doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2307106

论著·临床研究

支气管肺泡灌洗液宏基因组二代测序在儿童难治性肺炎诊治中的应用

冯荣光¹ 周丽岩¹ 窦蕊² 周雪原¹ 王莉荣¹ 韩丽红¹ 王育民¹

(1. 内蒙古自治区妇幼保健院儿内科, 内蒙古呼和浩特 010020; 2. 内蒙古医科大学第二附属医院超声医学中心, 内蒙古呼和浩特 010010)

[摘要] **目的** 探讨支气管肺泡灌洗液 (bronchial alveolar lavage fluid, BALF) 宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 在儿童难治性肺炎 (refractory pneumonia, RTP) 病原学诊断及治疗中的临床应用。**方法** 回顾性选取2020年1月—2023年3月内蒙古自治区妇幼保健院儿内科收治的RTP患儿160例为研究对象, 根据是否进行mNGS检测分为mNGS组(80例)和传统检测组(80例)。两组患儿入院后均予完善炎症指标检测及传统病原学检测。传统病原学检测包括: 微生物培养(吸痰管采集痰液标本)、呼吸道病原核酸检测、血清学检测(支原体、结核、真菌)。mNGS组完善支气管镜检查后留取BALF标本同时送检mNGS和微生物培养。分析比较两组病原体检出情况及治疗情况。**结果** mNGS组较传统检测组病原体检出率更高(92% vs 58%, $P<0.05$), 且检出病原体种类更多, 对混合感染的诊断率更高。mNGS组治疗总体有效率高于传统检测组, 住院期间并发症发生率低于传统检测组 ($P<0.05$)。mNGS组中68例患儿根据mNGS结果调整治疗, 调整后总体有效率为96% (65/68)。**结论** 相对于传统病原学检测, BALF mNGS可显著提高病原体检出率, 可发现部分少见病原体, 临床工作中当RTP患儿诊疗过程中遇到瓶颈时应尽早完善mNGS明确病原。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (12): 1253-1258]

[关键词] 难治性肺炎; 支气管肺泡灌洗液; 宏基因组二代测序; 儿童

Application of metagenomic next-generation sequencing of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis and treatment of refractory pneumonia in children

FENG Rong-Guang, ZHOU Li-Yan, DOU Rui, ZHOU Xue-Yuan, WANG Li-Rong, HAN Li-Hong, WANG Yu-Min. Department of Pediatric Internal Medicine, Maternal and Child Health Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010020, China (Wang Y-M, Email: wangyumin080102@163.com)

Abstract: Objective To investigate the clinical application of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in the etiological diagnosis and treatment of refractory pneumonia (RTP) in children. **Methods** A retrospective analysis was performed on 160 children with RTP who were admitted to the Department of Pediatric Internal Medicine, Maternal and Child Health Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, from January 2020 to March 2023. According to whether mNGS was performed, they were divided into two groups: mNGS ($n=80$) and traditional testing ($n=80$). All children received the tests of inflammatory markers and pathogen tests after admission. Traditional pathogenicity tests included microbial culture (sputum specimen collected by suction tube), nucleic acid detection of respiratory pathogens, and serological test (mycoplasma, tuberculosis, and fungi). For the mNGS group, BALF specimens were collected after bronchoscopy and were sent to the laboratory for mNGS and microbial culture. The two groups were analyzed and compared in terms of the detection of pathogens and treatment. **Results** Compared with the traditional testing group, the mNGS group had a significantly higher detection rate of pathogens (92% vs 58%, $P<0.05$), with more types of pathogens and a higher diagnostic rate of mixed infections.

[收稿日期] 2023-07-31; [接受日期] 2023-11-03

[基金项目] 内蒙古自治区卫生科技计划项目 (202201132)。

[作者简介] 冯荣光, 男, 硕士, 副主任医师。

[通信作者] 王育民, 男, 主任医师。Email: wangyumin080102@163.com。

Compared with the traditional testing group, the mNGS group had a significantly higher treatment response rate and a significantly lower incidence rate of complications during hospitalization ($P<0.05$). Treatment was adjusted for 68 children in the mNGS group according to the results of mNGS, with a treatment response rate of 96% (65/68) after adjustment. **Conclusions** Compared with traditional pathogen tests, BALF mNGS can significantly improve the detection rate of pathogens and find some rare pathogens. In clinical practice, when encountering bottlenecks during the diagnosis and treatment of children with RTP, it is advisable to promptly perform the mNGS to identify the pathogens.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(12): 1253-1258]

Key words: Refractory pneumonia; Bronchoalveolar lavage fluid; Metagenomic next-generation sequencing; Child

难治性肺炎 (refractory pneumonia, RTP) 是指经过积极抗感染治疗后没有明显改善甚至病情恶化, 并且预后较差的严重肺炎^[1], 临床表现多样, 易发生胸腔积液、肺脓肿、肺坏死及肺不张等严重并发症。2019年《中国儿童难治性肺炎呼吸内镜介入诊疗专家共识》^[2]中提出, 疗效不佳、吸收缓慢甚至久治不愈以及出现严重并发症的肺炎可以被纳入 RTP 的范畴。近年来由于抗生素滥用、感染病原体的进化和变异、新型病原体不断产生、混合感染率以及细菌耐药性持续增加等多种因素的作用, RTP 发生率明显升高, 同时因疑难危重感染所导致的脓毒血症、呼吸衰竭等造成儿童患者病死率较高, RTP 成为儿童呼吸系统疾病诊治中的难点。宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 是 20 世纪发展起来的新一代检测技术, 利用几乎所有病原体都含有 DNA 或 RNA 的共性, 直接从临床标本中提取微生物核酸进行大规模基因组测序, 将样本中的微生物和宿主遗传物质进行综合分析^[3], 并与已知微生物数据库对比从而得出感染病原体的种类及序列数。mNGS 包含了标本中所有微生物的基因信息总和, 对新发及临床未知的病原体检测具有重要意义^[4], 弥补了传统检测法的不足, 近年来在成人和儿童感染性疾病中逐渐得到应用^[5-6]。本研究旨在探讨 mNGS 与传统病原学检测方法对于儿童 RTP 病原学诊断的临床价值, 尽早明确病原体, 从而更精准地指导临床用药。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性选取 2020 年 1 月—2023 年 3 月内蒙古自治区妇幼保健院儿内科收治的 RTP 住院患儿 160 例为研究对象, 结合患儿的病情及家属对 mNGS 的检测意愿分为 mNGS 组 (80 例) 和传统检测组 (80 例)。纳入标准: (1) 符合《中国儿童难治性肺炎呼吸内镜介入诊疗专家共识》^[2]中 RTP 的诊断标准; (2) 年龄 28 d 至 14 岁; (3) 久治不愈的肺炎,

即抗感染治疗 >2 周, 经积极治疗无效, 临床症状、体征及影像学无明显改善或加重; (4) 吸收缓慢的肺炎, 即在使用抗感染治疗后症状、体征有好转, 但 2 周后复查影像学病灶吸收 <50%, 迁延不愈者; (5) 重症肺炎, 即出现严重通气和/或换气功能障碍或肺内外并发症。排除标准: (1) 病历资料不全者; (2) 严重的肺部及全身基础疾病者; (3) 非感染性肺炎者; (4) 存在支气管镜检查禁忌证者。

本研究通过内蒙古自治区妇幼保健院伦理委员会批准 ([2021] 伦审第 [079-2] 号), 患儿监护人同意入组并签署知情同意书。

1.2 病原检测

两组患儿入院后均予完善炎症指标检测及传统病原学检测。传统病原学检测包括: 微生物培养 (吸痰管采集痰液标本)、呼吸道病原核酸检测、血清学检测 (支原体、结核、真菌)。mNGS 组完善支气管镜检查后留取支气管肺泡灌洗液 (bronchial alveolar lavage fluid, BALF) 标本同时送检 mNGS 和微生物培养。

mNGS 使用 QIAamp[®]UCP 病原体 DNA 试剂盒 (德国, Qiagen) 从所有样品中提取 DNA; 使用 Benzonase (德国, Qiagen) 和 Tween20 (德国默克, Sigma) 去除部分人源 DNA。使用 QIAamp[®]病毒 RNA 试剂盒 (德国, Qiagen) 提取总 RNA, 用 Ripo-Zero rRNA Removal Kit (美国, Illumina) 去除核糖体 RNA, 并利用逆转录酶和脱氧核糖核苷三磷酸 (美国, Thermo Fisher) 生成 cDNA。使用 Nextera XT DNA 文库制备试剂盒 (美国, Illumina) 构建 DNA 和 cDNA 样本文库。然后将构建好的文库加载到 Illumina Nextseq CN500 测序仪上进行测序。删除重复、短的和低质量序列数, 使用 Burrows-Wheeler Aligner 软件将测序数据中的人源序列数据人类参考基因组 (hg38) 比对并进行识别和排除。从美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information) 核苷酸和基因组数据库中选择合适的微生物基因组作为数据库搭建基础 (细菌、病毒、真菌、寄生虫、支原体、衣原体等), 获取所有可能感染的病原微生物种类

及相对丰度等数据。根据患儿其他病原体检测结果、临床症状及药物治疗反应，综合评估 mNGS 报告中的病原微生物是否与该患儿临床症状相关。

1.3 疗效判断标准

根据患儿临床症状的改善、白细胞、C 反应蛋白等炎症指标的恢复程度以及复查胸部影像学的吸收情况评价临床疗效。显效：临床症状消失，炎症指标恢复正常，影像学提示肺实变好转面积 $\geq 80\%$ 病变区域；有效：临床症状消失，炎症指标恢复正常，影像学提示肺实变好转面积 $\geq 50\%$ 病变区域；无效：临床症状及体征改善不明显，肺实变好转面积 $\leq 30\%$ 病变区域^[7]。总体有效=显效+有效。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。不符合正态分布的计量资料以中位数（四分位数间距） $[M(Q_1, Q_3)]$ 表示，组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以例数和率（%）表示，组间比较采用卡方检验，采用 McNemar 检验分析 mNGS 检测与传统病原学检测病原学阳性率的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿基本资料比较

mNGS 组 and 传统检测组患儿年龄、性别、基础疾病、早产或低出生体重、先天性心脏病、气道或肺结构异常方面比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 1。

表 1 两组患儿基本资料比较

项目	传统检测组 (n=80)	mNGS 组 (n=80)	Z/χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄 $[M(Q_1, Q_3), 月]$	26.5 (3.3, 63.3)	24.0 (5.3, 69.5)	0.490	0.624
性别 [例(%)]				
男	43(54)	44(55)	0.025	0.874
女	37(46)	36(45)		
合并基础疾病 [例(%)]	25(31)	19(24)	1.129	0.288
早产或低出生体重 [例(%)]	6(8)	5(6)	0.098	0.755
先天性心脏病 [例(%)]	16(20)	17(21)	0.038	0.845
气道或肺结构异常 [例(%)]	13(16)	6(8)	2.926	0.087

注：[mNGS] 宏基因组二代测序。

2.2 两组病原体检测情况

mNGS 组检出病原体 53 种，共 199 株，其中细菌 76 株，病毒 83 株，真菌 18 株，特殊病原体（包括支原体、衣原体、结核分枝杆菌）22 株。传统检测组检出病原体 26 种，共 98 株，包括细菌 52 株，病毒 21 株，真菌 3 株，特殊病原体 22 株。见表 2。

表 2 两组病原体检出情况 [株 (%)]

检出微生物种类	传统检测组 (n=80)	mNGS 组 (n=80)
肺炎链球菌	20(25)	10(12)
星座链球菌	0(0)	2(2)
化脓链球菌	1(1)	0(0)
肺炎克雷伯菌	1(1)	3(4)
百日咳博德特菌	2(2)	3(4)
流感嗜血杆菌	10(12)	6(8)
卡他莫拉菌	1(1)	3(4)
铜绿假单胞菌	3(4)	3(4)
金黄色葡萄球菌	7(9)	6(8)
大肠埃希菌	3(4)	2(2)
鲍曼不动杆菌	0(0)	5(6)
阴沟肠杆菌	1(1)	3(4)
黏质沙雷菌	2(2)	1(1)
粪肠球菌	0(0)	3(4)
呼吸道腺病毒	1(1)	0(0)
呼吸道合胞病毒	9(11)	13(16)
鼻病毒	3(4)	9(11)
副流感病毒	3(4)	19(24)
人类博卡病毒 1 型	1(1)	3(4)
人类偏肺病毒	2(2)	3(4)
流感病毒	2(2)	4(5)
人类疱疹病毒	0(0)	15(19)
耶氏肺孢子菌	1(1)	11(14)
白念珠菌	0(0)	2(2)
光滑念珠菌	0(0)	3(4)
克柔念珠菌	1(1)	0(0)
肺炎支原体	18(22)	19(24)
结核分枝杆菌	0(0)	2(2)
沙眼衣原体	4(5)	1(1)
其他*	2(2)	44(55)

注：[mNGS] 宏基因组二代测序。*其他包括细菌（洋葱伯克霍尔德菌、惠普尔养障体、葡萄球菌等 12 种）、病毒（细环病毒、人类冠状病毒）、真菌（马拉色菌、构巢曲霉菌）。

mNGS组阳性74例(92%)，其中混合感染比例为61%(49/80)，以细菌+病毒感染为主(21%，17/80)；单一感染比例为31%(25/80)，以特殊病原体为主(14%，11/80)。传统检测组阳性65例(81%)，其中混合感染比例为31%(25/80)，以细菌+特殊病原体为主(10%，8/80)；单一感染比例为50%(40/80)，以细菌为主(30%，24/80)。见表3。

mNGS组患儿支气管肺泡灌洗液同时送检mNGS及微生物培养法，mNGS阳性率为92%(74/80)，高于微生物培养法阳性率(58%，46/80)，差异有统计学意义($P<0.001$)。若以微生物培养法阳性作为病原学诊断的“金标准”，mNGS诊断灵敏度为98%，特异度为15%，阳性预测值为61%，阴性预测值为83%。见表4。

表3 两组单一感染和混合感染情况比较 [例(%)]

感染情况	传统检测组 (n=80)	mNGS组 (n=80)
未检出	15(19)	6(8)
单一感染	40(50)	25(31)
细菌	24(30)	3(4)
病毒	6(8)	10(12)
真菌	0(0)	1(1)
特殊病原体	10(12)	11(14)
混合感染	25(31)	49(61)
细菌+细菌	3(4)	4(5)
细菌+病毒	7(9)	17(21)
细菌+真菌	1(1)	1(1)
细菌+特殊病原体	8(10)	0(0)
病毒+病毒	0(0)	3(4)
病毒+真菌	2(2)	5(6)
病毒+特殊病原体	3(4)	4(5)
真菌+特殊病原体	0(0)	1(1)
细菌+病毒+真菌	0(0)	7(9)
细菌+病毒+特殊病原体	1(1)	3(4)
细菌+真菌+特殊病原体	0(0)	1(1)
病毒+真菌+特殊病原体	0(0)	1(1)
细菌+病毒+真菌+特殊病原体	0(0)	2(2)

注：[mNGS] 宏基因组二代测序。

表4 mNGS组患儿mNGS与微生物培养法阳性结果比较 (例)

微生物培养法	mNGS		P值	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
	+	-					
+	45	1	<0.001	98%	15%	61%	83%
-	29	5					

注：[mNGS] 宏基因组二代测序。灵敏度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%，特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%，阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)×100%，阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%。

2.3 两组治疗情况比较

mNGS组总体有效率高于传统检测组，住院期间并发症发生率低于传统检测组($P<0.05$)，见表5。

表5 两组患儿治疗情况比较 [例(%)]

项目	传统检测组 (n=80)	mNGS组 (n=80)	χ^2 值	P值
抗生素使用	79(99)	76(95)	0.001	0.971
丙种球蛋白使用	20(25)	31(39)	3.483	0.062
糖皮质激素使用	30(38)	28(35)	0.108	0.742
住院期间并发症	53(66)	33(41)	10.057	0.002
脓毒血症	9(11)	7(9)	0.278	0.598
呼吸衰竭	27(34)	13(16)	6.533	0.011
胸腔积液	23(29)	16(20)	1.661	0.197
肺坏死或肺脓肿	3(4)	5(6)	0.132	0.717
肺不张	2(2)	3(4)	0.000	1.000
总体有效率	49(61)	69(86)	12.914	<0.001

注：[mNGS] 宏基因组二代测序。

mNGS组中有68例患儿根据mNGS结果进行了治疗调整，调整后总体有效率为96%(65/68)，见表6。

表6 68例mNGS组患儿调整药物方案情况 [例(%)]

调整方案	调整例数	调整后总体有效
抗生素升级	6	6(100)
更换抗生素类别	22	20(91)
联合抗生素	17	16(94)
加用丙种球蛋白	14	14(100)
加用糖皮质激素	9	9(100)

注：[mNGS] 宏基因组二代测序。

3 讨论

RTP是儿童呼吸系统疾病中导致患儿死亡的主要原因，发生机制中感染占主要因素。目前临床上病原检测以微生物培养法、呼吸道病原核酸检测等最为广泛，但因培养时间长、易受上呼吸道定植菌污染及抗生素滥用等特性^[8]，降低了病原体检出率，延误最佳治疗时机。而mNGS是以群落为背景研究微生物种群的检测技术，通过提取微生物的遗传物质来研究环境中的微生物多样性，相比于微生物培养法及PCR核酸扩增技术等具有测序迅速、覆盖广、灵敏度高、无偏移的特点^[9]，且临床药物包括抗生素和糖皮质激素的应用对其结果产生的影响较小^[10]，近年来逐渐应用于呼吸系统等多种临床感染性疾病中。

有研究认为相对于传统病原学检测，mNGS可显著提高儿童下呼吸道感染性疾病的病原体检出率。本研究中mNGS组共检出53种病原体，而传统检测组应用了微生物培养、呼吸道病原核酸检测、血清学检测3种传统检测方法共检出26种病原体，与何邦立等^[11]、唐青等^[12]的研究结果相近。将mNGS组患儿的BALF标本同时进行mNGS和微生物培养，mNGS阳性率为92%，显著高于微生物培养法阳性率58%，与既往报道结果^[13-15]接近。mNGS诊断灵敏度为98%，特异度为15%，阳性预测值为61%，阴性预测值为83%，与Miao等^[16]的研究相差较大，可能与本研究样本量较小有关。既往研究表明，RTP患儿通常存在混合感染^[17]。本研究对比两组患儿病原体检出情况，mNGS结果多为混合感染，而传统检测大多只能检出单种病原体，这与mNGS的测序优势有关。mNGS可以发现如星座链球菌、分枝杆菌、真菌等较多传统检测不能检出的罕见微生物信息，对于混合感染患儿的病原学诊断率较高。然而本研究也发现，部分患儿的mNGS结果与其临床表现并不完全相符。有文献指出，mNGS虽覆盖率广泛，但其将呼吸道内的定植菌及自身的某些宿主基因一并涵盖其中，这也造成了对结果解读的偏差，导致该项技术的应用存在较大争议^[18]。本研究两组真菌类检出情况差异较为明显，在临床中采用传统方法确诊真菌感染通常较为困难，但近年来肺部真菌感染患儿较以往增加，尤其是在患有先天性心脏病、气道发育不良等基础疾病的患儿中真菌阳性率显著高于无基础疾病患儿，并且免疫系

统受损患儿肺部感染真菌后通常病情进展较快，病死率较高^[19]。mNGS相对于传统检测可以显著提高真菌类病原的检出率，缩短检测时间，帮助此类患儿尽早明确感染原因，避免延误治疗^[20]。

明确感染病原体的最终目的是辅助RTP的病因治疗，本研究mNGS组中68例患儿根据mNGS结果调整了治疗，其中65例调整后显效或有效，3例无效（1例放弃治疗，1例转院，1例存在严重后遗症），治疗总体有效率为96%，与崔凤婷等^[21]、钮月英等^[22]的研究一致。本研究发现mNGS组总体有效率显著高于传统检测组，且在住院期间的并发症发生率显著低于传统检测组，提示mNGS相对于传统检测法可以早期发现感染病原体，帮助临床医师精确指导治疗，减少并发症，缩短病程，改善预后。

但目前该技术仍存在很多不足，包括对数据库的选择没有全面统一的参考，对报告结果的解读缺乏标准的指南或共识，以及宿主背景核酸的干扰等，导致其准确性和可信性尚存在一定争议，且目前该项目的检查费用相对较高，亦导致其在临床中的应用受到很大的限制。

总之，mNGS可在呼吸系统感染性疾病尤其是RTP中发挥不可替代的作用，其对于呼吸道感染性疑难重症的病原学诊断，尤其对于新发和临床未知的病原体的检测具有重要意义。能够有效帮助儿科医生尽早识别病原体，使患儿得到精准治疗，提高治愈率。对于难以明确感染微生物以及存在基础疾病的免疫系统受损RTP患儿，应尽早完善mNGS查找病原，早期诊断，早期治疗，减少并发症和后遗症，降低病死率。但对于mNGS结果的解读需结合具体临床资料判定。

利益冲突声明：所有作者声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Fang Z, Lin S, Luo S, et al. Meta-analysis and systematic review of electronic bronchoscopy in refractory pneumonia[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(9): 9889-9901. PMID: 34628915. DOI: 10.21037/apm-21-2133.
- [2] 国家卫生健康委员会人才交流服务中心儿科呼吸内镜诊疗技术项目专家组, 中国医师协会儿科医师分会内镜专业委员会, 中国医师协会内镜医师分会儿科呼吸内镜专业委员会, 等. 中国儿童难治性肺炎呼吸内镜介入诊疗专家共识[J]. *中国实用儿科杂志*, 2019, 34(6): 449-457.

- DOI: 10.19538/j.ek2019060601.
- [3] 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.
- [4] 谢正德, 邓继焜, 任丽丽, 等. 儿童呼吸道感染病原体核酸检测专家共识[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2022, 37(5): 321-332. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20211222-01490.
- [5] 徐放, 申阿东. 宏基因组测序在儿童呼吸道感染性疾病研究中的应用[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2020, 35(10): 783-786. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20200413-00629.
- [6] 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.
- [7] 杨家武, 赵亮, 刘海洋, 等. 支气管肺泡灌洗液基因芯片法病原体检测对难治性肺炎患儿的病原学诊断意义[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2023, 38(4): 281-285. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20220807-00947.
- [8] 常文娇, 马筱玲. 儿童呼吸道感染常见病原体的实验室检测[J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(4): 274-279. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210129-00077.
- [9] 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.
- [10] 周永召, 陆思芬, 刘丹, 等. 宏基因组高通量测序技术能够引领呼吸感染性疾病迈进精准医学时代吗?[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2022, 21(2): 137-141. DOI: 10.7507/1671-6205.202202029.
- [11] 何邦立, 林亚发, 符名勇, 等. 宏基因组二代测序技术检测不明原因肺部感染病原体的临床应用价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33(7): 1001-1005. DOI: 10.11816/cn.ni.2023-221089.
- [12] 唐青, 辛丽红, 康媛洁. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序在儿童重症肺炎病原诊断中的价值[J]. *临床医学研究与实践*, 2023, 8(1): 92-96. DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.202301025.
- [13] Chen J, Zhao Y, Shang Y, et al. The clinical significance of simultaneous detection of pathogens from bronchoalveolar lavage fluid and blood samples by metagenomic next-generation sequencing in patients with severe pneumonia[J]. *J Med Microbiol*, 2021, 70(1): 001259. PMID: 33231537. DOI: 10.1099/jmm.0.001259.
- [14] 任小宏, 代继宏. 宏基因组二代测序技术在支气管肺泡灌洗液病原检测中的临床应用[J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(7): 1046-1050. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2022.07.014.
- [15] Huang J, Jiang E, Yang D, et al. Metagenomic next-generation sequencing versus traditional pathogen detection in the diagnosis of peripheral pulmonary infectious lesions[J]. *Infect Drug Resist*, 2020, 13: 567-576. PMID: 32110067. PMCID: PMC7036976. DOI: 10.2147/IDR.S235182.
- [16] 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.
- [17] Wallihan R, Ramilo O. Community-acquired pneumonia in children: current challenges and future directions[J]. *J Infect*, 2014, 69(Suppl 1): S87-S90. PMID: 25264163. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.07.021.
- [18] 中国重症社区获得性肺炎研究协作组. 重症社区获得性肺炎患者支气管肺泡灌洗液的宏基因组测序结果临床判读指导原则[J]. *国际呼吸杂志*, 2023, 43(1): 7-14. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20220715-00611.
- [19] Koltzida G, Zaoutis T. Fungal lung disease[J]. *Paediatr Respir Rev*, 2021, 37: 99-104. PMID: 32527608. DOI: 10.1016/j.prrv.2020.04.009.
- [20] 贾建超, 贾建敏, 刘姿, 等. 宏基因组二代测序技术对重症肺炎真菌感染诊断价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(10): 1023-1025. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2020.10.014.
- [21] 崔凤婷, 付丽娜, 吴娅娜. 肺泡灌洗液病原微生物宏基因检测在儿童重症肺炎治疗中的临床应用分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(8): 1333-1337. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2021.08.016.
- [22] 钮月英, 吴晓虹, 应可净. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序技术对下呼吸道感染病原体检测的优势[J]. *中国实用内科杂志*, 2020, 40(9): 754-758. DOI: 10.19538/j.nk2020090111.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2023 中国当代儿科杂志)