



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2025.03.007

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2025.03.007>

· 论著 ·

# 病原二代测序在免疫抑制宿主肺炎患者肺泡灌洗液病原学诊断中的研究

马佳琪 贾林杰 柏佳 余慕清 赵建平 徐永健 周敏

**【摘要】 目的** 探讨不同类型二代测序(NGS)技术在免疫抑制宿主肺炎(ICHP)患者肺泡灌洗液病原学诊断中的价值。**方法** 将 58 例 ICHP 患者分为重度 ICHP 组(34 例)和轻度 ICHP 组(24 例)。比较两组患者的临床资料、常规病原和 NGS 病原学检测结果及预后情况。**结果** 临床特征方面,重度 ICHP 组实体器官恶性肿瘤患者比例及超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平均显著高于轻度 ICHP 组,风湿免疫相关疾病患者比例及淋巴细胞计数均低于轻度 ICHP 组( $P < 0.010$ )。病原学方面,所有患者检出病原体均以混合感染为主(82.8%)。重症肺炎患者感染病原体主要为铜绿假单胞菌(30.4%)、流感嗜血杆菌(17.4%)及耶氏肺孢子菌(21.7%)。靶向 NGS(tNGS)及宏基因组 NGS(mNGS)检测阳性率均显著高于临床常规病原体检测(CMTs,  $P < 0.05$ )。tNGS 对铜绿假单胞菌、EB 病毒、巨细胞病毒的检出率均显著高于 mNGS( $P < 0.05$ )。**结论** 病原学 NGS 技术是 ICHP 患者临床常规病原学诊断的重要补充手段,tNGS 在 ICHP 患者的支气管肺泡灌洗液病原学检测中的诊断效能与 mNGS 相当。

**【关键词】** 社区获得性肺炎; 免疫抑制宿主肺炎; 靶向二代测序; 宏基因组二代测序; 支气管肺泡灌洗液

[中图分类号] R563.1

[文献标识码] A

## Study of pathogenic next generation sequencing in the etiological diagnosis of alveolar lavage fluid in patients with immunosuppressive host pneumonia

Ma Jiaqi\*, Jia Linjie, Bai Jia, Yu Muqing, Zhao Jianping, Xu Yongjian, Zhou Min. \* Department of Respiratory Diseases and Critical Care Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the value of different types of next generation sequencing (NGS) techniques in the etiological diagnosis of alveolar lavage fluid in patients with immunosuppressed host pneumonia (ICHP). **Methods** A total of 58 patients with ICHP were divided into severe ICHP group (34 cases) and mild ICHP group (24 cases). The clinical data, conventional pathogens, NGS etiological results and prognosis of the two groups were compared. **Results** In terms of clinical features, the proportion of patients with malignant tumors in solid organs and the level of hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP) in severe ICHP group were significantly higher than those in mild ICHP group, and the proportion of patients with rheumatism and immune-related diseases and lymphocyte count were lower than those in mild ICHP group ( $P < 0.010$ ). In terms of etiology, mixed infection was the main pathogen detected in all patients (82.8%). The main pathogens of severe pneumonia were pseudomonas aeruginosa (30.4%), haemophilus influenzae (17.4%) and pneumocystis yersoni (21.7%). The positive rates of targeted NGS (tNGS) and metagenomics NGS (mNGS) were significantly higher than those of conventional microbiological tests (CMTs,  $P < 0.05$ ). The detection rate of tNGS against Pseudomonas aeruginosa, EB virus and cytomegalovirus was significantly higher than that of mNGS ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Etiological NGS technique is an important supplement to the routine etiological diagnosis of ICHP patients. The efficacy of tNGS in the etiological diagnosis of bronchoalveolar lavage fluid in ICHP patients is comparable to that of mNGS.

**【Key words】** Community-acquired pneumonia; Immunocompromised host pneumonia; Targeted next-generation sequencing; Metagenomic next-generation sequencing; Bronchoalveolar lavage fluid

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81700032)

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院呼吸与危重症医学科(马佳琪、贾林杰、余慕清、赵建平、徐永健、周敏);重庆市渝中区大坪医院心血管内科(柏佳)

通讯作者:周敏, E-mail: minzhou@tjh.tjmu.edu.cn

随着医学技术的进步,肿瘤或免疫调节相关细胞毒性等药物的应用日益广泛。患者生存期延长的同时,免疫功能低下宿主(ICH)的人群比例也在不断增加<sup>[1]</sup>。ICH 患者对病原微生物极度易感,肺脏作为最常见的感染靶器官,一旦发生感染,均有快速进展为重症肺炎的潜在风险。因而需要临床医师积极评估患者的高危因素、临床特征,尤其是快速寻找病原,以便更迅速作出正确的临床决策,控制患者病情进展,降低医疗负担<sup>[2]</sup>。然而,由于患者免疫损害的异质性,免疫抑制宿主肺炎(ICH)的临床表现各异,使得病原学诊断困难。目前多数针对社区获得性肺炎的相关性指南均未纳入 ICH 相关内容<sup>[3-5]</sup>。另一方面,ICH 存在混杂大量机会性病原体的复杂情况,使得 ICH 的临床策略更为困难,临床医师亟待更精准的病原学诊断手段。多年来,宏基因组二代测序(mNGS)被广泛应用于多种感染性疾病的病原学诊断<sup>[6-7]</sup>,这是一种理论上可检测临床样本中所有病原体的技术<sup>[8]</sup>。然而由于 mNGS 检测成本昂贵,且受人类基因数据的干扰,导致其应用受到限制。近 5 年来,靶向二代测序(tNGS)采用针对预选病原体的精确引物,被用于鉴定体液中的病原体<sup>[9-10]</sup>。不同于 mNGS, tNGS 技术成本较低、特异性强、所需样本量少,不仅可提供病原体耐药基因的信息,还能减少其对人类 DNA 的影响<sup>[11]</sup>。对于 ICH 这一特殊人群感染的肺炎,两种病原学 NGS 技术哪种更有优势,如何进行选择? 针对上述的临床问题,目前国内相关研究尚不完善。本研究通过研究两种病原学 NGS 技术在 ICH 肺泡灌洗液病原学诊断中的价值,为临床决策提供依据。

## 对象与方法

1. 对象:纳入 2023 年 6 月~2024 年 8 月于华中科技大学同济医学院附属同济医院呼吸与危重症医学科住院并治疗的 ICH 患者 58 例。ICH 的诊断标准参考 2013 年美国感染病学会(IDSA)制定的标准<sup>[12]</sup>。纳入标准:(1)发生于 ICH 人群的社区获得性肺炎;(2)患者同意支气管镜检查及收集支气管肺泡灌洗液(BALF),并行 tNGS、mNGS 及临床常规病原体检测(CMTs);(3)支气管镜检查 BALF 样品测试过程均符合 tNGS 及 mNGS 的标准;(4)临床数据完整;(5)原始 tNGS 及 mNGS 序列数据完整。本研究通过华中科技大学同济医学院附属同济医院伦理委员会审批(TJ-IRB202402037),所有患者均知情同意。

## 2. 方法

(1)临床资料收集:一般资料包括性别、年龄、吸烟史、合并症(糖尿病、高血压病、实体器官恶性肿瘤、

风湿免疫相关疾病)、治疗方式、糖皮质激素使用情况、免疫抑制剂及生物制剂使用情况;实验室检查结果包括血常规、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、红细胞沉降率(ESR)、动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)、动脉二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>)。收集胸部高分辨率 CT(HRCT)结果。根据 2013 年 IDSA 对 ICH 疫苗接种的指南<sup>[12]</sup>,将所有患者分为重度 ICHP 组(34 例)和轻度 ICHP 组(24 例)。重症肺炎诊断标准参考文献[3]中的相关标准。

(2)tNGS、mNGS 及 CMTs 检测:所有患者均行支气管镜肺泡灌洗,取得的灌洗液同时送检 tNGS、mNGS 及 CMTs。CMTs 包括痰细菌、真菌及结核菌培养、血培养、BALF 细菌、真菌及结核菌培养、血结核 T 细胞斑点试验、呼吸道病毒咽拭核酸、新型冠状病毒咽拭核酸、巨细胞病毒抗体、BALF 半巢式全自动实时荧光定量 PCR 检测(XPERT MTB/RIF)、BALF 曲霉菌半乳甘露聚糖检测(GM)等<sup>[13]</sup>。mNGS 检测:根据标准临床程序采集 1.5~3.0 ml BALF 样本,对临床样品进行细胞壁破碎处理。提取 DNA,通过 DNA 片段化(约 150 bp)、末端修复、接头连接和 PCR 扩增构建 DNA 文库。使用 AGILENT 2100(Agilent, Santa Clara, CA, USA)对 DNA 文库(200~300 bp)进行质量控制。然后通过 MGISEQ-200 基因测序仪(深圳华大智造科技股份有限公司)对质量合格的文库进行测序。tNGS 检测:检测样本送至武汉凯德维斯医学检验实验室检测,按照试剂盒说明书提取核酸,然后构建文库(合成 cDNA、目标区域富集、文库扩增、文库纯化和质控),并用 QUBIT 测定文库水平,最后使用测序反应通用试剂盒进行高通量测序。由至少两名高级职称临床医师根据患者的病史、临床特征、CMTs 及 NGS 检测结果、影像学表现和其他相关因素,作出最终临床诊断。在解释不一的情况下,应与资深医师协商以达成共识<sup>[14]</sup>。

(3)治疗与预后:记录患者检测后抗感染治疗方案,随访患者预后情况。将患者预后分为完全缓解(症状、体征消失,实验室及影像学检查无异常)、部分缓解(症状、体征、实验室或影像学检查好转,但至少 1 项未完全恢复正常)、恶化(影像学检查结果出现新发病灶)及复发(完全或部分缓解后,原发病灶再度出现、增大或发现新病灶)<sup>[15]</sup>。

3. 统计学处理:应用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验;非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,组间比较采用 Mann-Whitney 检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

结 果

1. 所有患者临床特征分析:58 例 ICHP 患者中男 29 例(50.0%)、女 29 例(50.0%),年龄 33~83 岁,中位年龄 60.0(54.8,67.3)岁;轻度 ICHP 24 例(41.4%),重度 ICHP 34 例(58.6%);合并糖尿病 14 例(24.1%),高血压病 21 例(36.2%),实体器官恶性肿瘤 17 例(29.3%),风湿免疫相关疾病 35 例(60.3%),其他 6 例(10.3%)。17 例恶性肿瘤患者中接受化疗和(或)放疗 10 例(58.8%),靶向药物治疗 5 例(29.4%),免疫治疗 2 例(11.8%)。35 例风湿免疫相关疾病患者中接受抗风湿药物或其他免疫抑制剂 11 例(31.4%),长期接受全身糖皮质激素治疗 24 例(68.6%)。

2. 两组患者一般临床资料、实验室检查及影像学检查结果比较:重度 ICHP 组实体器官恶性肿瘤患者比例及 hs-CRP 水平均显著高于轻度 ICHP 组,风湿免疫相关疾病患者比例及淋巴细胞计数均低于轻度 ICHP 组( $P<0.010$ )。两组患者其他资料比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

3. 所有患者病原体分布情况:细菌方面,共检出 24 种细菌 64 株,患者中检出率最高的是铜绿假单胞菌(12 例,20.7%),其次依次为肺炎链球菌(11 例,19.0%)、流感嗜血杆菌(10 例,17.2%)、金黄色葡萄球菌(4 例,6.9%)、惠普尔养障体(4 例,6.9%)、大肠杆菌(2 例,3.4%)、肺炎克雷伯杆菌(2 例,3.4%)及鲍曼不动杆菌(2 例,3.4%)等。真菌方面,共检出 10 种 32 株真菌,患者中检出率由高到低分别是耶氏肺孢子菌

(11 例,19.0%)、白色念珠菌(8 例,13.8%)和烟曲霉(8 例,13.8%)等。此外由 mNGS 及 CMTs 各检出新生隐球菌 1 例(1.7%)。病毒方面共检出 17 种病毒 95 株, DNA 病毒主要包括 EB 病毒(22 例,37.9%)、巨细胞病毒(17 例,29.3%)、细环病毒(13 例,22.4%)和人类  $\beta$  疱疹病毒 7 型(13 例,22.4%)等;RNA 病毒主要包括鼻病毒(6 例,10.3%)和新型冠状病毒(6 例,10.3%)等。非典型病原体部分,共检出鹦鹉热衣原体 1 例(1.7%)和肺炎支原体 4 例(6.9%)。两组检出常见病原体比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),检出率最高的病原体均为 EB 病毒,见表 2。所有患者中混合感染占绝大多数(48 例,82.8%),以病毒-细菌(16 例,27.6%)和病毒-细菌-真菌(14 例,24.1%)最常见。

4. 重症肺炎患者病原体分布情况:58 例患者中符合重症肺炎诊断标准 23 例(39.7%)。tNGS 在重症肺炎患者中检出率较高的病原体分别为铜绿假单胞菌(7 例,30.4%)、流感嗜血杆菌(4 例,17.4%)、耶氏肺孢子菌(5 例,21.7%)、白色念珠菌(3 例,13.0%)、EB 病毒(8 例,34.8%)和巨细胞病毒(7 例,30.4%)。mNGS 在重症肺炎患者中检出率较高的病原体分别为肺炎链球菌(4 例,17.4%)、流感嗜血杆菌(2 例,8.7%)、耶氏肺孢子菌(4 例,17.4%)、烟曲霉(3 例,13.0%)、细环病毒(8 例,34.8%)和巨细胞病毒(5 例,21.7%)。

5. tNGS 与 mNGS 检测结果比较:58 例患者中 tNGS 与 mNGS 检测结果同为阳性者 42 例(72.4%),完全一致率为 7.1%,部分一致率为 78.6%。tNGS 与 mNGS 的病原体检测阳性率及细菌、真菌、病毒检出率均显著

表 1 两组患者一般临床资料、实验室检查及影像学检查结果比较[例,(%)]

组别	例数	男性	年龄 [岁, $M(P_{25},P_{75})$ ]	吸烟史	糖尿病	高血压病	实体器官 恶性肿瘤	风湿免疫 相关疾病	其他	WBC 计数 [ $\times 10^9/L, M(P_{25},P_{75})$ ]
轻度 ICHP 组	24	9(37.5)	67.0(57.0,73.0)	9(37.5)	4(16.7)	7(29.2)	0(0)	24(100.0)	0(0)	6.8(4.8,7.8)
重度 ICHP 组	34	20(58.8)	61.0(52.5,67.5)	7(20.6)	10(29.4)	14(41.2)	17(50.0)	11(32.4)	6(17.6)	5.6(4.5,7.1)
$\chi^2/U$ 值		2.559	-1.312	2.014	1.248	0.879	16.976	26.904	3.013	-1.089
$P$ 值		0.110	0.190	0.156	0.264	0.349	<0.010	<0.010	0.083	0.276

组别	例数	中性粒细胞计数 [ $\times 10^9/L, M(P_{25},P_{75})$ ]	淋巴细胞计数 ( $\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$ )	hs-CRP[ $mg/L, M(P_{25},P_{75})$ ]	ESR[ $mm/h, M(P_{25},P_{75})$ ]	PaO <sub>2</sub> [ $mmHg, M(P_{25},P_{75})$ ]	PaCO <sub>2</sub> [ $mmHg, M(P_{25},P_{75})$ ]	HRCT 双肺感染
轻度 ICHP 组	24	4.0(2.5,5.3)	1.50 $\pm$ 0.66	2.1(0.6,4.0)	12.0(7.0,30.0)	76.9(70.5,85.4)	41.6(36.7,45.3)	12(50.0)
重度 ICHP 组	34	4.1(3.0,4.8)	1.00 $\pm$ 0.50	11.0(3.1,47.6)	27.0(12.0,39.0)	73.6(67.9,80.7)	43.0(39.9,46.5)	20(58.8)
$\chi^2/U$ 值		-0.087	3.285	-2.827	-1.089	-1.524	-1.539	0.443
$P$ 值		0.931	<0.010	<0.010	0.276	0.128	0.124	0.506

表 2 两组患者检出常见病原体比较[例,(%)]

组别	例数	流感嗜血杆菌	铜绿假单胞菌	肺炎链球菌	耶氏肺孢子菌	烟曲霉	EB 病毒	细环病毒	人类 $\beta$ 疱疹病毒 7 型
轻度 ICHP 组	24	5(20.8)	4(16.7)	5(20.8)	5(20.8)	5(20.8)	10(41.7)	4(16.7)	3(12.5)
重度 ICHP 组	34	5(14.7)	8(23.5)	6(17.6)	6(17.6)	3(8.8)	12(35.3)	9(26.5)	10(29.4)
$\chi^2$ 值		0.370	0.404	0.093	0.093	1.707	0.243	0.778	2.314
$P$ 值		0.543	0.525	0.760	0.760	0.191	0.622	0.378	0.128

高于 CMTs ( $P < 0.05$ )。tNGS 与 mNGS 的病原体检测阳性率、细菌、真菌及病毒检出率比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )，见表 3。mNGS [16.6 (13.0, 20.0)h] 检测病原体所需时间显著短于 CMTs [82.5 (39.0, 146.0)h,  $P < 0.01$ ]。以出院时临床诊断作为标准，mNGS 的敏感度 72.3% (95% CI 0.59 ~ 0.86)、特异度 45.5% (95% CI 0.10 ~ 0.81)、阳性预测值 (PPV) 85.0% (95% CI 0.73 ~ 0.97)、阴性预测值 (NPV) 27.8% (95% CI 0.05 ~ 0.51)，tNGS 的敏感度 89.4% (95% CI 0.80 ~ 0.99)、特异度 36.4% (95% CI 0.02 ~ 0.70)、PPV 85.7% (95% CI 0.76 ~ 0.96)、NPV 44.4% (95% CI 0.04 ~ 0.85)，两者比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。tNGS 的病毒检测阳性率显著高于 mNGS (67.2% 比 41.4%， $P < 0.05$ )。tNGS 对铜绿假单胞菌 (20.7% 比 8.6%)、EB 病毒 (31.0% 比 13.8%)、巨细胞病毒 (27.6% 比 12.1%)、鼻病毒 (10.3% 比 0%) 及新型冠状病毒 (8.6% 比 0%) 的检出率显著高于 mNGS，mNGS 对人类  $\beta$  疱疹病毒 7 型 (22.4% 比 0%) 的检出率显著高于 tNGS ( $P < 0.05$ )。

表 3 3 种检测方式的检测阳性率及细菌、真菌、病毒  
检出率比较 (%)

检测方式	阳性率	细菌检出率	真菌检出率	病毒检出率
tNGS	89.7 <sup>a</sup>	56.9 <sup>a</sup>	29.3 <sup>a</sup>	67.2 <sup>a</sup>
mNGS	77.6 <sup>a</sup>	51.7 <sup>a</sup>	29.3 <sup>a</sup>	41.4 <sup>a</sup>
CMTs	22.4	8.6	12.1	1.7

注：与 CMTs 比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$

6. 所有患者抗感染治疗预后：58 例 ICHP 患者中 37 例 (63.8%) 根据 mNGS 测序结果调整抗生素治疗方案，31 例 (53.4%) 增加了新的抗生素或升级了当前抗生素，6 例 (10.3%) 抗菌药物范围缩小或抗菌药物逐步减少，32 例 (55.2%) 临床症状在调整抗生素治疗方案后得到改善。45 例 (77.6%) 患者完成随访，其中轻度 ICHP 13 例 (28.9%)，重度 ICHP 32 例 (71.1%)；完全缓解 3 例 (6.7%)，部分缓解 36 例 (80.0%)，恶化 4 例 (8.9%)，复发 2 例 (4.4%)。

讨 论

ICHP 急需明确病原学诊断，如不能及时针对性治疗，可能病情进展迅速，甚至危及患者生命。目前多数社区获得性肺炎相关性指南均未纳入 ICHP 相关内容<sup>[3-5]</sup>，本研究针对 ICH 这一特殊群体的肺炎患者，观察了两种病原学 NGS 技术在 ICHP BALF 病原检测中获取的结果，探讨了两种技术的诊断效能及差异，旨在为临床医生处理临床相关问题提供数据参考。

既往已有较多 mNGS 在 ICH 患者中诊断效能的研

究<sup>[8,16-17]</sup>，但缺乏关于 tNGS 在该人群中的相关研究。ICH 患者由于免疫功能受损，遭受混合感染的风险显著升高<sup>[1]</sup>。本研究共发现混合感染者 48 例 (82.8%)，病原感染主要包括病毒-细菌 (27.6%) 和病毒-细菌-真菌 (24.1%) 感染。本研究还发现两种 NGS 检测技术对部分病原体的检出率有差异。细菌病原学方面，本研究中检出率最高的为铜绿假单胞菌 (20.7%)，这不同于以往研究的结果<sup>[18]</sup>，推测可能与本研究队列中因患风湿免疫相关疾病接受全身激素治疗的患者较多 (41.4%) 有关。2020 年 CHEST 杂志发表的关于免疫抑制成人社区获得性肺炎治疗初始策略的共识中提到，ICH 患者在接受全身激素治疗后，革兰氏阴性菌 (主要是铜绿假单胞菌等) 感染发生率较高<sup>[19]</sup>。2020 年张文宏教授团队开展了一项研究，旨在探讨并比较 CMTs 与 NGS 技术在 108 例接受全身激素治疗的免疫抑制患者中的病原学检测效能，发现 CMTs 的诊断准确性受到激素累积剂量的影响而下降，而 NGS 技术的检测阳性率不受其影响<sup>[17]</sup>。本研究中 tNGS 对铜绿假单胞菌的检出率高于 mNGS，两者之间其他细菌检出率比较差异无统计学意义，提示对长期接受全身激素治疗的 ICHP 患者，tNGS 技术在检测 BALF 细菌病原学方面，效能不劣于 mNGS。

真菌病原学方面，本研究中获取的阳性病原体主要为耶氏肺孢子菌 (19.0%)、白色念珠菌 (13.8%) 和烟曲霉 (12.1%) 等。耶氏肺孢子菌肺炎患者常会发生严重的呼吸困难和低氧血症，临床表现多为咳嗽，伴或不伴有发热，其影像学检查及实验室检验结果也缺乏特异性表现<sup>[20]</sup>。而临床中 CMTs 往往难确诊耶氏肺孢子菌，有研究证实 mNGS 能帮助提高临床对耶氏孢子菌肺炎的诊断率<sup>[21]</sup>，但 mNGS 的高昂费用限制了技术在临床的应用。本研究发现，队列确诊的耶氏肺孢子菌肺炎中，tNGS 的检出率高于 mNGS，但差异无统计学意义。这与 mNGS 技术中分化裂解去除的步骤破坏滋养层细胞有关<sup>[22]</sup>，对疑诊耶氏肺孢子虫的 ICHP 患者，临床医师结合特征影像，尽早行 BALF tNGS 检测，是缩小鉴别诊断的一个高性价比选择。

病毒方面，本研究结果发现 tNGS 对鼻病毒及新型冠状病毒的检出率均显著高于 mNGS，这提示固有覆盖 DNA 及 RNA 病原体的 tNGS 比 mNGS 更加便捷与便宜。Sun 等<sup>[23]</sup>研究发现在 BALF 样本检测中，相较 mNGS，tNGS 对人类疱疹病毒 (HHV) 更敏感，这与本研究结果不一致。本研究中 mNGS 对人类  $\beta$  疱疹病毒 7 型的检出率显著高于 tNGS，分析可能原因是 tNGS 对预先设定的基因靶点进行测序，遗漏部分未纳入的非靶向序列<sup>[12]</sup>。本研究中检出率最高的病原体为 EB

病毒,而 EBV 感染宿主细胞后,呈潜伏感染状态,在适宜的刺激下才致病<sup>[24]</sup>。此外,mNGS 检测出罕见病原体鹦鹉热衣原体 1 例,展现了 mNGS 在此方面的优势,提示临床医师对于罕见的感染性疾病及免疫缺陷病患者肺炎,mNGS 提高病原体检出率,更具有优势<sup>[16]</sup>。

本文还比较了 tNGS 与 mNGS 在 ICHP 患者 BALF 病原学诊断中的效能,发现两者结果相当。tNGS 与 mNGS 检测技术的敏感度、特异度、PPV、NPV 比较差异均无统计学意义,与既往研究结果一致<sup>[9,25]</sup>。Zheng 等<sup>[26]</sup>比较 tNGS 与 mNGS 在重症肺炎婴儿病原体检测效能的研究发现,两种方法的敏感度和特异度比较差异均无统计学意义。Cai 等<sup>[9]</sup>对 80 例疑似血液感染的患者进行 tNGS 和 mNGS 检测,证明 tNGS 对血液感染(BSI)病原学诊断的准确性与 mNGS 相当。本研究中 tNGS 与 mNGS 的敏感度较高,但特异度相对较低,这与 Liu 等<sup>[27]</sup>的研究结果一致,分析原因可能是因为 NGS 的检测结果显示存在假阳性。本研究还发现在获取结果的时间成本方面,mNGS 检测病原体所需时间显著短于 CMTs。

NGS 获取到的结果往往直接影响临床决策,本研究 58 例 ICHP 患者中 37 例(63.8%)根据 NGS 测序结果调整抗生素治疗方案,31 例(53.4%)患者增加了新的抗生素或升级了当前抗生素,6 例(10.3%)患者抗菌药物范围缩小或抗菌药物逐步减少,32 例(55.2%)患者的临床症状在调整抗生素治疗方案后得到改善。由此可见,NGS 检测技术对于临床 CMTs 技术起到了补充的作用,这一结论与先前研究结果一致<sup>[17]</sup>。本研究尚存在一定局限性。一方面,本研究发现尽管 tNGS 平台提供了部分病原体耐药基因的信息,但在实际应用中仍受制于其覆盖度与测序深度的影响,还不能完全契合临床需求。此外,本研究为单中心、小样本研究,存在选择偏倚,未来还需要开展进一步前瞻性、多中心的研究加以证实。而将测序技术的高通量优势与靶向测序相结合,提高其耐药性分析结果,为临床提供更加可靠且个性化的治疗指导,可能是未来 NGS 技术的研究方向,还值得进一步探索。

综上所述,NGS 技术在 ICHP 患者的病原学诊断方面具有很大的潜力,可能是临床 CMTs 检测技术的有效补充。tNGS 在 ICHP 患者的 BALF 病原学诊断效能与 mNGS 相当,临床医师可结合患者免疫特征及肺炎的临床表现综合判断进行选择。

## 参 考 文 献

[1] GuangShing C, Kristina C, Stefano A, et al. Immunocompromised Host Pneumonia: Definitions and Diagnostic Criteria: An Official American Thoracic Society Workshop Report[J]. Ann Am Thorac Soc, 2023, 20(3):341-353.

[2] Francesca MPD, Giovanni S, Andrea G, et al. Prevalence and Etiology of Community-acquired Pneumonia in Immunocompromised Patients[J]. Clin Infect Dis, 2019, 68(9):1482-1493.

[3] Chinese Thoracic Society. Guideline for the diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in adults in China(2016 edition)[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2016, 39(4):253-279.

[4] Metlay JP, Waterer GW, Long AC, et al. Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia: an official clinical practice guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 200(7):e45-e67.

[5] Woodhead M, Blasi F, Ewig S, et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections: full version[J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(suppl 6):E1-E59.

[6] 张梦月, 杨炯, 杜荣辉, 等. 宏基因组二代测序在结核性胸膜炎中的诊断价值[J]. 临床内科杂志, 2023, 40(4):275-276.

[7] 莫连芹, 黄栋, 潘飞飞, 等. 宏基因组二代测序在儿童重症监护病房重症感染性疾病病原体诊断中的应用价值[J]. 中国医药, 2024, 19(11):1697-1701.

[8] Peng JM, Du B, Qin HY, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of suspected pneumonia in immunocompromised patients[J]. J Infect, 2021, 82(4):22-27.

[9] Cai S, Yuan J, Li Y, et al. Etiological diagnostic performance of probe capture-based targeted next-generation sequencing in bloodstream infection[J]. J Thorac Dis, 2024, 16(4):2539-2549.

[10] Sibandze DB, Kay A, Dreyer V, et al. Rapid molecular diagnostics of tuberculosis resistance by targeted stool sequencing[J]. Genome Med, 2022, 14(1):52.

[11] Shiyang L, Jin T, Yi L, et al. Targeted Next Generation Sequencing is Comparable with Metagenomic Next Generation Sequencing in Adults with Pneumonia for Pathogenic Microorganism Detection[J]. J Infect, 2022, 85(5):e127-e129.

[12] Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host[J]. Clin Infect Dis, 2014, 58(3):e44-100.

[13] Gaston DC, Miller HB, Fissel JA, et al. Evaluation of Metagenomic and Targeted Next-Generation Sequencing Workflows for Detection of Respiratory Pathogens from Bronchoalveolar Lavage Fluid Specimens[J]. J Clin Microbiol, 2022, 60(7):e0052622.

[14] Zhang P, Liu B, Zhang S, et al. Clinical application of targeted next-generation sequencing in severe pneumonia: a retrospective review[J]. Critical care, 2024, 28(1):225.

[15] Nagai S, Handa T, Ito Y, et al. Outcome of Sarcoidosis[J]. Clin Chest Med, 2008, 29(3):565-574.

[16] 况红艳, 蒋亚芬, 赵志刚, 等. 宏基因组二代测序在免疫功能低下宿主肺炎诊断中的价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2024, 38(3):275-279.

[17] Sen W, Jingwen A, Peng C, et al. Diagnostic value and clinical application of next-generation sequencing for infections in immunosuppressed patients with corticosteroid therapy[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(5):227.

[18] Huang Z, Hu B, Li J, et al. Metagenomic versus targeted next-generation sequencing for detection of microorganisms in bronchoalveolar lavage fluid among renal transplantation recipients[J]. Front Immunol, 2024, 15:1443057.

[19] Ramirez AJ, Musher MD, Evans ES, et al. Treatment of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompromised Adults[J]. Chest, 2020, 158(5):1896-1911.

[20] 赵鑫鑫, 王峰, 王新, 等. 胰肾联合移植术后感染耶氏肺孢子菌肺炎一例[J]. 临床内科杂志, 2023, 40(5):336-337.

[21] 段智梅, 谢菲. 非 HIV 感染的免疫功能低下患者急性重型耶氏肺孢子菌肺炎研究进展[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2021, 16(6):704-709.

[22] Yin Y, Zhu P, Guo Y, et al. Enhancing lower respiratory tract infection diagnosis: implementation and clinical assessment of multiplex PCR-based and hybrid capture-based targeted next-generation sequencing[J]. Ebiomedicine, 2024, 107:105307.

[23] Sun W, Zheng L, Kang L, et al. Comparative analysis of metagenomic and targeted next-generation sequencing for pathogens diagnosis in bronchoalveolar lavage fluid specimens[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14:1451440.

[24] 唐艳红, 刘鹏琴, 代国知. EB 病毒致病机制研究进展[J]. 病毒学报, 2019, 35(2):331-336.

[25] Lv H, Liao S, Shi Z, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing for rapid molecular identification in spinal infection diagnosis[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14:1382635.

[26] Zheng RY, Chen HX, Chen Q, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing and metagenomic next-generation sequencing in the identification of pathogens in pneumonia after congenital heart surgery: a comparative diagnostic accuracy study[J]. Ital J Pediatr, 2024, 50(1):174.

[27] Liu Y, Wu W, Xiao Y, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing and targeted metagenomic next-generation sequencing in diagnosing pulmonary infections in immunocompetent and immunocompromised patients[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14:141439472.

(收稿日期:2024-12-04)

(本文编辑:余晓曼)