

# 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

中华医学会呼吸病学分会

通信作者:曹彬,中日友好医院呼吸与危重症医学科 国家呼吸医学中心 国家呼吸疾病临床研究中心 中国医学科学院呼吸病学研究院 首都医科大学呼吸系感染临床诊疗与研究中心,北京 100029,Email:caobin\_ben@163.com;瞿介明,上海交通大学医学院附属瑞金医院 上海交通大学医学院呼吸病研究所 上海市呼吸传染病应急防控与诊治重点实验室,上海 200025,Email:jmqu0906@163.com

**【摘要】** 近年来,宏基因组二代测序(mNGS)技术在下呼吸道感染(LRTI)病原诊断领域得到了广泛应用,国内临床医师在mNGS的临床应用方面已积累了一定的经验和证据。但mNGS在LRTI病原诊断中的适用场景仍缺乏规范,mNGS报告的临床意义解读也缺乏专业的指导意见。本共识基于mNGS在我国LRTI病原诊断方面的应用实践,梳理mNGS在LRTI应用领域的瓶颈问题,汇总本领域专家意见,明确了mNGS在LRTI病原诊断中的适用场景,为mNGS报告临床意义提供了一条合理可行的解读路径,以期规范mNGS在LRTI中科学合理应用。

**基金项目:**国家重点研发计划(SQ2022YFA1300137);国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目(ZYYCXTD-D-202208)

## Consensus of clinical pathways of metagenomic next-generation sequencing test in diagnosis of lower respiratory tract infections in China

Chinese Thoracic Society

Corresponding author: Cao Bin, Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, China-Japan Friendship Hospital, National Center for Respiratory Medicine, Institute of Respiratory Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, National Clinical Research Center for Respiratory Diseases, Clinical Center for Pulmonary Infections, Capital Medical University, Beijing 100029, China, Email: caobin\_ben@163.com; Qu Jieming, Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Ruijin Hospital, Institute of Respiratory Diseases, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai Key Laboratory of Emergency Prevention, Diagnosis and Treatment of Respiratory Infectious Diseases, Shanghai 200025, China, Email: jmqu0906@163.com

**【Abstract】** Metagenomic next-generation sequencing (mNGS) enables sensitive and unbiased detection of all potential pathogens in lower respiratory tract infection(LRTI). But the lack of consensus and uniformity of applicable clinical scenarios and interpretation of results for mNGS largely limit its utilization. To solve these issues, an expert panel including pulmonary physicians, intensivists and microbiologists is organized by Chinese Thoracic Society. The panel conducted a systematic review of progress and challenges regarding the application of mNGS on etiological diagnosis of LRTI. The panel formulated 17 specific recommendations spanning questions of suitable clinical situations, sample quality control, process of reports interpretation and subsequent medical decisions. Hopefully, this consensus can provide practical guidelines for clinicians and promote the rational application of mNGS in LRTI.

DOI: 10.3760/cma.j.cn112147-20220701-00553

收稿日期 2022-07-01 本文编辑 吕小东

引用本文: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. DOI: 10.3760/cma.j.cn112147-20220701-00553.



**Fund programs:** National Key R&D Program of China (SQ2022YFA1300137); Innovation Team and Talents Cultivation Program of National Administration of Traditional Chinese Medicine (ZYXCXTD-D-202208)

宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 是近年来兴起的基于核酸检测的微生物鉴定技术, 由于其非预设性、高通量等优点而得到广泛应用<sup>[1-2]</sup>。下呼吸道感染 (lower respiratory tract infection, LRTI) 主要包括社区获得性肺炎 (community-acquired pneumonia, CAP)、医院获得性肺炎 (hospital-acquired pneumonia, HAP)、免疫抑制宿主肺炎、慢性阻塞性肺疾病急性加重、支气管扩张症合并感染等类型, 临床表现多样, 感染微生物种类复杂, 感染和定植鉴别困难, 加之 mNGS 技术本身存在的局限性, mNGS 诊断效力的发挥有赖于选择恰当患者、采用适宜标本以及进行合理的解读。尽管国内就 mNGS 的技术要点和临床应用已有数部专家共识, 但尚缺乏针对 LRTI 临床实践中具体问题的指导意见。为此, 中华医学会呼吸病学分会发起并组织呼吸与危重症、临床微生物检验、感染等多学科的专家撰写本共识, 以期规范 mNGS 在 LRTI 中的临床应用, 为更好地规范解读 mNGS 报告提供指引。LRTI 诊断要点、主要病原谱及特定致病微生物的危险因素本共识不再赘述, 可参考相关指南或共识<sup>[3-7]</sup>。

本共识采用问答的形式, 首先提出需要阐明的问题, 经共识写作组讨论后确定入选问题, 在梳理临床证据的基础上给出每个问题的推荐意见及理由, 并附上典型应用案例及其解析, 方便读者掌握共识要点。

本共识适用于青少年和成人 LRTI。

#### 一、LRTI 病原学诊断方法学

**问题 1: mNGS 和传统微生物检测方法相比的优势与不足是什么?**

传统微生物检测方法技术成熟, 可靠性较高, 临床应用实践多; mNGS 技术理论上能非预设性、一次性检测未知病原, 检测范围更广, 但存在技术复杂、报告解读困难等不足。与传统微生物学检测方法相比, mNGS 的优缺点见表 1<sup>[8-11]</sup>。不同的病原学诊断方法都有其各自的适用场景与前提, 需要根据患者群体、病情特点、可疑病原微生物类别、当地实验室条件, 选择适宜检测方法。

#### 二、患者的选择

**问题 2: 哪些疑似 LRTI 的临床场景需考虑通过送检 mNGS 明确病原微生物?**

1. 免疫抑制宿主疑似发生 LRTI 且临床表现提示非 CAP 常见病原微生物所致者。免疫抑制宿主包括原发性免疫抑制宿主、进展期恶性肿瘤患者或感染前 1 年内罹患恶性肿瘤患者 (不含 I 期肺癌等早期恶性肿瘤或局限性皮肤癌)、正在接受化疗的恶性肿瘤患者、HIV 感染伴 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数 < 200/μl、实体器官移植受者、造血干细胞移植患者、长期使用较大剂量糖皮质激素治疗患者 (等效泼尼松 ≥ 20 mg/d 且持续 ≥ 14 d, 或等效泼尼松累积剂量 > 700 mg)、接受生物免疫调节剂治疗患者 [如抗肿瘤坏死因子 (TNF)-α 单克隆抗体等]、接受缓解病情抗风湿药或其他免疫抑制药物 (如环孢素、环磷酰胺、甲氨蝶呤等) 治疗的患者、各种原因导致的粒细胞缺乏患者 (外周血中性粒细胞计数 < 0.5 × 10<sup>9</sup>/L) 等<sup>[12-13]</sup>。

2. LRTI 患者发病初期即出现需要使用血管活性药物的感染性休克、需要有创机械通气的呼吸衰竭、多脏器功能不全等危及生命的状况时; LRTI 经规范经验性抗感染治疗 48~72 h 后, 感染症状仍持续加重或影像学快速进展者。

3. 聚集性发病疑似具有传染性、但无法明确病原体的 LRTI; 有特殊病史 (如近期境外或野外旅游史) 且经验性治疗无效, 病情较为严重的 LRTI; 临床考虑特殊病原体 (如钩端螺旋体、嗜肺军团菌、鹦鹉热衣原体等) 感染且病势迅疾或迁延者, 常规培养困难或所在医疗机构无法提供可靠的传统检测方案时。

4. 患者有 LRTI 症状或影像表现, 经规范抗感染治疗后病灶吸收延迟、病程迁延, 需鉴别是否由非感染性疾病所致 (如结缔组织疾病的肺部累及、肺淋巴瘤等), 可以在常规病原微生物检测、感染生物标志物、病理等相关检查同时送检 mNGS 以帮助鉴别诊断。

**问题 3: 哪些临床场景通常不建议送检 mNGS?**

1. 免疫功能健全宿主罹患 LRTI (包括重症肺炎), 经过规范的经验性抗感染治疗病情已好转。

2. LRTI 已通过其他方法获得病原学结果, 与临床特点相符, 或针对性治疗有效。



表 1 mNGS 和传统微生物学检测方法在 LRTI 病原学诊断中的优势与不足

诊断方法	优势	不足
涂片显微镜检查	(1)快速 (2)操作简便 (3)价格便宜 (4)设备要求条件低,易于开展 (5)可以评估样本的炎症反应状况	(1)敏感度受原始样本中病原微生物载量多少的影响,载量较多时才能获得较高的阳性率 (2)仅能根据显微镜下形态和染色特性对微生物类别做出初步推断,不能鉴定到种 (3)不同的病原微生物所需染色方法不同,染色方法的选择需要临床预判做基础 (4)检测水平受操作者经验的影响较大 (5)多种病原微生物无法通过常规镜检进行检测,如病毒、支原体、衣原体等 (6)无法进行药敏试验
培养法	(1)价格相对适中 (2)方法学成熟,方便开展 (3)培养出病原微生物是感染性疾病诊断的金标准 (4)培养出病原微生物可用于药敏试验,指导临床用药	(1)患者使用抗菌药物后,敏感度下降 (2)实验室需要针对不同的病原采用不同的培养基和培养方法,依赖操作者经验 (3)临床实验室不常规开展病毒、衣原体、立克次体等培养;肺孢子菌目前无法体外培养 (4)耗时较长,一般需要 1-2 d 在培养基上有菌落生长。某些分枝杆菌或真菌生长缓慢,需要更长的时间(数周或数月)
抗原检测	(1)价格适中 (2)操作方便、快速、易于开展,如肺炎链球菌尿抗原、嗜肺军团菌尿抗原、隐球菌荚膜多糖抗原、呼吸道病毒等 (3)特异度较好	(1)敏感度低 (2)可以检测的病原微生物类别有限
血清学检测	(1)价格适中 (2)操作方便、快速 (3)恢复期抗体水平 4 倍升高是钩端螺旋体、肺炎支原体、呼吸道病毒等感染的确证试验之一	(1)抗体产生需要一定时间,感染早期检测可为假阴性,临床价值较差 (2)免疫抑制宿主感染后可不产生抗体或抗体产生延迟,出现假阴性 (3)与结构相近的蛋白结合,有一定的假阳性,如老年患者、结缔组织病患者 (4)大多数细菌感染缺乏成熟的特异性血清抗体检测方法
单重分子生物学检测 (包括 PCR、恒温扩增等)	(1)价格适中 (2)操作简单、快速,可实现全自动化检测 (3)可实现定量检测 (4)可依据情况灵活检测目标微生物 (5)敏感度与特异度均较高	(1)需要预判潜在致病微生物,为目标性检测 (2)仅扩增病原微生物基因组的部分片段,所选择的靶区域突变或病原载量较低时可导致假阴性
多重分子生物学检测	(1)操作简单、快速,可实现全自动化检测 (2)可同步检测多种微生物,可通过多种组合覆盖常见的病原微生物与重要耐药基因 (3)敏感度与特异度均较高	(1)病原微生物组合相对固定,难以涵盖少见的病原微生物 (2)仅扩增病原微生物基因组的部分片段,所选择的靶区域突变或病原载量较低时可导致假阴性 (3)成本较高
tNGS	(1)与 mNGS 相比,检测时间缩短,敏感度与特异度更好,无需检测人源序列,检测成本下降 (2)与多重分子生物学检测方法相比,覆盖病原微生物范围更广 (3)针对 16S rRNA 的 tNGS 是肺部微生态分析的标准方法	(1)病原谱比 mNGS 窄,无法检测未知病原微生物 (2)设备和操作复杂,检测时间受检测步骤与方案的制约
mNGS	(1)无需预判病原微生物,对检测目标无偏好性,理论上可检测数据库中所有病原微生物 (2)可检出新发、未知、罕见病原微生物,可作为病原学诊断依据	(1)检测结果临床解释有一定难度 (2)容易受到人源核酸干扰 (3)易受环境微生物、定植微生物、工程菌干扰 (4)操作流程复杂 (5)价格昂贵

注:mNGS:宏基因组二代测序;LRTI:下呼吸道感染;tNGS:靶向基因组测序

### 3. 无法获取优质标本。

#### 问题 4: 如何根据所在医院微生物检测能力差异化送检 mNGS 诊断 LRTI?

mNGS 技术本身具有价格昂贵、技术复杂、结果解读难度大的特点,不建议 mNGS 替代常规病原微生物检测。在传统微生物检测能力不足的医疗单位,对于疑难、复杂或危重感染病例,可以考虑将 mNGS 作为常规病原微生物检测的补充手段。原则上应首先针对可疑病原微生物选择可靠的检测方法,包括 PCR 等特异性的分子检测,但在缺乏相应检测手段的情况下,可将 mNGS 作为备选。例

如,疑诊病毒性肺炎或非典型病原体肺炎患者,应首选针对常见呼吸道病毒和非典型病原体的 PCR 或多重 PCR 和(或)抗原检测,在常规检测阴性或本机构无法进行相关检测时,可将 mNGS 作为重症患者的选择。

#### 三、标本选择、采集和运送规范及质量评估

#### 问题 5: 如何根据 LRTI 特点选择 mNGS 送检标本类型?

在 LRTI 的病原微生物诊断中,可用于 mNGS 检测的标本包括痰(含诱导痰)、气管吸引物、支气管肺泡灌洗液(bronchial alveolar lavage fluids,

BALF)、经支气管肺活检(transbronchial lung biopsy, TBLB)标本、经支气管内超声(endobroncheal ultrasonography, EBUS)活检标本、经皮肺穿刺活检标本、血液等<sup>[14-19]</sup>。选择mNGS送检标本类型时应考虑下列因素:(1)标本中的病原微生物载量;(2)标本中污染或定植微生物的含量及其对检查结果的干扰;(3)标本中的人源序列的含量及其对检测结果的干扰;(4)标本采集的难易程度及相关操作风险;(5)标本采集所需要的医疗费用。

表2比较了常用呼吸道标本的临床适用场景。

**问题 6: 样本质量如何保证, 标本保存和运输条件是什么?**

1. 保证 mNGS 送检标本质量的主要措施: mNGS 在采集、运输、保存等多个环节易污染, 影响结果判读。(1)选择高质量的呼吸道标本, 标本采集时应尽量避免污染。(2)尽量由专门技术人员进行采集, 可参考临床微生物分子检测规范, 对医护人员进行采集运输微生物标本等方面的培训。(3)规

**表 2 LRTI 患者感染 mNGS 常用标本的比较**

标本类型	标本中致病微生物的相对载量	非致病微生物的干扰	人源核酸干扰	适用临床场景
痰(包括诱导痰)、气管内吸引物	采自中心气道区域感染、气道内感染或双肺弥漫性感染患者的合格标本, 致病微生物载量较高; 不合格标本或采自外周结节等孤立性病患者的标本, 致病微生物载量较低	存在比较严重的口腔、呼吸道、人工气道定植微生物干扰	脓性痰或吸引物中可能存在比较严重的人源核酸干扰	应用痰或气管内吸引物 mNGS 检测建立肺炎病原学诊断的临床证据尚不充分, 核心问题是难以区分定植或污染微生物 <sup>[18]</sup> 。因此, 此类标本用于 mNGS 检测应严格掌握适应证而且仅限于高质量的合格标本。原则上, 合格标本仅限于病情严重、无法耐受有创性标本采集方法的患者(如未建立有效人工气道的呼吸衰竭患者、有显著出血风险的患者等); 而气管内吸引物标本限于已经建立人工气道、但不能耐受支气管镜检查的重症患者
BALF	致病微生物的载量取决于感染部位和操作技术水平, 合格的 BALF 标本中通常具有较高的病原微生物载量	非致病微生物的干扰要小于痰(含诱导痰)和气管吸引物	人源核酸干扰较小	在应用 mNGS 进行 LRTI 的病原微生物诊断时, BALF 是常用的、比较理想的检测标本, 适用于大多数情况。需要重点关注的是标本采集过程的规范化和风险。对于呼吸衰竭患者或有潜在呼吸衰竭风险的患者, 建议在建立人工气道、进行有效通气支持的情况下采集 BALF 标本
支气管镜黏膜活检标本	合并黏膜感染或以黏膜病变为主的 LRTI 患者的支气管镜下黏膜活检标本中具有可被检出的病原微生物, 但活检组织中的病原微生物载量不一定高于 BALF	存在一定的气道黏膜定植微生物干扰	人源核酸干扰较大	当支气管镜检查发现明确的黏膜感染性病变时, 活检标本在送病理组织学检查的同时送检微生物 mNGS
TBLB 标本或 EBUS 活检标本	通常经支气管活检标本的组织块较小, 可能并非来自最有代表性的感染区域, 因此, 活检组织中的病原微生物载量可能并不高于 BALF	存在一定的气道黏膜定植微生物干扰	人源核酸干扰较大	采用 TBLB 标本进行 mNGS 的敏感度和特异度与 BALF 并无区别 <sup>[14-15]</sup> , 但操作更为复杂, 风险更大, 因此, 不宜将 TBLB 标本作为 mNGS 检测的首选标本, 但可作为 BALF 的备选或补充。采用 EBUS 进行引导, 可以提高 TBLB 标本检测的阳性率 <sup>[17]</sup>
经皮肺穿刺活检标本	活检组织中的病原微生物载量取决于活检标本是否来自于具有代表性的感染区域	非致病微生物的干扰较小, 通常来自于皮肤定植微生物	人源核酸干扰较大	虽然经皮肺穿刺活检标本进行 mNGS 检测时的阳性率并不高于 BALF, 但是, 对于肺外周病变, 经皮肺穿刺活检标本的检测结果可以与 BALF 的检测结果相互印证、互为补充, 特别是怀疑非典型病原体感染或特异性感染(如真菌或分枝杆菌)时
肺炎旁胸腔积液	肺炎旁胸腔积液中通常含有较高的致病微生物载量	非致病微生物的干扰较小, 通常来自于皮肤定植微生物	人源核酸干扰的大小取决于胸腔积液的性质, 脓胸中所含的大量中性粒细胞会产生较大的人源核酸干扰	肺炎旁胸腔积液可作为微生物 mNGS 检测的首选标本之一, 其优势在于致病微生物载量高、非致病微生物干扰小、操作简便、风险小, 需要注意的是脓胸时的人源核酸干扰会降低其阳性率
血液	采用血液进行微生物 mNGS 可以检测血浆中少量游离病原微生物和病原微生物死亡崩解产生的游离 DNA 片段。LRTI 患者血液中致病微生物核酸含量通常低于 BALF 等感染部位标本	非致病微生物的干扰较小, 主要来自于肠道和皮肤定植微生物和上呼吸道定植微生物	人源核酸干扰较严重	在 LRTI 的病原微生物诊断中, 血液标本 mNGS 检测的敏感度低于 BALF, 特异度与 BALF 无显著差别 <sup>[16]</sup> 。考虑其便于采集和风险较小的优点, 因此更适用于病情严重、无法耐受有创性标本采集方法的患者, 包括明显出血倾向无法进行支气管镜检查或穿刺活检者; 呼吸衰竭不能耐受支气管镜检查者。其检测结果可与呼吸道标本检测结果相互印证, 有助于明确致病微生物

注: LRTI: 下呼吸道感染; mNGS: 宏基因组二代测序; BALF: 支气管肺泡灌洗液; TBLB: 经支气管肺活检; EBUS: 经支气管内超声

范采集方法和送检流程:对于痰液标本采集,医护人员应首先判断患者是否有自主咳痰的能力,监督并协助患者,清水漱口 2~3 次,用力咳出深部痰 3~5 ml,保存在无菌杯内;若为气管插管患者,无法自主咳痰,可通过气管插管进行抽吸,留取标本在无菌杯内;BALF 标本采集,应在支气管镜的引导下,使用 37 °C 无菌生理盐水多次灌洗,留取 5~10 ml 标本放入无菌管中,尽快送至检测实验室;肺组织标本采集,应尽量对感染部位或边缘进行取材,保存在无菌杯中,尽快送至检测实验室。尽可能在首次抗菌药物使用或更改治疗方案前进行采集。尽量使用有螺口的无菌杯或使用封口膜进行密封,减少运输和保存过程中的污染。(4)信息标注完整:患者基本信息,临床症状(包括现病史和既往史等),标本采集时间、方法,抗菌药物使用种类及其持续时间,临床医生的初步诊断及对致病微生物的初步判断等。(5)针对不同的标本类型,制定标本接收或拒收标准。如合格的痰标本应白细胞>25 个/低倍视野,鳞状上皮细胞<10 个/低倍视野,或白细胞/鳞状上皮细胞>2.5;合格的 BALF 标本鳞状上皮细胞应<1%,镜检现场评价有助于提高采样质量。实验室在接收到标本后,应尽快评估标本质量。对于不合格的标本,应与临床沟通后尽量重新采集。若重新采集难度较大,则在相应标本的检测结果中应明确标注标本质量不合格,在对该标本的测序结果进行判读时应考虑标本质量对检测结果的干扰。

2. mNGS 送检标本的保存要求:(1)下呼吸道标本:包括痰(含诱导痰)、BALF、肺炎旁胸腔积液等,原则上应在采集后立即送检。若标本不能立即送检,标本采集时间与检测时间间隔≤24 h,可在 2~8 °C 保存。若标本采集时间与检测时间间隔>24 h, DNA 测序标本保存时间≤2 周时可储存在-20 °C 冰箱,保存时间超过 2 周则需储存在-80 °C 冰箱;需要进行 RNA 测序的标本如果保存时间>24 h,均应保存在-80 °C 冰箱。对于短期不做检测的液体样本,冻存前应分装保存在冻存管(≥500 μl/管)中。(2)血标本:采集后 4 °C 保存不超过 8 h,如果需要长期保存,分离血浆后 4 °C 可保存 24 h,长期保存于-80 °C 冰箱。(3)组织标本:来自感染部位的穿刺或手术切除组织标本,应保存在无菌生理盐水或者 Hank's 液中,4 °C 保存不超过 24 h。如果需要长期保存,小块组织可以不加保存液立即-80 °C 冻存,穿刺活检标本置于无菌生理盐水-80 °C 冻存。

3. 标本的运输要求:(1)24 h 内送抵实验室并

开始检测,可考虑冰袋低温运输;(2)24~72 h 内送抵应干冰运输,送抵后应立即进行标本前处理和核酸提取。

4. 需要进行去宿主核酸处理的标本保存和运输注意事项:除了上述注意事项外,此类标本一般要尽量保证病原微生物完整性,避免碾磨或多次冻融。

**问题 7:哪些 LRTI 需要在进行 DNA 测序的同时送检 RNA 测序?**

RNA 病毒(附表 1)引起的 LRTI 通常有一定的季节性、流行性或地域性。建议检测方法首选单重或多重 PCR 检测或相应的抗原检测<sup>[20-21]</sup>。若当地医疗机构无相应检测能力,或 PCR 检测阴性但依然高度怀疑时,可在送检 mNGS DNA 测序的同时进行 RNA 测序。下列临床情况可供参考:(1)呼吸道 RNA 病毒感染流行季节(主要是冬春季节以及南方的夏季)、有相应流行病学史的患者出现疑似呼吸道感染临床和(或)影像表现。(2)LRTI 合并以下情况时:免疫抑制宿主;发热伴严重血小板减少或凝血功能障碍;急性肝肾功损害;急性神经系统症状。

#### 四、mNGS 的关键实验室技术参数

**问题 8:mNGS 检测报告需要关注哪些内容?**

mNGS 检测报告从检测技术角度应包括如下内容:标准化后的微生物特异性读长(reads)数/序列数、标准化中英文名称、相对丰度、阈值、基因组覆盖度图。可选内容有:相应部位病原微生物列表、微生物序列与人源核酸序列的比值、测得总序列数、质量合格序列数、可比对至微生物数据库序列数、测序质控图、耐药基因、毒力基因等。

报告微生物的版块可按细菌、病毒、真菌、寄生虫、特殊病原体(支原体、衣原体、立克次体等)5 大类别列举。

主要参数定义及其意义:(1)reads:测序仪单个测序反应所得到的碱基序列,二代测序平台一般长度为 50~75 bp 的片段。(2)reads 数:指测序获得的某种微生物属/种碱基序列的数量。病原微生物属/种水平上检出的 reads 数与当次实验的总测序数据量直接相关,为避免总测序数据量高低的干扰,应对检出 reads 数进行标准化之后进行报告。(3)覆盖率:指达到给定深度的测序碱基占整个基因组或目标区域的百分比。没有达到给定深度的部分称为盲隙(gap)。通常同时使用覆盖率和深度描述测序结果。覆盖度图采用病原全基因组模式



图的形式,展示病原检出位点及检测次数的分布情况。测序深度指测序得到的碱基总量与基因组大小的比值,或可理解为基因组中每个碱基被测序到的平均次数。(4)相对丰度:指除去宿主序列之后,某微生物序列在相应 5 大类微生物类别中的分布比例。丰度越高,表示该微生物所占比例越高。它只能指示同一样本中某微生物的相对数量,不能用于不同样本之间的比较。(5)Q 值:指质量分值,用于衡量测序准确度,公式为  $Q = -10\log_{10}P$ ,其中 P 代表该碱基被测序错误的概率。如 Q20 表示该碱基检测错误的概率为 1%。(6)RPM:每一百万条测得序列包含的阳性 reads 数 (reads per million)。(7)RPTM:每一千万条测得序列包含的阳性 reads 数 (reads per ten million)。

### 五、mNGS 报告解读

#### 问题 9: mNGS 检测结果用于 LRTI 病原学诊断时应遵循何种流程和路径?

1. 分析报告质量,判断结果可信程度:根据送检标本类型、报告形式及内容判断检测结果是否规范可信。

2. 对 mNGS 检测出的微生物进行分级:参照附表 1 判断 mNGS 检出的微生物为致病性微生物、条件致病微生物还是定植微生物。致病性微生物在肺内定植可能性低,阳性结果多考虑为导致感染的病原。条件致病微生物需结合患者的宿主因素、血液理化指标和影像学特征、抗感染药物用药史及治疗反应、传统微生物学检测结果综合分析进一步判断是否致病。定植微生物引起 LRTI 的可能性低,多不考虑致病,但吸入性肺炎、肺脓肿、脓胸等混合性感染时,口腔定植微生物也可能致病。经皮穿刺肺活检标本或胸腔积液标本检出的皮肤定植微生物,通常不致病。遇到不熟悉的微生物,可借助病原检索工具 <https://www.chinapneumonia.cn/pathogens> 查询其在既往感染性病例中的报道。

3. 根据临床特征,结合 mNGS 微生物分级进行临床决策(图 1):如确定为致病病原体(注:此处致病病原体为临床决策后的微生物分级,不同于上文致病性微生物),可根据该

结果进行针对性治疗。如判断为可能致病病原体,则需评估患者病情状况:危重症患者,可结合临床特征先根据 mNGS 结果调整抗感染方案,同时寻求其他支持证据(如临床微生物室涂片/培养结果、抗原/抗体检测结果、PCR 检测结果等)综合判断其致病的可能性和进行针对性治疗的必要性;非危重症患者可先寻求其他支持证据,再调整治疗方案。

4. mNGS 阴性结果的临床决策:若 mNGS 结果为阴性,但综合临床特征,仍强烈怀疑为感染性疾病,则建议对报告中的背景微生物、原始数据列表或其他病原微生物检测结果进行分析(图 1)。若临床特征支持非感染性疾病,应对原发疾病进行诊治。

5. 组织多学科会诊 (multi-disciplinary treatment, MDT):若经过以上流程,仍无法确认致病病原体,可组织 MDT 讨论。

6. 经验总结:鉴于 mNGS 用于诊断 LRTI 尚缺乏充分的循证医学证据,因此,临床医师在使用每一例报告后应进行回顾性分析总结,积累临床经验。

#### 问题 10: 如何对 mNGS 检测报告的微生物进行致病概率分级?

根据微生物在下呼吸道的致病性特征,初步分为致病性微生物、条件致病微生物和定植微生物

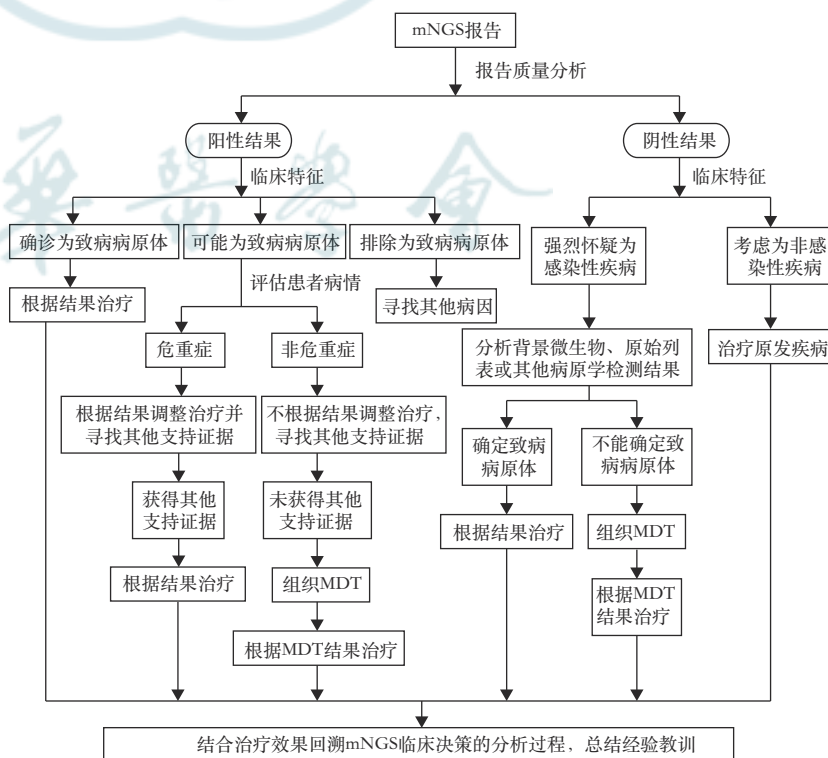


图 1 mNGS 结果临床解读流程

(附表 1)。条件致病微生物的判断需要结合患者的宿主因素、血液理化指标和影像学特征、抗感染药物用药史及治疗反应、传统微生物学检测结果综合分析。

免疫抑制宿主发生机会性感染的风险更高,病原微生物包括肺孢子菌、分枝杆菌属、诺卡菌属、曲霉属、毛霉目、隐球菌属、巨细胞病毒(CMV)、铜绿假单胞菌等<sup>[22-24]</sup>。免疫正常宿主 LRTI 按照起病场所分为社区起病<sup>[25-27]</sup>和医院起病<sup>[28-29]</sup>。社区起病的 LRTI 应排查流行病学和特定病原微生物的接触史,如疫区、传染源、禽类、蝙蝠等接触史,应考虑到结核分枝杆菌、禽流感病毒、隐球菌属、组织胞浆菌属等病原微生物。较长时间的抗感染治疗会影响病原微生物检出<sup>[30-32]</sup>,经验性治疗失败后应尽快完善检查并需要考虑未能有效覆盖的病原微生物。

常用于辅助 LRTI 判断推测感染病原体的理化项目包括:血常规及外周血细胞分类、降钙素原(procalcitonin, PCT)、C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)等,部分特殊感染还可能影响肝肾功能、凝血功能;其他理化指标如肿瘤标志物、自身抗体谱、免疫球蛋白、补体等常用于与非感染性疾病的鉴别诊断。

胸部影像学改变方面,大多数病原微生物都可导致肺实变,如肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、军团菌、腺病毒等<sup>[33-34]</sup>。肺部结节伴空洞形成常由真菌导致,如曲霉属、毛霉目、隐球菌属等;也可以见于金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、结核分枝杆菌、放线菌属、诺卡菌属引起的感染。弥漫性磨玻璃样病变主要见于肺孢子菌、肺炎支原体和病毒(如 CMV、流感病毒等)<sup>[35]</sup>。

mNGS 检测结果的解读必须结合常规微生物实验室检测,包括但不限于涂片和培养、特殊染色、 $\gamma$ -干扰素释放实验、单重/多重 PCR 或一代测序等分子生物学检测,真菌 G 试验、GM 试验、曲霉 IgG 抗体、寄生虫血清特异性抗体、隐球菌荚膜多糖抗原,肺炎链球菌、嗜肺军团菌尿抗原检测等。

#### 问题 11: 如何根据 mNGS 阴性报告作出临床决策?

mNGS 可能出现阴性结果,即未报告明确病原体。对此应结合临床和常规微生物实验室检测结果,综合判断是真阴性还是假阴性(图 1)。

真阴性指患者肺内病灶并非是感染性疾病所致,如弥漫性间质性改变可能为结缔组织疾病肺累

及或其他弥漫性实质性肺疾病(diffuse parenchymal lung disease, DPLD)。

假阴性是指未能检出感染致病微生物。通常见于以下情况:(1)技术原因而导致的假阴性,例如部分呼吸道病原微生物外壁很厚或脂质成分高<sup>[36-37]</sup>,核酸提取过程中难以破壁,致核酸未彻底释放,如曲霉属、毛霉目、隐球菌属和诺卡菌属、分枝杆菌属等<sup>[38-39]</sup>;标本储存或者运输问题致样本核酸降解,如流感病毒等 RNA 病毒易出现该情况;(2)所使用的数据库不全,导致检出病原微生物序列未准确注释;(3)生信分析错误而致漏报致病微生物;(4)标本中的人源核酸过高;(5)样本中病原微生物载量低于 mNGS 最低检测下限,或测序数据量太低未能覆盖到该病原微生物<sup>[40]</sup>,例如已接受有效抗微生物药物治疗而导致病原微生物负荷显著降低而难以被检出;(6)采样不规范或标本类型不合适(详见问题 13)等。当 mNGS 回报阴性结果时,临床仍不能排除 LRTI,临床医生应进一步详细了解病史、发病特点及诊疗经过及治疗反应,结合影像学特点,反复送检常规病原学检查,必要时可送检不同部位标本(如 BALF、血、肺组织等)进行 mNGS 检查,并动态评估患者对抗感染治疗的反应以协助进一步明确疾病类型。

#### 问题 12: mNGS 报告中出现多种病原微生物如何解读?

mNGS 检测中出现多种病原微生物时,推荐首先通过显微镜检查、培养、抗原、PCR 等方法确认,并结合临床特征解读。必要时可通过不同部位标本 mNGS 检测结果进行相互印证。

mNGS 可在一份标本中检测到多种微生物,当出现以下情况时,考虑其中一种或多种微生物为假阳性结果:(1)标本质量不合格;(2)标本采集、送检过程受呼吸道定植菌、皮肤定植菌、环境菌、工程菌的污染;(3)检测过程中背景菌的质量控制不严格;(4)患者的职业和生活环境、基础疾病、临床特点和影像特征与检出的微生物不相符;(5)无法用其他微生物学方法验证;(6)治疗反应和疾病转归与检出的微生物不相符。

以下临床场景多支持 mNGS 检出的多病原微生物为真阳性结果:(1)误吸风险或明确误吸史的患者,出现多种常见口腔定植菌,需考虑吸入性肺炎/肺脓肿。此类病例常可同时在下呼吸道标本涂片和(或)培养中检出相应的混杂菌群。(2)CAP 患者有时会出现细菌、非典型病原体、呼吸道病毒等

混合感染<sup>[41-42]</sup>。(3)免疫缺陷宿主 LRTI 常发生细菌、真菌、病毒、分枝杆菌等病原微生物的混合感染。

### 问题 13: 标本类型对解读 mNGS 报告有什么影响?

1. 痰(包括诱导痰)、气管吸引物、BALF 及各种经支气管镜肺活检标本:(1)易受口腔或上呼吸道常见定植微生物的污染,主要包括念珠菌属、链球菌属、葡萄球菌属、奈瑟菌属、厌氧菌等。(2)BALF 标本中致病微生物的载量通常较高,受非致病微生物和人源核酸的干扰较小,当疑似感染部位 BALF 标本的 mNGS 检测结果为阴性时,虽然不能据此完全排除感染<sup>[18]</sup>,但可作为排除感染的重要依据,应结合临床表现、肺部影像表现、抗感染治疗反应及其他病原微生物检测结果重新审视感染的诊断是否正确。(3)经支气管镜肺活检标本通常组织块较小,有时可能来自于感染周边的反应性炎症区域,致病微生物的载量可能较低,同时人源核酸占比高,检测结果受的干扰较大,所以其阴性结果并不能排除感染<sup>[18, 38, 43]</sup>。

2. 胸腔积液与肺组织标本:(1)经皮穿刺标本易受皮肤定植微生物或环境微生物污染,如表皮葡萄球菌、类白喉杆菌、耻垢杆菌、丙酸杆菌等。(2)经皮肺穿刺活检标本通常组织块较小,有时可能来自于感染周边的反应性炎症区域,致病微生物的载量可能较低,同时人源核酸占比高,检测结果受的干扰较大,因此其阴性结果不能排除感染<sup>[18, 38, 43]</sup>,但如果 mNGS 的送检标本为大块的外科手术活检或切除标本,其阴性结果应该可以作为排除感染的重要依据;(3)脓胸中虽然致病微生物的载量较高,但也同时存在大量的炎症细胞,人源核酸占比高, mNGS 检测过程中的去人源核酸操作可能导致检测结果呈假阴性。

3. 血液:(1)正常人的血液中可能存在皮肤、肠道或上呼吸道定植微生物死亡后崩解产生的微量核酸片段,血液检出致病微生物序列不代表该病原微生物来自呼吸道,也可能来自肠道或者其他部位。(2)血液标本检出 CMV、EB 病毒等 DNA 病毒时,只能说明血液中存在病毒核酸,是否存在病毒性肺炎需要结合临床表现、肺部影像表现和下呼吸道标本的检测结果综合判断。(3)血液标本中致病微生物的载量往往较低,而且检测结果受人源核酸的干扰较大,其阴性结果不能排除感染<sup>[18, 38, 43]</sup>。(4)血浆微生物 mNGS 与其他体液 mNGS 不同,是无细胞的游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 测序,在

去除血细胞的过程中可能导致胞内病原体(如立克次体、衣原体等)被同时去除,因而某些胞内致病微生物感染可能出现假阴性,可考虑对血细胞层进行 mNGS 检测。

### 问题 14: mNGS 报告中低 reads 数微生物如何解读?

1. mNGS 报告一些病原微生物的 reads 数低时,应从以下几个方面加以考虑:(1)某些病原微生物的核酸提取效率低和(或)标本中该病原载量较低;(2)采样、运输和实验过程中引入污染可能,结合临床分析之后,若考虑此低 reads 微生物不是致病微生物,应考虑污染或者假阳性结果;(3)生信分析中出现假阳性结果。

2. 临床医生应结合患者临床表现、影像学、常规微生物学检测结果,综合判断该低 reads 病原微生物的临床价值。如果怀疑此微生物感染,条件允许时采用另一方法验证。检测出低 reads 病原微生物无法用临床微生物常规方法进行验证时,可要求检测方提供该微生物原始数据,直接与高质量的参考基因组比对,如果此病原微生物意义重大,条件允许,也可以自行设计 PCR 引物或一代测序等验证。(1)某些微生物核酸提取效率较低,致其检出 reads 数少,例如, BALF mNGS 测出少量结核分枝杆菌的 reads,应关注 Xpert MTB/RIF 是否阳性; BALF mNGS 测出少量新型隐球菌的 reads,应关注外周血或 BALF 隐球菌荚膜多糖抗原检测结果; BALF mNGS 测出少量曲霉菌的 reads,应关注 BALF GM 和(或)曲霉菌属 IgG 抗体结果;(2)血浆 cfDNA 测序对于胞内病原体(如立克次体、衣原体等)测得的 reads 往往较低;(3)如果血或呼吸道标本 mNGS 报告低 reads 数的病毒,应关注 PCR 检测结果;(4) BALF 报告某些易培养的细菌低 reads 数,应关注 BALF 细菌培养的结果;(5)血浆 mNGS 报告一些低 reads 数微生物时,有可能是其他部位的感染,微生物被抗菌药物、人的免疫细胞裂解后释放出游离核酸,循环入血后被核酸外切酶裂解成小片段的 cfDNA,也可能是其他部位定植的微生物,例如造血干细胞移植患者往往肠道屏障受损,可从血浆 mNGS 中检测出低 reads 数的部分肠道微生物。

3. 对于难以确定临床意义的低序列数微生物,必要时可进行 MDT 讨论。

### 问题 15: 根据 mNGS 报告结果,何种情况下应考虑追踪 mNGS 检测的原始数据列表?

mNGS 检测结果报告还存在一定的漏报比例,



尤其是胞内感染或破壁困难的病原微生物、临床少见的病原微生物。检测报告发现的这些病原微生物信号偏低,且和阴性对照检出的序列数相当时,实验室可能会考虑不报告。因此,如果临床上根据患者的病史、影像学 and 常规实验室检查仍然高度怀疑感染性疾病,质疑 mNGS 报告给出的检测结果时,可以考虑向检测实验室追踪检测结果的原始数据列表,结合临床资料在其中查找可能的病原微生物。

#### 问题 16: LRTI 病原诊断中耐药基因、毒力基因意义如何?

mNGS 可提供耐药基因与毒力基因,但受限于序列读长和测序深度,尚有一定局限性:(1)对于如水解酶等耐药机制,难以获得基因全长序列,不能深入分析耐药基因亚型。(2)基因点突变是病毒(如 CMV、流感病毒等)和结核分枝杆菌等常见的耐药机制,需要足够的测序深度和精准度,才能检出相关基因突变,预测耐药信息。(3)mNGS 结果易受标本类型及质量等因素影响。检出多种微生物时,耐药与毒力基因难以精准匹配到具体微生物。(4)难以确定耐药或毒力基因型与其表型的一致性,即 mNGS 检测获得的基因信息只能定性地提示致病微生物可能具有某一种耐药机制,但无法确定该耐药基因是否表达,也无法得出药敏表型。(5)耐药基因与毒力基因仅占病原微生物全基因组的一小部分,检测敏感度有限,假阴性率高。因此,应谨慎解读 mNGS 中耐药基因和毒力基因的检测结果。

#### 六、多学科会诊(MDT)

#### 问题 17: 如何结合 mNGS 报告组织疑难 LRTI MDT?

1. 针对疑难 LRTI 病例的会诊,建议由医务部门或相关科室,组织呼吸与危重症、感染、临床微生物、临床药理学等专业人员共同参与<sup>[44]</sup>。必要时可以扩大会诊参与范围,如特殊部位考虑对应专科,特殊年龄考虑儿科、老年病、感染控制等专科,特殊情况考虑病理、影像等,必要时邀请熟悉 mNGS 试验流程的生信和技术人员参加。会诊应立足临床信息,并围绕 mNGS 报告及其他微生物检验结果进行解释,对相应感染进行判断,对进一步处置和感染控制给出建议。

2. 如 mNGS 报告检出具有公共卫生安全隐患或国家法定传染病的病原微生物时,应严格按照国家传染病法规和院内传染病防控管理要求,对患者及接触患者的会诊人员、患者标本综合处置,严格

执行隔离与上报制度。

#### 七、展望

与常规下呼吸道病原微生物检测方法相比,mNGS 的规范应用可高效、准确、全面地识别病原微生物,有助于感染性疾病的早期诊断,也可以对病原微生物进行快速流行病学分析,确定潜在的传播链<sup>[45]</sup>。但是,mNGS 技术上存在局限性,如假阳性率高、部分胞内菌或厚壁微生物检出率低;在 LRTI 临床应用方面尚无统一标准,循证医学证据不足<sup>[17,46]</sup>。由于这些问题的存在,当前 mNGS 可作为 LRTI 常规临床微生物检测技术的补充。本共识的重要意义在于,通过确定标准规范的样本采集、数据分析和临床解读流程,促进 mNGS 合理用于 LRTI 临床实践,同时指导开展临床研究获得一批高质量的循证医学证据,为下一版共识提供更多的依据。通过 mNGS 临床应用经验的不断积累,未来目标是使 mNGS 检测流程标准化、检测方法同质化、数据解读生物信息库标准化,从而为感染性疾病的诊断提供更加专业的指导。

#### 八、场景再现/真实案例(附录 1)

场景再现是通过病例还原真实场景,使读者更好地理解共识,因为篇幅有限,每个病例的临床资料不能完整呈现,请大家在阅读时重点关注 mNGS 的临床应用。

共识写作组:中日友好医院呼吸与危重症医学科(曹彬、鲁炳怀、王一民、吴小静、詹庆元、赵建康、邹晓辉、崔晓敬),上海交通大学医学院附属瑞金医院呼吸与危重症医学科(瞿介明、周敏),北京大学人民医院检验科(王辉、陈宏斌、郭一凡);呼吸与危重症医学科(周德训),北京协和医院呼吸与危重症医学科(范俊平),北京大学第一医院感染疾病科(王贵强),复旦大学附属中山医院呼吸与危重症医学科(张静),南京大学医学院金陵医院呼吸与危重症医学科(施毅、苏欣),河南省人民医院呼吸与危重症医学科(轩伟霞),浙江大学医学院附属第一医院呼吸与危重症医学科(周华),浙江大学医学院附属邵逸夫医院肝病感染科(杜小幸),解放军总医院第一医学中心呼吸与危重症医学科(余丹阳),深圳市第三人民医院检验科(曲久鑫),清华大学医学院(刘正平)

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

#### 参 考 文 献

- [1] Rossen J, Friedrich AW, Moran-Gilad J. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology[J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24(4):355-360. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.11.001.

- [2] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(6): 341-355. DOI: 10.1038/s41576-019-0113-7.
- [3] Cao B, Huang Y, She DY, et al. Diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in adults: 2016 clinical practice guidelines by the Chinese Thoracic Society, Chinese Medical Association[J]. *Clin Respir J*, 2018, 12(4): 1320-1360. DOI: 10.1111/crj.12674.
- [4] Shi Y, Huang Y, Zhang TT, et al. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults (2018 Edition) [J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(6): 2581-2616. DOI: 10.21037/jtd.2019.06.09.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组, 中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021年修订版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(3): 170-205. DOI: 10.3760/cma.j.cn112147-20210109-00031.
- [6] 支气管扩张症专家共识撰写协作组, 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 中国成人支气管扩张症诊断与治疗专家共识[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(4): 311-321. DOI: 10.3760/cma.j.cn112147-20200617-00717.
- [7] Ramirez JA, Musher DM, Evans SE, et al. Treatment of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompromised Adults: A Consensus Statement Regarding Initial Strategies[J]. *Chest*, 2020, 158(5): 1896-1911. DOI: 10.1016/j.chest.2020.05.598.
- [8] Arvanitis M, Anagnostou T, Fuchs BB, et al. Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2014, 27(3): 490-526. DOI: 10.1128/CMR.00091-13.
- [9] Han D, Li Z, Li R, et al. mNGS in clinical microbiology laboratories: on the road to maturity[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2019, 45(5-6): 668-685. DOI: 10.1080/1040841X.2019.1681933.
- [10] Sinha M, Jupe J, Mack H, et al. Emerging Technologies for Molecular Diagnosis of Sepsis[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31(2): e00098-17. DOI: 10.1128/CMR.00089-17.
- [11] Moragues-Solanas L, Scotti R, O'Grady J. Rapid metagenomics for diagnosis of bloodstream and respiratory tract nosocomial infections: current status and future prospects[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2021, 21(4): 371-380. DOI: 10.1080/14737159.2021.1906652.
- [12] Vazquez Guillamet C, Hsu JL, Dhillon G, et al. Pulmonary Infections in Immunocompromised Hosts: Clinical[J]. *J Thorac Imaging*, 2018, 33(5): 295-305. DOI: 10.1097/RTI.0000000000000351.
- [13] Hill AT. Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompromised Adults: A Consensus Statement Regarding Initial Strategies[J]. *Chest*, 2020, 158(5): 1802-1803. DOI: 10.1016/j.chest.2020.08.003.
- [14] Yang L, Song J, Wang Y, et al. Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pulmonary Fungal Infection Diagnosis: Lung Biopsy versus Bronchoalveolar Lavage Fluid[J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 4333-4359. DOI: 10.2147/IDR.S333818.
- [15] Wang Q, Wu B, Yang D, et al. Optimal specimen type for accurate diagnosis of infectious peripheral pulmonary lesions by mNGS[J]. *BMC Pulm Med*, 2020, 20(1): 268. DOI: 10.1186/s12890-020-01298-1.
- [16] Chen X, Ding S, Lei C, et al. Blood and Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing in Pneumonia[J]. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2020, 2020:6839103. DOI: 10.1155/2020/6839103.
- [17] Zheng Y, Qiu X, Wang T, et al. The Diagnostic Value of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Lower Respiratory Tract Infection[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11:694756. DOI: 10.3389/fcimb.2021.694756.
- [18] Filkins LM, Bryson AL, Miller SA, et al. Navigating Clinical Utilization of Direct-from-Specimen Metagenomic Pathogen Detection: Clinical Applications, Limitations, and Testing Recommendations[J]. *Clin Chem*, 2020, 66(11):1381-1395. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa183.
- [19] Langelier C, Fung M, Caldera S, et al. Detection of Pneumonia Pathogens from Plasma Cell-Free DNA[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201(4): 491-495. DOI: 10.1164/rccm.201904-0905LE.
- [20] Evans SE, Jennerich AL, Azar MM, et al. Nucleic Acid-based Testing for Noninfluenza Viral Pathogens in Adults with Suspected Community-acquired Pneumonia. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(9): 1070-1087. DOI: 10.1164/rccm.202102-0498ST.
- [21] Chen J, Lam HY, Yip C, et al. Clinical Evaluation of the New High-Throughput Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel Assay for Multiplex Respiratory Pathogen Detection [J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 54(7): 1820-1825. DOI: 10.1128/JCM.00517-16.
- [22] Letourneau AR, Issa NC, Baden LR. Pneumonia in the immunocompromised host[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2014, 20(3):272-279. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000051.
- [23] Rali P, Veer M, Gupta N, et al. Opportunistic Pulmonary Infections in Immunocompromised Hosts[J]. *Crit Care Nurs Q*, 2016, 39(2): 161-175. DOI: 10.1097/CNQ.0000000000000109.
- [24] Kumar R, Ison MG. Opportunistic Infections in Transplant Patients[J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2019, 33(4): 1143-1157. DOI: 10.1016/j.idc.2019.05.008.
- [25] 中华医学会呼吸病学分会. 中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(4):253-279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2016.04.005.
- [26] 刘雅芬, 陈美芳, 高燕, 等. 北京地区成人社区获得性肺炎病原学分析[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(26):2043-2047. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2013.26.007.
- [27] 刘又宁, 陈民钧, 赵铁梅, 等. 中国城市成人社区获得性肺炎 665 例病原学多中心调查[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2006, 29(1):3-8. DOI: 10.3760/j.issn:1001-0939.2006.01.003.
- [28] 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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2018.04.006.
- [29] 刘又宁, 曹彬, 王辉, 等. 中国九城市成人医院获得性肺炎微生物学与临床特点调查[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2012, 35(10): 739-746. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2012.10.009.
- [30] Henares D, Rocafort M, Brotons P, et al. Rapid Increase of Oral Bacteria in Nasopharyngeal Microbiota After Antibiotic Treatment in Children With Invasive Pneumococcal Disease[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11:744727. DOI: 10.3389/fcimb.2021.744727.
- [31] Otsuji K, Fukuda K, Ogawa M, et al. Dynamics of

- microbiota during mechanical ventilation in aspiration pneumonia[J]. BMC Pulm Med, 2019, 19(1): 260. DOI: 10.1186/s12890-019-1021-5.
- [32] Heirali AA, Acosta N, Storey DG, et al. The effects of cycled inhaled aztreonam on the cystic fibrosis (CF) lung microbiome[J]. J Cyst Fibros, 2019, 18(6): 829-837. DOI: 10.1016/j.jcf.2019.02.010.
- [33] Jones RN. Microbial etiologies of hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia[J]. Clin Infect Dis, 2010, 51 Suppl 1: S81-87. DOI: 10.1086/653053.
- [34] Musher DM, Abers MS, Bartlett JG. Evolving Understanding of the Causes of Pneumonia in Adults, With Special Attention to the Role of Pneumococcus[J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(10): 1736-1744. DOI: 10.1093/cid/cix549.
- [35] Beigelman-Aubry C, Schmidt S. Pulmonary Infections: Imaging with CT//Schoepf UJ, Meinel FG. Multidetector-Row CT of the Thorax[M]. Cham: Springer International Publishing, 2016:131-161.
- [36] Shi CL, Han P, Tang PJ, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. J Infect, 2020, 81(4): 567-574. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.08.004.
- [37] 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.
- [38] 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.
- [39] Lee RA, Al Dhaheri F, Pollock NR, et al. Assessment of the Clinical Utility of Plasma Metagenomic Next-Generation Sequencing in a Pediatric Hospital Population[J]. J Clin Microbiol, 2020, 58(7): e00419-20. DOI: 10.1128/JCM.00419-20.
- [40] Liu D, Zhou H, Xu T, et al. Multicenter assessment of shotgun metagenomics for pathogen detection[J]. EBioMedicine, 2021, 74: 103649. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103649.
- [41] Li ZJ, Zhang HY, Ren LL, et al. Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China[J]. Nat Commun, 2021, 12(1):5026. DOI: 10.1038/s41467-021-25120-6.
- [42] Yu Q, Jia P, Su L, et al. Outcomes and prognostic factors of non-HIV patients with pneumocystis jirovecii pneumonia and pulmonary CMV co-infection: A Retrospective Cohort Study[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1):392. DOI: 10.1186/s12879-017-2492-8.
- [43] Han D, Li R, Shi J, et al. Liquid biopsy for infectious diseases: a focus on microbial cell-free DNA sequencing [J]. Theranostics, 2020, 10(12):5501-5513. DOI: 10.7150/thno.45554.
- [44] 王辉. 多学科合作构建感染病的诊断管理体系[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45(2): 97-99. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20211209-00763.
- [45] Miller S, Chiu C. The Role of Metagenomics and Next-Generation Sequencing in Infectious Disease Diagnosis[J]. Clin Chem, 2021, 68(1): 115-124. DOI: 10.1093/clinchem/hvab173.

- [46] Gu W, Deng X, Lee M, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing of infected body fluids[J]. Nat Med, 2021, 27(1): 115-124. DOI: 10.1038/s41591-020-1105-z.

## 附录 1 场景再现/真实案例

### 场景再现 1:mNGS 适用的临床场景及标本选择

患者男, 40 岁, 因“高热、咳嗽、咳痰、咯血、呼吸困难 4 d”诊断肺炎、呼吸衰竭, 急诊气管插管有创机械通气治疗后转入 RICU。既往因 IgA 肾病激素及免疫抑制剂治疗 2 个月。院外给予美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦、利奈唑胺、卡泊芬净、更昔洛韦等治疗效果不佳。入院时生命体征: 脉率(HR) 107 次/min, 血压(BP) 112/69 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 呼吸频率(RR) 30 次/min, 氧合指数(PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) 87 mmHg。血红蛋白(WBC) 11.95×10<sup>9</sup>/L, 中性粒细胞比例(NEUT%) 98.7%, C 反应蛋白(CRP) >370 mg/L, 降钙素原(PCT) 72.89 ng/ml, 肌酐(Cr) 376.1 μmol/L, 肺 CT 示双肺弥漫磨玻璃密度渗出影和实变影, 纵膈气肿。下一步应如何安排病原学检查?

A: 送检气管吸取物涂片+细菌/真菌培养+药敏、军团菌尿抗原、非典型病原体 and 常见呼吸道病毒 RT-PCR 等病原学检测;

B: 送检 BALF mNGS DNA+RNA 检测;

C: 送检 BALF mNGS DNA 检测, 同时送检非典型病原体和呼吸道病毒 RT-PCR、军团菌尿抗原、六胺银染色、真菌抗原+涂片+培养、细菌培养+药敏等病原学检测;

D: 送检 BALF mNGS DNA+RNA 检测+军团菌尿抗原、六胺银染色、真菌抗原+涂片+培养、细菌培养+药敏等病原学检测。

**解析:** 该患者为免疫抑制宿主, 急性起病, 进展迅速, 病情危重, 已经出现 I 型呼吸衰竭, WBC、CRP 及 PCT 显著升高, 提示细菌或真菌感染可能性大, 肺 CT 表现不除外同时合并病毒或肺孢子菌感染可能, 病原学检查应尽量覆盖可能的致病原, 包括细菌、真菌、DNA 病毒和 RNA 病毒, 并要求时效。BALF mNGS DNA+RNA 能全面覆盖各类致病原, 但检测报告时间超过 24 h, 所以应辅以军团菌尿抗原、呼吸道病毒 RT-PCR、涂片六胺银染色镜检等其他更快速的病原学诊断方法。细菌培养虽然耗时较长, 但能提供潜在致病菌的抗菌药物药敏信息, 有助于精准调整抗菌药物。在标本选择上, BALF 更少受到气道定植微生物和人性核酸的干扰, 在 mNGS 中优于气管吸取物。考虑到 RT-PCR 检测 RNA 病毒的敏感性优于 mNGS, 在已开展呼吸道病毒 RT-PCR 检测的单位, 建议优先选择方案 C, 而在未开展呼吸道病毒 RT-PCR 检测的单位, 则可选择方案 D (参见共识中的问题 2、问题 4 和问题 5)。

**患者转归:** 由于接诊医院缺乏嗜肺军团菌尿抗原检测技术和肺炎常见致病原 RT-PCR 等核酸检测技术, 入院后迅



速进行了 BALF mNGS, 结果回报嗜肺军团菌, 考虑为重症军团菌肺炎, 据此停用了抗病毒和针对肺孢子的经验性治疗, 加用莫西沙星加强了抗军团菌治疗, 同时积极进行器官支持治疗, 患者最终病情好转, 脱机拔管, 顺利出院。

**场景再现 2:** 已知病原学结果与临床特征相符, 不建议送检 mNGS

患者男, 68 岁, 因“发热、畏寒 7 d, 咳嗽 3 d”入院。血常规提示: WBC 为  $11.9 \times 10^9/L$ , NEUT% 为 93%, hsCRP 为 110.3 mg/L, PCT 为 2.1 ng/ml。胸部 CT 检查示双肺多发结节、斑片影, 外侧带明显。心脏超声: 主动脉瓣退行性变伴轻度反流, 三尖瓣轻度反流。入院当天送双侧双瓶血培养, 同时给予左氧氟沙星 (0.5 g, 1 次/d, 静脉滴注) 抗感染治疗, 2 d 后 4 瓶血培养报阳性, 涂片提示革兰阳性球菌, 药物调整为左氧氟沙星+万古霉素。治疗 3 d 后, 患者仍发热, 发热峰值稍下降, 咳嗽咳痰较前加重, 伴有胸痛、呼吸困难, 血氧饱和度维持在 95% 左右, 复查血常规提示: WBC 为  $10.1 \times 10^9/L$ , NEUT% 为 89%, hsCRP 为 99.8 mg/L, PCT 为 1.6 ng/ml, 血培养报告为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA)。

作为主诊医师, 你将为该患者选择怎样诊断方案?

- A: 进行支气管镜检查, 肺泡灌洗液送检常规病原检测;
- B: 进行支气管镜检查, 肺泡灌洗液送检常规病原检测+mNGS (DNA);
- C: 不进行支气管镜检查, 复查心脏超声, 根据 MSSA 药敏结果更改抗菌药物治疗方案;
- D: 不进行支气管镜检查, 继续目前抗感染方案。

**解析:** 患者以发热、畏寒为首发症状, 伴炎症指标升高, 患者已明确为 MSSA 的血流感染, 胸部影像学提示双肺外侧带多发渗出, 葡萄球菌血流感染引起的迁徙性病灶可以解释患者肺部影像学及临床表现, 因此不建议再留取 BALF 送检 mNGS, 需除外感染性心内膜炎 (MSSA), 建议复查心脏彩超。选择方案 C (参见共识中的问题 3)。

**患者转归:** 复查心脏超声提示三尖瓣右心室流出道面中等回声 (10.6 mm×9.0 mm), 考虑赘生物, 确诊 MSSA, 心外科会诊暂不手术, 根据药敏结果抗感染药物更换为头孢唑啉, 体温恢复正常, 咳嗽、咳痰好转, 炎症指标逐渐降至正常, 复查心脏超声赘生物减小, 胸部 CT 多发病灶消失。

**场景再现 3:** 痰液标本干扰多, 不建议常规用于 mNGS 检测

患者男, 79 岁。主因“反复咳嗽咳痰伴胸闷气促 10 余年, 加重伴发热 3 d”。于 2022 年 4 月 6 日入院。10 年前诊断为“慢性阻塞性肺疾病”, 近 2 年居家氧疗, 长效支气管舒张剂吸入治疗。体检: 体温  $38.1^\circ C$ 、BP 为 141/7 mmHg、HR 为 92 次/min、RR 为 19 次/min。经鼻高流量氧疗 35% 氧浓度, 50 L/min 吸氧下指氧饱和度为 93%~96%。神清, 精神弱。双肺听诊呼吸音粗, 双下肺可闻及明显痰鸣音及湿性

啰音, 心律齐, 无明显病理性杂音, 双下肢可见中度凹陷性水肿。动脉血气分析: pH 值 7.33、PaCO<sub>2</sub> 为 57 mmHg、PaO<sub>2</sub> 为 72.5 mmHg。WBC 为  $7.98 \times 10^9/L$ , 中性粒细胞为  $7.04 \times 10^9/L$ , 淋巴细胞为  $0.64 \times 10^9/L$ 。hsCRP 为 10.37 mg/L, PCT 为 0.07 ng/ml。咽拭子呼吸道病毒核酸检测: 甲型流感病毒 RNA 阳性。肺部 CT 提示: 双肺散在少许斑片磨玻璃影, 两侧少量胸腔积液。入院诊断流感病毒肺炎, II 型呼吸衰竭。患者入院后给予平喘、化痰, 奥司他韦抗病毒, 头孢哌酮/舒巴坦抗细菌治疗。下一步应采取什么措施?

- A: 继续目前治疗并行痰培养、痰涂片等病原学检查;
- B: 建议行支气管镜检查获取肺泡灌洗液并行 mNGS;
- C: 建议送检痰标本 mNGS;
- D: 建议送检血标本 mNGS。

**解析:** 本例患者考虑慢性阻塞性肺病急性加重, II 型呼吸衰竭, 已获得阳性病原学结果为流感病毒, 与临床表现、检验结果、影像学相符合。患者呼吸衰竭, 行支气管镜检查风险大。在此情况下以痰标本送检 mNGS DNA 检测不合适, 造成医疗资源浪费且未能获得阳性病原结果。选择方案 A (参见共识中问题 3 和问题 5)。

**患者转归:** 患者入院后留取痰标本行 DNA-mNGS 检测, 结果回报白色念珠菌、普雷沃菌属、韦荣球菌属、罗氏菌属等口腔微生态菌, 对临床诊疗无任何有效提示。

**场景再现 4:** 无法耐受有创性标本采集方法的患者, 合格痰液标本可用于 mNGS 检测

患者女, 28 岁, 主因“咳嗽、发热 12 d, 胸闷 2 d”于 2019 年 8 月 9 日入院。既往体健, 试管婴儿, 人工受孕 25<sup>+</sup> 周。入院体检: 体温  $40.0^\circ C$ 、HR 为 120 次/min、RR 为 26 次/min、BP 为 120/70 mmHg, 经鼻高流量氧疗 50% 氧浓度, 指脉氧饱和度 95%。WBC 为  $7.1 \times 10^9/L$ , NEU 为  $6.4 \times 10^9/L$ , Lym 为  $0.48 \times 10^9/L$ , CRP 为 20 mg/L, PCT 为 0.3 ng/ml。胸部 CT 示双肺多发实变、磨玻璃影。痰肺炎支原体 PCR 检测阳性。给予头孢曲松+阿奇霉素治疗。入院 1 周后, 仍持续高热, WBC 为  $6.8 \times 10^9/L$ , Lym 为  $0.26 \times 10^9/L$ , PCT 为 3.53 ng/ml, CRP 为 46.8 mg/L, 肺部病灶进展。下一步采取什么样的措施最为恰当?

- A: 考虑肺炎支原体为唯一致病微生物, 抗感染效果不佳与阿奇霉素耐药相关, 调整抗感染药物为呼吸喹诺酮类;
- B: 冒风险行支气管镜检查, 获取 BALF 送检常规微生物学检验;
- C: 冒风险行支气管镜检查, 获取 BALF 送检 mNGS;
- D: 送检痰 mNGS。

**解析:** 该患者为重症社区获得性肺炎 (SCAP), 虽然常规病原微生物检测提示肺炎支原体感染, 但影像学不符合支原体肺炎的特征, 且给予针对性治疗后病情仍进展, 需要考虑合并感染可能。患者为高危孕妇, 存在严重的呼吸

衰竭,支气管镜检查风险极高,因此,可选择痰液标本行 mNGS 检测以明确病原学诊断。选择方案 D(参见共识中问题 5)。

**患者转归:**患者最终通过痰 mNGS 诊断为腺病毒+肺炎支原体混合感染。经针对性治疗后好转。

**场景再现 5:**谨慎分析低序列数病原结果

患者女,52岁,既往体健,因“阵发性咳嗽、咳痰3周余”入院。外院胸部CT可见双肺多发实变及磨玻璃密度影,考虑感染性病变,给予莫西沙星治疗后症状未改善。入院后体检未见明显阳性体征,血常规、CRP、PCT、血清GM和G实验正常,ANA抗体谱和ANCA相关抗体均阴性。ESR为63 mm/h,复查胸部CT仍示双肺多发实变影及磨玻璃影,较前片无明显吸收,且出现新发病灶。遂行支气管镜检查, BALF GM 试验阴性,但 BALF mNGS 回报烟曲霉阳性(reads 数 2)。如何解读此项 mNGS 结果并进行处理?

A:考虑侵袭性肺曲霉病,加用抗曲霉治疗;

B:排除曲霉感染,综合临床资料考虑非感染性疾病可能;

C:进一步获取病理及其他病原学证据,如肺活检标本;

D:等待痰培养结果回报,再考虑抗曲霉治疗。

**解析:**曲霉属于厚壁微生物,mNGS检测易出现假阴性,若是检出低 reads 数曲霉(reads 数 $\leq 3$ ),需要结合其他临床特征综合分析。本例患者中年女性,无免疫功能低下相关的宿主因素,临床表现不符合肺曲霉病。从微生物学证据分析,患者 BALF 和血标本的 GM 均为阴性,仅 mNGS 报告曲霉 2 reads。因此根据目前的证据情况,不足以明确诊断肺曲霉感染。选择方案 C(参见共识中问题 9、问题 14)。

**患者转归:**该患者最终行经皮肺穿刺活检,肺组织未检出曲霉,同时病理结果报告符合机化性肺炎。最终修正诊断为隐源性机化性肺炎(COP),给予激素治疗后病变吸收。

**场景再现 6:**mNGS 阴性结果的解释,真阴性还是假阴性?

患者男,33岁,职业是交通协警,体检发现左上肺沿支气管播散的散在高密度结节影及实变影;无发热、咳嗽、咳痰等,门诊给予头孢克肟抗炎治疗2周复查CT未吸收;查血常规正常,ESR为3 mm/h,G试验阴性,乳胶凝集试验阴性,CD3<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞正常,痰细菌、真菌培养阴性,风湿免疫及血液系统肿瘤等指标正常。BALF mNGS 结果回报为阴性,作为主诊医师下一步将怎么处理?

A:考虑非感染性疾病,如机化性肺炎;

B:分析 mNGS 原始数据;

C:采用痰 GeneXpert 和分枝杆菌培养,积极寻找病原微生物;

D:不予处理,临床观察。

**解析:**患者职业长期工作于室外,隐匿起病,结合影像学特征高度怀疑结核或非结核分枝杆菌可能。分枝杆菌在核酸提取过程中破壁困难,mNGS 对此类病原体的检测敏感度较低,容易假阴性,因此,需要积极寻找其他病原学检测方法。选择方案 C(参见共识中问题 9 和问题 11)。

**患者转归:**患者 T-SPOT 阳性,痰 GeneXpert 阳性,之后痰分枝杆菌培养阳性,经鉴定为结核分枝杆菌。规范抗结核治疗后好转。

**场景再现 7:**mNGS 报告出现少见或不熟悉的病原体,应该如何处理?

患者女,65岁,主因“发热、体重下降伴肺占位性病变2个月余”入院。胸部CT及PET-CT提示:右肺上叶不规则软组织团块灶伴代谢增高,右侧胸腔积液,双肺多发小结节转移不排除。既往患系统性红斑狼疮20余年,口服激素及免疫抑制剂治疗;2型糖尿病,胰岛素治疗,血糖控制一般。入院后查WBC正常,NEUT%为82.1%,CRP为71.5 mg/L,ESR为52 mm/h;CA-125升高,余肿瘤标志物正常。胸腔积液为渗出液,未找见肿瘤细胞,病原学阴性。肺穿刺活检见炎症细胞、组织细胞、多核细胞、上皮细胞,印片及液基内未见恶性依据。先后给予头孢菌素和左氧氟沙星治疗效果不佳,并出现头痛等症状,头颅增强MRI见双侧顶枕部、左侧颞叶多枚强化灶。再行肺穿刺病理检查,镜下肺泡组织、纤维血管组织及横纹肌组织,部分肺泡腔内见纤维母细胞团,呈机化性肺炎样改变,间质内可见大量急慢性炎症细胞浸润及多核巨细胞反应。肺组织 mNGS 报告诺卡菌,reads 数 5。该如何解读此患者的 mNGS 结果?

A:明确为诺卡菌感染,给予针对性抗感染治疗;

B:不考虑诺卡菌感染,继续寻找肿瘤证据;

C:可疑诺卡菌感染,加强与微生物实验室沟通,寻求其他病原学证据支持;

D:考虑非感染性病因如机化性肺炎,给予糖皮质激素治疗。

**解析:**诺卡菌可存在于积水、植物和土壤中,在免疫缺陷或基础肺部疾病患者中可致病,重者可致播散性感染,与本例患者的临床过程相符,因此即便 reads 数较低,也应引起重视。诺卡菌常规培养易漏检,应以 mNGS 结果为线索,和微生物实验室沟通,寻求其他病原学证据。选择方案 C(参见共识中问题 10)。

**患者转归:**经临床微生物学实验室沟通,取合格痰标本先后2次培养到诺卡菌,最终明确诊断为播散性诺卡菌病。根据药敏试验以及药物组织穿透性给予复方新诺明、利奈唑胺等联合治疗后病情逐渐好转。



附表 1 下呼吸道感染微生物列表

致病性微生物	真菌
细菌	曲霉属
鼠疫耶尔森菌	肺孢子菌
布鲁菌属	赛多孢菌属(如尖端赛多孢、多育赛多孢等)
炭疽芽胞杆菌	镰刀菌属
鼻疽伯克霍尔德菌	新生隐球菌
类鼻疽伯克霍尔德菌	格特隐球菌
土拉热弗朗西斯菌	毛霉目
贝氏柯克斯体	DNA 病毒
白喉棒杆菌	巨细胞病毒
百日咳鲍特菌	单纯疱疹病毒
结核分枝杆菌复合群	EB 病毒
真菌	腺病毒
粗球孢子菌	人类疱疹病毒其他型
波萨达斯球孢子菌	博卡病毒
巴西副球孢子菌	RNA 病毒
副球孢子菌属其他种	流感病毒
皮炎芽生菌	副流感病毒
荚膜组织胞浆菌	鼻病毒
组织胞浆菌属其他种	冠状病毒(除 SARS 冠状病毒、SARS-CoV-2 之外的其他种)
马尔尼菲篮状菌	人偏肺病毒
DNA 病毒	呼吸道合胞病毒
类天花病毒	肠道病毒
猴疱疹病毒	特殊病原体
猴痘病毒	肺炎衣原体
天花病毒	肺炎支原体
汉扎罗瓦病毒	鹦鹉热衣原体
RNA 病毒	口腔及呼吸道定植微生物
克里米亚-刚果出血热病毒(新疆出血热病毒)、东方马脑炎病毒、埃博拉病毒、弗莱克索尔病毒、瓜纳瑞托病毒、亨德拉病毒、鸠宁病毒、库姆灵厄病毒、卡萨诺尔森林病病毒、拉沙热病毒、跳跃病病毒、马秋波病毒、马尔堡病毒、莫佩亚病毒(和其他塔卡里伯病毒)、塔卡里伯病毒、尼帕病毒、鄂木斯克出血热病毒、萨比亚病毒、圣路易斯脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、西方马脑炎病毒、加利福尼亚脑炎病毒、基孔肯雅病毒、大别班达病毒(发热伴血小板减少综合征病毒)、多里病毒、埃弗格莱兹病毒、口蹄疫病毒、加尔巴病毒、格米斯顿病毒、盖塔病毒、戈尔迪病毒、引起肺综合征的汉坦病毒、引起肾综合征出血热的汉坦病毒、哈特兰病毒、人免疫缺陷病毒(I 型和 II 型)、伊年加皮病毒、伊尼尼病毒、伊塞克病毒、伊泰图巴病毒、乙型脑炎病毒、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(嗜神经性的)病毒、马亚罗病毒、中东呼吸综合征冠状病毒、米德尔堡病毒、穆坎布病毒、墨累谷脑炎病毒(澳大利亚脑炎病毒)、内罗毕绵羊病病毒、恩杜姆病毒、根岸病毒、新城疫病毒、奥罗普切病毒、脊髓灰质炎病毒、波瓦森病毒、狂犬病病毒、拉兹丹病毒、裂合热病毒、罗尚博病毒、罗西奥病毒、鹭山病毒、萨哈林病毒(幌筵岛病毒)、SARS 冠状病毒、SARS-CoV-2、塞皮克病毒、猴免疫缺陷病毒、塔姆德病毒、西尼罗病毒、人高致病性动物流感病毒	细菌
寄生虫	草绿色链球菌群(不包括肺炎链球菌)
卫氏并殖吸虫	普通定植的奈瑟菌属
溶组织内阿米巴滋养体	F 群链球菌
棘球蚴	假白喉棒杆菌
特殊病原体	凝固酶阴性葡萄球菌(不包括路邓葡萄球菌)
嗜吞噬细胞无形体	口咽部厌氧菌
立克次体属	嗜血杆菌属(不包括流感嗜血杆菌)
条件致病微生物	肠球菌属
细菌	艾肯菌属
肠杆菌目(如肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌等)、不动杆菌属(如鲍曼不动杆菌等)、假单胞菌属(如铜绿假单胞菌等)、窄食单胞菌属(如嗜麦芽窄食单胞菌等)、伊丽莎白菌属(如脑膜炎脓毒伊丽莎白菌等)、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓链球菌、停乳链球菌似马亚种、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌、产单核细胞李斯特菌、马红球菌、军团菌属、巴斯德菌属、沙门菌属、伯克霍尔德菌属(除鼻疽伯克霍尔德菌、类鼻疽伯克霍尔德菌之外的种)、鸟-胞内分枝杆菌复合群、堪萨斯分枝杆菌、脓肿分枝杆菌、偶发分枝杆菌、非结核分枝杆菌其他种、诺卡菌属、纹带棒杆菌(ICU 患者)	放线杆菌属
	二氧化碳嗜纤维菌属
	莫拉菌属(不包括卡他莫拉菌)
	棒杆菌属(不包括纹带棒杆菌)
	皮肤定植微生物
	细菌
	凝固酶阴性葡萄球菌(不包括路邓葡萄球菌)
	棒杆菌属(不包括杰氏棒杆菌)
	痤疮丙酸杆菌
	微球菌属
	芽孢杆菌属(不包括炭疽芽孢杆菌)
	气球菌属

