



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2025.12.002

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2025.12.002>

· 综述与讲座 ·

免疫低下宿主合并脓毒症微生物送检策略

李润杰 朱琤 余跃天

[摘要] 免疫低下宿主发生感染后易导致脓毒症,且具有起病隐匿、病原谱复杂、病情进展迅速及死亡率高等特点。传统的微生物检测手段面临阳性率低、耗时长等局限。因此,制定一套全面、快速、精准的微生物送检策略对指导此类患者早期目标性抗感染治疗并改善预后至关重要。本综述系统阐述了免疫低下宿主脓毒症的临床与病原学特征,深入分析了其诊断面临的独特挑战,并在此基础上提出了以“早、准、全、快、个体化”为核心的微生物送检总体原则。同时也对未来检测技术发展及多学科协作模式进行了展望,旨在为临床工作者提供一套系统、实用的微生物送检决策框架,以期提升免疫低下宿主脓毒症的病原学诊断水平。

[关键词] 免疫低下宿主; 脓毒症; 微生物送检; 病原学诊断; 宏基因组学

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

免疫低下宿主是脓毒症的高危人群,其在血液系统恶性肿瘤、实体器官移植、HIV 感染及长期使用免疫抑制剂等群体中的发病率持续上升。全球数据显示,免疫低下宿主占有脓毒症患者的 20% ~ 30%,且其病死率高达 40% ~ 60%,显著高于免疫正常宿主^[1]。这类患者因 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞或中性粒细胞功能严重受损,导致其免疫应答下降,感染阈值降低,不仅对常见病原体易感,更易遭遇机会性感染。与免疫正常宿主相比,其病程更为隐匿凶险,常缺乏典型的发热、WBC 计数升高等炎症表现,而代之以非特异性症状如意识改变、低血压或轻度低氧血症,致使诊断延迟平均达 24 ~ 48 小时^[2]。

在病原学层面,免疫低下宿主脓毒症的致病微生物呈现高度多样性。除常见革兰阴性菌(如鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌)和革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌)外,侵袭性真菌感染(如曲霉、毛霉、念珠菌、耶氏肺孢子菌)及病毒(如巨细胞病毒、EB 病毒)感染比例显著增高。然而,传统微生物检测方法(如涂片镜检、培养及血清学检测)在此类患者中存

在培养周期长(常需 48 ~ 72 小时)、灵敏度低(尤其在已使用抗生素后)、无法覆盖病毒及非典型病原体,且因免疫低下宿主抗体产生延迟致使血清学检测可靠性下降等局限性。这些局限导致近 30% ~ 40% 的患者无法获得病原学诊断,严重阻碍精准治疗^[3]。因此,构建整合快速分子诊断与优化标本送检流程,并基于感染部位与风险分层实施的精准送检策略,已成为缩短诊断时间、指导靶向治疗、最终改善临床预后的迫切需求,也是当前脓毒症防控体系中的关键环节。

一、免疫低下宿主合并脓毒症的诊断挑战与送检原则

免疫低下宿主合并脓毒症时,其诊断面临诸多独特挑战。首先,此类患者的炎症反应常不典型或缺失,导致降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)等常规炎症指标的敏感性与特异性显著下降,使其在早期识别和病情评估中的价值有限^[4]。其次,传统的微生物学检测方法(如血培养),在此类患者中阳性率偏低且耗时较长(通常需要 24 ~ 72 小时),难以满足快速确定病原体的临床需求。再者,由于宿主防御功能受损,混合感染(细菌、真菌、病毒共存)与治疗过程中的继发感染极为常见,使得病原体的全面甄别异常困难。最后,免疫低下状态下的微生物定植现象普遍,如何准确区分定植菌与真正的致病菌,避免过度治疗或治疗不足,在临床实践中极具挑战性。

为应对上述挑战,制定并遵循系统化的微生物送检总体原则至关重要。其核心可概括为五大原则:“早”,即时机优先,务必在首次经验性使用抗菌药物

基金项目:国家教育部多脏器衰竭预警与干预重点实验开放基金(2023KF07、2024KF03);上海市科学技术委员会科技创新行动计划(24SF1900703);湖州市智能药学与个体化治疗重点实验室开放基金重点项目(HZKF-20240101)

作者单位:200001 上海,上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科(李润杰、余跃天);上海交通大学医学院附属瑞金医院预防保健科(朱琤)

通讯作者:余跃天, E-mail: fishyyt@sina.com; 朱琤, E-mail: zhuchengl203@163.com

之前完成血液及其他关键标本的采集,以避免药物对病原体检出的抑制。“准”,指操作规范,严格遵守无菌规程与样本采集要求,从源头确保标本质量,避免污染导致的误判。“全”,强调覆盖广泛,应根据感染可疑部位,采用多部位(如同时采集呼吸道、血液、尿液标本)、多方法(联合涂片、培养、分子诊断、抗原检测)与多时段动态送检策略,以提高检出率并捕捉混合感染。“快”,是技术导向,积极应用如多重 PCR、宏基因组下一代测序等快速诊断技术,大幅缩短诊断时间窗,为精准治疗抢占先机。最后,“个体化”是根本,必须结合患者的基础疾病、具体的免疫缺陷类型及流行病学史,量身定制最具针对性的送检方案,实现真正的精准诊断。

二、常规微生物送检策略的优化与应用

1. 血液样本的送检:在血液标本送检方面,血培养是脓毒症诊断的基石,其操作规范直接影响阳性率。必须强调足量、多套、多部位采集。成人每瓶应注入 8~10 ml 血液以满足检测敏感度,并需在不同静脉穿刺点短时间内采集至少 2 套培养瓶(每套均包含需氧瓶与厌氧瓶),以有效区分病原体与污染菌,并提高血流感染的检出率。采血时机应重点关注体温变化的动态过程,尤其在寒战、体温上升期或出现明显炎症反应症状时,而非机械性的等待高热峰值^[5]。对于特殊病原体,如临床怀疑侵袭性真菌或分枝杆菌感染,应主动使用相应的专用培养瓶(如真菌瓶、分枝杆菌瓶),以优化苛养微生物的生长环境^[6]。此外,血清学检测如 G 试验、GM 试验是侵袭性真菌病的重要辅助手段,但其特异性易受白蛋白、球蛋白输注及某些抗菌药物影响,存在假阳性可能,因此连续、动态监测其数值变化趋势,并结合影像学与临床表现进行综合判读,比单次阳性结果更具临床指导意义^[7]。

2. 呼吸道样本的送检:呼吸道标本的送检策略需根据标本质量与来源进行分层优化。对于痰液标本,其诊断价值高度依赖于标本质量,必须在送检培养前进行革兰染色镜检,通过评估鳞状上皮细胞与白细胞数量来判断其是否合格。但即便如此,其在免疫低下患者中易受定植菌干扰,总体价值有限。相比之下,经支气管镜获取的支气管肺泡灌洗液(BALF)因其直接来源于感染部位,能最大程度避免上呼吸道污染,被视为下呼吸道病原学诊断的“金标准”标本^[8]。BALF 的送检项目应全面,除常规细菌、真菌培养外,还应包括 GM 试验以辅助曲霉菌感染诊断,抗酸染色与培养以筛查结核与非结核分枝杆菌,细胞学检查以发现耶氏肺孢子菌等特殊病原体,并积极应用分子检测技术,实

现病毒及非典型病原体的快速、精准鉴定。

3. 其他无菌部位体液送检:对于其他无菌部位体液,规范送检是明确局部感染的关键。脑脊液检测除常规进行生化、细胞计数、涂片及培养外,应高度重视多重 PCR 或 FilmArray 等分子检测的快速诊断价值,它们能在数小时内检出包括病毒、细菌及耐药基因在内的多种病原体,对急性脑膜炎/脑炎的早期靶向治疗至关重要^[9]。对于胸腔积液、腹腔积液及关节液等体液,规范的采集与送检流程是保证结果准确的前提。标本的获取应优先在抗菌药物使用前,通过无菌穿刺术获取足量液体(通常 > 1 ml),并将其立即注入血培养瓶(需氧瓶与厌氧瓶)及无菌容器中,同时送检常规生化、细胞分类计数及涂片革兰染色,此举能显著提高病原体检出率,并为鉴别标本的感染性质提供关键依据^[10]。

三、新型微生物检测技术的革新与送检策略整合

1. 分子诊断技术:以多重 PCR 及 PCR-质谱联用为代表的分子诊断技术,显著提升了病原体筛查的时效与广度。这类技术能在一至数小时内对血液、脑脊液或呼吸道样本中的数十种常见细菌、真菌及病毒进行快速同步检测,为危重患者的初始经验性抗菌治疗提供关键方向^[11]。特定多重 PCR 平台,如 FilmArray 脑膜炎/脑炎组合与血源病原体组合,凭借其高度的集成化与自动化,在特定临床场景中实现了“样本进、结果出”的快速诊断,极大缩短了诊断时间窗。此外,针对特定病毒的 DNA 载量定量检测已成为评估免疫低下宿主体内病毒激活状态、鉴别定植与活动性感染,以及指导抗病毒治疗与疗效监测的核心工具。

2. 宏基因组学技术:宏基因组下一代测序(mNGS)技术通过高通量测序与生物信息学分析,无需预设前提,即可无偏倚地检测临床标本中全部的微生物核酸,展现出广谱覆盖的强大能力。对于常规微生物检查阴性、病情危重且病因不明的免疫低下脓毒症患者,mNGS 常被作为诊断的“终极武器”,在识别罕见病原体、新发传染病原及复杂混合感染方面屡建奇功^[12]。但高昂的成本限制了其普及,复杂的生物信息分析流程与庞大的数据量对实验室提出了更高要求。最关键的是,其检测出的核酸序列需结合临床谨慎解读,以区分真正的致病菌与定植菌或环境背景,这一过程高度依赖多学科协作,且目前尚缺乏全球统一的技术与报告标准化规范^[13]。

3. 基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱(MALDI-TOF MS):该技术通过检测微生物自身独特的蛋白质谱图,实现了对分离菌株或酵母样真菌的快速、精准鉴

定,将传统方法中需耗时数十小时的纯培养后鉴定过程缩短至数分钟^[14]。其在送检策略中的核心定位在于作为传统微生物培养方法的强大补充与增效工具,能极大加速血培养阳性瓶、痰培养分离株等纯培养物的种属鉴定,从而为抗菌药物的早期精准选择提供依据。其面临的主要挑战在于目前尚不能直接用于复杂的原始临床标本(如痰液、BALF),必须依赖成功的先期分离培养。同时,其鉴定能力受数据库中谱图覆盖范围的限制,对某些罕见菌种的鉴定仍存在困难,且对混合菌落的鉴定效果不佳^[15]。尽管如此,它依然是连接传统培养方法与现代精准诊断技术的关键桥梁。

免疫低下宿主合并脓毒症的新型微生物诊断技术比较与选择路径见表 1。

四、基于免疫缺陷类型的个体化送检策略

1. 中性粒细胞缺乏伴发热患者:对于中性粒细胞缺乏伴发热患者,其送检策略需兼具广谱性与紧迫性。血培养是诊断的基石,必须严格执行多套、足量的采集原则。同时,应迅速进行肺部高分辨率 CT 等影像学

评估,一旦发现浸润影,需积极考虑通过支气管肺泡灌洗获取 BALF 标本进行病原学分析。此外,对肛周、口腔黏膜等常见隐匿感染灶的评估同样不可或缺^[16]。关键在于,当初始经验性广谱抗感染治疗无效时,不应盲目等待,而应迅速升级诊断手段,及时将血液或 BALF 等样本送检宏基因组测序,以无偏倚地探寻潜在的特殊病原体、罕见菌或混合感染,为后续抢救性治疗提供关键依据。

2. 实体器官移植受者:实体器官移植受者的感染风险与送检重点随术后时间动态演变。术后 1 个月内,感染多与供体来源病原体或手术技术性并发症相关,送检策略应侧重于手术部位分泌物、引流液及血液的常规细菌培养。术后 1~6 个月,随着免疫抑制剂作用达到高峰,机会性感染风险剧增,送检策略需系统性地覆盖巨细胞病毒、EB 病毒的 DNA 监测,耶氏肺孢子菌肺炎的 BALF-mNGS 或血清 G 试验检测,以及曲霉菌的 GM 试验和影像学筛查。至术后 6 个月以上,患者面临社区获得性病原体与潜伏病毒再激活的双重威胁,送检策略需兼顾社区呼吸道病原体检测与对中晚

表 1 免疫低下宿主合并脓毒症的新型微生物诊断技术比较与选择路径

技术名称	核心原理	优势	局限性	最佳适用场景
多重 PCR/PCR	通过特异性引物对已知目标病原体的核酸进行扩增检测	1. 速度快(1~6 小时)	1. 检测范围窄,仅能检测组合内预设的病原体	1. 疑似特定病原体感染(如流感病毒、耶氏肺孢子菌、曲霉、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、艰难梭菌)
		2. 灵敏度与特异性高	2. 无法发现新病原体或组合外病原体	2. 作为快速初筛手段
		3. 可定量(如 CMV、EBV)	3. 当存在同源序列时,可能出现交叉反应	3. 流行病学监测
		4. 技术成熟,普及度高		
MALDI-TOF MS	通过检测微生物核糖体蛋白的独特指纹图谱来鉴定物种	1. 鉴定速度极快(数分钟)	1. 依赖纯培养,无法直接用于原始样本	1. 与培养技术联用,用于快速鉴定血培养、痰培养等分离出的细菌、酵母菌
		2. 成本较低	2. 数据库覆盖范围影响鉴定能力	2. 提升传统培养法的效率和准确性
		3. 高通量,自动化程度高	3. 对混合感染鉴定困难	
		4. 鉴定准确度高至种水平		
靶向新一代测序(tNGS)	针对特定病原体(如细菌、真菌、病毒)的保守或特异基因区域进行深度测序	1. 敏感度高于 mNGS	1. 检测范围受限于预设的组合	1. 高度怀疑某类病原体但常规检测阴性(如中枢神经系统感染、呼吸道感染)
		2. 背景干扰小,不受人源核酸影响	2. 无法发现未知或罕见病原体	2. 需要高灵敏度检测特定病原体(如结核分枝杆菌、隐球菌)
		3. 测序数据量小,分析更快、成本更低	3. 需要先验知识来设计组合	3. 作为 mNGS 的补充验证
		4. 可同时检测耐药基因		
宏基因组新一代测序(mNGS)	对样本中全部核酸进行无偏倚高通量测序,与数据库比对以鉴定所有潜在病原体	1. 无偏倚性,无需预先假设,覆盖范围广(细菌、病毒、真菌、寄生虫)	1. 成本高昂	1. 疑难、危重、罕见感染,尤其是免疫低下宿主
		2. 具备发现新病原体的潜力	2. 人源背景核酸干扰大,可能导致假阴性	2. 传统方法无法明确病原体的脓毒症
		3. 可直接用于临床样本(血、脑脊液、BALF 等)	3. 数据分析复杂,解读依赖临床经验	3. 混合感染或常规培养阴性的感染
			4. 无法区分定植与感染	

期机会性感染的持续警惕^[17]。

3. 造血干细胞移植后患者:造血干细胞移植后患者的免疫重建过程漫长且复杂,其送检策略需紧密结合移植后时间轴进行精准分层。在移植后早期中性粒细胞缺乏阶段,其策略与中性粒细胞缺乏伴发热患者一致,以血培养和肺部感染排查为核心。随着植入成功,患者进入以 T 淋巴细胞功能缺陷为主的中后期,此时送检重点应转向针对病毒、耶氏肺孢子菌及侵袭性真菌的预防性筛查与监测^[18]。尤其需要关注的是合并移植抗宿主病的患者,因需强化免疫抑制,其机会性感染风险成倍增加,送检策略需更加积极和深入,例如对难以解释的皮疹、腹泻或肝功能异常,应及时进行相应组织或体液的活检、培养及分子检测。

4. HIV/AIDS 患者:HIV/AIDS 患者的送检策略核心在于依据 CD4⁺T 淋巴细胞计数进行风险分层,当其低于 200 个/ μ l,尤其低于 100 个/ μ l 时,患者进入 AIDS 期,发生严重机会性感染的风险显著增高。此时的送检策略应有明确的针对性。对于呼吸道症状,需重点排查耶氏肺孢子菌(首选 BALF-mNGS 或六胺银染色)和结核分枝杆菌。对于中枢神经系统症状,需优先考虑隐球菌性脑膜炎(脑脊液墨汁染色、荚膜抗原检测)和弓形虫脑病(头颅影像学结合血清学或 PCR),并系统性开展巨细胞病毒血症和侵袭性真菌感染的筛查。此分层策略能确保有限的医疗资源用于最高危的病原体排查,从而最有效地改善患者预后^[19]。

五、总结与展望

免疫低下宿主合并脓毒症的病原学诊断是一项极具复杂性与紧迫性的临床挑战。本文系统阐述了此类患者因感染表现不典型、病原谱广泛且混合感染率高、传统炎症指标与微生物检测方法效能有限所面临的独特困境,凸显了建立快速、精准且高度个体化送检策略的必要性。有效的送检策略必须坚持“常规优化”与“新技术整合”并重的原则。一方面需严格规范血培养、合格呼吸道标本等传统方法的采集流程,确保其基础效能;另一方面,应积极将分子诊断与宏基因组学等新技术纳入分层送检路径,形成优势互补的诊断体系,以缩短诊断延迟时间,指导临床精准抗感染治疗。

展望未来,微生物送检策略的发展将在多个层面持续深化。在技术层面,推动 mNGS 技术的自动化、标准化与成本控制是其走向常规临床应用的关键,同时发展不依赖培养的快速药敏技术将是下一个突破方向。在临床实践层面,建立由感染、重症、微生物、药学等多学科组成的病原体诊断快速响应团队,并开发融合临床数据与检测结果的人工智能决策支持系统,将

极大提升结果解读与治疗转化的效率。在科研方向,未来应致力于开展基于真实世界大数据的精准送检路径研究,以形成高级别循证依据;同时,探索将宿主反应基因表达谱等新型生物标志物与病原学诊断结果进行联合解读,有望最终实现对免疫低下脓毒症患者从经验性防控到早期精准靶向防治的范式转变。

参 考 文 献

- [1] Deinhart-Emmer S, Chousterman BG, Schefold JC, et al. Sepsis in patients who are immunocompromised: diagnostic challenges and future therapies[J]. *Lancet Respir Med*, 2025, 13(7): 623-637.
- [2] Kreitmman L, Helms J, Martin-Loeches I, et al. ICU-acquired infections in immunocompromised patients[J]. *Intensive Care Med*, 2024, 50(3): 332-349.
- [3] Gauer R, Forbes D, Boyer N. Sepsis: Diagnosis and Management[J]. *Am Fam Physician*, 2020, 101(7): 409-418.
- [4] Stoma I, Karpov I, Uss A, et al. Combination of sepsis biomarkers may indicate an invasive fungal infection in haematological patients[J]. *Biomarkers*, 2019, 24(4): 401-406.
- [5] Fabre V, Carroll KC, Cosgrove SE. Blood Culture Utilization in the Hospital Setting: a Call for Diagnostic Stewardship[J]. *J Clin Microbiol*, 2022, 60(3): e0100521.
- [6] Kim TH, Kang J, Jang H, et al. Blood culture-free ultra-rapid antimicrobial susceptibility testing[J]. *Nature*, 2024, 632(8026): 893-902.
- [7] Dierikx TH, van Kaam AHLC, de Meij TGJ, et al. Umbilical cord blood culture in neonatal early-onset sepsis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Pediatr Res*, 2022, 92(2): 362-372.
- [8] Shen R, Jiang Y, Liu G, et al. Single-Cell Landscape of Bronchoalveolar Lavage Fluid Identifies Specific Neutrophils during Septic Immunosuppression[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(11): e2406218.
- [9] Caunedo-Jiménez M, Fernández-Colomer B, Fernández-Suárez J, et al. Clinical Utility of the FilmArray® Blood Culture Identification (BCID) Panel for the Diagnosis of Neonatal Sepsis[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(3): 732.
- [10] Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections-Standard and progress in pathogen diagnostics[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(2): 142-150.
- [11] Rule R, Paruk F, Becker P, et al. Diagnostic accuracy of the BioFire FilmArray blood culture identification panel when used in critically ill patients with sepsis[J]. *J Microbiol Methods*, 2021, 189: 106303.
- [12] Cheng Z, Yu F. Clinical Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Immunocompromised Patients with Sepsis[J]. *Med Sci Monit*, 2022, 28: e937041.
- [13] Elbehiry A, Abalkhail A. Metagenomic Next-Generation Sequencing in Infectious Diseases: Clinical Applications, Translational Challenges, and Future Directions[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2025, 15(16): 1991.
- [14] Luethy PM, Johnson JK. The Use of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) for the Identification of Pathogens Causing Sepsis[J]. *J Appl Lab Med*, 2019, 3(4): 675-685.
- [15] Park JM, Noh JY, Kim MJ, et al. MALDI-TOF Mass Spectrometry Based on Parylene-Matrix Chip for the Analysis of Lysophosphatidylcholine in Sepsis Patient Sera[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(22): 14719-14727.
- [16] Kochanek M, Schalk E, von Bergwelt-Baildon M, et al. Management of sepsis in neutropenic cancer patients: 2018 guidelines from the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) and Intensive Care Working Party (iCHOP) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)[J]. *Ann Hematol*, 2019, 98(5): 1051-1069.
- [17] Timsit JF, Sonnevile R, Kalil AC, et al. Diagnostic and therapeutic approach to infectious diseases in solid organ transplant recipients[J]. *Intensive Care Med*, 2019, 45(5): 573-591.
- [18] Lehrnbecher T, Fisher BT, Phillips B, et al. Guideline for Antibacterial Prophylaxis Administration in Pediatric Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplantation[J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(1): 226-236.
- [19] Wake RM, Govender NP. mGem: Sepsis and antimicrobial resistance in the context of advanced HIV disease[J]. *mBio*, 2025, 16(5): e0076924.

(收稿日期: 2025-11-23)

(本文编辑: 余晓曼)