

· 论著 ·

宏基因组二代测序技术在诊断不明原因肺部感染中的临床价值研究*

詹莉琼* 杨莉莉 卢晏民 李艳丽 崔杰
 商丘市第一人民医院 (河南 商丘 476100)

【摘要】目的 探讨并分析经皮肺穿刺组织宏基因组二代测序技术对不明原因肺部感染患者病原学诊断的临床价值。**方法** 收集2020年12月至2022年12月期间, 在我院接受CT引导下经皮肺穿刺活检并结合mNGS检测的100例肺部感染患者的临床资料。患者根据是否存在基础性疾病被分为两组, 对比两组间mNGS与传统检测方法在病原体检出阳性率及采信率等方面的差异, 并分析不同类型病原体的mNGS检测阳性率。**结果** 在纳入的100例病例中, mNGS的阳性检测率为100%, 显著高于常规检测方法的73%($P<0.05$)。两组患者中, mNGS检测病原体的阳性率均显著高于常规检测($P<0.05$)。此外, mNGS的临床采信率同样高于常规检测($P<0.05$), 而有基础疾病组与无基础疾病组间采信率无显著差异($P>0.05$)。mNGS在检测各种病原体方面的效率均超过常规方法($P<0.05$), 特别是对真菌、结核分枝杆菌和混合感染的检出效率显著提升($P<0.001$)。**结论** 对于不明原因的肺部感染, 采用组织mNGS检测显示出较高的阳性检出率和采信率, 显著增强了对多种病原体的检测能力, 特别是对真菌、结核分枝杆菌及混合感染病原体的检测, 具有显著的临床应用潜力。

【关键词】 宏基因组二代测序; 常规检测方法; 基础疾病; 不同病原体; 肺部感染
【中图分类号】 R563
【文献标识码】 A
【基金项目】 河南省商丘市第一人民医院院级科研项目(20220201); 河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20191501)
DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2025.3.024

The Clinical Value of Acer Second Generation Sequencing in the Diagnosis of Pulmonary Infection of Unknown Cause*

ZHAN Li-qiong*, YANG Ju-ju, LU Yan-min, LI Yan-li, CUI Jie.
 Shangqiu First People's Hospital, Shangqiu 476100, Henan Province, China

Abstract: Objective To explore and evaluate the clinical significance of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) on percutaneous lung biopsy specimens for diagnosing unexplained pulmonary infections. **Methods** We analyzed 100 cases of patients with pulmonary infections who underwent CT-guided percutaneous lung biopsies and mNGS testing during their hospitalization from December 2020 to December 2022. These patients were categorized into two groups based on the presence or absence of underlying conditions. The detection and acceptance rates of mNGS and traditional diagnostic methods were compared. Additionally, the positive detection rates of various pathogens by mNGS were examined. **Results** All 100 cases (100%) tested positive with mNGS, while only 73 cases (73.00%) were positive with conventional methods. The positivity rate of mNGS was significantly higher than that of standard tests ($P<0.05$). Both groups, with and without underlying conditions, showed a higher positivity rate for mNGS compared to traditional methods ($P<0.05$). The clinical acceptance of mNGS was also higher than that of conventional methods ($P<0.05$). There was no significant difference in the mNGS acceptance rate between the two groups ($P>0.05$). The detection rates for different pathogens, particularly fungi, mycobacterium tuberculosis, and mixed infections, were notably higher with mNGS ($P<0.05$), especially for the specified pathogens ($P<0.001$). **Conclusion** For patients with unexplained pulmonary infections, mNGS on tissue samples demonstrates a high detection and acceptance rate. It significantly enhances the identification of various pathogens, particularly fungi, mycobacterium tuberculosis, and mixed infections, thus offering substantial clinical utility.

Keywords: Metagenomic Second-generation Sequencing; Conventional Testing Methods; Underlying Disease; Different Pathogens; Pulmonary Infection

肺部感染是指因各种原因导致的终末气道、肺泡、肺间质的炎症, 主要表现为咳嗽、咳痰、发热、气促, 其发病率和死亡率都很高。病因复杂、临床表现多样, 给诊断带来了困难^[1]。早期准确地进行抗病原学治疗, 能使医生合理地应用抗生素和抗病毒药物, 提高用药效果, 改善病人的预后^[2]。而常规的细菌培养、涂片等方法很难适应当前的需要, 特别是对复杂感染的治疗, 存在着周期长、准确性有限等缺陷, 从而造成了延误和遗漏等问题^[3]。宏基因组二代测序是近几年肺部感染病原诊断的新方法。mNGS可以对采集的样品中的所有核酸进行直接检测, 然后通过生物信息学方法对样品中的核酸进行鉴定, 并对其序列数、覆盖度等进行定量的分析。mNGS具有快速鉴定、全面覆盖、高灵敏度等优点, 可用于各种感染性疾病的诊断^[4]。CT引导下经皮肺穿刺具有高灵敏度67%~97%、特异性90~100%、准确率74%~99%的特点, 使得它在肺部感染诊疗中的应用越来越突出^[5]。本文以不明原因肺部感染病人作为研究对象, 对其住院期间完成的肺穿刺活检及mNGS检测的临床数据进行了分析, 并从不同的病原学角度探讨mNGS在不明原因肺部感染中的临床意义。

CT引导下经皮肺穿刺活检组织mNGS检查的100例肺部感染患者展开研究, 根据是否存在基础疾病将其分为有基础疾病组($n=63$)及无基础疾病组($n=37$), 在无基础疾病的患者中, 27名男性, 10名女性, 年龄均值(61.52 ± 5.86)岁; 在有基础疾病的患者中, 50名男性, 13名女性, 年龄均值(62.38 ± 5.51)岁。经比较, 两组患者在一般资料方面未体现明显区别($P>0.05$)。见表1。

表1 入选患者基础疾病情况[n(%)]

组别	例数
无基础疾病	37(37.00)
有基础疾病	
慢性肺部基础疾病	13(20.63)
内分泌性疾病	10(15.87)
风湿性疾病	10(15.87)
肿瘤性疾病	14(22.22)
混合性疾病	10(10.00)
肾病综合征	6(6.67)

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取2020年12月至2022年12月在我院住院期间行

纳入标准: 满足肺部感染的诊疗标准, 具体确诊依据: 具备肺炎相关症状: 新近出现的咳嗽、痰多或慢性呼吸道病症加重,

【第一作者】 詹莉琼, 女, 副主任医师, 主要研究方向: 呼吸病学。E-mail: zlj8652363@163.com
【通讯作者】 詹莉琼

可能伴有脓痰、胸痛、呼吸急促、咯血等症状；肺部出现实变征象；外周血象中白细胞计数超过 $10 \times 10^9/L$ 或低于 $4 \times 10^9/L$ ，可能出现或不伴有白细胞核左移。胸部X射线检查显示出新增的浸润影、肺叶或肺段实变、磨玻璃样改变或间质性病变，可能伴有或不伴有胸腔积液。住院期间，对经皮穿刺获取的肺组织样本进行了mNGS的全面检测，同时采用了常规检验手段进行分析。排除标准：严重的心脏病(急性心肌梗死、恶性心律失常、心功能不全)；急性脑梗死或脑出血；重度血友病有出血的可能，血小板计数低于 $20 \times 10^9/L$ ；活动性大咯血；妊娠妇女；不能配合。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 选择病人的基本信息(姓名, 性别, 年龄)由医院的电子医疗记录系统进行采集；基础疾病, 既往用药史, 住院期间经皮肺穿刺活检, mNGS及其他病原学检查(如: 病理、免疫组化、特染、培养; 涂片、G实验、GM实验; 免疫学检查、临床症状、影像学检查、炎症指标(血常规、血沉、C反应蛋白、降钙素)等)。

1.2.2 mNGS检测方法 所有的临床样品都被送到微软基因公司进行测试, 利用宏基因组二代测序技术, 将样品中的DNA或RNA序列进行分析, 并将其与现有的微生物进行对比, 以确定其是否存在。核酸提取, 文库构建, 测序; 信息分析, 报告解读等。

1.2.3 致病原确定方法 (1)病原学的测定方法: 细菌、真菌、结核等细菌的病原学诊断标准是培养; 核酸呈阳性是病毒诊断的金标准。(2)mNGS致病菌测定方法: 每个微生物对特定图的读数(SMRN)进行归一化(SMRN)的全部测序读(SDSMRN, 标准化(SMRN)。mNGS的报告标准为: 菌株SDSMRN>3(不包括分枝杆菌); SDSMRN>3,RNA病毒SDSMRN>1; 寄生体SDSMRN>100; SDSMRN>3, 支原体/衣原体感染; SDSMRN>1(或SDSMRNG>1); 诺卡氏菌属mNGS报道均为阳性。肺部感染中的明确病原体; 排除口腔、呼吸道或皮肤中的正常细菌(从大量的文献中搜索)。可根据三名资深医师的临床诊断或有针对性的处理。已检出的细菌mNGS中, 符合全部条件的病原体均为可疑病原体。

1.3 统计学方法 运用SPSS 23.0进行数据分析。对于符合正态分布的定量数据, 使用 $\bar{x} \pm s$ 形式展现, 两组间的对比通过t检验完成, 而对于多组平均数的对比, 则实施方差分析。定性数据则以个数和百分比形式记录, 并通过 χ^2 检验或Fisher确切概率检验进行分析。当 $P < 0.05$ 时, 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 mNGS与常规方法阳性率比较 在所研究的100名患者样本中, 通过mNGS技术检测出阳性结果的有100例, 占比达到100%, 而传统检测手段发现阳性者仅为73例, 占比73%。显然, mNGS技术在阳性检出率上显著超越了传统检测手段($P < 0.05$)。此外, 不论患者是否伴有基础性疾病, mNGS在病原体检出阳性率方面的表现均优于常规检测($P < 0.05$), 具体数据见表2。

表2 mNGS和常规方法的检出总阳性率比较[n(%)]

分组	例数	mNGS阳性	常规方法阳性	P值
有基础疾病	63	63(100.00)	50(79.37)	0.015
无基础疾病	37	37(100.00)	23(62.16)	0.004
合计	100	100(100.00)	73(73.00)	0.011

2.2 mNGS及常规方法的临床采信率比较 在对mNGS检测结果为阳性的100名病例进行分析时, 其中70例得到了临床采信, 采信比例达到了70%, 相比之下, 常规检测阳性的73例病例中, 仅有33例获得临床采信, 采信率仅为45.21%, 这表明mNGS在临床采信度上显著优于常规检测($P < 0.05$)。进一步地, 当两种检测手段联合使用时, 有77例病例得到采信, 采信率提升至77%, 显著超越了单独使用常规检测的采信率($P < 0.05$), 然而, 与mNGS单独使用相比, 联合检测的采信率并没有显著差异($P > 0.05$)。此

外, 对伴有基础疾病与无基础疾病的mNGS阳性病例的采信率进行了对比分析, 结果显示在有基础疾病的63例病例中, 45例得到了采信, 采信率为71.43%, 而无基础疾病的37例病例中, 25例得到了采信, 采信率为67.57%, 两组间采信率没有显著差异($P > 0.05$), 具体数据见表3、表4。

2.3 mNGS对不同病原体的诊断价值 100例肺部感染患者中, 经mNGS与常规方法联合检查后共77例确定病因, 其中包括40例确诊为细菌性肺炎, 8例感染真菌性肺炎(4例为假丝酵母, 4例为曲霉菌), 3例为非典型病原体感染, 20例肺结核, 混合性肺部感染6例。mNGS对不同病原体的检出率均较传统检测方法更高($P < 0.05$), 尤其是对于真菌、结核分枝杆菌及混合性感染病原体的检出率($P < 0.001$), 见表5。

表3 mNGS和常规方法的采信率比较[n(%)]

分组	阳性	采信数
mNGS	100	70(70.00)
常规方法	73	33(45.21)
联合mNGS及常规方法	100	77(77.00)
P值	/	0.006

注: mNGS与常规方法比较, $P = 0.021$; mNGS与两种方法联合比较, $P = 0.284$; 常规方法与两种方法联合比较, $P = 0.013$ 。

表4 有基础疾病组和无基础疾病组间

mNGS的采信率比较[n(%)]

分组	阳性	采信数
有基础疾病	63	45(71.43)
无基础疾病	37	25(67.57)
P值	/	0.347

表5 mNGS和常规方法对不同病原体检出率比较[n(%)]

检查方法	细菌(n=40)	真菌(n=8)	非典型病原体(n=3)	结核(n=20)	混合性(n=6)
mNGS	36(90.00)	8(100.00)	3(100.00)	17(85.00)	6(100.00)
常规方法	25(62.50)	2(25.00)	1(33.33)	4(20.00)	1(16.67)
P值	0.017	<0.001	0.009	<0.001	<0.001

3 讨论

肺部感染在医疗实践中颇为常见, 其较高的发生率使之成为全球性的公共卫生问题之一, 同时也是导致感染相关死亡的主因^[6]。在患者接受肿瘤治疗、器官移植后使用免疫抑制剂, 或者患有HIV/AIDS等导致免疫力减弱的情况下, 此类感染的发病率有所上升^[7]。因此, 及时开展有针对性的治疗对于改善预后至关重要。然而, 常规的诊断手段往往阳性率不高, 且临床上的经验性抗感染治疗亦降低了阳性率, 难以满足临床需求。对于病因不明的肺部感染病例, 临床诊疗面临着重大挑战。新一代测序技术作为一项先进的病原体检测手段, 通过对样本中所有微生物进行测序分析, 以其广覆盖、快速周期等优势, 在识别病原菌方面表现出高效性, 引起了国内外专家的广泛关注^[8]。在常见病原体引起的肺部感染中, 如果临床表现典型且对特定病原体有高度怀疑, 传统的微生物检测方法(如培养、涂片等)因其成本效益高、操作简便而适用, 并能满足反复检测的需求^[9]。而对于那些临床表现复杂、罕见或非典型病原体感染、现有技术难以确诊的病例, 或是病情危重的患者, 合并感染的可能性增大, 标准化抗菌治疗无效时, 采用mNGS进行检测则成为最佳选择^[10-11]。在临床中, 常用的呼吸道样本类型多样, 包括痰液、肺泡灌洗液、血液、胸腔积液、活检组织等, 它们各有其特定的采集优势和局限性, 应根据具体情况进行选择^[12]。

(下转第 96 页)

燥湿，软坚散结；党参健脾养血，茯苓利水渗湿，两者合用，可养血生津、利尿祛湿；白芍养血柔肝止痛，黄芩燥湿解毒，两者合用，可清热解毒养血；丹参活血祛瘀；金钱草利湿退黄；柴胡疏肝解郁；当归补血活血，再加以甘草调和诸药，全方共奏解毒退黄，理气化痰，散结活血之效。此次研究中，治疗后相比常规西药组的各项指标，联合中医组临床总有效率处于更高水平，各项中医证候积分处于更低水平，表明乙肝肝硬化患者加用自拟散结退黄汤可进一步提高临床疗效，改善中医证候，效果更佳。

乙肝肝硬化是由于乙肝病毒感染所致，而乙肝病毒是一种嗜肝细胞病毒，其会攻击肝细胞导致肝细胞受损坏死，ALT、AST、TBil等物质释放入血，水平升高，而随着肝细胞坏死纤维化，肝脏正常结构与功能受损，合成ALB能力降低，导致其水平下降。现代药理研究表明自拟散结退黄汤中所用茵陈中所含有的黄酮类化合物可对炎症反应及氧化应激反应进行抑制，以减轻肝脏由于病毒所导致的炎症及损伤，从而达到保肝目的，改善肝脏功能^[9]；醋鳖甲含有多种生物活性成分，其中所含角蛋白、氨基酸及多种微量元素可促进肝脏细胞的修复再生，从而减轻肝脏损伤^[10]；所用白芍其提取物对肝损伤具有明显的对抗作用，可促使病变及坏死肝细胞恢复正常，从而达到对肝脏的保护效果^[11]。此次研究中，治疗后相比常规西药组的各项指标，联合中医组全血ALT、AST、TBil均处于更低水平，全血ALB处于更高水平；两组治疗期间未出现较为严重的不良反应，表明乙肝肝硬化患者加用自拟散结退黄汤对肝功能的改善效果更为显著，且安全性良好。

综上所述，临床上在对乙肝肝硬化患者治疗方案的选取中，

常规西医联合自拟散结退黄汤在多方面(改善中医证候、肝功能、提升用药安全性等)均更具优势，具有良好的临床应用推广前景。

参考文献

- [1] 陈金良, 李康, 宋奇春. 乙肝合并肝硬化患者CT肝脏体积测量与肝功能分级的相关性分析[J]. 中国CT和MRI杂志, 2019, 17(7): 99-102.
- [2] 张柳华, 邓英. 低乙肝表面抗原水平慢性乙型肝炎患者应用长效α干扰素联合替诺福韦治疗的临床效果[J]. 现代医学与健康研究(电子版), 2023, 7(16): 49-51.
- [3] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(12): 1941-1960.
- [4] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南(2019年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(7): 1444-1449.
- [5] 国家药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 415-416.
- [6] 危北海, 张万岱, 陈治水, 等. 肝硬化中西医结合诊治方案[J]. 现代消化及介入诊疗, 2005, 10(2): 119-121.
- [7] 范燕峰. 蚁肝胶囊联合替诺福韦对乙肝肝硬化患者的肝功能及病毒学指标的影响[J]. 罕少疾病杂志, 2022, 29(10): 57-59.
- [8] 郭杏斐. 和血调肝汤联合恩替卡韦治疗气滞血瘀型乙肝肝硬化[J]. 河南医学研究, 2020, 29(32): 6084-6086.
- [9] 黄丽平, 许远航, 邓敏贞, 等. 茵陈的化学成分、药理作用机制与临床应用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(4): 676-690.
- [10] 李厚钢. 鳖甲抗肝纤维化的物质基础研究[D]. 湖北中医药大学, 2020.
- [11] 沈子志, 牟春燕, 周雪儿, 等. 白芍及其化学成分的药理作用研究进展[J]. 江苏中医药, 2024, 56(8): 76-79.

(收稿日期: 2024-08-26)

(校对编辑: 姚丽娜)

(上接第 63 页)

例如，血液样本常用于诊断脓毒症和菌血症，但需病原体或其分解产物进入血液循环才能被检测到。对于伴有胸水的肺部感染患者，胸腔积液是一个较佳的检测样本，尽管其应用范围有限且存在一定的假阴性风险^[13]。痰液和肺泡灌洗液样本可能受到口腔细菌的污染，其中后者较前者准确度更高。CT引导下的经皮肺穿刺技术是一种防止上呼吸道细菌污染的有效采集方法，安全性高且患者耐受性好，当传统检验方法无法确诊病因，且经验性治疗效果不佳时，可以采用此技术进行病因诊断。

本文对不明原因肺部感染中经皮肺穿刺组织mNGS的阳性检出率和临床采信率进行了初步评价。近年来，已有大量的文献证明，mNGS较培养和PCR等方法具有较高的灵敏度和特异度。本研究结果显示，组织mNGS的阳性检出率以及采信率均较传统检测方法更高(P<0.05)。同时，在有基础疾病和无基础疾病的患者中，mNGS的阳性率和采信率均无显著性差异(P>0.05)。事实上，mNGS常被用在有基础疾病的病人身上，特别是免疫系统受损的病人，肺部感染的病原比较复杂，合并罕见病原体的可能性也比较大，所以很难治疗^[14]。而mNGS则可以通过比较各病原体间的相对序列数目，及早发现潜在病原体、混合感染、罕见病原体和病原体。在没有基础疾病的人群中，虽然我们的资料表明，传统的方法比mNGS的阳性率要低，但是这些病人大部分是常见病原体，或者经验性治疗效果好，mNGS对常见病原体没有明显的优越性，也没有传统的检测技术那么经济^[15]。同时，本文还对mNGS对不同病原体的诊断价值进行了讨论。结果显示：mNGS对不同病原体的检出率均较传统检测方法更高，尤其是对于真菌、结核分枝杆菌及混合性感染病原体的检出，这充分说明mNGS检测能够有效提高不明原因肺部感染中病原体的检出率，这一结果与夏勇惠^[16]等人在肺泡灌洗液宏基因组二代测序在不明病原体肺部感染中的诊断价值一文中的数据一致。

综上所述，针对不明原因肺部感染患者，组织mNGS的具有较高的阳性检出率以及采信率，并且mNGS能有效提高对不同病原体的检出率，尤其是对真菌、结核分枝杆菌及混合性感染病原体的检出更高，在临床上具有较高的应用价值。

参考文献

- [1] 朱晨, 杨坚, 王寿寿, 等. 宏基因组二代测序在肺部感染性疾病病原学诊断中的价值[J]. 中国临床实用医学, 2023, 14(1): 52-56.
- [2] 贾琳, 陈铭, 许永枫, 等. 宏基因组二代测序技术在艾滋病患者肺部感染中的临床应用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2022, 36(4): 441-447.
- [3] 陈婷婷, 江文洁, 华晓兰, 等. 宏基因组二代测序在肺部感染患者病原体检测中的应用价值[J]. 广西医科大学学报, 2022, 39(5): 820-825.
- [4] 孟现林, 张蕾, 范晓钦, 等. 宏基因组二代测序技术检测支气管肺泡灌洗液中病原体对器官移植患者肺部感染的诊断价值[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(12): 1440-1446.
- [5] 郝山凤, 王一浩, 李丽娟, 等. 外周血宏基因组二代测序技术在血液病合并发热患者中的临床应用价值[J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(9): 766-770.
- [6] 张江伟, 燕航, 薛武军, 等. 基于宏基因组二代测序技术检测肾移植术后肺部感染的病原学研究[J]. 中华器官移植杂志, 2021, 42(5): 260-264.
- [7] 王楠, 张乐笑. 舒巴坦治疗老年心力衰竭患者肺部感染的临床效果及不良反应发生率分析[J]. 罕少疾病杂志, 2022, 29(3): 38-40.
- [8] 翟磊磊. 美罗培南与亚胺培南-西司他丁治疗重症肺部感染的效果比较[J]. 罕少疾病杂志, 2022, 29(2): 34-35, 45.
- [9] 李勇, 吴迎青, 李晓平, 等. 支气管肺泡灌洗液宏基因组二代测序在诊断PD-1抑制剂相关性肺炎中的价值[J]. 福建医科大学学报, 2021, 55(6): 556-560.
- [10] 康磊, 郭芳, 白新风, 等. 宏基因组二代测序与传统病原检测在中性粒细胞减少伴发热白血病患者中的对比研究[J]. 临床儿科杂志, 2022, 40(7): 539-544.
- [11] 李冰, 缪青, 金文婷, 等. 宏基因组二代测序技术对厌氧菌感染精准化诊断的临床价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(13): 1927-1930, 1953.
- [12] 李群, 韩利红, 麻佑峰, 等. 宏基因组二代测序技术对肺部感染病原菌检测的临床意义[J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 30(9): 66-67.
- [13] 陆瀚澜, 隋明星, 赵雨雨, 等. 高通量二代基因测序技术在器官移植术后肺部感染病原学诊断的应用观察[J]. 中华器官移植杂志, 2020, 41(7): 388-392.
- [14] 贾明雅, 郑喜胜, 董照刚, 等. 重症肺炎合并肺部感染患者胸部CT征象及其诊断价值研究[J]. 中国CT和MRI杂志, 2021, 19(5): 33-34.
- [15] 付信飞, 马青松, 黎俊. 动态CT增强扫描在重症肝炎合并肺部感染诊断中的应用[J]. 中国CT和MRI杂志, 2019, 17(10): 62-64.
- [16] 夏勇惠, 高秀峰, 王慧, 等. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序在不明病原体肺部感染中的诊断价值[J]. 皖南医学院学报, 2022, 41(4): 337-340.

(收稿日期: 2023-06-12)

(校对编辑: 翁佳鸿)