

- ment [J]. Acta Oncologica (Stockholm, Sweden), 2014, 53 (5): 580-589.
- [13] BOLCAEN J, ACOU M, MERTENS K, et al. Structural and metabolic features of two different variants of multiple sclerosis: a PET/MRI study [J]. Journal of Neuroimaging : Official Journal of the American Society of Neuroimaging, 2013, 23 (3): 431-436.
- [14] CHA S, PIERCE S, KNOPP E A, et al. Dynamic contrast-enhanced T2\*-weighted MR imaging of tumefactive demyelinating lesions [J]. AJNR American Journal of Neuroradiology, 2001, 22 (6): 1109-1116.
- [15] JAIN R, ELLIKA S, LEHMAN N L, et al. Can permeability measurements add to blood volume measurements in differentiating tumefactive demyelinating lesions from high grade gliomas using perfusion CT? [J]. Journal of Neuro-oncology, 2010, 97 (3): 383-388.

## • 临床研究 •

# 外周血宏基因组二代测序技术对恶性血液病合并发热患者的诊断价值

谢 颖 郑志海 曲 双 廖丽昇 陈碧云

**【摘 要】 目的** 探讨外周血宏基因组二代测序 (mNGS) 技术对恶性血液病合并发热患者的诊断价值。**方法** 回顾性分析 2021 年 6 月至 2023 年 6 月在我院住院治疗的恶性血液病合并发热的患者 23 份外周血 mNGS 结果, 与传统血培养检测结果进行比较, 分析其病原谱特征及抗感染的疗效。**结果** 23 例患者中, 通过外周血 mNGS 技术检出 9 例病毒感染、4 例细菌感染、2 例真菌感染、3 例病毒和细菌混合型感染、1 例病毒和真菌混合型感染。传统外周血培养仅检出 3 例细菌感染, 主要为肺炎克雷伯菌及鲍曼不动杆菌, 未检出真菌及病毒。外周血 mNGS 阳性检出率明显高于传统血培养 (82.6% vs. 13.0%,  $P < 0.05$ )。根据外周血 mNGS 检测结果进行针对性抗感染治疗, 有效率明显优于传统经验性抗感染治疗 (73.6% vs. 25.0%,  $P < 0.05$ )。**结论** 外周血 mNGS 技术在恶性血液病合并发热患者的病原学诊断上较传统血培养具有更高的价值, 有助于提高临床抗感染的疗效。

**【关键词】** 恶性血液病; 外周血宏基因组二代测序技术; 发热

**【中图分类号】** R552 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)07-0012-04

## Diagnostic value of peripheral blood metagenomic next-generation sequencing technology in patients with malignant hematologic diseases complicated with fever

XIE Ying, ZHENG Zhihai, QU Shuang, LIAO Lisheng, CHEN Biyun

Department of Hematology, Fujian Provincial Hospital, Shengli Clinical College of Fujian Medical University, Fuzhou University Affiliated Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China

Corresponding author: CHEN Biyun, Email: 253934019@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the diagnostic value of peripheral blood metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in patients with malignant hematologic diseases complicated with fever. **Methods** Twenty-three peripheral blood mNGS results from patients with malignant hematologic diseases complicated with fever who were hospitalized in Fujian Provincial Hospital from June 2021 to June 2023 were retrospectively analyzed, and compared with traditional blood culture tests. The characteristics of the pathogenic spectrum and the efficacy of anti-infection were analyzed. **Results** Among the 23 patients detected by peripheral blood mNGS technology, 9 cases were diagnosed of viral infection, 4 cases of bacterial infection, 2 cases of fungal infection, 3 cases of mixed viral and bacterial infection, and 1 case of mixed viral and fungal infection. Only three cases detected in traditional peripheral blood culture were diagnosed of bacterial infection, mainly *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter*.

**作者单位:** 福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院血液科 福州大学附属省立医院, 福州 350001

**通信作者:** 陈碧云, Email: 253934019@qq.com

**DOI:** 10.20148/j.fmj.2024.07.004

bacter baumannii, but no fungi and viruses were detected. The positive detection rate of mNGS in peripheral blood was significantly higher than that in traditional blood culture (82.6% vs. 13.0%,  $P < 0.05$ ). The effective rate of targeted anti-infective therapy based on the results of peripheral blood mNGS was significantly higher than that of traditional empirical anti-infective therapy (73.6% vs. 25.0%,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Compared with traditional blood culture, peripheral blood mNGS technology has higher positive detection rate than traditional blood culture in the etiological diagnosis of patients with malignant hematologic diseases complicated with fever, which is helpful to improve the clinical anti-infection efficacy.

**【Key words】** malignant hematologic diseases; peripheral blood metagenomic next-generation sequencing technology; fever

恶性血液病患者常因重症感染,尤其是肺部感染和血流感染,面临较高的死亡风险。传统血培养检测在恶性血液病患者识别病原体方面存在局限性,如阳性检出率低和检测时间长。宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)技术提供了一种更广泛的病原体筛查方法,有助于加速感染性疾病的诊断。本研究通过回顾性分析恶性血液病伴发热的患者外周血 mNGS 和传统血培养检测结果,探讨外周血 mNGS 技术在诊断和治疗恶性血液病发热患者感染方面的应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2021 年 6 月至 2023 年 6 月期间在福建省立医院血液科住院治疗的恶性血液病合并发热的患者共 23 例。所有患者在接受经验性抗感染治疗之前,采集外周血送检传统血培养,并同时送检外周血 mNGS。23 例恶性血液病患者中,女 5 例、男 18 例,中位年龄 46 (18~78) 岁。其中恶性淋巴瘤 15 例,骨髓增生异常综合征 4 例,急性白血病 4 例。15 例患者发热时有肺部感染表现,3 例有胃肠道感染表现,其余患者无明显的其他伴随症状。

## 1.2 方法

**1.2.1 样本采集** 当恶性血液病患者出现发热(体温超过 38 °C)或感到畏冷或寒战时,采集外周血样本。血培养的采集量标准为 10 mL,而 mNGS 检测的采集量则为 5 mL。所有样本均通过外周静脉采血获得,应避免在输液尤其是输注脂肪乳的同侧血管内采集血液标本,以减少溶血风险。采血后,需轻轻颠倒混匀样本 8 至 10 次。在采血前,要彻底清洁和消毒穿刺点及周围皮肤,以降低皮肤菌群对 mNGS 检测结果的干扰。采集的样本需迅速送至实验室进行分析。

外周血 mNGS 检测流程包括对外周血样本进行专门处理,提取核酸并构建文库,随后进行测序。测序数据经过分析,去除人类宿主序列,并通过与病原微生物数据库的比对来确定微生物种类。

最终,结合检测到的微生物种类、序列数量、疑似背景微生物库、阴性对照及临床症状,综合评估并出具检测报告。

**1.2.2 疗效判定标准** 按照 2015 年原国家食品药品监督管理局(CFDA)制定的《抗菌药物临床试验技术指导原则》进行临床抗感染治疗的疗效判定。临床治愈(有效):患者在治疗结束后所有感染相关的症状、体征均已消失或完全恢复正常,且影像学 and 实验室检查等非微生物学指标均已恢复正常。临床无效:患者在治疗结束后所有感染相关的症状、体征持续或不完全消失或恶化;或者出现了这一疾病的新的症状或体征和/或使用了其他的针对这一疾病的抗菌治疗措施<sup>[1]</sup>。

**1.2.3 统计学分析** 使用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。采用描述性统计,分类变量以例数和百分数表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 检测结果** 23 例患者外周血培养平均报告时间 7 d,总阳性检出率为 13.0% (3/23),均为细菌,主要为肺炎克雷伯菌及鲍曼不动杆菌,未检出真菌及病毒。外周血 mNGS 平均报告时间 2 d,23 例患者外周血 mNGS 组总阳性检出率为 82.6% (19/23),高于传统血培养 ( $P < 0.05$ ),检出病原体包括病毒 9 例、细菌 4 例、真菌 2 例、病毒和细菌混合型感染 3 例、病毒和真菌混合型感染 1 例。检出率较高的病毒有巨细胞病毒、EB 病毒和细小病毒;细菌检出率较高的为肺炎克雷伯菌,其次为鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、链球菌等;真菌检出种类以烟曲霉为主。外周血 mNGS 组病毒检出率高于传统血培养组,差异有统计学意义 (56.5% vs. 0%,  $P < 0.05$ )。23 例患者外周血 mNGS 与传统血培养检测均为阳性共 3 例,其中病原体完全一致仅 2 例,均为肺炎克雷伯菌。

**2.2 治疗效果** 纳入研究的所有伴有发热的恶性血液病患者 23 例均给予经验性抗感染治疗。外周血 mNGS 的病原学阳性结果的患者进行针对性抗

感染治疗, 15 例病情好转, 有效率达 78.9%。外周血 mNGS 和传统血培养均阴性的 4 例患者, 根据血液科经验性抗感染方案进行治疗, 仅 1 例患者出现病情好转 (25.0%), 有效率明显低于外周血 mNGS 阳性患者, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=4.542$ ,  $P<0.05$ )。

### 3 讨论

感染是临床各个科室都要面临的重要问题。药物和患者的免疫功能是抵御病原微生物的有力“武器”, 但当病原微生物的毒力和耐药性超过这两个“武器”的可控能力时, 感染就会发生。恶性血液病患者由于血液肿瘤侵犯骨髓或者化疗导致骨髓抑制, 常合并中性粒细胞减少、体液和细胞免疫功能缺陷, 如果同时合并高龄、糖尿病、低蛋白血症等多种危险因素, 经常发生严重的细菌、真菌或者病毒感染<sup>[2-3]</sup>。由于早期感染症状不明显, 且合并重度贫血或血小板减少, 无法接受侵入性检查, 加之传统病原学检测如痰培养和血培养的检测时间长, 检出阳性率不高, 导致许多恶性血液病患者在感染初期难以迅速确定病原体, 未能及时进行针对性抗感染治疗, 导致病情迅速恶化, 死亡率增加<sup>[4-5]</sup>。因此, 开发一种快速、简便、特异性强的病原诊断技术已成为血液科感染研究的前沿课题。宏基因组二代测序 (mNGS) 技术作为一种迅速、无需培养且具有广泛覆盖性的诊断手段, 在感染性疾病的诊断中显示出巨大潜力。mNGS 最大的优势在于高通量检测病原体全基因组序列, 可以同时分析几百万甚至上亿条 DNA 或 RNA 序列, 极大地加快了检测速度<sup>[6]</sup>。目前, mNGS 可检测样本有血液、肺泡灌洗液、脑脊液等, 检测的微生物类别涵盖细菌、真菌、病毒、支原体、分枝杆菌、寄生虫等<sup>[7-8]</sup>, 在肿瘤患者机会性感染的诊断上凸显出优势<sup>[9-10]</sup>。同时, mNGS 检测技术省去了微生物培养耗时且复杂的过程, 直接提取标本中的所有核酸片段的序列信息, 有助于快速检出临床上难以培养或不能培养的病原体。

2018 年上海中山医院 MIAO 等<sup>[11]</sup>回顾性分析了 511 例感染性疾病患者的临床数据, 发现 mNGS 可以不受抗生素的影响, 显著提高病原体识别的敏感性, 在感染性疾病的诊断中有良好的应用价值。2022 年中国医学科学院血液病医院冯四洲教授团队比较了血液病患者 mNGS 与传统微生物学的检测结果, 外周血 mNGS 的病原检出率明显高于传统微生物学检测 (72.6% vs. 31.4%), 外周血

mNGS 检测具有优良的灵敏度和特异度 (分别为 89.1% vs. 65.1%)<sup>[12]</sup>。另有研究显示在恶性血液病并发感染患者中 mNGS 诊断所需要的时间明显少于血培养, mNGS 的敏感性较血培养高, 根据 mNGS 结果指导药物的选择, 抗感染方案有效率提升到 49.30%<sup>[13]</sup>。为了评估外周血 mNGS 检测技术在恶性血液病伴发热患者的感染诊断和治疗中的价值, 我们回顾分析了 23 例恶性血液病患者的外周血 mNGS 和血培养检测结果, 发现外周血 mNGS 阳性率高达 82.6%, 其中细菌检出率为 30.4%, 真菌检出率为 13.0%, 病毒检出率为 56.5%, 明显优于传统血培养技术, 展现出更高的病原体识别能力, 为临床医生在鉴别发热原因和感染类型时提供了强有力的支持。付蓉教授团队回顾性分析血液病合并发热并进行外周血 mNGS 检测的患者的临床资料, 亦发现病毒和细菌混合型最为多见 (25.37%), 病毒阳性 55 例次 (82.09%), 外周血 mNGS 阳性率明显高于血培养及传统实验室检查。病毒在免疫缺陷的血液病患者中是主要感染原, 外周血 mNGS 检测技术在恶性血液病患者的病毒感染诊断中具有一定优势<sup>[14]</sup>。

在本项研究中, 外周血培养仅在 3 名恶性血液病患者中得到阳性结果, 而在传统血培养结果为阴性的 20 例患者中, 有 16 例通过外周血 mNGS 检测发现了病原体。依据外周血 mNGS 的检测结果进行的针对性抗感染治疗, 其有效率达到 78.9%, 明显超过了经验性治疗组的 25.0%。外周血 mNGS 的平均报告时间为 2 d, 明显短于传统血培养的平均报告时间 7 d, 为恶性血液病患者的感染诊断节省了宝贵的时间。相关研究指出, 免疫功能低下的患者根据 mNGS 检测结果调整抗感染治疗策略的比例为 87.2%, 而非免疫功能低下的患者这一比例为 60.7%, 两者之间差异有统计学意义 ( $P<0.001$ )<sup>[15]</sup>。这表明, 在免疫功能受损的恶性血液病患者中, 外周血 mNGS 技术在鉴别发热原因、诊断感染类型、指导抗生素使用以及调整抗感染治疗策略等方面, 均优于传统血培养方法, 具有进一步临床应用的价值。

本研究采用了回顾性分析方法, 初步对比了外周血 mNGS 检测与传统血培养在阳性检出率和指导抗感染治疗方面的差异, 对外周血 mNGS 技术在恶性血液病患者伴发热的诊断及治疗中的价值评估尚不全面, 今后需要通过扩大样本量做进一步的数据分析来进行深入研究。

## 参考文献

- [1] 《抗菌药物临床试验技术指导原则》写作组. 抗菌药物临床试验技术指导原则 [J]. 中国临床药理学杂志, 2014 (9): 844-856.
- [2] 高陆, 刘维佳, 袁钟. 恶性血液病合并血流感染患者病原菌分布及其预后影响因素 [J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21 (9): 891-898.
- [3] 梁波, 尹俊杰, 张胜楠, 等. 血液病患者血流感染病原菌分布及危险因素分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17 (8): 929-933.
- [4] 韦柳源, 杨帆, 高海娥, 等. mIPS 评分联合 T 淋巴细胞亚群对恶性血液病化疗粒细胞缺乏期并发血流感染的预测价值 [J]. 临床和实验医学杂志, 2023, 22 (14): 1482-1485.
- [5] 周云, 李享宸, 宋光彩, 等. 血液病患者合并血流感染 74 例临床分析 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21 (1): 21-26.
- [6] 钟珊, 杨明华. 宏基因组二代测序在儿童血液肿瘤合并感染中的应用 [J]. 中国当代儿科杂志, 2023, 25 (7): 718-725.
- [7] 林霞, 颜满珍, 王根绪, 等. 宏基因组二代测序技术对疑似中枢神经系统感染性疾病的病原诊断价值 [J]. 中国医药科学, 2023, 13 (10): 15-19.
- [8] 王明慧, 蒋露晰, 宋美君. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序技术在肺部感染病原诊断中的作用 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2023, 23 (3): 385-389.
- [9] 庞如利, 吴梅青, 石泽延, 等. 利用宏基因组高通量测序技术揭示血液病患者的感染谱 [J]. 中国全科医学, 2022, 25 (24): 3022-3028.
- [10] 刘雅婷, 宋飞雪, 李鑫, 等. 宏基因组二代测序在恶性肿瘤患者伴发颅内感染的临床应用及分析 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2021, 47 (5): 49-54.
- [11] 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.
- [12] XU C, CHEN X, ZHU G, et al. Utility of plasma cell-free DNA next-generation sequencing for diagnosis of infectious diseases in patients with hematological disorders [J]. J Infect, 2023, 86 (1): 14-23.
- [13] 王晓芳, 冯靖. 宏基因组二代测序在恶性血液病并发感染患者中的诊断价值 [J]. 天津医科大学学报, 2022, 28 (4): 428-432.
- [14] 郝山凤, 王一浩, 李丽娟, 等. 外周血宏基因组二代测序技术在血液病合并发热患者中的临床应用价值 [J]. 中华血液学杂志, 2022, 43 (9): 766-770.
- [15] 段智梅, 沈志勇, 胡晔, 等. 宏基因组高通量测序在免疫缺陷患者肺部感染诊断与治疗中的应用价值 [J]. 中华医学杂志, 2023, 103 (25): 1885-1891.

## • 临床研究 •

## 基于肿瘤最大径及肝固有动脉内径的肝细胞癌微血管侵犯术前预测模型的建立

王铭作 张明基 薛 忠 姚 义 陈昭硕

**【摘要】** 目的 探讨肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 血清学特征、CT 特征中微血管侵犯 (microvascular invasion, MVI) 的危险因素并构建、验证列线图预测模型。方法 回顾性分析 2017 年 8 月 15 日至 2022 年 2 月 9 日于福建省肿瘤医院接受根治性肝癌切除术的 274 例患者的临床资料, 并按照 7:3 随机分成训练组和验证组。分析训练组 MVI 阳性的独立危险因素并以此构建列线图预测模型, 绘制训练组及验证组受试者工作特征 (ROC) 曲线、校准曲线和决策曲线对模型进行评估。结果 单因素分析及多因素 logistic 回归分析显示肿瘤最大径 (MDT)、肝固有动脉内径 (IDOPHA) 是 MVI 阳性的独立危险因素。以此构建的列线图模型显示在训练组中曲线下面积 (AUC) 为 0.793, 在验证组中 AUC 为 0.867。校准曲线接近 45°, 显示模型在各个截点的预测值与实际值接近。决策曲线显示模型具有良好的临床应用价值。结论 构建的列线图预测模型能较准确地术前预测 MVI 阳性的概率, 有助于个体化治疗及临床决策。

**【关键词】** 肝细胞癌; 微血管侵犯; 肝固有动脉内径; 肿瘤最大径; 列线图

**【中图分类号】** R735.7 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)07-0015-06

作者单位: 福建医科大学肿瘤临床医学院 福建省肿瘤医院, 福州 350014

通信作者: 张明基, Email: fjszlmj@163.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.07.005