进步，对多药耐药菌的鉴定将更加便捷、快速、经济而精确。



关联阅读全文
扫一扫

抗菌药敏感试验是耐药菌表型鉴定基础

抗菌药药物敏感试验是耐药菌表型鉴定的基础，常规方法有纸片琼脂扩散法（K-B法）、稀释法、E test法、自动化仪器系统。稀释法、E test法和K-B法基本上适用于临床上所有细菌（除不可培养细菌外），但其手动操作繁琐且耗时长，从接收

标本到出具报告至少需要48~72 h，且对低丰度细菌敏感性和特异性不高，不适合MDR细菌的检测。自动化仪器系统简化了检测程序，可产生快速（3.5~16 h）的标准化药敏测试结果，但成本比手动方法高得多，且不能随意选择抗菌药。

多药耐药菌基因型鉴定

基因突变或获得耐药基因是多重耐药菌产生耐药性的遗传基础，通过针

对性检测基因突变或相关耐药基因是鉴定多重耐药菌的重要方法和途径。

多重PCR技术

多重PCR技术是一种在体外特异性扩增目标DNA序列的技术，已被广泛应用于微生物领域病原体的鉴定和抗菌药耐药基因的检测，但无法对整个耐药基因组进行全面分析。

既可鉴定纯菌落，还可从临床样本中直接检测病原菌。耐药菌株的蛋白质或脂多糖结构发生改变，可直接区分耐药菌和敏感菌。耐药菌株产生的特异性酶水解抗菌药，产物的分子量发生变化，可判断菌株是否耐药。此外，根据抗菌药-菌株共培养前后菌株浓度质谱峰曲线下面积的比值变化可判断细菌对该药物是否耐药。

基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱技术 (MALDI-TOF MS)

宏基因组二代测序 (mNGS)

mNGS是对患者样品中微生物和宿主遗传物质进行全面分析。mNGS不依赖于传统的微生物培养，直接对临床样本中的核酸进行高通量测序，可同时检测出临床样本中几乎所有病原体，甚至可能是未知病原体。但由于NGS测序读长短（仅30~450 bp），其测序时间平均为24~48 h，对于临床上重症感染的指导仍存在滞后性。

事先不需要进行PCR扩增，可实现单分子实时DNA测序，其依据单链DNA通过蛋白质纳米孔的孔时产生电流变化来识别单个核苷酸分子。相比二代测序，纳米孔测序读长长（>150 kb），速度更快，6 h内可实现从采样到结果输出，适用于MRD病原体暴发的快速诊断。

纳米孔测序

血培养快速药敏测试欧美方法比较

▲四川大学华西医院实验医学科临床微生物实验室 廖全凤 康梅

随着抗菌药物耐药性的提高，快速抗菌药敏测试（RAST）变得越来越重要，尤其是针对血流感染的患者。传统的药敏测试方法在血培养报阳后至少2 d才能完成，而针对血培养的RAST方法可明显缩短药敏测试时间。据此，欧洲药敏试验委员会（EUCAST）和美国临床与实验室标准化研究所（CLSI）于2019年和2021年分别发布了针对血培养的快速药敏检测方法。

EUCAST在血培养快速药敏的标准化领域起步较早，目前适用的菌种及药物均较多，已积累一定的经验。EUCAST方法与

参考方法微量肉汤稀释法的一致率可达90.0%，检测谱广，可在4~8 h内完成血培养常见分离菌株对临床常用药物的敏感性检测。

2021年CLSI开始重视RAST，推出了肠杆菌目细菌对于6种抗菌药物的RAST方法，适用于对血培养分离出的肠杆菌目细菌，但遗憾的是没有包含重症败血症患者中较常用的碳青霉烯类药物。CLSI的血培养RAST方法与微量肉汤稀释法的符合率约为90.0%，覆盖了血培养肠杆菌目细菌，可在报阳后16~18 h内出具菌株对氨苄西林、氨曲南、头孢他啶、头孢曲松、妥布霉素和复

方新诺明的药敏结果。

无论是EUCAST还是CLSI的血培养快速药敏指南，都要求实验室在报告药敏前鉴定出致病菌。大部分临床常见血流感染菌接种至血平板上35℃孵育后4~8 h可有少量肉眼可见的生长，因此建议拥有MALDI-TOF的实验室，建立流程进行快速质谱检测；没有MALDI-TOF的实验室也应建立其他快速鉴定病原菌的方法。

（审稿 北京协和医院检验科 赵颖 杨启文）



关联阅读全文
扫一扫

表1 CLSI和EUCAST的血培养RAST比较

	CLSI-RAST	EUCAST-RAST
适用菌种	肠杆菌目细菌	大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、屎肠球菌、肺炎链球菌
适用的阳性血培养液接种量	报阳后8 h内 4滴（20号注射器）	报阳后18 h内，从仪器取出培养瓶后3 h内 100~150 ul
培养基	MHA（肠杆菌目）	MHA（非苛养菌）/MHF（苛养菌）
孵育环境	（35±2）℃空气环境	（35±1）℃，据菌种特点选择空气或5% CO ₂ 环境
孵育时间	16~18 h	4~8 h
判读折点	CLSI-M100 Table 2A（使用常规药敏折点）	EUCAST RAST breakpoint table V 3.0（按照孵育时间不同，有4 h、6 h、8 h三种RAST药敏折点）

研究视界

甘露糖或成预测干细胞移植后CMV感染标志物

▲苏州大学附属第一医院血液科 吴小津

异基因造血干细胞移植是一种对众多恶性血液系统疾病具有潜在治愈作用的免疫治疗方法，而病毒感染是导致移植后患者死亡的重要原因。其中巨细胞病毒（CMV）相关的死亡在移植后十分多见。目前为止，CMV的诊断基本依赖PCR技术。

笔者团队探索性地使用气相色谱-质谱联用（GC-MS）代谢组学技术，寻找CMV感染的代谢标志物，并尝试建立CMV感染的预测模型。结果发现，甘露糖可能成为预测CMV感染的代谢标志物。

研究纳入102例造血干细胞移植的患者，男性患者60例，在所有患者中，无移植前检出CMV感染的情况，移植后CMV的感染率为50.00%。以是否在移植后发生CMV感染分组，运用t检验可以筛选到以下差异性代谢产

物：尿素（-9 d、0 d）、甘露糖（-9 d、14 d）、葡萄糖（7 d）、缬氨酸（14 d）和亮氨酸（14 d）。进行FDR控制后，仅筛选到尿素（0 d）。将14 d甘露糖除以-9 d甘露糖得到的比值（简称“甘露糖比值”）作为新的生物标志物进行探讨。

运用t检验和FDR控制对甘露醇比值分析表明，甘露醇比值在CMV感染组和未感染组之间存在差异，CMV感染组患者具有更高的甘露醇比值。校正患者年龄、HLA配型和ATG使用情况后，高甘露糖比值是CMV感染发生的危险因素（OR=4.36，P=0.004）。校正临床因素后，高甘露糖比值组患者发生CMV感染的风险显著高于低甘露糖比值组患者（OR=3.41，P=0.014）。因此，高甘露糖比值是移植后CMV感染的重要独立危险因素

素，其在CMV感染的预测方面具有潜在的价值。



关联阅读全文
扫一扫



感染病学专栏（40）

主办：中国医药教育协会感染疾病专业委员会
协办：解放军呼吸病研究所

主 编：刘又宁 俞云松
执行主编：王 睿 徐英春 黄晓军 邱海波 王明贵 陈佰义 胡必杰
本期轮值主编：杨启文
编 委：陈良安 解立新 施 毅 曹 彬 李光辉 马晓春 张湘燕 刘开彦
青年编委：余丹阳 蔡 芸 陈文森 胡付品 胡 炯 黄英姿 梁志欣 杨启文 张静萍 周 华

EVEREST MEDICINES
云 顶 新 耀