

病原微生物分子检测技术在脓毒症诊断与预后评估中的临床价值

徐云丰

(湖北省石首市人民医院检验科)

【摘要】目的：分析病原微生物分子检测技术的应用价值。方法：选取2022年1月-2023年12月100例疑为脓毒症患者，入选患者均行聚合酶链反应（PCR）以及多重PCR检查，以临床诊断为金标准，评估不同检查方法在脓毒症诊断中的应用价值；并根据本组脓毒症患者的预后分为治愈组和未治愈组，比较两组PCR检测16S rDNA载量的差异。结果：①本次研究中100例患者最终诊断脓毒症56例，PCR诊断脓毒症49例，漏诊11例，误诊4例，多重PCR诊断脓毒症55例，漏诊3例，误诊2例，多重PCR的敏感度、准确度、阴性预测值均高于PCR，差异有意义（ $P < 0.05$ ）；②治愈组PCR检测16S rDNA载量明显低于未治愈组，差异有意义（ $P < 0.05$ ）。结论：多重PCR在脓毒症诊断中的应用价值高于PCR检查，且PCR检测16S rDNA载量在评估脓毒症患者的预后中具有较好的应用价值，可推广应用。

【关键词】病原微生物分子检测技术；脓毒症；临床诊断；预后评估；准确度；16S rDNA载量

Clinical value of the molecular detection technology of pathogenic microorganisms in the diagnosis and prognosis evaluation of sepsis

Xu Yunfeng

Hubei Shishou City People's Hospital Laboratory

[Abstract] Objective: To analyze the application value of the molecular detection technology of pathogenic microorganisms. Methods: Select 100 suspected patients from January 2022 to December 2023, selected patients underwent polymerase chain reaction (PCR) and multiple PCR tests, evaluate the application value in the diagnosis of sepsis according to the prognosis of the septic patients, and compare the difference of 16S rDNA load of PCR test between the two groups. Results: ① In this study, 56/100 patients were finally diagnosed sepsis, 49 PCR diagnosed sepsis, 11 missed, 4 misdiagnosed, 55 multiple PCR diagnosed sepsis, 3 missed, 2 misdiagnosed, the sensitivity, accuracy and negative predictive value of multiple PCR were significant ($P < 0.05$); the 16S rDNA load of PCR in ② cured group was significantly lower than that of the untreated group, and the difference was significant ($P < 0.05$). Conclusion: The application value of multiple PCR is higher in sepsis diagnosis than that of PCR, and the PCR test has 16S rDNA load in evaluating the prognosis of sepsis patients, and can be popularized.

[Key words] molecular detection technology of pathogenic microorganisms; sepsis; clinical diagnosis; prognosis evaluation; accuracy; 16S rDNA load

脓毒症是感染合并全身炎症反应，包括体温、呼吸、循环改变。当脓症患者出现器官功能衰竭的症状时，可以判断为重症脓毒症^[1]。该病病情变化快，具有较高的死亡风险，需要及时诊断和治疗，改善患者的预后情况^[2]。病原学检查是目前临床脓毒症诊断的金标准，但是常规实验室培养的检出率低且耗时耗力，容易延误临床救治。因此需要使用快捷、准确率高的检查方法，提高脓毒症的诊断速率，并合理评估患者的预后情况，促使患者早期诊断与治疗^[3]。病原微生物分子检测技术是近年来临床研究的重要方法，其中主要包括聚合酶链式反应（PCR）、二代测序技术（NGS）等，在临床获得推广使用。PCR技术是一种核酸扩增技术，主要是通过体外模拟DNA复制过程，实现DNA的快速扩增，并且能

够通过凝胶电泳完成扩增，目前常用的扩增序列为16S rRNA序列^[4]。多重PCR是一种新型PCR技术，其敏感度高于普通PCR，在临床获得推广使用^[5]。为了观察不同检查方法的应用价值，文章选取100例疑为脓症患者进行对比观察，研究如下。

1.资料与方法

1.1 临床资料

选取2022年1月-2023年12月100例疑为脓症患者，男58例，女42例；年龄为18~79岁，平均为（56.3±5.8）岁。入选标准：医院收治疑为脓症患者。排除标准：临床

资料不完整、样本污染的患者。根据本组脓毒症患者的预后分为治愈组和未治愈组。

1.2 方法

入选患者均行聚合酶链反应 (PCR) 以及多重 PCR 检查。①PCR 检查:采集 3mL 肘静脉血,3000r/min 离心 10min,加入 0.5~1.0mL 血浆加入 50uL DNA 提取液混匀,水浴处理后常规离心,取上清液,使用 PCR 试剂盒进行检测,严格按照 PCR 试剂盒说明书进行操作。②多重 PCR 检查:采集 3mL 肘静脉血,3000r/min 离心 10min,加入 0.5~1.0mL 血浆加入 50uL DNA 提取液混匀,水浴处理后常规离心,取上清液,使用多重 PCR 试剂盒进行检测,严格按照多重 PCR 试剂盒说明书进行操作。

1.3 观察指标

参考《中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)》的诊断标准,以临床诊断为金标准,评估不同检查方法在脓

毒症诊断中的应用价值;并比较治愈组和未治愈组 PCR 检测 16S rDNA 载量的差异。

1.4 统计学分析

采用 SPSS22.0 统计学软件进行统计学分析, $P < 0.05$ 时为差异有统计学意义。

2.结果

2.1 不同检查方法与临床诊断结果的对照

本次研究中 100 例患者最终诊断脓毒症 56 例,PCR 诊断脓毒症 49 例,漏诊 11 例,误诊 4 例,多重 PCR 诊断脓毒症 55 例,漏诊 3 例,误诊 2 例,NGS 的敏感度、准确度、阴性预测值均高于 PCR,差异有意义 ($P < 0.05$),详情见表 1、表 2。

表 1 不同方法与临床诊断结果的对照

临床诊断	PCR		多重 PCR		合计
	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	45	11	53	3	56
阴性	4	40	2	42	44
合计	49	51	55	45	100

表 2 不同方法诊断结果的差异 (%)

组别	敏感度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值
PCR	80.4	90.9	85.0	91.8	78.4
多重 PCR	94.6	95.5	95.0	96.4	93.3
X ² 值	11.235	3.125	8.635	3.264	12.635
P 值	0.001	0.303	0.001	0.317	0.001

2.2 治愈组和未治愈组 PCR 检测 16S rDNA 载量的差异

治愈组 PCR 检测 16S rDNA 载量明显低于未治愈组,差异有意义 ($P < 0.05$),见表 3。

表 3 治愈组和未治愈组 PCR 检测 16S rDNA 载量的差异

组别	16S rDNA 载量 (lg10 copies/mL)
治愈组 (n=40)	0.16 ± 0.03
未治愈组 (n=16)	2.85 ± 0.45
t 值	12.568
P 值	0.001

3.讨论

脓毒症是 ICU 患者常见疾病,也是造成患者死亡的重要原因之一。近年来脓毒症的发病率逐年升高,引起临床广泛关注。脓毒症临床治疗的关键在于尽早明确病原体,从而采取有效的治疗药物^[6]。实验室培养是脓毒症病原学检查的

金标准,但是从其实际应用情况来看,实验室培养的耗时长,至少需要 3~4 天才可获得培养结果,容易错过最佳治疗时间;同时实验室培养的灵敏度低,容易出现假阴性的情况,这主要是由于部分患者血液中的病原体载量较低,容易出现假阴性的情况^[7];而且实验室培养容易受到人工操作不当的影响,出现假阳性结果,导致不必要的抗生素使用,可能增加耐药菌。因此需要借助新的检测技术,提高临床诊断的准确性^[8]。

PCR 技术是目前脓毒症临床诊断中的常用方法,尤其是近些年来实时荧光定量 PCR、多重 PCR 技术的出现,使得该技术在病原微生物检验中的敏感度、特异度不断升高^[9]。该技术可以通过荧光信号实时监测扩增反应,从而完成对目标基因的定量分析,具有较好的诊断价值^[10]。多重 PCR 是一种新型 PCR 技术,其敏感性要高于常规 PCR 检查。对于脓症患者来说,早期进行治疗可以降低脓毒症患者的死亡率,病原菌的快速检验,对于脓毒症患者的临床治疗具有重

要意义^[11]。PCR技术与多重PCR技术在检测速度与准确性来说,都要高于传统的实验室培养。检测速度来说,PCR技术的检测速度要更高,对于一些常见致病菌的敏感度更高,但是多重PCR相比来说具有更高的敏感度与特异度^[12]。

PCR技术与多重PCR技术在脓毒症早期诊断中均有较好的应用价值,但是相比来说,多重PCR的诊断敏感度与特异性要更高,这主要是由于多重PCR是基于普通PCR技术改良而来,可以发现PCR未发现的病原菌^[13-14]。为了比较不同检测方法的应用价值,文章主要就这两种方法进行对比观察,本次研究中100例患者最终诊断脓毒症56例,PCR诊断脓毒症49例,漏诊11例,误诊4例,多重PCR诊断脓毒症55例,漏诊3例,误诊2例,多重PCR的敏感度、

准确度、阴性预测值均高于PCR,差异有意义($P < 0.05$),由此可见多重PCR在脓毒症中具有更好的诊断价值。16S rDNA检测是目前PCR评估脓毒症患者预后的重要指标,随着病情加重,16S rDNA载量呈升高趋势,16S rDNA载量与脓毒症患者的预后存在正相关性,因此可以用于评估患者的预后情况^[15]。治愈组PCR检测16S rDNA载量明显低于未治愈组,差异有意义($P < 0.05$),由此可见PCR检测定量分析16S rDNA载量,可以评估脓毒症患者的预后情况。

综上所述,多重PCR在脓毒症诊断中的应用价值高于PCR检查,而PCR检测16S rDNA载量在评估脓毒症患者的预后中具有较好的应用价值,可推广应用。

参考文献:

- [1]王真珍,李璐,唐苏予.多重PCR在急诊创伤后脓毒症患者病原体检测中的应用[J].现代诊断与治疗,2021,32(22):3561-3562.
- [2]邸红芹,安晓颖,张辉,等.多重PCR与恒温扩增芯片法在呼吸道病原体中的检测价值[J].河北医药,2021,43(5):693-696.
- [3]POWELL, EMILIE S., BOND, WILLIAM F., BARKER, LISA T., et al. In Situ Simulation for Adoption of New Technology to Improve Sepsis Care in Rural Emergency Departments[J]. Journal of patient safety, 2022, 18(4): 302-309.
- [4]蔡耿鑫,周媛,温妙云.单细胞测序和数字PCR技术筛选单核细胞差异基因集对脓毒症早期诊断的临床意义[J].中华危重病急救医学,2021,33(7):779-785.
- [5]涂鹏,史大伟,宛瑞杰,等.成人流感样病例13种病原体检测情况及多重PCR毛细电泳片段分析法检测的临床应用[J].国际检验医学杂志,2022,43(9):1133-1137.
- [6]LITTELL, JOHN M., GUIRGIS, FAHEEM, DRIVER, BRIAN, et al. Most emergency department patients meeting sepsis criteria are not diagnosed with sepsis at discharge[J]. Academic emergency medicine, 2021, 28(7): 745-752.
- [7]胡谢飞,邬文燕,智深深,等.一种用于脓毒症快速检测的多重PCR检测体系构建[J].重庆医科大学学报,2022,47(8):982-988.
- [8]闵晶,李云,陈冬婵.基于毛细管电泳的多重PCR法在儿童急性呼吸道感染病原体诊断中的应用[J].浙江临床医学,2023,25(10):1524-1526.
- [9]DRESCHER, GAIL S., AL-AHMAD, MA'MOON M.. Analysis of Noninvasive Ventilation in Subjects With Sepsis and Acute Respiratory Failure[J]. Respiratory care, 2021, 66(7): 1063-1073.
- [10]刘维娜,杨志勇.血清lncRNA XIST和miRNA-130a表达与脓毒症患者病情严重程度及患者预后的关系[J].检验医学与临床,2023,20(17):2537-2542.
- [11]李弘毅,翟瑞卿,梁火燕,等.基于16S rDNA测序分析脓毒症大鼠早期肠道微生态的变化[J].中华危重病急救医学,2022,34(1):28-34.
- [12]LONG ELLIOT, BABL FRANZ E, OAKLEY ED, et al. Does fluid bolus therapy increase blood pressure in children with sepsis?[J]. Emergency medicine Australasia: EMA, 2020, 32(1): 54-60.
- [13]刘刚,刘颖,陶浚冷,等.肺部感染继发脓毒症差异基因的表达及生物信息学分析[J].中华危重病急救医学,2022,34(2):138-144.
- [14]刘冉,尹晓尧,申业壮,等.多重PCR和纳米孔测序结合检测消化道病原体方法及其评价[J].军事医学,2023,47(8):590-595.
- [15]AYDOGAN, SEDA, DILLI, DILEK, OZYAZICI, AHMET, et al. Lactobacillus rhamnosus Sepsis Associated with Probiotic Therapy in a Term Infant with Congenital Heart Disease[J]. Fetal and pediatric pathology, 2022, 41(5): 823-827.