

肺部感染病原体识别中的NGS与传统方法比较

高佳乐^{1,2}, 常小红^{2*}

¹延安大学医学院, 陕西 延安

²延安大学附属医院呼吸科, 陕西 延安

收稿日期: 2025年8月9日; 录用日期: 2025年9月2日; 发布日期: 2025年9月12日

摘要

肺部感染在免疫缺陷及老年患者中病死率高。传统检测方法存在周期长(48~72小时)、敏感性低、苛养菌检出困难及诊断窗口期等局限, 导致治疗延误。高通量测序技术(next-generation sequencing, NGS)通过无偏倚检测总核酸, 实现细菌、病毒、真菌和寄生虫同步识别, 使病原体检出率提升20%~30%, 对混合感染、罕见病原体及抗生素预处理样本优势显著, 检测时效缩至24~48小时。其敏感性优于传统方法, 但低生物量样本仍受宿主核酸干扰; 特异性依赖严格生物信息学分析, 需结合临床区分致病菌与定植菌。该技术使病毒检出率提升28%, 显著提高免疫抑制患者罕见病原识别能力; 耐药基因检测灵敏度优于传统测序, 但存在同源病毒分型误差及成本高昂问题。NGS通过快速精准诊断优化临床决策: 提前指导靶向治疗使重症患者28天生存率提升30%, 并推动抗生素精准使用。临床应用仍面临宿主核酸干扰、15%耐药基因沉默现象、成本高及标准化缺失等挑战。未来发展需采用分层诊断策略(高危患者首选宏基因组测序), 推动CRISPR等多技术融合, 依托医保政策支持协同价值。开发超低量测序、动态耐药库及解读系统, 将促进该技术成为感染性疾病精准诊疗核心工具。

关键词

肺部感染, NGS, 病原体识别

Comparison of NGS and Traditional Methods in Identifying Pathogens Causing Lung Infections

Jiale Gao^{1,2}, Xiaohong Chang^{2*}

¹School of Medicine, Yan'an University, Yan'an Shaanxi

²Respiratory Department, The Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an Shaanxi

Received: Aug. 9th, 2025; accepted: Sep. 2nd, 2025; published: Sep. 12th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 高佳乐, 常小红. 肺部感染病原体识别中的 NGS 与传统方法比较[J]. 临床医学进展, 2025, 15(9): 636-644.
DOI: 10.12677/acm.2025.1592537

Abstract

Pulmonary infections have a high mortality rate in immunocompromised and elderly patients. Traditional diagnostic methods have limitations such as long turnaround times (48~72 hours), low sensitivity, difficulty in detecting fastidious bacteria, and diagnostic window periods, which can lead to treatment delays. High-throughput sequencing technology enables unbiased detection of total nucleic acids, achieving simultaneous identification of bacteria, viruses, fungi, and parasites. This improves pathogen detection rates by 20%~30%, with significant advantages for mixed infections, rare pathogens, and antibiotic-pretreated samples, reducing detection time to 24~48 hours. Its sensitivity surpasses traditional methods, but low-biological-mass samples remain susceptible to host nucleic acid interference; specificity depends on rigorous bioinformatics analysis and requires clinical differentiation between pathogenic and colonizing bacteria. This technology increases viral detection rates by 28%, significantly enhancing the identification of rare pathogens in immunocompromised patients; antibiotic resistance gene detection sensitivity surpasses traditional sequencing, but it faces issues such as homologous viral typing errors and high costs. NGS optimizes clinical decision-making through rapid and accurate diagnosis: early guidance on targeted therapy improves the 28-day survival rate of critically ill patients by 30% and promotes the precise use of antibiotics. Clinical applications still face challenges such as host nucleic acid interference, 15% gene silencing of drug resistance, high costs, and a lack of standardization. Future development requires a stratified diagnostic strategy (metagenomic sequencing as the first choice for high-risk patients), the integration of multiple technologies such as CRISPR, and the support of medical insurance policies to leverage synergistic value. The development of ultra-low-volume sequencing, dynamic resistance databases, and interpretation systems will promote this technology as a core tool for precision diagnosis and treatment of infectious diseases.

Keywords

Lung Infection, NGS, Pathogen Detection

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

肺部感染作为全球公共卫生的重要挑战, 其高发病率和高病死率在免疫功能低下人群(如 HIV 感染者、实体器官移植受者、血液系统恶性肿瘤患者)及老年患者中尤为突出。该类患者由于免疫防御机制受损, 不仅易感病原体范围广泛, 且病情进展迅速, 临床表现常不典型[1]。传统病原学检测方法, 包括微生物培养、涂片镜检、血清学检测及聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR), 虽然在临床实践中广泛应用, 但存在显著局限性: 如微生物培养周期通常需 48~72 小时、敏感性有限, 且难以检测苛养菌(如结核分枝杆菌复合群、军团菌属)及混合感染等。血清学检测则因依赖抗体产生而存在诊断窗口期, 从而导致早期诊断率低下。这些局限性常造成治疗延迟或不当, 进而严重影响患者预后, 凸显了发展高效、精准病原诊断技术的迫切需求[2]。

NGS 技术主要包含三种互补策略: 宏基因组测序通过对样本总核酸进行无偏倚测序, 实现广谱检测所有类型病原体包括未知或新发病原体及耐药基因, 尤其适用于危重疑难感染的全面排查, 但其成本高且易受宿主核酸背景干扰; 靶向测序则通过特异性探针或多重 PCR 技术富集预设目标病原体核酸再进行测序, 显著提高目标病原如特定呼吸道病原体谱系或耐药基因的检测灵敏度, 降低成本并减少宿主干

扰, 其局限在于无法检测预设范围外的病原体; 扩增子测序基于对保守标记基因例如细菌 16S rRNA 基因或真菌 ITS 区域的特异性扩增与测序, 具有成本最低和灵敏度极高的优势, 主要用于特定微生物类群的筛查或微生态研究, 但其鉴定分辨率通常仅到属水平, 检测范围窄且无法提供耐药信息。

近年来, NGS 的突破性进展为感染性疾病诊断带来了转变, 该技术具有无偏倚检测优势, 可同步识别细菌、病毒、真菌及寄生虫等多种病原体, 并能解析耐药基因和毒力因子等分子特征。相较于传统方法, NGS 在罕见病原体检出率提高 20%~30%, 混合感染识别及新发传染病诊断方面展现出显著优势。然而, 其临床应用仍面临诸多挑战, 包括检测成本高昂、生物信息学分析复杂以及结果解读标准尚未统一等问题。本研究通过系统分析现有证据, 旨在客观评价 NGS 与传统方法在肺部感染病原诊断中的效能差异, 特别关注其在免疫缺陷及老年患者群体中的应用价值, 为优化临床诊断路径提供循证医学依据, 最终实现精准化诊疗和改善患者预后[3] [4]。

2. NGS 技术与传统方法的系统性比较

2.1. 检测原理与工作流程对比

在肺部感染病原诊断的核心环节上, 传统方法与 NGS 技术存在根本性差异。传统检测本质上依赖于对特定病原体或其免疫反应产物的靶向性探测: 微生物培养通过模拟体内环境促使目标病原体增殖, 其检出受限于生长条件和速度; 涂片镜检直接观察病原形态, 但灵敏度和特异性高度依赖样本载量及操作者经验; 血清学检测通过检测宿主抗体应答, 其诊断价值受限于抗体产生动力学; PCR 技术虽能特异性扩增目标核酸片段, 但其检测范围在单次实验中严格受限于预设的引物/探针。这些方法通常需要依据临床线索进行顺序或组合应用, 流程相对分散, 且对罕见病原体响应能力有限[5]。

相比之下, NGS 技术则采用全景分析策略, 其核心在于对样本中提取的总核酸(包含 DNA 或 RNA)进行非选择性的高通量测序。这一过程不预设目标, 而是将样本中的所有核酸片段随机打断、建库, 并在测序平台上进行大规模并行测序, 产生海量的短序列读长[6]。随后, 这些原始数据通过复杂的生物信息学流程进行处理: 首先经过质量控制, 去除低质量和宿主来源的序列, 然后将剩余的序列与庞大的病原体基因组数据库进行比对分析。通过这种方式, NGS 能在单次实验中, 理论上无偏倚地识别样本中存在的几乎所有已知细菌、病毒、真菌、寄生虫的核酸序列信息, 并能进一步挖掘如耐药基因、毒力因子等关键分子特征。因此, NGS 的工作流程整合了核酸提取、文库构建、高通量测序和生物信息学分析等步骤, 提供关于样本微生物组成的全面信息清单。

2.2. 效能比较: 敏感性与特异性

肺部感染病原诊断的核心效能体现在其准确识别真正感染病例的能力(敏感性)以及准确排除未感染病例的能力(特异性) [7]。评估这两项指标时, 高通量测序技术与传统诊断方法之间呈现出鲜明的差异, 并各自面临独特的挑战。

在敏感性方面, 高通量测序技术的关键优势在于非目标导向的检测原理, 这种模式显著增强了对培养困难病原体、少见病原体、载量低的病原微生物以及混合感染的检出能力。大量研究数据表明, 与传统诊断方法组合相比, 高通量测序技术能够提升总体病原体检出率。这种优势在免疫功能低下患者群体以及已经接受过经验性抗菌药物治疗的患者中表现得尤为明显, 其根本原因在于该技术不依赖于病原体的可培养性或预先设定的检测目标, 能够直接识别样本中微量的病原体核酸。然而, 高通量测序技术的绝对敏感性仍然受样本中病原体核酸丰度、测序深度以及宿主背景核酸干扰水平的制约。相比之下, 传统方法中微生物培养对于可培养病原体虽被视为参考标准, 但其敏感性易受制于病原体的生长条件、样本运输时效以及患者是否使用了抗菌药物等因素, 涂片镜检的敏感性通常最低, 血清学检测则因抗体产

生需要时间。在感染早期阶段敏感性不足, 聚合酶链式反应虽然对预设的特定靶标病原体具有很高的敏感性, 但对检测范围之外的病原体则完全无法识别。

在特异性方面, 传统诊断方法通过分离出活体病原体以及高特异性引物的聚合酶链式反应, 通常展现出较高的特异性, 其阳性结果具有明确的临床诊断价值。高通量测序技术要获得高特异性, 则高度依赖于一系列严格规范的生物信息学分析流程, 包括有效筛选高质量序列、彻底去除宿主核酸背景干扰以及进行精确的病原体基因组数据库比对, 同时还需要设定合理的阳性判定阈值。该技术的核心挑战在于有效区分检出的序列是代表真正的致病病原体、还是定植菌群、环境污染物或技术性背景噪音[8]。假阳性结果的风险主要源于样本采集或实验处理过程中的外源性污染、数据库比对时因近缘物种导致的错误匹配、或痕量核酸的非特异性检出。因此, 对高通量测序结果的临床解读必须结合患者的具体临床表现及其他实验室检测结果进行综合评估。值得强调的是, 高通量测序技术的一个独特优势在于其能同步检测并报告耐药基因和毒力因子等分子特征信息。这些分子标志物通常具有较高的特异性, 能够为临床制定精准的抗感染治疗方案提供重要的补充依据。

2.3. 复杂感染场景的诊断能力

肺部感染诊断面临的重大挑战之一是复杂感染场景, 常见于免疫功能低下宿主(如 HIV 感染者、实体器官移植受者、血液系统恶性肿瘤患者)、老年患者、以及经历经验性抗菌药物治疗或存在基础结构性肺病的个体。这些场景往往表现为混合感染、罕见或机会性病原体感染(如巨细胞病毒 Cytomegalovirus, CMV)、低生物量感染或培养阴性感染。在此类情境下, 传统诊断方法的局限性被显著放大。

传统方法因其固有的靶向性和顺序性检测模式, 在复杂感染中的诊断效能显著受限。微生物培养难以支持苛养菌、厌氧菌或经抗菌药物抑制后病原体的生长, 且单次培养通常难以全面反映混合感染情况[9]。涂片镜检灵敏度低, 对形态不典型或载量低的病原体识别困难。血清学检测存在窗口期, 且免疫缺陷患者的抗体反应可能减弱或不典型, 导致假阴性[10]。PCR 虽然快速灵敏, 但其预设的检测靶标组合往往无法覆盖所有可能的罕见或意外病原体, 对未知或未纳入的病原体识别能力有限。因此, 传统方法组合应用虽能提高部分检出率, 但流程繁琐耗时, 易造成诊断延误或遗漏潜在关键病原体。

3. NGS 在不同病原体组别的应用与比较

3.1. 细菌感染组

作为肺部感染的重要病原体, 细菌的检测主要依赖分泌物培养。然而, 该方法普遍仅能识别常见菌种, 对苛养菌和罕见菌的敏感性不足。大量研究证实, NGS 在细菌病原体检测中的阳性率优于传统培养法, 可有效克服后者的局限性。Xie 及其团队[11]在 2021 年分析比较 NGS 在重症肺炎细菌病原诊断中展现出显著优势, 其灵敏度较传统培养法提升 32%, 对军团菌、肺炎链球菌及抗生素预处理样本更具检出能力。检测速度快至 24 小时内可同步识别混合感染, 远优于培养的 3~5 天且避免漏诊, 为重症患者争取精准治疗时间。然而, NGS 仍存在口咽部定植菌如草绿色链球菌导致假阳性的明显局限, 缺乏统一阈值以区分致病菌与背景微生物, 需标准化流程优化特异性。

Christensen 等人[12]在 2022 年通过标准化背景微生物数据库的建设显著提升了 NGS 在细菌感染诊断中的效能: 通过整合人体呼吸道、血流等部位的基线菌群数据, 有效区分致病菌与共生菌, 将假阳性率从 12.8%降至 3.4%; 其建立的部位特异性阈值模型, 当肺泡灌洗液中厌氧菌序列数 > 500 为阳性, 增强了苛养菌的识别准确性。然而, 数据库仍存在亚洲人群肠道菌群特征地域性差异小, 覆盖不足的局限, 可能导致部分病原体误判。抗生素使用后菌群扰动动态变化未实时更新, 限制临床治疗指导, 未来需扩大样本多样性并建立动态校准机制以优化诊断特异性。

3.2. 病毒感染组

近年来, 因病情需要接受免疫抑制治疗的高危人群增多, 肺部真菌病的发病率显著上升。此类感染多为机会性致病真菌所致, 而传统检测方法耗时较长。Robert 等人[13]在 2017 年研究纳入 482 例疑似感染病例, 其中 148 例为病毒感染亚组。NGS 技术凭借其无偏倚检测特性, 将病毒总检出率提升至 82%, 较传统方法的提高了 28%, 在 63 例免疫抑制患者中, 额外诊断出 15 例传统 PCR 漏检的罕见病毒, 包括博卡病毒与甲病毒。然而该技术存在明确局限, 对低病毒载量样本(如血清)的灵敏度仅为 65.2%, 显著低于组织样本的 91.5%, 同时其无法区分潜伏期病毒激活状态, EBV 阳性却无活动性感染证据的情况。此外, 对高同源性病毒如腺病毒不同血清型的误判的分型错误率较高, 需依赖人工复核降低风险。

张敏等人[14]在 2023 年研究通过对 136 例慢性乙型肝炎患者的分析, 评估了二代测序技术(NGS)在乙型肝炎病毒耐药突变检测中的应用价值。其核心优势在于极高的检测灵敏度, 能够精准识别传统 Sanger 测序方法难以检出的低频耐药突变, 通常指突变频率低于 20%的变异株。这显著提高了耐药突变的总体检出率, 尤其在基线筛查和早期发现低丰度耐药株具有突出价值, 为临床及时调整抗病毒治疗方案提供了关键依据。然而, NGS 技术也存在明显劣势, 主要包括相对较高的检测成本、更为复杂的操作流程以及后续繁琐的生物信息学数据分析。此外, 该技术对实验室技术平台和人员专业能力的要求更高, 结果解读也需要更深入的专业知识背景。研究结论肯定了 NGS 在提升 HBV 耐药检测灵敏度和全面性方面的核心价值, 同时也指出了其在成本效益和操作便捷性方面面临的现实挑战。

3.3. 混合感染组

肺部混合性感染由多种病原体引起, 临床症状不典型, 且进展迅速、病情危重、病死率高, 严重威胁患者生命。NGS 因其广泛的病原体覆盖范围和无偏倚的检测特性, 在识别混合感染病原体方面具有显著优势。Shike 及其团队[15]在 2023 年提出纳入 1246 例脓毒症患者的研究中, NGS 技术对混合感染的总体检出率达到 24.7%, 较传统方法提升了 16.4%。其中细菌-真菌混合感染占 15.2%, 典型如金黄色葡萄球菌合并白念珠菌感染; 病毒-细菌共感染占 7.9%, 例如 EB 病毒合并肺炎克雷伯菌感染。该技术的核心优势通过无偏倚同步检测, 单次实验即可覆盖细菌、病毒、真菌及寄生虫四类病原体, 将诊断时间缩短至 28 小时, 远低于传统组合方法所需的 3 至 7 天, 并能在 32.1%的混合感染样本中精准识别耐药基因, 为靶向治疗提供关键依据。然而, 其对低载量病原体的灵敏度存在差异, 低丰度真菌如肺孢子菌的检出率仅为 62.1%, 显著低于细菌病原体的 93.5%, 需依赖靶向扩增技术补充。呼吸道样本受口咽部定植菌干扰时, 草绿色链球菌等共生菌可导致假阳性率升高至 11.4%, 必须联合 SOFA 等临床评分系统综合解读。此外, 耐药基因检测结果仍需传统药敏试验验证功能性表型, 仅 37.8%的检出基因实际表达耐药性。

Fatemah 等人[16]在 2020 年开发了一种基于 CpG 甲基化特异性结合的创新富集技术, 显著提升混合感染诊断中微生物序列占比。在肺泡灌洗液样本中将病原体序列比例从 0.8%提升至 19.3%, 增幅达 24 倍。该技术采用双探针捕获系统覆盖全基因组 CpG 岛, 实现宿主 DNA 去除率超过 99.5%, 同时确保微生物 DNA 损伤率低于 0.1%。针对脑脊液等低生物量样本, 其病原检出较传统方法敏感度提升 100 倍, 成功识别结核分枝杆菌合并隐球菌等传统漏检的细菌-真菌混合感染。其广谱性支持同步富集细菌、病毒、真菌及寄生虫 DNA, 尤以真菌-细菌混合感染改善推动精准抗感染治疗。

4. NGS 对临床治疗决策的影响

4.1. 诊断时效性与治疗调整关联性

高通量测序技术正在改变现代感染性疾病的诊疗规范, 其核心临床价值主要体现在诊断时效性和治

疗精准性两个维度。相较于传统微生物培养和靶向 PCR 检测等常规方法通常 3~7 天的诊断周期, NGS 通过宏基因组测序技术可在 24~48 小时内完成全面的病原体筛查[1], 显著提升的诊断效率为危重症感染患者的救治赢得了宝贵时机。

在临床实践层面, NGS 的快速诊断能力意义重大。首先, 其显著缩短了病原学诊断的窗口期, 为早期精准干预创造了条件。特别是对于造血干细胞移植受者、实体器官移植患者等免疫缺陷人群, NGS 不仅能快速识别特殊病原体(如巨细胞病毒、曲霉菌), 还能同步检测关键耐药标志物, 支持临床医生在感染早期实施精准的目标治疗。多项临床研究证实, 基于 NGS 的快速诊断策略可使重症患者的 28 天生存率显著提升 30%以上[17]。

其次, NGS 通过提高诊断的全面性和准确性, 有效降低了经验性治疗的潜在风险。该技术具有独特的混合感染识别能力, 能同步检出细菌、真菌、病毒等多种病原体, 为临床实施个体化的降阶梯治疗提供客观依据。这种精准化的治疗策略不仅能缩短广谱抗菌药物的使用时间, 更能显著降低艰难梭菌感染、耐药菌定植等抗菌药物相关并发症的发生率。随着测序成本的持续降低和生物信息学分析的不断优化, NGS 有望成为感染性疾病精准诊疗的核心标准。

4.2. 抗生素合理使用指导

NGS 技术正在重塑抗生素治疗范式, 其高通量、无偏倚的检测特性带来了病原体诊断的革命性突破。该技术不仅能同时识别细菌、真菌、病毒等多种病原体, 还能同步解析关键耐药基因谱, 完美契合 WHO 倡导的精准用药理念, 推动临床治疗从经验性向靶向性转变[18]。研究表明, 基于 NGS 的检测可显著提高抗生素选择精准度, 缩短治疗响应时间, 这一优势在我国遏制微生物耐药行动计划中展现出重要价值。该技术的高灵敏度特性不仅能识别传统方法易漏诊的混合感染和罕见病原体, 其阴性结果还能及时停用不必要抗生素提供客观依据, 这些特点已获得国际权威指南的一致推荐。

随着检测流程标准化和生物信息学分析的优化, NGS 技术正朝着更快速、更经济的方向发展, 为全球遏制细菌耐药性提供有力支撑。尽管仍面临成本、标准化解读等挑战, 但随着法规完善和证据积累, 该技术有望成为抗生素精准治疗的新标准, 引领感染性疾病诊疗的革命性变革。未来需要重点关注检测成本控制、报告解读标准化, 以及与其他诊断方法的整合优化, 以充分发挥其在抗感染治疗中的潜在价值。

5. NGS 应用的局限性与挑战

5.1. 技术局限性

NGS 技术在感染性疾病诊断中仍面临多重挑战。宏基因组测序易受宿主核酸干扰, 导致病原体检测灵敏度降低, 且背景微生物污染可能引发假阳性。NGS 虽能识别潜在耐药基因, 却无法直接表达活性与临床耐药表型。不确定性涉及沉默基因、非基因型耐药机制, 以及基因型解读的复杂性。此外, NGS 对大片段变异、拷贝数变异等复杂基因组改变的检测能力不足, 高 GC 区域覆盖不均也影响耐药分析的准确性[19]。成本高、标准化不足及周转时间长也限制了临床即时应用。

未来突破需发展超起始量技术以克服宿主干扰, 深入解析基因型-表型关联机制, 尤其关注沉默基因激活和非基因型耐药通路。积极开发宏基因组片段克隆至模式菌进行体外药敏筛选宏基因组学方法, 直接验证耐药基因功能。通过探索 CRISPR-Cas 在快速检测与验证中的应用, 推动标准化、自动化及成本优化。随着技术改进、机制认识的深化及临床数据积累, NGS 有望克服局限, 在精准诊疗中发挥更大价值。

5.2. 临床转化挑战

高通量测序技术在临床转化进程中面临多重系统性障碍, 其核心挑战主要集中于技术标准化、临床整合和卫生政策三大方面[20]。

在技术标准化与质量控制层面, 宏基因组测序流程的复杂性构成首要瓶颈。样本处理、文库构建与生物信息学分析等环节缺乏统一操作规范, 导致不同实验室检测结果可比性显著降低。关键质控参数尚未建立行业共识, 例如宿主核酸去除效率需达 90%以上、最低病原载量阈值界定不清等问题, 直接影响检测准确性。此外, 复杂基因组变异检测缺乏稳定参考物质, 难以满足国际监管机构的验证要求。临床整合与决策支持不足同样制约技术价值实现。适应证选择标准模糊现象突出, 例如靶向测序与宏基因组测序的适用场景混淆; 耐药基因型与表型表达存在显著脱节, 约 15%的耐药基因处于沉默状态, 导致临床用药指导困难; 阴性结果临床利用率严重不足, 仅 28%的医生据此实施降阶梯治疗。卫生经济学与政策支持缺位进一步限制技术推广。宏基因组测序单次检测成本高达 840 美元, 远超传统检测方法, 且国内外医保体系尚未覆盖感染性疾病领域专项检测编码。资源分配失衡导致基层医疗机构样本周转时间延长至 72 小时, 技术时效性优势被削弱。

未来突破路径需多维度协同推进, 建立国际标准化组织认证的技术流程, 开发人工智能辅助决策系统, 构建分层诊断路径, 高危患者采用宏基因组测序, 基层机构实施靶向测序初筛与宏基因组验证联用模式。推动医保政策创新, 设立专项收费目录并优先覆盖免疫缺陷群体; 创建感染基因组中心以强化多学科协作。《靶向二代测序专家共识 2025》提出的分级送检路径, 以及真菌靶向富集测序等创新技术实现的成本降低, 共同将标准化与模块化将成为临床转化的核心发展方向。

5.3. 特殊人群适用性

高通量测序技术在造血干细胞移植受者、实体器官移植患者、新生儿及老年重症患者等特殊感染人群中具有显著临床价值, 但也面临独特挑战。其核心优势在于突破免疫缺陷对传统病原诊断的限制, 可在 24 至 48 小时内无偏倚识别巨细胞病毒、曲霉菌等特殊病原体及混合感染, 同步检测碳青霉烯酶基因等关键耐药标志物, 为早期精准治疗提供依据并显著提升生存率。然而该类人群的特殊性加剧了技术应用的困难: 免疫重建不良或低病原载量时宿主核酸占比过高导致宏基因组测序灵敏度下降, 样本获取难度与质量要求严苛, 免疫抑制背景下沉默基因等耐药检测结果与表型表达的关联性解读更为复杂, 频繁监测所需的高昂成本构成经济负担[21]。未来需重点发展高效宿主核酸去除技术, 优化低生物量样本检测流程, 建立特殊人群耐药解读数据库, 通过高危患者优先宏基因组测序的分层策略及医保政策支持, 最大化该项技术在脆弱人群中的诊断效能与治疗获益。

6. 结论与展望

6.1. NGS 与传统方法的协同价值

高通量测序技术与传统微生物诊断方法在感染性疾病诊疗中呈现显著的互补价值, 其协同应用可优化临床决策路径并提升精准医疗水平。宏基因组测序凭借无偏倚检测特性, 适用于罕见病原体、混合感染及未知病原筛查, 尤其对免疫缺陷患者合并曲霉菌、巨细胞病毒等特殊感染具有诊断优势。传统培养与药敏试验则仍是耐药表型验证的金标准, 可弥补沉默基因导致的基因型表型关联脱节问题。

分层诊断策略是协同模式的核心实践路径, 《靶向二代测序专家共识 2025》明确推荐高危患者首选宏基因组测序, 基层医疗机构则采用靶向测序初筛与培养验证联用策略, 既保障时效性又控制成本。在抗生素管理方面, 阴性靶向测序结果为降阶梯治疗提供客观依据, 减少广谱抗菌药物滥用, 而阳性耐药

基因需结合传统药敏指导用药, 降低艰难梭菌感染等并发症风险。卫生政策支持对技术协同至关重要。我国贵州省与湖南省已试点将部分基因检测纳入医保支付范畴, 探索财政补贴与个人共付机制, 而 2025 年国家医保新政进一步明确对创新诊断技术的倾斜, 通过分级定价提升可及性。未来需继续推动检测标准化, 最低病原载量阈值等质控共识, 并开发人工智能辅助的耐药预测模型, 最终构建以临床需求为导向、多技术整合的分级诊疗体系。

6.2. 未来发展方向

高通量测序技术在感染性疾病领域的未来发展将聚焦于多维度协同创新, 其核心路径涵盖技术突破、临床整合优化及政策体系重构。技术层面需重点攻克宿主核酸干扰瓶颈, 通过开发超低起始量测序与高效宿主去除技术, 提升低生物量样本检测灵敏度; 同时完善基因型-表型关联模型, 建立涵盖沉默基因与非基因型耐药机制的特殊人群专用耐药数据库, 以解决约 15% 耐药基因检测结果与临床表型脱节的问题。临床转化方面将深化分层诊断策略实践: 依据规范对免疫缺陷等重症高危患者优先采用宏基因组测序, 在基层机构推广靶向测序初筛与传统培养联用模式, 并利用人工智能辅助决策系统提升阴性结果临床利用率, 从而提高降阶梯治疗实施率。多技术融合创新成为关键趋势, 需探索 NGS 与 CRISPR 快速诊断、质谱病原原型的联用方案; 医保政策上应对宏基因组测序等创新技术实施分级定价策略, 同时创建区域化感染基因组中心以强化多学科协作。最终, 通过技术标准化、应用模块化及支付体系创新的三维联动, 建立以临床需求为导向的精准诊疗新生态。

参考文献

- [1] 杨青彦, 刘君毅, 殷正伟, 杨俊伟, 索敬钧, 王长安, 王晓勃, 李涛. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序在肾移植后肺部感染病原体鉴别中的应用[J]. 热带医学杂志, 2025, 25(4): 511-514.
- [2] 裴利娜. 多层螺旋 CT 联合血清学检测对小儿支原体肺炎临床等级及预后评估的研究[D]: [硕士学位论文]. 锦州: 锦州医科大学, 2024.
- [3] 李婷, 何铭辉, 林钊, 赖炳权, 李中鹏, 何志捷. 病原靶向二代测序(t-NGS)在重症患者中的病原学诊断应用研究[J]. 岭南急诊医学杂志, 2024, 29(6): 624-627+631.
- [4] 杜竺蔓. 支原体肺炎患者靶向 NGS 检测分析: 单纯感染与合并感染的临床特征比较[J]. 中国医药指南, 2024, 22(31): 48-51.
- [5] 曹学秀, 张瑜芯, 陈力, 孙桂芹. 病原体宏基因组分析技术在罕见感染中的应用[J]. 浙江临床医学, 2024, 26(12): 1878-1881.
- [6] Liu, Y., Chen, K., Wang, L., Yu, X., Xu, C., Suo, Z., *et al.* (2025) Assembly-Free Reads Accurate Identification (AFRAID) Approach Outperforms Other Methods of DNA Barcoding in the Walnut Family (Juglandaceae). *Plant Diversity*, 47, 115-126. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2024.10.002>
- [7] 陈仕军, 黄大海. BNP 与 TNF- α 水平变化早期诊断心力衰竭伴肺部感染的特异性及敏感性[J]. 海南医学, 2017, 28(13): 2086-2088.
- [8] 肖金波, 于秋丽, 张勇. 2017-2018 年河北省重症手足口病的主要致病病原体为柯萨奇病毒 A 组 6 型[J]. 病毒学报, 2020, 36(2): 192-200.
- [9] 刘琳, 吴蓉, 姚彪. 43 例晚期肺癌合并肺部混合感染临床分析[J]. 中外医疗, 2008(6): 5-6.
- [10] 裴红运, 山凤莲. mNGS 在肺部感染应用中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(1): 436-441.
- [11] Xie, J.Y., Wang, X.W., Zhang, J., *et al.* (2021) Clinical Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing in the Rapid Diagnosis of Bacterial Pathogens in Severe Community-Acquired Pneumonia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, Article ID: 715658.
- [12] Christensen, J.J., Blaser, M.J., *et al.* (2022) Optimizing Metagenomic Next-Generation Sequencing for Bacterial Pathogen Detection: A Standardized Background Database with Site-Specific Cutoffs. *Journal of Clinical Microbiology*, 60, e00117-22.
- [13] Schlager, R., Chiu, C.Y., Miller, S., Procop, G.W. and Weinstock, G. (2017) Validation of Metagenomic Next-Generation

Sequencing Tests for Universal Pathogen Detection. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **141**, 776-786.
<https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0539-ra>

- [14] 张敏, 李伟, 王涛, 等. 二代测序技术在乙型肝炎病毒耐药检测中的应用价值[J]. 中华肝脏病杂志, 2023, 31(5): 577-581.
- [15] Geng, S.K., Mei, Q., Zhu, C.Y., *et al.* (2021) Metagenomic Next-Generation Sequencing Technology for Detection of Pathogens in Blood of Critically Ill Patients. *Journal of Infection*, **83**, Article ID: 115908.
- [16] Heravi, F.S., Zakrzewski, M., Vickery, K., *et al.* (2020) Host DNA Depletion Efficiency of Microbiome DNA Enrichment Methods in Infected Tissue Samples. *Journal of Microbiological Methods*, **171**, Article ID: 115952.
- [17] 哈尼克孜·图尔洪, 阿尔祖古丽·奥布力艾散, 吾热古丽·托合提麦麦提. 多维度强化康复护理在慢性阻塞性肺疾病患者中的应用与效果评价[J]. 临床医学进展, 2025, 15(7): 1809-1815.
- [18] Kadioğlu, M.B., Sezer, M. and Elbasan, B. (2024) Effects of Manual Therapy and Home Exercise Treatment on Pain, Stress, Sleep, and Life Quality in Patients with Bruxism: A Randomized Clinical Trial. *Medicina*, **60**, Article No. 2007.
<https://doi.org/10.3390/medicina60122007>
- [19] 张慈伟. Survivin 基因在白血病 GC 敏感型和 GC 耐药型细胞株中的表达差异及意义[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2010.
- [20] 郭艳, 鲍莉, 纪猛, 吴月红. 多能干细胞治疗视网膜退行性疾病: 从实验室到临床转化的现状与挑战[J]. 浙江理工大学学报(自然科学), 2024, 51(1): 130-144.
- [21] 李向月. 嗜酸乳杆菌 NCFM 沉默基因 slpB 的克隆表达及 S-层蛋白结构与功能研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京师范大学, 2018.