



宏基因组二代测序在毛霉菌病诊断中的效能 评估: 一项回顾性队列研究*

张为利^{1,2,3}, 钟山⁴, 陆思芬⁵, 肖侠⁵, 谢轶^{1,2,3,Δ}

1. 四川大学华西医院 实验医学科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 临床检验医学研究中心(成都 610041);
3. 四川省医学检验临床医学研究中心(成都 610041); 4. 三亚市人民医院 临床中心实验室(三亚 572000);
5. 四川大学华西医院 精准医学中心(成都 610041)

【摘要】目的 毛霉菌病是一种具有高致死率的侵袭性真菌感染,传统诊断方法因阳性率较低而受限。本研究旨在评估宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)在毛霉菌病诊断中的效能及临床应用价值。**方法** 回顾性分析2022年11月1日-2024年10月31日于四川大学华西医院接受mNGS检测且结果为毛霉目真菌序列阳性的135例患者。以临床综合诊断(包含确诊与临床诊断)为标准,将患者分为毛霉菌病确诊组与非毛霉菌病组。通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估不同标本类型mNGS序列数(IgRPM,即以10为底的对数转换每百万读数标准化值)的诊断效能,并比较两组患者的菌种分布及实验室指标。**结果** 135例mNGS毛霉菌阳性患者中,最终确诊毛霉菌病100例(74.1%)。ROC曲线分析显示,不同标本类型的mNGS诊断效能存在差异。血液标本的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.772,在最佳截断值(0.11 RPM)下,特异性为87.50%;支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)的AUC为0.717,在最佳截断值(0.02 RPM)下,敏感性为76.47%。所有标本合并分析显示,当RPM的最佳截断值为0.08(约8条reads/100M)时,诊断的敏感性和特异性分别为62.0%和71.4%。菌种分布分析显示,确诊组中雅致小克银汉霉(11.0% vs. 2.9%)和微小根毛霉(9.0% vs. 2.9%)的比例高于非确诊组($P<0.05$)。确诊组的C反应蛋白和白细胞介素-6水平亦高于非确诊组($P<0.05$)。值得注意的是,7例肾灌注液样本的mNGS结果均为假阳性。**结论** mNGS技术可有效提升毛霉菌病的诊断阳性率,但其结果需结合标本类型、序列数及患者临床特征进行综合解读。BALF样本敏感性高,适合筛查;血液样本特异性强,适合确诊。肾灌注液等低生物量样本的阳性结果需警惕假阳性。菌种鉴定和炎症标志物可为临床诊断提供辅助依据。

【关键词】 毛霉菌病 宏基因组二代测序 诊断效能 菌种分布

Diagnostic Performance of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Mucormycosis: A Retrospective Cohort Study

ZHANG Weili^{1,2,3}, ZHONG Shan⁴, LU Sifen⁵, XIAO Xia⁵, XIE Yi^{1,2,3,Δ}. 1. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Clinical Laboratory Medicine Research Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Sichuan Clinical Research Center for Laboratory Medicine, Chengdu 610041, China; 4. Clinical & Central Laboratory of Sanya People's Hospital, Sanya 572000, China; 5. Precision Medicine Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Δ Corresponding author, E-mail: xieyi@scu.edu.cn

This study was supported by the National Science and Technology Major Project for Research on Prevention and Treatment of Cancer, Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases, and Respiratory and Metabolic Diseases (No. 2024ZD0532800).

[Abstract] Objective Mucormycosis is a life-threatening invasive fungal infection with high mortality, yet traditional diagnostic methods are limited by low positivity rates. This study aims to evaluate the diagnostic performance and clinical utility of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in mucormycosis. **Methods** A retrospective analysis was conducted on 135 patients with mNGS results positive for Mucorales fungi at West China Hospital of Sichuan University from November 1, 2022, to October 31, 2024. Based on comprehensive clinical diagnostic criteria (including proven and probable cases), patients were classified into a confirmed mucormycosis group and a non-mucormycosis group. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to evaluate the diagnostic

* 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(No. 2024ZD0532800)资助

Δ 通信作者, E-mail: xieyi@scu.edu.cn

出版日期: 2026-03-20

performance of normalized read counts (lgRPM) from different specimen types. Fungal species distribution and laboratory parameters were compared between the two groups. **Results** Among the 135 patients with positive mNGS results for Mucorales, 100 (74.1%) were ultimately diagnosed with mucormycosis. ROC curve analysis revealed that the diagnostic performance of mNGS varied by specimen type. For blood specimens, the area under the curve (AUC) was 0.772, with a specificity of 87.5% at the optimal cutoff value of 0.11 RPM. For bronchoalveolar lavage fluid specimens, the AUC was 0.717, with a sensitivity of 76.5% at the optimal cutoff value of 0.02 RPM. Combined analysis of all specimens showed that at the optimal cutoff value of 0.08 RPM (approximately 8 reads/100M), the sensitivity and specificity were 62.0% and 71.4%, respectively. Species distribution analysis showed that the proportions of *Cunninghamella elegans* (11.0% vs. 2.9%) and *Rhizomucor pusillus* (9.0% vs. 2.9%) were significantly higher in the confirmed group than in the non-mucormycosis group ($P < 0.05$). Levels of C-reactive protein and interleukin-6 were also significantly higher in the confirmed group ($P < 0.05$). Notably, all seven renal perfusion fluid samples yielded false-positive mNGS results. **Conclusion** mNGS technology can effectively improve the diagnostic yield for mucormycosis. However, results should be interpreted in conjunction with specimen type, read count, and clinical characteristics. BALF specimens offer high sensitivity, making them suitable for screening, while blood specimens demonstrate high specificity, making them valuable for confirmation. Positive results from low-biomass samples such as renal perfusion fluid warrant caution against false positivity. Fungal species identification and inflammatory markers may serve as adjunctive evidence for clinical diagnosis.

[Key words] Mucormycosis Metagenomic next-generation sequencing Diagnostic performance
Species distribution

毛霉菌病(mucormycosis)是一种由毛霉目真菌引起的侵袭性感染疾病。根据感染部位不同,该病可分为肺毛霉菌病、鼻-眶-脑毛霉菌病、皮肤毛霉菌病、肾毛霉菌病、胃肠毛霉菌病以及播散性毛霉菌病等多种临床类型^[1-2]。在我国,肺毛霉菌病是检出最常见的类型^[3-4]。该病病情进展迅速,病死率高。然而,其临床表现缺乏特异性,且目前尚无敏感的血清学标志物,传统病原学培养阳性率也较低。对于病情危重者,获取组织病理标本常存在困难,这给早期诊断带来了较大的挑战和困难。

随着基因组学技术的发展,宏基因组二代测序技术(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)可直接对样本中的所有核酸进行无偏移性测序,结合病原微生物数据库及特定算法,无需预设扩增即可快速检测病毒、细菌、真菌等多种病原体,尤其适用于毛霉菌病等疑难重症及免疫缺陷患者的诊断^[5-6]。目前,mNGS在毛霉菌病诊断中的临床应用研究仍较有限。本研究回顾性分析135例mNGS毛霉菌阳性患者的临床资料,采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估lgRPM(以10为底的对数转换每百万读数标准化值)的诊断效能并确定最佳阈值,以评价mNGS对毛霉菌病的诊断价值,同时总结其临床特征与实验室检查结果。

1 资料与方法

1.1 入选标准及分组

本研究回顾性纳入2022年11月1日-2024年10月31日

四川大学华西医院接受mNGS检测的7912例患者,其中135例检测出毛霉目序列(序列数 ≥ 1)。参考文献^[7],由两名资深临床医师根据以下标准进行综合诊断:(1)确诊毛霉菌病:在无菌部位采集的组织或其他标本中,通过病原学培养或组织病理学检查发现毛霉目真菌。(2)临床诊断毛霉菌病:同时满足以下三项条件:①存在宿主因素;②具有典型的临床表现(如肺部出现特征性影像学征象,或急性面部疼痛可放射至眼部、鼻部溃疡焦痂、病变从鼻窦扩散至骨及眼眶,或头颅CT/MRI显示特征性改变);③从痰液、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、支气管刷取物、鼻窦穿刺吸取物等非无菌部位标本中获得毛霉目真菌的微生物学证据。根据上述标准,将患者分为毛霉菌病确诊组(包括确诊和临床诊断病例)和非毛霉菌病组。系统收集确诊患者的临床资料,包括人口学特征及实验室检查指标。本研究已通过四川大学华西医院生物医学伦理委员会的审查(批件号:2022年审270号),所有患者均签署知情同意书。

1.2 mNGS检测分析

1.2.1 样本处理与DNA提取

根据标本类型采用相应的前处理方法,最终均提取DNA用于文库构建。具体操作如下:

1.2.1.1 新鲜组织样本

用无菌手术刀片将组织切碎或用枪头捣碎,加入450 μ L无核酸酶水及250 μ L破壁玻璃珠,使用破碎仪进行破碎。随后加入7.2 μ L溶壁酶(天根生化科技,北京),30 $^{\circ}$ C

恒温孵育10 min。再次破碎后,8 000 r/min离心30 s,取300 μ L上清进行DNA提取。

1.2.1.2 血液样本

于4 $^{\circ}$ C条件下以1 600 \times g离心10 min,取300 μ L上清液,无需破壁处理,直接进行DNA提取。

1.2.1.3 无菌体液样本(脑脊液、腹水、关节液等)

将样本转移至15 mL无菌离心管中,3 000 r/min离心10 min。弃去上清液,保留底部约1.5 mL样本,混匀后取450 μ L进行破壁处理。

1.2.1.4 呼吸道样本(如支气管肺泡灌洗液)

样本首先于65 $^{\circ}$ C恒温灭活30 min,必要时加入1~2倍体积洗涤剂,37 $^{\circ}$ C孵育30 min以降低黏稠度。灭活后按拭子样本处理方法处理。

1.2.1.5 拭子样本

对于干拭子,加入适量(>450 μ L)无核酸酶水涡旋混匀;含保存液的样本则直接涡旋混匀,取450 μ L进行后续破壁处理。

破壁处理统一流程:取450 μ L上述处理后的样本,加入72 μ L溶壁酶,30 $^{\circ}$ C恒温孵育10 min。加入250 μ L破壁玻璃珠,使用破碎仪进行破碎,随后8 000 r/min离心30 s,取300 μ L上清。所有样本提取均使用TIANamp微量DNA提取试剂盒(天根生化科技,北京),严格按照说明书操作完成DNA提取。

1.2.2 文库构建与测序

提取的核酸经酶切片段化、末端修复、接头连接及PCR扩增完成文库构建。采用安捷伦2100生物分析仪(Agilent 2100 Bioanalyzer)进行文库质控,文库片段大小控制在200~300 bp。使用Qubit dsDNA HS检测试剂盒(Thermo Fisher Scientific Inc.)测定DNA文库浓度。根据检测浓度等量混合文库,经环化形成单链环状结构,通过滚环扩增生DNA纳米球后,加载至测序芯片,采用MGI2000测序平台进行高通量mNGS测序。

1.2.3 数据分析

原始测序数据首先经质控过滤,去除低质量及接头污染序列,随后通过BWA软件(<http://biobwa.sourceforge.net/>)与人类参考基因组比对,以去除宿主序列。剩余数据经低复杂度序列过滤后,与华大微生物参考数据库PMDDB进行比对(涵盖6 350种细菌、1 064种真菌、4 945种病毒及234种寄生虫),最终按细菌、真菌、病毒、寄生虫等分类输出mNGS检测结果。mNGS阳性报告的判断标准:在排除实验室污染的情况下,细菌/真菌/病毒严格比对序列数 \geq 3(毛霉目真菌和结核分枝杆菌等特殊病原体严格比对序列数 \geq 1);寄生虫严格比对序列数 \geq 100。

1.3 统计学方法

运用IBM SPSS Statistics 20.0软件进行全面的统计分析。定量数据采用Shapiro-Wilk检验进行正态性检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 、不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位距)表示。计数资料以频数和百分比表示。两组间比较:符合正态分布的计量资料采用独立样本 t 检验,不符合正态分布的计量资料采用Mann-Whitney U 秩和检验。计数资料组间比较采用皮尔逊卡方或Fisher精确检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

绘制ROC曲线,以评估mNGS对毛霉菌感染诊断的效能,采用Youden指数确定ROC曲线每百万读数标准化值(reads per million, RPM)的对数值(lgRPM)的临界值。

2 结果

2.1 微生物学检验

本组135例病例涉及多种样本类型,采用组织病理学检查、真菌培养及革兰染色等传统微生物学检验方法进行评估。组织病理学检测80例中,19例发现毛霉特征性菌丝(阳性率23.8%),支气管镜肺组织标本真菌培养4例结果均为阴性。微生物学检验结果显示: BALF培养阳性率16.9%(14/83),直接革兰染色阳性率仅1.2%(1/85)。脑脊液标本(12例)及血培养标本(25例)的常规检测结果均为阴性。其他体液标本(包括胸腔积液2例、脓液3例及肾灌注液7例)的真菌培养与革兰染色结果也均为阴性(图1)。

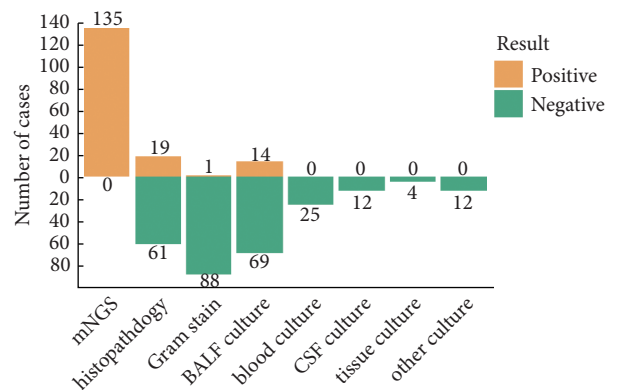


图1 mNGS和微生物学检验结果

Fig 1 mNGS and microbiological testing results

mNGS: metagenomics next-generation sequencing; BALF: bronchoalveolar lavage fluid; CSF: cerebrospinal fluid.

本研究纳入的135例病例均接受mNGS检测,样本类型及数量分布如下: BALF 73例(54.07%)、血液31例(22.96%)、脑脊液13例(9.63%)、肾灌注液7例(5.19%)、组织活检标本6例(4.44%)、脓液3例(2.22%)及胸腔积液2例(1.48%)。mNGS检测结果显示,所有样本中均检测出毛霉目真菌特征性基因序列。

经诊断标准确认,100例(74.07%)患者符合毛霉菌病诊断标准。不同样本类型的病原学确诊率: BALF确诊率78.08%(57/73)、血液80.65%(25/31)、脑脊液76.92%(10/13)、组织活检66.67%(4/6)、脓液100.00%(3/3)、胸腔积液50.00%(1/2),而肾灌注液样本中未发现符合诊断标准的阳性病例(0/7)。

2.2 菌种分布

mNGS鉴定显示阳性样本涵盖毛霉目5个菌属,其中根霉属占比最高(97例, 71.9%),其次为根毛霉属(15例, 11.1%)和小克银汉霉属(12例, 8.9%)。具体菌种分布特征为:根霉属以米根霉(*Rhizopus oryzae*, 59例)为主,其次为小孢根霉(*Rhizopus microsporus*, 28例)和德氏根霉(*Rhizopus delemar*, 10例);根毛霉属包括微小根毛霉(*Rhizomucor pusillus*, 10例)与米赫根毛霉(*Rhizomucor miehei*, 5例);横梗霉属检测到分支横梗霉(*Lichtheimia ramosa*, 5例)及伞状横梗霉(*Lichtheimia corymbifera*, 4例);小克银汉霉属均为雅致小克银汉霉(*Cunninghamella elegans*);毛霉属2例均系卷枝毛霉(*Mucor circinelloides*)。

毛霉目菌种分布在确诊组(100例)与非确诊组(35例)间差异有统计学意义($P < 0.05$)。确诊组和非确诊组中米根霉(47.0% vs. 34.3%)与小孢根霉(21.0% vs. 20.0%)占比均较高。与非确诊组相比,确诊组雅致小克银汉霉(11.0% vs. 2.9%)及微小根毛霉(9.0% vs. 2.9%)占比更高;而德氏根霉(3.0% vs. 20.0%)与米赫根毛霉(2.0% vs. 8.6%)的比例更低(图2)。

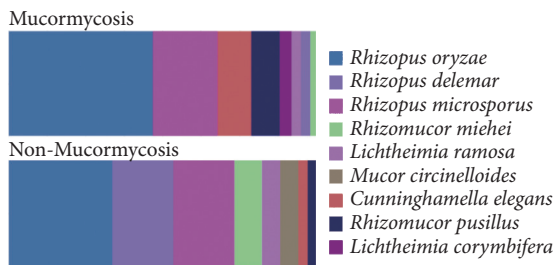


图2 确诊组和非确诊组毛霉目菌种分布

Fig 2 Distribution of mucorales species in the mucormycosis group and non-mucormycosis group

2.3 mNGS诊断效能评价与优化

为评估mNGS对毛霉菌病的诊断效能,本研究采用ROC曲线分析,以临床综合诊断为金标准。鉴于原始序列数(reads)易受样本类型、基因组长度及测序深度等混杂因素影响,采用RPM进行数据校正,计算公式为: $RPM = (\text{毛霉目特异性reads数} / \text{总测序reads数}) \times 10^6$ 。分析显示,确诊组(100例)的reads和lgRPM中位数高于非确诊组(35例)(P 值分别为0.002和0.001)(图3)。ROC曲线分

析显示(图4和表1),不同标本类型的mNGS lgRPM对毛霉菌病的诊断效能存在差异。其中,血液标本的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.772[95%置信区间(confidence interval, CI): 0.586 ~ 0.902],当以0.11 RPM(约11条reads/100M数据量)为截断值时,诊断特异性为87.50%,敏感性为69.57%。BALF标本的AUC为0.717(95%CI: 0.594 ~ 0.820),在最佳截断值0.02 RPM(约2条reads/100M数据量)下,敏感性较高(76.47%),但特异性相对较低(62.50%)。所有标本合并分析的AUC为0.691(95%CI: 0.606 ~ 0.768),最佳截断值为0.08 RPM(约8条reads/100M数据量),对应的敏感性和特异性分别为62.00%和71.40%。

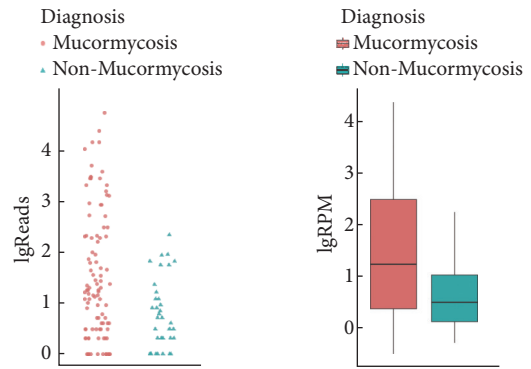


图3 确诊组和非确诊组序列数和lgRPM

Fig 3 Reads and lgRPM values in the mucormycosis group and non-mucormycosis group

RPM: reads per million.

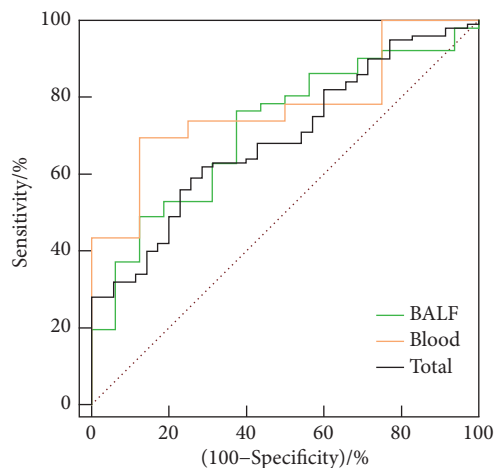


图4 支气管肺泡灌洗液、血液及所有标本mNGS lgRPM诊断毛霉菌病的ROC曲线图

Fig 4 ROC curve analysis of mNGS lgRPM for mucormycosis diagnosis across BALF, blood, and total specimens

The abbreviations are explained in the note to Fig 1.

2.4 mNGS毛霉菌阳性患者人口统计学特征和实验室指标

确诊组和非确诊组患者年龄、性别以及合并基础疾病情况差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组标本类型分布

表1 支气管肺泡灌洗液、血液及所有标本mNGS IgRPM诊断毛霉菌病的效能分析

Table 1 Performance analysis of mNGS IgRPM for mucormycosis diagnosis across BALF, blood, and total specimens

Specimen type	AUC	Specificity	Sensitivity	Youden index	Cut-off (RPM)	Cut-off (reads/100M)	P	95% CI
BALF	0.717	62.50	76.47	0.390	0.02	2	0.002*	0.594-0.820
Blood	0.772	87.50	69.57	0.571	0.11	11	0.002*	0.586-0.902
Total	0.691	71.40	62.00	0.334	0.08	8	0.001*	0.606-0.768

AUC: area under the curve. The other abbreviations are explained in the note to Fig 1 and Fig 3. * $P < 0.05$.

方面差异有统计学意义($P = 0.001$),主要体现在肾灌注液,非确诊组7例(占比20%);而确诊组无肾灌注液。两组的临床科室也具有统计学差异($P = 0.004$),确诊组中来自血液内科、感染科和其他科室患者的比例高于非确诊组,非确诊组泌尿外科患者的比例更高。

实验室指标分析显示,毛霉菌病确诊组与非确诊组在炎症标志物及mNGS参数方面存在统计学差异:C-反应蛋白(83.60 vs. 15.20, $P = 0.001$)、白细胞介素-6(71.20 vs. 28.30, $P = 0.036$)、mNGS原始reads数(18.0 vs. 5.0, $P = 0.002$)及IgRPM(1.23 vs. 0.29, $P = 0.001$)差异均具有统计学意义。

其他免疫及感染相关指标,包括白细胞计数、中性粒细胞绝对值、淋巴细胞绝对值、血红蛋白、血小板计数、降钙素原、白蛋白以及T淋巴细胞亚群和CD4⁺/CD8⁺比值在确诊组与非确诊组间差异均无统计学意义($P > 0.05$) (表2)。

3 讨论

毛霉菌病是一种罕见而致命的血管侵袭性真菌病,由毛霉目真菌引起^[8]。该病主要发生在免疫功能低下的患者身上,一旦发病,病情会迅速恶化,并且治愈难度极大,致死率相对较高。研究显示,如果没有及时进行诊断和治疗,病死率可达到30%~69%^[9-10]。在中国,毛霉菌病的病死率接近40%^[11]。

毛霉菌感染患者缺乏典型的特异性临床表现^[12],这给早期诊断带来了一定困难。容易导致该病的漏诊甚至误诊,而延误诊断和治疗可能会进一步增加患者死亡风险^[13]。因此,早期临床诊断与治疗至关重要。新一代宏基因组测序(mNGS)也称为高通量测序技术(HTS),是一种无偏移性测序、无需培养,病原体覆盖度广且高度敏感的病原体检测方法^[14-15],具有高效、快速的特点。该技术近年来在样本处理、生物信息学分析等方面持续优化,有效提升了其在真菌感染诊断中的性能^[16-18]。因此,mNGS具有高效、快速的特点,并且受患者是否使用抗生素的影响较小^[19]。

有文献报道,外周血mNGS对侵袭性毛霉菌病诊断的临床阳性预测值为72.6%^[20],而本研究中mNGS检测到135例毛霉序列病例中最终临床确认为毛霉菌感染的阳性率为74.1%,与之前报道一致。ROC曲线分析进一步表明,mNGS检测中IgRPM对毛霉菌病的诊断效能因标本类型而异。血液标本表现出较高的诊断特异性(AUC=0.772,最佳截断值为11条reads/100M数据量时特异性87.50%),提示其在排除非特异性序列干扰方面具有一定优势;而BALF标本虽然敏感性较高(最佳截断值为2条reads/100M数据量时敏感性76.47%),但其特异性相对较低(62.50%)。所有标本合并分析后的整体AUC为0.691,最佳截断值为8条reads/100M数据量对应的敏感性62.0%、特异性71.4%。该结果反映出mNGS技术在病原体检测及报告解读方面仍存在一定局限与挑战^[21]。尤其对于毛霉目等破壁难度较大的病原微生物,即便检测报告中核酸序列数较低,也需谨慎结合患者病史、影像学检查及其他常规实验室指标,综合评估其潜在致病意义。另一方面,由于mNGS技术具有高度敏感性,且样本采集、建库和测序过程中均可能存在污染,其检测结果存在一定假阳性风险^[22]。因此,尽管mNGS作为一种快速、灵敏的诊断工具显著提升了病原体的检出能力,其在临床应用中的真正价值仍极大依赖于对检测结果的合理解读。应始终将分子检测结果置于整体临床情境中,综合病史、影像及实验室检查进行系统判断,以避免过度依赖单一技术而误导临床决策。

在实验室指标方面,确诊组C反应蛋白和白细胞介素-6明显高于非确诊组,这与毛霉菌侵袭性感染引发的过度炎症反应密切相关。毛霉菌通过血管侵袭释放 β -葡聚糖等病原相关分子模式(PAMPs),激活Toll样受体(TLR2/4)-NF- κ B信号通路,促使巨噬细胞大量分泌白细胞介素-6等促炎因子^[23],同时肝细胞在白细胞介素-6刺激下加速C反应蛋白合成^[24]。这种炎症级联反应不仅是宿主免疫应答的标志,更重要的是,C反应蛋白和白细胞介素-6的动态变化可为mNGS诊断提供重要的辅助验证。

此外,mNGS凭借其高通量、无偏倚的检测特性,能

表 2 mNGS 毛霉阳性患者人口统计学特征和实验室检验结果
Table 2 Demographic characteristics and laboratory findings of patients positive for mucorales by mNGS

Variable	Total (n = 135)	Mucormycosis group (n = 100)	Non-mucormycosis group (n = 35)	P
Age/yr.	52.02 ± 17.04	52.46 ± 15.52	50.77 ± 15.76	0.626
Female/case (%)	95 (68.9)	72 (72.0)	21 (60.0)	0.187
Underlying medical conditions/case (%)	132 (97.8)	97 (97.0)	35 (100.0)	0.300
Specimen types/case (%)				0.001*
BALF	73 (54.1)	57 (57.0)	16 (45.7)	
Blood	31 (23.0)	25 (25.0)	6 (17.1)	
CSF	13 (9.6)	10 (10.0)	3 (8.6)	
Renal perfusion fluid	7 (5.2)	0 (0.0)	7 (20.0)	
Tissue	6 (4.4)	4 (4.0)	2 (5.7)	
Pleural effusion	2 (1.5)	1 (1.0)	1 (2.9)	
Pus	3 (2.2)	3 (3.0)	0 (0.0)	
Clinical departments/case (%)				0.004*
Respiratory medicine	47 (34.8)	34 (34.0)	13 (37.1)	
Hematology	15 (11.1)	13 (13.0)	2 (5.7)	
Infectious diseases	13 (9.6)	12 (12.0)	1 (2.9)	
ICU	10 (7.4)	7 (7.0)	3 (8.6)	
Emergency department	9 (6.7)	6 (6.0)	3 (8.6)	
Urology	8 (5.9)	1 (1.0)	7 (20.0)	
Nephrology	8 (5.9)	6 (6.0)	2 (5.7)	
Other departments	25 (18.5)	21 (21.0)	4 (11.4)	
Laboratory tests				
WBC/($\times 10^9 L^{-1}$) ^a	8.31 (5.96, 12.00)	8.57 (5.74, 12.20)	7.62 (5.96, 10.50)	0.929
Neutrophil/($\times 10^9 L^{-1}$) ^a	6.60 (4.01, 10.00)	6.57 (3.56, 10.20)	6.60 (4.14, 9.42)	0.874
Lymphocyte/($\times 10^9 L^{-1}$) ^a	0.75 (0.37, 1.55)	0.84 (0.37, 1.54)	0.69 (0.36, 1.50)	0.988
HGB/(g/L)	92.4 ± 27.3	91.7 ± 26.6	98.2 ± 29.3	0.255
PLT/($\times 10^9 L^{-1}$) ^a	166.0 (84.2, 280.0)	165.0 (79.0, 286.0)	166.0 (118.0, 223.0)	0.814
PCT/(ng/mL) ^a	0.28 (0.09, 1.37)	0.22 (0.09, 1.31)	0.52 (0.13, 3.69)	0.274
CRP/(mg/L) ^a	72.90 (19.40, 151.00)	83.60 (33.00, 170.00)	15.20 (5.31, 70.20)	0.001*
IL-6/(pg/mL) ^a	53.90 (12.30, 191.00)	71.20 (17.70, 221.00)	28.30 (7.58, 99.40)	0.036*
ALB/(g/L) ^a	32.5 (28.5, 37.1)	32.2 (28.2, 36.4)	34.6 (30.0, 38.2)	0.113
CD3 ⁺ T-lymphocyte/(cell/ μ L) ^a	474.0 (153.0, 832.0)	476.0 (144.0, 825.0)	417.0 (246.0, 856.0)	0.711
CD4 ⁺ T-lymphocyte/(cell/ μ L) ^a	270.0 (80.8, 429.0)	234.0 (84.5, 410.0)	286.0 (61.2, 580.0)	0.469
CD8 ⁺ T-lymphocyte/(cell/ μ L) ^a	192.0 (74.8, 387.0)	217.0 (63.6, 402.0)	164.0 (78.0, 306.0)	0.774
CD4/CD8 ^a	1.16 (0.66, 1.99)	1.16 (0.76, 1.37)	1.92 (0.43, 2.07)	0.729
Reads ^a	12.0 (2.5, 90.5)	18.0 (3.0, 214.0)	5.0 (2.0, 14.0)	0.002*
lgRPM ^a	0.98 (0.32, 1.96)	1.23 (0.37, 2.48)	0.49 (0.12, 1.02)	0.001*

ICU: intensive care unit; WBC: white blood cell; HGB: hemoglobin; PLT: platelet; PCT: plateletcrit; CRP: C-reactive protein; IL-6: interleukin-6; ALB: albumin. The other abbreviations are explained in the note to Fig 1 and Fig 3. ^a Median (P₂₅, P₇₅). * P < 0.05.

够实现对真菌种类甚至亚种水平的精准鉴定,为临床抗真菌药物的精准选择提供了重要的分子依据。本研究中,毛霉目真菌的菌种分布特征显示,根霉属为优势菌属(71.9%),其次为根毛霉属(11.1%),这一结果与既往全球多中心研究中对毛霉菌病病原谱的报道高度一致^[25-26]。值得注意的是,确诊组与非确诊组的菌种分布差异有统计学意义:确诊组中雅致小克银汉霉与微小根毛霉的占比高于非确诊组,而德氏根霉与米赫根毛霉在确诊组中的比例则低于非确诊组。这一差异提示,不同菌种的致病性可能存在异质性:雅致小克银汉霉因其侵袭性血管炎特性更易引发临床显性感染,而德氏根霉在非确诊组中的高检出率可能与其环境定植或样本污染有关^[27]。此外,本研究中7例肾脏灌注液样本的mNGS检测结果均为假阳性(临床综合诊断排除感染)。肾灌注液来源于肾移植术中的供肾灌注过程,通常属于“低生物量”样本,即病原体核酸含量极低,而背景微生物核酸或环境污染物相对容易被检测到。此类样本中,任何微小的外源性污染信号在检测过程中均会被显著放大,从而导致假阳性结果偏高。其污染可能主要来源于:(1)样本采集过程中引入的外源性污染,如手术器械、操作人员皮肤或环境中的暂存菌群;(2)毛霉目真菌在自然环境中广泛分布,可能以非活体或非致病性核酸形式存在于样本中。因此,单纯依靠mNGS结果易导致误判,建议后续联合定量PCR(qPCR)或靶向测序技术进行验证,以更准确评估其临床意义。除肾灌注液外,其他类型临床标本的mNGS检测对毛霉菌病诊断的阳性预测值存在一定差异:其中血液样本的阳性预测值较高,为80.65%,BALF和脑脊液分别为78.08%和76.92%,组织活检样本相对较低,为66.67%。此外,脓液样本的阳性预测值为100.00%(3/3),胸腔积液为50.00%(1/2),但因样本量均少于5例,上述结果尚需更大样本量进一步验证。

本研究存在若干局限性。首先,作为一个单中心回顾性研究,其设计本身固有的选择偏倚无法避免。其次,由于毛霉菌病临床发病率较低,本研究所纳入的病例数量有限,可能影响统计效能与结论的外推性。更为关键的是,本研究旨在聚焦并回答“如何解读mNGS阳性报告”这一临床问题,因此纳入标准为“临床疑似并进行了mNGS检测的患者”,而非以前瞻性方式连续纳入所有疑似患者(包括mNGS阴性者),因此本研究无法计算mNGS技术对毛霉感染的整体诊断灵敏度与特异度,也无法进行传统的诊断一致性检验(如Kappa值)。未来的研究需要在多中心、前瞻性设计中纳入更全面的患者谱系,以验证本研究所提出的序列数阈值,并对mNGS的诊

断性能进行全面评估。

* * *

作者贡献声明 张为利负责论文构思、数据审编、正式分析、调查研究、研究方法、验证、可视化和初稿写作,钟山负责数据审编、正式分析、调查研究和验证,陆思芬和肖侠负责正式分析、调查研究和验证,谢轶负责经费获取、研究项目管理、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution ZHANG Weili is responsible for conceptualization, data curation, formal analysis, investigation, methodology, validation, visualization, and writing--original draft. ZHONG Shan is responsible for data curation, formal analysis, investigation, and validation. LU Sifen and XIAO Xia are responsible for formal analysis, investigation, and validation. XIE Yi is responsible for funding acquisition, project administration, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] JEONG W, KEIGHLEY C, WOLFE R, *et al*. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25(1):26-34. doi: 10.1016/j.cmi.2018.07.011.
- [2] KENNEDY K J, DAVESON K, SLAVIN M A, *et al*. Mucormycosis in Australia: contemporary epidemiology and outcomes. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(9): 775-781. doi: 10.1016/j.cmi.2016.01.005.
- [3] PENG M, MENG H, SUN Y, *et al*. Clinical features of pulmonary mucormycosis in patients with different immune status. *J Thorac Dis*, 2019, 11(12): 5042-5052. doi: 10.21037/jtd.2019.12.53.
- [4] QU J, LIU X, LV X. Pulmonary mucormycosis as the leading clinical type of mucormycosis in Western China. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 770551. doi: 10.3389/fcimb.2021.770551.
- [5] TSANG H F, YU A C S, JIN N, *et al*. The clinical application of metagenomic next-generation sequencing for detecting pathogens in bronchoalveolar lavage fluid: case reports and literature review. *Expert Rev Mol Diagn*, 2022, 22(5): 575-582. doi: 10.1080/14737159.2022.2071607.
- [6] ZHANG X, WANG Y, PEN D, *et al*. Diagnosis of mixed infection and a primary immunodeficiency disease using next-generation sequencing: a case report. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1179090. doi: 10.3389/fcimb.2023.1179090.
- [7] 梁良,朱愿超,孔旭东,等.《中国毛霉菌临床诊疗专家共识(2022)》药解读. *临床药物治疗杂志*, 2023, 21(11): 1-5. doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2023.11.001.
- [8] LIANG L, ZHU Y C, KONG X D, *et al*. Pharmaceutical perspective interpretation of Expert Consensus on Diagnosis and Management of Mucormycosis in China (2022). *Clin Med J*, 2023, 21(11): 1-5. doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2023.11.001.
- [8] SKIADA A, LASS-FLOERL C, KLIMKO N, *et al*. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med Mycol*, 2018, 56(suppl_1): 93-101. doi: 10.1093/mmy/myx101.
- [9] ABANAMY R, ALSAUD A, ALABDULALI R, *et al*. Clinical characteristics and outcome of mucormycosis: a multi-center retrospective analysis in Saudi Arabia over 11 years. *IJID Reg*, 2022, 4:

- 152-156. doi: 10.1016/j.ijregi.2022.07.004.
- [10] LIN E, MOUA T, LIMPER A H. Pulmonary mucormycosis: clinical features and outcomes. *Infection*, 2017, 45(4): 443-448. doi: 10.1007/s15010-017-0991-6.
- [11] SPATAFORA J W, CHANG Y, BENNY G L, *et al.* A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 2016, 108(5): 1028-1046. doi: 10.3852/16-042.
- [12] SKIADA A, PAVLEAS I, DROGARI-APIRANTHITOU M. Epidemiology and diagnosis of mucormycosis: an update. *J Fungi (Basel)*, 2020, 6(4): 265. doi: 10.3390/jof6040265.
- [13] WANG J, WANG Y, HAN F, *et al.* Multiple diagnostic methods for mucormycosis: a retrospective case series. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(8): e24588. doi: 10.1002/jcla.24588.
- [14] AKAÇIN İ, ERSOY Ş, DOLUCA O, *et al.* Comparing the significance of the utilization of next generation and third generation sequencing technologies in microbial metagenomics. *Microbiol Res*, 2022, 264: 127154. doi: 10.1016/j.micres.2022.127154.
- [15] PARIZE P, MUTH E, RICHAUD C, *et al.* Untargeted next generation sequencing-based first-line diagnosis of infection in immunocompromised adults: a multicentre blinded prospective study. *Clin Microbiol Infect*, 2017, 23(8): 574. e1-574. e6. doi: 10.1016/j.cmi.2017.02.006.
- [16] WEAVER D, RILEY A E, BOWMAN B A, *et al.* Development of a novel mycobiome diagnostic for fungal infection. *BMC Microbiol*, 2024, 24(1): 86. doi: 10.1186/s12866-024-03237-0.
- [17] BABADY N E, DANYLUK S J, KING J, *et al.* Diagnosis and management of invasive fungal diseases by next-generation sequencing: are we there yet? *Expert Rev Mol Diagn*, 2023, 23(12): 1083-1093. doi: 10.1080/14737159.2023.2277367.
- [18] KILLIAN S, OLESEN S W, PANG S. TheiaEuk: a species-agnostic bioinformatics workflow for fungal genomic characterization. *Front Public Health*, 2023, 11: 1242694. doi: 10.3389/fpubh.2023.1242694.
- [19] ZHOU H, LARKIN P M K, ZHAO D, *et al.* Clinical impact of metagenomic next-generation sequencing of bronchoalveolar lavage in the diagnosis and management of pneumonia: a multicenter prospective observational study. *J Mol Diagn*, 2021, 23(10): 1259-1268. doi: 10.1016/j.jmoldx.2021.06.007.
- [20] WANG W, YAO Y, LI X, *et al.* Clinical impact of metagenomic next-generation sequencing of peripheral blood for the diagnosis of invasive mucormycosis: a single-center retrospective study. *Microbiol Spectr*, 2024, 12(1): e0355323. doi: 10.1128/spectrum.03553-23.
- [21] 熊玉锋, 蔡贞, 李少川, 等. 生物信息学分析在病原微生物宏基因组高通量测序应用中的现状与挑战. *中华医学杂志*, 2023, 103(15): 1098-1102. doi: 10.3760/cma.j.cn112137-20221208-02598.
- XIONG Y F, CAI Z, LI S C, *et al.* Bioinformatics analysis in metagenomic next-generation sequencing of pathogenic microorganisms: current status and challenges. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2023, 103(15): 1098-1102. doi: 10.3760/cma.j.cn112137-20221208-02598.
- [22] DIAO Z, ZHANG Y, CHEN Y, *et al.* Assessing the quality of metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection in lower respiratory infections. *Clin Chem*, 2023, 69(9): 1038-1049. doi: 10.1093/clinchem/hvad072.
- [23] CORNELLY O A, ALASTRUEY-IZQUIERDO A, ARENZ D, *et al.* Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis*, 2019, 19(12): e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3.
- [24] HEINRICH P C, CASTELL J V, ANDUS T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*, 1990, 265(3): 621-636. doi: 10.1042/bj2650621.
- [25] PRAKASH H, CHAKRABARTI A. Global epidemiology of mucormycosis. *J Fungi (Basel)*, 2019, 5(1): 26. doi: 10.3390/jof5010026.
- [26] RODEN M M, ZAOUTIS T E, BUCHANAN W L, *et al.* Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis*, 2005, 41(5): 634-653. doi: 10.1086/432579.
- [27] PRAKASH H, CHAKRABARTI A. Epidemiology of mucormycosis in India. *J Fungi (Basel)*, 2021, 7(3): 162. doi: 10.3390/jof7030162.

(2025-07-25 收稿, 2026-01-27 修回)

编辑 刘华



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0 国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2026 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*