

血液病患者合并血流感染应用 mNGS 高效寻找病原体

▲ 北京大学人民医院 北京大学血液病研究所 国家血液系统疾病临床医学研究中心 周婧睿 孙于谦



孙于谦 教授

感染是血液病患者最常见并发症之一，尤其在伴有粒细胞缺乏的患者中。血流感染（BSI）是伴有粒细胞缺乏的血液病患者中最常见的感染类型，相关死亡率为 10%~20%，如未能及时给予恰当的抗感染治疗，死亡率可高达 30%~50%，是严重影响血液病患者预后的致死性并发症。快速、准确地诊断致病微生物对于临床医生选择精确的抗感染治疗方案及改善 BSI 患者的预后至关重要。当前迫切需要一种快速精准、高灵敏度及特异度的诊断方法。

近日，北京大学血液病研究所孙于谦教授团队进行了一项大规模、多中心、前瞻性研究，以比较宏基因组二代测序（mNGS）与血培养在血液恶性肿瘤患者粒缺伴发热疑似合并血流感染治疗过程中诊断的优效性。该研究采用基于血浆 cfDNA 和血细胞的双重 mNGS 检测，显示了良好的诊断性能。相关结果入选了 2023 年欧洲血液病学会年会（EHA 2023）口头报告。

研究简介

研究纳入 2021 年 10 月至 2022 年 8 月国内四家血液病中心的年龄 ≥ 15 岁、诊断血液肿瘤及中性粒细胞减少症的患者，首次发生粒缺合并发热时入组，所有患者均随访 14 d。发热开始时，每个受试者采集外周血样本，同时检测血培养和双重 mNGS（血浆和血细胞的单独测序），最终纳入 300 例粒缺合并发热事件。

结果显示，双重 mNGS 的敏感度为 95.2%，特异度为 94.6%，阳性预测值为 95.2%，阴性预测值为 94.6%。与 BC 的阳性符合率和阴性符合率分别为 79.0% (49/62) 和 34.9% (83/238)。双重 mNGS 的诊断时间显著短于血培养组 (39.7 ± 15.0) h 与 (119.8 ± 31.9) h, ($P < 0.0001$)。同时，双重 mNGS 结果的实时可用性可以使 52.3% 的事件早期优化药物，31.7% 的事件添加或升级抗菌药物，20.6% 的事件抗菌药物谱缩窄。



关联阅读全文
扫一扫

研究者说

应用 mNGS 与传统病原学诊断相辅相成

mNGS 是近年来兴起的一种基于核酸检测的非侵入性微生物鉴定技术，迅速应用于新发或罕见病原体诊断、感染性疾病暴发监测及预防、病原体耐药基因突变等领域，对混合侵入性感染性样本中多种病原菌的检测鉴定亦有较好的应用，为临床提供了一种极具前景的广谱筛查手段。已有研究表明，mNGS 在 BSI、侵袭性真菌感染、心内膜炎、肺部感染及 Car-T 疗法相关感染等临床感染性疾病的诊断中具有巨大潜力。然而，目前关于 mNGS 在血液系统疾病中的应用仅有少量研究，mNGS 检测血液病患者 BSI 的临床作用尚不清楚。因此，深入研究 mNGS 检测对血液病患者感染的诊断价值，明确其诊断性能，客观评价该方法的临床作用，对精确诊断血液病患者感染具有重要的理论和实际意义。

在当前的临床应用中，为了减少血液样本中宿主 DNA 的污染，mNGS 的检测多采用血浆层的无细胞 DNA (cfDNA)。然而，仅使用 cfDNA 的 mNGS 方法存

在诸多局限性。本研究采用了一种同时检测血浆层 cfDNA 和血细胞层的双重 mNGS 方法，旨在全面评估双重 mNGS 技术在 BSI 患者感染病因早期检测中的诊断效能。研究表明，这种新的双重 mNGS 方法在粒缺伴发热血液病患者的 BSI 早期诊断中具有良好的诊断性能，利用 mNGS 技术可更加高效寻找血液病患者 BSI 的病原体，促进患者的早期诊断和更好的临床管理。

虽然目前 mNGS 检测缺乏公认的判读标准，在临床应用应用中仍有不少争议，同时，mNGS 检测也存在着费用较高、无法提供药敏结果、背景菌过滤困难、无法区分阳性病原体究竟是定植菌还是致病菌等不足之处。但是，应用 mNGS 技术可为感染性疾病的治疗提供快速、精准的指向，与传统病原学诊断方法相辅相成，为血液病患者血流感染早期检测感染病原，指导临床用药提供了科学依据，值得在临床上进一步探索及研究。

感染病原检测，tNGS 是 mNGS 升级版？

▲ 南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科 孙文逵 丁宇辰

呼吸道感染仍是威胁公共卫生安全的重要因素之一，及时明确呼吸道感染患者的致病病原体，对于临床诊疗工作至关重要。近年来，二代基因测序技术（NGS）的快速发展给病原体的检测带来了新的突破。mNGS 是目前应用最广的 NGS 技术，但也有其局限性：检测结果易受人源序列的影响；同时只能进行单一的 DNA 或 RNA 测序；价格昂贵；结果解读困难等。

对目标序列进行靶向捕获并富集

病原靶向测序（tNGS）的出现从技术原理上改进了 NGS 在病原学诊断中的部分不足。tNGS 是一种基于 NGS 的靶向富集的测序技术，通过对目标基因组特定区域设计特异性引物，降低人源序列的影响，对目标序列进行靶向捕获并富集，确保足够的测序深度和覆盖度。

tNGS 的灵敏度较高，并支持 DNA/RNA 共检，在无需预判病原体的基础上还可以定量。通过靶向富集，可以增加目标微生物检测覆盖，在不去除宿主基因条件下，可以特异性增加微生物核酸的比例，提升检测可信度。有研究发现，通过靶向捕获可以增加 90% 的病毒核酸的载量。另一项研究显示，tNGS 检出病毒的序列数是 mNGS 的 674 倍，而病毒基因组的覆盖度从 2.1% 提升到了 83.2%。得益于覆盖度的提升，tNGS 甚至可以分析出基因组变异度高达 58% 的指环病毒。在病原谱范围内，tNGS 检测能力更强，检测结果可信度相对更高。

tNGS 的检测效力较 mNGS 提升。下呼吸道感染宏基因组二代测序报告临床解读路径专家共识指出：对于下呼吸道感染病原体的检测，tNGS 灵敏度、特异度均优于 mNGS，人源序列影响小，检

测时间更短，成本更低。tNGS 的成本仅为 mNGS 的 1/4，更具卫生经济学价值。

对耐药基因毒力基因检测有优势

在耐药基因、毒力基因检测方面，tNGS 同样较 mNGS 具有优势。常规 mNGS 因成本、技术、数据库等因素常无法获得样本中所有微生物的序列，临床标本中低浓度致病微生物不仅增加了漏检的比例，同时针对特定耐药或毒力基因的分析亦较难实现。tNGS 通过靶向富集相关耐药或毒力基因，可以提高检出率。研究发现，在针对 13 种病原体耐药基因检测中，tNGS 发现 7 种 (53.8%) 耐药基因与抗菌药物敏感性测试结果完全或部分一致，包括耐万古霉素屎肠球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和结核分枝杆菌等。在一项关于肺结核的研究中发现，tNGS 在结核耐药检测中表现出很高的检测效力，与药物敏感性测试比较，利福平耐药性诊断的敏感性和特异性均为 100%，异烟肼耐药性诊断的敏感性为 80% 而特异性为 100%。



关联阅读全文
扫一扫

优化抗菌药物联合用药方案：组学与 PK/PD

复旦大学华山医院抗生素研究所 刘笑芬

表 1 筛选协同作用药物组合常用方法的优缺点

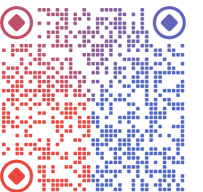
筛选方法	优点	缺点
琼脂扩散法、E 试验交叉法、棋盘法	简便易于实施	在药物浓度以及观察时间固定的条件下进行
静态时间杀菌曲线	在不同时间点进行细菌菌落数计数，考虑不同时间下药物的杀菌效果	
动态时间杀菌曲线	模拟临床人体用药后药物浓度的变化过程的同时，在不同时间进行细菌菌落数计数，从而为临床需要联合用药时的最佳用药方案	需要特定模型装置，操作复杂，不易常规进行

方法，通过有限的数据进行建模和模拟，可以对联合用药的不同方案进行杀菌效果预测，从而选择最优的方案提供给临床。然而，这些模型仍基于药物浓度与细菌生长速率的快慢表型进行建模模拟，具有一定局限性。

组学作为系统性、整体性对生物体内的基因、蛋白、代谢物等进行定性、定量研究，包括基因组

学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等。在基因组学数据基础上，整合转录组、蛋白质、代谢组等数据，寻找药物作用下影响细菌关键代谢通路，建立基因组规模的代谢模型，可达到从系统的角度揭示抗菌药物作用下细菌代谢稳态变化的目的。在目前研究工作基础上，进一步将多组学数据与宿主免疫动力学结合，建立宿主－

病原体－药物相互作用的 PK/PD 模型，对于临床预测抗菌药物单药、联合用药的合理用药方案，提供个体化精准用药具有重要意义。



关联阅读全文
扫一扫



感染病学专栏 (75)

主办：中国医药教育协会感染疾病专业委员会
协办：解放军呼吸病研究所

主 编：俞云松 刘又宁

执行主编：

陈佰义 陈良安 管向东

胡必杰 黄晓军 邱海波

王明贵 吴德沛 徐英春

本期轮值主编：陈轶坚

编 委：

郭 强 郭 燕 刘笑芬

罗益锋 秦晓华 曲俊彦

孙文逵 王 鹏 吴小津

向天新 郑旭婷