

宏基因组学第二代测序在新生儿血液与脑脊液 疑似感染病原谱研究中的应用

张琰滢¹ 甘明宇² 朱韵倩³ 吴冰冰² 周文浩^{1,4}

(1.温州医科大学附属第二医院育婴儿童医院新生儿科, 浙江温州 325027;
2.复旦大学附属儿科医院儿科研究所, 上海 201102; 3.复旦大学附属儿科医院新生儿科, 上海 201102;
4.广州医科大学附属妇女儿童医疗中心, 广东广州 510623)

[摘要] **目的** 评估宏基因组学第二代测序 (metagenomics next-generation sequencing, mNGS) 技术在诊断疑似新生儿败血症和中枢神经系统感染中的病原体检出性能。**方法** 回顾性纳入648例疑似新生儿败血症或中枢神经系统感染的患儿, 共收集734份脑脊液和733份血液样本。对比同时进行mNGS检测和传统病原学培养的病原谱检出结果, 并以临床诊断为金标准, 比较两种方法的诊断效能。**结果** mNGS在脑脊液和血液样本中的病原体检出阳性率分别为15.3%和40.0%, 均高于传统病原学培养 (分别为1.4%和10.7%)。mNGS在脑脊液和血液中分别检出25种和40种病原体, 高于传统病原学培养检出的4种和24种。mNGS还检测到包括脲原体、支原体在内的多种传统病原学培养难以检出的罕见病原体。另外, 以临床诊断为标准, 两种方法的检测性能结果显示, mNGS检出脑脊液和血液样本中病原体的灵敏度分别为50.4%及46.7%, 而传统病原学培养法分别为5.8%及18.0%。**结论** mNGS技术相较于传统病原学培养法, 能显著提升新生儿感染病原体的检出率, 提供更全面的病原学信息, 对实现新生儿感染的精准诊疗具有重要临床价值。[中国当代儿科杂志, 2026, 28 (7): 824-831]

[关键词] 新生儿败血症; 中枢神经系统感染; 病原谱; 宏基因组学第二代测序; 新生儿

Application of metagenomic next-generation sequencing in the pathogen spectrum analysis of suspected infections in neonatal blood and cerebrospinal fluid

ZHANG Yan-Yan, GAN Ming-Yu, ZHU Yun-Qian, WU Bing-Bing, ZHOU Wen-Hao. Department of Neonatology, Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325027, China (Zhou W-H, Email: zhouwenhao@fudan.edu.cn)

Abstract: Objective To evaluate the performance of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in detecting pathogens in suspected neonatal sepsis and central nervous system infections. **Methods** This retrospective study included 648 neonates with suspected sepsis or central nervous system infections, with 734 cerebrospinal fluid and 733 blood samples collected. The pathogen spectra detected by mNGS and traditional culture were compared. Using clinical diagnosis as the gold standard, the diagnostic efficacy of the two methods was analyzed. **Results** The positive rates of pathogen detection by mNGS in cerebrospinal fluid and blood samples were 15.3% and 40.0%, respectively, significantly higher than those of traditional culture (1.4% and 10.7%, respectively). mNGS identified 25 and 40 distinct pathogenic species from cerebrospinal fluid and blood, respectively, exceeding the 4 and 24 species detected by culture. *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, and other fastidious pathogens difficult to culture were detected exclusively by mNGS. Using clinical diagnosis as the reference, mNGS showed sensitivities of 50.4% (cerebrospinal fluid) and 46.7% (blood), compared to 5.8% and 18.0% for culture. **Conclusions** mNGS significantly improves pathogen detection rates in neonatal infections compared with traditional culture, provides more comprehensive pathogen information, and holds important clinical value for the precise diagnosis and treatment of neonatal infections. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2026, 28(7): 824-831]

Key words: Neonatal sepsis; Central nervous system infection; Pathogenic spectrum; Metagenomic next-generation sequencing; Neonate

[收稿日期] 2025-11-05; [接受日期] 2026-05-08

[作者简介] 张琰滢, 女, 硕士研究生, 住院医师。

[通信作者] 周文浩, 男, 主任医师, 教授。Email: zhouwenhao@fudan.edu.cn。

感染性疾病是全球范围内威胁儿童生命健康的主要公共卫生问题，其中新生儿时期发生的感染性疾病是导致新生儿死亡的重要原因。新生儿感染主要包括新生儿败血症、新生儿肺炎和新生儿脑膜炎等^[1]。据统计，每年有230万新生儿在出生后28 d内死亡^[2]，世界卫生组织数据显示每年超过55万名的新生儿死亡由新生儿感染引起^[3]。通过早期诊断并及时使用适当的抗生素治疗，可显著降低新生儿病原体感染相关病死率，因此快速准确地检测新生儿感染病原体对于正确的临床诊断和治疗至关重要。

新生儿感染病原谱广泛复杂，临床实践中快速、准确识别致病性微生物仍面临诸多挑战。传统病原学培养方法存在耗时长、阳性率低等技术瓶颈，导致临床普遍面临“治疗时间窗错过”和“抗生素滥用”双重困境，限制了其在临床实践中的广泛应用。近年来，宏基因组学第二代测序(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)技术迅速发展，能够直接、无偏倚检测临床样本中的微生物核酸，并具备同时检测微生物和耐药基因或耐药突变的能力^[4-6]，成为除传统病原学培养方法外应用于临床识别病原体的又一重点技术。mNGS已被证明在检测血流感染、中枢神经系统感染、呼吸道感染等条件下的致病性微生物方面，相较于传统病原学培养方法具有更高的灵敏度^[4, 6-7]。此外，mNGS已在临床环境中广泛应用，用于检测罹患各种综合征的患者样本中的致病性微生物^[8-10]。然而，该技术在新生儿感染，尤其是新生儿败血症与中枢神经系统感染中的诊断效能、病原谱特征及其对临床治疗的指导价值，尚缺乏系统性及大样本高质量证据加以验证。

为此，本研究将mNGS技术应用于648例疑似新生儿败血症及新生儿中枢神经系统感染的病原体诊断中，通过mNGS、传统病原学培养两种方法分别与临床诊断进行比较，评估mNGS在病原体识别中的性能，为新生儿感染精准诊疗提供技术依据，对推动新生儿感染性疾病诊治从经验性用药向精准医疗转变具有重要临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性纳入2023年1月—2025年1月因疑似新生儿败血症或新生儿中枢神经系统感染入住复旦大学附属儿科医院，且进行了mNGS检测的患儿

648例。纳入标准：(1) 生后28 d内入院、临床诊断或疑似诊断新生儿败血症或新生儿中枢神经系统感染的患儿^[11-12]，且10 d内同时采集脑脊液和血液样本行mNGS检测；(2) 7 d内对同一样本行传统病原学培养病原体检测。排除标准：(1) 入组后自愿退出研究；(2) 样本无法进行mNGS和传统病原学培养检测；(3) mNGS检测结果异常；(4) 临床信息不完整。本研究中所有符合纳入标准的患儿连续入组。该研究已通过复旦大学附属儿科医院伦理委员会批准(2022-37)，并获得家长知情同意。

新生儿败血症的诊断标准如下^[11]。(1) 早发型败血症(early-onset sepsis, EOS)疑似诊断：生后≤72 h出现临床异常表现或有EOS重要高危因素。(2) 晚发型败血症(late-onset sepsis, LOS)疑似诊断：生后>72 h出现异常临床表现。(3) 新生儿败血症的临床诊断：有临床异常表现，同时满足下列条件中的任何1项：①血液非特异性检查≥2项阳性；②脑脊液检查为化脓性脑膜炎改变；③血液或脑脊液中检出致病菌DNA。

新生儿中枢神经系统感染的诊断标准如下^[12]。(1) 疑似诊断：急性发热起病，并伴有反复惊厥、意识障碍或颅内压增高的表现。(2) 确诊：疑似新生儿中枢神经系统感染，且脑脊液检查阳性或者脑脊液病原学检查阳性。

1.2 传统病原学培养

每例患儿的血液或脑脊液样本分为两份，其中一份进行mNGS检测，另一份进行传统病原学培养检测。将样本接种于多种细菌培养基，使用无菌接种环或接种针，取适量样本在培养基表面均匀涂布，将细菌培养基置于37℃的恒温培养箱中培养。将培养出的细菌菌落使用法国bioMérieux公司的VITEK2 COMPACT自动鉴定测试仪器，按照制造商的指导进行菌株鉴定。

1.3 mNGS

取1.5 mL样本，使用QIAamp UCP Pathogen Mini Kit (Qiagen, Germany)试剂盒提取DNA，操作步骤按照操作说明书进行。基于KAPA Hyper Prep建库系统(Roche, Swiss)、Illumina平台高通量测序构建文库，使用75个周期单端测序试剂盒在Illumina NextSeq 550平台上进行DNA测序。对于每批样本，从DNA提取到测序，同时处理阴性对照和非模板对照。

1.4 测序数据分析

数据分析流程遵循本团队既往研究方案^[10, 13-14]。使用 Trimmomatic v0.39 对 Illumina 测序读段进行过滤，设置滑动窗口为 10 bp，过滤掉平均质量值<15 的读段以及长度<40 bp 的读段。将过滤后的读段使用 Bowtie v2.3.4 比对至人参考基因组 (GRCh38)，并去除能比对至人参考基因组的读段。使用 Centrifuge v1.0.3 对剩余读段进行微生物分类鉴定^[13]。为了排除潜在的污染物，将每个微生物的读段数量与阴性对照中观察到的数量进行比较。

1.5 统计学分析

使用 R (4.1.0) 软件进行统计学分析。临床诊断被视为评估 mNGS 病原体检测 and 传统病原学培养性能的金标准。分别计算 mNGS 和传统病原学培养的真阳性、假阴性、真阴性、假阳性、灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和一致性。计数资料以例数或株数和百分率 (%) 表示，组间比较采用 McNemar 检验 (比较 mNGS 与传统病原学培养在同一样本中的检出性能差异)、Z 检验 (比较 mNGS 与传统病原学培养在同一样本中的检出性能差异) 及 Pearson 卡方检验 (比较两组样本检出结果的差异)，均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特征

根据纳入和排除标准共纳入 648 例患儿的 734 份脑脊液样本和 733 份血液样本 (同一患儿多次检测以及同一脑脊液样本对应时间段内的两份血液样本)。648 例患儿中，男性 400 例，女性 248 例，中位年龄为 14 d。734 份脑脊液样本中，146 份对应的患儿临床确诊为中枢神经系统感染，其中 79 例为细菌感染，44 例未明确病原体。733 份血液样本中，436 份对应的患儿临床确诊为败血症，其中 80 例为细菌感染，61 例为病毒感染，部分为其他病原体感染或混合感染。见表 1。

2.2 mNGS 检出病原谱分布

mNGS 检测显示，脑脊液和血液样本病原体阳性率分别为 15.3% (112/734) 和 40.0% (293/733)。本研究分析了 733 对同一患儿同一时间窗内 (10 d 内) 采集的脑脊液-血液匹配样本。结果显示，大部分样本 (55.9%，410/733) 的病原体检出结果均

为阴性。在病原检出结果均为阳性的 70 对样本 (9.6%) 中，超过半数 (54.3%，38/70) 的脑脊液和血液样本检出了完全匹配的病原体，其中以人类疱疹病毒为主 (共 14 对)。其次，有 27.1% (19/70) 的样本检出的病原体完全不同，例如，脑脊液样本检出了 4 株血液样本未检出的解脲脲原体，而血液样本则检出了 5 株克雷伯菌属细菌，而其匹配的脑脊液样本均未检出。

表 1 患儿脑脊液与血液样本的临床特征及感染诊断情况

指标	脑脊液样本	血液样本
性别 [n(%)]		
男性	396(61.7)	398(61.7)
女性	246(38.3)	247(38.3)
采样日龄 [$M(P_{25}, P_{75})$, d]	14.0(1.0, 42.0)	14.0(1.0, 42.0)
出院诊断感染情况 [n(%)]		
临床确诊细菌感染	79(10.8)	80(10.9)
临床确诊病毒感染	8(1.1)	61(8.3)
临床确诊真菌感染	5(0.7)	18(2.5)
未确诊病原体	44(6.0)	285(38.9)
无感染	598(81.5)	289(39.4)

注：脑脊液和血液检测样本数分别为 734 和 733；脑脊液样本组纳入患儿 642 例，血液样本组纳入患儿 645 例，性别、采样日龄按患儿例数统计；因部分患儿存在多次送检，故患儿总数小于本组总检测样本数；出院诊断感染情况按单份检测样本统计，所有百分比均以对应组总检测样本数为基准计算。

脑脊液阳性样本中共检出 130 株病原体，其中 95 份样本为单一病原体感染，混合感染样本有 17 份；血液阳性样本中共检出 384 株病原体，其中 229 份为单一感染，混合感染的样本有 64 份。两种样本的混合感染检出率差异无统计学意义 (15.2% vs 21.8%， $\chi^2=2.25$ ， $P=0.134$)。两种样本类型的病原体检出方面，血液样本检出病原体总数 (384 株) 和种类 (55 种) 均多于脑脊液样本；病原体分类方面，两种样本均以细菌为主，病毒次之。见表 2。

表 2 两种类型样本通过 mNGS 检出的病原体株数及种类数

病原体	病原体检出株数		病原体检出种类数	
	脑脊液	血液	脑脊液	血液
细菌	81	220	18	27
病毒	35	127	8	13
真菌	5	25	3	11
其他	9	12	4	4
合计	130	384	33	55

脑脊液样本中，检出数量最多的细菌为无乳链球菌；检出株数>10株的细菌有无乳链球菌、屎肠球菌及大肠埃希菌，见表3。检出数量最多的病毒是人类疱疹病毒5型，共检出17株。上述4种病原体占脑脊液病原检出的46.9%（61/130）。血液样本中，检出数量最多的病原体是人类疱疹病毒5型（96株）；检出株数超过20株的细菌包括肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、屎肠球菌。这4种病原体占血液病原检出的50.0%（192/384）。真菌和其他病原体（如脲原体、支原体、衣原体）在两类样本中有少量检出。

表3 mNGS检出病原体分布 （株）

病原体	脑脊液	血液
无乳链球菌	18	13
屎肠球菌	14	23
大肠埃希菌	12	30
肺炎克雷伯菌	9	43
粪肠球菌	6	18
铜绿假单胞菌	4	6
结核分枝杆菌复合群	3	18
阴沟肠杆菌复合群	2	12
金黄色葡萄球菌	2	8
嗜麦芽窄食单胞菌	1	3
产气克雷伯菌	1	8
乳明串珠菌	0	13
鲍曼不动杆菌	0	5
密歇根克雷伯菌	0	4
人类疱疹病毒5型(巨细胞病毒)	17	96
人类疱疹病毒1型(1型单纯疱疹病毒)	5	5
人类疱疹病毒4型(EB病毒)	5	6
人类疱疹病毒2型(2型单纯疱疹病毒)	2	3
人类疱疹病毒6A型	2	3
人类疱疹病毒6B型	2	2
人副肠弧病毒1型	1	2
人副肠弧病毒3型	0	4
解脲脲原体	4	0
细小脲原体	2	1
人型支原体	2	3
沙眼衣原体	1	7
烟曲霉	0	5
近平滑念珠菌	0	5
白念珠菌	3	4
光滑念珠菌	0	3

注：本表仅展示任一样本中检出≥2株的病原体。

2.3 mNGS与传统病原学培养两种方法检出的病原谱对比

由于传统病原学培养方法不能检出病毒，所

以在进行mNGS与传统病原学培养两种方法的对比时，本研究将病毒排除在结果分析范围外。

在726份同时通过mNGS和传统病原学培养的脑脊液样本中，排除病毒后，mNGS阳性检出率（11.7%，85/726）显著高于传统病原学培养（1.4%，10/726），差异有统计学意义（McNemar检验， $\chi^2=75.00$ ， $P<0.001$ ）。仅7份样本经传统病原学培养和mNGS检测后均为阳性，其中4份（57.1%）通过两种方法检测到的病原体物种种类完全匹配。而在单一方法检出阳性的样本中，绝大多数仅由mNGS检出（96.3%，78/81），主要为无乳链球菌及肺炎克雷伯菌。

在712份同时通过mNGS和传统病原学培养的血液样本中，mNGS阳性检出率（27.9%，199/712）同样显著高于传统病原学培养法（10.7%，76/712），差异有统计学意义（McNemar检验， $\chi^2=108.84$ ， $P<0.001$ ）。41份样本经传统病原学培养和mNGS检测后均为阳性，其中25份样本（61.0%）两种方法检出的病原体种类完全一致。同样，大部分阳性样本仅通过mNGS检出（81.9%，158/193），主要包括粪肠球菌、结核分枝杆菌复合群及沙眼衣原体等。

合并两种方法的检出结果，脑脊液样本共检出100株病原体，涉及27种病原体。但仅2种病原体（大肠埃希菌和屎肠球菌）被mNGS和传统病原学培养共同检出。mNGS共检测到25种病原微生物，而传统病原学培养仅检测到4种（图1）。肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、屎肠球菌和无乳链球菌占其中大多数（56.0%，56/100）。仅通过mNGS和传统病原学培养法检测到的病原体分别有23种和2种。血液样本中共检出299株病原体，涉及49种病原体。这一结果显著高于脑脊液样本。且与脑脊液样本类似，其中肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、屎肠球菌占比较高（34.4%，103/299）。通过mNGS和传统病原学培养两种方法共同检出的病原体有15种，其中13种为细菌。有25种病原体仅被mNGS检测到。值得注意的是，如图1所示，不论在脑脊液样本还是血液样本中，临床非典型病原体，如衣原体、支原体、脲原体及白念珠菌等仅通过mNGS检出。

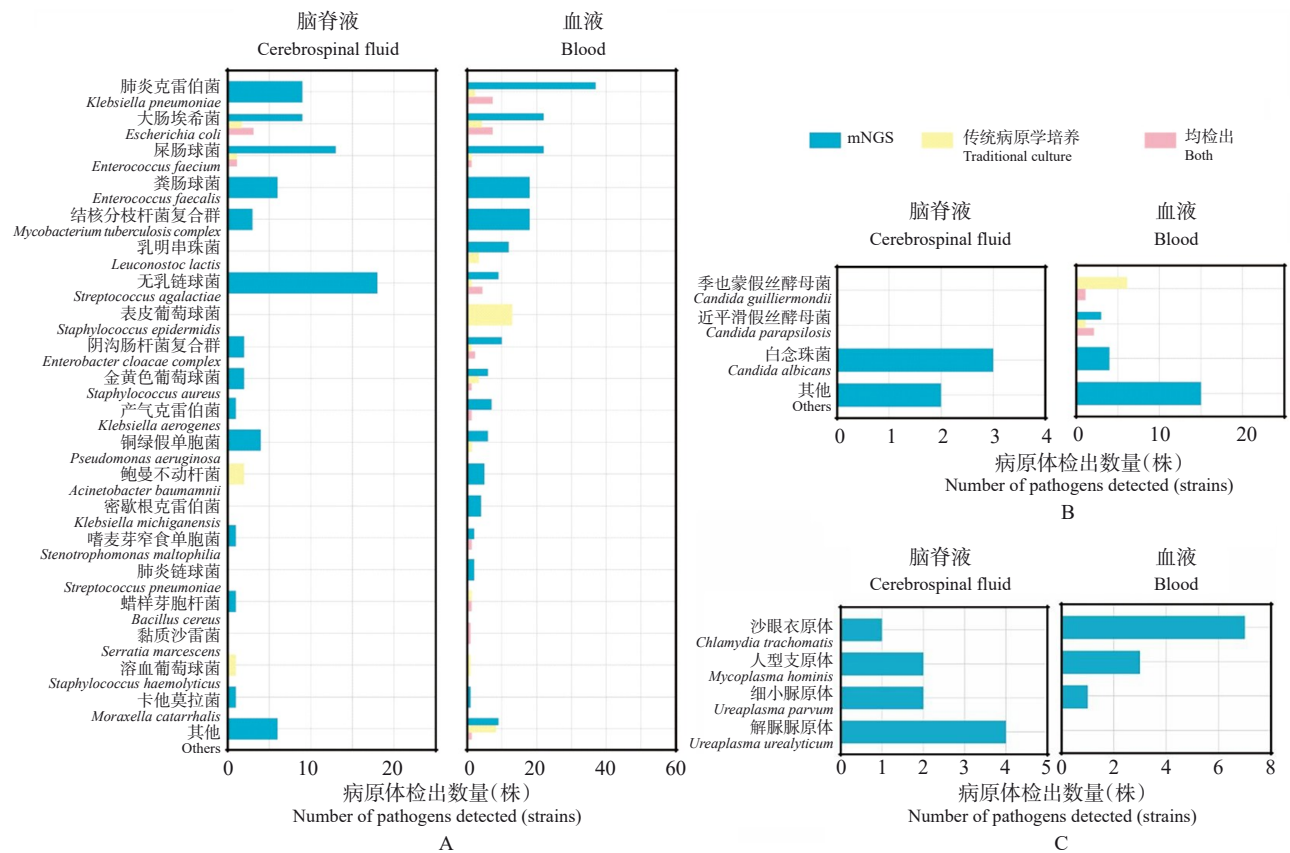


图1 mNGS与传统病原学培养两种方法检出病原体的对比 A为细菌类别；B为真菌类别；C为其他病原体类别。

2.4 mNGS与传统病原学培养两种方法病原体检出性能的比较

以临床诊断为标准^[10]，在脑脊液和血液样本中，mNGS检测病原体的灵敏度（分别为50.4%和46.7%）显著高于传统病原学培养法（分别为5.8%和18.0%）（McNemar检验， $\chi^2=56.29$ 和85.38，均 $P<0.001$ ）。在特异度方面，mNGS在脑脊液和血液中分别为97.4%和94.7%，而传统培养法分别为99.7%和98.1%，后者显著高于mNGS（McNemar检验，分别 $\chi^2=11.45$ 和8.38， $P=0.001$ 和 $P=0.004$ ）。两种方法的检测性能比较如表4和表5所示：mNGS的阴性预测值（脑脊液样本89.2%，血液样

本59.5%）显著高于传统培养法（脑脊液样本81.7%，血液样本49.7%）（分别 $Z=3.91$ 、 3.30 ，分别 $P=0.002$ 、 0.004 ）；脑脊液和血液样本总体一致性指标均显示mNGS显著优于传统培养法（McNemar检验，分别 $\chi^2=45.41$ 和38.27，均 $P<0.001$ ）。两种方法的阳性预测值差异无统计学意义（脑脊液样本：82.4% vs 80.0%；血液样本：91.5% vs 92.1%，分别 $Z=0.18$ 、 -0.30 ， $P=0.854$ 、 0.762 ）。综上，在脑脊液与血液样本中，mNGS检测病原体的灵敏度、阴性预测值及总体一致性均显著优于传统病原学培养法（均 $P<0.05$ ）。

表4 mNGS与传统病原学培养方法对脑脊液样本的检测性能[#]

检测方法	真阴性 (例)	真阳性 (例)	假阴性 (例)	假阳性 (例)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性 预测值 (%)	阴性 预测值 (%)	一致性 (%)
mNGS	572	70	69	15	50.4	97.4	82.4	89.2	88.4
传统病原学培养	585	8	131	2	5.8	99.7	80.0	81.7	81.7

注：[#]以临床诊断结果为标准。灵敏度=真阳性例数/（真阳性例数+假阴性例数）；特异度=真阴性例数/（真阴性例数+假阳性例数）；阳性预测值=真阳性例数/（真阳性例数+假阳性例数）；阴性预测值=真阴性例数/（真阴性例数+假阴性例数）；一致性=（真阳性例数+真阴性例数）/样本总和。[mNGS]宏基因组学第二代测序。

表 5 mNGS 与传统病原学培养方法对血液样本的检测性能[#]

检测方法	真阴性 (例)	真阳性 (例)	假阴性 (例)	假阳性 (例)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性 预测值 (%)	阴性 预测值 (%)	一致性 (%)
mNGS	305	182	208	17	46.7	94.7	91.5	59.5	68.3
传统病原学培养	316	70	320	6	18.0	98.1	92.1	49.7	54.2

注：[#]以临床诊断结果为标准。灵敏度=真阳性例数/（真阳性例数+假阴性例数）；特异度=真阴性例数/（真阴性例数+假阳性例数）；阳性预测值=真阳性例数/（真阳性例数+假阳性例数）；阴性预测值=真阴性例数/（真阴性例数+假阴性例数）；一致性=（真阳性例数+真阴性例数）/样本总和。[mNGS] 宏基因组学第二代测序。

3 讨论

本研究通过对 648 例新生儿的 734 份脑脊液和 733 份血液样本进行 mNGS 与传统病原学培养的对比分析，系统性地评估了 mNGS 技术在疑似新生儿败血症和中枢神经系统感染诊断中的应用价值。研究结果揭示了 mNGS 在病原体检出方面相较于传统病原学培养的显著优势，同时也提示了在结果解读时需要注意的问题。

mNGS 技术显著提升了病原体的检出能力，尤其对于培养困难及非典型病原体。本研究结果显示无论在脑脊液还是血液样本中，mNGS 的病原体检出阳性率均显著高于传统病原学培养（脑脊液：11.7% vs 1.4%；血液：28.0% vs 10.7%）。这一显著差异体现了 mNGS 在诊断灵敏度上的革命性进步。究其原因，传统病原学培养高度依赖于病原体的体外生长能力，且通常会受到前期经验性抗生素使用的限制^[15-17]。而 mNGS 技术直接对样本中所有核酸进行测序，不依赖于病原体的活性，因此能够有效检出那些培养要求苛刻、生长缓慢或已因抗生素治疗而失活的病原体^[15, 18-20]。在病原谱分析结果中，脑脊液和血液样本通过 mNGS 检出的病原体种类远多于传统病原学培养法所检出的种类。另外，脑脊液和血液中仅能被 mNGS 检测到的病原体，包括脲原体、支原体、衣原体及白念珠菌等均为临床较少见、难以培养的病原体，与既往研究结果^[15, 21]一致。这些病原体是新生儿感染的重要致病源，传统方法的漏检可能导致诊断不明和治疗延误。因此，mNGS 极大地拓宽了临床的病原学诊断视野，为精准抗感染治疗提供了关键依据。

过去缺乏大样本的新生儿感染相关具有指导价值的研究^[22-24]。本研究揭示了新生儿感染独特的病原谱特征，为流行病学与临床诊治提供了新的见解。本研究通过 mNGS 技术探讨了新生儿脑脊液和血液感染的病原谱，揭示了与以往认知可能有所不同的分布特征。在脑脊液样本中，无乳链

球菌、屎肠球菌和大肠埃希菌是检出最多的细菌，这与传统的围产期病原体认知^[25]基本相符。然而，在血液样本中，人类疱疹病毒 5 型检出数高居首位，远超其他病原体，这一发现提示在新生儿败血症的病原学筛查中，对病毒的关注应提升到新的高度。此外，在两种样本中均观察到一定比例的混合感染，而传统病原学培养方法往往难以同时识别多种混合感染病原体^[15, 21, 26]。mNGS 能够检测出样本中存在的所有潜在病原体，对于复杂感染中避免针对单一病原体治疗的片面性具有重要价值。

以临床诊断为标准的性能评估肯定了 mNGS 的临床应用价值。结果显示，mNGS 在灵敏度和阴性预测值方面显著优于传统病原学培养法，这意味着 mNGS 在排除感染方面具有更高的可靠性，一个阴性的 mNGS 结果能为临床停止不必要的经验性抗生素治疗提供有力支持。虽然其特异性相对传统病原学培养法更低，但考虑到其在发现传统方法盲区中的巨大价值，以及阳性预测值与传统病原学培养法无较大差异的事实，mNGS 在危重、疑难或免疫抑制患者感染诊断中的净效益是明确的。它作为一个强大的“侦查工具”，能够快速提供广泛的病原学线索，极大地缩短诊断时间，指导治疗的初始方向。

尽管 mNGS 展现出高灵敏度，但 mNGS 与传统病原学培养法的互补性及结果解读的挑战也较为突出。在两种方法均为阳性的样本中，脑脊液和血液样本的病原体种类完全匹配率分别为 57.1% 和 61.0%，同时存在相当比例的不匹配情况。这反映了两种技术原理的根本差异：mNGS 检测的是核酸的存在，而传统病原学培养法证实的是有活性的、可致病的微生物^[15, 18-20]。因此，mNGS 的阳性结果可能来自死菌、定植菌、环境污染物或样本处理过程中的背景核酸^[27-29]，这在一定程度上解释了为何本研究中 mNGS 的特异度低于传统病原学培养法^[14]，这也凸显了 mNGS 结果解读的复杂性^[29-30]。

临床医生需要结合患者的临床表现、影像学检查、炎症指标及其他实验室检查结果，对 mNGS 检出的病原体列表进行审慎的临床意义评判，区分真正的“致病元凶”与“过客核酸”^[31-32]。未来，通过引入定量或半定量分析、结合宿主反应指标^[33-35]，将有助于提升 mNGS 结果解读的准确性。

综上所述，本研究证实了 mNGS 技术在疑似新生儿感染性疾病，特别是中枢神经系统感染和败血症的诊断中，相较于传统病原学培养法具有更高的检出率和灵敏度，揭示了更全面的病原谱，包括混合感染和罕见病原体。尽管存在特异度较低和结果解读复杂等挑战，但将其作为传统方法的重要补充，能够显著提升病原学诊断水平，推动抗感染治疗向精准化迈进。未来的研究应致力于建立标准化的 mNGS 结果临床解读路径，整合到新生儿科感染诊断流程中，最终改善患儿的预后。

作者贡献声明：张琰滢负责本研究的设计、数据收集、数据分析与解释、论文初稿撰写、论文关键性修订、终稿审阅；甘明宇负责数据分析与解释、对文章的知识性内容作批评性审阅及终稿审阅；朱韵倩负责数据收集、数据分析与解释、终稿审阅；吴冰冰负责经费获取、数据收集、数据分析与解释、终稿审阅；周文浩负责研究监督、经费获取、论文关键性修订，并对文章的知识性内容作批评性审阅及指导。

利益冲突声明：所有作者均声明不存在任何利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Li J, Xiang L, Chen X, et al. Global, regional, and national burden of neonatal sepsis and other neonatal infections, 1990-2019: findings from the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Eur J Pediatr*, 2023, 182(5): 2335-2343. PMID: 36879151. DOI: 10.1007/s00431-023-04911-7.

[2] Penzias RE, Bohne C, Ngwala SK, et al. Health facility assessment of small and sick newborn care in low- and middle-income countries: systematic tool development and operationalisation with NEST360 and UNICEF[J]. *BMC Pediatr*, 2024, 23(Suppl 2): 655. PMID: 38454369. PMCID: PMC10921557. DOI: 10.1186/s12887-023-04495-z.

[3] WHO. Newborn infections[EB/OL]. [2024-12-08]. <https://www.who.int/teams/maternal-newborn-child-adolescent-health-and-ageing/newborn-health/newborn-infections>.

[4] Charalampous T, Kay GL, Richardson H, et al. Nanopore

metagenomics enables rapid clinical diagnosis of bacterial lower respiratory infection[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(7): 783-792. PMID: 31235920. DOI: 10.1038/s41587-019-0156-5.

[5] 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. PMID: 24896819. PMCID: PMC4134948. DOI: 10.1056/NEJMoa1401268.

[6] Wilson MR, Sample HA, Zorn KC, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(24): 2327-2340. PMID: 31189036. PMCID: PMC6764751. DOI: 10.1056/NEJMoa1803396.

[7] Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(4): 663-674. PMID: 30742071. DOI: 10.1038/s41564-018-0349-6.

[8] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 319-338. PMID: 30355154. PMCID: PMC6345613. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012751.

[9] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(6): 341-355. PMID: 30918369. PMCID: PMC6858796. DOI: 10.1038/s41576-019-0113-7.

[10] Zhu Y, Gan M, Ge M, et al. Diagnostic performance and clinical impact of metagenomic next-generation sequencing for pediatric infectious diseases[J]. *J Clin Microbiol*, 2023, 61(6): e0011523. PMID: 37260394. PMCID: PMC10281092. DOI: 10.1128/jcm.00115-23.

[11] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 新生儿败血症诊断与治疗专家共识 (2024) [J]. *中华儿科杂志*, 2024, 62(10): 931-940. PMID: 39327959. DOI: 10.3760/cma.j.cn112140-20240505-00307.

[12] 王卫平, 黄国英, 孙琨, 等. 儿科学[M]. 10 版. 北京: 人民卫生出版社, 2024: 379.

[13] 甘明宇, 李刚, 俞惠, 等. 宏基因组 Nanopore 测序在儿童呼吸道病原微生物快速检测中的应用价值[J]. *中国循证儿科杂志*, 2020, 15(5): 378-381. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5501.2020.05.011.

[14] Gan M, Zhang Y, Yan G, et al. Antimicrobial resistance prediction by clinical metagenomics in pediatric severe pneumonia patients[J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2024, 23(1): 33. PMID: 38622723. PMCID: PMC11020437. DOI: 10.1186/s12941-024-00690-7.

[15] 赖丁香, 郑吉善, 潘云, 等. 宏基因组二代测序用于儿童呼吸道感染性疾病诊断的应用进展[J]. *中国中西医结合儿科学*, 2023, 15(3): 199-202. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3865.2023.03.004.

[16] 曹清, 唐铭钰, 杜白露. 儿童呼吸道病原检测应用进展及相关研究[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2019, 34(10): 721-725. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2019.10.001.

[17] Opota O, Croxatto A, Prod'homme G, et al. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(4): 313-322. PMID: 25753137. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.01.003.

- [18] Crawford E, Kamm J, Miller S, et al. Investigating transfusion-related sepsis using culture-independent metagenomic sequencing[J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(5): 1179-1185. PMID: 31563940. PMCID: PMC7442849. DOI: 10.1093/cid/ciz960.
- [19] Kalantar KL, Langelier CR. Host-microbe metagenomics: a lens to refocus our perspective on infectious and inflammatory diseases[J]. *mSystems*, 2021, 6(4): e0040421. PMID: 34402649. PMCID: PMC8409739. DOI: 10.1128/mSystems.00404-21.
- [20] Li N, Cai Q, Miao Q, et al. High-throughput metagenomics for identification of pathogens in the clinical settings[J]. *Small Methods*, 2021, 5(1): 2000792. PMID: 33614906. PMCID: PMC7883231. DOI: 10.1002/smt.202000792.
- [21] 金向红, 黄向韵, 陈鲜宝, 等. 宏基因组靶向三代测序在下呼吸道感染病原体检测的诊断效能和临床价值[J]. *浙江临床医学*, 2024, 26(6): 807-809.
- [22] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中国医师协会新生儿科医师分会感染专业委员会. 新生儿败血症诊断及治疗专家共识(2019年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2019, 57(4): 252-257. PMID: 30934196. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2019.04.005.
- [23] 于璐, 王永祯, 李晓璐. 早发与晚发新生儿败血症的临床、病原菌特点及实验室指标分析[J]. *黑龙江医药科学*, 2025, 48(8): 58-59. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0104.2025.08.018.
- [24] Yang Y, Liu Z, Chen X, et al. Association between vaginal microbiomes and neonatal septicemia in pregnant women with preterm premature rupture of membranes based on metagenome sequencing[J]. *Am J Transl Res*, 2023, 15(7): 4544-4557. PMID: 37560239. PMCID: PMC10408501.
- [25] 陈珺, 程欢欢, 余静. 血液mNGS检测败血症新生儿病原体的准确性评价及病原菌分布特征[J]. *中国病原生物学杂志*, 2025, 20(8): 1055-1058. DOI: 10.13350/j.cjpb.250816.
- [26] 范晓卿, 孟丽萍, 梁月, 等. 基于多重病原体PCR的靶向基因组测序在恶性肿瘤患者下呼吸道感染诊断中的临床应用[J]. *中国实验诊断学*, 2025, 29(8): 930-935. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2025.08.010.
- [27] Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 66(5): 778-788. PMID: 29040428. PMCID: PMC7108102. DOI: 10.1093/cid/cix881.
- [28] Quan J, Langelier C, Kuchta A, et al. FLASH: a next-generation CRISPR diagnostic for multiplexed detection of antimicrobial resistance sequences[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(14): e83. PMID: 31114866. PMCID: PMC6698650. DOI: 10.1093/nar/gkz418.
- [29] 石玉如, 戚应杰, 马筱玲. 病原体宏基因组测序本地化检测中存在的问题与解决方案[J]. *临床检验杂志*, 2025, 43(9): 641-644. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2025.09.01.
- [30] 刘紫薇, 李欣梦, 刘卫钰, 等. 基于宏基因组学的二代测序技术在神经外科患者获得性感染疾病中的应用研究[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2025, 25(9): 674-679. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2025.09.011.
- [31] Liang W, Zhang Q, Qian Q, et al. Diagnostic strategy of metagenomic next-generation sequencing for gram negative bacteria in respiratory infections[J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2024, 23(1): 10. PMID: 38302964. PMCID: PMC10835912. DOI: 10.1186/s12941-024-00670-x.
- [32] Wu J, Song W, Yan H, et al. Metagenomic next-generation sequencing in detecting pathogens in pediatric oncology patients with suspected bloodstream infections[J]. *Pediatr Res*, 2024, 95(3): 843-851. PMID: 37857845. PMCID: PMC10899103. DOI: 10.1038/s41390-023-02776-y.
- [33] Janes VA, Matamoros S, Munk P, et al. Metagenomic DNA sequencing for semi-quantitative pathogen detection from urine: a prospective, laboratory-based, proof-of-concept study[J]. *Lancet Microbe*, 2022, 3(8): e588-e597. PMID: 35688170. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00088-X.
- [34] Zhang P, Liu B, Zhang S, et al. Clinical application of targeted next-generation sequencing in severe pneumonia: a retrospective review[J]. *Crit Care*, 2024, 28(1): 225. PMID: 38978111. PMCID: PMC11232260. DOI: 10.1186/s13054-024-05009-8.
- [35] Dong Y, Gao Y, Chai Y, et al. Use of quantitative metagenomics next-generation sequencing to confirm fever of unknown origin and infectious disease[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 931058. PMID: 35859749. PMCID: PMC9289621. DOI: 10.3389/fmicb.2022.931058.

(本文编辑: 邓芳明)

(©《中国当代儿科杂志》编辑部, 开放获取CC BY-NC-ND 4.0协议)

(© Editorial Office of Chinese Journal of Contemporary Pediatrics. OA under CC BY-NC-ND 4.0 license)