

# 宏基因组二代测序在肺部感染病原诊断中的价值

孟贝贝<sup>1,2</sup>, 刘海潮<sup>2</sup>, 胡振红<sup>2</sup>, 屈磊<sup>2</sup>, 方瑶<sup>1,2\*</sup>

1. 武汉科技大学医学部医学院, 湖北 武汉 430065; 2. 中国人民解放军中部战区总医院, 湖北 武汉 430061

**摘要:** **目的** 比较宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)与实验室传统培养在肺部感染病原中诊断的应用价值。**方法** 回顾性分析2021年2月—2022年9月中部战区总医院收治的310例疑似肺部感染患者临床资料,分析mNGS与实验室传统培养检测结果,对比2种检测方法检测肺部感染病原的阳性率、灵敏度、特异性、准确性(accuracy, ACC)、阳性预计值(positive predictive value, PPV)、阴性预计值(negative predictive value, NPV)。**结果** 研究发现,mNGS能够同时检出多种病原,对细菌的检出效率最高,对真菌的检出阳性率最低,且mNGS检出的细菌、真菌与病毒的序列数之间有显著差异( $H=70.361, P<0.001$ )。在比较分析mNGS与实验室传统培养方法中发现,mNGS检出阳性率(88.40%)高于实验室传统培养(29.70%),差异有统计学意义( $\chi^2=162.373, P<0.001$ ),检测结果一致性比较  $Kappa=-0.003, P=0.902$ ; mNGS的灵敏度、特异性、ACC、PPV、NPV分别为91.29%、28.26%、81.94%、87.96%、36.11%,传统培养分别为30.30%、73.91%、36.77%、86.96%、15.60%;其中,两种方法间的灵敏度和特异性差异有统计学意义(91.29% vs 30.30%,  $\chi^2=148.120, P<0.001$ ; 28.26% vs 73.91%,  $\chi^2=13.793, P<0.001$ )。**结论** mNGS能够显著提高肺部感染病原的检出率,是传统实验室培养方法的必要补充,为指导临床抗感染治疗提供有力依据。同时,传统培养与mNGS病原检测方法都高度依赖于标本质量和检测质控,mNGS在提供无损的多种病原遗传信息的同时也需正确解读,才能正确甄别致病病原。

**关键词:** 肺部感染;病原诊断;宏基因组二代测序;临床决策

中图分类号:R446 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2023)11-1173-07

DOI:10.13604/j.cnki.46-1064/r.2023.11.09

## The diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing in pulmonary infectious diseases

MENG Beibei<sup>1,2</sup>, LIU Haichao<sup>2</sup>, HU Zhenhong<sup>2</sup>, QU Lei<sup>2</sup>, FANG Yao<sup>1,2</sup>

1. School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430065, China;

2. General Hospital of the Central Theater of the People's Liberation Army of Chinese, Wuhan, Hubei, 430061, China

Corresponding author: FANG Yao, E-mail: lolfang@sina.cn

**Abstract:** **Objective** To compare the application value of metagenomic next generation sequencing (mNGS) with traditional culture in diagnosis of pulmonary infection pathogens. **Methods** The clinical documents of 310 patients with suspected pulmonary infection admitted to the General Hospital of Center Theater Command from February 2021 to September 2022 were retrospectively analyzed. The results of mNGS and traditional culture were analyzed, followed by comparison on the positive rate, sensitivity, specificity, accuracy (ACC), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) between the two methods. **Results** The study revealed that mNGS can simultaneously detect multiple pathogens, with the highest efficiency of detection for bacteria and the lowest for fungi. And the sequencing numbers of bacteria, fungi and viruses shown by mNGS were significantly different ( $H=70.361, P<0.001$ ). In comparison, mNGS displayed a higher positive detection rate (88.40%) than traditional culture (29.70%) ( $\chi^2=162.373, P<0.001$ ), but the consistency between the two methods was not significant ( $Kappa = -0.003, P=0.902$ ). The sensitivity, specificity, ACC, PPV and NPV of mNGS were 91.29%, 28.26%, 81.94%, 87.96%, and 36.11% respectively, compared to corresponding 30.30%, 73.91%, 36.77%, 86.96% and 15.60% of traditional culture respectively. Through analysis, it is confirmed that the sensitivity and specificity between the two methods were statistically significant (91.29% vs 30.30%,  $\chi^2=148.120, P<0.001$  and 28.26% vs 73.91%,  $\chi^2=13.793, P<0.001$ ). **Conclusions** mNGS can significantly improve the detection rate of pathogens in pulmonary infections and provide a complementary tool besides to traditional culture method for accurate anti-infection therapy. Furthermore, both traditional culture and mNGS pathogen detection methods are highly dependent on sample quality and detection quality control. mNGS requires the correct interpretation of comprehensive, non-destructive pathogenic genetic information to accurately identify pathogens.

**Keywords:** Pulmonary infection; pathogen diagnosis; metagenomic next-generation sequencing; clinical decision

基金项目: 军队后勤科研项目(No.CLB19J029);2020年武汉市中青年医学骨干人才工程(No.武卫通2020-55)

作者简介:孟贝贝(1997—),女,硕士研究生,研究方向:呼吸道病原感染与免疫机制。

\*通信作者:方瑶,E-mail: lolfang@sina.cn。

肺部感染是指由多种病原微生物引起,累及终末气道、肺泡腔及肺间质的肺部炎症性疾病,是威胁人类健康的主要疾病之一,全球范围内其发病率和病死率常处于高位<sup>[1-2]</sup>。肺部感染的病原类型差异大,临床转归迥异。快速、准确地识别病原体对肺部感染的诊断和临床决策至关重要,能极大地提高治疗有效率和患者生存率,缩短住院时间,减少不必要的抗微生物药物使用负担<sup>[3]</sup>。传统培养虽是病原诊断的金标准,但由于微生态环境、人群免疫谱变化、抗生素暴露,常常导致一些相关病原引起病例的漏诊和误诊,且诊断时间长、通量低,无法满足当前精准医疗、个体化医疗的发展需求<sup>[4]</sup>。宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)是一种高通量测序方法,不依赖传统微生物培养,无需提前假设预判疑似致病微生物,具有无偏倚、广覆盖、检测快、灵敏度和准确度高等特点<sup>[5]</sup>。近年来mNGS临床应用越来越广泛,但临床医师对其在肺部感染诊断中的应用价值认识有限,对其局限性也缺乏直观了解。因此,本文回顾并分析了2021年2月—2022年9月中部战区总医院呼吸与危重症医学科收治的经宏基因组二代测序的310例疑诊肺部感染病例,并比较其与实验室传统培养的优劣,旨在进一步加深临床医务人员对肺部感染中mNGS应用的理解和认识。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 该研究共纳入2021年2月—2022年9月中部战区总医院收治的经宏基因组二代测序检测的310例疑诊肺部感染患者的临床资料,收集其人口学资料、流行病学史、实验室检查结果、mNGS及实验室传统培养结果。

### 1.2 研究对象

1.2.1 纳入和排除标准 纳入标准:(1)2021年2月—2022年9月中部战区总医院收治的疑诊肺部感染患者;(2)符合mNGS适应症<sup>[6-7]</sup>;(3)符合肺部感染诊断<sup>[8]</sup>:①新近出现的咳嗽,咳痰或原有呼吸道疾病症状加重,并出现脓性痰,伴或不伴胸痛/呼吸困难/咯血;②发热;③肺实变体征和(或)闻及湿性啰音;④白细胞(WBC) $>10\times 10^9/L$ 或 $<4\times 10^9/L$ ,伴或不伴中性粒细胞核左移;⑤胸部影像学检查显示片状、斑片状浸润性阴影或间质性改变,伴或不伴胸腔积液。①~④中任意一项+⑤项,并除外肺部肿瘤、肺间质性疾病、肺水肿、肺不张、肺栓塞等后,可建立临床诊断。

排除标准:(1)mNGS与实验室传统培养检测前已明确为非肺部感染性疾病患者。(2)临床或实验室资料不完整者。(3)无病原学证据,无痰培养或肺泡灌洗液标本送检者。

1.2.2 临床分组 以最终临床诊断为金标准。综合310例疑诊肺部感染患者临床表现和实验室病原培养结果,确诊肺部感染264例(肺部感染组)和非肺部感染46例(非肺部感染组),其中男性168例,女性142例,年龄(15~95)岁,见表1。

### 1.3 临床标本采集

1.3.1 痰标本 在抗生素使用前采集标本,嘱患者清晨用生理盐水漱口2~3次后,以深呼吸咳嗽方式排出深部痰液,排痰困难者则用纤支镜辅助吸痰,将标本置于无菌试管,取样1~2 h内送检。在低倍显微镜下评估痰标本质量,低倍镜下鳞状细胞应该小于10个,白细胞 $>25$ 个,或者鳞/白比例 $<1:2.5$ 。

1.3.2 支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)术前完善各项常规检查,排除严重心脑血管疾病及服用抗凝药物史等,并嘱术前禁食水4 h,根据胸部CT选取目标肺段进行支气管肺泡灌洗,回收的样本量不低于5 mL,对样本进行实验室传统培养及高通量测序。

### 1.4 mNGS检测与病原培养鉴定

1.4.1 mNGS检测方法与结果判读 临床标本送检华大基因公司(北京),实验检测流程包括:①样本处理(按照标准样本采集流程采集1.5~3 mL患者肺泡灌洗液等标本,取450  $\mu$ L加入11.5  $\mu$ L 1.0%皂素(终浓度为0.025%),充分涡旋混匀15 s后,室温静置5 min,然后加入75  $\mu$ L去宿主反应,充分涡旋混匀15 s后,37  $^{\circ}$ C温浴10 min,将离心管18 000 g离心5 min后,小心吸弃450  $\mu$ L上清,底部约残留70~80  $\mu$ L液体,再向管中加入800  $\mu$ L磷酸缓冲盐溶液,充分吹吸或涡旋震荡混匀,18 000 g离心5 min后,小心吸弃800  $\mu$ L上清底部约残留70~80  $\mu$ L液体。向管中加入370  $\mu$ L Tris-EDTA缓冲液,振荡混匀,加入7.2  $\mu$ L Lyticase溶壁酶(RT410-TA,北京天根生物公司)进行酶破壁反应,后加入250  $\mu$ L 0.5 mm玻璃珠进行物理破壁,混合震荡后取300  $\mu$ L样本);②核酸提取:按照TIANMicrobe磁珠法病原微生物DNA/RNA提取试剂盒(NG550-01,北京天根生物公司)说明书操作步骤进行;③文库构建;④测序(基于BGISEQ-50/MGISEQ-2000测序仪);⑤数据分析:测序所得原始结果首先去除质量低和接头污染的数据,过滤后的数据通过比对BWA(<http://bio-bwa.sourceforge.net/>)去除人参考基因组序列<sup>[9]</sup>,去除低复杂度序列,与华大基因PMDB病原数据库进行比对获得能够匹配到某种病原体的序列数。PMDB(Plant Metabolome Database)数据库涵盖了与人类疾病相关的10 989种细菌,包括196种分枝杆菌和159种支原体/衣原体/立克次体、1 179种真

菌、5 050种病毒及282种寄生虫。病原微生物基因检测软件:鄂械注准20162212303)。

(2)结果判读:细菌(分枝杆菌除外)、病毒、寄生虫检出序列数比其他微生物高出10倍时判定阳性,真菌检出序列数比其他真菌高出5倍时判定阳性<sup>[10-11]</sup>;结核分枝杆菌序列数在种或属水平上至少有1个序列数(reads)与参考基因组一致时判定阳性<sup>[12]</sup>;当传统培养检测到病原菌,且mNGS reads数大于50时,也可认为检测阳性<sup>[13]</sup>。

1.4.2 痰培养与生化鉴定 深咳痰标本送检本院检验科,接种到适宜的培养基(常用LB琼脂培养平板和血琼脂培养平板)培养24~72 h,挑选阳性菌落上机检测(梅里埃生化鉴定仪,法国),依据生化鉴定结果出具培养鉴定报告。临床医师结合病例临床表现,排除背景菌或污染菌可能,判定是否为肺部感染病原体。

1.5 统计学方法 采用SPSS 26.0软件处理数据。对正态分布的计量资料以均数±标准差表示,非正态分布则以中位数(M)和四分位数间距( $P_{25}, P_{75}$ )表示。计数资料以例数、百分率(%)或构成比(%)表示。分类变量组间比较采用 $\chi^2$ 检验,用McNemar检验比较2种检测方法阳性率、灵敏性、特异性的差异,检测结果比较用Kappa一致性检验。非正态分布采用Mann-Whitney U检验比较两组间差异,用Kruskal Wallis H检验分析病原菌序列数之间的差异。双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

2.1.1 人口统计学资料和临床基线数据统计 除年龄外,其他临床特征在肺部感染和非肺部感染组之间差异无统计学意义,见表1。

2.1.2 基础疾病 310例患者中合并高血压98例(31.61%),糖尿病54例(17.42%),冠心病28例(9.03%),脑梗死23例(7.42%),胃炎21例(6.77%),前列腺增生14例(4.52%),颈椎病12例(3.87%),乙型病毒性肝炎10例(3.23%)。

### 2.2 mNGS结果分析

2.2.1 mNGS检出的病原种类分布 由mNGS检出病原的构成可知,mNGS检出率排前3位的细菌分别是铜绿假单胞菌37例(12.00%)、结核分枝杆菌/复合群26例(8.40%)、流感嗜血杆菌25例(8.10%);真菌分别是白色念珠菌27例(8.71%)、耶氏肺孢子菌11例(3.55%)、近平滑念珠菌10例(3.23%)、烟曲霉10例(3.23%);病毒分别是人类疱疹病毒7型45例(14.52%)、人类疱疹病毒4型43例(13.87%)、细环病毒29例(9.35%)。见表2。mNGS检出199例(64.20%)患者同时感染2种及以上的病原体,其中,同时感染2种病原体118例(38.06%)、3种病原体52例(16.78%)、3种以上病原体29例(9.36%)。本研究mNGS对细菌的检出效率最高,对真菌的检出阳性率最低,临床判断时最易解读的是mNGS仅检出1种或一类微生物的数据报告。

2.2.2 细菌、真菌、病毒序列数的差异分析 对主要病原体(细菌、真菌、病毒)序列数进行比较分析,发现检出的序列数并不符合正态分布,用多个独立样本非参数检验得出结论:细菌、真菌、病毒序列数在独立样本Kruskal Wallis H检验上差异有统计学意义( $H = 70.361, P < 0.001$ )。再将其进行两两比较,得出:细菌-真菌( $H = 51.656, P = 0.008$ )、细菌-病毒( $H = 120.690, P < 0.001$ )、真菌-病毒( $H = 69.035, P < 0.001$ ),求其中位数,细菌(180.00) > 真菌(62.50) > 病毒(13.00)。细菌序列数高于真菌、病毒序列数。

2.3 分析比较mNGS与实验室传统培养病原检测结果 mNGS检出病原体数量及种类高于实验室传统培养,可以检测出实验室传统培养未检测出的支原体、衣原体和病毒(图1)。实验室传统培养所检测的最常见的细菌依次为铜绿假单胞菌18例(5.81%),肺炎克雷伯菌11例(3.55%),大肠杆菌5例(1.61%),真菌依次为念珠菌18例(5.81%),曲霉菌17例(5.50%),酵母样真菌孢子5例(1.61%)。与之类似,mNGS检测最常见的细菌也是铜绿假单胞菌(37例,

表1 310例肺部感染和非肺部感染患者的人口统计学特征

Table 1 Demographic characteristics of 310 patients with pulmonary infection and non-pulmonary infection

特征 Characteristic	肺部感染 Pulmonary infection	非肺部感染 Non-pulmonary infection	$Z/\chi^2$	$P$
年龄/岁 Age/Years	63(50.00, 72.00)*	52(37.00, 65.25)*	-3.177	0.001
炎症指标 Inflammation index				
白细胞 Leukocyte/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	7.30(5.50, 9.81)*	6.20(5.10, 9.73)*	-0.860	0.390
中性粒细胞百分率 Percentage of neutrophils/%	72.45(63.43, 82.27)*	73.55(61.20, 81.03)*	-0.359	0.719
C反应蛋白 C reactive protein/( $mg \cdot L^{-1}$ )	21.96(2.56, 80.83)*	15.84(1.39, 105.75)*	-0.328	0.743
性别 Gender				
男性 Male	148(56.06)#	20(43.50)#	2.498	0.114
女性 Woman	116(43.94)#	26(56.50)#		

注:\*( )为 $M(P_{25}, P_{75})$ ;#.( )内为构成比/%。Note:\*( ) is  $M(P_{25}, P_{75})$ . #. Percent is in ( )/%.



12.00%), 检出的真菌最多的也是白色念珠菌(27例, 8.71%), 两种方法的一致性分析见表3。

在比较分析 mNGS 与实验室传统培养方法中发现, mNGS 检出阳性率(88.40%)高于实验室传统培养(29.70%)两者差异有统计学意义( $\chi^2=162.373, P<0.001$ ), 其中 81 例 mNGS 和实验室传统培养结果均为阳性, 25 例均为阴性, 193 例仅 mNGS 检测阳性, 11 例仅实验室传统培养检测阳性, 2 种方法检测结果一致性比较  $Kappa=-0.003, P=0.902$ , 见表3。

表 2 mNGS 检出病原的构成

Table 2 Composition of pathogens detected by mNGS

病原体 Pathogen	例数 n(构成比 Proportion%)
细菌 Bacteria	
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37(12.00)
结核分枝杆菌/复合群 <i>Mycobacterium tuberculosis/complex</i>	26(8.40)
流感嗜血杆菌 <i>Haemophilus influenzae</i>	25(8.10)
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	20(6.45)
肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	17(5.48)
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11(3.55)
其他 Other	96(30.86)
阴性 Negative	78(25.16)
真菌 Fungi	
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	27(8.71)
耶氏肺孢子菌 <i>Pneumocystis jirovecii</i>	11(3.55)
近平滑念珠菌 <i>Candida parapsilosis</i>	10(3.23)
烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>	10(3.23)
热带念珠菌 <i>Candida tropicalis</i>	6(1.94)
构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i>	5(1.61)
其他 Other	27(8.71)
阴性 Negative	214(69.02)
病毒 Virus	
人类疱疹病毒 7 型 Human herpesvirus 7	45(14.52)
人类疱疹病毒 4 型 Human herpesvirus 4	43(13.87)
细环病毒 Torque teno virus	29(9.35)
人类疱疹病毒 1 型 Human herpesvirus 1	23(7.42)
其他 Other	24(7.74)
阴性 Negative	146(47.10)

将 310 例患者分为肺部感染(264 例)与非肺部感染(46 例), 比较 mNGS 与实验室传统培养对肺部感染病原检出率(表 4), mNGS 的灵敏性、特异性、ACC、PPV、NPV 分别为 91.29%、28.26%、81.94%、87.96%、36.11%, 传统培养分别为 30.30%、73.91%、36.77%、

86.96%、15.60%。2 种方法灵敏性、特异性比较, 结果显示 2 种方法间的灵敏性和特异性差异显著(91.29% vs. 30.30%,  $\chi^2=148.120, P<0.001$ ; 28.26% vs. 73.91%,  $\chi^2=13.793, P<0.001$ )。见表 5、6。

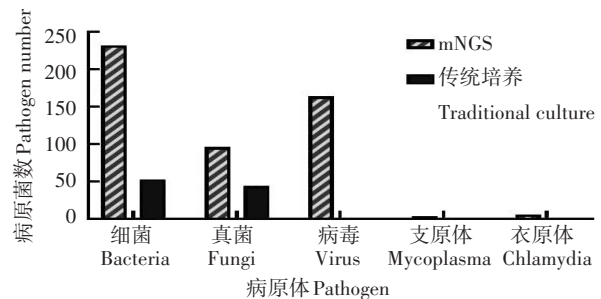


图 1 宏基因组二代测序与实验室传统培养病原检测比较

Fig. 1 Comparison on pathogen detection between mNGS and traditional culture

表 3 宏基因组二代测序与传统培养方法的一致性分析

Table 3 Comparison of consistency between mNGS and traditional culture

传统培养 Traditional culture	宏基因组二代测序 mNGS		总计 Total
	阳性 Positive	阴性 Negative	
阳性 Positive	81	11	92
阴性 Negative	193	25	218
总计 Total	274	36	310

表 4 宏基因组二代测序与传统培养方法对肺部感染病原检出率的比较

Table 4 Comparison on detection rates of pathogens between mNGS and traditional culture in pulmonary infection

方法 Method	肺部感染 Pulmonary infection		总计 Total
	阳性 Positive	阴性 Negative	
宏基因组二代测序 mNGS			
阳性 Positive	241	33	274
阴性 Negative	23	13	36
传统培养 Traditional culture			
阳性 Positive	80	12	92
阴性 Negative	184	34	218

表 5 宏基因组二代测序与传统培养方法间灵敏性比较

Table 5 Comparison of sensitivity between mNGS and traditional culture

传统培养 Traditional culture	宏基因组二代测序 mNGS		合计 Total
	阳性 Positive	阴性 Negative	
阳性 Positive	73	7	80
阴性 Negative	168	16	184
合计 Total	241	23	264

**表 6 宏基因组二代测序与传统培养方法间特异性的比较****Table 6 Comparison of specificity between mNGS and traditional culture**

传统培养 Traditional culture	宏基因组二代测序 mNGS		合计 Total
	阳性 Positive	阴性 Negative	
阳性 Positive	8	4	12
阴性 Negative	25	9	34
合计 Total	33	13	46

### 3 讨论

肺部感染是呼吸科最常见的一类可迅速进展、死亡率高的感染性疾病,对于老年人和有基础疾病患者尤为如此,严重威胁着人民群众的生命健康安全。目前对于肺部感染性疾病的治疗仍以经验性抗感染为主,主要原因是实验室传统鉴定方法的迟滞性,由此导致特殊病原菌的漏诊、抗生素滥用引发的不良反应、联合用药导致的微生态失衡等风险会导致经验抗感染治疗的失败,降低临床抗感染疗效。因此,早期快速识别下呼吸道感染的病原体对于临床抗感染决策和降低病死率至关重要<sup>[14-15]</sup>。

实验室传统培养是感染性疾病诊断的金标准。2014年《新英格兰医学杂志》(The New England Journal of Medicine)报道了应用mNGS高效诊断出1例钩端螺旋体导致的神经系统感染,标志着mNGS应用于临床微生物检测的开始<sup>[16]</sup>。随着近些年基于二代测序技术的宏基因组学的发展,mNGS高通量检测应用于临床病原学诊断的可及性日益提高,呈现出了广阔的应用前景<sup>[17]</sup>。研究表明mNGS检出阳性率和检测速度较培养法均占优势<sup>[18]</sup>。尤其是对于感染病程长、常规检测持续阴性、经验性抗感染治疗效果差的案例,mNGS往往可以提供更多的诊断信息,且不易受抗生素暴露的影响。mNGS还可以辅助提示微生物耐药趋势、反映菌株毒力和发现新病原体<sup>[19]</sup>。此外,研究表明mNGS在检测混合性感染中占有明显的优势<sup>[20]</sup>。mNGS不仅能同时检测和识别多种病原体,还能快速准确地提供病原鉴定及分型结果,为临床提供诊断依据<sup>[21]</sup>。同时,mNGS具有极好的阴性排除价值,能指导抗感染药物的合理使用和及时停药。在实验室传统培养检测能力不足的医疗机构,甚至可以考虑将第三方mNGS检测作为传统实验室培养的替代手段<sup>[22]</sup>。

本研究中,比较mNGS和实验室传统培养在鉴定支气管镜肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中细菌和真菌感染中的诊断价值。分析mNGS

检出的支气管镜肺泡灌洗液的病原构成时发现,最常见的细菌是铜绿假单胞菌,这与先前研究结果一致<sup>[23]</sup>,最常见的真菌是白色念珠菌,并且64.20%占比的BALF中可检出2种及以上病原体,反映出下呼吸道感染中混合感染的情形较多见。比较分析提示mNGS在检测病原体阳性率、灵敏性较实验室传统培养检测技术占优势,这与先前研究报道的结果一致<sup>[24]</sup>。但对于特异性而言,本研究中mNGS的特异性低于实验室传统培养,原因可能是回顾性分析的样本选择存在较大偏移,非BALF的临床样本少,以及mNGS存在的假阳性所致。且mNGS与实验室传统培养检测缺乏良好的一致性,mNGS较实验室传统培养可检出的病原菌种类更多,包括罕见菌、不典型或难培养菌。

本研究也有不足之处,一是临床回顾性研究中很难避免的选择偏倚,一些经验性抗感染效果不佳的患者可能更倾向于接受mNGS检测;二是mNGS检测费用导致的可及性问题,BALF标本中大部分仅解析了DNA序列,而未作RNA分析,存在漏检RNA病毒的问题;三是下呼吸道感染性疾病的异质性导致的诊断方法不规范和数据不完善的问题,致使无法全面比较mNGS与包括分子生物学、血清学检测方法在内的传统实验室诊断效能,后续设计前瞻性的临床试验需要将其纳入研究分析中;四是肺部感染异质性高和病原类型复杂,需要进一步扩大临床样本量,进行亚组分析,以给出更具体的临床诊断方法的指导。

综合文献、专家共识和本研究的结果,可以看出mNGS的临床应用仍有很多局限和需关注的问题:(1)标本质量:mNGS无法明确区分呼吸道定植菌、背景菌与致病菌,因而在操作、采集或者运输标本的途中,应严格无菌操作,尽量减少宿主基因组干扰或污染的情形,提高样本的质量<sup>[15, 25]</sup>;(2)报告解读:序列数低、病原构成明显异常的结果判读时仍需十分谨慎,充分结合临床表现,避免依赖或罔顾测序结果,依据临床抗感染治疗效果动态评估,必要时复查mNGS<sup>[26]</sup>;(3)质控问题:目前mNGS的实验室间合作机制不健全,检测流程和生信分析还缺乏统一的标准和规范,有待大样本的临床试验验证和回顾研究评估<sup>[27]</sup>;(4)可及性:与传统实验室培养相比,mNGS花费高,mNGS检测的应用存在经济制约。但总体来说,与实验室传统培养相比,mNGS更有利于复杂未知感染的早期诊断和精准治疗,推动几十年来的经验性抗感染的模式转向精准化和个性化诊疗,增进人民群众健康福祉。

**伦理审查与知情同意** 本研究获得中国人民解放军中部战区总医院医学伦理委员会批准(伦理批准号为[2023]050-01),患者基本信息的采集和各项检测、治疗均不涉及受检者或其家属的知情同意

**利益冲突声明** 所有作者声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [ 1 ] 赵泽玉, 王慧. 宏基因组二代测序在肺部感染诊断中的应用与挑战[J]. 华西医学, 2022, 37(8): 1231-1237.  
ZHAO Z Y, WANG H. Application and challenge of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of pulmonary infection [J]. West China Med J, 2022, 37(8): 1231-1237.(in Chinese)
- [ 2 ] MAGILL S S, EDWARDS J R, BAMBERG W, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections[J]. N Engl J Med, 2014, 370(13): 1198-1208.
- [ 3 ] DIB R W, HACHEM R Y, CHAFTARI A M, et al. Treating invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy: diagnostic-driven approach versus empiric therapies[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 656.
- [ 4 ] EWIG S, TORRES A, ANGELES MARCOS M, et al. Factors associated with unknown aetiology in patients with community-acquired pneumonia[J]. Eur Respir J, 2002, 20(5): 1254-1262.
- [ 5 ] HUANG J, JIANG E L, YANG D L, et al. Metagenomic next-generation sequencing versus traditional pathogen detection in the diagnosis of peripheral pulmonary infectious lesions[J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 567-576.
- [ 6 ] 《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.
- [ 7 ] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组. 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, 28(2): 151-155.
- [ 8 ] 葛均波, 徐永健. 内科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013. P42.
- [ 9 ] LI H, DURBIN R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform[J]. Bioinformatics, 2009, 25(14): 1754-1760.
- [ 10 ] 吴昊, 程海林, 方玉林, 等. 宏基因组二代测序技术在重症肺炎病原学诊断中的应用价值[J]. 新疆医科大学学报, 2022, 45(11): 1301-1305.  
WU H, CHENG H L, FANG Y L, et al. Application value of metagenomic next generation sequencing technology in etiological diagnosis of severe pneumonia[J]. J Xinjiang Med Univ, 2022, 45(11): 1301-1305.(in Chinese)
- [ 11 ] 吴娜, 李永霞. mNGS在肺部感染中的诊断标准及标本选择研究进展[J]. 中国老年保健医学, 2021, 19(5): 122-124.  
WU N, LI Y X. Research progress on diagnostic criteria and specimen selection of mNGS in pulmonary infection[J]. Chin J Geriatr Care, 2021, 19(5): 122-124.(in Chinese)
- [ 12 ] MIAO Q, MA Y Y, WANG Q 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.
- [ 13 ] LI H N, 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.
- [ 14 ] 周茂旗, 李兴明, 王宪刚, 等. mNGS应用于肺部感染患者病原学检测中的研究进展[J]. 中国现代医生, 2022, 60(23): 115-117, 121.  
ZHOU M Q, LI X M, WANG X G, et al. Research progress of mNGS in pathogenic detection of patients with pulmonary infection[J]. China Mod Dr, 2022, 60(23): 115-117, 121.(in Chinese)
- [ 15 ] YUE R M, WU X X, LI T L, et al. Early detection of Legionella pneumophila and Aspergillus by mNGS in a critically ill patient with Legionella pneumonia after extracorporeal membrane oxygenation treatment: case report and literature review[J]. Front Med, 2021, 8: 686512.
- [ 16 ] WILSON M R, NACCACHE S N, SAMAYOA E, et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing[J]. N Engl J Med, 2014, 370(25): 2408-2417.
- [ 17 ] ZHANG P, CHEN Y, LI S Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the clinical diagnosis and prognosis of acute respiratory distress syndrome caused by severe pneumonia: a retrospective study [J]. PeerJ, 2020, 8: e9623.
- [ 18 ] ZHANG H C, AI J W, CUI P, et al. Incremental value of metagenomic next generation sequencing for the diagnosis of suspected focal infection in adults[J]. J Infect, 2019, 79(5): 419-425.
- [ 19 ] HUANG W H, YIN C H, WANG G Q, et al. Optimizing a metatranscriptomic next-generation sequencing protocol for bronchoalveolar lavage diagnostics[J]. J Mol Diagn, 2019, 21(2): 251-261.
- [ 20 ] PAN T T, TAN R M, QU H P, et al. Next-generation sequencing of the BALF in the diagnosis of community-acquired pneumonia in immunocompromised patients[J]. J Infect, 2019, 79(1): 61-74.
- [ 21 ] 谢燕君, 卢健聪, 叶凯, 等. 宏基因组二代测序在肺部非典型病原体感染中的应用[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(22): 3065-3068.  
XIE Y J, LU J C, YE K, et al. Application of metagenome second-generation sequencing in pulmonary atypical pathogen infection[J]. Lab Med Clin, 2022, 19(22): 3065-3068.(in Chinese)
- [ 22 ] 中华医学会呼吸病学分会. 下呼吸道感染宏基因组二代测序报告临床解读路径专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2023, 46(4): 322-335.
- [ 23 ] LIU N N, KAN J Y, CAO W B, et al. Metagenomic next-generation sequencing diagnosis of peripheral pulmonary infectious lesions through virtual navigation, radial EBUS, ultrathin bronchoscopy, and ROSE[J]. J Int Med Res, 2019, 47(10): 4878-4885.
- [ 24 ] 张惠民, 米婷, 范亚莉, 等. 宏基因组二代测序在急重症下呼吸道感染性疾病诊断中的应用价值[J]. 山西医药杂志, 2022, 51(15): 1683-1686.  
ZHANG H M, MI T, FAN Y L, et al. Application value of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of acute and severe lower respiratory tract infectious diseases[J]. Shanxi Med J,



- 2022, 51(15): 1683-1686.(in Chinese)
- [25] 张娟娟, 闫晓培, 李宁. 宏基因组二代测序在社区获得性肺炎中的应用价值[J]. 医学研究杂志, 2022, 51(12): 96-99.  
ZHANG J J, YAN X P, LI N. Value of metagenomic next-generation sequencing in detection of pathogens in adults with community-acquired pneumonia[J]. J Med Res, 2022, 51(12): 96-99.(in Chinese)
- [26] 王慧林, 刘雪. 宏基因组学二代测序技术在感染性呼吸系统疾病病原体诊断中的应用进展[J]. 微生物与感染, 2021, 16(2): 117-122.  
WANG H L, LIU X. Application progress of metagenomics technology based next-generation sequencing platform in the diagnosis of infectious respiratory diseases pathogens[J]. J Microbes Infect, 2021, 16(2): 117-122.(in Chinese)
- [27] 戴媛媛, 马筱玲. 宏基因组二代测序技术在临床病原学诊断中的应用[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(1): 1-5.  
DAI Y Y, MA X L. Application of metagenome second-generation sequencing technology in clinical etiological diagnosis[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2021, 39(1): 1-5.(in Chinese)
- 收稿日期:2023-05-22 编辑:邢翀 朱学义
- 
- (上接第1168页)
- nant and lying-in women death cases in Haikou, 2010-2020[J]. China Trop Med, 2021, 21(11): 1052-1055.(in Chinese)
- [12] 汤榕, 李相荣, 冯天义. 2005-2014年孕产妇死亡率变化趋势及影响因素分析[J]. 中国卫生事业管理, 2018, 35(9): 710-712.
- [13] 杨东晓, 梁士杰. 新疆2005-2015年孕产妇死亡率趋势分析[J]. 中国卫生统计, 2017, 34(4): 688.  
YANG D X, LIANG S J. Trend analysis of maternal mortality in Xinjiang from 2005 to 2015[J]. Chin J Health Stat, 2017, 34(4): 688.(in Chinese)
- [14] 蒲杰. 我国孕产妇死因构成的变迁[J]. 实用妇产科杂志, 2021, 37(3): 161-165.
- [15] 马琼, 焦嘉慧, 王宝珠, 等. 2010-2019年陕西省孕产妇死亡相关性分析及预测[J]. 华南预防医学, 2022, 48(11): 1310-1313, 1318.  
MA Q, JIAO J H, WANG B Z, et al. Correlation analysis and prediction of maternal death in Shaanxi Province from 2010 to 2019[J]. South China J Prev Med, 2022, 48(11): 1310-1313, 1318.(in Chinese)
- [16] 全紫薇, 刘晓曦. 健康中国背景下我国孕产妇健康状况的改善、面临的挑战及相关举措[J]. 医学研究杂志, 2021, 50(12): 5-8.  
QUAN Z W, LIU X X. The improvement, challenges and related measures of maternal health in China under the background of healthy China[J]. J Med Res, 2021, 50(12): 5-8.(in Chinese)
- [17] 吴鸿雁, 刘阳, 么佳玉, 等. 妊娠风险预警评估管理模式在高危妊娠孕妇中的效果分析[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(23): 77-79.  
WU H Y, LIU Y, YAO J Y, et al. Efficiency analysis of risk warning evaluation management model for high risk pregnant women[J]. J Clin Med Pract, 2022, 26(23): 77-79.(in Chinese)
- [18] 陈敦金, 贺芳. 中国孕产妇死亡率极大程度降低: 对世界的最大贡献[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35(10): 1076-1080.  
CHEN D J, HE F. The maternal mortality rate in China has been greatly reduced-the greatest contribution to the world[J]. Chin J Pract Gynecol Obstet, 2019, 35(10): 1076-1080.(in Chinese)
- [19] 朱伟勇, 谢蝶兰, 张旋, 等. 深圳龙岗区孕产夫妇地中海贫血筛查及干预状况分析[J]. 中国热带医学, 2019, 19(1): 93-96.  
ZHU W Y, XIE D L, ZHANG X, et al. Screening results and intervention status of thalassemia in pre-pregnancy couples in Longgang District, Shenzhen[J]. China Trop Med, 2019, 19(1): 93-96.(in Chinese)
- [20] 孙慧彦, 于杰霖, 王清民, 等. 海南省2017-2018年育龄夫妇孕前健康检查结果分析[J]. 中国热带医学, 2020, 20(1): 56-60.  
SUN H Y, YU J B, WANG Q M, et al. Health examination results of pre-pregnancy eugenics of couples of childbearing age in Hainan, 2017-2018[J]. China Trop Med, 2020, 20(1): 56-60.(in Chinese)
- [21] 朱丽均, 朱丽萍. 早期妊娠安全隐患及管理策略[J]. 中国计划生育和妇产科, 2022, 14(4): 19-22.  
ZHU L J, ZHU L P. Hidden dangers of early pregnancy and management strategies[J]. Chin J Fam Plan Gynecotokol, 2022, 14(4): 19-22.(in Chinese)
- [22] 吴淼, 刘倩, 杨雷, 等. 新疆地区孕产妇死亡率变化趋势及影响因素分析[J]. 中国数字医学, 2019, 14(7): 103-106.  
MIAO W, QIAN L, LEI Y, et al. Analysis on the change trend and influencing factors of maternal mortality rate in Xinjiang[J]. China Digit Med, 2019, 14(7): 103-106.(in Chinese)
- [23] 彭鸣明, 帅志容, 李彦霖, 等. 2016-2020年四川省直接产科原因死亡孕产妇病例分析[J]. 中国生育健康杂志, 2023, 34(1): 78-82.  
PENG M M, SHUAI Z R, LI Y L, et al. Analysis of maternal deaths caused by direct obstetric causes in Sichuan Province from 2016 to 2020[J]. Chin J Reproductive Health, 2023, 34(1): 78-82.(in Chinese)
- 收稿日期:2023-06-27 编辑:符式刚