

逆性脑后部白质综合征 1 例报道[J]. 内科急危重症杂志, 2019, 25(2): 171-173.

2018, 18(75): 195-196.

[14] 石珍, 齐景林. MRI 诊断可逆性后部脑病综合征 1 例并文献复习[J]. 世界最新医学信息文摘,

(收稿日期: 2023-11-18 修回日期: 2024-02-11)

(编辑: 冯甜)

• 病例报道 •

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2024.10.030

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240115.1437.019\(2024-01-15\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240115.1437.019(2024-01-15))

运用靶向高通量测序早期诊断嗜肺军团菌肺炎 1 例报道*

连姝文¹, 颜新生^{2△}, 熊辉¹

(武汉亚心总医院: 1. 药学部; 2. 检验科, 武汉 430056)

[关键词] 靶向高通量测序; 早期诊断; 感染性疾病; 军团菌肺炎; 军团菌

[中图分类号] R563.1

[文献标识码] B

[文章编号] 1671-8348(2024)10-1597-04

军团菌肺炎是由非典型病原体军团菌引起的一种相对少见的肺炎类型, 患者常常需要住院治疗, 占社区获得性肺炎的 2.7%~4.6%^[1-2]。军团菌肺炎临床表现不典型, 病情进展迅速, 易被误诊、漏诊, ICU 收治的军团菌肺炎患者的病死率高达 33%^[3]。早期快速诊断并覆盖靶向病原体的治疗是降低病死率的关键。常规检测手段往往存在检测周期长、灵敏度和特异度欠佳等不足, 军团菌肺炎的早期诊断是临床面临的挑战。本文收集 1 例军团菌肺炎的病例资料, 并回顾既往相关文献, 报道如下。

1 病例资料

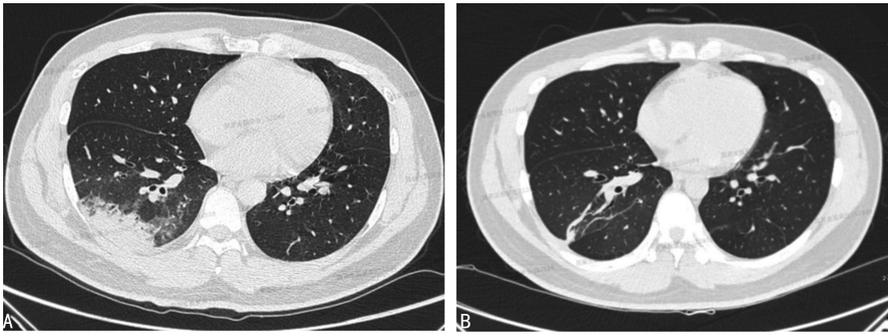
患者男, 33 岁, 因“咳嗽伴发热 2 d”于 2023 年 2 月 3 日晚入院。入院 2 d 前劳累后出现畏寒发热, 体温最高 39.5℃, 伴咳嗽、纳差、胸闷, 无鼻塞、流涕、咽痛, 无盗汗、咯血, 无心慌、胸痛, 无腹痛、腹泻等不适。急查血常规: 白细胞计数 $10.97 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞百分率 80.50%、淋巴细胞百分率 8.80%、淋巴细胞绝对值 $0.96 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞绝对值 $8.84 \times 10^9/L$; C 反应蛋白 113.93 mg/L; 血清淀粉样蛋白 A 406.82 mg/L; 血钾 3.44 mmol/L; 血钠 133.3 mmol/L。急查血常规提示白细胞、中性粒细胞、C 反应蛋白及血清淀粉样蛋白 A 水平升高, 低钾、低钠血症。胸部 CT 见右下肺大片实变影及支气管充气征(图 1A)。予以莫西沙星抗感染、丙帕他莫退热及补液等治疗, 患者症状无改善, 后急诊以“发热待查”收住本科。既往无活禽接触史, 无疫水接触史, 近期从外地出差返汉。入院查体: 体温 36℃, 脉搏 95 次/min, 呼吸 19 次/min, 血压 131/85 mmHg, 指脉氧 91%(未吸氧), 神志清楚, 精神可, 咽部无充血, 扁桃体无肿大,

颈软, 颈静脉无充盈。患者右下肺呼吸音低, 未闻及明显干湿性啰音。入院后暂给予经验性抗感染(社区感染多考虑流感嗜血杆菌、肺炎链球菌及卡他莫拉菌感染, 患者存在低氧血症及大片肺叶实变, 遂予以青霉素类+喹诺酮类抗菌药物联合治疗, 完善血培养、痰培养等病原体检测结果, 随时根据病原学调整抗菌药物方案)、化痰止咳(氨溴索、乙酰半胱氨酸、阿斯美胶囊、苏黄止咳胶囊)、补钠补钾等对症治疗; 进一步完善血培养、痰培养、痰抗酸杆菌、降钙素原、红细胞沉降率、呼吸道病原体检测等检查。病原学检测: 肺炎支原体 IgM 抗体、肺炎衣原体 IgM 抗体、合胞病毒 IgM 抗体、腺病毒 IgM 抗体、嗜肺军团菌 IgM 抗体、真菌 D-葡聚糖试验、半乳甘露聚糖试验、甲型流感病毒核酸、乙型流感病毒核酸、副流感病毒 I 型核酸、副流感病毒 III 型核酸、腺病毒核酸、合胞病毒核酸均阴性, 痰涂片革兰氏染色、抗酸染色正常, 具体病原菌不明。与患者沟通, 为明确肺部病原学, 排除禁忌证, 次日完善纤维支气管镜、肺泡灌洗液(BALF)常规及靶向高通量测序(tNGS)等检查。2 月 4 日行纤维支气管镜+灌洗+药物灌注术。2 月 5 日送检 BALF 常规、BALF 涂片、BALF 培养和 BALF 样本 tNGS。BALF 常规结果: 肺泡灌洗液白细胞 $1.692 \times 10^6/L$ 中性粒细胞 85%, 淋巴细胞 7%, 提示存在炎症。肺泡灌洗液抗酸染色、灌洗液真菌涂片及 GM 试验结果均为阴性。2 月 6 日 BALF 样本 tNGS 回报结果显示为嗜肺军团菌, 序列数 31, 其他细菌、真菌、病毒、结核杆菌未检出。遂停用哌拉西林他唑巴坦, 继续使用莫西沙星抗炎及化痰止咳等治疗。2 月 9 日血培养、肺泡灌洗液培养阴性。复查胸部 CT: 右肺下叶感染性病

* 基金项目: 湖北省武汉市卫生健康委员会青年项目(WX21Q29)。

△ 通信作者, E-mail: yanxinshe@126.com。

变明显好转(图 1B)。患者病情稳定,予以办理出院。



A:2月3日;B:2月9日。

图 1 治疗前、后胸部 CT 图像

2 讨 论

根据全球疾病负担合作组织报道,2019 年全球有近 6 亿肺炎和其他下呼吸道感染患者,并导致 250 万人死亡^[4]。社区获得性肺炎是一种异质性疾病,可由细菌、真菌、病毒、支原体、衣原体、立克次体等多种病原微生物引起,常常因病原学诊断延误或无法确诊^[5],经验性抗感染治疗易引起抗菌药物不合理使用或滥用,产生耐药^[6-7]。近年来肺炎病原体的流行病学分布发生了变化,一些罕见病原体逐渐增多。军团菌 1976 年在费城美国退伍军人大会中暴发而被首次认识,作为一种条件致病菌,广泛存在于天然水系统、土壤中^[8],军团菌自然存活时间长,感染风险主要来源于中央空调、热水设施等现代生活设备的人工水环境,患者常因吸入被污染的气溶胶而被感染,军团菌易在肺泡巨噬细胞中增殖。军团菌肺炎可以散发或流行传播,据美国疾病预防控制中心报道,在 2015—2019 年期间报告的 208 起与公共泳池、热水浴缸或水上游乐场有关的疫情中,由军团菌引起的高达 42%,其中 13 例死亡病例均发生在军团菌暴发感染者中^[9]。军团菌是引起严重社区获得性肺炎最常被误诊的病原体之一,其发病率正在增加^[10]。

军团菌是一种在需氧细胞内寄生的革兰氏阴性杆菌,有 1 根至数根端生或侧生鞭毛,有菌毛和微荚膜,不形成芽孢。目前发现的军团菌有 58 个种和 70 多个血清型^[11],近 50%的物种与人类疾病有关,血清型 1、血清型 4 和血清型 6 最常见,约 90%的军团菌肺炎由嗜肺军团菌血清型 1 感染所致^[12-13]。嗜肺军团菌、米克戴德军团菌、长滩军团菌、博杰曼军团菌和杜莫夫军团菌是临床常见的菌种,军团菌免疫原性大小和毒力因生长温度不同而不同。

军团菌肺炎全年均可发病,以夏季和秋季高发^[14-15]。流行病学史包括接触被污染的空调或空调冷却塔及被污染的饮用水,从事温泉洗浴、园艺工作、管道修理,以及有旅居史等^[16]。本例患者有外地旅居

史。与普通社区获得性肺炎不同,军团菌肺炎临床症状多样,常伴有腹泻、氨基转移酶升高、急性左心衰竭、白细胞升高等,主要表现包括寒颤、发热、咳嗽、呼吸困难、咯血等肺外表现。临床上分为症状较轻的流感样型(庞蒂亚克热)和症状较重的肺炎型,肺炎型病死率较高,如果在感染早期没有得到适当的治疗,军团菌肺炎可导致患者死亡。于金鹏等^[17]报道了 1 例因启动军团菌针对性治疗延迟导致患者死亡的案例。当成人获得性肺炎患者伴有相对缓慢的发热、头痛急性发作、非药物引起的意识障碍/嗜睡、非药物引起的腹泻、休克、急性肝肾功能损伤、低钠血症、低磷血症、 β -内酰胺类抗菌药物治疗无效时,就要考虑军团菌肺炎的可能。

传统的军团菌病原学检查主要有染色镜检、分离培养、血清学检测、尿抗原检测。军团菌革兰氏染色呈阴性,但不易着色。呼吸道标本培养被认为是军团菌感染诊断的金标准,但培养条件苛刻,需在 pH 值为 6.5~7.3 且含 L-半胱氨酸条件下,于活性炭-酵母浸出液琼脂培养基中培养 3~5 d 甚至 2 周才可得到结果^[18]。细菌学培养法作为检测军团菌的金标准,其优点是能够分离菌株,可用于抗菌药物敏感性测试且可识别军团菌所有种类^[19],但是其不足之处是需特殊培养基,培养比较困难,细菌生长缓慢,临床培养阳性率不高。应用免疫荧光法(IFA)和 ELISA 法等检测患者血清中军团菌的 IgM 和 IgG 抗体有助于疾病的特异性诊断,但感染后需要 1~2 周才能产生抗体,且需要急性期及恢复期双份血清标本呈 4 倍或 4 倍以上变化时才有诊断价值,因此抗体检测更适合流行病学筛查,不适用严重社区获得性肺炎患者的诊断^[3]。尿抗原检测仅对嗜肺军团菌血清 1 型有效,未能检测出由嗜肺军团菌的其他血清群或其他种类的军团菌引起的疾病,可能导致漏诊,且在感染发作后抗原会随尿液排出数周(最多 1 年),这削弱了它的特异性^[20]。本例患者入院后嗜肺军团菌 IgM 抗体检测阴

性,涂片阴性,未开展尿抗原检测,5 d 培养报告阴性,常规检测均未明确检测到致病病原体嗜肺军团菌。总之,由于缺乏典型的临床表现和实验室指标,且影像学表现缺乏特异性,军团菌感染相对于其他细菌感染较难以诊断。

近年来,确诊和报道的军团菌肺炎略有增加,这可能得益于核酸检测技术尤其是宏基因组二代测序(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)技术在临床中的应用^[21]。与传统基于培养学的病原检测技术相比,mNGS 具有灵敏度高、检测范围广等特点,对肺炎的诊治有重要的指导价值^[22-23]。但 mNGS 价格昂贵、报告时间偏长,可能存在宿主核酸和环境物种污染,所以往往作为临床疑难病例的补充选择。新开发的 tNGS 技术是将超多重 PCR 与高通量测序技术相结合,对标本中的核酸进行多重 PCR 扩增,再对这些扩增产物进行高通量测序分析的检测技术。既往研究表明 tNGS 与 mNGS 在总体微生物检出率方面没有明显差异^[24]。与 mNGS 相比,tNGS 检测时间缩短,检测成本下降,在诊断少见、非典型病原体中具有优势,不仅可识别军团菌感染,还可同时实现对合并感染病原体的鉴定,今后可作为诊断疑似军团菌肺炎的一种经济快速、准确有效的方法。

治疗上,鉴于军团菌是一种胞内寄生菌,有效的抗菌药物取决于抗军团菌活性及其在肺泡巨噬细胞中的浓度,应选择能够有效进入细胞的抗菌药物。 β 内酰胺类及氨基糖苷类药物因无法穿透细胞膜,对军团菌肺炎的治疗效果很差。ATS/IDSA 指南推荐采用氟喹诺酮类或大环内酯类治疗军团菌感染^[25]。临床常用抗菌药物包括左氧氟沙星、环丙沙星、阿奇霉素、克拉霉素和利福平等。对于免疫功能低下的患者,特别是移植患者,最好使用氟喹诺酮类药物治疗 21 d,不建议使用大环内酯类药物,因为它们会干扰免疫抑制剂^[26-27]。除病因治疗外,呼吸支持治疗,维持水电解质平衡,保护脏器功能、营养支持等综合措施亦是提高治愈率的重要手段。本例患者由于及时明确了病原体并得到了恰当的治疗,缩短了住院时间,获得了很好的预后。

综上所述,军团菌肺炎起病急、进展快、病死率高,对原因不明的社区获得性肺炎患者应尽早用靶向高通量测序技术明确诊断,采取针对性的治疗措施,实现抗菌药物的有效使用,是减轻疾病负担,获得良好预后的关键。

参考文献

[1] GRAHAM F F, FINN N, WHITE P, et al. Global

perspective of legionella infection in community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(3): 1907.

[2] MARCHELLO C, DALE A P, THAI T N, et al. Prevalence of atypical pathogens in patients with cough and community-acquired pneumonia: a meta-analysis[J]. *Ann Fam Med*, 2016, 14(6): 552-566.

[3] CHAHIN A, OPAL S M. Severe pneumonia caused by legionella pneumophila: differential diagnosis and therapeutic considerations[J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2017, 31(1): 111-121.

[4] GBD 2019 LRI Collaborators. Age-sex differences in the global burden of lower respiratory infections and risk factors, 1990-2019: results from the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet Infect Dis*, 2022, 22(11): 1626-1647.

[5] 中国研究型医院学会呼吸病学专业委员会成人呼吸系统感染性疾病病原学诊断专家意见编写组. 成人呼吸系统感染性疾病病原学诊断专家意见[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2020, 43(9): 757-764.

[6] HAN X, LIU X, CHEN L, et al. Disease burden and prognostic factors for clinical failure in elderly community acquired pneumonia patients[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 668.

[7] ANTONI T, JAMES D C, CHARLES S D, et al. Challenges in severe community-acquired pneumonia: a point-of-view review[J]. *Intensive Care Med*, 2019, 45(2): 159-171.

[8] GONÇALVES I G, SIMÕES L C, SIMÕES M. Legionella pneumophila[J]. *Trends Microbiol*, 2021, 29(9): 860-861.

[9] HLAUSA M C, ALUKO S K, MILLER A D, et al. Outbreaks associated with treated recreational water-United States, 2015-2019[J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2021, 70(20): 733-738.

[10] BARIMANI M J. Legionella: an uncommon cause of community-acquired pneumonia[J]. *JAA-PA*, 2022, 35(10): 38-42.

[11] BURILLO A, PEDRO-BOTET M L, BOUZA E. Microbiology and epidemiology of legionnaire's disease[J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2017, 31(1): 7-27.

- [12] HLAVSA M C, CIKESH B L, ROBERTS V A, et al. Outbreaks associated with treated recreational water-United States, 2000 – 2014 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2018, 67(19): 547-551.
- [13] DAVID S, RUSNIOK C, MENTASTI M, et al. Multiple major disease-associated clones of *Legionella pneumophila* have emerged recently and independently [J]. *Genome Res*, 2016, 26(11):1555-1564.
- [14] 张宙, 赖来清, 郭惠娴, 等. 21 242 例急性呼吸道感染住院患儿嗜肺军团菌分布特征分析[J]. *中国卫生标准管理*, 2021, 12(14):16-19.
- [15] MONDINO S, SCHMIDT S, ROLANDO M, et al. Legionnaires' disease: state of the art knowledge of pathogenesis mechanisms of legionella[J]. *Annu Rev Pathol*, 2020, 15:439-466.
- [16] 中华医学会呼吸病学分会. 中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016 年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(4):253-279.
- [17] 于金鹏, 高巍. 二代基因测序技术确诊嗜肺军团菌肺炎 1 例及文献回顾[J]. *中外医学研究*, 2022, 20(16):153-156.
- [18] ORKIS L T, HARRISON L H, MERTZ K J, et al. Environmental sources of community-acquired Legionnaires' disease;a review[J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2018, 221(5):764-774.
- [19] PIERRE D M, BARON J, YU V L, et al. Diagnostic testing for Legionnaires' disease [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2017, 16(1): 59.
- [20] AVNI T, BIEBER A, GREEN H, et al. Diagnostic accuracy of PCR alone and compared to urinary antigen testing for detection of legionella spp;a systematic review[J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 54(2): 401-411.
- [21] MITCHELL S L, SIMNER P J. Next-generation sequencing in clinical microbiology; are we there yet? [J]. *Clin Lab Med*, 2019, 39(3): 405-418.
- [22] 中华医学会呼吸病学分会. 下呼吸道感染宏基因组二代测序报告临床解读路径专家共识[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2023, 46(4):1-14.
- [23] GU W, MILLER S, CHIU C Y. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 319-338.
- [24] LI S, TONG J, LIU Y, et al. Targeted next generation sequencing is comparable with metagenomic next generation sequencing in adults with pneumonia for pathogenic microorganism detection[J]. *J Infect*, 2022, 85(5):e127-129.
- [25] ALLGAIER J, LAGU T, HAESSLER S, et al. Risk factors, management, and outcomes of legionella pneumonia in a large, nationally representative sample[J]. *Chest*, 2021, 159(5):1782-1792.
- [26] KAMPITAK T. Fever of unknown origin due to Legionnaires' disease;a diagnostic challenge [J]. *Travel Med Infect Dis*, 2018, 22:79.
- [27] CUNHA B A, BURILLO A, BOUZA E. Legionnaires' disease[J]. *Lancet*, 2016, 387(10016):376-385.

(收稿日期:2023-08-26 修回日期:2023-12-29)

(编辑:石芸)

(上接第 1593 页)

- [20] JIANG J, ZHAO S, HAN P, et al. Knowledge, attitude, and perceived barriers of newly graduated registered nurses undergoing standardized training in intensive care unit toward early mobilization of mechanically ventilated patients: a qualitative study in Shanghai[J]. *Front Public Health*, 2021, 9:802524.
- [21] 查丽玲, 周松, 王建宁. ICU 护士对患者早期活动认知和行为的调查研究[J]. *中华护理杂志*, 2018, 53(2):221-225.
- [22] BAKHRU R N, MCWILLIAMS D J, WIEBE D J, et al. Intensive care unit structure variation and implications for early mobilization practices. an international survey[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2016, 13(9):1527-1537.

(收稿日期:2023-11-22 修回日期:2024-02-21)

(编辑:成卓)