

# 疱疹病毒感染对重症肺炎患者 临床预后及呼吸道微生态的影响

葛雪,赵红艳

(山东大学第二医院重症医学科,山东 济南 250033)

**摘要:**目的 探讨疱疹病毒感染对重症肺炎患者临床预后及下呼吸道微生态的影响。方法 纳入114例ICU住院的重症肺炎患者,根据宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)结果分为疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组,收集其基本人口统计学及临床特征资料,使用独立样本 $t$ 检验、Mann-Whitney  $U$ 检验及 $\chi^2$ 检验比较两组资料之间的差异,使用Cox回归模型分析影响预后的因素,使用Kaplan-Meier法进行生存分析,使用对数秩(Log-Rank)检验比较两组生存曲线,绘制柱状图及热图比较两组之间下呼吸道微生物菌群的差异。结果 疱疹病毒阳性组急性生理学和慢性健康评分(acute physiology and chronic health evaluation, APACHE II)高于疱疹病毒阴性组,差异有统计学意义( $Z=-2.260, P=0.024$ ),其他临床特征差异无统计学意义。疱疹病毒感染是影响重症肺炎患者临床预后的独立危险因素;疱疹病毒阳性组30d死亡率高于阴性组(44.64% vs. 27.57%,  $\chi^2=4.040, P=0.044$ ),差异有统计学意义;其中人类 $\alpha$ 疱疹病毒I型(herpes simplex virus-1, HSV-1)、Epstein-Barr病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、人类 $\beta$ 疱疹病毒5型即巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)阳性患者30d死亡率均高于对应疱疹病毒阴性患者,差异有统计学意义( $\chi^2=3.982, P=0.046$ ;  $\chi^2=4.991, P=0.025$ ;  $\chi^2=6.791, P=0.009$ )。疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组的微生物菌群分布上存在差异,各组优势菌群略有不同,疱疹病毒阳性组更易合并纹带棒杆菌、嗜肺军团菌、曲霉菌、耶氏肺孢子菌等病原体。结论 疱疹病毒感染是重症肺炎患者临床预后的独立危险因素,与重症肺炎患者的30d死亡率密切相关,尤其是HSV-1、EBV、CMV的存在与30d死亡率增加有关。疱疹病毒阳性的重症肺炎患者呼吸道中富集了更多的条件致病菌,提示疱疹病毒可能通过改变微生态来影响疾病预后。

**关键词:**重症肺炎;疱疹病毒感染;下呼吸道微生态;30d死亡率;宏基因组二代测序

中图分类号:R563

文献标志码:A

## Effect of herpesvirus infection on clinical prognosis and respiratory microbiota in patients with severe pneumonia

GE Xue, ZHAO Hongyan

(Intensive Care Medicine, The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of herpesvirus infection on the clinical prognosis and the microbiota of the lower respiratory tract in patients with severe pneumonia. **Methods** According to the results of metagenomic next-generation sequencing (mNGS), 114 patients with severe pneumonia hospitalized in ICU were divided into herpesvirus-positive group and herpesvirus-negative group. The basic demographic and clinical characteristics were collected. Differences between the two sets of information were compared using the independent samples  $t$  test, Mann-Whitney  $U$  test, and  $\chi^2$  test. Cox regression model was used to analyze the factors affecting prognosis. Kaplan-Meier method was used to conduct the survival analysis, and the Log-Rank test was applied to compare survival curves. Histograms and heat maps were generated to illustrate the differences in the lower respiratory tract microbiota between the two groups. **Results** The acute physiology and chronic health evaluation (APACHE II) score of the herpesvirus-positive group was higher than that of the negative group, and the difference was statistically significant ( $Z=-2.260, P=0.024$ ). There were no significant differences in other clinical characteristics. Herpesvirus infection was an independent risk factor affecting the clinical prognosis of patients with severe pneumonia. The 30-day mortality rate of the herpesvirus-positive group was

higher than that of the herpesvirus-negative group (44.64 % vs. 27.57 %,  $\chi^2 = 4.040$ ,  $P = 0.044$ ), with a statistically significant difference. The 30-day mortality rate of herpes simplex virus-1 (HSV-1), Epstein-Barr virus (EBV) and cytomegalovirus (CMV) positive groups were higher than that of the corresponding herpesvirus-negative groups, with a statistically significant difference ( $\chi^2 = 3.982$ ,  $P = 0.046$ ;  $\chi^2 = 4.991$ ,  $P = 0.025$ ;  $\chi^2 = 6.791$ ,  $P = 0.009$ ). There were observable differences in the distribution of microbial flora between the herpesvirus-positive and herpesvirus-negative groups, with a distinct predominance of certain species in each group. The herpesvirus-positive group showed a higher likelihood of co-occurrence with pathogens such as *Corynebacterium striatum*, *Legionella pneumophila*, *Aspergillus* and *Pneumocystis japonicus*. **Conclusion** Herpesvirus infection is an independent risk factor for the clinical prognosis of patients with severe pneumonia, and is closely associated with the 30-day mortality of patients with severe pneumonia, particularly the presence of HSV-1, EBV, and CMV, which correlate with increased 30-day mortality rates. Furthermore, patients with severe pneumonia who were positive for herpesviruses tend to have a higher presence of conditional pathogenic bacteria in their respiratory tracts, suggesting that herpesviruses may influence disease prognosis by altering the microbiota.

**Key words:** Severe pneumonia; Herpesvirus infection; Lower respiratory tract microbiota; 30-day mortality; Metagenomic next-generation sequencing

重症肺炎是一类严重威胁人类健康的呼吸道疾病,发病率、死亡率均较高<sup>[1-2]</sup>。重症肺炎患者发生继发感染的风险增加,这些继发感染可能由各种病原体引起,包括细菌、真菌和病毒等<sup>[3]</sup>。疱疹病毒是一组高度传染性的病原体,通常与皮肤、黏膜和中枢神经系统等病变相关,在宿主体内能够潜伏并周期性再激活<sup>[4-5]</sup>。在免疫功能低下的个体中,它们还可能引起严重的呼吸道疾病,这在重症肺炎患者中尤为值得关注。既往研究表明,疱疹病毒的再激活与重症肺炎患者住院时间延长、ICU入住率和死亡率增加有关<sup>[3,6-7]</sup>。

下呼吸道微生态系统可通过调节宿主免疫反应、提供屏障功能以及影响炎症过程来维持肺脏健康。呼吸道微生物态的组成和多样性可能受到多种因素的影响,包括年龄、吸烟史、抗生素的使用、基础疾病及机械通气时间等。这些因素都可能改变呼吸道微生态的平衡,从而影响呼吸系统的健康<sup>[4,8-9]</sup>。研究表明,呼吸道菌群失调不仅可能加剧肺部炎症,还可能影响疾病的严重程度和临床预后,与住院时间延长、治疗失败甚至死亡率的增加等不良结局有关<sup>[9]</sup>。重症肺炎患者下呼吸道微生态的变化(如病原菌的负荷增加、肠道相关细菌的富集和微生物多样性的减少),已被证实对疾病的发生和进展有显著影响<sup>[8-9]</sup>。尽管已有研究探讨了下呼吸道微生态在重症肺炎患者中的作用,但关于疱疹病毒感染与下呼吸道微生物菌群之间关系的研究仍然较少。疱疹病毒感染可能直接导致组织损伤和加剧炎症反应,还可能通过与下呼吸道微生物菌群的相互作用,影响疾病预后。因此,深入探讨下呼吸道疱疹病毒感染如何影响重症肺炎患者的临床预后,以及与下呼吸道微生物菌群之间的相互作用,以全面了解下

呼吸道微生态在重症肺炎患者中的作用,有助于更好地理解重症肺炎的发病机制,为临床治疗提供新的策略。

本研究拟探究疱疹病毒感染对重症肺炎患者临床预后的影响,并对下呼吸道微生态的变化进行分析,以期能为重症肺炎的临床管理提供新的视角,并为未来的研究和治疗干预提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

本研究纳入2020年3月至2024年5月山东大学第二医院重症监护室收治的重症肺炎患者127例,其中男80例、女47例,29~85岁。采集患者的149份呼吸道样本,收集支气管肺泡灌洗液的宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)结果,大多数标本为通过气管插管后收集的肺泡灌洗液。纳入标准:符合美国感染病学会(Infectious Diseases Society of America, IDSA)与美国胸科学会(American Thoracic Society, ATS)发布的重症肺炎诊断标准。排除标准:①新型冠状病毒感染;②重复样本。若同一患者有多次mNGS结果,仅保留首次样本的检测结果。本研究排除18例患者重复留取的mNGS检测样本22份及新型冠状病毒感染阳性患者检测标本13例,最终将114例患者的首次呼吸道肺泡灌洗液mNGS结果纳入研究。根据mNGS结果是否检测到疱疹病毒序列数,将患者分为疱疹病毒阳性组( $n = 56$ )和疱疹病毒阴性组( $n = 58$ )。本研究已获得山东大学第二医院伦理委员会的批准(KYLL2024834),所有入组患者均签署书面知情同意书。

## 1.2 方法

### 1.2.1 研究指标

采集所有入组患者的基本人口统计学、相关临床特征及血清学指标,包括性别、年龄、基础疾病、感染指标、免疫指标、氧合情况、ICU 住院时间、序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)、急性生理学和慢性健康评分(acute physiology and chronic health evaluation, APACHE II)以及其他常规检查的结果。

### 1.2.2 肺泡灌洗液标本收集

所有患者用丙泊酚适当镇静,根据影像学检查及临床体征明确目标灌洗肺段,将纤维支气管镜插入至目标灌洗肺段,分次快速注入生理盐水(25~50 mL/次)灌洗病变肺段支气管,灌洗后负压吸引回收肺泡灌洗液,常规第一管灌洗液丢弃,第二管灌洗液装入无菌容器中,放置保存于4℃冰箱,当日送检至华大基因或微软基因检测公司进行mNGS。检测过程包括核酸提取、文库构建、测序、信息分析、报告解读等。

### 1.3 统计学处理

应用SPSS 25.0统计学软件进行数据处理。应用R软件绘制柱状图及热图。计量资料中,正态分布的数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较使用独立样本 $t$ 检验;非正态分布的连续资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 形式表示,比较使用Mann-Whitney  $U$ 检验。计数资料用 $n(\%)$ 表示,比较采用 $\chi^2$ 检验。生存时间的影响因素采用单因素和多因素Cox回归模型分析,生存分析用

Kaplan-Meier法,使用对数秩(Log-Rank)检验来比较生存曲线。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 患者的人口统计学和临床特征

所有基础疾病与疱疹病毒之间均不存在相关性( $P>0.05$ )。患者的人口统计学和临床特征资料见表1。疱疹病毒阳性组年龄为65.5(57.0,73.0)岁,其中男33例(58.93%);疱疹病毒阴性组年龄为61.0(53.5,70.5)岁,其中男38例(65.52%)。心血管疾病(85/114, 74.56%)、糖尿病(25/114, 21.93%)、呼吸系统疾病(9/114, 7.89%)、肾脏系统疾病(24/114, 21.05%)、神经系统疾病(33/114, 28.95%)是患者中最常见的基础疾病。实验室结果显示,两组之间白细胞计数、中性粒细胞绝对值及百分比、降钙素原等炎性指标、血红蛋白、血小板、白蛋白、肌酐、B型钠尿肽及总T细胞(CD3+)绝对数、T辅助细胞(CD3+CD4+)绝对数、T抑制/细胞毒细胞(CD8+CD3+)绝对数等免疫指标之间的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。疱疹病毒阳性组的APACHE II评分高于疱疹病毒阴性组,差异有统计学意义( $Z=-2.260, P=0.024$ )。疱疹病毒阳性组机械通气时间长于疱疹病毒阴性组,SOFA评分高于疱疹病毒阴性组,氧合指数低于疱疹病毒阴性组,但差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

表1 114例重症肺炎患者的人口统计学及临床特征

Table 1 Demographic and clinical characteristics of 114 patients with severe pneumonia

项目	疱疹病毒阳性组( $n=56$ )	疱疹病毒阴性组( $n=58$ )	$Z/\chi^2/t$	$P$
年龄/岁	65.5(57.0,73.0)	61.0(53.5,70.5)	-1.789	0.074
性别			0.526	0.468
男	33(58.93)	38(65.52)		
女	23(41.07)	20(34.48)		
糖尿病	10	15	1.066	0.302
呼吸系统疾病	7	2	3.210	0.091
心血管系统疾病	41	44	0.105	0.476
神经系统疾病	16	17	0.008	0.931
肾脏系统疾病	9	15	1.643	0.200
恶性肿瘤	7	8	0.042	0.898
长期服用免疫制剂	10	9	0.112	0.738
白细胞/ $(\times 10^9/L)$	12.305(9.390,18.326)	12.115(8.948,16.570)	-0.011	0.991
中性粒细胞绝对值/ $(\times 10^9/L)$	11.255(7.823,16.103)	10.870(8.260,15.210)	-0.085	0.932
中性粒细胞百分比/%	90.550(84.850,94.475)	87.550(82.975,93.475)	-1.352	0.176
淋巴细胞绝对值/ $(\times 10^9/L)$	0.650(0.310,0.903)	0.765(0.358,1.093)	-1.241	0.214
淋巴细胞百分比/%	5.100(2.800,7.950)	6.750(2.825,9.300)	-1.069	0.285
白介素-6/(pg/mL)	52.830(30.900,121.100)	89.680(36.410,275.950)	-1.155	0.248
C反应蛋白/(mg/L)	93.900(37.500,219.500)	115.450(62.450,246.600)	-0.980	0.327

续表

项目	疱疹病毒阳性组( $n=56$ )	疱疹病毒阴性组( $n=58$ )	$Z/\chi^2/t$	$P$
降钙素原/(ng/mL)	1.250(0.401,2.960)	1.655(0.397,7.640)	-0.913	0.361
血清淀粉样蛋白A/(mg/L)	387.700(92.950,805.200)	390.350(95.400,779.225)	-0.041	0.967
血红蛋白/(g/L)	93.590±19.342	94.740±15.954	-0.347	0.451
血小板/( $\times 10^9/L$ )	124.500(68.000,201.500)	141.000(82.000,218.500)	-0.907	0.364
白蛋白/(g/L)	31.454±4.809	32.659±5.156	-1.289	0.284
总胆红素/( $\mu\text{mol/L}$ )	11.850(8.800,25.325)	12.350(7.950,26.025)	-0.261	0.794
肌酐/( $\mu\text{mol/L}$ )	104.500(55.500,165.625)	117.500(67.000,204.750)	-1.363	0.173
B型钠尿肽/(pg/mL)	326.500(171.000,599.900)	301.000(119.800,822.800)	-0.276	0.782
CD3+/(个/ $\mu\text{L}$ )	236.000(97.000,556.000)	440.500(224.250,551.500)	-1.423	0.155
CD4+CD3+/(个/ $\mu\text{L}$ )	162.000(32.000,303.000)	237.000(140.500,356.750)	-1.583	0.113
CD8+CD3+/(个/ $\mu\text{L}$ )	114.000(58.000,244.000)	130.500(63.250,220.750)	-0.269	0.788
机械通气时间/d	15.50(9.00,25.00)	12.50(4.75,20.00)	-1.770	0.077
APACHE II 评分	20(17,26)	19(14,22)	-2.260	0.024
SOFA 评分	7(5,9)	6(4,9)	-0.815	0.415
氧合指数	157.000(106.000,207.000)	170.500(98.925,226.200)	-0.244	0.807

## 2.2 重症肺炎的病原体谱

114份样本中检出病原体97种,包括细菌52种、真菌27种、病毒12种、支原体5种、寄生虫1种,见图1。其中检测到疱疹病毒7种,分别为人类 $\alpha$ 疱疹病毒1型(herpes simplex virus-1, HSV-1)38例、人类 $\alpha$ 疱疹病毒2型(herpes simplex virus-2, HSV-2)1例、人类 $\gamma$ 疱疹病毒4型即EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)25例、人类 $\beta$ 疱疹病毒5型即巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)18例、人类 $\beta$ 疱疹病毒6A型(human herpes virus-6A, HHV-6A)2例、人类 $\beta$ 疱疹病毒6B型(human herpes virus-6B, HHV-6B)3例、人类 $\beta$ 疱疹病毒7型

(human herpes virus-7, HHV-7)5例。部分患者同时感染2种或2种以上的疱疹病毒,见表2。细菌种类前6位为鲍曼不动杆菌、屎肠球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌和纹带棒杆菌。真菌种类排名前5位的是白色念珠菌、耶氏肺孢子菌、烟曲霉、热带念珠菌和光滑念珠菌,其中念珠菌属种类最多。病毒检测出12种,除7种疱疹病毒外,另外5种为细环病毒1型、细环病毒15型、输血传播病毒样微小病毒、人细小病毒B19及乙肝病毒。HSV-1在所有病原体中检出率仅次于鲍曼不动杆菌。

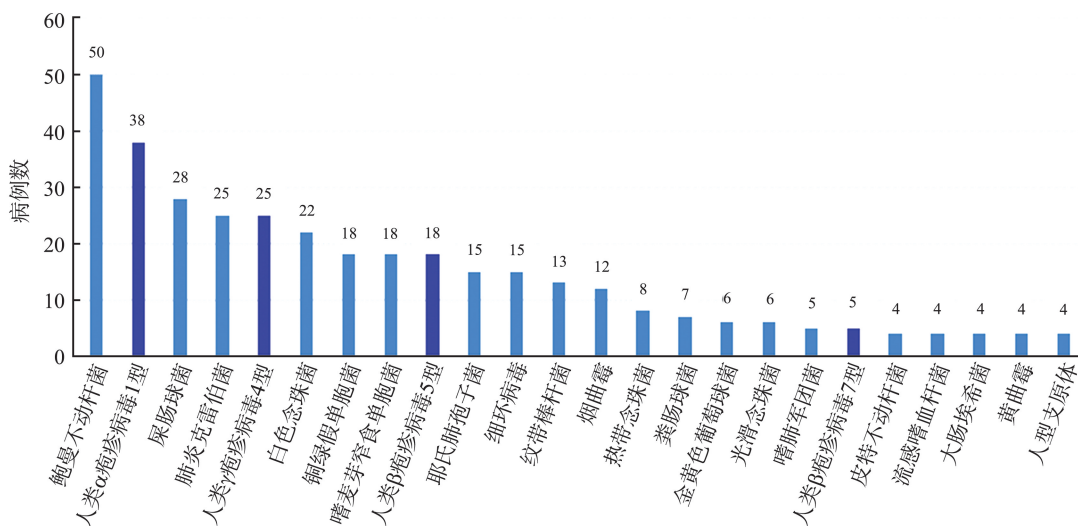


图1 mNGS检测到的呼吸道病原体(细菌、真菌和病毒等)分布

Figure 1 Distribution of respiratory pathogens (bacteria, fungi, viruses, etc.) detected by mNGS

表2 mNGS 检测到的疱疹病毒具体感染情况

Table 2 Specific infections of herpes viruses detected by mNGS

疱疹病毒感染情况	疱疹病毒种类	例数
单纯感染	HSV-1	19
	EBV	4
	CMV	2
	HHV-6A	1
	HHV-6B	2
	HSV-1+EBV	6
双重感染	HSV-1+CMV	5
	HSV-1+HHV-7	1
	EBV+CMV	4
	EBV+HHV-6B	1
	EBV+HHV-7	3
多重感染	HSV-1+HSV-2+EBV	1
	HSV-1+EBV+CMV	5
	HSV-1+CMV+HHV-6A	1
	EBV+CMV+HHV-7	1

### 2.3 疱疹病毒感染对重症肺炎患者临床预后的影响

疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组的 ICU 住

表3 Cox 多因素回归模型分析影响重症肺炎患者临床预后的因素

Table 3 Cox multivariate regression model was used to analyze the factors affecting the clinical prognosis of patients with severe pneumonia

因素	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	<i>P</i>	HR	95% CI
疱疹病毒感染	1.295	0.373	12.078	0.001	3.651	1.759~7.579
机械通气时间/d	-0.078	0.022	12.977	<0.001	0.925	0.886~0.965
C 反应蛋白/(mg/L)	0.003	0.001	17.177	<0.001	1.003	1.002~1.005
中性粒细胞百分比/%	0.082	0.018	20.070	<0.001	1.085	1.047~1.125
SOFA 评分	0.228	0.054	17.576	<0.001	1.256	1.129~1.398

注:疱疹病毒感染为分类变量;疱疹病毒阳性,赋值为1;疱疹病毒阴性,赋值为0。

两组的生存曲线显示,经 30 d 随访观察,疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组的累计死亡率分别为 44.64% 和 27.57%,经 Log-Rank 检验,两组生存状况的差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.040, P = 0.044$ ),见图 2A。Log-Rank 检验分析表明,HSV-1 阳性患者的累计死亡率高于 HSV-1 阴性患者(47.36% vs. 9.21%),差异有统计学意义( $\chi^2 = 3.982, P = 0.046$ ),见图 2B。EBV 阳性患者的累计死亡率高于 EBV 阴性患者(52.00% vs. 13.48%),差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.991, P = 0.025$ ),见图 2C。CMV 阳性患者的累计死亡率高于 CMV 阴性患者(61.11% vs. 14.58%),差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.791, P = 0.009$ ),见图 2D。HSV-2、HHV-6B、HHV-6A 和 HHV-7 阳性患者的累计死亡率与相应阴性患者的差异均无统计学意义。每个样本中检测到所有疱疹病毒的最大序列数为 0、1~10<sup>4</sup>、>10<sup>4</sup>,3 组间的累计死亡率差异无统计学意义( $\chi^2 = 4.529, P = 0.104$ ),见图 2E。

院时间分别为 15.50 (10.25, 30.50) d 和 17 (10.50, 28.00) d,差异无统计学意义( $U = 1612, P = 0.946$ ),总住院时间分别为 30.50 (15.00, 50.50) d 和 28.50 (16.00, 23.00) d,差异无统计学意义( $U = 1617, P = 0.968$ )。

单因素 Cox 回归模型分析发现,是否感染疱疹病毒、机械通气时间、白介素-6、C 反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A、中性粒细胞百分比、白蛋白、血红蛋白、血小板、肌酐、氧合指数、SOFA 评分及 APACHE II 评分与重症肺炎临床预后有关( $P \leq 0.05$ )。以总生存时间作为因变量,以单因素分析中对预后具有统计学意义的因素为自变量,利用 Cox 多因素回归模型分析发现,疱疹病毒感染、机械通气时间、C 反应蛋白、中性粒细胞百分比、SOFA 评分是影响重症肺炎临床预后的独立因素,其中疱疹病毒感染是影响重症肺炎临床预后的独立危险因素,见表 3。

mNGS 检测结果表明,部分患者同时感染 2 种或 2 种以上的疱疹病毒,生存曲线显示,HSV-1 阳性患者的累计死亡率高于疱疹病毒阴性患者(47.36% vs. 27.57%,  $\chi^2 = 4.631, P = 0.031$ ),EBV 阳性患者的累计死亡率高于疱疹病毒阴性患者(52.00% vs. 27.57%,  $\chi^2 = 7.000, P = 0.008$ ),CMV 阳性患者的累计死亡率高于疱疹病毒阴性患者(61.11% vs. 27.57%,  $\chi^2 = 8.525, P = 0.004$ ),见图 3。

### 2.4 重症肺炎患者中疱疹病毒与呼吸道微生态的关系

疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组的微生物组成分布显示:①在属水平上,不动杆菌属、肠球菌属、念珠菌属、克雷伯菌属、曲霉菌属、窄食单胞菌属和假单胞菌属在两组微生物群中占主导地位。与疱疹病毒阴性组相比,疱疹病毒阳性组的肠球菌属、克雷伯菌属和假单胞菌属等占比较低,但曲霉菌属、棒状杆菌属、肺孢子菌属的占比较高。②在菌种水平上,鲍曼不动杆菌、屎肠球菌、肺炎克雷伯菌、白色念珠

菌、嗜麦芽窄食单胞菌、铜绿假单胞菌等在两组中均占优势,但是耶氏肺孢子菌、纹带棒杆菌、黄曲霉菌和嗜肺军团菌在疱疹病毒阳性组中占比较高。③在

种水平上,疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组之间微生物的分布可能存在差别。见图4。

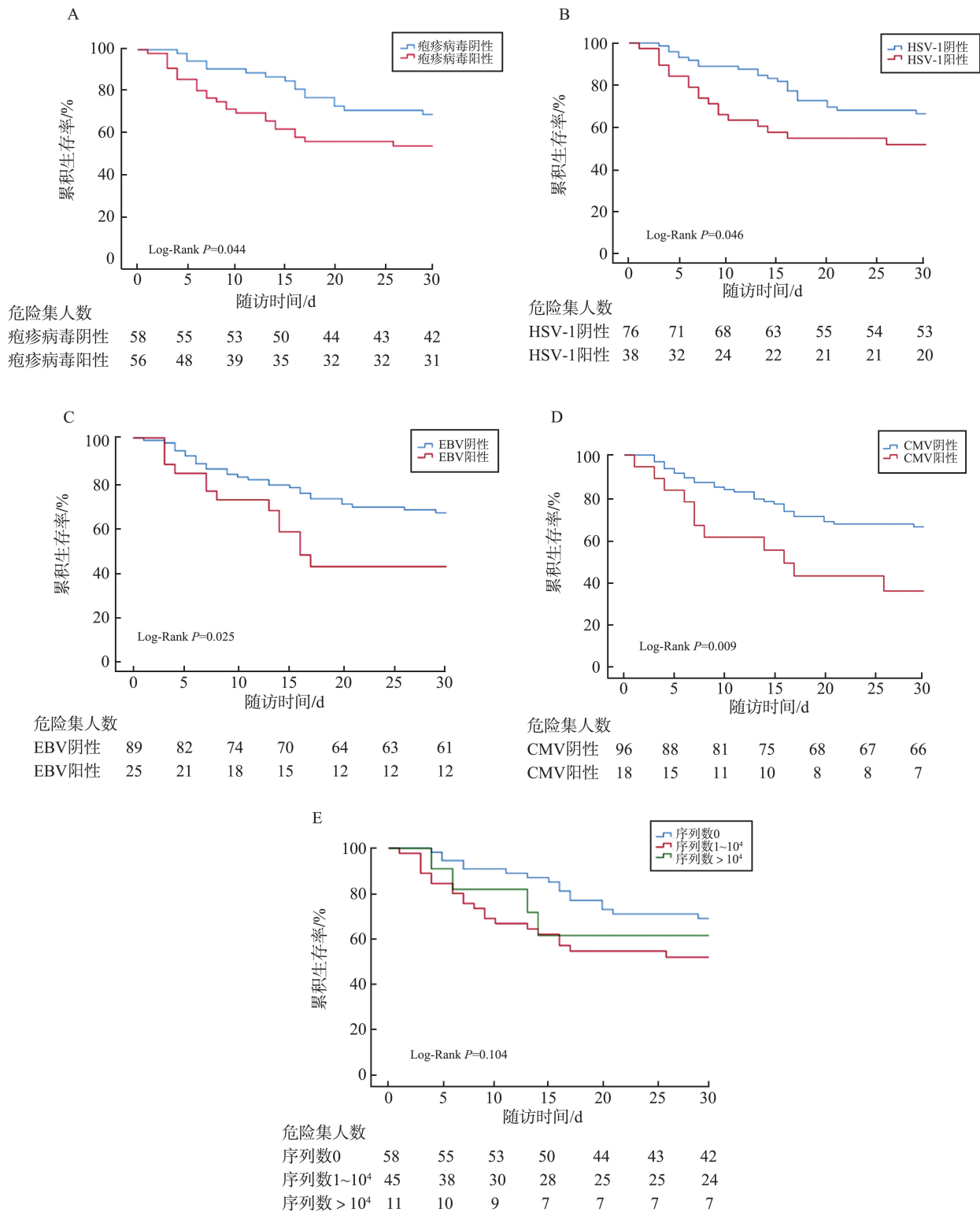


图2 不同组的30d生存曲线

A: 疱疹病毒阳性和疱疹病毒阴性患者; B: HSV-1 阳性和 HSV-1 阴性患者; C: EBV 阳性和 EBV 阴性患者; D: CMV 阳性和 CMV 阴性患者; E: 疱疹病毒序列数为 0、1~10<sup>4</sup> 和 >10<sup>4</sup> 患者。

Figure 2 30-day survival curves of different groups

A: Herpesvirus-positive and herpesvirus-negative patients; B: HSV-1-positive and HSV-1-negative patients; C: EBV-positive and EBV-negative patients; D: CMV-positive and CMV-negative patients; E: Patients with herpesvirus sequence numbers of 0, 1-10<sup>4</sup> and >10<sup>4</sup>.

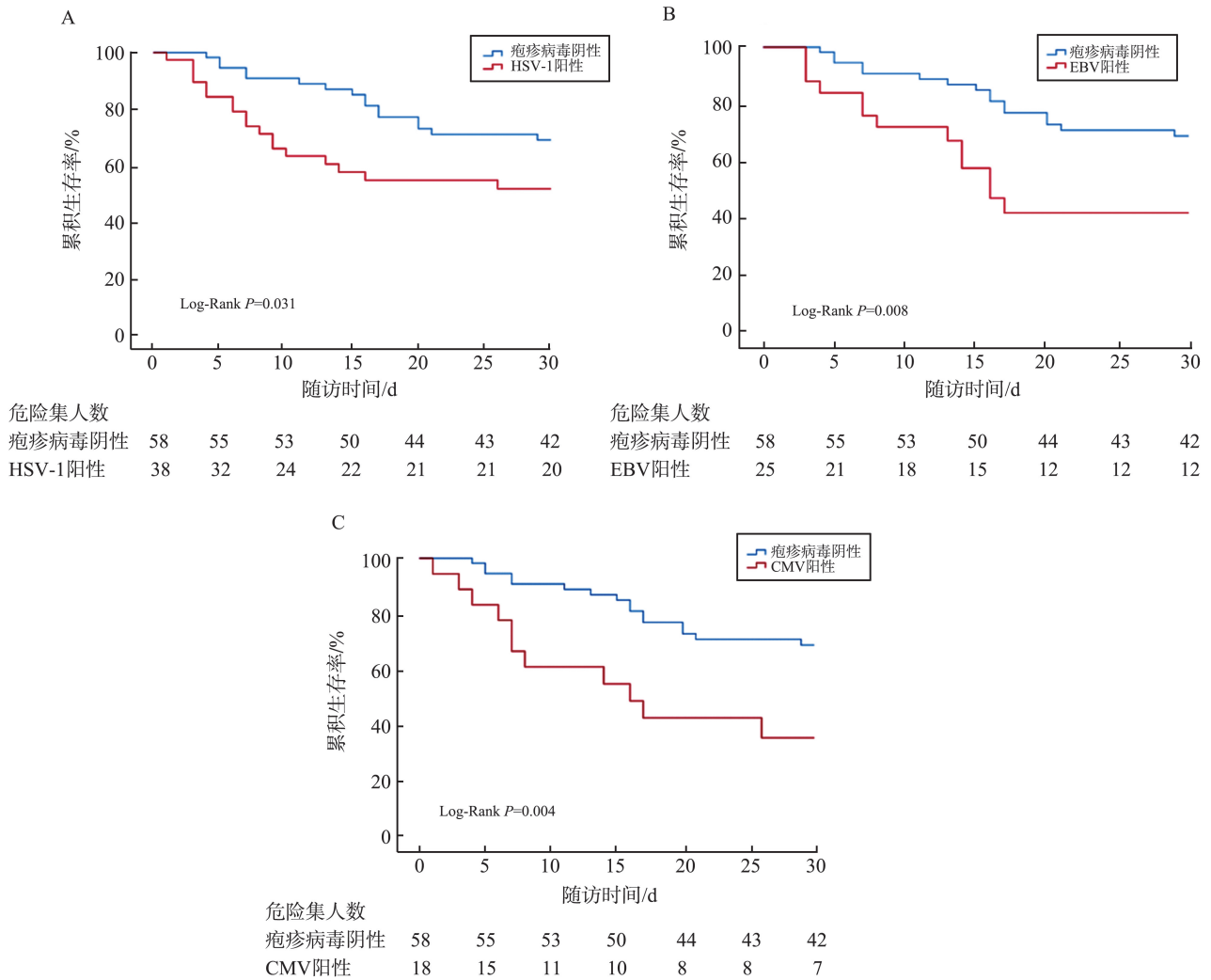
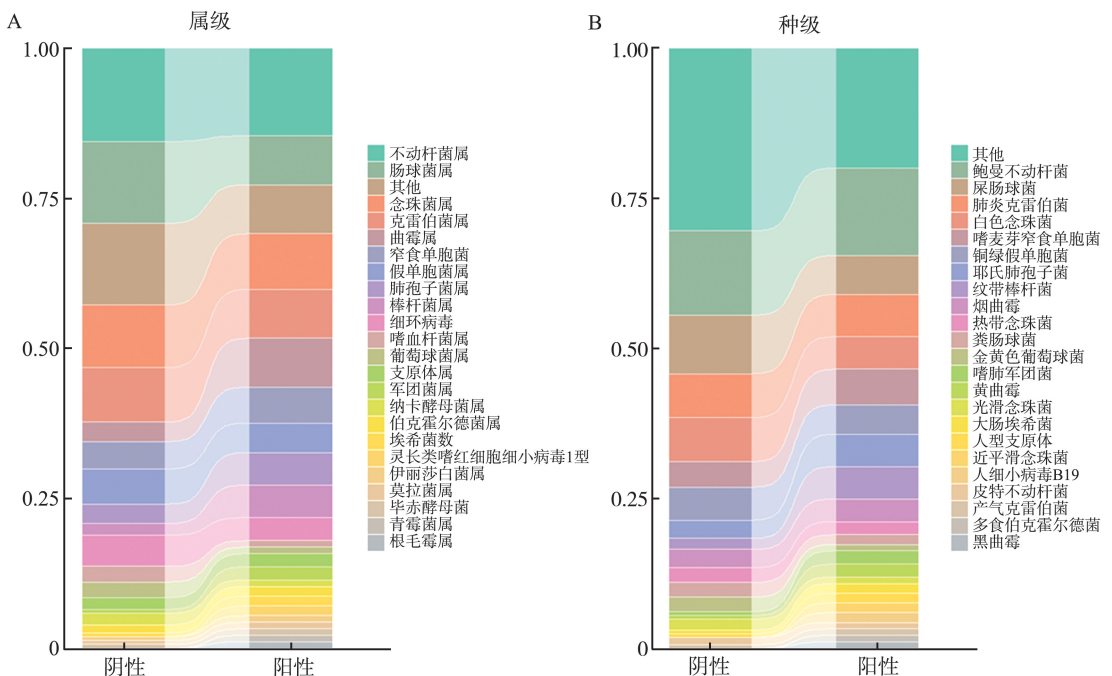


图3 HSV-1 阳性和疱疹病毒阴性患者 (A)、EBV 阳性和疱疹病毒阴性患者 (B) 及 CMV 阳性和疱疹病毒阴性患者 (C) 的生存曲线

Figure 3 Survival curves of HSV-1 positive and herpesvirus-negative patients (A), EBV-positive and herpesvirus-negative patients (B), and CMV-positive and herpesvirus-negative patients (C)



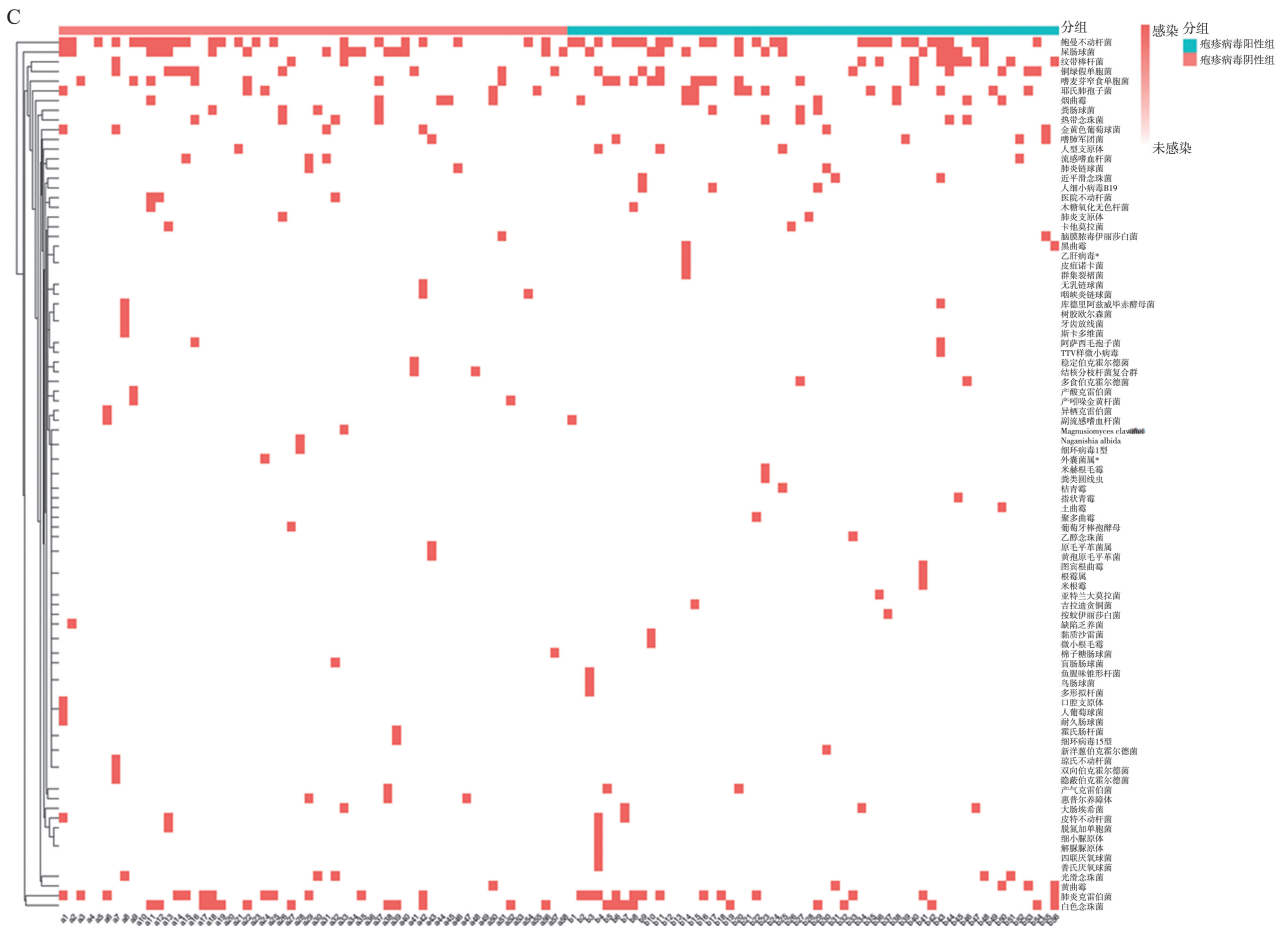


图4 疱疹病毒阳性组与疱疹病毒阴性组呼吸道菌群的比较

A: 下呼吸道菌群的属级组成图; B: 下呼吸道菌群的种级组成图; C: 病原菌种类热图。

Figure 4 Comparison of respiratory microbiota between herpesvirus-positive and herpesvirus-negative groups

A: Genus composition of the lower respiratory tract microbiota; B: Species composition of the lower respiratory tract microbiota; C: Heat map of pathogenic bacteria species.

### 3 讨论

重症肺炎患者发生疱疹病毒感染的比率高,该病毒已成为下呼吸道感染的危险因素,甚至影响患者的预后<sup>[3,10-13]</sup>。本研究通过分析入组患者的临床资料及肺泡灌洗液的 mNGS 结果,探讨了疱疹病毒感染对重症肺炎患者临床预后及呼吸道微生态的影响。结果表明,疱疹病毒(尤其是 HSV-1、EBV、CMV)与 ICU 重症肺炎患者的高病死率密切相关,同时可能影响重症肺炎患者呼吸道微生态。

本研究发现,疱疹病毒阳性组 30 d 死亡率于疱疹病毒阴性组,与既往研究结果一致,表明重症肺炎患者疱疹病毒感染与住院时间延长、机械通气时间延长、ICU 入住率和死亡率增加有关<sup>[3,6-7,10,12]</sup>。患者死亡率的增加很可能受 HSV-1、EBV、CMV 感染的影响,因为疱疹病毒阳性组中,感染这 3 种病毒的患者死亡率均高于疱疹病毒阴性组。危重症患者 EBV、

CMV 和 HHV-6 再激活现象普遍,其中 EBV 与更长的 ICU 住院时间有关<sup>[7]</sup>。HSV-1 在重症监护患者呼吸道中相对常见,尤其是上呼吸道检出率可高达 22%,与急性呼吸窘迫综合征、ICU 住院时间增加相关<sup>[10]</sup>。Meyer 等<sup>[13]</sup>的研究表明,在危重型 COVID-19 患者中,HSV-1 再激活与其死亡率和肺炎风险增加有关。急性呼吸窘迫综合征患者的高死亡率与较低的免疫表型和下呼吸道疱疹病毒感染显著相关<sup>[14]</sup>,这些研究将疱疹病毒感染确定为预测不良预后的独立危险因素<sup>[12,13-15]</sup>。本研究发现疱疹病毒感染是影响重症肺炎患者临床预后的独立危险因素,与之前研究一致。这表明 HSV 等疱疹病毒在危重症患者群体中具有致病作用,并可以解释抗病毒治疗对呼吸道 HSV 阳性机械通气患者的有益性。Hagel 等<sup>[16]</sup>的一项荟萃分析显示,在呼吸道 HSV 阳性的 ICU 机械通气患者中,抗病毒治疗可能减少住院死亡率和 30 d 全因死亡率,但作者指出,由于偏倚风险高和患者数量有限,对这一结果的解释必须非常

谨慎。Schuierer 等<sup>[17]</sup>发现,在呼吸机相关性肺炎、抗生素治疗失败和高水平 HSV 复制的患者中,阿昔洛韦抗病毒治疗获得更多 ICU 住院时间,降低了 ICU 死亡风险比,并改善了循环和肺氧合功能。

重症患者支气管肺泡灌洗液中疱疹病毒载量与其不良预后相关。Linssen 等<sup>[12]</sup>在 HSV-1 载量 $>10^5$  个/mL 的患者中观察到较高的死亡率, Frobert 等<sup>[18-19]</sup>发现肺泡灌洗液中 HSV-1 病毒载量 $>10^4$  拷贝/mL 与入住 ICU ( $P<0.000 1$ )、机械通气 ( $P<0.001$ ) 和死亡 ( $P<0.01$ ) 之间存在关联。Schuierer 等<sup>[17]</sup>基于疱疹病毒的致病性,建议对病毒拷贝数 $>10^5$  拷贝/mL 的患者使用阿昔洛韦抗病毒治疗。本研究通过 mNGS 检测到的疱疹病毒序列数均不超过 $10^5$  个,且比较了序列数分别为 0、 $1\sim 10^4$  和 $>10^4$  的组间 30 d 累计死亡率,未发现生存状况之间的明显差异。这可能与以下因素有关:①本研究样本量小,且为横断面回顾性研究;②在疾病进展过程中,病毒拷贝数会有所变化,而本研究只收集了入组患者第一次留取的标本结果。

本研究比较了 HSV-2、HHV-6A、HHV-6B、HHV-7 阳性患者与对应阴性患者的 30 d 累计死亡率,结果显示其生存状况之间的差异无统计学意义,与既往研究结果一致<sup>[3,20]</sup>。Xu 等<sup>[20]</sup>研究发现,HHV-7 的感染未被确认为 28 d 死亡的独立危险因素,但作者也指出,样本量较小可能限制了结果普遍性,因为在重症肺炎患者中,仅有 6.24% 的个体在肺部检测到了 HHV-7,且 HHV-7 的检出与较低年龄及 EBV、CMV 的共感染状态有关。本研究发现,HHV-7 阳性的患者仅有 5 例,检出率为 4.39%,而 HSV-2、HHV-6A、HHV-6B 阳性的患者则更为罕见,分别为 1、2、3 例。以上数据表明,这些特定疱疹病毒在重症肺炎患者中的感染率相对较低,且对应的阴性组中合并了其他疱疹病毒。

病毒感染与机体免疫力密切相关,但本研究结果显示,疱疹病毒阳性组与疱疹病毒阴性组间在 IL-6、淋巴细胞绝对值、以及 CD3+、CD4+CD3+、CD8+CD3+ 等淋巴细胞亚群绝对数等免疫相关指标之间的差异均无统计学意义。可能的原因如下:①样本量不足与患者异质性。本研究共纳入 114 例患者,其中仅 55 例进行了淋巴细胞亚群检测,样本量不足。此外,研究对象均为 ICU 中的重症肺炎患者,其免疫功能处于动态变化之中,个体差异显著,表现为免疫过度激活、免疫抑制、免疫麻痹、免疫耗竭和免疫耐受等不同状态<sup>[21-22]</sup>。②免疫应答的复杂性。病毒感染可激发机体的天然免疫与适应性免

疫反应。例如新型冠状病毒感染导致的生理病理变化复杂,涉及多方面的免疫应答<sup>[23]</sup>。若研究未能充分考虑这些复杂的免疫机制,可能导致阴性结果。③疱疹病毒感染、潜伏与再激活。疱疹病毒是一类能在宿主体内潜伏并周期性再激活的病原体<sup>[4]</sup>。本研究中,76.32% (87/114) 的疱疹病毒序列数 $<100$ ,提示这部分患者可能处于潜伏期,不具备致病性。④疱疹病毒的高发病率。Luyt 等<sup>[24]</sup>研究发现,对于非免疫抑制且机械通气超过 5 d 的患者,其上呼吸道和下呼吸道样本中的 HSV 检出率分别为 54% 和 64%。这一发现强调了在非免疫抑制且长期机械通气患者中 HSV 感染的高检出率,尤其是在下呼吸道样本中。因此,本研究未能揭示疱疹病毒感染与免疫指标之间的关联。

细菌、病毒和真菌在内的许多微生物共存于健康个体的肺部,构成了肺部微生态<sup>[4]</sup>。在特发性肺纤维化患者中,肺部细菌负荷预测纤维化进展,微生物群的多样性和组成与肺泡促纤维化细胞因子增加相关<sup>[25]</sup>;痰液微生物群的多样性预测了慢性阻塞性肺疾病患者的死亡率,呼吸道微生物群的组成预测了婴幼儿支气管扩张和呼吸道感染的恶化<sup>[1,26]</sup>。此外,在机械通气的重症患者中,肺部微生物群(细菌负荷和肠道相关细菌的富集)可以预测 ICU 结局<sup>[9]</sup>。因此,肺部微生物-宿主相互作用在肺部感染性疾病的发展和严重程度中起着重要作用。Zhao 等<sup>[1]</sup>利用来自呼吸道样本的宏基因组学数据筛选生物标志物,并建立了预测重症肺炎患者预后的模型,但未纳入疱疹病毒。Pan 等<sup>[27]</sup>研究发现,疱疹病毒(尤其是 CMV)的存在与更差的临床预后有关,并且可以显著改变肺部微生物群,而且 CMV 和耶氏肺孢子菌之间可能存在高度的共感染。本研究通过柱状图和热图,可以直观发现疱疹病毒阳性组和疱疹病毒阴性组之间存在差异,提示疹病毒阳性的重症肺炎患者呼吸道中富集了更多的条件致病菌,如纹带棒杆菌、嗜肺军团菌等;同时更易合并真菌感染,如曲霉菌、耶氏肺孢子菌等。疱疹病毒的存在可能会改变呼吸道环境,导致微生物组结构的改变,下呼吸道微生物多样性的丧失可导致群落失衡,潜在损害免疫反应,增加对病毒感染的易感性,并促进条件致病菌的生长,导致严重的疾病形式<sup>[3,26-27]</sup>。结合既往研究推测疱疹病毒的存在代表了更差的免疫状态,为这些潜在病原体的生长提供机会,从而增加重症肺炎患者的感染风险<sup>[3,27]</sup>。疱疹病毒更容易与魏氏氏菌、耶氏肺孢子菌、偶氮假单胞菌和洋葱伯克霍尔德菌等条件致病菌共生,导致更差的

预后<sup>[3]</sup>。

本研究也存在一定的局限性:①本研究为回顾性研究,其结果需要通过前瞻性研究进一步探索潜在的机制,并在不同队列中进行验证。②尽管已经努力控制了混杂因素,但疱疹病毒的存在与患者临床预后及微生态的关系可能仍受到其他变量的影响,如致病菌、广谱抗生素的使用、侵入性操作、ICU住院时间以及疾病的严重程度等。③由于样本量有限且为单中心研究,除了 HSV-1、EBV 和 CMV 之外,其他类型的疱疹病毒感染病例仅有 11 例,这导致了研究的统计功效相对不足。④本研究为回顾性研究,因检测公司只保留近 1 年的 mNGS 检测样本的 fastp 数据,所以无法对下呼吸道微生态进行  $\alpha$ 、 $\beta$  多样性分析。因此,未来需要开展更大规模的多中心前瞻性研究,以更全面地评估疱疹病毒与重症肺炎患者病死率之间的关联。

综上所述,疱疹病毒感染是重症肺炎患者临床预后的独立危险因素,与重症肺炎患者病死率密切相关,尤其是 HSV-1、EBV、CMV 的存在与 30 d 死亡率增加有关。此外,疱疹病毒阳性的重症肺炎患者呼吸道中富集了更多的条件致病菌,如纹带棒杆菌、嗜肺军团菌等;同时更易合并真菌感染,如曲霉菌、耶氏肺孢子菌等,提示疱疹病毒可能影响下呼吸道微生态变化,从而影响疾病预后。未来的研究需要进一步阐明疱疹病毒感染的机制,以及如何通过抗病毒治疗和微生物组调节来优化重症肺炎患者的治疗策略。

## 参考文献:

- [1] Zhao JY, He XY, Min JM, et al. A multicenter prospective study of comprehensive metagenomic and transcriptomic signatures for predicting outcomes of patients with severe community-acquired pneumonia [J]. *EBioMedicine*, 2023, 96: 104790. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104790
- [2] 李骁,孙志远,张龙江. 影像人工智能在肺炎筛查、诊断及预测领域的应用研究进展[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2023, 61(12): 13-20.  
LI Xiao, SUN Zhiyuan, ZHANG Longjiang. Research advances of artificial intelligence-based medical imaging in the screening, diagnosis and prediction of pneumonia [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2023, 61(12): 13-20.
- [3] Liu YA, Wen ZL, Fang Y, et al. Herpesvirus reactivation in respiratory tract is associated with increased mortality of severe pneumonia patients and their respiratory microbiome dysbiosis[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1294142. doi:10.3389/fcimb.2023.1294142
- [4] Fromentin M, Ricard JD, Roux D. Respiratory microbiome in mechanically ventilated patients; a narrative review [J]. *Intensive Care Med*, 2021, 47(3): 292-306.
- [5] 董媛媛,蒋卫东,刘震,等. 二代测序辅助诊断水痘-带状疱疹病毒性脑膜炎 1 例[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2023, 61(1): 121-124.  
DONG Yuanyuan, JIANG Weidong, LIU Zhen, et al. A case of varicella-zoster virus meningitis diagnosed with the aid of second-generation sequencing [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2023, 61(1): 121-124.
- [6] Gooskens J, Templeton KE, Claas EC, et al. Quantitative detection of herpes simplex virus DNA in the lower respiratory tract[J]. *J Med Virol*, 2007, 79(5): 597-604.
- [7] Simonnet A, Engelmann I, Moreau AS, et al. High incidence of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and human herpes virus-6 reactivations in critically ill patients with COVID-19[J]. *Infect Dis Now*, 2021, 51(3): 296-299.
- [8] Li RM, Li J, Zhou XK. Lung microbiome; new insights into the pathogenesis of respiratory diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 19. doi:10.1038/s41392-023-01722-y
- [9] Dickson RP, Schultz MJ, van der Poll T, et al. Lung microbiota predict clinical outcomes in critically ill patients [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201(5): 555-563.
- [10] Bruynseels P, Jorens PG, Demey HE, et al. Herpes simplex virus in the respiratory tract of critical care patients: a prospective study [J]. *Lancet*, 2003, 362(9395): 1536-1541.
- [11] Simoons-Smit AM, Kraan EM, Beishuizen A, et al. Herpes simplex virus type 1 and respiratory disease in critically-ill patients: real pathogen or innocent bystander? [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2006, 12(11): 1050-1059.
- [12] Linsen CFM, Jacobs JA, Stelma FF, et al. Herpes simplex virus load in bronchoalveolar lavage fluid is related to poor outcome in critically ill patients [J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(12): 2202-2209.
- [13] Meyer A, Buetti N, Houhou-Fidouh N, et al. HSV-1 reactivation is associated with an increased risk of mortality and pneumonia in critically ill COVID-19 patients [J]. *Crit Care*, 2021, 25(1): 417. doi:10.1186/s13054-021-03843-8
- [14] Bonizzoli M, Arvia R, di Valvasone S, et al. Human herpesviruses respiratory infections in patients with acute respiratory distress (ARDS)[J]. *Med Microbiol Immunol*, 2016, 205(4): 371-379.
- [15] Jellings ME, Hansen F, Coia JE, et al. Herpes simplex virus type 1 pneumonia—a review [J]. *J Intensive Care Med*, 2021, 36(12): 1398-1402.

- [16] Hagel S, Scherag A, Schuierer L, et al. Effect of antiviral therapy on the outcomes of mechanically ventilated patients with herpes simplex virus detected in the respiratory tract: a systematic review and meta-analysis [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 584. doi:10.1186/s13054-020-03296-5
- [17] Schuierer L, Gebhard M, Ruf HG, et al. Impact of acyclovir use on survival of patients with ventilator-associated pneumonia and high load herpes simplex virus replication [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 12. doi:10.1186/s13054-019-2701-5
- [18] Frobert E, Billaud G, Casalegno JS, et al. The clinical interest of HSV1 semi-quantification in bronchoalveolar lavage [J]. *J Clin Virol*, 2013, 58(1): 265-268.
- [19] Costa C, Sidoti F, Saldan A, et al. Clinical impact of HSV-1 detection in the lower respiratory tract from hospitalized adult patients [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(8): E305-E307.
- [20] Xu J, Zhong L, Shao HZ, et al. Incidence and clinical features of HHV-7 detection in lower respiratory tract in patients with severe pneumonia: a multicenter, retrospective study [J]. *Crit Care*, 2023, 27(1): 248. doi:10.1186/s13054-023-04530-6
- [21] Munford RS, Pugin J. Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(2): 316-321.
- [22] 徐建桥,解立新.危重症患者免疫功能量化评估 [J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(48): 3917-3920.
- XU Jianqiao, XIE Lixin. Advances in quantitative assessment of immune function in critically ill patients [J]. *Chinese Medical Journal*, 2021, 101(48): 3917-3920.
- [23] 周溪,黄霖晗,任玉洁,等.新型冠状病毒感染与天然免疫及炎症反应 [J]. *山东大学学报(医学版)*, 2021, 59(5): 15-21.
- ZHOU Xi, HUANG Muhan, REN Yujie, et al. SARS-CoV-2 infection, innate immunity and inflammatory response [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2021, 59(5): 15-21.
- [24] Luyt CE, Combes A, Deback C, et al. Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(9): 935-942.
- [25] O'Dwyer DN, Ashley SL, Gurczynski SJ, et al. Lung microbiota contribute to pulmonary inflammation and disease progression in pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(9): 1127-1138.
- [26] de Steenhuijsen Piter WAA, Binkowska J, Bogaert D. Early life microbiota and respiratory tract infections [J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(2): 223-232.
- [27] Pan LG, Wu FS, Cai QQ, et al. Whole genome profiling of lung microbiome in solid organ transplant recipients reveals virus involved microecology may worsen prognosis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 863399. doi:10.3389/fcimb.2022.863399

(编辑:相峰)