

• 综 述 •

宏基因组二代测序早期检测脓毒症病原体的临床应用进展*

王黎¹综述,丁艳辉²,曹子鎏¹,薛建江¹,王晓亮^{1△}审校

(1. 重庆医科大学附属大学城医院医学科学研究中心/检验科,重庆 401331;

2. 重庆医科大学附属第一医院检验科,重庆 400016)

[摘要] 脓症患者存活率低、死亡率高、预后差,早期识别其病原体尤为关键。宏基因组二代测序(mNGS)能实现无偏倚检测临床样本中的所有微生物,对早期发现脓毒症病原微生物较传统培养技术等更灵敏、准确、高效。随着二代测序技术的不断发展,mNGS在诊断脓毒症方面的临床应用价值将进一步提高,该文就 mNGS 在脓毒症早期诊断中的优势、临床应用及进展、挑战与展望进行综述。

[关键词] 宏基因组二代测序; 脓毒症; 病原微生物; 早期检测; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.18.027 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1009-5519(2024)18-3197-05

文献标识码:A

**Advances in clinical application of metagenomic next-generation sequencing
for early detection of pathogens in sepsis***

WANG Li¹, DING Yanhui², CAO Zijun¹, XUE Jianjiang¹, WANG Xiaoliang^{1△}

(1. Medical Science Research Center/Department of Laboratory Medicine, University Town Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China; 2. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] Sepsis patients have low survival rates, high mortality rates, and poor prognosis, making early identification of pathogens particularly crucial. Metagenomic next-generation sequencing (mNGS) enables unbiased detection of all microorganisms in clinical samples, providing greater sensitivity, accuracy, and efficiency in early detection of sepsis pathogenic microorganism compared to traditional culture techniques. With the continuous development of next-generation sequencing technology, the clinical application value of mNGS in sepsis diagnosis will further improve. This article reviews the advantages, clinical applications, progress, challenges, and prospects of mNGS in the early diagnosis of sepsis.

[Key words] Metagenomic next-generation sequencing; Sepsis; Pathogenic microorganisms; Early detection; Review

脓毒症是一种主要由感染引起的全身炎症反应综合征,因其高死亡率、高致残率及治疗成本极高且预后差,而逐渐成为各界共同关注的公共卫生问题^[1]。脓毒症为目前感染致死的主要原因,确诊及疑似患者往往需要持续的医疗监测、护理和治疗,及时发现并确认致病菌对早期靶向抗菌治疗极其重要。基于绝大部分的病原体均包含 DNA 或 RNA,随着测序技术的进步,目前宏基因组二代测序(mNGS)已成为辅助检测病原微生物的有效技术手段。mNGS 技术不仅可以发现致病的病原微生物,还可以同时提供相应病原体微生物的生物分型、流行病学特征、易感性预测和毒力因子分型等信息,从而指导临床医生早期优化抗菌药物的治疗方案,提高患者生存率、减少

并发症、减轻相关医疗负担^[2]。

1 目前脓毒症病原体早期诊断的难点

对于疑似脓毒症的患者,当脓毒症相关序贯器官衰竭(SOFA)评分较基线上升大于或等于 2 分可以作出诊断^[3-4]。脓症患者即使早期仅表现出轻微的功能障碍,后期也可能会进一步恶化,需要临床医生迅速进行早期药物干预。脓毒症与感染性休克治疗国际指南建议,在不显著延迟启动抗菌药物治疗的前提下,可对怀疑脓毒症或脓毒性休克患者常规进行样本的微生物培养^[4-5]。然而,由于一些非传染性疾病与脓毒症临床表现相似,即使在没有真正的细菌感染甚至没有任何感染证据的情况下,也会经验性地使用广

* 基金项目:重庆市自然科学基金项目(cstc2019jcyj-msxmX0294);重庆市教委科学技术研究项目(KJQN202000444)。

△ 通信作者, E-mail: wangxiaoliang@cqmu.edu.cn.

谱抗生素治疗,导致抗生素耐药率升高^[6]。与此同时,传统微生物培养技术因培养条件所限只能检出部分病原体,且结果易受前期使用药物的影响,对重症、慢性、疑难感染的脓毒症患者病原体的早期诊断仍较困难^[4]。因此,对脓毒症病原体准确、快速地早期诊断仍面临巨大挑战。

2 mNGS 临床应用进展

mNGS 是在一代测序技术上发展而来的一项高通量、高敏感性的新兴测序技术。2019 年对不明原因肺炎患者支气管肺泡灌洗液样本测序发现新型冠状病毒后,mNGS 技术逐渐被临床重视。相对于传统检测方法,mNGS 因其无偏倚、覆盖广、快速且精准的特点,在感染性疾病病原体的辅助诊断方面显示出不可估量的临床应用价值^[7-8]。同时,mNGS 能与血培养结果保持高度一致,尤其在合并免疫性疾病、高血压等基础疾病的危重患者病原菌检测中具有快速、阳性率高的优点^[9-10]。

2.1 mNGS 在感染性疾病诊断中的应用

mNGS 作为一种不依赖于培养,独立、无偏倚、无假设的技术,理论上可以实现分析临床样本中的所有微生物,而逐渐成为一种辅助诊断感染性疾病的重要技术手段。2014 年 mNGS 第一次被报道用于临床病原体检测,1 例反复发烧合并免疫缺陷症的 14 岁男性患儿在发病后 4 个月内进行了包括脑组织活检等在内的各项检查,均未发现病原体,进而发展为脑积水及癫痫。医生后续通过 mNGS 技术对其脑脊液(CSF)进行测序,最终确诊为钩端螺旋体感染,在有针对性地应用抗菌药物后好转出院^[11]。RAMACHANDRAN 等^[12]从 368 例伴亚急性脑膜炎的艾滋病患者中抽取 CSF 样本,通过 mNGS 收集到的人类宿主基因表达数据汇总建立了一种分类器。当对可疑并发结核性脑膜炎患者的 CSF 样本进行 mNGS 测序,可经该分类器过滤宿主信息并与样本中提取到的病原体数据相比较,以便减少宿主转录组对样本中病原体诊断的影响,提高结核性脑膜炎患者的诊断准确性,这对于改善结核性脑膜炎的诊断和治疗具有重要的临床意义。

mNGS 还可对多重耐药菌进行菌属测定并分析其可能存在的耐药基因。多重耐药鲍曼不动杆菌已被世界卫生组织认定为全球人类健康的一大威胁,该菌耐药机制多样且毒力因子复杂,感染后致死率较高。HU 等^[13]开发并验证了一种基于 mNGS 的抗生素敏感性试验(AST)模型,该模型通过测序所得序列与数据库比对,可用于鲍曼不动杆菌的诊断及耐药性预测,且与基于传统病原学的 AST 结果相比,其预测准确性在 95% 以上,并能在 24 h 内预测其耐药表型。在临床医生等待传统培养抗生素敏感性试验明确其耐药表型前,该模型可实现病原体快速预测,指导早

期用药。

2.2 mNGS 在其他疾病诊断中的应用

除在感染性疾病中的应用外,mNGS 在肿瘤疾病的诊断中也有巨大潜力。癌症患者也会出现类似感染性疾病的发热等症状,目前病理组织活检作为确诊癌症的“金标准”,不但有创而且耗时较长。QIN 等^[14]通过整合宿主 mNGS 拷贝数进行变异分析,在单次测序中实现同时检测病原体 and 肿瘤细胞,提供及时的鉴别诊断线索,改善患者治疗效果的同时降低时间管理成本。GUO 等^[15]收集了 133 例疑似肺部感染或影像学异常患者的肺活检样本,通过 Illumina 和 Nanopore 测序对肺活检组织进行分析,全面检测肺活检组织中的病原体并明确是否有肺癌等恶性肿瘤的存在,从而实现同时鉴定病原体和癌症,提高了肺癌的诊断准确性和检测效率。通过对不同病原体感染的死亡患者进行相关的体液测序,也可以识别到有无新发的病原体,早期识别新型感染性疾病,从而指导实验人员开发例如核酸扩增实验等检测项目,有助于早期控制感染的暴发^[16]。

3 mNGS 在脓毒症病原体早期诊断中的优势

3.1 mNGS 与非分子诊断技术对比

传统培养作为病原体微生物鉴定的“金标准”,不仅耗时长,灵敏度低,还对罕见的病原体难以诊断^[17]。mNGS 能够通过患者体液样本中的微生物进行快速检测,特别是对无法通过传统方法有效分离的致病微生物的检测。通过早期识别病原体,临床医生可下调经验性抗感染药物或添加靶向抗感染药物,避免广谱抗生素的滥用,实现精准治疗,促进患者的最终康复^[18]。

脓毒性休克定义为脓毒症合并严重的循环、细胞和代谢紊乱,其死亡风险较单纯脓毒症更高^[3-4]。GRUMAZ 等^[19]通过利用 mNGS 技术,分析脓毒症休克患者血浆样本中的循环游离 DNA,并与传统的血液培养结果进行比较,为脓毒症休克患者的治疗提供了有价值的数支持。有研究结果显示,mNGS 的阳性率为 72%,而血液培养的阳性率仅为 11%。此外,该研究还评估了血液培养和 mNGS 结果的可信度及抗生素治疗的适当性,表明 mNGS 在血液感染的分析中具有较高的准确性和可靠性^[19]。多个研究团队的研究结论均证实了 mNGS 诊断脓毒症的整体敏感性较传统培养技术更高,在微生物检测方面具有明显优势^[19-23]。

mNGS 在诊断合并真菌感染的脓毒症患者中较血清学检测技术也具有较高准确性。例如,在血清半乳甘露聚糖(GM)试验中,年龄、基础疾病、治疗药物、营养支持等多种因素均可能影响血清曲霉特异性抗原检测试验的结果,因此,在等待传统培养结果的过程中临床医生往往会基于 GM 试验的假阳性结果而

出现过早甚至滥用抗生素。mNGS 则可通过全面无偏倚地检出样本中所有微生物的种类及丰度,为曲霉菌的临床诊断提供可靠依据并指导用药^[24]。

mNGS 还可作为一种高效的方法来区分感染更严重和死亡风险更高的脓毒症患者。YIN 等^[20]对比 62 例重症监护室脓毒症患者 mNGS 样本发现, mNGS 阳性患者 90 d 死亡率为 70.6%,比 mNGS 阴性患者升高近 2 倍,而在传统培养阳性和阴性患者之间差异则不明显。该研究表明, mNGS 阳性患者的感染指标更高,严重程度评分更高,90 d 死亡率也更高, mNGS 在脓毒症致病微生物的检测方面优于传统病原学检测^[20]。

mNGS 技术不仅为临床样本的细菌检测和定量提供了一种新的方法,还可以提高微生物丰度较低样本的检出率。LAZAREVIC 等^[25]提出了一种新的通过添加特定的富集试剂来富集细菌 DNA 的方法,并评估了其对细菌检测和定量的影响,有助于改善检测的准确度和灵敏度。有研究团队开发了便携式机械裂解、基于磁珠的 DNA 纯化和自动化测序文库制备等优化方案用于纳米孔测序,使用该便携式设备即可进行实时、现场测序^[26]。综上所述,与传统病原学检测方法相比, mNGS 在脓毒症病原体早期诊断中更高效且实时。

3.2 mNGS 与其他分子诊断技术对比 尽管其他分子诊断技术,如聚合酶链式反应(PCR)的核酸检测等是相对快速和准确的,但其需要预先了解或假设致病微生物的类型^[17]。一些病毒合并细菌感染脓毒症患者即使借助于这些检测方法也不能明确所有病原体,临床诊断受到一定程度的限制^[27]。

在病毒感染早期,样本中病原体数量及所扩增靶基因拷贝数的数量较少,常见病毒的实时荧光定量 PCR(RT-PCR)探针准确性会因此下降,而 PCR 的过度扩增也会导致结果假阳性。LIU 等^[28]利用 mNGS 及病毒 RT-PCR 对 24 例脓毒症患者的体液样本进行检测对比,结果发现,通过 mNGS 检测出 7 例巨细胞病毒患者,而经过 RT-PCR 仅检测出 3 例, mNGS 在检测病毒感染的脓毒症患者中较 RT-PCR 敏感度及准确度更高。mNGS 作为一种新的技术手段可以克服这些非传统培养技术的缺点,在无偏倚采样的同时识别样本中所有潜在的感染微生物。

4 mNGS 在脓毒症病原体早期诊断中的应用进展

4.1 mNGS 在脓毒症病原体早期诊断中的发展 从临床医生的角度,快速检测病原体对脓毒症的治疗至关重要,早期敏感药物干预才能获得良好的结果。基于宏基因组测序的脓毒症定量诊断概念于 2014 年首次被提出, GRUMAZ 等^[29]引入脓毒症指示量化器(SIQ)评分,通过定量评分建立了一个完整的诊断工

作流程,为鉴别感染相关微生物提供了依据。SIQ 评分对脓毒症患者体液样本中每一种被检测的微生物进行定量和概率评估,在生物信息学分析中可过滤掉污染序列,将病原体丰度与脓毒症的诊断联系起来,为 mNGS 诊断脓毒症病原体提高可信度^[19]。该小组建立了一个血浆中的细胞游离 DNA 实时高通量测序诊断流程,该工作流程在较短时间内就可以确定与抗生素耐药性相关的微生物种类和基因,且可通过 SIQ 评分统计计算区分相关病原体与污染物。小组通过该流程对 239 例脓毒症患者样本进行实时测序,结果表明该工作流程敏感度较高,为脓毒症早期诊断提供新方法^[30]。

有学者借助于 mNGS 对 2010—2018 年 2 家美国医院急诊科重症监护室患者的全血和血浆核酸进行了检测,通过临床表现、生化、传统培养或其他病原学结果等对患者是否有脓毒症进行分类。该研究将样本中宿主和病原体的血浆核酸数据结合成一个计算机可运行的云计算集成模型,开发了一种可以整合患者相关临床数据及 mNGS 数据的脓毒症诊断工具。疑似脓毒症患者的相关信息经该诊断工具进行分类处理,可提高脓毒症诊断敏感度^[2,6]。

HADDOCK 等^[31]通过 mNGS 分析血浆样本中细菌噬菌体的数量及多样性,发现在细菌感染引起的脓毒血症中,噬菌体的多样性有所增加,并且噬菌体的存在可以用于区分细菌感染的种类及是否为定植细菌感染。例如,在大肠杆菌感染脓毒症患者样本中,大肠杆菌噬菌体会显著富集,不同菌属的大肠杆菌感染也会呈现不同的序列。mNGS 监测样本中噬菌体的动态变化,可有助于提高细菌感染引起的脓毒症患者诊断的可靠性和准确性。

CHANDRAKUMAR 等^[32]建立了一个名为 Bug-Split 的工作流程,通过基因组比对和序列同源性分析技术,将样本所得序列与参考数据库进行比对,对微生物序列进行鉴定分析,再在云端自动化处理测序所得数据,实现对质粒序列的纠正,从而避免了质粒序列与其宿主细菌之间的分类混淆。该技术进一步融合发展后可保障 mNGS 在脓毒症早期诊断中的准确性和高效性。

4.2 mNGS 在脓毒症早期诊断中的难点及挑战 对新发、罕见、疑难及免疫缺陷患者, mNGS 能显著提高病原体的检出率,可作为上述疾病的一线检测手段^[33]。病原体感染为脓毒症的主要原因,但感染作为脓毒症的诱发事件,并不是每例患者均能明确致病的感染微生物。当检测到多种微生物时, mNGS 可能无法区分定植微生物和感染微生物^[34]。

提高 mNGS 准确度的最重要步骤是样本的前处理过程,从技术层面将临床样本中的病原微生物基因

组与宿主基因组进行完全分离目前还难以实现,提取试剂盒的工程背景菌污染、运输及操作过程造成的污染及实验室环境的污染,均可能增加测序结果的分析困难进而导致测序结果的准确度下降。由于 mNGS 非常灵敏,在检测过程中需要严格的无菌操作,否则有可能导致临床误诊^[27]。目前,许多医疗机构因技术、成本、时间和基础设施等问题无法开展 mNGS 测序,所以目前该技术仍不能在疑似脓毒症患者中及时采用^[21]。

mNGS 对胞内寄生菌和真菌等细胞壁较厚、DNA 难以提取的细菌和真菌的敏感度较低,在一定程度上限制了其应用范围^[35]。mNGS 在隐球菌检测方面没有明显的诊断优势,传统检测方法对白念珠菌和热带念珠菌的检出率也要高于 mNGS^[36]。mNGS 目前不能完全替代传统培养,为了提高病原体检测的阳性率,二者需联合应用,才能最大限度地检测血液感染中的致病微生物^[37]。此外,mNGS 需要专业的生物信息学分析团队对测序结果进行处理,周转时间相对较长。与液滴数字技术(ddPCR)相比,mNGS 虽可以获得大量的病原体信息,但无法通过直接定量监测病原菌载量来反映疾病进展,且经济及时间成本均相对较高^[38]。

现阶段在临床诊断中常规实施 mNGS 仍需面对以下问题:去除宿主 DNA 以增加病原体对宿主的信号比,检测病原体的绝对定量,区分病原体种群特征的可变性,识别来自实验室环境的污染物,为数据提供具有生物学和临床意义的解释^[25]。

5 mNGS 在脓毒症早期诊断中的发展前景

了解脓毒症的异质性和不同阶段的动态变化,应用精确、个性化的治疗是未来脓毒症研究的目标。临床研究发现,一些抗炎药物和免疫治疗可以改善部分脓毒症患者的预后,然而,治疗成功的关键是明确患者致病微生物并进行靶向抗感染治疗^[1]。目前,对于脓症患者推荐联合采用传统实验室培养和 mNGS 来提高病原体的检出率已成为广泛的临床专家共识。结合快速发展的 mNGS 与临床表现、生化、分子、影像学等特征参数进行计算分析,临床医生再根据所得报告快速指导有效的临床干预,对患者进行有针对性的个性化治疗,为脓毒症的早期诊断提供了新的方向^[2,33]。随着 mNGS 在感染性疾病中得到更广泛的应用,通过开放获取数据库快速交换病原体基因组信息可以加快相关病原体的识别,加强对脓毒症感染的控制。

6 小 结

mNGS 在脓毒症早期病原学诊断中具有重要价值及应用前景,其较传统培养及非培养技术更高效敏感,能无偏倚地测出样本中所有病原微生物组成,指

导临床医生早期精准抗感染治疗。但由于其成本高、需要专业分析团队,以及样本中目标丰度低、宿主的背景 DNA 不可能完全去除等特点,使得其在脓毒症早期诊断中仍未得到广泛应用。随着基于 mNGS 技术的各类模型和临床应用的评分系统日益增多,mNGS 在诊断脓毒症方面的临床应用价值将得到进一步提升。

参考文献

- [1] LIU D, HUANG S Y, SUN J H, et al. Sepsis-induced immunosuppression: mechanisms, diagnosis and current treatment options [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1): 56.
- [2] GU W, MILLER S, CHIU C Y. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 319-338.
- [3] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810.
- [4] 曹钰, 柴艳芬, 邓颖, 等. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018) [J]. *临床急诊杂志*, 2018, 19(9): 567-588.
- [5] EVANS L, RHODES A, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. *Intensive Care Med*, 2021, 47(11): 1181-1247.
- [6] GANT V, SINGER M. Combining pathogen and host metagenomics for a better sepsis diagnostic [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(11): 1713-1714.
- [7] 戴媛媛, 马筱玲. 宏基因组二代测序技术在临床病原学诊断中的应用 [J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(1): 1-5.
- [8] WU F, ZHAO S, YU B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China [J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 265-269.
- [9] SUN L, ZHANG S, YANG Z, et al. Clinical application and influencing factor analysis of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in ICU patients with sepsis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 905132.
- [10] CASTO A M, FREDRICKS D N, HILL J A. Diagnosis of infectious diseases in immunocompromised hosts using metagenomic next Gener-

- ation sequencing-based diagnostics [J]. *Blood Rev*, 2022, 53:100906.
- [11] WILSON M R, NACCACHE S N, SAMAYOA E, et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(25):2408-2417.
- [12] RAMACHANDRAN P S, RAMESH A, CREWELL F V, et al. Integrating central nervous system metagenomics and host response for diagnosis of tuberculosis meningitis and its mimics [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):1675.
- [13] HU X J, ZHAO Y H, HAN P, et al. Novel clinical mNGS-based machine learning model for rapid antimicrobial susceptibility testing of acinetobacter baumannii [J]. *J Clin Microbiol*, 2023, 61(5):e0180522.
- [14] QIN F, HU X J, WANG X J, et al. Utility of metagenomic next-generation sequencing for simultaneously detecting pathogens and neoplasms [J]. *Heliyon*, 2024, 10(2):e24399.
- [15] GUO Y F, LI H N, CHEN H B, et al. Metagenomic next-generation sequencing to identify pathogens and cancer in lung biopsy tissue [J]. *EBioMedicine*, 2021, 73:103639.
- [16] BAILLIE V L, MADHI S A, AHYONG V, et al. Metagenomic sequencing of post-mortem tissue samples for the identification of pathogens associated with neonatal deaths [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):5373.
- [17] DIAO Z L, HAN D S, ZHANG R, et al. Metagenomics next-generation sequencing tests take the stage in the diagnosis of lower respiratory tract infections [J]. *J Adv Res*, 2022, 38:201-212.
- [18] LEE I K, CHANG J P, HUANG W C, et al. Comparative of clinical performance between next-generation sequencing and standard blood culture diagnostic method in patients suffering from sepsis [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2022, 55(5):845-852.
- [19] GRUMAZ S, GRUMAZ C, VAINSHTEIN Y, et al. Enhanced performance of next-generation sequencing diagnostics compared with standard of care microbiological diagnostics in patients suffering from septic shock [J]. *Crit Care Med*, 2019, 47(5):e394-e402.
- [20] YIN M, ZHENG Y, ZHANG L, et al. The real-life performance of metagenomic next-generation sequencing in sepsis [J]. *J Infect*, 2022, 84(3):418-467.
- [21] CRAWFORD E, KAMM J, MILLER S, et al. Investigating transfusion-related sepsis using culture-independent metagenomic sequencing [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(5):1179-1185.
- [22] WU C, YU X, GAI W, et al. Diagnostic value of plasma and blood cells metagenomic next-generation sequencing in patients with sepsis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 683:149079.
- [23] REN D, REN C, YAO R Q, et al. The microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing in patients with sepsis [J]. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1):1257.
- [24] WU J, SONG W T, YAN H, et al. Metagenomic next-generation sequencing in detecting pathogens in pediatric oncology patients with suspected bloodstream infections [J]. *Pediatr Res*, 2024, 95(3):843-851.
- [25] LAZAREVIC V, GAÏA N, GIRARD M, et al. Effect of bacterial DNA enrichment on detection and quantification of bacteria in an infected tissue model by metagenomic next-generation sequencing [J]. *ISME Commun*, 2022, 2(1):122.
- [26] BLOEMEN B, GAND M, VANNESTE K, et al. Development of a portable on-site applicable metagenomic data generation workflow for enhanced pathogen and antimicrobial resistance surveillance [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1):19656.
- [27] CAO X G, ZHOU S S, WANG C Y, et al. The diagnostic value of next-generation sequencing technology in sepsis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:899508.
- [28] LIU W D, YEN T Y, LIU P Y, et al. Clinical application of metagenomic next-generation sequencing in patients with hematologic malignancies suffering from sepsis [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(11):2309.
- [29] GRUMAZ S, STEVENS P, GRUMAZ C, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in septic patients [J]. *Genome Med*, 2016, 8(1):73.
- [30] GRUMAZ C, HOFFMANN A, VAINSHTEIN Y, et al. Rapid next-generation sequencing-based diagnostics of bacteremia in (下转第 3206 页)