

DOI:10.13350/j.cjpb.230724

· 综述 ·

宏基因组下一代测序技术检测肺部感染病原体研究进展

吴振华,上官文静,王传光,高丽娟,杨素芳,周建伟,王佳莉*

(温州医科大学附属第五医院,浙江丽水 323000)

【摘要】 肺部感染发病率、死亡率高,是最常见和最重要的感染性疾病之一。细菌、病毒、真菌、寄生虫等一种或多种病原体均可导致肺部感染,早期、精准识别引起肺部感染的病原体对于制定治疗方案、改善预后具有重要意义。目前,肺部感染的主要诊断方法包括微生物培养法、血清学方法、抗原/抗体检测以及基于 PCR 的核酸检测技术等,但这些方法均存在不足。宏基因组下一代测序技术(metagenomic next generation sequencing, mNGS)可用于脑脊液、血浆、呼吸道分泌物、尿液、粪便、组织等任何种类临床样本检测,现已被广泛用于检测感染性病原体,特别适用于识别罕见或新发病原体。本文主要就 mNGS 用于肺部病原体感染检测研究进展作一综述。

【关键词】 肺部病原体;肺部感染;宏基因组测序;诊断效能;综述

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)07-0864-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Jul;18(7):864-867.]

Progress of researches on detection of pathogens for pulmonary infections with metagenomic next-generation sequencing

WU Zhenhua, SHANGGUAN Wenjing, WANG Chuanguang, GAO Lijuan, YANG Sufang, ZHOU Jianwei, WANG Jiali (The Affiliated Fifth Hospital of Wenzhou Medical University, Lishui, Zhejiang 323000, China)

【Abstract】 Pulmonary infection is one of the most common and most important infectious diseases due to its high morbidity and mortality. Pulmonary infection may be caused by one or multiple pathogens, including bacterium, virus, fungus and parasite. Early, precise identification of pathogens that cause pulmonary infections is of great importance to formulate the treatment regimen and improve the prognosis among patients suffering from pulmonary infections. Currently, the diagnosis of pulmonary infections mainly includes microbial culture, serological approaches, antigen/antibody assays and PCR-based nucleic acid assays; however, these diagnostic techniques suffer from problems. Metagenomic next-generation sequencing (mNGS) is effective for detection of any type of clinical samples, including cerebrospinal fluid, plasma, respiratory secretions, urine, stool and tissues, which has been widely used for identification of infectious pathogens, notably for identification of rare or emerging pathogens. This article mainly reviews the progress of researches on the use of mNGS for detection of pulmonary pathogens.

【Key words】 pulmonary pathogen; pulmonary infection; metagenomic next generation sequencing; diagnostic efficiency; review

* 肺部感染是最常见的感染性疾病之一,其作为一种呼吸道感染可导致多种并发症,由于发病率、死亡率均较高,其作为全球最重要的感染性疾病,尤其对高龄老人和免疫缺陷病人可造成致命性临床结局^[1]。细菌、病毒、真菌、寄生虫等一种或多种病原体均可导致肺部感染^[2]。因此,早期、精准识别引起肺部感染的病因对于制定患者,特别是合并多重感染患者的治疗方案、改善预后具有重要意义^[3]。目前,肺部感染的主要诊断方法包括微生物培养法、血清学方法、抗原/抗体检测、以及基于 PCR 的核酸检测技术^[4]。然而,这些方法的检测效能收到肺部感染病原体高度多样性以及呼吸道共生菌群(commensal microbiota)和致病共栖菌谱(pathobionts)等因素影响^[5]。如微生物培养法耗时较长且无法检测病毒和寄生虫,而抗原/抗体检测敏感性较低^[6]。虽然传统的基于 PCR 的核酸检测方法敏感性、特异性均较高,但其检测的微生物谱较窄,无法检测全部可引发肺部感染的病原体^[7]。因此,亟需研发敏感、特异、快速、

简便、检测谱广的新型检测技术,已用于检测导致肺部感染的病原体。

宏基因组下一代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)是一种鸟枪法(shotgun)测序技术,测序深度高达1 000万~2 000万序列/样本,可用于检测脑脊液、血浆、呼吸道分泌物、尿液、粪便、组织等任何种类临床样本^[8]。作为一种无偏检测技术, mNGS 已被广泛用于检测感染性病原体,特别适用于识别罕见或新发病原体^[9],并显示出较传统方法更高的诊断效能^[10,11]。此外, mNGS 可同时实现对多种临床样本中的数以千计种病原体进行高通量检测^[12]。本文主要就

* **【通讯作者】** 王佳莉 E-mail:wanglijia11@aliyun.com

【作者简介】 吴振华(1986-),男,浙江丽水人,本科,主治医师。主要从事麻醉与器官功能保护研究。
E-mail:lszhenhua@aliyun.com

mNGS用于肺部病原体感染检测研究进展作一综述。

1 mNGS用于肺部细菌感染诊断价值

孟现林等^[13]收集46例器官移植后肺炎及疑似肺炎患者支气管肺泡灌洗液,同时采用mNGS和常规微生物综合试验(CMT)检测,在35例mNGS阳性患者支气管肺泡灌洗液中检出31种病原体,其中细菌16种,以铜绿假单胞菌(51.4%)、鲍曼不动杆菌(42.9%)和肺炎克雷伯菌检出率(31.4%)较高;此外,mNGS对患者支气管肺泡灌洗液中细菌检测敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为93.3%、50.0%、58.3%和91.1%。韩心远等^[14]收集重症肺部感染患者痰液标本同时进行mNGS检测和微生物培养,发现mNGS技术对细菌的检出率(77.3%)高于培养法(63.6%)。陆思芬等^[15]采用mNGS技术检测840例疑似肺部感染患者肺泡灌洗液,743例mNGS阳性患者中,检出的病原体以细菌为主(35.13%),细菌种类以鲍曼不动杆菌(18.98%)、肺炎链球菌(14.13%)、肺炎克雷伯菌(13.46%)、尿肠球菌(12.11%)和结核分枝杆菌复合群(11.98%)为主。肖雄等^[16]采用mNGS技术检测67慢性阻塞性肺疾病合并肺部感染患者肺泡灌洗液,其中65例阳性患者,检出的病原体以细菌为主,其中以链球菌属(27例)、普雷沃菌属(14例)、嗜血杆菌属(13例)、假单胞菌属(10例)较为多见。Yang等^[17]采用mNGS技术在71例下呼吸道感染病例支气管肺泡灌洗液中检出阳性60例,其中细菌种类以分枝杆菌(12例)、肺炎链球菌(5例)、肺炎克雷伯菌(3例)、绿脓杆菌(3例)、流感嗜血杆菌(3例)和金黄色葡萄球菌(3例)为主。采用mNGS检测重症成年社区获得性肺炎住院患者支气管肺泡灌洗液,发现免疫功能正常患者中最常见的病原体为肺炎链球菌(14.8%)、流感嗜血杆菌(14.8%)和金黄色葡萄球菌(8.7%),而免疫缺陷患者中最常见的病原体为肺炎克雷伯菌(18.5%)、肺炎链球菌(15.4%)、流感嗜血杆菌(13.8%)和绿脓杆菌(13.8%)^[18]。为评估支气管肺泡灌洗液mNGS检测用于在非结核性社区获得性肺炎中鉴别肺结核患者的价值,Shi等^[19]收集110例肺结核疑似患者支气管肺泡灌洗液进行mNGS检测,并与传统微生物学检测方法进行比较,发现mNGS用于结核检测的敏感性(47.92%)与Xpert检测(45.83%)和培养法(46.81%)相仿,但显著高于抗酸杆菌检测(29.17%);mNGS还可以检出63.63%的非结核性分枝杆菌,并在3d内即可检出67.23%的感染病例。Liu等^[20]研究发现,mNGS、Xpert、培养法和涂片法检测治疗前肺结核患者结核分枝杆菌复合群的敏感性分别为59.9%、69.0%、59.9%和24.6%,而mNGS用于Xpert和培养法阴性样本的结核分枝杆菌复合群检出率为33.2%。这些研究结果提示,mNGS技术可用于肺部感染病原体鉴别,且联合应用传统微生物学方法可提升肺部细菌感染检出率^[21]。

2 mNGS用于肺部真菌感染诊断价值

肖雄等^[16]收集慢性阻塞性肺疾病合并肺部感染患者肺泡灌洗液,同时采用mNGS法和培养法进行检测,发现mNGS法检测效果显著优于培养法($\chi^2=48.11, P<0.01$),且mNGS法检出培养法未检出的5例念珠菌感染和1例土曲霉菌感染。任靖宜等^[22]收集43例管扩张症合并肺部感染患者支气管肺泡灌洗液,采用mNGS技术在43例患者中检出184株病原体,且多重病原体感染患病率为76.74%,其中真菌感染患病率为

8.15%。李江蕾等^[23]收集19例肺部感染者痰液、肺泡灌洗液和外周血样本同时进行mNGS检测和微生物培养,发现mNGS法检测阳性率显著高于培养法($P<0.01$),且检出的常见病原体包括白色念珠菌。对100份采自肺部感染患者的呼吸道样本(鼻咽拭子、痰液、支气管肺泡灌洗液)同时采用mNGS和传统方法检测,发现mNGS法检测致病性细菌和真菌敏感性显著高于传统法(95% vs. 54%; $P<0.01$),检出的常见真菌包括念珠菌、曲霉菌、马尔尼菲篮状菌等^[24]。对502例疑似肺炎患者同时采用支气管肺泡灌洗液mNGS和传统微生物学方法进行检测,发现mNGS法诊断准确率(74.9% vs. 36.9%)和敏感性(72.5% vs. 25.4%)均显著高于传统微生物学方法,mNGS检测发现念珠菌是免疫缺陷患者中最常见的病原体之一(17.2%)^[25]。对采自疑似肺部感染患者的20份CT引导下肺部穿刺活检组织同时采用mNGS法和培养法检测,mNGS法和培养法检测肺部穿刺活检组织中真菌的敏感性和特异性分别为57.1%和61.5%、阳性预测值和阴性预测值分别为44.4%和72.7%^[26]。这些研究结果表明,mNGS法可提高传统方法用于检测肺部真菌感染的诊断效能^[27]。

3 mNGS用于肺部寄生虫感染诊断价值

陆思芬等^[15]采用mNGS技术分析2020年8月至2021年10月四川大学华西医院收治的840例疑似肺部感染患者肺泡灌洗液,检测2例多房棘球绦虫感染、2例广州管圆线虫感染、2例屋尘螨感染和1例粉尘螨感染。1例反复咳嗽咳痰、痰培养及血培养阴性、胸部CT示两肺多发团片影及渗出的78岁男性患者按肺部感染给予抗生物治疗效果不佳,随后采集肺泡灌洗液行mNGS检测,检出嗜肺军团菌序列587条、粪类圆线虫序列155条,因而诊断为肺部粪类圆线虫病并嗜肺军团菌肺炎,给予阿苯达唑、左旋咪唑和阿奇霉素治疗45d后患者病情好转,1个月后复查未见复发^[28]。随着“一带一路”倡议的深入推进和国际交流的愈加频繁,各种罕见寄生虫病输入到我国的风险较高^[29-30]。鉴于国内寄生虫病逐渐消除,临床医务人员缺乏对输入性寄生虫或罕见寄生虫的认识^[31-32];因此,对于一些诊断不明确的肺部感染患者,尽早采取mNGS检测以明确诊断,对于改善患者预后、提高生活质量具有重要意义^[33]。

4 mNGS用于肺部衣原体感染诊断价值

陆思芬等^[15]采用mNGS技术分析840例疑似肺部感染患者肺泡灌洗液,除检出细菌外,还检出9例鹦鹉热衣原体感染。刘孝荣等^[34]采集76例重症肺炎患者肺泡灌洗液标本进行mNGS检测,在66份mNGS检测阳性肺泡灌洗液标本中检测到13种病原体,以肺炎衣原体为主要病原体。陈欣等^[35]采用mNGS技术对101例肺部感染患者呼吸道标本进行高通量测序,其中4例患者呼吸道标本种检出鹦鹉热衣原体序列。陈澔等^[36]采用mNGS技术检测3例初始治疗失败的急危重症社区获得性肺炎患者支气管肺泡灌洗液,其中1例检出鹦鹉热衣原体感染。此外,亦有多例采用mNGS技术诊断鹦鹉热衣原体感染的不明原因肺炎病例^[37-39]。Chen等^[40]回顾性分析mNGS诊断的重症鹦鹉热衣原体感染肺炎病例临床资料,发现mNGS检测可提高鹦鹉热诊断准确性、降低延迟诊断率。一项旨在评价支气管肺泡灌洗液mNGS检测用于识别重症成年社区获得性肺炎住院患者病原菌的多中心前瞻性研究结果显示,

鹦鹉热衣原体是免疫功能正常患者中最常见的病原体之一(8.0%)^[41]。此外,mNGS在71例下呼吸道感染病例支气管肺泡灌洗液中检出2例衣原体感染病例^[17]。这些研究显示,mNGS技术已成为患者肺部鹦鹉热衣原体感染的主要临床诊断方法之一。

5 mNGS用于肺部病毒感染诊断价值

自2019年底新型冠状病毒肺炎(COVID-19)暴发以来,该新型传染病在全球已感染7.6亿人、导致680万人死亡^[42]。作为史上最致命的传染病疫情之一,COVID-19全球大流行对人类社会经济发展造成了巨大破坏,而mNGS技术在鉴定和检测COVID-19病原体中发挥了重要作用^[43]。Gauthier等^[44]报道,mNGS用于检测RT-PCR C_T值小于30的临床样本中新冠病毒的总体敏感性为95.2%、总体特异性为100%。Babiker等^[45]对新冠病毒核酸阳性和阴性样本进行mNGS检测,发现mNGS不仅可以检出常规方法检出的全部病毒(甲型流感病毒、人偏肺病毒、人冠状病毒OC43、人冠状病毒HKU1),还可以检出常规方法未检出的呼吸道合胞病毒和人冠状病毒NL63。Shi等^[46]采用mNGS技术在1例重症COVID-19患者中检出潜伏的人疱疹病毒1型再激活,从而导致患者病情加重。

此外,mNGS在其他常见肺部病毒检测亦显示较高价值。陆思芬等^[15]采用mNGS技术在840例疑似肺部感染患者肺泡灌洗液中检出多例病毒感染病例,其中以人类β疱疹病毒5型(17.90%)、人类γ疱疹病毒4型(17.36%)、人类β疱疹病毒7型(16.15%)和人类α疱疹病毒1型(13.59%)较为多见。任靖宜等^[22]收集43例管扩张症合并肺部感染患者支气管肺泡灌洗液,检出8株病毒感染。李江蕾等^[23]收集19例肺部感染者痰液、肺泡灌洗液和外周血样本进行mNGS检测,其中检出的病毒以人类疱疹病毒4型、人类疱疹病毒7型、细环病毒为主。Qian等^[24]检测发现,虽然mNGS用于肺部病毒感染检测敏感性低于PCR技术,但该技术检出了传统技术未能检出的14种病毒,包括人类疱疹病毒的多种亚型。Qu等^[47]报道,联合应用mNGS和常规方法可显著提升重症社区获得性肺炎患者肺部感染病原体检出率,其中检出的病原体以流感病毒为主。Wang等^[48]对55例合并肺部感染的血液系统恶性肿瘤儿童患者支气管肺泡灌洗液进行mNGS检测,其中病毒感染检出率为45.5%,检出的病毒种类以巨细胞病毒最常见。这些研究提示,mNGS技术是一种鉴定肺部感染患者中病毒种类的有效工具。

6 结语

肺部感染呈全球广泛发病、且死亡率高,造成了极大疾病负担,是全球公共卫生优先关注的一种问题^[49]。早期诊断引发肺部感染的病原体对于早期治疗、避免病情延误和改善预后具有重要意义。mNGS技术的出现为临床早期、精准识别导致肺部感染的病原体提供了一种有价值的工具,其不仅可以检出细菌、病毒、寄生虫、真菌、衣原体,对造成肺部感染的支原体、立克次体等其他病原菌亦具有诊断价值^[8]。随着数据库中病原体基因序列的愈加丰富,mNGS检测敏感度也将愈加提升,而联合应用常规检测技术将进一步提升肺部感染病原体的检出效能。

【参考文献】

- [1] Jaroszewski DE, Webb BJ, Leslie KO. Diagnosis and management of lung infections[J]. Thorac Surg Clin, 2012, 22(3): 301-324.
- [2] Zhang H, He F, Li P, et al. The role of innate immunity in pulmonary infections[J]. Biomed Res Int, 2021(2021): 6646071.
- [3] Lin WV, Kruse RL, Yang K, et al. Diagnosis and management of pulmonary infection due to *Rhodococcus equi*[J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(3): 310-315.
- [4] Mattila JT, Fine MJ, Limper AH, et al. Pneumonia: treatment and diagnosis[J]. Ann Am Thorac Soc, 2014, 11(Suppl 4): S189-S192.
- [5] Huffnagle GB, Dickson RP, Lukacs NW. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street[J]. Mucosal Immunol, 2017, 10(2): 299-306.
- [6] Loeffelholz M, Chonmaitree T. Advances in diagnosis of respiratory virus infections[J]. Int J Microbiol, 2010(2010): 126049.
- [7] Pozzetto B, Grattard F, Pillet S. Multiplex PCR theranostics of severe respiratory infections[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, 8(3): 251-253.
- [8] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 341-355.
- [9] Li N, Cai Q, Miao Q, et al. High-Throughput metagenomics for identification of pathogens in the clinical settings[J]. Small Methods, 2021, 5(1): 2000792.
- [10] Miao Q, Ma Y, Wang 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.
- [11] Han D, Li Z, Li R, et al. mNGS in clinical microbiology laboratories: on the road to maturity[J]. Crit Rev Microbiol, 2019, 45(5-6): 668-685.
- [12] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. Annu Rev Pathol, 2019(14): 319-338.
- [13] 孟现林, 张蕾, 范晓钦, 等. 宏基因组二代测序技术检测支气管肺泡灌洗液中病原体对器官移植患者肺部感染的诊断价值[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(12): 1440-1446.
- [14] 韩心远, 高小娟, 韦洁宏, 等. 痰液宏基因组测序在肺部感染中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(15): 2022-2025.
- [15] 陆思芬, 周永召, 王刚, 等. 基于宏基因组二代测序技术的840例疑似肺部感染患者下呼吸道微生物特征分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2022, 21(6): 403-411.
- [16] 肖雄, 许毅娇, 陈志盛, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者肺泡灌洗液宏基因组测序分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(10): 1188-1191.
- [17] Yang Y, Zhu X, Sun Y, et al. Comparison of next-generation sequencing with traditional methods for pathogen detection in cases of lower respiratory tract infection at a community hospital in Eastern China[J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(51): e32423.
- [18] Wu X, Li Y, Zhang M, et al. Etiology of severe community-acquired pneumonia in adults based on metagenomic next-generation sequencing: A prospective multicenter study[J]. Infect Dis Ther, 2020, 9(4): 1003-1015.

- [19] Shi CL, Han P, Tang PJ, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. J Infect, 2020, 81(4):567-574.
- [20] Liu X, Chen Y, Ouyang H, et al. Tuberculosis diagnosis by metagenomic next-generation sequencing on bronchoalveolar lavage fluid: a cross-sectional analysis[J]. Int J Infect Dis, 2021(104): 50-57.
- [21] Fu M, Cao LJ, Xia HL, et al. The performance of detecting *Mycobacterium tuberculosis* complex in lung biopsy tissue by metagenomic next-generation sequencing [J]. BMC Pulm Med, 2022, 22(1):288.
- [22] 任靖宜, 苏莹莹, 康小文. 宏基因组测序诊断支气管扩张症合并肺部感染病原微生物价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2022, 36(8):849-851.
- [23] 李江蕾, 施勇, 任鸿芋, 等. 病原宏基因组测序对肺部感染病原体检测价值以及影响因素分析[J]. 云南医药, 2022, 43(2):21-24.
- [24] Qian YY, Wang HY, Zhou Y, et al. Improving pulmonary infection diagnosis with metagenomic next generation sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 10:567615.
- [25] Wu D, Wang W, Xun Q, et al. Metagenomic next-generation sequencing indicates more precise pathogens in patients with pulmonary infection: A retrospective study[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022(12):977591.
- [26] Li H, 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.
- [27] Wang J, Han Y, Feng J. Metagenomic next-generation sequencing for mixed pulmonary infection diagnosis[J]. BMC Pulm Med, 2019, 19(1):252.
- [28] 符沙沙, 韩昌育, 王心晓, 等. 肺部粪类圆线虫合并嗜肺军团菌感染 1 例[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2022, 40(5):686-688.
- [29] 谢贤良, 谢汉国, 陈云虹, 等. 福建省 2 例输入性埃及血吸虫病诊治分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2021, 33(6):643-646.
- [30] 陈剑峰, 杨坤, 李伟, 等. 泰州市赴非人员血吸虫病防治知识调查[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2021, 33(6):634-635.
- [31] 卢光玉, 曹园园, 王伟明, 等. 江苏省输入性疟疾初诊时间及影响因素分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2022, 34(2):172-178.
- [32] 冉伟霞, 李堂赞, 张中操, 等. 河南省焦作市消除疟疾前后输入性疟疾疫情分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2022, 34(2):191-193.
- [33] 庞冲敏, 杨兴林, 王燕, 等. 宏基因组学测序诊断曼氏裂头蚅病 1 例[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2022, 34(5):556-558.
- [34] 刘孝荣, 马东礼, 姜含芳, 等. 高通量测序方法在重症肺炎病原体检测的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(8):609-613.
- [35] 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.
- [36] 陈滢, 李园园, 潘频华, 等. 二代测序技术在重症社区获得性肺炎诊断中的意义[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(4):335-340
- [37] 邱崇荣, 刘向红, 肖小六. 基因二代测序检测鹦鹉热衣原体肺炎 1 例[J]. 赣南医学院学报, 2019, 39(9):940-942.
- [38] 刘领, 吴文杰, 耿艳杰, 等. 鹦鹉热衣原体肺炎 1 例报告并文献复习[J]. 临床肺科杂志, 2015, 20(8):1543-1544.
- [39] 孙艳, 崔顺顺. 基因二代测序检测鹦鹉热社区获得性肺炎 1 例[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(12):1928-1929.
- [40] Chen X, Cao K, Wei Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of severe pneumonias caused by *Chlamydia psittaci*[J]. Infection, 2020, 48(4):535-542.
- [41] Wu X, Li Y, Zhang M, et al. Etiology of severe community-acquired pneumonia in adults based on metagenomic next-generation sequencing: A prospective multicenter study[J]. Infect Dis Ther, 2020, 9(4):1003-1015.
- [42] The Lancet. The COVID-19 pandemic in 2023: far from over [J]. Lancet, 2023, 401(10371):79.
- [43] 郑智俊, 秦环龙, 秦楠. 新型冠状病毒肺炎与 mNGS 技术[J]. 中国微生物学杂志, 2020, 32(8):905-907.
- [44] Gauthier NPG, Nelson C, Bonsall MB, et al. Nanopore metagenomic sequencing for detection and characterization of SARS-CoV-2 in clinical samples[J]. PLoS One, 2021, 16(11): e0259712.
- [45] Babiker A, Bradley HL, Stittleburg VD, et al. Metagenomic sequencing to detect respiratory viruses in persons under investigation for COVID-19[J]. J Clin Microbiol, 2020, 59(1): e02142-20.
- [46] Shi L, Xia H, Moore MD, et al. Metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of HHV-1 reactivation in a critically ill COVID-19 patient: A case report[J]. Front Med (Lausanne), 2021(8):715519.
- [47] Qu J, Zhang J, Chen Y, et al. Aetiology of severe community acquired pneumonia in adults identified by combined detection methods: a multi-centre prospective study in China[J]. Emerg Microbes Infect, 2022, 11(1):556-566.
- [48] Wang D, Wang W, Ding Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing successfully detects pulmonary infectious pathogens in children with hematologic malignancy[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022(12):899028.
- [49] Mizgerd JP. Lung infection—a public health priority[J]. PLoS Med, 2006, 3(2):e76.

【收稿日期】 2023-03-12 【修回日期】 2023-06-08