

# mNGS在支气管肺泡灌洗液病原检测的应用

李伟琼

平南县人民医院 广西 平南 537300

**【摘要】目的：**就宏基因二代测序技术在支气管肺泡灌洗液病原检测上的优势，进一步针对成年人肺部感染病原学检测提供指导，为疾病治疗提供准确的检查结果支持。**方法：**将2021年1月至2022年6月收入本院呼吸内科的80例难治性肺部感染患者进行病情的回顾分析，结合两种检测方式对比病原体的阳性率、病原学分布等情况，分别为传统方案（即痰培养或者灌洗液培养）和宏基因二代测序技术（mNGS），对比检测成果。**结果：**从数据可见，mNGS检验下的阳性率91.25%（73/80），高于传统培养方案的35.00%（28/80），对比差异显著（ $P < 0.05$ ）。通过分析73例阳性患者，在病原体种类上分别为细菌、病毒、真菌、沙眼衣原体。同时，在对不同特征患者支气管肺泡灌洗液mNGS阳性率检查中，可见影像学提示肺炎和PCT更具有统计学意义，以影像学提示肺炎检出率对比差异显著（ $P < 0.05$ ）。**结论：**针对难治性肺部感染患者，为其实施支气管肺泡灌洗液mNGS检测，可以提升病原体的检出率，为患者寻找有效的治疗用药，有助于提升疗效，具备一定推广、应用价值。

**【关键词】：**宏基因二代测序技术；支气管肺泡灌洗液病原检测；临床应用

## Application of mNGS for Pathogen Detection in Bronchoalveolar Lavage Fluid

Wei Qiong Li

Pingnan County People's Hospital, Guangxi Pingnan 537300

**Abstract:** Objective: To provide guidance on the advantages of metagenome second-generation sequencing technology in the pathogen detection of bronchoalveolar lavage fluid, further for the pathogen detection of adult lung infection, and provide accurate examination results support for the treatment of diseases. Methods: from January 2021 to June 2022 income our hospital respiratory medicine of 80 cases of refractory lung infection patients review analysis, combined with two detection methods of pathogen positive rate, pathogen distribution, etc., respectively for the traditional scheme (i. e., sputum culture or lavage culture) and macro gene second generation sequencing technology (mNGS), contrast detection results. Results: As can be seen from the data, the positive rate under the mNGS test was 91.25% (73 / 80), which was higher than the 35.00% (28 / 80) of the traditional culture regimen, and the contrast difference was significant ( $P < 0.05$ ). By analyzing the 73 positive patients, bacteria, virus, fungi, and Chlamydia trachomatis were found in the pathogen species. At the same time, in the examination of mNGS positive rate of bronchoalveolar lavage fluid of patients with different characteristics, pneumonia and PCT were more statistically significant, and the detection rate of pneumonia was significantly different ( $P < 0.05$ ). Conclusion: For patients with refractory lung infection, mNGS testing of bronchoalveolar lavage fluid can improve the detection rate of pathogens, find effective therapeutic drugs for patients, help to improve the efficacy, and have certain promotion and application value.

**Keywords:** Metagenome second-generation sequencing technology; Pathogen detection of bronchoalveolar lavage fluid; Clinical application

据悉，在肺炎死亡患者的数据分析中，多为病原体相关感染，故而可见确诊肺部感染的病原学有着重要意义<sup>[1]</sup>。在当下的研究中，主要是以传统病原学培养为方案，但是存在阳性率低且用时长劣势，难以对未知病原体进行分析。宏基因二代测序技术，则可以对所有潜在的病原体进行检出，要按照宏基因组进行分析，结合数据库结果对比后鉴定病原微生物，从而为临床用药的安全性和有效性提供指导<sup>[2]</sup>。鉴于此，将2021年1月至2022年6月收入本院呼吸内科的80例难治性肺部感染患者进行病情的回顾分析，结合两种检测方式对比病原体的阳性率、病原学分布等情况结果证明该治疗方案具有良好临床效果，内容报道如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

将2021年1月至2022年6月收入本院呼吸内科的80例难治性肺部感染患者进行病情的回顾分析，结合两种检测方

式对比病原体的阳性率、病原学分布等情况。观察组女性22例，男性18例，年龄区间22~55岁，平均（38.07±4.46）岁；对照组中男性23例，女性17例，年龄区间21~57岁，平均（38.13±3.87）岁。将两组患者一般资料对比差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

#### 1.2 实验方法

传统方案即痰培养或者灌洗液培养。在支气管肺泡灌洗标本的采集上，需要由支气管镜医师在患者全麻下进行支气管镜检查，并开展支气管肺泡灌洗术，通过吸收器获得支气管肺泡灌洗液，并将其分为两罐。分别进行肺泡灌洗液培养（5ml）和肺泡灌洗液（15ml）宏基因二代测序技术（mNGS）检测。

在痰液样本上，对于建立了人工气道患者需要一次性痰液收集器取痰，未建立人工气道患者可在清晨收集痰液，可在收集前，用少量水漱口，随后用力呼吸，将呼吸道深处的痰液咳出，并进行标本收集，不少于1ml。

在病原菌检测中，对宏基因组二代测序技术（mNGS）检测可结合高通量测序技术进行全面分析，并和数据库的核酸序列进行对比，确认可疑致病微生物。

在传统培养方案中，则结合病原体检测仪进行鉴定分析，按照相关操作完成。

### 1.3 评价标准

针对患者资料进行分析，并结合mNGS检测前抗生素、丙球以及实验室检查、影像学改变结果进行详细分析。

### 1.4 统计方法

处理软件选用SPSS 20.0，计量资料用（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，以t检验，计数资料用率予以表示，采用卡方检验， $P < 0.05$ 表明指标对比差异显著，符合统计学价值。

## 2 结果

就数据中看，mNGS检验下的阳性率为91.25%（73/80），高于传统培养方案的35.00%（28/80），对比差异显著（ $P < 0.05$ ）。

表1 支气管肺泡灌洗液mNGS与传统培养病原学检测结果对比（ $\bar{x} \pm s$ ，分）

组别	mNGS 检测阳性		mNGS 检测阴性		合计	
	例数	占比	例数	占比	例数	占比
传统培养阳性	26	35.6%	2	58.6%	28	35.0%
传统培养阴性	47	63.4%	5	71.4%	52	65.0%
合计	73	100%	7	100%	80	100%

从80名患者的mNGS检查结果中看，一共有73例患者结果为阳性，在病原体种类上分别为细菌、病毒、真菌、沙眼衣原体。在肺炎链球菌的检查中，以痰培养和支气管肺泡灌洗液的培养率更高，而在卡拉莫拉菌的检验中，以痰培养的检出率更高，在流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌的检查上，则为mNGS检出率更高，在金黄色葡萄球菌上，以mNGS以及灌洗液培养的检出率较高。同时，在mNGS检出病原体上，还有鲍曼不动杆菌、产黑色素普雷沃菌、轻型链球菌、假肺炎链球菌，虽然株数只有1株，但是对于患者群体的病情治疗也有至关重要的影响。在对比三种检验方式中，传统培养方案可以检测到的病原体种类多，但是不能确认具体的病原体，以确认种类为主，故而在存在局限性。

同时，在对不同特征患者支气管肺泡灌洗液mNGS阳性率检查中，可见影像学提示肺炎和PCT更具有统计学意义，以影像学提示肺炎检出率对比差异显著（ $P < 0.05$ ）。此外，在对比性别、发热、咳嗽、气促、喘息、使用丙球、住院天数、CRP $>8$ 、白细胞数正常等指标分析中，并不影响mNGS的阳性检出率。

## 3 讨论

肺炎是常见的呼吸系统疾病，肺部感染肺炎后对人们的健康造成的影响大，应当结合先进的诊疗技术对患者的病情实施准确的判断，结合病原学检测结果制定药物治疗方案，可进而提升治疗效果。用以往的检查方式进行诊

断，实际应用的疗效有限，而应用mNGS技术，其具有快速检测、高通量和高敏感性的优势，对感染类疾病的分析起到较好的判断作用<sup>[3]</sup>。在支气管肺泡灌洗液中结合mNGS检测，特别是针对难治性肺部感染病原体的检出上优势显著，在真菌、病毒以及特殊病原体上有较好的检出效果，可作为有效的检测方式，帮助医师更好地判断肺部疾病情况<sup>[4]</sup>。

在本次调研中也存在灌洗液mNGS为阴性的结果，究其原因与以下几点有关。第一，标本受到了病原体污染；第二，标本为支气管肺泡灌洗液，且由于支气管镜操作技术也会对结果产生影响<sup>[5]</sup>。第三检测仪器对于特殊病原体的检出率低，可以改进仪器。第四，延长送检时间后，可能对检查结果造成影响。在本次调研中，对比不同特征患者支气管肺泡灌洗液mNGS阳性检出率，同时也对相关影响因素进行了调研，认为患者的性别、年龄、症状、住院天数、使用抗生素等均不对结果产生影响，但是如果有影像学提示肺炎、PCT指标异常，则可以说明患者患有肺部感染性疾病。由于口腔鼻腔的污染、抗生素的使用等，传统培养的检测阳性率较低，能检测到的主要是细菌，对于特殊病原体的检测十分薄弱<sup>[6]</sup>。mNGS依赖于非细胞系统中二代测序技术文库的制备，并行产生数千至数百万个测序反应，直接检测到测序输出，整个过程是循环和并行进行的，所以mNGS可以产生大量读数，能够以前所未有的速度对整个基因组进行测序，理论上能够将所有潜在病原体无偏倚检测出来<sup>[7]</sup>。

在结合其他学者的研究中，对于抗感染治疗一方面进行血液或者痰液标本的病原学检查，另一方面则结合胸部CT等相关影像学方案进行对比<sup>[8]</sup>。但是对于有持续发热、反复发热患者，一旦肺部影像学有进展，需要尽早进行BALF检查。在本次的调研中结合NGS以及影像学综合诊断指导抗菌药物的调整，可以提升治疗的准确性，也能减少抗菌药物的总数量。此外，对于有持续发热，但是在NGS检查为阴性的患者，可以结合胸部CT检查进行病情分析<sup>[9]</sup>。如果患者为下呼吸道正常，为无菌状态，但存在局灶性分布的肺部疾病，可结合支气管镜在病灶部位取样，在NGS分析中可针对多种不同病原体进行分析，对少见、不易培养的病原进行检测。有学者提出<sup>[10]</sup>，对于接受免疫治疗的患者，在进行病原学检查中，NGS的检出率高于传统方式，且在NGS指导下进行治疗的成功率也高于经验性治疗。可进一步提出，对于肺部感染患者在NGS方案下进行病原分析，可提升抗感染治疗水平和效率。由此我们认为关于肺部感染的患者进行NGS病原检查和传统方案相比，有利于为患者提供准确的抗感染治疗方案<sup>[11]</sup>。同时可以停用既往使用的抗菌药物。对于肺部感染患者，在明确病原体后的治疗要更具针对性，减少不必要抗菌药物的使用，也可以降低药物引起的毒副作用，降低患者治疗的经济成本<sup>[12]</sup>。值得一提的是，对于难治性、复发性发热的成年患者，在常规抗菌药物使用无效的前提下，以及传统病原学检查为阴性的时候，虽然患者存在不明显咳嗽、气喘情况，依然要进行。

肺部影像学检查,并在结合影像学结果后尽早地进行 NGS 检查,从而分析患者的治疗效果,也对后续使用的抗菌药物进行调整,这对于提升治疗结果十分有效<sup>[13]</sup>。

综上所述,针对难治性肺部感染患者,为其实施支气管肺泡灌洗液 mNGS 检测,可以提升病原体的检出率,

为患者寻找有效的治疗用药,有助于提升疗效,具有一定推广、应用价值。本次调研也有不足之处,如在分析过程中,也存在样本量少的问题,需要进一步扩大样本量进行验证,更好地分析支气管肺泡灌洗液 mNGS 检测的检出率以及相关影响因素,丰富调研结论。

### 参考文献

- [1] 刘薇,邵润霞,刘剑波,张晓萍,孙广浩.宏基因二代测序技术在非中性粒细胞减少性侵袭性肺真菌感染病原检测中的价值[J].中华实用诊断与治疗杂志,2022,36(11):1162-1165.
- [2] 孔娇,陈园园,蔡青山,赵亚芳,喻义杭.宏基因二代测序技术对非结核分枝杆菌肺病的诊断价值[J].中国防痨杂志,2022,44(11):1135-1140.
- [3] 胡津铨,王晨,顾一飞,陈华江,王新伟,陈宇,袁文.CT引导下经皮活检联合宏基因二代测序技术在脊柱感染诊治中的应用[J].脊柱外科杂志,2022,20(05):339-342.
- [4] 陆雯萍,费小明,丁明,余先球,王丽霞,雷芳,汤郁.肺泡灌洗液二代测序病原学检测对血液肿瘤患者抗菌治疗的意义[J].临床血液学杂志,2022,35(08):543-546+551.
- [5] 胡金伟,王稀,李晓琴,沈晖,伍勇.宏基因二代测序技术辅助诊断艾滋病合并耶氏肺孢子菌肺炎1例[J].临床检验杂志,2022,40(05):399-400.
- [6] 张安兵,袁小玲,夏秀琼,吕燕华,张丹丹,梁剑平.宏基因二代测序技术在无反应肺炎诊治中的应用价值[J].海南医学,2022,33(10):1266-1269.
- [7] Jain H, Rengaraj K, Sharma V, et al. Infection Prevalence in Adolescents and Adults With Acute Myeloid Leukemia Treated in an Indian Tertiary Care Center[J]. JCO Glob Oncol, 2020, 6: 1684-1695.
- [8] Langelier C, Kalantar KL, Moazed F, et al. Integrating host response and unbiased microbe detection for lower respiratory tract infection diagnosis in critically ill adults [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(52): E12353-E12362.
- [9] 张安兵,袁小玲,夏秀琼,吕燕华,张丹丹,梁剑平.宏基因二代测序技术在重症肺炎病原体检测及治疗方案制定中的应用[J].山东医药,2022,62(03):16-19.
- [10] 贾俊伟,巫嘉陵.脑脊液宏基因二代测序技术在病毒性脑炎/脑膜炎中的应用[J].医学综述,2021,27(22):4560-4565.
- [11] 徐慧,陈敏,孙永峰,程星,王琦,靳蓉.贵阳地区儿童重症社区获得性肺炎肺泡灌洗液病原及药敏分析[J].广东医学,2020,41(23):2394-2397.
- [12] 钮月英,吴晓虹,应可净.肺泡灌洗液宏基因二代测序技术对下呼吸道感染病原体检测的优势[J].中国实用内科杂志,2020,40(09):754-758.
- [13] 孟德权,秦欣,覃军.肺泡灌洗液与传统病原检测方法对小儿肺炎病原学诊断的价值分析[J].长江大学学报(自科版),2018,15(20):55-58.