

# mNGS在肺部感染应用中的研究进展

裴红运<sup>1</sup>, 山凤莲<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>济宁医学院临床医学院, 山东 济宁

<sup>2</sup>济宁医学院附属医院呼吸与危重症医学科, 山东 济宁

收稿日期: 2022年12月17日; 录用日期: 2023年1月9日; 发布日期: 2023年1月17日

## 摘要

肺部感染是目前临床常见的呼吸系统感染性疾病之一, 易合并各种并发症, 致死率高, 严重威胁人类健康。其致病病原体涵盖范围广, 且易合并感染。而目前传统病原体检测方式具有耗时长、阳性率低等情况, 会影响肺部感染的早期诊断。宏基因组二代测序技术(mNGS)是近几年发展起来的一种高通量测序技术, 与传统方法相比能快速、准确检测出病原体。

## 关键词

肺部感染, 宏基因组二代测序, 病原体检测

# Research Progress of mNGS in Pulmonary Infection

Hongyun Pei<sup>1</sup>, Fenglian Shan<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining Shandong

<sup>2</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining Shandong

Received: Dec. 17<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jan. 9<sup>th</sup>, 2023; published: Jan. 17<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Pulmonary infection is one of the common respiratory infectious diseases, which is easy to be complicated with various complications and has a high mortality rate, and seriously threatens human health. Its pathogenic pathogens cover a wide range, and are easy to co-infect. However, the traditional pathogen detection methods have the disadvantages of long time consuming and low posi-

\*通讯作者。

tive rate, which will affect the early diagnosis of pulmonary infection. Metagenome second-generation sequencing (mNGS) is a high-throughput sequencing technology developed in recent years, which can detect pathogens quickly and accurately compared with traditional methods.

## Keywords

Lung Infection, Metagenome Second-Generation Sequencing, Pathogen Detection

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肺部感染是世界范围内死亡和发病的主要原因,是指由包括细菌、真菌、病毒等各种病原体引起的包括支气管、肺泡和肺间质等肺实质性感染,其临床症状多为发热、咳嗽、咳痰、胸闷等,是临床很常见的呼吸系统感染性疾病[1]。特别是在免疫功能低下者及老年人群中发病最为常见[2],治疗不及时会发展为重症肺炎、呼吸衰竭等,预后很差,病死率高,为人类健康事业发展带来巨大挑战[3]。因此,临床上快速、准确的检测和鉴定肺部感染的病原体进而对患者实行针对性治疗及其关键。

宏基因组下一代测序(metagenomic next generation sequencing, mNGS)技术是新兴的一种病原体检测方法,通过对标本中的所有微生物进行测序,并根据不同微生物的序列数进行结果判读,能有效识别病原体,与传统检测方法相比,具有覆盖面广、周期相对较短、受抗生素早期应用影响小等优点[4]。目前在肺部感染中的应用愈发频繁,因此本文就 mNGS 在肺部感染性疾病中的研究应用做一概括。

## 2. mNGS 肺部感染在不同病原体中的应用

### 1) mNGS 在细菌中的应用

细菌在肺部感染病原体占据重要地位,目前临床上最常用的检测方法是对分泌物等标本进行细菌培养,但培养的结果一般仅为常见的细菌,而对于特殊菌、罕见菌的效果欠佳。大量的研究表明, mNGS 对病原菌的检测阳性率高于传统培养法,弥补传统细菌培养的不足[5] [6] [7]。但 Xie [8]及其团队等分析比较了 140 例疑似肺部感染住院患者的 mNGS 和常规检测结果,他们发现 mNGS 与常规检测方法的病原体阳性检出率存在显著差异。其中, mNGS 对疑似肺部感染病原体的灵敏度高于常规方法,但特异性并没有显著差别。此外谢栓栓等[9]也报道了在检测肺部感染常见菌方面, mNGS 与常规培养的特异性未见明显优势。我们认为这可能与标本原因、人体特异性等方面有关。除此之外,对于罕见、检测困难的细菌,如结核分枝杆菌等, mNGS 似乎也发挥重要作用[10] [11] [12]。如 Ma 等[10]报道了 1 例考虑结核分枝杆菌感染的老年患者,经过血检、培养、支气管镜等结核相关检查均未检出结核分枝杆菌,他们为明确患者致病病原体对支气管肺泡灌洗液(Broncho Alveolar Lavage Fluid, BALF)行 mNGS 检测,检测结果不仅检出了结核分枝杆菌,还包括白色假丝酵母菌。上述 Ma 等人研究结果提示了 mNGS 在结核分枝杆菌检测中的潜力,因此 Xi Liu [11]等人对 311 例疑似和确诊肺结核患者的 BALF 标本进行了 mNGS 检测,并与包括结核 X-pert 检测、痰培养、抗酸杆菌染色等在内的常规病原微生物检测进行比较。他们发现在部分常规检测方法阴性的标本中, mNGS 可检测出结核分枝杆菌,这与 Shi 等[12]的结果 mNGS 对结核分枝杆菌的检测高于结核 X-pert 的灵敏度相吻合。此外,通过上述两个团队的报道发现 mNGS 和常规检

测方式结合对结核分枝杆菌的检出更有意义。对于非结核分枝杆菌, 已有相关研究报道了利用 mNGS 在肺部感染患者 BALF 中检测出的报道[13][14], 这也是对常规检测方法的补充。综上, 与传统病原体检测相比, mNGS 不但在常见细菌的检测中占优势, 还对罕见菌的检测有较大价值。

### 2) mNGS 在真菌中的应用

近年来随着因病情等需要使用免疫抑制剂的高危人群增多, 肺部真菌病的患病率呈明显上升趋势。人体肺部感染的真菌多为机会致病菌, 且传统的检测方式耗时较长。Yang 等[15]分析比较了 106 例疑似肺部真菌感染患者 mNGS 检测与常规检测方式的结果, 发现对支气管肺活检(TBLB)组织、BALF 标本进行 mNGS 检测在诊断肺部真菌感染方面的灵敏度显著高于常规检测, 但 mNGS 与常规检测的特异度无显著差异。肺孢子菌和曲霉菌是引起人类肺部感染的常见真菌, 在免疫抑制人群中为甚。如肺孢子菌易发生在 HIV 患者中引起肺孢子菌肺炎(Pneumocystis pneumonia, PCP), 但近年来关于非 HIV 型肺孢子菌肺炎确诊的患者逐渐增多。Lu 等[16]对 4 份非 HIV 感染的肺孢子菌肺炎病例使用 mNGS 与传统检测方法进行比较, 结果显示 mNGS 检测出肺孢子菌的时间明显短于传统检测方法。而对于曲霉菌, 目前已有相关研究报道了与常规真菌检测方法相比 mNGS 能提高曲霉菌检出的阳性率[17]。此外, He BC 等[18]利用 mNGS 技术报道了非免疫功能抑制的患者也可能出现侵袭性肺曲霉菌。综上, mNGS 在真菌感染中的诊断价值远大于传统检测方法。

### 3) mNGS 在病毒中的应用

在临床工作中由病毒引起的肺部感染也并不少见, 如鼻病毒、腺病毒、冠状病毒及呼吸道合胞病毒等。传统的病毒检测方法主要包括血清学试验(抗原和抗体检测)和核酸检测等, 但这些检测方法均靶向特定病毒检测, 病毒覆盖范围较小, 而 mNGS 检测几乎可检测样本中所有的病原体, 因此在病原检测中具有明显优势。van Boheemen 及其团队[19]的研究结果提示 mNGS 技术与病毒核酸 PCR 相比, mNGS 检测具有高灵敏度和高特异性。此外, 他们利用 mNGS 技术还检测出了传统检测方法未检测到的病毒如丙型肝炎病毒等, 但未检出病毒是否致病尚需要进一步研究。因此, mNGS 在检测肺部病毒方面有很高的实用价值, 这也在近些年的新冠病毒感染中发挥了巨大作用。

### 4) mNGS 在特殊病原体中的应用

支原体、衣原体作为非典型病原体, 也是肺部感染中常见的致病菌, 尤其是支原体常引起儿童和青年肺部感染。Lin Ding 等[20]利用 mNGS 技术对支原体感染肺炎患者进行早期诊断, 为支原体感染患者早诊断、早治疗提供帮助。此外, 马彩霞等[21]人发现 mNGS 可显著提高儿童重症支原体肺炎中混合感染的检出率, 尤其是合并病毒的混合感染。同时 mNGS 对于衣原体感染也有应用价值, 已有研究报道传统方法未检出但利用 mNGS 技术检测出鹦鹉热衣原体的病例, 这提示 mNGS 在诊断鹦鹉热衣原体肺炎中的潜在优势[22][23]。

### 5) mNGS 在肺部混合性感染中的应用

肺部混合性感染是由多种致病微生物引起, 其临床症状不典型, 且肺部感染进展快、病情重、病死率高, 为患者带来巨大的风险。mNGS 的病原体检测范围广泛, 其无偏性测序对混合感染病原体的检出更具优势。Wang 等[24]通过对 55 例混合性肺部感染患者进行分析, 得出 mNGS 诊断混合性肺部感染的灵敏度远高于传统检测方式, 这提示 mNGS 在诊断混合性肺部感染方面具有快速、准确的特点。此外, 他们还发现 mNGS 能够检测出常规检测方法未检测出的病原体, 且 Chen 等[25]人的研究也报道了 mNGS 技术鉴定出的病原体远多于传统培养方法, 这也提示 mNGS 在多种病原体混合性感染诊断中的绝对优势。

## 3. mNGS 标本的选择

mNGS 技术相对于传统检测方法检测价格高, 标本多次送检难以实现, 且不同的肺部感染疾病病原

微生物分布不同, 因此要有针对性的选择标本送检。临床常用的呼吸道样本包括痰液、支气管肺泡灌洗液、血液、胸腔积液、肺组织等[26], 各自有其适用情况。痰液标本取样快捷简单, 但口腔内的定植菌群等可能会污染标本, 且在深部肺感染中痰液标本的代表性较差。对于诊断深部肺部感染, 肺泡灌洗液是常用的标本, 其受口咽腔定植菌的影响较小。但肺泡灌洗液为侵入性检测手段, 对不能耐受支气管镜检查的患者受限。血液标本采集也较为方便, 临床上常用于肺部侵袭性感染(如侵袭性真菌病)、脓毒血症、菌血症等患者, 对于不能耐受支气管镜检查的患者也可考虑血液及痰液标本。胸腔积液标本适用范围较小, 常用于肺部感染合并胸腔积液形成的患者。综上所述, 在临床工作中要根据实际情况选择合适的标本送检 mNGS。

#### 4. mNGS 的优势和局限性

mNGS 作为一种新兴的病原体检测方式近年来使用逐渐增多, 在使用过程中也逐步发现其优势和局限性。mNGS 在鉴别病原体过程无需预先设定目标病原体、不需要特异性引物、不受基因突变的影响, 其检测周期短、检测范围广泛、灵敏度高, 并且 mNGS 可鉴定病原体的分型及毒力基因检测。在治疗中与常规检测方式相比 mNGS 的检出率受抗生素的影响较小[27], 不易因早期经验性使用抗生素导致病原体检测出现假阴性情况, 且 mNGS 的结果可以指导抗生素的使用。此外, mNGS 对于耐药基因的检测在临床上也有一定进展[28], mNGS 可通过对微生物的基因组进行测序, 评估耐药基因的多样性及抗性, 进而为发现新的耐药靶点有指导意义, 也对耐药菌群的新型敏感抗生素的研发具有重要的潜在价值。

mNGS 在临床使用中也存在局限性, 其主要表现在: 1) 数据库落后、不完整: mNGS 对病原微生物的鉴别能力主要取决于参考数据库的完整性[29], 目前数据库中有大量已知微生物的序列信息, 但仍需要精心设计并不断进行更新完善。2) 标本易污染: 在 mNGS 标本从采集处理到送检过程中有许多步骤容易受到污染, 如采样不规范、试剂盒污染等, 这都会导致异常的结果偏差, 最终影响临床医生判断。因此, 控制整个过程中的污染和干扰是需要注重的, 规范化检测程序尽可能减少污染有助于临床上更好的诊断。3) 结果解读问题: mNGS 检测出的病原微生物虽然较多, 但目前还无法区分致病菌、定植菌和污染菌等, 因此 mNGS 最终呈现的结果并不能直接采用, 还需要临床医生结合患者症状、体征及辅助检查结果等综合进行判读。未来是否开发出新的数据分析系统对 mNGS 的结果进行精确分析, 从而解决临床上的难题是我们目前关心的[30]。4) 检测价格昂贵: 目前因为其检测成本, mNGS 价格仍较高, 尤其是检测核酸遗传信息等对患者经济负担较重, 如何降低检测费用是在临床上普及的关键。

#### 5. 小结与展望

现如今肺部感染性疾病发病率越来越高, 人们迫切需要一种精度更高的病原体检测方式, 尤其是在疑难病原体感染中。病原体检测时间长、阳性率低、受早期抗生素影响大等问题增加了临床医师诊疗的难度, 也对患者的生命健康带来巨大的挑战。mNGS 技术在近些年来不断发展, 大大地弥补了传统病原体检测方法的不足, 有很好的临床使用价值。但 mNGS 目前仍有其局限性, 在临床实际应用中需与常规病原体检测方式互相配合, 才能更好地为临床诊断提供帮助。当然随着科技的快速发展, 我们有理由相信 mNGS 在未来肺部感染性疾病中的使用会更加广泛, 凭借其众多优势成为临床上一项重要的医学检验技术, 给患者带来更大的获益。

#### 参考文献

- [1] GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators (2018) Estimates of the Global, Regional, and National Morbidity, Mortality, and Aetiologies of Lower Respiratory Infections in 195 Countries, 1990-2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Infectious Diseases*, **18**, 1191-1210.

- [2] 冯玲, 熊佳丽, 易荣, 刘毅. 宏基因组二代测序在肺部感染诊治的临床价值[J]. 临床肺科杂志, 2021, 26(12): 1834-1838. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1009-6663.2021.12.011>
- [3] 陈梨, 张丽琴, 谢超. NGS 在感染性疾病诊断中的临床应用[J]. 国际呼吸杂志, 2020, 40(12): 940-943.
- [4] Qian, Y.Y., Wang, H.Y., Zhou, Y., *et al.* (2021) Improving Pulmonary Infection Diagnosis with Metagenomic Next Generation Sequencing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**, Article ID: 567615. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.567615>
- [5] Huang, J., Jiang, E., Yang, D., *et al.* (2020) Metagenomic Next-Generation Sequencing versus Traditional Pathogen Detection in the Diagnosis of Peripheral Pulmonary Infectious Lesions. *Infection and Drug Resistance*, **13**, 567-576. <https://doi.org/10.2147/IDR.S235182>
- [6] Xu, H., Hu, X., Wang, W., *et al.* (2022) Clinical Application and Evaluation of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Pulmonary Infection with Pleural Effusion. *Infection and Drug Resistance*, **15**, 2813-2824. <https://doi.org/10.2147/IDR.S365757>
- [7] Li, N., Ma, X., Zhou, J., *et al.* (2022) Clinical Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing Technology in the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Infection Pathogens: A Prospective Single-Center Study of 138 Patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **36**, e24498. <https://doi.org/10.1002/jcla.24498>
- [8] Xie, G., Zhao, B., Wang, X., *et al.* (2021) Exploring the Clinical Utility of Metagenomic Next-Generation Sequencing in the Diagnosis of Pulmonary Infection. *Infectious Diseases and Therapy*, **10**, 1419-1435. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00476-w>
- [9] 谢栓栓, 李譞, 李萍, 彭爱梅, 李晓峰, 李微, 王昌惠. 宏基因组二代测序技术对感染性疾病患者的诊断价值及其临床应用[J]. 国际呼吸杂志, 2020(9): 641-646.
- [10] Ma, N., Chen, M., Ding, J., *et al.* (2022) Recurrent Pneumonia with Tuberculosis and Candida Co-Infection Diagnosed by Metagenomic Next-Generation Sequencing: A Case Report and Literature Review. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **9**, Article ID: 755308. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.755308>
- [11] Liu, X., Chen, Y., Ouyang, H., *et al.* (2021) Tuberculosis Diagnosis by Metagenomic Next-Generation Sequencing on Bronchoalveolar Lavage Fluid: A Cross-Sectional Analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, **104**, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.12.063>
- [12] Shi, C.L., Han, P., Tang, P.J., *et al.* (2020) Clinical Metagenomic Sequencing for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *Journal of Infection*, **81**, 567-574. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.08.004>
- [13] 黄畅宇, 胡瑞成, 张有志, 李圣青. 应用二代测序技术诊断肺结核病及肺非结核分枝杆菌病各一例并文献复习[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2019, 18(1): 21-25.
- [14] 马潇泉, 高宝安, 牟干, 等. 利用宏基因组测序确诊肺结核及非结核分枝杆菌肺病各一例报道并文献复习[J]. 实用心脑血管病杂志, 2021, 29(1): 122-127. <https://doi.org/10.12114/j.issn.1008-5971.2021.01.024>
- [15] Yang, L., Song, J., Wang, Y., *et al.* (2021) Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pulmonary Fungal Infection Diagnosis: Lung Biopsy versus Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Infection and Drug Resistance*, **14**, 4333-4359. <https://doi.org/10.2147/IDR.S333818>
- [16] Lei, C., Zhou, X., Ding, S., *et al.* (2022) Case Report: Community-Acquired *Legionella gormanii* Pneumonia in an Immunocompetent Patient Detected by Metagenomic Next-Generation Sequencing. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **9**, Article ID: 819425. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.819425>
- [17] Li, H., Gao, H., Meng, H., *et al.* (2018) Detection of Pulmonary Infectious Pathogens from Lung Biopsy Tissues by Metagenomic Next-Generation Sequencing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **8**, 205. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00205>
- [18] He, B.C., Liu, L.L., Chen, B.L., *et al.* (2019) The Application of Next-Generation Sequencing in Diagnosing Invasive Pulmonary Aspergillosis: Three Case Reports. *The American Journal of Translational Research*, **11**, 2532-2539.
- [19] van Boheemen, S., van Rijn, A.L., Pappas, N., *et al.* (2020) Retrospective Validation of a Metagenomic Sequencing Protocol for Combined Detection of RNA and DNA Viruses Using Respiratory Samples from Pediatric Patients. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **22**, 196-207. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2019.10.007>
- [20] Ding, L., Zhao, Y., Li, X., *et al.* (2020) Early Diagnosis and Appropriate Respiratory Support for *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia Associated Acute Respiratory Distress Syndrome in Young and Adult Patients: A Case Series from Two Centers. *BMC Infectious Diseases*, **20**, 367. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05085-5>
- [21] 马彩霞, 陈镜龙, 陆泳, 等. 肺泡灌洗液宏基因组测序在儿童重症肺炎支原体肺炎混合感染中的诊断价值[J]. 临床儿科杂志, 2020, 38(12): 891-895.
- [22] Gu, L., Liu, W., Ru, M., *et al.* (2020) The Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Diagnosing *Chlamydia psittaci* Pneumonia: A Report of Five Cases. *BMC Pulmonary Medicine*, **50**, Article No. 65.

- <https://doi.org/10.1186/s12890-020-1098-x>
- [23] Wang, Y., Lu, H., Shao, R., *et al.* (2020) Clinical Characteristics Analysis of Patients with Pneumonia Infected by *Chlamydia psittaci*. *Chinese Critical Care Medicine*, **32**, 1388-1390.
- [24] Wang, J., Han, Y. and Feng, J. (2019) Metagenomic Next-Generation Sequencing for Mixed Pulmonary Infection Diagnosis. *BMC Pulmonary Medicine*, **19**, 252. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-1022-4>
- [25] Chen, P., Sun, W. and He, Y. (2020) Comparison of the Next-Generation Sequencing (NGS) Technology with Culture Methods in the Diagnosis of Bacterial and Fungal Infections. *Journal of Thoracic Disease*, **12**, 4924-4929. <https://doi.org/10.21037/jtd-20-930>
- [26] Liu, H., Zhang, Y., Chen, G., *et al.* (2022) Diagnostic Significance of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Community-Acquired Pneumonia in Southern China. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **9**, Article ID: 807174. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.807174>
- [27] Miao, Q., Ma, Y., Wang, Q., *et al.* (2018) Microbiological Diagnostic Performance of Metagenomic Next-Generation Sequencing When Applied to Clinical Practice. *Clinical Infectious Diseases*, **67**, S231-S240. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy693>
- [28] Ransom, E.M., Potter, R.F., Dantas, G., *et al.* (2020) Genomic Prediction of Antimicrobial Resistance: Ready or Not, Here It Comes! *Clinical Chemistry*, **66**, 1278-1289. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa172>
- [29] Maljkovic, B.I., Melendrez, M.C., Bishop-Lilly, K.A., *et al.* (2020) Next Generation Sequencing and Bioinformatics Methodologies for Infectious Disease Research and Public Health: Approaches, Applications, and Considerations for Development of Laboratory Capacity. *Infectious Diseases*, **221**, S292-S307.
- [30] Filkins, L.M., Bryson, A.L., Miller, S.A., *et al.* (2020) Navigating Clinical Utilization of Direct-from-Specimen Metagenomic Pathogen Detection: Clinical Applications, Limitations, and Testing Recommendations. *Clinical Chemistry*, **66**, 1381-1395. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa183>