

宏基因二代测序技术对肝脓肿病原学诊断的价值

孙思 徐斐翔 韩奕 薛明明 宋振举 童朝阳

作者单位：200032 上海，复旦大学附属中山医院急诊科

通信作者：童朝阳，Email: tong.chaoyang@zs-hospital.sh.cn

【摘要】目的 探讨宏基因二代测序 (metagenomics next-generation sequencing, mNGS) 技术对肝脓肿病原学诊断的价值。**方法** 前瞻性纳入 2020 年 2 月至 2021 年 4 月复旦大学附属中山医院急诊科收治的 35 例肝脓肿患者，采用常规微生物培养法和 mNGS 技术分别检测血液和脓肿引流液样本。并将患者按是否出现休克分为两组，采用 SPSS 25.0 进行统计学分析，对比分析两组患者之间的差异。**结果** mNGS 技术在血液样本和引流液样本中总体检测阳性率显著高于常规培养法 (血液: 67.6% vs. 15.2%, $P < 0.05$; 引流液: 100% vs. 55.2%, $P < 0.05$)。35 例肝脓肿病例中 71.4% 检出致病病原体为肺炎克雷伯菌。休克组患者脓肿引流液样本中 mNGS 检测出的致病病原体序列数显著高于非休克组 ($P < 0.05$)。**结论** mNGS 能够快速准确的检测出肝脓肿的致病病原体，为临床精准治疗提供重要的病原学依据。

【关键词】 肝脓肿; 宏基因二代测序技术; 病原学; 序列数; 脓毒性休克; 血培养; 引流液培养; 肺炎克雷伯菌

基金项目: 上海申康医院发展中心重大临床研究项目 (SHDC2020CR4059)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2021.10.013

Etiological diagnostic value of metagenomics next-generation sequencing in liver abscess

Sun Si, Xu Feixiang, Han Yi, Xue Mingming, Song Zhenju, Tong Chaoyang

Department of Emergency Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

Corresponding author: Tong Chaoyang, Email: tong.chaoyang@zs-hospital.sh.cn

【Abstract】Objective To explore the value of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in the pathogen diagnosis of liver abscess. **Methods** A perspective study was performed in 35 hospitalized patients with liver abscess in Department of Emergency Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University from February 2020 to April 2021. Blood samples and abscess drainage fluid samples were detected by routine microbial culture and mNGS. Patients were divided into two groups according to whether they had septic shock or not. SPSS 25.0 was used for statistical analysis. **Results** The overall positive rate of mNGS in blood samples and drainage fluid samples was significantly higher than that of routine microbial culture methods (blood: 67.6% vs. 15.2%, $P < 0.05$; Drainage fluid: 100% vs. 55.2%, $P < 0.05$). In 35 patients with liver abscess, 71.4% of the pathogens were *Klebsiella pneumoniae*. The sequence number of pathogenic pathogens detected by mNGS in abscess drainage fluid samples of patients in the shock group was significantly higher than that in the non-shock group ($P < 0.05$). **Conclusions** The mNGS can quickly and accurately detect the pathogen of liver abscess, which can provide important etiological diagnostic for clinical treatment.

【Key Words】 Liver abscess; Metagenomic next-generation sequencing; Etiological; Reads; Septic shock; Blood culture; Drainage solution culture; *Klebsiella pneumoniae*

Fond program: Major Clinical Research Project of Shanghai Hospital Development Center (SHDC2020CR4059)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2021.10.013

肝脓肿是肝实质内因微生物入侵和繁殖引起的化脓性病变,是最常见的腹腔内脏器脓肿,也是引发脓毒症的重要疾病之一。肝脓肿的年发病率约为 2.3 例/100 000 人^[1-2]。致病病原体包括细菌、真菌、寄生虫等。传统的病原微生物培养方法在肝脓肿病例中阳性率较低。宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)是一种全新的、不依赖于培养的高通量测序技术,它可以广泛分析临床样本中的各种微生物^[3],作为最新的病原体检测手段,逐渐在感染性疾病的早期诊断以及对抗感染方案的指导等方面得到认可。目前已在脓毒症、脑膜炎、呼吸系统感染、骨关节脓肿等各种感染性疾病中广泛应用^[4-8]。

目前关于 mNGS 在肝脓肿中的应用国内外仅为个案报道,缺乏大样本量的研究分析。对肝脓肿致病病原体的分析也都是回顾性研究^[9]。本研究为前瞻性临床观察研究,以肝脓肿患者为研究对象,采用常规微生物培养法和 mNGS 技术检测肝脓肿患者的血液和脓肿引流液样本,对比两者对致病病原体的检测效能,探讨 mNGS 在肝脓肿等感染性疾病中的病原学诊断价值和临床应用优势。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究的研究对象为 2020 年 2 月至 2021 年 4 月复旦大学附属中山医院急诊科收治的肝脓肿患者。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁,性别不限;②影像学检查(包括 CT 和超声)明确肝脓肿诊断;③获得知情同意并签订知情同意书。排除标准:①晚期肿瘤;②不愿签署知情同意书。观察终点为患者出院或临床死亡。本研究经复旦大学附属中山医院伦理委员会审核批准(No.B2020-016R)。

1.2 分组

根据脓毒症 3.0 定义,将有持续性低血压,并在充分容量复苏后仍需血管收缩药以维持平均动脉压 ≥ 65 mmHg、血清乳酸浓度 >2 mmol/L 的患者纳入脓毒症休克组,其余为非休克组。

1.3 样本留取

①肝脓肿诊断明确后,符合入组标准的患者,入院时完成 APACHE II 评分及 SOFA 评分,完善血常规、C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、细胞因子(IL-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10)、乳酸等实验室检查。同时,留取外周血液样本,分

别送常规微生物培养及 mNGS 检测。根据患者情况,尽早完成脓肿穿刺引流,留取引流液样本分别送常规微生物培养及 mNGS 检测;②入院后 7~10 d,再次送检血液样本和引流液样本复测 mNGS。

1.4 常规微生物学培养

血液样本及引流液样本均送复旦大学附属中山医院微生物实验室,接种于血琼脂平板进行培养。

1.5 mNGS 检测方法

1.5.1 样本采集及运送 ①血液样本:抽取 3 mL 静脉血注入细胞游离核酸保存管中,常温下保存及转运;②引流液样本:3~5 mL 引流液放入无菌采样瓶,-20℃保存及转运。

1.5.2 样本处理 血液和引流液样本按标准程序提取 DNA(广州微远基因科技有限公司),基于 Illumina 高通量测序平台进行基因测序、生信分析。

1.6 mNGS 结果判读

根据基因测序及生信分析结果,得到样本中的病原体的检出序列数(Reads)。检出序列数高于其他任何微生物 10 倍以上并且结合临床特征判断为致病病原体。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 25.0 处理数据。计量资料进行正态性检验和方差齐性分析,正态分布资料以均数 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示,非正态资料以中位数(四分位距)表示,计数资料以 $n(\%)$ 表示。统计学方法采用独立样本 t 检验及 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料分析

本研究纳入肝脓肿患者共 35 例,均签订知情同意书。其中男性 19 例,女性 16 例,年龄 28~86 岁;糖尿病患者 19 例,占 54.3%;脓毒性休克组患者 14 例,占 40.0%;死亡患者 2 例,占 5.7%。根据 CT 影像学表现,将脓肿病灶大小按直径(mm)分为三组(≤ 50 , 50~100, ≥ 100)(表 1)。

2.2 病原体检测阳性率比较

结果显示(表 2):常规微生物培养法共送检血液样本 33 例,引流液样本 29 例。血液样本阳性 5 例,阳性率 15.2%;引流液样本阳性 16 例,阳性率 55.2%。5 例血培养阳性患者引流液培养同样为阳性;11 例血培养结果为阴性,引流液培养为阳性;其余患者血培养及引流液培养均为阴性。

表 1 患者一般资料
Table 1 General data of patients

指标	数值 (n=35)
年龄 (岁, Mean ± SD)	65.2 ± 12.8
性别 (男, n)	19 (54.3)
脓毒性休克 (n)	14 (40.0)
90 d 内死亡 (n)	2 (5.7)
基础疾病 (n)	
糖尿病	19 (54.3)
高血压	14 (40.0)
慢性心功能不全	5 (14.3)
穿刺引流 (n)	29 (82.9)
病灶大小 (CT 中直径 mm) (n)	
≤ 50	10 (28.6)
50-100	19 (54.3)
≥ 100	6 (17.1)
实验室检查 (Mean ± SD)	
WBC (× 10 ⁹ /L)	12.2 ± 8.7
CRP [mg/L, M(Qr)]	197.8 (183.6)
PCT [ng/mL, M(Qr)]	21 (14.3)
临床评分及预后	
住院时间 [d, M(Qr)]	21 (14.3)
APACHE II 评分 (Mean ± SD)	13.5 ± 5.8
SOFA 评分 [M(Qr)]	4 (3.5)

注: WBC: 血常规白细胞计数, 正常范围 (4~10) × 10⁹/L, CRP: C 反应蛋白, 正常范围 <10 mg/L, PCT: 降钙素原, 正常范围 <0.5 ng/mL

mNGS 检测送检血液样本 34 例, 引流液样本 29 例。血液样本检出致病病原体 23 例, 检出率 67.6%, 引流液样本检出致病病原体 29 例, 检出率 100%。入院时血培养和血 mNGS 双阳性 5 例, 双阴性 11 例; 引流液培养和引流液 mNGS 双阳性 16 例, 无双阴性。血液和引流液 mNGS 检出致病病原体阳性率显著高于常规微生物培养 (血液: 67.6% vs. 15.2%, $P < 0.05$; 引流液: 100% vs. 55.2%, $P < 0.05$)。

2.3 两种检测结果与临床诊断符合情况

结合血液样本和引流液样本, 本研究中 35 例肝脓肿的致病病原体, 肺炎克雷伯菌 (25 例) 占 71.4%。入院时血培养和血 mNGS 检出同一致病病原体 5 例; 血培养阴性病例, 血 mNGS 检出致病病原体 18 例, 均符合临床。引流液培养和引流液 mNGS 检出同一致病病原体 16 例; 引流液培养阴性病例, 引流液 mNGS 检出致病病原体 13 例, 均符合临床。治疗 1 周后再次送检样本进行 mNGS 检测, 共送检血液样本 20 例, 引流液样本 12 例。治疗后血液样本原致病病原体阳性 8 例, Reads 数较入院时显著减少 ($P < 0.05$), 12 例转为阴性。治疗后引流液样本原致病病原体 Reads 数较入院时显著减少 ($P < 0.05$) (图 1)。

表 2 患者入院时常规微生物培养及 mNGS 结果列表
Table 2 List of routine microbial cultures and mNGS results at admission for the patients

序号	血培养	引流液培养	血 mNGS	引流液 mNGS
P01	(-)	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P02	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P03	(-)	(-)	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P04	(-)	NA	变栖克雷伯菌	NA
P05	(-)	(-)	普雷沃菌	普雷沃菌
P06	(-)	(-)	(-)	肺炎克雷伯菌
P07	(-)	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P08	(-)	(-)	(-)	化脓拟杆菌
P09	(-)	NA	肺炎克雷伯菌	NA
P10	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P11	(-)	肺炎克雷伯菌	(-)	肺炎克雷伯菌
P12	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P13	(-)	NA	肺炎克雷伯菌	NA
P14	(-)	NA	肺炎克雷伯菌	NA
P15	(-)	NA	肺炎克雷伯菌	NA
P16	(-)	NA	肺炎克雷伯菌	NA
P17	NA	(-)	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P18	(-)	(-)	普雷沃菌	普雷沃菌
P19	(-)	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P20	(-)	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P21	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P22	(-)	(-)	(-)	肺炎克雷伯菌
P23	NA	(-)	NA	肺炎克雷伯菌
P24	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
P25	(-)	(-)	(-)	肺炎克雷伯菌
P26	(-)	屎肠球菌	屎肠球菌	屎肠球菌
P27	(-)	肺炎克雷伯菌	(-)	肺炎克雷伯菌
P28	(-)	(-)	粪肠球菌	粪肠球菌
P29	(-)	肺炎克雷伯菌	(-)	肺炎克雷伯菌
P30	(-)	肺炎克雷伯菌	(-)	肺炎克雷伯菌
P31	(-)	(-)	粪肠球菌	粪肠球菌
P32	(-)	屎肠球菌	屎肠球菌	屎肠球菌
P33	(-)	大肠埃希菌	(-)	大肠埃希菌
P34	(-)	(-)	(-)	肺炎克雷伯菌
P35	(-)	(-)	(-)	溶组织阿米巴滋养体

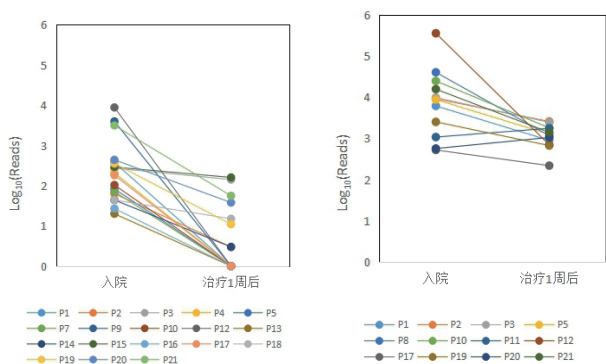
NA: 未送检; (-): 未检出致病病原体

2.4 mNGS 病原体序列数与常规微生物培养结果的关系

按常规微生物培养结果将患者分为阳性、阴性 2 组, 比较这两组患者 mNGS 检出的致病病原体 Reads 数之间差异 (图 2)。血培养阳性组 5 例, 阴性组 18 例; 引流液培养阳性组 16 例, 阴性组 13 例。血培养阳性组患者血液样本 mNGS 检出致病病原体 Reads 数显著高于血培养阴性组 ($P < 0.05$)。引流液培养阳性组与阴性组之间, 引流液样本 mNGS 检出的致病病原体 Reads 数差异无统计学意义 ($P = 0.116$)。

2.5 mNGS 病原体序列数与疾病严重程度的关系

本研究纳入的肝脓肿患者中, 根据脓毒性休克诊断标准, 14 例患者纳入休克组, 21 例纳入非休克组。对比分析两组患者基本临床资料, 包括: 入院

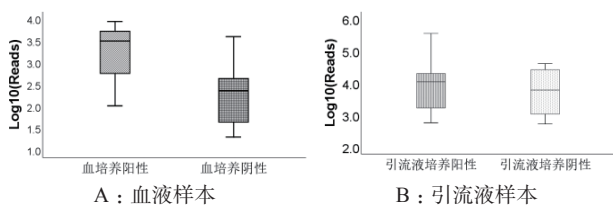


A : 血液样本 mNGS B : 引流液样本 mNGS

检测结果为阴性时认定 Reads 数为 0, 纵坐标为 $\text{Log}_{10}(\text{Reads})$ 。18 例患者完成 2 次血液样本检测, 12 例患者完成 2 次引流液样本检测, 配对数据以直线连接。

图 1 治疗前后血液样本 (A) 和引流液样本 (B) mNGS 检出致病病原体 Reads 数变化

Fig 1 Changes of the number of Reads in blood sample (A) and drainage fluid sample (B) before and after treatment



A : 血液样本 B : 引流液样本

A : 血培养阳性组患者血液样本 mNGS 检出致病病原体 Reads 显著高于血培养阴性组, $P < 0.05$ 。B : 引流液培养阳性组与阴性组之间, 引流液样本 mNGS 检出致病病原体 Reads 数差异无统计学意义, $P = 0.116$ 。

图 2 常规微生物培养结果阳性、阴性两组中 mNGS 检出致病病原体 Reads 数的对比

Fig 2 Comparison of the number of pathogenic Reads detected by mNGS in the positive and negative groups of routine microbial culture

时 APACHE II 评分、SOFA 评分、住院时间、病死率以及血常规、CRP、PCT、IL-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10、乳酸等实验室检查结果 (表 3)。两组患者中, SOFA 评分、病死率、血白细胞计数、血小板计数、乳酸、IL-6、IL-8、IL-10 差异有统计学意义。

本研究比较两组中致病病原体为肺炎克雷伯菌的 25 例患者 mNGS 检测出的致病病原体 Reads 数。结果显示: 血液样本中肺炎克雷伯菌的 Reads 数在两组患者中差异无统计学意义 ($P = 0.321$); 引流液样本中肺炎克雷伯菌的 Reads 数, 脓毒性休克组高于非休克组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 3)。

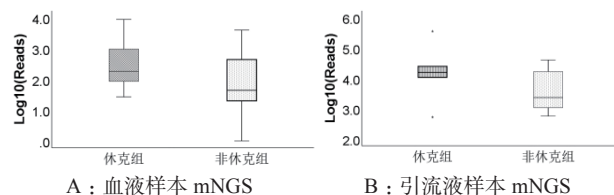
3 讨论

传统的病原微生物培养、涂片镜检在感染性疾病的病原学诊断中广泛应用, 但这些检测方法存在诸多的局限性, 比如敏感性低、周期长、病原谱窄等。

表 3 两组患者临床资料对比 [(Mean \pm SD) 或 M (Qr)]
Table 3 Comparison of clinical data between the two groups [(Mean \pm SD) or M (Qr)]

指标	休克组 (14 例)	非休克组 (21 例)	P 值
年龄 (岁)	65 \pm 20	67 \pm 16.5	0.485
APACHE 评分	19 (10)	8 (10)	0.955
SOFA 评分	7 \pm 4	3 \pm 2	<0.05
住院时间 (d)	23 (14)	18 (14)	0.611
死亡人数	2 (14.3%)	0 (0%)	<0.05
入院实验室检查			
WBC ($\times 10^9/L$)	15.2 \pm 29.7	9.3 \pm 10.2	<0.05
PLT ($\times 10^{12}/L$)	86 (61.6)	13.7 (56.2)	<0.05
CRP (mg/L)	200 (198.6)	164.4 (177.6)	0.742
PCT (ng/mL)	86 \pm 73.2	13.7 \pm 39.9	0.105
Lac (mmol/L)	5.4 \pm 2.1	2.3 \pm 1.5	<0.05
IL-1 β (pg/mL)	14 (28.8)	6.2 (2.9)	0.063
IL-2R (U/mL)	4016 (2361.5)	1480 (2029.5)	0.704
IL-6 (pg/mL)	60.1 (484.3)	33.3 (69.6)	<0.05
IL-8 (pg/mL)	84 (1937.5)	52 (34.5)	<0.05
IL-10 (pg/mL)	20.2 (533.9)	8.5 (9.2)	<0.05

注: WBC: 血常规白细胞计数; PLT: 血常规血小板计数; CRP: C 反应蛋白; PCT: 降钙素原; Lac: 血乳酸; IL: Interleukin 白细胞介素



A : 血液样本 mNGS B : 引流液样本 mNGS

A : 血液样本中 Reads 数在两组患者中差异无统计学意义, $P = 0.321$ 。B : 引流液样本中休克组 Reads 数高于非休克组, $P < 0.05$

图 3 脓毒性休克组和非休克组患者 mNGS 检查出的肺炎克雷伯菌 Reads 数对比

Fig 3 Comparison of the Reads of Klebsiella pneumoniae between the shock and non-shock groups

有研究表明, 细菌性肝脓肿患者的静脉血培养和引流液培养阳性率分别为 25%、65%~70%^[9-12], 因此对临床上抗感染方案的选择造成了困难。本研究中, 通过传统微生物检测方法血培养阳性率仅为 15.2%, 引流液培养阳性率只有 55.2%, 证实了这一点。mNGS 与传统微生物检测方法相比, 不依赖于微生物培养, 直接提取核酸 (DNA 或 RNA), 采用高通量测序技术, 然后经过数据库比对与生物信息分析, 一次性完成细菌, 真菌, 病毒^[13]和寄生虫等病原体的检测。mNGS 在急危重症感染中的应用也有了专门的专家共识^[14]。

在将这种技术应用于肝脓肿病例后, 笔者发现 mNGS 的病原体检出率显著高于传统培养 (血液: 67.6% vs. 15.2%, 引流液: 100% vs. 55.2%)。纳入本研究的肝脓肿患者 34 例为细菌性肝脓肿, 检出病原体主要为肺炎克雷伯菌 (71.4%), 与文献报道的亚裔患者细菌性肝脓肿主要为肺炎克雷伯菌导

致^[15-17]相符合。

本研究中 2 例患者在血液及脓肿引流液样本中均检出高序列数的普雷沃菌, 而培养结果为阴性。普雷沃菌为口腔内常见细菌, 常在痰液样本的 mNGS 检测中检出, 通常 Reads 数较少, 多被列为背景菌, 而这 2 例病例样本中 Reads 数较高 (病例 1: 血 8 803、引流液 353 321, 病例 2: 血 438、引流液 16 613), 通过针对普雷沃菌抗感染治疗后临床症状明显好转, 确诊为普雷沃菌引发的肝脓肿, mNGS 检出病原学结果符合临床。这也提示, 传统培养方法无法检测的病原体, 可以通过 mNGS 技术进行检测, 从而更准确地明确病原学诊断, 指导临床用药。

通过样本中病原体 Reads 数的对比发现, 血培养阳性患者血液样本 mNGS 检出致病病原体 Reads 数显著高于血培养阴性患者。因为 mNGS 是直接检测临床样本中的核酸, 病原体的 Reads 数越多表明临床样本中存在的病原体核酸量越大。而临床样本中既有存活的病原体所包含的核酸, 也有已经死亡或被破坏的病原体释放出的核酸。笔者认为血液培养阳性表明血液样本中存在更多存活的致病病原体, 故 mNGS 能检出更高的 Reads 数。而肝脓肿的引流液中多为坏死组织, 培养存在假阴性可能, 所以引流液样本 mNGS 检出的致病病原体 Reads 数与培养结果无显著相关性。

本研究还发现, 经过治疗后复查 mNGS, 致病病原体的 Reads 数显著减少。脓毒性休克患者脓肿引流液中肺炎克雷伯菌的 Reads 数高于非休克患者, 故认为致病病原体 Reads 数和感染的严重程度呈正相关。在此基础上, 对肝脓肿并发休克和非休克的患者进行对比, 发现休克患者的 SOFA 评分、病死率、血白细胞计数、乳酸、IL-6、IL-8、IL-10 均显著高于非休克患者, 而休克患者的血小板计数显著低于非休克患者。提示可能可以通过这些实验室数据来预测肝脓肿的严重程度。肝脓肿是引发脓毒症的重要疾病之一, 其免疫反应是个非常复杂的过程, 入侵微生物或其毒性产物的直接作用, 释放大量炎症介质并激活补体。炎症风暴也被认为是脓毒性休克的重要因素之一^[18-20]。细胞因子是调节免疫系统, 参与介导组织和器官核心功能的基质细胞间沟通的蛋白质。IL-1、IL-2 具有促炎作用, IL-8、IL-10 可增强 B 细胞功能, 促进机体产生细胞毒性 T 细胞, 具有抑炎作用^[21]。抑炎反应可能会减少过量炎症反应的毒性作用, 但也可能减弱针对感染宿主的保护效果。发生休克的肝脓肿患者中 IL-6、

IL-8、IL-10 显著增高, 提示可能抑炎作用过度增强, 导致炎症调节失衡、病情加重。

既往关于脓肿样本和脑脊液样本的 mNGS 研究认为, 体内组织和脑脊液均为无菌 (除了感染病原体) 组织标本^[5,7], 因此, 脓肿样本和脑脊液样本的 mNGS 数据比痰液、肺泡灌洗液这些来自非无菌场所的样本数据更容易解读。在后一种情况下, 这些样本很难区分污染、定植菌或致病病原体。而对明确感染的脓肿组织或引流液样本进行 mNGS 检测时, 致病病原体的序列数会显著高于背景菌, 致病菌检出率更高^[22]。

所以针对肝脓肿患者, 无论是血液样本还是脓肿引流液样本, 通过 mNGS 检测, 都可以快速且准确的得到致病病原体结果, 优于传统的培养方法。引流液的 mNGS 检测阳性率比血液样本更高, 但在无法取得脓肿引流液样本时, 还是推荐尽早进行血液 mNGS 检测。

本研究有一定的局限性。由于研究样本量较少, 并且患者在采样前已接受抗生素治疗, 这可能会降低常规微生物培养的阳性率和 mNGS 检出的病原体 Reads 数。此外, mNGS 检测也有其无法避免的缺点。人类宿主背景及定植微生物 Reads 数的高表达可能会使 mNGS 的数据结果复杂化, 从而导致 mNGS 的特异性不足^[23]。mNGS 理论上可以检测样本中所有的微生物信息, 可能检出多种微生物, 无法确定致病病原体。所以对 mNGS 结果的解读, 特别是那些来自呼吸道、混合了口腔菌群和定植菌的标本^[23-26], 是具有挑战性的。还有宏基因组测序的成本相对较高, 这些问题一定程度上限制了 mNGS 在病原学鉴定领域的临床应用。随着生物科技的进步, 现在开发出了宿主背景菌耗减^[27]、研究机体菌群组成^[28]等新的测序技术, 将会不断改善、解决这些问题。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Mohsen AH, Green ST, Read RC, et al. Liver abscess in adults: ten years experience in a UK centre[J]. QJM, 2002, 95(12): 797-802. DOI:10.1093/qjmed/95.12.797.
- [2] Kaplan GG, Gregson DB, Laupland KB. Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for pyogenic liver abscess[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2004, 2(11): 1032-1038. DOI:10.1016/s1542-3565(04)00459-8.

- [3] Wilson MR, Naccache SN, Samayoa E, et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(25): 2408-2417. DOI:10.1056/nejmoa1401268.
- [4] Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(4): 663-674. DOI:10.1038/s41564-018-0349-6.
- [5] Miller S, Naccache SN, Samayoa E, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. *Genome Res*, 2019, 29(5): 831-842. DOI:10.1101/gr.238170.118.
- [6] Langelier C, Kalantar KL, Moazed F, et al. Integrating host response and unbiased microbe detection for lower respiratory tract infection diagnosis in critically ill adults[J]. *PNAS*, 2018, 115(52): E12353-E12362. DOI:10.1073/pnas.1809700115.
- [7] Zhao M, Tang K, Liu F, et al. Metagenomic next-generation sequencing improves diagnosis of osteoarticular infections from abscess specimens: a multicenter retrospective study[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 2034. DOI:10.3389/fmicb.2020.02034.
- [8] 池锐彬, 林其炎, 叶铨秋, 等. 应用二代测序技术诊断原发性脑奴卡菌脓肿一例 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2021, 30(3): 363-365. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2021.03.020.
- [9] 齐文旗, 黄椿媚, 边帆, 等. 肝脓肿致脓毒血症的危险因素及早期诊断 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(11): 1383-1389. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.11.010.
- [10] Chemaly RF, Hall GS, Keys TF, et al. Microbiology of liver abscesses and the predictive value of abscess gram stain and associated blood cultures[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2003, 46(4): 245-248. DOI:10.1016/s0732-8893(03)00088-9.
- [11] Fantuzzi S A, Albertz A N, Valenzuela V A, et al. Hepatic abscess: series of 107 cases and literature review[J]. *Rev Chilena Infectol*, 2009, 26(1): 49-53.
- [12] Everts RJ, Heneghan JP, Adholla PO, et al. Validity of cultures of fluid collected through drainage catheters versus those obtained by direct aspiration[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(1): 66-68. DOI:10.1128/jcm.39.1.66-68.2001.
- [13] Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(9): 1015-1024. DOI:10.1097/cm9.0000000000000722.
- [14] 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, 17(2): 151-155. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.005.
- [15] Fang CT, Lai SY, Yi WC, et al. *Klebsiella pneumoniae* genotype K1: an emerging pathogen that causes septic ocular or central nervous system complications from pyogenic liver abscess[J]. *Clin Infect Dis*, 2007, 45(3): 284-293. DOI:10.1086/519262.
- [16] Wang JH, Liu YC, Lee SSI, et al. Primary liver abscess due to *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan[J]. *Clin Infect Dis*, 1998, 26(6): 1434-1438. DOI:10.1086/516369.
- [17] Chan KS, Chen CM, Cheng KC, et al. Pyogenic liver abscess: a retrospective analysis of 107 patients during a 3-year period[J]. *Jpn J Infect Dis*, 2005, 58(6): 366-368.
- [18] Pruitt JH, Copeland EM, Moldawer LL. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism in Sepsis, systemic inflammatory response syndrome, and septic shock[J]. *Shock Augusta Ga*, 1995, 3(4): 235-251. DOI:10.1097/00024382-199504000-00001.
- [19] Barriere SL, Lowry SF. An overview of mortality risk prediction in Sepsis[J]. *Crit Care Med*, 1995, 23(2): 376-393. DOI:10.1097/00003246-199502000-00026.
- [20] Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS)[J]. *Ann Intern Med*, 1996, 125(8): 680-687. DOI:10.7326/0003-4819-125-8-199610150-00009.
- [21] Szabo G, Kodys K, Miller-Graziano CL. Elevated monocyte interleukin-6 (IL-6) production in immunosuppressed trauma patients. I. Role of Fc gamma RI cross-linking stimulation[J]. *J Clin Immunol*, 1991, 11(6): 326-335. DOI:10.1007/bf00918798.
- [22] Miao Q, Ma Y, Wang Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(suppl_2): S231-S240. DOI:10.1093/cid/ciy693.
- [23] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2019, 14(1): 319-338. DOI:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012751.
- [24] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(6): 341-355. DOI:10.1038/s41576-019-0113-7.
- [25] Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, et al. The microbiome and the respiratory tract[J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 481-504. DOI:10.1146/annurev-physiol-021115-105238.
- [26] Gao Z, Kang Y, Yu J, et al. Human pharyngeal microbiome may play a protective role in respiratory tract infections[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2014, 12(3): 144-150. DOI:10.1016/j.gpb.2014.06.001.
- [27] Charalampous T, Kay GL, Richardson H, et al. Nanopore metagenomics enables rapid clinical diagnosis of bacterial lower respiratory infection[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(7): 783-792. DOI:10.1038/s41587-019-0156-5.
- [28] Torres A, Lee N, Cilloniz C, et al. Laboratory diagnosis of pneumonia in the molecular age[J]. *Eur Respir J*, 2016, 48(6): 1764-1778. DOI:10.1183/13993003.01144-2016.

(收稿日期: 2021-06-09)

(本文编辑: 何小军)