

临床微生物快速检测新技术发展现状与前景

宁雅婷^{1,2}, 杨启文¹, 陈新飞^{1,2}, 郁谨菡^{1,2}, 李雪^{1,3}, 徐英春¹

¹ 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院检验科 疑难重症及罕见病国家重点实验室, 北京 100730

² 中国医学科学院 北京协和医学院研究生院, 北京 100005

³ 首都医科大学附属北京安贞医院检验科, 北京 100029

通信作者: 徐英春 电话: 010-69159766, E-mail: xycpumch@139.com

【摘要】 感染性疾病起病急、进展快，早期精准识别和监测病原体耐药性对患者预后及遏制耐药至关重要。临床微生物常规技术已无法满足快速诊疗的需求，因此快速检测技术成为检验与临床关注的焦点。本文论述快速鉴定与药物敏感性检测的最新技术研究现状、问题及未来发展要点，旨在为临床微生物实验室未来新技术的引入提供参考。

【关键词】 临床微生物学；快速检测；鉴定；基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱；光谱技术；电化学生物传感器；宏基因组测序；体外抗菌药物敏感性试验

【中图分类号】 R446.5; R1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-9081(2021)04-0427-06

DOI: 10.12290/xhyxzz.2021-0387

Current Situation and Prospect of New Techniques for Rapid Clinical Microbiological Testing

NING Yating^{1,2}, YANG Qiwen¹, CHEN Xinfei^{1,2}, YU Jinhan^{1,2}, LI Xue^{1,3}, XU Yingchun¹

¹ Department of Clinical Laboratory, State Key Laboratory of Complex Severe and Rare Diseases, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

² Graduate School, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

³ Department of Clinical Laboratory, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding author: XU Yingchun Tel: 86-10-69159766, E-mail: xycpumch@139.com

【Abstract】 Infectious diseases begin and progress rapidly, so early accurate identification and detection of pathogen resistance is crucial for the prognosis of patients and the curb on drug resistance. Conventional clinical microbiological technology has been unable to meet the needs of rapid diagnosis and treatment. Therefore, rapid detection technology becomes the focus of clinic and clinical laboratory. This paper reviews the research status of the latest technology for rapid identification and detection of drug sensitivity, and discusses their problems and the key points of future development, providing reference to the introduction of new technologies in the clinical microbiological laboratory in the future.

【Key words】 clinical microbiology; rapid testing; identification; matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; spectrum technology; electrochemical biosensors; metagenomics sequencing; *in vitro* antimicrobial susceptibility testing

基金项目: 北京市临床重点专科医学检验科卓越项目 (ZK201000); 北京协和医学院学科建设项目 (201920200101)

引用本文: 宁雅婷, 杨启文, 陈新飞, 等. 临床微生物快速检测新技术发展现状与前景 [J]. 协和医学杂志, 2021, 12 (4): 427-432.

doi: 10.12290/xhyxzz.2021-0387.

Funding: Beijing Key Clinical Specialty for Laboratory Medicine-Excellent Project (ZK201000); Discipline Construction Project of Peking Union Medical College (201920200101)

Med J PUMCH, 2021, 12(4):427-432

感染性疾病尤其是血流感染，起病急、进展快，延迟治疗、疗程不足或不当的抗感染治疗常与患者不良预后密切相关^[1]。尽管在感染 24 h 内采用经验性治疗可改善患者预后，但普遍、大量使用抗菌药物已导致耐药菌激增，甚至暴发。早期精准识别病原体，对患者预后及抑制病原体耐药至关重要^[2]。病原体鉴定和体外药物敏感性检测是临床微生物实验室最重要的职能，但常规检测方法耗时均较长，快速检测新技术已成为检验与临床关注的焦点。本文围绕病原微生物快速鉴定及药物敏感性检测的最新技术展开讨论，以期为临床微生物实验室未来发展提供参考。

1 新型快速鉴定或直接样本检测技术

微生物鉴定是病原诊断的基础，尽早获得病原体的种或属，可为临床感染性疾病早期有针对性地采用恰当治疗方案提供重要依据。传统方法为分离培养和镜检，对检验人员的经验性技能要求高，且报告时间长。随着生物技术的发展，新型快速鉴定技术不断涌现。

1.1 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 利用激光照射蛋白和基质的共结晶体使细菌等病原体核糖体蛋白离子化，在电场中按离子质荷比分离后可获得该病原的蛋白图谱，将其与参考图谱比对进行鉴定。目前该技术对分纯后单菌落的鉴定已非常成熟，对常见病原细菌或酵母菌的鉴定准确率高达 95%，但对苛养、厌氧菌等难培养菌的鉴定准确率稍低 (75%~90%)，尤其对非脆弱类杆菌的鉴定误差较大^[3-4]。丝状真菌由于细胞壁复杂且现有数据库菌种涵盖范围有限，采用 MALDI-TOF MS 鉴定效果较差。研究表明，MALDI-TOF MS 对曲霉种水平的鉴定准确率可达 95%，而对非曲霉丝状真菌的鉴定准确率仅为 57.7%^[5-6]。此外，MALDI-TOF MS 对临床罕见病原的鉴定效果较好，联合 16S rRNA 测序补充鉴定，细菌鉴定准确率可达 95.4%^[7]；联合核糖体 DNA 测序，酵母菌鉴定准确率高达 99%^[8]。直接样本鉴定方面，目前

MALDI-TOF MS 对血培养阳性样本的直接鉴定较为成熟，革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌属水平鉴定准确率分别为 80.5% 和 90.2%，种水平为 60.5% 和 72.3%，可显著提高菌血症患者 24 h 内接受最佳抗菌药物的治疗率^[9]；值得注意的是，低载菌量的脑脊液、尿液和胸腹腔积液需先短期培养或富集，再行 MALDI-TOF MS 快速鉴定^[10]。

当然，MALDI-TOF MS 目前仍存在诸如对于混合菌的鉴定准确率不高、近亲缘关系菌种分辨率不高、直接鉴定所需菌量较高等问题，未来随着菌种图谱的积累和样本前处理的优化，其有望逐步取代传统的生化编码鉴定方法。

1.2 光谱技术

光谱技术基于微生物的光谱特征，可明确其结构和组成。与传统微生物技术相比，光谱技术具有高特异度、高分辨率、对微生物无损伤且操作简便等独特优势。目前应用于临床微生物领域的光谱技术主要有拉曼光谱、近红外光谱、高光谱图像和激光诱导击穿光谱，具体原理及应用见表 1。

1.3 电化学生物传感器

电化学生物传感器由识别元件、病原体核酸靶标、次级识别元件构成，通过标记信号分子如荧光基团产生电信号以鉴定微生物，且信号强弱与病原体含量呈正比。与传统 PCR 核酸检测方法相比，该技术具有便携性、快速性、简便性和低成本的优势，可直接应用于样本，无需复杂的样本前处理，对环境要求不高，普通实验室环境即可操作。该技术可直接鉴定原始样本中的病原体，使细菌鉴定时间缩短至 1 h 内；且可在 3.5 h 内获得多种抗菌药物的药物敏感性检测结果，既保留了表型分析的真实性，又兼具分子检测的敏感性和特异性^[20-21]。目前该技术已应用于尿路感染的病原学诊断，实现了电化学与微流控技术的集成，适用于多种病原体快速菌种鉴定联合药物敏感性检测等临床需求^[22]。未来研究重点应是突破批量样本检测的瓶颈，达到自动化上样分析，并将药物敏感性检测与结果分析整合，实现“单芯片实验室”运行模式。

1.4 综合性分子诊断平台

综合性分子诊断平台是以 PCR 技术为基础，样本处理、核酸检测及分析一体化的“样本进、结果

表 1 不同光谱技术原理及其在临床微生物检测领域的应用

名称	原理	用途	现状或应用前景	主要优缺点
拉曼光谱	(1) 对散射光谱进行分析, 得到生物大分子结构特征振动信息图谱; 记录大分子结构组成变化, 结合多元统计分析区分不同种属的细菌	分类鉴定	鉴定系统仍然处于开发阶段, 亟需搭建光谱数据库 可在十几秒内完成对葡萄球菌、单核细胞增生性李斯特菌快速区分检测 ^[11] ; 40 min内完成血清样本中念珠菌水平上的鉴定 ^[12] ; 结合化学计量学方法实现链球菌快速区分 ^[13] 等	优点: 不受水分子干扰, 非常适合生物医学体系; 不依赖增殖培养, 实现准确、高通量、对微生物无损伤、超快检 ^[14] ; 实时动态监测生物大分子含量, 获得丰富的生物信息 缺点: 易受荧光信号干扰, 重现性不佳, 信号弱, 设备价格高昂
	(2) 结合重水同位素标记检测细胞代谢活性 ^[15] ; 检测细胞运动, 以判断细菌活力	耐药性检测	用于发现潜在耐药性; 监测医院内病原菌的流行病学; 区分抗菌药物处理和未经处理的细菌, 并在 3.5 h 内精确认别肠球菌中耐万古霉素株 ^[16]	
	(3) 结合其他单细胞分离技术分离菌株, 如光镊技术	菌株分离	对于混合菌群、苛养菌、异质性细菌研究具有深远意义 微流控芯片结合光镊技术可分离出单细胞大肠埃希菌 ^[16]	
近红外光谱	借助红外光和生物大分子化学键作用所产生的合频及振动倍频, 获得微生物含氢基团的特征信息	快速鉴定	尚未用于临床, 近红外光穿透性高, 在深层组织分析应用方面极具前景 ^[17]	优点: 抗荧光干扰力强, 可定性和定量分析 缺点: 灵敏度稍低, 建模难度大, 易受水分子干扰
高光谱图像	遥感技术, 精确识别化学组分的微小变化(光谱信息), 反映微生物外部多层次的变化(图像信息) ^[18]	快速鉴定	一种新型的、非接触式的光学诊断技术, 为临床提供有效的辅助诊断手段, 具有巨大的发展潜力	优点: 可将影像与光谱信息密切结合, 解决光谱无法成像的瓶颈 缺点: 空间分辨率、信噪比稍差
激光诱导击穿光谱	利用激光照射微生物表面产生等离子体, 探测等离子体中的原子和离子谱线	快速鉴定	处于研究起步阶段 真菌方面研究及深度远不及细菌 采用纳米颗粒与横向流带结合构成新的传感平台激光诱导击穿光谱横向流带, 在 10 min 内可对金黄色葡萄球菌进行检测, 检出下限达 1.6 CFU/mL ^[19]	优点: 实时在线、非接触、多种元素同时探测 缺点: 在检测灵敏度、消除基质效应及便携等方面存在挑战

“出”高度自动化病原诊断平台, 如 GeneXpert 和 Film-Array 等已成熟应用于临床微生物实验室。GeneXpert 是直接针对样本中的某种病原体的快速鉴定及耐药性检测平台, 以实时定量荧光 PCR 作为检测技术, 采用模块化配置, 使用灵活。目前主要用于金黄色葡萄球菌、产毒型肺炎克雷伯菌、结核分枝杆菌、新型冠状病毒和流感病毒等的筛查鉴定, 以及甲氧西林、碳青霉烯类和利福平耐药菌等的检测^[23-27]。FilmArray 采用巢氏多重 PCR 技术, 从疾病角度设计检测病原组, 可实现对导致相似临床症状的多种致病菌的同步靶向检测; 根据感染源可分为针对上呼吸道、血流、胃肠道和脑脊液标本的多种试剂盒^[28]。综合性分子诊断平台基本可实现 1 h 报告结果, 特异度及灵敏度高, 操作简单安全, 所有提取、扩增和检测步骤均在芯片的不同通道中完成, 最大程度减少了污染的发生, 同时保证操作人员的安全性。随着整体成本下调, 其在临床常规工作中必将获得广泛

应用。

1.5 宏基因组测序

宏基因组测序 (metagenomics sequencing, mNGS) 无须培养, 直接抽提感染标本中病原体核酸进行高通量测序, 通过基因组比对分析, 确定标本中微生物的种属和定量。mNGS 可全面覆盖上万种微生物, 无偏向性快速鉴定细菌、真菌和病毒等多种病原微生物^[29-30]。此外, mNGS 在罕见病原体诊断和新发未知病原体检测、溯源与变异监控方面也发挥重要作用, 如曼氏裂头蚴、新型冠状病毒的发现^[31-32]。mNGS 亦对耐药及毒力基因分析进行了探索, 但受技术本身影响 (测序深度不够), 可能会漏检临床标本中低浓度微生物, 故目前对耐药及毒力基因分析仍较难实现。未来可优化方法去除人源宿主核酸以提升微生物基因组比例, 或靶向捕获富集。

2021 年, 国家卫生健康委员会临床检测中心启动了下呼吸道宏基因组学检测室间质评研究, mNGS

正在走向规范化与全流程自动化。此外，未来将通过 mNGS 与宏转录组学、随机测序与靶向测序技术联用，实现病原体鉴定分型与相对定量、耐药基因与毒力因子分析以及宿主转录组学与免疫应答分析，从病原、药物和宿主 3 个维度进行病原检测与感染诊断^[33]。

2 新型快速药物敏感性检测技术

微生物具有高度异质性，同时生态环境压力、药物选择压力和宿主免疫压力加速了菌株变异，目前耐药性发展的速度已远超新药研制速度^[34]。而常规检测方法，如纸片扩散法、浓度梯度稀释法和肉汤稀释法，耗时均较长（至少 18 h），亟需快速药物敏感性检测技术，以减少抗菌药物经验性治疗期，遏制耐药发生。目前已有的快速药物敏感性检测技术依据检测原理可分为以表型为基础和以基因型为基础两类。

2.1 新型表型药物敏感性检测技术

由于微生物表型变化迅速，新型表型药物敏感性检测技术侧重以检测抗菌药物作用下病原菌生长阻滞情况作为指标，以判断耐药性或检测药物敏感性^[35]。主要检测指标包括：（1）药物孵育后细胞定量，可通过电阻抗细胞计数法、电化学传感器核酸定量检测法^[21]进行。（2）通过相差/荧光显微镜观察生长情况，可通过微生物表面荧光标记——96 孔板读孔装置检测，实现 5 h 获得药物敏感性检测结果^[36]。（3）检测病原体死亡比例，可通过特异性染色后流式分析计数。（4）检测代谢产物活性或底物表征生长状况，例如 pH 显色传感器可检测葡萄糖代谢产酸，实现 2 h 内检测肠杆菌对多黏菌素的耐药性^[37]；重水同位素标记-拉曼光谱系统，可检测细胞脂质合成过程中氘峰替换率，反映代谢活性^[15]。

该类方法可直接观察细菌在体外对抗菌药物的敏感和耐受情况，是在传统药物敏感性检测基础上充分开发的结果。在基因型药物敏感性检测技术未完善和明确定论前，这种“中间技术”的可行性较大，临床实施时间更早，但与基因型检测技术相比，检测速度受限。限制该类方法应用的主要问题为检测所需样本菌量较高，降低接种量或从低菌量样本中纯化的技术仍是药物敏感性检测技术发展中的巨大挑战。

2.2 新型基因型药物敏感性检测技术

新型基因型药物敏感性检测技术是直接从临床样本中检测与耐药性相关的基因表达量或突变情况，其对生长缓慢（如真菌）或难培养的病原体具有重要价值。目前新型基因型药物敏感性检测技术仍以 PCR 或核酸探针矩阵为基础，对反应体系和条件进行优化，以提高检测速率和通量，如错配扩增突变分析 PCR、高分辨率溶解度实验等^[34]。该类方法检测时间短，可定量分析，并可明确耐药机制，但仍存在诸如由于遗传异质性大、耐药机制复杂多样导致的临床工作庞杂等普遍性问题。此外，新型基因型药物敏感性检测技术尚不能用于临床迫切需求的新型耐药菌检测。目前，新型基因型药物敏感性检测技术尚未在临床实践中普及应用，该技术仍需进一步临床观察及标准化。

3 小结与展望

随着医疗环境的改善和生物技术的飞速发展，快速精准诊疗已成为临床关注的重点。实际临床应用中，新型微生物快速检测技术需在保证灵敏度和特异度的情况下最大程度缩短周转时间，同时具备低成本、操作简单和高通量等特点。未来需从以下 3 个方面实现突破：（1）突破检测上样菌量局限，扩大“直接从样本中进行检测”的适用样本范围，并提高检测准确率，节约分离培养的时间；（2）联合表型和基因型药物敏感性检测技术，实现无偏倚检测，在快速测定最小抑菌浓度药物敏感性检测值的同时，明确其耐药机制，为今后靶向药物开发与研究提供临床信息基础；（3）实现同一仪器、一步加样即可完成鉴定及耐药性检测。目前众多新型微生物检测技术仍处于火热的研发和评估阶段，仅 MALDI-TOF MS 技术成熟稳定。因此，投入较少的时间对现有技术进行快速科研优化与应用改进，使之尽早获得临床认可是首要任务，以便具有优异性能特征的新技术能够快速上市。

作者贡献：宁雅婷负责撰写、修订文章；杨启文、陈新飞、郁谨菡、李雪负责收集并整理文献；徐英春负责审校文章。

利益冲突：无

志谢：感谢广州微远基因科技有限公司李永军，捷仪科技（北京）有限公司陆宜，山东鑫科生物科技股份有限公司崔璟、张会翠对本文的建议与指导。

参 考 文 献

- [1] Vazquez-Guillamet C, Scolari M, Zilberberg MD, et al. Using the number needed to treat to assess appropriate antimicrobial therapy as a determinant of outcome in severe sepsis and septic shock [J]. Crit Care Med, 2014, 42: 2342-2349.
- [2] 武洁, 王荃. 病原微生物检测在感染判定的意义 [J]. 中国小儿急救医学, 2020, 27: 175-176.
Wu J, Wang Q. The significance of pathogenic microorganism tests in infection determination [J]. Zhongguo Xiaoer Jiji Yixue, 2020, 27: 175-176.
- [3] Martiny D, Busson L, Wybo I, et al. Comparison of the Microflex LT and Vitek MS systems for routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50: 1313-1325.
- [4] Handal N, Bakken Jørgensen S, Smith Tunsgård H, et al. Anaerobic blood culture isolates in a Norwegian university hospital: identification by MALDI-TOF MS vs 16S rRNA sequencing and antimicrobial susceptibility profiles [J]. AP-MIS, 2015, 123: 749-758.
- [5] Li Y, Wang H, Hou X, et al. Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and Antifungal Susceptibility Testing of Non-Aspergillus Molds [J]. Front Microbiol, 2020, 11: 922.
- [6] Vidal-Acuña MR, Ruiz-Pérez de Pipaón M, Torres-Sánchez MJ, et al. Identification of clinical isolates of Aspergillus, including cryptic species, by matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) [J]. Med Mycol, 2018, 56: 838-846.
- [7] Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49: 543-551.
- [8] Zhang L, Xiao M, Wang H, et al. Yeast identification algorithm based on use of the Vitek MS system selectively supplemented with ribosomal DNA sequencing: proposal of a reference assay for invasive fungal surveillance programs in China [J]. J Clin Microbiol, 2014, 52: 572-577.
- [9] 马坚, 俞万钧, 胡必杰, 等. 通过基质辅助激光解析电离飞行时间质谱系统直接快速鉴定阳性血培养 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27: 2676-2679.
- [10] 刘振波, 夏苏苏, 康琳, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在病原微生物鉴定中的应用 [J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2019, 42: 225-228.
Liu ZB, Xia SS, Kang L, et al. The application of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of flight mass spectrometry in pathogenic microorganisms identification [J]. Zhongguo Guojing Weisheng Jianyi Zazhi, 2019, 42: 225-228.
- [11] Wang XY, Yang JY, Wang YT, et al. M13 phage-based nanoprobe for SERS detection and inactivation of Staphylococcus aureus [J]. Talanta, 2021, 221: 121668.
- [12] Hu S, Kang H, Gu F, et al. Rapid Detection Method for Pathogenic Candida Captured by Magnetic Nanoparticles and Identified Using SERS via AgNPs [J]. Int J Nanomedicine, 2021, 16: 16941-16950.
- [13] Sundaram J, Park B, Kwon Y, et al. Surface enhanced Raman scattering (SERS) with biopolymer encapsulated silver nanosubstrates for rapid detection of foodborne pathogens [J]. Int J Food Microbiol, 2013, 167: 67-73.
- [14] Wang K, Li S, Petersen M, et al. Detection and Characterization of Antibiotic-Resistant Bacteria Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy [J]. Nanomaterials (Basel), 2018, 8: 762.
- [15] 崔丽, 杨凯, 朱永官. 一种基于拉曼光谱-重水同位素标记的耐药菌药敏性快速检测方法和判断合理用药的方法: CN108267436B [P]. 2018-07-10.
- [16] Pilat Z, Bernatova S, Jezek J, et al. Microfluidic Cultivation and Laser Tweezers Raman Spectroscopy of *E. coli* under Antibiotic Stress [J]. Sensors (Basel), 2018, 18: 1623.
- [17] Bec KB, Grabska J, Huck CW. Near-Infrared Spectroscopy in Bio-Applications [J]. Molecules, 2020, 25: 2948.
- [18] Ferone M, Gowen A, Fanning S, et al. Microbial detection and identification methods: Bench top assays to omics approaches [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2020, 19: 3106-3129.
- [19] Wu J, Liu Y, Cui Y, et al. A laser-induced breakdown spectroscopy-integrated lateral flow strip (LIBS-LFS) sensor

- for rapid detection of pathogen [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 142: 111508.
- [20] Liao JC, Mastali M, Gau V, et al. Use of electrochemical DNA biosensors for rapid molecular identification of uropathogens in clinical urine specimens [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44: 561-570.
- [21] Mach KE, Mohan R, Baron EJ, et al. A biosensor platform for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from clinical samples [J]. J Urol, 2011, 185: 148-153.
- [22] Mach KE, Du CB, Phull H, et al. Multiplex pathogen identification for polymicrobial urinary tract infections using biosensor technology: a prospective clinical study [J]. J Urol, 2009, 182: 2735-2741.
- [23] Beck ET, Buchan BW, Reymann GC, et al. Comparison of ESwab and Wound Fiber Swab Specimen Collection Devices for Use with Xpert SA Nasal Complete Assay [J]. J Clin Microbiol, 2016, 54: 1904-1906.
- [24] Gill CM, Asempa TE, Tickler IA, et al. Evaluation of the Xpert Carba-R NxG Assay for Detection of Carbapenemase Genes in a Global Challenge Set of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates [J]. J Clin Microbiol, 2020, 58: e01098-20.
- [25] Popowitch EB, Miller MB. Comparison of the Xpert Flu/RSV XC and Xpress Flu/RSV Assays [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56: e00278-18.
- [26] Detjen AK, DiNardo AR, Leyden J, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet Respir Med, 2015, 3: 451-461.
- [27] Dinnis J, Deeks JJ, Adriano A, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2020 (8): CD013705.
- [28] Poritz MA, Blaschke AJ, Byington CL, et al. FilmArray, an automated nested multiplex PCR system for multi-pathogen detection: development and application to respiratory tract infection [J]. PLoS One, 2011, 6: e26047.
- [29] Miller RR, Montoya V, Gardy JL, et al. Metagenomics for pathogen detection in public health [J]. Genome Med, 2013, 5: 81.
- [30] Goldberg B, Sichtig H, Geyer C, et al. Making the Leap from Research Laboratory to Clinic: Challenges and Opportunities for Next-Generation Sequencing in Infectious Disease Diagnostics [J]. mBio, 2015, 6: e1815-e1888.
- [31] Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study [J]. Chin Med J (Engl), 2020, 133: 1015-1024.
- [32] 《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: 681-689.
- [33] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20: 341-355.
- [34] 杨紫瑜, 李敏. 抗菌药物敏感性试验快速检测新技术 [J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44: 89-93.
- [35] Cangelosi GA, Meschke JS. Dead or alive: molecular assessment of microbial viability [J]. Appl Environ Microbiol, 2014, 80: 5884-5891.
- [36] Flentie K, Spears BR, Chen F, et al. Microplate-based surface area assay for rapid phenotypic antibiotic susceptibility testing [J]. Sci Rep, 2019, 9: 237.
- [37] Nordmann P, Jayol A, Poirel L. Rapid Detection of Polymyxin Resistance in Enterobacteriaceae [J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22: 1038-1043.

(收稿: 2021-05-12 录用: 2021-06-03 在线: 2021-06-28)

(本文编辑: 李 娜)