

mNGS 在脓毒症病原体检测和抗生素治疗中的应用

静亮¹, 彭希², 张友平¹, 李大勇¹, 石迎花¹, 祝伟¹

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 1. 急诊-重症医学科, 2. 神经内科, 湖北省武汉市 430000)

[关键词] 宏基因组学下一代测序; 脓毒症; 病原体; 抗生素

[摘要] **目的** 分析宏基因组学下一代测序(mNGS)在脓毒症患者病原体检测和抗生素应用中的临床价值,为疾病快速、准确诊断和改善患者临床预后提供新型诊断技术。**方法** 选择确诊脓毒症患者 52 例,入院 24 h 内完成样本(血液、尿液、痰液或者肺泡灌洗液)收集,分别采用传统技术(细菌培养和免疫学方法)和 mNGS 法进行病原体检测。**结果** mNGS 法诊断病原体的时间比传统法明显缩短,识别率提高,准确率提高($P<0.05$)。根据传统技术建议首次采用广谱抗生素,而根据 mNGS 则推荐使用针对性更强的高效抗生素。**结论** 脓毒症患者采用 mNGS 法能够缩短病原体检测时间,提高病原体识别率和准确率,可作为指导抗生素应用的依据。

[中图分类号] R631

[文献标识码] A

Application of mNGS in sepsis pathogen detection and antibiotic treatment

JING Liang¹, PENG Xi², ZHANG Youping¹, LI Dayong¹, SHI Yinghua¹, ZHU Wei¹

(1. Department of Emergency-critical Medical, 2. Department of Internal Neurology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430000, China)

[KEY WORDS] metagenomics next generation sequencing; sepsis; pathogen; antibiotics

[ABSTRACT] **Aim** To analyze the clinical value of metagenomics next generation sequencing (mNGS) in pathogen detection and antibiotic application in patients with sepsis, so as to provide a new diagnostic technology for rapid and accurate diagnosis of the disease and improving the clinical prognosis of patients. **Methods** 52 patients with sepsis diagnosed in intensive care unit were selected. Samples (blood, urine, sputum or alveolar lavage fluid) were collected within 24 hours after admission. Pathogens were detected by traditional techniques (bacterial culture and immunological methods) and mNGS respectively. **Results** The time of diagnosing pathogens in mNGS group was significantly shorter than that in traditional group, and the recognition rate and accuracy were improved ($P<0.05$). According to the traditional technology, broad-spectrum antibiotics are recommended for the first time, while more targeted and efficient antibiotics are recommended according to mNGS. **Conclusion** mNGS in patients with sepsis can further shorten the pathogen detection time, improve the pathogen recognition rate and accuracy, and serve as the basis for guiding the application of antibiotics.

脓毒症是病原体感染导致的全身炎症反应综合征,患者入院病情往往比较紧急,病程进展迅速且病死率高^[1],其临床特征是原发感染部位与病原体类型多样化,重症患者更容易出现继发感染、多器官功能障碍或者衰竭,多重耐药菌感染风险大,临床早期诊治难度较大。

宏基因组学下一代测序(metagenomics next generation sequencing, mNGS)检测病原体快速,敏感性

高^[2],本研究就 mNGS 在脓毒症患者病原体检测和抗生素应用中的临床经验进行报道。

1 资料和方法

1.1 临床资料

采用临床前瞻性横断面观察,选择 2020 年 7 月—2021 年 9 月本院光谷院区重症监护室首次确

[收稿日期] 2021-10-02

[修回日期] 2021-12-04

[基金项目] 湖北省卫生计生委科研项目(WJ2019M123)

[作者简介] 静亮,博士,主治医师,研究方向为脓毒症和脑血管病的治疗,E-mail 为 133123311@qq.com。通信作者祝伟,博士,主任医师,研究方向为脓毒症和脑血管病的治疗,E-mail 为 tjzkzw512@163.com。

脓毒症患者 52 例为研究对象,其中男 32 例,女 20 例,年龄 35~78 岁,平均(55.6±12.3)岁,入院急性生理与慢性健康评分 13~33 分,平均(20.3±6.4)分,序贯性器官功能衰竭评分 2~5 分,平均(2.9±0.5)分;原发感染灶位于肺部 27 例,胃肠道 9 例,泌尿系统 10 例,血液 3 例,其他 3 例。

纳入标准:①年龄大于 18 岁;②符合脓毒症第三次国际共识(Sepsis-3.0)诊断标准^[3]。排除标准:①入院前已经接受抗生素治疗;②合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、抗生素过敏;③采集标本不合格,影响检测结果。本研究有医学伦理编号和患者知情同意书。

1.2 传统技术和 mNGS 检测病原体

所有患者入院 24 h 内完成血液、尿液、痰液或者肺泡灌洗液等样本收集,分别采用传统技术(细菌培养和免疫学方法)和 mNGS 进行病原体检测,根据检测技术的要求对标本进行处理,mNGS 由本院实验室专业技术人员进行操作。mNGS 主要流程包括样本采集、样本处理与文库构建、基因测序、生信分析和报告解读 5 个步骤,均按照操作规范进行^[4]。根据病原体检测结果结合临床经验综合评估选择恰当的抗生素治疗,其中广谱抗生素首选亚胺培南和利奈唑胺,治疗 3~7 天效果不理想者应根据细菌培养实验和药敏结果选择更高效的抗生素。针对性更强的高效抗生素首选Ⅲ代头孢菌素、β内酰胺类和氨基糖苷类,根据病原菌种类和药敏实验进行选择。

1.3 观察指标

比较不同检测方法诊断病原体的时间、识别率、准确率、病原体类型和抗生素选择类型。以多次复检细菌培养结果为诊断病原体的标准判断传统技术与 mNGS 病原体的识别率和准确率。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件处理数据,计量资料组间比较采用独立样本 *t* 检验,计数资料用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 诊断病原体时间的比较

mNGS 法诊断病原体的时间为(50.5±5.6) h,传统法诊断病原体的时间为(88.9±10.2) h,mNGS 组比传统组明显缩短($P<0.05$)。

2.2 病原体识别率和准确率的比较

病原体识别率和准确率 mNGS 法高于传统法($P<0.05$;表 1)。

表 1 两种病原体检测方法识别率和准确率的比较

单位:例(%)

检测方法	<i>n</i>	识别率	准确率
传统法	52	18(34.6)	14(26.9)
mNGS 法	52	32(61.5) ^a	26(50.0) ^a

注:a 为 $P<0.05$,与传统法比较。

2.3 病原体类型的比较

两种方法检测病原体类型差异无统计学意义($P>0.05$;表 2)。

2.4 抗生素应用的比较

根据传统法建议首次采用广谱抗生素,临床应用以亚胺培南和利奈唑胺居多;而根据 mNGS 法则推荐使用针对性更强的高效抗生素,临床应用以Ⅲ代头孢菌素、β内酰胺类和氨基糖苷类居多。mNGS 法与传统法抗生素应用差异有显著性($P<0.05$;表 3)。

表 2 两种方法检测病原体类型的比较

单位:例(%)

检测方法	识别病原体例数	G ⁺ 菌	G ⁻ 菌	真菌	病毒	寄生虫
传统法	18	5(27.8)	10(55.6)	2(11.1)	0	1(5.5)
mNGS 法	32	10(31.3)	17(53.1)	3(9.4)	1(3.1)	1(3.1)

表 3 两种检测方法对抗生素应用的比较

单位:例(%)

检测方法	<i>n</i>	广谱抗生素			窄谱抗生素	
		亚胺培南	利奈唑胺	Ⅲ代头孢菌素	β内酰胺类	氨基糖苷类
传统法	52	21(40.4)	19(36.5)	6(11.5)	4(7.7)	2(3.9)
mNGS 法	52	11(21.2) ^a	9(17.3) ^a	12(23.2)	11(21.2)	9(17.3) ^a

注:a 为 $P<0.05$,与传统法比较。

3 讨论

脓毒症早期快速、准确识别确定病原体类型,并选择高效、针对性的抗生素进行治疗是目前临床面对的主要难题。针对脓毒症患者,本研究比较了 mNGS 与传统技术在病原体检测和抗生素应用的区别,结果发现 mNGS 法诊断病原体的时间比传统法明显缩短,识别率提高,准确率提高。mNGS 的优点是无需培养,无需预设,无偏好性,靶标范围广泛,直接提取临床样本中的 DNA 或者 RNA 进行高通量测序,经过专用病原数据库比对与生信分析,一次性完成细菌、真菌、病毒和寄生虫等病原体的检测;阳性率高,受抗生素影响相对低,检测周期适中(平均 48 h);可用于新发或罕见病原体检测与药物敏感性预测^[5-7]。同样也有一定不足,如需要专业人士参与;难辨别死菌与活菌,难区分定植与感染,报告解读具有挑战性^[8-9]。因此,mNGS 在临床中普及还需要一定时间。

mNGS 联合传统检测能够提高血流感染的病原体检出率^[10]。mNGS 可提高细菌/真菌/病毒的整体阳性率,mNGS 与血培养和其他方法联合可以显著提高病原体检出率,超过 85% 在收样第二天得到结果^[11]。mNGS 可辅助感染早期诊断,提高 28 天与 90 天的生存率^[12]。目前,多部指南和共识均推荐,mNGS 作为多系统感染、急危重症、以及疑难病的病原学诊断优选方法^[13-14]。主要适用范围包括中枢神经系统感染、血液感染、局灶性感染和呼吸道感染。对细菌、真菌等不明病原体感染进行诊断时,mNGS 可进行 DNA 二代测序和 RNA 检测。

本研究 mNGS 对指导选择更高效的抗生素,降低耐药菌的产生具有重要意义。mNGS 报告结果解读原则^[15]:剔除假阳性病原体信息,将样本中含有病原体核酸信息真实呈现给临床;报告病原体信息准确到种信息,同时应包含相应的属信息;将高度致病可能性、呼吸道、皮肤、肠道等常见及低致病性病原体单独呈现;对出现的所有病原体引用权威文献注释。

综上所述,脓毒症患者采用 mNGS 法能够进一步缩短病原体检测时间,提高病原体识别率和准确

率,对选择更恰当的抗生素治疗具有十分重要的临床意义。

[参考文献]

- [1] 贺小丽,李德渊,乔莉娜,等. 脓毒症流行病学及预后的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(5): 486-489.
- [2] CHIU C Y, MILLER S A. Clinical metagenomics[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 341-355.
- [3] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810.
- [4] 黄勋,吴安华. 脓毒症诊断标准变迁及热点问题探讨[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(6): 461-464.
- [5] MILLER S, NACCACHE S N, ERIK S, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. Genome Res, 2019, 29(5): 831-842.
- [6] WILSON M R, SAMPLE H A, ZORN K C, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis[J]. N Engl J Med, 2019, 380(24): 2327-2340.
- [7] 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.
- [8] SIMNER P J, MILLER S, CARROLL K C. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(5): 778-788.
- [9] BROWN J R, BHARUCHA T, BREUER J. Encephalitis diagnosis using metagenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases[J]. J Infect, 2018, 76(3): 225-240.
- [10] BECK E S, REICH D S. Brain atrophy in multiple sclerosis: How deep must we go? [J]. Ann Neurol, 2018, 83(2): 208-209.
- [11] LONG Y, ZHANG Y X, GONG Y P, et al. Diagnosis of sepsis with cell-free DNA by next-generation sequencing technology in ICU patients[J]. Arch Med Res, 2016, 47(5): 365-371.
- [12] BLAUWKAMP T, THAIR S, ROSEN M J, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease[J]. Nat Microbiol, 2019, 4(4): 663-674.
- [13] 彭田英,黄华勇,邹文洁,等. 脓毒症患者预后的分类决策树分析[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(5): 544-547.
- [14] 中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(12): 1181-1195.
- [15] 冯玲,熊佳丽,高燕,等. 宏基因组二代测序在肺部感染中的应用及优化[J]. 医学综述, 2021, 27(5): 912-916+923.

(此文编辑 李小玲)