DOI:10.16016/j.2097-0927.202310087

应用宏基因组二代测序诊断异基因造血干细胞移植后早期侵袭性真菌病患者的临床分析

姬玉涵[1,2],潘明月[1],来晓瑜[1],刘丽珍[1],施继敏[1],赵妍敏[1],余 建[1],杨露欣[1],罗 依[1] 310000 杭州,浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心[1];473000 南阳,南阳市第二人民医院血液内科[2]

[摘要] **目的** 分析异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,allo-HSCT)后早期应用宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing,mNGS)诊断侵袭性真菌病(invasive fungal disease,IFD)患者的临床转归。**方法** 回顾性分析2021年7月至2022年10月在浙江大学医学院附属第一医院接受allo-HSCT患者,移植后早期(100 d内)出现以下情况之一:①经验性抗细菌治疗72 h及以上持续发热,且血培养阴性患者;②既往抗感染有效后再次出现不明原因高热;③下呼吸道症状合并肺部CT病灶,经验性抗感染治疗无效。送检移植后外周血或支气管镜肺泡灌洗液行mNGS检测,并分析患者的总体生存率(overall survival,OS)和非复发死亡率(non-relapse mortality,NRM)。**结果** 纳入60例患者,送检外周血标本47例,肺泡灌洗液标本13例。mNGS检测病原学阴性组19例,非真菌阳性组30例,真菌阳性组11例;真菌阳性组中曲霉菌3例、毛霉菌5例、热带念珠菌2例、阿萨丝孢酵母菌1例。11例真菌阳性患者经调整抗真菌治疗8例获完全缓解。60例患者1年OS和1年NRM分别为70.0%(95% *CI*:64.1%~75.9%)和20.0%(95% *CI*:11.9%~32.5%)。真菌阳性组1年OS为54.5%(95% *CI*:49.5%~69.5%),1年NRM为36.4%(95% *CI*:15.5%~70.3%);阴性组、真菌阳性组和非真菌阳性组1年OS(*P*=0.487)和1年NRM(*P*=0.358)差异无统计学意义。真菌阳性组与非真菌阳性组OS(*P*=0.238)和NRM(*P*=0.154)上的差异亦无统计学意义。**结论** mNGS可快速诊断allo-HSCT后早期IFD,有利于及时有效治疗,改善患者的预后。

[关键词] 宏基因组二代测序;异基因造血干细胞移植;侵袭性真菌病

[中图法分类号] R446.9; R519.04; R552.05 [文献标志码] A

Clinical analysis of metagenome next-generation sequencing for diagnosing invasive fungal disease in patients with early stage of hematopoietic stem cell transplantation

JI Yuhan[1,2], PAN Mingyue[1], LAI Xiaoyu[1], LIU Lizhen[1], SHI Jimin[1], ZHAO Yanmin[1], YU Jian[1], YANG Luxin[1], LUO Yi[1] [1]Bone Marrow Transplantation Center, the First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang Province, 310000; [2]Department of Hematology, Nanyang Second General Hospital, Nanyang, Henan Province, 473000, China

[**Abstract**] **Objective** To analyze the clinical outcomes of early invasive fungal disease (IFD) in patients after allogenetic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HCST) with metagenomic next-generation sequencing (mNGS). **Methods** A retrospective analysis was conducted on patients undergoing allo-HCST in our Bone Marrow Transplantation Center between July 2021 and October 2022. These patients experienced one of the following conditions within 100 d after transplantation: ① Patients with persistent fever and negative blood culture after empiric antimicrobial therapy for 72 h or longer; ② Hyperpyrexia of unknown origin occurred again after effective anti-infection in the past; ③ Symptoms in lower respiratory tract associated

[通信作者] 罗 依,E-mail:luoyijr@zju.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

with lung lesions on CT scan, and empiric anti-infective therapy was ineffective. Peripheral blood or bronchoscopic alveolar lavage fluid were tested with mNGS, and overall survival (OS) and non-relapse mortality (NRM) were analyzed. **Results** There were 60 patients enrolled in this study. For the peripheral blood samples of 47 cases and bronchoalveolar lavage fluid samples of 13 cases, mNGS found that 19 cases were negative to pathogens, 30 cases were non-fungal positive, and 11 case were fungal positive, including 3 cases of aspergillus, 5 cases of mucor, 2 cases of *Candida tropicalis*, and 1 case of *Trichosporon asahii*. Of the 11 patients with fungal positive, 8 achieved complete remission after antifungal therapy according to the mNGS results. The 1-year OS and NRM of the 60 patients were 70.0% (95%*CI*: 64.1%~75.9%) and 20.0% (95%*CI*: 11.9%~32.5%), respectively, while those of the fungal infection patients were 54.5% (95%*CI*: 49.5%~69.5%) and 36.4% (95%*CI*: 15.5%~70.3%), respectively. No significant differences were seen in 1-year OS ($P=0.487$) and 1-year NRM ($P=0.358$) among the negative, fungal infection and non-fungal infection patients, neither OS ($P=0.238$) and NRM ($P=0.154$) between the fungal infection and the non-fungal infection patients. **Conclusion** mNGS can rapidly diagnose the early IFD after allo-HSCT, which is helpful for timely and effective treatment and improves the prognosis of patients.

[**Key words**] metagenomic next-generation sequencing; allogeneic hematopoietic stem cell transplantion; invasive fungal disease

Corresponding author: LUO Yi, E-mail: luoyijr@zju.edu.cn

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,allo-HSCT)是根治多种血液系统疾病的有效方法,感染是 allo-HSCT 后早期主要并发症之一[1-2],特别是曲霉菌和毛霉菌感染为代表的侵袭性真菌感染,临床表现缺乏特异性,导致患者死亡率较高[3]。因此早期准确识别致病病原体,从而实施精准抗感染治疗至关重要。然而,传统病原学检测流程复杂、检测效率低、耗时长[4],不能完全满足 allo-HSCT 后免疫缺陷感染患者及时诊治的需要。

宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing,mNGS)技术是一种以 DNA 碱基为基础的高通量基因测序技术,能够快速、完整地检测出致病病原体的基因序列[5]。mNGS 不依赖培养,且不易受前期抗生素治疗的影响,对常规病原微生物检测阴性、经验治疗失败、不明原因的危重感染以及新发、突发传染病的病原体发现具有独特价值[6-7],能在一定程度上弥补传统病原学检测技术的缺陷[8]。本研究旨在探讨 allo-HSCT 后早期应用 mNGS 技术诊断侵袭性真菌病(invasive fungal disease,IFD),并分析患者的临床转归,以期为 allo-HSCT 后早期防治感染提供依据。

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集 2021 年 7 月至 2022 年 10 月在浙江大学医学院附属第一医院接受 allo-HSCT 患者,纳入患者移植后早期(100 d 内)出现以下情况之一:①经验性抗细菌治疗 72 h 及以上持续发热,且血培养阴性患者;②既往抗感染有效后再次出现不明原因高热;③下呼吸道症状合并肺部 CT 病灶,经验性抗感染治疗无效。送检外周血或支气管镜肺泡灌洗液行 mNGS 检测。本研究经浙江大学医学院附属第一医院科研伦理审查委员会审批通过(2023 研第 0934 号),所有患者签署知情同意书,随访截止时间为 2023 年 8 月 31 日,通过查阅患者住院病历、门诊随访记录和电话随访获得患者生存资料。

1.2 移植流程

1.2.1 预处理方案 清髓性预处理方案(myeloablative conditioning,MAC):阿糖胞苷(cytarabine,Ara-C)2~4 g/(m^2·d)静脉滴注,-10 d、-9 d;白消安(busulfan,Bu)3.2 mg/(kg·d)静脉滴注,-8~-6 d;环磷酰胺(cyclophosphamide,CY)1.8 g/(m^2·d)静脉滴注,-5 d、-4 d;司莫司汀 250 mg/m^2口服,-3 d。减剂量预处理方案(reduced-intensity conditioning,RIC):氟达拉滨(fludarabine,Flu);30 mg/(m^2·d) 静脉滴注,-10~-5 d;BU 0.8 mg/kg,q6h,静脉滴注,-7~-5 d。本中心未采用全身照射。

1.2.2 造血干细胞的动员和采集 供者均以粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor,G-CSF)行造血干细胞动员[5~7.5 μg/(kg·d),连续 4~5 d]后进行外周血干细胞采集。所有移植物均未接受体外去除 T 淋巴细胞处理。

1.2.3 移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)预防 采用霉酚酸酯(mycophenolate mofetil,MMF)联合环孢菌素(cyclosporin A,CsA)加短程甲氨

蝶呤(methotrexate,MTX)预防 GVHD。单倍体移植采用兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白(rabbit anti-human thymocyte immunoglobulin,rATG-T)1.5 mg/(kg·d),无关供者移植采用 rATG-T(4.5~6 mg/kg)静脉滴注。根据嵌合状态和 GVHD 的情况,免疫抑制剂在移植后第 2 个月逐渐减少,移植后 6~9 个月后无 GVHD 症状者减停免疫抑制剂[9-12]。

1.3 真菌感染预防和诊断标准及疗效评价

所有患者预处理开始应用米卡芬净(50 mg/d,静脉滴注)、伏立康唑(0.2 g, q12h,口服)或泊沙康唑口服液(5 mL, tid,口服)预防真菌感染,其中再次预防 8 例。IFD 诊断分为确诊、临床诊断、拟诊和未确定 4 个级别。疗效评价分为有效(完全缓解、部分缓解)和无效(稳定、疾病进展、死亡)。具体参考《血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第六次修订版)》[13]。

1.4 mNGS 检测方法

mNGS 标本采集严格进行无菌操作,外周血送检 5 mL,肺泡灌洗液送检 5~10 mL,采集标本后用无菌容器进行盛装送检。低温冰袋运送 24 h 内送达标本,干冰运送 24~72 h 送达标本,并立即进行核酸的提取。所有标本检测及解读由浙江大学医学院附属第一医院检验科实施。

1.5 定义及统计学分析

中性粒细胞植入时间定义为连续 3 d 外周血中性粒细胞绝对计数>0.5×10^9/L,血小板植入定义为外周血血小板>20×10^9/L 连续 7 d 且脱离血小板输注。急性 GVHD 的诊断依据 2016 年建立的 Harri 标准。总体生存定义为从造血干细胞回输开始至各种原因导致死亡或随访终止的时间。移植后非复发死亡定义为从造血干细胞回输开始至除原发病复发以外原因导致的死亡。

采用 SPSS 23.0 和 R Studio 4.1.1 进行统计分析。生存分析采用 Kaplan-Meier 法,差异比较采用 Log-rank 检验。运用竞争风险模型预估非复发死亡累积发生率,并使用 Grey 检验进行比较。$P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本临床特征

2021 年 7 月至 2022 年 10 月接受 allo-HSCT 患者 532 例,符合本研究纳入标准 mNGS 检测患者 60 例,移植后中位随访时间 43(17~780)d。男性 33 例,女性 27 例,中位年龄 35(14~69)岁。11 例 mNGS 检测真菌阳性患者,中位年龄 50(18~57)岁,诊断中位时间移植后 17(5~51) d。回输单个核细胞中位数 8.29(3.79~17.35)×10^8/kg, $CD34^+$ 细胞中位数 5.02(1.82~11.74)×10^6/kg。临床资料见表 1。

2.2 mNGS 检测结果

纳入 60 例患者,未确定 IFD 43 例(71.7%),拟诊 IFD 17 例(28.3%)。送检外周血标本 47 例(78.3%),肺泡灌洗液标本 13 例(21.7%),mNGS 检测病原学阴性 19 例,细菌 11 例,病毒 19 例,真菌 11 例。mNGS 检测病原学阳性比例占 68.3%,真菌阳性率 18.3%;外周血标本真菌阳性率 19.1%,肺泡灌洗液真菌阳性率 15.3%。

表 1 11 例 mNGS 检测真菌阳性患者基线特征

序号	性别	年龄/岁	基础疾病	供者类型	单个核细胞数/(×10^8/kg)	CD34+细胞数/(×10^6/kg)	粒细胞植入时间/d	血小板植入时间/d	急性 GVHD
1	女	50	MDS	亲缘半相合	8.70	6.02	13	12	无
2	男	52	DLBCL	亲缘半相合	8.29	5.02	19	25	无
3	女	50	AML	亲缘半相合	14.91	11.74	11	12	无
4	女	18	AML	亲缘半相合	11.76	5.88	12	13	无
5	男	28	MDS	非亲缘不全相合	7.82	3.27	12	20	无
6	男	46	MDS	亲缘半相合	8.08	4.94	-	-	无
7	女	51	ALL	亲缘半相合	7.38	5.36	12	13	无
8	女	34	ALL	非亲缘全相合	9.60	6.50	12	15	无
9	男	57	AML	亲缘半相合	17.35	2.13	16	-	无
10	男	40	HLH	亲缘半相合	6.99	4.25	17	-	无
11	女	50	AML	亲缘半相合	3.79	1.82	18	18	无

MDS:骨髓增生异常综合征;DLBCL:弥漫大 B 细胞淋巴瘤;AML:急性髓系白血病;ALL:急性淋巴细胞白血病;HLH:噬血细胞综合征;-:未植入

11 例真菌阳性患者中,病原菌为曲霉菌 3 例(27.3%),其中黄曲霉菌 2 例、黑曲霉菌 1 例;毛霉菌 5 例(45.4%),其中微小根毛霉菌 1 例、小孢根霉菌 1 例、小克银汉菌 3 例;热带念珠菌 2 例(18.2%);阿萨丝孢酵母菌 1 例(9.1%)。仅 2 例患者传统方法检测血培养为热带念珠菌阳性,所有患者 1,3-β-D-葡聚糖试验(G 试验)和/或半乳甘露聚糖试验(Galactomannan,GM 试验)均阴性(表 2)。

2.3 抗真菌治疗效果

3 例曲霉菌阳性患者经伏立康唑针静脉滴注治疗完全缓解,持续用药 6 周停药。5 例毛霉菌阳性患者应用两性霉素 B 联合泊沙康唑口服液治疗,其中 3 例获完全缓解,两性霉素 B 用药持续 6~8 周,后续泊沙康唑口服液维持治疗,2 例小克银汉菌阳性患者治疗无效死亡,其中 1 例继发中枢毛霉菌感染。2 例热带念珠菌阳性患者应用两性霉素 B 联合卡泊芬净治疗,1 例缓解,1 例治疗无效死亡。1 例阿萨丝孢酵母菌阳性患者经伏立康唑针静脉滴注治疗完全缓解,持续用药 6 周停药(表 2)。

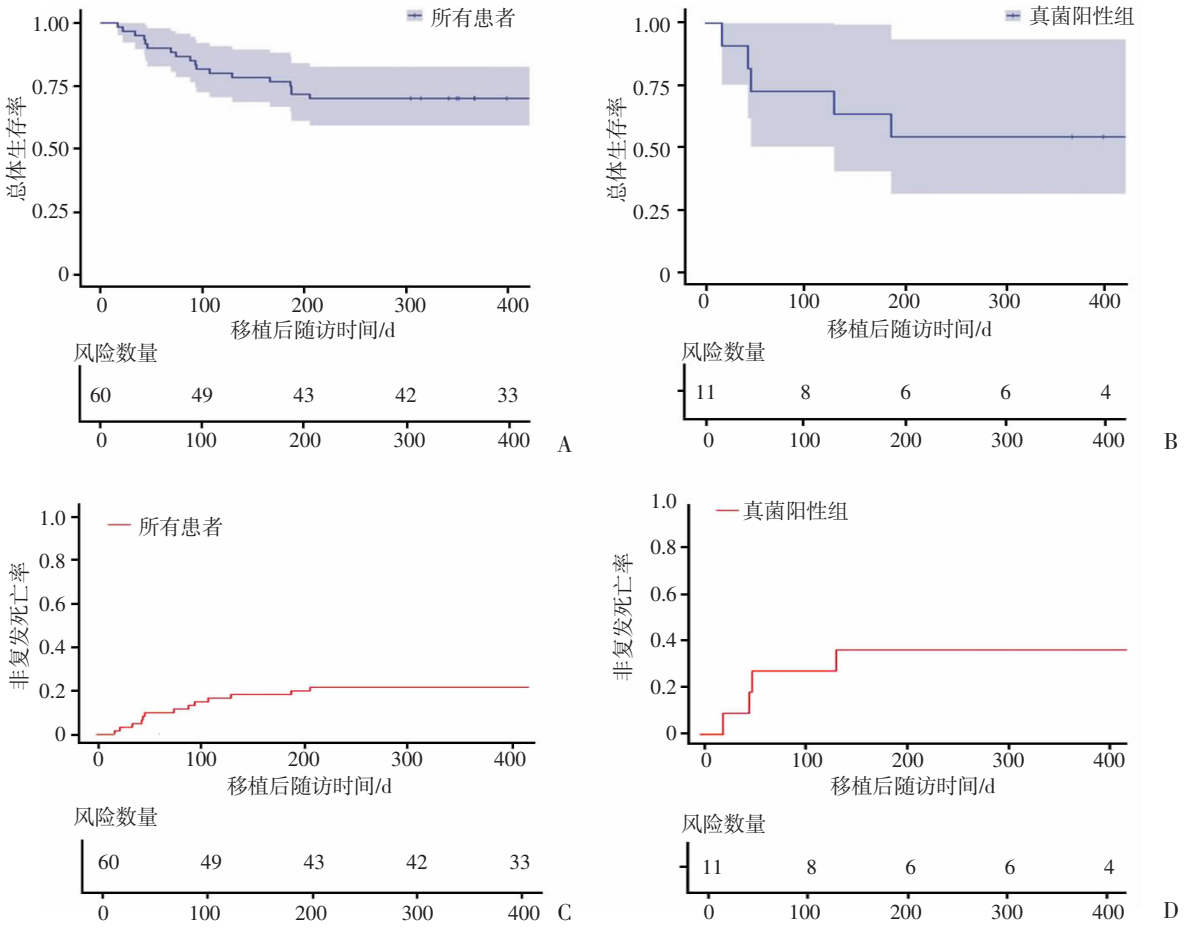
2.4 患者生存分析

60 例患者 1 年总体生存率(overall survival,OS)和 1 年非复发死亡率(non-relapse mortality,NRM)分别为 70.0%(95% *CI*:64.1%~75.9%)和 20.0%(95% *CI*:11.9%~32.5%),见图 1A、C。真菌阳性组和非真菌阳性组 1 年 OS 分别为 54.5%(95% *CI*:49.5%~69.5%)和 76.7%(95% *CI*:69.0%~84.4%),1 年 NRM 分别为 36.4%(95% *CI*:15.5%~70.3%)和 16.7%(95% *CI*:8.3%~35.5%),见图 1B、D。mNGS 阴性组 1 年 OS 和 1 年 NRM 分别为 68.4%(95% *CI*: 57.7%~79.1%)和 21.1%(95% *CI*:8.5%~46.8%)。阴性组、真菌阳性组和非真菌阳性组 1 年 OS(*P*=0.487)和 1 年 NRM(*P*=0.358)无显著差异(图 2A、C)。mNGS 阳性组和阴性组 1 年 OS(*P*=0.985)和 1 年 NRM(*P*=0.910)差异均无统计学意义(图 2B、D)。真菌阳性组与非真菌阳性组 OS(*P*=0.238)和 NRM(*P*=0.154)差异亦无统计学意义。

表 2 11 例真菌阳性患者 mNGS 结果及临床转归

序号	病原菌	诊断时间/d	是否处于粒缺	序列数	血培养	G+GM 试验	样本来源	临床表现	调整前	调整后	临床转归	生存时间/d
1	小克银汉菌	48	否	40	阴性	阴性	外周血	发热/疼痛	卡泊芬净	两性霉素 B+泊沙康唑口服液	完全缓解(生存)	708
2	小克银汉菌	14	是	281	阴性	阴性	外周血	发热/头痛	伏立康唑针	两性霉素 B+泊沙康唑口服液	无效(死亡)	46
3	小孢根霉菌	22	否	57	阴性	阴性	肺泡灌洗液	发热	伏立康唑针	两性霉素 B+泊沙康唑口服液	完全缓解(生存)	780
4	阿萨丝孢酵母菌	11	是	6	阴性	阴性	外周血	发热	卡泊芬净	伏立康唑针	完全缓解(生存)	484
5	微小根毛霉菌	13	否	4	阴性	阴性	外周血	发热	卡泊芬净	两性霉素 B+泊沙康唑口服液	完全缓解(生存)	398
6	热带念珠菌	2	是	522160	阳性	阴性	外周血	发热/呼吸困难	泊沙康唑口服液	两性霉素 B+卡泊芬净	无效(死亡)	17
7	黄曲霉菌	30	否	6	阴性	阴性	肺泡灌洗液	发热	泊沙康唑口服液	伏立康唑针	完全缓解(生存)	367
8	黑曲霉菌	9	是	4	阴性	阴性	外周血	发热	伏立康唑片	伏立康唑针	完全缓解(生存)	186
9	小克银汉菌	5	是	47	阴性	阴性	外周血	发热	泊沙康唑口服液	两性霉素 B+泊沙康唑口服液	无效(死亡)	43
10	黄曲霉菌	5	是	473	阴性	阴性	外周血	发热	伏立康唑片	伏立康唑针	完全缓解(生存)	129
11	热带念珠菌	15	是	234	阳性	阴性	外周血	发热	伏立康唑针	两性霉素 B+卡泊芬净	完全缓解(生存)	615

粒缺:粒细胞缺乏;G 试验:1,3-β-D-葡聚糖试验;GM 试验:半乳甘露聚糖试验



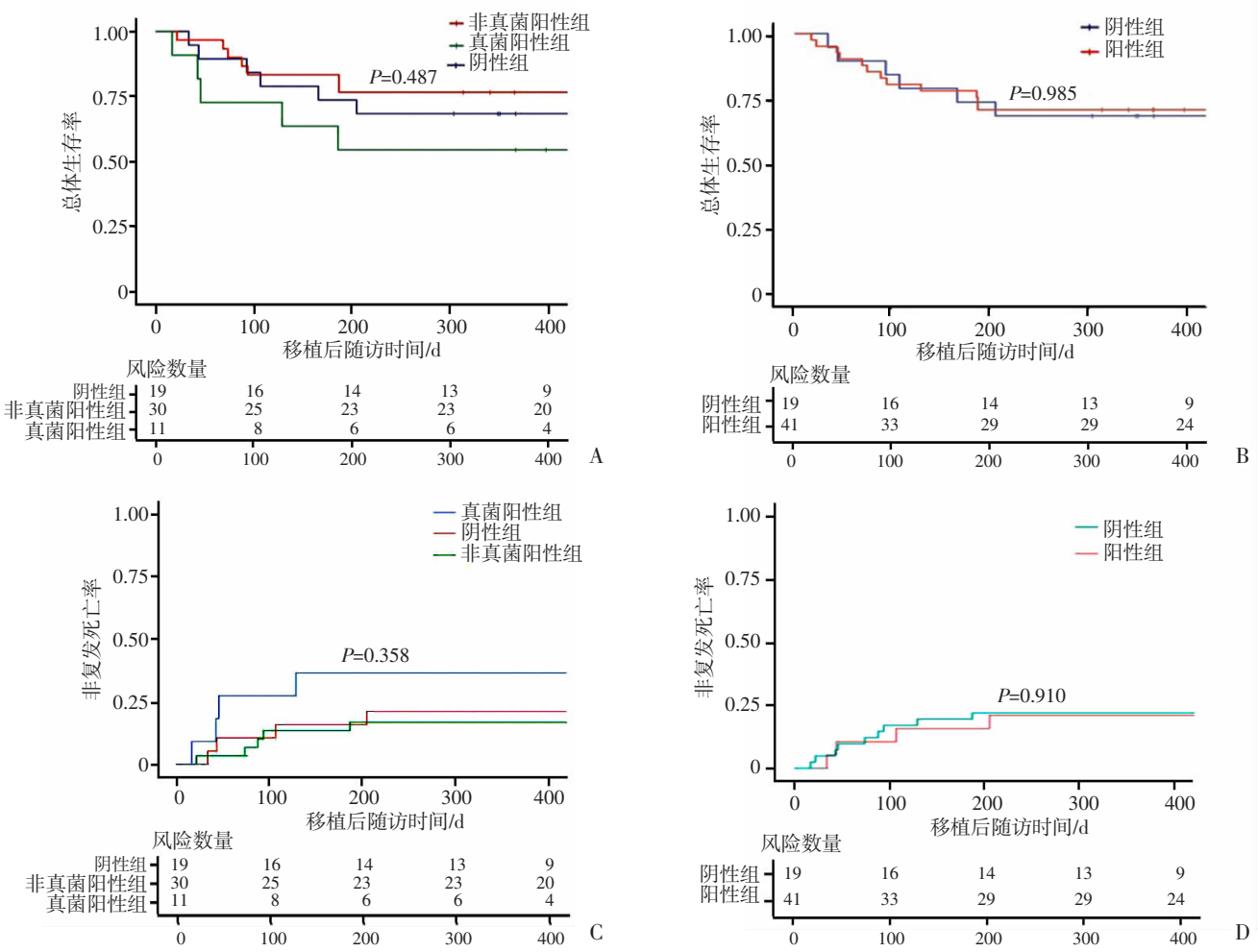
A:所有患者总体生存率;B:真菌阳性组总体生存率;C:所有患者非复发死亡率;D:真菌阳性组非复发死亡率

图 1 所有患者和真菌阳性组总体生存率和非复发死亡率

3 讨论

IFD 是 allo-HSCT 后重要并发症之一,发生率为 7.8%~13.1%,大多发生在移植后 6 个月内[14]。本研究中 mNGS 检测真菌感染的患者,诊断中位时间移植后 13(2~48) d,与文献报道相符。

目前确诊 IFD 需要无菌部位标本行组织病理/直接镜检或无菌标本培养结果。造血干细胞移植后早期患者多数处于低细胞期,进行病灶针吸或活检存在出血、继发感染等风险,因此组织标本的获得较为困难[15],影响移植后真菌感染的诊治。MIAO 等[16]开展了关于 mNGS 应用感染性疾病诊治的全国最大规模样本研究,发现 mNGS 敏感性高于传统培养,在真菌诊断方面优势更明显。国内的一项回顾性研究也显示 mNGS 检出率高于病原体培养,其快速检测有助于临床决策和指导治疗选择[17]。本研究 60 例患者,入组前诊断未确定 IFD 43 例,拟诊 IFD 17 例,均接受经验性抗真菌治疗。mNGS 检测真菌阳性的 11 例患者,仅 2 例同步血培养提示热带念珠菌阳性,其余患者微生物学检查均阴性。2023 年版宏基因组二代测序技术在血液病患者感染病原诊断的应用专家共识也建议在粒细胞缺乏伴发热的高危患者初始经验性治疗 72~96 h 无效时,推荐送检传统微生物学检测的同时送检血液 mNGS;对于合并下呼吸道症状患者可优选送检支气管肺泡灌洗液 mNGS[18]。本研究纳入研究对象为移植后早期患者,其中 63.6%的患者处于粒细胞缺乏期。对于此类患者,行支气管镜肺泡灌洗液检查存在有麻醉、出血、继发感染等风险,患者耐受性差;而外周血标本获取方便、简单、必要时可多次采集,可更大程度提高病原学检测率。基于本研究人群特点,47 例(78.3%)患者送检外周血标本,13 例(21.7%)患者送检肺泡灌洗液。外周血标本真菌阳性率(19.1%)与肺泡灌洗液真菌阳性率(15.3%)无明显差别,一定程度提高了移植后早期 IFD 的诊断率。本研究通过对 allo-HSCT 早期高危患者行 mNGS 检测,作为传统微生物学检查补充和替代手段,积极寻找病原学依据,及时调整抗真菌药物,启动 mNGS 指导下的“目标治疗”,8 例患者感染控制并获得完全缓解。mNGS检测属于



A、C：分别是阴性组、真菌阳性组、非真菌阳性组总体生存率和非复发死亡率；B、D：分别是 mNGS 阳性组与阴性组总体生存率和非复发死亡率

图 2　阴性组、真菌阳性组、非真菌阳性组和 mNGS 阳性组与阴性组的总体生存率和非复发死亡率组间比较

定性检测范畴，序列高低不等同于病原载量，即使序列数偏低，也具有一定的临床指导意义[18]。尤其对已经接受经验性治疗患者，传统微生物检测可因使用抗菌药物导致灵敏度明显降低，而 mNGS 受影响程度小于传统微生物检测[19-21]。本研究中 7 例患者 mNGS 真菌序列数值偏低，其中 4 例为低序列（小于 10 条），结合患者临床症状均判断为致病菌，经“目标性治疗”感染得到有效控制，降低了患者感染相关死亡率。

造血干细胞移植后死亡原因约 18.6% 与 IFD 相关[13]。确诊/临床诊断 IFD 的 HSCT 患者移植后 1 年死亡率为 18.0%～65.3%，显著高于未发生 IFD 患者[14]。因此，早期确诊病原菌并积极行抗真菌治疗对于降低死亡率至关重要。本研究入组 mNGS 检测的 60 例患者，阴性组、真菌阳性组和非真菌阳性组 1 年 OS（$P=0.487$）和 1 年 NRM（$P=0.358$）无显著差异。mNGS 阳性组和阴性组 1 年 OS（$P=0.985$）和 1 年 NRM（$P=0.910$）差异均无统计学意义。真菌阳性组与非真菌阳性组 OS（$P=0.238$）和 NRM（$P=0.154$）的差异亦无统计学意义，提示 mNGS 有利于快速诊断、及时治疗及调整抗菌药的选择，改善移植后早期真菌感染患者的预后。

众所周知，毛霉菌感染诊断困难，病死率极高[22]，allo-HSCT 后早期患者临床及影像学表现无特异性，一般 G 试验和 GM 试验均为阴性，临床无法及时诊断，导致延误治疗，既往临床毛霉菌感染多采用经验性抗真菌治疗。本研究 5 例患者 mNGS 检测为毛霉菌感染，占真菌阳性组 45.4%，调整为两性霉素 B 治疗后 3 例有效，2 例无效导致死亡。5 例患者均在预防性抗真菌治疗过程中突破感染。Allo-HSCT 患者接受真菌初级或再次预防后突破性 IFD 的发生率为 0.4%～3.6%[23]，可能原因为预防药物未覆盖到突破菌，预防药物浓度未达有效预防浓度以及继发耐药菌出现。因此在广谱

预防性抗真菌治疗高危患者时,临床考虑出现突破性感染,要尽快送检 mNGS,启动药物调整,且尽可能覆盖毛霉菌治疗,病情进展快的患者建议联合抗真菌药物治疗。既往研究证实移植后真菌感染的危险因素为基础疾病、疾病状态、粒细胞缺乏、应用免疫抑制剂、移植物抗宿主病、既往真菌感染病史、合并糖尿病、人类白细胞抗原不合、遗传易感性等[13,24]。本研究是单中心、回顾性研究,样本量较少,未进行 allo-HSCT 后早期真菌突破性感染危险因素分析,用以指导及早启动 IFD 的诊治。

综上所述,移植后早期侵袭性真菌病是 allo-HSCT 后的严重并发症,但临床表现缺乏特异性,预后不佳,因此早诊断、早治疗有助于该类患者的预后。宏基因组二代测序技术的出现,用于拟诊真菌感染,可提高诊断检出率并进行针对性治疗,减少移植后早期感染死亡率。

参考文献:

[1] BAZINET A, POPRADI G. A general practitioner's guide to hematopoietic stem-cell transplantation[J]. Curr Oncol, 2019, 26(3): 187-191. DOI: 10.3747/co.26.5033.

[2] 孙于谦, 黄晓军. 侵袭性真菌病: 中国医师面临的老问题、新困惑[J]. 中华血液学杂志, 2019, 40(7): 537-540. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.07.001.
SUN Y Q, HUANG X J. Invasive fungal disease: the old question and new confusion to Chinese physician[J]. Chin J Hematol, 2019, 40(7): 537-540. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.07.001.

[3] PUERTA-ALCALDE P, GARCIA-VIDAL C. Changing epidemiology of invasive fungal disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Fungi (Basel), 2021, 7(10): 848. DOI: 10.3390/jof7100848.

[4] 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. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20221226-02703.
DUAN Z M, SHEN Z Y, HU Y, *et al*. The application value of metagenomic next-generation sequencing technology in diagnosis and treatment of pulmonary infection in immunocompromised patients[J]. Natl Med J China, 2023, 103(25): 1885-1891. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20221226-02703.

[5] 俞朝贤, 李德宪, 王娟, 等. 广州市胸科医院结核重症监护室患者常见病原菌分布及耐药性分析[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(5): 764-767. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2020.05.025.
YU Z X, LI D X, WANG J, *et al*. Distribution of pathogens and drug resistance analysis for the patients in intensive care unit of Guangzhou Chest Hospital[J]. J Clin Pulm Med, 2020, 25(5): 764-767. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2020.05.025.

[6] 中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(12): 1181-1195. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200903-00704.
Chinese Society of Laboratory Medicine. Expert consensus on clinical standardized application of metagenomics next-generation sequencing for detection of pathogenic microorganisms[J]. Chin J Lab Med, 2020, 43(12): 1181-1195. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200903-00704.

[7] 刁振丽, 张瑞, 李金明. 我国宏基因组高通量测序检测血液微生物游离 DNA 的方法及质量保证情况分析[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(15): 1114-1118. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220104-00017.
DIAO Z L, ZHANG R, LI J M. Analysis of the methods and quality assurance of metagenomic next-generation sequencing to detect the microbial cfDNA from blood samples in China[J]. Natl Med J China, 2022, 102(15): 1114-1118. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220104-00017.

[8] 李学青, 王丽娜, 张俐, 等. 肺泡灌洗液二代基因测序对儿童重症肺炎病原学诊断应用观察[J]. 中国实用儿科杂志, 2019, 34(6): 513-516. DOI: 10.19538/j.ek2019060616.
LI X Q, WANG L N, ZHANG L, *et al*. Application of second-generation gene sequencing in alveolar lavage fluid in etiological diagnosis of severe pneumonia in children[J]. Chin J Pract Pediatr, 2019, 34(6): 513-516. DOI: 10.19538/j.ek2019060616.

[9] LUO Y, JIN M Q, TAN Y M, *et al*. Antithymocyte globulin improves GVHD-free and relapse-free survival in unrelated hematopoietic stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2019, 54(10): 1668-1675. DOI: 10.1038/s41409-019-0502-8.

[10] 中华医学会血液学分会干细胞应用学组. 中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识(Ⅲ): 急性移植物抗宿主病(2020年版)[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(7): 529-536. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.07.001.
Stem Cell Application Group of Chinese Society of Hematology of Chinese Medical Association. Chinese consensus of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological disease (Ⅲ)—acute graft-versus-host disease (2020)[J]. Chin J Hematol, 2020, 41(7): 529-536. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.07.001.

[11] WANG Y, WU D P, LIU Q F, *et al*. Low-dose post-

transplant cyclophosphamide and anti-thymocyte globulin as an effective strategy for GVHD prevention in haploidentical patients[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 88. DOI: 10.1186/s13045-019-0781-y.

[12] YE Y S, WANG M W, MALARD F, *et al*. Comparison of non-first-degree related donors and first-degree related donors in haploidentical HSCT: a multi-centre retrospective analysis[J]. Bone Marrow Transplant, 2021, 56(10): 2567-2574. DOI: 10.1038/s41409-021-01352-4.

[13] 中国医师协会血液科医师分会, 中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第六次修订版)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(10): 754-763. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20200627-00624.
Chinese Association Hematologists, Chinese Invasive Fungal Infection Working Group. The Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of invasive fungal disease in patients with hematological disorders and cancers (the 6th revision)[J]. Chin J Intern Med, 2020, 59(10): 754-763. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20200627-00624.

[14] 中国医药教育学会真菌病专业委员会, 中华医学会血液学分会. 造血干细胞移植后侵袭性真菌病中国专家共识(2023年版)[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(2): 92-97. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.02.002.
Medical Mycology Society of Chinese Medicine and Education Association, Chinese Society of Hematology of Chinese Medical Association. Chinese expert consensus for invasive fungal disease in patients after hematopoietic stem cell transplantation(2023)[J]. Chin J Hematol, 2023, 44(2): 92-97. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.02.002.

[15] 马蕾, 刘林. 造血干细胞移植后侵袭性真菌病的研究新进展[J]. 国际输血及血液学杂志, 2020, 43(3): 203-209. DOI: 10.3760/cma.j.cn511693-20191118-00037.
MA L, LIU L. Advance in invasive fungal disease after hematopoietic stem cell transplantation[J]. Int J Blood Transfus Hematol, 2020, 43(3): 203-209. DOI: 10.3760/cma.j.cn511693-20191118-00037.

[16] 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-S240. DOI: 10.1093/cid/ciy693.

[17] ZHAO D, GUO L P, LIAN D L, *et al*. Diagnostic value and clinical application of mNGS for post-liver transplantation infection: a cross-sectional study with case reports[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 919363. DOI: 10.3389/fmicb.2022.919363.

[18] 中华医学会血液学分会抗感染学组. 宏基因组二代测序技术在血液病患者感染病原诊断中的应用中国专家共识(2023年版)[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(8): 617-623. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.08.001.
Antimicrobial Infection Group of Chinese Society of Hematology of Chinese Medical Association. Chinese expert consensus on the application of metagenomic next-generation sequencing technology in the diagnosis of pathogens in hematological patients (2023)[J]. Chin J Hematol, 2023, 44(8): 617-623. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.08.001.

[19] XU C H, CHEN X, ZHU G Q, *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. DOI: 10.1016/j.jinf.2022.11.020.

[20] FENG S Z, RAO G H, WEI X D, *et al*. Clinical metagenomic sequencing of plasma microbial cell-free DNA for febrile neutropenia in patients with acute leukaemia[J]. Clin Microbiol Infect, 2023: S1198-S743X(23)00258-6. DOI: 10.1016/j.cmi.2023.05.034.

[21] ZHANG M, WANG Z, WANG J X, *et al*. The value of metagenomic next-generation sequencing in hematological malignancy patients with febrile neutropenia after empiric antibiotic treatment failure[J]. Infect Drug Resist, 2022, 15: 3549-3559. DOI: 10.2147/IDR.S364525.

[22] 中国医药教育协会真菌病专业委员会, 中国毛霉病专家共识工作组. 中国毛霉病临床诊疗专家共识(2022)[J]. 中华内科杂志, 2023, 62(6): 597-605. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20220729-00557.
Medical Mycology Society of Chinese Medicine and Education Association, Chinese Mucormycosis Expert Consensus Group. Expert consensus on diagnosis and management of mucormycosis in China[J]. Chin J Intern Med, 2023, 62(6): 597-605. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20220729-00557.

[23] LIONAKIS M S, LEWIS R E, KONTOYIANNIS D P. Breakthrough invasive mold infections in the hematology patient: current concepts and future directions[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(10): 1621-1630. DOI: 10.1093/cid/ciy473.

[24] ZHAO C, ZHAO X S, XU L P, *et al*. Recipient and donor PTX3 rs2305619 polymorphisms increase the susceptibility to invasive fungal disease following haploidentical stem cell transplantation: a prospective study[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1): 292. DOI: 10.1186/s12879-022-07298-2.

(收稿:2023-10-23;修回:2023-12-26)

(编辑 汪勤俭)