

DOI: 10.19338/j.issn.1672-2019.2024.04.005

· 论 著 ·

mNGS在肺部感染病原学中的诊断价值及应用分析

王英盼¹, 厉银平²

[1. 锦州医科大学孝感市中心医院研究生培养基地, 湖北 孝感 432000; 2. 孝感市中心医院, 呼吸与危重症医学科, 湖北 孝感 432000]

摘要: **目的** 探讨宏基因组新一代测序 (mNGS) 在肺部感染病原体中的诊断价值及应用分析。**方法** 选取2022年1月至2022年12月孝感市中心医院呼吸与危重症医学科收治的肺部感染 (由常见的院内细菌如金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯杆菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌等, 病毒如单纯疱疹病毒、人类疱疹病毒7型等, 真菌如白色念珠菌、曲霉菌等引起) 患者258例作为研究对象。分别采集患者的肺泡灌洗液标本进行病原微生物mNGS检测与常规痰培养的检测, 评估mNGS的诊断价值与应用分析。**结果** 纳入研究的258例患者中, 有200例患者通过mNGS检测得出, 检出率为77.52%。有58例患者进行常规痰培养检测得出, 检出率为22.48%。由此得出mNGS检测的病原微生物总检出率高于进行常规痰培养检测 ($P<0.05$)。**结论** mNGS对肺部感染患者的病原微生物检出率高于常规痰培养检测, 应用价值较高。但是具有一定的局限性。mNGS无法确定它所检测的序列是来自活菌还是死菌, 同时也不能区分定植菌与致病菌。另外, mNGS的费用较高, 临床上可酌情使用。

关键词: 宏基因组新一代测序; 常规痰培养; 肺部感染; 病原菌; 肺泡灌洗液

中图分类号: R531.3

Diagnostic value and application of mNGS in etiology of pulmonary infection

WANG YingPan¹, LI Yinping²

(1. Postgraduate Training Base of Xiaogan Central Hospital of Jinzhou Medical University, Xiaogan, Hubei 432000, China; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Xiaogan Central Hospital, Xiaogan, Hubei 432000, China)

Abstract: **[Objective]** To investigate the diagnostic value and application of high-throughput sequencing (mNGS) in pulmonary infection pathogens. **[Methods]** A total of 258 patients with pulmonary infections (common gram-negative bacilli such as *Staphylococcus aureus*, *Kleptobacillus pneumoniae*, *pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *acinetobacter baumannii*, common viruses such as herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, etc., common fungi such as *candida albicans*, *Aspergillus*, etc.) admitted to the Department of Respiratory and Critical Care Medicine of Xiaogan Central Hospital from January 2022 to December 2022 were selected. The patients' alveolar lavage fluid samples were collected for mNGS detection and routine sputum culture detection of pathogenic microorganisms, respectively, to evaluate the clinical application value of mNGS. **[Results]** Among the 258 patients included in the study, 200 patients were detected by mNGS, with a detection rate of 77.52%. There were 58 patients who underwent routine sputum culture detection, the detection rate was 22.48%. In conclusion, the total detection rate of pathogenic microorganisms detected by mNGS was significantly higher than that by conventional sputum culture detection, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **[Conclusion]** The detection rate of pathogenic microorganisms by mNGS in patients with pulmonary infection is significantly higher than that by conventional sputum culture detection, and the application value is higher. But relatively speaking, it has certain limitations. mNGS cannot determine whether the sequence it detects is from live or dead bacteria, nor can it distinguish between custom and pathogenic bacteria. In addition, the cost of mNGS is high, and it can be used as

收稿日期: 2023-08-20

[通信作者] 厉银平, E-mail: 651166367@qq.com; Tel: 13227170158

appropriate in clinic.

Keywords: mNGS; routine sputum culture; pulmonary infection; pathogen pulmonary; alveolar lavage fluid

肺部感染性疾病是呼吸系统最常见的疾病之一，发病率和死亡率较高。有研究显示，肺部感染在感染性疾病中的发病率排首位，致死率排第 4 位^[1]。针对目前临床现状来说，诊断仍然有很多的局限性，缺乏对病原微生物快速、高效的检测手段及方法。同时，常规的病原微生物培养的阳性率较低，且培养周期长，保存环境极易受外部的影响，这就导致了住院周期的延长及抗生素的滥用，影响患者的身心健康^[2]。在临床工作中，革兰阴性菌（Gram-negative bacterium）作为院内常见复杂耐药菌备受关注^[3]，如肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌耐药现象尤为严重，已出现对所有抗菌药物耐药的超级菌种。所以，短效且准确地找到致病菌是肺部感染的重中之重。宏基因组新一代测序（metagenomics next-generation sequencing, mNGS）通过对临床样本的 DNA 或 RNA 进行鸟枪（shotgun）法测序，可以无偏移地检测出多种病原菌，且操作流程不断简单化，成本也相对大大降低。相对于传统的病原检测具有一定的优势，在肺部感染中应用越来越广泛。本文通过分析 mNGS 与常规痰培养在肺部感染病原学中的诊断价值与应用分析进行进一步的探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究选取孝感市中心医院呼吸与危重症医学科 2022 年 1 月至 2022 年 12 月期间确诊为肺部感染患者的临床资料，以临床诊断或胸部 CT 为诊断金标准；其中经痰培养确诊患者 58 例，mNGS 检测确诊的患者 200 例。所有患者入院后均给予经验性的抗生素治疗，必要时予以通气治疗。纳入研究的 258 例患者中，其中男 179 例、女 79 例；年龄 19~83 岁，平均（51.5 ± 16.0）岁。

纳入标准：①年龄大于 18 岁；②确诊为常见的院内肺炎（如铜绿假单胞菌性肺炎、金黄色葡萄球菌性肺炎、肺炎克雷伯菌杆菌性肺炎、鲍曼不动杆菌性肺炎、大肠埃希菌性肺炎等）；常见的病毒（如单纯疱疹病毒、人类疱疹病毒 7 型等），

真菌（如白色念珠菌、曲霉菌等）；③患者或家属签署知情同意书；④依从性较好。排除标准：①合并有精神疾患的患者；②依从性较差。

1.2 仪器与方法

1.2.1 mNGS 检测 采用全自动通量基因测序仪（DNBSEQ-G99），病原微生物配套试剂盒。收集方法，首先选择病侧段，然后在肺段注入 2% 利多卡因 2 mL 左右，其次分别注入生理盐水，总量约为 60~120 mL。注入生理盐水后，立即用合适的负压吸引获取肺泡灌洗液，最后标本的搜集要摒弃前段可能多余的部分，用专门的冻存管收集 5 mL 以上即可送检。短期的标本采集后可放于 -20 度的冰箱保存。长期的标本可放于 -80 度的冰箱保存即可。

1.2.2 痰培养 采用专用痰培养试剂盒（珠海贝索生物技术有限公司）；收集方法留痰之前漱口 2~3 次。深呼吸 2~3 次，用力咳出气管内的第 1 口痰液。打开痰标本后将痰液留入，并盖紧盖口，切记不要口腔内的唾液。最后置于痰标本的标本收集处，等待送检。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 27.0 统计学软件分析数据，计数资料以百分率（%）表示，两组间数据比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 肺部感染中不同检测方法的检出结果

2.1 病原体检出情况

共纳入研究的 258 例患者中，经 mNGS 组确诊感染的患者有 200 例，其中细菌有 107 例，病毒 42 例，真菌 51 例。经痰培养组确诊感染的患者有 58 例，其中细菌有 55 例，病毒 0 例，真菌 3 例。见表 1。

2.2 两组检测方法病原微生物检出率比较

258 例患者中，200 例患者进行 mNGS 检测，检出率为 77.52%；58 例患者进行常规培养检测，检出率为 22.48%。进行 mNGS 检测的病原微生物总检出率高于进行常规痰培养检测，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。见表 2。

表 1 两种检测方法的病原微生物检测结果 (例)

检测方法	n	细菌					病毒		真菌	
		金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	肺炎克雷伯杆菌	鲍曼不动杆菌	大肠埃希菌	单纯疱疹病毒	人类疱疹病毒7型	白色念珠菌	曲霉菌
常规痰培养	58	8	26	17	2	2	0	0	1	2
mNGS检测	200	20	38	30	10	9	30	12	26	25
合计	258	28	64	47	12	11	30	12	27	27

表 2 两种检测方法不同病原微生物检出率比较
[n=258, n(%)]

检测方法	细菌	病毒	真菌
常规痰培养	55(21.32)	0(0.00)	3(1.16)
mNGS检测	107(41.47)	42(16.28)	51(19.77)
χ^2	24.330	45.722	47.654
P	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

mNGS 是最近新兴的检测技术，关于它的第 1 例报道是在 2014 年的英国国际杂志上^[4]，1 名患有严重的免疫缺陷患儿，伴有头部感染的症状，长时间治疗效果欠佳。最后选用 mNGS 在脑脊液中检测出钩状螺旋体状病毒，最后使患儿的病情得以控制。我国最先原始的报道是在 2015 年。ZINTER 及 LANGEIER 团队的研究表明，mNGS 不仅能够及时准确地检测出病原体，相对于传统检测技术来说，更能检测出多种病原体的存在，对患者病情治疗及以后更加有效。

mNGS 是基于宏观基因技术对基因组进行测序的技术，相对于传统技术，它具有无法比拟的优势，主要表现在：①对病毒能够进行快速鉴定；②敏感性高，信息量大；③序列深入分析，能覆盖到基因组的其他区域，也可以防止靶标区引起的假阴性，信息基础量多，可进化预测病原体的传播方式及突变位点；④无需培养，直接进行基因测序。该检测方法使用一种特殊的核苷酸，此核苷酸可中断 DNA 合成反应，在 4 个 DNA 合成反应中分别加入一定比例的带有放射性同位素的标记脱氧核糖核苷三磷酸 (dNTP)，通过凝胶电泳和放射自显影后可根据电泳带的位置确定待测分子的 DNA 序列，在诊断病原学方面，阳性率较高。灵敏度是聚合酶链反应 (PCR) 的 100 倍。本研究结果显示，常规涂片+培养检测对细菌、病毒、真菌的检出率均低于 mNGS。谢栓栓等^[5]的研究表明，相对于传统检测技术而言，mNGS 的敏感度为 67.53%，传统培养法敏感度 (27.23%)，mNGS 高于传统培养技术，尤其在检测肺炎克雷伯

杆菌、铜绿假单胞菌、曲霉菌更有明确的优势，缩短了患者的住院周期。2023 年中华医学会呼吸病学分会在关于 mNGS 的专家共识中指出^[6]，mNGS 技术理论上能非假设性、一次性的检测未知的病原体，检测的范围更广。杨玉荣等^[7]研究了 1 例 mNGS 对新冠病毒的检测，认为 mNGS 可通过分析新型冠状病毒的核酸序列将病毒的基因组进化关系与流行病学传播途径相结合，从而证明了新冠病毒传播途径的不确定性，为新冠病毒的传播路径提供了新的想法和思路。也为当地其他传染病的预防及应用提供了有益的帮助。

众所周知，感染性疾病在全世界造成的死亡率占有重要地位，其中不乏一些低等国家，将近 50% 的病死率因感染性疾病所导致，其中，呼吸系统引起的感染排在前列。我国的人口基数大，感染会相应导致原发疾病的加重以致后续无法控制，由于许多药物具有局限性，这就导致了我国已然成为抗生素的滥用大国，同时已成为全球公共安全的威胁之一^[8]。有研究表明^[9]，由病毒和细菌引起的呼吸道感染未得到有效控制及重视，主要是因为目前的检测手段缺乏，技术落后。与此同时，抗生素的大量滥用也会导致出现耐药性，随着病情的发展及抗生素的多重作用，病毒及细菌对抗生素所产生的耐受及抵抗能力已经从最初的单一性逐步演变为多重性，增加治疗的难度，对患者的生存及预后造成了严重的影响^[10-11]。种种研究及客观事实证明如果单靠常规检测方法是无法应对当前医疗处境的，而 mNGS 技术不仅有效地提高了病原体的检出率，也弥补了常规检测方法的不足。

在全球蔓延的新型冠状病毒已经给了我们一个重要的警示，即病毒基因核酸检测的重要性，这在国家卫生健康委员会发布的诊疗方案诊断标准中再次得到了体现^[12-13]。但是，mNGS 的费用虽然较以前相比下降了许多，但仍高于传统检测方法的费用，对于一些地区医院来说，具有挑战性。因此作为一种常规的普遍的检测手段发展来看，

仍具有困难性。相信随着检测技术的不断成熟及进步, mNGS 技术会在未来的领域内大放异彩, 更好地为患者提供服务。

参 考 文 献

- [1] 晁灵善, 阎锡新. 重症肺部感染病原学诊断的巨大进步: 浅谈二代测序技术[J]. 国际呼吸杂志, 2023, 43(1): 2-6.
- [2] 毕铭轶, 汪春付, 连建奇, 等. 宏基因组测序在感染性疾病中的应用与反思[J]. 中华临床感染病杂志, 2019, 12(5): 379-384.
- [3] 何琳. 二代测序技术在微生物和感染性疾病中的应用[J]. 医学美学美容, 2019, 28(14): 63.
- [4] GIBSON DJ, GALLAGHER CG, DOHERTY GA. Infliximab is safe and induces sustained remission with complete mucosal healing in Crohn's disease in a patient with pan resistant pseudomonas cystic fibrosis: a case report[J]. J Crohn's Colitis, 2014, 8(11): 1561-1562.
- [5] 谢栓栓, 李譞, 李萍, 等. 宏基因组二代测序技术对感染性疾病患者的诊断价值及其临床应用[J]. 国际呼吸杂志, 2020, 40(9): 641-646.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会, 下呼吸道感染宏基因组二代测序报告临床解读路径专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2023, 46(4): 1-14
- [7] 杨玉荣, 万寒兵, 康耀霞, 等. 基于宏基因组高通量测序分析一起聚集性新型冠状病毒感染疫情的基因组及传播特征[J]. 中华地方病学杂志, 2023, 42(2): 152-156.
- [8] LAXMINARAYAN R, DUSE A, WATTAL C, et al. Antibiotic resistance-the need for global solutions[J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(12): 1057-1098.
- [9] OLIVA A, CIPOLLA A, VULLO V, et al. Clinical and *in vitro* efficacy of colistin plus vancomycin and rifampin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* causing ventilator-associated pneumonia[J]. New Microbiol, 2017, 40(3): 205-207.
- [10] CHEN L, TODD R, KIEHLBAUCH J, et al. Notes from the field: pan-resistant new Delhi metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* - washoe county, Nevada, 2016[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2017, 66(1): 33.
- [11] YANG CX, QIN SK. Apatinib targets both tumor and endothelial cells in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Med, 2018, 7(9): 4570-4583.
- [12] CHEN ZM, FU JF, SHU Q, et al. Diagnosis and treatment recommendations for pediatric respiratory infection caused by the 2019 novel coronavirus[J]. World J Pediatr, 2020, 16(3): 240-246.
- [13] YU F, DU LY, OJCIUS DM, et al. Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China[J]. Microbes Infect, 2020, 22(2): 74-79.

(龚仪 编辑)