



广东省中枢神经系统感染宏基因组高通量测序室间质量评价预研活动结果报告

广东省中枢神经系统感染宏基因组高通量测序

室内质量评价预研活动结果报告

中枢神经系统感染（如脑膜炎、脑炎）是危及生命的急重症，其病原学诊断的准确性与时效性直接决定患者的预后。脑脊液作为一种相对“洁净”的样本，其人源背景核酸干扰通常低于血浆或呼吸道样本，这为病原体核酸的检测提供了一定优势。然而，中枢神经系统感染的病原体谱复杂，涵盖细菌、真菌、DNA 病毒及 RNA 病毒等，且临床常面临病原体载量极低、传统检测方法阳性率不高的挑战。宏基因组高通量测序（mNGS）技术凭借其无需预设、广谱覆盖的特性，在疑难、危重中枢神经系统感染的病原学诊断中发挥着日益重要的作用。但该技术的检测流程复杂，对实验操作及实验室管理的要求很高。目前，省内各实验室在脑脊液 mNGS 检测的流程与标准上尚未统一，其检测能力的真实水平与结果的可比性有待系统评估。

为全面、客观地评估我省临床实验室应用 mNGS 技术检测中枢神经系统感染病原体的能力，识别在低载量病原体检出、污染控制及临床解读等方面存在的共性技术问题，广东省临床检验中心特组织开展本次室内质量评价预研活动。通过模拟真实临床样本，对实验室的分析性能与结果报告能力进行综合评价，为促进该技术在我省的规范化、同质化应用提供科学依据。本次活动的总结如下：

一、预期结果

本次预研活动共发放 6 个模拟脑脊液样本（mNGS20250301-mNGS20250306）和 1 个阴性质控(03NC)，03NC 仅用于与其他样本做配对分析，无需报告结果，各样本组分见表 1。

表 1 样本预期结果（单位：copies/mL）

	mNGS20 250301	mNGS20 250302	mNGS20 250303	mNGS20 250304	mNGS20 250305	mNGS20 250306
肺炎链球菌	/	/	/	10 ³	10 ³	10 ³
表皮葡萄球菌	/	/	/	10 ³	10 ³	/
脑膜炎奈瑟菌	/	/	/	10 ³	10 ³	/
流感嗜血杆菌	10 ³	10 ³	10 ²	/	/	/
鲍曼不动杆菌	10 ³	10 ³	10 ²	/	/	/
结核分枝杆菌	/	/	/	10 ⁴	10 ⁴	/
新生隐球菌	10 ³	10 ³	10 ²	/	/	/

热带念珠菌	10^3	10^3	10^2			
人疱疹病毒 5 型 (CMV)	/	/	/	10^4	10^4	/
人类疱疹病毒 3 型 (VZV)	10^4	10^4	10^3	/	/	/
人类疱疹病毒 1 型 (HSV1)	10^4	10^4	10^3	/	/	10^5
腮腺炎病毒	/	/	/	10^4	10^4	/
埃可病毒	10^4	10^4	10^3	/	/	/
人源细胞	10^5	10^5	10^5	10^5	10^6	10^5

二、评价方法

(一) 评价标准

1. **假阳性结果：**预期结果外的微生物报告判断为假阳性结果。检出 1 个假阳性结果扣 2 分，每个样本最多扣 8 分，7 个样本累计最多扣 45 分。样本中所有微生物的种类见表 2（注意：对人乳头瘤病毒不予评价）。

表 2 各样本应检出的微生物

样本	应检出的微生物
mNGS20250301	流感嗜血杆菌、鲍曼不动杆菌、新生隐球菌、热带念珠菌、人类疱疹病毒 3 型 (VZV)、人类疱疹病毒 1 型 (HSV1)、埃可病毒
mNGS20250302	流感嗜血杆菌、鲍曼不动杆菌、新生隐球菌、热带念珠菌、人类疱疹病毒 3 型 (VZV)、人类疱疹病毒 1 型 (HSV1)、埃可病毒
mNGS20250303	流感嗜血杆菌、鲍曼不动杆菌、新生隐球菌、热带念珠菌、人类疱疹病毒 3 型 (VZV)、人类疱疹病毒 1 型 (HSV1)、埃可病毒
mNGS20250304	肺炎链球菌、表皮葡萄球菌、脑膜炎奈瑟菌、结核分枝杆菌、人疱疹病毒 5 型 (CMV)、腮腺炎病毒
mNGS20250305	肺炎链球菌、表皮葡萄球菌、脑膜炎奈瑟菌、结核分枝杆菌、人疱疹病毒 5 型 (CMV)、腮腺炎病毒
mNGS20250306	肺炎链球菌、人类疱疹病毒 1 型 (HSV1)

2. 假阴性结果：预期结果内的微生物均要求正确报告，未报告即为假阴性结果。报告 1 个假阴性结果扣 2 分，每个样本最多扣 8 分，7 个样本累计最多扣 45 分。

3. 重复性结果：mNGS20250301 和 mNGS20250302 是病原体靶标和浓度、以及人源核酸浓度均相同的一组样本，要求上述样本中各微生物的 RPM 比值范围在 0.5-2 之间，不在此比值范围内为不符合结果。RPM 浓度梯度比值共 1 组样本(7 个结果)共计 3 分。1 个不符合结果扣 1 分，此组样本最多扣 3 分。

4. 稳健性结果：mNGS20250302/mNGS20250303 为病原体浓度 10 倍倍比稀释样本，要求上述样本中各微生物的 RPM 比值呈相应浓度梯度，即 mNGS20250302/mNGS20250303 比值在 5-20 倍之间，不在此范围内为不符合结果。RPM 浓度梯度比值共 1 组样本(7 个结果)，共计 3 分。1 个不符合结果扣 1 分，此组样本最多扣 3 分。

5. 评价结果报告能力：样本 mNGS20250306 均要求在正确检出的基础上，准确报告病原体：肺炎链球菌、人类疱疹病毒 1 型（HSV1）；如其中任何病原体未准确报告（含多报、错报和未报），扣 4 分。

（二）EQA 成绩计算

满分 100 分，得分 ≥ 90 分则为合格；成绩 < 90 分为不合格。

三、成绩发布

本次接受报名的实验室 31 家，实际收到 29 家有效回报结果。如图 1 所示，基于评分方法，29 家实验室所得成绩分布如下：100 分的实验室 14 家，90~99 分（含 90 分）的实验室 15 家。按照 ≥ 90 分为合格的标准，合格率为 100% (29/29)。

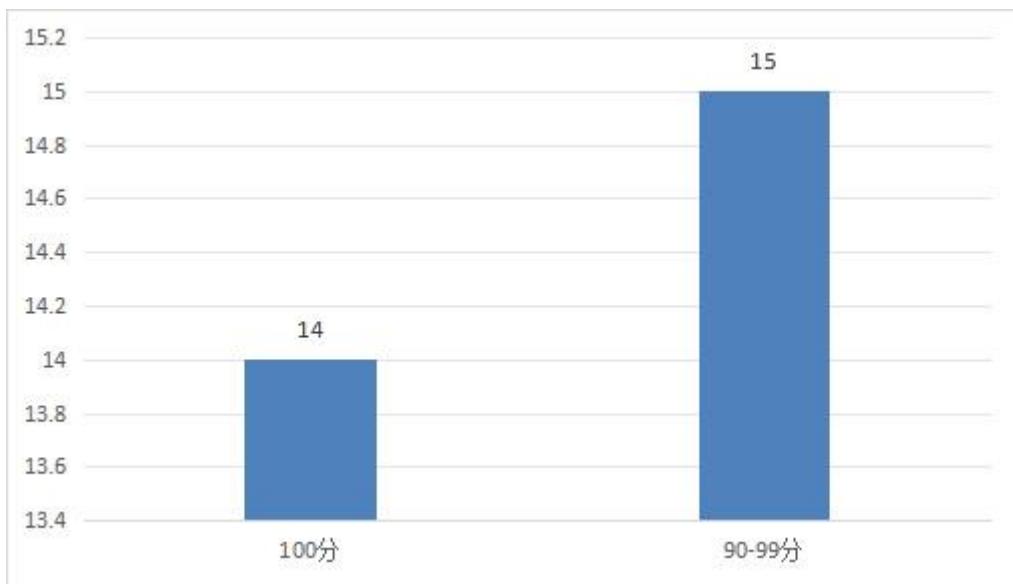


图 1 实验室成绩分布

四、实验室检测流程信息

根据回报的结果可以看出各实验室的检测方法之间存在较大差异，各实验室检测流程见表 3。

表 3. 各实验室检测流程汇总

	实验室数目	方法学变异	实验室数目
1.核酸提取方式		Human GRCh38/hg38	15
自动化提取	24	T2T-CHM13v2.0	13
手工提取	7	Human Other/v2.0	6
2.提取试剂盒类型		YH2.0	4
柱提法	1	Human GRCh37/hg19	2
磁珠法	30	nt 库 human 序列	2
3.提取试剂盒厂家		HDB V2.0.2	1
自建	20	其他	1
BGI	8	10.比对微生物序列软件	
诺唯赞	2	bwa	20
达安基因	1	kraken	9
4.测序平台		kraken2	4
BGI	19	bowtie2	3
真迈	4	samtools	2
illumina	2	BLAST	2
贝瑞和康	2	UnitStat_task.py	1
达瑞	1	minimap2	1

	实验室数目	方法学变异	实验室数目
迪飞	1	11.微生物序列数据库	
金折睿	1	NCBI RefSeq database	26
臻熙	1	FDA- ARGOS	23
5.是否单端测序		Genome Taxonomy Database	21
是	30	NCBI nt database	17
否	1	DDBJ	7
6.测序读长		Eupathdb	7
50 bp	12	JDI	7
60 bp	8	FDA Reference Viral Database	4
75 bp	3	NCBI GenBank database	4
100 bp	2	IDseqDB v3.0.0	2
150 bp	1	Integrated Microbial Genome	1
其他	5	micro_db v3.0.0	1
7.数据质控软件		PIDB_v1.3.0_rc5	1
fastp	19	sunngs_mngs_dna.fasta:V4.08.02	1
get_umhost_IC_qc	7	tNGS 专用数据库, 版本号 V24.12.01	1
fliter	1	NCBI Assembly	1
guppy	1	DMPD V2.1	1
PRINSEQ-lite	1	常见致病菌和定值菌基因组数据	1
prinseq-lite.pl	1	12.使用阳性质控	
low_complexity_filter.py	1	是	15
8.比对人源序列软件		否	16
Bowtie2	13	13.使用阴性质控	
get_umhost_IC_qc	8	是	27
bwa	5	否	4
samtools	2	14.使用内参	
snap-aligner	2	是	27
kraken2	1	否	4
minimap2	1	15.样本周转时间	
rm_host	1	12h 至 24h	11
其他	1	24h 以上	1
9.人源序列数据库		4h 及以内	10
CHM13	2	4h 至 12 小时	8
GRCh38.p13	2	其他	1

五、实验室检测情况

1. 假阴性结果分析:

本次预研活动考察了各实验室对 6 个样本中的 35 个微生物（包括细菌、真菌、DNA 病毒和 RNA 病毒）检出情况，评价了实验室检测结果的假阴性。21 家(72.4%)实验室能全部检出这 35 个微生物，7 家 (24.1%) 实验室有 1 个假阴性结果（图 2）。各实验室的假阴性结果主要来源于对 RNA 病毒（埃可病毒）的漏检（9 个）。

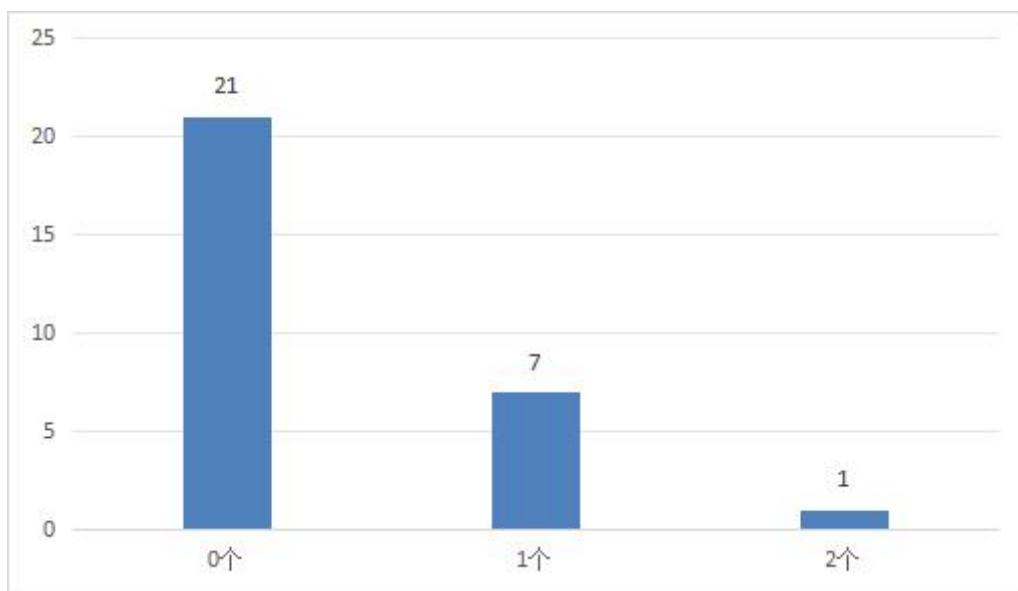


图 2 假阴性微生物检出情况

2. 假阳性结果分析:

对本次活动中 7 个样本中的假阳性结果进行分析，结果显示 18 家 (62.1%) 实验室未报告假阳性微生物，11 家 (37.9%) 实验室共报告了 18 个假阳性微生物（图 3）。其中热带念珠菌假阳性次数最高，为 13 次，表皮葡萄球菌 4 次（图 4）。

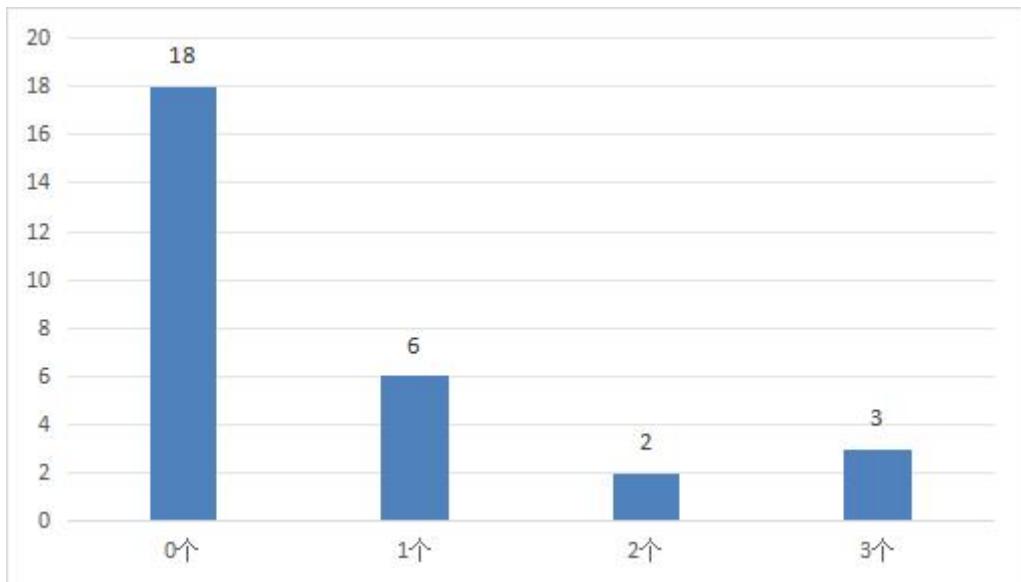


图 3 假阳性微生物检出情况

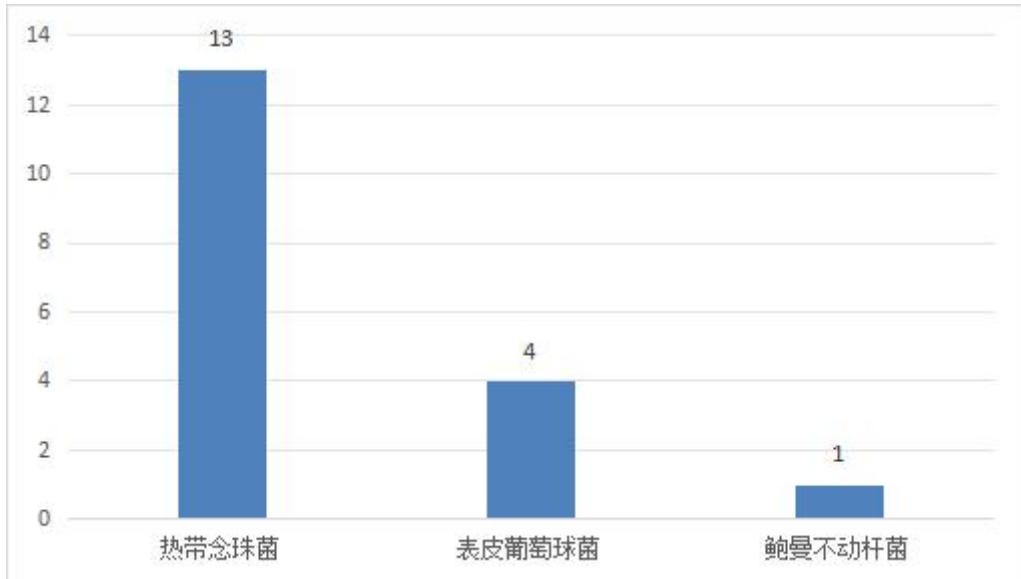


图 4 假阳性微生物个数

3. 重复性与稳健性分析:

mNGS20250301 与 mNGS20250302 样本中含有相同类型的微生物，微生物浓度相同，在合格的 29 家实验室中，20 家（69.0%）实验室重复性较好，mNGS20250302/mNGS20250301 RPM 比值均在 0.5-2 之间。9 家实验室部分结果比值小于 0.5。

mNGS20250302 与 mNGS20250303 样本中含有相同类型的微生物，微生物浓度呈 10 倍。检测到 RNA 病毒的实验室数量基本上随着病原体浓度的增加而增加。在合格的 29 家实验室中，17 家（58.6%）实验室稳健性较好，

mNGS20250302/mNGS20250303 RPM 比值在 5-20 倍之间, 10 家实验室部分结果比值小于 5, 3 家实验室部分结果比值大于 20。

4. 临床解读能力分析:

本次预研活动设置了 1 个感染病例来评价各实验室依据所给患者的临床信息, 结合 mNGS 检测结果, 准确报告病原体的能力。mNGS20250306 样本为肺炎链球菌与人类疱疹病毒 1 型 (HSV1), 25 家 (86.2%) 实验室准确报告, 4 家 (13.8%) 实验室同时报告了金黄色葡萄球菌。

六、总结

本次预研活动从检测分析敏感性、特异性、重复性及稳健性等多个方面考核了省内临床实验室应用 mNGS 技术检测中枢神经系统感染 (脑脊液) 病原体的能力。总体而言, 各实验室对多数常见细菌、真菌及 DNA 病毒的检测能力较好, 总体合格率达 100%, 但对低载量 RNA 病毒的敏感性、背景污染的控制能力及检测流程的稳定性仍需重点提升。通过对回报数据的深入分析, 发现主要存在以下问题:

(一) 检测流程差异显著

各实验室自建的 mNGS 方法在关键环节存在较大差异。本次数据显示, 核酸提取以磁珠法为主 (96.6%, 28/29), 但提取试剂盒以实验室自建方法居多 (69.0%, 20/29); 测序平台选择集中, 使用 BGI 平台的实验室占 65.5% (19/29)。在生物信息学分析环节, 人源与微生物序列数据库、比对软件的使用呈现高度多样化, 尚未形成主流共识。这种技术路径的多样性是影响结果标准化与可比性的根本因素之一。

尽管参与实验室均具备相应资质, 但在本次质评中反映出的质量控制实践仍显不足。数据显示, 55.2% (16/29) 的实验室在本次检测中未使用阳性质控品, 13.8% (4/29) 的实验室未使用阴性质控品, 另有 13.8% (4/29) 的实验室未使用内参。规范的质控是保证检测结果可靠性的基石, 实验室必须确保每批次检测均包含并有效分析阳性质控、阴性质控及内参, 以实现从核酸提取到生物信息分析的全流程监控。

(二) 假阴性和假阳性问题

假阴性结果虽总体较少，但显示出明确的技术倾向性。埃可病毒（RNA 病毒）是主要的漏检目标，在 10^3 - 10^4 copies/mL 浓度下共出现 9 次漏检，表明部分实验室在 RNA 提取或针对 RNA 病毒的生信分析流程上存在优化空间，导致对低载量 RNA 病毒的检测敏感性不足。

假阳性问题则集中暴露了在污染控制和临床解读上的挑战。一方面，热带念珠菌在多个样本中被误报，成为最高发的假阳性（占总假阳性报告次数的 72.2%），提示可能存在试剂或环境的系统性背景污染。另一方面，表皮葡萄球菌在单一病原体感染样本（mNGS20250306）中被数家实验室报告，反映出实验室在区分致病菌与常见定植/污染菌时面临普遍困难。所有报告假阳性的实验室均应深入分析污染来源，并建立实验室特异的背景菌数据库，同时在报告中建立规范的解读与注释标准。

（三）检测流程的重复性与稳健性

在检测重复性（相同浓度样本 mNGS20250301/mNGS20250302）评价中，69.0%（20/29）的合格实验室所有目标病原体的 RPM 比值完全在 0.5-2.0 的预期范围内。在检测稳健性（10 倍梯度稀释样本 mNGS20250302/mNGS20250303）评价中，58.6%（17/28）的合格实验室所有目标的 RPM 比值能稳定落在 5-20 倍的预期梯度范围内。这表明，即便在合格实验室中，仍有相当一部分其检测方法在面对相同样本时的一致性，以及对不同浓度病原体的定量线性响应能力存在不足，流程的标准化与稳定性需要进一步提升。

七、成绩合格的实验室名单

按单位名称拼音排序，公布本次预研活动中成绩合格的实验室名单。

北京大学深圳医院检验科

东莞兰卫医学检验实验室有限公司

佛山市南海区人民医院检验科

广东省中医院病理科

广州达安临床检验中心

广州迪安医学检验实验室有限公司

广州华银康医学检验有限公司

广州华银医学检验中心有限公司

广州金匙医学检验有限公司
广州金域医学检验中心有限公司
广州精微医学科技有限公司
广州凯普医学检验所
广州昇汇医学检验所有限公司
广州微远医学检验实验室
广州医科大学附属第一医院检验科
广州医科大学附属市八医院传染病研究所
广州永诺医学检验所
贵州国际医院精准医学中心
杭州杰毅医学检验实验室有限公司
南京迪飞医学检验实验室
深圳华大医学检验实验室
深圳市第二人民医院检验科
深圳市第三人民医院肝病研究所
深圳市人民医院检验科
天津金匙医学检验实验室
武汉臻熙医学检验实验室有限公司
中山大学附属第三医院检验科
中山大学附属第五医院检验科
中山大学孙逸仙纪念医院深汕中心医院检验科