

DOI:10.13350/j.cjpb.220515

• 临床研究 •

基于 ICU 可疑感染患者探讨 mNGS 与传统病原学检测的相关性研究*

李群,董晨明**,张芳,鲍英存,刘美,马玉梅,袁琪茜,杨晓玲,张官文

(兰州大学第二医院,甘肃兰州 730000)

【摘要】 **目的** 对可疑感染患者同时进行宏基因组二代测序(Metagenomics Next Generation Sequencing, mNGS)与传统病原学检测,对比检测结果并评估其异同点,为指导治疗和改善抗生素管理提供新的诊断证据和思路。 **方法** 回顾性收集 2018 年 7 月至 2020 年 8 月兰州大学第二医院重症监护病房(ICU)内可疑感染患者电子病历系统信息、mNGS 及传统病原学结果、药物、合并疾病、治疗效果等资料,根据检测方法分为 mNGS 组和传统病原组,由于传统培养可培养出细菌和真菌,传统病原组进一步根据是否行培养分为细菌组和非细菌组。根据结果评估 mNGS 与传统病原学结果的差异、病原体的一致性、mNGS 结果报告后是否调整治疗以及其治疗效果。 **结果** 剔除排除标准后共纳入 90 例可疑感染患者,符合可疑感染诊断标准的患者的 7 d、28 d、院内死亡率分别为 13.3%、14.4% 和 27.8%。患者感染部位最多见于肺部感染(87.8%),mNGS 与传统病原组结果均显示细菌最多(43.3%、52.2%),其中,鲍曼不动杆菌(25.6%)、铜绿假单胞菌(10.0%)、肺炎克雷伯菌(6.7%)较为常见,其次为病毒(40%、12.2%),真菌(23.3%、17.8%),分枝杆菌(13.3%、21.1%),立克次体(3.3%、0.0%),寄生虫(2.2%、0.0%),支原体(1.1%、2.2%)。mNGS 组与传统病原组(结合外送检查、影像学检查等)病原体阳性检出率均为 70%,传统病原组中细菌组阳性率为 51.1%。两组病原体一致性 46.7%。mNGS 组在检测细菌、真菌、分枝杆菌与传统病原组结果基本一致,而在检测病毒方面结果具有明显差异。进一步分析可见 mNGS 组在检测病毒方面比传统病原组具有优越性(Kappa 检验, $P < 0.05$)。预后分析发现,机械通气影响 7 d、28 d 以及院内死亡率,而且影响细菌组以及 mNGS 组培养结果。 **结论** 本研究通过对比传统病原学检测结果,证实 mNGS 不仅具有一致性,在敏感性上更具有显著优势,mNGS 在检测病毒方面比传统组具有优越性。预后分析发现机械通气是 7 d、28 d 以及院内死亡率,细菌组以及 mNGS 组培养结果的危险因素。

【关键词】 可疑感染;宏基因组二代基因测序;传统病原学;重症监护病房(ICU)

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)05-0568-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 May;17(5):568-573.]

Study on the correlation between mNGS and traditional pathogen detection based on suspected infected patients in ICU

LI Qun, DONG Chen-ming, ZHANG Fang, BAO Ying-cun, LIU Mei, MA Yu-mei, YUAN Qi-xi, YANG Xiao-ling, ZHANG Guan-wen (*Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730000, China*)***

【Abstract】 **Objective** In this study, detect to mNGS and traditional pathogens and compare to the two results simultaneously in patients with suspected infection. In order to guide treatment and improve antibiotic management, and provide new diagnostic evidence and ideas. **Methods** Collecting the electronic medical information, mNGS and traditional etiology results, drugs, comorbid diseases and treatment effect of patients with suspected infection in the intensive care unit (ICU) of the second hospital of Lanzhou University in Gansu Province from July 2018 to August 2020. According to the detection methods, they were divided into mNGS group and traditional pathogen group. Because bacteria and fungi could be cultured in traditional culture, the traditional pathogen group was further divided into bacterial group and non bacterial group. Evaluation based on results the difference between mNGS and traditional etiological results, the consistency of pathogens, whether the treatment was adjusted and the therapeutic effect. **Results** A total of 90 patients with suspected infection were included after the exclusion criteria, and the 7-day, 28-day and in-hospital mortality of the patients with suspected infection were 13.3%, 14.4% and 27.8%, respectively. The most common site of infection was pulmonary infection (87.8%), the results of mngs and traditional pathogen group showed that the bacteria were the most

* **【基金项目】** 甘肃省中医药管理局项目(No. GZKG-2020-47);甘肃省青年科技基金计划项目(No. 20JR10RA761, 21JR1RA159);兰州大学第二医院“萃英科技创新”计划项目(No. CY-2018-BJ14)。

** **【通讯作者】** 董晨明, E-mail: ery_dongchm@lzu.edu.cn

【作者简介】 李群(1987-),男,安徽安庆人,硕士研究生,主治医师。研究方向:重症康复。E-mail:ksoc1621@21cn.com

(43.3%, 52.2%)。Among them, *Acinetobacter baumannii* (25.6%), *Pseudomonas aeruginosa* (10.0%), *Klebsiella pneumoniae* (6.7%) were more common, followed by viruses (40%, 12.2%), fungi (23.3%, 17.8%), *Mycobacterium* (13.3%, 21.1%), rickettsia (3.3%, 0.0%), parasites (2.2%, 0.0%), and bronchiolitis (1%, 2.2%)。The positive rate of pathogens in mNGS group and traditional pathogen group (combined external examination with imaging examination) was 70%, and the positive rate of bacteria group in traditional pathogen group was 51.1%。The coincidence rate of pathogens in the two groups was 46.7%。The detection results of bacteria, fungi and mycobacteria in mNGS group were basically the same as those in traditional pathogen group, but there were significant differences in the detection results of virus。Further analysis showed that mNGS group was superior to traditional pathogen group in virus detection (kappa test, $P < 0.05$)。Prognosis analysis found that mechanical ventilation affects the 7day, 28 day and hospital mortality, and also affects the culture results of bacteria group and mNGS group。**Conclusion** Compared to results above, It was confirmed that mNGS had consistency and significant advantage in sensitivity。Meanwhile, mNGS had superiority over the traditional group in virus detection。Prognosis analysis found that mechanical ventilation was a risk factor for 7day, 28day and in-hospital mortality, as well as the culture results of bacteria group and mNGS group

【Key words】 suspected infection; next generation sequencing; metagenomics next generation sequencing; traditional etiology

二代基因测序 (Next Generation Sequencing, NGS) 也称为高通量测序或大规模并行测序, 是一种允许数千到数十亿个 DNA 片段同时独立测序的技术, NGS 在临床微生物检测中的应用是多种多样的, 包括宏基因组二代测序 (Metagenomics Next Generation Sequencing, mNGS)^[1]。宏基因组鸟枪测序法是一种使用二代测序技术提取和测序样本中所有核酸的方法, 然后将得到的序列用于识别样本中存在的生物体^[2]。2014 年 mNGS 首次用于临床感染者的病原学诊断, 2018 年被写入中国院内获得性肺炎 (HAP) 和呼吸机相关性肺炎 (VAP) 诊断和治疗指南, 2019 年在急危重症感染应用的首个专家共识—《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》^[3] 上发布, 后制定了相关规范并于《高通量测序技术临床检测规范化应用北京专家共识 (第一版通用部分)》^[4] 上发表, 2020 年 5 月, 宏基因组学测序技术被应用入《宏基因组学测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识 (第一版)》^[5]。据统计, 约 70% 的感染性疾病患者因传统检测方法无法确定病原体信息, 不能得到及时有效地救治, 从而使病情恶化。因此, 快速、特异且高通量的病原体检测方法—mNGS 对有效诊断和及时防治感染性疾病具有重要的意义, mNGS 可能是解决临床感染问题的最后手段。本研究探讨了 mNGS 与传统病原学诊断两种方法对重症监护病房 (ICU) 内重症可疑感染患者诊断、治疗和预后的影响。

材料与方 法

1 研究对象

收集 2018 年 7 月至 2020 年 8 月兰州大学第二医院重症监护病房 (ICU) 内诊断为可疑感染患者电子病历系统信息、mNGS 及传统病原学结果、药物、合并疾病、治疗效果等资料, 根据检测方法分为 mNGS 组和

传统病原组, 由于传统培养可培养出细菌和真菌, 传统病原组进一步根据是否行培养分为细菌组和非细菌组。根据结果评估 mNGS 与传统病原学结果的差异、病原体的一致性、mNGS 结果报告后是否调整治疗以及其治疗效果。

2 入选标准

可疑感染诊断标准: 所有可疑感染的发生被确定为特定时间内抗生素和培养的早期使用^[6]。如果先给抗生素, 培养取样须在 24 h 内获得; 如果先行培养取样, 抗生素必须在 72 h 内给药^[7-9]。纳入同时行 mNGS 和传统病原学检测 (传统病原学检测包括: 涂片镜检、血清学、生化、免疫学、微生物培养、外送病原学检测等) 的可疑感染患者, 传统病原学检测的部分最终结果可结合影像学辅助检查确诊。

3 排除标准

排除年龄 < 16 岁、住院时间 < 24 h、不符合可疑感染定义者、缺失资料。

4 方法

告知患者病情获得知情同意并签署知情同意书, 同意后方进行标本采集, 送检标本至予果生物科技有限公司运用 Illumina 测序技术结合微阵列技术和专有的可逆终止子技术进行大规模平行的边合成边测序, 结合 Illumina 的开源数据分析软件以及第三方软件, 实现从图像捕获、可视化展示到生物学意义的分析。按照核酸提取、测序文库构建、序列测定、序列分析 (覆盖检测细菌、真菌、病毒、结核分枝杆菌及非结核分枝杆菌、寄生虫、螺旋体、支原体、衣原体、立克次氏体 9 类病原体, 总计 20 733 种 DNA 类及 3 210 种 RNA 类病原体。其中, 细菌 11 808 种, 真菌 1 046 种, 病毒 7 103 种, 结核分枝杆菌 219 种, 寄生虫 305 种, 螺旋体 102 种, 支原体 85 种)、对比数据库进行报告撰写、根据其鉴定水平进行信息解读的流程进行, 送检标

本(脑脊液、血液、肺泡灌洗液、无菌体液、组织等)严格按照指南要求进行。然后评估 mNGS 与传统病原学结果的差异、病原体的一致性、mNGS 结果报告后是否调整治疗以及其治疗效果,并对其进行单因素、多因素分析。病原体一致性判断标准:若 mNGS 与传统病原学的微生物结果有重叠,便认为病原体具有一致。主要观察指标:院内死亡率、7 d 死亡率、28 d 死亡率、ICU 住院时间、院内住院时间、是否有创操作(机械通气、CRRT、有创血压等)、机械通气时间、入院后合并疾病、药物使用、病原体检出情况、感染部位、病原菌是否为定值菌(在体内定植、繁殖引起疾病)、污染菌以及致病菌。次要观察指标:性别、年龄、身高、体重、意识、ICU 类型、既往病史。

5 统计学处理

本研究采用 SPSS25.0 软件进行数据处理及分析,检验数据是否符合正态、方差齐性检验分布,计量资料为正态分布时采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较若方差齐采用 t 检验,方差不齐采用校正 t 检验;计量资料不符合正态分布采用中位数(M)或四分位数间距(IQR)表示,非正态连续型变量组间比较采用 Mann-Whitney U 检验(两组)或 Kruskal-Wallis H 检验(多组);计数资料组间比较根据其数据类型采用 χ^2 检验或者 Fisher 确切概率法或者 McNemar 检验,一致性检验用 kappa 检验。通过皮尔逊卡方检验对幸存者和非幸存者等进行单因素分析,根据其结果进一步筛选变量进行二元 Logistic 以确定影响生存率以及 mNGS 组、传统病原组以及细菌组的因素。所有检验均为双侧检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 纳入病例

收集 2018 年 7 月至 2020 年 8 月兰州大学第二医院重症监护病房(ICU)内诊断为可疑感染患者电子病历系统信息、mNGS 及传统病原学结果、药物、合并疾病、治疗效果等资料,剔除不符合可疑感染 2 例,剔除年龄 <16 岁 4 例,剔除住院时间 <24 h 1 例后,最终纳入 90 例。

2 符合可疑感染诊断标准的患者一般临床资料

根据统计学结果显示,符合可疑感染诊断标准的患者的 7 d、28 d、院内死亡率分别为 13.3%、14.4% 和 27.8%。患者感染部位最多见于肺部感染(87.8%)。与女性相比,男性的平均 ICU 住院时间($12\pm 8, 14\pm 13, P=0.000$)、院内总住院时间更长($20\pm 12, 21\pm 19, P=0.000$),而女性机械通气时间多于男性(230 h, 168 h, $P=0.000$)。

3 入院后合并疾病方面

患者入院后合并肺部感染发生率最高(76 例, 84.4%),其次为合并胸腔积液(39 例, 43.3%),合并呼吸衰竭 24 例(26.7%),合并肝损伤 18 例(20%),合并休克、电解质紊乱 17 例(18.9%),合并腹腔积液 9 例(10%),合并肾损伤、ARDS 8 例(8.9%),合并心衰 7 例(7.8%),合并气胸、心律失常 6 例(6.7%),合并凝血功能异常 4 例(4.4%),合并心脏骤停 3 例(3.3%),合并肺不张 2 例(2.2%),合并应激性溃疡 1 例(1.1%)。

4 药物使用方面

抗感染药物中抗细菌药使用最多(87 例, 96.7%),其次为抗病毒药 66 例(73.3%)、抗真菌药 36 例(40%)、抗结核药 21 例(23.3%),抗寄生虫药仅 1 例(1.1%);抗细菌药物使用频率: β -内酰胺类 $>$ 多肽类或喹诺酮类 $>$ 氨基糖苷类或恶唑烷酮类 $>$ 四环素类 $>$ 磺胺类 $>$ 硝基咪唑类 $>$ 大环内酯类 $>$ 环脂肽类或林可霉素类;使用血管活性药物 23 例(25.6%);使用免疫抑制剂 5 例(5.6%)。

5 病原体方面

5.1 送检标本分布方面 mNGS 组与传统病原组送检标本中脑脊液最多(70%、60%),其次为肺泡灌洗液+冲洗液+引流液(27.7%、15.5%)、血(18.9%、52.2%)、痰(0.0%、58.9%)、导管尖端或咽拭子(0.0%、8.9%)、粪(0.0%、2.2%)。

5.2 病原体阳性检出率方面 mNGS 组与传统病原组(结合外送检查、影像学检查等)病原体阳性检出率均为 70%,传统病原组中细菌组阳性率为 51.1%。两组病原体一致率:46.7%,根据结果以及患者临床治疗效果分析,污染菌占 12.2%,定值菌占 8.9%,致病菌占 43.3%。根据粪便涂片结果提示,有 9 例存在菌群失调(根据菌群种类、数量和比例确定),其中,有 6 例同时为致病菌,有 3 例同时为定值菌,4 例同时为污染菌。

5.3 菌群分布方面 mNGS 与传统病原组结果均显示细菌最多(43.3%、52.2%),其中革兰阴性菌(31.1%、32.2%) $>$ 革兰阳性菌(12.2%、20.0%),革兰阴性菌中鲍曼不动杆菌(25.6%)、铜绿假单胞菌(10.0%)、肺炎克雷伯菌(6.7%) $>$ 大肠埃希菌(2.2%)较为常见。其次为病毒(40%、12.2%),真菌(23.3%、17.8%),分枝杆菌(13.3%、21.1%),立克次体(3.3%、0.0%),寄生虫(2.2%、0.0%),支原体(1.1%、2.2%)。

5.4 调整治疗以及治疗效果方面 mNGS 检测后 37.8% 的患者调整治疗,治疗结果显示,有 67.8% 好转,26.7% 自动出院,4.4% 最终死亡、1.1% 转至定点医院。

5.5 mNGS组与传统病原组的一致性分析 已知MeNemar 检验的 $P > 0.05$ 提示结果具有一致性, 则需进一步行 Kappa 一致性检验评估其一致性程度, 若 $P < 0.05$ 则提示两组结果差异性较大。结合统计学结果可知 mNGS 组在检测细菌、真菌、分枝杆菌与传统病原组结果基本一致, 而在检测病毒方面结果具有明显差异。进一步分析可见 mNGS 组在检测病毒方面比传统病原组具有优越性(Kappa 检验, $P < 0.05$) (表 1)。

表 1 mNGS 与传统病原学一致性分析

菌群种类 Pathogen species	mNGS 组 不一致 例数	传统病 原组不一 致例数	MeNemar 检验	Kappa 值	Kappa 检验
细菌	21	15	$P = 0.405$	0.184	$P = 0.078$
革兰阴性杆菌	14	15	$P = 1.000$	0.256	$P = 0.015$
格兰阳性球菌	5	13	$P = 0.096$	0.204	$P = 0.039$
病毒	33	8	$P = 0.000$		
真菌	14	9	$P = 0.405$	0.221	$P = 0.033$
分枝杆菌	6	13	$P = 0.167$	0.267	$P = 0.008$

6 单因素、二元 logistic 回归分析

6.1 预后分析 院内死亡: ICU 住院时间 ($P = 0.002$)、院内总住院时间 ($P = 0.000$)、机械通气时间 ($P = 0.000$) 以及是否机械通气 ($P = 0.014$)、有创血压监测 ($P = 0.000$)、使用血管活性药物 ($P = 0.013$)、既往有肿瘤病史 ($P = 0.005$)、既往有 HIV 病史 ($P = 0.020$)、合并气胸 ($P = 0.048$)、合并心衰 ($P = 0.016$)、合并呼衰 ($P = 0.005$) 影响患者院内死亡率, 其中, 院内总住院时间 (比值比: 0.78, 95% 可信区间: 0.7-0.9, $P = 0.004$) 以及有创血压监测 (比值比: 17.4, 95% 可信区间: 2.0-153.2, $P = 0.010$) 与院内死亡关系显著 (表 2)。

7 d 死亡: 入院体重 ($P = 0.006$)、ICU 住院时间 ($P = 0.000$)、院内总住院时间 ($P = 0.000$)、机械通气时间 ($P = 0.000$) 以及是否合并心衰 ($P = 0.047$)、既往有肿瘤病史 ($P = 0.010$) 以及 HIV 病史 ($P = 0.020$) 影响患者 7 d 死亡率

28 d 死亡: 是否合并气胸 ($P = 0.037$)、有创血压监测 ($P = 0.002$)、机械通气 ($P = 0.008$) 以及是否使用血管活性药物 ($P = 0.018$) 影响患者 28 d 死亡率。

6.2 病原结果分析 传统病原组: ICU 住院时间 ($P = 0.019$)、院内总住院时间 ($P = 0.047$) 以及是否行深静脉置管 ($P = 0.003$) 影响传统病原组培养结果。

细菌组: 是否机械通气 ($P = 0.000$)、使用血管活性药物 ($P = 0.002$)、CRRT ($P = 0.031$)、深静脉置管 ($P = 0.000$)、糖尿病 ($P = 0.044$)、合并休克 ($P = 0.028$) 以及 ICU 住院时间 ($v = 0.002$) 影响传统细菌

学培养结果。

mNGS 组: 是否机械通气 ($P = 0.008$) 影响 mNGS 结果。

由此可见, 是否机械通气不仅影响 7 d、28 d 以及院内死亡率, 而且影响细菌组以及 mNGS 组培养结果, 且患者肺部感染高发, 因此进一步推测患者感染原因一部分可能来自呼吸机相关性肺炎。

表 2 单因素分析结果 (P 值)

Table 2 single factor analysis results

变量 Variable	7 d 死亡 7-day death	28 d 死亡 28-day death	院内死亡 Hospital death	细菌组 Bacterial group	传统病原组 Traditional pathogen group	mNGS 组 mNGS group
ICU 住院时间	0.000	0.469	0.002	0.002	0.019	0.511
院内住院时间	0.000	0.349	0.000	0.119	0.047	0.647
机械通气时间	0.000	0.397	0.000	0.107	0.124	0.837
是否机械通气	0.617	0.008	0.014	0.000	0.086	0.008
体重	0.006	0.464	0.155	0.375	0.652	0.964
年龄	0.924	0.081	0.197	0.619	0.720	0.809
有创血压监测	0.198	0.002	0.000	0.293	0.316	0.316
使用血管活性药物	0.494	0.018	0.013	0.002	0.126	0.063
既往有肿瘤病史	0.010	0.325	0.005	0.719	0.234	0.692
既往有 HIV 病史	0.020	0.623	0.020	0.597	0.662	0.551
合并气胸	0.587	0.037	0.048	0.094	0.173	0.664
合并心衰	0.047	0.266	0.016	0.701	0.650	0.226
合并呼衰	0.076	0.087	0.005	0.069	0.252	0.096
菌群失调	0.602	0.613	0.52	0.077	0.269	0.818
免疫力低下	0.197	0.370	0.086	0.709	0.172	0.499
使用免疫抑制剂	0.480	0.550	0.573	0.661	0.526	0.526
深静脉穿刺置管	0.638	0.345	0.405	0.000	0.003	0.143
标本污染	0.348	0.657	0.721	0.229	0.570	0.295
糖尿病	0.558	0.098	0.308	0.044	0.312	0.312
休克	0.691	0.258	0.229	0.028	0.518	0.068
CRRT	0.587	0.266	0.630	0.031	0.670	0.098

讨论

在重症监护病房 (ICU) 内感染性疾病患者中经常出现病原学诊断困难的情况, 原因是临床症状重叠高发以及免疫缺陷患者导致症状不典型。在缺乏明确的微生物诊断的情况下, 加剧隐匿性感染的发生以及抗生素耐药甚至多重耐药的发生^[10]。感染性疾病仍是全世界人口发病和死亡的重要原因, 而多重耐药病原体以及菌株变异的出现提示其诊断的重要性^[11]。由于病原体种类繁多, 且目前检测手段的局限性导致多种病原体检测阴性甚至无法鉴别, 为精准医疗带来多种挑战性。

传统微生物实验室的诊断技术包括培养、病原体特异性抗体 (血清学) 或抗原的检测以及通过 PCR (Polymerase Chain Reaction) 技术的微生物核酸 (DNA 或 RNA) 的分子鉴定, 而 mNGS 是对患者标本中微生物和宿主遗传物质 (DNA 和 RNA) 的综合分析, 这种新的检测方法正在改变医生诊断和治疗感染

性疾病的方式,当潜在病原体谱较大时,可预先排除一部分病因,进一步诊断非典型感染和跟踪病原体爆发等^[12]。Tony等^[13]研究结果表明,mNGS可以作为疾病爆发的监测工具,比如2014年在Boende由埃博拉病毒(Ebola virus, EBOV)引起的传染病爆发中mNGS为临床提供公共卫生响应信息。由于唯一识别病原体RNA和/或DNA序列,因此,mNGS对于疫情监测存在优势——疾病爆发的基因组恢复有助于追踪疫情进展和传播,这一点其他研究也有证明^[14-15]。

优势:mNGS在临床样本中识别罕见、新、难以检测和共感染的病原体方面表现良好,并通过对抗生素耐药基因进行测序,在耐药性预测方面具有巨大潜力,为指导治疗方案和改善抗生素管理提供了新的诊断证据^[16]。mNGS具有检测全面、准确率高、敏感性高和检测时间短的优势,无需特异性扩增,在鉴定样本中的病原微生物时,mNGS可以补充传统的生化、免疫和培养方法,对于少见、罕见感染、新发感染优于传统病原学检测,另外,还有追踪新发疫情、监测病原体变异等优势^[17-21]。

劣势:Xing等^[22]研究发现,mNGS检测病毒阳性率随时间延长呈下降趋势,感染后期病原丰度下降导致敏感性下降,因此,mNGS法仅对感染早期有优势。mNGS仍存在敏感性、结果解读性、可操作性、周转时间、抗菌药物敏感性、临床应用、实验室工作流程、试验比较器、成本和报销等问题,故mNGS不太可能在短时间内取代传统病原学检测方法而成为一项主导检查^[23-24]。由于DNA较稳定,即使已死亡仍能提取并检测到,因此与实际微生物菌群有差异,而RNA可鉴别死菌、活菌,但RNA易降解,且运输、保存条件较高。另外,由于G⁺菌的细胞壁较难破坏,常通过加入高剂量溶菌酶等使细胞壁破裂,因此常需72h;mNGS无法区分菌群是否为定值、污染还是致病菌,需凭临床医生的经验评估;基因数据库无法满足新发病原体的检测;组织标本会降低mNGS检测的敏感性^[5,25-27]。

本研究局限性:1)本研究样本量较少,需扩大样本进一步证实结果的可靠性。2)肠道菌群参与宿主能量代谢、免疫调节和神经内分泌等多种生理活动,已有研究表明感染性疾病疾病的发生与菌群失调有关,尤其是菌群移位^[28,29]。而本研究中患者粪便涂片并未监测每一患者,导致缺失值较多,不能说明菌群失调与mNGS、传统病原学检测结果之间的关系。3)本研究颅内感染疾病偏多,由于结脑多见导致分枝杆菌检出率高,本次研究结局可能存在一定的异质性。4)菌群是否为定值菌、污染菌以及致病菌是结合检测结果、临床经验以及治疗效果评估得出,具有一定的经验误差性。5)免疫力低下患者较少,不足以说明免疫力低下

与疾病预后的关系。6)本研究中mNGS检测出新型冠状病毒1例,未进一步对其基因进行监测,因此对于疫情的监测方面可能不足以说明问题,且本研究是一个单中心回顾性研究,它仍然需要更多的前瞻性和多中心的数据,以准确地确定mNGS分析的准确性。

总之,本研究通过对比传统病原学检测结果,证实mNGS不仅具有一致性,在敏感性上更具有显著优势。其中,mNGS在检测细菌、真菌、分枝杆菌与传统病原学结果基本一致,而在检测病毒方面结果具有明显差异,进一步分析,mNGS在检测病毒方面比传统组具有优越性(Kappa检验, $P < 0.05$)。在一个不断出现新病原体的世界,mNGS的检测将在监测和跟踪新的疾病爆发方面发挥关键作用,随着监测网络和纳米颗粒测序等快速诊断平台在全球范围内得到部署,将有可能在更早的阶段检测和控制传染性疫情。

【参考文献】

- [1] Wei G, Steve M, Charles YC. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. *Annu Rev Pathol*, 2019(14):319-338.
- [2] Matthew JT, Patricio RJ, Kerryl EG, et al. Identification of prosthetic joint infection pathogens using a shotgun metagenomics approach[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(9):1333-1338.
- [3] 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.
- [4] 北京市临床检验中心,北京医学会检验医学分会,首都医科大学临床检验诊断学系,等. 高通量测序技术临床检测规范化应用北京专家共识(第一版通用部分)[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(43):3393-3397.
- [5] 宏基因组学测序技术在中重症感染中的临床应用共识专家组,中国研究型医院学会脓毒症与休克专业委员会,中国微生物学会微生物毒素专业委员会,等. 宏基因组学测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识(第一版)[J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32(5):531-536.
- [6] Shamim N, Andre H, Fereshteh R, et al. An interpretable machine learning model for accurate prediction of sepsis in the ICU[J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(4):547-553.
- [7] Mervyn S, Clifford SD, Christopher WS, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *Jama*, 2016, 315(8):801-10.
- [8] Christopher WS, Vincent XL, Theodore JI, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *Jama*, 2016, 315(8):762-74.
- [9] Alistair EW, Jerome A, Jesse DR, et al. A comparative analysis of sepsis identification methods in an electronic database[J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(4):494-499.
- [10] Charles L, Katrina LK, Farzad M, et al. Integrating host response and unbiased microbe detection for lower respiratory tract infection diagnosis in critically ill adults[J]. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A, 2018, 115(52):E12353-e12362.
- [11] Patricia JS, Steven M, Karen CC. 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.
- [12] Charles YC, Steven AM. Clinical metagenomics. Nat Rev Genet, 2019, 20(6):341-355.
- [13] Tony L, Placide MK, Samia NN, et al. Metagenomic next-generation sequencing of the 2014 ebola virus disease outbreak in the democratic Republic of the Congo[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(9):e00827-19.
- [14] Silvia IS, Sneha S, Samia NN, et al. Coinfections of zika and chikungunya viruses in bahia, brazil, identified by metagenomic next-generation sequencing[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(9):2348-53.
- [15] Julien T, Tony L, Louis DP, et al. Genomic epidemiology reconstructs the introduction and spread of zika virus in central America and Mexico[J]. Cell Host Microbe, 2018, 23(6):855-864.
- [16] Han DS, Li ZY, Li R, et al. mNGS in clinical microbiology laboratories; on the road to maturity[J]. Crit Rev Microbiol, 2019, 45(5-6):668-685.
- [17] Miao Q, Ma YY, Wang QQ, 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.
- [18] Stephanie LM, Patricia JS. Next-generation sequencing in clinical microbiology: Are we there yet? [J] Clin Lab Med, 2019, 39(3):405-418.
- [19] Steve M, Samia NN, Erik S, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. Genome Res, 2019, 29(5):831-842.
- [20] Meredith LC, Susanna KT, Thomas W, et al. Metagenomic Next-Generation Sequencing for Identification and Quantitation of Transplant-Related DNA Viruses [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(12):e01113-19.
- [21] Liangjun C, Weiyong L, Qi Z, et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak[J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9(1):313-319.
- [22] Xing XW, Zhang JT, Ma YB, et al. Evaluation of next-generation sequencing for the diagnosis of infections of the central nervous system caused by the neurotropic herpes viruses: A pilot study [J]. Eur Neurol, 2018, 80(5-6):283-288.
- [23] S Dusko E, MetaHIT C. Metagenomics of the intestinal microbiota; potential applications[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2010, 34(Suppl 1):S23-8.
- [24] Greninger AL. The challenge of diagnostic metagenomics[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(7):605-615.
- [25] Jie H, Erlic J, Yang DL, 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.
- [26] 朱美利, 张剑青, 赵芝焕. 宏基因组测序在感染性疾病诊治中的应用进展[J]. 实用医学杂志, 2020, 2(36):131-135.
- [27] Gu W, Deng XD, Lee M, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing of infected body fluids [J]. Nat Med, 2021, 27(1):115-124.
- [28] 陈洋, 仇秦威, 尚潇潇, 等. 肠道菌群研究存在的问题及解决方案 [J]. 中华炎性肠病杂志, 2019, 3(3):182-188.
- [29] Lankelma JM, van Vught LA, Belzer C, et al. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation; a pilot study [J]. Intensive Care Med, 2017, 43(1):59-68.

【收稿日期】 2022-02-24 【修回日期】 2022-05-13

(上接 553 页)

- [12] Hemati Z, Derakhshandeh A, Haghkhah M, et al. Mammalian cell entry operons; novel and major subset candidates for diagnostics with special reference to *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection[J]. Vet Q, 2019, 39(1):65-75.
- [13] Soto-Ramirez MD, Aguilar-Ayala DA, Garcia-Morales L, et al. Cholesterol plays a larger role during *Mycobacterium tuberculosis in vitro* dormancy and reactivation than previously suspected[J]. Tuberculosis, 2017(103):1-9.
- [14] Fenn K, Wong CT, Darbari VC. *Mycobacterium tuberculosis* uses Mce proteins to interfere with host cell signaling[J]. Front Mol Biosci, 2019(6):149.
- [15] Moule MG, Cirillo JD. *Mycobacterium tuberculosis* dissemination plays a critical role in pathogenesis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020(10):65.
- [16] Mavi PS, Singh S, Kumar A. Reductive stress; New insights in physiology and drug tolerance of *Mycobacterium* [J]. Antioxid Redox Signal, 2020, 32(18):1348-1366.

【收稿日期】 2021-11-26 【修回日期】 2022-02-22