



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2025.04.027

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2025.04.027

· 继续教育园地 ·

# 宏基因组二代测序在血流感染中的应用价值

王遯宇 袁喆

**[摘要]** 血流感染是常见的严重感染,尽管血培养是诊断血流感染的金标准,但存在着低敏感性等局限。宏基因组二代测序(mNGS)在敏感性、确诊时间、无偏倚覆盖、诊断复合及疑难少见病原体方面具有优势,但也需要认识其存在的如污染、人源基因干扰、缺乏标准等缺陷。未来随着基因测序技术的不断完善,mNGS在血流感染病原学的诊断中将占据更为重要的地位。

**[关键词]** 宏基因组; 二代测序; 血流感染; 综述

**[中图分类号]** R51;R446.5 **[文献标识码]** A

血流感染是一种常见的、危及生命的疾病,不仅病死率较高,甚至可导致远期的不良预后事件。虽然血培养是诊断血流感染的金标准,但其不仅阳性率低且所需时间较长<sup>[1]</sup>。宏基因组二代测序(mNGS)是一种不依赖于培养的可平行检测样本所有核酸的方法,通过快速、高效、准确地获得样本基因组信息,从而分析出病原体,进而指导临床诊断和治疗,迄今已有大量研究证实了其潜力和优势<sup>[2-5]</sup>。本文对基因测序技术基础及其在血流感染中的应用进行综述,以期更好地认识该技术从而为血流感染诊治提供参考。

## 一、宏基因组学与 mNGS

随着分子检测技术的发展,用于快速诊断血流感染病原菌的方法层出不穷,在这些方法中,基因测序技术在感染性疾病中的应用越来越受到关注。宏基因组学是以不同来源的样本中的生物群体基因组为研究对象,以测序分析为研究手段,既可发掘和筛选具有功能的基因,也用于病原体基因序列的发现与鉴别。二代测序/下一代测序(NGS)的核心原理是边合成边测序(SBS)。其创造性的将酶促DNA反应、碱基测序与数据收集同步进行,最终将所获得的大量测序数据经生物信息学分析获得完整的DNA序列信息<sup>[6]</sup>。在大幅度提高了通量及检测速度基础上,NGS还可用于未知基因的检测。由于一代测序的低通量和三代测序的高错误率使得NGS技术在目前成为了实现宏基因组学的最为广泛选择的手段。

## 二、mNGS在血流感染中的应用价值

1. 经验性抗生素使用后仍可获高阳性率:怀疑或确诊为血流感染的患者,尤其是ICU患者,往往已经经验性使用广谱抗生素,这是导致留取血培养低阳性率的重要原因之一。但mNGS受抗生素使用的影响较小,Gosiewski等<sup>[7]</sup>和Miao等<sup>[8]</sup>解释这是由于致病微生物DNA在患者血浆中保留的时间长所

致。这大幅提高了血标本的阳性率,使精准抗感染治疗成为可能。Geng等<sup>[7]</sup>对63例血培养不能确诊的危重患者的mNGS资料进行回顾性分析,结果发现尽管有着广谱抗生素使用背景,但患者mNGS的阳性率仍远高于血培养(41.3%比7.9%)。Sun等<sup>[8]</sup>回顾性分析了124例重症脓毒症患者资料,发现患者mNGS阳性率显著高于传统血培养(67.74%比19.35%)。

需指出的是,部分研究显示,根据mNGS阳性结果调整抗感染方案后并非所有患者预后都得到改善<sup>[9-10]</sup>,这可能是由于患者病情危重或病原体严重耐药导致的优化抗感染治疗收效甚微、感染株的误判及漏判、预后判定及对照设定的差异性及样本量过少等因素导致的。但不能据此否定mNGS在抗生素使用后的高阳性率优势,尤其对危重患者而言,mNGS可能是改善其预后的重要手段。

2. 有利于及时有效的优化抗感染方案:血流感染大多起病急、病程长、易反复且病情复杂,及时获得病原学依据、及时调整治疗方案对改善患者预后、降低病死率至关重要。然而,有研究发现,在约20%的脓毒症患者中,经验性地错误使用了抗生素导致该研究中患者存活率降低了1/5<sup>[11]</sup>。

目前血流感染的诊断可大致分为传统血培养、基于阳性血培养物的分子技术及直接从血液进行鉴定的分子技术3类。前两者由于受到阳性报警时间的限制,难以实现快速诊断;后者包含广谱PCR、T2磁共振、mNGS等可快速诊断技术。mNGS在保障检测速度的同时可提供更丰富的病原学信息,为及时且有效的优化抗感染方案提供了可能。

Goggin等<sup>[12]</sup>对47例白血病患儿的血流感染进行的前瞻性队列研究发现,通过血浆微生物无细胞DNA测序可提前3天预测患儿血流感染的发生,从而协助指导早期治疗。Horiba等<sup>[13]</sup>的研究显示,mNGS在导管相关血流感染发病的前7天即检测到了血液中的致病菌,提示该方法在提前预测导管相关血流感染方面的潜力。此外,Grumaz等<sup>[14]</sup>的研究揭示了随访mNGS序列数动态变化用于药物和疗程优化的潜力。

3. 有利于混合感染和疑难、少见病原体的诊断:对于复杂血流感染,mNGS能够直接和非选择性的检测核酸片段,而不需要事先选择覆盖范围,并且不受微生物竞争或病毒无法培养等

作者单位:400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院感染科 重庆市传染病寄生虫病学重点实验室

通讯作者:袁喆,E-mail:yuanzhe-1030@163.com

影响,使其最大限度地减少了漏诊的可能性。在 Geng 等<sup>[9]</sup>的研究中,mNGS 检测到 16 例(25.4%)患者血液标本中有两种以上病原体,而没有发现有两个及以上的病原体存在的血培养标本。可能由于不同种类微生物之间的竞争作用,血培养往往导致单一的微生物鉴定<sup>[15]</sup>。Chen<sup>[16]</sup>等研究发现,传统培养方法仅鉴定出 9 株细菌和 8 株真菌,而 mNGS 鉴定出了 79 株细菌和 4 株真菌;同时,结核分枝杆菌复合体在多个样本中仅被 mNGS 所发现,且在 1 例样本中还检出了常规方法未能发现的沙门氏菌。Wu 等<sup>[17]</sup>对中重度烧伤患者血流感染的研究发现,71 次血流感染发作中 17 次(23.9%)为多种微生物(包括 5 次混合细菌感染和 12 次细菌和真菌合并感染),提示 mNGS 在诊断此类患者的真菌感染和合并感染方面的潜在价值。对于病毒的检测能力,Carpenter 等<sup>[18]</sup>对明确含有至少 1 种病毒的 50 例血浆进行对比分析,mNGS 检测出而定量 PCR 未检测出的病毒达 24 种。

对于疑难和少见病原体诊断方面,mNGS 凭借其敏感性高、通量高、无偏倚检测的特点,可准确、快速、全面地诊断病原体,指导正确的抗感染治疗。刘龙群等<sup>[19]</sup>报道了 1 例登革热病毒血流感染,各种常规辅助检查诊断无果,最终经血 mNGS 明确诊断并治疗后痊愈。Gu、Chen 等报道的鹦鹉热衣原体肺炎,仅 mNGS 在肺灌洗液中检出了病原体;Wilson 等报道了 1 例钩端螺旋体脑膜炎,患儿反复发热、头痛伴抽搐 4 个月,常规检测甚至包括脑活检等均未明确诊断,最终经脑脊液 mNGS 检测到钩端螺旋体并在对症治疗痊愈<sup>[20]</sup>。尽管 mNGS 诊断疑难和少见病原体血流感染的报道较匮乏,但其在上述案例中的诊断价值值得参考。

### 三、mNGS 在血流感染中的应用局限

1. 定植和污染微生物组成的背景微生物导致的假阳性是 mNGS 最普遍和显著的问题。2. 尽管 mNGS 敏感性较高,仍存在一定的假阴性。3. mNGS 暂不能如理论上一样有效的检测耐药基因。4. 作为一种测序手段,mNGS 无法获得药敏数据<sup>[21]</sup>。5. 受制于价格,mNGS 尚无法常规开展。6. NGS 平台异质性较大、具体的实验程序及生物信息分析缺乏标准。7. 缺乏缺乏适用与报告解读标准。

### 四、mNGS 在血流感染中的应用适应证

缺乏适用与报告解读标准是 mNGS 的局限所在,故就现有专家共识,建议其在血流感染中的应用适应证为:(1)病情危重需尽快获得病原学证据;(2)特殊情况如免疫抑制宿主、较多基础疾病、反复入院;(3)传统检测手段反复阴性且临床治疗效果不佳;(4)疑似特殊病原体感染。而报告解读由于涉及内容繁杂且无任何统一权威标准,本文不再进行阐述<sup>[22-23]</sup>。

### 五、小结与展望

mNGS 以其敏感、快速、准确、无偏倚的特点在血流感染中显示了良好的临床应用价值。然而,临床研究方面,关于 mNGS 在血流感染应用效能的研究以单中心、小样本量、回顾性研究为主,代表性上稍显不足。此外,根据 mNGS 调整抗感染方案对血流感染预后的评估是不足的,有待进一步研究。而 mNGS

应用于血流感染诊断方面,尚存在背景微生物污染、缺乏统一和权威的实验程序和报告解读标准等局限性。随着测序技术的不断完善,mNGS 在血流感染中的临床应用价值将大大提高并有可能改变目前血流感染的诊断格局。

### 参 考 文 献

- [1] Kim TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret [J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(6): 513-520.
- [2] 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.
- [3] Simner PJ, Miller S, Carroll KC. 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.
- [4] 莫连芹, 黄栋, 潘飞飞, 等. 宏基因组二代测序在儿童重症监护病房重症感染性疾病病原体诊断中的应用价值 [J]. 中国医药, 2024, 19(11): 1697-1701.
- [5] 张梦月, 杨炯, 杜荣辉, 等. 宏基因组二代测序在结核性胸膜炎中的诊断价值 [J]. 临床内科杂志, 2023, 40(4): 275-276.
- [6] Mccomoie WR, Mcpherson JD, Mardis ER. Next-Generation Sequencing Technologies [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2019, 9(11): a036798.
- [7] Gosiewski T, Ludwig-Galezowska AH, Huminska K, et al. Comprehensive detection and identification of bacterial DNA in the blood of patients with sepsis and healthy volunteers using next-generation sequencing method-the observation of DNAemia [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(2): 329-336.
- [8] 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.
- [9] Geng S, Mei Q, Zhu C, et al. Metagenomic next-generation sequencing technology for detection of pathogens in blood of critically ill patients [J]. Int J Infect Dis, 2021, 103: 81-87.
- [10] Sun L, Zhang S, Yang Z, et al. Clinical Application and Influencing Factor Analysis of Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) in ICU Patients With Sepsis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 905132.
- [11] Kumar A, Ellis P, Arabi Y, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock [J]. Chest, 2009, 136(5): 1237-1248.
- [12] Goggin KP, Gonzalez-Pena V, Inaba Y, et al. Evaluation of Plasma Microbial Cell-Free DNA Sequencing to Predict Bloodstream Infection in Pediatric Patients With Relapsed or Refractory Cancer [J]. JAMA Oncol, 2020, 6(4): 552-556.
- [13] Horiba K, Kawada JI, Okuno Y, et al. Comprehensive detection of pathogens in immunocompromised children with bloodstream infections by next-generation sequencing [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 3784.
- [14] Grumaz S, Stevens P, Grumaz C, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in septic patients [J]. Genome Med, 2016, 8(1): 73.
- [15] Wang J, Zeng Y, Wang S, et al. Swine-Derived Probiotic Lactobacillus plantarum Inhibits Growth and Adhesion of Enterotoxigenic Escherichia coli and Mediates Host Defense [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1364.
- [16] Chen P, Sun W, He Y. Comparison of the next-generation sequencing (NGS) technology with culture methods in the diagnosis of bacterial and fungal infections [J]. J Thorac Dis, 2020, 12(9): 4924-4929.
- [17] 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.
- [18] Carpenter ML, Tan SK, Watson T, et al. Metagenomic Next-Generation Sequencing for Identification and Quantitation of Transplant-Related DNA Viruses [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(12): e01113-e1119.
- [19] 刘龙群, 吴可人, 杨艳, 等. 基因二代测序检测登革 1 例 [J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(11): 1776-1777.
- [20] 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.
- [21] Greninger AL. The challenge of diagnostic metagenomics [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(7): 605-615.
- [22] 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.
- [23] 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与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识 [J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2): 107-120.

(收稿日期: 2024-09-25)

(本文编辑: 余晓曼)