

mNGS 在 ICU 免疫功能障碍患者感染诊断中的应用*

于哲晨, 唐翔宇, 阳 鑫 综述, 弓清梅[△] 审校

山西医科大学附属山西省人民医院重症医学科, 山西太原 030012

摘要:免疫功能障碍患者是重症监护病房(ICU)感染并发症的高危人群,其感染具有临床表现隐匿、病原体谱复杂(含混合感染、罕见及苛养微生物)、传统诊断手段灵敏度低下等特点,显著增加了诊疗延误与死亡率风险。下一代测序技术(NGS),尤其是宏基因组测序(mNGS),凭借无需预设病原体、高通量解析样本中所有核酸序列的优势,为该人群感染诊断提供了突破性解决方案。该综述系统梳理了 mNGS 在 ICU 免疫功能障碍患者感染诊断中的应用价值,在呼吸道感染中,其对耶氏肺孢子菌、曲霉等机会性病原体的检出率显著优于传统培养与抗原检测;在血流感染及全身性感染中,可快速识别脓毒症相关罕见病原体(如假结核耶尔森菌),并同步分析耐药基因谱;在中枢神经系统感染中,通过脑脊液测序成功确诊弓形虫脑炎、结核性脑膜炎等疑难病例。此外,mNGS 还能通过全外显子测序(WES)辅助诊断遗传性免疫缺陷病(如 MHC II 类缺陷),为感染易感机制解析与精准治疗奠定基础。尽管当前 mNGS 面临成本较高、数据分析复杂、结果标准化不足等挑战,但其在提升诊断效率、优化抗菌治疗策略、缩短住院时间等方面的临床获益已得到多项研究证实。未来通过技术革新(如纳米孔快速测序)、流程标准化及多学科协作,mNGS 有望成为 ICU 免疫功能障碍患者感染精准诊断的核心工具,推动该人群感染诊疗模式的革新。

关键词:宏基因组测序; 次世代测序; 重症监护病房; 免疫功能障碍; 感染诊断; 遗传免疫缺陷病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.09.016 **中图法分类号:**R-331;R446.1;R593.3

文章编号:1673-4130(2026)09-1118-07 **文献标志码:**A

Application of mNGS in the diagnosis of infection in ICU patients with immune dysfunction*YU Zhechen, TANG Xiangyu, YANG Xin, GONG Qingmei[△]

Department of Intensive Care Unit, Shanxi Provincial People's Hospital,
Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030012, China

Abstract: Immunocompromised patients are at high risk for infectious complications in the Intensive Care Unit (ICU). Their infections are characterized by occult clinical manifestations, complex pathogen profiles (including mixed infections, rare and fastidious microorganisms), and low sensitivity of traditional diagnostic methods, significantly increasing the risk of delayed diagnosis and treatment and mortality. Next-generation sequencing (NGS), particularly metagenomic sequencing (mNGS), offers a breakthrough solution for diagnosing infections in this population by eliminating the need for pre-specified pathogens and enabling high-throughput analysis of all nucleic acid sequences in a sample. This review systematically summarizes the application value of mNGS in the diagnosis of infections in ICU patients with immunocompromised patients. In respiratory tract infections, mNGS significantly outperforms traditional culture and antigen testing for opportunistic pathogens such as *Pneumocystis jiroveci* and *Aspergillus niger*. In bloodstream and systemic infections, mNGS can rapidly identify rare pathogens associated with sepsis (such as *Yersinia pseudotuberculosis*) and simultaneously analyze their drug resistance profiles. In central nervous system infections, cerebrospinal fluid sequencing has successfully diagnosed challenging cases such as toxoplasmic encephalitis and tuberculous meningitis. Furthermore, mNGS can aid in the diagnosis of inherited immunodeficiency disorders (such as MHC class II deficiency) through whole-exome sequencing (WES), laying the foundation for understanding infection susceptibility mechanisms and providing precise treatment. Although mNGS currently faces challenges such as high cost, complex data analysis, and insufficient standardization of results, its clinical benefits in

* 基金项目:吴阶平医学基金会科研专项项目(320.6750.2024-5-26)。

[△] 通信作者, E-mail: ty_ccz@163.com。

improving diagnostic efficiency, optimizing antimicrobial treatment strategies, and shortening hospital stays have been demonstrated in numerous studies. In the future, through technological innovations (such as rapid nanopore sequencing), process standardization, and multidisciplinary collaboration, mNGS is expected to become a core tool for the precise diagnosis of infections in ICU patients with immune dysfunction, driving innovation in infection diagnosis and treatment for this population.

Key words: metagenomic sequencing; next-generation sequencing; intensive care unit; immune dysfunction; infection diagnosis; inherited immunodeficiency disorders

重症监护病房(ICU)中的免疫功能障碍患者因其免疫防御机制受损,成为医院获得性感染及相关并发症的高危人群。此类患者感染的临床表现常不典型,病原体谱复杂多样,易出现混合感染、罕见病原体及苛养微生物感染,而传统微生物学检测方法(如培养、抗原检测及 PCR 等)在灵敏度、时效性和覆盖范围上存在明显局限,常导致诊断延迟、误诊或漏诊,进而影响抗感染治疗的及时性与精准性,增加患者病死率及医疗负担。

近年来,下一代测序技术(NGS)的快速发展为感染性疾病的病原学诊断带来了革命性突破。其中,宏基因组测序(mNGS)无需预设病原体,可对临床样本中的全部核酸进行高通量测序,实现对细菌、真菌、病毒及寄生虫等微生物的无偏倚检测,显著提高了病原体检出的灵敏度与广度。在免疫功能障碍这一特殊群体中,mNGS 不仅能快速识别传统方法难以检出的机会致病菌(如耶氏肺孢子菌、曲霉菌),还在血流感染、中枢神经系统感染及混合感染的诊断中展现出突出优势。此外,结合全外显子测序(WES)等技术,mNGS 还有助于揭示患者潜在的遗传性免疫缺陷,为感染易感机制提供分子层面的解释。

尽管 mNGS 在感染诊断中具有显著潜力,但其在临床推广应用仍面临成本较高、数据分析复杂、标准化流程缺乏、结果解读需结合临床背景等诸多挑战。为此,本文系统综述 mNGS 在 ICU 免疫功能障碍患者感染诊断中的最新应用进展,重点探讨其技术优势、临床价值及现存问题,并对未来技术优化与多学科协作方向进行展望,以期提升该类患者的感染诊疗水平提供参考。

1 ICU 免疫功能障碍患者感染诊断中的挑战及需求

ICU 免疫功能障碍患者由于其免疫系统的特殊性,在感染诊断方面面临着诸多独特的挑战,同时对快速、准确的诊断方法也有着迫切的需求。免疫功能障碍可能源于基础疾病(如恶性肿瘤、艾滋病)、治疗措施(如化疗、放疗、免疫抑制剂使用)或 ICU 获得性因素(如长期使用广谱抗菌药物、机械通气等)^[1-3]。这些患者感染后的临床表现往往不典型,发热、白细胞升高等传统感染征象可能被免疫抑制状态所掩盖,

导致早期诊断困难。例如,在人类免疫缺陷病毒感染患者中,弓形虫脑炎可能表现为弥漫性脑损伤,但常规检查难以明确病原体。HU 等^[4]的宏基因组学研究中通过 mNGS 在脑脊液中检测到弓形虫序列才得以确诊弓形虫脑炎。此外,免疫功能障碍患者易发生混合感染和机会性感染,感染病原体种类复杂,包括细菌、真菌、病毒和寄生虫等,传统培养方法难以全面覆盖这些病原体,尤其是一些苛养菌、慢生长菌和非培养微生物^[5-7]。

传统诊断方法的弊端在免疫功能障碍的患者中更为明显,细菌培养是诊断感染的可靠标准,但培养的时间周期长,通常需要 24~48 h 以上,而且针对已经接受抗菌药物治疗的患者,培养的阳性率显著降低^[7-8]。DUAN 等^[9]针对脓毒症患者实施的研究中,血培养结果显示阳性率仅为 15.25%,而 mNGS 的阳性率高达 88.98%。针对真菌与病毒感染,如真菌培养、抗原检测和 PCR 之类的传统检测手段,灵敏度和特异度参差不齐、高低不等,而且检测的范围存在一定局限。以侵袭性肺曲霉病为例,一般的真菌培养灵敏度偏低,血清半乳糖甘露聚糖检测的特异度受多种因素的制约,而 mNGS 在诊断此类感染时展示出更高的灵敏度^[10],对于一些少见的病原体或新出现的病原体而言,传统方法一般都缺少有效的检测手段,导致诊断延误^[11-12]。

ICU 免疫功能障碍患者感染诊断的核心需求是快速、正确、全面地鉴别病原体,以引导及时有效的抗感染治疗,改善患者预后。延迟诊断和不恰当的经验性疗法会显著增加患者死亡率与住院时长。研究表明,基于 mNGS 结果调整治疗方案,可缩短免疫抑制患者的 ICU 住院时间和机械通气时间,同时降低住院成本^[5,13]。免疫功能方面有障碍的患者,感染往往与基础免疫缺陷有关,找出病原体不仅有助于对感染本身的治疗,还可能为基础免疫缺陷病的诊断提供线索。例如,通过 WES 发现 CIITA 基因突变,能对 MHC II 类缺陷这一原发性免疫缺陷病作出诊断,从而为患者包含了干细胞移植的长期管理和治疗提供依据^[14],理想的诊断方法应当拥有高灵敏度、高特异度、短周转时间、广泛的病原体覆盖能力,以及能够同

时提供病原体 and 耐药基因信息的特征^[15-17]。

2 mNGS 基础及其在感染诊断中的优势

2.1 NGS 技术概述与发展

NGS 技术又叫高通量测序技术,是与传统 Sanger 测序(第一代测序技术)对照而言的新一代测序方法。其核心原理为同时开展大量 DNA 片段的测序,实现高流量、同步化的序列读取,从而在短时间内生成大量的测序数据。NGS 技术的发展经历了多个阶段,有 454 焦磷酸测序、SOLiD 连接酶测序、Ion Torrent 半导体测序,到目前广泛采用的 Illumina 边合成边测序技术,加之新兴的牛津纳米孔单分子实时测序技术^[15,18-19]。这些技术在测序原理、读长、通量、准确性及成本等方面各有特点,符合了不同的临床及科研需求。

NGS 技术基本流程由样本制备、文库构建、测序反应和数据分析 4 个步骤构成。样本制备阶段需要从临床标本(如血液、脑脊液、肺泡灌洗液等)中提取微生物的核酸(DNA 或 RNA)。文库构建就是把提取的核酸进行片段化处理,连接上特定的接头序列,随后进行 PCR 扩增以富集目标序列^[20]。测序反应阶段,各 NGS 平台采用的测序化学原理并非一致。例如,Illumina 平台基于可逆终止子的边合成边测序,依靠荧光信号读取碱基内容;而 ONT 平台则利用纳米孔,通过检测 DNA 链通过时引起的电流变化来识别碱基^[18-19]。数据分析于 NGS 技术而言是极其关键的一环,涉及原始数据处理、序列比对、物种注释、变异检测及耐药基因分析等操作,此过程需要强有力的生物信息学工具与数据库给予支持,以能从海量数据中筛选出有临床重要性的病原体信息^[15-16,20]。临床诊断时,NGS 技术的应用不断拓展且深化,最初是全基因组测序(WGS)、WES,到针对特定基因簇的靶向测序,如病原微生物 panel、免疫缺陷病相关基因 panel,还有 mNGS、宏转录组测序等^[19,21]。mNGS 技术无需预设病原体,可直接对临床样本中的所有核酸进行测序,从而无偏倚地检测样本里存在的各类微生物,含有细菌、真菌、病毒、寄生虫等,已成为感染性疾病诊断里的重要手段^[4-6]此外,单细胞测序技术的发展也为研究免疫细胞异质性与免疫应答开辟了新视角,如免疫组库测序可对 T 细胞受体(TCR)和 B 细胞受体(BCR)的多样性进行分析,用来评估抗肿瘤的免疫应答及免疫重建情况^[22-23]。

NGS 技术的发展趋势朝着更快、精度更准、成本更低廉、自动化程度更高的方向迈进。例如,超快速 WGS 可在 13.5 h 把从样本到初步诊断的过程,可用于为危重症患者紧急诊断^[16]。ONT 纳米孔测序技术具备实时测序、有便携式设备(如 MinION)及长读长这些优势,其检测所需时间能缩短至 9.6 h 左右,为床

旁快速检测提供了可能^[18-19]。同时,随着测序成本逐步降低和数据分析流程的优化升级,NGS 技术正缓缓从科研迈向临床常规应用阶段,变成精准医疗时代不可或缺的手段^[15-17]。

2.2 mNGS 在免疫功能障碍感染患者中的优势

mNGS 技术在免疫功能障碍患者感染诊断中展现出多方面的显著优势,使其成为解决这类患者诊断难题的关键工具。首先,mNGS 具有更高的灵敏度和特异性,能够检测到传统方法难以发现的病原体。免疫功能障碍患者由于免疫力低下,感染后病原体载量可能较低,或存在于难以采样的部位,传统培养方法容易漏检。而 mNGS 通过直接对样本中的核酸进行测序,可显著提高病原体的检出率。DENG 等^[3]针对免疫功能低下癌症患者的研究中,纳米孔扩增子测序的病原体检出率为 83.9%,远高于传统培养的 44.6%,尤其是在血样本中,测序的灵敏度(38.5%)显著高于培养(0.0%)。对于苛养菌如军团菌、鹦鹉热衣原体,以及真菌如耶氏肺孢子菌、隐球菌等,mNGS 的检出优势更为明显。段智梅等^[24]在比较 mNGS 和传统方法诊断免疫功能障碍患者肺部感染的研究中,mNGS 对耶氏肺孢子菌和巨细胞病毒的检出率分别为 41.0%和 37.2%,而传统方法仅为 1.3%和 7.7%。

其次,mNGS 能够实现快速诊断,为免疫功能障碍患者争取宝贵的治疗时间。免疫功能障碍患者感染进展迅速,延迟治疗会显著增加死亡率。传统培养方法通常需要数天时间,而 mNGS 的周转时间可缩短至 24~48 h,新兴的纳米孔测序技术甚至可在 10 h 内完成检测^[18-19]。例如,在重症医院获得性肺炎患者中,ONT 测序的平均检测时间为 9.6 h,显著短于 mNGS 的 24.7 h 和传统培养的 132 h^[18]。快速的诊断结果有助于临床医生及时调整抗感染治疗方案,避免经验性广谱抗菌药物的过度使用,减少耐药菌的产生。有研究表明,基于 mNGS 结果调整治疗方案可减少免疫功能障碍患者的 28 d 死亡率、ICU 住院时间和机械通气时间^[13,25]。

第三,mNGS 能够全面检测多种病原体,包括混合感染和罕见病原体,为复杂感染的诊断提供了有力支持。免疫功能障碍患者易发生多种病原体的混合感染,传统方法难以同时检测多种病原体,而 mNGS 可以无偏倚地检测样本中所有微生物的核酸序列,从而全面揭示感染的病原体谱。ZHAO 等^[26]在一项针对重症肺炎患者的研究中,mNGS 检测到的混合感染率在免疫功能障碍组为 58.82%,显著高于传统方法的 17.96%。此外,对于一些罕见病原体感染,如猫抓病病原体汉赛巴尔通体、隐孢子虫、耶尔森菌等,mNGS 能够快速准确地识别,避免了误诊^[27-28]。

第四,NGS 不仅可实现病原体的检测,还可以同时对该病原体的耐药基因进行分析,为精准抗感染治疗提供依据。存在免疫功能障碍的患者长期处在抗菌药物环境里,易感染耐药菌株,mNGS 可利用对测序数据实施生物信息学分析,预测病原体耐药基因的图谱,辅助临床选择敏感抗菌药物。ZHANG 等^[19]的临床回顾分析表明,tNGS 进行耐药基因检测的结果和培养药敏结果的符合率约为 65.0%。mNGS 也能用来监测 ICU 环境中耐药基因的分布及传播情况,为感染控制提供参考^[29]。

mNGS 在 ICU 免疫功能障碍患者感染诊断中的工作流程与临床整合路径需遵循严谨且连贯。首先采集患者临床样本(如支气管肺泡灌洗液、血液、脑脊液等),对样本进行预处理后提取其中的微生物核酸(DNA 或 RNA),接着通过文库构建将核酸片段连接特定接头并完成 PCR 扩增,再利用测序平台进行高通量测序以获取原始下机数据;随后进入生物信息分析阶段,先去除宿主基因组序列等背景干扰,再将有效序列与微生物数据库进行比对,结合质量控制标准筛选出具有临床意义的信息,生成包含病原体种类、丰度及耐药基因的初步列表;最后临床医生需整合该列表与患者的宿主免疫状态(如免疫缺陷类型、免疫抑制程度)、影像学检查结果(如肺部 CT 病灶特征)及常规实验室指标(如血常规、炎症标志物),综合判断样本中检出的微生物是确诊感染、疑似感染还是定植或污染,最终依据此判断指导抗感染治疗方案的制订与调整,实现精准诊疗。

3 mNGS 技术在 ICU 免疫功能障碍感染诊断的临床意义与挑战

3.1 临床意义 针对 ICU 免疫功能障碍患者感染进行诊断时,mNGS 技术的临床价值主要表现为可大幅提升诊断效率与准确性,尤其是对于传统检测手段不易鉴定的病原体和复杂感染情况。有免疫功能障碍的患者,自身免疫防御机制遭到了破坏,感染所显示出的临床症状往往不典型,而且病原体的种类十分繁多,涵盖细菌、真菌、病毒及寄生虫等类别,传统培养方法一般用时比较长,而且检测呈现出的阳性结果概率低,不能契合 ICU 患者对快速诊断的期望。在重症肺炎诊断这个阶段,传统培养方法阳性率一般仅能达到 60.0%左右,而 mNGS 技术的实际检出率能达到 95.0%以上,明显强化了病原体的检测效果^[30-31]。这种高灵敏度让临床医生在更早阶段明确感染源,进而及时改变治疗方案,防止经验性广谱抗菌药物陷入滥用困境,减缓耐药性的形成。

mNGS 技术的另一个重要临床价值是它能有效检测罕见及难培养的病原体,免疫功能出现故障的患

者易遭受罕见病原体侵害如耶氏肺孢子菌、烟曲霉菌、米根霉等,用传统培养方法难以检测到这些病原体,而 NGS 技术通过对样本中微生物核酸的直接测序,能快速鉴定出这些病原体^[32-34]。例如,一位 61 岁患皮炎且正在接受皮质类固醇治疗的男性患者,在经验性广谱抗菌和抗真菌药物治疗却没有起效后,通过 NGS 检测发现其支气管肺泡灌洗液中存在耶氏肺孢子菌、烟曲霉、米根霉 3 种真菌,据此调整治疗方案后患者病情明显好转^[32]。这一案例充分说明 mNGS 在罕见病原体检测中的关键作用,可为临床提供精准可靠的病原学证据,引导实施针对性治疗。

mNGS 技术在检测混合感染时展现出独特优势,免疫功能出现障碍的患者时常有多种病原体的混合感染,传统的检测途径往往只能检测出一种或几种相关病原体,容易遗漏次要病原体,引起治疗不彻底。而 mNGS 技术可同时对本样本里的多种微生物加以检测,涵盖细菌、真菌、病毒等类,全面反映感染情况。在 ZHANG 等^[35]有关儿童重症肺炎的研究里,NGS 检测发现,患者支气管肺泡灌洗液中存在细菌合并病毒或真菌感染的情况,病毒感染中巨细胞病毒(CMV)最为常见,真菌感染涉及耶氏肺孢子菌、烟曲霉等真菌种类,这些混合感染与疾病严重程度、死亡率有显著的相关性。通过明确混合感染的病原体组成,临床医生可拿出更全面的治疗方案,增强治疗成功实现的概率。

mNGS 技术还可为免疫功能障碍患者的遗传背景剖析提供重要资料,协助开展原发性免疫缺陷病(PID)的诊断,部分免疫功能障碍的患者感染易感性是由于遗传基因突变引起,如 MHC II 类分子缺陷等,用传统方法对这些疾病进行确诊较难,而所谓的 NGS 技术,特别是全外显子测序与靶向基因 panel 测序,可快速辨认出相关基因突变,明确诊断^[14,36]。一例出生 117 d 的男婴因反复感染入院,采用 WES 检测,发现其 CIITA 基因有杂合突变,诊断其患有 MHC II 类分子缺陷病,给后续的干细胞移植治疗提供了关键支撑^[14]。这说明 mNGS 技术不光能诊断感染,还可揭示出感染背后隐藏的遗传免疫缺陷,为患者的长期管理及遗传咨询提供帮助。

借助 mNGS 技术能优化 ICU 患者治疗策略,提升预后效果,通过快速准确的病原学诊断,临床医生可及时调整抗菌药物的具体使用方案,减少不必要的广谱抗菌药物的运用,降低住院天数,节省医疗开支,YANG 等^[31]针对重症医院获得性肺炎(HAP)患者实施的研究显示,与传统检测方法相比,使用 NGS 技术的患者抗菌药物调整率更高(70.0% vs. 43.9%),7 d 内肺部感染相关症状的改善概率也更高(60.6% vs.

37.9%)。虽然该研究中,两组患者 28 d 与 90 d 的死亡率无明显差异,但已证实 NGS 技术在指导精准治疗、减少抗菌药物滥用上有优势,长期进行应用有望进一步提高患者的预后水平。

3.2 面临的技术和应用挑战 尽管 mNGS 技术在 ICU 免疫功能障碍感染诊断里呈现出突出优势,但它在技术与应用层面依然面临众多挑战,这些问题在一定程度上限制了它在临床实际应用中的普及,技术方面面临的挑战主要有测序成本高、数据分析繁琐及检测灵敏度与特异度的平衡难题。前沿测序技术,尤其是全基因组测序加上宏基因组测序,需用到价格昂贵的仪器及试剂,单次检测所需成本偏高,这在资源有限的医疗机构之中是个不小的负担^[37-38]。mNGS 所产生的海量数据需专业生物信息学人员进行处理与解读,含有序列比对、变异甄别、病原体注释内容等,这既要求实验室具备强大的计算能力,还需要专业的数据分析人才,而当前许多临床实验室在这方面有不足^[38-39]。数据分析的复杂性尤为突出,当前缺乏统一的生物信息学分析标准和规范的数据库,不同实验室在物种注释算法、报告阈值设定上各不相同,直接影响结果的一致性和可比性。国家临检中心 2022 年的下呼吸道感染 mNGS 室间质评结果显示,在 122 家实验室中,合格率仅为 41.8%,反映出各实验室检测水平参差不齐,流程复杂多样且在不断变动。

就检测灵敏度和特异度相关情况而言,mNGS 技术面临着如何有效辨别感染病原体与背景微生物的难题,临床样本多数含有大量的宿主 DNA 及正常菌群,这些背景信号有概率对目标病原体的检测产生干扰,引发检测结果呈现假阳性。不同品牌甚至不同批次的 DNA 提取试剂中都存在独特的背景微生物群落,其中可能包含常见的致病菌 species,这构成了假阳性的潜在来源。在血液采集样本中,宿主 DNA 的浓度往往大幅度超过微生物 DNA,这会引发 mNGS 检测的灵敏度下降,提高检测效率,需通过富集微生物 DNA 或者去除宿主 DNA 的途径,但这些前期处理步骤或许会引入新的偏差^[40-41]。由 mNGS 检测到的病原体 DNA 或许是来自定植而非感染,评判检测结果的临床意义是个复杂的问题,应结合患者临床症状、影像学检测及别的实验室指标一起判断,这造成结果解读的难度增加^[42-43]。在上述室间质评中,即便检测到了真实病原体,仍有高达 36.8% 的实验室未能依据病例信息做出准确的临床诊断,这暴露出在区分“定植”与“感染”方面的临床解读能力存在显著不足。

应用领域的挑战主要包含检测周转时间过长、结果标准化及质量控制不易,以及临床医生对 mNGS 结果的理解及应用能力欠佳,传统培养方法虽然耗

时,但对某些病原体(如细菌)的检测结果一般在 24~48 h 内可获取,而 mNGS 技术从采集样本起至结果报告出来往往需 24~72 h,这对于病情极为危急的 ICU 患者而言,或许耽误最佳治疗时机^[8,37]。尽管已有研究采用优化实验流程 and 数据分析手段来缩短周转时间,如 nanopore 靶向测序技术可以把检测时间缩短到数小时,但这项技术的灵敏度和特异度还需要进一步验证^[44]。

结果标准化及质量控制成为 mNGS 技术临床应用的又一重要挑战,不同实验室采用的测序平台、文库制备方法和数据分析流程并非一致,导致检测结果在一致性、可比性上不佳,一项多中心研究探究了不同 mNGS 方法在肺炎病原体诊断中的表现差异,发现不同方法的灵敏度跟特异度存在显著差异,这说明建立统一的标准化操作流程和质量控制标准十分关键^[44-45]。具体的标准化难题体现在,目前国内 mNGS 检测多为实验室自建方法,国家临检中心的质评报告指出,参与实验室中 26.2% 未使用阳性质控,27.0% 未使用内参,仅 76.2% 的实验室全面验证过分析灵敏度等基本性能指标,这表明质量控制体系尚不完善。mNGS 检测结果报告格式同样缺乏统一规范,如何把复杂的测序数据转换为临床医生容易掌握的信息,是确保 NGS 技术有效应用的关键^[39,42]。

伦理与法规的问题也不容忽视,mNGS 技术在检测病原体的同时,大概会意外探知患者的遗传信息,诸如基因变异或遗传疾病风险,这引发了关于隐私保护和知情同意的伦理矛盾^[38,46]。mNGS 技术临床应用缺少完善的法规监管体系,检测项目审批、质量把控及结果报告等方面的规范未完善,这也对其推广应用形成了一定的阻碍^[38-39]。

3.3 未来发展方向 为了应对 mNGS 技术在 ICU 免疫功能障碍感染诊断中面临的挑战,未来的发展方向应聚焦于技术创新、流程优化、结果解读标准化及多学科协作等多个方面,首先,在技术创新方面,开发更高通量、速度更快、成本更低的测序平台是核心要点。目前,nanopore 测序技术因其实时测序能力和便携性受到普遍关注,该技术能在数小时内完成从样本处理直至得到结果的全流程,预期能显著缩短检测周转时间^[44,47]。LIN 等^[44]的一项多中心研究对 nanopore 靶向测序在肺炎病原体诊断里的应用做了评估,结果显示它的灵敏度与 mNGS 较为相当,但检测所占用的时间更短,且成本更低。随着 nanopore 测序技术逐步改良,其读长和准确水平将进一步提升,有望作为 ICU 快速诊断的重要法宝。

参考文献

[1] QUINN J, MODELL V, HOLLE J, et al. Jeffrey's in-

- sights; Jeffrey Modell Foundation's global genetic sequencing pilot program to identify specific primary immunodeficiency defects to optimize disease management and treatment[J]. *Immunol Res*, 2020, 68(3):126-134.
- [2] LUNGU O, GRIGORAS I, DORNEANU O S, et al. Indwelling device-associated biofilms in critically ill cancer patients-study protocol[J]. *Pathogens*, 2021, 10(3):306.
- [3] DENG Q, CAO Y, WAN X, et al. Nanopore-based metagenomic sequencing for the rapid and precise detection of pathogens among immunocompromised cancer patients with suspected infections[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:943859.
- [4] HU Z, WENG X, XU C, et al. Metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for toxoplasmic encephalitis[J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2018, 17(1):45.
- [5] ZHANG P, CHEN Y, LI S, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the clinical diagnosis and prognosis of acute respiratory distress syndrome caused by severe pneumonia: a retrospective study [J]. *PeerJ*, 2020, 8:e9623.
- [6] CHEN Y, FENG W, YE K, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of pulmonary infectious pathogens from bronchoalveolar lavage samples[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11:541092.
- [7] GOELZ H, WETZEL S, MEHRBARZIN N, et al. Next and third-generation sequencing outperforms culture-based methods in the diagnosis of ascitic fluid bacterial infections of ICU patients[J]. *Cells*, 2021, 10(11):3226.
- [8] OVERBEEK R, LEITL C J, STOLL S E, et al. The value of next-generation sequencing in diagnosis and therapy of critically ill patients with suspected bloodstream infections: a retrospective cohort study[J]. *J Clin Med*, 2024, 13(2):306.
- [9] DUAN L W, QU J L, WAN J, et al. Effects of viral infection and microbial diversity on patients with sepsis: a retrospective study based on metagenomic next-generation sequencing[J]. *World J Emerg Med*, 2021, 12(1):29-35.
- [10] NIU S, LIU D, YANG Y, et al. Clinical utility of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease patients in the intensive care unit[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14:1397733.
- [11] LUO C, LIN Y, CHEN C, et al. Diagnosis of severe Chlamydia psittaci pneumonia by metagenomic next-generation sequencing: 2 case reports[J]. *Respir Med Case Rep*, 2022, 38:101709.
- [12] LI M, YAN K, JIA P, et al. Metagenomic next-generation sequencing may assist diagnosis of cat-scratch disease[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:946849.
- [13] XI Y, ZHOU J, LIN Z, et al. Patients with infectious diseases undergoing mechanical ventilation in the intensive care unit have better prognosis after receiving metagenomic next-generation sequencing assay[J]. *Int J Infect Dis*, 2022, 122:959-969.
- [14] ZHANG X, WANG Y, PEN D, et al. Diagnosis of mixed infection and a primary immunodeficiency disease using next-generation sequencing: a case report[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13:1179090.
- [15] LACOSTE C, FABRE A, PÉCHEUX C, et al. Next-generation DNA sequencing in clinical diagnostics[J]. *Arch Pediatr*, 2017, 24(4):373-383.
- [16] LEE N C. The incorporation of next-generation sequencing into pediatric care[J]. *Pediatr Neonatol*, 2023, 64(Suppl 1):S30-S34.
- [17] CHEN M, CAI Y, WANG L, et al. Metagenomic next-generation sequencing testing from the perspective of clinical benefits[J]. *Clin Chim Acta*, 2024, 553:117730.
- [18] ZHAO X, GE Y, ZHANG Y, et al. Pathogen diagnosis value of nanopore sequencing in severe hospital-acquired pneumonia patients [J]. *Infect Drug Resist*, 2023, 16:3293-3303.
- [19] ZHANG P, LIU B, ZHANG S, et al. Clinical application of targeted next-generation sequencing in severe pneumonia: a retrospective review[J]. *Crit Care*, 2024, 28(1):225.
- [20] KRŠKOVÁ L, KALINOVÁ M, NEMEČKOVÁ T, et al. Next generation sequencing - a science tool or routine pathology? [J]. *Cesk Patol*, 2021, 57(3):136-143.
- [21] ZHU T, GONG X, BEI F, et al. Application of next-generation sequencing for genetic diagnosis in neonatal intensive care units: results of a multicenter study in China [J]. *Front Genet*, 2020, 11:565078.
- [22] YE B, SMERIN D, GAO Q, et al. High-throughput sequencing of the immune repertoire in oncology: applications for clinical diagnosis, monitoring, and immunotherapies[J]. *Cancer Lett*, 2018, 416:42-56.
- [23] LI X, LIANG H, FAN J. Prospects of cytomegalovirus-specific T-cell receptors in clinical diagnosis and therapy [J]. *Viruses*, 2023, 15(6):1334.
- [24] 段智梅, 沈志勇, 胡晔, 等. 宏基因组高通量测序在免疫缺陷患者肺部感染诊断与治疗中的应用价值[J]. *中华医学杂志*, 2023, 103(25):1885-1891.
- [25] ZHAO J, SUN Y, TANG J, et al. The clinical application of metagenomic next-generation sequencing in immunocompromised patients with severe respiratory infections in the ICU[J]. *Respir Res*, 2024, 25(1):360.
- [26] ZHAO J, ZHUGE R, HU B, et al. Clinical impact of

- bronchoalveolar lavage fluid metagenomic next-generation sequencing in immunocompromised patients with severe community-acquired pneumonia in ICU: a multicenter retrospective study [J]. *Infection*, 2025, 53 (5): 1911-1927.
- [27] TIE X, ZHANG Z, ZHOU R, et al. A case of septic shock due to delayed diagnosis of *Cryptosporidium* infection after liver transplantation [J]. *BMC Infect Dis*, 2023, 23(1): 260.
- [28] WANG Y, XIANG Y, LEI C, et al. Liver abscess and splenic infarction due to *Yersinia pseudotuberculosis* bloodstream infection: a case report [J]. *BMC Infect Dis*, 2024, 24(1): 1415.
- [29] YANG J, LI L, ZHU X, et al. Microbial community characterization and molecular resistance monitoring in geriatric intensive care units in China using mNGS [J]. *Infect Drug Resist*, 2023, 16: 5121-5134.
- [30] 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.
- [31] YANG T, MEI Q, FANG X, et al. Clinical value of metagenomics next-generation sequencing in bronchoalveolar lavage fluid for patients with severe hospital-acquired pneumonia: a nested case-control study [J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 1505-1514.
- [32] ZHANG K, YU C, LI Y, et al. Next-generation sequencing technology for detecting pulmonary fungal infection in bronchoalveolar lavage fluid of a patient with dermatomyositis: a case report and literature review [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 608.
- [33] XIE Y, RUAN B, JIN L, et al. Case report: next-generation sequencing in diagnosis of pneumonia due to *Pneumocystis jirovecii* and cytomegalovirus in a patient with HIV infection [J]. *Front Med*, 2021, 8: 653294.
- [34] LIU Y, ZHU H, ZHENG Y. Detection of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in infants with non-human immunodeficiency virus admitted to pediatric intensive care using metagenomics next-generation sequencing [J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 1889-1902.
- [35] ZHANG C, LIU T, WANG Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing of bronchoalveolar lavage fluid from children with severe pneumonia in pediatric intensive care unit [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1082925.
- [36] RAE W, WARD D, MATTOCKS C, et al. Clinical efficacy of a next-generation sequencing gene panel for primary immunodeficiency diagnostics [J]. *Clin Genet*, 2018, 93 (3): 647-655.
- [37] ZHONG Y, XU F, WU J, et al. Application of next generation sequencing in laboratory medicine [J]. *Ann Lab Med*, 2021, 41(1): 25-43.
- [38] DI RESTA C, GALBIATI S, CARRERA P, et al. Next-generation sequencing approach for the diagnosis of human diseases: open challenges and new opportunities [J]. *EJIFCC*, 2018, 29(1): 4-14.
- [39] ZHAO Y, ZHANG W, ZHANG X. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of infectious diseases [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14: 1458316.
- [40] CAMARGO J F, AHMED A A, LINDNER M S, et al. Next-generation sequencing of microbial cell-free DNA for rapid noninvasive diagnosis of infectious diseases in immunocompromised hosts [J]. *F1000Res*, 2019, 8: 1194.
- [41] 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.
- [42] CHOI Y, ODA E, WALDMAN O, et al. Next-generation sequencing for pathogen identification in infected foot ulcers [J]. *Foot Ankle Orthop*, 2021, 6(3): 24730114211026933.
- [43] TSANG H F, YU A C S, JIN N, et al. The clinical application of metagenomic next-generation sequencing for detecting pathogens in bronchoalveolar lavage fluid: case reports and literature review [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2022, 22(5): 575-582.
- [44] LIN Q, YAO Y, LI X, et al. The application of nanopore targeted sequencing for pathogen diagnosis in bronchoalveolar lavage fluid of patients with pneumonia: a prospective multicenter study [J]. *Infect Dis*, 2024, 56(2): 128-137.
- [45] LEI X, XU X, LIU C, et al. Clinical evaluation of two pathogen enrichment approaches for next-generation sequencing in the diagnosis of lower respiratory tract infections [J]. *Microbiol Spectr*, 2025, 13(7): e00922-e00925.
- [46] KLEIN C J, FOROUD T M. Neurology individualized medicine: when to use next-generation sequencing panels [J]. *Mayo Clin Proc*, 2017, 92(2): 292-305.
- [47] NAIK S, KASHYAP D, DEEP J, et al. Utilizing next-generation sequencing: advancements in the diagnosis of fungal infections [J]. *Diagnostics*, 2024, 14(15): 1664.