

mNGS技术在下呼吸道感染精准诊断中的运用与挑战

马祥松, 徐绣宇*

重庆医科大学附属第一医院医学检验科, 重庆

收稿日期: 2025年1月11日; 录用日期: 2025年2月4日; 发布日期: 2025年2月11日

摘要

下呼吸道感染长期以来都是全球主要导致死亡的原因之一, 并且随着感染多重耐药菌患者的比例增加, 快速而又准确地明确致病微生物在治疗中变得至关重要。宏基因组二代测序的出现打破了传统检测方法的局限性, 它能一次性检测出标本中已知或未知的细菌、真菌及病毒, 为病原微生物的检测提供了一种更全面和精准的工具。目前宏基因组二代测序已广泛运用于临床中, 虽然它在使用中还面临着一些挑战和局限性, 但其在感染性疾病的诊断中展现出的独特优势, 使其成为一种极具潜力的技术工具。

关键词

下呼吸道感染, 宏基因组二代测序, 诊断, 病原学

The Application and Challenges of mNGS Technology in the Accurate Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections

Xiangsong Ma, Xiuyu Xu*

Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Jan. 11th, 2025; accepted: Feb. 4th, 2025; published: Feb. 11th, 2025

Abstract

Lower respiratory tract infections have long been one of the leading causes of mortality worldwide. With the increasing proportion of patients infected with multidrug-resistant pathogens, rapidly and

*通讯作者。

文章引用: 马祥松, 徐绣宇. mNGS 技术在下呼吸道感染精准诊断中的运用与挑战[J]. 临床医学进展, 2025, 15(2): 189-197. DOI: 10.12677/acm.2025.152332

accurately identifying causative microorganisms has become crucial in treatment. The advent of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) has overcome the limitations of traditional detection methods, enabling the simultaneous identification of known and unknown bacteria, fungi, and viruses in a single sample, providing a more comprehensive and precise tool for pathogen detection. Currently, mNGS has been widely applied in clinical practice. Despite facing certain challenges and limitations in its implementation, its unique advantages in diagnosing infectious diseases make it an exceptionally promising technological tool.

Keywords

LRTIs, mNGS, Diagnosis, 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

根据全球疾病负担研究的系统分析,下呼吸道感染长期以来一直是全球主要导致死因的疾病之一,尤其在低收入和中等收入国家,下呼吸道感染的发病率和死亡率较高,在2019年仍是四大主要死因之一,造成了严重的健康问题[1]。下呼吸道感染可由细菌、病毒、真菌等多种病原微生物所导致,目前治疗手段主要以靶向抗菌药物治疗为主[2],由于抗菌药物的滥用,具有多重耐药性的致病菌在下呼吸道感染中所占比例有所增加[3]。因此,明确致病微生物在治疗下呼吸道感染中就显得尤为重要。

目前传统的微生物实验室检查方法(conventional microbiological tests, CMTs)主要有细菌、真菌培养,涂片显微镜镜检、血清学实验及聚合酶链反应(PCR)等,但它们存在检测周期长、灵敏度低及特异性不足等缺点,并且受预先用药影响明显[4][5]。因此,耗时更短,所检测到的病原体谱更宽的宏基因组学下一代测序技术(mNGS)在感染诊断中的重要性和影响力逐渐增强。除此之外,近年来,宏基因组学下一代测序技术的兴起为快速、全面地预测细菌耐药性提供了新的可能性,利用基因组测序检测相关耐药基因(antimicrobial resistance genes, ARGs)的技术已经成熟利用[6],这使mNGS在下呼吸道感染患者的靶向治疗中起到了很好的指导作用。

2. 应用 mNGS 技术于下呼吸道感染的病原体识别

2.1. mNGS 与传统方法在下呼吸道感染检测中的比较分析

由于mNGS利用高通量的检测技术,并且在检测时不需要提前预设病原体,因此它在检测下呼吸道感染时能全面的检出病原体,包括难以培养的病原体,如无细胞结构的病原体(病毒)或不常见的细菌[7],这是PCR等无法实现的,PCR技术的主要限制是它仅能检测预定的病原体,即需要事先设计特定的引物。这使mNGS在诊断混合性的下呼吸道感染中能更加全面的检出致病微生物。Zhou等[8]在对62名ICU患者和60名非ICU患者进行评估分析时发现,mNGS的阳性率在两组中均显著高于CMT,且在混合感染的ICU患者中具有更好的表现。

微生物培养是传统的金标准,能够提供关于病原体的直接证据,并能够进行抗生素药敏测试,但其需要几天到几周的时间才能得到检测结果,而mNGS可以在几小时到几天内完成样本的处理、测序和数据分析,这显著缩短了检测TAT(turn-around time, TAT),使急重症患者能更快地得到处理。Chen等[9]的研究对比了mNGS与微生物培养的周转时间,他们发现mNGS的周转时间明显更短(2.7 ± 0.4 对比 5.5)

± 1.6 天, $P < 0.001$), Chen 等[10]的研究提出基于纳米孔的 NGS 方法更能缩短周转时间, 中位时间仅为 4.43 小时, 而常规培养则高达 72.00 小时。Lv 等[11]以及 Zhong 等[12]的研究均提示了 mNGS 能有更短的周转时间, 这不仅能够缩短住院时间, 减少在等待诊断结果期间使用的经验性抗菌药物以及帮助医生在患者病情恶化前介入, 显著提高治疗效果, 改善患者的预后。

虽然 mNGS 在临床诊断中以其高灵敏度获得了广泛的认可, 但其特异性有时可能与传统检测相差无几或低于传统检测, 如由于环境污染或样本处理不当造成的假阳性结果。Dong 等[13]的研究选取了 77 例 LRTI 患者和 29 例非 LRTI 患者, 比较了 mNGS 和 BALF 的细菌及真菌培养对病原体的诊断性能, 他们的结果提示 mNGS 的灵敏度为 76.6%, 优于培养法(18.2%); 但特异性为 79.3%, 低于培养法(89.7%)。但是也有研究指出 mNGS 的特异性与解释方式有关。Liang 等人[14]将 mNGS 的结果使用了 3 种不同的解释方法, 包括简单解释法(Simple Interpretation, SI)、实验室解释法(Laboratory Interpretation, LI)和临床解释法(Clinical Interpretation, CI), 他们发现 SI 具有非常低的特异性, 相比之下, CI 表现出最高的特异性并且与培养的一致性较高, 这一发现强调, 在解读 mNGS 检测结果时, 结合患者的临床特征和个体特征对于提高诊断准确性具有重要意义。同时, 不同研究中解读标准的差异可能影响 mNGS 特异性的评估结果, 因此, 未来研究应致力于建立更完善的 mNGS 结果解读策略, 以进一步提升其在临床诊断中的应用价值。此外, Liu 等人[15]对比了 mNGS 与 Xpert 在检测结核分枝杆菌中的诊断效能, 发现 Xpert 以 69.0% 的敏感性优于 mNGS(敏感性为 59.9%), 可能由于 Xpert 是一种基于实时聚合酶链反应的方法, 针对结核分枝杆菌及其耐药基因设计了特异性较强的引物, 对其特定基因区域进行扩增和检测, 因此较 mNGS 具有更高的敏感性和特异性。因此, 我们对于 mNGS 的检测结果, 特别是那些临床意义重大或治疗决策关键的情况, 可使用传统方法(如培养、PCR 等)进行补充及验证, 确保诊断的准确性。

除此之外, 目前临床诊断下呼吸道感染最常用且最经济实惠的方法仍然是微生物培养和聚合酶链反应。这两种技术因其有着相对低廉的成本, 简单的操作方法再加上较高的可靠性而被广泛应用于各级医疗机构。mNGS 技术在精确性和灵敏度上具有显著优势, 其较高的成本确实限制了它在更广泛临床应用中的普及。因此, mNGS 可用作 CMT 的补充[16], 不仅能够扩展诊断范围, 还能提高诊断速度和准确性。Fang 等人[17]发现仅使用 mNGS 检测出了 55.6% 的患者的混合感染, 当联合使用 CMT 时, 检测率增加到 58.3%。Qu 等人[18]的研究发现在仅使用微生物培养时的阳性率为 14.4%, 当增加 PCR 时阳性率可提升至 40.8%, 最后结合 mNGS 的结果后, 阳性率达到了 74.2%。同时, 也有研究[19]对比了 mNGS 与 qPCR 及常规方法在诊断耶氏肺孢子菌肺炎中的诊断效能, 他们发现 mNGS 对其具有更高的敏感性, 可作为 CMT 的补充检查。

2.2. mNGS 在免疫抑制患者下呼吸道感染诊断中的应用

在免疫功能低下的患者中, 由于其更易受定植菌的感染且较多为混合感染[20], 采用传统的微生物诊断技术常常面临一系列挑战, 特别是在迅速识别广泛的潜在病原体方面。免疫缺陷患者包括: 接受长期或高剂量类固醇或其他免疫抑制药物的患者、艾滋病感染的患者、诊断为免疫性疾病的患者以及器官移植后使用免疫抑制剂的患者等, 这使得这些患者易于被多种常见和非典型病原体感染[21]。在 Liu 等人[22]的研究中, 他将下呼吸道感染的患者分为了免疫正常组和免疫抑制组, 结果表明, 免疫抑制组有更多的患者为混合感染, 且 mNGS 在这些患者中识别到更多的混合感染。

患有艾滋病的个体对机会性致病菌如耶氏肺孢子菌的易感性更高, 这类病原体常在免疫系统受损的宿主中引发感染[23]。在探索诊断这些复杂感染的有效方法中, Li 等[24]通过艾滋病患者中感染耶氏肺孢子菌的人群对 mNGS 及 CMT 进行了评估。研究结果显示, mNGS 在检测艾滋病患者的耶氏肺孢子菌感染时, 展现出较高的敏感性和特异性, 从而证实了它在此类感染诊断中的重要临床价值。此外, Tan 等

[25]通过对艾滋病感染者肺部微生物组进行 mNGS 分析, 提出这种方法不仅有助于早期诊断和治疗, 还有望改善这一患者群体的预后。Xie 等[26]的工作进一步地强调了 mNGS 在艾滋病感染者肺炎诊断中相对于传统微生物技术(CMT)的优越敏感性, 提供了有力证据支持 mNGS 在临床应用中的推广。

在固体器官移植和造血干细胞移植的患者中, 免疫抑制是避免排斥反应的必要条件, 但这也显著增加了感染的风险。在这种背景下, mNGS 技术因其能够迅速且准确地识别多种病原体在此类病人中广泛应用。Zhuang 等的研究[27]探索了 mNGS 在肝移植后肺部感染患者中的诊断效能, mNGS 检测到的阳性率为 72%, 而基于培养的阳性率仅为 52%。Fu 等[28]在对造血干细胞移植后肺部感染的患者研究后发现, mNGS 的阳性率和敏感性都远高于 CMT。Li 等[19]、Zhang 等[29]以及 Qu 等[30]对接受造血干细胞移植且疑似肺部感染的患者采用 mNGS 和 CMT 进行了比较分析。研究结果一致显示, mNGS 检测病原菌的阳性率方面明显优于 CMT。这些发现强调了 mNGS 在提高血液病患者移植后并发肺炎的诊断和预后中的重要价值, 为临床治疗提供了关键指导。因此, 这项技术对于指导移植后患者的抗感染治疗策略, 减少不必要的抗生素使用, 以及提高治疗的个体化和精准度具有重要意义。

2.3. 利用 mNGS 识别未知及特殊病原体

在现代传染病诊断中, 传统的微生物检测方法虽然在已知病原体的识别上效果显著, 但在处理未知、罕见或难以培养的病原体时往往效果不佳。mNGS 则通过高通量测序直接从临床样本中获取遗传信息, 无需依赖病原体的培养, 尤其在识别那些未知或特殊病原体方面, mNGS 显示出了巨大的潜力和优势。在 COVID-19 大流行的初期阶段, 面对一种未知的病原体引起的肺部感染, 传统的病原体诊断方法未能迅速确定病因。在这关键时刻, Zhu 等人[31]采用了下一代测序技术(NGS), 通过对来自患者的样本进行测序, 不仅成功地识别出了一种全新的冠状病毒, 而且还迅速地确定了其遗传序列, 从而加速了后续疫苗和诊断工具的开发, 也为全球公共卫生应对提供了关键数据, 展示了 NGS 技术在应对突发公共卫生事件中的巨大潜力。此外, 鹦鹉热衣原体感染常常不表现出典型的临床和影像学特征, 这使得确诊鹦鹉热变得颇具挑战[32]。在 Qu 等人的研究[18]中, 他们对 15 例疑似鹦鹉热的患者进行了 mNGS 检测, 结果显示这种方法在诊断鹦鹉热方面展示了较高的敏感性和特异性。这一发现突显了 mNGS 在诊断不易发现的感染性疾病中的潜力, 尤其是在传统诊断手段难以确定病原的情况下。Wen 等人[33]发布的一则病例报告描述了一例有华支睾吸虫病史且近期使用了激素的患者, 使用 mNGS 检测出猫立克次氏体。Ni 等人[34]的研究报道了一例通过 mNGS 成功识别龋齿放线菌(*Actinomyces odontolyticus*)的病例, 该患者在根据检测结果予以高剂量青霉素治疗后病情显著好转, 并顺利出院。此外, Li 等人[35]、Jiang 等人[36]以及另一篇由 Li [37]发表的研究也同样通过 mNGS 技术诊断出由罕见特殊病原体引起的肺部感染。这些研究共同强调了 mNGS 在识别和确诊罕见病原体方面的显著能力, 显示了其在临床微生物诊断中的重要价值。

2.4. mNGS 在社区获得性肺炎(CAP)和医院获得性肺炎(HAP)中的运用差异

社区获得性肺炎(CAP)和医院获得性肺炎(HAP)具有不同的特征和治疗方案。CAP 主要由常见的呼吸道病原体例如肺炎支原体和肺炎链球菌引起[38]。而 HAP 大部分由鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌及金黄色葡萄球菌感染为主[39], 且与多重耐药菌(MDROs)及混合感染相关[40], 增加了诊断和治疗的复杂性, Li 等人[41]利用 mNGS 进行全面的生物信息学分析, 他们的研究得出 CAP 患者和非 CAP 患者的微生物组成不同。在这一背景下, mNGS 在 CAP 和 HAP 中的临床应用价值可能有所不同。

由于多数 CAP 由单一、常见病原体感染, mNGS 的优势主要体现在快速检测不明原因的非典型病原体(如军团菌、鹦鹉热衣原体)的感染上[42]。而 HAP 的病原体种类相对复杂, 包括多重耐药菌、机会性病原体(如曲霉菌、卡氏肺孢子菌)等, Zhang 等[43]的研究分析了血液疾病患者在院内感染的病原菌谱, 他

们发现在所有患者中,铜绿假单胞菌、曲霉是最常见的细菌及真菌,且多以混合感染为主,他们认为 mNGS 对血液病合并肺炎患者的诊断和预后有较大帮助。此外, CAP 患者抗生素暴露通常较少,病原体的培养阳性率较高,传统方法已能满足大部分轻症 CAP 的诊断需求。而 HAP 患者常规使用广谱抗生素[40]导致传统培养的检出率显著下降,但 mNGS 的检出率相对不受抗生素的干扰[14],因此,在 HAP 患者中, mNGS 对抗生素暴露患者的诊断尤为重要。相比于 CAP, HAP 的病原菌较多都具有耐药性,包括耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌等[40],mNGS 的高灵敏度和对耐药基因的识别使其在 HAP 的复杂病原谱中更具优势, Yang 等人[44]回顾性的研究了 mNGS 在重症 HAP 患者中的运用,他们的结果显示, mNGS 组中 70.0% 的患者根据结果调整了抗生素,但 CMT 组只有 43.9% 的患者改变了抗生素($P=0.016$)。在随后的 7 天内, mNGS 组中 60.6% 患者的肺部感染情况有所改善,但 CMT 组中只有 37.9% 的患者有所改善($P=0.032$)。因此, mNGS 在 CAP 和 HAP 中的应用各有侧重,尤其是在面对 HAP 复杂的病原谱及耐药性的背景下, mNGS 能提供快速诊断和指导精准用药方案。

2.5. mNGS 的结果解释

由于测序数据量大且复杂,在数据的解读过程中面临着诸多挑战。准确的解读不仅需要从多样化的数据中识别病原微生物,还需要结合患者的临床数据来区分定植、污染或临床相关感染。这一过程还受到测序读数、相对丰度和覆盖率等因素的影响, Liu 等人[45]的研究以最终的临床诊断为金标准,采用受试者工作特征(ROC)曲线评估每百万映射读取中每千碱基转录本的读取数(Reads per kilo base of transcript per million mapped reads, RPKM)、基因组覆盖率和每种生物的相对丰度在预测真阳性致病菌方面的表现,他们发现 lg (RPKM) 的性能最佳(曲线下面积[AUC] = 0.99),其次为基因组覆盖率。因此需要采用标准化且具有临床指导意义的解读策略,最大程度提高 mNGS 在患者管理中的应用价值,目前有关下呼吸道感染中 mNGS 报告解读的专家共识[46]分别从患者选择、标本种类选择及报告判读等方面制定了相关规范,其中在报告判读方面,专家共识明确指出,在实际应用中, mNGS 检测结果的解读应结合患者的病史、临床表现、影像学特征及其他辅助检查,确保结果具有临床意义,例如,应综合分析患者的既往病史、症状和体征是否符合特定病原微生物感染特征,并结合肺部影像学表现,如典型的肺实变、空洞形成或弥漫性磨玻璃样病变等,辅助判断病原体是否为致病微生物。对于疑难病例,推荐通过多学科会诊(MDT)形式进行评估,优化诊断和治疗路径[46]。

3. mNGS 在临床治疗指导中的应用

3.1. mNGS 检测的 ARGs 对治疗策略的影响

细菌耐药性已成为全球公共卫生面临的最严峻挑战之一,对现代医疗体系构成了严重威胁。传统的抗生素敏感性测试方法耗时且有时无法及时为患者提供准确的治疗方案[47]。而 mNGS 能够快速识别耐药基因,极大地缩短了诊断时间,为实施精确的抗感染治疗提供了支持[47]。这种技术的应用不仅能检测到病原体,还同步检出其存在的耐药基因[48]。Liu 等人[45]的研究发现 mNGS 所检测出的耐药基因大部分与药敏试验(AST)相符,但部分多重耐药菌的耐药基因未检出。Hao 等人[49]的研究表明,在通过传统的抗生素敏感性测试(AST)确认对碳青霉烯类抗生素耐药的鲍曼不动杆菌样本中, mNGS 同样有效地检测到了相应的耐碳青霉烯基因。Chen 等人[10]的研究显示,在革兰氏阴性病原体中,通过 mNGS 检测到的 ARGs 与氨基糖苷和 β -内酰胺类抗生素的耐药表型具有高度的一致性。这一结果进一步印证了 mNGS 在精确识别特定 ARGs 方面的实用价值,为临床上更精确的耐药性诊断和治疗决策提供了科学依据,因此 mNGS 对 ARGs 的检测在临床中得到了广泛使用。Chen 等人[50]利用 mNGS 分析了中国大陆 ICU 患者的肺部感染样本,详细描绘了携带 ARGs 的细菌分布情况。这些发现不仅验证了 mNGS 在识别和监测抗生

素抗性方面的有效性, 也为进一步制定针对性的抗菌治疗策略提供了重要数据支持。此外, Zhu 等人[51]和 Li 等人[52]的研究中均展示了 mNGS 在检测抗生素 ARGs 方面的应用, 并据此指导了患者的抗菌治疗。通过 mNGS 技术, 临床能够成功识别出感染病原体中的特定 ARGs, 这为制定针对性强的治疗方案提供了重要依据。

3.2. 基于 mNGS 病原体识别对治疗选择的指导

mNGS 作为一种革命性的检测工具, 它能够快速且准确地识别导致感染的病原体, 这为临床医生提供了制定治疗方案的方向。在探索 mNGS 对临床治疗策略调整的影响中, Dong 等人[13]的研究提供了深入的分析。他们发现, 在接受 mNGS 检测后, 57.1% 的患者中, mNGS 对治疗产生了总体有益的效果, 包括抗菌药物升级或加用其他种类的抗菌药物, 以及降级或减用抗菌药物。相反, 只有 1.3% 的患者由于 mNGS 的假阳性结果导致的治疗方案不利调整。此外, Zheng 等人[53]的研究也支持了这一发现, 他们观察到在 37.4% 的病例中, mNGS 的使用直接导致了治疗方案的改变。这进一步证明了 mNGS 在诊断和治疗决策中的重要性。Zhan 等人[54]在其前瞻性研究中对纤维化间质性肺病急性加重的患者进行评估, 分析了 mNGS 对治疗方案调整的效果。他们发现, 经过 mNGS 调整后的治疗方案在病原体覆盖率上显著优于初始治疗方案($p < 0.001$), 突显了 mNGS 在提高治疗精准性和效果方面的潜力。

总的来说, 这些研究强调了通过 mNGS 技术检测病原体及 ARGs 在实际治疗中的重要作用。临床医生可以根据鉴定出的病原菌并结合 ARGs 指导治疗实现最大有利化, 允许临床医生以更高的精度调整和管理患者的治疗计划, 这能显著改善抗生素的滥用及患者的预后。这些发现突出了 mNGS 在现代医疗中的重要价值, 特别是在应对复杂和严重的感染病例时。

4. 展望与未来方向

随着个性化医疗不断进展, mNGS 在识别病原体及其相关抗生素抗性基因方面展现出卓越能力, 极大地增强了医生制定精准治疗方案的能力, 优化了治疗成效, 减少了不必要的抗生素使用, 并提升了患者恢复的可能。尽管 mNGS 在多个医疗领域已展示出革命性潜力, 尤其是在迅速识别复杂及未知病原体方面, 但这项技术的发展和应用还面临一系列挑战, 如特异性不足、报告复杂难以解读及部分 ARGs 与表型不符等问题。为了克服这些局限, 我们可以考虑将 mNGS 与其他分子诊断技术进行整合使用(如 CRISPR-based 检测、qPCR 及 Xpert 等), 使诊断效能最大化。例如我们可以将 mNGS 与 qPCR 相结合, 用于验证关键的病原体, 特别是对检测丰度较低的病原体提供快速确认, 或先行使用 qPCR 筛查常见病原体后再针对 PCR 阴性或罕见病原体样本进行 mNGS 检测, 可优化资源利用, 降低检测成本。

除此之外, 随着 AI 的发展, 未来我们还可以尝试将 mNGS 与大数据和人工智能整合, mNGS 产生的数据量巨大, 涉及复杂的生物信息, 使用大数据技术可以有效管理和处理这些数据, 从中提取有用信息。例如开发基于机器学习的 mNGS 数据分析模型, 将病原体的丰度、reads 数和患者临床特征相结合, 自动生成致病概率评估报告, 提供基于相关证据的诊断建议。后续还可以尝试构建区域性或全球性病原体数据库, 整合 mNGS 检测结果、耐药基因分布和流行病学数据, 支持跨机构数据比对与解读。

此外, 我们还需要进一步地研究耐药基因与表型的关系, 探索其在细菌中的表达情况及实际作用机制, 了解基因与表型不符的生物学原因。通过这些策略, 可以有效地解决 mNGS 目前存在的部分缺陷, 从而使这项技术更加可靠和实用, 进一步增强其在病原体诊断和抗生素治疗策略制定中的应用价值。

参考文献

- [1] Naghavi, M., Ong, K.L., Aali, A., Ababneh, H.S., Abate, Y.H., Abbafati, C., *et al.* (2024) Global Burden of 288 Causes of Death and Life Expectancy Decomposition in 204 Countries and Territories and 811 Subnational Locations, 1990-

- 2021: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, **403**, 2100-2132. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(24\)00367-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(24)00367-2)
- [2] Magill, S.S., Edwards, J.R., Bamberg, W., Beldavs, Z.G., Dumyati, G., Kainer, M.A., *et al.* (2014) Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care-Associated Infections. *New England Journal of Medicine*, **370**, 1198-1208. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1306801>
 - [3] Murray, C.J.L., Ikuta, K.S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., *et al.* (2022) Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *The Lancet*, **399**, 629-655. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0)
 - [4] 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/ciy693>
 - [5] Cheng, M.P., Stenstrom, R., Paquette, K., Stabler, S.N., Akhter, M., Davidson, A.C., *et al.* (2019) Blood Culture Results before and after Antimicrobial Administration in Patients with Severe Manifestations of Sepsis: A Diagnostic Study. *Annals of Internal Medicine*, **171**, 547-554. <https://doi.org/10.7326/m19-1696>
 - [6] Hendriksen, R.S., Bortolaia, V., Tate, H., Tyson, G.H., Aarestrup, F.M. and McDermott, P.F. (2019) Using Genomics to Track Global Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Public Health*, **7**, Article 242. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00242>
 - [7] Qian, Y., Wang, H., Zhou, Y., Zhang, H., Zhu, Y., Zhou, X., *et al.* (2021) Improving Pulmonary Infection Diagnosis with Metagenomic Next Generation Sequencing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**, Article 567615. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.567615>
 - [8] Zhou, J., Ding, W., Liu, Y., Gao, Y., Xu, L., Geng, R., *et al.* (2022) Diagnostic Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pulmonary Infection in Intensive Care Unit and Non-Intensive Care Unit Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**, Article 929856. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.929856>
 - [9] Ju, C., Lian, Q., Guan, W., Chen, A., Zhang, J., Xu, X., *et al.* (2022) Metagenomic Next-Generation Sequencing for Diagnosing Infections in Lung Transplant Recipients: A Retrospective Study. *Transplant International*, **36**, Article 10265. <https://doi.org/10.3389/ti.2022.10265>
 - [10] Chen, T., Zhang, L., Huang, W., Zong, H., Li, Q., Zheng, Y., *et al.* (2023) Detection of Pathogens and Antimicrobial Resistance Genes in Ventilator-Associated Pneumonia by Metagenomic Next-Generation Sequencing Approach. *Infection and Drug Resistance*, **16**, 923-936. <https://doi.org/10.2147/idr.s397755>
 - [11] Lv, T., Zhao, Q., Liu, J., Wang, S., Wu, W., Miao, L., *et al.* (2024) Utilizing Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection and Diagnosis in Lower Respiratory Tract Infections in Real-World Clinical Practice. *Infection*, **52**, 625-636. <https://doi.org/10.1007/s15010-024-02185-1>
 - [12] Zhong, J., Liu, Y., Luo, N., Wei, Q., Su, Q., Zou, J., *et al.* (2023) Metagenomic Next-Generation Sequencing for Rapid Detection of Pulmonary Infection in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **22**, Article No. 57. <https://doi.org/10.1186/s12941-023-00608-9>
 - [13] Dong, Y., Chen, Q., Tian, B., Li, J., Li, J. and Hu, Z. (2023) Advancing Microbe Detection for Lower Respiratory Tract Infection Diagnosis and Management with Metagenomic Next-Generation Sequencing. *Infection and Drug Resistance*, **16**, 677-694. <https://doi.org/10.2147/idr.s387134>
 - [14] Liang, W., Zhang, Q., Qian, Q., Wang, M., Ding, Y., Zhou, J., *et al.* (2024) Diagnostic Strategy of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Gram Negative Bacteria in Respiratory Infections. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **23**, Article No. 10. <https://doi.org/10.1186/s12941-024-00670-x>
 - [15] Liu, X., Chen, Y., Ouyang, H., Liu, J., Luo, X., Huang, Y., *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>
 - [16] Deng, W., Xu, H., Wu, Y. and Li, J. (2022) Diagnostic Value of Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing in Pediatric Pneumonia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**, Article 950531. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.950531>
 - [17] Fang, X., Mei, Q., Fan, X., Zhu, C., Yang, T., Zhang, L., *et al.* (2020) Diagnostic Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing for the Detection of Pathogens in Bronchoalveolar Lavage Fluid in Ventilator-Associated Pneumonia Patients. *Frontiers in Microbiology*, **11**, Article 599756. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.599756>
 - [18] Qu, J., Zhang, J., Chen, Y., Huang, Y., Xie, Y., Zhou, M., *et al.* (2022) Aetiology of Severe Community Acquired Pneumonia in Adults Identified by Combined Detection Methods: A Multi-Centre Prospective Study in China. *Emerging Microbes & Infections*, **11**, 556-566. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2035194>
 - [19] 符蓉, 林韧, 范志平, 等. 宏基因组二代测序在异基因造血干细胞移植后耶氏肺炎孢子菌肺炎诊断中的意义[J]. 中华血液学杂志, 2024, 45(1): 62-67. <https://rs.yiigle.com/cmaid/1496598>

- [20] Chen, Y., Feng, W., Ye, K., Guo, L., Xia, H., Guan, Y., *et al.* (2021) Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing in the Diagnosis of Pulmonary Infectious Pathogens from Bronchoalveolar Lavage Samples. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **11**, Article 541092. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.541092>
- [21] Azoulay, E., Russell, L., Van de Louw, A., Metaxa, V., Bauer, P., Pova, P., *et al.* (2020) Diagnosis of Severe Respiratory Infections in Immunocompromised Patients. *Intensive Care Medicine*, **46**, 298-314. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05906-5>
- [22] Liu, Y., Wu, W., Xiao, Y., Zou, H., Hao, S. and Jiang, Y. (2024) Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing and Targeted Metagenomic Next-Generation Sequencing in Diagnosing Pulmonary Infections in Immunocompetent and Immunocompromised Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **14**, Article 1439472. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1439472>
- [23] Maini, R., Henderson, K.L., Sheridan, E.A., Lamagni, T., Nichols, G., Delpech, V., *et al.* (2013) Increasing *Pneumocystis* Pneumonia, England, UK, 2000-2010. *Emerging Infectious Diseases*, **19**, 386-392. <https://doi.org/10.3201/eid1903.121151>
- [24] 李晓琴, 杨彩丽, 毛玉环, 等. 宏基因组二代测序用于艾滋病患者中耶氏肺孢子菌感染的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(2): 169-175. <https://rs.yiigle.com/cmaid/1447189>
- [25] Tan, Y., Chen, Z., Zeng, Z., Wu, S., Liu, J., Zou, S., *et al.* (2023) Microbiomes Detected by Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing among HIV-Infected and Uninfected Patients with Pulmonary Infection. *Microbiology Spectrum*, **11**, e00005-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00005-23>
- [26] Xie, Y., Dai, B., Zhou, X., Liu, H., Wu, W., Yu, F., *et al.* (2023) Diagnostic Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Multi-Pathogenic Pneumonia in HIV-Infected Patients. *Infection and Drug Resistance*, **16**, 607-618. <https://doi.org/10.2147/idr.s394265>
- [27] Zhuang, L., Zhu, C., Ma, J., Zhu, D., Zhu, H., Zhong, S., *et al.* (2024) Predictive Performance of Metagenomic Next Generation Sequencing in Early Detection of Post-Liver Transplantation Infections. *Heliyon*, **10**, e36405. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36405>
- [28] Fu, R., Xu, J., Fan, Z., Qu, H., Jiang, Y., Xiong, W., *et al.* (2024) Metagenomic Next-Generation Sequencing in the Diagnosis of Pulmonary Infections after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplantation and Cellular Therapy*, **30**, 1110.e1-1110.e10. <https://doi.org/10.1016/j.tjct.2024.08.014>
- [29] Zhang, X., Wang, F., Yu, J. and Jiang, Z. (2023) Clinical Application Value of Metagenomic Second-Generation Sequencing Technology in Hematologic Diseases with and without Transplantation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **13**, Article 1135460. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1135460>
- [30] Qu, Y., Ding, W., Liu, S., Wang, X., Wang, P., Liu, H., *et al.* (2022) Metagenomic Next-Generation Sequencing vs. Traditional Pathogen Detection in the Diagnosis of Infection after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Frontiers in Microbiology*, **13**, Article 868160. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.868160>
- [31] Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., *et al.* (2020) A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, **382**, 727-733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>
- [32] Cillóniz, C., Torres, A., Niederman, M., van der Eerden, M., Chalmers, J., Welte, T., *et al.* (2016) Community-Acquired Pneumonia Related to Intracellular Pathogens. *Intensive Care Medicine*, **42**, 1374-1386. <https://doi.org/10.1007/s00134-016-4394-4>
- [33] Wen, S., Zeng, J. and Li, Y. (2024) Rickettsia Felis Pulmonary Infection Detected via Metagenomic Next-Generation Sequencing in a Clonorchiasis Patient: A Case Report. *Infection and Drug Resistance*, **17**, 5189-5194. <https://doi.org/10.2147/idr.s481950>
- [34] Ni, L., Wu, Z. and Huang, J. (2024) Detection of Pulmonary Actinomycosis by Metagenomic Next-Generation Sequencing in a Cancer Patient Receiving Maintenance Olaparib: A Review and Case Report. *Respiratory Medicine Case Reports*, **48**, Article 102007. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2024.102007>
- [35] Li, Y., Li, Q., Lei, H., Wei, X., Feng, T., Qin, H., *et al.* (2024) Co-Infection with Nocardia Terpene and Pneumocystis Jirovecii in a Patient with Anti-Synthetase Syndrome: A Case Report. *Infection and Drug Resistance*, **17**, 3777-3783. <https://doi.org/10.2147/idr.s474836>
- [36] Jiang, Y., Tian, R., Zhang, C., Zhang, L., Cui, X. and Wang, P. (2024) Diagnosis and Treatment of a Patient with Pulmonary Infection Caused by *Emergomyces orientalis*: A Case Report. *Future Microbiology*, **19**, 1195-1202. <https://doi.org/10.1080/17460913.2024.2366653>
- [37] Li, K., Zhang, Y., Zhang, D., Chen, Q. and Fang, X. (2024) Case Report: Systemic Multi-Organ Involvement in an Adult-Onset Immunodeficiency Patient Infected with *Talaromyces marneffei*. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article 1430179. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1430179>
- [38] Tao, L.-L., Hu, B.-J., He, L.-X., Wei, L., Xie, H.-M., Wang, B.-Q., *et al.* (2012) Etiology and Antimicrobial Resistance of Community-Acquired Pneumonia in Adult Patients in China. *Chinese Medical Journal*, **125**, 2967-2972.

- [39] Chung, D.R., Song, J., Kim, S.H., Thamlikitkul, V., Huang, S., Wang, H., *et al.* (2011) High Prevalence of Multidrug-Resistant Nonfermenters in Hospital-Acquired Pneumonia in Asia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **184**, 1409-1417. <https://doi.org/10.1164/rccm.201102-0349oc>
- [40] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018 年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(4): 255-280. <https://rs.yiigle.com/cmaid/1036232>
- [41] Hong, L., Chen, Y. and Ye, L. (2021) Characteristics of the Lung Microbiota in Lower Respiratory Tract Infections with and without History of Pneumonia. *Bioengineered*, **12**, 10480-10490. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1997563>
- [42] Wang, J., Zhu, Y., Mo, Q. and Yang, Y. (2022) Case Report: A Chlamydia Psittaci Pulmonary Infection Presenting with Migratory Infiltrates. *Frontiers in Public Health*, **10**, Article 1028989. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1028989>
- [43] Zhang, B., Gui, R., Wang, Q., Jiao, X., Li, Z., Wang, J., *et al.* (2022) Comparing the Application of mNGS after Combined Pneumonia in Hematologic Patients Receiving Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Chemotherapy: A Retrospective Analysis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**, Article 969126. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.969126>
- [44] Yang, T., Mei, Q., Fang, X., Zhu, S., Wang, Y., Li, W., *et al.* (2022) Clinical Value of Metagenomics Next-Generation Sequencing in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Patients with Severe Hospital-Acquired Pneumonia: A Nested Case-Control Study. *Infection and Drug Resistance*, **15**, 1505-1514. <https://doi.org/10.2147/idr.s356662>
- [45] Liu, H., Zhang, Y., Yang, J., Liu, Y. and Chen, J. (2022) Application of mNGS in the Etiological Analysis of Lower Respiratory Tract Infections and the Prediction of Drug Resistance. *Microbiology Spectrum*, **10**, e02502-21. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02502-21>
- [46] 中华医学会呼吸病学分会. 下呼吸道感染宏基因组二代测序报告临床解读路径专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2023, 46(4): 322-335. <https://rs.yiigle.com/cmaid/1446380>
- [47] Diao, Z., Han, D., Zhang, R. and Li, J. (2022) Metagenomics Next-Generation Sequencing Tests Take the Stage in the Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections. *Journal of Advanced Research*, **38**, 201-212. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.09.012>
- [48] Wang, K., Li, P., Lin, Y., Chen, H., Yang, L., Li, J., *et al.* (2020) Metagenomic Diagnosis for a Culture-Negative Sample from a Patient with Severe Pneumonia by Nanopore and Next-Generation Sequencing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**, Article 182. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00182>
- [49] Hao, J., Li, W., Wang, Y., Zhao, J. and Chen, Y. (2023) Clinical Utility of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Pathogen Detection for Lower Respiratory Tract Infections and Impact on Clinical Outcomes in Southernmost China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **13**, Article 1271952. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1271952>
- [50] Chen, H., Bai, X., Gao, Y., Liu, W., Yao, X. and Wang, J. (2021) Profile of Bacteria with ARGs among Real-World Samples from ICU Admission Patients with Pulmonary Infection Revealed by Metagenomic NGS. *Infection and Drug Resistance*, **14**, 4993-5004. <https://doi.org/10.2147/idr.s335864>
- [51] Zhu, L., Xu, H., Pu, Y., Fu, C., Pan, Q. and Zhao, H. (2023) Case Report: Comprehensive Management of Pneumocystis Jiroveci Pneumonia (PJP) and Secondary Infections of Multiple-Drug Resistant *Enterobacter cloacae* complex and *Pseudomonas aeruginosa* in a Kidney Transplant Recipient with Sulfonamide Allergies. *Infection and Drug Resistance*, **16**, 6185-6193. <https://doi.org/10.2147/idr.s428890>
- [52] Lin, L., Zhang, R., Zhang, Z., Chang, Y., Lin, R., Dou, H., *et al.* (2023) Clinical Value of Metagenomics Next-Generation Sequencing in Antibiotic Resistance of a Patient with Severe Refractory Mycoplasma Pneumoniae Pneumonia: A Case Report. *Infection and Drug Resistance*, **16**, 4593-4597. <https://doi.org/10.2147/idr.s419873>
- [53] Zheng, Y., Liu, W., Xiao, T., Chen, H. and Liu, Y. (2024) Clinical Utility of Metagenomic Next-Generation Sequencing on Bronchoalveolar Lavage Fluid in Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections. *BMC Pulmonary Medicine*, **24**, Article No. 422. <https://doi.org/10.1186/s12890-024-03237-w>
- [54] Zhan, S., Li, S., Cao, Y., Liu, D. and Feng, J. (2024) Value of Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing in Acute Exacerbation of Fibrosing Interstitial Lung Disease: An Individualized Treatment Protocol Based on Microbiological Evidence. *BMC Pulmonary Medicine*, **24**, Article No. 400. <https://doi.org/10.1186/s12890-024-03216-1>