
中文摘要

呼吸道标本致病菌分布及耐药性分析

目的

探究本地区呼吸道标本分离细菌的菌种分布及对抗菌药物的耐药情况,为临床经验性抗感染治疗和制定合理的抗菌药物方案提供科学依据,以避免抗菌药物的滥用和减缓耐药细菌的发生。

方法

收集我院 2020 年 9 月至 2021 年 9 月 1965 例患者送检的痰液和肺泡灌洗液标本,共分离细菌 2021 株(在同一患者中,只保留分离到的相同细菌的第一株)。细菌鉴定使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)。抗菌药物敏感性试验使用 VITEK 2-Compact 全自动细菌鉴定药敏仪结合 K-B 纸片扩散法。根据 2020 年版 CLSI(美国临床和实验室标准协会)标准对药敏结果进行判定。

结果

1. 呼吸道标本分离细菌的菌种分布情况

我院 2020 年 9 月至 2021 年 9 月 1965 例患者送检的痰液及肺泡灌洗液标本,共分离出细菌 2021 株,其中从痰液共有 1988 株,肺泡灌洗液共有 33 株,单一细菌感染患者 1909 例,两种细菌混合感染 56 例。革兰阴性菌细菌为 1912 株(94.6%),革兰阳性菌为 109 株(5.4%)。在革兰阴性菌中主要分离出的细菌分别是肺炎克雷伯菌 663 株(33%)、铜绿假单胞菌 340 株(17%)、鲍曼不动杆菌 236 株(12%)、嗜麦芽窄食单胞菌 133 株(7%)、大肠埃希氏菌 109 株(5%)、

阴沟肠杆菌 97 株（5%）。革兰阳性菌占比较少，主要是金黄色葡萄球菌 92 株（5%）与肺炎链球菌 15 株（1%）。

根据患者年龄进行分组，儿童组为 0-17 周岁的患者；中青年组为 18-59 周岁的患者；老年组为大于 60 周岁的患者。在儿童组中，革兰阳性细菌为 3 株（25%），革兰阴性细菌为 9（75%）株。在中青年组中，革兰阳性细菌为 47 株（6.6%），革兰阴性细菌为 675（93.4%）株。在老年组，革兰阳性细菌为 59（4.5%）株，革兰阴性细菌为 1228（95.5%）株。

2. 呼吸道标本细菌耐药性分析

肺炎克雷伯菌对第一代及第二代头孢耐药率较高，在 20%左右；对头孢他啶、头孢吡肟的耐药率稍低，小于 15%；对阿米卡星、粘菌素、青霉素与酶抑制剂的联合制剂（哌拉西林/他唑巴坦）、头孢菌素+酶抑制剂（头孢哌酮/舒巴坦）以及碳青霉烯类药物（亚胺培南，美罗培南）耐药率最低，小于 5%。肺炎克雷伯菌对头孢曲松、左氧氟沙星以及环丙沙星的耐药率分别为 17.8%、11.8%与 23.7%；

大肠埃希菌对碳青霉烯类、阿米卡星以及粘菌素耐药率最低，小于 4%。大肠埃希菌对头孢曲松、左氧氟沙星以及环丙沙星的耐药率分别为 67.6%、67.9%与 71.6%。

铜绿假单胞菌对哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、粘菌素、妥布霉素、阿米卡星耐药率最低（小于 3.3%）。对头孢他啶以及头孢哌酮/舒巴坦耐药率较低，为 10%左右，铜绿假单胞菌对碳青霉烯类的耐药性为 16%。除粘菌素、米诺环素、以及替加环素以外，鲍曼不动杆菌对大部分临床常用的抗生素耐药性均较高（大于 50%）对碳青霉

烯类的耐药性为 69.1%。

嗜麦芽窄食单胞菌对左氧氟沙星与米诺环素耐药率较低，分别为 2.3%与 3.7%。

金黄色葡萄球菌对红霉素耐药率最高达到 68.8%，对其余抗菌药物较敏感，耐药率均在 37.6%以下。肺炎链球菌对红霉素、克林霉素和四环素的耐药率最高达到 100%；对复方新诺明耐药率较高达到 64.3%以上；对其余抗生素较敏感。两种阳性菌均未发现万古霉素、替加环素和利奈唑胺耐药的菌株。

1. 不同科室呼吸道标本分离细菌的分布及耐药性分析

神经外科 316 株（19.4%），呼吸内科分离细菌 199 株（12.2%），ICU 科室 145 株（5.8%）。

神经外科呼吸道标本分离常见的细菌为革兰阴性菌，其中肺炎克雷伯菌（36.4%）占比最高，其次为鲍曼不动杆菌（12.8%）、铜绿假单胞菌（8.6%）等。呼吸内科呼吸道标本分离最常见的细菌为革兰阴性菌，其中铜绿假单胞菌（28.4%）占比最高，其次为肺炎克雷伯菌（27.1%）与嗜麦芽窄食单胞菌（10.2%）等。ICU 呼吸道标本分离最常见的细菌为鲍曼不动杆菌（25.5%）、铜绿假单胞菌（19.3%）与肺炎克雷伯菌（17.2%）等。

ICU 鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类药物耐药率高于其他科室，达 83.3%。除粘菌素以外对临床常见的抗生素耐药率都较高。对米诺环素及复方新诺明耐药率低于 50%。

呼吸内科分离细菌最多的是铜绿假单胞菌，对喹诺酮类药物（环丙沙星、左氧氟沙星）的耐药率分别为 27.3%与 30.2%。对碳青霉烯

类药物（亚胺培南、美洛培南）耐药率分别为 22.4%与 20.6%，高于其他临床科室。

结论

1.革兰氏阴性杆菌是呼吸道标本分离最多的细菌，以肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌以及鲍曼不动杆菌最多见。

2.呼吸道标本分离的革兰阴性杆菌对粘菌素、替加环素及阿米卡星敏感性较高，肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌对碳青霉烯类抗菌药物敏感性较高，鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药性较高。未发现万古霉素及利奈唑胺耐药的金黄色葡萄球菌。

3.不同科室分离细菌的菌种分布存在差异，其中呼吸科以铜绿假单胞菌最多见，神经外科以肺炎克雷伯菌最多见，ICU 分离最多的细菌是鲍曼不动杆菌。

4.ICU 病区碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌的检出率高于其他科室。

关键词：

下呼吸道感染，病原菌，耐药性，医院获得性感染，社区获得性感染

Abstract

Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in respiratory tract specimens

Objective:

To explore the species distribution of bacteria isolated from respiratory tract specimens and their resistance to antibiotics in this area, so as to provide scientific basis for clinical empirical anti-infective treatment and formulation of reasonable antibacterial drug program, so as to avoid the abuse of antibiotics and slow down the occurrence of drug-resistant bacteria.

Methods:

Sputum and alveolar lavage samples from 1965 patients in our hospital from September 2020 to September 2021 were collected, and a total of 2,021 strains of bacteria were isolated (only the first strain of the same bacteria isolated in the same patient was retained). Bacteria were identified using stroma-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). The antimicrobial susceptibility test was conducted using VITEK 2-Compact automatic bacterial identification drug sensitivity instrument combined with K-B disk diffusion method. Drug sensitivity results were determined according to the 2020 edition of the CLSI (American Institute of Clinical and Laboratory Standards) standards.

Results:

1. Distribution of pathogenic bacteria in lower respiratory tract specimens

In the sputum and alveolar lavage samples collected from 1965 patients in our hospital from September 2020 to September 2021, a total of 2021 strains of bacteria were isolated, including 1988 strains from sputum, 33 strains from alveolar lavage, 1909 cases of single bacterial infection, and 56 cases of mixed infection with two kinds of bacteria. There were 1,912 strains (94.6%) of Gram-negative bacteria and 109 strains (5.4%) of Gram-positive bacteria. The main isolates of gram-negative bacteria were 663 strains of *Klebsiella pneumoniae* (33%), 340 strains of *Pseudomonas aeruginosa* (17%), 236 strains of *Acinetobacter baumannii* (12%), 133 strains of *Stenotrophomonas maltophilia* (7%), 109 strains of *Escherichia coli* (5%) and 97 strains of *Enterobacter cloacae* (5%). The gram-positive bacteria accounted for a small proportion, mainly *Staphylococcus aureus* 92 strains (5%) and *Streptococcus pneumoniae* 15 strains (1%).

The patients were divided into groups according to the age of the patients. The children group was 0-17 years old. The young and middle-aged patients were 18-59 years old; The elderly group included patients over 60 years old. In the children group, there were 3 gram-positive bacteria (25%) and 9 Gram-negative bacteria (75%). In the young and middle-aged group, there were 47 gram-positive bacteria

(6.6%) and 675 Gram-negative bacteria (93.4%). In the elderly group, 59 (4.5%) strains of gram-positive bacteria and 1228 (95.5%) strains of Gram-negative bacteria were found.

2. Analysis of bacterial resistance in respiratory specimens

The resistance rate of *Klebsiella pneumoniae* to the first and second generation of cephalosporae was about 20%. The drug resistance rate of ceftazidime and cefepime was slightly lower, less than 15%; The resistance rate to ampicillin, colistin, penicillin combined with enzyme inhibitors (piperacillin/tazobactam), cephalosporin + enzyme inhibitors (cefoperazone/sulbactam) and carbapenems (imipenem, meropenem) was the lowest, less than 5%. The resistance rates of *Klebsiella pneumoniae* to ceftriaxone, levofloxacin and ciprofloxacin were 17.8%, 11.8% and 23.7%, respectively.

The resistance rate of *Escherichia coli* to carbapenems, Amikacin and colistin was the lowest, less than 4%. The resistance rates of *Escherichia coli* to ceftriaxone, levofloxacin and ciprofloxacin were 67.6%, 67.9% and 71.6%, respectively.

The resistance rate of *Pseudomonas aeruginosa* to piperacillin/tazobactam, cefepime, colistin, tobramycin and ampicillin was the lowest (less than 3.3%). The resistance rate to ceftazidime and cefoperazone/sulbactam was low, about 10%, and the resistance rate of *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenems was 16%. In addition to colistin, minocycline, and tigecycline, *Acinetobacter baumannii* had high

resistance to most commonly used clinical antibiotics (more than 50%) and resistance to carbapenems was 69.1%.

The resistance rates of *Stenotrophomonas maltophilia* to levofloxacin and minocycline were 2.3% and 3.7%, respectively.

The highest resistance rate of *Staphylococcus aureus* to erythromycin was 68.8%, and the resistance rate of *Staphylococcus aureus* to other antibiotics was less than 37.6%. The resistance rate of *Streptococcus pneumoniae* to erythromycin, clindamycin and tetracycline was up to 100%. The resistance rate to cotrimoxazole was higher than 64.3%; It is more sensitive to other antibiotics. No vancomycin, tegacycline and linezolidin-resistant strains were found in the two positive strains.

1. Distribution and drug resistance analysis of bacteria isolated from respiratory specimens in different departments

There were 316 isolates (19.4%) from neurosurgery department, 199 isolates (12.2%) from respiratory department and 145 isolates (5.8%) from ICU department.

The common bacteria isolated from respiratory tract specimens in neurosurgery were gram-negative bacteria, among which *Klebsiella pneumoniae* (36.4%) accounted for the highest proportion, followed by *Acinetobacter baumannii* (12.8%) and *Pseudomonas aeruginosa* (8.6%). The most common bacteria isolated from respiratory specimens were Gram-negative bacteria, among which *Pseudomonas aeruginosa*

accounted for the highest proportion (28.4%), followed by *Klebsiella pneumoniae* (27.1%) and *Stenotrophomonas maltophilia* (10.2%). The most common bacteria isolated from ICU respiratory tract were *Acinetobacter baumannii* (25.5%), *Pseudomonas aeruginosa* (19.3%) and *Klebsiella pneumoniae* (17.2%).

The resistance rate of *Acinetobacter baumannii* to carbapenems in ICU was higher than that in other departments, up to 83.3%. Except for colistin, the resistance rate of common clinical antibiotics was higher. The resistance rate to minocycline and cotrimoxazole was less than 50%.

Pseudomonas aeruginosa was the most isolated bacteria in the department of respiratory medicine, and the resistance rates to quinolones (ciprofloxacin and levofloxacin) were 27.3% and 30.2%, respectively. The rates of drug resistance to carbapenems (imipenem and meropenem) were 22.4% and 20.6%, respectively, higher than those in other clinical departments.

conclusion

1. Gram-negative bacilli were the most commonly isolated bacteria in respiratory tract specimens, with *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* being the most common.

2. Gram-negative bacilli isolated from respiratory tract specimens were highly sensitive to p-colistin, tegacycline and amikacin, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* were highly sensitive to carbapenems, and *Acinetobacter baumannii* was highly resistant to carbapenems. No

vancomycin and linezolidin-resistant *Staphylococcus aureus* was found.

3. There were differences in the distribution of bacteria isolated from different departments, among which *Pseudomonas aeruginosa* was the most common in respiratory department, *Klebsiella pneumoniae* was the most common in neurosurgery department, and *Acinetobacter baumannii* was the most common bacteria isolated from ICU.

4. The detection rate of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in ICU was higher than that in other departments.

Key words:

lower respiratory tract infections, pathogenic bacteria, drug resistance, hospital acquired pneumonia, community-acquired pneumonia

目录

第 1 章 前言	1
第 2 章 文献综述	3
2.1 概述	3
2.2 发病机制	3
2.3 下呼吸道感染的分类和病原菌分布特征	4
2.4 社区获得性肺炎的特点	4
2.5 医院获得性肺炎的特点	5
2.6 细菌的耐药机制	6
2.6.1 耐药菌株产生灭活酶或钝化酶	6
2.6.2 抗生素主动外排	7
2.6.3 细菌外膜通透性降低	7
2.6.4 细菌的生物被膜	7
2.7 病原学诊断	8
2.7.1 微生物培养	8
2.7.2 宏基因组二代测序技术(metagenomics next generation sequencing, mNGS)。	8
2.7.3 多重快速 PCR 检测	9
2.8 结语	10
第 3 章 材料与方法	11
3.1 对象	11
3.2 仪器与试剂	11
3.3 细菌分离鉴定	11

3.3.1 标本采集与培养	11
3.3.2 细菌鉴定与药敏实验	12
3.4 统计学分析	12
第 4 章 结果	13
4.1 呼吸道标本病原菌分布	13
4.2 呼吸道标本菌株鉴定及耐药性检测	14
4.2.1 革兰染色阴性细菌总体药敏结果分析	14
4.2.2 主要革兰阴性菌对抗生素的耐药情况	14
4.2.3 革兰阳性菌耐药性分析	16
4.3 不同科室来源呼吸道标本分离细菌的分布与耐药性分析	17
4.3.1 不同科室来源呼吸道标本分离细菌的分布与构成比	17
4.3.2 不同科室呼吸道标本分离细菌的耐药性分析	18
第 5 章 讨论	20
5.1 呼吸道标本分离细菌的分布情况	20
5.2 主要细菌耐药性分析	20
5.2.1 肺炎克雷伯菌耐药性分析	错误！未定义书签。
5.2.2 大肠埃希菌耐药性分析	21
5.2.3 鲍曼不动杆菌耐药性分析	错误！未定义书签。
5.2.4 嗜麦芽窄食单胞菌耐药性分析	错误！未定义书签。
5.2.5 铜绿假单胞菌耐药性分析	错误！未定义书签。
5.2.6 革兰阳性菌耐药性分析	错误！未定义书签。
第 6 章 结论	26
参考文献	27

作者简介	34
致谢	35

中英文缩略词索引表

中文名称	英文缩写（全称）
下呼吸道感染	RTIs, respiratory track infections
宏基因组二代测序技术	MNGs, metagenomics next generation sequencing
社区获得性肺炎	CAP, community-acquired pneumonia
医院获得性肺炎	HAP, hospital acquired pneumonia
超广谱 β 内酰胺酶	ESBLs, Extended-Spectrum β -Lactamases

第 1 章 前言

呼吸道感染（respiratory tract infections, RTIs）是一系列呼吸系统疾病的统称，其中按照感染部位可以分为上呼吸道感染和下呼吸道感染。上呼吸道感染包括鼻、鼻窦、咽部和喉部发生的急性感染，而气管、支气管和肺实质则是下呼吸道感染的主要部位^[1]。下呼吸道感染是全球范围内导致住院患者死亡的主要感染类疾病和第五大死亡原因^[2]，其中包括急性支气管炎、急性细支气管炎和肺炎，下呼吸道感染主要由细菌引起，其它的病原体还包括病毒、支原体、衣原体等^[3]。下呼吸道感染相较上呼吸道感染通常更为严重，病原学诊断对下呼吸道细菌感染的诊断和治疗至关重要，细菌培养和药敏鉴定应尽可能在使用抗菌药物之前采集，需要临床医生在感染的初期进行细菌培养和药物敏感性试验^[4]。

最近几年病原菌分子学检测方法取得了较大进展，其中包括宏基因组测序、聚合酶链反应（pcr）、实时定量 pcr、CRISPR（成簇规律间隔的短回文重复序列）等^[5]。传统的微生物培养是病原菌诊断的“金标准”，药敏试验可以为针对性的抗生素选择提供依据^[6]。虽然新兴的分子生物学方法有望成为指导靶向治疗和合理应用抗菌药物的有效手段，但是也面临着标本选取、结果解读、费用较高等问题，目前还无法取代微生物培养和药敏实验^[7]。

抗生素是治疗细菌性下呼吸道感染的关键。针对病原菌实施有效的治疗需要明确病原菌及对抗生素的耐药性，而这通常需要数天的时间，因此临床医生需要经验性用药，而经验性用药的效果在很大比例

上并不理想^[8]。随着抗生素的大量应用和不合理使用，不同国家、地区和医院内部的下呼吸道感染病原菌构成谱有差异，在很大程度上增加了治疗难度^[9]。有研究显示下呼吸道感染前五位的细菌分别是肺炎克雷伯菌、流感嗜血杆菌、鲍曼不动杆菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌^[10]。另一项研究显示肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌以及大肠埃希菌是下呼吸道感染最常见的病原菌^[11]。病原菌的耐药性对患者的健康构成了巨大的威胁，不仅会导致治疗失败也是下呼吸道感染死亡的主要原因^[12]。因此了解本地区病原菌和耐药性的流行病学特点，合理选择经验性抗生素以及制定治疗方案，对改善预后以及避免耐药菌株的产生意义重大。

为了解本地区系呼吸道感染细菌的构成以及对抗菌药物的耐药情况，本研究通过回顾性分析，收集了我院 2020 年 9 月至 2021 年 9 月送检的痰液和肺泡灌洗液标本，进行细菌分布和耐药性分析。旨在为临床经验性用药提供参考、提高临床治愈率，避免和减少因抗生素不合理使用导致的耐药菌株的产生。

第2章 文献综述

2.1 概述

下呼吸道感染（lower respiratory track infections, LRTIs）指的是肺组织或者喉以下的气管支气管发生的感染包括肺炎和细支气管炎，通常是来自口腔和上呼吸道的细菌微生物或病毒向下蔓延引起^[13]。下呼吸道感染是全世界传染病死亡的主要原因，尤其对老年和免疫力低下人群影响更大^[14]。症状通常以咳嗽为主要症状，并伴有至少一种其他下呼吸道症状(发烧、痰液产生、呼吸困难、喘息或胸部不适或疼痛)^[15]。

肺炎是常见的急性肺实质感染，可以分为社区获得性肺炎和医院获得性肺炎，由多种微生物引起包括细菌、真菌、病毒等^[16]。常见的病原菌分布和耐药性受地理分布、医院等级、患者人群、抗菌药物使用膝盖、实验室设备和检测水平等因素影响，并且随着时间的推移同一个地区的病原学特点也会发生不断改变^[17, 18]

因此，明确当地的病原学特点，并进行及时的监测对经验性抗生素治疗和合理应用抗生素应用提供依据。本文就下呼吸道感染的发病机制、分类、耐药性产生的原因、检测方法等方面进行综述。

2.2 发病机制

下呼吸道包括气管、支气管和肺。健康人的肺部细菌组成与上呼吸道难以区分，但生物量逐渐减少。根据细菌的致病性可以将其分为共生菌、条件致病菌和致病菌。当人体免疫力下降或外界的刺激过强

时,来自口腔和上呼吸道的细菌微生物或病毒向下蔓延引起下呼吸道感染。

2.3 下呼吸道感染的分类和病原菌分布特征

下呼吸道感染包括肺炎、慢性阻塞性肺疾病、支气管扩张急性发作和细支气管炎。下呼吸道感染主要由细菌引起,其它的病原体还包括病毒、支原体、衣原体等^[19]。根据引起下呼吸道感染的病原微生物可以分为细菌性、真菌性、病毒性、免疫原因等。根据感染发生的地点可以分为社区获得性肺炎和医院获得性肺炎,这两种类型的肺炎细菌分布和易感人群不同,对于临床经验性治疗更有价值。

2.4 社区获得性肺炎的特点

社区获得性肺炎(community-acquired pneumonia, CAP)是指发生在医院外的肺实质感染所引起的疾病。是全世界免疫功能正常和低下患者住院和死亡的主要原因之一,导致了巨大的临床和经济负担^[20]。CAP 的临床表现较大,从以发烧和咳嗽为特征的轻度肺炎,到伴有败血症和呼吸衰竭的重症肺炎,这取决于患者的免疫系统、患者特征和病原体毒力之间的相互作用^[21]。社区获得性肺炎的诊断依据是一系列与下呼吸道感染有关的症状和体征,包括咳嗽、发热、咳痰、胸痛和呼吸困难等,和胸部 X 线、胸部 CT 显示的肺部浸润^[22]。

虽然引起 CAP 的病原菌在不同国家和地区存在差异,但肺炎链球菌是最常见的病原菌,其他还包括流感嗜血杆菌、肺炎支原体、金黄色葡萄球菌、军团菌、肺炎衣原体和卡他莫拉菌。我国社区获得性

肺炎的病原体主要是肺炎链球菌和肺炎支原体，其他常见的病原体是流感嗜血杆菌、肺炎衣原体、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌，鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌较少见；成人 CAP 患者的病毒阳性率为 15.0~34.9%，主要是流感病毒，其它病毒有副流感病毒、鼻病毒、腺病毒、人偏肺病毒和呼吸道合胞病毒等^[23,24]。

当确诊为肺炎时应该尽早使用抗生素，经验性合理使用抗生素是关键。多西环素是单纯社区获得性肺炎患者的首选药物，同时大环内酯类药物（阿奇霉素）也是经验性治疗的一线药物。对于存在伴发疾病或近期使用过抗生素的门诊患者，建议使用大环内酯类药物、 β 内酰胺类药物和喹诺酮类药物联合应用治疗；对于因社区获得性肺炎入院但不需要 ICU 护理的患者，推荐头孢曲松与阿奇霉素或多西环素联合治疗；对于合并有重症慢性阻塞性肺疾病、流感后肺炎、疑似革兰阴性杆菌感染、有青霉素耐药肺炎链球菌感染风险的 ICU 患者，首选治疗方案是呼吸喹诺酮类药物(如左氧氟沙星或莫西沙星)^[25]。

2.5 医院获得性肺炎的特点

医院获得性肺炎（HAP）：是指在住院期间未接受有创机械通气、不在病原菌感染的潜伏期，在至少在住院 48 小时后新发生的肺炎^[26]。

细菌是引起 HAP 的最主要原因，真菌和病毒占比相对较少。我国 HAP 常见的细菌主要有鲍曼不动杆菌（20.6~25.7%）、铜绿假单胞菌（18.7~20.0%）、肺炎克雷伯菌（8.9~14.9%）、金黄色葡萄球菌（9.8~12.0%）、大肠埃希菌（3.8~7.4%）、阴沟肠杆菌以（2.1~

4.3%) 及嗜麦芽窄食单胞菌 (4.3~6.0) 等。大于 65 岁的患者占比 70%，是 HAP 的主要人群。二级医院肺炎克雷伯菌占比较三级医院高，而鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌比例较低^[26]。

对于医院获得性肺炎，HAP 治疗的持续时间为 7 至 14 天，大多数患者在 7 天内就能治愈^[27]。经验性治疗应该覆盖金黄色葡萄球菌、假单胞菌和其余院内的革兰阴性杆菌。金黄色葡萄球菌的抗生素治疗选择应该取决于耐甲氧西林的危险因素，例如 90 天内接受抗生素治疗，MRSA 检出率大于 20%。对于怀疑 MRSA 的患者建议应用万古霉素或利奈唑胺。

根据病原微生物的培养和耐药结果，抗生素方案应重新评估并缩小覆盖范围。合理使用针对性抗生素减少抗生素的滥用和耐药菌株的产生。

2.6 细菌的耐药机制

随着抗生素的大量使用和滥用，细菌对抗菌药物的抗性对人类的危害越来越多。细菌的耐药性和抗生素的使用密切相关，在全世界范围内，细菌的耐药性呈上升趋势^[28]。抗菌素耐药性的出现是不可避免的，因为微生物会发生基因突变以减轻或避免抗生素的作用，使病原微生物继续生存和繁殖^[29]。

细菌耐药性产生的原因主要包括基因突变、耐药基因转移、使用抗生素后导致的选择压力、抗生素滥用、抗生素使用不足或过量等。

2.6.1 细菌产生灭活酶或钝化酶

细菌可以产生灭活酶或钝化酶，经过酶的修饰和水解，使抗生素

失活，导致细菌对抗生素的耐药。使够抗生素失活的酶主要有 β 内酰胺酶、氨基糖苷钝化酶和氯霉素乙酰转移酶等。临床上最常见的是 β 内酰胺酶，目前已知有300种 β 内酰胺酶，主要是由革兰阴性菌产生的。 β 内酰胺酶可以水解青霉素类，头孢菌素类和碳青霉烯类药物^[30]。

2.6.2 抗生素主动外排

在一些细菌的细胞膜上存在一系列的转运蛋白，可以将抗生素排出细胞外，降低细菌内的药物浓度，使抗生素无法发挥作用而导致耐药^[31]。一个细菌中可以存在多种转运蛋白，使多种不同的抗生素排出细菌外，导致多重耐药。多药外排是细菌固有耐药和获得性耐药的重要因素^[32]。例如鲍曼不动杆菌多重耐药的主要机制之一是药物的主动外排^[33]。

2.6.3 细菌外膜通透性降低

细菌发生变异突变，导致细胞壁上的孔蛋白封闭或消失，改变了细胞壁的通透性，使抗生素不能进入细菌内导致耐药。例如，铜绿假单胞菌可以对亚胺培南产生耐药，这与其孔道蛋白OprD缺失有关^[34]。

2.6.4 细菌的生物被膜

细菌生物被膜指的是细菌在成长的时候会产生的一种多糖蛋白复合体，这种复合体可以吸附在人体的粘膜或生物材料上，然后在人体内形成一种类似于膜的物质，并将其包裹起来。细菌性生长在其分泌性的胞外环境中，可阻止抗生素进入细菌性生长。该生物被膜是一种高亲和力、高抗药性、高强度、高稳定性的新型生物被膜。其中以大肠杆菌、绿脓杆菌、葡萄球菌和大肠埃希氏菌最为多见^[35]。

2.7 病原学诊断

传统的微生物培养是呼吸道感染病原学检验的金标准。传统的微生物培养具有完备的技术体系和质量控制方案,虽然存在检测时间长,标本质量要求严格等问题,但其地位仍不可撼动。虽然新兴的分子生物学方法有望成为指导靶向治疗和合理应用抗菌药物的有效手段,但是也面临着标本选取、结果解读、费用较高等问题,目前还无法取代微生物培养和药敏实验。

2.7.1 微生物培养

可以用于微生物培养的标本类型有血液、呼吸道标本如痰、肺泡灌洗液等。对于怀疑肺炎的患者应尽量在使用抗生素前留取标本进行微生物培养以提高检出率。痰液受标本质量影响较大,如果患者不能留取脓性痰或下呼吸道标本,培养结果往往是口咽定植菌,不是真正的病原体。对于住院患者,尤其是严重脓毒血症及休克的患者,尽早进行微生物鉴定及药敏试验可以显著改善其死亡率^[36]。合格的标本留取,尽早明确病原微生物能够进行针对性的抗生素治疗,并减少耐药菌株的产生。

常用的染色方法为革兰染色、抗酸染色、墨汁染色等。革兰染色可以区分球菌杆菌以及染色色的阳性和阴性,可用于指导抗生素的初步治疗。抗酸染色对分枝杆菌的诊断特异性很高,但灵敏度较差^[37]。墨汁染色对脑脊液标本中的隐球菌诊断特异性高,但灵敏度差,应该与隐球菌荚膜多抗抗原实验箱结合以提高灵敏度^[38]。

2.7.2 宏基因组二代测序技术(metagenomics next generation

sequencing, mNGS)。

mNGS 通过检测病原微生物的核酸，能够对多种细菌，真菌，病毒以及寄生虫进行同步检测。还能够获得致病菌的基因分型、耐药基因等，进行针对性的抗生素治疗，减少抗生素的滥用，避免耐药菌的产生^[39]。与常规培养方法相比，mNGS 受先前抗生素治疗的影响较小^[40]。随着近年来测序成本的降低，mNGS 的应用更加广泛，成为诊断肺部感染病原学的辅助工具^[41]。一项研究表明相较于传统的支气管肺泡灌洗液的微生物培养，mNGS 具有更高的敏感性与准确性^[42]。但由于 mNG 检测流程复杂，对检测试剂、仪器，以及检测人员都有较高的要求。更需要注意的是呼吸道正常菌群的存在以及痰标本的留取质量、环境污染等影响，痰标本的 mNGS 结果需要更谨慎的解读，不能把所有检测出的微生物当作病原微生物治疗^[40]。虽然目前基于二代测序的 mNGS 方法在临床上有了较多应用，对于呼吸道感染，尤其是痰标本的检测，需要进一步的临床研究。

2.7.3 多重快速 PCR 检测

利用多个引物，可以特异地放大各种病原体的核酸和抗药性基因，从而实现对相同样品中常见的细菌、病毒和支原体以及其他常见的病原体和抗药性基因的同时测定^[43]，常见的检测的平台有 FilmArray、Xpert、CuretisUnvvoP50 eSensor 等，而且它的操作非常简单，但是检测价格比较高^[44]。目前多重 PCR 检测的优点是提高了对病原微生物的鉴别能力，对于混合感染，能同时检测多种致病菌^[45]。但是目前多重 PCR 的应用还有较大困难，例如：引物和探针的设计、检测费用较高、

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/476042005004010052>