

基于内标定量的 mNGS 可优化呼吸道感染诊断 宏基因组检测在复杂感染中显优势

▲ 浙江大学医学院附属第一医院呼吸与危重症医学科 周华
浙江大学医学院附属邵逸夫医院感染科 俞云松



周华 教授

宏基因组二代测序技术 (mNGS) 对样本中微生物的检测性能取决于两个因素: 人源核酸含量与病原核酸含量。人源核酸含量越高, 微生物的检测性能越差。为解决临床标本中人源核酸对微生物检测的影响, 去宿主/去人源技术被广泛用于临床 mNGS 检测, 目前主要为差异化裂解。

近日, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院、浙江大学医学院附属第一医院等 15 家医院联合开展的一项研究显示, 差异化裂解去人源会同时造成某些微生物序列数上升, 某些微生物序列数下降, 因此不建议对所有标本无差别应用。借助分子内标, mNGS 可实现对标本中人源和病原含量进行定量检测, 结合选择性去人源, 对支气管肺泡灌洗液 (BALF) 的诊断阳性率可达 93.04%, 诊断特异性可达 93.33%。(J Infect.2022;84:e13)

差异化裂解去人源技术是把“双刃剑”

该研究通过向肺泡灌洗液中加入内标核酸分子, 对每份标本中的人源核酸和微生物核酸进行相对定量, 从而对人源含量和病原含量实现标准化。

研究中, 每份肺泡灌洗液被均分为两份, 一份

正常检测, 另一份在去宿主后进行检测。去宿主操作造成了某些微生物的序列数上升, 某些微生物的序列数下降。

相比真菌和病毒, 细菌与分枝杆菌的序列数提升更显著。研究发现, 8 例

标本在去宿主后检出病原微生物 (4 例结核分枝杆菌, 2 例烟曲霉, 2 例白色假丝酵母)。同时, 去宿主也造成了微生物的损失, 如耶氏肺孢子菌, 在 2 例标本中, 去宿主造成了耶氏肺孢子菌序列数的显著下降。

mNGS 在混合感染和罕见病原感染有较高的诊断价值

研究使用多种临床常规病原学检测技术作为正交对照, 对 205 例疑似下呼吸道感染患者进行研究。结果显示, 常规检测在 64 例标本中检测阳性 (31.22%), 其中 51 例检测结果与 Q-mNGS 一致 (79.69%)。当常规检测为阴性时, 临床诊断通过至少两位医师结合 Q-mNGS 结果、患者临床表现、胸部 CT、经验性抗菌治疗效果等进行综合评判。

205 例患者中有 15 例

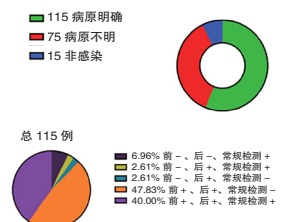


图 1 Q-mNGS 与常规检测的诊断性能对比

患者 (7.32%) 被确诊为非感染性疾病, 剩余 190 例被诊断为感染性疾病。115 例患者有明确的病原学依据 (图 1), 其中 Q-mNGS 的检测阳性率为 93.04%, 常规检测的阳性率为 49.57%。Q-mNGS 为 123 例患者提供了有效的诊断依据 (123/205, 60.00%), 其中 64 例患者 Q-mNGS 的结果为唯一病原学依据。常规检测为 67 例患者提供了诊断依据 (32.68%), 其中 8 例患

者的常规检测结果为唯一病原学依据。

研究发现, Q-mNGS 在肺脓肿、肺结核、肺曲霉病、细菌性肺炎、耶氏肺孢子菌肺炎、肺炎支原体/衣原体、非结核分枝杆菌肺病感染诊断中具有显著优势, 此类病原体的常规检测并非在所有医院普遍开展或耗时很长。Q-mNGS 的阴性结果对临床排除感染也有一定价值, 研究通过宏基因组测序协助诊断了 14/15 (93.33%) 例非感染性疾病。

研究团队认为, 在临床开展宏基因组检测前, 医生应充分了解此项技术的优缺点。mNGS 的主要优点是广覆盖, 尤其在混合感染和罕见病原体感染的诊断中有很高价值。但正因为 mNGS 的广覆盖, 在结果解读中需要掌握微生物学和呼

吸道感染的相关知识。此外, 去宿主操作对微生物检测的影响是一把双刃剑, 需要谨慎开展。



关联阅读全文

mNGS 助力探究肺癌术后发热伴肺内不规则空洞 基于临床微生物学思维适时选择 mNGS

▲ 中国医科大学附属第一医院感染科 陈明 郑旭婷

病例简介

主诉: 女性, 33 岁, 因“发热伴咳嗽、咳痰 20 d”于 2021 年 3 月 12 日入院。

既往史: 左肺下叶腺癌病史半年, 3 个月前行胸腔镜下左肺下叶袖式切除、支气管成型、胸腔粘连松解、纵膈淋巴结清除术, 术前行新辅助化疗 2 次; 右肺下叶结节病史半年。

现病史: 患者 20 d 前着凉后出现发热, 体温最高 39℃, 伴咳嗽、咳中等量黑色腥臭味痰, 咳嗽时偶有胸痛, 口服“美林”体温可降至正常, 但持续数小时体温再次升高。1 周前, 就诊于外院, 诊断为“细菌性肺炎”, 先后予“泰能、拜复乐、糖皮质激素、泰能联合糖皮质激素”等治疗仍反复发热, 每日约发热 4 次, 咳嗽、咳痰无好转, 为明确诊治收入我科。

查体: T: 37.5℃, P: 110 次/min, R: 20 次/min, Bp: 108/68 mmHg。神志清, 发育正常, 营养中等, 无贫血貌, 浅表淋巴结未触及。周身皮肤黏膜无出血点及瘀斑, 睑结膜无苍白, 巩膜无黄染, 双肺听诊呼吸音清, 未闻及干湿啰音, 心率 110 次/min, 心律齐, 各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音, 腹软, 无压痛, 双下肢无浮肿。四肢活动正常, 生理反射存在。

辅助检查 (入院前): 外院血常规: WBC 14.6 × 10⁹/L, NE% 87.7%, LY% 7.1%, PLT

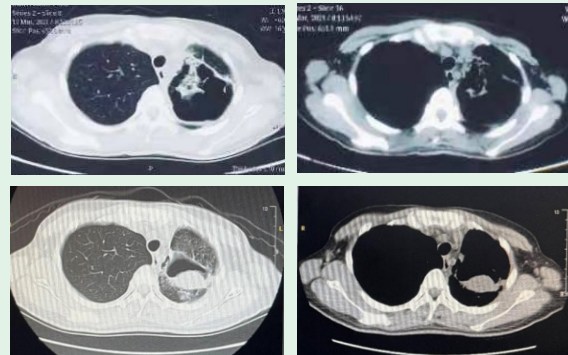


图 1 左上、右上为 2021-03-11 肺 CT, 左下、右下为 2021-04-13 肺 CT

649 × 10⁹/L, HGB 101 g/L。CRP 249.88 mg/L。双肺 + 全腹 CT: 左肺上叶不规则空洞病变, 左肺术后, 双肺炎症改变, 右肺下叶磨玻璃结节, 左侧胸腔积液, 盆腔积液。

入院诊断: 肺脓肿, 右肺结节, 左侧胸腔积液, 左肺腺癌术后, 新辅助化疗后, 轻度贫血。

诊治经过: 综合病例特点考虑诊断肺脓肿, 结合患者宿主特点及前期抗感染药物治疗反应, 分析其病原体及耐药性, 临床上需注意覆盖 MRSA、厌氧菌、耐药革兰阴性杆菌、曲霉、结核等, 并需注意混合感染的可能。按上述临床微生物思维, 进一步完善相关辅助检查, 多次留取痰培养及血培养, 给予美罗培南联合利奈唑胺静点开始经验性抗感染治疗, 并给予对症支持治疗。

辅助检查结果回报: 痰一般细菌培养 + 涂片 (1 次): 副流感嗜血杆菌, 半定量 +; 葡萄糖测定 (空腹)、肾功、CEA、G 试验、GM 试验、烟曲霉过敏性气道疾病检测、T-spot、军团菌抗体均无

异常; 痰真菌涂片检查 (2 次)、痰真菌培养及鉴定 (2 次)、痰涂片查抗酸杆菌 (2 次)、双上肢血培养均为阴性。

入院后 72 h, 患者发热频次减少, 每日发热 2 次, 复查血常规、CRP 较前好转, 仍有咳嗽、咳痰, 病情较前略好转, 尚未获得对诊断有帮助的病原学阳性结果, 送检痰 mNGS, 结果回报: 曲霉菌属, 检出序列 72, 黑曲霉, 检出序列 9, 未检出细菌、DNA 病毒、结核分枝杆菌复合群、支原体/衣原体/立克次体。考虑黑曲霉为致病菌, 未见 MRSA 感染证据, 停用利奈唑胺, 加用伏立康唑静点, 患者体温逐渐恢复至正常, 咳嗽、咳痰好转, 一般状态好转, 复查血常规及炎症指标同步好转。

应用伏立康唑治疗近 4 周时复查肺 CT, 对比入院前肺 CT 左肺上叶空洞病变缩小, 双肺炎性病变部分吸收, 右肺下叶磨玻璃小结节未见明显变化。患者病情好转, 出院继续口服伏立康唑治疗。

病例分析

该病例患者为免疫妥协宿主, 此类患者易继发肺部感染, 且易患机会性病原体感染、混合感染, 致病菌复杂, 临床诊治困难。当初始抗感染治疗不顺利或者治疗失败时, 良好的临床微生物学思维有助于调整经验性抗感染治疗,

同时积极送检恰当的标本, 筛查可疑病原体, 并结合临床分析其结果, 可有助于明确致病菌。

本例在传统病原学检测技术无阳性结果的情况下, 适时选择痰标本送检 mNGS, 报告提示仅检测出曲霉菌属,

结合该患者的宿主特点及治疗反应, 考虑为致病菌, 为临床明确诊断提供了有力的证据。



关联阅读全文



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: 周华
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