

· 论著 · 胸部 ·

## 10例宏基因组二代测序阳性重症肺念珠菌感染患者治疗体会

夏宜兰 梁晓\* 吴东娜 蒋淑一 左丽丽

云南省第一人民医院(云南昆明650032)

**【摘要】目的** 总结10例宏基因组二代测序(mNGS)为阳性的重症肺念珠菌感染患者的临床特点与治疗经验。**方法** 选取2020年1月至2021年12月期间云南省第一人民医院收治的10例重症肺念珠菌感染患者,其mNGS检测结果均为阳性。回顾性分析本组患者的临床资料,重点梳理患者的灌洗液基因测序结果、灌洗液培养结果、普通痰培养结果以及药物治疗方法,总结其本病的临床特点与诊疗经验。**结果** 本组病例中,男9例,女1例,年龄41~82岁,主要临床表现为发热、咳嗽、咳痰。实验室检查发现,5例患者的血清降钙素原水平高于正常值,多数患者的C反应蛋白、红细胞沉降率、白细胞计数有明显升高趋势,胸部CT检查可见肺炎炎症与实变。本组患者的mNGS检测结果均为阳性,结合基因测序结果与患者的临床表现明确诊断。综合考虑实验室检查与mNGS检测结果,针对性设计用药方案,除1例患者用药效果较差、自动出院,其余患者经治疗后病情好转,达出院标准。**结论** mNGS的检测结果对重症肺念珠菌感染患者的诊疗有重要意义,可为用药方案的针对性设计提供重要参考。

**【关键词】** 重症肺念珠菌感染;宏基因组二代测序;临床特点;药物治疗

**【中图分类号】** R519.3

**【文献标识码】** A

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-3257.2026.1.021

## Treatment of 10 Patients with mNGS Positive Severe Pulmonary Candidiasis

XIA Yi-lan, LIANG Xiao\*, WU Dong-na, JIANG Shu-yi, ZUO Li-li.

Yunnan Provincial People's Hospital, Kunming 650032, Yunnan Province, China

**Abstract: Objective** To summarize the clinical characteristics and treatment experience of 10 patients with severe pulmonary candidiasis who were positive for metagenomic second generation sequencing (mngs). **Methods** ten patients with severe pulmonary candidiasis admitted to Yunnan Provincial People's Hospital from January 2020 to December 2021 were selected, and their mngs test results were positive. Retrospective analysis of the clinical data of this group of patients, focusing on combing the results of gene sequencing in lavage fluid, lavage fluid culture, common sputum culture and drug treatment, and summarizing the clinical characteristics and diagnosis and treatment experience of this disease. **Results** There were 9 males and 1 female, aged 41-82 years. The main clinical manifestations were fever, cough and expectoration. The laboratory examination showed that the serum procalcitonin level of 5 patients was higher than the normal value, the C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate and leukocyte count of most patients had a significant upward trend, and the chest CT examination showed the inflammation and consolidation of lung lobes. The detection results of mngs in this group of patients were all positive, and the diagnosis was made by combining the gene sequencing results with the clinical manifestations of the patients. Based on the results of laboratory examination and mngs test, a targeted medication plan was designed. Except for one patient who had poor medication effect and was discharged automatically, the other patients improved after treatment and reached the discharge standard. **Conclusion** the detection results of mngs are of great significance for the diagnosis and treatment of patients with severe pulmonary candidiasis, and can provide an important reference for the targeted design of drug regimen.

**Keywords:** Severe Pulmonary Candidiasis; Metagenome Second Generation Sequencing; Clinical Features; Medication

侵袭性真菌感染指真菌侵入无菌深部组织或体液后生长繁殖的病理生理过程,重症感染患者可出现不同程度的器官功能障碍、组织损害与炎症反应。肺真菌感染多与白色念珠菌有关,念珠菌有黏附粘附组织的特性,可诱导巨噬细胞自噬,产生水溶性、强致病性毒素<sup>[1]</sup>。肺念珠菌感染的发病机制相对复杂,现有的医学证据<sup>[2]</sup>表明其基本病理变化为肺实质化脓性炎症,可受以下因素的影响:(1)机体因素,吞噬细胞减少、细胞免疫缺损、皮肤损伤等可能参与发病;(2)菌体因素,菌壁中的甘露聚糖可加强黏附能力,侵入组织后主要呈菌丝体,被吞噬的概率低于孢子,且生长繁殖过程可产生损伤组织的毒素;(3)医源性因素,广谱抗生素、深部置管等可增加感染风险。近年来,受抗生素、免疫抑制剂广泛使用等因素的影响,

肺念珠菌感染患者呈现增多趋势。国内一项多中心前瞻性研究<sup>[3]</sup>显示,重症患者念珠菌感染的病死率显著高于重症患者住院病死率,确诊感染的手段主要为血培养,而经验性、抢先治疗的患者占比不足1/3。肺念珠菌感染患者的临床表现缺乏特异性,临床确诊与规范治疗的难度较大。宏基因组二代测序(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)是以特定环境中整个微生物群落为研究对象,利用高通量测序平台完成基因组DNA、RNA测序,分析微生物种类、组成及活性的一种新技术<sup>[4-5]</sup>。mNGS技术具备同时读取数十万至数百万条DNA分子序列的能力,可快速、准确地完成样本中病原体的检测,并为病情的确诊提供关键信息。目前,mNGS技术广泛应用于肺部感染<sup>[6]</sup>、中枢神经系统感染<sup>[7]</sup>、假体周围感染<sup>[8]</sup>等领

**【第一作者】** 夏宜兰,女,主治医师,主要研究方向:呼吸系统疾病与感染性发热。E-mail: w2770589691@163.com

**【通讯作者】** 梁晓,女,主任医师,主要研究方向:呼吸系统疾病及重症感染性疾病。E-mail: liangxiao1970@163.com

域的病原体诊断。本研究应用mNGS技术诊断重症肺炎念珠菌感染患者，对10例mNGS阳性患者的临床资料进行回顾性分析，梳理患者的临床表现、基础疾病、实验室检查结果等基本信息，重点探讨其诊断结论与治疗策略。现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2020年1月至2021年12月期间云南省第一人民医院收治的10例重症肺炎念珠菌感染患者，本组患者的mNGS检测结果显示为阳性，对其临床资料进行回顾性分析。本研究通过医院伦理委员会审核。

**1.2 方法** 实验室检测：入院后按照标准静脉采血程序采集血液样本。血常规分析使用MEK-6400C系列全血细胞分析仪，血生化分析采用博科BK-600血生化分析仪。血清降钙素原(procalcitonin, PCT)采用罗氏电化学发光法测定，C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)采用免疫荧光定量检测法，红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)采用自动血沉仪法，白细胞计数(white blood cell, WBC)采用白细胞计数仪法。

mNGS检测：按照各类检验样本的临床操作规范，收集患者的痰液、灌洗液样本，选用AMPure XPdna提取试剂盒提取DNA；对文库插入片段以及AND文库浓度进行质控分析，做环化处理与滚环复制，制备DNB纳米球；将DNB纳米球加载至测序芯片，完成测序任务。

**1.3 统计分析** 测序数据下机后，对长度低于35bp或质量较低

的数据进行剔除操作，以保证数据质量。借助BWA比对法去除人参考基因组序列数据，将剩余数据与专用微生物大数据库进行比对，得出检测结果。

## 2 结果

**2.1 患者基本信息** 本组病例中，男9例，女1例，年龄41~82岁，主要临床表现为发热、咳嗽、咳痰。见表1。

**2.2 实验室检查与影像学检查** 本组病例中，5例患者的PCT水平高于正常值，9例患者的CRP水平高于正常值，仅1例患者的ESR检测结果在正常值范围内，7例患者的WBC水平偏高。见表2。患者胸部影像学表现以单个肺叶累及为主，渗出明显。患者2肺部炎症的进展较快，药物治疗效果差，自动出院，治疗前后的CT变化见图1。

**2.3 mNGS检测** 本组患者的mNGS检测结果均为阳性，灌洗液的基因测序结果与培养结果以白色念珠菌。患者1的灌洗液样本经基因测序发现白色念珠菌(141条)，样本经培养后发现白色念珠菌与鲍曼不动杆菌。患者3的灌洗液样本mNGS检测出热带念珠菌(6625条)异常威克汉姆酵母菌(918条)，普通痰样本培养结果为阴性，痰涂片见真菌孢子及假菌丝。见表3。

**2.4 药物治疗方案与结局** 本组患者结合实验室检查与mNGS检测结果针对性设计用药方案，除患者2未达到预期疗效外，其余患者用药后症状逐渐消退，好转出院。本组患者所用药物主要为氟康唑、美罗培南、替加环素、左氧氟沙星等。见表4。

表1 本组患者基本信息

病例	性别	年龄	吸烟史	临床表现	基础疾病	诊断结果
患者1	男	82	有	咳嗽、咳痰及呼吸困难	冠心病PCI术后 高血压	1.重症肺炎 2.呼吸衰竭3. 肺真菌感染
患者2	男	77	有	发热(40.4℃)伴咳嗽咳痰	COPD、肾功能不全	1.重症肺炎 2.呼吸衰竭3. 肺真菌感染
患者3	女	72	无	咳嗽、咳痰及呼吸困难，伴发热(39.3℃)	消化道肿瘤、肾功能不全、肝损害、结缔组织病	1.脓毒症2.重症肺炎3.呼吸衰竭4. 肺真菌感染
患者4	男	49	有	咳嗽咳痰及发热(38.4℃)	肝功能损害、糖尿病	1.肺结核 2.肺部感染
患者5	男	41	有	咳嗽、发热(40.0℃)伴腹泻	急性肾功能衰竭、肝损害、贫血	1.重症肺炎 2.脓毒症休克 3.呼吸衰竭
患者6	男	62	有	鼻塞、头痛伴发热(38.6℃)	韦格纳肉芽肿	1.肺部感染2.口腔真菌感染
患者7	男	77	无	咳嗽、咳痰	细胞免疫缺陷、病毒性肺炎、肺间质纤维化	1.脓毒症2.呼吸衰竭3.重症肺炎4.肺真菌感染
患者8	男	67	有	咳嗽、咳痰伴呼吸困难	COPD、肺间质纤维化、支气管哮喘	1.肺部感染2.呼吸衰竭
患者9	男	64	有	咳嗽、气促及发热(38.4℃)	肺栓塞、肝损害、低蛋白血症	1.重症肺炎2.脓毒症休克3.间质性肺炎4.呼吸衰竭
患者10	男	62	无	咳嗽、咳痰发热(38.7℃)	冠心病	1.肺部感染

表2 本组患者实验室检查结果

病例	PCT(ng/mL)	CRP(mg/l)	ESR(mm/h)	WBC(109/L)
患者1	3.990	106.000	42.000	12.290
患者2	1.150	169.600	40.000	27.670
患者3	1.740	97.600	48.000	15.990
患者4	0.060	13.300	39.000	9.710
患者5	>200	>200	89.000	18.170
患者6	0.050	190.000	88.000	15.100
患者7	0.100	23.200	18.000	6.290
患者8	0.990	52.000	27.000	24.440
患者9	0.310	5.130	23.000	16.310
患者10	0.110	67.250	54.000	6.880

表3 本组患者mNGS检测结果

病例	灌洗液基因测序结果	灌洗液培养结果	普通痰培养
患者1	白色念珠菌 141条	白色念珠菌, 后面培养出鲍曼	白色念珠菌
患者2	光滑念珠菌 736	光滑念珠菌	光滑念珠菌
患者3	热带念珠菌6625 异常威克汉姆酵母918	热带念珠菌	阴性, 痰涂片: 真菌孢子及假菌丝
患者4	白色念珠菌58 结核分枝杆菌复合群65	未做	未做EBUS活检肉芽组织增生伴坏死
患者5	假单胞菌131 嗜肺军团菌196 白色念珠菌503	白色念珠菌、假单胞菌	白色念珠菌
患者6	巨球菌64, 白色念珠菌14	未做	未做
患者7	嗜麦芽窄食单胞菌1568, 屎肠球菌12 近平滑念珠菌140	阴性	肺炎克雷伯 嗜麦芽窄食单胞菌
患者8	解纤维素木聚糖单胞菌55 屎肠球菌32 白色念珠菌87	酵母样真菌	阴性
患者9	近平滑念珠菌456	嗜麦芽窄食单胞菌	嗜麦芽窄食单胞菌
患者10	念珠菌属14, 白色念珠菌12; 曲霉属8, 烟曲霉4; 肺孢子菌属2, 耶氏肺孢子菌2	念珠菌生长	阴性

表4 本组患者用药方案与结局

病例	药物治疗	结局
患者1	卡铂芬净50qd, 氟康唑300mgqd, 美罗培南, 替加环素	好转出院
患者2	利奈唑胺、美罗培南、替加环素	自动出院
患者3	替加环素、多黏菌素、伏立康唑	好转出院
患者4	左氧氟沙星、抗结核治疗、哌拉西林他唑巴坦	好转出院
患者5	氟康唑, 利奈唑胺、美罗培南、万古霉素、亚胺培南西司他丁、多西环素	好转出院
患者6	左氧氟沙星、氟康唑	好转出院
患者7	哌拉西林他唑巴坦, 替加环素、莫西沙星、美罗培南 利奈唑胺 伏立康唑 更昔洛韦	好转出院
患者8	左氧氟沙星、头孢哌酮钠舒巴坦钠、美罗培南、莫西沙星、利奈唑胺、氟康唑	好转出院
患者9	亚胺培南、哌拉西林他唑巴坦、更昔洛韦、利奈唑胺、磺胺、左氧氟沙星、氟康唑	好转出院
患者10	头孢哌酮钠舒巴坦钠、磺胺、左氧氟沙星	好转出院

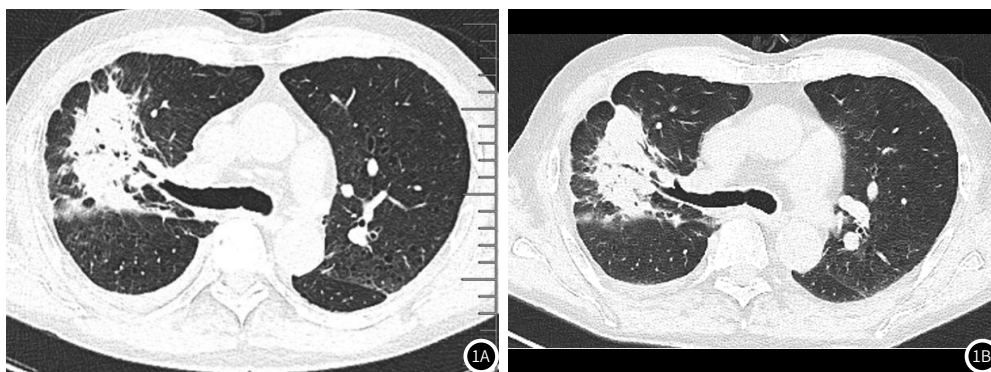


图1 病例2诊疗过程中CT影像学表现。图1A: 入院时的检查结果, 图1B: 给予利奈唑胺、美罗培南、替加环素治疗7d后的检查结果。

### 3 讨论

老年重症患者常见肺真菌感染, 出现发热、咳嗽、咳痰等症状。受广谱抗生素广泛应用以及侵入性操作普遍开展等因素的影响, 肺部真菌感染病例呈现持续增长的态势<sup>[9-11]</sup>。而老年人群的免疫力相对低下, 合并多种基础疾病、组织器官退行性病变等因素的叠加作用, 可显著增加治疗风险。相关报道<sup>[12-14]</sup>

指出, 肺部真菌感染患者多见白色念珠菌, 使用广谱抗生素以及长期给予激素治疗等可能是患者肺部感染的危险因素。对患者的病原菌类型进行准确诊断, 针对性选取抗菌药物, 是重症肺真菌感染规范治疗的关键。在诊断实践中, 肺念珠菌感染者时常缺乏特异性表现, 单纯依靠传统血培养掌握的信息进行病情诊断, 可能出现误诊, 并对后续用药治疗产生负面影响。

针对肺部真菌感染的诊断,王红泉等<sup>[15]</sup>分析了CT检查、X线扫描、支气管肺泡灌洗液检测三种方法联合应用的价值,结果提示其诊断价值较高;张颖等<sup>[16-17]</sup>报道了肺泡灌洗液G和GM试验对患者早期诊断的意义,但此类诊断方法对病原菌种类鉴别的参考价值并不显著。围绕真菌种类鉴别进行研究,探索有益于患者病原菌分布情况的检测方法,将其纳入现有诊疗体系中,对肺念珠菌感染医疗水平的提升有突出作用。

mNGS检测是一种适用范围较广的病原菌检测方法,可在缺乏足够证据的情况下,通过比对样本基因测序结果与专用数据库,判断病原菌的类型<sup>[18]</sup>。除常见病原体类型,mNGS还可用于不典型病原菌的检测,如军团菌<sup>[19-20]</sup>。本研究通过回顾性分析方法探讨mNGS技术在重症肺念珠菌感染诊疗中的应用价值,纳入研究的病例均经肺泡灌洗液标本与痰标本mNGS检测,检测结果呈阳性。从基本信息的梳理结果看,本组患者的年龄较大,主要临床表现为发热、咳嗽、咳痰,普遍存在多种基础疾病。实验室检查结果可提示患者的炎症反应,本组病例中,多数患者的CRP、ESR、WBC水平明显升高,50%的患者PCT检测结果显示高出正常值,另有1例患者的PCT超过200ng/mL,CRP超过200mg/l。据此分析,PCT、CRP、ESR、WBC等指标检测结果异常可能与患者体内存在肺真菌感染情况有关,但此变化并非是肺念珠菌感染的特异性表现,患者存在的其他疾病也可导致指标升高,故仍需结合其他检查项目进行综合诊断。总结mNGS检测结果,本组患者主要为白色念珠菌,且相较于痰标本,灌洗液测出的序列数偏多,对肺部真菌感染的检测具有较高的准确度,可排除口腔定植菌对检测结果的干扰。白色念珠菌属于条件致病菌,对唑类、棘白菌素类等多种抗真菌类药物敏感,本组患者主要给予美罗培南、氟康唑等药物,均取得了良好疗效。除白色念珠菌,本组患者还检测出了其他多种念珠菌类型,经药敏分析后,根据患者的检测结果制定了用药方案。例如,患者3检测出热带念珠菌、异常威克汉姆酵母菌,结合药敏分析结论,考虑采用替加环素+多黏菌素+伏立康唑治疗。从本组病例的治疗经验看,将mNGS检测结果纳入诊疗方案,不仅可以提高重症肺真菌感染的诊断率,明确病原菌分布情况,还可为抗菌治疗方案的设计或调整提供重要参考,避免不合理应用广谱抗生素,减少耐药菌株的出现。

## 参考文献

- [1] 陈同洋,秦鹏钧,孙慧,等. Necrostatin-1抑制白色念珠菌诱导的巨噬细胞自噬而影响免疫应答[J]. 菌物学报, 2016, 35(6): 714-721.
- [2] 解卫平,殷凯生. 肺念珠菌感染的诊断和治疗[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(5): 293-294.

- [3] 郭凤梅,杨毅,邱海波. 中国重症患者侵袭性念珠菌感染的流行病学特征[J]. 中华内科杂志, 2014, 53(6): 491-492.
- [4] Schlaberg R, Chiu C Y, Miller S, et al. Validation of metagenomic next-generation sequencing tests for universal pathogen detection[J]. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2017, 141(6): 776-786.
- [5] 刁振丽,张瑞,李金明. 我国宏基因组高通量测序检测血液微生物游离DNA的方法及质量保证情况分析[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(15): 1114-1118.
- [6] 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.
- [7] 顾嘉程,吴洪,陈星兆,等. 宏基因组二代测序在诊断颅脑创伤相关中枢神经系统感染中的价值[J]. 中华神经外科杂志, 2020, 36(10): 993-997.
- [8] 于洋,张少坤,陆世涛,等. 宏基因组二代测序技术在假体周围感染病原菌诊断中的应用[J]. 中华骨科杂志, 2021, 41(5): 280-288.
- [9] Kim JY. Human fungal pathogens: Why should we learn? [J]. Journal of Microbiology, 2016, 54(3): 145-148.
- [10] Gonalves S S, Souza A, Chowdhary A, et al. Epidemiology and molecular mechanisms of antifungal resistance in *Candida* and *Aspergillus* [J]. Mycoses, 2016, 59(4): 198-219.
- [11] Siemieniuk M, Czyzewska U, Strumilo S, et al. Thiamine antivitamins—an opportunity of therapy of fungal infections caused by *Malassezia pachydermatis* and *Candida albicans* [J]. Mycoses, 2016, 59(2): 108-116.
- [12] 谢斌. 老年肺部真菌感染210例临床分析[J]. 贵州医药, 2014, 39(7): 610-612.
- [13] 王粉利,付伟,白粉娥,等. 高龄老年人肺部真菌感染的临床分析[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(14): 1741-1743.
- [14] 单明珠,颜鸣菊,朱作斌,等. 2007-2019年肺部真菌感染危险因素与病原菌分布的荟萃分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(2): 174-179.
- [15] 王红泉,妥建军. CT与X线摄影联合BALF检测肺部真菌感染临床价值[J]. 医学影像学杂志, 2020, 30(5): 878-881.
- [16] 张颖,牛小群. 肺泡灌洗液G和GM试验对早期诊断AECOPD患者并发侵袭性肺真菌感染的诊断价值[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(12): 55-59.
- [17] 周安文,袁红霞. 真菌D-葡聚糖检测对COPD患者侵袭性肺部真菌感染的诊断及疗效评估价值[J]. 河北医学, 2020, 26(7): 1111-1115.
- [18] Langelier C, Kalantar K L, Moazed F, et al. Integrating host response and unbiased microbe detection for lower respiratory tract infection diagnosis in critically ill adults [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(52): e12353-12362.
- [19] Huang Y, Ma Y, Miao Q, et al. Arthritis caused by legionella micdadei and staphylococcus aureus: metagenomic next-generation sequencing provides a rapid and accurate access to diagnosis and surveillance [J]. Annals of Translational Medicine, 2019, 7(20): 589.
- [20] Zhang Y, Ai JW, Cui P, et al. A cluster of cases of pneumocystis pneumonia identified by shotgun metagenomics approach. [J]. The Journal of infection, 2019, 78(2): 158-169.

(收稿日期: 2022-09-20)

(校对编辑: 姚丽娜)