

肺泡灌洗液宏基因组二代测序 在儿童重症肺炎中的应用

孙芳¹ 王军² 孙钊宁¹ 余宏川¹ 杨婷婷¹ 孙欣荣¹

【摘要】目的 分析重症肺炎患儿肺泡灌洗液宏基因组二代测序(mNGS)研究病原体及其在儿童重症肺炎中的应用价值。**方法** 收集2019年5月至2022年6月于西安市儿童医院呼吸科确诊为重症肺炎患儿的血液及呼吸道样本,将样本同时进行传统病原学和mNGS方法检测,比较两种方法的病原检出率及与临床诊断的符合率,分析重症肺炎患儿肺泡灌洗液mNGS检出病原分布,计数资料(性别、年龄、临床症状、影像学 and 临床结局,病原体检出阳性率、临床符合率和真阳性率)以构成比或率表示,采用Pearson χ^2 检验进行分析。**结果** 共纳入79例重症肺炎患儿,其中男52例、女27例,年龄为1月龄至14岁4月龄;其中肺泡灌洗液mNGS检出阳性率为84.8% (67/79),与临床诊断符合率为73.4% (58/79),真阳性率为86.5% (58/67);传统方法检测病原阳性率为40.5% (32/79),与临床符合率为26.6% (21/79),真阳性率为65.6% (21/32)。mNGS检出阳性率、与临床诊断符合率以及真阳性率均高于传统检测方法,差异具有统计学意义($\chi^2 = 33.14$ 、 $P < 0.001$, $\chi^2 = 34.66$ 、 $P < 0.001$, $\chi^2 = 5.89$ 、 $P = 0.015$)。细菌为各年龄段(< 6个月、6个月~2岁、2~5岁和> 5岁)重症肺炎最常见病原,差异具有统计学意义($\chi^2 = 22.05$ 、 42.71 、 37.79 、 22.77 , P 均< 0.001),其中以肺炎链球菌最为多见,在5岁以上患儿中肺炎支原体在常见病原体中居第2位。春季和冬季是儿童重症肺炎的高发季节,差异具有统计学意义($\chi^2 = 12.65$ 、 27.24 , P 均< 0.001)。**结论** 与常规检测方法相比,重症肺炎患儿应用肺泡灌洗液mNGS检测病原体,可显著提高病原体检出率及临床诊断符合率。肺炎链球菌是儿童各年龄段重症肺炎最常见病原,肺炎支原体是5岁以上儿童重症肺炎的主要病原;儿童重症肺炎多出现在春季和冬季。

【关键词】 宏基因组测序; 肺泡灌洗液; 儿童; 重症肺炎

Application of metagenomics next generation sequencing of bronchoalveolar lavage fluid in children with severe pneumonia Sun Fang¹, Wang Jun², Sun Zhaoning¹, Yu Hongchuan¹, Yang Tingting¹, Sun Xinrong¹. ¹The 1st Department of Respiratory, ²Department of Infectious Diseases, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, China

Corresponding author: Sun Xinrong, Email: xr_sun@163.com

【Abstract】Objective To investigate the pathogen distribution of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in children with severe pneumonia and its application value in children with severe pneumonia. **Methods** Blood samples and respiratory samples of children diagnosed with severe pneumonia in the respiratory department of Xi'an Children's Hospital from May 2019 to June 2022 were collected, the pathogens were simultaneously tested by traditional microbiological assays and mNGS, and the pathogen detection rates and the coincidence rate with the clinical diagnosis of the two methods were compared. The pathogenic distribution of mNGS in BALF of children with severe pneumonia was analyzed. Enumeration data (gender, age, clinical symptoms, imaging, clinical outcome; positive rate of pathogen detection, clinical coincidence rate and true positive rate) were represented by rates or composition ratios, and were conducted by Pearson Chi-square test. **Results** Total of 79 children

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2024.01.005

基金项目: 陕西省重点研发计划-重点产业创新链(No. 2023-ZDLSF-38); 陕西省重点研发计划项目(No. 2020SF-183)

作者单位: 710003 西安市, 西安市儿童医院呼吸一科¹、感染科²

通信作者: 孙欣荣, Email: xr_sun@163.com

with severe pneumonia were enrolled. Among them, 52 were male and 27 were female, aged from 1 month to 14 years and 4 months; the positive rate of pathogens detected by mNGS was 84.8% (67/79), 73.4% (58/79) were consistent with clinical diagnosis, the true positive rate was 86.5% (58/67). While, 32 cases (40.5%) were positive by traditional detection assays, 26.6% (21/79) cases were consistent with clinical diagnosis, and the true positive rate was 65.6% (21/32). These rates of mNGS were significantly higher than those of traditional detection, with significance differences ($\chi^2 = 33.14, P < 0.001$; $\chi^2 = 34.66, P < 0.001$; $\chi^2 = 5.89, P = 0.015$). Bacteria were the most common pathogens of severe pneumonia in all age groups (< 6 months, 6 months to 2 years, 2 to 5 years and > 5 years), with significance differences ($\chi^2 = 22.05, 42.71, 37.79, 22.77$; all $P < 0.001$). *Streptococcus pneumoniae* (SP) was the most common pathogen, and *mycoplasma pneumoniae* (MP) was the second common pathogen in the patients over 5 years old. Spring and winter were the peak seasons for severe pneumonia in children, with significance differences ($\chi^2 = 12.65, 27.24$; both $P < 0.001$). **Conclusions** Compared with traditional detection assays, mNGS detection of pathogenic microorganisms in BALF in children with severe pneumonia can significantly improve the pathogen detection rate and clinical judgment coincidence rate. SP was the most common pathogen of severe pneumonia in children of all ages, and MP was the main pathogen of severe pneumonia in children over 5 years old. Severe pneumonia in children was more common in spring and winter.

【Key words】 Metagenomics next generation sequencing; Bronchoalveolar lavage fluid; Children; Severe pneumonia

肺炎是婴幼儿时期发病率较高的疾病, 全球统计数据显示, 每年患重症肺炎的儿童高达1.56亿, 其中来自发展中国家约占96.8%, 而在我国, 每年约有2 100万儿童患肺炎, 其中重症肺炎占15%^[1], 也是造成患儿死亡的主要病因之一^[2]。据世界卫生组织统计, 2019年全球约有74万例5岁以下儿童死于下呼吸道感染^[3-4], 而病毒、细菌、非典型病原以及真菌均为引起儿童重症肺炎的主要病原体^[5-6], 由于不同年龄患儿感染的病原不同, 其临床症状和结局也有所不同, 因此, 病原微生物的检测在临床经验性治疗向精准治疗过程中具有重要意义^[7-8]。

近年来, 病原微生物宏基因组二代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 技术逐渐快速应用于临床^[9-10]。由于该检测方法是一种无需培养、无偏倚, 并能从临床样本中快速检测出细菌、真菌、病毒、寄生虫以及非典型病原等各种类型病原的一种检测技术, 具有较高的敏感性和准确性, 尤其适用于严重感染和(或)合并免疫功能受损者、新发病原及特殊病原感染, 临床怀疑感染但多种传统检测方法仍不能明确病原, 以及经验治疗病情不能缓解的重症感染等^[11], 目前已成为上述情况下病原学检测的重要辅助手段之一^[12-13]。本研究针对儿童重症肺炎肺泡灌洗液mNGS结果进行分析, 旨在探讨mNGS在儿童重症肺炎中的临床应用价值, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象和诊断标准

1. 研究对象: 2019年5月至2022年6月西安市儿童医院呼吸科确诊为重症肺炎并进行常规检测和肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 病原微生物mNGS检测的住院患儿。研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》的相关规定, 获得本院伦理委员会审核批准 (审批号: 0230057)。

纳入标准: ①年龄为1月龄至14岁的住院患儿; ②确诊为重症肺炎; ③完善电子支气管镜术前检查, 无禁忌症者; ④均签署住院患儿临床诊治知情同意书并完成常规和BALF病原学检测。排除标准: ①病情严重无法实施支气管镜检查或家属不同意检查者; ②合并先天性气道或心血管发育畸形以及支气管肺发育不良; ③免疫功能缺陷性疾病患儿; ④合并其他重要脏器功能严重受损者。

儿童重症肺炎诊断标准: 符合中华医学会儿科分会呼吸学组制定的《儿童社区获得性肺炎管理指南》中重症肺炎表现^[14]: ①婴儿: 呼吸频率 (respiratory rate, RR) ≥ 70 次/min (除外发热、哭吵等因素影响), 鼻扇, 胸壁吸气性凹陷, 紫绀, 呼吸呻吟, 间歇性呼吸暂停, 拒食; 腋温 $\geq 38.5^\circ\text{C}$; ②年长儿 (> 1岁): RR ≥ 50 次/min (除外发热、哭吵等因素影响), 有脱水征、鼻扇、呼吸呻吟、紫绀, 腋温 $\geq 38.5^\circ\text{C}$ 。

二、标本采集

1. 常规检测：入院后患儿完善咽拭子13种呼吸道病原体检测，其中包含肺炎支原体DNA、肺炎衣原体及沙眼衣原体DNA、B/C/E 3个亚群腺病毒DNA、博卡病毒1、2、3、4-DNA、人感染的所有甲流-RNA、国内流行性甲流亚型-RNA (H1N1)、国内流行性甲流亚型-RNA (H3N2)、副流感亚型1、2、3、4-RNA、偏肺病毒A1、A2、B1、B2-RNA、乙型流感病毒Yamagata和Victoria谱系-RNA、呼吸道合胞病毒A、B-RNA、冠状病毒229E、NL63、HKU1、OC43-RNA、鼻病毒A、B、C-RNA，静脉血肺炎支原体抗体IgM（胶体金法）。同时无发热患儿行咽拭子病原培养，有发热患儿进行不同部位双份血培养、BALF涂片及培养，怀疑结核分枝杆菌感染患儿行结核菌素皮肤试验（PPD试验）和结核分枝杆菌感染T细胞斑点试验（T-SPOT.TB）。

2. 肺泡灌洗术mNGS检测：通常选择胸部CT显示病变肺段进行支气管镜肺泡灌洗，灌洗液为生理盐水，负压吸引灌洗液后及时送检进行病原DNA检测（此检测方案中，因经济原因未能同时进行RNA病毒检测，但本院呼吸道病原13项检测中包含文献报道的儿童常见下呼吸道感染的RNA病毒，检测准确率也较高）。病原检测包括：DNA病毒、细菌、真菌、肺炎支原体和寄生虫等。

三、临床资料收集

收集患儿的一般信息（年龄、性别、临床症状和体征），血常规和生化指标，传统病原学检测及病原微生物高通量测序（mNGS）结果，临床治疗和转归等。分别按照年龄（< 6个月、6个月~2岁、2~5岁和> 5岁）和入院季节[春季组（3~5月份）、夏季（6~8月份）、秋季（9~11月份）和冬季（12~2月份）]分为不同亚组。

四、mNGS报告解读标准

目前mNGS的报告结果分析尚缺乏统一标准，本研究mNGS报告解读参考相关文献资料^[15]，判定感染的标准如下：①mNGS与传统检测方法检测结果均为同一种病原体（排除定植和可能污染的原因）；②当mNGS与传统的病原检测方法检测结果为不同的病原体，或mNGS提示多种混合病原体感染时，结合患儿的病史特点及所测到病原体序列数及相对丰度进行综合判断；③依据所检测到病原体的结果，给予相对应的治疗措施后，患儿的临床症

状得到了显著的改善。当满足上述标准种至少1条时，判定为致病菌。

五、统计学处理

数据处理使用Excel软件和SPSS 27.0统计软件。年龄为不符合正态分布的计量资料，以中位数（四分位数）[M (P25, P75)]表示；计数资料（性别、年龄分布、临床症状、影像学、临床结局，病原体检测阳性率、临床符合率和真阳性率）以率/构成比表示，两组比较采用Pearson χ^2 检验，多组率的比较采用 χ^2 检验（似然比），以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、79例重症肺炎患儿的一般资料和临床特征

本研究共纳入79例患儿，其中男52例、女27例，男女比例为（1.92：1）。年龄为1月龄至14岁4月龄，中位年龄3.7岁。入组患儿的临床症状、影像学表现和临床结局详见表1。

表1 79例重症肺炎患儿的一般资料和临床特征

| 指标 | 数值 |
|----------------------|----------------|
| 性别 [例 (%)] | |
| 男 | 52 (65.8) |
| 女 | 27 (34.2) |
| 年龄 [M (P25, P75), 岁] | 3.7 (0.9, 7.5) |
| 年龄分布 [例 (%)] | |
| < 6个月 | 11 (13.9) |
| 6个月~2岁 | 18 (22.8) |
| 2~5岁 | 19 (24.1) |
| > 5岁 | 31 (39.2) |
| 症状 [例 (%)] | |
| 咳嗽 | 68 (86.1) |
| 高热 | 35 (44.3) |
| 喘息 | 10 (12.7) |
| 气促 | 3 (3.8) |
| 咯血 | 2 (2.5) |
| 胸痛 | 1 (1.3) |
| 影像学表现 [例 (%)] | |
| 大叶性肺炎 | 30 (38.0) |
| 支气管肺炎 | 22 (27.8) |
| 胸腔积液 | 10 (12.7) |
| 间质性肺炎 | 8 (10.1) |
| 脓胸 | 6 (7.6) |
| 肺不张 | 4 (5.1) |
| 临床结局 [例 (%)] | |
| 治愈 | 67 (84.8) |
| 好转 | 11 (13.9) |
| 死亡 | 1 (1.3) |

二、传统检测与mNGS检测方法检出率

经临床综合判断，79例重症肺炎患儿行BALF病原mNGS检测，报告阳性患儿67例，依据mNGS检测结果判定感染的标准，经综合分析临床相符者58例。传统检测方法在同批患儿中报告阳性结果者32例，经综合分析临床相符者21例，其中有19例与mNGS检出病原一致。其中mNGS检出结核分枝杆菌2例，而传统检测方法并未检出。两种检测方法的阳性检出率、临床符合率及真阳性率差异均有统计学意义（ P 均 < 0.05 ），见表2。

三、不同年龄阶段和不同季节重症肺炎患儿BALF-mNGS检出病原体检出构成比

从mNGS检出病原中可见不同年龄重症肺炎患

儿其病原分布有所不同，细菌为最常见的病原。 < 6 个月组患儿中最常见细菌为肺炎链球菌及金黄色葡萄球菌，6个月~2岁患儿中最常见细菌为流感嗜血杆菌及金黄色葡萄球菌，2~5岁患儿中最常见细菌为肺炎链球菌， > 5 岁患者中非典型病原，即肺炎支原体为最常见病原。其中，在传统方法检测阴性患儿中由mNGS检出2例结核分枝杆菌，年龄均 > 5 岁。部分患儿为多重感染，其中双重细菌混合感染者5例，细菌合并病毒感染7例，病毒合并肺炎支原体感染者2例，真菌合并细菌感染4例（表3和图1）。

不同季节病原检出情况亦存在差异，春季和冬季是儿童重症肺炎的高发季节，差异具有统计学意义（ $\chi^2 = 12.65、27.24$ ， P 均 < 0.001 ），春季最

表2 传统检测和 mNGS 检测方法检出率（%）

| 方法 | 检出阳性率（检出阳性数/病例数） | 临床符合率（符合临床数/病例总数） | 真阳性率（真阳性数/阳性数） |
|------------|------------------|-------------------|----------------|
| mNGS检测 | 84.8（67/79） | 73.4（58/79） | 86.5（58/67） |
| 传统检测 | 40.5（32/79） | 26.6（21/79） | 65.6（21/32） |
| χ^2 值 | 33.14 | 34.66 | 5.89 |
| P 值 | < 0.001 | < 0.001 | 0.015 |

表3 重症肺炎患儿 mNGS 检出病原不同年龄段的分布

| 病原体 | 例数 | < 6 个月（11例） | 6个月~2岁（22例） | 2~5岁（20例） | > 5 岁（23例） |
|------------|----|---------------|-------------|-----------|--------------|
| 病毒 | 9 | 1（9.1） | 5（22.7） | 2（10.0） | 1（4.3） |
| 细菌 | 47 | 8（72.7） | 15（68.3） | 14（70.0） | 10（43.5） |
| 支/衣原体 | 14 | 1（9.1） | 1（4.5） | 3（15.0） | 9（39.2） |
| 真菌 | 4 | 1（9.1） | 1（4.5） | 1（5.0） | 1（4.3） |
| 结核分枝杆菌 | 2 | 0（0.0） | 0（0.0） | 0（0.0） | 2（8.7） |
| χ^2 值 | | 22.05 | 42.71 | 37.79 | 22.77 |
| P 值 | | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 |

表4 重症肺炎患儿不同季节 mNGS 检出主要病原体分布 [株（%）]

| 病原体 | 株数 | 春季（23株） | 夏季（23株） | 秋季（14株） | 冬季（16株） |
|------------|----|---------|---------|---------|-----------|
| 肺炎支原体 | 13 | 1（4.3） | 3（13.0） | 1（7.1） | 8（50.0） |
| 肺炎链球菌 | 12 | 6（26.1） | 2（8.7） | 3（21.4） | 1（6.2） |
| 金黄色葡萄球菌 | 9 | 2（8.7） | 4（17.1） | 1（7.1） | 2（12.5） |
| 流感嗜血杆菌 | 8 | 1（4.3） | 4（17.1） | 0（0.0） | 3（18.8） |
| 铜绿假单胞菌 | 4 | 3（13.0） | 1（4.3） | 0（0.0） | 0（0.0） |
| 鲍曼不动杆菌 | 4 | 0（0.0） | 3（13.0） | 1（7.1） | 0（0.0） |
| 人博卡病毒 | 3 | 1（4.3） | 0（0.0） | 2（14.3） | 0（0.0） |
| χ^2 值 | | 12.650 | 8.630 | 7.770 | 27.240 |
| P 值 | | 0.049 | 0.196 | 0.255 | < 0.001 |

重要的病原为肺炎链球菌，冬季最主要的病原为肺炎支原体，具体分布见图2和表4。

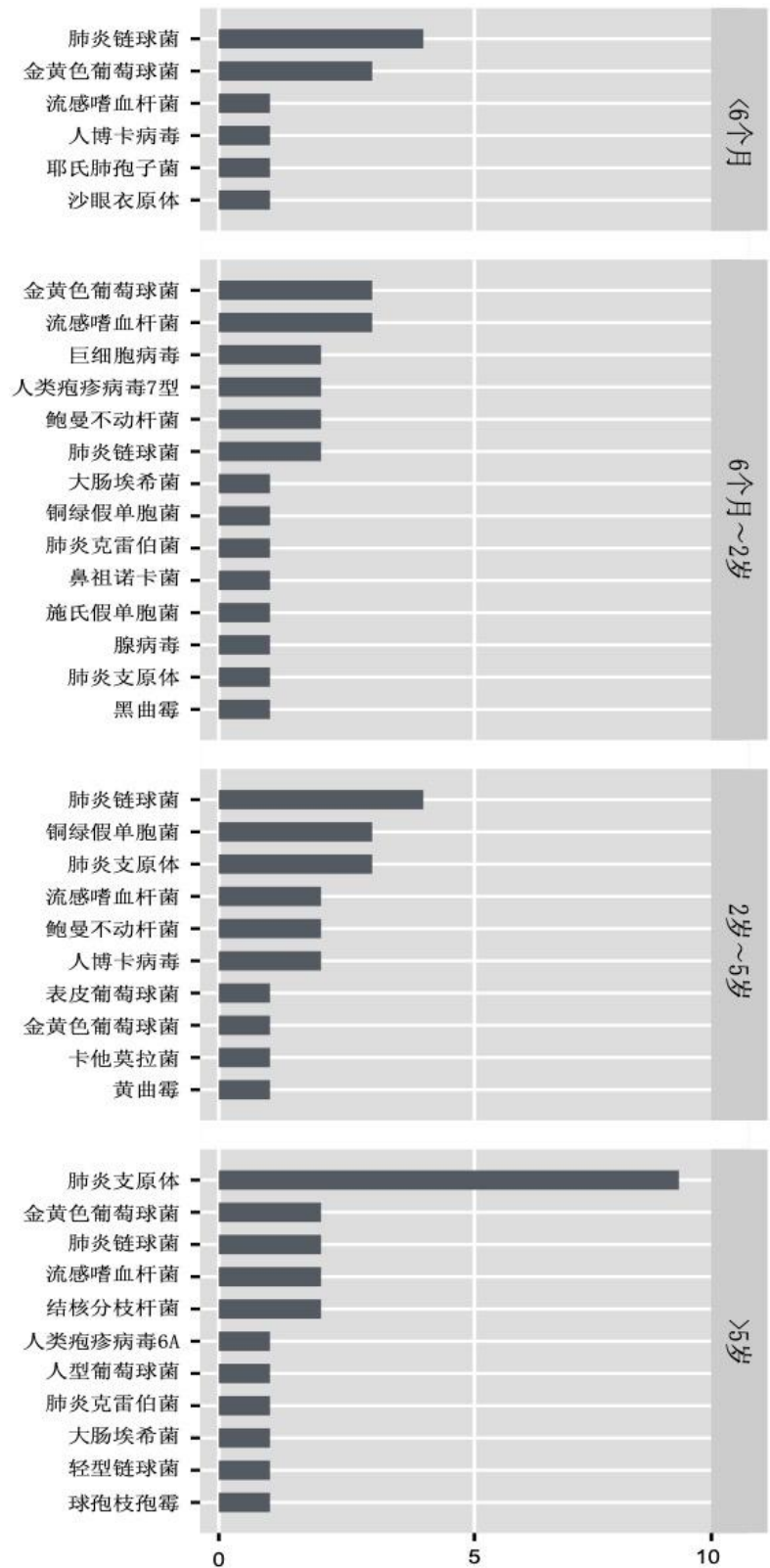


图1 58例重症肺炎患儿mNGS检测结果在不同年龄段的病原学分布

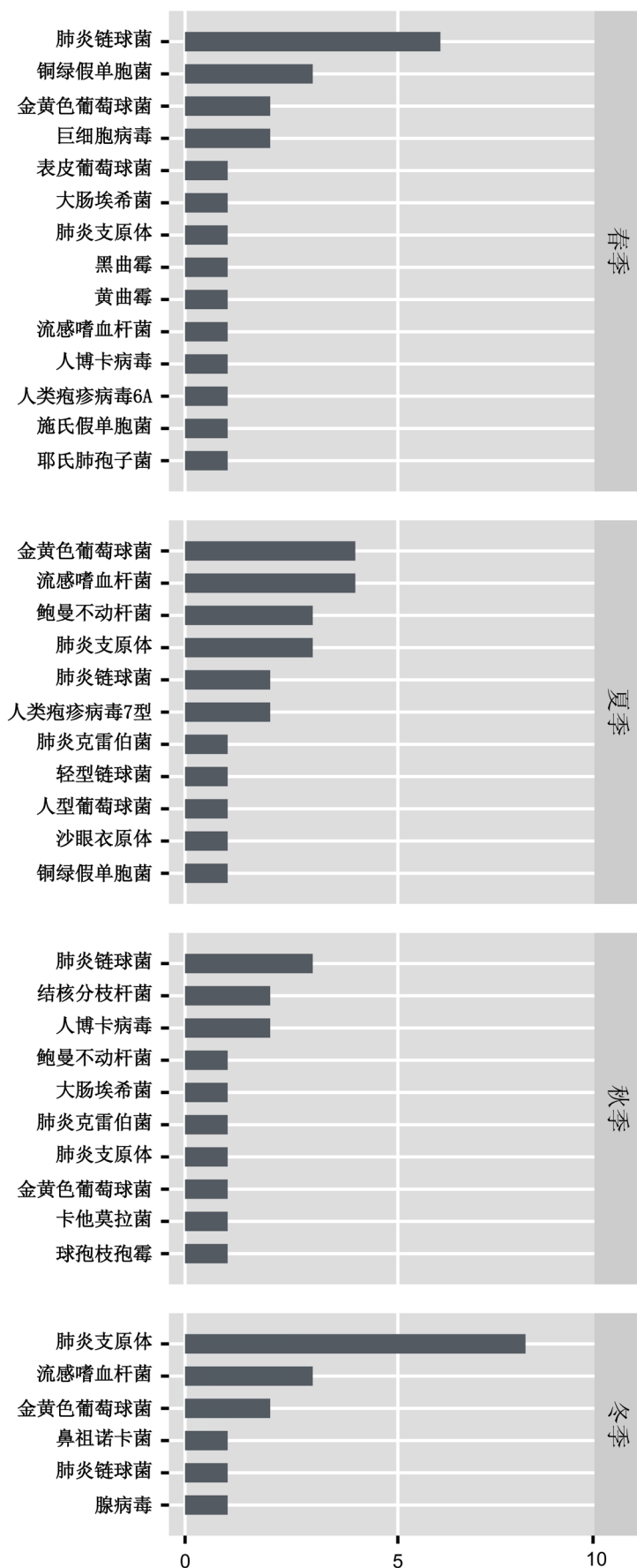


图2 58例重症肺炎患儿mNGS检测病原的季节分布

讨 论

肺炎是儿童期常见的呼吸道疾病,是儿童住院最常见的原因,也是导致全球5岁以下儿童死亡最主要的病因。2019年全球因肺炎死亡的5岁以下儿童约有74万例,其中我国有18.1万例,占1~5岁儿童死亡病因的22%。肺炎对儿童的威胁巨大,部分原因在于临床治疗上受传统病原学检测方法的局限,更多采用经验性治疗,未能达到针对感染病原的精确目标治疗这一高度。因此,早期识别重症肺炎的危险因素并及时进行精准治疗,能够有效降低其病死率^[16]。随着生物医学技术的迅速发展,mNGS为临床提供了一种新的辅助诊断方法,此技术耗时短,可提取相关基因组的遗传物质,并对微生物种群进行分析,使细菌群落的检测结果更准确,更可靠^[17-18]。儿童重症肺炎的肺泡灌洗液病原检测,其准确性更高于痰液、血液等样本^[19-21]。因此,目前临床上应用肺泡灌洗液标本进行病原学检测,对重症肺炎的诊治具有更大的实用价值。

本研究收集了79例重症肺炎患儿的肺泡灌洗液,应用mNGS与传统方法同步检测病原体,并根据检测结果、综合临床特点及时明确病原,做到目标治疗,最终治愈67例,病情好转11例,死亡1例。本组患儿的病死率为1.3%,显著低于文献报道^[22]中重症肺炎患儿13.5%的病死率,提示有明确病原诊断的目标治疗对患儿的获益更大。与常规病原培养需要3~7 d相比,mNGS一般12~24 h即能得到结果,且本研究中mNGS检测阳性率及与临床符合率均高于常规检测方法,表明mNGS可作为儿童重症肺炎的一种更灵敏高效的辅助诊断方法,有助于早期识别重症肺炎的病原体,做到精准治疗,改善患儿预后。

在病原分布方面,本研究发现儿童各年龄组重症肺炎的主要病原均为细菌感染,<6个月及2~5岁患儿中最常见细菌为肺炎链球菌,与以往研究结果一致^[23];此外2岁及以上儿童第2位感染病原为肺炎支原体,尤其是5岁以上儿童,与黄璐等^[24]报道的儿童重症肺炎主要感染病原体为肺炎支原体、肺炎链球菌相同,而在2~5岁患儿中,铜绿假单胞菌也较多见,与黎耀文等^[25]报道的儿童重症肺炎主要病原菌为铜绿假单胞菌相同。既往研究显示,肺炎链球菌是所有年龄患儿中最常见细菌感染的病原,其次为流感嗜血杆菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球

菌和卡他莫拉菌^[26],本研究中所有年龄组患儿均有金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌感染;另外,本研究发现,冬季和春季是儿童重症肺炎的高发季节,冬季最主要的病原是肺炎支原体,其次在夏季亦多见,与刘怀彬等^[27]研究结果所示徐州地区儿童肺炎支原体感染以夏秋季为高峰有所差异,可能存在选择样本群及地区差异因素可能。难治性肺炎支原体肺炎多见于5岁以上儿童,其胸部CT多表现为大叶性肺炎合并胸腔积液,肺脓肿、多发结节样改变,与既往报道相似^[28],且在冬季出现高流行,其次为夏季,与相关研究结果一致^[29];春季最主要的病原是肺炎链球菌,而金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌无明显季节性差异,春秋季节病毒感染如巨细胞病毒、人博卡病毒则较为多见。

呼吸道的微生物群落复杂,许多定植或机会性病原体均可能引起感染,特别是当患者免疫功能减弱时^[28]。本研究中mNGS检测到多种定植微生物,如白色念珠菌和曲霉菌,导致病原的确定有一定困难,这就要结合患儿的流行病学、临床特点、实验室指标、影像学以及既往史等因素进行综合分析,鉴别出真正的致病原和背景菌。在重症肺炎患儿混合感染中,细菌合并病毒感染最常见,推测可能是病毒感染破坏了呼吸道黏膜,从而引起继发性细菌感染^[30]。

儿童重症肺炎具有病情进展快,病死率高的特点,尽早明确病原体至关重要,可选择针对性药物予以精准治疗。虽然mNGS检测可对病原体行基因测序,不受抗菌药物的影响,具有高效准确的特点,非常适用于重症肺炎病原体的检测,但其仍具有一定局限性,比如人源背景和背景菌污染等,不易区分定植和感染,需要临床充分了解其优势及局限性,以便更好地应用mNGS技术。

综上,mNGS在儿童重症肺炎的诊治上,有助于及时明确病原,做到精准治疗,能改善患者预后,降低病死率。但本研究也存在一定的局限性,如纳入病例数尚少,未行肺泡灌洗液mNGS的RNA病毒检测,虽然也有传统检测方法作为补充,但也可能会影响部分RNA病毒的检出;另一方面,由于目前mNGS检测成本较高,希望通过技术优化降低成本,让更多重症患儿能够借助该检测方法得到更明确的精准治疗,提高临床治愈率,减少医疗资源不合理使用等;此外,mNGS检测儿童重症肺炎的病原谱特征也需要扩大样本量进行多中心研究,

对于经验性治疗提升为目标治疗,再由目标治疗指导经验性治疗具有更重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Li W, An X, Fu M, et al. Emergency treatment and nursing of children with severe pneumonia complicated by heart failure and respiratory failure: 10 case reports[J]. *Exp Ther Med*,2016,12(4):2145-2149.
- [2] World Health Organization. Global health estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability[EB/OL]. 2020. WHO, Geneva, Switzerland. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- [3] Perin J, Mulick A, Yeung D, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-19: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals[J]. *Lancet Child Adolesc Health*,2022,6(2):106-115.
- [4] Diseases GBD, Injuries C. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet*, 2020,396(10258):1204-1022.
- [5] 金欣, 邓明惠, 丁波, 等. 不同病原体感染重症肺炎患儿t细胞亚群, 炎症因子水平差异及临床特征分析[J]. *临床和实验医学杂志*,2023,22(7):738-742.
- [6] 吕志刚. 重症社区获得性肺炎患儿支气管镜肺泡灌洗液病原学分布特点及耐药分析[D]. 新乡医学院,2022.
- [7] 靳长春, 梁媚, 李强. 儿童重症社区获得性肺炎病原体及其检测技术研究进展[J]. *中外医学研究*,2023,21(13):168-171.
- [8] 邢芮宁. 宏基因组二代测序在儿童重症肺炎中的临床应用价值研究[D]. 重庆医科大学,2023.
- [9] Gu W, Deng X, Lee M, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing of infected body fluids[J]. *Nat Med*,2021,27(1):115-124.
- [10] Chen H, Zhong Y, Zheng J, et al. Application of mNGS in the etiological diagnosis of thoracic and abdominal infection in patients with end-stage liver disease[J]. *Front Cell Infect Mi*,2022,5:11:741220.
- [11] Chen Y, Feng W, Ye K, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of pulmonary infectious pathogens from bronchoalveolar lavage samples[J]. *Front Cell Infect Mi*,2021,11:541092.
- [12] Yuan L, Zhu Q, Chen Q, et al. The microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing in patients with infectious diseases[J]. *Lab Med*,2023,8:lmad046.
- [13] Tsang HF, Yu ACS, Jin N, et al. The clinical application of metagenomic next-generation sequencing for detecting pathogens in bronchoalveolar lavage fluid: case reports and literature review[J]. *Expert Rev Mol Diagn*,2022,22(5):575-582.
- [14] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童社区获得性肺炎管理指南(2013修订)[J]. *中华儿科杂志*,2013,51(11):856-862.
- [15] 康磊, 郭芳, 白新凤, 等. 宏基因组二代测序在中性粒细胞减少伴发热白血病患者中的对比研究[J]. *临床儿科杂志*,2022,40(7):539-544.
- [16] Torres A, Cilloniz C, Niederman MS, et al. Pneumonia[J]. *Nat Rev Dis Primers*,2021,7:25.
- [17] 崔凤婷, 付丽娜, 吴亚娜. 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.
- [18] 周焱, 周欣, 齐旭升. 宏基因组二代测序技术在儿童重症肺炎病原学诊断中的应用价值研究[J]. *中国现代药物应用*,2023,17(13):84-88.
- [19] Zhang R, Wu Y, Deng G, et al. Value of sputum Gram stain, sputum culture, and bronchoalveolar lavage fluid Gram stain in predicting single bacterial pathogen among children with community-acquired pneumonia[J]. *BMC Pulm Med*,2022,22(1):427.
- [20] Guo W, Cui X, Wang Q, et al. Clinical evaluation of metagenomic next-generation sequencing for detecting pathogens in bronchoalveolar lavage fluid collected from children with community-acquired pneumonia[J]. *Front Med(Lausanne)*,2022,9:952636.
- [21] Shi W, Zhu S. The application of metagenomic next-generation sequencing in detection of pathogen in bronchoalveolar lavage fluid and sputum samples of patients with pulmonary infection[J]. *Comput Math Methods Med*,2021,8:2021:7238495.
- [22] Koh J, Wong JJ, Sultana R, et al. Risk factors for mortality in children with pneumonia admitted to the pediatric intensive care unit[J]. *Pediatr Pulmonol*,2017,52(8):1076-1084.
- [23] 高峰, 罗健. 婴儿沙眼衣原体肺炎的临床特征和预后分析研究进展[J]. *现代医药卫生*,2021,37(16):2769-2772.
- [24] 黄璐, 郑跃杰, 杨卫国, 等. 深圳地区儿童重症肺炎774例病原学分析[J]. *检验医学与临床*,2020,17(15):2232-2235.
- [25] 黎耀文, 林洁琼, 熊海芮, 等. 2020-2021年深圳市儿童医院儿童重症肺炎流行病学与临床特征分析[J/CD]. *新发传染病电子杂志*,2023,8(3):53-58.
- [26] Leung AKC, Wong AHC, Hon KL. Community-acquired pneumonia in children [J]. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 2018,12(2):136-144.
- [27] 刘怀彬, 张振坤, 闵婕, 等. 肺炎支原体肺炎患儿支气管肺泡灌洗液白细胞介素-4, 白细胞介素-6, 干扰素- γ 水平与病情和肺功能的关系[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2022,16(1):25-32.
- [28] 蔡锶. 影响儿童肺炎支原体肺炎病情的风险因素与证型分布的相关性研究[D]. 广州中医药大学,2021.
- [29] 郑素娟, 张雅洁. 2018-2020年广州市海珠区肺炎支原体感染的流行病学分析[J]. *国际检验医学杂志*,2021,42(14):1765-1768, 1772.
- [30] Carvalho Acc KA. What is the global burden of tuberculosis among children?[J]. *Lancet Glob Health*,2022,10(2):e159-e160.

(收稿日期: 2023-07-20)

(本文编辑: 孙荣华)

孙芳, 王军, 孙钊宁, 等. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序在儿童重症肺炎中的应用 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2024,18(1):27-34.