

宏基因组高通量测序技术临床实验室 规范化应用指南(2026 版)

中国医学装备协会基因检测分会 医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心
中华医学会检验医学分会临床微生物学组

通信作者:张瑞,北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心 中国医学科学院老年医学研究院,北京 100730, Email: ruizhang@nccl.org.cn; 韩晓旭,中国医科大学附属第一医院 医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心,沈阳 110001, Email: xxhan@yeah.net; 应斌武,四川大学华西医院实验医学科 四川大学华西医院临床检验医学研究中心 四川省医学检验临床医学研究中心 四川大学华西医院医工结合研究院,成都 610041, Email: yingbinwu@scu.edu.cn; 周宏伟,南方医科大学深圳医院检验科,南方医科大学珠江医院检验医学部,广州,518000, Email: hzhou@smu.edu.cn

【摘要】 宏基因组高通量测序(mNGS)技术因其非预设、广覆盖的优势,已成为感染性疾病诊断和治疗中重要的实验室方法之一,尤其在疑难、危急重症感染中具有关键价值。同时,技术的复杂性也给临床实验室质量保证提出了新的问题与挑战。为此,中国医学装备协会基因检测分会、医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心和中华医学会检验医学分会临床微生物学组联合领域内专家,共同制订了《宏基因组高通量测序技术临床实验室规范化应用指南(2026 版)》。本指南旨在为各级临床实验室规范开展宏基因组高通量测序提供指导,从而保证检测结果的准确可靠。基于国内外相关标准、指南及最新研究证据,指南共形成了围绕 15 项关键问题的 15 条推荐意见,系统涵盖了实验室环境分区、人员、仪器设备、试剂耗材、软件、数据库、标准操作程序、标本采集、标本运输以及接收和保存、“湿实验”流程、“干实验”流程、结果判读、参考物质、性能确认、室内质量控制、室间质量评价以及结果报告和解释等关键环节,为临床实验室规范开展 mNGS 检测提供了全面指导。

【关键词】 宏基因组; 高通量测序; 规范化; 质量控制

基金项目: 癌症、心脑血管、呼吸和代谢性疾病防治研究国家科技重大专项(2024ZD0533100/2024ZD0533102、2025ZD0551200/2025ZD0551204); 首都卫生发展科研专项(首发 2024-2-40510); 北京市科技计划(Z251100004625005); 国家重点研发计划(2022YFC2603800)

实践指南注册: 国际实践指南注册与透明化平台(PREPARE-2025CN2049)

Guidelines for standardized application of metagenomic high-throughput sequencing in clinical laboratories (2026 edition)

China Association of Medical Equipment of Genetic Testing; National Clinical Research Center for Laboratory Medicine; Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association

Corresponding authors: Zhang Rui, National Center for Clinical Laboratories, Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing Hospital/National Center of Gerontology, Beijing 100730, China, Email: ruizhang@nccl.org.cn; Han Xiaoxu, National Clinical Research Center for Medical Auxiliary Technology (Laboratory Medicine), Department of Laboratory Medicine, the First

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20251223-03401

收稿日期 2025-12-23 本文编辑 梁明修

引用本文: 中国医学装备协会基因检测分会, 医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心, 中华医学会检验医学分会临床微生物学组. 宏基因组高通量测序技术临床实验室规范化应用指南(2026 版)[J]. 中华医学杂志, 2026, 106(14): 1304-1317. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20251223-03401.



Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China, Email: xxhan@yeah.net; Ying Binwu, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Clinical Laboratory Medicine Research Center, West China Hospital, Sichuan University, Sichuan Clinical Research Center for Laboratory Medicine, Institution of Medical and Engineering Integration for Molecular Diagnosis, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China, Email: yingbinwu@scu.edu.cn; Zhou Hongwei, Department of Laboratory Medicine, Shenzhen Hospital, Southern Medical University, Department of Laboratory Medicine, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 518000, China, Email: hzhou@smu.edu.cn

【Abstract】 Metagenomic next-generation sequencing (mNGS) has become an important tool in the diagnosis and treatment of infectious diseases due to its non-predefined and broad coverage, particularly in complex and critical infections. Meanwhile, its technical complexity also presents new challenges for quality assurance in clinical laboratories. Therefore, the China Association of Medical Equipment of Genetic Testing, the National Clinical Research Center for Medical Auxiliary Technology (Laboratory Medicine), and the Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, in collaboration with experts in the field, have jointly developed the "Guidelines for standardized application of metagenomic high-throughput sequencing in clinical laboratories (2026 edition)". These guidelines aim to provide guidance for clinical laboratories at all levels to standardize the implementation of mNGS, thereby ensuring the accuracy and reliability of test results. Based on relevant domestic and international standards, guidelines, and the latest research evidence, the guidelines formulate 15 recommendations centered on 15 critical issues, systematically covering key aspects including laboratory zoning, personnel, instruments and equipment, reagents and consumables, software, databases, standard operating procedures, specimen collection, transportation, reception and storage, "wet lab" processes, "dry lab" processes, result interpretation, reference materials, performance validation, internal quality control, external quality assessment, as well as result reporting and interpretation, thereby providing comprehensive guidance for clinical laboratories to standardize their mNGS testing practices.

【Key words】 Metagenomics; High-throughput sequencing; Standardization; Quality control

Fund program: Noncommunicable Chronic Diseases-National Science and Technology Major Project (2024ZD0533100/2024ZD0533102, 2025ZD0551200/2025ZD0551204); Capital's Funds for Health Improvement and Research, CFH (2024-2-40510); Beijing Municipal Science And Technology Project (Z251100004625005); National Key R&D Program of China (2022YFC2603800)

Practice guide registration: Practice Guideline Registration for Transparency (PREPARE-2025CN2049)

宏基因组高通量测序 (metagenomic high-throughput sequencing, mHTS) 又称宏基因组下一代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS), 对感染性疾病的诊断和治疗具有重要价值^[1-4]。mNGS 涉及“湿实验”和“干实验”两个阶段, 湿实验操作步骤多, 干实验即生物信息学分析流程复杂。技术的复杂性对临床实验室质量保证提出了新的问题与挑战, 主要包括两个方面: 一是 mNGS 实验室人、机、料、法、环的要求, 即对实验室人员、仪器设备、试剂、耗材、软件、数据库、标准操作程序 (standard operating procedures, SOPs) 以及环境分区的要求; 二是如何通过分析前、分析中和分析后的质量控制措施, 保证 mNGS 检测及结果报告的准确可靠。为此, 由中国医学装备协会基因检测分会、医疗辅助技术 (医学检验) 国家临床医学研究中心和中华医学会检验医学分会

临床微生物学组发起, 邀请领域内专家联合制订本指南。本指南强调 mNGS 实验室的首要责任是提供准确的结果, 实验室必须通过质量控制措施保证结果的可靠性。本指南提供了实验室环境分区、人员、仪器设备、试剂、耗材、软件、数据库、SOPs、标本采集、运输、接收和保存、“湿实验”流程、“干实验”流程、结果判读、参考物质、性能确认、室内质量控制、室间质量评价以及结果报告和解释等方面的建议, 旨在更好地指导 mNGS 技术在临床实验室的规范化应用。

第一部分 指南编写方法

一、指南设计及整体技术路线方法

指南设计与制订步骤依据 2014 年和 2023 年发布的《世界卫生组织指南制订手册》以及《附录》^[5],



2022 年中华医学会发布的《中国制订/修订临床诊疗指南的指导原则(2022 版)》^[6],同时遵循国际指南报告规范 RIGHT 工具^[7]。本指南的整体技术路线图见图 1。

二、指南注册与计划书的撰写

本指南已在国际实践指南注册与透明化平台(<https://www.guidelines-registry.cn/>)进行注册(注册号:PREPARE-2025CN2049),读者可联系指南发起组织索要指南计划书。

三、指南工作组

本指南工作组由临床分子生物学检验、临床微生物学检验、临床实验室管理、生物信息学、微生物基因组数据库建设与管理、感染病学、呼吸内科学和医疗器械监管等多领域、不同地域的专家共同组成。工作组成员按照职能划分为:指南指导专家组、指南专家组、指南执笔组和秘书组。

四、利益冲突声明

本指南工作组成员均填写了利益冲突声明表,不存在与本指南撰写内容直接相关的利益冲突。

五、指南使用者与目标人群

本指南供开展 mNGS 的各级医院临床实验室以及第三方医学检验实验室使用,涵盖从标本采集到结果报告的全流程质量管理。

六、关键问题的遴选和确定

首先通过系统检索相关标准、指南和共识^[8-26],确定了 15 个有关临床实验室 mNGS 质量保证的关键问题,具体包括:(1)实验室环境分区;(2)实验室人员;(3)仪器设备;(4)试剂耗材;(5)软件和数据库;(6)SOPs;(7)样本采集、运输、接收和保存;(8)“湿实验”流程;(9)“干实验”流程;(10)结果

判读;(11)参考物质;(12)性能确认;(13)室内质量控制;(14)房间质量评价;(15)结果报告和解释。

七、证据检索及筛选

针对基于最终纳入的关键问题形成的推荐意见方向,系统检索支持实验室规范化指南的证据:(1)以“metagenomic next-generation sequencing”“infection”“pathogen”“diagnosis”“validation”和“guideline”及对应中文检索词为关键词,在 Pubmed、Web of Science、中国知网、万方数据库和维普数据库等检索中英文文献,证据检索截止日期为 2025 年 11 月 1 日;(2)通过追溯相关参考文献和谷歌补充搜索,证据检索截止日期为 2025 年 11 月 1 日。按照标题、摘要和全文的顺序逐级筛选文献证据;(3)证据来源于国家或国际标准化组织等权威机构发布的强制性法规、条例或标准;权威学术组织发布的指南、共识,或研究方法严谨、能够充分证明其结论的高质量原始研究。

八、推荐意见形成

本指南由执笔专家组撰写初稿,通过 3 轮面对面专家小组会,指南专家组基于国内外证据对推荐意见进行讨论、评议和修改,再由执笔专家组进行多轮修改,形成修改稿。第 4 轮面对面专家小组会后,采用改良德尔菲法请每位专家对每一条推荐意见进行投票。本指南设定:针对单条推荐意见,80% 及以上专家同意,则对该条推荐意见达成共识;80% 以下专家同意,则不纳入指南。根据投票的结果,对每条推荐意见分为两级,90% 及以上专家同意,则该条推荐意见为建议;80%~<90% 专家同意,则该条推荐意见为考虑。

九、指南的撰写和外审

执笔专家组撰写的各部分初稿确定后,由秘书组进行指南初稿整合,提交指南专家组进行审阅。根据反馈意见对初稿进行修改。最后确定的推荐意见交由指南指导专家完善和审定通过。

十、指南更新

指南工作组计划在 3 年左右时间或必要时对本指南进行更新。更新方法按照国际指南更新流程进行^[27]。

十一、传播与实施

指南发布后,指南工作组将主要通过以下方式对指南进行传播与

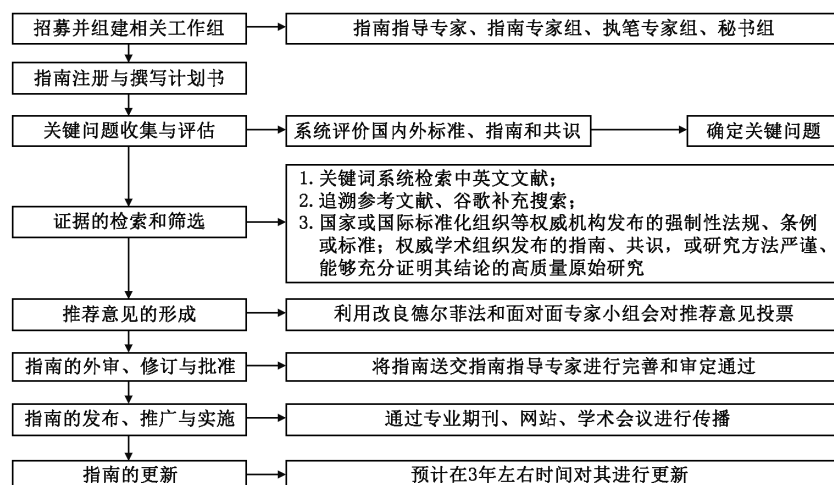


图1 本指南的整体技术路线

推广:(1)在相关学术期刊发表;(2)在国内不同区域、不同学科组织指南推广专场,确保实验室人员充分了解并正确应用本指南;(3)通过微信、网络和其他媒体进行推广。

第二部分 推荐意见及说明

一、mNGS 的预期用途

临床实验室开展的 mNGS 检测项目需有明确的临床预期用途。预期用途应至少包括以下信息:疾病类型或症候群、标本类型、适用人群、检测病原体核酸类型(DNA、RNA 或两者皆有)以及临床意义(如提供补充病原学证据以辅助诊断)^[8]。

推荐意见 1: 临床实验室开展的 mNGS 检测项目需有明确的临床预期用途。预期用途应至少包括以下信息:疾病类型或症候群、标本类型、适用人群、检测病原体核酸类型(DNA、RNA 或两者皆有)以及临床意义(如提供补充病原学证据以辅助诊断)。(建议)

二、mNGS 实验室建设要求

(一)基本要求

开展 mNGS 的临床实验室(以下简称“mNGS 实验室”)应依据《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》获得相应资质^[28]。mNGS 实验室应为二级生物安全实验室,生物安全管理参照《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2024 年修订版)进行^[29]。

(二)实验室环境分区和工作原则

1. 环境分区:实验室应根据开展的 mNGS 项目类型的数量、“湿实验”技术流程和工作量大小进行分区设置,并保证充分有效通风,以降低环境微生物和扩增产物污染风险^[9, 30]。

“湿实验”过程的区域应设置试剂准备区、标本制备区、文库制备区、文库扩增区(如适用)和测序区。试剂准备区用于试剂、耗材的存放以及试剂配制;标本制备区用于临床标本的去宿主核酸(如适用)、核酸提取以及质控品的核酸提取。血液和脑脊液等无菌标本和下呼吸道等有菌标本的提取应在不同的区域或生物安全柜进行,如因条件限制需在共用区域或同一生物安全柜操作,应在不同批次(推荐先血液或脑脊液等浆膜腔无菌部位标本,再下呼吸道等非无菌部位标本)进行,且在批次间对该区域进行充分清洁;如“湿实验”流程需通过超声打断进行基因组片段化,宜单独设置“打断区”;文库制备区用于完成酶法核酸片段化(如适用)、逆转录(如适用)、片段化核酸加 A 尾及接头和标签等;文库扩增区用于文库的扩增、定量和混合。如实验方法不涉及文库扩增则无需设置文库扩增区;测序区用于完成文库的高通量测序。注意测序区应保持温湿度稳定,符合区域内仪器设备的正常运行要求,避免震动,以保证测序质量。如使用一体化仪器,可在确认仪器无样本间交叉污染和扩增产物残留污染风险后,根据仪器功能适当合并上述区域。“干实验”过程(生物信息学分析)可设置于办公区域。

2. 工作原则:mNGS 实验室工作按试剂准备区、标本制备区、文库制备区、文库扩增区(如适用)和测序区单一流向进行,各区物品专用,包括试剂及相关耗材(如样本架、离心管、移液吸头等)、可移动仪器设备(如加样器、小型离心机等)及其他相关物品(如实验室工作服、实验记录本、记号笔、医用口罩、一次性手套、清洁用具)等^[30]。实验室应建立外来人员的准入制度,避免外来人员对实验室内环境微生物的影响。“湿实验”操作人员应穿着洁净工作服、戴帽子、医用口罩和一次性手套等,以尽量避免来自操作人员体表的外源微生物污染^[31]。在实验开始前和完成后,需采用季铵盐类或含氯消毒剂(推荐 10% 次氯酸钠)对实验室进行清洁,实验室应建立相应的清洁程序。应严格避免加接头前的实验过程发生标本间交叉污染。不推荐 mNGS 实验室与病原体常规分子检测(如实时荧光 PCR)共用区域,如果特殊情况下确需共用区域(如共用试剂准备区、标本制备区),各区域工作及管理均需参照本指南 mNGS 实验室工作原则要求进行。

推荐意见 2: 实验室应根据开展的 mNGS 项目类型的数量、“湿实验”技术流程和工作量大小进行分区设置,并保证有效通风,以降低环境微生物和扩增产物污染风险。实验室工作应按照单一流向进行,建立并执行物品专用、外来人员准入制度和实验前后的清洁程序。不推荐 mNGS 实验室与病原体常规分子检测(如实时荧光 PCR)共用区域,如果特殊情况下确需共用区域(如共用试剂准备区、标本制备区),各区域工作及管理均需参照本指南 mNGS 实验室工作原则要求进行。(建议)

(三)实验室人员

实验室人员组成应至少包括实验室负责人、“湿实验”操作人员、“干实验”分析人员以及结果报告人员等^[13]。实验室人员应参加省级以上卫生行



政部门指定机构,依据《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》(卫办医政发[2010]194号)组织的可满足mNGS检测人员上岗要求的技术培训,以及mNGS检测相关制度化内部培训并考核通过,确认能力满足要求后,方可从事mNGS临床检测工作^[28]。实验室应配备满足本指南各项要求能力的人员。

推荐意见3:实验室人员应参加省级以上卫生行政部门指定机构,依据《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》(卫办医政发[2010]194号)组织的可满足mNGS检测人员上岗要求的技术培训,以及mNGS检测相关制度化内部培训并考核通过,确认能力满足要求后,方可从事mNGS临床检测工作。(建议)

(四)仪器设备

实验室应配备满足mNGS检测项目所需的仪器设备。在选择高通量测序仪时,宜综合考虑日常检测样本量、测序通量、运行时间和成本效益等^[9]。新的测序仪安装完成后,应首先对测序仪进行安装后的确认,确认通过后方可投入使用。实验室应建立仪器使用、维护和校准程序,并在日常工作中按照程序进行日常维护和定期校准,以保证仪器设备的正常有效运行。仪器使用程序应包括每次实验完成后仪器的清洁程序,从而最大程度降低因仪器清洁不到位所致的污染风险。如更换新的测序仪(相同或不同型号),除安装后的确认,实验室还需采用之前已测序样本进行重测,或新旧测序仪对已知结果样本进行平行检测,结果一致方可使用^[32]。

推荐意见4:实验室应配备满足mNGS检测项目所需的仪器设备。实验室应建立仪器使用、维护和校准程序,并在日常工作中按照程序进行日常维护和定期校准,以保证仪器设备的正常有效运行。仪器使用程序应包括每次实验完成后仪器的清洁程序,从而最大程度降低因仪器清洁不到位所致的污染风险。(建议)

(五)试剂、耗材、软件和数据库

1. 试剂:“湿实验”过程各种试剂如核酸提取、去人源核酸、建库、扩增和测序试剂等的制备过程应有严格的背景微生物(或其核酸片段)的控制措施。每批次试剂均需进行背景微生物(或其核酸片段)的确认^[30-33]。

2. 耗材:标本采集和“湿实验”过程中涉及的各种耗材(如标本采集管、离心管、吸头等)应有控制

背景微生物(或其核酸片段)的必要措施,如高压灭菌或采用化学试剂处理等。样本吸取应使用带滤芯吸头^[30-31]。

3. 软件:实验室应建立“干实验”过程中生物信息学分析软件更新程序。更新后的分析软件和流程应经过验证,建议使用至少3个更新前分析过的数据来重新验证影响关键流程的参数(如碱基识别、比对、物种分类等),且数据至少包括一种细菌、真菌、DNA病毒、RNA病毒(如适用)和寄生虫(如适用),以确保更新后的分析软件和流程至少具有与更新前同等的性能^[32]。

4. 数据库:病原微生物参考数据库对结果有决定性影响,数据库中微生物核酸序列信息的错误或不完整、与人基因序列的同源性等,将导致假阳性和(或)假阴性结果^[10, 34]。实验室应明确数据库以下方面的信息:(1)参考数据库来源,如公共数据库、实验室测序数据;(2)公共数据库应有版本号或日期;(3)涉及实验室测序数据应说明样本来源、mNGS检测流程、测序数据的纳入标准等;(4)多种来源的参考数据库,应说明基于多种来源数据建立参考数据库的方法;(5)对来自公共数据库或实验室测序数据进行筛选、优化的,应说明具体方法和数据纳入标准,如物种代表性序列(不同型别、不同亚型、不同代表株和近缘微生物等)的选择、冗余序列的去除、低质量序列(如测序质量低、序列不完整等)的过滤、人源序列的过滤、物种分类和微生物命名信息错误的纠正等。

实验室应建立病原微生物参考数据库的更新程序,原则上非必要不更新。实验室必须明确在何种情况下更新参考数据库,评估更新对结果的可能影响。更新后的数据库应经过验证,建议使用至少10个更新前分析过的数据来重新验证,数据需覆盖细菌、真菌、DNA病毒、RNA病毒(如适用)和寄生虫(如适用),以及数据库更新中涉及的代表性病原体。

推荐意见5:“湿实验”过程涉及的试剂、标本采集和“湿实验”过程涉及的耗材应有严格的背景微生物(或其核酸片段)的控制措施。每批次试剂均需进行背景微生物(或其核酸片段)的确认。实验室应建立“干实验”过程中生物信息学分析软件更新程序。实验室应明确数据库的基本信息(如数据来源、数据纳入标准、公共数据库版本等),原则上非必要不更新。更新后的分析软件、流程和数据库需验证通过后方可使用。(建议)



(六) SOPs

实验室应根据预期用途在 SOPs 中明确建议何种情况下使用 mNGS 检测, 并与临床进行必要的沟通^[8]。强烈推荐实验室建立与常规方法(培养、常规分子检测、核酸快速检测^[35]和血清学检测等)相结合的临床检验路径, 即先采用或同时采用常规方法(培养、常规分子检测、核酸快速检测和血清学检测等), 在特定情况下(例如, 怀疑中枢神经系统急性感染、危重血流感染, 在完成常规实验室检查、微生物培养、传统分子检测或核酸快速检测的同时或之后, 未获得明确病原学证据且经验性抗感染治疗无效的患者)采用 mNGS 检测^[11]。

实验室应具有固定的检测流程, 包括但不限于分析前(检验申请、标本采集、运输、接收和保存)、分析中[标本处理、核酸提取、文库构建、测序、生物信息学分析, 特别是不同类别病原体的阳性判断值(cut-off 值)建立]和分析后(结果报告与解释、检测后标本的保存与销毁、数据存储)各环节程序及质量值要求(如适用)。实验室应建立涵盖 mNGS 全流程的质量控制程序, 包括但不限于外源微生物(包括核酸)污染控制、室内质量控制和室间质量评价等^[8]。

针对不同的 mNGS 项目, 应分别制定相应的 SOPs。同一 mNGS 项目如涉及不同标本类型, 应至少分别制定相应的标本采集、运输、接收和保存的 SOPs。日常检测工作中, 实验室人员应严格遵循 SOPs, 并对检测全流程进行记录(特别是各环节的质量值), 以保证检测的性能和结果的可追溯性。如需对 SOPs 修改, 应在一定的程序下进行, 如实验室负责人召集相关人员进行讨论, 并进行必要的验证。

推荐意见 6: 实验室应根据预期用途在 SOPs 中明确建议何种情况下使用 mNGS 检测, 并与临床进行必要的沟通。推荐实验室建立与常规方法相结合的临床检验路径。实验室应具有固定的检测流程, 包括但不限于分析前(检验申请、标本采集、运输、接收和保存)、分析中(标本处理、核酸提取、文库构建、测序、生物信息学分析, 特别是不同类别病原体的 cut-off 值建立)和分析后(结果报告与解释、检测后标本的保存与销毁、数据存储)各环节程序及质量值要求(如适用), 并建立涵盖 mNGS 检测全流程的质量控制程序。(建议)

三、标本采集、运输、接收和保存

(一) 概述

实验室可通过比较标本在采集后不同时间点

(至少包括标本采集后、标本经过一定条件保存后和运输过程后)的检测结果, 明确标本采集管、保存条件、运输条件和标本送达实验室后至检测前的保存条件对标本质量是否存在影响。如无明显差异, 则说明标本质量符合要求。

不同类型标本应分别规定其采集、运输、接收和保存要求。同时用于 DNA 和 RNA 病原体检测的标本应分别规定其采集、运输、接收和保存要求。

(二) 标本采集

应尽可能在洁净的区域采集标本^[30-31]。标本采集人员(如医师、护士、技师等)应尽可能不暴露体表(如穿着洁净工作服、戴帽子、医用口罩、一次性手套等), 使用无菌、去核酸处理的标本采集管和采集工具, 采集过程中应无菌操作, 采集后应立即密封, 减少标本暴露于空气中的时间, 以避免来自采样环境、标本采集人员或患者体表的外源微生物污染。

(三) 标本运输

实验室应规定标本运输要求。标本运输应由经过培训的人员负责, 运输包装、标识和过程应符合国家生物安全要求。每个标本管外应采用一次性密封袋封装, 以避免标本泄漏导致标本间交叉污染。实验室应根据标本可稳定保存的条件, 规定允许的运输温度范围和最长时间限。

(四) 标本接收

实验室应规定标本接收的质量要求, 特别注意标本采集的质量, 必要时建立标本的质检程序, 确认标本(如肺泡灌洗液、痰等)是否合格。对不符合质量要求的标本, 如未采集到合格标本、标本量不足、标本泄露、污染、超过运输要求时限、运输温度过高、严重溶血等, 应制定相应的处理程序, 如拒收、重新采样和让步检测等。如涉及标本预处理, 实验室还应建立预处理程序。

(五) 标本保存

保存条件(温度、时间、保存液等)对标本中微生物组成有较大影响, 不当的保存可能导致致病微生物的降解和某些微生物(如背景菌、需氧菌等)的生长。实验室应根据标本可稳定保存的条件, 建立标本采集后、标本送达实验室后至检测前的保存温度和最长时间。如涉及采集后的预处理, 还应建立预处理后的标本保存条件。例如, 对于血浆标本, 实验室应明确采集后至血浆分离前的全血标本保存温度和时间, 以及分离后血浆保存温度和时间。实验室还应建立检测后标本留存和销毁程序。



推荐意见 7: 实验室应特别注意控制标本采集、运输过程中的微生物污染。推荐尽可能在洁净区域采集标本,使用无菌、去核酸处理的标本采集管,采集过程中无菌操作,采集后应立即密封并采用一次性密封袋封装标本采集管等。实验室应规定标本的运输要求和质量要求,并建立标本的质检程序,对不符合质量要求的标本,应制定相应的处理程序。实验室应根据标本可稳定保存的条件,规定标本采集后、预处理后(如适用)、标本送达实验室后至检测前的保存温度和最长时间等。(建议)

四、“湿实验”流程

实验室应建立“湿实验”流程的 SOPs,至少包括去宿主核酸(如适用)、核酸提取、文库制备(含文库扩增)和测序等环节^[36]。实验室应建立各环节的质量值要求,包括但不限于核酸提取、文库制备(含文库扩增)和测序。建议至少需监测的质量值有:(1)核酸提取:DNA 或 RNA 提取浓度。血浆标本可考虑包括核酸片段大小;(2)文库制备:文库浓度。推荐包括文库片段大小;(3)测序:测序数据量和 Q30(即测序数据中质量值>30 的碱基比例)。实验室应建立各环节质量标准的测定方法,如荧光法测定核酸浓度、毛细管电泳法测定片段大小等。

实验室应建立各环节标本保存温度和时间的要求,包括但不限于已提取核酸的保存、已建立文库的保存等。原则上应尽快进行后续检测,避免反复冻融。

推荐意见 8: 实验室应建立“湿实验”流程的 SOPs,至少包括去宿主核酸(如适用)、核酸提取、文库制备(含文库扩增)和测序等环节。实验室应建立各环节的质量值要求和测定方法,并在日常检测中对质量值进行监测。(建议)

五、“干实验”流程

实验室应建立覆盖原始数据质控、宿主序列过滤和物种注释等环节的“干实验”SOPs^[10]。SOPs 中应至少包括分析软件、软件版本、软件参数设置、数据库等以及原始数据质控、宿主序列过滤和物种注释各环节的质量值要求。如软件版本、数据库更新应记录软件或数据库的版本号或数据库的使用日期。根据“干实验”各环节建议如下。

1. 原始数据质控:包括样本拆分、去除接头序列和数据过滤等。可使用 FastQC 评估原始数据质量,利用 fastp、Trimmomatic 或 Cutadapt 等开源软件进行接头去除和数据过滤。实验室应明确过滤的数据类型,如低质量数据、特定长度的数据、重复序

列和低复杂度序列等,并建立下机数据的质量值要求,如测序数据量、有效测序数据量、簇密度和碱基质量值等。

2. 宿主序列过滤:指去除测序数据中的人源序列,可采用 Bowtie2、BWA 或 Kraken2 等软件,将测序数据与人类基因组参考数据库进行比对,并去除可比对至人类基因组参考数据库的序列。实验室应明确使用的人基因组参考数据库及版本号,并建立宿主序列过滤的质量值要求,如过滤后有效数据量、非宿主数据量占比等^[37]。

3. 物种注释:指通过数据质控的非宿主序列与微生物参考数据库比对,在特定的序列相似性阈值下进行微生物物种分类。可采用基于启发式算法(如 BLAST 和 diamond)、k-mer 算法(如 Kraken2)、BWT 算法(如 Kaiju)或 marker 基因比对算法(如 MetaPhlAn4)的软件。实验室应建立物种注释的质量值要求,如有效序列中可注释比例、测序序列与参考基因组的最小比对相似度等。

推荐意见 9: 实验室应建立覆盖原始数据质控、宿主序列过滤和物种注释等环节的“干实验”SOPs。SOPs 至少包括分析软件、软件版本、软件参数设置、数据库以及原始数据质控、宿主序列过滤和物种注释各环节的质量值要求。(建议)

六、结果判读

(一)阳性判断值

cut-off 值用于区分定性检测的阴阳性结果。实验室应使用具有阳性判断值的 mNGS 方法,以用于判定病原体核酸的定性结果^[8]。基于阳性判断值进行 mNGS 结果判读,才能形成固定检测流程并用于临床诊疗。

阳性判断值可基于一定数量的临床标本,通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线等方法来建立。对于同一 mNGS 检测项目,实验室可根据不同类型的病原体(如 DNA 病毒、RNA 病毒、革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌和寄生虫等)、不同病原体特征(如有无细胞壁、是否为胞内菌等)、不同标本类型(如血液、脑脊液、痰液和肺泡灌洗液等)分别设定阳性判断值。常用的阳性判断值建立规则有^[38-39]:(1)病原体特异性 reads 数;(2)每百万测序 reads 中匹配到该病原体的 reads 数量(reads per million, RPM);(3)覆盖到参考基因组上非重叠区域的 reads 数;(4)RPM-r 值,即临床标本相对于无模板对照每百万测序 reads 中匹配到该病原体的 reads 数的比值($\text{RPM}_{\text{sample}}/\text{RPM}_{\text{NTC}}$)。



如某病原体的检测值高于阳性判断值,说明该病原体检出,可能来自临床标本,也可能来自于从标本采集至“湿实验”全过程引入的外源微生物(即背景微生物),实验室可通过建立背景微生物数据库(或外源微生物列表)来排除来自外源引入而非临床标本中的微生物(或核酸)的结果。如某病原体的检测值低于阳性判断值,提示该病原体未检出,可能该病原体(或核酸)不存在或有病原体(或核酸),但检测值低于阳性判断值。检测值大小不能作为定植或致病的依据,需紧密结合临床进行解读^[40]。

(二)背景微生物数据库的建立

mNGS从标本采集至“湿实验”全过程均可能引入外源微生物(包括核酸),因此背景微生物的主要来源为试剂、环境(标本采集处和各实验室区域)和耗材。实验室应关注季节、试剂批次更换和耗材更换等对背景微生物数据库(或外源微生物列表)的影响。

实验室可通过一段时间采用空白对照,建立覆盖标本采集至检测全过程的背景微生物数据库(或外源微生物列表),以用于排除来自外源引入而非临床标本中的微生物(或核酸)的结果^[30]。空白对照可为包含一定浓度的核酸(如人基因组DNA、carrier DNA),并经过无菌处理。实验室在采集临床标本时,可在相同环境、使用相同批次的标本采集所需物品(如采样管、采血管、灌洗盐水等),作为标本采集环节的空白对照,并完成相同的mNGS实验室检测过程。推荐在临床检测开展前的一段时间内进行,以建立初始背景微生物数据库;临床检测开展后,应定期监测以进行背景微生物数据库的补充更新。如标本采集至“湿实验”过程中的试剂、耗材更换或出现可能影响背景微生物的因素,实验室应重新进行空白对照检测,以监测背景微生物数据库的变化并及时更新。

(三)结果判读

实验室进行mNGS结果判读应遵循以下原则:首先根据阳性判断值判定病原体核酸的定性结果,然后排除其中来自外源引入而非临床标本中的病原体(或核酸)的结果后,给出最终的检测结果。

推荐意见 10:实验室应使用具有阳性判断值的mNGS,以用于判定病原体核酸的定性结果。实验室可根据不同类型的病原体、不同病原体特征和不同标本类型分别设定阳性判断值。实验室应建立覆盖标本采集至检测全过程的背景微生物数据

库(或外源微生物列表),从而用其排除来自外源引入而非临床标本中的微生物(或核酸)的结果。实验室进行mNGS结果判读应遵循的原则为:首先根据阳性判断值判定病原体核酸的定性结果,然后排除其中来自外源引入而非临床标本中的病原体(或核酸)的结果后,给出最终的检测结果。(建议)

七、参考物质

参考物质是实验室开展方法性能确认、试剂(或批次)更换时性能验证、室内质量控制和室间质量评价的前提^[41-44]。理想的参考物质为病原微生物成分明确的临床标本。但由于患者临床标本难以大量获得,病原微生物组成复杂,因此mNGS参考物质可使用模拟样本,特别适用于方法分析性能确认、室内质量控制和室间质量评价。mNGS参考物质建议满足以下要求:(1)具有良好的均匀性、稳定性和互通性;(2)含有人源核酸和病原体核酸,或含有人源细胞和灭活病原体,并有相应的浓度值;(3)血浆mNGS参考物质应考虑与游离DNA片段特征的一致性,宜采用经酶切等片段化处理的游离DNA模拟样本;(4)用于监测检测全过程(含核酸提取)的参考物质,应具有与临床标本相同或相近的基质(如模拟血浆、模拟脑脊液等);(5)“干实验”生物信息学分析的性能确认和方法优化,可采用计算机模拟数据或经过充分验证的数据集作为参考物质。例如通过建立包含不同浓度水平的目标病原体计算机模拟测序数据,来评估分析流程的最低检出限。实验室宜根据参考物质使用的目的,选择含有的病原体(或核酸)及浓度。

推荐意见 11:临床标本难以大量获得时,可使用基于模拟样本的mNGS参考物质,特别适用于方法的分析性能确认、室内质量控制和室间质量评价。参考物质应具有良好的均匀性、稳定性和互通性,可监测检测全过程(含核酸提取),具有与临床标本相同或相近的基质和特征,具有明确的病原体(或核酸)及浓度。推荐采用计算机模拟数据或经过充分验证的数据集作为“干实验”参考物质。(建议)

八、性能确认

(一)性能确认原则

实验室可根据预期用途中涵盖的病原体(如DNA病毒、RNA病毒、革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌、寄生虫)和耐药基因(如适用),对每一种类型的病原体选择代表性的菌株/病毒株进行性能确认。分析性能指标主要包括精密度(重复性和重现性)、



分析灵敏度、分析特异性、准确度和交叉污染等^[45-47]。

(二) 样本类型和数量

性能确认宜采用与预期用途一致的样本类型。如采用模拟样本,应尽可能包含与预期用途相同的基质类型。宜充分考虑模拟样本与真实样本的差异,以及对性能确认结果可能造成的影响,通常在模拟样本评价的基础上补充一定数量的临床标本。如实验室检测不同类型样本,应分别对每种类型样本进行性能确认。

当存在以下三种情况时,性能确认采用的样本数量可适当简化。(1)mNGS 仅作为补充检测。实验室先采用常规方法(如培养、常规分子检测、核酸快速检测和血清学检测等,且为国家药品监督管理局批准试剂)进行检测,并在 SOPs 中明确规定在何种情况下补充 mNGS 检测;(2)mNGS 检测流程曾进行过完整的性能确认。完整的性能确认需至少包括精密度(重复性和重现性)、分析灵敏度、分析特异性、抗干扰能力(人源核酸等干扰物质)、准确度、交叉污染、稳定性和生物信息学分析流程的性能确认。如实验室修改了 cut-off 值,需基于新的 cut-off 值重新进行性能确认;(3)mNGS 检测阳性结果均采用另一种方法确认:实验室 SOPs 中明确规定阳性结果采用何种方法确认以及确认流程,确认方法应优先选择国家药品监督管理局批准试剂或采用经过性能确认的自建方法(如常规分子检测或核酸快速检测)。实验室进行性能确认过程中,注意检测人员及数据分析人员应为盲样检测。

(三) 性能确认的方案设计

本共识仅对简化的性能确认方案进行建议。

1. 精密度:指一定条件下获得病原体检测结果的一致性程度,包括重复性和重现性^[32, 48]。

重复性指在相同条件下(相同操作人员、相同检测流程、相同仪器、相同检测批次和相同地点)重复检测同一样本,结果的一致性程度。具体做法:每种类型的病原体选择一个代表性的菌株/病毒株,由同一批操作人员,采用相同检测流程、相同仪器,在同一批次对其低浓度水平(检出限的 1.5~3.0 倍)重复检测 3 次,如目标病原体均检出,且其他病原体均未检出,说明重复性确认通过。

重现性指在不同条件下,如不同操作人员(如适用)、不同仪器(如适用)、不同批次,重复检测同一样本,结果的一致性程度。具体做法:每种类型的病原体选择一个代表性的菌株/病毒株,在至少

3 个不同批次,对其低浓度水平(检出限的 1.5~3.0 倍)重复检测 3 次,如果涉及不同操作人员、不同仪器,应在不同批纳入,如目标病原体均检出,且其他病原体均未检出,说明重现性确认通过。

2. 分析灵敏度:指能够可靠检出的目标病原体最低浓度水平^[8],也称最低检出限(limit of detection, LoD)。具体做法:向样本基质中添加每一种类型病原体的代表性菌株/病毒株,制备至少 5 个梯度稀释系列,每个梯度重复检测至少 3 次。以 100% 检出的最低病原体浓度水平为目标病原体的分析灵敏度。

实验室还需验证混合感染对目标病原体分析灵敏度的影响。具体做法:在样本基质中添加至少 4 种病原体(临床较常见的混合感染)的菌株/病毒株,其中目标病原体制备至少 5 个梯度稀释系列,每个梯度重复检测至少 3 次,其他病原体为临床常见浓度水平。以 100% 检出的最低病原体浓度水平为目标病原体的分析灵敏度,并与单独感染相比较,从而验证混合感染对目标病原体分析灵敏度的影响。

3. 分析特异性:指仅检出目标病原体的能力。具体做法:每种类型的目标病原体选择一个代表性的菌株/病毒株,实验室可检测与其基因组相似性高的近缘微生物以及能够引发相似症状或疾病的微生物(至少 3 种),未检出目标病原体说明分析特异性良好^[32]。

4. 准确度:指病原体检测结果与预期结果之间的一致性程度。预期结果可为基于对比方法(如培养和实时荧光 PCR 法等,且为药品监督管理局批准试剂或经过性能确认的自建方法)对临床标本检出的病原体结果。具体做法:使用 mNGS 和对比方法检测至少 30 份临床标本,应覆盖预期用途中的病原体(如 DNA 病毒、RNA 病毒、革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌、寄生虫),并涵盖当前代表性的流行病毒株/菌株,每一份临床标本应包括一种以上的病原体^[32]。mNGS 与对比方法不一致的,可采用第三种方法检测,如没有可用的第三种方法,可采用临床专家判定结果作为第三种结果(综合症状、影像学等其他临床证据)。对于无对比方法可用的病原体,可在样本基质中添加特定病原体(若适用,应涵盖当前代表性的流行菌株、基因型或亚型),并尽可能保证至少 10 份样本中包含弱阳性病原体(检出限的 1.5~3.0 倍),以验证 mNGS 结果与预期结果的一致性^[32]。



5. 交叉污染:指不同样本间核酸分子或扩增子等成分发生转移,从而导致检测结果出现假阳性的现象^[30-31]。如实验室使用提取仪、建库仪、一体化仪器等,开展检测前,应先对拟采用的检测系统是否存在交叉污染风险进行确认。具体做法:采用强阳性样本和阴性样本交叉放置的模式,至少连续检测 5 批^[49]。如阴性样本结果均为阴性,说明无样本间交叉污染。强阳性样本中应包含至少 2 种高浓度病原体(推荐细菌、病毒),理想情况下,高浓度应为超过目标适用人群中 95% 感染患者的病原体浓度水平。强阳性样本和阴性样本数量取决于自动化仪器的通量,推荐阳性阴性样本数量分别为仪器通量的 50%。

推荐意见 12:实验室可根据预期用途中涵盖的病原体(如 DNA 病毒、RNA 病毒、革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌、寄生虫)和耐药基因(如适用),对每一种类型的病原体选择代表性的菌株/病毒株进行性能确认。分析性能指标主要包括精密度(重复性和重现性)、分析灵敏度、分析特异性、准确度和交叉污染等。当存在以下 3 种情况时,性能确认采用的样本数量可适当简化:(1)mNGS 仅作为补充检测;(2)mNGS 检测流程曾进行过完整的性能确认;(3)mNGS 检测阳性结果均采用另一种方法确认。(建议)

九、室内质量控制

(一)采用质控品进行室内质量控制

室内质量控制可采用设置阳性质控品、阴性质控品、在标本中加入内参和标签等方式进行。

1. 阳性质控品:每一批实验应同时检测阳性质控品,以监测对阳性微生物,特别是弱阳性微生物的检测能力^[8, 30, 32, 50]。阳性质控品可采用含有人源核酸和病原体核酸,或含有人源细胞和灭活病原体,并有相应的浓度值(应为弱阳性,推荐浓度水平为最低检出限的 1.5~3.0 倍)的样本。建议尽量采用含有人源细胞和灭活病原体的阳性质控品,以监测核酸提取环节。阳性质控品应尽可能涵盖不同类型的微生物(如 DNA 病毒、RNA 病毒、细菌、真菌、寄生虫等)或实验室关注的特定病原体(如结核分枝杆菌)。

实验室应根据阳性质控品预期结果,建立日常检测中判断阳性质控在控或失控的方法(或统计学算法)。如失控,需分析原因并采取相应的纠正措施和预防措施。去宿主核酸、核酸提取、文库构建、测序和生物信息学分析环节均可能为失控的来源,

可通过在不同环节分别设置适当的阳性质控(核酸、文库或测序数据)来分析失控原因。

2. 阴性质控品:每一批实验应同时检测阴性质控品,以监测试剂(如去宿主核酸、核酸提取、建库和测序试剂等)、环境、耗材引入的微生物、气溶胶污染以及交叉污染^[8, 30, 32]。阴性质控品可为空白对照,其包含一定浓度的核酸(如人基因组 DNA、carrier DNA)且未掺入微生物(或微生物核酸)的样本。需要注意的是,由于环境、耗材、核酸样本中均可外源引入微生物或微生物核酸,mNGS 的阴性质控品并非不含有微生物(或微生物核酸)。实验室污染风险较高时(如标本量大、高浓度病原体感染),宜增加阴性质控品设置数量。

实验室应建立阴性对照的 mNGS 预期结果,包括阴性对照中含有的背景微生物(或微生物核酸),并根据预期结果,建立日常检测中判断阴性质控在控或失控的方法(或统计学算法)。如失控,需分析原因并采取相应的纠正措施和预防措施。试剂(如去宿主核酸、核酸提取、建库和测序试剂等)、环境、耗材引入的微生物、气溶胶污染、交叉污染以及生物信息学分析环节均可能为失控的来源。可通过在不同环节分别设置阴性质控来分析假阳性来源。

3. 内参:实验室可在每个标本中加入外源性内参,以监测每个标本检测过程的有效性^[8]。外源性内参可为包含自然界不存在核酸序列的噬菌体或假病毒,也可以是人源标本中不包含的微生物,如植物或极端环境下的微生物。在选择外源性内参时,实验室需确保其与人源序列、人标本中存在的病原体无交叉干扰。由于标本中核酸有可能影响内参的结果,实验室应建立内参结果合格的判定标准。去宿主核酸、核酸提取、文库构建、测序和生物信息学分析环节异常以及标本中存在干扰物质等因素均可能导致内参结果不合格。实验室应明确内参结果不合格时应采取的措施(如重新采样、重新提取等)。

4. 标签:实验室可在每个标本中添加标签,如唯一双端标签(unique dual index, UDI),以监测标本间交叉污染^[30]。实验室应建立交叉污染判定规则,以及发生交叉污染时需采取的措施。

(二)外源微生物污染的监测

mNGS 检测中外源微生物污染是绝对存在的,实验室应建立定期监测外源微生物污染水平变化的方法^[30-31],包括但不限于以下方面:(1)将空白对照结果与背景微生物数据库(或外源微生物列表)



进行比较;(2)定期(如每月或每周)使用浸泡在无菌水中的无菌棉签对实验室表面进行采样检测亦即擦拭实验(Swipe tests);(3)新批次的试剂或耗材使用前采用空白对照进行检测,以评价其是否存在外源微生物污染。记录试剂或耗材的批号,以便追溯外源微生物污染来源。

通过比较标本采集、核酸提取、文库制备和扩增环节空白对照结果,有助于查找外源微生物污染的来源。空白对照可为包含一定浓度的核酸(如人基因组 DNA、carrier DNA)且未掺入微生物(或微生物核酸)的样本。核酸提取、文库制备和扩增环节设置空白对照的做法如下^[30]:(1)核酸提取环节:实验室在对临床标本进行核酸提取时,在相同检测区域(如同一生物安全柜)、同一提取批次设置核酸提取环节的空白对照,并与同批次的提取样本完成后续相同的 mNGS 检测过程。核酸提取环节的空白对照可用于监测从核酸提取至测序的“湿实验”过程中引入的外源微生物;(2)文库制备和扩增环节:实验室在日常检测的文库制备环节,在相同检测区域、同一制备批次设置文库制备环节的空白对照,并与同批次的样本完成后续相同的 mNGS 检测过程。文库制备和扩增环节的空白对照可用于监测文库制备、文库扩增至测序的“湿实验”过程中引入的外源微生物。如实验室检出背景微生物数据库以外的致病病原体时,必须明确污染来源,并通过相应措施(如清洁采样环境、实验室、加强无菌操作、更换试剂等)消除病原体污染。

推荐意见 13:实验室应通过阳性质控品、阴性质控品、设置内参和标签的方式进行室内质量控制。实验室应定期监测外源微生物污染水平。特别是实验室检出背景微生物数据库以外的致病病原体时,必须明确污染来源,并通过相应措施(如清洁采样环境、清洁实验室、加强无菌操作、更换试剂等)消除病原体污染。(建议)

十、室间质量评价(external quality assessment, EQA)

实验室应通过定期参加 EQA/能力验证(proficiency testing, PT)来评价实验室检测能力、发现问题,并采取措施加以改进^[9]。如该项目未开展 EQA/PT,可与外部实验室(不少于两家)进行实验室间比对。EQA/PT 结果不合格或实验室间比对结果不符合的,应分析原因并提出有效的纠正措施,防止同样的问题再次发生。

推荐意见 14:实验室应通过定期参加 EQA/PT 或外

部实验室室间比对来评价实验室检测能力、发现问题,并采取措施加以改进。(建议)

十一、结果报告 and 解释

(一)结果报告

结果报告内容推荐至少包含以下信息:(1)患者基本信息:如患者姓名、性别、年龄、临床信息等;(2)标本信息:如标本类型、唯一编号、采集时间、送检时间、报告时间等;(3)检测信息:如检测方法、检出限等;(4)实验室信息:如实验室名称、联系方式、检测人、报告审核人等;(5)结果信息:包括:①病原体检出情况,即检出的病原体名称。如临床确有需求,实验室可根据标本类型(无菌、有菌)等,对检出的病原体提供必要的微生物学信息(如常见定植菌等);②可代表病原体丰度水平的参数(如每百万测序 reads 中匹配到该微生物的 reads 数量);③耐药基因(如适用);(6)不推荐常规报告检测过程的参数(如测序深度等)。如临床确有需求,建议实验室在与临床医师充分沟通后,作为报告的补充信息提供。

(二)结果解释

mNGS 检出的病原体结果不代表临床致病病原体,致病病原体的判断需结合临床,综合病原体致病特征(致病性、条件致病和定植等),病原体丰度、标本类型(采样部位)、患者病史、临床表现、影像学结果和其他实验室结果等方面进行^[40]。同时需考虑方法的局限性,必要时可进一步检测。

1. 方法的局限性:由于 mNGS 方法分析灵敏度的局限性,阴性结果不能排除感染;定植和致病的解读需结合临床进行;耐药基因结果不一定与表型相关,mNGS 检出的耐药基因结果需谨慎解读,并尽可能采用培养方法验证。

2. 进一步检测的建议:(1)mNGS 结果无病原体检出,但临床症状、影像学和其他实验室检查高度怀疑感染,常规方法(培养、常规分子检测、核酸快速检测和血清学检测等)未检出致病病原体,可查看低于阳性判断值的原始微生物列表,查找可能的致病病原体,并与临床沟通;(2)mNGS 结果中有病原体检出,但与临床表现不符,应首先明确临床标本中是否确实存在该病原体。可检查阳性结果是否为背景微生物、检查是否存在实验室残留产物污染或交叉污染等可能,必要时可采用自建的实时荧光 PCR 方法(包括核酸快速检测)进行验证。如为假阳性结果,应及时分析原因并纠正;如为真阳性结果,即标本中存在该病原体,可与临床沟通,如分



析来自采样部位污染(如患者皮肤)或定植等因素来进行综合解读。

推荐意见 15: 结果报告内容至少包括患者基本信息、标本信息、检测信息、实验室信息和结果信息。结果信息包括:①病原体检出情况,即检出的病原体名称。如临床确有需求,实验室可根据标本类型(无菌、有菌)等,对检出的病原体提供必要的微生物学信息(如常见定植菌等);②可代表病原体丰度水平的参数(如每百万测序 reads 中匹配到该微生物的 reads 数量);③耐药基因(如适用)。不推荐常规报告检测过程的参数(如测序深度等)。如临床确有需求,建议实验室在与临床医师充分沟通后,作为报告的补充信息提供。mNGS 检出的病原体结果不代表临床致病病原体,需进行结果解释。结果解释需结合临床并考虑方法的局限性,必要时可进一步检测。(建议)

本指南制订专家委员会名单

指南指导专家: 尚红[中国医科大学附属第一医院 医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心];李金明(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);马洁(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心)

牵头专家: 张瑞(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);韩晓旭[中国医科大学附属第一医院 医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心];应斌武(四川大学华西医院实验医学科 四川大学华西医院临床检验医学研究中心 四川省医学检验临床医学研究中心 四川大学华西医院医工结合研究院);周宏伟(南方医科大学深圳医院检验科 南方医科大学珠江医院检验医学部)

指南执笔: 韩彦熙(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);韩东升(浙江大学医学院附属第一医院检验科);宋薇(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);樊高威(首都医科大学附属北京朝阳医院 北京市临床检验中心);周娟(四川大学华西医院实验医学科);王铎(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);张瑞(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心)

指南专家组(按姓氏汉语拼音排序): 阿祥仁(青海省人民医院 青海省临床检验中心);包雯(国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心审评六部);蔡贞(南方医科大学南方医院检验医学科);曹永彤(中日友好医院检验科);陈发林(福州大学附属省立医院检验科);陈鸣(陆军军医大学第一附属医院检验科);陈瑜(浙江大学医学院附属第一医院检验科);杜鲁涛(山东大学齐鲁医院检验医学中心);凡任芝[中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)安徽省临床检验中心];樊高威(首都医科大学附属北京朝阳医院

北京市临床检验中心);高小玲(海南省人民医院检验科);关明(复旦大学附属华山医院检验医学科);关秀茹(哈尔滨医科大学附属第一医院检验科);韩东升(浙江大学医学院附属第一医院检验科);韩晓旭[中国医科大学附属第一医院 医疗辅助技术(医学检验)国家临床医学研究中心];韩彦熙(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);黄杰(中国食品药品检定研究院);胡敏(中南大学湘雅二医院检验医学科);胡炎伟(首都医科大学附属北京朝阳医院 北京市医学检验质量控制和改进中心);贾淑芹(北京大学肿瘤医院分子诊断中心);姜艳芳(吉林大学第一医院基因诊断中心);蒋黎(四川省医学科学院 四川省人民医院临床医学检验中心);李辉(新疆医科大学第一附属医院医学检验中心 新疆维吾尔自治区临床检验中心);李金明(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);李敏(上海交通大学医学院附属仁济医院);李燕明(北京医院 呼吸与危重症医学科);李子阳(中南大学湘雅二医院检验医学科);邴卫星(浙江省人民医院 浙江省临床检验中心);刘东来(中国食品药品检定研究院);刘容枝(国家药监局医疗器械技术审评中心临床与生物统计二部);姜金丽(首都医科大学附属北京佑安医院临床检验中心);鲁炳怀(中日友好医院呼吸与危重症医学科);罗阳(重庆大学附属人民医院 重庆市临床检验中心);罗招凡(中山大学附属第七医院检验科);吕允凤(国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心审评六部);马亮(中日友好医院检验科);穆红(天津市第一中心医院检验科);施毅(南京大学医学院附属金陵医院呼吸与危重症医学科);王辉(北京大学人民医院检验科);王丽丽[北京市医疗器械检验研究院(北京市医用生物防护装备检验研究中心)];王培昌(首都医科大学宣武医院检验科);王万海(郑州大学第一附属医院检验科);王雅杰(首都医科大学附属北京地坛医院检验科);王长印(山东第一医科大学附属省立医院临床医学检验部);魏慕筠(上海交通大学医学院附属仁济医院检验科);吴林寰(中国科学院微生物研究所);吴祁生(北京陆道培医院病理和检验医学科);吴涛(宁夏回族自治区人民医院 宁夏回族自治区临床检验中心 宁夏医科大学第三临床医学院);吴文娟[上海市东方医院(同济大学附属东方医院)南院检验科];吴小静(中日友好医院呼吸与危重症医学科);杨启文(北京协和医院检验科);杨新(烟台毓璜顶医院医学检验科);应斌武(四川大学华西医院实验医学科 四川大学华西医院临床检验医学研究中心 四川省医学检验临床医学研究中心 四川大学华西医院医工结合研究院);于艳华(首都医科大学附属北京佑安医院临床检验中心);袁薇(贵州省临床检验中心);袁育林(广西壮族自治区人民医院检验科 广西壮族自治区临床检验中心);臧长海(山西省临床检验中心);张强(北京市顺义区医院检验科);张瑞(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);赵建宏(河北医科大学第二医院 河北省临床检验中心);郑磊(南方医科大学南方医院检验医学科);郑媛婷(复旦大学生命科学学院);



周宏伟(南方医科大学深圳医院检验科 南方医科大学珠江医院检验医学部);周娟(四川大学华西医院实验医学科);周细国(湖南省第二人民医院 湖南省临床检验中心);宗志勇(四川大学华西医院 感染性疾病中心);邹迎曙[北京市医疗器械检验研究院(北京市医用生物防护装备检验研究中心)]

指南秘书组:马樱硕(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);宋薇(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心);王铎(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心)

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Wilson MR, Sample HA, Zorn KC, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis[J]. N Engl J Med, 2019, 380(24): 2327-2340. DOI: 10.1056/NEJMoa1803396.
- [3] Yan M, Shang L, Wang Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing on treatment strategies and prognosis of patients with lower respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Antimicrob Agents, 2025, 65(3): 107440. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2024.107440.
- [4] Zhu Y, Miao H, Zhang J, et al. Role of plasma and blood-cell co-metagenomic sequencing in precise diagnosis and severity evaluation of sepsis, a prospective cohort study in sepsis patients[J]. J Infect, 2025, 90(3): 106434. DOI: 10.1016/j.jinf.2025.106434.
- [5] World Health Organization. WHO handbook for guideline development, 2nd Edition[EB/OL]. [2025-11-01]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241548960>.
- [6] 陈耀龙, 杨克虎, 王小钦, 等. 中国制订/修订临床诊疗指南的指导原则(2022 版)[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(10): 697-703. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20211228-02911.
- [7] Song Y, Alonso-Coello P, Ballesteros M, et al. A reporting tool for adapted guidelines in health care: the RIGHT-Ad@pt Checklist[J]. Ann Intern Med, 2022, 175(5): 710-719. DOI: 10.7326/M21-4352.
- [8] Food and Drug Administration. Infectious disease next generation sequencing based diagnostic devices: microbial identification and detection of antimicrobial resistance and virulence markers: draft guidance for industry and Food and Drug Administration staff[EB/OL]. [2025-11-01]. <https://fda.report/media/98093/infectious-disease-nextgen-sequence.pdf>.
- [9] López-Labrador FX, Brown JR, Fischer N, et al. Recommendations for the introduction of metagenomic high-throughput sequencing in clinical virology, part I : wet lab procedure[J]. J Clin Virol, 2021, 134: 104691. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104691.
- [10] de Vries J, Brown JR, Couto N, et al. Recommendations for the introduction of metagenomic next-generation sequencing in clinical virology, part II : bioinformatic analysis and reporting[J]. J Clin Virol, 2021, 138: 104812. DOI: 10.1016/j.jcv.2021.104812.
- [11] University of Nebraska Medical Center. Clinical guidance on the use of next generation sequencing (NGS) tests for infectious diseases [EB/OL]. [2025-11-01]. https://www.unmc.edu/intmed/_documents/id/asp/ngs.pdf.
- [12] 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, 28(2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.005.
- [13] 北京市临床检验中心, 北京医学会检验医学分会, 首都医科大学临床检验诊断学系, 等. 高通量测序技术临床检测规范化应用北京专家共识(第一版通用部分)[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(43): 3393-3397. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.43.008.
- [14] 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用共识专家组, 中国研究型医院学会脓毒症与休克专业委员会, 中国微生物学会微生物毒素专业委员会, 等. 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识(第一版)[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(5): 531-536. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200228-00095.
- [15] 中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(12): 1181-1195. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200903-00704.
- [16] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11): 681-689. DOI: 10.3760/cma.j.cn311365-20200731-00732.
- [17] 中华医学会检验医学分会. 宏基因组测序病原微生物检测生物信息学分析规范化管理专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(9): 799-807. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210322-00178.
- [18] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2): 107-120. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20201026-00794.
- [19] 中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液宏基因组学第二代测序应用专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54(12): 1234-1240. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20210730-00532.
- [20] 中华医学会细菌感染与耐药防治分会. 呼吸系统感染中宏基因组测序技术临床应用与结果解读专家共识[J]. 中华临床感染病杂志, 2022, 15(2): 90-102. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2022.02.002.
- [21] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 宏基因组二代测序技术在新生儿感染性疾病中的临床应用专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2022, 60(6): 516-521. DOI: 10.3760/cma.j.cn112140-20220113-00046.
- [22] 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.
- [23] 中国重症社区获得性肺炎研究协作组. 重症社区获得性肺炎患者支气管肺泡灌洗液的宏基因组测序结果临床判读指导原则[J]. 国际呼吸杂志, 2023, 43(1): 7-14. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20220715-00611.
- [24] 中华医学会血液学分会抗感染学组. 宏基因组二代测序技术在血液病患者感染病原诊断中的应用中国专家共识(2023 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(8): 617-623.



- DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.08.001.
- [25] 中国药师协会, 中华医学会细菌感染与耐药防治分会, 国家卫生健康委临床抗微生物药物敏感性折点研究和标准制定专家委员会. 病原宏基因组高通量测序临床本地化检测规范专家共识[J]. 中华预防医学杂志, 2024, 58(4): 454-465. DOI: 10.3760/cma.j.cn112150-20230720-00019.
- [26] 中华医学会检验医学分会. 病原微生物宏基因组测序生物信息分析及报告质量控制专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2025, 48(1): 28-37. DOI: 10.3760/cma. j. cn114452-20240528-00275.
- [27] Vernooij RW, Sanabria AJ, Solà I, et al. Guidance for updating clinical practice guidelines: a systematic review of methodological handbooks[J]. Implement Sci, 2014, 9: 3. DOI: 10.1186/1748-5908-9-3.
- [28] 中华人民共和国卫生部办公厅. 医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法(卫办医政发〔2010〕194号)[EB/OL]. [2025-11-01]. <https://www.nccl.org.cn/showRuleDetail?code=07&id=15>.
- [29] 中华人民共和国国务院. 病原微生物实验室生物安全管理条例(国务院 424 号令)[EB/OL]. [2025-11-01]. https://www.gov.cn/gongbao/content/2019/content_5468882.htm.
- [30] Eisenhofer R, Minich JJ, Marotz C, et al. Contamination in low microbial biomass microbiome studies: issues and recommendations[J]. Trends Microbiol, 2019, 27(2): 105-117. DOI: 10.1016/j.tim.2018.11.003.
- [31] Fierer N, Leung PM, Lappan R, et al. Guidelines for preventing and reporting contamination in low-biomass microbiome studies[J]. Nat Microbiol, 2025, 10(7): 1570-1580. DOI: 10.1038/s41564-025-02035-2.
- [32] New York State Department of Health. Validation of next generation sequencing (NGS)-based methods for identification and/or characterization of infectious agents (isolates only) [EB/OL]. [2025-11-01]. https://www.wadsworth.org/sites/default/files/WebDoc/ID_WGS_NGS_Molecular_Guidance_update_032223.pdf.
- [33] 李丰帆, 李子阳, 张嘉梁, 等. 病原微生物宏基因组高通量测序标准化的现状及对策[J]. 中华医学杂志, 2025, 105(18): 1456-1460. DOI: 10.3760/cma. j. cn112137-20241030-02444.
- [34] Sichtig H, Minogue T, Yan Y, et al. FDA-ARGOS is a database with public quality-controlled reference genomes for diagnostic use and regulatory science[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3313. DOI: 10.1038/s41467-019-11306-6.
- [35] 中国医学装备协会基因检测分会, 国家医学检验临床医学研究中心, 北京市医学检验质量控制和改进中心. 病原体核酸快速检测临床实验室规范化应用专家共识(2025 版)[J]. 中华医学杂志, 2025, 105(24): 1968-1973. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20250405-00837.
- [36] Bharucha T, Oeser C, Balloux F, et al. STROBE-metagenomics: a STROBE extension statement to guide the reporting of metagenomics studies[J]. Lancet Infect Dis, 2020, 20(10): e251-e260. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30199-7.
- [37] Wu-Woods NJ, Barlow JT, Trigodet F, et al. Microbial-enrichment method enables high-throughput metagenomic characterization from host-rich samples[J]. Nat Methods, 2023, 20(11): 1672-1682. DOI: 10.1038/s41592-023-02025-4.
- [38] 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.
- [39] Chen W, Liu G, Cui L, et al. Evaluation of metagenomic and pathogen-targeted next-generation sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis in adults: a multicenter prospective observational cohort study in China[J]. J Infect, 2024, 88(5): 106143. DOI: 10.1016/j.jinf.2024.106143.
- [40] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 341-355. DOI: 10.1038/s41576-019-0113-7.
- [41] Han D, Diao Z, Lai H, et al. Multilaboratory assessment of metagenomic next-generation sequencing for unbiased microbe detection[J]. J Adv Res, 2022, 38: 213-222. DOI: 10.1016/j.jare.2021.09.011.
- [42] Diao Z, Lai H, Han D, et al. Validation of a metagenomic next-generation sequencing assay for lower respiratory pathogen detection[J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(1): e0381222. DOI: 10.1128/spectrum.03812-22.
- [43] Diao Z, Zhang Y, Chen Y, et al. Assessing the quality of metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection in lower respiratory infections[J]. Clin Chem, 2023, 69(9): 1038-1049. DOI: 10.1093/clinchem/hvad072.
- [44] Diao Z, Zhao Z, Han Y, et al. A comprehensive assessment of metagenomic cfDNA sequencing for microbe detection [J]. Clin Chem, 2025, 71(7): 763-774. DOI: 10.1093/clinchem/hvaf044.
- [45] 李金明. 高通量测序技术[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- [46] Schlager R, Chiu CY, Miller S, et al. Validation of metagenomic next-generation sequencing tests for universal pathogen detection[J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(6): 776-786. DOI: 10.5858/arpa.2016-0539-RA.
- [47] 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.
- [48] International Organization for Standardization. ISO 18113-1: 2022 in vitro diagnostic medical devices — information supplied by the manufacturer (labelling) — part 1: terms, definitions, and general requirements Edition 2[EB/OL]. [2025-11-01]. <https://www.iso.org/standard/79866.html>.
- [49] Food and Drug Administration. Respiratory viral panel multiplex nucleic acid assay-class II special controls guidance for industry and FDA staff[EB/OL]. [2025-11-01]. <https://www.fda.gov/medical-devices/guidance-documents-medical-devices-and-radiation-emitting-products/respiratory-viral-panel-multiplex-nucleic-acid-assay-class-ii-special-controls-guidance-industry-and>.
- [50] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. Annu Rev Pathol, 2019, 14: 319-338. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012751.

