

引用格式:石理冉,吴晓琴,薛璟,等.宏基因组二代测序在感染性疾病病原体精准检测中的研究进展[J].巴楚医学,2025,8(4):124-128. DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2025.04.019

Cite as: Shi Liran, Wu Xiaoqin, Xue Jing, et al. Research Progress of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Precise Monitoring of Pathogens of Infectious Diseases[J]. Bachu Medical Journal, 2025, 8(4): 124-128. DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2025.04.019

宏基因组二代测序在感染性疾病 病原体精准检测中的研究进展

石理冉¹ 吴晓琴¹ 薛璟² 阚红侠²

(1. 徐州市贾汪区人民医院 公共实验室, 江苏 徐州 221011; 2. 徐州市贾汪区人民医院 医院感染管理科, 江苏 徐州 221011)

摘要: 感染性疾病是临床常见的疾病,精确检测病原体在疾病治疗过程中至关重要。尽管感染性疾病的诊断已取得一定进展,但仍有大量患者因病原体未被及时准确检测出而未能得到有效治疗,严重威胁患者生命。传统的病原体检测方法耗时长、检出率低,难以满足临床需求。宏基因组二代测序(mNGS)作为一种新型病原体检测方法,可检测细菌、病毒、真菌、寄生虫、罕见病原体及未知病原体。虽然 mNGS 检测范围广,但其敏感性及特异性不高,且检测成本较高,因此 mNGS 技术在感染性疾病病原体检测中的应用存在一定局限性。本文旨在阐述 mNGS 在感染性疾病病原体检测中的应用现状及面临的挑战。

关键词: 宏基因组二代测序; 感染性疾病; 病原体检测

中图分类号: R446.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-6113(2025)04-0124-05

Research Progress of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Precise Monitoring of Pathogens of Infectious Diseases

Shi Liran¹ Wu Xiaoqin¹ Xue Jing² Kan Hongxia²

(1. Public Laboratory, The People's Hospital of Jiawang District of Xuzhou City, Xuzhou 221011, China; 2. Department of Nosocomial Infection Administration, The People's Hospital of Jiawang District of Xuzhou City, Xuzhou 221011, China)

Abstract Infectious diseases are common clinical conditions, and precise detection of pathogens is crucial in the treatment process. Although progress has been made in the diagnosis of infectious diseases, a large number of patients still fail to receive effective treatment due to the lack of timely and accurate detection of pathogens, posing a serious threat to their lives. Traditional pathogen detection methods are time-consuming and have low detection rates, making it difficult to meet clinical needs. Metagenomic next-generation sequencing (mNGS) is a novel pathogen detection method that can detect bacteria, viruses, fungi, parasites, rare pathogens, and unknown pathogens. Although mNGS has a wide detection range, its sensitivity and specificity are not high, and the detection cost is relatively high, thus there are certain limitations to the application of mNGS technology in the detection of pathogens in infectious diseases. This article aims to

基金项目:江苏省医院协会医院管理创新研究课题(JSYGY-3-2023-288; JSYGY-3-2024-369);徐州市科技项目(KC23142; KC22280);徐州市卫生健康委科技项目(XWKYHT20230058)

作者简介:石理冉,检验技师,E-mail: 346191264@qq.com

通信作者:吴晓琴,副教授,E-mail: 1652672427@qq.com

elaborate on the current application status and challenges of mNGS in the detection of pathogens in infectious diseases.

Keywords metagenomic next-generation sequencing (mNGS); infectious diseases; pathogen detection

感染性疾病是全球重要的公共卫生问题,准确的病原体检测在疾病治疗中起着至关重要的作用^[1]。感染性疾病不仅涵盖了法定的 40 种传染病,还包含新发传染病以及一些非传染性感染疾病^[2]。尽管医学领域在传染病的诊断技术上取得了显著进展,但每年全球仍有约 1 500 万人死于感染性疾病。因此,感染性疾病病原体相关研究还有待进一步完善。传统的病原体检测方法(如涂片、培养、抗原抗体检测及核酸检测)虽应用广泛,但往往面临检测时间长、阳性率低的问题,难以满足临床快速和准确诊断的需求^[1],因此迫切需要开发更为精准和高效的检测方法。

宏基因组二代测序(metagenomic next generation sequencing, mNGS)技术作为一种前沿的病原体检测方法,能够全面准确地获取样本中的所有核酸信息,并与已知微生物核酸序列数据库进行比对分析,从而准确识别样本中的病原微生物。通过这一技术,医生能够更有效地诊断感染性疾病类型,指导临床治疗,并防止病情恶化,尤其在疑难、罕见感染性疾病的诊断中发挥着重要作用。与传统病原体检测方法相比,mNGS 无需依赖微生物培养,也不需要特异性扩增,检测范围广泛,可识别细菌、病毒、真菌、寄生

虫及罕见或未知的病原体^[3]。

mNGS 技术在感染性疾病诊断中的有效性较高,但其敏感性及特异性不高,且受检测成本及生物信息学管道标准化等方面的影响,限制了 mNGS 在临床实践中的广泛应用^[4]。本文综述了 mNGS 技术在感染性疾病病原体检测中的应用现状、效果及存在的局限性,旨在为临床提供更全面的参考。

1 mNGS 在感染性疾病中的应用现状

近年来,mNGS 技术在全球范围内迅速发展,并受到广泛关注。该技术在提升感染性疾病的诊断水平方面,尤其在处理急危重症和疑难病例时,发挥了至关重要的作用。目前,mNGS 技术已应用于呼吸系统感染、中枢神经系统感染及血流感染(blood-stream infection, BSI)等多种疾病的病原体检测^[5]。

1.1 mNGS 在呼吸系统感染性疾病中的应用

细菌、病毒、真菌及肺炎支原体等均可引起呼吸道感染^[6-11],见表 1。由于这些病原体引起的呼吸系统疾病临床表现相似,因此快速准确地鉴别病原体种类,对临床决策至关重要。

表 1 呼吸道感染常见病原体

种类	代表性病原体
细菌 ^[6-8]	球菌 G ⁺ :肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌 G ⁻ :脑膜炎奈瑟菌
	杆菌 G ⁺ :结核分枝杆菌、白喉棒状杆菌、厌氧菌炭疽芽孢杆菌 G ⁻ :肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、流感嗜血杆菌、军团菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、百日咳杆菌
	病毒 ^[9]
病毒 ^[9]	RNA 病毒 正粘病毒:流感病毒 副粘病毒:副流感病毒、呼吸道合胞病毒、麻疹病毒 其他病毒:冠状病毒、风疹病毒、鼻病毒
	DNA 病毒 腺病毒
真菌 ^[10]	曲霉菌、酵母菌、毛霉
其他 ^[11]	肺炎支原体、肺炎衣原体、立克次体等

注:G⁺:革兰氏阳性菌;G⁻:革兰氏阴性菌。

1.1.1 mNGS 与细菌检测

引起呼吸系统感染的原因众多,其中细菌是最常见的病原体^[6]。Miao 等^[7]发现,mNGS 在肺部感染性疾病诊断中的敏感性和特异性分别为 50.7% 和 85.7%,均优于传统检测方法。此外,该研究还分析

了抗菌药物使用的影响,发现在接受过抗生素治疗的呼吸系统感染患者中,mNGS 对病原体检测结果的敏感性优于传统检测,因此还可根据 mNGS 检测结果调整抗菌药物的使用^[7-8]。在呼吸系统疾病病原体检测方面,mNGS 技术较传统方法具有明显优势,尤

其是对结核分枝杆菌的检测^[12]。基于 Karius 的血浆样本 mNGS 检测,在 60% 的成人和 50% 的儿童结核疑似病例中检测出了结核分枝杆菌,而传统检测方法(涂片)则只在 40% 的成人和 25% 的儿童中检测出了结核分枝杆菌^[13]。结核分枝杆菌的检测存在一定挑战性,而 mNGS 有望成为结核病的首选诊断工具。

1.1.2 mNGS 与病毒检测

病毒在呼吸系统感染性疾病中也占据重要地位,约占呼吸系统感染病原体的 47%^[9],因其种类繁多且变异性强,极易引发传染性疾病的爆发,如重症急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)、中东呼吸综合征(middle east respiratory syndrome, MERS)等^[14]。COVID-19 大流行期间, Ren 等^[15]采用 mNGS 技术检测肺炎患者的支气管肺泡灌洗液样本^[16],结果发现,所有患者均感染了一种未知的 β -CoV 毒株,分离株的核苷酸同一性为 99.8%~99.9%。且该病毒与 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)(GenBankNC_004718)和 MERS 冠状病毒(MERS-CoV)(GenBank NC_019843)在核苷酸序列上具有 79.0%和 51.8%的同源性,其在系统发育上与蝙蝠 SARS 样冠状病毒(GenBank MG772933)最为接近,具有 87.6%~87.7%的同源性,但位于一个单独的分支^[15]。在呼吸系统疾病病毒检测中,mNGS 能够检测出许多传统检测方法不能识别的病毒^[17],且可能用于后续疾病复发监测^[18]。

1.2 mNGS 在中枢神经系统感染性疾病中的应用

中枢神经系统感染性疾病(infection of central nervous system, ICNS)是由多种微生物病原体引起的疾病^[19],包括脑炎、脑膜炎及脑脓肿等,是神经内科常见的临床疾病之一。ICNS 病原体的种类多样,包括病毒、细菌、真菌、寄生虫、螺旋体及其他罕见病原体。ICNS 患者年发病率超过 500 万例,相关感染的致残率较高,且死亡率超过 15%^[20]。因此,ICNS 的早期诊断和准确诊断在临床上具有重要意义。采用 mNGS 技术检测 ICNS 病原体,在一定程度上缓解了临床诊断的压力^[21]。

Palacios 等^[22]在新英格兰医学杂志首次报道,高通量测序能够从脑脊液中检测出沙粒病毒。随后,mNGS 诊断钩端螺旋体脑炎也被相继报道^[21]。mNGS 能够检测多种中枢神经系统感染的病原体,包括星状病毒^[23]、嗜冷杆菌^[24]、卡奇谷病毒^[25]、尼罗河病毒^[26]及痤疮丙酸杆菌^[27]等。此外,mNGS 还可用于诊断由其他病原体引起的中枢神经系统感染^[28-29],如弓形虫、阿米巴原虫等。这表明 mNGS 在 ICNS 的临床诊断中具有重要的应用价值。

1.3 mNGS 在血流感染中的应用

BSI 是病原微生物侵入血液循环系统并在体内繁殖的一种全身感染性疾病,近年来因其高发病率及高致死率受到广泛关注。BSI 的年发病率可高达 2.04%,患者的死亡率为 20.6%,约占重症监护病房(intensive care unit, ICU)患者的 10%^[30-32]。延误诊断和无效治疗可导致感染性休克、多器官衰竭、弥散性血管内凝血,甚至死亡。快速且准确的病原体检测对 BSI 患者的治疗和预后至关重要。血培养作为目前 BSI 诊断的金标准,其敏感性并不理想^[33]。

近年来,mNGS 在疑似 BSI 患者的病原体检测中展现出巨大潜力。Liu 等^[32]研究发现,mNGS 在诊断 BSI 方面表现出较高的灵敏度,且可检测到更广泛的病原体种类。Wu 等^[34]采用 mNGS 技术,在严重烧伤 BSI 患者中,检测出真菌感染和合并感染。此外,Qin 等^[33]研究发现,mNGS 可快速检测脓毒症和 BSI 患者体内的病原体,且阳性率高,常规血培养联合 mNGS 技术可显著降低脓毒症和 BSI 患者的死亡率。并且,采用 mNGS 技术还可缩短脓毒症和 BSI 患者的总住院时间和 ICU 住院时间。

2 mNGS 在感染性疾病中面临的挑战

鉴于目前 mNGS 技术涉及到实验环境、样本制备、核酸测序及生物信息学管道标准化等方面,任何步骤失误都有可能影响检测结果。因此,临床采用 mNGS 技术还需综合考虑检测通量(包括患者数量与样本量)、靶点数量、仪器试剂成本、检测周期及患者个体情况等多重因素。只有在适宜的场景下采用最优化的检测方法,才可最大程度地惠及患者。此外,正确解读 mNGS 报告也是该技术在临床应用中面临的挑战之一。这要求临床医生不仅具备扎实的理论基础,还需具备一定的生物信息学分析能力。

2.1 mNGS 技术检测价格较高

尽管 mNGS 的检测成本已大幅降低,但与临床常规检测方法相比,仍处于较高水平^[35],mNGS 的检测价格高达两三千元。相比之下,传统的病原体培养检测和抗原抗体检测费用则较低,通常在几十到几百元之间,涂片和核酸检测的费用也仅在百元之内^[36-37]。此外,送检时应严格遵守标准流程,避免不必要的检测,以免增加患者的经济负担。

2.2 mNGS 技术检测时间较长

mNGS 技术与普通聚合酶链式反应相比,两个体系截然不同,前者耗时较长,仅前期样本处理就需要 4~6 h。此外,测序前的核酸提取和建库过程进一

步延长了整体检测时间^[38-39]。这一系列复杂的过程取决于数据量、自动化程度及能否有效检测到耐药基因等。

2.3 mNGS 临床解读面临的挑战

mNGS 结果的解释目前缺乏明确的“阳性或阴性”标准,同时缺少统一的解读规范,包括序列数阈值、敏感性及特异性评估^[39-40]。mNGS 的解读需要考虑其准确性和复杂性。准确性方面,基于 mNGS 无偏性和高敏感性的特点,检测报告中可能会出现假阳性结果,基于临床因素和实验室因素的影响,mNGS 也存在假阴性结果^[39]。复杂性方面,mNGS 结果解释受背景信号、生物信息学分析测序平台、实验室环境、获得样本前患者是否接触抗生素等影响^[39]。所以 mNGS 报告的解读不能仅凭结果简单判断,还需结合患者临床症状、微生物种类、分子生物学及影像学、临床医生等综合评估。

3 小结与展望

mNGS 技术在感染性疾病病原体检测方面发挥着重要作用,然而 mNGS 技术仍面临诸多挑战,亟需进一步改进和优化。随着 mNGS 技术的不断进步,相信这些问题将逐步得到解决,未来该技术能够更为广泛地应用于感染性疾病病原体检测中,有助于感染性疾病的早期诊断,提高患者临床疗效。

参考文献:

- [1] 韩思雨,刘建华. 宏基因组二代测序在疑难感染性疾病中的临床应用价值[J]. 中国当代儿科杂志, 2022, 24(2): 210-215.
- [2] 周玉娇. mNGS 在感染性疾病病原体检测中的临床意义[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2023.
- [3] Xu J, Zhou P, Liu J, et al. Utilizing metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for rapid pathogen identification and to inform clinical decision-making: results from a large real-world cohort[J]. *Infect Dis Ther*, 2023, 12(4): 1175-1187.
- [4] Zheng Y, Qiu X J, Wang T, et al. The diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing in lower respiratory tract infection [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 694756.
- [5] 王爽,刘燕,路放,等. mNGS 病原微生物在感染性疾病领域诊断视角[J]. 养生大世界, 2022(19): 51-53.
- [6] 赖丁香,郑吉善,潘云,等. 宏基因组二代测序用于儿童呼吸道感染性疾病诊断的应用进展[J]. 中国中西医结合儿科学, 2023, 15(3): 199-202.
- [7] 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.
- [8] Jin X, Li J, Shao M Y, et al. Improving suspected pulmonary infection diagnosis by bronchoalveolar lavage fluid metagenomic next-generation sequencing: a multicenter retrospective study [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(4): e0247321.
- [9] Li Z J, Zhang H Y, Ren L L, et al. Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5026.
- [10] 瞿良,姜昌丽,罗成富,等. 老年下呼吸道感染患者痰分离真菌种类及药物敏感性[J]. 中国感染控制杂志, 2016, 15(3): 160-163.
- [11] 施毅. 肺炎支原体和肺炎衣原体肺炎研究进展[J]. 人民军医, 2004, 47(6): 353-356.
- [12] 胡丽玲,杨晓云,郑纺. 宏基因组二代测序在感染性疾病精准诊断中的应用进展[J]. 中国实验诊断学, 2023, 27(9): 1105-1110.
- [13] Pollock N R, MacIntyre A T, Blauwkamp T A, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* cell-free DNA to diagnose TB in pediatric and adult patients [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2021, 25(5): 403-405.
- [14] Binnicker M J. From the common cold to a chaotic contagion: the potential for coronaviruses to cause outbreaks of severe respiratory disease representing a global health threat [J]. *Clin Microbiol Newsl*, 2020, 42(12): 95-103.
- [15] Ren L L, Wang Y M, Wu Z Q, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study [J]. *Chin Med J*, 2020, 133(9): 1015-1024.
- [16] 王海娟,赵巍,付辉,等. 新型冠状病毒肺炎科研成果学术交流平台优先发表的论著类论文浅析[J]. 中华医学信息导报, 2020, 35(10): 5.
- [17] Prachayangprecha S, Schapendonk C M, Koopmans M P, et al. Exploring the potential of next-generation sequencing in detection of respiratory viruses [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(10): 3722-3730.
- [18] Quer J, Colomer-Castell S, Campos C, et al. Next-generation sequencing for confronting virus pandemics [J]. *Viruses*, 2022, 14(3): 600.
- [19] 简洪彬,叶云霞,邱卓贤,等. 宏基因检测在中枢神经系统感染性疾病诊断中的作用[J]. 海南医学, 2024, 35(8): 1136-1139.
- [20] 束航. 脑脊液宏基因组二代测序技术在中枢神经系统

- 感染性疾病中的应用[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [21] 张 赟. 宏基因组测序技术在中枢神经系统感染性疾病病原检测中的应用研究[D]. 陕西: 空军军医大学, 2020.
- [22] Palacios G, Druce J, Du L, et al. A new arenavirus in a cluster of fatal transplant-associated diseases[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(10): 991-998.
- [23] Naccache S N, Peggs K S, Mattes F M, et al. Diagnosis of neuroinvasive astrovirus infection in an immunocompromised adult with encephalitis by unbiased next-generation sequencing[J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(6): 919-923.
- [24] Ortiz-Alcántara J M, Segura-Candelas J M, Garcés-Ayala F, et al. Fatal *Psychrobacter* sp. infection in a pediatric patient with meningitis identified by metagenomic next-generation sequencing in cerebrospinal fluid[J]. *Arch Microbiol*, 2016, 198(2): 129-135.
- [25] Wilson M R, Suan D, Duggins A, et al. A novel cause of chronic viral meningoencephalitis: cache valley virus [J]. *Ann Neurol*, 2017, 82(1): 105-114.
- [26] Wilson M R, Zimmermann L L, Crawford E D, et al. Acute west Nile virus meningoencephalitis diagnosed via metagenomic deep sequencing of cerebrospinal fluid in a renal transplant patient[J]. *Am J Transplant*, 2017, 17(3): 803-808.
- [27] Wylie K M, Blanco-Guzman M, Wylie T N, et al. High-throughput sequencing of cerebrospinal fluid for diagnosis of chronic *Propionibacterium acnes* meningitis in an allogeneic stem cell transplant recipient [J]. *Transpl Infect Dis*, 2016, 18(2): 227-233.
- [28] Zhou Y, Liu Y, Wen Y. Primary *Toxoplasma gondii* infection-associated with hemophagocytic syndrome in a man with HIV infection; a case report[J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1):35.
- [29] Huang S Q, Liang X A, Han Y L, et al. A pediatric case of primary amoebic meningoencephalitis due to *Naegleria fowleri* diagnosed by next-generation sequencing of cerebrospinal fluid and blood samples[J]. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1): 1251.
- [30] Goto M, Al-Hasan M N. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2013, 19(6): 501-509.
- [31] Martinez R M, Wolk D M. Bloodstream infections[J]. *Microbiol Spectr*, 2016, 4(4): 1-34.
- [32] Liu Q L, Liu X J, Hu B X, et al. Diagnostic performance and clinical impact of blood metagenomic next-generation sequencing in ICU patients suspected monomicrobial and polymicrobial bloodstream infections [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1192931.
- [33] Qin C H, Zhang S G, Zhao Y Y, et al. Diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing in sepsis and bloodstream infection[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1117987.
- [34] Wu J, Huang M. Application of mNGS to describe the clinical and microbial characteristics of severe burn a tanker explosion at a tertiary medical center; a retrospective study patients following [J]. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1): 1086.
- [35] 何 波, 李渊龙, 陈秀灵, 等. 宏基因组二代测序在儿童血流感染中的应用[J]. *中国热带医学*, 2021, 21(5): 440-444.
- [36] 洪晓悦, 林嘉晏, 李嘉荣, 等. 宏基因组二代测序在重症急性胰腺炎疑似感染病原学诊断中的应用价值[J]. *中华消化外科杂志*, 2024, 23(5): 720-725.
- [37] 张 驰. 基于质谱的常见呼吸道病原体高通量检测方法的建立与应用[D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
- [38] 鲁炳怀. mNGS 应用背景下的下呼吸道感染病原学检测基础能力[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2023, 46(4): 315-318.
- [39] 郭孟亚, 高亚梅, 徐思成. 病原体诊断技术在免疫抑制性重症肺炎诊断中的应用进展[J]. *山东医药*, 2023, 63(15): 105-109.
- [40] 蒋析文, 梁志坤, 曾 莉, 等. 感染性疾病 mNGS 检测结果解读的应用[J]. *中华预防医学杂志*, 2023, 57(7): 1124-1130.

[收稿日期 2024-08-30]