

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20245039

· 论 著 ·

微滴数字 PCR 在重症急性胰腺炎疑似血流感染病原学诊断中的应用

王新雨¹, 李刚², 毛文健¹, 杨洁¹, 张敬柱², 柯路^{1,2}, 李维勤^{1,2}, 童智慧^{1,2}

(1. 南京医科大学金陵临床医学院重症医学科, 江苏 南京 210002; 2. 南京大学医学院附属金陵医院重症医学科, 江苏 南京 210002)

[摘要] **目的** 探讨微滴数字聚合酶链反应(ddPCR)在重症急性胰腺炎(SAP)合并疑似血流感染(BSI)病原学诊断中的价值。**方法** 选取 2022 年 7—9 月某院重症医学科收治的 SAP 患者,在疑似 BSI 发作时同步采集静脉血进行 ddPCR 检测和血培养(BC)及药敏试验(AST),记录两种检测方法的耗时,比较 ddPCR 与 BC 的检测结果,计算 ddPCR 的病原学诊断效能,并探讨 ddPCR 检测病原菌载量值与感染指标水平的相关性。**结果** 共纳入 22 例患者,采集 52 份静脉血标本进行检测,BC 阳性 17 份(32.7%),检出病原体 29 株;ddPCR 阳性 41 份(78.8%),检测出病原体 73 株。ddPCR 耗时低于 BC[(0.16±0.03)d VS (5.92±1.20)d, $P<0.001$]。在 ddPCR 检测范围内,以 BC 为金标准,ddPCR 检测的灵敏度和特异度分别为 80.0%、28.6%;联合检测前 1 周内非血标本微生物证据综合判定 BSI,ddPCR 检测的灵敏度和特异度分别提高至 91.9%、76.9%。ddPCR 耐药基因检测中,19 份检出 *bla_{KPC}*, 9 份检出 *bla_{NDM/IMP}*, 6 份检出 *VanA/VanM*, 5 份检出 *mecA*。相关性分析显示病原菌载量值与 C 反应蛋白、降钙素原水平呈正相关(r 分别为 0.347、0.414, 均 $P<0.05$)。**结论** ddPCR 作为一种辅助 BC 诊断 BSI 的检测方法具有灵敏度高、耗时低等优势,值得进一步探讨其在临床中的应用。

[关键词] 微滴数字 PCR; 血培养; 血流感染; 病原学诊断; 急性胰腺炎

[中图分类号] R446.6

Application of droplet digital PCR in etiological diagnosis of severe acute pancreatitis patients with suspected bloodstream infection

WANG Xin-yu¹, LI Gang², MAO Wen-jian¹, YANG Jie¹, ZHANG Jing-zhu², KE Lu^{1,2}, LI Wei-qin^{1,2}, TONG Zhi-hui^{1,2} (1. Department of Critical Care Medicine, Jinling Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210002, China; 2. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Jinling Hospital of Medical School of Nanjing University, Nanjing 210002, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) in the etiological diagnosis of severe acute pancreatitis (SAP) patients with suspected bloodstream infection (BSI). **Methods** SAP patients admitted to the department of critical care medicine in a hospital July to September 2022 were enrolled. When BSI was suspected, venous blood was collected for both ddPCR detection and blood culture (BC) with antimicrobial susceptibility testing (AST) simultaneously. The time required for two detection methods was recorded, and the detection results of ddPCR and BC were compared. The etiological diagnostic efficacy of ddPCR was calculated, and the correlation between the value of pathogen load detected by ddPCR and the level of infection parameters was explored. **Results** A total of 22 patients were included in the analysis, and 52 venous blood specimens were collected for detection. BC revealed 17 positive specimens (32.7%) and 29 pathogenic strains, while ddPCR showed 41 positive specimens (78.8%) and 73 pathogenic strains. Detection time required for ddPCR was significantly lower

[收稿日期] 2023-09-22

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82070665)

[作者简介] 王新雨(1997-),男(汉族),河北省唐山市人,研究生,主要从事重症急性胰腺炎、重症感染方面的研究。

[通信作者] 童智慧 E-mail: njzyantol@hotmail.com

than that of BC ($[0.16 \pm 0.03]$ days vs $[5.92 \pm 1.20]$ days, $P < 0.001$). Within the detection range of ddPCR and taking BC results as the gold standard, the sensitivity and specificity of ddPCR were 80.0% and 28.6%, respectively. With the combined assessment of BSI based on non-blood specimen microbial evidence within a week, the sensitivity and specificity of ddPCR detection increased to 91.9% and 76.9%, respectively. ddPCR detected resistance genes of *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM/IMP}, *VanA/VanM*, and *mecA* from 19, 9, 6, and 5 specimens, respectively. Correlation analysis showed a positive correlation between pathogen load and levels of C-reactive protein as well as procalcitonin ($r = 0.347, 0.414, P < 0.05$). **Conclusion** As a supplementary detection method for BC in BSI diagnosis, ddPCR has the advantages of higher sensitivity and shorter detection time, and is worthy of further exploration in clinical application.

[Key words] droplet digital PCR; blood culture; bloodstream infection; etiological diagnosis; acute pancreatitis

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是由多种病因引起的因胰酶异常激活胰腺自身及周围组织而引发的急腹症^[1],其中 20% 的患者会伴发器官功能障碍和(或)胰腺坏死组织感染(infected pancreatic necrosis, IPN)进展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),病死率高达 20%~40%^[2-4]。SAP 患者存在诸多引发血流感染(bloodstream infection, BSI)的高危因素,如侵入性操作、免疫抑制状态、局灶性感染播散、医院感染、营养状况差等^[5],易诱发脓毒症,加重器官功能障碍,严重影响患者的预后。因此,快速、准确识别 BSI 病原体是指导抗菌药物使用的关键。目前,血培养(blood culture, BC)是 BSI 诊断的金标准^[6],但受其技术原理限制,存在阳性率低、耗时长、采血量大、易污染等缺点^[7-8],难以实时辅助临床诊治。微滴数字聚合酶链反应(droplet digital PCR, ddPCR)作为第三代核酸扩增与检测技术,通过平行的单分子扩增实现待检靶分子载量值的绝对定量^[9-11],能同时对病原体及耐药基因进行多重检测,具有快速、高灵敏度、不依赖标准曲线等优势^[12],以及研究和临床应用前景。本研究基于 SAP 合并疑似 BSI 患者人群,评价 ddPCR 的病原学诊断效能,并探讨其临床应用价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2022 年 7—9 月某院重症医学科收治的 SAP 患者,临床医生怀疑 BSI 发生时,在同一时间、同一部位采集患者静脉血标本。纳入标准包括(1)依据改良 Atlanta 标准诊断为 SAP^[13]。(2)年龄 ≥ 18 岁。(3)至少符合两项全身炎症反应综合征(SIRS)标准:a)最高体温 $> 38^\circ\text{C}$ 或 $< 36^\circ\text{C}$;b)心率 > 90 次/min;c)呼吸 > 20 次/min或 $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg;d)白细胞计数 $> 12.0 \times 10^9/\text{L}$

或 $< 4.0 \times 10^9/\text{L}$ 。排除标准包括(1)拒绝抽血检测;(2)病历资料不完整。本研究方案经该医院医学伦理委员会批准(批号:2021NZKY-014-01),纳入受试者均签署知情同意书。

1.2 检测方法

1.2.1 BC 法 按规范流程采集 2 套血标本并送至微生物实验室^[6],使用血培养仪(BD BactecTM FX40,美国)按使用手册对血标本进行分析,使用 Vitek[®] MS 系统(BioMerieux, version 1.7, 法国)对培养阳性血标本进行菌种鉴定,并进行药物敏感试验(antimicrobial susceptibility testing, AST)。

1.2.2 ddPCR 法 按规范流程采集 5~10 mL 静脉血于 EDTA 抗凝管中,2 h 内离心(3 000 r/min, 15 min)后采集血浆。依次取 60 μL 洗脱液、2 mL 血浆、10 μL 内对照、200 μL 蛋白酶 K 加至提取槽并置于核酸提取仪进行核酸提取,收集洗脱液并以 5 $\mu\text{L}/\text{管}$ 加入至含靶标的预混液试剂管中,放于标本制备仪(DG32,领航基因科技,中国)进行液滴制备,使用 PCR 扩增仪(TC1,领航基因科技,中国)按照“ 95°C 5 min; (95°C 5 s, 60°C 20 s) $\times 40$ 循环; 25°C 5 min”循环参数进行平行扩增,最后使用生物芯片阅读仪(CS7,领航基因科技,中国)分析并报告病原体和耐药基因型的类别及载量值。

1.2.3 ddPCR 检测范围 检测范围包括 15 种病原体及 5 种耐药基因,分别为铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、肠球菌、链球菌、念珠菌、嗜麦芽窄食单胞菌、柠檬酸杆菌、黏质沙雷菌、奇异变形杆菌、洋葱伯克霍尔德菌,以及耐药基因 *bla*_{KPC}、*mecA*、*bla*_{NDM/IMP}、*bla*_{OXA-48}、*VanA/VanM*。

1.3 数据收集 通过电子病历系统收集患者的年龄、性别、身体质量指数(BMI)、AP 病因、首次检测距发病日数、首次检测当日器官功能支持情况,收集

两种检测方法的结果及从上机至报告最终结果的耗时,每次检测当日的病情严重程度评分,以及实验室指标、检测前 1 周内的其他体液细菌培养结果等。

1.4 检测结果解读 如果检测到一种或多种病原体认定为阳性结果,没有检测到病原体认定为阴性结果。如果单次检测两种方法均为阴性或 ddPCR 检测菌种等同/包含 BC 结果,定义为结果一致;BC 呈阳性,ddPCR 呈阴性或检测菌种不等同/不包含 BC 结果,ddPCR 结果定义为假阴性;当 BC 呈阴性,ddPCR 呈阳性,则判定为可能血流感染或推定假阳性。可能血流感染是指 ddPCR 结果与检测前 1 周内非血标本病原学检测结果相符;推定假阳性是指 ddPCR 结果与检测前 1 周内非血标本病原学检测结果不相符^[14]。AST 阳性是指下述情况:AST 显示对亚胺培南或美罗培南耐药,定义为碳青霉烯类耐药,对应 ddPCR 耐药基因型为 *bla_{KPC}*、*bla_{NDM/IMP}*、*bla_{OXA-48}*;AST 显示对甲氧西林耐药,对应 ddPCR 耐药基因 *mecA*;AST 显示对万古霉素耐药,对应

ddPCR 耐药基因为 *VanA/VanM*。

1.5 统计学分析 应用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,计量资料采用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)描述,计数资料采用频数(率)描述;计算 ddPCR 检测的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值;采用 *Spearman* 相关性分析计算 ddPCR 单次检测病原体载量与感染指标水平的相关性;双侧 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。应用 Graphpad Prism 9.0.0 软件进行图绘制。

2 结果

2.1 一般资料 本研究共纳入 22 例患者,年龄 18~69 岁,平均(42.4 ± 15.3)岁,男性 15 例(68.2%),首次检测时患者的平均 C 反应蛋白(CRP)和降钙素原(PCT)值分别为 194.8 mg/L、4.19 μg/L。见表 1。共送检血标本 52 份,ddPCR 耗时[(0.16 ± 0.03)d]低于 BC 耗时[(5.92 ± 1.20)d; $P < 0.001$]。

表 1 22 例 SAP 患者一般资料与临床特征

Table 1 General data and clinical characteristics of 22 SAP patients

项目	临床资料	项目	临床资料
年龄(岁)	42.4 ± 15.3	严重程度评分(分)	
性别[男,例(%)]	15(68.2)	SOFA 评分	7.4 ± 4.7
BMI(kg/m ²)	27.23 ± 5.04	MODS 评分	3.8 ± 2.6
首次检测距发病日数(d)	33.8 ± 27.9	实验室指标	
急性胰腺炎病因[例(%)]		白细胞计数(×10 ⁹ /L)	12.0 ± 4.7
胆源性	8(36.4)	中性粒细胞计数(×10 ⁹ /L)	10.5 ± 4.1
高脂血症性	14(63.6)	淋巴细胞计数(×10 ⁹ /L)	0.85 ± 0.51
器官功能支持[例(%)]		CRP(mg/L)	194.8 ± 108.7
机械通气	14(63.6)	PCT(μg/L)	4.19 ± 4.73
血管活性药治疗	9(40.9)	血清清蛋白(g/L)	31.1 ± 4.0
肾替代治疗	8(36.4)	检测次数[例(%),次]	
		1	11(50.0)
		2	5(22.7)
		≥3	6(27.3)

注:SOFA 评分为序贯器官衰竭评分;MODS 评分为多器官功能障碍评分。

2.2 病原体检出情况 52 份血标本中,BC 阳性 17 份(32.7%),分离病原体 29 株,以凝固酶阴性葡萄球菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌为主;ddPCR 检测阳性 41 份(78.8%),检出病原体 73 株,以肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、肠球菌为主。ddPCR 检测

前 7 日内患者引流液、痰、胆汁等 34 份体液标本的细菌培养结果显示,共分离病原体 51 株。见图 1。41.2%的 BC 阳性及 46.3%的 ddPCR 阳性血标本中检测到两种及以上病原体。见图 2。

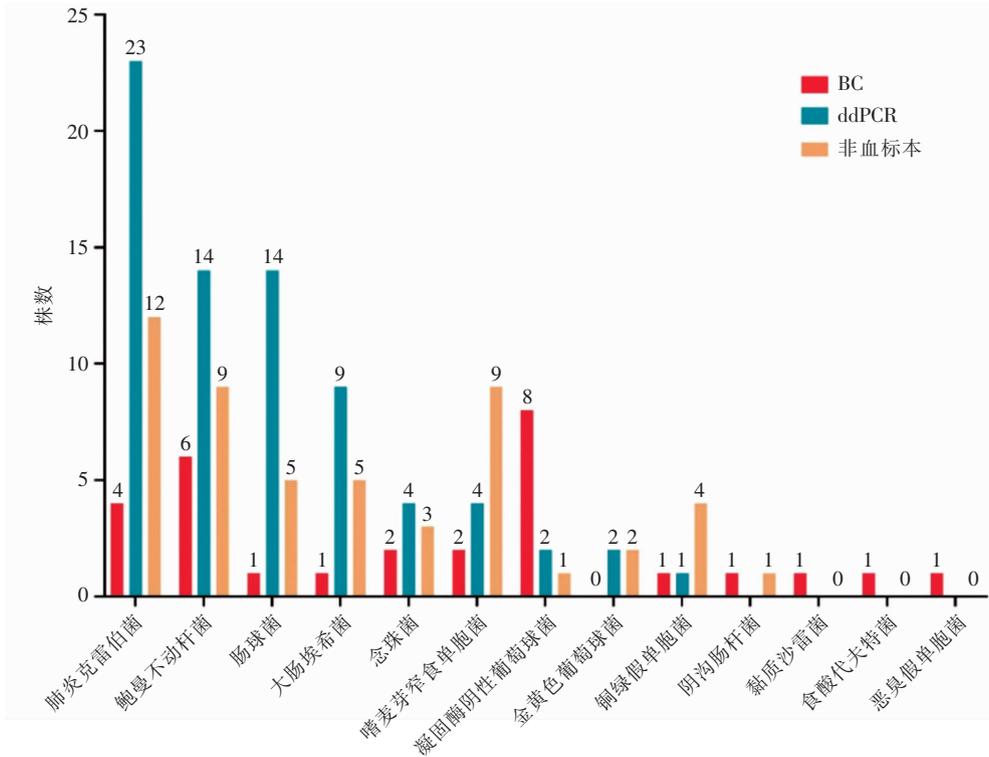


图 1 SAP 患者血标本 BC、ddPCR 检测及非血标本培养病原菌分布情况

Figure 1 Pathogen distribution of blood specimens from SAP patients by BC and ddPCR as well as non-blood specimens by bacterial culture

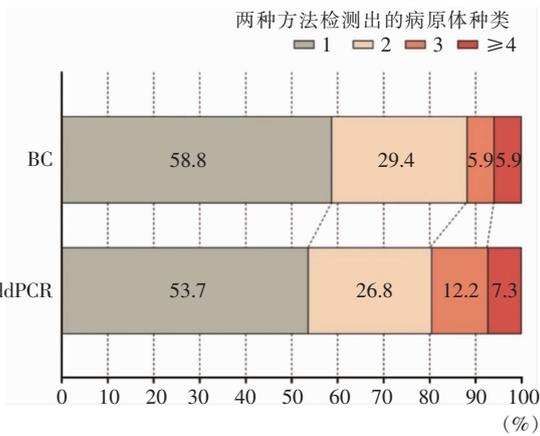


图 2 ddPCR 和 BC 单次检测出病原体种类分布

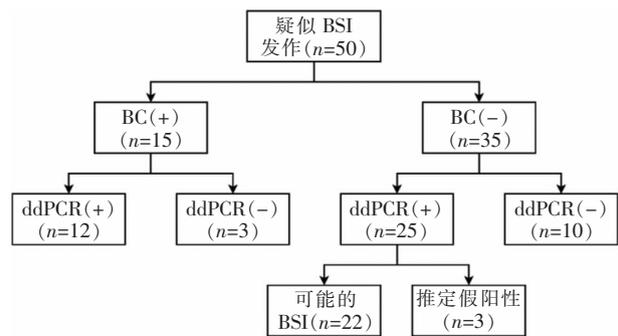
Figure 2 Distribution of pathogen species in single detection by ddPCR and BC

2.3 ddPCR 检测的诊断效能 在 ddPCR 检测范围内,共有 50 份血标本检测结果纳入诊断效能的计算,排除的 2 份血标本 BC 检测结果为恶臭假单胞菌和食酸代夫特菌,不在 ddPCR 检测范围内。以 BC 为金标准,两种方法一致阳性 12 份,一致阴性 10 份,总体一致性为 44.0% (22/50),ddPCR 的灵敏度为 80.0% (12/15),特异度为 28.6% (10/35),阳性预测值和阴性预测值分别为 32.4% (12/37)、76.9% (10/13);在考虑可能 BSI 之后,ddPCR 的灵敏度为 91.9% (34/37),特异度为 76.9% (10/13),阳性预测值和阴性预测值分别为 91.9% (34/37)、76.9% (10/13)。见表 2、图 3。

表 2 ddPCR 在病原学诊断中的效能

Table 2 Efficacy of ddPCR in etiological diagnosis

诊断方法	ddPCR 阳性	ddPCR 阴性	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
基于 BC	BC 阳性	12	80.0	28.6	32.4	76.9
	BC 阴性	25				
基于 BC 及体液培养	BSI 阳性	34	91.9	76.9	91.9	76.9
	BSI 阴性	3				



注：+ 表示阳性；- 表示阴性。

图 3 目标范围内 ddPCR 和 BC 的检测情况及结果

Figure 3 Detection results of ddPCR and BC in targeted range

2.4 病原菌载量与感染指标的相关性 相关性分析显示,在 ddPCR 检出的阳性血标本中,病原菌载量值与检测当日的 CRP、PCT 水平呈正相关(均 $P < 0.05$),与检测当日的体温峰值、SOFA 评分、MODS 评分、白细胞计数、中性粒细胞计数、淋巴细胞计数均未见明显相关性(均 $P > 0.05$)。见表 3。

表 3 病原菌载量与感染指标的相关性

Table 3 Correlation between pathogen load and inflammatory parameters

项目	r	P
体温峰值	0.068	0.673
SOFA 评分	0.279	0.077
MODS 评分	0.194	0.224
白细胞计数	-0.016	0.921
中性粒细胞计数	-0.002	0.990
淋巴细胞计数	-0.246	0.122
CRP	0.347	0.026
PCT	0.414	0.007

2.5 耐药基因分布 17 份 BC 阳性的血标本中 12 份 AST 阳性。41 份 ddPCR 阳性血标本中 28 份检出耐药基因,其中 *bla*_{KPC} 阳性 19 份,*bla*_{NDM/IMP} 阳性 9 份,*VanA/VanM* 阳性 6 份,*mecA* 阳性 5 份。6 份 ddPCR 检出 *VanA/VanM* 基因的血标本中,5 份(83.3%)肠球菌阳性;5 份检出 *mecA* 基因的血标本中,4 份(80.0%)葡萄球菌阳性。12 份 AST 阳性血标本中,ddPCR 耐药基因检测阳性 9 份(75.0%),其中 8 份(66.7%)耐药基因结果等同或包含 AST 结果,不一致的 4 份标本中存在 2 份漏检,2 份未在 ddPCR 检测范围内。

3 讨论

BSI 是世界范围内一个重要的公共卫生问题,延迟的感染源控制与不充分的抗感染治疗会显著增加患者死亡风险并影响长期预后^[15-17]。2021 年《脓毒症和脓毒症休克管理国际指南》强调:对于可能患有脓毒症或脓毒症休克的成人,应在 1 h 内给予抗菌药物^[18]。由于 BSI 的症状缺乏特异性、BC 阳性率低及存在滞后性,在 BSI 病原学早期诊断、感染程度分层、抗菌药物精准使用及疗效监测等方面存在诸多困难。

ddPCR 作为一种新兴的分子诊断技术,不依赖标准曲线即可对目标序列进行绝对定量检测^[12],目前已广泛应用于无创产前基因检测和肿瘤的液体活检^[19-20];同时,在感染性疾病的诊断中也显示出了巨大潜力^[21]。本研究显示,ddPCR 在耗时方面明显优于 BC,此为 BSI 病原学早期诊断,精准指导抗菌药物使用提供了可能;同时,包括 AP 在内的许多无菌性炎症在发病早期具有发热、炎症指标升高等易与感染相混淆的表现^[22],ddPCR 的使用将有助于临床医生对其进行鉴别。考虑到 BC 存在一定假阴性率^[23],本研究整合了检测前 1 周内非血标本细菌培养结果来综合判定 BSI 的可能,使 ddPCR 的灵敏度和特异度分别提升至 91.9%、76.9%,与既往研究^[24]报道一致。值得注意的是,ddPCR 和 BC 在 2 份血标本中均检测到念珠菌,并且既往研究^[14,25]也证实了 ddPCR 对于真菌的诊断性能。

BC 阳性血标本中,有 3 份 ddPCR 检测为阴性,在既往研究^[21,26]中有类似报道,结合 BC 常见污染菌分布^[6],考虑其中 2 份血标本 BC 分离的溶血性葡萄球菌为采样时混入的皮肤定植菌;另外 1 份血标本 BC 分离出多种细菌,ddPCR 漏检了其中的黏质沙雷菌和阴沟肠杆菌,笔者认为可能是由于 ddPCR 检测血浆中病原体 DNA 片段,存在 DNA 突变或在菌种过多时存在相互干扰的情况,进而影响检测的精准度,还需要更多的基础研究来证实。

在过去几十年中,有 250 余种脓毒症相关生物标志物被研究用于辅助临床决策^[18,27],CRP 和 PCT 等作为当前研究和应用最广泛的生物标志物,一定程度上反映了机体对病原体的免疫反应强度^[28]。本研究显示了 ddPCR 阳性血标本中病原菌 DNA 载量值与检测当日的 CRP 和 PCT 水平呈明显的正相关关系,表明 ddPCR 在检测出病原体种类的同时,也能较直

观地反映感染的严重程度^[29-30]；并且，凭借其绝对定量的特性，为抗感染疗效的动态监测提供可能^[31]。

近年来，不断有新兴的检测方法应用于感染病原学领域^[8,32-33]，其中，宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)应用广泛并在脓毒症、中枢神经系统感染、组织感染等感染性疾病的病原体检测中逐渐受到认可^[34-36]。有研究^[37]比较了 mNGS 与 ddPCR 对于 BSI 的诊断效能，结果表明在 ddPCR 检测范围内，ddPCR 具有更高的灵敏度和更短的检测耗时，然而 mNGS 具有更广的检测范围，并且在罕见病原体的诊断上具有优势。笔者认为，ddPCR 在应用方面还需考虑以下几点：首先，基于检测血浆中微生物游离 DNA (mcfDNA) 的方法^[38]，ddPCR 受病原体生存状况影响小，使其在检测中具有稳定性和可重复性，但无法区分血液中的病原菌处于存活或失活状态；同时，尚缺少病原菌 DNA 载量值定义 BSI 临床诊断及判定抗菌药物最佳启动时机阈值的相关研究。其次，尽管本研究在 ddPCR 检测的多数血标本中呈现了菌种与耐药基因型的对应关系，但 ddPCR 检测出的耐药基因型不等同于表型，且在多种病原菌感染时较难确定耐药基因源于何种病原菌，使其在指导抗感染药物使用时存在一定局限性。因此，如何将 ddPCR 更好地应用到临床实践中还需要更多高质量的前瞻性研究来明确。

本研究存在一定局限性。首先，该研究是在单中心进行的，作为探索性研究样本量较小；其次，未能评价和探讨 ddPCR 在动态监测个体抗感染疗效、改善患者预后方面的效能。

综上所述，ddPCR 作为一种辅助 BC 诊断 BSI 的检测方法具有灵敏度高、耗时低等优势，对 BSI 病原体及耐药基因的快速检测具有一定的诊断意义，未来还需要更多前瞻性研究去探究其在指导抗菌药物使用、疗效动态监测及改善患者预后等方面的临床价值。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2021)[J]. 中国实用外科杂志, 2021, 41(7): 739-746. Chinese Pancreatic Surgery Association, Chinese Society of Surgery, Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of acute pancreatitis in China(2021)[J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2021, 41(7): 739-746.
- [2] Boxhoorn L, Voermans RP, Bouwense SA, et al. Acute pancreatitis[J]. Lancet, 2020, 396(10252): 726-734.
- [3] Petrov MS, Shanbhag S, Chakraborty M, et al. Organ failure and infection of pancreatic necrosis as determinants of mortality in patients with acute pancreatitis[J]. Gastroenterology, 2010, 139(3): 813-820.
- [4] Besselink MG, van Santvoort HC, Boermeester MA, et al. Timing and impact of infections in acute pancreatitis[J]. Br J Surg, 2009, 96(3): 267-273.
- [5] Timsit JF, Ruppé E, Barbier F, et al. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement[J]. Intensive Care Med, 2020, 46(2): 266-284.
- [6] 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会, 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和免疫学分会临床微生物学组. 血液培养技术用于血流感染诊断临床实践专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45(2): 105-121. Society of Clinical Microbiology and Infection of China International Exchange and Promotion Association for Medical and Healthcare, Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association. Chinese expert consensus on the clinical practice of blood culture in the diagnosis of bloodstream infection[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2022, 45(2): 105-121.
- [7] Zboromyrska Y, Cillóniz C, Cobos-Trigueros N, et al. Evaluation of the Magicple™ sepsis real-time test for the rapid diagnosis of bloodstream infections in adults[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9: 56.
- [8] Peri AM, Harris PNA, Paterson DL. Culture-independent detection systems for bloodstream infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2022, 28(2): 195-201.
- [9] Quan PL, Sauzade M, Brouzes E. dPCR: a technology review [J]. Sensors (Basel), 2018, 18(4): 1271.
- [10] Sreejith KR, Ooi CH, Jin J, et al. Digital polymerase chain reaction technology-recent advances and future perspectives [J]. Lab Chip, 2018, 18(24): 3717-3732.
- [11] Salipante SJ, Jerome KR. Digital PCR - an emerging technology with broad applications in microbiology[J]. Clin Chem, 2020, 66(1): 117-123.
- [12] Merino I, de la Fuente A, Domínguez-Gil M, et al. Digital PCR applications for the diagnosis and management of infection in critical care medicine[J]. Crit Care, 2022, 26(1): 63.
- [13] Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus[J]. Gut, 2013, 62(1): 102-111.
- [14] Nguyen MH, Clancy CJ, Pasculle AW, et al. Performance of the T2 bacteria panel for diagnosing bloodstream infections: a diagnostic accuracy study[J]. Ann Intern Med, 2019, 170

- (12): 845 – 852.
- [15] Tabah A, Koulenti D, Laupland K, et al. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT international cohort study[J]. *Intensive Care Med*, 2012, 38(12): 1930 – 1945.
- [16] Adrie C, Garrouste-Orgeas M, Ibn Essaïed W, et al. Attributable mortality of ICU-acquired bloodstream infections: Impact of the source, causative micro-organism, resistance profile and antimicrobial therapy[J]. *J Infect*, 2017, 74(2): 131 – 141.
- [17] McNamara JF, Righi E, Wright H, et al. Long-term morbidity and mortality following bloodstream infection: a systematic literature review[J]. *J Infect*, 2018, 77(1): 1 – 8.
- [18] Evans L, Rhodes A, Albazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021[J]. *Crit Care Med*, 2021, 49(11): e1063 – e1143.
- [19] Caswell RC, Snowsill T, Houghton JAL, et al. Noninvasive fetal genotyping by droplet digital PCR to identify maternally inherited monogenic diabetes variants[J]. *Clin Chem*, 2020, 66(7): 958 – 965.
- [20] Boldrin E, Mazza M, Piano MA, et al. Putative clinical potential of ERBB2 amplification assessment by ddPCR in FFPE-DNA and cfDNA of gastroesophageal adenocarcinoma patients [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(9): 2180.
- [21] Wu J, Tang B, Qiu YZ, et al. Clinical validation of a multiplex droplet digital PCR for diagnosing suspected bloodstream infections in ICU practice: a promising diagnostic tool[J]. *Crit Care*, 2022, 26(1): 243.
- [22] Leppäniemi A, Tolonen M, Tarasconi A, et al. 2019 WSES guidelines for the management of severe acute pancreatitis[J]. *World J Emerg Surg*, 2019, 14: 27.
- [23] Murray PR, Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit[J]. *Crit Care Med*, 2012, 40(12): 3277 – 3282.
- [24] Li M, Zhao LW, Zhu YJ, et al. Clinical value of droplet digital PCR in the diagnosis and dynamic monitoring of suspected bacterial bloodstream infections[J]. *Clin Chim Acta*, 2023, 550: 117566.
- [25] Chen B, Xie YG, Zhang N, et al. Evaluation of droplet digital PCR assay for the diagnosis of candidemia in blood samples [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 700008.
- [26] Lin K, Zhao YH, Xu B, et al. Clinical diagnostic performance of droplet digital PCR for suspected bloodstream infections[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(1): e0137822.
- [27] Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, et al. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal[J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 287.
- [28] van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(7): 407 – 420.
- [29] Rello J, Lisboa T, Lujan M, et al. Severity of pneumococcal pneumonia associated with genomic bacterial load[J]. *Chest*, 2009, 136(3): 832 – 840.
- [30] Waterer G, Rello J. Why should we measure bacterial load when treating community-acquired pneumonia?[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2011, 24(2): 137 – 141.
- [31] Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, et al. Life and death of circulating cell-free DNA[J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(8): 1057 – 1067.
- [32] Opota O, Jaton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(4): 323 – 331.
- [33] 上海市微生物学会临床微生物专业委员会, 上海市医学会检验医学专科分会, 上海市医学会危重病专科分会. 血流感染临床检验路径专家共识[J]. *中华传染病杂志*, 2022, 40(8): 457 – 475.
- Clinical Microbiology Division of Shanghai Society of Microbiology, Shanghai Society of Laboratory Medicine, Shanghai Medical Association, Shanghai Society of Critical Care Medicine, Shanghai Medical Association. Expert consensus on clinical laboratory strategies for bloodstream infection[J]. *Chinese Journal of Infectious Diseases*, 2022, 40(8): 457 – 475.
- [34] Miller S, Chiu C. The role of metagenomics and next-generation sequencing in infectious disease diagnosis[J]. *Clin Chem*, 2021, 68(1): 115 – 124.
- [35] Hong DH, Wang P, Zhang JZ, et al. Plasma metagenomic next-generation sequencing of microbial cell-free DNA detects pathogens in patients with suspected infected pancreatic necrosis[J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1): 675.
- [36] 凌勇, 胡雪姣, 赵越, 等. 宏基因组二代测序在骨关节感染病原学诊断中的应用[J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(5): 527 – 531.
- Ling Y, Hu XJ, Zhao Y, et al. Application of next-generation metagenomic sequencing in the etiological diagnosis of bone and joint infection[J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2023, 22(5): 527 – 531.
- [37] Hu BC, Tao Y, Shao ZQ, et al. A comparison of blood pathogen detection among droplet digital PCR, metagenomic next-generation sequencing, and blood culture in critically ill patients with suspected bloodstream infections[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 641202.
- [38] Nie MY, Zheng M, Li CM, et al. Assembled step emulsification device for multiplex droplet digital polymerase chain reaction[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(3): 1779 – 1784.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式:王新雨,李刚,毛文健,等. 微滴数字 PCR 在重症急性胰腺炎疑似血流感染病原学诊断中的应用[J]. *中国感染控制杂志*, 2024, 23(1): 9 – 15. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 – 9638. 20245039.

Cite this article as: WANG Xin-yu, LI Gang, MAO Wen-jian, et al. Application of droplet digital PCR in etiological diagnosis of severe acute pancreatitis patients with suspected bloodstream infection[J]. *Chin J Infect Control*, 2024, 23(1): 9 – 15. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 – 9638. 20245039.