

肺泡灌洗液病原微生物宏基因组二代测序(mNGS) 对社区获得性肺炎患儿病情严重程度的诊断价值

吴风浪, 秦 华, 王思佳, 朱 艳, 吴 勇

(荆门市人民医院儿科, 湖北 荆门 448000)

[摘要]目的 探究肺泡灌洗液病原微生物宏基因组二代测序(mNGS)对社区获得性肺炎(CAP)患儿病情严重程度的诊断价值。方法 选取2022年8月至2024年8月荆门市人民医院疑似社区获得性肺炎患儿138例行回顾性分析,均行肺泡灌洗液病原微生物mNGS检测与传统痰培养,以临床诊断为金标准[CAP为106例,其中重症社区获得性肺炎(SCAP)69例],比较mNGS检查、传统痰培养诊断CAP的价值、病原体感染率的差异,并分析基于mNGS检查的不同病情CAP患儿病原体感染状况。结果 以临床诊断作为金标准,mNGS检查诊断CAP的准确率为81.16%(112/138);传统痰培养诊断CAP的准确率为42.03%(58/138);mNGS检查诊断CAP准确率高于传统痰培养诊断准确率($\chi^2=44.662, P<0.05$)。两种检查方式检测主要细菌病原为铜绿假单胞菌,主要真菌病原为非孢子菌属,主要病毒病原为单纯疱疹病毒1型(HSV-1),主要衣原体病原为沙眼衣原体。相较于传统痰培养,mNGS检查检出单一感染率、混合感染率、细菌感染率、病毒感染率、真菌感染率、衣原体感染率更高(χ^2 介于7.072到106.388之间, $P<0.05$)。相较于非SCAP组,SCAP组混合感染率、细菌+真菌+病毒感染率均更高,单一感染率更低($\chi^2=3.855, 5.699, P<0.05$)。结论 肺泡灌洗液病原微生物mNGS诊断社区获得性肺炎患儿具有较好价值,且mNGS检测结果中的病原体感染特征与病情严重程度相关,mNGS可通过揭示混合感染的模式为临床评估社区获得性肺炎患儿病情严重程度提供参考依据。

[关键词]儿童;社区获得性肺炎;宏基因组二代测序;肺泡灌洗液;病原微生物;病情程度;诊断价值

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2026.04.015

[中图分类号]R179

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2026)04-0104-05

Diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) of pathogenic microorganisms in bronchoalveolar lavage fluid for the severity of community-acquired pneumonia in children

WU Fenglang, QIN Hua, WANG Sijia, ZHU Yan, WU Yong

(Department of pediatrics, Jingmen People's Hospital, Hubei Jingmen 448000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) of pathogenic microorganisms in bronchoalveolar lavage fluid for the severity of community-acquired pneumonia (CAP) in children. **Methods** A retrospective analysis was conducted on 138 children with suspected community-acquired pneumonia in Jingmen People's Hospital from August 2022 to August 2024. All patients underwent mNGS detection of pathogen in pulmonary alveolar lavage fluid and traditional sputum culture. The clinical diagnosis was used as the gold standard [106 cases of CAP, including 69 cases of severe community-acquired pneumonia (SCAP)]. The value of mNGS examination and traditional sputum culture in diagnosing CAP was compared, as well as the differences in the infection rate of pathogens. The infection status of pathogens in CAP children with different conditions based on mNGS examination was analyzed. **Results** With the clinical diagnosis as the gold standard, the accuracy of mNGS examination in diagnosing CAP was 81.16% (112/138); the accuracy of traditional sputum culture in diagnosing CAP was 42.03% (58/138); the accuracy of mNGS examination in diagnosing CAP was higher than that of traditional sputum culture ($\chi^2=44.662, P<0.05$). The main bacterial pathogens detected by both examination methods were pseudomonas aeruginosa, the main fungal pathogens were non-spore-forming fungi, the main viral pathogens were herpes simplex virus type 1 (HSV-1), and the main chlamydial pathogens were chlamydia trachomatis. Compared with traditional sputum culture, mNGS examination detected a higher rate of single infection, mixed infection, bacterial infection, viral infection, fungal infection, and chlamydial infection (χ^2 values ranging from 7.072 to 106.388, $P<0.05$). Compared with the non-SCAP group, the mixed infection rate, bacterial +

[收稿日期]2025-10-23

[基金项目]荆门市科学技术研究与开发计划项目(2023YFYB037)

[作者简介]吴风浪(1993—),男,主治医师,主要从事儿童呼吸系统疾病研究。

[通讯作者]吴 勇,副主任医师。

fungal + viral infection rate, single infection rate were higher in the SCAP group ($\chi^2 = 3.855, 5.699, P < 0.05$). **Conclusion** The mNGS of pathogenic microorganisms in bronchoalveolar lavage fluid has a good value in the diagnosis of children with community-acquired pneumonia, and the characteristics of pathogen infection in the mNGS test results are related to the severity of the disease. The mNGS can provide a reference for clinical evaluation of the severity of children with community-acquired pneumonia by revealing the pattern of mixed infection.

[Key words] child; community-acquired pneumonia; metagenomic next-generation sequencing; bronchoalveolar lavage fluid; severity of disease; diagnostic value

社区获得性肺炎 (community-acquired pneumonia, CAP) 是儿童常见的呼吸系统疾病之一, 其发病率和死亡率均较高, 尤其在 5 岁以下儿童中更为显著^[1]。据世界卫生组织报告, 全球每年有大量儿童因肺炎死亡, 其中病原体感染是主要原因之一^[2]。因此, 准确、快速地诊断社区获得性肺炎并确定病原体类型, 对指导临床治疗、降低病死率具有重要意义。传统上, 社区获得性肺炎病原体的诊断主要依赖于痰培养、血培养等方法, 但这些方法存在耗时长、阳性率低、易受污染等局限性, 难以满足临床快速诊断的需求^[3]。近年来, 随着分子生物学技术的飞速发展, 宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 技术在病原体检测领域崭露头角, 展现出其独特的优势。肺泡灌洗液作为直接来源于肺部病灶的样本, 其病原微生物检测具有很高的敏感性和特异性^[4]。将 mNGS 技术应用于肺泡灌洗液的病原微生物检测, 不仅可以无偏倚地检测出所有潜在的病原体, 还能准确识别混合感染, 为临床提供更为全面、精准的病原学诊断信息。因此, 本研究旨在探讨肺泡灌洗液病原微生物 mNGS 在社区获得性肺炎患儿病情严重程度诊断中的应用价值。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2022 年 8 月至 2024 年 8 月荆门市人民医院疑似社区获得性肺炎患儿 138 例行回顾性分析。其中男性 96 例, 女性 42 例; 年龄 7~18 岁, 平均年龄 (13.24 ± 3.31) 岁。纳入标准: ①符合《儿童社区获得性肺炎管理指南》^[5] 中标准; ②年龄在 6~18 岁; ③临床资料完整。排除标准: ①长期使用激素者; ②存在重要脏器功能不全者; ③其他原因导致的肺部疾病; ④原发精神疾病、意识障碍者; ⑤合并有其他严重免疫缺陷疾病; ⑥全身性疾病。参考《儿童社

区获得性肺炎诊疗规范》^[6] 为金标准; 主要判定条件包含两项: ①患者必须接受机械通气治疗; ②患者发生脓毒症休克, 且经过常规治疗复苏后, 仍需使用血管活性药物来维持生命体征。次要判定条件则涵盖五个方面: 患者的收缩压 < 90 mmHg; 患者的血尿素氮水平 > 7.14 mmol/L; 患者出现认知方面的障碍; 患者的呼吸频率超过 30 次/min; 氧合指数低于 250 mmHg。患者满足上述 1 项主要判定条件, 或者至少同时满足 3 项次要判定条件即可确诊为重症社区获得性肺炎 (severe community-acquired pneumonia, SCAP)。本项方案已经经过伦理委员会审批 (编号: 2023092808)。以临床诊断作为金标准, 诊断为 CAP 为 106 例, 其中 SCAP 为 69 例。具体为: G1 46 例、G2 60 例; G3 41 例、G1 28 例。

1.2 方法

肺泡灌洗液标本收集: 根据临床体征及影像学检查确定目标灌洗肺段, 2% 利多卡因行气道黏膜表面麻醉, 将纤维支气管镜插入至目标灌洗肺段, 注入生理盐水 25~50 mL 灌洗病变肺段支气管, 灌洗后负压吸引回收灌洗液, 装入无菌容器中。置于 cfDNA 试管内, 并将已采集的样本妥善存放于 4℃ 的冰箱中以保持其状态。在 24 h 的时间窗口内, 安排专人将样本安全送至实验室, 进行后续的样本处理、核酸提取、文库构建以及 mNGS 分析。整个 mNGS 样本的采集、储存及运输流程均需严格遵循标准化操作规程^[7]。

mNGS 阳性结果标准: ①构建背景微生物数据库, 该数据库应涵盖过去至少三个月内, 实验室中超过 50% 的气管内抽吸物和肺泡灌洗液样本中所发现的微生物种类。随后, 将检测结果与内部数据库进行比对, 剔除可能的背景干扰微生物。②为验证样本中微生物检测的真阳性, 需将检测到的微生物的每百万分读数 (reads per million, RPM) 与阴性样本中的微生物读数进行对比。在属的分类级别上, 选

择绝对丰度 $>30\%$ 的微生物作为潜在的病原体。
③针对真菌的检测,若 mNGS 的每百万序列数 (reads per million, RPM) 值 ≥ 5 , 则视为阳性结果。
④对于分枝杆菌,若 mNGS 检测到的 RPM 值 ≥ 1 , 即判定为阳性。
⑤在综合考量患者的临床表现、实验室检查结果、影像学检查、治疗反应以及预后情况等多重临床因素后,由一组高级别的临床医师共同判断微生物检测的临床意义,并确保意见一致。

传统痰培养:①痰液采集:标本主要来源于患者的自然咳痰。通过自然咳痰法采集痰液,患者在医护人员或家属的帮助下,用力咳出气管深处或肺部的痰液,并置于干燥清洁的无菌容器内。对于无法咳出的患者,可以采用雾化吸入法或一次性吸痰管法进行采集。②痰液处理:对采集到的痰液进行预处理,如液化、匀化等,以去除痰液中的杂质和黏液,提高病原菌的分离率。③接种与培养:将处理后的痰液接种到含有适当培养基的试管或平板上,然后放置在恒温培养箱中进行培养。培养条件(如温度、湿度、气体环境等)需要根据病原菌的种类进行调整。④病原菌鉴定:培养一段时间后,观察培养基上微生物的生长情况。通过染色、镜检、生化试验等方法对病原菌进行鉴定,确定其种类和数量。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 22.0 进行数据分析。计数资料表示为用例数(n)和百分比(%),行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 mNGS 诊断 CAP 的价值分析

以临床诊断作为金标准,mNGS 检查诊断 CAP 的灵敏度为 98.11% (104/106),特异度为 25.00% (8/32),阳性预测值为 81.25% (104/128),阴性预测

值为 80.00% (8/10),诊断准确率为 81.16% (112/138);传统痰培养诊断 CAP 的灵敏度为 25.47% (27/106),特异度 96.88% (31/32),阳性预测值为 96.43% (27/28),阴性预测值为 28.18% (31/110),诊断准确率为 42.03% (58/138);mNGS 检查诊断社区获得性肺炎准确率高于传统痰培养诊断准确率 ($\chi^2 = 44.662, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 mNGS 检查诊断 CAP 的价值

Table 1 Value of mNGS examination for the diagnosis of CAP

检查方式		临床诊断	
		阳性	阴性
mNGS 检查	阳性	104	24
	阴性	2	8
传统痰培养	阳性	27	1
	阴性	79	31

2.2 两种检查方式检测 CAP 病原体比较

相较于传统痰培养,mNGS 检查检出单一感染率、混合感染率、细菌感染率、病毒感染率、真菌感染率、衣原体感染率更高($P < 0.05$)。两种检查方式检测主要细菌病原为铜绿假单胞菌,检测主要真菌病原为非孢子菌属,检测主要病毒病原为单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1),检测主要衣原体病原为沙眼衣原体。见表 2、表 3。

2.3 基于 mNGS 检测的不同病情程度 CAP 患儿感染状况分析

两组细菌+病毒感染率、细菌+衣原体感染率、衣原体+病毒感染率、真菌+病毒感染率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但相较于非 SCAP 组,SCAP 组混合感染率、细菌+真菌+病毒感染率均更高,单一感染率更低($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 两种检查方式检测 CAP 病原体比较[n(%)]

Table 2 Comparison of two methods for detecting CAP pathogens [n(%)]

检查方式	例数	单一感染	混合感染	细菌	病毒	真菌	衣原体
mNGS 检查	138	38(27.54)	90(65.22)	94(68.12)	87(63.04)	33(23.91)	16(11.59)
传统痰培养	138	20(14.49)	8(5.80)	19(13.77)	7(5.07)	7(5.07)	3(2.17)
χ^2		7.072	106.388	84.288	103.25	19.764	—
P		0.008	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003

注:—为 Fisher 精确检验。

表 3 两种检查方式检测具体病原

Table 3 Specific pathogens of pathogens detected by the two tests

感染	类型	mNGS 检查	传统痰培养	感染	类型	mNGS 检查	传统痰培养
细菌	铜绿假单胞菌	27	7	病毒	根霉属	5	0
	肺炎克雷伯杆菌	15	4		其他	2	0
	金黄色葡萄球菌	13	3		HSV-1	41	4
	肺炎链球菌	12	3		CMV	22	2
	流感嗜血杆菌	12	2	衣原体	EB 病毒	17	1
	尿肠球菌	4	0		其他	7	0
	鲍曼不动杆菌	4	0		沙眼衣原体	7	2
	其他	7	0		鹦鹉热衣原体	6	1
真菌	非孢子菌属	19	4		其他	3	0
	曲霉菌	7	3				

表 4 基于 mNGS 检测的不同病情程度 CAP 患儿感染状况分析[n(%)]

Table 4 Analysis of the infection status of children with CAP of different disease levels based on mNGS testing [n(%)]

组别	例数	单一感染	混合感染	混合感染类型				
				细菌+病毒	细菌+衣原体	细菌+真菌+病毒	衣原体+病毒	真菌+病毒
非 SCAP 组	37	12(32.43)	25(67.57)	17(45.95)	4(10.81)	0(0.00)	2(5.41)	2(5.41)
SCAP 组	69	9(13.04)	58(84.06)	34(50.75)	7(10.45)	10(14.93)	2(2.99)	5(7.46)
χ^2		5.699	3.855	0.220	—	—	—	—
P		0.017	0.045	0.639	1.000	0.014	0.610	1.000

注：—为 Fisher 精确检验。

3 讨论

社区获得性肺炎是儿童常见的感染性疾病,其全球范围内的发病率和死亡率依然严峻,构成重要的公共卫生问题^[8]。及时、准确的病原学诊断是改善预后的关键。本研究表明,基于肺泡灌洗液的宏基因组二代测序(mNGS)技术相较于传统痰培养,在儿童 CAP 的诊断中展现出更高的准确性,并能通过揭示特定的病原体感染模式,为评估病情严重程度提供有价值的线索。

3.1 mNGS 在儿童 CAP 病原学诊断中的优势

长期以来,临床对儿童 CAP 的病原学诊断高度依赖痰培养等传统微生物学方法^[9]。赵国敏等^[10]的研究强调,mNGS 技术能够迅速为临床医生提供用药指导,从而有效缩减患者的住院时间,并相应地减轻患者的经济压力,同时实现医疗资源的优化配置。综合考虑多方面因素,mNGS 在病原体诊断领域展现出了显著的优势^[11]。本研究以临床诊断作为金标准,mNGS 检查诊断 CAP 的诊断准确率为 81.16%(112/138);传统痰培养诊断 CAP 的诊断准确率为 42.03%(58/138);mNGS 检查诊断 CAP 准确率高于传统痰培养诊断准确率($P<0.05$)。表明 mNGS 检查在诊断 CAP 中具有较高准确率。这与 Liu^[12]研究结果相符。其优势可能源于以下几个

方面:首先,在检测广度上,mNGS 采用无偏倚的核酸测序策略,能够一次性覆盖细菌、病毒、真菌、衣原体及非典型病原体等几乎所有类型的微生物,尤其对于传统培养难以检测的军团菌、肺炎支原体、病毒等具有独特优势^[13]。其次,在检测时效性上,mNGS 流程通常在 24~48 小时内即可完成,远快于传统培养所需的数天时间,为重症感染患儿的早期精准干预争取了宝贵窗口^[14]。最后,mNGS 直接检测病原体核酸,避免了传统痰培养因标本口咽部定植菌污染、苛养菌生长要求苛刻等因素导致的假阴性或假阳性问题,从而提高了诊断的可靠性。

3.2 基于 mNGS 的病原谱特征与病情严重程度的关系

在检出的病原谱方面,本研究 mNGS 结果提示 CAP 患儿主要细菌病原为铜绿假单胞菌,主要病毒为单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1),这一构成与徐秀丹等^[15]报道的以流感嗜血杆菌、细环病毒为主的谱系存在差异。这种差异可能反映了不同地域、不同时期或不同人群(如重症倾向患儿)的病原流行病学特征有所不同,凸显了本地化病原监测数据的重要性。更重要的是,本研究进一步发现,相较于传统痰培养,mNGS 在单一感染率、混合感染率以及细菌、病毒、真菌、衣原体等各类病原体的检出率上均显著提升(P 均 <0.05)。这主要归因于 mNGS 技术的高

灵敏度及其对多种病原体同步检测的能力,使其能够更全面地揭示感染的真实情况,尤其是识别出传统方法易漏诊的混合感染^[16-17]。

本研究最具临床价值的发现在于通过 mNGS 技术揭示了病原体感染模式与病情严重程度之间的关联。分析显示,与轻中度 CAP 患儿相比,重症社区获得性肺炎(SCAP)患儿的混合感染率显著增高,其中细菌+真菌+病毒的三重混合感染模式尤为突出,而单一感染的比例则显著降低(P 均 <0.05)。这一结果提示:复杂的混合感染,尤其是涉及多界病原体(细菌、真菌、病毒)的协同或序贯感染,可能是驱动病情向重症发展的重要微生物学因素。其潜在机制可能涉及:第一,重症患儿往往存在免疫功能紊乱或低下,导致免疫清除能力下降,为多种病原体的同时定植与侵袭创造了条件^[18];第二,住院及广谱抗生素的使用可能改变呼吸道微生态,增加机会性感染(如真菌、某些病毒)的风险,从而形成复杂的感染局面^[19]。

3.3 结语

综上所述,肺泡灌洗液 mNGS 不仅是一种高灵敏、快速的病原学诊断工具,其提供的病原体谱和感染模式(特别是高比例的多重混合感染)信息,可作为评估儿童 CAP 病情严重程度、预警重症风险的潜在生物标志物。这为临床医生早期识别高危患儿、制定更具针对性的联合抗感染策略及管理方案提供了重要的微生物学依据。未来需要更大样本的前瞻性研究,来进一步验证不同混合感染模式对预后的预测价值,并明确其背后的免疫病理机制。

【参考文献】

- [1] Meyer Sauter P M. Childhood community-acquired pneumonia[J]. *Eur J Pediatr*, 2024, 183(3): 1129-1136.
- [2] Rothberg M B. Community-acquired pneumonia[J]. *Ann Intern Med*, 2022, 175(4): ITC49-ITC64.
- [3] 刁敏,史瑞明,张敏. 常规实验室检查对儿童社区获得性肺炎程度评估的价值[J]. *中国妇幼健康研究*, 2022, 33(5): 63-66.
- [4] Chen Q, Yi J, Liu Y, et al. Clinical diagnostic value of targeted nextgeneration sequencing for infectious diseases (Review)[J]. *Mol Med Rep*, 2024, 30(3): 153.
- [5] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华儿科杂志编辑委员会, 中国医药教育协会儿科专业委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南(2024 修订)[J]. *中华儿科杂志*, 2024, 62(10): 920-930.
- [6] 中华人民共和国国家健康委员会, 国家中医药局. 儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)[J]. *中华临床感染病*

杂志, 2019, 12(1): 6-13.

- [7] 鲍任任, 梅清, 杨田军, 等. 宏基因组二代测序对重症社区获得性肺炎患者的病原学诊断及预后分析[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2023, 30(3): 271-276.
- [8] Rueda Z V, Aguilar Y, Maya M A, et al. Etiology and the challenge of diagnostic testing of community-acquired pneumonia in children and adolescents[J]. *BMC Pediatr*, 2022, 22(1): 169.
- [9] Yun K W. Community-acquired pneumonia in children: updated perspectives on its etiology, diagnosis, and treatment[J]. *Clin Exp Pediatr*, 2024, 67(2): 80-89.
- [10] 赵国敏, 李毅亮, 边伟帅, 等. 二代测序技术在 74 例呼吸机相关性肺炎患者病原体检测中的临床应用[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(3): 355-358.
- [11] Wei Y, Zhang T, Ma Y, et al. Clinical evaluation of metagenomic next-generation sequencing for the detection of pathogens in BALF in severe community acquired pneumonia[J]. *Ital J Pediatr*, 2023, 49(1): 25.
- [12] Liu M, Zhang H, Li L, et al. The etiological diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing in suspected community-acquired pneumonia [J]. *BMC Infect Dis*, 2024, 24(1): 626.
- [13] Wei Y, Zhang T, Ma Y, et al. Clinical evaluation of metagenomic next-generation sequencing for the detection of pathogens in BALF in severe community acquired pneumonia[J]. *Ital J Pediatr*, 2023, 49(1): 25.
- [14] Zhang X, Qin Y, Lei W, et al. Metagenomic nextgeneration sequencing of BALF for the clinical diagnosis of severe communityacquired pneumonia in immunocompromised patients: a singlecenter study[J]. *Exp Ther Med*, 2023, 25(4): 178.
- [15] 徐秀丹, 焦鹏, 翟盈盈. 宏基因组二代测序技术在重症患者病原学诊断中的应用价值[J]. *中华急诊医学杂志*, 2024, 33(3): 377-381.
- [16] Cao L, He L, Wang S, et al. Severe community-acquired pneumonia caused by chlamydia pecorum [J]. *Int J Infect Dis*, 2022, 124: 171-173.
- [17] Wang B, Tan M, Li W, et al. Exploring the microbiota difference of bronchoalveolar lavage fluid between community-acquired pneumonia with or without COPD based on metagenomic sequencing: a retrospective study [J]. *BMC Pulm Med*, 2024, 24(1): 278.
- [18] 马彩霞, 陈镜龙, 陆泳, 等. 肺泡灌洗液宏基因组测序在儿童重症肺炎支原体肺炎混合感染中的诊断价值[J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(12): 891-895.
- [19] 俞婷, 余小丽, 李鸿茹, 等. 高龄老年人社区获得性肺炎不同病原体感染的特点及危险因素分析[J]. *临床肺科杂志*, 2023, 28(4): 590-593, 599.

[专业责任编辑: 孙 新]

[中文编辑: 刘昕田; 英文编辑: 梁金露]