

· 论 著 ·

宏基因组学第二代测序技术在烧伤患者 和急慢性创面患者病原体 检测中的应用



李峰 尹会男 胡泉 张勤学 陈琦 杨龙龙 陈鑫 孙英杰

解放军总医院第四医学中心烧伤整形医学部, 北京 100048

通信作者: 李峰, Email: lifeng5586@163.com

【摘要】 目的 探讨采用宏基因组学第二代测序(mNGS)技术检测烧伤患者和急慢性创面患者病原体的价值。**方法** 采用回顾性观察性研究方法。选择2019年3月—2020年6月解放军总医院第四医学中心的11例符合入选标准的烧伤患者和急慢性创面患者(男10例、女1例,年龄23~85岁),共采集标本23份,其中全血标本6份、皮肤组织块标本1份、引流的脓液标本1份、创面分泌物拭子标本15份。每份标本均分为2份,分别采用微生物培养法、mNGS法检测病原体。统计2种方法检测出的病原体数量和种类以及mNGS法检测的相对丰度,并比较2种检测方法的一致性。对数据进行配对Wilcoxon秩和检验。**结果** 经微生物培养法检测,在23份标本中,5份标本未检出病原体;其余18份标本共检出35株病原体,属于9种细菌和2种真菌。5份标本均各检出单一病原菌,9份标本均各检出2种病原菌,4份标本均各检出3种病原菌。经mNGS法检测,在23份标本中,1份标本未检出病原体;其余22份标本共检出75株病原体,分属于28种细菌、3种真菌和3种病毒。8份标本均各检出单一病原体,5份标本均各检出2种病原体,2份标本均各检出3种病原体,3份标本均各检出4种病原体,2份标本均各检出6种病原体,各1份标本检出7、20种病原体。微生物培养法在每份标本中检出的病原体为2(1,2)种,明显少于mNGS法的2(1,4)种($Z=3.359, P<0.01$)。在微生物培养法未检出病原体的5份标本中,mNGS法在其中2份标本中检出细菌、另2份标本中检出病毒。mNGS法检出的存在2种及2种以上细菌的标本13份,每份标本中相对丰度占第1位的细菌其相对丰度范围为28.8%~95.9%。在23份标本中,有7份(30.4%)标本采用2种方法检测的结果完全一致,5份(21.7%)结果完全不一致,11份(47.8%)结果不完全一致。**结论** 与传统的微生物培养法相比,mNGS法检测敏感性更高、对病原体的检出能力更强,并且可判断混合感染的病原体的相对丰度,作为培养法的补充,可对烧伤和急慢性创面感染病原体的诊断产生重要作用。

【关键词】 宏基因组; 高通量核苷酸测序; 感染; 烧伤

基金项目:军队后勤科研计划(BWS19C015)

Application of metagenomic next-generation sequencing technology in pathogen detection in patients with burns and patients with acute or chronic wounds

Li Feng, Yin Huinan, Hu Quan, Zhang Qinxue, Chen Qi, Yang Longlong, Chen Xin, Sun Yingjie

Burns and Plastic Department, the Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Corresponding author: Li Feng, Email: lifeng5586@163.com

【Abstract】 Objective To explore the value of using metagenomic next-generation sequencing (mNGS) technology to detect pathogens in patients with burns and patients with acute or chronic wounds.

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200623-00322

本文引用格式:李峰,尹会男,胡泉,等.宏基因组学第二代测序技术在烧伤患者和急慢性创面患者病原体检测中的应用[J].中华烧伤杂志,2021,37(8):764-769. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200623-00322.

Li F, Yin HN, Hu Q, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing technology in pathogen detection in patients with burns and patients with acute or chronic wounds[J]. Chin J Burns, 2021, 37(8): 764-769. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200623-00322.

Methods A retrospective observational study was conducted. From March 2019 to June 2020, 11 patients with burns and patients with acute or chronic wounds (including 10 males and 1 female, aged 23 to 85 years) in the Fourth Medical Center of PLA General Hospital met the inclusion criteria and were recruited. A total of 23 specimens were collected, including 6 whole blood specimens, 1 skin tissue specimen, 1 drained pus specimen, and 15 wound secretion swab specimens. Each specimen was divided into two parts, which were subjected for pathogen detection using microbial culture method and mNGS method, respectively. The number and types of pathogens detected by the 2 methods and the relative abundance detected by the mNGS method were recorded, and the consistency of the two methods were compared. Data were statistically analyzed with paired Wilcoxon rank sum test. **Results** With the microbial culture method, no pathogen was detected in 5 of the 23 specimens, while 35 pathogens were detected in the remaining 18 specimens, belonging to 9 species of bacteria and 2 species of fungi. Five specimens had one pathogen while 9 specimens had 2 pathogens and 4 specimens had 3 pathogens detected in each specimen. With the mNGS method, no pathogen was detected in one of the 23 specimens, while 75 pathogens were detected in the remaining 22 specimens, belonging to 28 species of bacteria, 3 species of fungi, and 3 species of viruses. Eight specimens had one pathogen, 5 specimens had 2 pathogens, 2 specimens had 3 pathogens, 3 specimens had 4 pathogens, 2 specimens had 6 pathogens, and 1 specimen had 7 pathogens, and 1 specimen had 20 pathogens detected in each specimen. The number of pathogens detected in each specimen by microbial culture method was 2 (1, 2) types, which was significantly less than 2 (1, 4) types by mNGS method ($Z=3.359, P<0.01$). In 5 specimens, no bacteria were detected by microbial culture method but mNGS method detected bacteria in 2 specimens and virus in 2 different specimens. The mNGS method detected two or more types of bacteria in 13 specimens, the relative abundance of bacteria with the 1st relative abundance ranking ranged from 28.8% to 95.9% in each specimen. Of the 23 specimens detected by two detection methods, 7 specimens (30.4%) showed identical detection results, 5 specimens (21.7%) showed totally different detection results, and 11 specimens (47.8%) had partially consistent detection results. **Conclusions** Compared with the traditional microbial culture method, the mNGS method has higher detection sensitivity and stronger capacity to detect pathogens, and can determine the relative abundance of pathogens in mixed infections. As a supplement to the culture method, the mNGS method is expected to play an important role in the diagnosis of infectious pathogens in burns and acute or chronic wounds.

【 Key words 】 Metagenome; High-throughput nucleotide sequencing; Infection; Burns

Fund program: Military Logistics Scientific Research Plan (BWS19C015)

感染及感染所引起的脓毒症、多器官功能不全是烧伤患者所面临的致命威胁^[1-2]。及早发现感染并判明引起感染的病原体是采取各种措施的先决条件。检测降钙素原水平用于诊断感染并判断感染的严重程度^[3]的价值已得到公认^[4],但微生物的检测方法目前仍以传统的培养法为主流。然而,绝大多数微生物无法通过培养法鉴定^[5],并且该方法耗时长、对技术要求高,不能完全满足临床需求。近年来,基于非培养的新型诊断技术迅速发展,给病原学诊断带来了缩短检测时间、操作简便及提升检测准确度和精密度等重大变革^[6-7],其中以宏基因组学第二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)技术为代表^[8]。本研究团队尝试采用mNGS技术检测病原体,并与传统培养法比较,该方法确有特色,现介绍如下。

1 对象与方法

本回顾性观察性研究符合《赫尔辛基宣言》的基本原则,根据解放军总医院第四医学中心伦理委员会政策,临床资料可以在不泄露患者身份的前提

下进行分析、使用。

1.1 入选标准

纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 岁,怀疑创面感染或怀疑血流感染的病例;(2)对同一标本同时进行过mNGS检测和微生物培养。排除标准:(1)采集标本量过少者;(2)mNGS检测结果提示标本在取样、转运或处理过程中受到严重污染者。

1.2 临床资料与标本采集

2019年3月—2020年6月,解放军总医院第四医学中心收治/接诊11例符合入选标准的烧伤患者和急慢性创面患者,其中男10例、女1例,年龄23~85岁,其中烧伤患者8例、慢性溃疡患者2例、坏死性筋膜炎患者1例。住院或治疗期间共采集标本23份,其中全血标本6份来自6例烧伤患者、皮肤组织块标本1份来自1例烧伤患者、引流的脓液标本1份来自1例坏死性筋膜炎患者、创面分泌物拭子标本15份来自7例烧伤患者和2例慢性创面患者。每份标本均分为2份,一份在取材后30 min内送解放军总医院第四医学中心检验科行微生物培养、鉴定,另一份置于冰盒内送迪飞医学科技(上海)有限

公司行 mNGS 检测。

1.3 微生物分离培养及鉴定

按常规方法进行分离培养后,使用 VITEK-2 Compact 全自动细菌培养鉴定系统(法国生物梅里埃公司)进行菌种鉴定,根据美国临床实验室标准协会 2019 年规定的标准进行试验和结果判读。

1.4 mNGS 检测

首先利用大体积核酸提取试剂盒从采集的标本中提取 DNA,检测 DNA 浓度,所得 DNA 用超声波破碎仪打断为长度 300 bp 左右的片段,使用试剂盒进行文库构建,包括末端修复、加 A 尾、连接接头、纯化。利用 Agilent 生物分析仪检测文库质量,通过 Qubit 2.0 检测文库浓度,定量 PCR 定量下机测序数据量。使用 NextSeq 550Dx 测序仪(美国 Illumina 公司)上机测序。使用 bowtie 2 校准软件去除人类宿主序列,获得未比对序列。将未比对上的序列与微生物基因组数据库比对从而得出报告。为了使不同样本以及同一样本内的物种之间可以进行比较,对读长(reads)数进行均一化处理。首先将读长数用物种基因组长度进行均一化,计算其“每千碱基读长(reads per kilobase)”,再进一步计算微生物的相对丰度。相对丰度表示该微生物在整个标本中检测到的相同类型微生物中所占比重,相对丰度越高表示其在相同类型微生物中所占的比例越高。

1.5 统计指标

统计各标本采用微生物培养法和 mNGS 法检测出的病原体数量和种类以及 mNGS 法检测的相对丰度,并比较 2 种检测方法的一致性。

1.6 统计学处理

采用 Stata 7.0 软件进行处理,每份标本 2 种检测方法检出的病原体种类、数量为非正态分布数据,以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,行配对 Wilcoxon 秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 种方法检测结果

经微生物培养法检测,在 23 份标本中,5 份标本(4 份全血标本、1 份创面分泌物拭子标本)未检出病原体;其余 18 份标本共检出 35 株病原体,属于 9 种细菌和 2 种真菌。5 份标本均各检出单一病原体,9 份标本均各检出 2 种病原体,4 份标本均各检出 3 种病原体。经 mNGS 法检测,在 23 份标本中,1 份标本(全血标本)未检出病原体;其余 22 份标本共检出 75 株病原体,分属于 28 种细菌、3 种真菌和 3 种病毒。8 份标本均各检出单一病原体,5 份标本均各检出 2 种病原体,2 份标本均各检出 3 种病原体,3 份标本均各检出 4 种病原体,2 份标本均各检出 6 种病原体,各 1 份标本检出 7、20 种病原体。微生物培养法在每份标本中检出的病原体为 2(1,2)种,明显少于 mNGS 法的 2(1,4)种($Z=3.359, P < 0.001$)。在微生物培养法未检出病原体的 5 份标本中,mNGS 法在其中 2 份标本中检出细菌、另 2 份标本中检出病毒。2 种方法的具体检出结果见表 1。

mNGS 法检出的存在 2 种及 2 种以上病原体的标本 14 份,除 1 份细菌与真菌混合感染的标本外,从测出的序列数计算各种细菌的相对丰度,剩余 13 份标本的每份标本中相对丰度占第 1 位的细菌其相对丰度范围为 28.8%~95.9%。其中铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌的相对丰度占第 1 位的标本各 4 份,金黄色葡萄球菌相对丰度占第 1 位的标本 2 份,鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、粪产碱杆菌的相对丰度占第 1 位的标本各 1 份。

2.2 2 种方法检测结果的一致性

在 23 份标本中,有 7 份(30.4%)标本采用 2 种方法检测的结果完全一致,包括 3 份全血标本、3 份创面分泌物拭子标本、1 份皮肤组织块标本。5 份(21.7%)标本采用 2 种方法检测的结果完全不一

表 1 微生物培养法和 mNGS 法在 11 例烧伤患者和急性慢性创面患者的 23 份标本中检出的微生物株数比较(株)

检测方法	铜绿假单胞菌	金黄色葡萄球菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌	奇异变形杆菌	嗜麦芽窄食单胞菌	纹带棒状杆菌	粪产碱杆菌	摩氏摩根菌
微生物培养法	6	5	7	5	5	2	1	1	1
mNGS 法	8	8	7	8	6	2	3	1	1

检测方法	曲霉菌	白色念珠菌	二路普雷沃菌	海氏嗜蛋白胺菌	脆弱拟杆菌	粪肠球菌	大肠埃希菌	其他	合计
微生物培养法	1	1	0	0	0	0	0	0	35
mNGS 法	1	1	3	2	2	2	2	18	75

注:mNGS 为宏基因组学二代测序;其他包括海分枝杆菌、不解糖卟啉单胞菌、微小微单胞菌、化脓隐稳杆菌、咽峡炎链球菌、斯氏普鲁威登菌、鸟肠球菌、无乳链球菌、耐药棒状杆菌、威隆气单胞菌、纽氏放线菌、黏质沙雷菌、化脓性链球菌、肠道沙门菌、毛霉菌、人类疱疹病毒、单纯疱疹病毒、人细小病毒 B19

致,其中 1 份引流的脓液标本,微生物培养法检测结果为金黄色葡萄球菌,mNGS 法检测结果为化脓性链球菌;1 份创面分泌物拭子标本,微生物培养法检测结果为阴性,mNGS 法检测结果为海分枝杆菌;3 份全血标本,微生物培养法检测结果均为阴性,mNGS 法检测结果为鲍曼不动杆菌、单纯疱疹病毒、人细小病毒 B19。11 份(47.8%)标本采用 2 种方法检测的结果不完全一致,主要是 mNGS 法检出的病原体种类多于微生物培养法,微生物培养法未检出的细菌以少见菌、厌氧菌为主,还包括真菌、病毒。

2.3 典型病例

例 1 男,56 岁,因头面颈部、躯干以及四肢 48%TBSA II~IV 度火焰烧伤入院。于伤后第 16 天,因反复发热、精神差抽血行需氧菌、厌氧菌双管血微生物培养,同时送 mGNS 检测。微生物培养报告结果为阴性,mNGS 检测结果为鲍曼不动杆菌,确诊为血流感染。据此检测结果予以头孢哌酮/舒巴坦、替加环素、多黏菌素 B 抗感染治疗,病情渐趋稳定,后行清创植皮 3 次,于伤后 50 d 左右创面基本封闭。

例 2 男,85 岁,因右手手背皮肤多处形成小结节并反复破溃感染近 1 年就诊。行创面分泌物细菌培养、真菌培养、放线菌培养、结核分枝杆菌复合群 DNA 检测,结果均为阴性,mNGS 检测结果为分枝杆菌属海分枝杆菌。予以口服利福平、乙胺丁醇治疗 3 个月,患者基本痊愈。

3 讨论

感染是烧伤患者面临的主要威胁,有国内文献统计,成年大面积烧伤死亡患者中,以严重感染为主要死亡原因^[9-10],国外文献也同样认为感染、脓毒症是成年大面积烧伤患者死亡的主要原因^[11-12],可见防治感染对于烧伤救治具有重要意义。及早开始有针对性的抗菌药物治疗对于挽救脓毒症患者的生命至关重要。根据国际或国内指南要求,抗菌药物需在诊断脓毒症后 1 h 内应用,延迟不超过 3 h,在出现脓毒症或脓毒性休克的情况下,延迟应用抗菌药物将增加病死率^[13-14]。在如此短暂的时间内选择抗生素,如果没有确切的病原学证据,必然采用经验性抗感染治疗,以期覆盖所有可能的致病菌。然而必须明确的是,没有哪种抗生素可以覆盖所有病原菌,尽快拿到病原学证据,使用有针对性的抗生素才是最佳选择。

快速诊断是 mNGS 技术重要的优势之一^[15],从

接收标本到获得结果大约需要 21 h;而传统的培养法,如果是血微生物培养且为单一细菌,至少需要 24 h 才可以获得细菌鉴定结果,如果是多种细菌,还要再延长至少 8 h;如果是真菌这类生长速度较慢的病原体,传统培养法则需要更多的时间;如果培养结果是阴性则需要 5 d 才可以确认。2 种方法之间最少有 3~11 h 的时间差,对于迫切需要确切微生物证据的危重患者而言,无疑是极为重要的。

本研究的重点内容是 2 种方法检测结果的对比,可以得出以下几个特点。(1)mNGS 法具有更高的敏感性^[16-17]。本研究中,传统培养法对 4 份全血标本的检测结果为阴性,而 mNGS 法对其中 1 份标本的检测结果也为阴性,但其余 3 份标本则检出鲍曼不动杆菌和病毒,尤其以细菌的检出意义更大。一般认为,血微生物培养是血流感染的“金标准”,对血流感染具有确诊作用,但血微生物培养的阳性率受培养次数、采血时间、采血量等因素的影响,即便有感染存在也未必能分离出细菌,因此血微生物培养阴性并不能完全排除血流感染^[18],有文献报道血微生物培养的灵敏度最多只有 40%^[19]。因此,鉴于血微生物培养对指导临床的重大意义和 mNGS 高敏感性的特点,有必要对高度怀疑血流感染的患者进行 mNGS 检测^[20]。本研究中的典型病例 1 即是在血微生物培养结果阴性的条件下,依赖 mNGS 法检测确诊为血流感染,这一检测结果对采取相应的治疗措施、挽救患者生命的作用十分关键。(2)同样是基于 mNGS 高敏感性的特点,其可以检测标本是否存在疑难菌、少见菌的感染^[21]。例如,厌氧菌、苛养菌对取材和培养要求苛刻,培养法的检出阳性率低^[22],而病毒只能在活细胞内生长繁殖^[23],mNGS 的特点在于不依赖培养,在理论上甚至可以检测出并未被认知的病原体^[24]。本研究中,mNGS 法共检出 34 种/75 株病原体,而传统培养法共检出 11 种/35 株病原体;采用 mNGS 法在每份标本中检出病原体种类数在 2 个及以上的达 14 份,最多的一份标本检出病原体种类数多达 20 种,其中一些属于少见菌;比较 2 种方法检出病原体种类数量的统计结果也显示,培养法在每份标本中检出的病原体种类数量少于 mNGS 法,这与国内外在不同学科领域的研究报道结果^[25-28]相同,凸显了 mNGS 法对病原体具有更强的检出能力。具有代表性的是典型病例 2,采用包括培养法在内的多种方法均未检出致病菌,采用 mNGS 法检测得出是由于少见菌海分枝杆菌导致的

感染。(3)对于多种细菌混合感染,mNGS法可以通过各病原体的序列数即相对丰度,提供哪一种细菌是优势菌这一重要信息^[29]。mNGS检测提供的这一信息,是培养法所不能提供的,也是临床所需要的重要信息。mNGS技术提取样本总核酸,均匀打断核酸片段,随机抽取核酸片段进行测序,测序数据量越高,病原微生物被测到的概率越高,检出的序列数也越多。对于同一份样本,由于总测序数据量一定,被测到的序列数多少仅与感染菌载量及菌基因组大小有关,又由于细菌彼此之间基因组大小相近,因此序列数高低直接反映感染细菌载量。但应注意,由于细菌、病毒和真菌的基因组大小相差10~100倍,因此不能直接通过序列数进行比较,只能在同类微生物间比较^[30-31]。(4)培养法与mNGS法存在结果不一致的可能。在本项研究对1例患者坏死性筋膜炎引流的脓液标本的检测中,培养法检测结果为金黄色葡萄球菌,mNGS法检测结果为化脓性链球菌。尽管难以判断哪一个是正确的结果,但应当了解的是在葡萄球菌的培养鉴定过程中,由于细菌可在一个平面分裂,排列成对或呈短链状,易被误认为是链球菌^[32]。

与传统培养法相比,mNGS法存在一项明显不足,即耐药性的检测。耐药性是除微生物鉴定之外,培养法提供的一项关键信息。目前,mNGS法也可以提供耐药性的检测,但其是通过检测耐药基因组并与耐药基因数据库进行比对计算出耐药性的,并不能和传统培养法一样直接检测细菌的耐药性^[33-34]。mNGS法的另一个不足是目前的检测成本较高,经济性差^[35]。

总之,与传统培养法相比,mNGS技术是一种新技术,2014年才有将该技术用于病原体检测的第1篇论文^[36]发表。目前,mNGS技术在病原学诊断方面仍多为小样本量的检测或个案报道,其技术的成熟、可靠程度仍有待更大样本量的对比观察。但mNGS技术在本研究中所显示的高敏感性、检出更多病原体的能力、鉴别少见菌和在混合感染中鉴别优势菌的能力都是传统培养法所不具备的,作为传统培养法的重要补充,很可能成为诊断烧伤和急慢性创面感染的一项利器。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Manning J. Sepsis in the burn patient[J]. Crit Care Nurs Clin North Am, 2018, 30(3):423-430. DOI: 10.1016/j.cnc.2018.05.010.
[2] Zhang PJ, Zou BW, Liou YC, et al. The pathogenesis and diagno-

sis of sepsis post burn injury[J/OL]. Burns Trauma, 2021, 9: tkaa047[2021-05-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33654698/>. DOI: 10.1093/burnst/tkaa047.
[3] Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review[J]. Crit Care, 2010, 14(1):R15. DOI: 10.1186/cc8872.
[4] Fan SL, Miller NS, Lee J, et al. Diagnosing sepsis - the role of laboratory medicine[J]. Clin Chim Acta, 2016, 460: 203-210. DOI: 10.1016/j.cca.2016.07.002.
[5] Lloyd KG, Steen AD, Ladau J, et al. Phylogenetically novel uncultured microbial cells dominate earth microbiomes[J]. mSystems, 2018, 3(5): e00055-18. DOI: 10.1128/mSystems.00055-18.
[6] 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.
[7] 张坚磊,马小军.感染性疾病病原学诊断新技术与临床应用策略[J].协和医学杂志,2018,9(5):399-403. DOI: 10.3969/j.issn.1674-9081.2018.05.004.
[8] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. Annu Rev Pathol, 2019, 14: 319-338. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012751.
[9] 邓呈亮,詹日兴,刘洋,等.成年大面积烧伤死亡患者的细菌感染及耐药情况分析[J].中华烧伤杂志,2016,32(11):688-691. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2016.11.011.
[10] 柴家科.实用烧伤外科学[M].北京:人民军医出版社,2014:218.
[11] Bloemsma GC, Dokter J, Boxma H, et al. Mortality and causes of death in a burn centre[J]. Burns, 2008, 34(8): 1103-1107. DOI: 10.1016/j.burns.2008.02.010.
[12] Lavrentieva A, Voutsas V, Konoglou M, et al. Determinants of outcome in burn ICU patients with septic shock[J]. J Burn Care Res, 2017, 38(1): e172-e179. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000337.
[13] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
[14] 中国医师协会急诊医师分会,中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会.中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J].感染、炎症、修复,2019,20(1):3-22. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8521.2019.01.001.
[15] Deurenberg RH, Bathoorn E, Chlebowicz MA, et al. 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.
[16] Mwaigwisya S, Assiri RAM, O'Grady J. Emerging commercial molecular tests for the diagnosis of bloodstream infection[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2015, 15(5): 681-692. DOI: 10.1586/14737159.2015.1029459.
[17] Long Y, Zhang YX, Gong YP, et al. Diagnosis of sepsis with cell-free DNA by next-generation sequencing technology in ICU patients[J]. Arch Med Res, 2016, 47(5): 365-371. DOI: 10.1016/j.armed.2016.08.004.
[18] 王凯飞,沈定霞,刘朝军,等.血清降钙素原定量检测与血培养结果的比较[J].中华检验医学杂志,2012,35(3):243-246. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2012.03.011.
[19] Warhurst G, Dunn G, Chadwick P, et al. Rapid detection of health-care-associated bloodstream infection in critical care using multipathogen real-time polymerase chain reaction technology: a diagnostic accuracy study and systematic review[J]. Health Technol Assess, 2015, 19(35): 1-142. DOI: 10.3310/hta19350.
[20] Brenner T, Decker SO, Grumaz S, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in sepsis (Next GeneSiS-Tri-

- al): study protocol of a prospective, observational, noninterventional, multicenter, clinical trial[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(6): e9868. DOI: 10.1097/MD.00000000000009868.
- [21] Hu HL, Guo LY, Wu HL, et al. Evaluation of next-generation sequencing for the pathogenic diagnosis of children brain abscesses [J]. *J Infect*, 2019, 78(4):323-337. DOI: 10.1016/j.jinf.2019.01.003.
- [22] 张军民, 周贵民. 厌氧菌血培养仍是值得重视的问题[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(10): 979-980. DOI: 10.3760/j.issn:1009-9158.2005.10.002.
- [23] 洪秀华. 病毒感染的实验诊断方法及其价值[J]. *诊断学理论与实践*, 2007, 6(3): 180-184. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2870.2007.03.002.
- [24] Comar M, D'Accolti M, Cason C, et al. Introduction of NGS in environmental surveillance for healthcare-associated infection control[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(12): 708. DOI: 10.3390/microorganisms7120708.
- [25] 柯创宏, 韩焕钦, 杨天骄, 等. 高通量测序技术检测支气管肺泡灌洗液在婴幼儿肺炎病原学诊断中的价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(4): 398-400. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2020.04.020.
- [26] 胡晓熠, 汪明, 王惠明. 高通量测序技术在尿路感染及腹膜透析相关腹膜炎病原学诊断中的价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(3): 230-233. DOI:10.13507/j.issn.1674-3474.2021.03.004.
- [27] Chen PX, Sun WW, He YY. Comparison of the next-generation sequencing (NGS) technology with culture methods in the diagnosis of bacterial and fungal infections[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(9): 4924-4929. DOI: 10.21037/jtd-20-930.
- [28] Yin H, Xu DL, Wang DW. Diagnostic value of next-generation sequencing to detect periprosthetic joint infection[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2021, 22(1): 252. DOI: 10.1186/s12891-021-04116-9.
- [29] Galazzo G, van Best N, Benedikter BJ, et al. How to count our microbes? The effect of different quantitative microbiome profiling approaches[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 403. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00403.
- [30] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识[J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(2):107-120. DOI:10.3760/cma.j.cn114452-20201026-00794.
- [31] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(11):681-689. DOI:10.3760/cma.j.cn311365-20200731-00732.
- [32] 于威, 孟冬梅. 微生物学及检验技术[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2008: 138.
- [33] 梁振山, 曾令兵, 万腊根. 基因组测序技术及其临床应用研究进展[J]. *实验与检验医学*, 2016, 34(1): 48-51. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1129.2016.01.016.
- [34] 黄晶晶, 肖盟, 徐英春. 二代测序技术在微生物和感染性疾病中的应用[J]. *协和医学杂志*, 2018, 9(5): 448-452. DOI: 10.3969/j.issn.1674-9081.2018.05.014.
- [35] 杨继勇. 高通量测序技术在感染病原检测中的应用与展望[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(5): 533-539. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20190719-00438.
- [36] Wilson MR, Naccache SN, Samayoa E, et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(25): 2408-2417. DOI: 10.1056/NEJMoal401268.

(收稿日期:2020-06-23)

· 科技快讯 ·

A型肉毒毒素和曲安奈德协同调节表皮过度神经支配缓解瘢痕瘙痒的初步报告

本文引用格式: Huang SH, Wu KW, Lo JJ, et al. Synergic effect of botulinum toxin type-A and triamcinolone alleviates scar pruritus by modulating epidermal hyperinnervation: a preliminary report[J/OL]. *Aesthet Surg J*, 2021: sjab105[2021-05-07]. <https://academic.oup.com/asj/advance-article/doi/10.1093/asj/sjab105/6154581#>. DOI: 10.1093/asj/sjab105.

曲安奈德被广泛用于治疗病理性瘢痕。近年来有报道, A型肉毒毒素(BTX-A)有改善瘢痕及其相关不适感的效果。本文通过将自体瘢痕一分为二随机对照研究, 观察单独使用曲安奈德、曲安奈德与BTX-A联用治疗瘢痕瘙痒的临床疗效, 另通过动物实验研究其潜在机制。在临床研究中, 治疗性干预分3次进行, 每次间隔4周。在第1、2、3次治疗干预前和最后一次干预后4周, 使用视觉模拟评分法(VAS)测量瘙痒强度。与单独使用曲安奈德相比, 联合应用曲安奈德与BTX-A的瘢痕在最后一次干预后4周瘙痒显著减轻($P=0.04$)。在动物实验中, 治疗后4周, 与未经治疗的烧伤组比较, 曲安奈德+BTX-A组大鼠烧伤后的瘙痒均得到显著缓解($P=0.0053$), 神经纤维密度显著下降($P=0.0008$), 神经生长因子与瞬时受体电位香草素亚型1(TRPV1)显著下调($P=0.0027, 0.0271$)。曲安奈德与BTX-A联合疗法比单独使用曲安奈德在减轻瘢痕瘙痒方面表现出了更好的临床疗效, 其机制可能是通过抑制神经生长因子的释放, 从而限制神经突起的生长和TRPV1的表达。

谢超琼, 编译自《Aesthet Surg J》, 2021: sjab105; 徐庆连, 审校