

· 综述 ·

开放获取

二代测序在假体周围感染诊断应用的进展[△]刘永飞^{1,2}, 张杰^{1,2}, 曹建泽^{1,2}, 赵海燕^{1,2*}

(1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院骨科, 甘肃兰州 730000)

摘要: 假体周围感染是关节置换术后的一种严重并发症, 需要大量的医疗资源, 给患者和社会带来了巨大的经济负担。近年来, 随着新型分子诊断技术的不断发展, 假体周围感染的诊断和治疗取得了重大进展。与传统培养相比, 二代测序可以快速、准确、全面地诊断致病微生物, 提高假体周围感染中致病微生物的检出率, 从而实现早期诊断和治疗假体周围感染。本文综述了二代测序的原理、方法和其在假体周围感染中识别致病微生物的特点、优势和局限性。

关键词: 二代测序, 假体周围感染, 诊断

中图分类号: R687

文献标志码: A

文章编号: 1005-8478 (2024) 17-1576-06

Progress of second generation sequencing in the diagnosis of periprosthetic joint infection // LIU Yong-fei^{1,2}, ZHANG Jie^{1,2}, CAO Jian-ze^{1,2}, ZHAO Hai-yan^{1,2}. 1. The First Clinical College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Orthopaedics, First Hospital, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Periprosthetic joint infection (PJI) is a serious complication after joint replacement, which requires a lot of medical resources and brings a huge economic burden to patients and society. In recent years, with the continuous development of novel molecular diagnostic techniques, the diagnosis and treatment of PJI have made great progress. Compared with traditional culture, the next-generation sequencing can diagnose pathogenic microorganisms quickly, accurately and comprehensively, and improve the detection rate of pathogenic microorganisms in PJI, so as to achieve early diagnosis and treatment of PJI. This paper reviews the principle and method of next-generation sequencing and its characteristics, advantages and limitations in identifying pathogenic microorganisms in PJI.

Key words: next generation sequencing, periprosthetic joint infection, diagnosis

关节置换手术被认为是修复关节损伤、减轻疼痛、增强关节功能和改善生活质量的最佳选择^[1]。由于人口老龄化, 关节置换手术的数量持续增加, 假体的使用已经较为普遍, 然而假体的使用可能会引起假体周围感染 (prosthetic joint infections, PJI)。虽然 PJI 发生的概率低, 但由于其致残率高、住院时间长、以及需要额外手术或抗菌治疗, 使其成为了关节置换手术中破坏性最强的并发症^[2]。同时, 由于 PJI 的主要发病机制是微生物在假体表面附着形成生物膜, 使得 PJI 难以诊断和治疗^[3]。在一项涉及 1 651 例患者的 2 067 例髋关节或膝关节 PJI 的研究中, 最常见的微生物群是表皮葡萄球菌等凝固酶阴性葡萄球菌, 其次是金黄色葡萄球菌、链球菌、肠球菌、皮肤杆菌和肠杆菌^[4]。尽管使用了成熟的诊断方法, 但一部分 PJI

培养阴性或被误判为无菌性松动。随着分子技术的发展, 酶联免疫吸附分析、实时荧光定量聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)、微阵列分析和基质辅助激光解吸-飞行时间质谱分析技术等多种分子技术用于检测感染病原体, 这些分子技术改进了传统的培养方法, 缩短了病原体鉴定的时间, 优化了抗生素治疗, 改善了患者的预后^[5]。然而, 这些分子方法只能检测特定的病原体, 在大样本的应用中受到了限制。与这些分子技术相比, 二代测序 (next-generation sequencing, NGS) 是一种更全面的分子技术, 对样本中的遗传物质进行测序, 通过与基因数据库对比, 从而鉴定出感染病原体。近年来, 随着测序成本的下降, NGS 被越来越多地应用于检测 PJI、脓毒症等感染性疾病的病原体^[6]。

DOI:10.20184/j.cnki.Issn1005-8478.100777

△基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82060394); 兰州市人才创新创业项目 (编号: 2020-RC-45); 兰州大学第一医院院内基金项目 (编号: ldyyn2022-73)

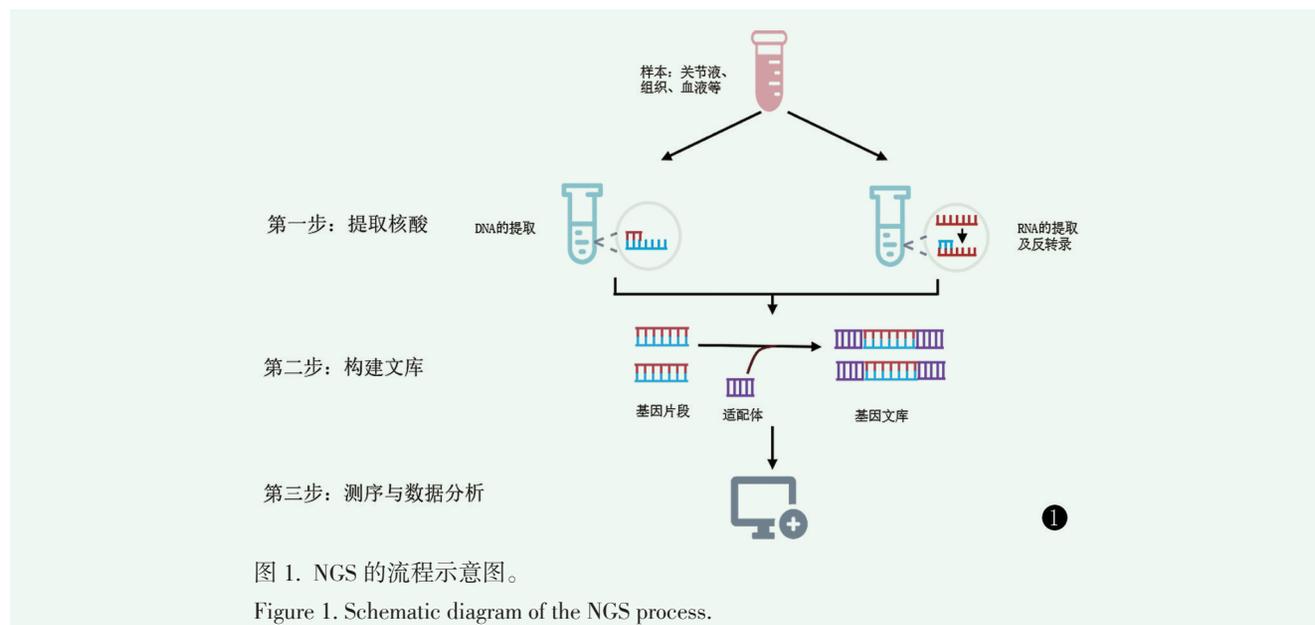
作者简介: 刘永飞, 研究生在读, 研究方向: 骨与关节外科, (电子信箱) 2466969833@qq.com

***通信作者:** 赵海燕, (电子信箱) zhaohaiyan8606@163.com

1 NGS 的原理

NGS 是对从宿主或微生物的样本中提取的基因片段进行测序的一种方法，具有数据量大、成本低、时间短、人工干预少的优点^[7]。NGS 一般分为提取核酸、构建文库、测序与数据分析三步（图 1）。第一步，通过不同的实验方法获得样品，提取样本中的所有核酸并通过机械或酶将其随机打断成适合测序的

小片段。第二步，在提取的基因片段上添加特定的接头序列，完成文库的制备。当样本通过流通池时与通道表面的引物互补配对，固定在通道表面，然后通过 PCR 扩增结合的基因片段，形成数百万克隆序列簇。第三步，测序时在流通池中加入荧光标记的脱氧核糖核苷酸三磷酸和酶，使用显微镜的激光扫描特征荧光信号，获得数百万个序列数据。将获得的序列与参考基因数据库对比，检出病原微生物，确定存在的微生物的相对丰度，了解种内和种群异质性等^[6]。



2 NGS 的方法

近年来，NGS 成本已大幅下降，特别是新型冠状病毒大流行之后，许多微生物学部门在其实验室中对冠状病毒进行测序，这使得 NGS 更容易用于临床^[8]。此外，新的测序分析平台的不断研发，使得新手也可以相对容易地使用该技术^[9]。目前，临床上诊断 PJI 的方法有 16S 扩增子靶向 NGS 和鸟枪宏基因组 NGS 两种。

16S rRNA 基因由于普遍存在于所有细菌中，已成为细菌鉴定最常用的区域，因此，可以对该特定基因进行测序以鉴定病原体。16S 扩增子靶向 NGS 是通过 PCR 反应扩增 16S 基因后，将扩增的 DNA 汇集在一起，装载到磁珠上进行乳化液 PCR，产生高浓度的样本，用于进一步的 NGS 测序。在测序平台上进行测序时，DNA 中每个核苷酸的掺入都会引起信号变化，通过读取序列数据与数据库进行比较，从而识别致病微生物^[10]。由于 16S 扩增子靶向 NGS 无需构建文库，因此具有时间短、成本低的优

点。

鸟枪宏基因组 NGS 通过提取 DNA 产生混合微生物基因组，然后将这些基因组随机片段化以产生随机的 DNA 序列集合，再通过 DNA 序列与生物信息序列数据库比较，从而识别出微生物^[10]。鸟枪宏基因组 NGS 作为一种无偏倚、快速的分子诊断技术，理论上可以检测到临床样本中的所有病原体^[11]。因此，鸟枪宏基因组 NGS 不仅可以检测所有引起骨和关节感染的已知和未知的真菌、细菌、支原体、寄生虫等病原体，而且可以为鉴定多种微生物感染和细菌污染提供多维度定量检测的结果。

3 NGS 在 PJI 中的应用

常规微生物培养是微生物鉴定的标准，但在鉴定 PJI 时，如果样本数量有限或患者在样本采集前进行了抗生素治疗，就会存在培养敏感性低的问题^[12]。即使传统培养为阴性，也不能排除 PJI 的可能。研究表明，培养阴性的 PJI 由于未能成功鉴定出致病微生物，导致治疗成功率低于 70%，使患者

面临并发症的风险^[12]。许多研究表明, NGS在检测PJI致病微生物方面优于常规诊断方法, 对于培养阴性的PJI, 将常规诊断方法与新技术相结合将成为诊疗的关键, 以早期识别致病微生物并有针对性地使用抗生素治疗。NGS在PJI中的应用比较见表1。

3.1 16S扩增子靶向NGS在PJI中的应用

Tarabichi等^[13]首次将NGS应用在培养阴性的PJI诊断中, 并成功检测到了犬链球菌, 证明NGS在检测PJI病原体中的作用。将16S扩增子靶向NGS用于检测培养阴性的PJI病例超声液中的病原体时, 其检测性能与鸟枪宏基因组NGS相似, 并且常规培养无法产生病原体时, 16S扩增子靶向NGS将成为首选的补充方法^[6]。研究表明, 一些PJI的病例使用传统培养时可能会由于微生物逃脱检测而导致培养阴性, 然而NGS可以鉴定出培养阴性的PJI中的部分致病微生物^[14]。将NGS添加到基于PCR扩增的16S rRNA基因的Sanger测序中, 大大提高了检测的阳性率和敏感性, 特别是在接受过抗生素治疗的患者中效果更好^[15]。将16S扩增子靶向NGS和纳米孔测序结合, 可以更加快速地鉴定病原体, 虽然灵敏度低于培养, 但是周转时间快, 在检测多种微生物感染方面优于培养^[16]。然而, Kildow等^[17]使用16S扩增子靶向NGS检测了116例PJI样本中的病原体, 发现16S扩增子靶向NGS的敏感性和特异性并不优于培养。因此, 16S扩增子靶向NGS可以作为一种诊断PJI病原体的工具, 但仍然需要进一步优化, 提升其在PJI中的诊断价值。

3.2 鸟枪宏基因组NGS在PJI中的应用

Wilson等^[18]首次通过鸟枪宏基因组NGS在脑脊液中发现了钩端螺旋体, 为临床上诊断罕见病原体提供了可行性, 显著提升了临床微生物学的诊断水平。在此之后, 鸟枪宏基因组NGS被越来越多地用于诊断PJI。多项研究表明, 鸟枪宏基因组NGS对PJI的检出率明显优于培养, 而且周转时间短, 有利于PJI的早期诊断和准确治疗。Patel团队使用鸟枪宏基因组NGS检测了关节翻修患者关节液和假体超声液中的病原体, 发现鸟枪宏基因组NGS的敏感性明显高于培养和大多数现有的分子诊断方法^[6]。Hao等^[19]通过培养和鸟枪宏基因组NGS检测滑液和深层组织标本中的病原体, 发现鸟枪宏基因组NGS所需的时间更短, 在多重感染或培养阴性的PJI中病原体检出率更高。Fang等^[20]比较了可疑PJI患者术前关节液中鸟枪宏基因组NGS的病原体检测结果和术中培养结果, 研究表明, 鸟枪宏基因组NGS具有更高的敏

感和特异性, 可作为一种提高术前诊断效率的补充方法。He等^[21]使用假体周围组织、滑液和假体超声液3种类型的标本评估鸟枪宏基因组NGS的诊断价值, 研究表明, 假体超声液在病原体的检测率、测序读数和基因组覆盖率方面优于其他标本, 并有可能取代传统的细菌培养。Cai等^[22]在假体周围组织中比较了微生物的培养结果和鸟枪宏基因组NGS的诊断性能, 研究表明, 假体周围组织中鸟枪宏基因组NGS的敏感性高于微生物培养, 鸟枪宏基因组NGS可以提高对PJI的诊断, 并且假体周围组织可作为传统培养、滑液和超声液评估的替代方法。同时, Cai等^[23]报道最多的支原体感染病例, 并总结和优化了一种鸟枪宏基因组NGS诊断支原体的程序, 为支原体等PJI中的罕见病原菌的诊断提供一种新的策略。因此, 将鸟枪宏基因组NGS应用于PJI患者, 可以更加准确识别病原体, 为患者提供更加精准的治疗。

当假体周围存在生物膜时, 传统培养的阳性率很低, 而鸟枪宏基因组NGS在术前检测中能明显提高PJI中真菌病原体的检出率, 提高真菌PJI治疗的成功率^[5, 11]。Zhang等^[24]探究了鸟枪宏基因组NGS在诊断和治疗骨关节炎真菌性感染中的作用, 表明有多次手术史或长期使用抗生素的患者发生真菌性感染的风险更高, 鸟枪宏基因组NGS有助于骨关节炎真菌性感染的诊断和治疗。部分PJI患者可能存在多重感染, 由于细菌间生长抑制或部分细菌需要在特定条件下培养, 只检测到了单一病原体, 使用抗生素达不到满意的疗效。Goswami等^[25]的研究表明, 鸟枪宏基因组NGS可识别大约2/3培养阴性的PJI中致病微生物, 提供比传统培养更全面的微生物谱。其中, 大肠埃希菌、痤疮杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌是多菌感染中最常见的优势菌, 表明鸟枪宏基因组NGS可以比传统培养识别更多的病原体, 以帮助诊断感染, 避免误诊和漏诊, 并进一步指导临床治疗。此外, Thoendel等^[26]首次通过鸟枪宏基因组NGS将唾液支原体确定为PJI的病原体。Street等^[27]的研究证明鸟枪宏基因组NGS还可以通过全基因组测序准确表征和重建感染链和暴发, 并通过查询数据库或参考序列快速鉴定抗生素耐药性。因此, 鸟枪宏基因组NGS不仅在监测病原体时具有高敏感性, 而且是监测PJI中休眠、耐药和稀有微生物的有力工具。

4 NGS指导PJI中抗生素的靶向使用

表 1. NGS 在 PJI 中的应用比较
Table 1. Comparison of NGS application in PJI

NGS 的方法	样本数量	样本类型	灵敏度 (%)	特异度 (%)	参考文献
16S 扩增子靶向 NGS	116	组织拭子或关节滑液	60.9	89.9	[17]
16S 扩增子靶向 NGS	47	超声液	85	98	[28]
16S 扩增子靶向 NGS	28	假体周围组织	89.3	73	[14]
鸟枪宏基因组 NGS	44	假体周围组织	95.5	90.9	[22]
鸟枪宏基因组 NGS	15	关节滑液	93.3	90	[29]
鸟枪宏基因组 NGS	97	超声液	94	95	[30]
鸟枪宏基因组 NGS	107	关节滑液	84	100	[31]
鸟枪宏基因组 NGS	25	关节滑液	92	91.7	[20]
鸟枪宏基因组 NGS	49	关节滑液	95.9	95.2	[32]
鸟枪宏基因组 NGS	97	超声液	88	88	[27]
鸟枪宏基因组 NGS	213	超声液	74.2	93	[33]

PJI 是全关节置换术后严重的并发症，及时准确地识别感染病原体，并个体化使用抗生素极其重要。虽然酶联免疫吸附测定杂交技术、荧光实时检测技术等分子技术缩短了病原体鉴定时间，优化了抗生素治疗，并改善了患者的预后。但由于识别的病原体有限、应用范围小等缺点在临床上未能广泛使用^[5]。NGS 由于不受病原体活力、抗生素和病原体生长条件的限制，以及近年来测序成本的大幅下降，因此被广泛应用于检测 PJI 中的多种病原体并指导抗生素的使用。Pham 等^[34]的研究证明 NGS 可以在 30 h 内获得和分析病原体的基因组序列，更好地识别病原体，区分复发和二次感染，精确分析患者样本的基因相关性，为患者选择最佳的治疗方案。Tarabichi 等^[14]使用 NGS 在培养阴性的 PJI 中鉴定出了病原体，并且证明靶向使用抗生素的效果更好。Zhang 等^[35]的研究证明鸟枪宏基因组 NGS 可以有效识别培养阴性的 PJI 病例中的病原微生物，特别是对于样本采集前已接受抗生素治疗或微生物难以培养的病例，NGS 有助于指导临床上抗生素的使用。Wang 等^[30]使用鸟枪宏基因组 NGS 评估了靶向抗生素治疗培养阴性 PJI 与经验性抗生素治疗的有效性，根据鸟枪宏基因组 NGS 结果，靶向使用抗生素时感染控制率更高，抗生素相关并发症更低，治疗时间更短。虽然还需要进一步的研究来探索 PJI 抗生素的使用，但 NGS 鉴别微生物方面具有优势，可以推动抗生素的靶向使用，降低抗生素耐药率。

5 NGS 的优势

PJI 患者大多在入院前接受广谱抗生素治疗，减少了细菌数量，或分泌物本身含有抗生素，影响了培

养过程中细菌的繁殖和生长。NGS 的第一个优点是无偏倚采样，不仅可以识别已知的病原体，还可以发现新的微生物。NGS 可以检测到培养阴性的蜡样芽孢杆菌、大芬戈尔德菌、野油菜黄单胞菌、棒状杆菌、发育不良链球菌和黄曲霉，表明 NGS 在检测上述细菌方面比细菌培养更敏感^[36]。其次，NGS 作为一种快速的分子诊断技术，具有敏感性高、假阳性低、特异性高、周转时间短的优点。Zhang 等的^[37]研究表明，大多数感染患者可以直接通过血液样本 NGS 识别病原体，而且由于其高特异性，血液样本 NGS 不仅可以检测感染性细菌，而且可以区分感染性和非感染性细菌。Echeverria 等^[38]通过 NGS 识别了 53 例 PJI 患者假体周围的病原体，表明外周血中可以检测到 PJI 的病原体，NGS 可以作为一种新方法监测治疗期间的感染清除率。Yin 等^[29]比较了 NGS、细菌培养和血清生物标志物在检测 PJI 中的诊断价值，研究表明，NGS 比细菌培养方法具有更高的准确性和灵敏度。因此，NGS 作为一种新的诊断方法，在 PJI 的诊断中具有很多优势，将成为 PJI 诊断的新工具。

16S 扩增子靶向 NGS 相对于鸟枪宏基因组 NGS 的优势在于它排除了包括人类基因等一系列干扰因素，利用靶向技术将检测重点放在预定靶点上，这使得 16S 扩增子靶向 NGS 在成本和周转时间方面优于鸟枪宏基因组 NGS。然而，耐药基因检测是鸟枪宏基因组 NGS 的优势之一，它能够提供 PJI 的抗生素耐药性信息，指导更加合理地使用抗生素。当鸟枪宏基因组 NGS 结果与培养结果不一致时，应根据临床病史判断病原菌，进而选择合适的抗生素治疗方案^[39]。

6 NGS 的局限性

NGS在PJI的诊断中有巨大优势,但也存在局限性,主要的局限在于污染而导致可能出现假阳性^[40]。当出现假阳性结果时,需要专业的实验室人员对结果进行合理的解释。当鸟枪宏基因组NGS在加工的某些阶段受到细菌污染时,由于许多污染的微生物也是PJI相关的潜在病原体,会导致结果很难解释。鸟枪宏基因组NGS因对样本中人类和感染微生物的所有DNA进行测序,存在成本相对较高、数据分析复杂等问题^[6],当大规模使用时,样本中的大多数核酸来自宿主,这使得检测病原体变得困难^[41]。此外,人类来源的基因导致病原体基因组的读取率相对较低,这使得鸟枪宏基因组NGS难以检测耐药基因来指导敏感抗生素的使用^[42]。16S扩增子靶向NGS虽然可用于检测大多数细菌,但它不能识别真菌或多种微生物感染,也不能定量区分污染细菌^[5]。

综上所述,NGS作为一种新型的分子诊断技术,可用于检测PJI中的病原体,特别是用于检测培养阴性的PJI中的病原体,提供耐药信息,靶向使用抗生素,实现早期诊断和早期治疗PJI的目的。此外,随着分子技术的不断发展,未来将有更直接的方法应用于临床实践,以快速、经济的方式诊断PJI。

参考文献

- [1] 刘爱峰,马信龙,崔中赏,等.膝骨性关节炎单髁与全膝置换的荟萃分析[J].中国矫形外科杂志,2021,29(21):1955-1960. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.21.07.
Liu AF, Ma XL, Cui ZS, et al. Unicompartmental knee arthroplasty versus total knee arthroplasty for knee osteoarthritis: a meta-analysis [J]. Orthopedic Journal of China, 2021, 29 (21): 1955-1960. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.21.07.
- [2] Pannu TS, Villa JM, Higuera CA. Diagnosis and management of infected arthroplasty [J]. SICOT J, 2021, 7: 54. DOI: 10.1051/sicotj/2021054.
- [3] 房鹏,赵建宁,张雷.细菌培养阴性的假体周围感染的诊断进展[J].中国矫形外科杂志,2020,28(10):907-911. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2020.10.09.
Fang P, Zhao JN, Zhang L. Progress in the diagnosis of periprosthetic infection with negative bacterial culture [J]. Orthopedic Journal of China, 2020, 28 (10): 907-911. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2020.10.09.
- [4] Tai DBG, Patel R, Abdel MP, et al. Microbiology of hip and knee periprosthetic joint infections: a database study [J]. Clin Microbiol Infect, 2022, 28 (2): 255-259. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.06.006.
- [5] Kullar R, Chisari E, Snyder J, et al. Next-generation sequencing supports targeted antibiotic treatment for culture negative orthopedic infections [J]. Clin Infect Dis, 2023, 76 (2): 359-364. DOI: 10.1093/cid/ciac733.
- [6] Hong HL, Flurin L, Thoendel MJ, et al. Targeted versus shotgun metagenomic sequencing-based detection of microorganisms in sonicate fluid for periprosthetic joint infection diagnosis [J]. Clin Infect Dis, 2023, 76 (3): e1456-e1462. DOI: 10.1093/cid/ciac646.
- [7] 李韬,高琪乐,刘少华,等.宏基因组测序在骨关节感染诊断中的应用前景[J].中国矫形外科杂志,2022,30(10):898-901. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.10.07.
Li T, Gao QL, Liu SH, et al. The application prospects of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of osteoarticular infections [J]. Orthopedic Journal of China, 2022, 30 (10): 898-901. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.10.07.
- [8] Torchia MT, Austin DC, Kunkel ST, et al. Next-generation sequencing vs culture-based methods for diagnosing periprosthetic joint infection after total knee arthroplasty: a cost-effectiveness analysis [J]. J Arthroplasty, 2019, 34 (7): 1333-1341. DOI: 10.1016/j.arth.2019.03.029.
- [9] Adelantado Lacasa M, Portillo ME, Lobo Palanco J, et al. Molecular epidemiology of multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa acquired in a spanish intensive care unit: Using diverse typing methods to identify clonal types [J]. Microorganisms, 2022, 10 (9): 331-344. DOI: 10.3390/microorganisms10091791.
- [10] Goswami K, Parvizi J, Maxwell Courtney P. Current recommendations for the diagnosis of acute and chronic pji for hip and knee-cell counts, alpha-defensin, leukocyte esterase, next-generation sequencing [J]. Curr Rev Musculoskelet Med, 2018, 11 (3): 428-438. DOI: 10.1007/s12178-018-9513-0.
- [11] He R, Wang Q, Zhang F, et al. Metagenomic sequencing in the management of fungal periprosthetic joint infection [J]. J Infect, 2020, 81 (5): 816-846. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.09.013.
- [12] Tan TL, Kheir MM, Shohat N, et al. Culture-negative periprosthetic joint infection: An update on what to expect [J]. JB JS Open Access, 2018, 3 (3): e0060. DOI: 10.2106/JBJS.OA.17.00060.
- [13] Tarabichi M, Alvand A, Shohat N, et al. Diagnosis of streptococcus canis periprosthetic joint infection: The utility of next-generation sequencing [J]. Arthroplast Today, 2018, 4 (1): 20-23. DOI: 10.1016/j.artd.2017.08.005.
- [14] Tarabichi M, Shohat N, Goswami K, et al. Diagnosis of periprosthetic joint infection: The potential of next-generation sequencing [J]. J Bone Joint Surg Am, 2018, 100 (2): 147-154. DOI: 10.2106/JBJS.17.00434.
- [15] Flurin L, Wolf MJ, Mutchler MM, et al. Targeted metagenomic sequencing-based approach applied to 2146 tissue and body fluid samples in routine clinical practice [J]. Clin Infect Dis, 2022, 75 (10): 1800-1808. DOI: 10.1093/cid/ciac247.
- [16] Han HS, Ro DH, Chung J, et al. Nanopore 16s amplicon sequencing enables rapid detection of pathogen in knee periprosthetic joint infection [J]. Int J Med Microbiol, 2022, 312 (8): 151570. DOI: 10.1016/j.ijmm.2022.151570.
- [17] Kildow BJ, Ryan SP, Danilkowicz R, et al. Next-generation sequencing not superior to culture in periprosthetic joint infection di-

- agnosis [J]. *Bone Joint J*, 2021, 103-B (1) : 26-31. DOI: 10.1302/0301-620X.103B1.BJJ-2020-0017.R3.
- [18] Wilson MR, Naccache SN, Samayoa E, et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370 (25) : 2408-2417. DOI: 10.1056/NEJMoa1401268.
- [19] Hao L, Wen P, Song W, et al. Direct detection and identification of periprosthetic joint infection pathogens by metagenomic next-generation sequencing [J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1) : 7897. DOI: 10.1038/s41598-023-35215-3.
- [20] Fang X, Cai Y, Shi T, et al. Detecting the presence of bacteria in low-volume preoperative aspirated synovial fluid by metagenomic next-generation sequencing [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 99: 108-116. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.07.039.
- [21] He R, Wang Q, Wang J, et al. Better choice of the type of specimen used for untargeted metagenomic sequencing in the diagnosis of periprosthetic joint infections [J]. *Bone Joint J*, 2021, 103-B (5) : 923-930. DOI: 10.1302/0301-620X.103B5.BJJ-2020-0745.R1.
- [22] Cai Y, Fang X, Chen Y, et al. Metagenomic next generation sequencing improves diagnosis of prosthetic joint infection by detecting the presence of bacteria in periprosthetic tissues [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 96: 573-578. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.05.125.
- [23] Cai Y, Ding H, Chen X, et al. Optimization and standardization of mngs-based procedures for the diagnosis of mycoplasma periprosthetic joint infection: a novel diagnostic strategy for rare bacterial periprosthetic joint infection [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1089919. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1089919.
- [24] Zhang C, Lin Y, Huang C, et al. Metagenomic next-generation sequencing assists the diagnosis treatment of fungal osteoarticular infections [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 1072539. DOI: 10.3389/fcimb.2022.1072539.
- [25] Goswami K, Clarkson S, Phillips CD, et al. An enhanced understanding of culture-negative periprosthetic joint infection with next-generation sequencing: a multicenter study [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2022, 104 (17) : 1523-1529. DOI: 10.2106/JBJS.21.01061.
- [26] Thoendel M, Jeraldo P, Greenwood-Quaintance KE, et al. A novel prosthetic joint infection pathogen, mycoplasma salivarium, identified by metagenomic shotgun sequencing [J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 65 (2) : 332-335. DOI: 10.1093/cid/cix296.
- [27] Street TL, Sanderson ND, Atkins BL, et al. Molecular diagnosis of orthopedic-device-related infection directly from sonication fluid by metagenomic sequencing [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55 (8) : 2334-2347. DOI: 10.1128/JCM.00462-17.
- [28] Flurin L, Wolf MJ, Greenwood-Quaintance KE, et al. Targeted next generation sequencing for elbow periprosthetic joint infection diagnosis [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2021, 101 (2) : 115448. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2021.115448.
- [29] Yin H, Xu D, Wang D. Diagnostic value of next-generation sequencing to detect periprosthetic joint infection [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2021, 22 (1) : 252. DOI: 10.1186/s12891-021-04116-9.
- [30] Wang C, Huang Z, Li W, et al. Can metagenomic next-generation sequencing identify the pathogens responsible for culture-negative prosthetic joint infection? [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20 (1) : 253. DOI: 10.1186/s12879-020-04955-2.
- [31] Ivy MI, Thoendel MJ, Jeraldo PR, et al. Direct detection and identification of prosthetic joint infection pathogens in synovial fluid by metagenomic shotgun sequencing [J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56 (9) : e00402-00418. DOI: 10.1128/JCM.00402-18.
- [32] Wang CX, Huang Z, Fang X, et al. Comparison of broad-range polymerase chain reaction and metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of prosthetic joint infection [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 2020: 95. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.055.
- [33] Thoendel MJ, Jeraldo PR, Greenwood-Quaintance KE, et al. Identification of prosthetic joint infection pathogens using a shotgun metagenomics approach [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67 (9) : 1333-1338. DOI: 10.1093/cid/ciy303.
- [34] Pham TT, Lazarevic V, Gaia N, et al. Second periprosthetic joint infection caused by streptococcus dysgalactiae: How genomic sequencing can help defining the best therapeutic strategy [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 53. DOI: 10.3389/fmed.2020.00053.
- [35] Zhang C, Fang X, Huang Z, et al. Value of mngs in sonication fluid for the diagnosis of periprosthetic joint infection [J]. *Arthroplasty*, 2019, 1 (1) : 9. DOI: 10.1186/s42836-019-0006-4.
- [36] Chang Y, Jiang K, Zhang L, et al. Application of next-generation sequencing technology in the detection of pathogenic bacteria of the periprosthetic joint infection after arthroplasty [J]. *Int Wound J*, 2023, 20 (6) : 2121-2128. DOI: 10.1111/iwj.14087.
- [37] Zhang B, Li M, Liu Y, et al. The diagnostic value of blood sample mngs in patients with early periprosthetic joint infection after total hip arthroplasty [J]. *Int Wound J*, 2023, 20 (4) : 961-970. DOI: 10.1111/iwj.13943.
- [38] Echeverria AP, Cohn IS, Danko DC, et al. Sequencing of circulating microbial cell-free DNA can identify pathogens in periprosthetic joint infections [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2021, 103 (18) : 1705-1712. DOI: 10.2106/JBJS.20.02229.
- [39] Mei J, Hu H, Zhu S, et al. Diagnostic role of mngs in polymicrobial periprosthetic joint infection [J]. *J Clin Med*, 2023, 12 (5) : 1838. DOI: 10.3390/jcm12051838.
- [40] Dulanto Chiang A, Dekker JP. From the pipeline to the bedside: Advances and challenges in clinical metagenomics [J]. *J Infect Dis*, 2020, 221 (Suppl 3) : S331-S340. DOI: 10.1093/infdis/jiz151.
- [41] 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.
- [42] Huang C, Huang Y, Wang Z, et al. Multiplex pcr-based next generation sequencing as a novel, targeted and accurate molecular approach for periprosthetic joint infection diagnosis [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1181348. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1181348.

(收稿:2023-10-31 修回:2024-05-08)
(同行评议专家:康学文, 胡旭昌)
(本文编辑:宁桦)