

脑脊液宏基因组学第二代测序在新生儿颅内感染诊断中的价值

李灵琛, 杜立中

浙江大学医学院附属儿童医院新生儿诊治中心 儿童少年健康与疾病国家临床医学研究中心, 浙江 杭州 310052

[摘要] **目的:**探讨脑脊液宏基因组学第二代测序(mNGS)在新生儿颅内感染中的诊断性能及对临床决策的影响。**方法:**采用回顾性观察性研究设计,纳入2020—2025年浙江大学医学院附属儿童医院收治的疑似颅内感染且进行脑脊液mNGS的新生儿。计算mNGS的敏感度及其与脑脊液培养-定量聚合酶链反应(qPCR)检测结果的一致性。基于预设标准评价其临床影响,将患儿标本分为有影响组和无影响组,探讨mNGS对临床决策产生积极影响的独立因素。**结果:**61例疑诊颅内感染新生儿中48例确诊颅内感染,明确病原体者18例,其中9例仅由mNGS检出,占病原学诊断的50%。mNGS检出敏感度为31.3%(95%CI:18.7%~46.3%),高于脑脊液培养-qPCR检测的18.8%(95%CI:8.9%~32.6%),但差异无统计学意义($P=0.15$)。mNGS与脑脊液培养-qPCR检测的阳性一致率为66.7%(95%CI:29.9%~92.5%),阴性一致率为76.9%(95%CI:60.7%~88.9%)。mNGS对23例患儿的临床决策产生了积极影响,包括12例阳性结果指导病原学诊断和治疗调整,和11例阴性结果指导抗感染降级或停止。多因素分析显示mNGS阳性是其产生积极影响的独立因素($OR=22.127, P<0.01$)。**结论:**脑脊液mNGS可在新生儿颅内感染的病原学诊断和临床决策上提供积极支持。



[关键词] 颅内感染;新生儿;诊断;脑脊液;宏基因组学第二代测序;回顾性研究
[中图分类号] R722.13 **[文献标志码]** A

Clinical value of cerebrospinal fluid metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of neonatal intracranial infection

LI Lingchen, DU Lizhong (Department of Neonatology, Children's Hospital, Zhejiang

收稿日期(Received):2025-12-24 修改返回日期(Revised):2026-02-03 接受日期(Accepted):2026-04-30 网络预发表日期(Online):2026-05-13

第一作者(First author):李灵琛, 硕士研究生, 主要从事新生儿疾病临床研究; E-mail: 22318430@zju.edu.cn; ORCID: 0009-0009-6210-5397

通信作者(Corresponding author):杜立中, 主任医师, 主要从事新生儿危重病诊疗研究; E-mail: dulizhong@zju.edu.cn; ORCID: 0000-0002-3181-810X

University School of Medicine, National Clinical Research Center for Children and Adolescents' Health and Diseases, Hangzhou 310052, China)

Corresponding author: DU Lizhong, E-mail: dulizhong@zju.edu.cn, ORCID:0000-0002-3181-810X

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the diagnostic performance of cerebrospinal fluid metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for neonatal intracranial infections and its value in clinical decision-making. **Methods:** A retrospective observational study was conducted, enrolling neonates admitted to the Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine from 2020 to 2025 with suspected intracranial infection who underwent cerebrospinal fluid mNGS. The sensitivity of mNGS and its concordance with cerebrospinal fluid culture-quantitative polymerase chain reaction (qPCR) were calculated. Clinical impact was evaluated using predefined criteria, and samples were categorized accordingly into positive-impact and no-impact groups to explore independent factors influencing the positive impact of mNGS on clinical decision-making. **Results:** Among 61 neonates with suspected intracranial infection, 48 were confirmed. Pathogens were identified in 18 cases, of which 9 were detected exclusively by mNGS, accounting for 50% of etiological diagnoses. The sensitivity of mNGS was 31.3% (95%CI: 18.7%–46.3%), higher than that of cerebrospinal fluid culture-qPCR at 18.8% (95%CI: 8.9%–32.6%), though the difference was not statistically significant ($P=0.15$). The positive and negative concordance rates between mNGS and cerebrospinal fluid culture-qPCR were 66.7% (95%CI: 29.9%–92.5%) and 76.9% (95%CI: 60.7%–88.9%), respectively. mNGS positively influenced clinical decisions in 23 patients: 12 cases with positive results guided etiological diagnosis and treatment adjustment, while 11 cases with negative results led to antibiotic de-escalation or discontinuation. Multivariate analysis identified a positive mNGS result as an independent factor associated with positive clinical impact ($OR=22.127$, $P<0.01$). **Conclusion:** Cerebrospinal fluid mNGS provides positive support in etiological diagnosis and clinical decision-making for neonatal intracranial infection.

[**Key words**] Intracranial infection; Neonate; Diagnosis; Cerebrospinal fluid; Metagenomic next-generation sequencing; Retrospective study

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2026, 55(7): 675-682.]

[**缩略语**] 宏基因组学第二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS); 定量聚合酶链反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR); 置信区间(confidence interval, CI); 方差膨胀因子(variance inflation factor, VIF); 比值比(odds ratio, OR)

新生儿颅内感染是一种进展快、破坏性强的疾病,可导致严重的神经系统后遗症,患儿病死率高^[1]。快速并准确地找到病原体有助于早期诊断和选择有效的抗感染药物,但新生儿颅内感染病原学诊断面临脑脊液标本量少、培养周期长、阳性率低、高质量循证检测手段有限等困境^[1-3]。

mNGS作为一种无偏倚测序核酸检测方法,具有敏感度高、检测快、检测范围广等优势,在病原学检测方面展现出较大潜力^[4-6]。除病原学检测外, mNGS还可对耐药基因进行分析,为抗感染药物的选择提供依据。然而,由于mNGS费用高昂、临床诊断准确率不明确以及改善临床诊疗证据不

充分^[4-5],mNGS尚未在临床实践中常规应用,在新生儿颅内感染中的研究报道更为有限。本研究回顾分析浙江大学医学院附属儿童医院收治的疑似颅内感染并进行脑脊液mNGS的新生儿资料,评估脑脊液mNGS在新生儿颅内感染诊断中的价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究为回顾性观察性研究。纳入2020年1月1日至2025年10月1日由浙江大学医学院附属儿童医院新生儿科、新生儿重症监护室收治的疑似颅内感染且进行脑脊液mNGS的新生儿。疑似颅内感染标准参考《新生儿败血症诊断与治疗专家共识(2024)》^[7],满足下列任意一项:①具有一项及以上非特异性临床表现(体温异常、呼吸增快或暂停、灌注不良、喂养不耐受),及两项及以上血液非特异性感染指标(白细胞计数、血小板计数、C反应蛋白、降钙素原)异常;②具有一项及以上神经系统异常症状或体征(精神反应差或激惹,抽搐或双眼凝视,前囟饱满或颈强直,肌张力异常)。

最终纳入61例新生儿,其中男性36例,女性25例,起病日龄为3(1,10)d,胎龄为38⁺⁴(36⁺³,39⁺⁵)周,出生体重为3110(2515,3500)g。患儿基线特征见表1。共67份脑脊液标本进行mNGS(其中6例先后送检两份标本),发病至脑脊液标本采样时间为10(6,24)d,采样至mNGS报告时间为(1.7±1.1)d。

1.2 资料收集

通过电子病历系统收集患儿的一般资料、实验室检验结果及临床诊疗情况。所有患儿均采集脑脊液并进行脑脊液常规和生化检测、细菌和真菌培养、qPCR检测和mNGS分析。受新生儿脑脊液标本量限制,结核、梅毒、弓形虫等特殊病原体检测根据临床需要选择进行。

1.3 脑脊液细菌和真菌培养

参照文献[8]中的方法,将标本接种于BD Bactec™ Peds Plus™/F培养瓶(美国BD公司),在BD BACTEC™ FX全自动快速微生物培养系统(美国BD公司)上孵

育,阳性菌株使用Bruker MALDI Biotyper质谱系统(美国Bruker公司)鉴定。

1.4 qPCR检测脑脊液支原体和病毒

qPCR检测分三个项目进行:①解脲脲原体:采用中国圣湘生物科技股份有限公司生产的解脲脲原体核酸检测试剂盒检测;②单纯疱疹病毒:采用中国上海之江生物科技股份有限公司生产的单纯疱疹病毒(I+II型)核酸测定试剂盒检测;③肠道病毒:先以肠道病毒通用型核酸测定试剂盒初筛,阳性标本进一步采用肠道病毒71型及柯萨奇病毒16型核酸联合测定试剂盒分型鉴定,试剂盒均为中国上海之江生物科技股份有限公司产品。以上检测均在Applied Biosystem™实时荧光qPCR系统(美国Thermo Fisher Scientific公司)上完成。

1.5 mNGS分析脑脊液病原微生物

使用无菌管采集2.5 mL及以上脑脊液并于24 h内送检,由中国杭州杰毅生物技术有限公司或中国上海华大医学检验所有限公司完成mNGS,检测流程^[6,9]如下:①标本处理和核酸提取:脑脊液标本利用全自动核酸提取仪提取核酸,提取过程中每份标本均加入内参照以监测提取效率。②文库生成及测序:杭州杰毅生物技术有限公司

表1 61例疑似颅内感染新生儿的基线特征
Table 1 Baseline characteristics of 61 neonates with suspected intracranial infections

		[n(%)或 $\bar{x}\pm s$ 或 $M(Q_1,Q_3)$]	
特 征	统计值	特 征	统计值
性别		起病日龄(d)	
男性	36(59.0)	≤3	32(52.5)
女性	25(41.0)	>3~28	29(47.5)
出生体重(g)		临床表现	
<1500	5(8.2)	发热	40(65.6)
1500~<2500	10(16.4)	精神反应差或激惹	37(60.7)
2500~<4000	46(75.4)	呼吸增快或暂停	23(37.7)
胎龄(周 ^{+d})		喂养不耐受	21(34.4)
28~31 ⁺⁶	7(11.5)	灌注不良	21(34.4)
32~36 ⁺⁶	11(18.0)	抽搐或双眼凝视	15(24.6)
37~41 ⁺⁶	43(70.5)	肌张力异常	19(31.1)
分娩方式		前囟饱满或颈强直	13(21.3)
顺产	40(65.6)	血液非特异性感染指标	
剖宫产	21(34.4)	白细胞计数($\times 10^9/L$)	14.4(9.1,18.7)
胎膜早破		血小板计数($\times 10^9/L$)	335.5±176.8
有	19(31.1)	C反应蛋白(mg/L)	2.1(0.4,35.7)
无	42(68.9)	降钙素原(ng/mL)	0.2(0.1,2.3)

采用 PCR-free NGSmaster™ 试剂盒制备文库,经 qPCR 测定文库浓度后,基于边合成边测序技术在 Illumina Nextseq 平台完成测序;上海华大医学检验所有限公司使用 MGISP-960 自动化建库仪(深圳华大智造科技有限公司)完成文库制备,经 Qubit 4(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)荧光计测定文库浓度及 Agilent 2100(美国 Agilent Technologies 公司)评估片段质量后,利用滚环扩增技术制备 DNA 纳米球,再通过联合探针锚定聚合技术在 MGISEQ-200 测序仪(深圳华大智造科技有限公司)完成测序。两公司均在每批次设置阴性和阳性对照。③生物信息学分析:对测序结果进行质控、去除接头和低质量碱基、过滤短读长、去除低复杂度序列。使用 BWA 算法比对至人类参考基因组(GRCh38.p13)去除人源序列,随后与美国国家生物技术信息中心核酸序列数据库或华大基因 PMDB 数据库比对以识别微生物物种及耐药基因。④生成报告:依据公司内部标准及算法生成报告,涵盖测序数据质量评估(Q20/Q30)、检出微生物种属及其序列数和相对丰度。

mNGS 结果判读如下。阳性:检出微生物序列且符合以下任一条件:①与脑脊液培养或 qPCR 检测结果一致;②属于常见颅内感染微生物^[10];③同时满足非人体定植菌、环境中不常见且具有神经侵袭性微生物^[11],并具备至少两项以下临床特征:临床表现符合该病原体所致中枢神经系统感染特征、脑脊液常规和生化检测符合该病原体感染特征、头颅影像检查显示与该病原体感染相符的异常改变。阴性:①未检出病原体序列;②检出微生物序列但不满足上述阳性条件。

1.6 诊断标准及评估指标

患儿符合下述两项中任何一项诊断为颅内感染^[7,12]:①脑脊液白细胞计数 $20\times10^6/L$ 及以上,若存在腰椎穿刺损伤,则根据外周血红细胞、白细胞比例进行校正;②脑脊液培养或 qPCR 检测任一结果阳性(以下简称脑脊液培养-qPCR 阳性),或 mNGS 结果判定为阳性。计算 mNGS 在确诊颅内感染患儿中检出病原体的敏感度,同时计算 mNGS 与脑脊液培养-qPCR 检测的一致率,以此评估 mNGS 的诊断性能。根据 mNGS 判读结

果分为阳性组和阴性组,比较两组间脑脊液常规和生化检测结果,以及采样前抗感染时间和短期预后,以探讨 mNGS 判读结果与患儿临床特征的关联。颅内感染并发症(硬膜下积液和脑室膜炎)的诊断标准参照《实用新生儿学》第 5 版^[12]。

基于预设分级标准(表 2),评估所有疑似颅内感染患儿是否发生以下临床诊疗决策改变,以判断 mNGS 结果对临床诊疗决策的影响类型:①新增病原学诊断;②抗感染治疗调整,具体包括抗菌药物类别升级或降级(参照浙江省抗菌药物临床应用分级管理目录)、抗菌药物剂量增加或减少、覆盖病原体范围改变、开始抗感染治疗、停止抗感染治疗。若同一患儿有两份 mNGS 报告,则分别评价每份报告对临床诊疗决策的影响。本文资料未发现符合消极影响或未知影响定义的 mNGS 报告,最终将纳入分析的报告分为有影响组和无影响组,比较组间特征差异,探讨影响 mNGS 临床价值的独立因素。

1.7 统计学方法

采用 R 4.4.3 及 GraphPad Prism 9.5.0 进行统计分析。计量资料经 Shapiro-Wilk 检验判断正态性,符合正态分布以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;偏态分布以中位数(上下四分位数)[*M*(*Q*₁,*Q*₃)]表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。分类资料以例数(百分比)[*n*(%)]表示,并采用精确二项分布法报告诊

表 2 mNGS 结果对临床诊疗影响的评估细则
Table 2 Impact assessment of mNGS results on clinical diagnosis and treatment

影响分类	临床决策
积极	基于 mNGS 结果获得新病原学诊断(脑脊液培养和 qPCR 阴性)
	基于 mNGS 结果开始抗感染治疗
	基于 mNGS 结果升级治疗:抗菌药物类别升级,或抗菌药物剂量由抗败血症剂量增加至抗脑膜炎剂量
	基于 mNGS 结果降级治疗:抗菌药物类别降级,或抗菌药物剂量由抗脑膜炎剂量减少至抗败血症剂量
消极	基于 mNGS 结果由广谱抗感染治疗改为特异性抗感染治疗
	基于 mNGS 结果在未达到或超过新生儿败血症诊疗专家共识推荐的疗程下停止抗感染治疗
无影响	基于 mNGS 结果更改的抗感染方案导致明确的药物不良反应,且同期无该病原体的其他明确证据
	经 mNGS 结果判读为阳性的病原微生物,但未影响诊疗
未知	mNGS 结果与脑脊液培养或 qPCR 结果相同,未影响诊疗
	无法确定是否存在影响

mNGS:宏基因组学第二代测序;qPCR:定量聚合酶链反应.

断性能指标的95%CI。配对数据组间比较采用McNemar检验,非配对数据组间比较采用 χ^2 检验或Fisher精确检验。基于样本量限制,将单因素分析中 $P<0.1$ 的变量纳入多因素logistic回归分析,经多重共线性诊断排除共线性($VIF<5$ 为无显著共线性)后计算OR值及其95%CI。所有检验均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 61例患儿诊疗情况

61例患儿中,48例(78.7%)确诊颅内感染,包括47例脑脊液白细胞计数增多,及1例脑脊液白细胞计数正常但mNGS检出病毒感染,具体诊断流程见图1。

83.6%(51/61)的患儿在腰椎穿刺前开始抗感染治疗,9.8%(6/61)的患儿在检出脑脊液白细胞计数 $20\times10^6/L$ 及以上后启动抗感染治疗,6.6%(4/61)的患儿脑脊液白细胞低于 $20\times10^6/L$ 未予抗感染治疗。51例腰椎穿刺前已予抗感染治疗的患儿中,21例(41.2%)在检出脑脊液白细胞计数 $20\times10^6/L$ 及以上后升级抗感染治疗,1例(2.0%)在检出脑脊液白细胞计数低于 $20\times10^6/L$ 后降级治疗,29例维持原抗感染方案。经脑脊液常规及病原学检测明确诊断后,18例明确病原体的颅内感染患儿均由广谱抗感染治疗改为特异性抗感染治疗,平均抗感染疗程为 $(52\pm28)d$;30例颅内感染但病原学检测阴性患儿的抗感染疗程为22(7,42)d,其中10例在病原学检测阴性的支持下停止或降级抗感染治疗;13例非颅内感染患儿抗感染

疗程为9(0,14)d,其中1例在病原学检测阴性的支持下停止抗感染。

48例确诊颅内感染患儿中,6例(12.5%)出现并发症,其中硬膜下积液5例(10.4%),脑室膜炎3例(6.3%);10例(20.8%)在住院期间接受外科手术干预,其中接受脓肿清除术2例(4.2%),因脑积水接受脑室储液囊植入术或侧脑室腹腔引流术9例(18.8%),其中1例先后接受上述两种手术。

2.2 48例颅内感染患儿病原学检测结果

48例确诊颅内感染患儿中,明确病原体共18例,其中细菌12例、支原体4例、病毒2例。18例患儿中,6例mNGS和脑脊液培养-qPCR均阳性,9例单mNGS阳性(占有病原学诊断的50%),3例单脑脊液培养阳性。见表3。

2.3 48例颅内感染患儿mNGS诊断性能

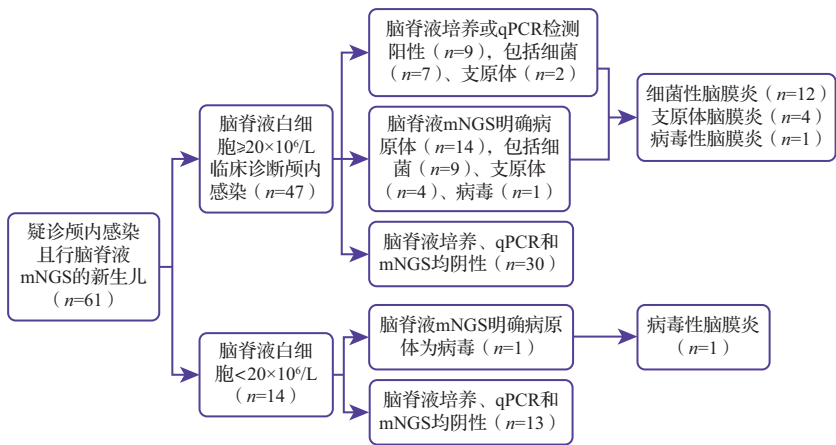
48例确诊颅内感染患儿中,mNGS检出病原体的敏感度为31.3%(15/48,95%CI:18.7%~46.3%),高于脑脊液培养-qPCR的敏感度18.8%(9/48,95%CI:8.9%~32.6%),但差异无统计学意义($P=0.15$)。mNGS与脑脊液培养-qPCR的阳性一致率为66.7%(6/9,95%CI:29.9%~92.5%),阴性一致率为76.9%(30/39,95%CI:60.7%~88.9%)。

相比mNGS阴性组,mNGS阳性组同次腰椎穿刺脑脊液的微量总蛋白升高,住院时间延长(均 $P<0.05$),脑脊液白细胞计数和葡萄糖水平、采样前抗感染时间以及颅内感染并发症发生率差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表4。

上述结果提示,脑脊液mNGS在新生儿颅内感染病原学诊断中具有一定补充价值,mNGS阳性可能与脑脊液微量总蛋白升高和住院时间延长相关。

2.4 脑脊液mNGS结果对临床诊疗的影响

在先后接受两次mNGS的6例患儿中,4例患儿一份mNGS报告对其诊疗决策产生积极影响,2例患儿两份mNGS报告均未影响诊疗决策。67份mNGS报告中,23份报告(对应23例患儿)对诊疗决策产生积极影响,



mNGS:宏基因组学第二代测序;qPCR:定量聚合酶链反应。

图1 61例疑似颅内感染新生儿诊断流程图

Figure 1 Diagnostic flowchart of 61 neonates with suspected intracranial infections

表3 18例明确病原体的颅内感染新生儿病原学检测结果

Table 3 Pathogen detection results in 18 neonates with intracranial infections and confirmed pathogens

检测方式	检测结果
mNGS阳性且脑脊液培养或qPCR阳性(<i>n</i> =6)	大肠埃希菌(<i>n</i> =2),无乳链球菌(<i>n</i> =1),单核细胞增生李斯特菌(<i>n</i> =1),支原体(<i>n</i> =2)
单脑脊液培养阳性(<i>n</i> =3)	弗氏柠檬酸杆菌(<i>n</i> =1),大肠埃希菌(<i>n</i> =1),无乳链球菌(<i>n</i> =1)
单mNGS阳性(<i>n</i> =9)	大肠埃希菌(<i>n</i> =2),无乳链球菌(<i>n</i> =1),脑膜炎奈瑟菌(<i>n</i> =1),金黄色葡萄球菌(<i>n</i> =1),解脲脲原体(<i>n</i> =2),细小病毒B19(<i>n</i> =1),单纯疱疹病毒I型(<i>n</i> =1)

mNGS:宏基因组学第二代测序;qPCR:定量聚合酶链反应.

表4 mNGS阳性组与阴性组患儿特征比较

Table 4 Comparison of characteristics between mNGS-positive and mNGS-negative groups

[<i>M</i> (<i>Q</i> ₁ , <i>Q</i> ₃)或 <i>n</i> (%)]				
组别	脑脊液白细胞计数(×10 ⁶ /L) ^a	脑脊液葡萄糖(mmol/L) ^a	脑脊液微量总蛋白(mg/L) ^a	
mNGS阴性组	55(16,458)	1.88(1.21,2.17)	1298(959,2027)	
mNGS阳性组	94(26,491)	1.66(0.55,2.23)	2321(1441,4711)*	
组别	采样前抗感染时间(d) ^a	硬膜下积液 ^b	脑室膜炎 ^b	住院时间(d) ^b
mNGS阴性组	11(5,38)	2(6.1)	2(6.1)	21(18,50)
mNGS阳性组	11(4,31)	3(20.0)	1(6.7)	51(28,65)*

与mNGS阴性组比较,**P*<0.05.^amNGS阴性组和mNGS阳性组标本数分别为39和15;^bmNGS阴性组和mNGS阳性组标本数分别为33和15. mNGS:宏基因组学第二代测序.

其中12份阳性结果指导病原学诊断和抗感染方案调整,11份阴性结果指导抗感染治疗降级或停止,具体影响见附表1;44份对临床诊疗决策未产生影响,其中3份阳性结果与脑脊液培养-qPCR结果相同,17份未发现微生物,24份检出微生物序列但判读阴性。有影响组相比无影响组mNGS阳性比例更高(*P*<0.01),见表5。表中两项*P*<0.1的变量经多重共线性诊断后纳入多因素logistic回归分析,结果显示mNGS阳性是脑脊液mNGS对临床决策有影响的独立因素(OR=22.127,95%CI:4.215~116.159,*P*<0.01)。发病至mNGS采样时间每增加1d,脑脊液mNGS影响诊疗决策的可能性降低3.8%(OR=0.962,95%CI:0.919~1.007,*P*>0.05)。结果提示,脑脊液mNGS可对部分新生儿颅内感染诊疗决策产生积极影响。

3 讨论

本研究结果显示,脑脊液mNGS明确了31.3%(15/48)新生儿颅内感染的病原学诊断,使37.7%(23/61)的患儿在诊疗中获益,mNGS结果阳性是驱动临床决策获益的独立因素。

既往报道脑脊液mNGS在儿童及成人颅内感染中检测的敏感度为53.1%~73.8%,显著高于脑脊液传统病原学检测(25.8%~46.6%)^[13-15]。但本文资料显示mNGS在疑似颅内感染新生儿脑脊液中病原体检出率仅为31.3%,虽高于脑脊液培养-qPCR检测,但差异未达统计学意义,且宽置信区间及区间重叠提示此阴性结果主要受样本量不足的限制。除样本量外,mNGS检出率受限还可能受到宿主核酸背景、抗感染治疗和标本类型等因素影响。首先,脑脊液中大量宿主细胞及其核酸可能稀释病原体核酸信号,从而降低了低载量病原体的检出能力^[16],但本文资料中mNGS阳性与

表5 mNGS是否影响颅内感染诊疗患儿临床特征比较

Table 5 Comparison of characteristics between neonates with intracranial infection according to whether mNGS results affected diagnosis or treatment

[<i>n</i> (%)或 <i>M</i> (<i>Q</i> ₁ , <i>Q</i> ₃)]						
组别	<i>n</i>	女性	出生体重(g)	胎龄(d)	起病日龄(d)	脑脊液白细胞计数≥20×10 ⁶ /L
无影响组	44	20(45.5)	3120(2700,3565)	273(256,278)	3(1,13)	32(72.7)
有影响组	23	7(30.4)	3000(2300,3500)	268(238,278)	5(1,8)	21(91.3)
<i>U</i> / <i>χ</i> ² 值	—	0.86	462.00	429.00	470.00	—
<i>P</i> 值	—	0.35	0.57	0.31	0.63	0.11
组别	<i>n</i>	采样前抗感染时间(d)	发病至mNGS采样时间(d)	采样至mNGS报告时间(d)	mNGS阳性	
无影响组	44	11(4,36)	13(7,25)	1(1,2)	3(6.8)	
有影响组	23	8(3,19)	8(5,20)	2(1,3)	12(52.2)	
<i>U</i> / <i>χ</i> ² 值	—	424.00	363.50	417.50	—	
<i>P</i> 值	—	0.28	0.06	0.19	<0.01	

—:采用Fisher精确检验,无相关数据. mNGS:宏基因组学第二代测序.

阴性组间脑脊液白细胞计数差异无统计学意义;第二,标本采集时间晚可能受抗感染治疗影响^[13],而两组采样前抗感染时间亦无差异;第三,高阳性一致率的研究多以血浆、痰液、肺泡灌洗液为标本^[13,17],而本研究以脑脊液为标本,因此标本类型对mNGS诊断性能的影响值得进一步研究。

本研究证实mNGS可对新生儿中枢神经系统疾病诊疗产生积极影响。首先,mNGS相比脑脊液培养和靶向病原体qPCR检测发现了更多潜在病原体,占颅内感染病原学诊断的50%,高于既往报道的15.7%~32.4%^[14,18-19],提示mNGS可检测在常规培养中无法生长或因竞争生长被抑制的潜在感染微生物^[4],不依赖靶向检测的先验选择。其次,mNGS阴性为临床降级抗感染治疗或缩短疗程提供了依据。值得注意的是,本文资料显示mNGS阳性结果可提高mNGS的诊断性能,一方面可通过严格质控、引入spike-in内标实现病原体载量绝对定量^[16],提高结果可靠性;另一方面可构建多维度预测模型筛选高风险人群^[10],提高验前概率,还可结合宿主转录组测序数据以辅助鉴别感染类型^[20],从而提高阳性预测值和临床决策准确性。然而,mNGS的临床应用仍面临挑战。首先,mNGS结果判读受污染或背景微生物干扰^[17,21],未来可建立整合测序数据和临床特征的致病概率评分系统,以辅助临床判读。其次,mNGS依赖标本中的游离核酸,优化核酸提取方法有助于提高隐匿病原体释放效率,减少假阴性^[22]。

本研究存在以下局限性:第一,样本量偏小,主要因mNGS费用较高,临床接受mNGS的病例有限;第二,mNGS阳性与住院时间延长的关联可能受混杂因素影响,未来需通过大样本、前瞻性研究进行分层验证,并补充患儿的远期神经系统发育结局,以更全面评估检测方法的临床应用价值。

综上,脑脊液mNGS可在新生儿颅内感染的病原学诊断和临床决策上提供支持。未来可通过构建多维度预测模型优化检测前风险分层,并建立致病概率评分系统辅助结果判读,同时需要大样本、多中心的前瞻性研究进一步验证。

本文附加文件见电子版。



志谢 浙江大学医学院附属儿童医院李伟、费强、冯万

里、顾晓朦、邹佩佩以及杭州杰毅生物技术有限公司和深圳华大基因股份有限公司技术人员为本研究中病原学检测方法提供了信息和帮助

Acknowledgements LI Wei, FEI Qiang, FENG Wanli, GU Xiaomeng, ZOU Peipei from the Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, as well as the technical staff from Hangzhou Matridx Biotechnology Co., Ltd. and BGI Genomics Co., Ltd. provided valuable information and assistance for the pathogen detection methods in this study

作者贡献 李灵琛和杜立中参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释,起草研究论文或修改重要智力性内容。所有作者均已阅读并认可最终稿件,并对数据的完整性和安全性负责。具体见电子版

Author Contributions LI Lingchen and DU Lizhong participated in the conception and design of the study, acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. The authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者(E-mail:dulizhong@zju.edu.cn)处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at dulizhong@zju.edu.cn

医学伦理 本研究通过浙江大学医学院附属儿童医院医学伦理委员会审查(2026-IRB-0185-P-01)并符合1964年《赫尔辛基宣言》及之后的修订版或类似的伦理标准。本研究豁免患者知情同意

Ethical Approval All procedures performed in this study involving human participants were in accordance with the ethical standards of the Medical Ethics Committee of the Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine (2026-IRB-0185-P-01), and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The exemption from informed consent for this study was approved

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。本文由至少两名编委以外的同行专家评审,最终决定由与作者无利益冲突的其他编委作出

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests. The manuscript was assigned to at least two independent outside reviewers, and the decision was made by other Editorial Board Members who do not have conflicts

of interests with the authors

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(Reference)

- [1] DU L Z. Early diagnosis and management of neonatal sepsis: a perspective[J]. **World J Pediatr**, 2024, 20(4): 303-306.
- [2] 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.
- [3] BROUWER M C, THWAITES G E, TUNKEL A R, et al. Dilemmas in the diagnosis of acute community-acquired bacterial meningitis[J]. **Lancet**, 2012, 380(9854): 1684-1692.
- [4] SINNAR S A, SCHIFF S J. The problem of microbial dark matter in neonatal sepsis[J]. **Emerg Infect Dis**, 2020, 26(11): 2543-2548.
- [5] SAMUEL L. Direct-from-blood detection of pathogens: a review of technology and challenges[J/OL]. **J Clin Microbiol**, 2023, 61(7): e0023121.
- [6] ZHANG R, ZHUANG Y, XIAO Z H, et al. Diagnosis and surveillance of neonatal infections by metagenomic next-generation sequencing[J]. **Front Microbiol**, 2022, 13: 855988.
- [7] 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. The Subspecialty Group of Neonatology, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association; the Editorial Board, *Chinese Journal of Pediatrics*. Expert consensus on diagnosis and management of neonatal bacteria sepsis (2024)[J]. **Chinese Journal of Pediatrics**, 2024, 62(10): 931-940. (in Chinese)
- [8] ULRICH P S, BASTIAN I N, CHEN D J. Clinical significance of BD bactec FX blood culture incubation beyond 96 hours (4 days)[J/OL]. **J Clin Microbiol**, 2022, 60(7): e0054922.
- [9] 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.
- [10] ZHANG Y, CUI P, ZHANG H C, et al. Clinical application and evaluation of metagenomic next-generation sequencing in suspected adult central nervous system infection[J]. **J Transl Med**, 2020, 18(1): 199.
- [11] 中华医学会儿科学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液宏基因组学第二代测序应用专家共识[J]. **中华神经科杂志**, 2021, 54(12): 1234-1240. Chinese Society of Infectious Diseases and Cerebrospinal Fluid Cytology. Expert consensus on clinical application of metagenomic next-generation sequencing of cerebrospinal fluid in the diagnosis of infectious diseases of the central nervous system[J]. **Chinese Journal of Neurology**, 2021, 54(12): 1234-1240. (in Chinese)
- [12] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 520-523. SHAO Xiaomei, YE Hongmao, QIU Xiaoshan. **Practice of neonatology**[M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2019: 520-523. (in Chinese)
- [13] ZHU Y, GAN M, GE M, et al. Diagnostic performance and clinical impact of metagenomic next-generation sequencing for pediatric infectious diseases[J/OL]. **J Clin Microbiol**, 2023, 61(6): e0011523.
- [14] WILSON M R, SAMPLE H A, ZORN K C, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis[J]. **N Engl J Med**, 2019, 380(24): 2327-2340.
- [15] KANAUIA R, BISWAL M, ANGRUP A, et al. Diagnostic accuracy of the metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for detection of bacterial meningoencephalitis: a systematic review and meta-analysis[J]. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, 2022, 41(6): 881-891.
- [16] ZHOU H, OUYANG C, HAN X, et al. Metagenomic sequencing with spiked-in internal control to monitor cellularity and diagnosis of pneumonia[J/OL]. **J Infect**, 2022, 84(1): e13-e17.
- [17] BLAUWKAMP T A, THAIR S, ROSEN M J, 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.
- [18] PIANTADOSI A, MUKERJI S S, YE S, et al. Enhanced virus detection and metagenomic sequencing in patients with meningitis and encephalitis[J/OL]. **mBio**, 2021, 12(4): e0114321.
- [19] CHEN W, LIU G, CUI L, et al. Evaluation of metagenomic and pathogen-targeted next-generation sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis in adults: a multicenter prospective observational cohort study in China[J]. **J Infect**, 2024, 88(5): 106143.
- [20] XU N, HAO F, DONG X, et al. A two-transcript biomarker of host classifier genes for discrimination of bacterial from viral infection in acute febrile illness: a multicentre discovery and validation study[J/OL]. **Lancet Digit Health**, 2021, 3(8): e507-e516.
- [21] DINAKARAN V, RATHINAVEL A, PUSHPANATHAN M, et al. Elevated levels of circulating DNA in cardiovascular disease patients: metagenomic profiling of microbiome in the circulation[J/OL]. **PLoS One**, 2014, 9(8): e105221.
- [22] GU W, MILLER S, CHIU C Y. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. **Annu Rev Pathol**, 2019, 14: 319-338.

[本文编辑 余方 刘丽娜]