

·医学数据科学·

宏基因组二代测序技术对结核病诊断价值的 Meta 分析

王超然^{1,2}, 杨宗强¹, 牛宁奎¹

(1.宁夏医科大学总医院骨科,宁夏 银川 750004;

2.宁夏医科大学临床医学院,宁夏 银川 750004)

摘要:目的 应用 Meta 分析评价宏基因组二代测序技术在结核病诊断中的应用价值。方法 检索 PubMed MEDLINE、Ovid MEDLINE、Web of Science、Cochrane Library、EMbase、Scopus、中国知网、万方、维普数据库中有关宏基因组二代测序技术应用与诊断结核病的相关文献,检索时限为建库至 2021 年 10 月 31 日,由 2 名研究者独立进行文献检索、筛选、数据提取、质量评价。使用 MetaDISC 1.4 软件进行阈值效应和异质性检验、数据的合并分析,使用 StataMP 16 软件绘制 Deek's 漏斗图评估发表偏倚。结果 共检索出 623 篇文献,依据纳入和排除标准最终纳入 14 项研究,涉及 2159 个样本,其中结核病样本 964 个。Meta 分析结果显示,宏基因组二代测序技术诊断结核病的合并敏感度为 0.600(95%CI:0.568~0.631),合并特异度为 0.985(95%CI:0.976~0.991),合并阳性似然比为 30.513(95%CI:18.536~50.226),合并阴性似然比为 0.414(95%CI:0.357~0.481),合并诊断比值为 77.408(95%CI:46.090~130.010),合并曲线下面积为 0.9680,合并 Q^* 值为 0.9167。Deek's 漏斗图提示不存在发表偏倚($P>0.05$)。结论 宏基因组二代测序技术对结核病具有较高的诊断价值,可作为快速诊断的有效方法。

关键词:宏基因组二代测序;分子诊断技术;结核病

中图分类号:R825.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.05.003

文章编号:1006-1959(2024)05-0020-07

Meta-analysis of the Diagnostic Value of Metagenomic Next-generation Sequencing Technology for Tuberculosis

WANG Chao-ran^{1,2}, YANG Zong-qiang¹, NIU Ning-kui¹

(1.Department of Orthopedics, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, China;

2.School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, China)

Abstract: Objective To evaluate the diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing technology for tuberculosis using Meta-analysis. **Methods** PubMed MEDLINE, Ovid MEDLINE, Web of Science, Cochrane Library, EMbase, Scopus, CNKI, Wanfang, and VIP databases were searched for relevant literature on the application of metagenomic next-generation sequencing technology in the diagnosis of tuberculosis. The search time was from the establishment of the database to October 31, 2021. Two researchers independently performed literature search, screening, data extraction, and quality evaluation. MetaDISC 1.4 software was used to test the threshold effect and heterogeneity, and the data were combined and analyzed. StataMP 16 software was used to draw Deek's funnel plot to evaluate publication bias. **Results** A total of 623 papers were retrieved. According to inclusion and exclusion criteria, 14 studies involving 2159 samples, including 964 tuberculosis samples. Meta-analysis showed that the pooled sensitivity of metagenomic next-generation sequencing technology for the diagnosis of tuberculosis was 0.600 (95% CI: 0.568-0.631), the pooled specificity was 0.985 (95% CI: 0.976-0.991), the pooled positive likelihood ratio was 30.513 (95% CI: 18.536-50.226), the pooled negative likelihood ratio was 0.414 (95% CI: 0.357-0.481), the pooled diagnostic odds ratio was 77.408 (95% CI: 46.090-130.010), the pooled area under the curve was 0.9680 and the pooled Q^* -value was 0.9167. Deek's funnel plot suggested no publication bias ($P>0.05$). **Conclusion** The metagenomic next-generation sequencing technology has high diagnostic value for tuberculosis, and can be used as an effective method for rapid diagnosis.

Key words: Metagenomic next-generation sequencing; Molecular diagnostic technology; Tuberculosis

结核病(tuberculosis, TB)是一个迄今仍然威胁人类健康的慢性传染病和重大公共卫生问题,其由结核分枝杆菌(myco-bacterium tuberculosis, MTB)引起,可以累及全身各个系统,引起肺结核、结核性脑

膜炎、骨与关节结核在内的多种疾病。TB 的临床表现多样,给临床诊断带来极大困难,尤其是肺外结核病往往十分隐匿^[1]。伴随着耐药结核病患者日益增多,已有模型表明,在缺乏快速诊断和特异性治疗

基金项目:1.国家自然科学基金项目(编号:82260436,81860395);2.宁夏回族自治区重点研发计划项目(编号:2022BEG03099);3.国家级大学生创新创业计划项目(编号:202210752008)

作者简介:王超然(2001.3-),男,宁夏银川人,硕士研究生,主要从事骨与软组织肿瘤及感染的临床与基础研究

通讯作者:牛宁奎(1982.10-),男,宁夏银川人,博士,主任医师,副教授,博士生导师,主要从事骨与软组织肿瘤及感染的临床与基础研究

的情况下,TB 发病率将继续增加^[2]。宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing,mNGS)也被称为高通量或大规模并行测序,可以无偏倚地分析临床样本中的微生物和宿主核酸含量,具有覆盖广、快速等特点,已被应用于中枢神经系统、血液系统、呼吸系统、消化系统等多个领域感染性疾病的病原检测^[3]。尽管 mNGS 技术应用于支气管灌洗液、脑脊液等多种检材诊断 TB 的研究日益增多,但单项研究的样本量不大,报道的敏感度存在较大差异,因此其诊断价值仍有争议。本研究采用 Meta 分析的方法对 mNGS 技术诊断 TB 的文献进行系统和客观评价,以评估 mNGS 技术在 TB 诊断中的应用价值,为临床诊疗提供决策参考。

1 资料与方法

1.1 检索策略 检索 PubMed MEDLINE、Ovid MEDLINE、Web of Science、Cochrane Library、EMbase、Scopus、中国知网(CNKI)、万方、维普数据库中通过宏基因组二代测序技术诊断 TB 的诊断性研究论文,检索时限为建库起至 2021 年 10 月 31 日,语种限制为中文和英文。中文检索词:“宏基因组二代测序”“二代测序”“高通量核苷酸序列分析”“结核”及其他自由词;英文检索词:“Metagenomic Next-generation Sequencing”“Next Generation Sequencing”“High Throughput Nucleotide Sequencing”“Tuberculosis”及其他自由词。以维普数据库为例,检索策略如下:((题名或关键词=结核 OR 题名或关键词=脊柱结核) AND (((题名或关键词=宏基因组 OR 题名或关键词=宏基因组学) OR 题名或关键词=宏基因组二代测序) OR 题名或关键词=宏基因组二代测序) OR 题名或关键词=高通量核苷酸序列检测) OR 题名或关键词=二代测序))。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①研究类型:采用 mNGS 技术诊断 MTB 的前瞻性研究或回顾性研究;②研究对象:确诊为 MTB 的患者,诊断标准明确,对照组包括涉及的部位可能存在的结节、炎症、癌症等其他临床需要和 MTB 进行鉴别的疾病;③结局指标:真阳性值(true positive,TP)、假阳性值(false positive,FP)、假阴性值(false negative,FN)和真阴性值(true negative,TN)。排除标准:①重复发表的文献或数据;②会议摘要、学位论文、病例报道、综述、Meta 分析、系统评价等。

1.3 文献筛选及数据提取 使用 Endnote X9 软件剔

除重复文献,由 2 名独立研究员阅读初检文献的标题、摘要,按照文献的纳入与排除标准进行文献筛选,对筛选出的文献进一步阅读全文,最终确定纳入分析的文献。同样由以上 2 名独立研究员对纳入文献进行信息采集和数据提取,包括第一作者、发表年份、研究对象、样本量、诊断标准、诊断试验参数 TP、FP、TN、FN 等。如有不一致可以通过讨论达成共识,或向专家咨询解决问题。

1.4 文献质量评价 由 2 名独立研究员使用 Review Manager 5.4 软件,根据诊断准确性研究质量评价工具-2(quality assessment of diagnostic accuracy studies-2,QUADAS-2)^[4]评价文献质量,包括病例选择、待评价试验、金标准、病例流程及进展情况 4 个部分,共 11 个评价条目,对每个条目做出“是”“否”“不清楚”的判断。若一个范围内所有标志性问题判断均为“是”,则评定为“低偏倚风险”;若所有信息化问题判断中有一个为“否”,则评定为“高偏倚风险”;若文献中没有提供详细的内容以致评价者难以做出判断,则评定为“不清楚”。

1.5 统计学方法 使用 MetaDISc 1.4 软件进行数据的合并分析。纳入研究的阈值效应通过计算 Spearman 相关系数并拟合受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristic,SROC)进行评估,标准如下:①存在阈值效应:Spearman 相关系数呈现相关性且 $P < 0.05$;②不存在阈值效应:Spearman 相关系数较小且 $P > 0.05$ 。通过诊断比值比 Cochrane-Q 检验 F 值评估纳入研究的异质性,相应地选择模型对纳入研究的原始数据进行 Meta 分析,标准如下: $I^2 \leq 25\%$ 为异质性较小, $25\% < I^2 \leq 50\%$ 为中度异质性,选择固定效应模型(fixed effect model,FEM); $I^2 > 50\%$ 为高度异质性,选择随机效应模型(random effects model,REM)。使用 StataMP 16 软件绘制 Deek's 漏斗图评估发表偏倚。

2 结果

2.1 文献筛选流程及检索结果 根据预先设定的检索策略,初步获得相关文献 623 篇,剔除重复文献后剩余 381 篇,剔除综述、系统评价、Meta 分析、学位论文等文献 62 篇,剩余 319 篇阅读题目和摘要后排除不相关文献 250 篇,剩余 69 篇获取全文进行阅读,再次排除不符合纳入标准和诊断标准的文献 55 篇,最终共纳入 14 篇文献^[5-18],文献筛选流程及结果见图 1。

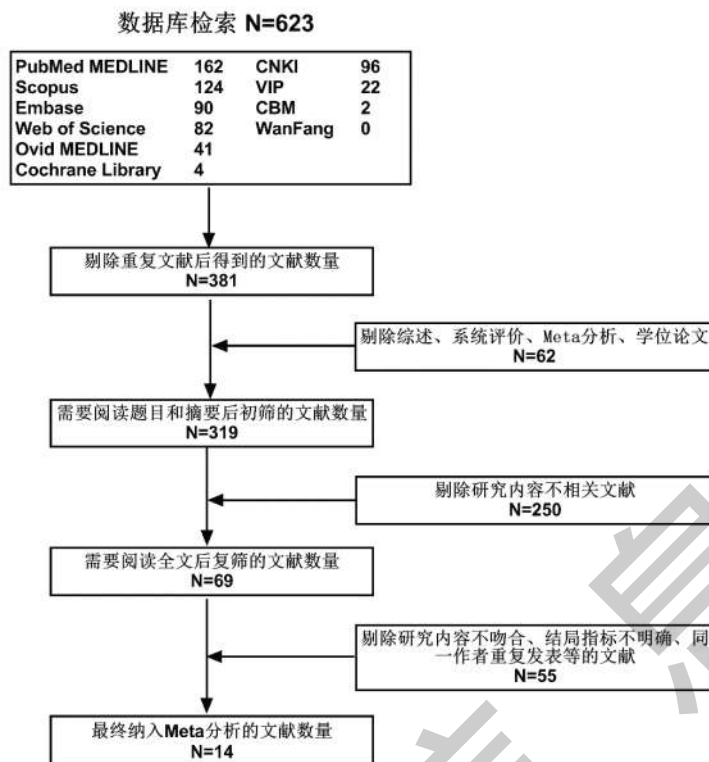


图 1 文献筛选流程及结果

2.2 纳入文献的基本特征及质量评价结果 共纳入 14 项原始研究,基本情况见表 1。所有原始研究类型均为采用 mNGS 技术诊断 MTB 的前瞻性研究或回顾性研究,研究对象均为经过病原学(包括细菌学和分子生物学)或临床上结合流行病史、临床表现、影像学检查、结核免疫学检测、鉴别诊断及抗结核药

物治疗等确诊为 MTB 的患者,诊断标准明确,对照组均包括涉及的部位可能存在的结节、炎症、癌症等其他临床需要和 MTB 进行鉴别的疾病。纳入文献的质量均较高,其 QUADAS-2 偏倚风险评价见图 2、图 3。

表 1 纳入文献的基本特征

序号	纳入研究	结核病类型	研究类型	结核病样本例数	非结核病样本例数	TP	FP	FN	TN
1	孙雯雯 2021 ^[5]	PTB/EPTB	回顾性	165	40	99	0	66	40
2	Zhu N 2021 ^[6]	PTB	回顾性	46	61	41	1	5	60
3	Yu G 2021 ^[7]	TBM	回顾性	23	14	10	0	13	14
4	Sun W 2021 ^[8]	EPTB	回顾性	180	28	101	0	79	28
5	Liu X 2021 ^[9]	PTB	回顾性	142	111	85	0	57	111
6	Lin A 2021 ^[10]	TBM	前瞻性	34	16	20	0	14	16
7	Chao Y 2021 ^[11]	PTB	回顾性	44	47	36	2	8	45
8	Yan L 2020 ^[12]	TBM	回顾性	45	6	38	0	7	6
9	Shi CL 2020 ^[13]	PTB	前瞻性	48	62	23	1	25	61
10	Jin W 2020 ^[14]	PTB/EPTB	回顾性	125	695	62	12	63	683
11	Chen P 2020 ^[15]	PTB/EPTB	回顾性	36	34	24	1	12	33
12	Zhou X 2019 ^[16]	PTB/EPTB	前瞻性	45	60	20	1	25	59
13	Wang S 2019 ^[17]	TBM	回顾性	12	6	8	0	4	6
14	周 颀 2018 ^[18]	PTB/EPTB	前瞻性	19	15	11	0	8	15

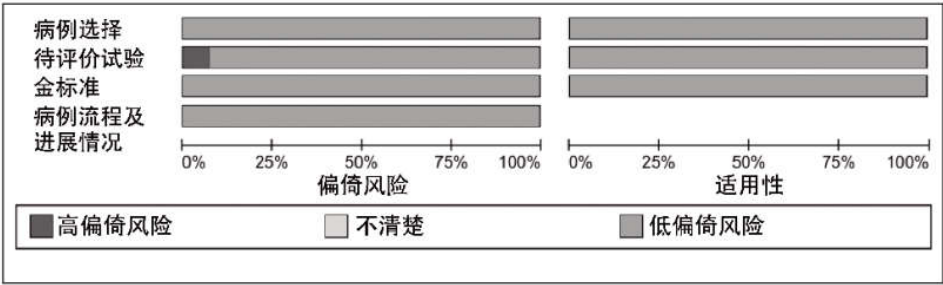


图 2 纳入文献的 QUADAS-2 偏倚风险评价条形图

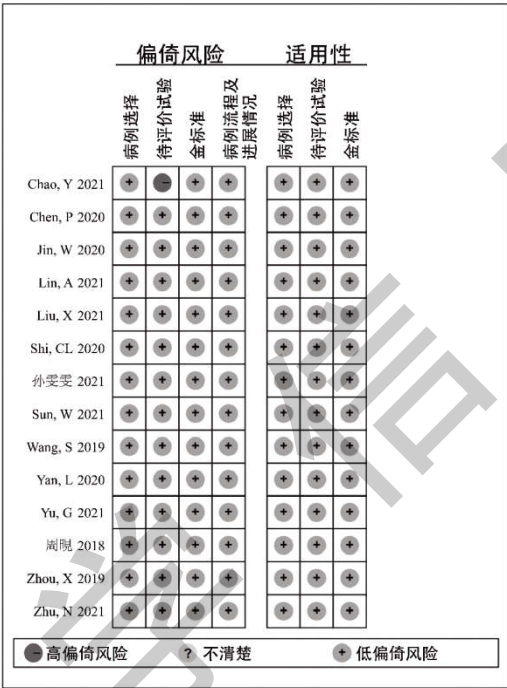


图 3 纳入文献的 QUADAS-2 偏倚风险评价总结图

2.3 阈值效应和异质性检验 Spearman 相关系数=0.220, $P=0.449$, SROC 曲线中各数据点未呈“肩臂状”分布,表明本次 Meta 分析纳入的原始研究间不存在阈值效应,见图 4。异质性检验结果为:敏感度($\chi^2=59.82$, $P=0.000$, $I^2=78.10\%$)、特异度($\chi^2=9.38$, $P=0.744$, $I^2=0$)、阳性似然比(positive likelihood ratio, PLR)(Cochran- $Q=3.98$, $P=0.991$, $I^2=0$)、阴性似然比(negative likelihood ratio, NLR)(Cochran- $Q=39.11$, $P=0.000$, $I^2=66.80\%$)、诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR)(Cochran- $Q=6.74$, $P=0.915$, $I^2=0$), 其中敏感度与 NLR 异质性较大,采用 REM 合并效应量,特异度、PLR、DOR 异质性较小,采用 FEM 合并效应量。

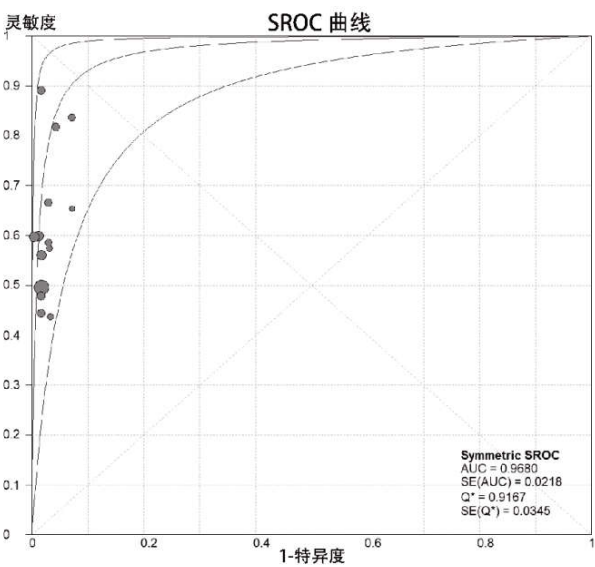
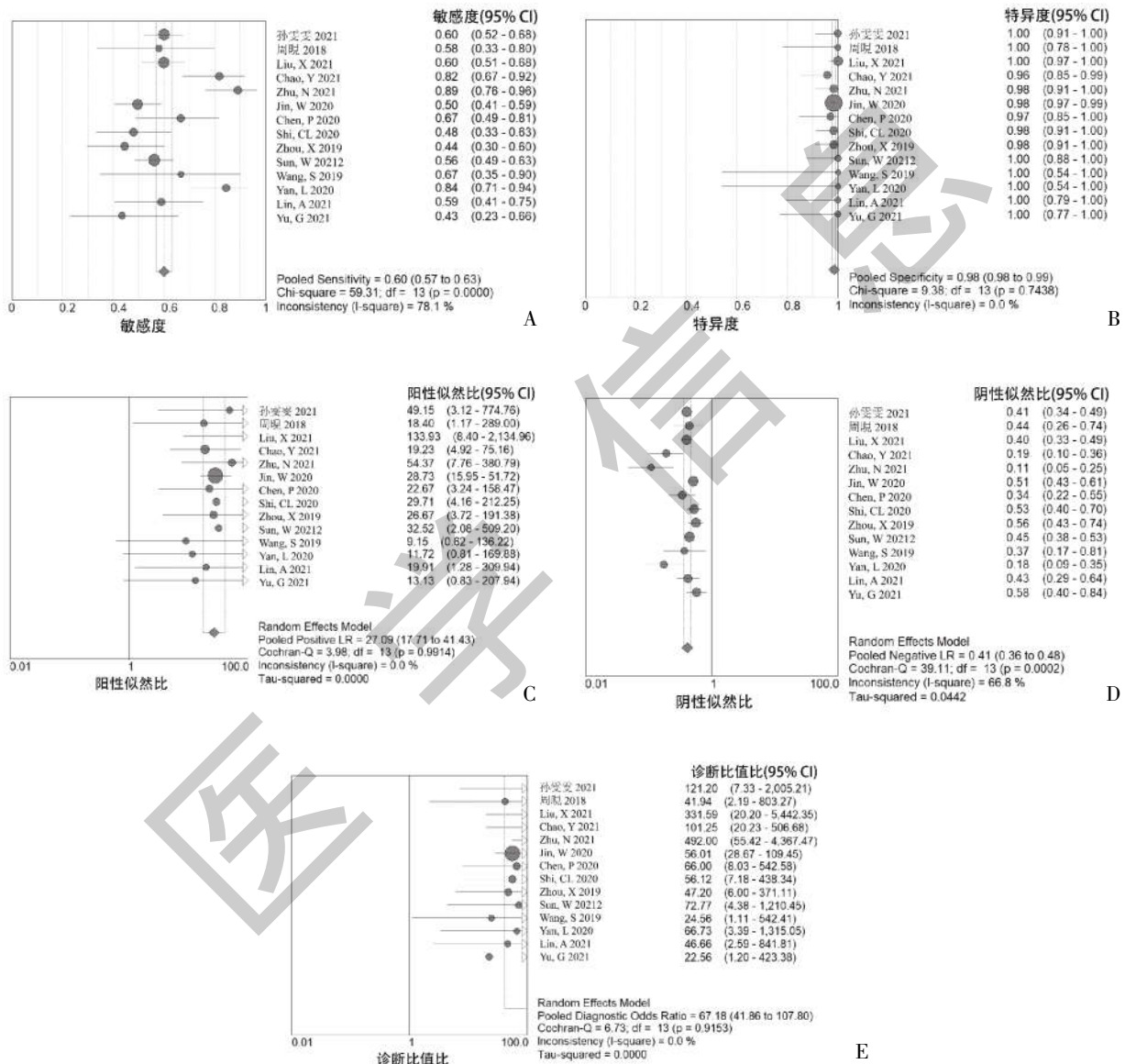


图 4 mNGS 诊断 TB 的合并 SROC 曲线

2.4 诊断性实验的评价指标 Meta 分析结果显示, mNGS 技术诊断 TB 的合并敏感度为 0.600(95%CI: 0.568~0.631), 合并特异度为 0.985(95%CI:0.976~0.991), 合并 PLR 为 30.513 (95%CI:18.536~50.226), 合并 NLR 为 0.414(95%CI:0.357~0.481), 合并 DOR 为 77.408(95%CI:46.090~130.010), 合并

计算曲线下面积 (area under the curve,AUC) 为 0.9680, 合并 $Q=0.9167$, 见图 5。

2.5 Deek's 发表偏倚检验 由 Deek's 模型绘制的漏斗图中各研究散点在中线左右两侧基本呈对称分布, $P>0.05$, 见图 6, 提示纳入研究的原始文献之间存在发表偏倚的可能性较小。



注:A:mNGS 诊断 TB 的合并敏感度分析;B:mNGS 诊断 TB 的合并特异度分析;C:mNGS 诊断 TB 的合并阳性似然比分析;D:mNGS 诊断 TB 的合并阴性似然比分析;E:mNGS 诊断 TB 的合并诊断比值比分析

图 5 mNGS 诊断 TB 的评价指标

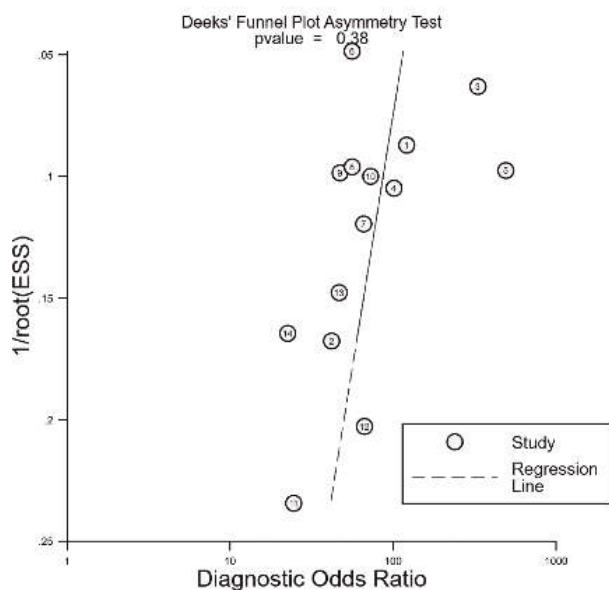


图 6 发表偏倚检验

3 讨论

早诊断、早治疗是实现“终结结核病”战略、实现早期干预及个体化治疗、改善预后效果的关键环节，延迟诊断将导致个体化治疗的延误和 MTB 的传播^[19]。实验室检查对 TB 的防治及诊断起着不可或缺的作用，包括以全菌体为靶标的细菌学诊断、以细菌核酸为靶标的分子生物学诊断、以机体免疫反应及其产物为靶标的血清学诊断、病理学诊断及影像学诊断^[20]。细菌学诊断包括涂片镜检和 MTB 培养，前者廉价、快速、方便、简单，但敏感度不高、易受染色及镜检技术影响、不能区分 MTB 及非 MTB；后者被世界卫生组织称为 TB 诊断的“金标准”，但检测周期较长，难以为临床提供时效性的检测结果。近年来，随着技术日趋成熟，出现了 GeneXpert MTB/RIF、线性探针、T-SPOT 等一系列诊断方法^[21-23]，但也存在着以下不足：GeneXpert MTB/RIF 对于肺外结核，尤其是对于菌量极少的标本检出率不高；线性探针技术对实验室环境及人员水平要求较高，且受膜上探针的限制，不能检测出所有的突变类型；T-SPOT 难以区分活动性结核和潜伏性结核感染。

mNGS 技术通过对疑似感染患者样本中微生物和宿主的核酸进行高通量测序，可以无偏倚地分析临床样本中包括病毒、细菌、真菌和寄生虫在内的多种微生物、耐药基因和毒力因子^[24,25]，有研究显示其敏感度、特异度高于传统 MTB 培养^[26]。近年来 mNGS 技术应用于支气管灌洗液、脑脊液等多种检材诊断 TB 的研究在逐渐增多，但单项研究的样本

量不大，报道的敏感度存在较大差异，因此其诊断价值仍有争议。为了评估 mNGS 技术在 TB 中的诊断价值，为临床提供参考，本研究采用 Meta 分析的方法对 mNGS 技术诊断 TB 的文献进行系统和客观评价，以期更精确地早期诊断 TB。

本研究共纳入 14 项通过 mNGS 技术诊断 TB 的原始研究，涉及 2159 个样本，通过 Meta 分析对诊断指标进行计算并定量合并分析。本研究纳入的 14 项研究无阈值效应，除敏感度与 NLR 异质性较大，采用 REM 进行数据合并分析外，其余指标均采用 FEM 进行数据合并分析，结果显示 mNGS 技术诊断 TB 的合并敏感度为 0.600(95% CI: 0.568~0.631)，合并特异度为 0.985(95% CI: 0.976~0.991)，合并 PLR 为 30.513(95% CI: 18.536~50.226)，合并 NLR 为 0.414(95% CI: 0.357~0.481)，合并 DOR 为 77.408(95% CI: 46.090~130.010)，合并 AUC=0.9680，合并 $Q=0.9167$ ，合并 $PLR>10$ ，提示 mNGS 在 TB 的诊断中具有较高的临床价值，可作为 TB 快速诊断的有效方法。

尽管通过 mNGS 技术进行的泛病原体检测的潜力已在许多研究和临床环境中得到证实，该技术目前也存在着一部分弊端。首先，mNGS 操作过程复杂，检测成本高，边际效用低^[27]，且目前没有国家和地区正式批准 mNGS 用于临床感染性疾病的病原诊断^[28]，导致其结果原则上都需要其他方法验证，使用受到限制。其次，临床提供的检验样本多元，对 mNGS 结果的解释缺乏可信的标准^[29]，造成检测质量良莠不齐。但随着测序技术的不断进步，有专家预测在未来 5 年，更多前瞻性临床试验数据将评估 mNGS 的临床效用，其总体成本和周转时间将继续下降，在对抗传染病方面发挥关键作用^[29]。

本研究存在着以下局限性：目前有关 mNGS 诊断 TB 的原始研究较少，检材的处理方法存在差异，可能造成偏倚；纳入的原始研究所涉及到的检材性质、疾病类型不同，患者间具有个体差异，将导致潜在的临床异质性；纳入的原始研究中，大部分为回顾性设计类型，降低了研究的质量；本研究只纳入了中、英文文献，可能造成语言偏倚。

综上所述，宏基因组二代测序技术对结核病具有较高的诊断价值，可作为快速诊断的有效方法，其发展前景乐观，但在相关部门批准应用之前尚需更多前瞻性、大样本、高质量的临床对照研究对其进行持续性评估。

参考文献:

- [1] Dheda K, Gumbo T, Maartens G, et al. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis[J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5(4): 291–360.
- [2] 高磊, 张慧, 胡茂桂, 等. 基于多中心调查数据和空间统计模型的全国结核分枝杆菌潜伏感染率估算 [J]. *中国防痨杂志*, 2022, 44(1): 54–59.
- [3] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection[J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 319–338.
- [4] Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies[J]. *Ann Intern Med*, 2011, 155(8): 529–536.
- [5] 孙雯雯, 顾瑾, 范琳. 宏基因组二代测序对不同类别结核病的诊断价值[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(2): 96–100.
- [6] Zhu N, Zhou D, Li S. Diagnostic Accuracy of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Sputum-Scarce or Smear-Negative Cases with Suspected Pulmonary Tuberculosis [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9970817.
- [7] Yu G, Wang X, Zhu P, et al. Comparison of the efficacy of metagenomic next-generation sequencing and Xpert MTB/RIF in the diagnosis of tuberculous meningitis [J]. *J Microbiol Methods*, 2021, 180: 106124.
- [8] Sun W, Lu Z, Yan L. Clinical efficacy of metagenomic next-generation sequencing for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in smear-negative extrapulmonary specimens in a high tuberculosis burden area[J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 103: 91–96.
- [9] Liu X, Chen Y, Ouyang H, et al. Tuberculosis Diagnosis by Metagenomic Next-generation Sequencing on Bronchoalveolar Lavage Fluid: a cross-sectional analysis [J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 104: 50–57.
- [10] Lin A, Cheng B, Han X, et al. Value of next-generation sequencing in early diagnosis of patients with tuberculous meningitis[J]. *J Neurol Sci*, 2021, 422: 117310.
- [11] Chao Y, Li J, Gong Z, et al. Rapid discrimination between tuberculosis and sarcoidosis using next-generation sequencing [J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 108: 129–136.
- [12] Yan L, Sun W, Lu Z, et al. Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of Tuberculosis meningitis in HIV-negative population[J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 96: 270–275.
- [13] Shi CL, Han P, Tang PJ, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. *J Infect*, 2020, 81(4): 567–574.
- [14] Jin W, Pan J, Miao Q, et al. Diagnostic accuracy of metagenomic next-generation sequencing for active tuberculosis in clinical practice at a tertiary general hospital[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(17): 1065.
- [15] Chen P, Sun W, He Y. Comparison of metagenomic next-generation sequencing technology, culture and GeneXpert MTB/RIF assay in the diagnosis of tuberculosis[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(8): 4014–4024.
- [16] Zhou X, Wu H, Ruan Q, et al. Clinical Evaluation of Diagnosis Efficacy of Active *Mycobacterium tuberculosis* Complex Infection via Metagenomic Next-Generation Sequencing of Direct Clinical Samples[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 351.
- [17] Wang S, Chen Y, Wang D, et al. The Feasibility of Metagenomic Next-Generation Sequencing to Identify Pathogens Causing Tuberculous Meningitis in Cerebrospinal Fluid[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1993.
- [18] 周晓, 艾静文, 崔鹏, 等. 二代测序技术对活动性结核患者的诊断价值[J]. *中国防痨杂志*, 2018, 40(2): 153–156.
- [19] 贾忠伟, 陆祖宏. 诊断与治疗延误对结核病传播作用[J]. *系统科学与数学*, 2016, 36(1): 28–36.
- [20] Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis [J]. *Lancet*, 2019, 393(10181): 1642–1656.
- [21] Nathavitharana RR, Cudahy PG, Schumacher SG, et al. Accuracy of line probe assays for the diagnosis of pulmonary and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur Respir J*, 2017, 49(1): 1601075.
- [22] 兰汀隆, 董伟杰, 范俊, 等. 分子线性探针技术在检测脊柱标本中结核分枝杆菌及其耐药性中的应用价值[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2020, 30(6): 552–557.
- [23] 鄢志辉, 孙立, 简月奎. 结核 IgG 抗体检测、T-SPOT 及痰结核分枝杆菌核酸检测对骨关节结核的诊断价值[J]. *医学信息*, 2021, 34(7): 85–87.
- [24] 王玉静, 陆梓岑, 陈俊煌, 等. 高通量测序技术的发展及其在临床检测中的应用[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2021, 60(5): 811–820.
- [25] Wang J, Han Y, Feng J. Metagenomic next-generation sequencing for mixed pulmonary infection diagnosis[J]. *BMC Pulm Med*, 2019, 19(1): 252.
- [26] 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.
- [27] Greninger AL. The challenge of diagnostic metagenomics[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18(7): 605–615.
- [28] Deurenberg RH, Bathoorn E, Chlebowicz MA, et al. Application of next generation sequencing in clinical microbiology and infection prevention[J]. *J Biotechnol*, 2017, 243: 16–24.
- [29] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(6): 341–355.

收稿日期: 2023-04-02; 修回日期: 2023-04-17

编辑/王萌