doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2502073

论著·临床研究

靶向二代测序技术在新生儿呼吸窘迫综合征病原体检测中的价值：一项前瞻性随机对照研究

张海红[1] 欧阳夏[1,2,3] 刘仙萍[1] 黄少如[1] 林云峰[1,2,3]

［1.福建省儿童医院（上海儿童医学中心福建医院；福建医科大学妇儿临床医学院）新生儿科，福州 350001；2.福建医科大学妇儿临床医学院福建省妇幼保健院新生儿科，福建福州 350001；3.福建省妇儿重大疾病研究重点实验室（福建省妇幼保健院），福建福州 350001］

［**摘要**］**目的** 探讨靶向二代测序（targeted next-generation sequencing, tNGS）对中重度呼吸窘迫综合征（respiratory distress syndrome, RDS）新生儿病原学诊断的应用价值。**方法** 采用前瞻性随机对照研究，纳入2023年12月—2024年12月福建省儿童医院收治的81例足月或近足月中重度RDS患儿，随机分为常规微生物检测（conventional microbiological test, CMT）组（*n*=42）和tNGS组（*n*=39）。CMT组经支气管镜获取支气管肺泡灌洗液或气管插管获取下呼吸道样本进行常规病原学检测（所有均送培养，部分加做聚合酶链反应或抗原检测），tNGS组在常规病原学检测的基础上联合tNGS技术进行病原体分析。对两组病原体检出率、混合感染检出率及抗菌药物使用时间等指标进行比较。**结果** tNGS组病原体检出率（18/39）显著高于CMT组（8/42）（46% vs 19%，*P*=0.009），其中混合感染检出率为13%（5/39），而CMT组未检出混合感染（*P*=0.024）。在治疗方面，tNGS组抗菌药物使用时间短于CMT组［（12±4）d vs（15±5）d，*P*=0.003］。**结论** tNGS能显著提高中重度RDS新生儿的病原体检出效率，具有快速识别混合感染及缩短抗菌药物疗程的优势，有临床推广价值。

［中国当代儿科杂志，2025，27（10）：1191-1198］

［**关键词**］新生儿呼吸窘迫综合征；靶向二代测序；支气管肺泡灌洗液；新生儿

Value of targeted next-generation sequencing in pathogen detection for neonates with respiratory distress syndrome: a prospective randomized controlled trial

ZHANG Hai-Hong, OU-YANG Xia, LIU Xian-Ping, HUANG Shao-Ru, LIN Yun-Feng. Department of Neonatology, Fujian Children's Hospital (Fujian Branch of Shanghai Children's Medical Center; College of Clinical Medicine for Obstetrics & Gynecology and Pediatrics, Fujian Medical University), Fuzhou 350001, China (Lin Y-F, Email: lyf2003@fjmu.edu.cn)

Abstract: Objective To investigate the application value of targeted next-generation sequencing (tNGS) in the etiological diagnosis of moderate to severe respiratory distress syndrome (RDS) in neonates. **Methods** A prospective randomized controlled trial was conducted, enrolling 81 term and late-preterm neonates with moderate to severe RDS admitted to Fujian Children's Hospital between December 2023 and December 2024. Patients were randomly assigned to the conventional microbiological test (CMT) group (*n*=42) or the tNGS group (*n*=39). For routine pathogen detection, bronchoalveolar lavage fluid was obtained via bronchoscopy, and lower respiratory tract specimens were collected via the endotracheal tube; all specimens underwent culture, and some specimens additionally underwent polymerase chain reaction or antigen testing. In the tNGS group, tNGS was performed in addition to routine pathogen detection on the same specimen types. The detection rate of pathogens, the detection rate of co-infections, and the duration of antibiotic use were compared between the two groups. **Results** The pathogen detection rate in the tNGS group (18/39, 46%) was significantly higher than that in the CMT group (8/42, 19%) (*P*=0.009). The co-infection detection rate was 13% (5/39)

［收稿日期］2025-02-19；［接受日期］2025-08-25
［基金项目］福建省临床重点专科建设项目（闽卫医政函〔2023〕1163号）；福建医科大学启航基金项目（2022QH1212）。
［作者简介］张海红，女，大学本科，住院医师。
［通信作者］林云峰，男，副主任医师。Email：lyf2003@fjmu.edu.cn。

in the tNGS group, while no co-infections were identified in the CMT group (P=0.024). Regarding treatment, the duration of antibiotic use in the tNGS group was shorter than that in the CMT group [(12±4) days vs (15±5) days, P=0.003]. **Conclusions** tNGS significantly improves the pathogen detection rate in neonates with moderate to severe RDS and offers advantages in the rapid identification of co-infections and reduction of antibiotic treatment duration, suggesting it has clinical utility and potential for wider adoption.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2025, 27(10): 1191-1198]

Key words: Neonatal respiratory distress syndrome; Targeted next-generation sequencing; Bronchoalveolar lavage fluid; Neonate

新生儿呼吸窘迫综合征（respiratory distress syndrome, RDS）是新生儿呼吸衰竭和死亡的主要原因，病理表现为双肺弥漫性肺泡损伤和液体积聚导致气体交换障[1]。早产儿RDS主要是因为肺表面活性物质（pulmonary surfactant, PS）缺乏，而足月和近足月RDS多与胎膜早破、宫内感染、选择性剖宫产、窒息等有关[2]。随着围产医学的进步，早产儿RDS发生率及病死率显著下降，而足月和近足月RDS占比日益突出[3-5]。国内大型研究显示，新生儿RDS患病率2.7%，病死率32.0%，其中足月儿占77.7%[3]。国外多项研究报道，RDS患病率约1.5%，足月和近足月占比66.2%[4-5]。相比早产儿，足月儿发生RDS时氧疗及PS治疗效果较差，且更易发生气胸和持续性肺动脉高压，病死率更高[2, 6]。中重度病例更容易出现长期肺部并发症和发育迟滞[7]。感染是足月和近足月RDS的重要诱因[8]，病原学检测已被证实是优化抗菌治疗的关键环节，是改善预后和降低病死率的关键[9]。常规微生物检测（conventional microbiological test, CMT）时效性差、病原覆盖率低等局限，导致经验性抗菌药物治疗普遍[10]，宏基因组测序（metagenomic next-generation sequencing, mNGS）提升病原检出率，但成本高昂、宿主基因干扰大且无法同时进行DNA和RNA双过程检测等原因[11]，限制了临床推广。靶向二代测序（targeted next-generation sequencing, tNGS）通过排除宿主核酸干扰，且可以同时兼顾DNA和RNA流程，缩短了检测时间[12]。多项研究表明，tNGS对细菌/真菌的检测效能与mNGS相当，在DNA病毒检测中更具优势，且成本效益更优，更具有临床应用潜力[13-14]。尽管tNGS与mNGS在新生儿脓毒症、肺炎等感染性疾病中已展现出相当的诊断效能[15-16]，但其在新生儿RDS病原学诊断中的临床应用仍缺乏高质量循证依据。本研究通过随机对照试验，评估在足月/近足月中重度RDS中tNGS在病原体检出率及指导抗菌药物使用方面的临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究为前瞻性随机对照试验，选取2023年12月—2024年12月在福建省儿童医院新生儿重症监护病房住院的新生儿为研究对象。纳入标准：（1）符合2012年欧洲危重症协会在德国柏林主持修订的中重度RDS诊断标准的新生儿[1]；（2）胎龄≥34周；（3）经支气管镜获取支气管肺泡灌洗液（broncho alveolar lavage fluid, BALF）或气管插管获取合格下呼吸道样本，同步送检tNGS及CMT。排除标准：（1）未通过tNGS质量控制的样本（内参不合格、污染等）；（2）临床资料缺失；（3）合并重大先天性疾病（如严重先天性心脏病、先天畸形、基因异常等）；（4）住院7 d内家属放弃治疗。

初步纳入90例患儿，采用区间随机化（SealedEnvelope系统）生成1∶1分配序列，分配序列由独立统计人员管理，使用密封信封法隐藏，至入组时拆封。因检测方法差异，临床医生未设盲，但数据分析设盲。本研究通过福建省儿童医院医学伦理委员会审查（伦理审批号为2023ETKLR120111），所有法定监护人均签署知情同意书。

1.2 样本量计算

根据文献，tNGS组的预期阳性率为79.5%，CMT组的预期阳性率为38.6%[17]，本研究使用PASS 23.0.3软件（NCSS LLC）计算样本量，设定显著性水平α=0.05（双侧），统计效力（1−β=80%，即β=0.20），失访率10%，通过Inequality（Fisher's Exact Test）模块计算得每组至少需25例。

1.3 抗菌药物应用

本研究采用标准化抗菌药物管理策略：所有患儿入院即刻启动基于感染风险分层的经验性抗菌药物治疗。病原学结果指导下的方案调整遵循精准降阶梯原则：CMT组依据传统培养及药敏结果调整（滞后3~5 d），tNGS组结合分子检测报告

（24~48 h）及药敏结果动态优化方案，复杂病例需感染科、微生物室及临床药师协同决策。停抗菌药物需同时满足以下标准：（1）体温正常≥72 h，呼吸支持需求下降≥50%；（2）连续两次C反应蛋白<5 mg/L（间隔24 h以上），降钙素原<0.5 ng/mL，白细胞计数及分类恢复正常（参照新生儿不同日龄标准），病原体检查阴性；（3）胸部X线示肺部改善，超声监测肺部实变/或胸腔积液体积缩小≥50%。此外，各组还需满足以下条件：tNGS组复查检出非细菌病原体感染（如病毒、真菌等），若检出细菌，则BALF中细菌基因组拷贝数<10^3/mL；而CMT组完成目标性疗程（如细菌性肺炎7~10 d）。

1.4 样品处理和常规微生物测试

支气管镜检查由副主任医师在法定监护人签署知情同意书后执行。无菌采集3~5 mL BALF或气管插管吸取物，置入无菌集痰器分送微生物实验室。常规进行细菌/真菌涂片培养，临床疑似病毒感染者追加靶向聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）或抗原检测。

1.5 tNGS技术

1.5.1 样本制备

按照标准程序获得3~5 mL样品，以12 000 r/min离心5 min，然后在研磨机（Tiss-24，Jingxin，中国上海）上以70 Hz研磨5 min。然后根据制造商的说明，将研磨的样品用于DNA/RNA提取和纯化（Zymo BIOMICS DNA Miniprep Kit R2002）。提取的DNA用于文库构建。

1.5.2 文库构建和测序

使用多重PCR捕获文库构建试剂盒（广州市金圻睿生物科技有限责任公司）构建文库。包括两轮PCR扩增，以样品核酸和cDNA为模板，筛选出306个微生物特异性引物进行多重PCR扩增，以富集目标病原体序列，引物设计的关键点如下：（1）引物的GC含量（鸟嘌呤–胞嘧啶含量）设定在40%~60%；（2）引物的长度控制在18 bp和26 bp之间。引物的Tm值设计为58~62℃，避免3'端连续G/C。设计了用于多重扩增的引物组，并针对重要病原体（例如结核分枝杆菌复合体）和需要分型的病原体（例如SARS-CoV-2）设计了更多引物（≥5）。扩增后，通过磁珠法提取核酸并去除宿主DNA（>99%），经片段化、Illumina接头连接及靶向探针（覆盖3 000+病原体及耐药基因）富集，PCR扩增后经Qubit/Bioanalyzer质控（浓度≥2 ng/μL，主峰250~350 bp），文库浓度保持在至少0.5 ng/μL。随后使用通用测序试剂盒（KS107-CXR，KingCreate，中国广州）在Illumina MiniSeq平台上对稀释和变性的文库进行测序。

1.6 tNGS技术的局限性和偏倚

tNGS专注于预定义的病原体靶标，存在无法检测罕见或新发病原体的局限，且扩增过程可能引入丰度偏倚。本研究通过双医师独立评估（综合临床数据与检测结果）进行临床相关性判定，分歧时由资深专家仲裁共识，以保障结果解读的可靠性。

1.7 统计学分析

采用SPSS 27.0软件进行数据整理和分析。连续变量符合正态分布（Shapiro-Wilk检验P>0.05）且方差齐性（Levene检验P>0.05）者，采用独立样本t检验，以均值±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，方差不齐（Levene检验P≤0.05）者采用Welch校正t检验；非正态分布计量资料采用中位数（四分位数间距）[M（P_{25}，P_{75}）]法表示，组间比较采用Mann-Whitney U检验；计数资料采用例数和构成比（%）表示，组间比较采用χ^2或Fisher确切概率法（期望频数<5时）。为控制多重检验导致的假阳性风险，采用Bonferroni校正。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人口特征

本研究共筛选90例足月和近足月中重度RDS新生儿，根据排除标准排除9例患儿，其中，2例临床病史资料不全，3例严重先天疾病，3例tNGS内参不合格，1例自动出院。共81例患儿纳入研究，其中tNGS组39例，CMT组42例（图1）。tNGS组和CMT组的临床特征，包括人口统计学特征、实验室数据、呼吸机参数和新生儿危重症评分[18]等，两组间比较差异无统计学意义（P>0.05），tNGS组送样到结果反馈的时间显著短于CMT组，差异有统计学意义（P<0.001）。见表1~2。

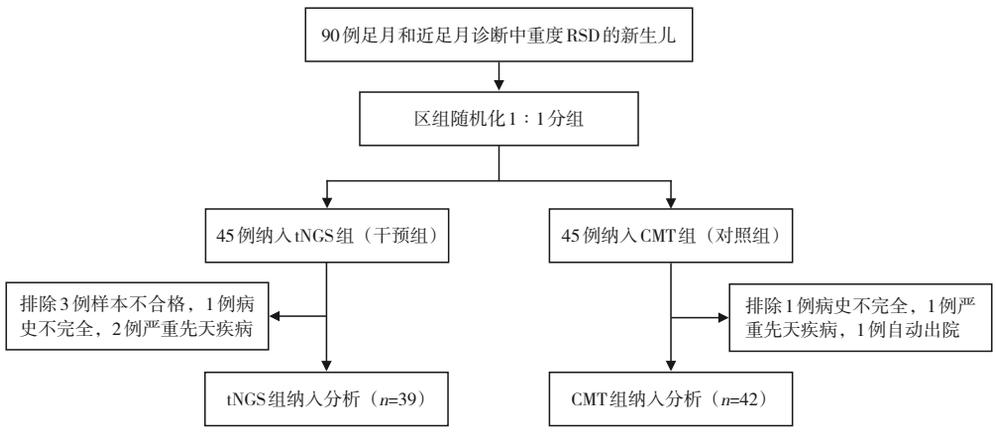


图1　参与者流程图

表1　两组患儿的基线特征比较

项目	CMT组 (n=42)	tNGS组 (n=39)	$t/Z/\chi^2$值	P值
性别 (男/女, 例)	28/14	26/13	0.001	1.000
单胎 [例(%)]	42(100)	36(92)	1.545	0.214
分娩方式 (顺/剖, 例)	26/16	20/19	0.930	0.335
胎龄 ($\bar{x} \pm s$, 周)	38.4 ± 1.3	38.6 ± 1.7	0.668	0.506
入院日龄 ($\bar{x} \pm s$, d)	4.8 ± 1.1	5.3 ± 1.1	0.276	0.784
出生体重 ($\bar{x} \pm s$, kg)	3.2 ± 0.5	3.3 ± 0.4	0.700	0.486
5 min Apgar评分 [$M(P_{25}, P_{75})$, 分]	10(10, 10)	10(10, 10)	0.251	0.802
PS替代治疗 [例(%)]	8(19)	10(26)	0.509	0.476
取标本前机械通气时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, h]	24(9, 48)	36(24, 48)	1.779	0.075
肺动脉高压 [例(%)]	20(48)	19(49)	0.010	0.921
循环系统疾病 [例(%)]	27(64)	20(51)	1.404	0.236
神经系统疾病 [例(%)]	10(24)	8(21)	0.127	0.721
肾脏疾病 [例(%)]	5(12)	5(13)	0.001	1.000
样本 (BALF/气管插管吸取标本, 例)	31/11	30/19	0.105	0.745
标本取样前抗菌药物暴露时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, h]	24(0, 44)	29(15, 57)	1.669	0.095
送样至结果反馈时间 ($\bar{x} \pm s$, h)	78 ± 10	29 ± 8	−25.130	<0.001

注：［CMT］常规微生物检测；［tNGS］靶向二代测序；［PS］肺表面活性物质；［BALF］支气管肺泡灌洗液。

表2　研究期间两组患儿实验室数据、呼吸机参数和新生儿危重症评分

变量	CMT组 (n=42)	tNGS组 (n=39)	t/Z值	P值
Hb ($\bar{x} \pm s$, g/L)	151 ± 30	151 ± 28	0.013	0.990
CRP [$M(P_{25}, P_{75})$, mg/L]	9.93(1.95, 19.53)	16.94(5.26, 30.02)	1.725	0.084
PCT [$M(P_{25}, P_{75})$, ng/mL]	7.91(0.12, 15.16)	2.39(0.12, 9.16)	0.528	0.597
Scr [$M(P_{25}, P_{75})$, μmol/L]	60(41, 68)	60(31, 68)	0.482	0.630
TBil [$M(P_{25}, P_{75})$, mmol/L]	77(40, 94)	71(31, 123)	0.369	0.712
ALT [$M(P_{25}, P_{75})$, IU/L]	10(6, 14)	9(7, 13)	0.351	0.726
Lac [$M(P_{25}, P_{75})$, mmol/L]	2.2(1.8, 2.4)	2.2(1.7, 3.2)	1.127	0.260
FiO_2 [$M(P_{25}, P_{75})$, %]	50(35, 76)	40(30, 60)	1.654	0.098
MAP ($\bar{x} \pm s$, cmH_2O)	11.7 ± 3.4	10.4 ± 2.8	1.883	0.063
OI [$M(P_{25}, P_{75})$, mmHg]	7.4(4.2, 11.7)	6.2(2.9, 9.9)	1.579	0.114
新生儿危重病例评分 ($\bar{x} \pm s$, 分)	81 ± 4	82 ± 5	1.478	0.143

注：［CMT］常规微生物检测；［tNGS］靶向二代测序；［Hb］血红蛋白；［CRP］C反应蛋白；［PCT］降钙素原；［Scr］血清肌酐；［TBil］总胆红素；［ALT］丙氨酸氨基转移酶；［Lac］乳酸；［FiO_2］吸气氧浓度；［MAP］平均气道压力；［OI］氧合指数。参考范围：Hb 97~183 g/L；CRP 0~10 mg/L；PCT<0.05 ng/mL；Scr 13~33 mmol/L；TBil 0~26 μmol/L；ALT 20~40 IU/L；Lac 0.1~1 mmol/L。

2.2 tNGS与常规微生物检测病原检测的比较

tNGS组和CMT组工作流程和时间表见图2。以最终临床诊断为参考，总体而言，tNGS组总体病原体检出率显著高于CMT组［46%（18/39）vs 19%（8/42）］，差异具有统计学意义（χ^2=6.75，*P*=0.009）。尤其在细菌检出［38%（15/39）vs 5%（2/42），*P*<0.001］和混合感染识别［13%（5/39）vs 0%（0/42），*P*=0.024］方面具显著优势，病毒检出率相当［15%（6/39）vs 14%（6/42），*P*=0.562］，真菌/非典型病原体检出无差异［5%（2/39）vs 0%（0/42），*P*=0.498］。细菌谱以肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌为主（图3）。tNGS组各种病原体感染的百分比如图4所示，其中，细菌–病毒混合感染最常见，其次是细菌–真菌、细菌–非典型病原体。

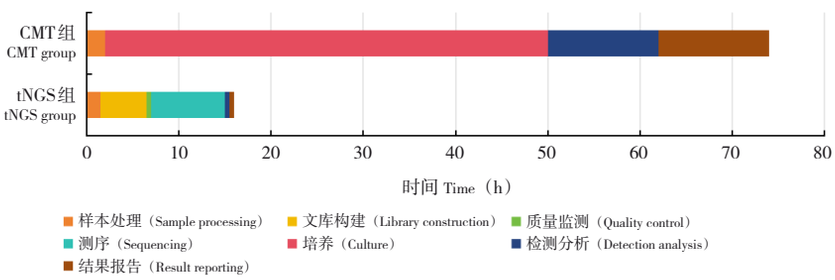


图2 tNGS组和CMT组工作流程和时间表

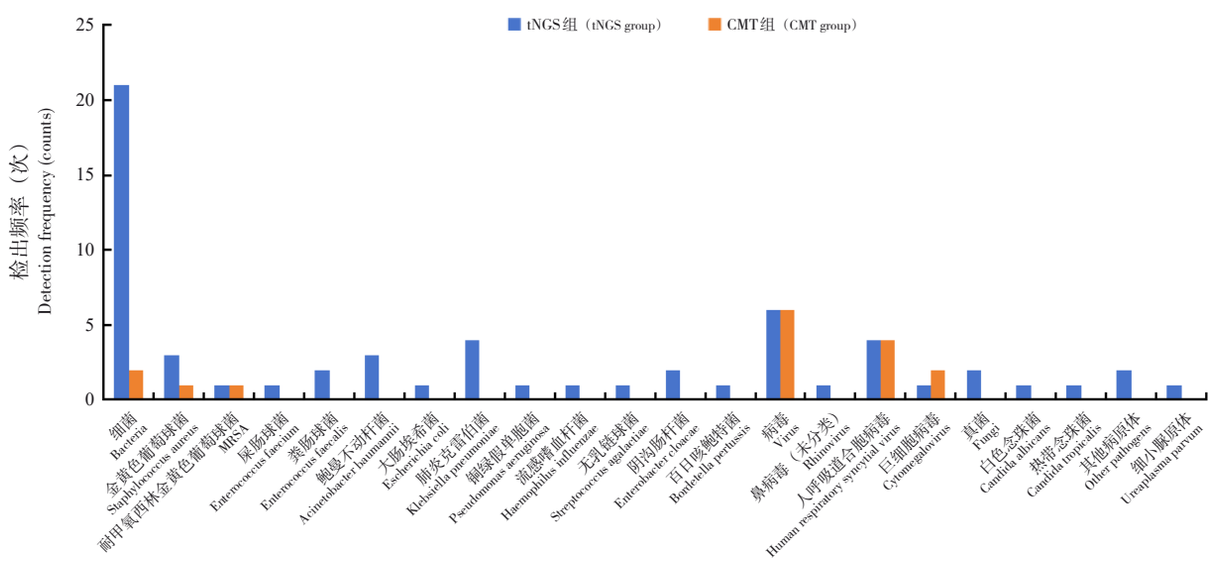


图3 tNGS组和CMT组检出的病原体 ［MRSA］耐甲氧西林金黄色葡萄球菌。

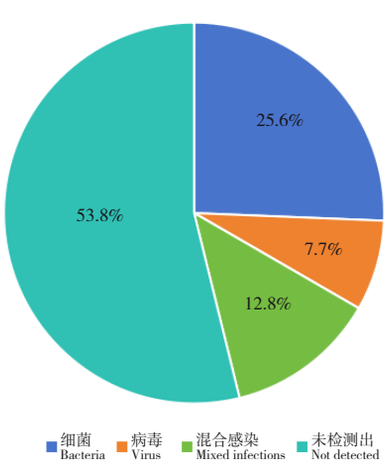


图4 tNGS检出的各病原体感染比例

2.3 tNGS对治疗和预后的影响

在这项研究中，所有患儿都接受了经验性抗菌药物治疗，支气管镜检查用于诊断或治疗。明确发病机制后，我们根据患儿的临床特点和病原体检测结果调整了抗感染方案。总体上虽然tNGS组和CMT组在调整抗菌药物无显著差异［41%（16/39）vs 33%（14/42），χ^2=0.52，*P*=0.47］，但tNGS组在降阶/停用比例更高［15%（6/39）vs 5%（2/42）］，但差异无统计学意义（*P*=0.146），如图5所示。tNGS组的抗菌药物使用时间明显低于CMT组［（12±4）d vs（15±5）d，*t*=3.061，*P*=0.003）］，Bonferroni校正后仍保持显著性（*P*=0.024），纳入患儿的结局如表3所示。

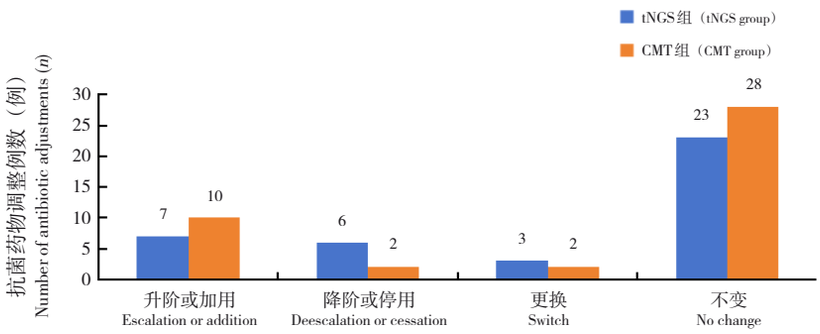


图5　tNGS组和CMT组调整抗菌药物治疗方案　不变指维持原有经验性抗菌药物；更换指同类抗菌药物的优化；降阶或停用指缩小抗菌谱或减少/停用抗菌药物；升阶或加用指加强抗菌谱覆盖或增加抗菌药物数量。

表3　两组患儿临床结局比较

项目	CMT组 (n=42)	tNGS组 (n=39)	$t/Z/\chi^2$值	P值	校正P值
抗菌药物使用时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	15 ± 5	12 ± 4	3.061	0.003[a]	0.024[*]
抗菌药物调整 [例(%)]					
无	28(67)	23(59)	0.513	0.474	1.000
有	14(33)	16(41)			
肺部感染改善 [例(%)]	10(24)	13(33)	0.902	0.342	1.000
NICU住院时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	9(6, 14)	10(6, 16)	0.483	0.629	1.000
总住院时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	15(12, 22)	15(12, 20)	0.247	0.805	1.000
呼吸机的使用时间 [$M(P_{25}, P_{75})$, h]	144(86, 203)	132(86, 204)	0.425	0.671	1.000
住院费用 [$M(P_{25}, P_{75})$, 元]	43 775(29 092, 64 391)	40 641(29 860, 62 806)	0.170	0.865	1.000

注：［NICU］新生儿重症监护室。[a]差异有统计学意义，采用Bonferroni校正P值，[*]校正P值后差异仍有统计学意义。

3　讨论

新生儿中重度RDS是一种具有高发病率和病死率的严重疾病，通常与多种因素有关，如感染、缺氧和炎症反应等，因新生儿的肺发育尚未成熟，更易遭受肺部损伤，从而导致RDS[19]。随着对RDS病理生理认识的深入，临床医生开始更加注重早期识别和及时干预，以改善患儿的结局[20]。在成人中已有相对成熟的诊疗方案，但在新生儿领域的研究仍显不足[21]。由于新生儿RDS起病急且早期缺乏可靠的感染标志物，医生常需对所有患儿启动经验性广谱抗菌药物治疗。虽然这种策略有助于控制潜在感染并降低早期病死率，但过度抗菌药物暴露会增加坏死性小肠结肠炎、晚发型败血症、侵袭性真菌感染和死亡的风险[22]。因此，早期精准识别病原体并实施针对性抗感染治疗，对改善患儿预后、减少抗菌药物滥用及遏制耐药性的发生具有重要意义[23]。

本研究的创新在于首次将tNGS技术应用于足月及近足月新生儿中重度RDS的病原学诊断。样本采用BALF或气管插管吸取物，有效规避上呼吸道定植菌干扰，为tNGS实现高效检测提供了理想标本来源。研究结果显示，tNGS组病原体检出率达46%（18/39），相较于传统CMT方法提升2.4倍［19%（8/42），P=0.009］，其中13%（5/39）的混合感染病例仅通过tNGS确诊，突显其在复杂感染诊断中的独特优势，这与Wei等[24]研究一致。在治疗方面，tNGS同步检测15种耐药基因，将抗菌药物决策时间从78 h缩短至29 h，并缩短了抗菌药物疗程，平均减少了3 d（12 ± 4 d vs 15 ± 5 d，P=0.003），其机制主要包括3个方面：（1）快速排除非细菌感染，如3例单纯病毒检出病例中，基于tNGS结果联合实验室指标及影像学特征，使抗菌药物中位停用时间从传统CMT组的72 h提前至48 h，这与Kumar等[25]提出的黄金24 h理论高度契合；（2）精准识别耐药机制，指导个体化用药，如1例MRSA感染患儿改用利奈唑胺、1例超广谱β-内酰胺酶基因阳性的阴沟肠杆菌感染使用美罗培南，有效缩短临床缓解时间，另1例大肠埃希菌（未检出碳青霉烯酶基因），将碳青霉烯类降阶为头孢哌酮舒巴坦，验证了tNGS在病原体及耐药基因检测方面的优势，是提高治疗精度和减少抗菌

药物滥用的理想选择，这与Li等[26]的报告一致；（3）降阶梯治疗时间窗前移，在检测出的18例阳性病例中，有1例无乳链球菌感染48 h内停用碳青霉烯类改用青霉素。此外，tNGS比CMT和mNGS检测具有更高的效率和成本效益（tNGS和mNGS：150美元vs 500美元）[9]。

这些结果提示，tNGS可作为中重度RDS新生儿病原检测的有效工具，推动临床决策的精准化，减少抗菌药物耐药性，同时减少多重耐药病原体的积累和传播[27]。在政策制定方面，推动tNGS的临床应用可以引导医疗资源的优化配置，提高新生儿重症监护的标准，这提示卫生政策制定者需建立分层应用指南：对于合并多重感染风险（如胎膜早破>18 h、C反应蛋白>8 mg/L）和经验性治疗失败（如初始经验性抗菌药物治疗72 h无效、持续机械通气>7 d）的RDS患儿，推荐优先采用tNGS检测以发挥其快速筛查价值。本研究中两组患儿在住院时间、住院费用及呼吸机使用时间等方面未见显著差异，这一部分结果提示我们，尽管tNGS技术在病原体检测的实时性和准确性上具有潜力，但其对整体治疗结果的改善仍需更多的临床数据支持。可能的原因包括重度RDS的病理生理机制复杂，且病程的严重程度仍可能受到多种因素的影响，如基础病、合并感染、早期治疗等。

然而，本研究也存在一定的局限性。首先，样本量相对较小，仅在单一中心进行，可能会影响结果的普适性，未来的研究可以考虑扩大样本量，采用多中心的设计，以验证tNGS在不同人群中的应用效果；其次，本研究中的大多数婴儿在取样前接受了抗菌治疗，因抗菌药物可能抑制细菌培养率，这可能会降低CMT检出的阳性率；另外，尽管我们已尽力控制干扰因素，但由于新生儿个体差异及临床管理方案的不同，这些因素可能会对检测结果产生影响。此外，该研究仅评估了短期的临床效果，未能对长期的疗效和安全性进行跟踪。最后，尽管tNGS在检测病原体的灵敏度和特异性上表现良好，但对于某些难以培养的病原体，其临床解读仍需谨慎。

综上所述，tNGS技术在重度新生儿呼吸窘迫综合征患儿的病原体检测中显示出更高的阳性率和更短的检测时间，能够有效缩短抗菌药物使用时间，降低耐药风险，提升治疗效果。然而，进一步的多中心大规模研究仍然必要，以验证其在更广泛的临床环境中的适用性和有效性。

作者贡献声明：张海红负责数据分析、论文撰写；刘仙萍、黄少如负责数据收集和整理；林云峰、欧阳夏负责文章的构思、设计与修改。

利益冲突声明：所有作者均声明无利益冲突。

［参　考　文　献］

[1] ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533. PMID: 22797452. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.

[2] 刘敬. 足月新生儿呼吸窘迫综合征的诊断与治疗[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(14): 1117-1120. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2013.14.023.

[3] 江苏省新生儿ARDS研究协作组. 基于“柏林定义”的新生儿急性呼吸窘迫综合征临床流行病学调查研究[J]. 中华新生儿科杂志（中英文）, 2018, 33(5): 339-343. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2932.2018.05.005.

[4] Mohy Eldeen S, Ali S, Salama H. Clinical characteristics, diagnosis, and management outcome of surfactant deficiency respiratory distress syndrome in term and near-term neonates. A retrospective observational study[J]. Acta Biomed, 2022, 93(6): e2022337. PMID: 36533740. PMCID: PMC9828914. DOI: 10.23750/abm.v93i6.13794.

[5] Sun H, Xu F, Xiong H, et al. Characteristics of respiratory distress syndrome in infants of different gestational ages[J]. Lung, 2013, 191(4): 425-433. PMID: 23722460. DOI: 10.1007/s00408-013-9475-3.

[6] 陈安, 施丽萍, 郑季彦, 等. 晚期早产儿和足月儿呼吸窘迫综合征的临床特点[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(9): 654-657. PMID: 19099850. DOI: 10.3321/j.issn:0578-1310.2008.09.004.

[7] Sweet DG, Carnielli VP, Greisen G, et al. European consensus guidelines on the management of respiratory distress syndrome: 2022 update[J]. Neonatology, 2023, 120(1): 3-23. PMID: 36863329. PMCID: PMC10064400. DOI: 10.1159/000528914.

[8] Okumura T, Horiba K, Tetsuka N, et al. Next-generation sequencing-based detection of *Ureaplasma* in the gastric fluid of neonates with respiratory distress and chorioamnionitis[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2023, 36(1): 2207113. PMID: 37150592. DOI: 10.1080/14767058.2023.2207113.

[9] Zheng YR, Lin SH, Chen YK, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the detection of pathogens in bronchoalveolar lavage fluid of infants with severe pneumonia after congenital heart surgery[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 954538. PMID: 35992666. PMCID: PMC9391048. DOI: 10.3389/fmicb.2022.954538.

[10] Yang A, Chen C, Hu Y, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) using bronchoalveolar lavage

fluid (BALF) in diagnosing pneumonia of children[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(5): e0148822. PMID: 36169415. PMCID: PMC9603332. DOI: 10.1128/spectrum.01488-22.

[11] Miao Q, Ma Y, Wang Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(suppl_2): S231-S240. PMID: 30423048. DOI: 10.1093/cid/ciy693.

[12] Mitchell SL, Simner PJ. Next-generation sequencing in clinical microbiology: are we there yet?[J]. Clin Lab Med, 2019, 39(3): 405-418. PMID: 31383265. DOI: 10.1016/j.cll.2019.05.003.

[13] Yin Y, Zhu P, Guo Y, et al. Enhancing lower respiratory tract infection diagnosis: implementation and clinical assessment of multiplex PCR-based and hybrid capture-based targeted next-generation sequencing[J]. EBioMedicine, 2024, 107: 105307. PMID: 39226681. PMCID: PMC11403251.
DOI: 10.1016/j.ebiom.2024.105307.

[14] Sun W, Zheng L, Kang L, et al. Comparative analysis of metagenomic and targeted next-generation sequencing for pathogens diagnosis in bronchoalveolar lavage fluid specimens [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14: 1451440. PMID: 39258254. PMCID: PMC11385274.
DOI: 10.3389/fcimb.2024.1451440.

[15] Dai Y, Sheng K, Hu L. Diagnostic efficacy of targeted high-throughput sequencing for lower respiratory infection in preterm infants[J]. Am J Transl Res, 2022, 14(11): 8204-8214. PMID: 36505277. PMCID: PMC9730095.

[16] Balks J, Grumaz S, Mazzitelli S, et al. Microbial cell-free DNA-sequencing as an addition to conventional diagnostics in neonatal sepsis[J]. Pediatr Res, 2025, 97(2): 614-624. PMID: 39143203. PMCID: PMC12015174.
DOI: 10.1038/s41390-024-03448-1.

[17] Wang L, Zha P, Wang Y, et al. The value of macrogene second-generation sequencing in the diagnosis, guidance of drug use, and efficacy monitoring of infectious pneumonia in premature infants[J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022: 4398614. PMID: 36277011. PMCID: PMC9581658.
DOI: 10.1155/2022/4398614.

[18] 中华医学会急诊学分会儿科学组,中华医学会儿科学分会急诊学组、新生儿学组.新生儿危重病例评分法（草案）[J].中华儿科杂志, 2001, 39(1): 42-43.
DOI: 10.3760/j.issn:0578-1310.2001.01.013 .

[19] Monahan LJ. Acute respiratory distress syndrome[J]. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care, 2013, 43(10): 278-284. PMID: 24295609. DOI: 10.1016/j.cppeds.2013.10.004.

[20] Wick KD, Ware LB, Matthay MA. Acute respiratory distress syndrome[J]. BMJ, 2024, 387: e076612. PMID: 39467606.
DOI: 10.1136/bmj-2023-076612.

[21] Hecker M, Weigand MA, Mayer K. Acute respiratory distress syndrome[J]. Internist (Berl), 2012, 53(5): 557-566. PMID: 22527664. DOI: 10.1007/s00108-012-3018-5.

[22] Lee JH, Hornik CP, Benjamin DK, et al. Risk factors for invasive candidiasis in infants >1 500 g birth weight[J]. Pediatr Infect Dis J, 2013, 32(3): 222-226. PMID: 23042050. PMCID: PMC3578110. DOI: 10.1097/INF.0b013e3182769603.

[23] Murni IK, MacLaren G, Morrow D, et al. Perioperative infections in congenital heart disease[J]. Cardiol Young, 2017, 27 (S6): S14-S21. PMID: 29198258.
DOI: 10.1017/S1047951117002578.

[24] Wei M, Mao S, Li S, et al. Comparing the diagnostic value of targeted with metagenomic next-generation sequencing in immunocompromised patients with lower respiratory tract infection[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2024, 23(1): 88. PMID: 39350160. PMCID: PMC11443791.
DOI: 10.1186/s12941-024-00749-5.

[25] Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock[J]. Crit Care Med, 2006, 34(6): 1589-1596. PMID: 16625125.
DOI: 10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9.

[26] Li Y, Jiang Y, Liu H, et al. Targeted next-generation sequencing for antimicrobial resistance detection in ventilator-associated pneumonia[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2025, 15: 1526087. PMID: 39958934. PMCID: PMC11825505.
DOI: 10.3389/fcimb.2025.1526087.

[27] Dai X, Xu K, Tong Y, et al. Application of targeted next-generation sequencing in bronchoalveolar lavage fluid for the detection of pathogens in pulmonary infections[J]. Infect Drug Resist, 2025, 18: 511-522. PMID: 39898354. PMCID: PMC11784358. DOI: 10.2147/IDR.S499265.

（本文编辑：张辉）

（版权所有©2025 中国当代儿科杂志）