



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2021.09.016

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.09.016

· 论著摘要 ·

感染病原高通量基因检测在肾移植术后肺部感染中的临床应用价值

伍伟 张勇 何东初

[关键词] 高通量基因检测; 肾移植术后; 肺部感染

[中图分类号] R563

[文献标识码] A

肾移植术后由于大剂量免疫抑制剂的使用,致使患者免疫功能下降,从而增加感染风险,特别是肺部感染。肾移植术后6个月内肺部感染常较危重,进展快,发展成急性呼吸窘迫综合征后治疗难度更大^[1],及早有效控制疾病进展是临床治疗的关键。近年来我们对患者肺泡灌洗液标本进行高通量基因检测(NGS),有利于病原快速和精准的检测,以指导临床治疗,现报告如下。

对象与方法

1. 对象:回顾分析2016年1月~2019年6月于我科住院且病历资料完整的肾移植术后肺部感染且完善NGS患者30例(观察组)及未行NGS患者30例(对照组)。纳入标准:(1)符合《中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南》^[2]中关于社区获得性肺炎的诊断标准;(2)同意并行经纤维支气管镜肺泡灌洗术;(3)病程为肾移植术后6个月以内。排除标准:院内感染、病情危重及不能配合完善肺部灌洗、合并其他部位感染者。观察组男28例,女2例,年龄29~58岁,平均年龄(46.93±14.43)岁,病程17天~6个月,平均病程(3.04±1.70)个月,感染发生时间:术后1个月内4例,术后1~3个月16例,术后3~6个月10例。对照组男26例,女4例,年龄21~58岁,平均年龄(42.37±10.06)岁,病程9天~6个月,平均病程(3.11±1.57)个月,感染发生时间:术后1个月内2例,术后1~3个月20例,术后3~6个月8例。两组患者性别、年龄、病程、感染发生时间比较差异均无统计意义($P>0.05$)。

2. 方法:收集患者入院时免疫抑制剂使用情况、治疗方法、病原体检出情况、实验室检查结果[(1-3)-β-D-葡聚糖检测(G试验)、曲霉菌半乳糖甘露糖检测(GM)试验、巨细胞病毒IgM、结核感染T细胞检测(T-SPOT.TB)]、肺部病灶吸收一半时间、药物减量时间、住院天数及不良反应情况。肺泡灌洗液NGS由华大基因完成,余指标由中部战区总医院实验室完成。所有患者病原体明确后针对不同病原体调整治疗方案,同时根据病情果断减量或停用免疫抑制剂,合理使用糖皮质激素,必要时给予丙种球蛋白冲击治疗^[3]。抗菌药物常选择亚胺培

南、头孢哌酮舒巴坦钠、替考拉宁、万古霉素、头孢曲松、莫西沙星,抗病毒药物选择更昔洛韦,抗真菌药物选择卡泊芬净、伊曲康唑、伏立康唑,抗肺孢子虫药物选择复方新诺明。

3. 统计学处理:应用SPSS 20.0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;计数资料以例和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 两组患者入院时免疫抑制剂使用情况比较:观察组30例患者中使用他克莫司+强的松+赛可平(或骁悉)27例(90.0%),使用他克莫司+赛可平(或骁悉)3例(10.0%)。对照组30例患者中使用他克莫司+强的松+赛可平(或骁悉)25例(83.3%),使用他克莫司+赛可平(或骁悉)5例(16.7%)。两组患者入院时免疫抑制剂使用情况比较差异无统计学意义($\chi^2=0.577$, $P=0.448$)。

2. 两组患者治疗方法比较:观察组患者早期经验性给予足量抗菌、病毒、真菌、肺孢子虫治疗7例(23.3%),对照组患者10例(33.3%);观察组患者给予抗细菌、病毒、真菌治疗6例(20.0%),对照组患者8例(26.7%);观察组患者给予抗细菌、病毒、肺孢子虫治疗5例(16.7%),对照组患者2例(6.7%);观察组患者给予抗细菌、病毒治疗6例(20.0%),对照组患者2例(6.7%);观察组及对照组患者给予抗细菌、真菌治疗各1例(3.3%);观察组患者单用抗细菌治疗5例(16.7%),对照组患者7例(23.3%)。两组患者治疗方法比较差异均无统计学意义($\chi^2=4.434$, $P=0.489$)。

3. 两组患者病原体检出情况比较:观察组30例患者中肺泡灌洗液病原体检出29例(96.7%),分别为耶氏肺孢子虫20例(66.7%,序列号222-511407)、巨细胞病毒5例(16.7%)、链球菌3例(10.0%)、肠杆菌3例(10.0%)、结核杆菌1例(3.3%)、金黄色葡萄球菌1例(3.3%)、及序列数较少(序列数<50)的微小黄奈瑟菌2例(6.7%)、黏液奈瑟菌2例(6.7%)、嗜血杆菌2例(6.7%)、粘液罗氏菌2例(6.7%)、霍氏肠杆菌1例(3.3%)、阴沟肠杆菌1例(3.3%)、放线菌2例(6.7%)、产气克雷伯菌1例(3.3%)、环状病毒1例(3.3%)、卡他莫拉菌1例(3.3%)。观察组患者中肺泡灌洗液涂片+培养病原体检出3例(10%),分别为大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌各1例(3.3%)。

对照组中肺泡灌洗液涂片 + 培养病原体检出 8 例 (26.7%), 分别为曲霉菌、铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌复合群、大肠埃希菌、洋葱伯克霍尔德、肺炎链球菌、琼氏不动杆菌、鲍曼不动杆菌各 1 例 (3.3%)。观察组患者病原体检出率、肺孢子虫检出率明显高于对照组 ($\chi^2 = 28.202, 27.075, P$ 均 < 0.001)。两组患者肺泡灌洗液涂片 + 培养病原体检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.781, P = 0.182$)。

4. 两组患者实验室检验结果比较: 两组患者 G 试验、GM 试验、巨细胞病毒 IgM、T-SPOT. TB 阳性患者例数比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 两组患者实验室检验结果比较 [例, (%)]

组别	例数	G 试验 阳性	GM 试验 阳性	巨细胞病毒 IgM 阳性	T-SPOT. TB 阳性
观察组	30	16 (53.3)	2 (6.7)	3 (10.0)	1 (3.3)
对照组	30	14 (46.7)	5 (16.7)	5 (16.7)	3 (10.0)
χ^2 值		0.267	0.647	0.144	0.268
P 值		0.606	0.421	0.704	0.606

5. 两组患者肺部病灶吸收一半时间、药物减量时间、住院天数及不良反应情况比较: 根据肺泡灌洗液 NGS 结果及时调整治疗方案, 发现观察组患者肺部病灶吸收一半时间、药物减量时间、住院天数均低于对照组 ($P < 0.05$), 见表 2。不良反应方面, 观察组患者白细胞计数下降 1 例 (3.3%), 明显低于对照组 6 例 (20.0%, $\chi^2 = 4.043, P = 0.044$)。观察组患者恶心呕吐 2 例 (6.7%), 食欲减退 1 例 (3.3%), 对照组患者恶心呕吐 4 例 (13.3%), 食欲减退 3 例 (10.0%), 组间比较差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 0.748, P = 0.389; \chi^2 = 1.071, P = 0.301$)。

表 2 两组患者肺部病灶吸收一半时间、药物减量时间、住院天数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	肺部病灶吸收 一半时间 (天)	药物减量时间 (天)	住院天数 (天)
观察组	30	10.70 $\pm$ 1.12	13.50 $\pm$ 1.04	18.23 $\pm$ 6.46
对照组	30	12.43 $\pm$ 1.85	15.73 $\pm$ 2.50	23.30 $\pm$ 9.48
t 值		-4.709	-4.713	-2.453
P 值		<0.001	<0.001	0.020

讨 论

肾移植术后肺部感染早期表现不典型、病原体不明确, 及早完善肺部 CT、肺泡灌洗明确病原菌对于诊断、指导临床经验性治疗尤为重要^[4]。6 个月内出现肺部感染患者常以混合感染为主, 且重症感染者较多^[1,5]。临床中常给予联合降阶梯方案, 待病原体明确后及时调整方案^[6]。然而在临床实际中病原体检出率并不高, 传统的检测方法阳性诊断率为 30% ~ 70%, 导致使用广谱抗生素可能级别升高或完全不必要, 增加了中毒风险、消灭了保护性微生物群, 导致继发感染及多重耐药菌株产生。因此, 有效而精确使用抗生素是重症肺炎中的紧急需求^[7]。随着检验技术发展, NGS 在病原检测方面展现出优势, 其具有检测已知和未知病原体的优势, 可显著提高病毒、细菌、寄生虫和真菌序列的检测, 为医院感染预防措施提供信息^[8]。在抗生素耐药率不断上升的时代, 准确诊断和确定病原菌变得

越来越重要^[9-11]。

本文通过对 30 例患者肺泡灌洗液行 NGS 发现, NGS 在病原检出方面明显优于常规检验方法, 特别是肺孢子虫阳性率达 66.7%, 而我科既往无 1 例检出。NGS 大大提升了病原检出率, 病原学的早期诊断有利于调查临床治疗方案及改善预后。根据检验结果, 及时调整用药针对性治疗, 分析发现肺部病灶吸收时间提前、药物减量时机提前且总住院天数减少, 同时减少了用药带来的不良反应。而对照组不良反应增多, 特别是白细胞下降后继发感染增多, 延缓了肺部病灶的吸收, 延长住院时间^[12]。说明早期积极完善肺泡灌洗液 NGS 可明确病原体, 对治疗、预后、减少不良反应是有利的。当然本研究患者数量相对较少, 还需进一步扩大样本量以获得更可靠结论。

然而, 超灵敏的 NGS 在临床也存在需要分析的问题, 因为检测到通常不认为致病的群落或细菌, 需要对其致病性或缺乏致病性的具体解释。解释 NGS 检出的细菌的意义需要结合生命体征、白细胞计数、痰标本、胸部 X 线片、白细胞介素 6、降钙素原等。真菌需结合 G 试验、GM 试验, 特别是考虑肺孢子虫时 G 试验阳性、CD4⁺T 淋巴细胞水平降低更具有指导意义^[13]。因此, NGS 的诊断必须与临床结合, 通过测序提高诊断准确性以减少经验性和不必要的抗生素使用, 并改善患者预后^[10]。

综上所述, 肾移植术后患者病情复杂、进展较快, 在疾病早期完善肺泡灌洗液 NGS 可提高病原检出率, 尽早明确病原体, 对疾病精准治疗、合理用药及预后有较大临床意义, 值得在临床中进一步应用。

参 考 文 献

- [1] 杜源, 石炳毅, 钱叶勇, 等. 肾移植术后重症肺部感染 45 例回顾性分析[J]. 中国组织工程研究, 2008, 12(5): 913-916.
- [2] 瞿介明, 曹彬. 中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南 (2016 年版) 修订要点[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(4): 241-242.
- [3] 张旭, 许志宏, 毛仕辉. 肾移植术后严重并发症时免疫抑制药物的调整[J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(12A): 68-69.
- [4] 黄正楷, 赵欣, 陶俊, 等. 纤维支气管镜联合肺泡灌洗术在肾移植术后合并肺部感染患者中的应用[J]. 中华器官移植杂志, 2015, 36(3): 166-170.
- [5] 张朋朋, 明英姿, 叶敬发. 肾移植术后重症肺部感染患者死亡危险因素分析[J]. 中华移植杂志 (电子版), 2016, 10(2): 66-70.
- [6] 杨琦, 王养民, 梁晓燕, 等. 肾移植术后重症肺部感染的临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(1): 16-17.
- [7] Kitsios GD. Translating Lung Microbiome Profiles into the Next-Generation Diagnostic Gold Standard for Pneumonia: a Clinical Investigator's Perspective[J]. mSystems, 2018, 3(2): e00153-17.
- [8] 周燕琳, 陈亚娟. 感染病原二代高通量基因测序技术诊断肾移植术后非 HIV 型肺孢子菌肺炎一例[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(1): 43-44.
- [9] Greninger A, Zerr DM, Qin X, et al. Rapid metagenomic next-generation sequencing during an investigation of hospital-acquired human parainfluenza virus 3 infections [J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(1): 177-182.
- [10] Chalmers, James. The Modern Diagnostic Approach to Community-Acquired Pneumonia in Adults[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2016, 37(6): 876-885.
- [11] Fischer N, Indenbirken D, Meyer T, et al. Evaluation of Unbiased Next-Generation Sequencing of RNA (RNA-seq) as a Diagnostic Method in Influenza Virus-Positive Respiratory Samples [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(7): 2238-2250.
- [12] 伍伟, 张勇. 肾移植术后肺部感染 40 例临床分析[J]. 华南国防医学杂志, 2017, 31(11): 747-750.
- [13] 陈兆艳. 肺孢子虫肺炎实验室诊断方法的评估与进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(9): 1276-1278.

(收稿日期: 2020-01-17)

(本文编辑: 余晓曼)