

- and proliferation[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 23: 648141.
- [29]BEDDY P, RIDGWAY P F, GEOGHEGAN T, et al.Inguinal hernia repair protects testicular function: A prospective study of open and laparoscopic herniorrhaphy[J]. J Am Coll Surg, 2006, 203(1): 17-23.
- [30]ELZANANTY S, RICHTHOFF J, MALM J, et al.The impact of epididymal and accessory sex gland function on sperm motility[J].Hum Reprod, 2002, 17(11): 2904-2911.
- [31]MAHMOUD A M, GESLEVICH J, KINT J, et al.Seminal plasma alpha- glucosidase activity and male infertility[J].Hum Reprod, 1998, 13(3): 591-595.
- [32]曹新岭, 张管平, 李涛. 腹腔镜腹股沟疝修补术对男性患者术后疼痛和生殖功能影响的前瞻性随机对照研究[J]. 中华疝和腹壁外科杂志(电子版), 2020, 14 (5): 507-511.

## 宏基因组二代测序诊断的鹦鹉热衣原体肺炎 16 例临床分析

郑 君<sup>1,2</sup>, 庞迎晨<sup>1</sup>, 曾 超<sup>1</sup>, 刘湘泸<sup>1</sup>, 徐 平<sup>1\*</sup> (1. 北京大学深圳医院呼吸与危重症医学科, 广东深圳 518036; 2. 南山医疗集团总部深圳湾社康中心, 广东深圳, 518052)

**摘要:** **目的** 总结肺泡灌洗液宏基因组二代测序确诊的鹦鹉热衣原体肺炎的临床特点。**方法** 分析 16 例宏基因组二代测序确诊的鹦鹉热衣原体肺炎患者的临床特征、流行病学、实验室结果、治疗及预后。**结果** 有禽类接触史 9 例 (56.3%), 发热 14 例 (87.5%), 咳嗽咳痰 12 例 (75.0%), 胸痛 5 例 (31.3%), 呼吸困难 5 例 (31.3%), 腹泻 4 例 (25.0%), 咯血 2 例 (12.5%)、嗜睡 2 例 (12.5%), 神志不清 2 例 (12.5%), 呼吸衰竭 2 例 (12.5%); 16 例 (100.0%) 降钙素原升高, 12 例 (75.0%) 中性粒细胞升高, 6 例 (37.5%) 肌酶升高; 16 例 (100.0%) 有肺实变; 莫西沙星、多西环素、米诺环素治疗有效。**结论** 对不明原因社区获得性肺炎患者要注意鹦鹉热衣原体肺炎可能, 肺泡灌洗液宏基因组二代测序有助于其早期确诊。

**关键词:** 鹦鹉热衣原体; 肺炎; 肺泡灌洗液; 宏基因组二代测序

**中图分类号:** R 563.9

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2096-3610 (2023) 02-0180-04

## Clinical analysis of 16 patients with *Chlamydia psittaci* pneumonia diagnosed by metagenomic next-generation sequencing

ZHENG Jun<sup>1,2</sup>, PANG Ying-chen<sup>1</sup>, ZENG Chao<sup>1</sup>, LIU Xiang-lu<sup>1</sup>, XU Ping<sup>1\*</sup> (1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Shenzhen Hospital of Peking University, Shenzhen 518036, China; 2. Shenzhen Bay Community Health Center of Nanshan Medical Group, Shenzhen, 518067, China)

**Abstract:** **Objective** To summarize the clinical characteristics of *Chlamydia psittaci* pneumonia (ChP) diagnosed by metagenomic next-generation sequencing (mNGS) of bronchoalveolar lavage fluid (BALF). **Methods** Clinical characteristics, epidemiology, laboratory results, treatment, and prognosis were analyzed in 16 patients with mNGS-diagnosed ChP. **Results** Of 16 cases, poultry exposure, fever, cough/expectoration, chest pain, dyspnea, diarrhea, hemoptysis, lethargy, confusion, and respiratory failure occurred in 9 (56.3%), 14 (87.5%), 12 (75.0%), 5 (31.3%), 5 (31.3%), 4 (25.0%), 2 (12.5%), 2 (12.5%), 2 (12.5%), and 2 (12.5%), respectively; procalcitonin, neutrophil and creatase were increased in 16 (100.0%), 12 (75.0%), and 6 (37.5%) respectively; and pulmonary consolidation was seen in 16 (100.0%). Moxifloxacin, doxycycline and minocycline were effective. **Conclusion** ChP should be considered in the differential diagnosis of unexplained community-acquired pneumonia, and mNGS of BALF is helpful in its early diagnosis.

**Key words:** *Chlamydia psittaci*; pneumonia; bronchoalveolar lavage fluid; metagenomic next-generation sequencing

收稿日期: 2022-10-19

基金项目: 深圳市科创委资助项目 (JCYJ20190809103203711, JCYJ20210324105411031), 深圳市高水平医院建设专项经费 (LCYJ2021022)

作者简介: 郑 君 (1996-), 女, 硕士研究生, 医师, E-mail: 1549008021@qq.com

庞迎晨 (1997-), 女, 硕士研究生, 医师, E-mail: cdmupyc@outlook.com, 为共同第一作者

通信作者: 徐 平 (1975-), 女, 博士, 主任医师, E-mail: 799721206@qq.com

目前,肺部感染病原体复杂程度越来越高,传统的病原微生物检测方法在敏感性、特异性、时效性、信息量等方面存在局限,且对于未知或者罕见的病原微生物,无法快速识别。宏基因组二代测序技术(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)直接对临床样本中的核酸进行高通量测序,能够快速、客观检测临床样本中的较多病原微生物(包括病毒、细菌、真菌、寄生虫),尤其适用于急危重症和疑难感染的诊断。鹦鹉热衣原体是一种革兰阴性需氧细胞内寄生的病原菌,鸟类是主要宿主。鹦鹉热衣原体肺炎是由鹦鹉热衣原体引起的肺部感染,是社区获得性肺炎的罕见病因,以往由于缺乏快速准确的诊断方法,临床确诊的病例很少,发病率<1%,重症患者病死率高。随着 mNGS 逐渐应用于临床,越来越多的鹦鹉热衣原体肺炎被诊断。现收集北京大学深圳医院 2020 年 9 月-2022 年 7 月收治的 16 例鹦鹉热衣原体肺炎患者,分析其临床表现、实验室检查、影像学表现特点以及治疗转归,了解应用支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF) mNGS 对鹦鹉热衣原体肺炎诊断的临床意义,从而提高对该病的认识及疗效。

## 1 资料和方法

### 1.1 病例

收集我院呼吸与危重症医学科收治的鹦鹉热衣原体肺炎患者 16 例,均在支气管镜下采集患者 BALF,行 mNGS 检测,检出鹦鹉热衣原体。

### 1.2 方法

1.2.1 BALF 的收集及处理 根据患者胸部 CT 确定病变位置,行支气管镜检查并收集 BALF,支气管肺泡灌洗(bronchoalveolar lavage, BAL)检查参照相关专家共识<sup>[1]</sup>,具体流程为:(1)部位选择,以病变段优先的原则,若双肺存在弥漫性病变的患者,优先选择右肺中叶或左上叶舌段;(2)注入生理盐水,把支气管镜嵌顿在灌洗部位的支气管段或亚段开口处,注入室温无菌的生理盐水,总量为 40~60 mL;(3)负压吸引,注入生理盐水后 10~15 s,负压吸引获取支气管肺泡灌洗液,总回收率>50%。取肺泡灌洗液 2 mL 送检 mNGS 检测,其余 BALF 用于传统微生物培养及送其他检查。

1.2.2 mNGS 检测 取 600  $\mu$ L 患者的 BALF,送至华大基因测序仪平台(深圳华大基因股份有限公司)进行检测,通过 BWA(BWA: <http://bio-bwa.sourceforge.net/>)比对将高质量数据中比对上人参考基因组序列

的数据去除。剩下的数据在去除低复杂度 reads 后与专用细菌(6 350 种)、真菌(1 064 种)、病毒(4 945 种)、寄生虫(234 种)4 个微生物大数据库比对,获得能够匹配到某种病原体的序列数,根据序列数的高低以及临床其他检测来判断可能的病原体。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

16 例中男 5 例(31.3%),女 11 例(68.7%),有禽类接触流行病学史 9 例(56.3%)。临床症状主要有:发热 14 例(87.5%),咳嗽咳痰 12 例(75.0%),胸痛 5 例(31.3%),呼吸困难 5 例(31.3%),腹泻 4 例(25.0%),咯血 2 例(12.5%)、嗜睡 2 例(12.5%),神志不清 2 例(12.5%),其中出现呼吸衰竭 2 例(12.5%)。

### 2.2 mNGS 结果

16 例患者 BALF mNGS 均检测出鹦鹉热衣原体,序列数为 43~3 254。

### 2.3 实验室检查

3 例白细胞计数(WBC)轻度升高,12 例(75.0%)中性粒细胞百分比升高,8 例(50.0%)高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)明显升高,16 例(100.0%)降钙素原(PCT)升高,6 例(37.5%)肌酶增高,2 例(12.5%)动脉血氧分压( $\text{PaO}_2$ )<60 mmHg,5 例(31.3%)氧合指数( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ )<300。

### 2.4 影像学检查

所有患者均有胸部影像学改变,表现为肺部实变、渗出、结节。16 例均有肺实变,15 例(93.8%)为单肺大叶性实变影,1 例为双肺实变(6.3%),1 例合并肺部结节改变(6.3%)。3 例合并少量胸腔积液(18.8%)。胸片或 CT 在治疗后 1~2 周均有吸收。

### 2.5 治疗及转归

16 例患者中:(1)3 例初始治疗使用莫西沙星针剂单药治疗,2~3 d 后体温及临床症状恢复,确诊鹦鹉热衣原体肺炎后,联合米诺环素治疗,疗程共 14 d,10~14 d 时复查胸部影像学好转;(2)3 例初始治疗方案为莫西沙星联合  $\beta$  内酰胺类抗生素,2~3 d 后体温恢复正常,确诊后予莫西沙星单药治疗,疗程 14 d;(3)3 例开始使用  $\beta$  内酰胺类抗生素 3~5 d 无效,改用莫西沙星后症状缓解;(4)2 例予  $\beta$  内酰胺类抗生素无效,3~6 d 后确诊,调整治疗方案为莫西沙星联合多西环素,均在 1~2 d 后体温及临床症状恢复;(5)2 例重症患者,1 例初始使用碳青霉烯类抗生素治疗无效,2~3 d 后确诊后改为莫西沙星联合米诺环素治疗,患

者2 d后症状体温缓解;另1例重症患者,结合患者症状、体征、化验及影像学结果,不排除非典型病原体感染可能,初始经验性使用头孢哌酮舒巴坦联合米诺环素治疗,体温1 d后恢复正常,2~3 d后神志好转。以上患者在体温等症状恢复7 d后,复查胸片或CT均好转,随访4周复查,病灶完全吸收。16例均好转出院,住院时间7~13 d。

### 3 讨论

近年来,鹦鹉热衣原体肺炎检出呈增多趋势。研究发现,约有1%的社区获得性肺炎(community-acquired pneumonia, CAP)是由鹦鹉热衣原体引起的<sup>[2-3]</sup>。鹦鹉热是一种人畜共患病,所有鸟类均易感,宠物鸟和家禽最常将鹦鹉热衣原体传染给人类。禽类加工者和鸟类饲养员暴露于病原体的机会最多,家禽是我国最重要的感染源。而且,人类可通过直接接触疫鸟或吸入疫鸟鼻腔分泌物的气溶胶和粪便或羽毛的粉尘而感染鹦鹉热衣原体,但未证实人际传播<sup>[4]</sup>。该病的发病率主要由流行病学环境决定<sup>[5]</sup>。

鹦鹉热衣原体肺炎发病的潜伏期通常为5~14 d,甚至更长,其症状类似于流感,缺乏特异性,临床表现多为发热、寒战、肌肉酸痛、剧烈头痛和胃肠道症状。疾病的严重程度从轻微的非特异性疾病到伴有严重肺炎的全身性疾病,严重的可导致死亡,其中血清CRP、PCT对重症肺炎患者的预后具有较高的预测价值<sup>[6]</sup>。有文献报道,135例鹦鹉热衣原体肺炎的患者中,100%的患者有发热,82%的患者有咳嗽<sup>[7]</sup>,本文结果与其一致。

鹦鹉热衣原体肺炎在影像学上无特异性,表现为自肺门向外的楔形斑片影,密度不均,严重者累及整个肺叶,HRCT显示部分病变区呈实变结节与磨玻璃样变,以磨玻璃样变为主<sup>[8]</sup>,实变区有支气管气像,实变以外侧肺野较明显。本研究中,胸部CT均见炎症改变,大部分呈单叶实变,少见双叶实变及胸腔积液;患者血白细胞基本正常,hs-CRP、血沉明显升高。本研究发现所有患者PCT均升高,75%的患者中性粒细胞百分比增高。本研究还发现6例患者肌酶增高,我们认为,对肌酶增高合并肺炎的患者应警惕鹦鹉热衣原体肺炎的可能。

由于鹦鹉热衣原体肺炎临床表现、影像学改变无特异性,流行病学史存在不确定性,病原体培养困难,血清学存在时效性及特异性,一直以来其诊断较为困难,目前的血清学检测金标准是MIF试验,IgM抗体

滴度 $\geq 1:16$ 被认为是衣原体暴露的重要证据,检测双份血清抗体滴度增加4倍以上并有相应的临床表现可用于诊断鹦鹉热衣原体感染<sup>[9]</sup>,因需要对比患者疾病急性期和恢复期的血清,仅适用于回顾性诊断,对治疗指导价值有限。宏基因组二代测序技术不依赖于传统的微生物培养,直接对临床样本中的核酸进行高通量测序,然后与数据库进行比对分析,根据比对到的序列信息来判断样本包含的病原微生物种类,能够快速、客观的检测临床样本中的较多病原微生物(包括病毒、细菌、真菌、寄生虫),且无需特异性扩增<sup>[10-14]</sup>,尤其适用于急危重症和疑难感染的诊断,为疑难危重症及罕见病原微生物感染的诊断提供了有效的技术手段<sup>[15]</sup>,且在理论上能无偏倚地检测出所有潜在病原体,对于早期诊断疑难感染病例具有重大意义<sup>[16]</sup>。BALF是经支气管镜插入病变肺段或支气管下段,经电子支气管镜向局部支气管肺泡中灌注生理盐水,抽吸获取肺泡表面衬液,并且直接收集感染部位灌洗液,可以提高检测检出率与准确率,减少口腔、鼻咽微生物污染,其具有较好的安全性和敏感性,可以作为重症肺炎及早明确病原学的方法<sup>[17]</sup>,有助于临床诊断及制定治疗方案,对于疑难危重症患者的救治有重要作用。

鹦鹉热衣原体是严格致病菌,正常人气道并不存在,检出有临床意义。本研究中16例均通过宏基因组二代测序技术快速、准确地找到鹦鹉热衣原体,进一步结合流行病学、症状、实验室及影像学检查结果分析,明确鹦鹉热衣原体肺炎诊断,并根据病原学及时调整了抗生素的治疗后,疗效明显。鹦鹉热衣原体肺炎推荐使用的抗生素有四环素类、大环内酯类、喹诺酮类,磺胺类药物一般无效。鹦鹉热衣原体肺炎的一线用药为四环素类<sup>[18-19]</sup>,患者经四环素类抗生素抗感染治疗14 d后,病灶基本可吸收,为避免复发,我们建议四环素类药物治疗的时间至少应有21 d。本文15例使用喹诺酮类药物单用或联合四环素类药物,治疗有效,1例初始单用米诺环素治疗后症状好转,单药治疗维持有效。在本文的患者中,喹诺酮类药物疗程20~27 d,四环素类药物疗程14~26 d,2周复查胸部CT提示病灶明显吸收,4周基本完全吸收,提示喹诺酮类药物与四环素类药物均有效。

鹦鹉热衣原体肺炎既往被认为是少见病,但是现在随着mNGS技术的发展,检出率不断增加。我们推测,现在的鹦鹉热衣原体肺炎并不少见,但因为其临床表现、实验室检查及影像学缺乏特异性,传统的实验室诊断方法时效性较差,鹦鹉热容易被误诊和漏诊。因



此在临床工作中,医务人员应保持对鹦鹉热肺炎的警惕性,需仔细询问病史以发现可能的线索,对于病原不明的肺炎尤其是重症肺炎患者,如果白细胞计数不高,中性粒细胞及hs-CRP增高,有不明原因的肌酶增高,应尽早行进行mNGS检查,以便早期明确诊断,避免误诊、漏诊,减少非必要抗生素特别是超广谱抗生素的使用和药物不良反应,提高治愈率,改善预后。

#### 参考文献:

- [1] 王杰, 杨青, 黄怡. 肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识(2017年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(8): 578-583.
- [2] HOGGERWERF L, DE GIER B, BAAN B, et al. Chlamydia psittaci (psittacosis) as a cause of community-acquired pneumonia: A systematic review and meta-analysis [J]. Epidemiol Infect, 2017, 145(15): 3096-3105.
- [3] STIDHAM R A, RICHMOND-HAYGOOD M. Case report: Possible psittacosis in a military family member-clinical and public health management issues in military settings [J]. MSMR, 2019, 26(7): 2-7.
- [4] BALSAMO G, MAXTED A M, MIDLA J W, et al. Compendium of measures to control chlamydia psittaci infection among humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis), 2017[J]. Avian Med Surg, 2017, 31(3): 262-282.
- [5] MANDELL L A, WUNDERINK R G, ANZUETO A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(Suppl 2): S27-S72.
- [6] 杨少芬, 李素. 降钙素原、C反应蛋白及D-二聚体在重症肺炎患者中的表达及其与预后的关系[J]. 广东医科大学学报, 2021, 39(3): 284-286.
- [7] ITOH I, ISHIDA T, HASHIMOTO T, et al. Chest radiograph of atypical pneumonia: Comparison among chlamydia pneumoniae, ornithosis, and mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Kansenshogaku Zasshi, 2000, 74(11): 954-960.
- [8] 张晖, 弓孟春, 徐军, 等. 中国精准急诊医学的应用体系规划探索[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(10): 1219-1223.
- [9] SMITH K A, BRADLEY K K, STOBIEKSKI M G, et al. Compendium of measures to control Chlamydophila psittaci (formerly Chlamydia psittaci) infection among humans (psittacosis) and pet birds[J]. J Am Vet Med Assoc, 2005, 226(4): 532-539.
- [10] GOLDBERG B, SICHTIG H, GEYER C, et al. Making the leap from research laboratory to clinic: Challenges and opportunities for next-generation sequencing in infectious disease diagnostics[J]. mBio, 2015, 6(6): e01888-15.
- [11] WESTBLADE L F, VAN BELKUM A, GRUNDHOFF A, et al. Role of clinicogenomics in infectious disease diagnostics and public health microbiology[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(7): 1686-1693.
- [12] LUSK R W. Diverse and widespread contamination evident in the unmapped depths of high throughput sequencing data [J]. PLoS One, 2014, 9(10): e110808.
- [13] 周永召, 李亚伦, 范红, 等. 临床宏基因组学在呼吸感染性疾病精准诊疗中的疑问解析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17(6): 539-543.
- [14] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2019(2): 151-155.
- [15] SIMNER P J, MILLER S, CARROLL K C. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(5): 778-788.
- [16] 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.
- [17] HOFFMAN A M. Bronchoalveolar lavage: Sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation[J]. Vet Clin North Am Equine Pract, 2008, 24(2): 423-435.
- [18] CILLÓNIZ C, TORRES A, NIEDERMAN M, et al. Community-acquired pneumonia related to intracellular pathogens[J]. Intensive Care Med, 2016, 42(9): 1374-1386.
- [19] 陈欣, 刘霜, 赵旭, 等. 宏基因组测序诊断鹦鹉热衣原体肺部感染 4 例并文献复习[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(6): 680-687.