

不同临床标本二代测序在感染性疾病诊断中的研究进展

肖东京^{1*}, 程业杰¹, 陈杰¹, 朱本玲^{2#}

¹重庆市长寿区人民医院呼吸与危重症医学科, 重庆

²重庆市长寿区人民医院病理科, 重庆

收稿日期: 2026年4月13日; 录用日期: 2026年5月7日; 发布日期: 2026年5月15日

摘要

感染性疾病是当前重要的公共卫生挑战, 传统微生物培养与聚合酶链式反应(PCR)技术难以满足精准抗感染诊疗需求, 二代测序(NGS)技术为疑难及危重感染诊断提供了新工具。本文系统综述了NGS在外周血、痰液、肺泡灌洗液、胸腹水及脑脊液五种常见临床标本中的研究进展。结果显示, 不同标本类型因解剖与生理特性差异, 其NGS检测的敏感性与特异性各异: 外周血NGS对血流感染及免疫低下患者优势显著但易受人源核酸干扰; 呼吸道标本(痰液、肺泡灌洗液)可显著提高肺部感染检出率, 但需甄别定植菌; 胸腹水NGS可拓宽病原谱, 尤其在罕见病原体识别中作用突出; 脑脊液NGS为中枢神经系统感染提供了高效诊断方案。尽管当前NGS仍面临人源核酸干扰、定植与致病菌鉴别困难及缺乏药敏结果等共性挑战, 但随着去宿主技术、靶向富集方法及规范化流程的完善, NGS正逐步从“能用”走向“好用”, 有望推动感染性疾病诊疗从经验性治疗迈向精准诊断。

关键词

二代测序, 临床标本, 感染性疾病, 病原体检测, 临床应用, 精准诊断

Research Progress of Next-Generation Sequencing for Infectious Disease Diagnosis across Various Clinical Specimens

Dongjing Xiao^{1*}, Yejie Cheng¹, Jie Chen¹, Benling Zhu^{2#}

¹Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Chongqing Changshou District People's Hospital, Chongqing

²Department of Pathology, Chongqing Changshou District People's Hospital, Chongqing

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 肖东京, 程业杰, 陈杰, 朱本玲. 不同临床标本二代测序在感染性疾病诊断中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2026, 16(5): 1195-1202. DOI: 10.12677/acm.2026.1651919

Abstract

Infectious diseases remain a major public health challenge. Traditional microbial culture and polymerase chain reaction (PCR) techniques often fall short of meeting the demands of precise anti-infective diagnosis and treatment. Next-generation sequencing (NGS) has emerged as a promising tool for diagnosing complicated and critical infections. This article systematically reviews the research progress of NGS applied to five common clinical specimen types: peripheral blood, sputum, bronchoalveolar lavage fluid, pleural fluid, ascites, and cerebrospinal fluid. The findings indicate that the sensitivity and specificity of NGS vary across specimen types due to differences in anatomical and physiological characteristics. NGS of peripheral blood offers significant advantages in detecting bloodstream infections and in immunocompromised patients, though it is susceptible to interference from human nucleic acids. Respiratory specimens (sputum and bronchoalveolar lavage fluid) markedly improve the detection rate of pulmonary infections but require careful differentiation of colonizing microorganisms. NGS of pleural fluid and ascites broadens the detectable pathogen spectrum, demonstrating particular value in identifying rare pathogens. NGS of cerebrospinal fluid provides an efficient diagnostic approach for central nervous system infections. Despite current challenges common to NGS, including interference from human nucleic acids, difficulty in distinguishing colonizing and pathogenic bacteria, and the lack of antimicrobial susceptibility data, ongoing advancements in host depletion techniques, targeted enrichment methods, and standardized procedures are gradually making NGS more practical and effective. These developments are expected to facilitate the transition of infectious disease diagnosis and treatment from empirical therapy to precision diagnosis.

Keywords

Next-Generation Sequencing, Clinical Specimens, Infectious Diseases, Pathogen Detection, Clinical Application, Precision Diagnosis

Copyright © 2026 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

当前,随着人口老龄化的推进及免疫抑制人群的增加,感染性疾病依旧是全球范围内重要的公共卫生挑战[1]。快速、准确地获取病原学信息是抗感染治疗的基石。目前微生物培养仍然是病原学筛查的“金标准”,然而传统微生物培养存在耗时较长,阳性率普遍偏低的缺点。聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)技术,通过扩增特定核酸序列,以实现高灵敏度检测,兼具快速、灵敏的特点。但 PCR 技术只能对少数特定病原体实现有效检测,无法覆盖罕见及未知病原体,常常导致漏诊[2]。因此,临床上亟需一种精准、高效的检测技术来打破多年来抗感染治疗中的僵局。二代测序技术(NGS),是一种通过高通量测序技术检测病原体核酸序列的方法,其可以对样本中所有的核酸样本进行无偏测序,借由生物信息学分析识别出病原体特异性序列。二代测序(Next-Generation Sequencing, NGS)技术可同时检测多种微生物,包括细菌、真菌、病毒、寄生虫、非典型病原体等,尤其是可以检测出传统培养、PCR 技术难以发现的少见病原体,对危重症及疑难感染性疾病的诊断极具优势[3]。目前临床上常用的 NGS 技术包括

宏基因组二代测序(mNGS)及靶向二代测序(t-NGS):前者能对样本中的所有核酸进行高通量测序,从而实现病原体检测的广覆盖;而 t-NGS 则基于多重 PCR 或探针捕获技术,富集目标序列,实现对已知的特定病原体的检测。

NGS 技术日益成熟,被广泛应用于抗感染治疗的病原学筛查。但是有一个问题一直困扰着人们——标本类型。目前可用于 NGS 检测的标本有血液、痰液、肺泡灌洗液、脑脊液、胸腹水、组织等,由于不同标本具有不同的解剖学特点及生理学特点,因此对 NGS 检测的敏感性和特异性也有一定影响[4]。如何理解不同样本背景下 NGS 结果、如何根据不同疾病选择合适样本,是目前临床工作中需特别关注的问题,也是 NGS 临床研究热点。本文总结近几年 NGS 在不同类型标本中应用情况,分析其临床意义。

2. 不同临床标本论述

2.1. 外周血 NGS

传统的外周血标本用于感染性疾病的诊断主要是血培养以及外周血涂片,但是由于这些方法对于病原学信息获取能力较差,往往不能够满足临床需求,而外周血 NGS 检测在一定程度上弥补了这一不足之处。有报道指出,与传统的血培养相比,外周血 mNGS 检测时间更短而且阳性率更高[5]。感染部位、病原体种类以及采样时间都会影响外周血 mNGS 检测病原体的阳性率:合并脓毒血症的血流感染行外周血 mNGS 检查阳性率为 77.7% [6]。外周血培养的另一个缺点是对外周血中非典型病原体、真菌、结核等病原体的检出率较低,而且不能培养病毒。而外周血 mNGS 对特殊病原体例如结核[7],曲霉菌[8]、鹦鹉热衣原体[9]等亦有独特优势。外周血 mNGS 另一个优点是对于免疫功能低下感染性疾病患者病原体检测有较大意义。一项纳入 308 例脓毒血症患者的研究比较了 mNGS 和传统培养法对于免疫功能低下患者检出率的不同,结果表明,在所有类型的血液样本中,mNGS 检出病原体的敏感性显著高于培养法($p=0.001$) [10]。在临床上,对于免疫力低下的人群如新生儿、老年人等由于其自身状况难以承受有创性操作以获得肺泡灌洗液等样本时,外周血 NGS 检测不失为一种有效的替代方案。

虽然外周血标本可以应用于 NGS 检测,但是也有一定的缺点。首先,外周血中存在很高比例的人源 DNA,一般高达 97%,而游离的微生物 DNA 片段只占很少一部分,在检测过程中可能导致病原体核酸片段的丢失,造成假阴性[11];外周血标本虽容易获取,通常经皮肤浅表静脉取血,采血部位消毒不严可能导致标本污染,造成假阳性。因此,积极开发去除人源 DNA 核酸片段的外周血 mNGS 检测新技术,重视外周血标本采集的无菌化操作,对外周血 mNGS 检测的准确性具有重要意义。

2.2. 呼吸道 NGS

2.2.1. 痰液 NGS 检测

痰液标本获取简单易行,是呼吸道病原体检查的常用标本。一项研究纳入了 209 例确诊为肺炎的患者,利用痰标本分别进行 t-NGS 检测和传统微生物培养。结果显示,t-NGS 微生物检出率明显高于传统微生物培养(96.7% vs 36.8%, $p < 0.001$),并且研究显示在后期的治疗过程中,有 81 例患者因 t-NGS 结果调整了治疗方案,提示痰液 t-NGS 检测有助于优化肺部感染性疾病的治疗决策[12]。痰液标本行 NGS 检测对特殊病原体筛查亦有独到之处:戴小伟等人在一项前瞻研究中,对 49 例疑似肺结核的患者的痰液同时进行抗酸杆菌检测、结核分枝杆菌培养、x-pert 及 NGS 方法检测,结果显示,以临床诊断为参考标准,NGS 技术检测的敏感度及特异性最高,能有效早期辅助诊断肺结核[13]。然而,因其本身的生物学特性,痰液 NGS 在临床实践中也暴露出一些缺陷。首先,痰液标本需经过咽喉部等上呼吸道,常常会混入大量上呼吸道的定植菌,干扰临床决策;其次,和外周血标本类似,痰液标本中含有的大量人源化基因片段,极有可能影响测序结果。因此,针对痰液 NGS 检测,需重视标本的质控,诱导咳痰法、清水漱口等措施

有助于提高痰液标本的质量[14]。同时,优化检测流程、去除人源化干扰等检测技术改进措施可能是提高痰液 NGS 检测效率的必由之路。

2.2.2. 肺泡灌洗液(Bronchoalveolar Lavage Fluid, BALF) NGS 检测

BALF 是通过支气管镜对支气管以下肺段进行灌洗回收得到的衬液标本,从理论上讲, BALF 可以真实反映肺部病变区域的微环境状态,对下呼吸道疾病的诊断具有重要意义。近年来,利用 BALF 进行 NGS 检测在呼吸系统疾病诊断中展现出独特的优势。mNGS 主要用于重症、疑难及免疫缺陷肺部感染性疾病患者,在一项荟萃分析中,共纳入 18 篇文献, mNGS 检测 BALF 病原体合并敏感性为 78%, 合并特异性为 77%。进一步亚组分析表明,重症或者免疫功能低下患者 mNGS 阳性检出率为 92%, 该研究纳入的文献数量多,充分证实了 mNGS 对于肺炎患者 BALF 检测有良好检测效果,特别是重症或者免疫功能低下患者[15]。相比于 mNGS, t-NGS 检测通过高度靶向富集预设目标,检测成本低、速度更快,在肺部感染性疾病的诊断中得到进一步推广, Dai 等人的一项研究纳入了 358 例呼吸道感染的患者,使用 t-NGS 对患者 BALF 进行检测,通过队列分析并以临床诊断为参考, t-NGS 病原体检出率明显高于胸部 CT (90.22% VS 57.26%, $P = 0.001$), 并且当 CT 结果为阴性时,单独使用 t-NGS 能检出较多个见病原体,包括惠普尔养障体、非结核分枝杆菌、衣原体及百日咳博德特菌等,这提示了利用 BALF 行 t-NGS 检测能对肺部感染患者提供有效的临床指导[16]。也有研究比较过 mNGS 和 t-NGS 的诊断效能,结果显示,两者对下呼吸道感染诊断效能相当,而 t-NGS 在真菌检测方面具有特定优势[17],不过该研究仅纳入 136 例患者,未来有待大样本的前瞻性队列研究进一步比较两种不同 NGS 检测方法。

结合临床特征及影像学特点,经验性使用抗菌药物常常是肺部感染性疾病治疗中的常规思路。随着精准医学理念的推进,快速获取病原体后的“精准施治”,正在不断改变传统经验性抗感染治疗的理念。Xu 等人的一项研究探讨了利用 BALF 行 mNGS 对提升儿童重症肺炎抗生素精准管理的潜力。研究结果显示,在 mNGS 阳性的患者中 77.4% 的患儿根据结果调整了抗菌方案,和入院 72 小时后行 mNGS 的患儿相比,入院早期(<72 小时)行 mNGS 检测的患儿在根据检测结果及时调整抗菌药物后,其肺外并发症更低(55.22% vs 69.63%, $p < 0.05$),且住院时间更短(13 天 vs 15 天, $p < 0.01$) [18]。该研究结果研究显示,基于 BALF 的 mNGS 病原学检测可以给患者带来实际的获益。在指导即刻治疗的同时, BALF-NGS 检测也能够对患者的预后起到一定的作用,该研究为回顾性研究,异质性较高,有待高质量的前瞻性研究进一步证实。一项研究显示, mNGS 检出的病原体组成可以反映感染复杂程度,多重感染一般意味着较差预后以及较长治疗时间[19]。

快速检测耐药及毒力基因是 BALF-NGS 的重要临床价值, Liu 等人的一项前瞻性研究中,纳入的 78 名患者行 t-NGS 检测,共检测出与致病微生物相关的 81 种耐药基因,同时检测到 4 种常见病原体的 144 种毒力基因,进一步的结果显示,携带毒力基因的患者中,出现重症肺炎、急性呼吸窘迫综合征、中性粒细胞升高的比例更高,提示 t-NGS 毒力基因检测可作为评估肺炎严重程度的有效工具[20]。需要指出的是,不同的 NGS 技术对于耐药性的检测能力是不一样的。研究显示,基于多重 PCR 扩增的 tNGS (mp-tNGS)可从更多低病原载量的样本中检出病原,而基于探针杂交捕获的 tNGS (hc-tNGS)可更精准识别病原亚型和耐药基因[21] [22]。

下呼吸道存在复杂的定植菌群,在 NGS 结果中常被检出,如何鉴别致病菌、定植或污染菌,是 BALF-NGS 结果解读的重要工作。一项研究探讨了 BALF mNGS 检出耶氏肺孢子菌序列数在判断感染与定植中的价值,研究结果发现,结合免疫缺陷状态、影像学表现、外周血 CD4⁺T 细胞数下降(尤其<200 个/ul),以及血清 G 试验升高(≥ 106.7 pg/ml)等参数有助于鉴别出致病菌[23]。因此,单纯依赖 NGS 的序列数难以做出准确判断,必须结合临床背景、影像学特征、宿主免疫状态等多维度信息综合评估。诚然,NGS 检

测耐药基因能够提示潜在的耐药机制,但无法完全替代传统药敏试验。研究明确指出,微生物耐药基因型并不能完全准确地预测耐药表型,tNGS 检测到的耐药基因与传统药敏试验结果之间存在不一致性[24]。此外,mNGS 数据中的人源核酸干扰问题也影响了耐药基因的检测敏感性。有研究显示,BALF 样本中人源核酸浓度可占总测序数据的 95%以上[25],显著稀释了微生物信号,对于耐药基因这类低丰度靶点的检测尤为不利。

肺泡灌洗液的规范化采集是确保 NGS 检测价值的重要前提。研究显示,病变局限者应选择影像学显示最明显的病变段;弥漫性病变者通常选择右肺中叶或左肺上叶舌段,这些部位易于楔入且回收率较高。合格的 BALF 标本应满足回收率至少>30%,避免混入血液,且标本量不低于 10 ml,儿童不低于 3 ml。若进行多部位灌洗,需分别注明灌洗部位。另外,BALF 细胞形态学检查可为 NGS 结果解读提供重要参考,例如,中性粒细胞增多可提示活动性肺炎,多见于细菌性化脓性感染,而嗜酸性粒细胞增多则提示真菌或寄生虫感染[26]。

BALF-NGS 检测在少见病原体识别、指导抗生素使用、预后判断及耐药菌检测方面展现出显著临床优势,已成为肺部感染精准诊疗的重要工具。然而,定植与致病的鉴别困境、缺乏药敏结果的局限性等挑战,要求临床医生必须结合患者临床表现、影像学特征、宿主免疫状态及传统微生物学结果进行综合判读。同时,严格遵循 BALF 采集规范、确保标本质量,是充分发挥 NGS 技术价值的基础。随着技术持续优化和临床经验积累,BALF NGS 必将在呼吸道感染诊疗中发挥更加重要的作用。

2.3. 胸腹水 NGS

胸腹水是呼吸系统及消化系统疾病病原学诊断常用的标本,和痰液及肺泡灌洗液类似,传统的胸腹水病原学培养或者 PCR 耗时长、阳性率低,难以满足临床需求。而 NGS 技术近年来也在胸腹水的诊断中展现出独特的作用。鉴于胸腹水液在解剖学、生理学及临床处理上存在差异,以下分别论述两种标本在 NGS 中的应用进展。

2.3.1. 胸水 NGS

在结核性胸膜炎的成人研究中,已有小样本回顾性分析表明,胸水 mNGS 诊断结核性胸膜炎灵敏度可达到 54.1%,特异性 80.8%。虽然其诊断效能低于 BALF,但明显高于常规检测方法(胸水培养、胸水抗酸染色检测)[27]。此外,胸水 NGS 在鉴别诊断中亦有应用,Yoshiki 等人的一项研究纳入了 19 例感染性胸腔积液及 9 例恶性胸腔积液的患者,通过基因扩增与 NGS 技术相结合分析致病菌,结果证实在所有感染性胸腔积液患者中 NGS 联合基因扩增技术均能检出致病病原体,远高于传统培养(42%)[28]。

2.3.2. 腹水 NGS

Goelz 等人在一项前瞻性研究中收集了 50 例 ICU 患者的腹腔积液标本,所有标本同时行传统微生物培养及 NGS 检测。结果显示,基于 NGS 的检测方法病原检测阳性率可达 66%,远高于传统培养(26%)[29]。腹水 NGS 在罕见病原体检测方面也具有独特优势。一篇病例报告显示,一名 63 岁长期服用免疫抑制剂的患者出现不明原因腹胀、腹水,传统抗酸染色、微生物培养及细胞病理学均为阴性,而 mNGS 在腹水中成功鉴定出微孢子虫,这是机会性感染中极为罕见的病原体,经针对性抗感染治疗后,患者病情明显好转[30]。腹水 NGS 亦能在一定程度上预测病情及指导抗感染治疗方案的调整,Mao 等人的一项研究将配对的脓毒血症患者的血浆及腹腔积液标本用于 mNGS 检测,对照组则为传统微生物培养,结果显示,mNGS 组匹配的患者死亡率和脓毒症严重程度更高,并且 mNGS 组根据结果及时调整抗菌药物,减少了碳青霉烯类抗生素的使用[31]。

以上研究的结果虽支持胸腹水 NGS 在临床上的应用,但主要以小样本回顾性研究为主,尚需高质量

文献评估其临床效能。并且, 穿刺过程中的皮肤定植菌污染、以及积液中因炎症反应释放的大量人源 DNA 干扰, 仍是影响胸腹水 NGS 检测特异性的主要障碍。

2.4. 脑脊液 NGS 检测

中枢神经系统(CNS)感染具有高致残率、高死亡率等特点, 有研究显示高达 50%的中枢神经系统感染无法通过传统检测方法明确病原体[32]。近年来, 脑脊液 NGS 检测为 CNS 感染的病原学诊断带来了革命性突破。一项系统综述和荟萃分析显示, mNGS 对儿童 CNS 感染的汇总敏感性为 68%, 特异性高达 89%, 受试者工作特征曲线下面积(AUC)达 0.85, 表明其具有良好的诊断效能[33]。Feng 等人的一项纳入 246 例疑似 CNS 感染患者的回顾性研究显示, mNGS 与临床诊断的总体符合率达 73.2%, 显著高于传统培养方法(54.1%)和常规检测方法(61.4%), 但是该研究也指出, 由于病毒漏检, 可能造成脑脊液 mNGS 结果的假阴性, 年龄、全身感染、头痛乃至脑脊液葡萄糖水平可能会影响其效能[34]。同样, 难以精确定义致病或定植、缺乏药敏结果等缺陷也是影响脑脊液 NGS 检测效能的重要客观因素。

3. 总结与展望

随着二代测序技术的快速发展和临床应用的不断深入, 不同标本类型的 NGS 检测已在感染性疾病诊断领域展现出独特的价值和广阔的前景。本文系统综述了外周血、痰液、肺泡灌洗液、胸腹水及脑脊液五种临床常见标本在 NGS 检测中的研究进展, 上述 NGS 标本在不同临床场景的合理运用, 为感染性疾病的诊断、抗菌药物策略以及病情评估提供了有力的帮助。虽然不同标本 NGS 检测均面临人源核酸干扰、定植与致病鉴别困难、缺乏统一标准化流程及药敏结果等共性挑战, 但随着去宿主核酸技术、靶向富集方法、长读长测序平台等技术的持续优化, 以及规范化标本采集流程的建立和多维度结果判读体系的完善, NGS 检测必将从“能用”走向“好用”。未来, 多标本联合检测、多组学整合分析有望为感染性疾病提供更全面、更精准的诊断信息, 真正实现从经验治疗向精准诊疗的跨越, 为改善患者预后、优化抗感染治疗策略提供有力支撑。

基金项目

重庆市长寿区科技计划项目(CSKJ2025012)。

参考文献

- [1] Bender, R.G., Sirota, S.B., Swetschinski, L.R., Dominguez, R.V., Novotney, A., Wool, E.E., *et al.* (2024) Global, Regional, and National Incidence and Mortality Burden of Non-COVID-19 Lower Respiratory Infections and Aetiologies, 1990-2021: A Systematic Analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Infectious Diseases*, **24**, 974-1002. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(24\)00176-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(24)00176-2)
- [2] Ling, L., Lai, C.K.C. and Rhee, C. (2025) Bacterial Multiplex Polymerase Chain Reaction Tests for the Diagnosis and Management of Pneumonia: Ready for Prime Time? *Thorax*, **80**, 862-872. <https://doi.org/10.1136/thorax-2024-222297>
- [3] Elbehiry, A. and Abalkhail, A. (2025) Metagenomic Next-Generation Sequencing in Infectious Diseases: Clinical Applications, Translational Challenges, and Future Directions. *Diagnostics*, **15**, Article 1991. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15161991>
- [4] Liu, C., Long, J., Li, Y., Leng, X., Zhang, J., Chen, S., *et al.* (2025) The Comparison of Diagnostic Performance between Next-Generation Sequencing of Blood and Tissues for Primary Spinal Infections. *Global Spine Journal*, **16**, 1192-1202. <https://doi.org/10.1177/21925682251375446>
- [5] Nielsen, M.E., Sogaard, K.K., Karst, S.M., *et al.* (2025) Application of Rapid Nanopore Metagenomic Cell-Free DNA Sequencing to Diagnose Bloodstream Infections: A Prospective Observational Study. medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2024.05.09.24307053>
- [6] Qin, C., Zhang, S., Zhao, Y., Ding, X., Yang, F. and Zhao, Y. (2023) Diagnostic Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Sepsis and Bloodstream Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **13**, Article 1117987.

- <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1117987>
- [7] Ma, J., Jiang, Y., He, Y. and Zhou, H. (2024) The Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing with Blood Samples for the Diagnosis of Disseminated Tuberculosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **14**, Article 1456119. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1456119>
- [8] Ma, X., Zhang, S., Xing, H., Li, H., Chen, J., Li, H., *et al.* (2022) Invasive Pulmonary Aspergillosis Diagnosis via Peripheral Blood Metagenomic Next-Generation Sequencing. *Frontiers in Medicine*, **9**, Article 751617. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.751617>
- [9] Yin, Q., Li, Y., Pan, H., Hui, T., Yu, Z., Wu, H., *et al.* (2022) Atypical Pneumonia Caused by Chlamydia Psittaci during the COVID-19 Pandemic. *International Journal of Infectious Diseases*, **122**, 622-627. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.07.027>
- [10] Li, X., Liang, S., Zhang, D., He, M. and Zhang, H. (2023) The Clinical Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Sepsis of Immunocompromised Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **13**, Article 1170687. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1170687>
- [11] Yu, J., Zhang, L., Gao, D., Wang, J., Li, Y. and Sun, N. (2024) Comparison of Metagenomic Next-Generation Sequencing and Blood Culture for Diagnosis of Bloodstream Infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **14**, Article 1338861. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1338861>
- [12] Deng, Z., Li, C., Wang, Y., Wu, F., Liang, C., Deng, W., *et al.* (2023) Targeted Next-Generation Sequencing for Pulmonary Infection Diagnosis in Patients Unsuitable for Bronchoalveolar Lavage. *Frontiers in Medicine*, **10**, Article 1321515. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1321515>
- [13] Zhang, H., Dai, X., Hu, P., Tian, L., Li, C., Ding, B., *et al.* (2024) Comparison of Targeted Next-Generation Sequencing and the Xpert MTB/RIF Assay for Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical Isolates and Sputum Specimens. *Microbiology Spectrum*, **12**, e409823. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04098-23>
- [14] Claassen-Weitz, S., Gardner-Lubbe, S., Mwaikono, K.S., du Toit, E., Zar, H.J. and Nicol, M.P. (2020) Optimizing 16S rRNA Gene Profile Analysis from Low Biomass Nasopharyngeal and Induced Sputum Specimens. *BMC Microbiology*, **20**, Article No. 113. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01795-7>
- [15] Chen, S., Kang, Y., Li, D. and Li, Z. (2022) Diagnostic Performance of Metagenomic Next-Generation Sequencing for the Detection of Pathogens in Bronchoalveolar Lavage Fluid in Patients with Pulmonary Infections: Systematic Review and Meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, **122**, 867-873. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.07.054>
- [16] Dai, X., Xu, K., Tong, Y., Li, J., Dai, L., Shi, J., *et al.* (2025) Application of Targeted Next-Generation Sequencing in Bronchoalveolar Lavage Fluid for the Detection of Pathogens in Pulmonary Infections. *Infection and Drug Resistance*, **18**, 511-522. <https://doi.org/10.2147/idr.s499265>
- [17] Ding, Y., Jing, C., Wei, J., Wang, D., Li, W., Wang, M., *et al.* (2025) Comparison of the Diagnostic Capabilities of TNGs and MNGs for Pathogens Causing Lower Respiratory Tract Infections: A Prospective Observational Study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **15**, Article 1578939. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1578939>
- [18] Xu, Y., Ma, Y., Huang, Q., Guo, X., Guo, L., Ren, Y., *et al.* (2026) The Role of Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing in Detecting Pathogens and Optimising Antibiotic Therapy in Paediatric Severe Community-Acquired Pneumonia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **15**, Article 1688473. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1688473>
- [19] Wang, Y., Shen, Y., Shen, J., Bi, J., Xu, J., Wei, T., *et al.* (2026) Airway Microbiome Dysbiosis in Severe Pneumonia: Metagenomic Evidence of Pathogen Expansion and Commensal Depletion. *European Journal of Medical Research*, **31**, Article No. 339. <https://doi.org/10.1186/s40001-026-03892-1>
- [20] Liu, B., Bao, Z., Chen, W., Xi, X., Ge, X., Zhou, J., *et al.* (2025) Targeted Next-Generation Sequencing in Pneumonia: Applications in the Detection of Responsible Pathogens, Antimicrobial Resistance, and Virulence. *Infection and Drug Resistance*, **18**, 407-418. <https://doi.org/10.2147/idr.s504392>
- [21] Hsu, W., Kao, T., Cho, H., Ruan, S., Lee, T., Huang, Y., *et al.* (2025) Performance of a Hybrid Capture-Based Target Enrichment Next-Generation Sequencing for the Identification of Respiratory Pathogens and Resistance-Associated Genes in Patients with Severe Pneumonia. *Microbiology Spectrum*, **13**, e02130-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02130-24>
- [22] Yin, Y., Zhu, P., Guo, Y., Li, Y., Chen, H., Liu, J., *et al.* (2024) Enhancing Lower Respiratory Tract Infection Diagnosis: Implementation and Clinical Assessment of Multiplex PCR-Based and Hybrid Capture-Based Targeted Next-Generation Sequencing. *eBioMedicine*, **107**, Article ID: 105307. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2024.105307>
- [23] Xue, T., Du, W., Zhao, Y., *et al.* (2025) [Metagenomic Next-Generation Sequencing Technology and Its Application in Diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* Infection: A Review]. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, **37**, 434-446. (In Chinese)
- [24] Charette, W.C., Rabodoarivelo, M., Point, F., *et al.* (2024) Concordance of Targeted and Whole Genome Sequencing for

- Mycobacterium tuberculosis* Genotypic Drug Susceptibility Testing. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **109**, Article ID: 116249.
- [25] Yuan, J., Ma, L., Du, J., Sun, H., Li, S., Zhou, G., *et al.* (2025) Host DNA Depletion Assisted Metagenomic Sequencing of Bronchoalveolar Lavage Fluids for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **24**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1186/s12941-025-00782-y>
- [26] 周道银, 吴茅, 许绍强, 等. 支气管肺泡灌洗液细胞形态学检验中国专家共识(2020)[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(6): 4-8.
- [27] Xu, F., Wang, Q., Zhang, N., Xing, X., Liu, Z., Li, K., *et al.* (2023) Simultaneous Diagnosis of Tuberculous Pleurisy and Malignant Pleural Effusion Using Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS). *Journal of Translational Medicine*, **21**, Article No. 680. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04492-x>
- [28] Shiraishi, Y., Kryukov, K., Tomomatsu, K., Sakamaki, F., Inoue, S., Nakagawa, S., *et al.* (2021) Diagnosis of Pleural Empyema/Parapneumonic Effusion by Next-Generation Sequencing. *Infectious Diseases*, **53**, 450-459. <https://doi.org/10.1080/23744235.2021.1892178>
- [29] Goelz, H., Wetzel, S., Mehrbarzin, N., Utzolino, S., Häcker, G. and Badr, M.T. (2021) Next- and Third-Generation Sequencing Outperforms Culture-Based Methods in the Diagnosis of Ascitic Fluid Bacterial Infections of ICU Patients. *Cells*, **10**, Article 3226. <https://doi.org/10.3390/cells10113226>
- [30] Wang, Z., Li, D., Lu, L., Xu, Z., Ouyang, G. and Sun, Y. (2024) Identification of *Anncaliia algerae* in Ascites in an Immunosuppressed Patient, China. *Open Forum Infectious Diseases*, **11**, ofae393. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofae393>
- [31] Mao, J., Li, D., Zhang, D., Yang, Q., Long, Y. and Cui, N. (2024) Utility of Paired Plasma and Drainage Fluid mNGS in Diagnosing Acute Intra-Abdominal Infections with Sepsis. *BMC Infectious Diseases*, **24**, Article No. 409. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09320-1>
- [32] Kanaujia, R., Biswal, M., Angrup, A. and Ray, P. (2022) Diagnostic Accuracy of the Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) for Detection of Bacterial Meningoencephalitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **41**, 881-891. <https://doi.org/10.1007/s10096-022-04445-0>
- [33] He, S., Xiong, Y., Tu, T., Feng, J., Fu, Y., Hu, X., *et al.* (2024) Diagnostic Performance of Metagenomic Next-Generation Sequencing for the Detection of Pathogens in Cerebrospinal Fluid in Pediatric Patients with Central Nervous System Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Infectious Diseases*, **24**, Article No. 103. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09010-y>
- [34] Feng, Q., Liu, B., Liu, H., Fan, Y., Gao, S., Zhang, J., *et al.* (2026) The Application Value and Limitations of Metagenomic Detection Technology Based on Cerebrospinal Fluid Samples in Suspected Central Nervous System Infection: A Retrospective Study. *Frontiers in Microbiology*, **16**, Article 1689253. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1689253>