

ICS 11.100
CCS C 05

CITS

团 体 标 准

T/CITS 609—2025

病原宏基因组高通量测序临床检测技术规范

Technical specifications for clinical testing of pathogen metagenomic
next-generation sequencing

2025-10-28 发布

2025-10-28 实施

中国检验检测学会 发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 基本要求	2
4.1 结构布局和环境	2
4.2 生物安全防护	2
4.3 设备设施	2
4.4 人员配置	3
5 检测要求	3
5.1 检测方法	3
5.2 样本盘制备	3
6 实验流程	3
6.1 湿实验流程搭建	3
6.2 干实验流程搭建	4
7 性能确认	5
7.1 干实验性能确认	5
7.2 全流程性能确认	5
7.3 性能参数确认	5
8 报告解读	6
8.1 报告内容	6
8.2 病原体物种解读	7
8.3 耐药/毒力基因解读	7
9 质量管理	7
9.1 分析前质量控制	7
9.2 分析中质量控制	8
9.3 分析后质量控制	8
附录 A (资料性) 模拟参考品示例	9
附录 B (资料性) 临床常见标本的 mNGS 检测适用性及采集建议	10

参考文献 11



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中山大学孙逸仙纪念医院和国军标（北京）标准化技术研究院提出。

本文件由中国检验检测学会归口。

本文件起草单位：中山大学孙逸仙纪念医院、广州市红十字会医院、国军标（北京）标准化技术研究院、中山大学附属第一医院、广州金域医学检验中心有限公司、长沙金域医学检验实验室有限公司、北京列伯实验室技术交流中心、北京实安科技有限公司、北京中检体外诊断工程技术研究中心、大连医科大学附属第一医院、河南科技大学第一附属医院、江门市中心医院、吉林大学第一医院、丽水市人民医院、联勤保障部队第九〇〇医院、深圳市妇幼保健院、圣湘生物科技股份有限公司、天津市儿童医院、潍坊市第二人民医院（潍坊呼吸病医院）、威海市立医院、西安区域医学检验中心、西南医科大学附属第一医院、新疆维吾尔自治区人民医院、右江民族医学院附属医院、云南省曲靖中心医院（曲靖市第一人民医院）。

本文件主要起草人：张寅、张述耀、刘万阳、欧阳能太、林翹、陈培松、吴俊斌、罗力铭、李娜、穆红、戴其全、王亮、李晓艳、王敏、段佳佳、伍金华、姜艳芳、曲春生、张胜行、刘文兰、唐瑶、鲍会静、曲梅花、李彬彬、马淑青、曾宪飞、刘靳波、李宝林、黄国虹、王春芳、许桂丹、刘纯宏、王俊玲。

病原宏基因组高通量测序临床检测技术规范

1 范围

本文件规定了病原宏基因组高通量测序的基本要求、检测要求、实验流程和性能确认等方面的要求。本文件适用于医疗机构、第三方医学检测机构和相关科研机构开展病原宏基因组高通量测序的临床检测活动。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- GB/T 40458 用于病原微生物高通量检测的核酸提取技术规范
- GB/T 40974 核酸样本质量评价方法
- WS/T 640 临床微生物学检验样本的采集和转运

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

病原微生物 pathogenic microorganisms

能侵犯人、动物，引起其感染甚至传染病的微生物，也称为病原体。

注：包括病毒、细菌、真菌、螺旋体、支原体、衣原体、立克次体、寄生虫等。

[来源：GB/T 43429—2023，3.1，有修改]

3.2

宏基因组高通量测序 metagenomic next-generation sequencing; mNGS

通过对临床标本中提取的核酸进行文库构建、高通量测序及生物信息学分析，检测标本中病原微生物种类及其耐药/毒力基因的技术。

3.3

湿实验 wet experiment

对临床标本进行物理、化学或生物学的处理，以获取测序数据的实验室操作过程。

3.4

干实验 dry experiment

利用计算工具和数据库对测序数据进行生物信息学分析，鉴定病原体并解读其生物学意义的过程。

3.5

文库 library

通过生物来源、人工合成或克隆技术等所得的一个重建分子群，如基因组文库、互补 DNA 文库、噬菌体展示肽文库等。

[来源：GB/T 30989—2014, 3.5]

3.6 物种注释 species annotation

将通过质量控制的非宿主序列与微生物参考数据库比对，或经过从头组装成重叠群/骨架序列后再比对到微生物参考数据库，确定在特定序列相似性阈值下的物种分类级别。

注：物种注释结果包含物种中文名称、拉丁文名、序列数、相对丰度、覆盖度、测序深度等。

3.7

建库 library building

对提取的 DNA 或 RNA 进行处理，包括核酸片段化、加特定接头和 PCR 扩增等，将目标核酸构建形成可以和测序仪兼容的特定结构的核酸混合物，使其能够用于下一步测序分析的过程。

3.8

聚合酶链式反应 polymerase chain reaction; PCR

模板 DNA 先经高温变性为单链，在 DNA 聚合酶和适宜的温度下，两条引物分别与模板 DNA 两条链上的一段互补序列发生退火，接着在 DNA 聚合酶的催化下以四种 dNTP 为底物，使退火引物得以延伸，如此反复变性、退火和 DNA 合成这一循环，使位于两段已知序列之间的 DNA 片段呈几何倍数扩增。

[来源：GB/T 30989—2014, 3.14]

3.9

每百万读数 reads per million; RPM

衡量基因或转录本表达强度的常用单位，可被用来比较不同标本中基因或转录本的表达量。

3.10

检测限 limit of detection; LoD

某一分析方法在给定的可靠程度内可以从样品中检测待测物质的最小浓度或最小量。

[来源：WS/T 807—2022, 3.11]

4 基本要求

4.1 结构布局和环境

4.1.1 PCR 实验室应符合《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》的要求。

4.1.2 对于不涉及 PCR 扩增步骤的建库方法，实验室应至少设置独立的试剂准备与配制区、标本处理与核酸提取区、建库与测序准备区。各区域应在物理空间上相互隔离，并遵循单向工作流程。

4.1.3 实验室内应保持干净整洁，减少噪音和振动。对于高洁净度区域及噪音设备，应采取相应的措施。

4.1.4 实验室应保持温湿度稳定（温度宜为 20℃~25℃，相对湿度宜为 40%~60%），特殊仪器和设备应按使用说明书要求调节和监控。

4.2 生物安全防护

4.2.1 实验室应至少达到生物安全二级水平，符合 GB 19489 的要求。涉及可疑高致病性病原体操作时，应按《人间传染的病原微生物目录》的要求，在相应生物安全防护级别的实验室内进行。

4.2.2 应定期进行清洁消毒和生物安全检查，选用经批准的消毒和清洁设备，并按说明书要求规范使用。

4.2.3 废弃物应分类收集处理。所有可能含有病原微生物的废弃物（如标本、耗材、培养物）均应视为高风险废弃物，应经过高压灭菌或化学消毒等有效方式灭活后，按照医疗废弃物处理。

4.3 设备设施

4.3.1 实验设备和器材应满足湿实验、干实验和质量控制的需求，具备合格证明和使用说明书，并按规定进行标识和管理，定期进行维护保养和性能确认。

4.3.2 宜优先采用自动化设备，投入使用前应对其进行性能确认。对于核酸提取、建库等关键环节，宜使用封闭式、全自动化系统。

4.3.3 测序仪的选择应综合考虑兼容性、测序通量、测序时间和碱基判定的准确性等因素。

4.4 人员配置

4.4.1 应根据标本量、工作流程和班次设置，配备数量充足且具有相应专业背景和技术能力的工作人员。

4.4.2 所有人员应通过相关岗位的理论、实操培训和考核，并通过定期能力评估后方可上岗。应保存所有人员的培训、考核和能力评估记录。

4.4.3 关键岗位人员配置人员配置应至少包括：

- a) 湿实验：具备分子生物学、微生物学或医学检验等相关专业背景与技能的人员；
- b) 干实验：具备生物信息学专业背景的研发及数据分析管理人员；
- c) 结果审核与报告解释：具备临床微生物学、感染病学或分子诊断学背景的医师或高级技术人员，必要时组织多学科会诊；
- d) 质量管理：配备具备质量管理体系知识和经验的人员，负责全流程的质量控制与监督。

5 检测要求

5.1 检测方法

5.1.1 实验室引入病原宏基因组高通量测序检测方法或流程时，应完成全流程方法建立与性能确认，满足临床预期用途后，方可应用于临床检测。

5.1.2 检测方法及实验参数（如核酸投入量、测序深度、生物信息学分析参数等）应经过筛选和验证。经确认的检测方法和实验参数应形成标准操作程序（standard operation procedure, SOP）文件，由技术与质量负责人共同批准后实施。

5.1.3 已确认的检测方法及实验参数如有变更，应经过重新验证和性能确认，评估其影响后方可用于临床。

5.2 样本盘制备

5.2.1 用于性能确认的样本盘应包含模拟参考品和已知病原检测结果的真实临床标本，覆盖临床预期用途所涉及的全部标本类型和代表性病原体。

5.2.2 模拟参考品应至少包括革兰阳性菌、革兰阴性菌、分枝杆菌、丝状真菌、酵母、脱氧核糖核酸（deoxyribo nucleic acid, DNA）病毒、核糖核酸（ribonucleic acid, RNA）病毒及寄生虫等病原微生物，且其来源明确，基因组测序注释完整。

5.2.3 应针对样本盘中的代表性病原微生物进行检测限研究，确认其检测性能是否满足预期用途的要求。样本盘的设计应能用于多种性能参数的确认。

5.2.4 应根据不同标本类型，合理设置模拟参考品中的人源细胞浓度。模拟参考品示例见附录 A。

6 实验流程

6.1 湿实验流程搭建

6.1.1 标本选择及采集

6.1.1.1 标本选择应结合患者情况、流行病学、病原体特性、受累器官及感染部位等状况综合考虑。临床常见标本的 mNGS 检测适用性及采集建议见附录 B。对于有局限性的标本，实验室应在报告中予以注释，提醒临床医生结合其他检查结果综合判断。

6.1.1.2 标本的采集、转运和接收应符合 WS/T 640 的要求。

6.1.1.3 从无菌部位采集标本应严格执行无菌操作。从有菌部位采集标本时，应采取相应的防污染措施，并优先选择深部取材或灌洗液等更能代表感染部位的标本。

6.1.2 标本前处理

6.1.2.1 宜在标本前处理过程中对病原微生物或其核酸进行富集，可选择正向富集法或反向富集法。

注：正向富集法指通过免疫磁珠、离心等方法直接富集病原体；反向富集法指通过酶消化、差异裂解等方法去除宿主核酸。

6.1.2.2 富集方法应经过性能确认，综合考虑标本类型、预期用途、检测性能、成本和操作时效性等。

6.1.3 核酸提取

6.1.3.1 应综合考虑不同方法对不同病原体核酸的释放效果，可采取物理、化学或酶解等方法联合使用。核酸提取操作应遵循 GB/T 40458 的要求，并制定相应的 SOP 文件。

6.1.3.2 手工操作应考虑标本差异、试剂盒效率、纯度及片段大小等因素；自动化核酸提取系统应综合考虑通量、自动化程度和核酸质量等因素。

6.1.3.3 核酸纯化后应检测其浓度与纯度，质量评价宜遵循 GB/T 40974 的规定。

6.1.4 文库构建流程

6.1.4.1 选择建库方法前，应评估核心环节质量（如单/双标签测序、连接效率等），确定核酸投入量范围，并确认构建的文库满足测序与生物信息学分析要求。

6.1.4.2 对于 RNA 检测，宜在文库构建过程中去除人核糖体 RNA。

6.1.4.3 制备好的文库应使用生物分析仪、定量聚合酶链式反应（quantitative polymerase chain reaction, qPCR）或荧光计等方法进行浓度和片段分布的质量评价，并设定明确的质量接受标准。

6.1.5 高通量测序

6.1.5.1 测序仪宜使用双标签测序模式。

6.1.5.2 条件允许的情况下，可增加测序数据量，并通过数据抽样，模拟分析不同测序数据量、不同物种的 LoD，确定不同标本类型的最佳测序数据量。

6.2 干实验流程搭建

6.2.1 搭建模式、数据存储与传输

6.2.1.1 应基于临床预期用途及标本量计算所需要的服务器性能，确定下机数据能够在预期时间内完成分析。

6.2.1.2 宜优先使用本地服务器进行数据的存储和管理。若选择云端分析系统，应明确数据访问、使用、修改、保密和中止等权限和责任。

6.2.1.3 应规定数据存储的数量、媒介、位置和储存时限，数据传输过程中应设置只读访问与防篡改监控。

6.2.2 原始数据管理

6.2.2.1 应明确原始数据及 FASTQ 文件的存储位置与唯一命名规则。

6.2.2.2 文件命名宜包含数据检测/分析日期、检测实验室名称、标本类型、测序批次及唯一的标本编码等。命名规则应文件化并保持稳定。

6.2.3 数据预处理

6.2.3.1 可通过生物信息分析软件评估测序数据质量、总数据量、碱基质量值（Q20 和 Q30）等，并设定质量控制点。

6.2.3.2 数据过滤参数宜根据实验室对 mNGS 检测的敏感性和特异性需求进行调整，如 Q30 碱基数量占比 >75%、有效序列长度 ≥50 bp、含 N 碱基比例 <10% 等。

6.2.4 过滤宿主序列

6.2.4.1 人源基因序列数据库的构建应参考最新版国际人类参考基因组、转录组、核酸多态性及线粒体，并补充中国人标准基因组序列。

6.2.4.2 应评估宿主过滤的运行时间、去除效率与非特异性去除（非人源序列而被错误过滤）的序列比例。

6.2.5 物种注释

6.2.5.1 应使用近缘物种的基因序列评估分析软件的物种注释准确性。数据库或分析算法有变更时，应重新评估。

6.2.5.2 选择物种注释工具时，应基于预期用途，评估运行速度、准确率、精确率和召回率等性能。注释工具可分为三类：

- a) DNA-to-DNA 比对工具；
- b) DNA-to-Protein 比对工具；
- c) 基于特征标记基因的比对工具。

6.2.6 参考数据库

构建、使用和管理数据库时应重点关注：

- a) 评估数据库的全面性及纳入物种在分类学上的代表性；
- b) 确认参考基因组注释的准确性和序列的完整性；
- c) 及时并定期更新数据库（尤其是 RNA 病毒），更新后应重新进行性能验证；
- d) 每年对微生物数据库进行全面审核，审核内容包括新发病原体的纳入、分类学信息的更新等；
- e) 数据库的规模应与服务器的计算能力相匹配报告的时效性。

6.2.7 读长归一化

6.2.7.1 宜将每百万测序读长中匹配到病原微生物基因组的特异读长作为归一化指标。若比较不同病原微生物时，应考虑病原微生物基因组大小差异，可计算每百万测序量下每一千个碱基的基因组长度的归一化读长。

6.2.7.2 RPM 可用于同一标本中不同病原体之间的半定量比较，不可作为不同标本间病原微生物核酸的绝对定量指标。

6.2.7.3 版本控制

6.2.7.3.1 应明确每次测试所使用的软件及数据库的版本，并在报告中体现分析日期、软件名称和版本号、对每个组成工具及算法的用户自定义参数和系统默认值等。

6.2.7.3.2 可使用版本管理和流程管理工具对整个工具集进行版本控制。

7 性能确认

7.1 干实验性能确认

生物信息学分析流程建立后，应使用以下数据集对其进行性能确认，评估其准确率、精确率、召回率和 F1-Score 等指标。

- a) 临床标本测序数据：注释充分、特征明确的临床标本测序数据（FASTQ 或其他格式）。
- b) 计算机模拟测序数据：利用序列模拟软件生成与真实测序数据质量参数相同或相似的模拟数据集，宜模拟包含宿主核酸、微生物和试剂背景核酸等复杂成分。
- c) 组合数据：综合使用上述数据进行全面评估。

7.2 全流程性能确认

7.2.1 应确认湿实验和干实验全流程对病原体的检测能力是否满足临床预期用途。

7.2.2 全流程性能确认应至少包括革兰阳性菌、革兰阴性菌、分枝杆菌、丝状真菌、酵母菌、DNA 病毒、RNA 病毒及寄生虫，并应特别关注胞内菌和难破壁的病原微生物。

7.3 性能参数确认

7.3.1 方法符合率

7.3.1.1 应以国家药品监督管理局备案的商品化 qPCR 试剂盒或临床金标准（微生物培养鉴定、病理染色等）作为参比方法，必要时，可采用一代测序进行复核。

7.3.1.2 选取 5 例阴性标本，5 例阳性标本，与参比方法平行检测，计算方法符合率。方法符合率按照公式（1）计算：

$$A = (B - C) \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

式中：

A——方法符合率；

B——参比方法结果一致的标本数；

C——总检测标本数。

7.3.2 交叉反应

选取同属内近源物种（如屎肠球菌和粪肠球菌、白色念珠菌和热带念珠菌、纹带棒杆菌和白喉棒杆菌等），将其按照一定比例进行混合测序，统计近源物种的检出情况、读长比例、相对丰度与预期一致性。

7.3.3 精密度

7.3.3.1 批内精密度：使用相同批次试剂，在同一批次内对阳性参考品进行不少于 3 次的全流程重复检测。所有重复检测均应正确检出该参考品中的目标病原体。

7.3.3.2 批间精密度：用 2 个不同批次的试剂，在 3 d 内各完成参考品的 3 次全流程重复检测。所有检测均应正确检出该参考品中的目标病原体。

7.3.4 准确度

7.3.4.1 应使用临床真实标本和/或模拟参考品进行评估标本选择应结合病原体分离培养、影像学检查、宿主反应检测及治疗反应等临床信息进行综合评价。

7.3.4.2 总检测标本数应不少于 20 例，包含一定数量的经参比方法确认的阳性标本和阴性标本（如 6 例阳性参考品，每例≥4 种微生物；14 例临床标本，≥10 例培养阳性）。

7.3.4.3 以临床复合参考标准为参照，计算 mNGS 检测的阳性符合率、阴性符合率和总符合率。总符合率应≥90%。

7.3.4.4 对于检测结果与参考结果不一致的标本，应进行复核并分析原因。

7.3.5 检出限

7.3.5.1 应针对不同标本类型，在相应宿主核酸背景浓度下评估病原体的 LoD，以 95% 的重复检出某一病原体的最低浓度为 LoD。

7.3.5.2 宜使用阳性参考品进行梯度稀释，在拟定的 LoD 浓度水平，进行不少于 5 次的重复测定，或在不同批次内进行 20 次重复测定。

7.3.5.3 5 次重复检测应全部检出靶核酸，或 20 次检测应至少检出 19 次靶核酸，方可确认该浓度为 LoD。

7.3.6 稳定性

将投入 5 倍~10 倍 LoD 病原体的临床模拟标本，在不同条件下（如在 4 ℃、-20 ℃下分别保存 1 d、4 d、7 d，在 -80 ℃下分别进行 1 次、2 次冻融）进行检测，所有重复检测均应检出目标病原体。

7.3.7 抗干扰性

7.3.7.1 在投入 3 倍~5 倍 LoD 病原体的临床模拟标本中，分别加入更高浓度的宿主细胞，每份标本重复检测 2 次~3 次。

7.3.7.2 通过试验确定在该检测体系下，弱阳性病原体能够被稳定检出时所允许的最高宿主核酸背景（可通过内标序列的 RPM 值来间接衡量）。此阈值可用于临床报告的解读提示。

8 报告解读

8.1 报告内容

病原体mNGS检测报告应清晰、准确，并至少包含以下内容：

- a) 患者基本信息与唯一性标识；
- b) 标本信息：类型、采集日期、接收日期；
- c) 检测方法：明确为“病原宏基因组高通量测序”；
- d) 检测结果：以列表形式清晰展示检出的病原微生物，包含中文名称、拉丁文名、唯一比对的特异读长数、相对丰度等信息；
- e) 关键质量指标：如下机总数据量、Q30 比例、宿主序列去除比例等；
- f) 生物信息学分析所用软件与数据库版本；
- g) 解读与注释：对结果进行必要的临床注释，提示可能的污染菌、定植菌，并对特殊病原体进行警示；
- h) 报告日期、报告人及审核人签字。

8.2 病原体物种解读

8.2.1 检出法定的甲类、乙类参照甲类管理的传染病病原体，或其它烈性传染病病原体时，实验室应立即：

- a) 核实下机数据的质量（包括特异性序列、读长数、基因组覆盖度等）；
- b) 排除背景核酸污染及特异性序列比对错误；
- c) 启动复核程序；
- d) 立即上报实验室负责人，并依法依规通知临床医护人员和医院感染管理部门。

8.2.2 对于无菌部位（如脑脊液、血液、胸水、腹水、关节液、活检组织等）的标本，检出任何病原微生物（除有明确证据表明为污染外），均应视为具有高度临床意义，应报告为“检出XX菌”或“可疑致病微生物”；报告时应提供支持该病原体存在的关键指标，如特异性序列数、基因组覆盖度等。

8.2.3 对于开放性腔道或存在正常菌群/定植菌部位（如呼吸道、肠道、皮肤伤口表面）的标本，检出条件致病微生物时，应谨慎区分感染与定植或污染。解读时应综合考量多项指标，包括但不限于：

- a) 微生物序列数据：如特异读长数、相对丰度（在该标本所有检测出的微生物中的占比）、基因组覆盖度与均匀度；
- b) 标本质量：如宿主核酸含量、内标检出情况；
- c) 临床信息：如患者的临床症状、影像学检查、其他微生物学检查结果（如培养、涂片）及对治疗的反应；
- d) 对于解读困难的病例，应组织微生物、感染、影像、临床等相关专业人员进行多学科会诊。

8.3 耐药/毒力基因解读

8.3.1 当报告耐药基因或毒力基因时，应明确注明其为“基因型”检测结果，并谨慎解读。

8.3.2 耐药基因的检出提示病原体存在潜在耐药机制，应注意基因型与表型可能不一致的情况（如基因未表达、新突变等）。

8.3.3 毒力基因的检出提示该病原体可能具备相应的致病潜力，其在实际感染中的表达和作用应结合临床情况综合判断。

8.3.4 若临床有药敏实验需求，应以表型药敏实验结果为最终治疗依据。mNGS 检测出的耐药基因可作为重要补充信息。

9 质量管理

9.1 分析前质量控制

9.1.1 应建立标本采集与送检 SOP 文件，明确规范标本选择、采集时机和方式、容器/耗材、标本量、送检单信息及运送保存条件等。

9.1.2 实验室应通过稳定性研究或引用权威依据，明确不同标本类型的允许保存条件和运输时限。

9.1.3 应建立临床标本接收与前处理的 SOP 文件，对标本的性状（如澄清度、黏稠度、是否带血、泄漏等）、运输容器、运输时长与温度等设定明确的接收和拒收条件。

9.1.4 应建立试剂、耗材（包括批次、分装和储存时间等）及设备日常维护和校准的质量控制文件。

9.2 分析中质量控制

9.2.1 应建立核酸提取、文库、测序数据的质量控制要求，明确室内质量控制规则。每一次临床检测批次中应包括阴性和阳性质控品，并与临床标本同步进行全流程操作。

9.2.2 阴性质控品应使用不含目标病原体、含有与临床标本相似人源细胞/核酸背景的基质进行制备。

9.2.3 阳性质控品宜使用含3倍~5倍LoD的灭活微生物的人源细胞基质（可与阴性质量控制标本浓度保持一致），应涵盖细菌、DNA病毒和RNA病毒等不同类型。

9.2.4 应监控测序下机数据的关键指标（如总数据量、Q30比例、簇密度等），并确认其符合预设标准。

9.3 分析后质量控制

9.3.1 应对检测过程中出现的异常结果或不符合项进行调查，采取纠正措施，并详细记录、定期回顾，持续改进和优化检测流程。

9.3.2 应定期进行室内质量评价或能力验证，检测流程有重大调整或更换核心试剂耗材时，应重新进行性能确认。

9.3.3 宜定期参加国内外权威机构组织的室内质量评价或实验室间比对活动。当出现不符合结果时，应立即启动调查，查找原因并及时整改。

9.3.4 应建立报告发放的审核制度，报告内容应具备准确性、完整性和规范性。

附 录 A
(资料性)
模拟参考品示例

模拟参考品见表 A.1。

表 A.1 模拟参考品示例

参考品编号	主要用途	投入微生物	病原体浓度 (copies/mL 或 CFU/mL)		说明
D1	检测广度与灵敏度评估	金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、脓肿分枝杆菌、烟曲霉、白念珠菌、腺病毒、呼吸道合胞病毒、刚地弓形虫	D1-1: $5 \times \text{LoD}$	D1-2: $1 \times \text{LoD}$	1. D1-1 可用于准确度、精密度、稳定性确认; 2. D1-2 可用于 LoD、精密度、抗干扰能力确认; 3. 各病原体浓度基于其各自确定的 LoD 进行设置
D2	交叉反应评估	尿肠球菌、粪肠球菌	D2-1: 尿肠球菌 10^4 copies/mL 粪肠球菌 10^3 copies/mL	D2-2: 尿肠球菌 10^3 copies/mL 粪肠球菌 10^4 copies/mL	用于评估生物信息学流程对近缘物种的区分能力

附录 B

(资料性)

临床常见标本的 mNGS 检测适用性及采集建议

临床常见标本的 mNGS 检测适用性及采集建议见表 B.1。

表B.1 临床常见标本的mNGS检测适用性及采集建议

标本采集部位	推荐用于 mNGS 的标本及采集方式	注意事项
静脉	外周静脉血，使用 EDTA 等抗凝管采集	不应从输液侧肢体采血； 血液凝固会导致检测失败； 病原体核酸浓度通常较低
正常无菌部位	脑脊液、胸腔积液、腹腔积液、关节液、眼内液等	严格执行无菌操作； 标本被污染会直接导致假阳性
呼吸道	下呼吸道：肺泡灌洗液、支气管毛刷、支气管抽吸液、合格下呼吸道痰； 上呼吸道：鼻咽拭子	唾液、口咽分泌物人源背景高，特异性较差； 上呼吸道标本可能存在定植菌，应谨慎解读； 宜对痰液等进行前处理
伤口	开放性伤口：清创后采集深部组织或溃疡基底分泌物 封闭性伤口：皮肤彻底消毒后抽取内部脓液	表面拭子易受皮肤定植菌污染，检测结果特异性低，不宜作为检测标本
实体组织	手术活检或穿刺获取的组织标本，无菌保存	被污染的标本会严重影响结果准确性
尿液	无菌技术采集的中段尿或耻骨上膀胱穿刺尿	中段尿可能受到尿道菌群污染
粪便	采集新鲜粪便，取内部或有黏液、脓血的部分	背景微生物群落极其复杂，数据分析与解读挑战大

参 考 文 献

- [1] GB/T 30989—2014 高通量基因测序技术规程
- [2] GB/T 43429—2023 人感染病原微生物与样本保藏通用要求
- [3] WS/T 807—2022 临床微生物培养、鉴定和药敏检测系统的性能验证
- [4] CNAS—GL039；2019 分子诊断检验程序性能验证指南
- [5] 人间传染的病原微生物目录. 国卫科教发〔2023〕24号
- [6] 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
- [7] 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(04): 454-465