

# mNGS 技术和血清 G 试验在判断耶氏肺孢子菌感染与定植中的价值及二者相关性研究



扫描二维码  
查看原文

张彩霞, 刘新年, 杜川, 王新卫\*

**【摘要】** 背景 耶氏肺孢子菌(PJ)既可定植于肺部,亦可引起肺部感染。为避免临床过度治疗及延误治疗,识别定植与感染很重要。多项研究显示宏基因组二代测序(mNGS)技术及血清 1, 3-β-D 葡聚糖定量检测(G试验)可辅助诊断耶氏肺孢子菌肺炎(PJP),但二者有无鉴别PJ定植和感染的截断值呢?目的 探讨肺泡灌洗液mNGS技术、血清G试验在判断PJ感染与定植中的价值及二者之间相关性。方法 收集2018年9月至2022年5月在江汉大学附属湖北省第三人民医院住院治疗,且行肺泡灌洗液mNGS技术检出PJ序列数的40例肺部感染患者病例资料进行回顾性分析。根据mNGS检出PJ是否抗PJ治疗分为PJ感染组21例,PJ定植组19例。收集患者一般资料包括性别、年龄、体质指数(BMI)、吸烟史、基础疾病及用药史〔慢性肾脏疾病、血液系统疾病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染、实体器官移植、慢性肺部疾病、糖皮质激素/免疫抑制剂使用情况〕,临床症状(发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、咯血),影像学特点(磨玻璃渗出影、间质改变、实变、结节、胸腔积液、囊状),实验室指标〔白细胞计数、中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、降钙素原(PCT)、C反应蛋白(CRP)、乳酸脱氢酶(LDH)、动脉血氧分压/吸入氧浓度百分比(PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞计数〕,绘制mNGS序列数、血清G试验判断PJ感染与定植的受试者工作特征曲线(ROC曲线),分析二者的相关性。结果 PJ感染组较PJ定植组糖皮质激素/免疫抑制剂使用率高( $P<0.05$ );PJ感染组磨玻璃渗出影、间质改变比例高于PJ定植组( $P<0.05$ );PJ感染组CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞计数低于PJ定植组,而mNGS序列数、血清G试验高于PJ定植组( $P<0.05$ );ROC曲线示mNGS序列数与血清G试验鉴别PJ感染与定植的最佳截断值分别为24个、106.7 ng/L,ROC曲线下面积(AUC)分别为0.95、0.89,灵敏度分别为95.2%、76.2%,特异度分别为78.9%、89.5%。Spearman秩相关结果示mNGS序列数与血清G试验水平呈正相关( $r_s=0.769$ , $P<0.001$ )。结论 PJ感染患者糖皮质激素/免疫抑制剂使用率高,影像学表现为典型磨玻璃渗出影及间质改变,外周血CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞计数下降(尤其 $<200$ 个/ $\mu$ m<sup>3</sup>),血清G试验及mNGS检出PJ序列数明显升高,分别 $\geq 106.7$  ng/L、 $\geq 24$ 个时,有助于PJ感染的诊断。

**【关键词】** 肺炎,肺囊虫性;耶氏肺孢子菌;肺泡灌洗液mNGS技术;血清G试验;感染;定植;价值;相关性

**【中图分类号】** R 563.13 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0594

张彩霞,刘新年,杜川,等.mNGS技术和血清G试验在判断耶氏肺孢子菌感染与定植中的价值及二者相关性研究[J].中国全科医学,2023,26(11):1355-1360.[www.chinagp.net]

ZHANG C X, LIU X N, DU C, et al. mNGS and serum G test in distinguishing between pneumocystis jirovecii colonization and infection: value comparison and correlation analysis [J]. Chinese General Practice, 2023, 26 (11) : 1355-1360.

## mNGS and Serum G Test in Distinguishing between Pneumocystis Jirovecii Colonization and Infection: Value Comparison and Correlation Analysis ZHANG Caixia, LIU Xinnian, DU Chuan, WANG Xinwei\*

Department of Respiratory Medicine, Hubei No.3 People's Hospital of Jiangnan University, Wuhan 430033, China

\*Corresponding author: WANG Xinwei, Chief physician; E-mail: 3281490562@qq.com

**【Abstract】** **Background** Pneumocystis jirovecii (PJ) can colonize the lungs, and cause pulmonary infections. It is essential to distinguish between PJ colonization and infection in the lung to avoid clinical overtreatment and delayed treatment. Many studies have shown that both the mNGS technique and serum G test can be used to aid the diagnosis of PJ pneumonia, but it is still unclear whether they have the appropriate cut-off value to distinguish PJ colonization from PJ infection. **Objective** To investigate the values of mNGS of alveolar lavage fluid and serum G test in distinguishing between infection and colonization of PJ and to assess the correlation between them. **Methods** A retrospective study design was used. Forty inpatients with pulmonary

430033 湖北省武汉市,江汉大学附属湖北省第三人民医院呼吸内科

\*通信作者:王新卫,主任医师;E-mail:3281490562@qq.com

本文数字出版日期:2022-12-30

infections were recruited from Hubei No.3 People's Hospital of Jiangnan University from September 2018 to May 2022, and divided into PJ infection group ( $n=21$ ) and colonization group ( $n=19$ ), according to the prevalence of anti-PJ treatment based on mNGS results of alveolar lavage fluid. Clinical data were collected, including general information [gender, age, BMI, smoking history, underlying diseases (chronic kidney disease, hematological diseases, autoimmune diseases, malignancy, HIV, solid organ transplantation, chronic lung disease, the use of glucocorticoid/immunosuppressive agents)], clinical symptoms (fever, cough, phlegm, dyspnea, chest pain, hemoptysis), imaging features (ground-glass shadow, interstitial change, consolidation, nodule, pleural effusion, cyst), laboratory indicators (white blood cell count, neutrophil count, lymphocyte count, PCT, CRP, LDH, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T lymphocytes). The receiver operating characteristic (ROC) curve of mNGS and serum G test was plotted and analyzed to assess their performance in distinguishing between PJ infection and colonization, and the correlation between the two was analyzed. **Results** The utilization rate of glucocorticoids or immunosuppressants in PJ infection group was higher than that of colonization group ( $P<0.05$ ). The prevalence of ground-glass shadow and interstitial change in PJ infection group was higher than that of colonization group ( $P<0.05$ ). PJ infection group had lower number of CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T lymphocytes, but higher number of sequences of PJ detected by mNGS and higher level of serum G measured by serum G test than colonization group ( $P<0.05$ ). ROC analysis showed that in distinguishing between PJ infection and colonization, the optimal threshold of the number of sequences of PJ detected by mNGS was 24, with an AUC of 0.95, 95.2% sensitivity and 78.9% specificity, and that of serum G level measured by serum G test was 106.7 ng/L, with an AUC of 0.89, 76.2% sensitivity and 89.5% specificity. Spearman's correlation showed that the number of sequences of PJ detected by mNGS was positively correlated with serum G level measured by serum G test ( $r_s=0.769$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusion** The frequent use of glucocorticoid or immunosuppressive agent, imaging manifestation of typical ground-glass shadow or interstitial change, decreased number of peripheral blood CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T lymphocytes, especially  $<200/\mu\text{l}$ , and increased serum G level measured by serum G test ( $\geq 106.7$  ng/L) or increased number of sequences of PJ detected by mNGS ( $n \geq 24$ ), may be helpful for the diagnosis of PJ infection.

**【Key words】** Pneumonia, pneumocystis; Pneumocystis jirovecii; mNGS technique of alveolar lavage fluid; Serum G test; Infection; Colonization; Value; Correlation

耶氏肺孢子菌肺炎 (Pneumocystis jirovecii pneumonia, PJP) 是由耶氏肺孢子菌 (Pneumocystis jirovecii, PJ) 引起的人类呼吸系统机会性感染, 多发生于免疫功能低下者。由于 PJ 不能在体外培养基生长, 故目前确诊 PJP 仍是通过染色镜检发现呼吸道标本特征性的包囊或滋养体为主, 但传统的染色方法灵敏度不高, 使得大部分 PJP 患者不能得以准确、快速确诊<sup>[1]</sup>。因此, 还需结合临床表现以及其他检测方法。目前, 多项研究显示血清 1, 3- $\beta$ -D 葡聚糖定量检测 (G 试验)<sup>[2-6]</sup> 可辅助诊断 PJP, 且数值的高低可鉴别 PJ 定植和感染, 数值越高, 感染可能性越大, 但鉴别二者的截断值尚无定论。另外, 随着宏基因组二代测序 (metagenomic next generation sequencing, mNGS) 技术兴起, 由于该技术具有广覆盖、迅速高敏、无偏倚性的特点, 已被广泛应用于疑难、危重、特殊病原体检测<sup>[7-9]</sup> 及感染性疾病诊断中<sup>[10-12]</sup>, 因此提高了 PJP 的诊断率。尽管 mNGS 应用前景广阔, 但仍存在无法明确背景菌、污染菌、定植菌、致病菌等情况, 尤其 PJ 可以共生或以正常菌群的形式定植于人体呼吸道, 故当 mNGS 检出 PJ 序列时, 那么其是定植还是感染呢? 其有无合适的截断值予以判断呢? 本研究拟通过比较 PJ 感染者与定植者的临床特点以及血清 G 试验、肺泡灌洗液 mNGS 序列数的差异,

从而探讨肺泡灌洗液 mNGS 技术、血清 G 试验在判断 PJ 感染与定植中的价值以及二者相关性。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2018 年 9 月至 2022 年 5 月在江汉大学附属湖北省第三人民医院收治住院治疗且行肺泡灌洗液 mNGS 技术检出 PJ 序列数的 40 例肺部感染患者的病例资料进行回顾性分析。根据 mNGS 检出 PJ 是否抗 PJ 治疗分为两组: PJ 感染组 (mNGS 检出 PJ, 抗 PJ 治疗有效者) 21 例, PJ 定植组 (mNGS 检出 PJ, 未抗 PJ 治疗好转出院者) 19 例。PJP 诊断标准: (1) 临床表现为咳嗽、发热、呼吸困难、进行性缺氧等; (2) 影像学表现为多发性结节、多发斑片影或实变影、磨玻璃样改变或肺间质弥漫浸润病变等; (3) mNGS 检出 PJ 序列; (4) 由两位及以上具有高级职称且经验丰富的医生共同诊断; (5) 抗 PJ 治疗有效。两组排除标准: (1) 年龄  $<18$  岁; (2) 无肺部感染及病原学证据; (3) mNGS 前行经验性抗 PJ 治疗者; (4) 肺部真菌感染者, 严重心脏疾病及严重心律失常者, 近 1 个月发生心脑血管事件者, 严重精神心理性疾病及无行为能力不能配合完成肺泡灌洗液 mNGS 检查者等; (5) 临床资料不完整; (6) 后期随访不符合诊断者。本研究通过江汉大学附属湖北省第三人民医院伦理委员会审批 (2022 伦审科

第009号)。

## 1.2 方法

**1.2.1 临床资料** 收集患者一般资料包括性别、年龄、体质指数(BMI)、吸烟史(定义:近1年内平均至少吸烟1支/d)、基础疾病及用药史〔慢性肾脏疾病、血液系统疾病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染、实体器官移植、慢性肺部疾病、糖皮质激素/免疫抑制剂使用情况〕,临床症状(发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、咯血),影像学特点(磨玻璃渗出影、间质改变、实变、结节、胸腔积液、囊状),实验室指标〔白细胞计数、中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、降钙素原(PCT)、C反应蛋白(CRP)、乳酸脱氢酶(LDH),动脉血氧分压/吸入氧浓度百分比(PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞计数〕,进行血清G试验、半乳甘露聚糖检测(GM试验,用于鉴别真菌感染患者)。

**1.2.2 支气管肺泡灌洗液采集** 患者禁水、禁食4h,2%利多卡因喷雾局部麻醉咽部和鼻腔后,在olympusBF-260型电子支气管镜下采集支气管肺泡灌洗液,按《肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识(2017年版)》<sup>[13]</sup>进行操作,严格遵守无菌原则,灌洗部位根据胸部影像学确定,病变局限者选择病变段,弥漫性病者选择右肺中叶或左肺上叶舌段。当支气管镜到达目标支气管段或亚段后,将顶端嵌顿在入口处,经操作孔道快速注入37℃0.9%氯化钠溶液,总量60~120ml,分次注入(20~50ml/次),注入后立即以100mmHg(1mmHg=0.133kPa)负压抽吸,回收率40%~60%,回收的灌洗液装入灭菌容器中,一份(≥10ml)送检进行常规细菌、真菌培养,一份(≥5ml)行mNGS检测。

**1.2.3 mNGS检测方法** 支气管肺泡灌洗液干冰保存送至深圳华大基因(mNGS标本的采集、保存和运输严格按照该公司标准化规范执行)行mNGS检测,对样本中微生物核酸序列进行分析,与该公司病原数据库进行比对,得出报告结果序列数,从而对微生物进行鉴定。检测过程包括:核酸提取、RNA逆转录、目标片段化、文库构建、上机测序(测序下机后去除低质量和长度

<35bp的数据以获得高质量的数据)、生物信息分析、报告解读等。

**1.3 统计学方法** 采用SPSS 22.0统计软件分析,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;非正态分布的计量资料以M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)表示,采用Mann-whitney U检验进行组间比较;计数资料以相对数表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验、校正 $\chi^2$ 检验或Fisher's确切概率法;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线评估mNGS与血清G试验判断PJ感染与定植的价值,计算ROC曲线下面积(area under the curve, AUC)、灵敏度、特异度、最佳截断值。采用Spearman秩相关分析mNGS与血清G试验相关性。以P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组患者一般资料、基础疾病及用药史比较** 两组性别、年龄、BMI、吸烟史、基础疾病情况比较,差异均无统计学意义(P>0.05);PJ感染组糖皮质激素/免疫抑制剂使用率较PJ定植组高,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。

**2.2 临床症状及影像学特点比较** PJ感染组与PJ定植组发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、咯血比例比较,差异无统计学意义(P>0.05)。PJ感染组磨玻璃渗出影、间质改变比例高于PJ定植组,差异有统计学意义(P<0.05);两组实变、结节、胸腔积液、囊状比例比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表2。

**2.3 实验室指标比较** 两组白细胞计数、中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、PCT、CRP、LDH、PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>比较,差异无统计学意义(P>0.05);PJ感染组CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞计数低于PJ定植组,血清G试验、mNGS序列数高于PJ定植组,差异均有统计学意义(P<0.05,表3)。

**2.4 mNGS序列数与血清G试验鉴别PJ感染与定植的价值** mNGS序列数与血清G试验鉴别PJ感染与定植的最佳截断值分别为24个、106.7ng/L, AUC分别为0.95、0.89,灵敏度分别为95.2%、76.2%,特异度分别为78.9%、89.5%(图1、表4)。

**2.5 血清G试验与mNGS序列数相关性分析** Spearman秩相关结果示mNGS检出PJ序列数与血清G

表1 两组患者一般资料、基础疾病及用药史比较

Table 1 Comparison of general information, underlying diseases and medication history between two groups

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	吸烟史 [n(%)]	慢性肾脏疾病 [n(%)]	血液系统疾病 [n(%)]	自身免疫性疾病 [n(%)]	恶性肿瘤 [n(%)]	HIV感染 [n(%)]	实体器官移植 [n(%)]	慢性肺部疾病 [n(%)]	糖皮质激素/免疫抑制剂 [n(%)]
PJ感染组	21	15/6	62.0 ± 17.1	20.9 ± 2.8	16 (76.19)	4 (19.05)	2 (9.52)	2 (9.52)	5 (23.81)	1 (4.76)	2 (9.52)	2 (9.52)	11 (52.38)
PJ定植组	19	9/10	67.7 ± 11.7	20.8 ± 2.3	14 (73.68)	4 (21.05)	1 (5.26)	2 (10.53)	4 (21.05)	0	1 (5.26)	5 (26.32)	1 (5.26)
$\chi^2$ (t) 值		2.406	2.997 <sup>a</sup>	1.747 <sup>a</sup>	0	—	—	—	—	—	—	—	10.545
P 值		0.121	0.092	0.194	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.226	0.001

注: PJ= 耶氏肺孢子菌, BMI= 体质指数, HIV= 人类免疫缺陷病毒; —表示采用 Fisher's 确切概率法; <sup>a</sup> 为 t 值



表2 两组患者临床症状及影像学特点比较 [n (%)]  
Table 2 Comparison of clinical symptoms and imaging characteristics between two groups

组别	例数	发热	咳嗽	咳痰	呼吸困难	胸痛	咯血	磨玻璃渗出影	间质改变	实变	结节	胸腔积液	囊状
PJ感染组	21	14 (66.67)	17 (80.95)	10 (47.62)	17 (80.95)	2 (9.52)	1 (4.76)	15 (71.43)	13 (61.90)	9 (42.86)	3 (14.29)	2 (9.52)	1 (4.76)
PJ定植组	19	16 (84.21)	17 (89.47)	13 (68.42)	14 (73.68)	3 (15.79)	2 (10.53)	1 (5.26)	2 (10.53)	11 (57.89)	6 (31.58)	3 (15.79)	2 (10.53)
$\chi^2$ 值		0.835	—	1.766	—	—	—	18.195	11.235	0.902	—	—	—
P值		0.361	0.664	0.184	0.712	0.654	0.596	<0.001	0.001	0.342	0.265	0.654	0.596

注：—表示采用 Fisher's 确切概率法

表3 两组患者实验室指标比较  
Table 3 Comparison of laboratory indicators between two groups

组别	例数	WBC ( $\bar{x} \pm s$ , $\times 10^9/L$ )	Neu ( $\bar{x} \pm s$ , $\times 10^9/L$ )	Lym [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), $\times 10^9/L$ ]	PCT [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), $\mu g/L$ ]	CRP [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), mg/L]	LDH [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), U/L]	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), mm Hg]	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> T 淋巴细 胞计数 [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), 个/ $\mu l$ ]	血清 G 试验 [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), ng/L]	mNGS 序列数 [M ( $P_{25}$ , $P_{75}$ ), 个]
PJ感染组	21	9.32 ± 4.33	7.13 ± 3.55	0.90 (0.20, 1.30)	0.33 (0.23, 0.45)	55.00 (16.05, 104.10)	441 (242, 723)	310 (229, 362)	77 (34.5, 131)	193.2 (104.7, 1137.3)	520 (31, 4 583)
PJ定植组	19	8.03 ± 3.45	5.09 ± 2.92	0.70 (0.11, 1.36)	0.30 (0.25, 0.36)	54.00 (26.10, 95.00)	359 (260, 554)	323 (210, 379)	258 (226, 325)	80.9 (52.0, 102.7)	10 (5, 23)
Z (t) 值		2.007*	1.533*	-0.421	-0.841	-0.298	-0.528	-0.704	-5.134	-4.212	-4.810
P 值		0.165	0.223	0.674	0.400	0.766	0.597	0.481	<0.001	<0.001	<0.001

注：WBC= 白细胞计数，Neu= 中性粒细胞计数，Lym= 淋巴细胞计数，PCT= 降钙素原，CRP=C 反应蛋白，LDH= 乳酸脱氢酶，PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>= 动脉血氧分压 / 吸入氧浓度百分比，G 试验 =1, 3- $\beta$ -D 葡聚糖定量检测，mNGS= 宏基因组二代测序；\* 为 t 值

表4 mNGS 序列数与血清 G 试验鉴别 PJ 感染与定植的价值

Table 4 Value of the number of sequences of pneumocystis jirovecii detected by mNGS and serum G level measured by serum G test in differentiating pneumocystis jirovecii infection from colonization

指标	AUC (95%CI)	P 值	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)
mNGS 序列数	0.95 (0.88, 1.00)	<0.001	24 个	95.2	78.9
血清 G 试验	0.89 (0.79, 0.99)	<0.001	106.7 ng/L	76.2	89.5

注：AUC= 受试者工作特征曲线下面积

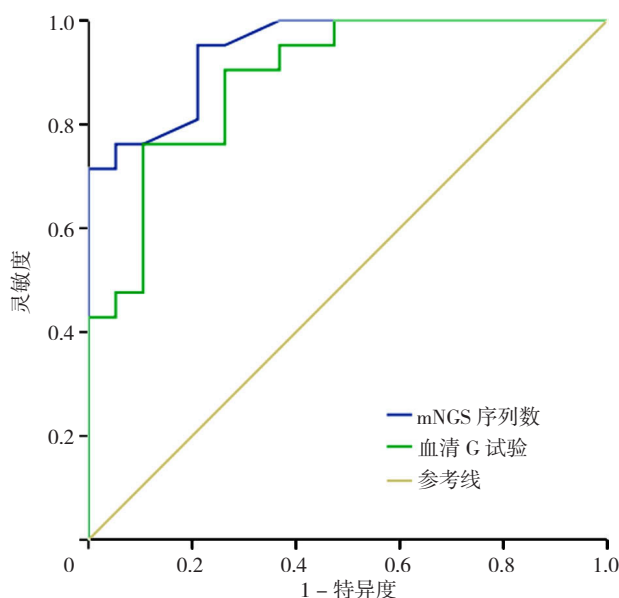


图1 mNGS 序列数与血清 G 试验鉴别感染与定植 ROC 曲线

Figure 1 The ROC curve of the number of sequences of pneumocystis jirovecii detected by mNGS and serum G level measured by serum G test in differentiating pneumocystis jirovecii infection from colonization

试验水平呈正相关 ( $r_s=0.769$ ,  $P<0.001$ , 图 2)。

### 3 讨论

由于呼吸道 PJ 定植相当普遍<sup>[14-15]</sup>，为避免临床过度治疗及延误治疗，识别定植与感染很重要。本回顾性研究通过比较 PJ 感染与定植不同之处，以期能为临床鉴定感染与定植提供依据。

在一般资料、基础疾病、用药史方面，本研究发现 19 例 PJ 定植组和 21 例 PJ 感染组绝大多数来自免疫缺陷患者如 HIV 感染、血液系统疾病、恶性肿瘤、实体器官移植、自身免疫性疾病、长期使用糖皮质激素 / 免疫抑制剂者等，部分来自慢性肺部疾病，另外定植组尚可见于免疫功能正常人群。因此，PJ 感染或定植除需重点关注免疫抑制个体人群外，尚需关注慢性肺部疾病。BABIC-ERCEG 等<sup>[16]</sup>及 LOWE 等<sup>[17]</sup>的研究亦提示 PJ 感染或定植与慢性阻塞性肺疾病、肺囊性纤维化以及间质性肺炎等多种呼吸系统疾病密切相关。可见，慢性肺部疾病在 PJ 感染或定植中亦扮演一定角色。同时，本研究发现 PJ 感染组约 52.4% 患者接受过糖皮质激素 / 免疫抑制剂治疗，而 PJ 定植组 19 例中仅有 1 例使用过糖皮质激素 / 免疫抑制剂，提示长期应用此类药物可能是 PJ 感染的高危因素。因此，当存在上述基础疾病，尤其接受糖皮质激素 / 免疫抑制剂治疗的患者应该警惕 PJP 的发生。

在临床表现方面，本研究发现 PJ 感染组与定植组在临床症状如发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、咯

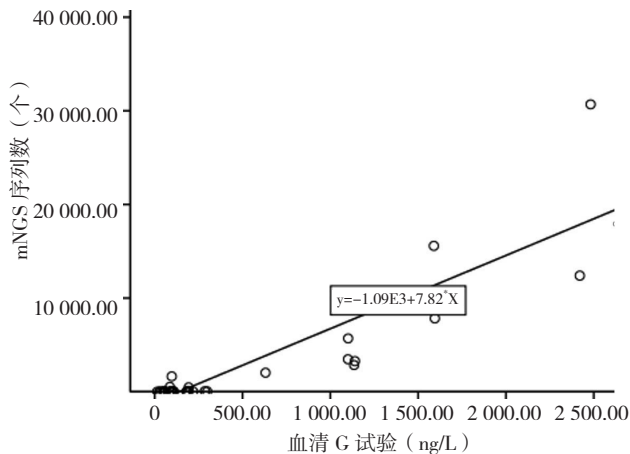


图2 mNGS 检出 PJ 序列数与血清 G 试验的相关性

Figure 2 Correlation between the number of pneumocystis jirovecii sequences detected by mNGS and serum G level measured by serum G test

血等症状间并无明显差异，提示通过临床症状无法区分二者。近年来，临床上常用肺部影像学改变、血液中 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞计数、血清 G 试验、LDH 等<sup>[18-19]</sup> 指标辅助诊断或预测 PJP。本研究发现 PJ 感染组典型磨玻璃渗出影、间质改变高于 PJ 定植组，但两组影像学特点如实变、结节、胸腔积液、囊状改变间比较无统计学差异。同时，本研究中两组 LDH 并无差异性，与 ESTEVES 等<sup>[2]</sup> 研究一致，提示靠 LDH 无法鉴别定植与感染，分析原因可能为 LDH 升高更多反映的是肺组织损伤的严重程度，不具特异性。但血清 G 试验 PJ 感染组明显高于定植组，与 LIU 等<sup>[20]</sup> 研究一致，分析原因可能与当 PJ 感染后经肺泡巨噬细胞吞噬、消化，1, 3-β-D 葡聚糖从胞壁中释放入血有关。另本研究发现 PJ 感染组 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞计数明显低于定植组，几乎所有 PJP 患者的外周血 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞计数 <200 个/μl，而且发现此部分患者 mNGS 检出 PJ 序列数明显高于定植组。因此，对于某些免疫功能低下的患者，在治疗过程中需密切监测 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞计数，一旦 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞数呈下降趋势时，需警惕 PJ 感染，此时可结合影像学、血清 G 试验、mNGS 检查来判断。

鉴于多项研究<sup>[4-6]</sup> 显示血清 G 试验对于诊断 PJP 以及判断治疗效果有一定的价值。而 DAMIANI 等<sup>[21]</sup> 人发现，实时荧光定量 PCR 可以根据 PJ 序列数不同来区分 PJ 感染或定植，但是序列数的临界值很难确定。基于此，是否可以依据 mNGS 检出 PJ 序列数及血清 G 试验来区分 PJ 感染和定植呢，其鉴别二者的临界值又如何呢。本研究以临床最终诊断 PJP 感染与定植为“金标准”，发现 mNGS 序列数与血清 G 试验鉴别感染与定植的最佳截断值分别为 24 个、106.7 ng/L，AUC 分别为 0.95、0.89，灵敏度分别为 95.2%、76.2%，特异度分别为 78.9%、89.5%。同时，本研究分析了血清 G 试

验与 mNGS 检出 PJ 序列数相关性，以期了解血清 G 试验与 PJ 负荷是否相关。本研究发现 mNGS 检出 PJ 序列数与血清 G 试验水平呈正相关，与 JIANG 等<sup>[22]</sup> 研究一致，但与 HELD 等<sup>[23]</sup> 和 LIU 等<sup>[20]</sup> 的研究不同，他们认为血清 G 试验与 PJ 负荷并不相关。分析造成差异的原因可能为：1, 3-β-D 葡聚糖并非 PJ 特异性标志物，且各研究间纳入分组标准及样本量不同。因此，本研究提示血清 G 试验与 mNGS 除可以辅助诊断 PJP 外，尚可将 PJ 感染与定植区分，当血清 G 试验水平 ≥ 106.7 ng/L、mNGS 检出 PJ 序列数 ≥ 24 个时，诊断 PJ 感染价值较大，mNGS 检出 PJ 序列数与血清 G 试验水平呈正相关。

PJ 定植相当普遍，临床上如何鉴别定植与感染是一大难题，本研究通过比较 PJ 感染者与定植者间临床特点、血清 G 试验、肺泡灌洗液 mNGS 序列数的差异，从而探索血清 G 试验及肺泡灌洗液 mNGS 序列数判断 PJ 感染与定植的价值，并求得截断值，为临床判断定植与感染提供了帮助，避免过度治疗及延误治疗。但本研究亦存在一定局限性：（1）mNGS 报告的解读，尚无统一标准，尽管本研究尝试了判断 PJ 感染与定植的 mNGS 序列数截断值，但由于受样本量小的局限，未动态监测血清 G 试验与 mNGS 中 PJ 序列数变化以了解其对评估治疗疗效有无价值。今后需扩大样本量，进行多中心前瞻性研究进一步验证。（2）对于判断 PJ 感染与定植，无标准的诊断参数，本研究以是否抗 PJ 治疗有效且经随访确认，故可能存在一定选择偏倚。

综上，考虑鉴别 PJ 感染与定植的模型可能包含：（1）免疫缺陷，尤其糖皮质激素 / 免疫抑制剂使用；（2）影像学表现为典型磨玻璃渗出影、间质改变；（3）外周血 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞计数降低，尤其 <200 个/μl；（4）血清 G 试验升高；（5）mNGS 检出 PJ 序列数。血清 G 试验及 mNGS 检出 PJ 序列数数值越高，感染可能性越大，血清 G 试验与 PJ 负荷呈正相关。今后研究方向：扩大样本量，动态监测血清 G 试验与 mNGS 中 PJ 序列数变化，了解其对评估治疗疗效有无价值。

作者贡献：张彩霞进行文章的构思与设计，文章的可行性分析，文献及资料收集、整理，撰写论文；刘新年进行论文的修订；杜川协助采集数据、分析数据；王新卫负责文章的质量控制及审校，技术支持，对文章整体负责。

本文无利益冲突。

#### 参考文献

- [1] ESTEVES F, MEDRANO F J, DE ARMAS Y, et al. Pneumocystis and pneumocystosis: first meeting of experts from Latin-American and Portuguese-speaking countries - a mini-review [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2014, 12 (5): 545-548. DOI:

- 10.1586/14787210.2014.894883.
- [2] ESTEVES F, CALÉ S S, BADURA R, et al. Diagnosis of pneumocystis pneumonia: evaluation of four serologic biomarkers [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21 (4): 379.e1-379.10. DOI: 10.1016/j.cmi.2014.11.025.
- [3] 李茜茜, 叶宁, 朱明利, 等. 1-3-β-D 葡聚糖检测在艾滋病相关肺孢子菌肺炎诊断中的价值 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28 (2): 161-164. DOI: 10.11816/cn.ni.2017-171269.
- LI Q Q, YE N, ZHU M L, et al. Value of 1-3-β-D glucan in diagnosis of AIDS-related pneumocystis pneumonia [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2018, 28 (2): 161-164. DOI: 10.11816/cn.ni.2017-171269.
- [4] SONG Y G, REN Y, WANG X W, et al. Recent advances in the diagnosis of pneumocystis pneumonia [J]. *Med Mycol J*, 2016, 57 (4): E111-116. DOI: 10.3314/mmj.16-00019.
- [5] WHITE P L, POSSO R B, GORTON R L, et al. An evaluation of the performance of the Dynamiker® Fungus (1-3) -β-D-Glucan Assay to assist in the diagnosis of pneumocystis pneumonia [J]. *Med Mycol*, 2017, 56 (6): 778-781. DOI: 10.1093/mmy/myx097.
- [6] TASAKA S. Serum (1 → 3) β-d-glucan assay for discrimination between pneumocystis jirovecii pneumonia and colonization [J]. *J Infect Chemother*, 2014, 20 (11): 678-681. DOI: 10.1016/j.jiac.2014.07.001.
- [7] MIAO Q, MA Y Y, WANG Q Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67 (suppl\_2): S231-240. DOI: 10.1093/cid/ciy693.
- [8] WU X D, LI Y Y, ZHANG M, et al. Etiology of severe community-acquired pneumonia in adults based on metagenomic next-generation sequencing: a prospective multicenter study [J]. *Infect Dis Ther*, 2020, 9 (4): 1003-1015. DOI: 10.1007/s40121-020-00353-y.
- [9] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组. 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28 (2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.005.
- The Expert Consensus Group of Metagenomic Analysis and Diagnostic Techniques in the Application of Acute and Severe Infections. Expert consensus on the application of metagenomic analysis and diagnostic techniques in acute and severe infections [J]. *Chinese Journal of Emergency Medicine*, 2019, 28 (2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.005.
- [10] DEURENBERG R H. Application of next generation sequencing in clinical microbiology and infection prevention [J]. *J Biotechnol*, 2017, 243: 16-24. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.12.022.
- [11] 张敏, 李伯安, 邱广斌. 下一代测序技术在感染性疾病检测上的临床应用 [J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 40 (7): 492-494. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2017.07.004.
- ZHANG M, LI B A, QIU G B. Application of next generation sequencing technology in clinical diagnosis of infectious disease [J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2017, 40 (7): 492-494. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2017.07.004.
- [12] ROSSEN J W A, FRIEDRICH A W, MORAN-GILAD J, et al. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24 (4): 355-360. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.11.001.
- [13] 中华医学会呼吸病学分会. 肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识 (2017年版) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2017, 40 (8): 578-583. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2017.08.007.
- [14] MA L, CISSÉ O H, KOVACS J A. A molecular window into the biology and epidemiology of pneumocystis spp [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31 (3): e00009-00018. DOI: 10.1128/CMR.00009-18.
- [15] MORRIS A, NORRIS K A. Colonization by pneumocystis jirovecii and its role in disease [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2012, 25 (2): 297-317. DOI: 10.1128/CMR.00013-12.
- [16] BABIĆ-ERCEG A, VILIBIĆ-CAVLEK T, ERCEG M, et al. Prevalence of pneumocystis jirovecii pneumonia (2010-2013): the first Croatian report [J]. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2014, 61 (2): 181-188. DOI: 10.1556/AMicr.61.2014.2.8.
- [17] LOWE D M, RANGAKA M X, GORDON F, et al. Pneumocystis jirovecii pneumonia in tropical and low and middle income countries: a systematic review and meta-regression [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (8): e69969. DOI: 10.1371/journal.pone.0069969.
- [18] SWAIN S D, SIEMSEN D W, PULLEN R R, et al. CD<sub>4</sub><sup>+</sup> T cells and IFN-γ are required for the development of pneumocystis-associated pulmonary hypertension [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184 (2): 483-493. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.10.027.
- [19] RIEBOLD D, ENOH D O, KINGE T N, et al. Pneumocystis jirovecii colonisation in HIV-positive and HIV-negative subjects in Cameroon [J]. *Trop Med Int Health*, 2014, 19 (6): 643-655. DOI: 10.1111/tmi.12299.
- [20] LIU L, YUAN M J, SHI Y, et al. Clinical performance of BAL metagenomic next-generation sequence and serum (1, 3) -β-D-glucan for differential diagnosis of pneumocystis jirovecii pneumonia and pneumocystis jirovecii colonisation [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 784236. DOI: 10.3389/fcimb.2021.784236.
- [21] DAMIANI C, LE GAL S, DA COSTA C, et al. Combined quantification of pulmonary pneumocystis jirovecii DNA and serum (1-3) -β-D-glucan for differential diagnosis of pneumocystis pneumonia and pneumocystis colonization [J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51 (10): 3380-3388. DOI: 10.1128/JCM.01554-13.
- [22] JIANG J, BAI L, YANG W, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of pneumocystis jirovecii pneumonia in non-HIV-infected patients: a retrospective study [J]. *Infect Dis Ther*, 2021, 10 (3): 1733-1745. DOI: 10.1007/s40121-021-00482-y.
- [23] HELD J, KOCH M S, REISCHL U, et al. Serum (1 → 3) -β-D-glucan measurement as an early indicator of pneumocystis jirovecii pneumonia and evaluation of its prognostic value [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17 (4): 595-602. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03318.x.

(收稿日期: 2022-09-25; 修回日期: 2022-12-08)

(本文编辑: 崔莎)