DOI:10.12138/j.issn.1671－9638.20194161

·论著·

二代测序在检测感染性心内膜炎患者心脏瓣膜组织病原体中的应用

程　军,胡　欢,张思明,耿　洁,李　峰,王飞燕,周　洲,陈　曦
(北京协和医学院 中国医学科学院阜外医院实验诊断中心,北京　100037)

[摘　要]　**目的**　评估二代测序(NGS)技术在检测感染性心内膜炎(IE)患者瓣膜中潜在病原菌的应用价值,为 IE 的诊断和术后治疗提供帮助。**方法**　根据改良 Duke 标准,对 IE 患者和排除 IE 患者的瓣膜组织进行传统培养,同时应用 NGS 技术直接检测瓣膜组织上的病原菌,并将其检测结果与血培养、病理涂片染色结果进行比对。**结果**　NGS 的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 95.0%、85.7%、95.0% 和 85.7%,血培养分别为 30.0%、100.0%、100.0%、30.0%,瓣膜培养为 10.0%、100.0%、100.0%、28.0%。**结论**　与传统培养方法相比,NGS 检测 IE 瓣膜赘生物的灵敏度更高,时间短。NGS 对 IE 的诊断,尤其是培养结果为阴性疑似 IE 的诊断和治疗有较大的应用价值。

[关　键　词]　二代测序;感染性心内膜炎;心脏瓣膜;诊断
[中图分类号]　R542.4+2

Application of next-generation sequencing in detecting pathogens in heart valve tissues of patients with infective endocarditis

CHENG Jun, HU Huan, ZHANG Si-ming, GENG Jie, LI Feng, WANG Fei-yan, ZHOU Zhou, CHEN Xi(*Laboratory Diagnostic Center, Peking Union Medical College & Fuwai Hospital Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing* 100037, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**　To evaluate the value of next-generation sequencing (NGS) technique in detecting potential pathogens in valves of patients with infective endocarditis (IE), and provide help for the diagnosis and postoperative treatment of IE. **Methods**　According to modified Duke criteria, valve tissues of IE patients and patients who were excluded IE were performed culture conventionally, pathogens in valve tissues were detected directly by NGS technique, results were compared with blood culture and pathological smear staining. **Results**　The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of NGS were 95.0%, 85.7%, 95.0%, and 85.7% respectively, blood culture were 30.0%, 100.0%, 100.0%, and 30.0% respectively, valve culture were 10.0%, 100.0%, 100.0%, and 28.0% respectively. **Conclusion**　Compared with conventional culture method, NGS technique has higher sensitivity and shorter time in detecting IE valve vegetation. NGS is of great value in the diagnosis and treatment of IE, especially in suspected IE with negative culture results.

[**Key words**]　next-generation sequencing; infective endocarditis; heart valve; diagnosis

感染性心内膜炎(infective endocarditis,IE)是一种以心脏瓣膜受累为标志的感染性疾病,其发病率约为 3～10 例/10 万人[1]。未得到正确、及时的治疗,超过 1/3 的 IE 患者会在诊断后的第一年内死亡[2]。IE 患者的预后高度依赖早期、精准的抗菌药物治疗,因此,对引起 IE 病原菌的鉴定至关重要。目前,IE 的诊断和抗菌药物治疗主要依赖于血培养及基于培养菌株的药敏试验结果。然而,采集血培

[收稿日期]　2018－08－14
[基金项目]　重大协同创新项目(2016－12M－1－016)
[作者简介]　程军(1982－),男(汉族),北京市人,主管技师,主要从事微生物鉴定及其耐药性研究。
[通信作者]　陈曦　　E-mail:chenxifw@126.com

养前使用抗菌药物，某些苛养菌或者常规方法难于培养的微生物引起的 IE，血培养常呈现阴性的结果[3-4]。在这种情况下，可能会出现误诊或抗菌药物使用不合理的情况，严重影响 IE 患者的预后。近十几年来，分子生物学技术发展迅速，基于细菌保守序列 16S rRNA 聚合酶链反应(PCR)技术已经被用于心脏换瓣术后摘除的瓣膜组织中病原体的检测，其灵敏度优于传统的培养方法，对常规可培养或者苛养菌也有较强的检测能力。然而，基于 16S rRNA 的 PCR 技术存在天然的缺陷，如不能检测真菌，对混合感染也是无能为力[5-6]。近几年来，以二代测序(next-generation sequencing，NGS)为代表的宏基因组学已经被用于直接检测临床标本中的病原菌[7]。评估 NGS 技术直接检测心脏瓣膜病原菌的研究在国内外较少见，本研究以改良 DUKE 标准为“金标准”，直接提取心脏瓣膜组织中的 DNA，旨在评价 NGS 技术直接检测心脏瓣膜病原菌的能力，为 IE 的诊断和术后抗菌治疗提供帮助。

1 材料与方法

1.1 标本来源及前处理 标本来自中国医学科学院阜外医院 2017 年 4 月—2018 年 2 月经心脏瓣膜置换术或者心脏瓣膜成形术后摘除的瓣膜组织，其中 28 例来自成人外科中心，2 例来自小儿外科中心。31 例标本中，根据 IE 诊断的“金标准”改良 Duke 标准，20 例为确诊 IE(D. IE)患者，4 例为可能 IE(P. IE)患者，阴性对照为剩余的 7 例排除 IE(rejected IE)的心脏瓣膜病患者。实验室收到摘除的瓣膜组织后，立即在生物安全柜里用无菌的眼科手术剪把组织剪碎并随机分为两份，一份用于常规增菌培养，另一份(约 35 mg)放置于 -80℃冰箱冷冻保存，供 NGS 测序及 Sanger 测序验证使用。

1.2 主要仪器与试剂 哥伦比亚血平板、麦康凯平板、脑心浸液(赛默飞世尔生物化学公司)，Heal Force HF90 型 CO_2 孵箱(上海力申科学仪器公司)，-80℃低温冰箱(日本三洋公司)，高压蒸汽灭菌器(山东新华公司)，BACTEK FX400 全自动血培养仪及配套血培养瓶(美国 BD 公司)，Vitek 2 Compact 全自动微生物分析仪及配套鉴定药敏卡，VITEK MSTM 质谱仪(法国生物梅里埃公司)，QIAamp DNA Mini Kit(德国 Qiagen 公司)，Premix TaqTM、DL2000 marker(大连 TaKaRa 公司)，琼脂糖凝胶(西班牙 Biowest 公司)，GTQ-Cycler 96 扩增仪(德国海恩公司)，DYY-6C 型电泳仪(北京六一仪器厂)，GIS-2010 凝胶图像分析仪(上海天能公司)，引物及扩增产物测序由中美泰和生物公司完成，二代测序及生物信息学分析由深圳华大基因研究所完成。

1.3 瓣膜培养 瓣膜组织在培养前，先用无菌的眼科手术剪尽可能的剪碎，然后加入 5 mL 脑心浸液增菌，放置 35℃ CO_2 孵箱中培养 7 d。每日评估标本的增菌情况，若有浑浊及时转种于哥伦比亚血平板、巧克力平板及麦康凯平板(赛默飞世尔公司)。未出现浑浊的标本，在第 7 天也转种于血平板、巧克力平板及麦康凯平板。培养出的微生物使用 MALDI-TOF 质谱仪(法国 VITEK 公司)进行鉴定，使用 VITEK 2 Compact 全自动药敏分析仪进行药敏试验(法国 VITEK 公司)。

1.4 血培养 血培养的采集参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)的血培养临床实践指南(Principles and procedures for blood cultures; Approved Guideline:M47A)。对疑似 IE 的发热患者，在使用抗菌药物之前或者下次使用抗菌药物之前(对已使用抗菌药物的患者)从不同穿刺位点平均采集 3 套血培养，采集的血液被立即注入需氧瓶和厌氧瓶(成人每瓶 8～10 mL 血液，儿童每瓶 1～3 mL 血液)。血培养瓶在 2 h 内被放入全自动血培养仪(美国 BD 公司)培养 7 d，对培养阳性的标本及时转种到哥伦比亚血平板、巧克力平板及麦康凯平板。微生物的鉴定和药敏同瓣膜组织培养。

1.5 NGS 及生信分析 冷冻的标本恢复常温后，用无菌的眼科手术剪剪碎。称取约 25 mg 的瓣膜组织加入蛋白酶 K，消化过夜后使用 QIAamp DNA Mini Kit 提取 DNA，整个操作严格遵照厂家的说明书进行。提取的 DNA 经超声波处理被破碎成 200～300 bp 的片段，随后开始文库构建和测序，具体如下：使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 质控文库插入片段大小，Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc.)质控 DNA 文库浓度，经环化形成单链环形结构。环化后的文库经滚环复制生成 DNA 纳米球。制备好的 DNA 纳米球加载至测序芯片，使用 BGISEQ-500 进行测序。测序数据下机后去除低质量的和长度小于 35 bp 的数据，以获得

高质量的数据。通过 BWA 比对，将高质量数据中与人参考基因组序列相同的数据去除，剩下的数据用 SNAP 等软件进一步分析，去除低复杂度 reads 后与 NCBI 的 NT 数据库比对，并将比对结果进行 Taxonomy 注释、分类，以及统计作图。

1.6　Sanger 测序验证　血培养、瓣膜培养和/或 NGS 检测结果为阳性的标本进行 Sanger 测序验证。Sanger 测序所用的 DNA 同 NGS。引物由中美泰和生物公司合成。全序列引物为 27f(序列为：5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492r(序列为：5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')，扩增产物长度约 1 500 bp。扩增体系为 50 μL：25 μL Premix TaqTM，10 μmol/L 上、下游引物各 2 μL，2 μL DNA 模板，以灭菌双蒸水补足体积。反应条件为：96 ℃ 150 s；96 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 90 s，共 30 个循环；72 ℃ 7 min。扩增产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳观察，阳性扩增产物送中美泰和公司进行测序，测序结果在 NCBI Blast(http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/B-last.cgi? PROGRAM5blastn &PAGE_TYPE5BlastSear-ch&LINK_LOC5blasthome)在线比对，以相似度最高者为准。比对相似度至少 97%方可认为同一菌种，不能归到种水平的只归到属水平。

1.7　统计学分析　应用 MedCalc 统计软件进行分析，采用灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值表示。

2　结果

2.1　患者基本资料　24 例 IE 患者中，根据改良 Duke 标准，20 例为 D. IE，4 例为 P. IE 患者，其中男性占 75.0%，平均年龄 46.5 岁。87.5%的 IE 患者在入院前使用过抗菌药物，非 IE 患者仅占 14.3%。IE 患者的 C 反应蛋白和红细胞沉降率均高于非 IE 患者(均 $P<0.05$)。见表 1。IE 患者瓣膜赘生物分布为主动脉瓣 12 例(50.0%)，二尖瓣 4 例(16.7%)，主动脉瓣＋二尖瓣 3 例(12.5%)、主动脉瓣＋三尖瓣 2 例(8.3%)，未见 3 例(12.5%)。对照组均未见瓣膜赘生物。

2.2　革兰染色结果　31 例患者中有 3 例无革兰染色结果。在 18 例确诊 IE 患者中，14 例革兰染色阳性，阳性率为 77.8%，其中 13 例(92.9%)为革兰阳性(G^+)球菌，1 例为革兰阴性(G^-)杆菌。见表 2。

表 1　IE 患者及对照组的基本资料

Table 1　Basic data of IE patients and control group

基本资料	IE 患者($n=24$)*	对照组($n=7$)
年龄(岁)	46.5±17.8	55±7.7
性别(男/女)	18/6	6/1
入院前使用抗菌药物[例(%)]		
使用过	21(87.5)	1(14.3)
未使用	3(12.5)	6(85.7)
主要感染指标		
C 反应蛋白(mg/L)	29.9±31.6	2.6±1.4
红细胞沉降率(mm/h)	33.8±32.6	5.3±3.9

*：IE 患者包括 D. IE 和 P. IE 的患者

2.3　培养结果　20 例 D. IE 患者中，6 例患者血培养阳性，阳性率为 30.0%，其中 4 株为草绿色链球菌，铜绿假单胞菌和科氏葡萄球菌各 1 株；在 D. IE 患者中，3 例瓣膜培养阳性，分别为铜绿假单胞菌、丝状真菌和粪肠球菌，阳性率为 10.0%(A5 样本从临床症状、病理图片及革兰染色结果看，丝状真菌高度怀疑为污染菌，未计入阳性率统计)。见表 2。

2.4　NGS 结果　20 例 D. IE 患者中，19 例 NGS 检测阳性，阳性率为 95.0%，其中链球菌 16 株，五日热八通体、贝氏柯克斯体、铜绿假单胞菌各 1 株。4 例 P. IE 患者中，3 例 NGS 阳性，其中链球菌 2 株，贝氏柯克斯体 1 株。排除 IE 的 7 例病例中，NGS 检测阳性 1 例，为贝氏柯克斯体。所有 NGS 结果与 Sanger 测序验证的属一致率为 100.0%，种一致率为 79.2%。

2.5　4 种方法的诊断性能　革兰染色、血培养、瓣膜培养、NGS 诊断 IE 的灵敏度分别为 77.8%、30.0%、10.0% 及 95.0%，特异度分别为 100.0%、100.0%、100.0% 及 85.7%，阳性预测值分别为 100.0%、100.0%、100.0% 及 95.0%，阴性预测值分别为 63.6%、30.0%、28.0%及 85.7%。见表 3。

表 2 31 例患者临床诊断及主要实验室检测结果

Table 2 Clinical diagnosis and main laboratory test results of 31 patients

样本号	临床诊断	革兰染色*	血培养	瓣膜培养	NGS 结果	Sanger 验证结果
A1	D. IE	阴性	阴性	阴性	五日热八通体	五日热八通体
A2	D. IE	阴性	阴性	阴性	贝氏柯克斯体	贝氏柯克斯体
A3	D. IE	G^- 杆菌	铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌
A4	D. IE	G^+ 球菌	咽峡炎链球菌	阴性	咽峡炎链球菌	咽峡炎链球菌
A5	D. IE	G^+ 球菌	阴性	丝状真菌#	格氏链球菌	格氏链球菌
A6	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	变异链球菌	变异链球菌
A7	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	口腔链球菌	链球菌属
A8	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	口腔链球菌	链球菌属
A9	D. IE	阴性	阴性	阴性	未测出	未测出
A10	D. IE	阴性	口腔链球菌	阴性	口腔链球菌	链球菌属
A11	D. IE	G^+ 球菌	血链球菌	阴性	血链球菌	血链球菌
A12	D. IE	无数据	阴性	阴性	血链球菌	血链球菌
A13	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	血链球菌	血链球菌
A14	D. IE	无数据	变异链球菌	阴性	变异链球菌	变异链球菌
A15	D. IE	G^+ 球菌	阴性	粪肠球菌	格登链球菌	格登链球菌
A16	D. IE	G^+ 球菌	科氏葡萄球菌	阴性	缺陷乏氧菌	缺陷乏氧菌
A17	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	缺陷乏氧菌	缺陷乏氧菌
A18	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	口腔链球菌	链球菌属
A19	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	缺陷乏氧菌	缺陷乏氧菌
A20	D. IE	G^+ 球菌	阴性	阴性	缺陷乏氧菌	缺陷乏氧菌
A21	P. IE	阴性	阴性	阴性	阴性	未检测
A22	P. IE	阴性	阴性	阴性	星座链球菌	链球菌属
A23	P. IE	无数据	阴性	人葡萄球菌	肺炎链球菌	肺炎链球菌
A24	P. IE	阴性	阴性	阴性	贝氏柯克斯体	贝氏柯克斯体
A25	主动脉狭窄	阴性	无数据	阴性	未测出	未检测
A26	主动脉根部瘤	阴性	无数据	阴性	未测出	未检测
A27	风心病	阴性	无数据	阴性	贝氏柯克斯体	贝氏柯克斯体
A28	先性病	阴性	无数据	阴性	未测出	未检测
A29	二尖瓣关闭不全	阴性	无数据	阴性	未测出	未检测
A30	主动脉瓣关闭不全	阴性	无数据	阴性	未测出	未检测
A31	主动脉瓣关闭不全	阴性	无数据	阴性	未测出	未检测

*：革兰染色结果为查询病历病理科革兰染色结果；#：根据患者临床症状、病理图片及革兰染色，此结果高度怀疑为污染结果

表 3 不同方法诊断 IE 的诊断效能(%)

Table 3 Diagnostic efficacy of different diagnostic methods for IE(%)

方法	入组病例(例)	灵敏度(95%*CI*)	特异度(95%*CI*)	阳性预测值(95%*CI*)	阴性预测值(95%*CI*)
革兰染色	25*	77.8(52.4～93.6)	100.0(59.0～100.0)	100.0(76.8～100.0)	63.6(30.8～89.1)
血培养	26#	30.0(11.9～54.3)	100.0(54.1～100.0)	100.0(54.1～100.0)	30.0(11.9～54.3)
瓣膜培养	27	10.0(1.2～31.7)	100.0(59.0～100.0)	100.0(15.8～100.0)	28.0(12.1～49.4)
NGS	27	95.0(75.1～99.9)	85.7(42.1～99.6)	95.0(75.1～99.9)	85.7(42.1～99.6)

*：2 例 D. IE 无革兰染色数据，未入组本统计；#：1 例阴性对照标本无血培养数据，未入组本统计

3　讨论

在临床实践中，IE 的早期诊断及针对性治疗一直是个难题。通过查询病历及电话回访，发现高达 87.5%的患者收入本院前在下级医院或者家中服用过抗菌药物，可能是 IE 早期症状与普通感染性疾病（如感冒）相似，造成临床医生或者患者误判。采集血培养前使用抗菌药物极大地影响了 IE 患者血培养的阳性率，可能是本院 IE 血培养阳性率低于国际平均水平的主要原因[8]。这种状况更可突显 NGS 技术在检测 IE 病原菌中的优势。从理论上讲，只要样本中还存在病原菌的核酸物质，NGS 技术就可以从临床样本中直接检测出包括细菌、真菌、病毒、寄生虫等所有类型的病原体[9]。当然，这也预示着 NGS 检测出的病原体有可能是残留的已死亡的病原体[10-11]。即使检出的是已死亡的病原体，对于 IE 患者瓣膜置换术后针对性的预防治疗也至关重要。IE 患者瓣膜置换术后若不接受系统的、规范的抗菌治疗就会存在很大的复发风险。在研究中还发现相比血液、胸腔积液和尿液等无菌体液[12-13]，心脏瓣膜组织中病原体的核酸更为富集，本研究中的很多样本病原体的 reads 数能达到上千甚至十万个数量级。

本研究中 1 例样本（A5）的瓣膜培养结果为丝状真菌，而革兰染色、NGS 结果及 Sanger 测序均为 G^+ 球菌，临床表现也不支持真菌感染，此结果应为假阳性，很可能是由实验室培养或者转种过程中污染导致的。样本 A16、A23 的培养结果均为凝固酶阴性葡萄球菌，NGS 和 Sanger 测序是一致的，均为链球菌。凝固酶阴性葡萄球菌虽然也可引起 IE，但是作为皮肤表面的定植菌，链球菌更容易被认为是 IE 的病原菌[14]。1 例 D. IE（A9）的病例革兰染色、血培养、瓣膜培养、NGS 及 Sanger 测序却均为阴性，可能与患者处于炎症恢复期和/或者样本取材的部分不合理有关。1 例 D. IE 的病例（A15），瓣膜培养经 VITEK 2 Compact 鉴定药敏仪和 VITEK MS 质谱仪双重鉴定均为粪肠球菌，NGS 和 Sanger 验证却均为格登链球菌，可能与肠球菌、链球菌的基因序列存在较高同源性有关（早期的细菌学分类将肠球菌归为 D 群链球菌）[15]。1 例阴性对照样本（A27），临床诊断为风心病，血培养、瓣膜培养均为阴性，但是 NGS 检测出贝氏柯克斯体（907 条 reads）。通过查询病历，与病理科医生和临床医生深入探讨，一致认为此患者可能为风心病引起的 IE 患者，临床存在漏诊的可能。如果此病例为真阳性的话，本研究计算的 NGS 检测病原菌的灵敏度和特异度将会更高。

总而言之，相比传统培养方法，NGS 在诊断 IE 时具有很多优势[16]，具体如下：（1）NGS 检测 IE 患者病原体的灵敏度远高于传统培养方法，尤其是对难于培养的苛养菌。本研究中 NGS 检测的苛养菌占总数的 34.8%（包括五日热八通体 1 例、贝氏柯克斯体 3 例、缺陷乏氧菌 4 例）。随着 NGS 技术在检测 IE 病原体上的广泛应用，更多未知的病原体可能会被检出，甚至会颠覆人们对 IE 病原谱的传统认识。（2）随着 NGS 技术的成熟，NGS 检测病原体的周期将会缩短至 2 d，远低于传统培养所需的 5～7 d，甚至是更长时间。（3）NGS 技术能够检测包括细菌、真菌、病毒、寄生虫在内的所有病原体，克服了基于 16S rRNA 的传统 PCR 方法只能检测细菌，对真菌或者混合感染无能为力的缺点。国外文献[17]报道，约 2%的 IE 是由真菌引起的。（4）随着大数据的应用和生物信息学的发展，NGS 技术在检测病原体的同时还能检测耐药基因，对于培养结果阴性的 IE 患者尤为重要，因为 NGS 不仅可以用于 IE 的诊断，还可对 IE 患者的抗菌治疗提供帮助。当然，NGS 作为一项新技术也存在很多局限性，如 NGS 的生信分析缺乏统一的标准，不能确定检测的细菌是否已经死亡，以及测序结果与疾病之间的关系尚不明确等问题。相信随着国家相关标准的形成，NGS 完整基因数据库的建立及 NGS 技术的进一步发展，这些不足或许会得到改善或者被克服，NGS 在 IE 的诊断和抗菌治疗上将发挥更大的作用。

[参 考 文 献]

[1] Thuny F, Grisoli D, Collart F, et al. Management of infective endocarditis: challenges and perspectives[J]. The Lancet, 2012, 379(9819): 965-975.

[2] Thuny F, Di Salvo G, Belliard O, et al. Risk of embolism and deathin fective endocarditis: prognostic value of echocardiography: a prospective multicenter study[J]. Circulation, 2005, 112(1): 69-75.

[3] Houpikian P, Raoult D. Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases[J]. Medicine (Baltimore), 2005, 84(3): 162-173.

[4] Poesen K, Pottel H, Colaert J, et al. Epidemiology of infective endocarditis in a large Belgian non-referral hospital[J]. Acta Clin Belg, 2014, 69(3): 183-190.

[5] Peeters B, Herijgers P, Beuselinck K, et al. Comparison of PCR-electrospray ionization mass spectrometry with 16S rRNA PCR and amplicon sequencing for detection of bacteria in excised heart valves[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(11): 2825 - 2831.

[6] Shrestha NK, Ledtke CS, Wang H, et al. Heart valve culture and sequencing to identify the infective endocarditis pathogen in surgically treated patients[J]. Ann Thorac Surg, 2015, 99(1): 33 - 37.

[7] Capobianchi MR, Giombini E, Rozera G. Next-generation sequencing technology in clinical virology[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(1): 15 - 22.

[8] Marín M, Muñoz P, Sánchez M, et al. Molecular diagnosis of infective endocarditis by real-time broad-range polymerase chain reaction (PCR) and sequencing directly from heart valve tissue[J]. Medicine (Baltimore), 2007, 86(4): 195 - 202.

[9] Fukui Y, Aoki K, Okuma S, et al. Metagenomic analysis for detecting pathogens in culture-negative infective endocarditis [J]. J Infect Chemother, 2015, 21(12): 882 - 884.

[10] Hasman H, Saputra D, Sicheritz-Ponten T, et al. Rapid whole-genome sequencing for detection and characterization of microorganisms directly from clinical samples[J]. J Clin Microbiol, 2014, 2(1): 139 - 146.

[11] Köser CU, Ellington MJ, Cartwright EJ, et al. Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology [J]. PLoS Pathog, 2012, 8(8): e1002824.

[12] Guan H, Shen A, Lv X, et al. Detection of virus in CSF from the cases with meningoencephalitis by next-generation sequencing[J]. J Neurovirol, 2016, 22(2): 240 - 245.

[13] 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.

[14] 黄俊, 刘甜, 蒋祖勋, 等. 感染性心内膜炎 730 例病原菌构成及药敏分析[J]. 岭南心血管病杂志, 2013, 19(5): 568 - 571.

[15] Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. 伯杰氏细菌鉴定手册: 第 9 版[M]. 中国科学院微生物研究所"伯杰氏细菌手册"翻译组, 译. 北京: 科学出版社, 2004.

[16] Fukui Y, Aoki K, Okuma S, et al. Metagenomic analysis for detecting pathogens in culture-negative infective endocarditis [J]. J Infect Chemother, 2015, 21(12): 882 - 884.

[17] Murdoch DR, Corey GR, Hoen B, et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the international collaboration on endocarditis-prospective cohort study[J]. Arch Intern Med, 2009, 169(5): 463 - 473.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式:程军,胡欢,张思明,等. 二代测序在检测感染性心内膜炎患者心脏瓣膜组织病原体中的应用[J]. 中国感染控制杂志,2019,18(4):277 - 282. DOI:10.12138/j.issn.1671 - 9638.20194161.

Cite this article as: CHENG Jun, HU Huan, ZHANG Si-ming, et al. Application of next-generation sequencing in detecting pathogens in heart valve tissues of patients with infective endocarditis[J]. Chin J Infect Control, 2019, 18(4): 277 - 282. DOI:10.12138/j.issn.1671 - 9638.20194161.