

- 24 徐新荣, 仲 路, 黄冰林, 等. 年龄相关性黄斑变性血浆蛋白质组学初步研究[J]. 眼科新进展, 2013, 33(2): 147-151.
- 25 叶 子, 李朝辉, 何守志. 丛生蛋白参与年龄相关性黄斑变性的作用机制[J]. 眼科新进展, 2015, 35(11): 1087-1089, 1093.
- 26 齐 赟, 白玉婧, 黎晓新, 等. p75NTR 受体过表达对人 RPE 细胞氧化应激损伤的促进作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(1): 17-23.
- 27 Nordgaard CL, Berg KM, Kapphahn RJ, et al. Proteomics of the retinal pigment epithelium reveals altered protein expression at progressive stages of age-related macular degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(3): 815-822.
- 28 Winiarczyk M, Kaamiranta K, Winiarczyk S, et al. Tear film proteome in age-related macular degeneration[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2018, 256(4): 1127-1139.
- 29 Lee H, Choi AJ, Kang GY, et al. Increased 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 1 in the aqueous humor of patients with age-related macular degeneration [J]. BMB Rep, 2014, 47(5): 292-297.
- 30 Koss MJ, Hoffmann J, Nguyen N, et al. Proteomics of Vitreous Humor of Patients with Exudative Age-Related Macular Degeneration [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96895.
- 31 董 一. 年龄相关性黄斑变性转录组表达特征及临床治疗研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
- [收稿日期 2019-09-20] [本文编辑 韦 颖 潘洪平]

本文引用格式

马 静, 徐新荣. 组学技术在年龄相关性黄斑变性中的临床应用 [J]. 中国临床新医学, 2020, 13(6): 639-642.

新进展综述

高通量测序对脓毒症病原学诊断及病原菌耐药性预测的应用价值

韩 林, 蒋玲玉, 黄 璐, 胡 苗(综述), 熊 滨(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院重症医学科

作者简介: 韩 林(1974-), 男, 大学本科, 学士学位, 副主任医师, 研究方向: 脓毒症、ARDS 等危重病诊治。E-mail: xhan0507@sina.com

通讯作者: 熊 滨(1965-), 男, 大学本科, 学士学位, 主任医师, 研究方向: 重症肺炎、脓毒症和 ARDS 等危重病诊治。E-mail: icuxiong@sina.com

【摘要】 脓毒症是机体对感染反应失调所致的危及生命的器官功能障碍, 是急危重症医学面临的重要疾病, 也是临床亟待解决的难题。明确病原学后尽早针对性抗感染治疗可降低病死率, 是治疗脓毒症的关键。目前的病原学检测技术在及时性和准确性等方面仍存在欠缺。高通量测序技术在诊断病原微生物方面, 具有检测种类多、快速、精准等特点, 且近年对于监测病原学及耐药性方面有特殊优势, 并逐步应用于临床。该文就高通量测序对脓毒症病原学诊断及病原菌耐药性预测的应用价值进行综述。

【关键词】 高通量测序; 脓毒症; 病原学; 病原菌耐药

【中图分类号】 R 37 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2020)06-0642-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.06.27

Application value of high-throughput sequencing in pathogenic diagnosis and drug-resistance prediction of pathogenic bacteria in sepsis HAN Lin, JIANG Ling-yu, HUANG Lu, et al. Department of Critical Care Medicine, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

【Abstract】 Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by the dysregulation of the body's response to infections and remains a challenge in emergency and critical care medicine and also is a clinical problem to be solved urgently. Targeted anti-infection treatment as soon as possible after the pathogeny is clear can reduce the mortality, which is the key to the treatment of sepsis. At present, the detection technology of pathogeny is still lacking in timeliness and accuracy. In the diagnosis of pathogenic microorganisms, high-throughput sequencing technology can detect a wide range of species with rapid and accurate characteristics. In recent years, high-throughput sequencing has special

advantages on monitoring pathogeny and drug resistance, and is being gradually applied to clinical medicine. In this paper, we review the value of high-throughput sequencing technology in pathogenic diagnosis of sepsis and prediction of drug resistance of pathogenic bacteria.

[Key words] High-throughput sequencing; Sepsis; Pathogeny; Drug resistance of pathogenic bacteria

脓毒症和感染性休克是急危重症医学面临的重要临床问题,全球每年脓毒症患者超过 1 900 万例,病死率超过 25%^[1,2],机体对感染反应失调所致的危及生命的器官功能障碍是主要死因。Xie 等^[3]进行一项脓毒症多中心调查显示我国 ICU 收治患者的 1/5 为脓毒症患者,且 90 d 病死率达 35.5%。而导致脓毒症的病原菌十分复杂,包括细菌、病毒、真菌和支原体等。《拯救脓毒症运动:2016 国际脓毒症和感染性休克管理指南》^[4]指出对感染性休克患者应在入院 1 h 内开始有效静脉注射抗感染药物治疗,并且早期针对最可能的细菌病原学进行治疗。常规检查血培养等耗时长^[5,6],致使诊断及治疗存在不同程度的延迟。因此,尽快明确病原学后尽早针对性抗感染治疗是治疗脓毒症的关键,也是避免抗生素长时间“广覆盖、大包围”多用、滥用的有效措施。脓毒症的病原学诊断是目前临床亟待解决的难题,随着科学技术的进步,病原学的高通量测序技术进入了疾病治疗的历史舞台。

1 高通量测序的临床意义

临床常用的病原学检测方法主要为微生物涂片和培养、血清学方法及病毒核酸检测等,但其存在较多不足,如培养或检测时间长,约需 12 h ~ 5 d 时间才能出结果,并有污染的可能性和阳性率低等缺点,且只能识别样本中的小部分微生物^[5]。而高通量测序技术可作为一种新兴的诊断工具,在诊断病原微生物方面,具有快速、精准、阳性率高等特点,且不用培养,越来越多地应用于临床,有临床实用发展趋势。第一代 DNA 测序技术(又称 Sanger 测序)在 1975 年由 Sanger 等开创,并在 1977 年完成第一个基因组序列(噬菌体 X174),全长 5 375 个碱基。因其读长较长、准确性高,但其测序成本高、通量低等缺点,使转录组测序等应用难以普及^[7,8]。高通量测序,通量高是其技术最大的特征,同时测定几百万甚至上亿条 DNA 或者 RNA 序列,大大加快了宏基因组测序的速度,从而可以极大地降低单个碱基测序的成本,又称下一代测序(next-generation sequencing,NGS)或深度测序或宏基因组测序。二代测序比一代测序大幅降低了成本,保持了较高准确性,并且大幅降低了测序时间,将一个人类基因组从 3 年降为 1 周以内。

2 高通量测序对脓毒症病原学诊断的应用价值

2.1 对病原学分类检测的应用价值 ICU 患者疾病复杂,脓毒症患者通常感染病原菌数目种类较多,诊断困难。降钙素原(procalcitonin,PCT)和 C 反应蛋白(C-reactive protein,CRP)等感染指标检测可部分指导细菌感染与病毒或真菌感染区分,对于指导预后有帮助^[9,10],但无法明确病原学及精确指导抗感染治疗,多种病原体感染时更是难以区分。高通量测序应用以来,已有很多复杂危重病例获得病原学诊断。有研究显示,高通量测序技术联合血培养检测 18 份标本中可得出 19 种细菌和 1 种真菌,其中高通量测序检测出 17 株细菌,包括大肠杆菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌、嗜水气单胞菌等,血培养仅测出 10 株细菌和 1 种真菌,未能检测出大肠杆菌、嗜水气单胞菌^[11]。除重症患者常见的细菌外,高通量测序技术可检出部分临床少见细菌。Dai 等^[12]报道了 1 例进展迅速的脓毒症休克患者,该患者曾是屠夫并在工作中受伤,之后出现感染,并使用多种联合抗感染治疗。经多次血培养未检测到病原菌,高通量测序仅 2 d 报告出猪链球菌感染。对肺泡灌洗液进行高通量检测与传统培养相比,前者除检测出细菌、真菌外,还可检测病毒、衣原体和支原体等^[13]。ICU 患者是侵袭性真菌病(invasive fungal disease,IFD)的高发人群,且真菌诊断和治疗难度大,对于拟诊 IFD 重症患者,即应进行经验性抗真菌治疗。应用高通量测序技术检测免疫功能低下的肺部感染患者,发现常见真菌为曲霉菌、念珠菌以及肺孢子虫^[13]。对于器官移植患者术后感染监测肺孢子虫感染也有较高的诊断价值^[14]。可见,高通量技术对于细菌、真菌感染监测,尤其是重症患者疑难或罕见病原菌的有效监测方法。在病毒的诊断方面,高通量测序独具优势^[15,16]。重症患者合并病毒感染时是无法用标本培养得出的,传统的病毒抗体检测无特异性,且多数需在感染一段时间后才能检测出结果升高。在 78 例送检的高通量测序样本中有 14 个样本中可测出病毒,并且可同时检测出多种病毒,提示多种病毒混合感染^[11]。越南一项研究^[12]对 2013 ~ 2015 年间的 6 所医院收治的社区获得性脓毒症的患者进行检测,93% 患者中发现了属于 21 个科共 47 种病毒

种类的相关序列,其中包括已知会引起人类感染的病毒,还检测到先前未报道的多种病毒有关的序列,提示对于脓毒症病原学仍有待进一步检测和研究。

2.2 对病原学检测效能的应用价值 在初始血培养阳性的患者中,进行高通量测序检查可得出高达93.7%的准确率(59/63)^[17]。同样,对于人工心脏瓣膜感染的患者,血标本高通量测序阳性,灵敏度达到97.6%(41/44),且可检测到17种病原菌,而血培养的灵敏度明显较低,仅为46.2%,检测的病原菌只有11种,血培养的特异度稍高于高通量测序(100.0% vs 85.7%)^[18]。另外,从时间效率上来说,高通量测序检测病原体时间明显短于传统培养方法,有较大优势。高通量测序最快可提前到第53小时即可检测出病原菌,而血培养则需85~92 h^[17]。对于重症患者来说,时间尤为重要,通过高通量测序可提早至少24 h进行针对性抗感染治疗,其整体治疗效果将明显提高。当脓毒症患者出现脓毒症之前已使用过抗感染治疗时,血培养阳性率明显降低,仅为19.6%,而高通量测序的诊断效率仍可达84.9%(112/132)^[17]。对于合并癌症、自身免疫性疾病等基础免疫力低下的患者,出现肺部感染后对肺泡灌洗液病原学进行高通量测序可达到88.3%的阳性率,而常规的肺泡灌洗液的病原学监测阳性率不足30%^[13]。对肺部感染患者进行高通量检测肺泡灌洗液标本的真菌阳性率亦明显高于传统培养(38.60% vs 8.19%)。临床工作中,如遇到病原学诊断不明或高度怀疑特殊病原体感染的患者,使用常规检验方法难以有效查出病原体,则可考虑送检高通量测序检查,及早明确病原,全面捕获病原体,指导抗菌药物应用,降低细菌的耐药性,起到了帮助临床医师检测病原体查缺补漏的作用。

3 高通量测序对病原菌耐药性预测的应用价值

抗菌药物耐药性的出现正日益威胁细菌感染的成功治疗,已成为公共卫生面临的最紧迫威胁之一。最新细菌耐药数据检测显示我国ICU来源细菌的耐药性比较严重,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)可达41.2%,对第三代头孢菌素耐药的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌分别高达62.8%和44.7%,而对碳青霉烯类耐药的大肠埃希菌(3.7%)、肺炎克雷伯菌(21.9%)、铜绿假单胞菌(33.1%)及鲍曼不动杆菌(81.2%)检出率亦远高于其他非ICU病区^[19]。高通量测序技术虽无法直接进行抗菌药物敏感性试验,但其在检测病原微生物耐药方面仍然发挥很大作用,尤其是

在耐药基因检出方面,可解决很多现有的技术无法处理的问题^[20]。细菌耐药性与某些基因突变有关,高通量测序可通过测定这些基因指导抗感染治疗^[21]。有报道胆道感染时使用美罗培南治疗感染性休克患者失败的案例。该病例病原学为脆弱拟杆菌,药敏结果显示对甲硝唑和替加环素以外的所有试验药物均不敏感。高通量测序显示该菌株含*cfiA4*、*emrG*和*emrF*耐药基因,另聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)结果发现*cfiA4*基因上游存在插入序列元素,从而导致脆弱拟杆菌对碳青霉烯类药物敏感度下降^[22]。Bogaerts等^[23]研究发现,含*cfiA*基因的脆弱拟杆菌株对美罗培南和亚胺培南的最小抑菌浓度可大于32 μg/ml。高通量测序可检测*mecA*基因,提示MRSA感染,通过检测也提示该MRSA菌株对所有β-内酰胺类抗生素都有抗药性^[19]。另外,对于缓慢生长的病原菌,如结核菌,耐药基因的检测比常规快得多^[24],从而有助于对患者做出及时准确的抗感染决策。高通量测序亦发现同一抗病毒治疗过程中逐渐出现耐药基因。研究显示免疫受损的患者在甲型(H₁N₁)病毒中抗病毒耐药性突变的选择,显示长期接受治疗的患者中病毒群体更为复杂^[25]。该患者从症状发作开始接受了两个疗程的奥司他韦治疗,随后为扎那米韦。通过高通量测序对呼吸道样本进行调查和低频变异检测分析,在第一次用奥司他韦治疗结束后15 d样本检测到奥司他韦耐药性,H275Y的突变频率为60.3%。第149天,当患者即将完成扎那米韦疗程时,检测到以下耐药性突变的混合物H275Y(65.1%)、E119G(89.6%),并伴有其他突变。在第151天,检测到肺泡灌洗液中抗病毒耐药性突变的频率更高。结果提示长期流感病毒感染的抗病毒治疗可导致多药耐药,可见耐药基因并非持续不变。这也说明利用高通量测序可以及时监测临床药物靶点的突变率以确定何种抗感染方案有效,及时做出调整,尤其适用于ICU抗感染效果不佳的情况,且是控制抗耐药性病原菌发生和传播的有效措施。

4 高通量测序对指导脓毒症临床治疗的应用价值

基于高通量测序对于病原体的发现,给临床抗感染提供新的方向。脓毒症常见细菌、真菌感染,病毒感染多见于社区获得性肺炎等。但Anh等^[26]研究显示通过高通量测序发现93%的脓毒症患者合并病毒感染。所以临床治疗在控制社区获得性脓毒症常见细菌感染时,需警惕病毒对该类患者造成的感染。临床抗感染决策也会因此受到高通量基因检

测结果的较大影响^[27,28]。高通量测序的精准、快速给脓毒症患者争取到了宝贵时间,可改善脓毒症预后。曹燕等^[29]对 92 例脓毒症患者进行比较研究,观察组在常规血液培养的基础上联合高通量测序检测病原体,对照组常规血液培养检测。通过分析发现观察组存活率(91.5%)高于对照组(67.0%),且 ICU 住院时间 $[(10.5 \pm 2.1) \text{ d} \text{ vs } (18.1 \pm 1.0) \text{ d}]$ 明显缩短。这可能与高通量测序能快速准确地确定脓毒症感染病原体,指导临床实施早期精准的抗感染治疗有关,从而能在较短的时间内有效控制患者的感染。脓毒症菌群耐药的变化亦是其治疗效果的决定因素。通过测定在不同用药方案下药物靶点的突变率,可以确定何种用药方案效果更佳以及有低诱导耐药率,对指导临床治疗有重要意义^[30]。脓毒症患者致病菌复杂多样、病情严重,需要抗感染疗程较久会导致肠道微生物群生态破坏、抗生素相关性腹泻、新发性肠源性感染和其他后果,导致住院期间的后期临床治疗效果不佳^[31]。肠道菌群对危重患者病死率的影响已成为一个新的问题。近期研究基于高通量测序可检测出肠道病原菌谱,且显示肠道菌群多样性下降的脓毒症患者的病死率高达 41%,是肠道菌群多样正常者的 2 倍^[32],前者菌群谱以变形杆菌为主。肠道菌群多样性可能是脓毒症预后保护因素,但是对进行抗生素、益生菌等混杂因素调整之后的两者的病死率差异不大,可能不同的感染状态和抗生素使用等肠道菌群的破坏的影响可能不同。随着高通量测序技术普及,今后临床对脓毒症预后的可能的肠道病原菌因素将进入深层次研究,亦为脓毒症患者的治疗提供新的方向。

5 展望

运用高通量测序技术监测脓毒症病原微生物将有较大的临床应用空间,除了确定病原学种类以指导对脓毒症患者的抗感染治疗外,还可以用于监测抗生素耐药性细菌和监视抗生素耐药性基因的传播,同时能更加深入地理解抗菌药物的作用机制,利于寻找新的药物作用靶点,开发新型抗生素。高通量测序技术不断发展的同时也建立了相应的基因数据库,其中也包含有耐药基因数据库,比如著名的 CARD(Comprehensive Antibiotic Research Database)数据库^[33],主要研究抗生素耐药性的遗传学和基因组学和快速鉴定的抗生素耐药基因。但高通量测序技术也面临着诸多挑战:(1)可监测出病原菌种类较多,难以有效分辨致病菌和背景菌,需结合临床进一步分析。通过努力,最近有学者开发出脓毒症定

量指标评分,可较好用于区分脓毒症患者血标本里的致病菌和污染菌^[34]。(2)因胞内感染,如结核菌感染,或者病原菌等具有较厚细胞壁,如隐球菌^[35],其核酸较少释放至血液等标本可能导致临床检测率和敏感性较低。但对于活动性结核感染时血标本高通量测序可达到 90% 阳性率,而侵入性操作取得的深部标本中阳性率仅为 50%^[36],因此高通量测序对于结核杆菌感染的诊断仍有优势。(3)因人体 RNA 丰度比病原体的 RNA 更高且更复杂,且 RNA 不易保存,因此对于 RNA 病原体的检测存在较大困难。(4)尽管高通量测序可检测耐药基因,但细菌的耐药基因型与表型未必一致,而且因宿主血液循环中循环 DNA 半衰期较短,病原学的核酸量很少,目前高通量测序对于细菌耐药性监测尚无法有效覆盖耐药基因。(5)送检标本的规范化采集、技术的标准化、检测报告的专业性解读、如何指导临床治疗等问题也需要进行规范化。(6)高通量测序技术价格昂贵,目前难以普及。但随着技术研究的发展,高通量测序技术准确度、覆盖度也会得到极大提高、送检流程及结果判读等得到进一步优化,将会提供全面深入的病原学结果,成本也会大幅降低,在未来将是脓毒症病原学早期诊断的可靠工具,也将促进重症医学学科的精准医学发展。

参考文献

- 1 Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, et al. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority—A WHO Resolution [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(5): 414–417.
- 2 Perner A, Cecconi M, Cronhjort M, et al. Expert statement for the management of hypovolemia in sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(6): 791–798.
- 3 Xie J, Wang H, Kang Y, et al. The Epidemiology of Sepsis in Chinese ICUs [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(3): 209–218.
- 4 Signer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus for Sepsis and Septic (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801–810.
- 5 Afshari A, Schrenzel J, Ieven M, et al. Bench-to-bedside review: Rapid molecular diagnostics for bloodstream infection—a new frontier? [J]. *Crit Care*, 2012, 16(3): 222.
- 6 Burillo A, Bouza E. Use of rapid diagnostic techniques in ICU patients with infections [J]. *BMC Infect Dis*, 2014, 14(1): 593–593.
- 7 Langeveld SA, van Mansfeld AD, Baas PD, et al. Nucleotide sequence of the origin of replication in bacteriophage phiX174 RF DNA [J]. *Nature*, 1978, 271(5644): 417–420.
- 8 Jennings LJ, Kirschmann D. Genetic Testing Requires NGS and Sanger Methodologies [J]. *Pediatr Neurol Briefs*, 2016, 30(9): 36.

- 9 蒋玲玉, 熊 滨, 韩 林, 等. 感染性休克患者降钙素原和 C-反应蛋白动态变化研究[J]. 中国临床新医学, 2017, 10(4): 333 – 336.
- 10 李 庆, 王光海, 鞠 琰, 等. 感染性疾病患者炎症因子水平的表达与意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(12): 2649 – 2651.
- 11 Long Y, Zhang Y, Gong Y, et al. Diagnosis of Sepsis with Cell-free DNA by Next-Generation Sequencing Technology in ICU Patients [J]. Arch Med Res, 2016, 47(5): 365 – 371.
- 12 Dai Y, Chen L, Chang W, et al. Culture-Negative Streptococcus suis Infection Diagnosed by Metagenomic Next-Generation Sequencing[J]. Front Public Health, 2019, 7:379.
- 13 Huang J, Jiang E, Yang D, et al. Metagenomic Next-Generation Sequencing versus Traditional Pathogen Detection in the Diagnosis of Peripheral Pulmonary Infectious Lesions [J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 567 – 576.
- 14 Charpentier E, Garnaud C, Wintenberger C, et al. Added Value of Next-Generation Sequencing for Multilocus Sequence Typing Analysis of a *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia Outbreak[J]. Emerg Infect Dis, 2017, 23(8): 1237 – 1245.
- 15 Zhu N, Zhang D, Wang D, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727 – 733.
- 16 Gerhardt F, Maier M, Liebert UG, et al. Early Detection of Hepatitis E Virus Ribavirin Resistance Using Next-Generation Sequencing [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 64(1): pii: e01525 – 19.
- 17 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.
- 18 Cheng J, Hu H, Fang W, et al. Detection of pathogens from resected heart valves of patients with infective endocarditis by next-generation sequencing[J]. Int J Infect Dis, 2019, 83:148 – 153.
- 19 国家卫生计生委合理用药专家委员会, 全国细菌耐药监测网. 2018 年全国细菌耐药监测报告[J]. 中国合理用药探索, 2020, 17(1): 1 – 10.
- 20 Boolchandani M, D'Souza AW, Dantas G. Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 356 – 370.
- 21 McDermott PF, Tyson GH, Kabera C, et al. Whole-Genome Sequencing for Detecting Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal Salmonella[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(9): 5515 – 5520.
- 22 Nakamura I, Aoki K, Miura Y, et al. Fatal sepsis caused by multi-drug resistant *Bacteroides fragilis*, harboring a *cfiA* gene and an upstream insertion sequence element, in Japan[J]. Anaerobe, 2017, 44: 36 – 39.
- 23 Bogaerts P, Engelhardt A, Berhin C, et al. Evaluation of a new meropenem-EDTA double-ended Etest strip for the detection of the *cfiA* metallo-beta-lactamase gene in clinical isolates of *Bacteroides fragilis*[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(10): 973 – 977.
- 24 Bradley P, Gordon NC, Walker TM, et al. Rapid antibiotic-resistance predictions from genome sequence data for *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nat Commun, 2015, 6: 10063.
- 25 Salata C, Sgarabotto D, Del Vecchio C, et al. Antiviral treatment and virological monitoring of oseltamivir-resistant influenza virus A (H₁N₁) pdm09 in a patient with chronic B lymphocytic leukemia [J]. J Infect Chemother, 2019, 25(7): 543 – 546.
- 26 Anh NT, Hong N, Nhu L, et al. Viruses in Vietnamese Patients Presenting with Community-Acquired Sepsis of Unknown Cause[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(9): e00386 – 19.
- 27 Young C, Argúez C. Rapid Genome-wide Testing: A Review of Clinical Utility, Cost-Effectiveness, and Guidelines[S]. CADTH Rapid Response Reports, 2019, Ottawa(ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health.
- 28 Yin L, Wan YD, Pan XT, et al. Association Between Gut Bacterial Diversity and Mortality in Septic Shock Patients: A Cohort Study [J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 7376 – 7382.
- 29 曹 燕, 刘易林, 李 莉, 等. 高通量测序在脓毒症患者病原体检测和治疗中的应用[J]. 中国当代医药, 2019, 26(33): 8 – 11.
- 30 Trebbien R, Pedersen SS, Vorborg K, et al. Development of oseltamivir and zanamivir resistance in influenza A(H₁N₁) pdm09 virus, Denmark, 2014[J]. Euro Surveill, 2017, 22(3): 30445.
- 31 Zhang Y, Sun J, Zhang J, et al. Enzyme Inhibitor Antibiotics and Antibiotic-Associated Diarrhea in Critically Ill Patients[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 8781 – 8788.
- 32 Yin L, Wan Y, Pan X, et al. Association Between Gut Bacterial Diversity and Mortality in Septic Shock Patients: A Cohort Study [J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 7376 – 7382.
- 33 Alcock BP, Raphenya AR, Lau T, et al. CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(D1): D517 – D525.
- 34 Brenner T, Decker SO, Grumaz S, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in sepsis(Next GeneSiS-Trial): study protocol of a prospective, observational, noninterventional, Multi-center, clinical trial [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(6): e9868.
- 35 邢小微. 宏基因组高通量测序对中枢神经系统感染性疾病的诊断价值研究[D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2019.
- 36 Nomura J, Rieg G, Bluestone G, et al. Rapid detection of invasive *Mycobacterium chimaera* disease via a novel plasma-based next-generation sequencing test[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 371.
- [收稿日期 2020-03-02][本文编辑 韦 颖 潘洪平]

本文引用格式

韩 林, 蒋玲玉, 黄 璐, 等. 高通量测序对脓毒症病原学诊断及病原菌耐药性预测的应用价值[J]. 中国临床新医学, 2020, 13(6): 642 – 646.