

疗效和安全性的多中心随机对照临床试验[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(8): 577-582.

[11] 刘诗, 李英莉. 老年人慢性便秘非药物治疗进展[J]. 中国临床保健杂志, 2019, 22(1): 18-21.

[12] 杨雨晴, 郑悦, 李敏. 微生态疗法治疗慢性功能性便秘的研究进展[J/CD]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2021, 21(27): 74-77. DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2021.27.026.

[13] 王珺文, 孙会会, 姜元喜, 等. 功能性便秘和便秘型肠易激综合征的治疗研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2021, 41(1): 19-22.

[14] 张晓莉, 郑松柏. 慢性便秘的流行病学研究现状[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2014, 13(3): 178-181.

[15] 易惺钱, 陈晓凡, 乐毅敏, 等. 运动疗法治疗老年性便秘疗效与

安全性的系统评价[J]. 中国康复医学杂志, 2016, 32(4): 457-460.

[16] 覃荣周, 唐玉香, 钟毅, 等. 反射区按摩配合运动疗法辅助治疗老年性便秘的疗效[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(14): 3420-3422.

[17] 罗媛媛. 功能性便秘的非药物治疗研究进展[J/CD]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(27): 20-21. DOI: 10.16294/j.cnki.1007-659x.2017.01.028.

[18] 中华医学会老年医学分会, 中华老年医学杂志编辑委员会. 老年人慢性便秘的评估与处理专家共识[J]. 中华老年医学杂志, 2017, 36(4): 371-381.

(收稿日期: 2022-03-10)

· 论著 ·

二代测序技术在脓毒症病原学诊断中的应用价值

查渝^a, 曹晓光^a, 戴媛媛^b, 黄羽^a, 王春艳^a, 周树生^a

中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院), ^a急救中心 ICU, ^b细菌室, 合肥 230001

[摘要] **目的** 探讨二代测序技术(NGS)在脓毒症病原体检测中的运用价值。**方法** 采用回顾性分析研究, 收集 2018 年 1 月至 2022 年 1 月某三级甲等教学医院收治的 82 例疑似脓毒症患者的临床资料, 采集血标本进行血培养、NGS 和聚合酶链反应(PCR)检测, 比较 3 种方法的临床应用价值。**结果** 血培养、NGS 和 PCR 所需检测时间分别为 (5.61 ± 1.22) 、 (1.32 ± 0.26) 和 (1.52 ± 0.31) d。82 例患者中, 诊断为脓毒症 62 例, 非脓毒症患者 20 例; 脓毒症组中有 35 例未治愈, 明显高于非脓毒症组 4 例 ($P < 0.05$)。61 例 NGS 阳性标本中, 检测出病原体主要包括鲍曼不动杆菌 10 例、肺炎克雷伯杆菌 14 例、金黄色葡萄球菌 4 例、巨细胞病毒(CMV)22 例、人类疱疹病毒(EBV)13 例、单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)13 例、耶氏肺孢子菌 8 例和烟曲霉 5 例。12 例患者血培养阳性, 共计检出 13 种病原体, 包括肺炎克雷伯杆菌 3 例、铜绿假单胞菌 2 例、大肠杆菌 2 例、鲍曼不动杆菌、伯克霍尔德菌、金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、溶血葡萄球菌和白色念珠菌各 1 例。NGS 检测阳性率为 74.39%, 明显高于血培养的 14.63%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。NGS 和血培养 ROC 曲线下面积、敏感性和特异性分别为 0.628、80.6%、45.0% 和 0.597、19.4%、100%。32 例患者行 PCR 检测, 9 例阳性患者中发现 2 种病毒感染(CMV 4 例, EBV 5 例), 检测阳性率为 28.13%。**结论** NGS 检测方法优于传统检测方法, 可检测出未知病原体且检测周期较短。

[关键词] 脓毒症; 血培养; 聚合酶链反应; 序列分析

DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2022.03.011

The etiologic diagnosis value of Next-Generation Sequencing(NGS) technology for sepsis pathogens detection

Zha Yu^{*}, Cao Xiaoguang, Dai Yuanyuan, Huang Yu, Wang Chunyan, Zhou Shusheng

^{*}Department of Intensive Care Unit, the First Affiliated Hospital of USTC, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230001, China

Corresponding author: Zhou Shusheng, Email: zhoush108@163.com

[Abstract] **Objective** To evaluate the clinical value of Next-Generation Sequencing (NGS) in the diagnosis of Sepsis pathogens detection. **Methods** Based on the retrospective reviewing and analyzing of 82 clinical cases of suspec-

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(1908085MH264)

作者简介: 查渝, 主治医师, Email: 5018166@163.com

通信作者: 周树生, 主任医师, Email: zhoush108@163.com

ted sepsis patients admitted to the department of ICU between January 2018 and January 2022 in a top teaching hospital, this study conducts a comparative and statistical analysis of the clinical value of blood collecting and blood culture method, NGS method and PCR method in the etiologic diagnosis of Sepsis pathogens detection. **Results** The average detection time required for the three methods was respectively (5.61 ± 1.22) d for blood culture, (1.32 ± 0.26) d for NGS and (1.52 ± 0.31) d for PCR. According to the clinical diagnostic criteria, 82 patients with suspected sepsis were divided into sepsis group (62 cases) and non-sepsis group (20 cases). The uncured patients were 35 cases in sepsis group while 4 cases in non-sepsis group, which proved that the deteriorating rate of sepsis group is apparently higher than the non-sepsis ($P < 0.05$). In 61 positive samples of NGS, the pathogens detected mainly included *Acinetobacter baumannii* (10 cases), *Klebsiella pneumoniae* (14 cases), *Staphylococcus aureus* (4 cases), CMV (22 cases), EBV (13 cases), HSV-1 (13 cases), *Pneumocystis yersinii* (8 cases) and *Aspergillus fumigatus* (5 cases). Among the 12 positive samples of blood culture, 13 pathogens were detected, including *Klebsiella pneumoniae* (3 cases), *Pseudomonas aeruginosa* (2 cases), *Escherichia coli* (2 case), *Acinetobacter baumannii* (1 case), *Burkholderia* (1 case), *Staphylococcus aureus* (1 case), *Enterococcus faecium* (1 case), *Staphylococcus haemolyticus* (1 case) and *Candida albicans* (1 case). The sensitivity of NGS in positive case detection was 74.39%, which was significantly higher than that of blood culture (14.63%), $P < 0.05$. The differences were statistically significant, which could be clearly reflected in the receiver operating characteristic (ROC) curve: The sharp data contrast of sensitivity and specificity between NGS and blood culture was respectively 0.628 vs. 0.597, 80.6% vs. 19.4%, 45.0% vs. 100%. By PCR, the pathogens were detected in 32 patients, with 2 kinds virus detected in 9 patients (4 cases CMV, 5 cases EBV). **Conclusions** The method of sepsis pathogens detection based on NGS is highly sensitive in detecting unknown pathogens, which is superior to those used traditional methods. Simultaneously, the NGS is shorter than traditional methods.

[**Keywords**] Sepsis; Blood culture; Polymerase chain reaction; Sequence analysis

脓毒症是重症医学科 (ICU) 最常见的病症,是导致重症患者死亡的主要原因之一^[1]。近年来,其发病率呈上升趋势^[2]。脓毒症治疗的核心环节是病原体的早期识别和有效抗菌药物的尽早应用^[3-6]。目前病原学诊断方法常用的有细菌培养和病原体遗传物质检测技术[包括基因探针技术、聚合酶链反应 (PCR) 技术],在特异性、敏感性和诊断时间等方面各有优势。二代测序技术 (NGS) 可同时针对上百万个核酸片段进行检测,可快速、准确检测出样本中所有病原体尤其是非典型、罕见病原体等^[7-8]。由于缺乏公认的判断标准,导致其在临床运用上存在认识差异。本研究分析了 2018 年 1 月至 2022 年 1 月某三级甲等教学医院收治 82 例疑似脓毒症患者,并将 NGS 与血培养和 PCR 等检测结果进行对比,进一步明确 NGS 临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2018 年 1 月至 2022 年 1 月某三级甲等教学医院收治住院的 82 例疑似脓毒症患者临床资料。排除标准:(1) 血细菌培养、NGS 结果考虑为标本污染和数据严重缺失患者;(2) 所有病原体检测结果的解读均由 3 名 ICU 高级职称医师共同商议后决定,意见不统一的病例。检测时间为

标本送检至出具报告所需时间。

1.2 脓毒症诊断标准及病原体判定 脓毒症诊断根据 Sepsis 3.0 标准,初始入组标准为发热伴有快速序贯脏器衰竭评分 (qSOFA) ≥ 2 分,最终诊断标准为感染 + 序贯脏器衰竭评分 (SOFA) ≥ 2 分^[9]。病原体的判定参照《中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床运用专家共识 (2020)》^[10] 推荐意见,结合患者血细菌培养、PCR 检测、临床表现及辅助检查结果,由 3 名 ICU 高级职称医师共同商议后确认致病病原体。

1.3 仪器与试剂 全自动血培养仪及配套血培养瓶 (美国 BD 公司), VITEK-32 全自动微生物分析仪及配套鉴定药敏卡 VITEK MSTM 质谱仪 (法国 VITEK 公司), GTQ-Cycler 扩增仪 (德国海恩公司), DYY-6C 型电泳仪 (北京六一仪器厂), ABI7500 荧光定量 PCR 仪 (北京六一仪器厂), GIS 凝胶图像分析仪 (上海天能公司)。二代测序及生物信息学分析由华大基因研究所完成。PCR 引物序列: HSV (武汉百泰)、EBV 和 CMV (达安基因)。

1.4 血培养及 PCR 检测 血培养的采集参照美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 的血培养临床实践指南。对疑似脓毒症的患者,从不同穿刺位点平均采集 2 套标本进行血培养,采集的血液被立即注入

需氧瓶和厌氧瓶(每瓶 8 ~ 10 mL 血液)。血培养瓶用全自动血培养仪培养 5 d,对培养阳性的标本及时转种到哥伦比亚血平板、巧克力平板及麦康凯平板。培养出的微生物使用 VITEK-32 全自动药敏分析仪进行药敏试验。PCR 检测病原体:将血标本离心后,取 0.5 ~ 1 mL 血浆加入 50 μ L DNA 提取液混匀,100 $^{\circ}$ C 水浴 10 min 后离心,取上清液按照试剂盒说明书设置 PCR 反应条件。

1.5 NGS 检测

1.5.1 样本处理和核酸提取 取 1 ~ 2 mL 新鲜血液标本,经玻璃珠混合震荡后提取 DNA 标本进行文库的构建。

1.5.2 文库构建和测序 采用 Agilent 2100 Bioanalyzer 质控文库插入片段大小,采用 Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher,美国)质控 DNA 文库浓度,经环化形成单链环形结构。环化后的文库经滚环复制(RCA)生成 DNB 纳米球。制备好的 DNB 纳米球加载到测序芯片,采用 BGISEQ-500 进行测序。

1.5.3 数据分析 测序数据下机后去除低质量的和长度 < 35 bp 的数据以获得高质量的数据,将高质量数据中比对上人参考基因组序列的数据去除,剩下的数据去除低复杂度 reads 后与专用的微生物大数据库比对,并将比对后的数据按照病毒、细菌、真菌和寄生虫等进行分类和排列。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计学软件分析数据。非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表

示,采用 Mann-Whitney 检验;计数资料用例数及百分比表示,采用 χ^2 检验。使用 MedCalc 18.11.3 软件,用 Delong 法绘制受试者工作特征(ROC)曲线计算灵敏度、特异度及曲线下面积(AUC)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 82 例患者中,男性 53 例,女性 29 例;年龄 14 ~ 96 岁。所有患者均采用 NGS 和血培养检测,32 例患者采用 PCR 分子鉴定法。诊断为脓毒症患者 62 例(脓毒症组),非脓毒症患者 20 例(非脓毒症组)。脓毒症组 NGS 和血培养阳性率均高于非脓毒症组(NGS:80.65% 比 55.00%;血培养:19.35% 比 0),组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。对预后的影响,62 例脓毒症患者中 35 例(56.45%)未治愈,明显高于非脓毒症(25.00%),组间差异有统计学意义($P < 0.05$);余指标组间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1、表 2。

2.2 血培养及 PCR 结果分析 82 例患者血培养检测时间为(5.61 $\pm$ 1.22) d,共计 12 例患者阳性,阳性率 14.63%,共计 13 种病原体,分别为:肺炎克雷伯杆菌 3 例、铜绿假单胞菌杆菌 2 例、大肠杆菌 2 例、鲍曼不动杆菌、伯克霍尔德菌、金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、溶血葡萄球菌各 1 例,白色假丝酵母 1 例。32 例患者进行了 PCR 检测,检测时间为(1.52 $\pm$ 0.31) d,检测结果为:巨细胞病毒(CMV)4 例、人类疱疹病毒(EBV)5 例。

表 1 脓毒症组与非脓毒症组相关资料比较

组别	例数	性别[例(%)]		年龄[$M(P_{25}, P_{75})$, 岁]	NGS[例(%)]		血培养[例(%)]		PCR[例(%)]		预后[例(%)]	
		男	女		+	-	+	-	+	-	好转	未治愈
脓毒症组	62	43(69.35)	19(30.65)	58.00(48.50,71.25)	50(80.65)	12(19.35)	12(19.35)	50(80.65)	8(34.78)	15(65.22)	27(43.55)	35(56.45)
非脓毒症组	20	10(50.00)	10(50.00)	51.50(33.25,64.25)	11(55.00)	9(45.00)	0	20(100.00)	1(11.11)	8(88.89)	16(75.00)	4(25.00)
χ^2 或 Z 值		1.366		-1.437	5.220		-		1.793 ^b		6.661	
P 值		0.172		0.151	0.022		0.033 ^a		0.181		0.010	

注:NGS 为二代测序技术;PCR 为聚合酶链反应;PCR 总例数为 32 例;^a 为 Fisher 确切概率法;^b 采用校正 χ^2 检验。

表 2 疑似脓毒症患者 82 例预后相关资料比较

预后	例数	性别[例(%)]		年龄[$M(P_{25}, P_{75})$, 岁]	NGS[例(%)]		血培养[例(%)]		PCR[例(%)]	
		男	女		+	-	+	-	+	-
好转	43	28(65.12)	15(34.88)	54.00(33.00,69.00)	31(72.09)	12(27.91)	4(9.30)	39(90.70)	3(15.79)	16(84.21)
未治愈	39	25(64.10)	14(35.90)	58.00(51.00,72.00)	30(76.92)	9(23.08)	8(20.51)	31(79.49)	6(46.15)	7(53.85)
χ^2 或 Z 值		0.009		-1.574	0.250		1.258 ^a		3.521 ^a	
P 值		0.924		0.115	0.617		0.262		0.061	

注:NGS 为二代测序技术;PCR 为聚合酶链反应;PCR 总例数为 32 例;^a 采用校正 χ^2 检验。

2.3 NGS 结果分析 82 例 NGS 检测结果中共有 61 例呈阳性,阳性率为 74.39%;平均检测时间为(1.32±0.26)d;其中,常见病原菌有金黄色葡萄球菌 4 例,肺炎克雷伯杆菌 14 例和鲍曼不动杆菌 10 例;常见病毒为 CMV 22 例、EBV 13 例和单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)13 例;真菌及其他病原体常见为耶氏肺孢子菌 8 例、烟曲霉 5 例、问号钩端螺旋体 3 例和军团菌 2 例。

2.4 NGS 与血培养、PCR 结果之间的比较 对比 NGS 与血培养的检测结果,其中 35 例结果完全一致,47 例结果不完全一致;不完全一致结果主要包括病毒、真菌、衣原体、支原体以及其他病原体。82 例患者中,45 例患者 NGS 检测出 1 种以上病原体,1 例患者血培养检测出 2 种病原体;NGS 检测出病原体阳性率明显高于血培养,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 不同方法检测脓毒症病原体结果比较[例(%)]					
检测方法	例数	病原体种类			总阳性数
		0	1 种	>1 种	
NGS	82	21(25.61)	16(19.51)	45(54.88)	61(74.39)
血培养	82	70(85.37)	11(13.41)	1(1.22)	12(14.63)
χ^2 值		59.275	1.645	48.288 ^a	59.275
P 值		<0.001	0.200	<0.001	<0.001

注:NGS 为二代测序技术;^a 为校正 χ^2 检验。

以脓毒症临床诊断为“金标准”,绘制 ROC 曲线,NGS 和血培养 AUC、灵敏度和特异度分别为 0.628、80.6%、45.0% 和 0.597、19.4%、100%;阳性预测值和阴性预测值分别为 82.0%、42.9% 和 100%、28.6%。PCR 灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 AUC 分别为 36.4%、90.0%、88.9%、39.1% 和 0.632。

3 讨论

脓毒症是目前重症患者的主要死亡原因之一^[11]。本研究结果显示,脓毒症组患者有 35 例未治愈,占 56.45%,明显高于非脓毒症组重症患者的 25.00%,这和相关研究结果^[1-2,8,11]基本一致。脓毒症患者合并多器官功能障碍,好发于高龄、有慢性基础疾病的患者;此类患者病情进展快,短时间内难以获知准确的病原体常因抗感染治疗方案不够精准等因素导致预后不良^[12-13],尽快获得病原学诊断是目前临床研究的难点。

在脓毒症患者中,血培养是目前临床医生最常

用的获得病原体的方法,也是诊断血流感染的金标准^[9]。但在脓毒症或感染性休克的患者中,只有一小部分患者的血培养呈阳性^[14];重症患者血培养阳性率在 25% 左右^[15]。但本研究中,脓毒症患者血培养阳性率为 19.35%,低于文献报道水平。血培养阳性率与患者是否存在血流感染、血标本留取前抗感染药物的使用和是否在寒战高热时采集标本等因素有关;同时血培养标本采集技术缺陷以及局部病灶、特殊病原体,血液中病原菌浓度低也是影响血培养阳性率低的重要原因。

本组资料中,NGS 阳性率为 74.39%,明显高于血培养的阳性率。研究^[16-17]表明,由于 NGS 检测病原体核酸片段不受病原体活力及抗感染药物暴露的影响,检测阳性率高于传统的检测方法。此外,临床血培养阳性率低的另一个原因为苛养菌、非细菌、真菌等病原体由于培养时间长或无法通过常规细菌培养获得明确病原体结果。本研究结果表明,细菌类病原体只占病原体的一部分,细菌类常见病原体以鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯杆菌、金黄色葡萄球菌等占比最高。与血培养相比,NGS 不仅能诊断出细菌、真菌类病原体,对病毒感染、罕见病菌及混合感染的检测具有更大优势。本研究表明,NGS 检测出 2 种及以上病原体占 54.88%,远高于血培养。血培养报告单一病原体的原因还与不同病原体在培养过程中存在竞争性生长等有关^[14],而 NGS 可检测出多个核酸片段,不受该因素影响^[16-17]。

本研究 NGS 检测结果中检测出现多种病毒,主要包括 CMV、EBV、HSV-1 等;常规血细菌培养无法检测出病毒,目前临床病毒检测主要依赖于 PCR 和抗体检测,虽然 PCR 和抗体检测方法常作为诊断主要依据,但其存在严重缺陷,需临床医生先预判病原体种类,再进行针对性的 PCR 扩增或抗体检测,受限因素较多,检测阳性率低。NGS 检出病毒主要包括 CMV、HSV、EBV 以及其他临床不常见病毒,阳性例数及检测种类明显高于 PCR 技术检测结果。NGS 的 AUC、灵敏度和特异度分别为 0.628、80.6%、45.0%,较 PCR 的 0.632、36.4%、90.0%,灵敏度高而特异度较低。病毒感染在脓毒症中的地位仍不明确,部分学者研究建议^[18],病毒检测应作为重症患者病原体检测的重要组成部分,以指导更加精准的抗感染诊疗方案制定;部分脓毒症患者常存在病毒与细菌混合感染,此类患者病情更为严重。

NGS 在检测时间上优势明显,需(1.32±0.26)

d,明显低于血培养的(5.61 ± 1.22)d。国外研究^[19]报道 NGS 检测周期最短约为 6 h。脓毒症患者病情危重、进展快速,故早期、精准地抗感染治疗对于改善患者预后、降低患者病死率至关重要^[12];同时精准地抗感染治疗对改善全球愈发严重的抗菌药物滥用问题^[20]有着促进作用。因此,NGS 早期运用,尤其对考虑常规检测方法效果不佳、需快速获得病原体的重症患者意义更大。

本研究不足之处:(1)对于 NGS 和血培养结果判读,仍缺乏统一的标准来识别检测到的微生物是否为病原菌,本研究中,虽然由 3 位高级职称医师根据患者的临床特点结合其他辅助检查结果得出,但主观偏见仍然不可避免。(2)NGS 灵敏度高,在检测过程中需要严格的无菌操作,否则容易导致临床误判。(3)由于检测引物限制,在本次研究中 PCR 送检目标均为考虑病毒感染患者,影响研究结果程度难以有效确定。本研究为单中心研究,样本量较小,研究结论还需要在大规模的临床研究中进一步验证。

参 考 文 献

- [1] 中国医疗保健国际交流促进会急诊医学分会,中华医学会急诊医学分会,中国医师协会急诊医师分会,等. 中国“脓毒症早期预防与阻断”急诊专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2020,32(5):518-530.
- [2] WALKEY A J, WIENER R S, LINDENAUER P K, et al. Utilization patterns and outcomes associated with central venous catheter in septic shock: a population-based study [J]. Crit Care Med, 2013,41(6):1450-1457.
- [3] LEVY M M, FINK M P, MARSHALL J C, et al. 2001 SCCM/ES-ICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference [J]. Crit Care Med, 2003,29(4):530-538.
- [4] HERNÁNDEZ G, MACHADO F, OSPINA-TASCÓN G. Defining septic shock[J]. JAMA, 2016,316(4):454-455.
- [5] SEYMOUR C W, LIU V X, IWASHYNA T J, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8):762-774.
- [6] RHEE C, KADRI S S, DEKKER J P, et al. Prevalence of antibiotic-resistant pathogens in culture-proven sepsis and outcomes associated with inadequate and broad-spectrum empiric antibiotic use [J]. JAMA Netw Open, 2020,3(4):e202899

- [7] 刘孝荣, 马东礼, 姜含芳, 等. 高通量测序方法在重症肺炎病原体检测的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2017,40(8):609-613.
- [8] LI H, GAO H, MENG H, et al. Detection of pulmonary infectious pathogens from lung biopsy tissues by metagenomic next-generation sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018,8:205.
- [9] EVANS L, RHODES A, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. Intensive Care Med, 2021, 47(11):1181-1247.
- [10] 《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.
- [11] RUDD K E, JOHNSON S C, AGESA K M, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the global burden of disease study [J]. Lancet, 2020, 395(10219):200-211.
- [12] RHEE C, JONES T M, HAMAD Y, et al. Prevalence, underlying causes, and preventability of sepsis-associated mortality in US acute care hospitals[J]. JAMA Netw Open, 2019,2(2):e187571.
- [13] 范泉, 张泓. 脓毒症患者预后危险因素的 Logistic 回归分析[J]. 安徽医科大学学报, 2014,49(10):1479-1481, 1501.
- [14] RANSOM E M, ALIPOUR Z, WALLACE M A, et al. Evaluation of optimal blood culture incubation time to maximize clinically relevant results from a contemporary blood culture instrument and media system [J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(3):e02459-20. DOI:10.1128/JCM.02459-20.
- [15] PREVISDOMINI M, GINI M, CERUTTI B, et al. Predictors of positive blood cultures in critically ill patients: a retrospective evaluation[J]. Croat Med J, 2012,53(1):30-39.
- [16] 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.
- [17] MORGAN D J, CASULLI J, CHEW C, et al. Innate immune cell suppression and the link with secondary lung bacterial pneumonia [J]. Front Immunol, 2018,9:2943.
- [18] VOIRIOT G, VISSEAU B, COHEN J, et al. Viral bacterial coinfection affects the presentation and alters the prognosis of severe community-acquired pneumonia[J]. Crit Care, 2016,20(1):375.
- [19] GRUMAZ C, HOFFMANN A, VAINSHTEIN Y, et al. Rapid next-generation sequencing-based diagnostics of bacteremia in septic patients[J]. J Mol Diagn, 2020,22(3):405-418.
- [20] Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis[J]. Lancet, 2022,399(10325):629-655.

(收稿日期:2022-03-01)