

靶向二代测序技术在感染性疾病诊断中的应用

胡雨欣^{1*}, 刘文春^{2#}, 李庆玲²

¹湖北民族大学医学部, 湖北 恩施

²恩施土家族苗族自治州中心医院儿童神经呼吸康复科, 湖北 恩施

收稿日期: 2024年12月13日; 录用日期: 2025年1月6日; 发布日期: 2025年1月16日

摘要

感染性疾病发病率、死亡率仍位居全球前列。早期、精准明确致病病原体对该疾病临床工作诊治尤为关键。传统病原学检测技术耗时长, 且敏感度及特异度均低, 容易遗漏某些常见病原体。因此为更好满足当今感染性疾病诊治的临床需求, 需要寻找更敏感、高效、适用性强的病原学检测方法。靶向二代测序技术相对于传统检测技术而言, 具有通量高、耗时短、无偏倚、成本较低等独特优势, 能真实获得检出病原体的拷贝数, 在感染性疾病诊断中具有重要参考价值。本文就靶向二代测序技术在感染性疾病诊断中应用进行综述。

关键词

靶向二代测序技术, 感染性疾病, 病原体

Application of Targeted Second-Generation Sequencing Technology in the Diagnosis of Infectious Diseases

Yuxin Hu^{1*}, Wenchun Liu^{2#}, Qingling Li²

¹Health Science Center, Hubei Minzu University, Enshi Hubei

²Department of Neurorespiratory Rehabilitation for Children, The Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi Hubei

Received: Dec. 13th, 2024; accepted: Jan. 6th, 2025; published: Jan. 16th, 2025

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 胡雨欣, 刘文春, 李庆玲. 靶向二代测序技术在感染性疾病诊断中的应用[J]. 临床医学进展, 2025, 15(1): 500-506. DOI: 10.12677/acm.2025.151068

Abstract

The incidence rate and mortality rate of infectious diseases are still among the highest in the world. Early and accurate identification of the pathogenic pathogen is particularly critical for clinical diagnosis and treatment of the disease. Traditional etiological detection techniques are time-consuming, with low sensitivity and specificity, and are prone to missing certain common pathogens. Therefore, in order to better meet the clinical needs of diagnosis and treatment of infectious diseases, it is necessary to find more sensitive, efficient, and applicable etiological detection methods. Compared with traditional detection technology, targeted next-generation sequencing technology has unique advantages such as high throughput, short time consumption, no bias, and low cost. It can truly obtain the copy number of pathogens detected, and has important reference value in the diagnosis of infectious diseases. This article reviews the application of targeted next-generation sequencing technology in the diagnosis of infectious diseases.

Keywords

Targeted Next-Generation Sequencing Technology, Infectious Diseases, Pathogens

Copyright © 2025 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

感染性疾病如今仍是全球死亡率及发病率最高的疾病之一，研究表明死于感染性疾病的人数全球每年约有 1300~1500 万人[1]。由于感染性疾病因细菌、病毒、真菌等病原微生物侵袭引起，具有特异性，因此，早期明确致病病原微生物并积极采用敏感有效治疗方案对感染性疾病诊治至关重要。传统病原学检测技术耗时长，且敏感度及特异度均低，容易遗漏某些常见病原体。因此为更好满足当今感染性疾病诊治的临床需求，需要寻找更敏感、高效、适用性强的病原学检测方法。

二代测序技术(next generation sequencing, NGS)又称高通量测序技术，能同时进行数百万到数十亿个单独的测序反应[2]。因具有通量高、检测时效短、无偏倚、成本较低等独特优势使其为病原学诊断打开了新大门，并应用在临床各领域疾病诊疗中[3]。其中靶向二代测序技术(Targeted next generation sequencing, tNGS)针对特定病原体基因序列进行高通量测序，真实获得检出病原体的拷贝数，而且能完美避开人类基因组及背景菌的影响。本文就靶向二代测序技术在感染性疾病诊断中的应用进行综述。

2. 感染性疾病病原体检测现状

病原体检测标本主要包括呼吸道标本(如痰液、鼻咽分泌物、肺泡灌洗液、胸腔积液)、脑脊液、外周血、尿液等。常见检测方法有涂片染色镜检、分离培养、免疫学检测、分子生物学诊断等。其中“分离培养”仍是病原体诊断的金标准，但其检测耗时长、易受外在环境及药物使用影响，从而导致病原体阳性检出率低、缺乏敏感性，且病毒以及不典型病原体如支原体等不能经体外培养检出，使其不利于临床疾病的早期诊治[4]。涂片染色镜检主要应用于细菌及真菌检测，但在病毒检测方面具有局限性。免疫学检测方法包括免疫荧光试验、补体结合试验、凝集实验、酶联免疫测定等，其关键短板在于检测存在窗口期，易导致假阳性的发生。分子生物学诊断方法包涵核酸杂交、聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction,

PCR)、基因芯片、测序技术[5]。核酸杂交、PCR 以及基因芯片均依赖已知病原体的基因序列,在未知病原体检测方面具有局限性[6]。初代测序技术步骤繁琐,因难以实现自动化从而不能大规模应用。二代测序技术的出现,因其自身通量高的独特优势迅速取代初代测序技术并快速发展起来[7]。

3. 靶向二代测序技术简介

直至 2005 年,大规模平行 DNA 测序技术的应用标志着高通量测序时代正式开启[8]。随着测序仪的普及以及使用成本的降低使得该项技术得到广泛应用。NGS 最常见的几种测序方式包括靶向二代测序(tNGS)、宏基因组二代测序(Metagenomic next generation sequencing, mNGS)、全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)等。其中 tNGS 技术是将超多重 PCR 扩增与高通量测序结合的新一代测序技术,通过对临床样本中数十种乃至数百种已知病原微生物、毒力和/或耐药基因直接进行富集、高通量测序,再通过与数据库进行对比分析,最后根据得到的序列信息判断样本中包含的病原微生物种类[7] [9]。其流程主要包括:(1) 核酸提取:从患者样本中提取包括人类、致病菌以及定植菌的 DNA 和/或 RNA。(2) 文库构建:过程包涵合成 cDNA、目标区域富集、文库扩增、文库纯化及质控[10]。常见方式有两种,其中超多重 PCR 扩增又称为扩增子测序,主要通过 PCR 方法,利用引物与目标基因特异性结合从而得到大量扩增的目标基因进行高通量测序;而靶向捕获则是利用设计的探针和目标基因序列杂交,将目标基因从基因组中富集出来,这是两种方式的不同之处[11] [12]。(3) 测序:利用高通量测序平台测序从而获得富集后的核酸序列信息。(4) 生信分析及报告解读:将测序数据与病原体数据库进行比对,从而识别出样本中的病原体种类。在操作过程中需注意实验前要完成相关消杀工作。在核酸提取过程中若出现液体溅出,应立刻予以纸张吸附,并用 75%乙醇湿润后的吸水纸擦拭,擦干台面、更换手套后继续后续相关操作;若手套不小心误碰管盖内侧,则需立即更换新手套并将实验体系转管。在文库构建过程中加入磁珠、80%乙醇纯化时需小心吹打混匀,确保管盖盖紧,PCR 完成后样本需短暂离心再开盖行下一步操作,并在每次开盖后更换新的八连管盖。实验结束后需分别对实验台、生物安全柜以及空气进行消毒。为确保检出率,针对重要病原体引物需设计 5~7 对(其中结核需 7 对)。为确保结果准确性,需使用特异性接头、质控和内参评估监控以及全流程拍照记录并双人核对。而针对最后报告解读,若单一标本仍无法判定是否为致病菌时,在条件允许时可结合多个不同类型标本的检测结果判断[13] [14]。相较于 mNGS 而言,tNGS 针对特定病原体以及耐药基因信息进行超多重 PCR 扩增,同时兼顾 DNA 及 RNA 检测流程,大幅度降低了检测耗时及成本,并且排除了人源及背景菌群基因片段的干扰,真实反映出病原体的拷贝数[15] [16]。正是因为 tNGS 具备上述优势,且更易实现自动化、后期分析数据更简易,使得其在常规临床病原体检测中得到广泛应用,并在科研领域取得重大突破[17]。

4. tNGS 在感染性疾病病原体诊断中的临床应用

4.1. tNGS 在肺部感染中的应用

肺部感染常由单一或多种病原体侵袭引起,在全球发病率及死亡率仍居高位,因此及早明确致病病原体对疾病的诊治尤其重要[18]。王樱璇[10]等研究了 132 例感染肺炎的住院患儿,通过对比 tNGS 与常规微生物检测情况,发现在细菌(67.43% vs 8.33%)、病毒(83.32% vs 37.83%)、不典型病原体(92.42% vs 48.85%)以及混合感染(69.70% vs 5.30%)检出方面,前者均优于后者,同时指导了 13 例 tNGS 结果显示肺炎支原体耐药基因临床病例的二线用药。Lin R [19]等对 47 例肺部感染儿童肺泡灌洗液标本进行 tNGS 检测,与常规培养和抗菌药敏试验金标准检测做比较,发现 tNGS 敏感性(84.4%)及特异性(97.7%)均高于传统培养,同时以抗菌药敏试验为标准,发现 tNGS 检测出红霉素、四环素合格率分别为 89.5%、79.0%。证明了 tNGS 在难以培养的病原体检测方面以及预测上述两种抗生素耐药性方面的优势。Sun W [20]等通

过研究 85 例肺炎感染者肺泡灌洗液标本, 指出在细菌及真菌检测方面 tNGS (40.00%、10.00%) 与 mNGS (47.13%、18.85%) 检测性能相仿, 但在 DNA 病毒检出方面, 如人类疱疹病毒, tNGS 检出率总是优于 mNGS。Huang Z [21] 等对 99 例肾移植术后感染患者进行病因分析, 发现 93 例均为肺部感染, 通过行支气管镜检查留取其肺泡灌洗液进行 tNGS、mNGS 和传统病原学检测比较, 发现在细菌、真菌检出方面, tNGS、mNGS 阳性率均高于传统检测方法, 传统方法未能检出病毒, mNGS 病毒检出阳性率明显高于 tNGS, 但是总体来说这两种高通量检测技术阳性率相似。然而在敏感性方面 mNGS 明显优于 tNGS (100% vs 93.55%), 且均比传统检测手法敏感性强。Yu L [22] 等报告了首例通过 tNGS 技术诊断艾滋病患者感染耐热分枝杆菌的病例。该患者间断发热 1 月余、咳嗽黑便 9 天, 入院后 24 天内抗 HIV 抗体呈强阳性, 痰液送镜检及培养均阴性, 最后通过行 tNGS 检测在 4 天内结果回报示耐热分枝杆菌 1×10^6 拷贝数, 同时检测出无抗体突变, 并予以敏感性药物对症治疗, 大幅度缩短了患儿治疗时间。传统抗酸染色法培养时间长, 假阴性较多, 而且无法区分结核与非结核分枝杆菌属。由此说明 tNGS 检测阳性率及精确度均胜于传统检测手法, 在明确病原体效率及速度方面均具有重大优势。Zhang P [23] 等对 5 例重症肺炎复杂感染患者进行病原学分析, 发现未被培养物检测到的细菌及真菌在 tNGS 检测中呈阳性, 提示 tNGS 敏感性更高, tNGS 与 mNGS 相比检测结果约有 80% 的一致率高达 90%, 但相比而言前者能在检测过程中同时获得耐药基因数据。

4.2. tNGS 在中枢神经系统(Central Nervous System, CNS)感染中的应用

CNS 常见感染致病病原体包括细菌、病毒、真菌、螺旋体以及寄生虫等, 现如今明确其感染的病因仍是临床工作中常需面对的挑战, >50% 的病例无法明确感染源[24]。Chen W [25] 等对 152 例疑似传染性脑炎/脑膜炎患者取脑脊液同时行 tNGS 与 mNGS 检测, 研究发现 tNGS 总体准确率(65.1%)高于 mNGS (47.4%), 尤其在病毒检出中 tNGS 更加优于 mNGS (65.2% vs 46.4%), 灵敏度也优于 mNGS (64% vs 43.4%), 这一结果表明 tNGS 将成为临床工作中明确 CNS 感染病原体颇有前景的检测方法。贾梦涵[26] 等报道了 81 例病毒性脑炎/脑膜炎患者脑脊液病原体检出情况, 指出 tNGS、mNGS 阳性率分别为 25.93% (21/81)、40.00% (20/50), 两种高通量测序技术检测方法无明显差异, 但均优于传统检测方法(8.64%)。通过对脑脊液蛋白、细胞数含量以 mRS 评分进行分组, 表明为提高病原体检出率, CNS 轻度感染者更推荐脑脊液细胞数含量高者行 tNGS。Li J [27] 等对 35 例遭遇颅脑创伤或疑似手术后颅内感染的患儿进行临床对照研究, 比较 tNGS 与传统的脑脊液培养、涂片结果, 发现前者敏感性和特异性分别为 81.8%、76.9%, 而传统脑脊液培养敏感性和特异性分别为 13.6%、100%, 表明 tNGS 检测高度准确性可以弥补传统检测敏感性低的不足, 从而作为临床诊断颅内感染的一种良好辅助诊断方法。

4.3. tNGS 在血流感染病原体诊断中的应用

一旦血流感染, 病情往往易进展至重症, 死亡率较高, 因此为改善预后及降低病死率, 尽早明确病原体并予以敏感性治疗至关重要[28]。李祥[29] 等报道 1 例不明原因持续高热疑似血流感染的病例, 入院后完善常规感染指标、肺部影像学、风湿结缔组织病等相关检查均未明确病因, 联合抗生素运用下患儿体温仍控制不佳, 后行血液 tNGS 检测, 在入院第 3 天结果回报示布鲁菌属, 并积极指导抗生素用药后患儿病情得到控制, 于入院第 7 天传统检测结果才显示布鲁菌 IgG 抗体阳性、试管凝集试验 1:400、平板凝集试验(+), 这证实了 tNGS 技术与传统方法相比检测精度、时效均更胜一筹。Lang X M [30] 等报道了 3 例持续发热、淋巴结肿大、皮肤散在焦痂病例, 完善常规病原学检测均提示阴性, 较长时间联合抗感染治疗效果欠佳, 通过采集血液样本进行 tNGS 检测最终明确恙虫病, 立即予以奥玛环素治疗 3~5 天后好转出院, 此结果表明 tNGS 检测敏感性优于常规检测方式, 且能有效指导临床病原体诊治工作, 从而缩短

疗程、改善预后。Cai S [31]等通过对 80 名疑似血流感染患者同步完善血液 tNGS、mNGS 检测和血培养,最后得出 tNGS 敏感性(91.3%)均优于后两者(69.6%、23.2%),而且 tNGS 周转时间相较于血培养、mNGS 更快,但在检测特异性方面, tNGS 与 mNGS 无明显差异(100% vs 81.8%)。Xu J H [32]等针对 137 名恶性血液病疑似感染患者完善 tNGS 及常规微生物检测明确致病菌,发现前者在敏感性、病原体谱检测准确性方面均优于后者(69.7% vs. 35.9%、66.5% vs 56.5%),正因如此,它可作为常规病原学检测辅助手段,从而精确调整临床应用抗生素,减短治疗周期以及降低耐药率发生。

4.4. tNGS 在其他部位感染中的应用

姚晓伟[33]等针对 108 例疑似骨关节布氏菌病患者取其病灶组织样本行 tNGS,并进行病原体培养和清试管凝集试验,发现 tNGS 敏感性和特异性(76.92%和 100%)均优于后者(32.05%和 100%、64.10%和 76.67%),而且其检测耗时短、自动化可降低实验人员感染风险。Lv H [34]等通过对 76 例脊柱感染患者取组织病检,发现 tNGS 与 mNGS 检出情况均优于传统检测方式,且诊断时间均值显著小于细菌培养(1.65 天 vs 3.07 天),tNGS 在结核病诊断方面,其敏感性和准确性(80%、87.5%)比 mNGS (50%、68.8%)更突出。靳优[35]等研究表明慢性子宫内膜炎检测手段中 tNGS 与细菌培养、宫腔镜相比灵敏度更高,在罕见病原体检出方面优势更大。Poulsen S H [36]等研究表明在疑似腹内脓肿感染病例中,与传统标本培养(18%)相比, tNGS 真阳性率(32%)更高,同时检测到致病菌种类更多,并且混合感染更常见。

5. tNGS 存在的问题及展望

现如今, tNGS 技术在临床明确病原学方面诊断价值越来越重要,应用也越来越广泛。但其应用方面也存在某些实际问题需要解决。首先由于 tNGS 针对的是已知病原体及耐药基因进行检测,所以它更适用于已知病原体的深层次研究或者针对特定临床场景进行精准诊断。而 mNGS 能无差别检测样本中所有微生物核酸,在发现罕见病原体方面要优于 tNGS,甚至还能发现新发病原体[37]。更是有多项国内外专家共识指出,在危急重症、罕见疑难病方面更推荐使用 mNGS,它在处理未知感染、复杂多重感染以及新兴传染病方面崭露头角[15] [38] [39]。其次, tNGS 结果判读仍需结合临床,针对检测到的病原体,无法证实是致病菌、定植菌还是污染菌,临床还未针对所有微生物建立统一结果判读标准[40]。该项技术的运用还不能完全取代现有传统检测技术,但其可以与传统检测技术相互补充,尤其在疑难重症方面,更好为临床精准治疗保驾护航[41]。最后相比 mNGS 费用,若同时检测 DNA 和 RNA 需要花费数千元,而 tNGS 费用仅为 mNGS 的 1/5 至 1/6,价格更便宜[7]。但相比于传统检测费用依旧偏高,需送至第三方检测机构,而且尚未纳入我国医疗保障系统,无法大规模应用于临床工作中。因此,传统检测方法基于价格更加便宜且易于操作,现依旧用于日常临床工作中,尤其在资源有限情况下。

但 tNGS 相对于目前其他检测技术而言优点十分突出,起初其结果分析需等待数天,相比于简单血清学检测数小时完成而言时间较长,但随着技术进步,如今基本可在 24 小时内获得序列报告,比传统培养时间更短。

相信在今后通过不断提高该项技术操作全自动化、分析数据简便性,降低检测成本,能越来越广泛地应用于感染性疾病的诊断工作中,从而更早实现感染性疾病精准治疗,缩短治疗周期,提高治愈率以及改善预后。

参考文献

- [1] 袁喆,王纯睿,罗华婷,等. 感染性疾病研究新进展述评及展望[J]. 西部医学, 2023, 35(1): 1-5+13.
- [2] Kumar, K.R., Cowley, M.J. and Davis, R.L. (2024) Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 50, 1026-1038. <https://doi.org/10.1055/s-0044-1786397>

- [3] 郭凌云, 李勤静, 刘钢, 等. 二代测序技术在临床微生物领域中的应用进展[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(5): 396-399.
- [4] 康红, 王小利, 杨鑫, 等. 宏基因组二代测序技术在感染性疾病诊断中的应用[J]. 山西医药杂志, 2024, 53(5): 369-375.
- [5] 邸红芹, 王晓玲, 王亮, 等. 呼吸道病原体分子诊断技术研究进展[J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(12): 1485-1488.
- [6] 单兰雅, 罗孟军, 王丽. 高通量测序在临床中的应用及优势[J]. 临床检验杂志, 2024, 42(9): 680-683.
- [7] 宁宁. 肺泡灌洗液靶向二代测序检测在儿童社区获得性肺炎诊疗中的应用价值[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- [8] Slatko, B.E., Gardner, A.F. and Ausubel, F.M. (2018) Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Current Protocols in Molecular Biology*, **122**, e59. <https://doi.org/10.1002/cpm.59>
- [9] Chen, Q., Yi, J., Liu, Y., Yang, C., Sun, Y., Du, J., et al. (2024) Clinical Diagnostic Value of Targeted Next-Generation Sequencing for Infectious Diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, **30**, Article No. 153. <https://doi.org/10.3892/mmr.2024.13277>
- [10] 王樱璇. 肺泡灌洗液和鼻咽拭子病原靶向二代测序技术在儿童肺炎中的应用[D]: [硕士学位论文]. 十堰: 湖北医药学院, 2024.
- [11] Liu, Y., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., et al. (2020) A Practical Guide to Amplicon and Metagenomic Analysis of Microbiome Data. *Protein & Cell*, **12**, 315-330. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00724-8>
- [12] de Muinck, E.J., Trosvik, P., Gilfillan, G.D., Hov, J.R. and Sundaram, A.Y.M. (2017) A Novel Ultra High-Throughput 16S rRNA Gene Amplicon Sequencing Library Preparation Method for the Illumina HiSeq Platform. *Microbiome*, **5**, Article No. 68. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0279-1>
- [13] Hilt, E.E. and Ferrieri, P. (2022) Next Generation and Other Sequencing Technologies in Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases. *Genes*, **13**, Article No. 1566. <https://doi.org/10.3390/genes13091566>
- [14] Flurin, L., Wolf, M.J., Greenwood-Quaintance, K.E., Sanchez-Sotelo, J. and Patel, R. (2021) Targeted Next Generation Sequencing for Elbow Periprosthetic Joint Infection Diagnosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **101**, Article ID: 115448. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2021.115448>
- [15] 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.
- [16] 胡晓熠, 王惠明. 宏基因组二代测序在感染性疾病中的应用进展[J]. 微循环学杂志, 2021, 31(2): 70-73+78.
- [17] 李培. 基于靶向测序(tNGS)的病原体检测技术[J]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2022(10): 128.
- [18] 陶锋, 李一荣, 周艳梅, 等. 靶向宏基因组测序技术在不明原因肺部感染病原学诊断中的价值[J]. 中国病原生物学杂志, 2024, 19(11): 1290-1294.
- [19] Lin, R., Xing, Z., Liu, X., Chai, Q., Xin, Z., Huang, M., et al. (2023) Performance of Targeted Next-Generation Sequencing in the Detection of Respiratory Pathogens and Antimicrobial Resistance Genes for Children. *Journal of Medical Microbiology*, **72**. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001771>
- [20] Sun, W., Zheng, L., Kang, L., Chen, C., Wang, L., Lu, L., et al. (2024) Comparative Analysis of Metagenomic and Targeted Next-Generation Sequencing for Pathogens Diagnosis in Bronchoalveolar Lavage Fluid Specimens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **14**, Article ID: 1451440. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1451440>
- [21] Huang, Z., Hu, B., Li, J., Feng, M., Wang, Z., Huang, F., et al. (2024) Metagenomic versus Targeted Next-Generation Sequencing for Detection of Microorganisms in Bronchoalveolar Lavage Fluid among Renal Transplantation Recipients. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article ID: 1443057. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1443057>
- [22] Yu, L., Wan, H., Shi, J., Zhang, B. and Wang, M. (2023) Disseminated Mycobacterium Thermoresistibile Infection Presented with Lymphadenectasis in an AIDS Patient: Case Report and Review of Literature. *BMC Infectious Diseases*, **23**, Article No. 769. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08785-w>
- [23] Zhang, P., Liu, B., Zhang, S., Chang, X., Zhang, L., Gu, D., et al. (2024) Clinical Application of Targeted Next-Generation Sequencing in Severe Pneumonia: A Retrospective Review. *Critical Care*, **28**, Article No. 225. <https://doi.org/10.1186/s13054-024-05009-8>
- [24] Kennedy, P., Quan, P. and Lipkin, W. (2017) Viral Encephalitis of Unknown Cause: Current Perspective and Recent Advances. *Viruses*, **9**, Article No. 138. <https://doi.org/10.3390/v9060138>
- [25] Chen, W., Liu, G., Cui, L., Tian, F., Zhang, J., Zhao, J., et al. (2024) Evaluation of Metagenomic and Pathogen-Targeted Next-Generation Sequencing for Diagnosis of Meningitis and Encephalitis in Adults: A Multicenter Prospective Observational

- Cohort Study in China. *Journal of Infection*, **88**, Article ID: 106143. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2024.106143>
- [26] 贾梦涵. 脑脊液病原靶向测序对病毒性脑炎/脑膜炎诊断价值的研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2024.
- [27] Li, J., Zhang, L., Yang, X., Wang, P., Feng, L., Guo, E., *et al.* (2023) Diagnostic Significance of Targeted Next-Generation Sequencing in Central Nervous System Infections in Neurosurgery of Pediatrics. *Infection and Drug Resistance*, **16**, 2227-2236. <https://doi.org/10.2147/idr.s404277>
- [28] Buehler, S.S., Madison, B., Snyder, S.R., Derzon, J.H., Cornish, N.E., Saubolle, M.A., *et al.* (2016) Effectiveness of Practices to Increase Timeliness of Providing Targeted Therapy for Inpatients with Bloodstream Infections: A Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, **29**, 59-103. <https://doi.org/10.1128/cmr.00053-14>
- [29] 李祥, 张文莹, 张小河. 通过血液靶向 NGS 检测布氏杆菌感染 1 例分析[J]. 医学理论与实践, 2023, 36(17): 3058-3060.
- [30] Lang, X., Qiu, Y., Jia, Y., Sun, H., Gao, S. and Zhao, H. (2024) Omadacycline in the Treatment of Scrub Typhus: Three Case Reports. *World Journal of Clinical Cases*, **12**, 5832-5838. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v12.i25.5832>
- [31] Cai, S., Yuan, J., Li, Y., Guo, F., Lin, Z., Li, H., *et al.* (2024) Etiological Diagnostic Performance of Probe Capture-Based Targeted Next-Generation Sequencing in Bloodstream Infection. *Journal of Thoracic Disease*, **16**, 2539-2549. <https://doi.org/10.21037/jtd-24-400>
- [32] Xu, J., Cui, Y., Wang, L., Nan, H., Yang, P., Bai, Y., *et al.* (2024) Pathogen Detection by Targeted Next-Generation Sequencing Test in Adult Hematological Malignancies Patients with Suspected Infections. *Frontiers in Medicine*, **11**, Article ID: 1443596. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1443596>
- [33] 姚晓伟, 赵桂松, 李卓, 等. 靶向二代测序技术在骨关节布氏菌病临床诊断中的应用价值研究[J]. 河北医科大学学报, 2024, 45(10): 1206-1211.
- [34] Lv, H., Liao, S., Shi, Z., Guo, Y., Zhou, J., Chen, H., *et al.* (2024) Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Rapid Molecular Identification in Spinal Infection Diagnosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **14**, Article ID: 1382635. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1382635>
- [35] 靳优. 慢性子宫内膜炎宫腔病原体靶向二代测序技术的诊断价值[D]: [硕士学位论文]. 石家庄: 河北医科大学, 2023.
- [36] Poulsen, S.H., Sogaard, K.K., Fuursted, K. and Nielsen, H.L. (2023) Evaluating the Diagnostic Accuracy and Clinical Utility of 16S and 18S rRNA Gene Targeted Next-Generation Sequencing Based on Five Years of Clinical Experience. *Infectious Diseases*, **55**, 767-775. <https://doi.org/10.1080/23744235.2023.2241550>
- [37] 毕铭轶, 汪春付, 连建奇, 等. 宏基因组测序在感染性疾病中的应用与反思[J]. 中华临床感染病杂志, 2019, 12(5): 379-384.
- [38] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11): 681-689.
- [39] 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.
- [40] Miao, Q., Ma, Y., Wang, Q., Pan, J., Zhang, Y., Jin, W., *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/civ693>
- [41] 黄海荣. 世界卫生组织《应用新一代靶向测序技术检测耐药结核病: 快速通告, 2023》解读[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(10): 921-924.