

疑似肺炎患者 BALF 样本应用 tNGS 技术进行病原学诊断的价值研究

颜新生^a, 张 丹^a, 王 栋^a, 张李涛^a, 张真路^a, 连姝文^b (武汉亚心总医院 a. 检验科; b. 药学部, 武汉 430056)

摘要: 目的 探究靶向高通量测序 (targeted next-generation sequencing, tNGS) 技术在疑似肺炎患者支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 样本中的病原学诊断价值。方法 选取 2022 年 7 月~2023 年 3 月武汉亚心总医院收治的 102 例疑似肺炎患者的 102 份 BALF 样本, 对其同时进行了 tNGS 检测和传统微生物学检测, 并收集患者的一般临床资料。对纳入研究的 102 例患者的 tNGS 检测结果、微生物培养结果以及其他实验室检查结果进行回顾性分析。结果 tNGS 法的总体阳性检出率 (93.14%) 高于传统方法 (58.82%), 差异有统计学意义 ($\chi^2=32.903$, $P<0.001$); tNGS 法在细菌、病毒以及混合感染方面的检出率 (65.69%, 55.89%, 69.61%) 高于传统方法 (21.57%, 6.86%, 11.76%), 差异有统计学意义 ($\chi^2=32.903$, 56.920, 70.708, 均 $P<0.001$)。结论 tNGS 技术在疑似肺炎患者 BALF 样本中获得了较高的病原体检出率, 可以有效应用于呼吸道感染性疾病的病原学诊断。

关键词: 靶向高通量测序; 支气管肺泡灌洗液; 病原体检测

中图分类号: R563.1; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 05-012-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.05.003

Value of tNGS in the Etiological Diagnosis of BALF Samples from Suspected Pneumonia Patients

YAN Xinsheng^a, ZHANG Dan^a, WANG Dong^a, ZHANG Litao^a, ZHANG Zhenlu^a, LIAN Shuwen^b

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Pharmacy, Wuhan Asia General Hospital, Wuhan 430056, China)

Abstract: Objective To explore the value of targeted next-generation sequencing (tNGS) in etiological diagnosis of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples from patients with suspected pneumonia. **Methods** 102 samples of BALF samples from 102 suspected pneumonia patients admitted to Wuhan Asia General Hospital from July 2022 to March 2023 were selected. tNGS and traditional microbiology tests were performed on them at the same time, and general clinical data of the patients were collected. tNGS test results, microbial culture results and other laboratory results of 102 patients were retrospectively analyzed. **Results** The overall positive detection rate of tNGS method (93.14%) was higher than that of traditional method (58.82%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=32.903$, $P<0.001$). The detection rates of bacterial, viral and mixed infections by tNGS method (65.69%, 55.89%, 69.61%) were higher than those by traditional methods (21.57%, 6.86%, 11.76%), and the differences were statistically significant ($\chi^2=32.903$, 56.920, 70.708, all $P<0.001$). **Conclusion** tNGS technique has a high pathogen detection rate in BALF samples of suspected pneumonia patients, and can be effectively used in the etiological diagnosis of respiratory infectious diseases.

Keywords: targeted next-generation sequencing; bronchoalveolar lavage fluid; pathogen detection

感染是仅次于缺血性心脏病的全球第二大死亡原因, 减少感染造成的死亡负担是全球公共卫生的紧迫优先事项^[1]。快速准确地鉴定感染病原体是有效治疗感染的关键^[2]。由于致病病原体种类繁多, 微生物培养鉴定、涂片染色、抗原抗体检测等传统方法均存在一定的局限性, 难以及时有效的对病原体进行检出。近年来, 除宏基因组高通量测序 (metagenomics next-generation sequencing, mNGS) 技术外, 新开发的靶向高通量测序 (targeted next-generation sequencing, tNGS) 技术也开始用于病原微生物检测。tNGS 技术是将超多重 PCR 与高通量

测序技术相结合, 对样品中的核酸进行多重 PCR 扩增, 再对这些扩增产物进行高通量测序分析的检测技术。tNGS 可同时检测样本中几十至几百种常见病原微生物及其耐药基因, 因此受到临床的广泛关注, 但相关报道较少, 诊断价值尚不十分明确。本研究旨在通过比较 tNGS 和传统方法在疑似肺炎患者支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 等样本中的检出情况来评估 tNGS 技术在肺炎病原学诊断中的价值, 以期 tNGS 技术的临床应用提供参考。

1 材料与方法

基金项目: 武汉市卫生健康委员会青年项目 (WX21Q29); 利伐沙班血药浓度与高龄非瓣膜性房颤患者不良预后的关系研究。

作者简介: 颜新生 (1986-), 男, 硕士, 副主任技师, 研究方向: 分子诊断学, E-mail: yanxinsheng@126.com。

通讯作者: 连姝文 (1985-), 女, 本科, 主管药师, 研究方向: 合理用药, E-mail: lianshuwen@126.com。

1.1 研究对象 选取2022年7月~2023年3月武汉亚心总医院收治的102例疑似肺炎并行支气管镜检查的患者为研究对象,其中男性59例,女性43例;中位年龄58(34,71)岁。纳入标准:①因疑似肺炎住院;②入院后行支气管镜收集BALF样本送tNGS检测并同时送微生物培养检测;③有其他相关样品可按标准程序进行常规病原学检测;④受试者及其家属知情同意。排除标准:①样本污染或不合格;②受试者临床资料不完善。本研究为回顾性分析研究,研究符合医学伦理学标准。

1.2 仪器与试剂 核酸提取试剂盒(美基生物,货号R6672B-F);呼吸道病原微生物多重联合检测试剂盒(金圻睿公司,货号KS608-100HDXD96);哥伦比亚血琼脂培养基(广州迪景,货号LS0109);曲霉半乳甘露聚糖检测试剂盒(丹娜生物,货号DNK-1402-2);甲型/乙型流感病毒抗原检测试剂盒(广州万孚);嗜肺军团菌抗体检测试剂盒,腺病毒抗体检测试剂盒,呼吸道合胞病毒抗体检测试剂盒,肺炎支原体抗体检测试剂盒,肺炎衣原体抗体检测试剂盒(安图生物);结核分支杆菌rpoB基因和突变检测试剂盒(塞沛公司,货号GXMTB/RIF-CN-50);自动化核酸提取仪(济凡生物,型号PuriferHT);PCR仪(苏州东胜,型

号ETC811plus);二代测序仪(金圻睿公司,型号MiniSeqDx-CN);VITEK 2 Compact全自动微生物鉴定及药敏分析系统,VUTEK MS微生物质谱检测系统(生物梅里埃);A2000 Plus化学发光分析仪(安图生物);IFlash 3000化学发光分析仪(亚辉龙);HB-100E酶联免疫分析仪(丹娜生物)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及临床资料收集:所有患者行支气管镜检查并收集BALF样本,将BALF样本同时送检微生物培养和tNGS检测;通过病案管理系统查询患者同时期送检的其他样本病原学检测结果并记录。

1.3.2 tNGS检测:取疑似肺炎患者其中一份BALF样本送金域医学进行呼吸道153种病原体检测。将BALF样本彻底混匀后,取1300μl在12000r/min条件下离心5min,弃600μl上清;用移液器混匀底部体系,取400μl使用磁珠法抽提试剂盒提取总核酸(DNA+RNA);采用超多重PCR技术,对目标序列进行靶向扩增富集,形成无需打断的短片段核酸;产物纯化后加入接头,进行第二轮PCR扩增构建文库,并使用超微量分光光度计进行文库质控后上机测序;测序完成后经过数据分析最终形成报告。本研究中tNGS检测范围包括65种细菌、68种病毒、3种支原体、3种衣原体和14种真菌,见表1。

表1 tNGS检测153种病原体名称及分类

类别	病原体
革兰阳性菌	金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓链球菌、无乳链球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、惠普尔芽孢体、蜡样芽孢杆菌、炭疽芽孢杆菌、假结核棒状杆菌、白喉棒状杆菌、化脓隐秘杆菌、马红球菌、结核分枝杆菌复合群、非结核分枝杆菌、鸟分枝杆菌、胞内分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、龟分枝杆菌、脓肿分枝杆菌、偶发分枝杆菌、瘰癧分枝杆菌、海分枝杆菌、溃疡分枝杆菌、嗜血分枝杆菌、戈登分枝杆菌、蟾分枝杆菌、母牛分枝杆菌、玛尔摩分枝杆菌、星形诺卡菌、巴西诺卡菌、凹陷诺卡菌、盖尔森基兴诺卡菌
革兰阴性菌	脑膜炎奈瑟菌、大肠埃希菌、肠道沙门氏菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、产气克雷伯菌、阴沟肠杆菌、黏质沙雷氏菌、奇异变形杆菌、铜绿假单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌、鼻疽伯克霍尔德菌、类鼻疽伯克霍尔德菌、嗜麦芽窄食单胞菌、鲍曼不动杆菌、卡他莫拉菌、脑膜炎奈瑟菌伊丽莎白菌、流感嗜血杆菌、溶血嗜血杆菌、多杀巴斯德菌、土拉弗朗西斯菌、百日咳鲍特菌、副百日咳鲍特菌、鸟鲍特菌、霍氏鲍特菌、嗜肺军团菌、脆弱拟杆菌
立克次体属	伤寒立克次体、普氏立克次体、立氏立克次体、恙虫东方体、贝纳柯克斯体
DNA病毒	人类博卡病毒1型、人类博卡病毒2型、人类博卡病毒3型、人类博卡病毒4型、人类细小病毒B19、人类腺病毒、人类腺病毒B组、人类腺病毒B3型、人类腺病毒B7型、人类腺病毒B55型、人类腺病毒C组、人类腺病毒C1型、人类腺病毒C2型、人类腺病毒C5型、人类腺病毒E组、人类腺病毒E4型、人类疱疹病毒1型、人类疱疹病毒2型、人类疱疹病毒3型、人类疱疹病毒4型、人类疱疹病毒5型、人类疱疹病毒6型、人类疱疹病毒7型、BK多瘤病毒、JC多瘤病毒
RNA病毒	甲型流感病毒、甲型流感病毒H1N12009、甲型流感病毒H1N1、甲型流感病毒H3N2、甲型流感病毒H5N1、甲型流感病毒H7N9、乙型流感病毒、丙型流感病毒、人类偏肺病毒、人类冠状病毒229E、人类冠状病毒HKU1、人类冠状病毒NL63、人类冠状病毒OC43、腮腺炎病毒、人副流感病毒1型、人副流感病毒2型、人副流感病毒3型、人副流感病毒4型、人呼吸道合胞病毒A型、人呼吸道合胞病毒B型、风疹病毒、麻疹病毒、肠道病毒、肠道病毒A组、柯萨奇病毒A2型、柯萨奇病毒A6型、柯萨奇病毒A16型、肠道病毒71型、肠道病毒B组、柯萨奇病毒A9型、柯萨奇病毒B2型、柯萨奇病毒B3型、柯萨奇病毒B5型、柯萨奇病毒B6型、埃可病毒、肠道病毒C组、肠道病毒D组、肠道病毒D68型、鼻病毒、鼻病毒A型、鼻病毒B型、鼻病毒C型、轮状病毒
支原体	肺炎支原体、细小脉原体、解脲支原体
衣原体	肺炎衣原体、沙眼衣原体、鹦鹉热衣原体
真菌	白色念珠菌、新生隐球菌、格特隐球菌、荚膜组织胞浆菌、马尔尼菲篮状菌、烟曲霉、伞枝横梗霉、米根霉、小孢根霉、微小根毛霉、尖端赛多孢子菌、裂褶菌、阿萨希丝孢酵母、耶氏肺孢子菌

1.3.3 传统方法检测: 传统检测包括细菌培养鉴定、真菌培养鉴定、涂片革兰染色、涂片抗酸染色、甲乙型流感病毒抗原检测、呼吸道7项抗体检测、血清半乳甘露聚糖检测(GM试验)和结核分枝杆菌基因检测(Gene Xpert)。其中呼吸道7项抗体检测包含甲乙型流感病毒、肺炎支原体、肺炎衣原体、呼吸道合胞病毒、嗜肺军团菌和腺病毒抗体检测。取疑似肺炎患者其中一份BALF样本进行常规微生物培养、涂片染色和Gene Xpert检测, 取患者静脉血样本进行GM试验和抗体检测, 取患者咽拭子样本进行甲乙型流感病毒抗原检测。阳性判断标准参照各厂家试剂盒说明。

1.4 统计学分析 采用SPSS 21.0软件作为数据分析工具。Kolmogorov-Smirnov法对数据进行正态性检验, 非正态分布计量资料以中位数(四分位区间)[M(P₂₅, P₇₅)]表示; 计数资料以n(%)表示, 组间阳性率比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 tNGS与传统方法检出的病原体分布情况 见表2。在102份样本中, tNGS共检出37种245株病原微生物, 其中细菌103株(42.04%)、病毒80株(32.65%)、真菌33株(13.47%)、分枝杆菌14株(5.71%)、肺炎支原体12株(4.90%)、鹦鹉热衣原体3株(1.22%)。微生物培养共检出18种42株病原体, 其中细菌27株(64.29%)、真菌15株(35.71%)。

本研究传统方法检测包括BALF样本的微生物培养结果和其他传统方法检测结果两部分。除培养法外, 其他传统方法还检出肺炎支原体抗体阳性7例、甲型流感病毒抗原阳性7例、GM试验阳性7例、涂片抗酸染色阳性7例和Gene Xpert阳性4例, 共计32例。

2.2 tNGS与传统方法检测结果比较 对102例患者tNGS检测结果与微生物培养结果联合其他传统方法检测的结果进行比较, 存在以下三种情况: ①双阴性7例(6.86%); ②单阳性35例(34.31%), 表示tNGS检测结果阳性, 而传统法检测结果阴性; ③双阳性60例(58.82%), 其中双阳性具体分为以下三种情况: ④两种方法结果完全符合(47.6%); ⑤两种方法结果部分符合(42.9%), 即两种方法检出的病原体至少有一种是相同的; ⑥两种方法结果完全不符合(9.5%)。在102例患者中, tNGS检出阳性95例(93.14%), 高于传统方法检出的60例(58.82%), 差异有统计学意义($\chi^2=32.903$, $P < 0.001$)。在混合感染检测方面, tNGS检出71例(69.61%), 高于传统方法检出的12例(11.76%), 差异有统计学意义($\chi^2=70.708$, $P < 0.001$)。两种方法的病原体分类检出情况比较见表3。tNGS在

细菌、病毒方面的检出率高于传统方法, 差异有统计学意义(均 $P < 0.001$); 两者在真菌、支原体和结核分枝杆菌中的检出率比较, 差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表2 tNGS与培养法检测的病原体分布情况[n(%)]

病原体		tNGS (n=245)	培养法 (n=42)
细菌	肺炎克雷伯菌	18 (7.35)	5 (11.90)
	流感嗜血杆菌	12 (4.90)	0 (0.00)
	铜绿假单胞菌	10 (4.08)	7 (16.67)
	屎肠球菌	10 (4.08)	1 (2.38)
	金黄色葡萄球菌	9 (3.67)	1 (2.38)
	鲍曼不动杆菌	8 (3.27)	2 (4.76)
	嗜麦芽窄食单胞菌	8 (3.27)	3 (7.14)
	溶血嗜血杆菌	5 (2.04)	0 (0.00)
	肺炎链球菌	5 (2.04)	0 (0.00)
	粪肠球菌	4 (1.63)	0 (0.00)
	大肠埃希菌	4 (1.63)	3 (7.14)
	卡他莫拉菌	3 (1.22)	1 (2.38)
	新生隐球菌	2 (0.82)	0 (0.00)
	无乳链球菌	2 (0.82)	1 (2.38)
	黏质沙雷氏菌	1 (0.41)	1 (2.38)
	惠普尔养障体	1 (0.41)	0 (0.00)
	嗜肺军团菌	1 (0.41)	0 (0.00)
	解鸟氨酸拉乌尔菌	0 (0.00)	1 (2.38)
	多噬伯克霍尔德菌	0 (0.00)	1 (2.38)
病毒	人类疱疹病毒4型	24 (9.80)	-
	甲型流感病毒H1N1	15 (6.12)	-
	人类疱疹病毒5型	14 (5.71)	-
	人类疱疹病毒1型	12 (4.90)	-
	人类疱疹病毒7型	5 (2.04)	-
	鼻病毒C型	4 (1.63)	-
	人类博卡病毒1型	2 (0.82)	-
	人类偏肺病毒	1 (0.41)	-
	人类疱疹病毒6型	1 (0.41)	-
	人类冠状病毒NL63	1 (0.41)	-
真菌	人类冠状病毒HKU1	1 (0.41)	-
	烟曲霉	13 (5.31)	7 (16.67)
	白色念珠菌	11 (4.49)	3 (7.14)
	耶氏肺孢子菌	9 (3.67)	0 (0.00)
	热带念珠菌	0 (0.00)	2 (4.76)
	克柔念珠菌	0 (0.00)	1 (2.38)
	光滑念珠菌	0 (0.00)	1 (2.38)
	青霉菌	0 (0.00)	1 (2.38)
分枝杆菌	结核分枝杆菌	12 (4.90)	-
	胞内分枝杆菌	1 (0.41)	-
	堪萨斯分枝杆菌	1 (0.41)	-
支原体	肺炎支原体	12 (4.90)	-
衣原体	鹦鹉热衣原体	3 (1.22)	-

注: -: 未检测。

表3 tNGS与传统方法检测结果比较 [n(%)]

类别	tNGS (n=102)	传统方法 (n=102)	χ^2 值	P 值
细菌	67 (65.69)	22 (21.57)	40.362	< 0.001
真菌	30 (29.41)	19 (18.63)	3.250	0.071
病毒	57 (55.89)	7 (6.86)	56.920	< 0.001
支原体	12 (11.76)	7 (6.86)	1.451	0.228
结核分枝杆菌	12 (11.76)	9 (8.82)	0.478	0.489

3 讨论

本研究通过对 BALF 样本的 tNGS 检测和传统方法检测, 回顾性评估了 tNGS 在肺部感染中的诊断价值, 发现 tNGS 诊断肺部感染性疾病较传统方法更加快速、全面, 可帮助临床早期明确病原学诊断, 指导抗生素的合理使用。

本研究结果显示, tNGS 检测的总体阳性率 (93.14%) 明显高于传统检测方法阳性率 (58.82%)。在 WU 等^[3]的一项前瞻性多中心研究中发现, mNGS 病原体检出率为 90.3%, 其他方法为 39.5%, mNGS 检测获得了较高的微生物检出率, 与本研究结果较为一致。另外, 本研究 tNGS 还检测出了较高的混合型感染比例, 该结果与其他 mNGS 检测技术临床应用评估报道基本一致^[4-5]。这主要是因为与传统病原学检测方法相比, tNGS 或 mNGS 均是基于高通量测序技术检测样本中的病原体, 具有灵敏度高和覆盖广的方法学优势。

在细菌检测方面, 本研究 tNGS 与培养法检出的细菌种类相近, 但检出率显著高于培养法, 这说明涵盖 153 种病原体的 tNGS 可以较好地覆盖临床常见菌, 且具有更高的敏感度, DAI 等^[6]通过比较 tNGS 法与培养法在 100 例痰样本中的阳性率印证了本研究结果。本研究中通过较为理想的 BALF 样本来进行 tNGS 检测和微生物培养的比较, 能提供更 valuable 的诊断信息, 因为与痰液相比, BALF 来自上呼吸道消化道的微生物污染更少^[7]。在病毒检测方面, tNGS 检出的病毒数量远高于传统方法, 其中检出最多的是人类疱疹病毒 4 型和人类疱疹病毒 5 型, 该结果与 HUANG 等^[8]的研究结果一致, 病毒培养非常困难以及常规 PCR 检测通量不足, 是传统方法在病毒方面的检出率远低于 tNGS 的重要原因。在真菌、支原体和结核分枝杆菌检测方面, SHI 等^[9]对 110 例肺结核疑似病例 BALF 的检测效果研究发现 mNGS 与 Xpert 和培养敏感性相近; 而 MIAO 等^[10]报道 mNGS 在真菌检测方面的敏感性显著优于传统的培养法。本研究中两种方法在真菌、支原体和结核分枝杆菌的检出率差异无统计学意

义, 这可能是因为本研究的传统方法中纳入了 GM 试验、Gene Xpert, 抗原抗体等多种检测方法, 其中 Gene Xpert 本身作为一种基因扩增方法, 对结核分枝杆菌检测有较高的敏感度^[11]; 其次真菌是厚壁微生物, 核酸提取较为困难, 破壁不充分会影响真菌的检出; 第三, 相关病原体检出较少可能会导致统计学差异不显著。在特殊病原体检测方面, tNGS 检出了鹦鹉热衣原体、嗜肺军团菌、惠普尔养障体等少见病原体, 而未在传统方法中检出, 主要是因为这些病原体在常规微生物检测中常受到培养条件和方法的限制。

大量研究已证实 mNGS 应用于临床大大提高了病原体的检出率^[12-15], 但 mNGS 价格昂贵^[16], 难以在临床普及^[17]。tNGS 作为 mNGS 技术的补充, 虽然检测覆盖的病原体范围有限, 但相关研究表明 tNGS 与 mNGS 在下呼吸道样本总体微生物检出率方面没有显著差异, 两种方法检出的微生物分布整体一致^[18]。与 mNGS 相比, tNGS 能在一次检测中兼顾 DNA 和 RNA 检测流程, 较低的测序数据量带来测序成本的下降, 因此更具卫生经济学价值^[19]。此外, 有报道显示 2019 年全球 1 370 万例感染相关死亡中 770 万例死亡仅与 33 种细菌病原体有关, 占当年所有感染相关死亡病例的 56.2%^[20], 同时, 医院不同科室病原菌感染具有多样性和区域性^[21], 因此, 涵盖临床绝大多数常见病原体、性价比高、可定制化的 tNGS 可能具有更广泛的临床适用性。

本研究也存在一定的局限性: 首先, 本研究为单中心研究, 样本量有限, 支原体和结核分枝杆菌的检出率比较可能存在统计学偏颇, 研究结果有待更大样本量的研究进一步证实。其次, 采用呼吸道感染检测中比较理想的 BALF 样本来评价 tNGS 在疑似肺炎患者病原体检测中的应用价值, 除 BALF 样本外的其他样本类型有待进一步研究。

综上, 与传统方法相比, tNGS 技术可以有效提高疑似肺炎患者 BALF 样本中的病原体检出率, 尤其在细菌、病毒和混合感染等方面可作为传统病原学检测方法的重要补充, 为临床提供快速准确、经济有效的诊断依据。

参考文献:

- [1] GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2016[J]. Lancet, 2017, 390(10100): 1151-1210.
- [2] HAN Xiudi, LIU Xuedong, CHEN Liang, et al. Disease burden and prognostic factors for clinical failure in elderly community acquired pneumonia patients[J]. BMC

- Infectious Diseases, 2020, 20(1): 668.
- [3] WU Xiaodong, LI Yuanyuan, ZHANG Ming, et al. Etiology of severe community-acquired pneumonia in adults based on metagenomic next-generation sequencing: a prospective multicenter study[J]. Infectious Diseases and Therapy, 2020, 9(4): 1003-1015.
- [4] WANG Chuwen, YAN Danying, HUANG Jiajia, et al. The clinical application of metagenomic next-generation sequencing in infectious diseases at a tertiary hospital in China[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 957073.
- [5] DENG Wenhua, XU Huan, WU Yabin, et al. Diagnostic value of bronchoalveolar lavage fluid metagenomic next-generation sequencing in pediatric pneumonia[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 950531.
- [6] DAI Yi, SHENG Kai, HU Lan. Diagnostic efficacy of targeted high-throughput sequencing for lower respiratory infection in preterm infants[J]. American Journal of Translational Research, 2022, 14(11): 8204-8214.
- [7] DAVIDSON K R, HA D M, SCHWARZ M I, et al. Bronchoalveolar lavage as a diagnostic procedure: a review of known cellular and molecular findings in various lung diseases[J]. Journal of Thoracic Disease, 2020, 12(9): 4991-5019.
- [8] HUANG Jie, JIANG Erlie, YANG Donglin, et al. Metagenomic next-generation sequencing versus traditional pathogen detection in the diagnosis of peripheral pulmonary infectious lesions[J]. Infection and Drug Resistance, 2020, 13: 567-576.
- [9] SHI Cuilin, HAN Peng, TANG Peijun, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. Journal of Infection, 2020, 81(4): 567-574.
- [10] MIAO Qing, MA Yuyan, WANG Qingqing, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clinical Infectious Diseases, 2018, 67(suppl_2): S231-S240.
- [11] NIELSEN M C, CLARNER P, PAROHA R, et al. Comparison of analytical sensitivity (limit of detection) of xpert MTB/RIF and xpert MTB/RIF ultra for non-sputum specimens[J]. Pathogens, 2023, 12(2): 157.
- [12] MITCHELL S L, SIMNER P J. Next-generation sequencing in clinical microbiology: are we there yet?[J]. Clinics in Laboratory Medicine, 2019, 39(3): 405-418.
- [13] LIN Pengcheng, CHEN Yi, SU Shanshan, et al. Diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of suspected pneumonia in immunocompromised patients[J]. BMC Infectious Diseases, 2022, 22(1): 416.
- [14] PENG Jinmin, DU Bin, QIN Hanyu, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of suspected pneumonia in immunocompromised patients[J]. Journal of Infection, 2021, 82(4): 22-27.
- [15] ZHENG Yan, QIU Xiaojian, WANG Ting, et al. The diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing in lower respiratory tract infection[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 11: 694756.
- [16] GRENINGER A L. The challenge of diagnostic metagenomics[J]. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2018, 18(7): 605-615.
- [17] 中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识 [J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(12): 1181-1195.
- Chinese Society of Laboratory Medicine. Expert consensus on clinical standardized application of metagenomics next-generation sequencing for detection of pathogenic microorganisms [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2020, 43(12): 1181-1195.
- [18] LI Shiyang, TONG Jin, LIU Yi, et al. Targeted next generation sequencing is comparable with metagenomic next generation sequencing in adults with pneumonia for pathogenic microorganism detection[J]. Journal of Infection, 2022, 85(5): e127-e129.
- [19] GASTON D C, MILLER H B, FISSEL J A, et al. Evaluation of metagenomic and targeted next-generation sequencing workflows for detection of respiratory pathogens from bronchoalveolar lavage fluid specimens[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2022, 60(7): e0052622.
- [20] GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2019[J]. Lancet, 2022, 400(10369): 2221-2248.
- [21] 邸师红, 马倩, 代超, 等. 重症监护病房脓毒血症患者病原学分布及死亡高危因素分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(3): 141-145.
- DI Shihong, MA Qian, DAI Chao, et al. Etiology distribution and risk factors of death in patients with severe sepsis in intensive care unit[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(3): 141-145.

收稿日期: 2023-04-20

修回日期: 2023-06-08