

宏基因组二代测序在鲍曼不动杆菌肺炎混合感染者诊疗中的应用

孙国先¹ 蔡萍¹ 刘微丽² 孟丽君² 侯红玲³

【摘要】目的 探讨宏基因组二代测序(mNGS)技术对重症监护病房鲍曼不动杆菌肺炎混合感染者诊疗的应用价值。**方法** 回顾性收集扬州大学附属医院2019年1月至2021年5月同时行肺泡灌洗液mNGS技术和传统病原检测的84例肺炎患者的基本资料、细菌培养以及mNGS检测结果、抗菌药物应用等。根据鲍曼不动杆菌感染的诊断标准和mNGS检测结果,将入组患者分为定植菌组(25例)、单一感染组(29例)和混合感染组(30例)。炎性指标、辛普森菌群多样性指数(SDI)、抗菌药物使用时间、使用强度、费用和总药费为正态分布的计量资料,采用 t 检验或ANOVA检验分析;患者年龄分布、基础疾病、发热时间分布、不同临床疗效和治疗转归占比均采用[例(%)]表示,组间比较采用卡方检验。**结果** 入组的84例患者传统病原和mNGS检测鲍曼不动杆菌均为阳性,其中25例鲍曼不动杆菌定植和59例鲍曼不动杆菌肺炎患者;男性44例、女性40例,年龄[65.4(62, 68)]岁。mNGS检测中,30例[50.85%(30/59)]检出混合感染;传统病原检测中,3例[5.08%(3/59)]检出混合感染,显著低于mNGS检测,差异有统计学意义($\chi^2 = 30.667$ 、 $P < 0.001$)。mNGS检出混合感染居前3位的病原体分别为人疱疹病毒(7例)、肺炎链球菌(5例)和耶氏肺孢子虫(5例)。定植菌组、单一感染组和混合感染组患者SDI分别为(0.77 ± 0.11)、(0.38 ± 0.16)和(0.34 ± 0.17),差异具有统计学意义($F = 65.411$ 、 $P < 0.001$)。单一感染组与混合感染组患者白细胞计数($t = 2.211$ 、 $P = 0.031$)、中性粒细胞比率($t = 2.068$ 、 $P = 0.043$)、C-反应蛋白($t = 2.024$ 、 $P = 0.048$)、抗菌药物费用($t = 2.279$ 、 $P = 0.026$)、抗菌药物使用强度($t = 2.161$ 、 $P = 0.035$)、住院天数($t = 2.664$ 、 $P = 0.010$)、总药费($t = 2.397$ 、 $P = 0.020$)和体温降至正常时间($t = -2.178$ 、 $P = 0.034$)差异均有统计学意义。单一感染组患者治疗显效率高于混合感染组(82.76% vs. 56.67%, $\chi^2 = 4.735$ 、 $P = 0.047$)。**结论** 肺泡灌洗液mNGS技术在检测鲍曼不动杆菌肺炎混合感染方面优势明显,能够辅助临床优选抗菌药物,促进患者康复。

【关键词】 宏基因组二代测序; 肺炎; 支气管肺泡灌洗液; 鲍曼不动杆菌; 混合感染

Application value of metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis and treatment of patients with *Acinetobacter baumannii* pneumonia mixed infection Sun Guoxian¹, Cai Ping¹, Liu Weili², Meng Lijun², Hou Hongling³. ¹Department of Clinical Pharmacy, ²Department of Critical Care Unit, ³Department of Neurology, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225001, China
Corresponding author: Hou Hongling, Email: 651954094@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the application value of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) technology for the diagnosis and treatment of patients with *Acinetobacter baumannii* (Ab) pneumonia mixed infection in intensive care units (ICU). **Methods** The basic data, bacterial culture, mNGS test results and antimicrobial drug application of 84 patients who underwent both alveolar lavage fluid mNGS technique and traditional pathogen detection for pneumonia at the Affiliated Hospital of Yangzhou University from January 2019 to May 2021 were collected, retrospectively. All patients were divided into colonized bacteria group (25 cases), single infection group (29 cases) and mixed infection group (30 cases) according

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2022.02.006

基金项目: 江苏省药学会-恒瑞药学服务专项科研资助项目(No. H202129); 江苏省药学会-天晴医院药学科研项目(No. Q202050)

作者单位: 225001 扬州市, 扬州大学附属医院临床药学科¹、重症医学科²、神经内科³

通信作者: 侯红玲, Email: 651954094@qq.com

to the diagnostic criteria of Ab infection and mNGS test results. Data such as inflammatory indicators, the Simpson's diversity index (SDI), time and intensity of antimicrobial drugs, and total drug costs were normally distributed and were analyzed by *t*-test or ANOVA test, and distribution of age, underlying disease, fever, different clinical efficacy and proportion of treatment conversion were count data and were analyzed by χ^2 tests. **Results** Total of 84 patients were positive for traditional pathogen testing and mNGS testing, including 25 cases with Ab colonization and 59 cases with Ab pneumonia; 44 males and 40 females, aging [65.4 (62, 68)] years old. During the mNGS test, 30 cases [50.85% (30/59)] were with mixed infections; but only 3 cases [5.08% (3/59)] had mixed infections according to the traditional test, which was significantly lower than that of mNGS test ($\chi^2 = 30.667$, $P < 0.001$). The top three pathogens with mixed infections detected by mNGS were human herpes virus (7 cases), *Streptococcus pneumoniae* (5 cases) and *Pneumocystis jirovecii* (5 cases). The SDI were (0.77 ± 0.11) , (0.38 ± 0.16) and (0.34 ± 0.17) in colonized bacteria group, single infection group and mixed infection group, respectively, with significant difference ($F = 65.411$, $P < 0.001$). Compared with single infection group, white blood cell count [$(11.56 \pm 1.34) \times 10^9/L$ vs. $(10.61 \pm 1.91) \times 10^9/L$; $t = 2.211$, $P = 0.031$], rate of neutrophil ratio [$(77.13 \pm 3.90)\%$ vs. $(75.09 \pm 3.67)\%$; $t = 2.068$, $P = 0.043$], C-reactive protein [(14.32 ± 4.01) mg/L vs. (12.49 ± 2.78) mg/L; $t = 2.024$, $P = 0.048$], cost of antimicrobial drugs ($5\ 982.67 \pm 740.38$) yuan vs. [$(5\ 505.00 \pm 866.74)$ yuan; $t = 2.279$, $P = 0.026$], intensity of antimicrobial drugs use (136.33 ± 9.62) 100 people/day vs. [(130.69 ± 10.43) 100 people/day; $t = 2.161$, $P = 0.035$], hospitalization duration [(14.00 ± 4.45) days vs. (11.45 ± 2.73) days; $t = 2.664$, $P = 0.010$], total drug costs [$(14\ 437.73 \pm 2\ 377.51)$ yuan vs. $(12\ 704.24 \pm 3\ 138.12)$ yuan; $t = 2.397$, $P = 0.020$], and the period for body temperature returning to normal [(3.83 ± 1.72) days vs. (4.97 ± 2.24) days; $t = -2.178$, $P = 0.034$] of patients in mixed infection group were significantly different. The efficiency of patients in single infection group was significantly higher than that of mixed infection group (82.76% vs. 56.67%; $\chi^2 = 4.735$, $P = 0.047$). **Conclusions** Alveolar lavage fluid mNGS technique has obvious advantages in detecting mixed infection of Ab pneumonia, which could assist clinical antimicrobial selection and promote patients' rehabilitation.

【Key words】 Metagenomic next-generation sequencing; Pneumonia; Alveolar lavage fluid; *Acinetobacter baumannii*; Mixed infection

鲍曼不动杆菌肺炎为重症监护室 (intensive care unit, ICU) 患者常见疾病, 有报道显示其发病率最高可达40%^[1]。鲍曼不动杆菌肺炎患者常有气管切开等侵入性操作史, 因其自身屏障功能受损, 故肺部混合感染风险高。与单纯鲍曼不动杆菌肺炎相比, 鲍曼不动杆菌合并多种病原体 (细菌、真菌或病毒) 肺炎患者可能存在抗感染药物的差异选择和更为严重的临床表现^[2]。尽早明确混合感染的病原体进行目标治疗有利于该类患者的增效减毒; 然而, 传统涂片镜检和分离培养等在病原体检测的敏感性、时效性和识别罕见病原微生物方面均存在不足, 给ICU鲍曼不动杆菌肺炎混合感染者的临床治疗带来了挑战^[3-5]。宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 技术可对生物标本数十亿DNA片段同时独立测序, 能够快速、客观、无偏倚地获得病原体信息。目前, mNGS技术在单一病原体感染性疾病的诊疗方面研究较多^[6-8]; 然而其在鲍曼不动杆菌肺炎混合感染的诊疗方面报道尚少, 本文通过分析应

用mNGS技术检测鲍曼不动杆菌肺炎混合感染者, 探讨其对ICU鲍曼不动杆菌肺炎混合感染诊疗的指导价值, 报道如下。

资料与方法

一、入组患者的一般资料

回顾性收集2019年1月至2021年5月扬州大学附属医院ICU采用mNGS技术检测鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*, Ab) 呈阳性的84例肺炎患者的资料。

纳入标准: ①常规微生物检测结果为鲍曼不动杆菌; ②送检mNGS和常规微生物培养标本均来自于同1份支气管肺泡灌洗液; ③常规微生物检测阴性3次以上, 且疗效不佳。

排除标准: ①伴有结构性肺病, 迁延不愈; ②存在其他感染灶; ③患者临床资料不全。鲍曼不动杆菌感染的诊断标准参考我国2001年《医院感染诊断标准 (试行)》^[9], 并结合mNGS检测结果和

临床判断应用抗菌药物实施目标治疗。不符合上述鲍曼不动杆菌感染诊断标准的患者确定为定植菌组（25例）；根据mNGS检测结果，其余患者分为单一感染组（29例）和混合感染组（30例）。

本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》的相关要求。患者或其近亲属对原治疗方法及相关内容均知情同意。

二、方法

医院信息系统中获取患者体温变化，基础疾病（包括恶性肿瘤、器官移植、自身免疫性疾病），微生物培养和mNGS检测结果，抗菌药物使用时间、强度、费用以及总药费等资料。同时分析患者mNGS检测时（抗菌药物使用前）的炎性指标，如白细胞计数、中性粒细胞比率和C-反应蛋白。

微生物辛普森多样性指数（Simpson's diversity index, SDI）的计算公式^[10]： $SDI = \frac{1 - \sum n(n-1)}{N(N-1)}$

（n：某一菌种mNGS的检出序列数；N：所有菌种mNGS的检出序列总数）。

标本由广州微远病原宏基因组学平台IDseqTM进行病原学检测，包括病毒、细菌和真菌等。

三、观察指标

1. 定植菌组、单一感染组和混合感染组患者的一般资料；
2. 混合感染组患者的病原微生物组成；
3. 3组患者的SDI值；
4. 单一感染组和混合感染组患者抗菌药物使用前炎性指标，以及抗菌药物使用后抗菌药物使用费用、强度，患者体温降至正常时间，患者住院天数和总药费。

四、统计学处理

采用SPSS 17.0软件进行统计学处理，采用

Kolmogorow-Smirnow检验和Levene检验分别对炎性指标、SDI、抗菌药物使用时间、使用强度、使用费用和总药费等计量资料的分布和方差齐性进行判定，并适当选择ANOVA检验或独立样本t检验。多组SDI整体比较，ANOVA检验确定统计学上显著关联时，组间两两比较采用Bonferroni t检验。核酸序列数和相对丰度为非正态分布计量资料，采用[M（P25，P75）]表示。患者年龄> 60岁、基础疾病、发热> 7 d、不同临床疗效和治疗转归占比均采用[例（%）]表示，组间比较采用Pearson卡方检验、连续校正卡方检验或Fisher's确切概率法。以P< 0.05为差异有统计学意义。

结 果

一、三组患者的一般资料

入组84例患者中男性44例，女性40例，年龄为[65.4（62，68）]岁。3组患者性别构成比差异无统计学意义（ $\chi^2 = 0.928$ 、 $P = 0.629$ ）；而3组患者基础疾病、年龄> 60岁和发热> 7 d例数占比差异均有统计学意义（ P 均< 0.05）。混合感染组和单一感染组患者基础疾病和年龄> 60岁人口构成比差异有统计学意义（ $\chi^2 = 7.592$ 、 $P = 0.006$ ， $\chi^2 = 16.882$ 、 $P < 0.001$ ）。混合感染组和定植菌组患者发热> 7 d人口构成比差异有统计学意义（ $\chi^2 = 7.639$ 、 $P = 0.006$ ）。见表1。

二、混合感染组患者病原学

30例混合感染组患者中，采用传统方法检出混合感染仅3例，显著低于mNGS检测。mNGS检出混合感染占前3位的病原体分别为人疱疹病毒、肺炎链球菌和耶氏肺孢子虫。

与传统方法鉴定为鲍曼不动杆菌混合感染的3

表1 三组患者一般资料 [例（%）]

组别	例数	男性	年龄> 60岁	基础疾病	发热> 7 d
定植菌组	25	11 (44.00)	15 (60.00)	5 (20.00)	10 (40.00)
单一感染组	29	14 (48.28)	10 (34.48)	8 (27.59)	22 (75.86) ^a
混合感染组	30	17 (56.67)	26 (86.67) ^b	19 (63.33) ^{ab}	23 (76.67) ^a
χ^2 值		0.928	16.843	12.932	10.224
P值		0.629	0.001	0.002	0.006

注：经 Bonferroni 法校正，与定植菌组比较，^a $P < 0.017$ ；与单一感染组比较，^b $P < 0.017$ 。两两比较：年龄> 60岁：定植菌组 vs. 单一感染组： $\chi^2 = 3.516$ 、 $P = 0.061$ ，定植菌组 vs. 混合感染组： $\chi^2 = 5.110$ 、 $P = 0.024$ ，单一感染组 vs. 混合感染组： $\chi^2 = 16.882$ 、 $P < 0.001$ ；基础疾病：定植菌组 vs. 单一感染组： $\chi^2 = 0.423$ 、 $P = 0.516$ ，定植菌组 vs. 混合感染组： $\chi^2 = 10.411$ 、 $P = 0.001$ ，单一感染组 vs. 混合感染组： $\chi^2 = 7.592$ 、 $P = 0.006$ ；发热> 7 d：定植菌组 vs. 单一感染组： $\chi^2 = 7.152$ 、 $P = 0.007$ ，定植菌组 vs. 混合感染组： $\chi^2 = 7.639$ 、 $P = 0.006$ ，单一感染组 vs. 混合感染组： $\chi^2 = 0.005$ 、 $P = 0.942$

例患者比较, 此3例患者mNGS检测仅有1例结果不同。传统检测为隐球菌, mNGS检测为肺炎克雷伯杆菌和人疱疹病毒。混合感染组患者病原体组成和mNGS检测结果见表2。

三、三组患者SDI水平

定植菌组、单一感染组和混合感染组患者SDI分别为(0.77 ± 0.11)、(0.38 ± 0.16)和(0.34 ± 0.17), 差异有统计学意义($F = 65.411$ 、 $P < 0.001$)。经Bonferroni法校正, 事后最小显著性差异法比较, 单一感染组和混合感染组患者SDI显著低于定植菌组($t = -10.135$ 、 $t = -10.886$, P 均 < 0.017)。混合感染组和单一感染组患者差异无统

计学意义($t = -1.068$ 、 $P = 0.290$), 见图1。

四、单一感染组和混合感染组患者抗菌药使用、炎性指标及住院情况

两组患者抗菌药物使用前的白细胞计数、中性粒细胞比率、C-反应蛋白水平差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。抗菌药物使用后, 混合感染组的体温降至正常时间短于单一感染组, 差异有统计学意义($t = 2.178$ 、 $P = 0.034$)。两组抗菌药物使用费用、使用强度、住院天数和总药费, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。两组患者抗菌药物使用时间差异无统计学意义($t = -1.907$ 、 $P = 0.062$), 见表3。

表2 混合感染组患者的病原体组成和 mNGS 检测结果

病原体种类	数量	核酸序列数	相对丰度 (%)
人疱疹病毒	7	150 (54, 988) ^a	—
肺炎链球菌*	5	140 (68, 882) ^a	30.2 (26.4, 35.0) ^a
耶氏肺孢子虫	5	256 (102, 8 112) ^a	23.3 (18.7, 80.1) ^a
流感嗜血杆菌*	2	668, 8014	31.1、81.0
肺炎克雷伯杆菌	2	152, 341	13.5、35.0
细环病毒	2	176, 2 061	—
尿肠球菌	2	142, 42 278	1.0、78.3
茴香军团菌	2	246, 820	8.1、22.6
隐球菌*	0	—	—
嗜麦芽窄食单胞菌	1	341	62.3
人型支原体	1	62	4.1
黄曲霉	1	743	31.0
铜绿假单胞菌	1	26 077	6.9
人偏肺病毒	1	801	—
卷曲乳杆菌	1	3 129	29.2

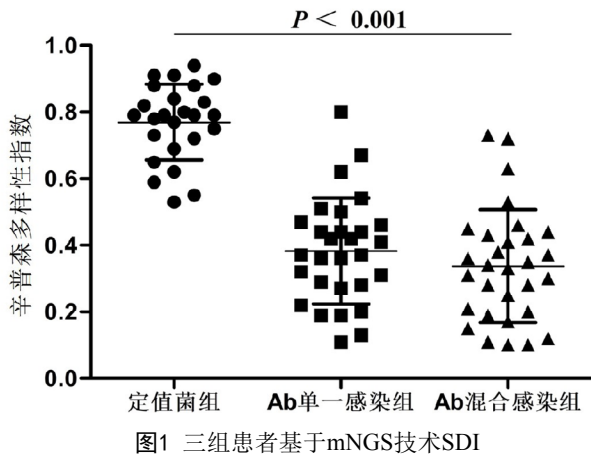
注: *为3例传统方法检测到的病原体; “—”: 无相关数据。^a: 核酸序列数和相对丰度以[M(P25, P75)]。病原体数量小于4时, 核酸序列数和相对丰度全部列出。

表3 单一感染组和混合感染组患者抗菌药使用、炎性指标及住院情况 ($\bar{x} \pm s$)

项目	单一感染组 (29例)	混合感染组 (30例)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
抗菌药使用前实验室指标				
白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	10.61 ± 1.91	11.56 ± 1.34	-2.211	0.031
中性粒细胞比率 (%)	75.09 ± 3.67	77.13 ± 3.90	-2.068	0.043
C-反应蛋白 (mg/L)	12.49 ± 2.78	14.32 ± 4.01	-2.024	0.048
体温降至正常时间 (d)	4.97 ± 2.24	3.83 ± 1.72	2.178	0.034
抗菌药物				
使用时间 (d)	9.55 ± 1.90	10.53 ± 2.05	-1.907	0.062
使用强度 (每百人/d)	130.69 ± 10.43	136.33 ± 9.62	-2.161	0.035
药物费用 (元)	$5\,505.00 \pm 866.74$	$5\,982.67 \pm 740.38$	-2.279	0.026
住院情况				
住院天数 (d)	11.45 ± 2.73	14.00 ± 4.45	-2.664	0.010
总药费 (元)	$12\,704.24 \pm 3\,138.12$	$14\,437.73 \pm 2\,377.51$	-2.397	0.020

表 4 单一感染组和混合感染组患者疗效和治疗转归

组别	例数	治愈 [例 (%)]	好转 [例 (%)]	失败/死亡 [例 (%)]	其他 (放弃/不能评价) [例 (%)]	显效率 (%) (治愈 + 好转)
单一感染组	29	9 (31.03)	15 (51.72)	1 (3.45)	4 (13.79)	82.76
混合感染组	30	5 (16.67)	12 (40.00)	8 (26.67)	5 (16.67)	56.67
χ^2 值		1.682	0.817	4.484	0.001	4.735
P值		0.233	0.438	0.034	1.000	0.047



五、单一感染组和混合感染组患者疗效及转归

单一感染组患者显效率为82.76%（24/29），显著高于混合感染组（56.67%、17/30）。同时，单一感染组患者治疗失败例数显著少于混合感染组患者（1/29 vs. 8/30, $\chi^2=4.484$ 、 $P=0.034$ ），见表4。

讨 论

与肺炎克雷伯杆菌相比，鲍曼不动杆菌致病力较弱，多为条件致病菌，可在体外长期存活。鲍曼不动杆菌肺炎多见于ICU危重症患者，常存在混合感染。有报道显示^[11]，鲍曼不动杆菌感染者病死率高达35%，但缺乏归因病死率的大样本临床研究，鲍曼不动杆菌混合感染可能是该类患者高病死率的重要原因之一。本研究显示，混合感染组、单一感染组和定植菌组患者基础疾病、年龄> 60岁和发热> 7 d例数构成比差异有统计学意义，以混合感染组患者最高，提示当患者伴有基础疾病、年龄> 60岁或发热> 7 d时，更易发生混合感染。与Wang等^[2]研究结果一致。

本研究发现，mNGS技术较传统方法具有更广泛的病原微生物检测范围，更有利于发现混合性感染。mNGS技术敏感性高、信息量大，但缺少判定为致病菌的阈值。已有学者将是否满足以下任

何阈值作为确定感染性细菌或真菌的评判标准^[6]：
①细菌或真菌属中疑似致病菌的测序相对丰度> 30%；②培养和（或）组织病理学检查呈阳性，并且从单个细菌或真菌物种中至少读取50个核酸序列数。实际上，对于无菌部位样本（如脑脊液、心包积液和血液等），排除污染菌、检测流程影响，只要检出微生物核酸序列则有重要临床价值。对于存在定植菌部位的样本则情况复杂，即使mNGS检测无法给出感染相关的确凿证据，但也可为医师提示诊断方向，有利于结合患者病史、影像学以及其他检查结果做出判断。mNGS技术在检出的鲍曼不动杆菌混合感染者中，居前3位的病原微生物分别为人疱疹病毒、肺炎链球菌和耶氏肺孢子虫，而常规检测仅检出3例混合感染。疱疹病毒常定植于人呼吸道上皮细胞内。有研究发现^[12-13]，疱疹病毒和细菌可在患者感染的多个阶段相互影响，病毒能够促进细菌的黏附与定植，而细菌感染又能诱导病毒活化，进而引发患者的免疫反应。上述机制合理地解释了部分鲍曼不动杆菌肺炎患者选择敏感性抗菌药物治疗，但疗效不佳，甚至病情恶化。提示医师在鲍曼不动杆菌肺炎诊治中，需警惕患者合并疱疹病毒感染，尤其是免疫功能受损的危重症患者。本研究中3例传统方法鉴定为鲍曼不动杆菌混合感染者，其中1例鉴定为隐球菌，mNGS检测为肺炎克雷伯杆菌和人疱疹病毒。mNGS技术需要破坏病原微生物结构后提取核酸序列，再通过微生物专用数据库进行比对分析得出结果^[14]。隐球菌是兼性胞内微生物，常寄生于人体巨噬细胞中，其核酸提取困难，是造成mNGS检测结果为弱阳性甚至阴性的原因^[15]；我国专家^[16]也给出了相同结论。因此，在判读mNGS阴性结果时，需特别警惕胞内菌感染。

目前，呼吸道病原微生物无症状传播早已被证实^[17-18]。因此，感染相关生物标记的建立对于确定特定病原微生物至关重要。与消化系统感染相似，呼吸道微生物群落多样性损失也可作为评估感染的天然标记^[19-21]。因此，本研究比较定植菌

组、单一感染组和混合感染组患者微生物核酸序列,发现3组患者SDI差异有统计学意义。单一感染组和混合感染组患者的SDI显著低于定植菌组。Langelier等^[22]运用mNGS技术,对所招募的22例成人造血干细胞移植术后继发肺部感染者的肺泡灌洗液进行检测,与病原微生物未确定患者相比,病原微生物确定组患者的SDI更低,差异有统计学意义,提示感染者SDI更低,与本研究结果一致。本研究进一步发现,混合感染组与单一感染组患者SDI差异无统计学意义。提示SDI能够作为一个确定感染的指标,但混合感染者SDI并不比单一感染者更低,仍需结合临床进行判断。

混合感染者通常无特异性临床特征,其临床表现与致病微生物密切相关。与单一感染者相比,不论混合感染者的病原微生物如何组合,均可引起更严重的炎症反应和临床表现,从而导致住院时间延长、治疗费用增加、甚至治疗失败。本研究结果显示,混合感染组和单一感染组抗菌药物使用费用、抗菌药物使用强度、住院天数和总药费显著不同,与既往研究结果一致^[23-24]。研究发现,鲍曼不动杆菌混合感染组抗菌药物使用前的炎性指标显著高于单一感染组,这与前者抗菌药物使用前较重的临床表现相符。抗菌药物使用后,混合感染组患者体温降至正常的时间短于单一感染组,但两组患者抗菌药物疗程差异无统计学意义,可能与混合感染组患者病情较重,抗感染需完成一定疗程有关。

本研究中鲍曼不动杆菌单一感染组患者的疗效及转归均优于混合感染组,且前者显效率(82.76%)高于既往文献报道(60.2%)^[25],提示mNGS检测有助于针对患者精准选择抗菌药物,提高疗效。

但本研究尚存在局限性:首先,鲍曼不动杆菌混合感染者中最常见是合并人疱疹病毒和耶氏肺孢子虫感染。而大多数ICU患者免疫功能低下,这可能导致结论存在偏倚^[26]。此外,所有mNGS检测均被送到广州微远病原检测实验室,而非本院微生物实验室,这可能因周转时间延长而导致敏感性降低。

综上,mNGS检测能够帮助医师高效、全面地鉴别鲍曼不动杆菌混合感染的病原微生物,为弥补常规培养缺陷和制定抗菌药物方案提供重要手段。通过mNGS技术的运用,本研究发现鲍曼不动杆菌肺炎患者合并人疱疹病毒感染的比例最高,提示ICU医师需警惕患者合并病毒感染,而mNGS检测

有利于临床辅助诊断和个性化治疗鲍曼不动杆菌混合感染。

参 考 文 献

- [1] Necati Hakyemez I, Kucukbayrak A, Tas T, et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections and changing antibiotic resistance[J]. Pak J Med Sci, 2013, 29(5): 1245-1248.
- [2] Wang J, Han Y, Feng J. Metagenomic next-generation sequencing for mixed pulmonary infection diagnosis[J]. BMC Pulm Med, 2019, 19(1): 252.
- [3] Huang J, Jiang E, Yang D, et al. Metagenomic next-generation sequencing versus traditional pathogen detection in the diagnosis of peripheral pulmonary infectious lesions[J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 567-576.
- [4] Miao Q, Ma Y, Wang Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(Suppl 2): S231-S240.
- [5] Geng S, Mei Q, Zhu C, et al. Metagenomic next-generation sequencing technology for detection of pathogens in blood of critically ill patients[J]. Int J Infect Dis, 2021, 103: 81-87.
- [6] Li H, Gao H, Meng H, et al. Detection of pulmonary infectious pathogens from lung biopsy tissues by metagenomic next-generation sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 25(8): 205.
- [7] 郑微, 赵鹏, 张永宏, 等. 宏基因组测序技术分析原发性肝癌患者肠道菌群特征[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2021, 15(3): 149-157.
- [8] Wilson MR, O'Donovan BD, Gelfand JM, et al. Chronic meningitis investigated via metagenomic next-generation sequencing[J]. JAMA Neurol, 2018, 75(8): 947-955.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5): 314-320.
- [10] Melissa, Schen, Leslie, 等. 在真实世界中计量生物多样性学生在户外使用辛普森指数比较2个森林群落的生物多样性[J]. 中国科技教育, 2015, 29(3): 40-45.
- [11] Antunes LC, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen[J]. Pathog Dis, 2014, 71(3): 292-301.
- [12] 许国斌, 张近波, 张小乐, 等. 回顾性分析单纯疱疹病毒对呼吸机相关性肺炎严重程度的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(1): 6-7.
- [13] 邓凤英, 林志勇. 疱疹病毒和牙周致病菌在牙周炎中相互作用的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2016, 43(6): 711-716.
- [14] Dekker JP. Metagenomics for clinical infectious disease diagnostics steps closer to reality[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(9): e00850-18.
- [15] Stepanova A, Vasilyeva N, Yamaguchi M, et al. Ultrastructural patterns of interactions between murine lung macrophages and yeast cells of *Cryptococcus neoformans* strains with different virulence[J]. Med Mycol J, 2018, 59(1): E1-E6.
- [16] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组. 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(2): 151-155.
- [17] Heinonen S, Jartti T, Garcia C, et al. Rhinovirus detection in symptomatic and asymptomatic children: value of host transcriptome analysis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(7): 772-782.
- [18] 刘建, 高子薇, 凌虹. 呼吸道菌群遗传, 物种多样性及对免疫微环境的作用[J]. 国际遗传学杂志, 2020, 43(5): 288-294.
- [19] Abreu NA, Nagalingam NA, Song Y, et al. Sinus microbiome diversity

- depletion and *Corynebacterium tuberculo*steaicum enrichment mediates rhinosinusitis[J]. Sci Transl Med,2012,4(151):151-124.
- [20] Dickson RP, Erb-Downward JR, Freeman CM, et al. Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography[J]. Ann Am Thorac Soc,2015,12(6):821-830.
- [21] Guss AM, Roeselers G, Newton IL, et al. Phylogenetic and metabolic diversity of bacteria associated with cystic fibrosis[J]. ISME J,2011,5(1):20-29.
- [22] Langelier C, Zinter MS, Kalantar K, et al. Metagenomic sequencing detects respiratory pathogens in hematopoietic cellular transplant patients[J]. Am J Respir Crit Care Med,2018,197(4):524-528.
- [23] Tsai WC, Chen SF, Chang WN, et al. Clinical characteristics, pathogens implicated and therapeutic outcomes of mixed infection in adult bacterial meningitis[J]. Kaohsiung J Med Sci,2012,28(10):531-537.
- [24] 武敏. 社区获得性肺炎住院患儿混合感染研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2019,46(7):503-507.
- [25] 侯红玲, 张新江, 刘微丽, 等. 神经重症监护病房和重症监护病房患者鲍曼不动杆菌的耐药性及用药合理性比较[J]. 中国医药,2018,13(10):1572-1576.
- [26] 郭龙飞, 胡逢静, 蔡玲, 等. 重症医学科医院感染现状及其风险评估研究进展[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(8):1262-1265.
- (收稿日期: 2021-06-01)
(本文编辑: 孙荣华)

孙国先, 蔡萍, 刘微丽, 等. 宏基因组二代测序在鲍曼不动杆菌肺炎混合感染者诊疗中的应用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022,16(2):115-121.