

nism of liver cancer; a special focus on the role of gut microbiota[J]. Cancer Sci, 2021, 112(11): 4433-4443.

[26] MOURIES J, BRESCIA P, SILVESTRI A, et al. Microbiota-driven gut vascular barrier disruption is a prerequisite for non-alcoholic steatohepatitis development[J]. J Hepatol, 2019, 71(6): 1216-1228.

[27] ROHR M W, NARASIMHULU C A, RUDESKI-ROHR T A, et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability: a review[J]. Adv Nutr, 2020, 11(1): 77-91.

[28] PATEL V C, LEE S, MCPHAIL M J, et al. Rifaximin- α reduces gut-derived inflammation and mucin degradation in cirrhosis and encephalopathy: RIFSYS randomised controlled trial[J]. J Hepatol, 2022, 76(2): 332-342.

[29] PARK E, JEONG J J, WON S M, et al. Gut microbiota-related cellular and molecular mechanisms in the progression of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Cells, 2021, 10(10): 2634.

[30] HVISTENDAHL M K, NAIMI R M, HANSEN S H, et al. Bile acid-farnesoid X receptor-fibroblast growth factor 19 axis in patients with short bowel syndrome: The randomized, glepaglutide phase 2 trial[J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2022, 46(4): 923-935.

[31] SONG Y, SUN L, MA P, et al. Dihydromyricetin prevents obesity via regulating bile acid metabolism associated with the farnesoid X receptor in ob/ob mice[J]. Food Funct, 2022, 13(5): 2491-2503.

[32] MENDLER A, PIERZCHALSKI A, BAUER M, et al. MAIT cell activation in adolescents is impacted by bile acid concentrations and body weight[J]. Clin Exp Immunol, 2020, 200(2): 199-213.

[33] HU H, LIN A, KONG M, et al. Intestinal microbiome and NAFLD: molecular insights and therapeutic perspectives[J]. J Gastroenterol, 2020, 55(2): 142-158.

[34] DUAN S, LI X, FAN G, et al. Targeting bile acid signaling for the treatment of liver diseases: from bench to bed [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 152: 113154.

(收稿日期: 2022-12-30 修回日期: 2023-05-28)

• 综 述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2023.20.029

病原靶向二代测序在下呼吸道感染病原体诊断中应用价值研究进展*

徐伟玲¹ 综述, 于少飞^{2△} 审校

1. 内蒙古医科大学, 内蒙古呼和浩特 010000; 2. 内蒙古自治区人民医院儿科, 内蒙古呼和浩特 010000

摘 要: 下呼吸道感染(LRTI)病原体复杂, 对婴幼儿和老年人的健康产生严重威胁, 早期明确病原体诊断是有效治疗的关键。传统 LRTI 诊断方法存在一定局限, 包括低灵敏度、标本低特异度、周转时间较长, 以及无法在单一标本中同时检测多种病原体, 临床上迫切需要更精准的病原体检测技术。病原靶向二代测序(tNGS)不依赖传统微生物培养, 将多重聚合酶链反应(PCR)和 tNGS 巧妙结合, 采用多重 PCR 正向富集靶向病原体, 提高检测的灵敏度, 同时排除宿主核酸的影响, 实现不同器官感染、不同标本类型等关键病原体的鉴定。该文对近年来国内外关于 tNGS 在 LRTI 病原体鉴定中的应用作一综述, 分析其在不同病原体中的检测效能、优势及局限性, 以确保 tNGS 在临床诊断中能够得到适当应用。

关键词: 病原体靶向二代测序; 下呼吸道感染; 病原体

中图法分类号: R372

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)20-3068-05

Research progress on the application value of pathogen targeted NGS in the diagnosis of lower respiratory tract infection

XU Weiling, YU Shaofei[△]

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010000, China; 2. Department of Pediatrics, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010000, China

Abstract: Lower respiratory tract infection (LRTI) pathogens is complex, the serious threat to infants and the elderly health, clear pathogen early diagnosis is the key to effective treatment. Traditional LRTI diagnosis method has some limitations, including low sensitivity, low specific degrees, specimen cycle time is longer, and not in a single sample and testing a variety of pathogens, clinical pathogens in desperate need of more accurate detection technology. Pathogen targeted next-generation sequencing (tNGS) does not rely on traditional microbial culture, and cleverly combines multiple polymerase chain reaction (PCR) and tNGS. Multiple PCR is used to enrich targeted pathogens to improve the detection sensitivity, while excluding the influence of host

* 基金项目: 内蒙古自治区科技计划项目(2023YFSH0042)。

△ 通信作者, E-mail: yushaofei0707@163.com。

nucleic acid, and realize the identification of key pathogens such as different organ infections and different specimen types. This article is at home and abroad in recent years about tNGS LRTI pathogen identification, summarizes the application analysis of the detection efficiency in different pathogens, and analysis of the advantages and limitations, in order to ensure tNGS can get proper application in clinical diagnosis.

Key words: pathogen targeted next-generation sequencing; lower respiratory tract infection; pathogen

病原靶向二代测序(tNGS)是使用特异性探针或引物捕获特定 DNA, 通过高通量测序技术对这些 DNA 片段进行测序, 实现对病原体的鉴定, 与全基因组测序(WGS)、宏基因 NGS(mNGS)比较, 其可减少无关序列的测序, 提高对靶向区域的覆盖度和深度, 对下呼吸道感染(LRTI)病原体的诊断具有较高应用价值, 既能鉴定病原体, 又能区分病原体亚型、检测耐药和毒力基因, 成本大幅缩减, 具有高效、准确、经济、可精准分型等优点。本文简要回顾了目前为止关于 tNGS 在 LRTI 病原体鉴定中的应用价值。

1 tNGS 概况

tNGS 是基于多重聚合酶链反应(PCR)和二代测序技术的新型病原微生物检测方法, 主要分为两种, 即基于引物 PCR 扩增的扩增子测序和基于探针杂交的杂交捕获测序。多重 PCR 扩增子测序常用于富集基因组较小的病毒基因组, 只在一定程度上检出病毒变异的类型, 很难满足不断变异的病毒分型; 而杂交捕获测序中探针与随机断裂的片段杂交, 捕获到的序列不限于探针本身所对应的区域, 相邻探针互相补充, 对病毒的多态性具有更高的宽容度, 不仅可以显著富集病毒序列提升病毒基因组覆盖, 而且可在一定范围内发现新病毒。mNGS 和 tNGS 最大的区别在于测序前的 PCR 扩增是否是特异的, tNGS 为特异的, mNGS 为非特异的。DAI 等^[1]动态随访 100 例早产儿, 比较常规培养和 tNGS 对 LRTI 患者标本病原体的鉴定发现, tNGS 与常规培养有 90.9% 的完全或部分一致性, 检出率提高了 105.9%。LI 等^[2]采用 tNGS 技术, 对 102 例成人肺炎患者同时行 mNGS 和 tNGS, 靶标仅检测到 153 种病原体, 但对临床上常见呼吸道感染病原体的覆盖率达 95% 以上, 结果显示, tNGS 和 mNGS 总体微生物检出率分别为 82.17% 和 86.51%, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 但过程中 tNGS 的成本仅为 mNGS 的 1/4, 可见 tNGS 在呼吸道感染性疾病病原体鉴定中具有出色的表现及较高的性价比。GASTON 等^[3]对 mNGS 和 tNGS 从肺泡灌洗液(BALF)中检测呼吸道病原体的工作流程进行了评估, 分析检测的准确度及可重复性, 结果显示, tNGS 工作流程总体准确度为 65.6%, 阳性预测值为 45.9%, 阴性预测值为 85.7%; mNGS 工作流程的总体准确度为 67.1%, 阳性预测值为 56.6%, 阴性预测值为 77.2%, 总体来说 mNGS 和 tNGS 对细菌、真菌和病毒的检测范围相当, 在各自的检测限内, 重现率为 100.0%。目前, tNGS 已成为呼

吸道感染病原体诊断的研究热点, 也可应用于其他系统感染, 如中枢神经系统感染^[4-5]、关节感染^[6]等。

2 tNGS 在 LRTI 不同病原体诊断中的应用价值

2.1 细菌 呼吸道感染细菌感染的病原菌以 G^+ 球菌为主, 以金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌和肺炎克雷伯菌常见。LRTI 病原学诊断的金标准为细菌培养和涂片镜检, 培养所需时间较长, 且敏感性有限。tNGS 为 LRTI 病原体诊断提供了新方法。有学者利用 tNGS 对西藏高原地区社区获得性肺炎(CAP)的病原学分布特征进行研究, 发现 G^+ 球菌中检出率最多的是肺炎链球菌, G^- 杆菌中检出最多的为嗜血杆菌属^[7]。郑凯文等^[8]自主设计了 40 对特异性引物, 联合多重 PCR 与二代高通量测序实现了对肺炎克雷伯菌、化脓性链球菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、卡他莫拉菌等 20 种 LRTI 常见病原体的高通量、快速检测, 至少覆盖了临床上 90% 的下呼吸道病原体, 结果显示, tNGS 检出率明显高于常规培养法, 灵敏度达 100%, 标本周转时间(TAT)比常规培养法明显缩短, 由此可见, tNGS 可以在不损失灵敏度情况下快速明确病原体, 对呼吸道感染病原体早期鉴定有较高的应用价值。另有研究采用高通量靶向扩增子测序(TAS)对重症 CAP 患儿行 BALF 病原体检测, 结果与常规检查、多重 PCR 比较, TAS 的灵敏度和特异性均较高, 检测 BALF 中细菌和病毒具有较好的效果^[9]。有研究利用 tNGS 从 1 例患者的脑脊液中检出皮特不动杆菌, 此前各项常规检查均为阴性, 根据 tNGS 检测结果给予针对性治疗后, 患者病情好转。由此说明, tNGS 可能是一种很好的病原体检测技术, 有利于精准诊疗的临床实施^[4]。综上所述, 在鉴定下呼吸道感染中 tNGS 明显优于常规培养法, 对绝大多数细菌(除外新型、罕见菌)的检测能力与 mNGS 相当, 并且可明显缩短 TAT。此外, tNGS 单个标本库所需数据量远远低于 mNGS, 大大提高检测吞吐量, 降低测序成本^[4]。然而, tNGS 也有不足之处, 有研究表明, tNGS 在 LRTI 细菌检测中, 阳性预测值在检测限介于 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL 时降低, 从而阻止了低丰度生物体的检测, 认为 tNGS 不能可靠地从临床标本中检测出 $\leq 10^3$ CFU/mL 标准培养中定量的细菌^[3]。此外, tNGS 目前缺乏解释结果的标准, 不能用于确定病原体的诊断, 只能作为筛查的辅助方法^[6]; 检测过程中所使用的生物信息学方法和数据库也会对结果产生直接影响^[3]。

2.2 病毒 根据中国 CAP 研究数据显示, 近年来,

CAP 病原学特征发生改变,病毒性肺炎检出率明显增加,细菌性肺炎检出率降低。LRTI 病原体往往复杂多样,病毒缺乏普遍保守的标记,易突变,即使是单点突变,也会在宿主范围、传播性和致病性方面有所不同。因此,理想的病毒诊断平台应该对所有病毒及其变体进行敏感的多路检测。现阶段病毒诊断通常基于针对一种或几种特定试剂的 PCR,可能无法检测到病毒变异,只能提供有限的基因型信息。目前病毒靶向测序大多采取杂交捕获测序。一种基于 tNGS 的高通量病毒靶向检测和诊断技术(ViroCap)解决了目前 PCR 和高通量测序诊断、分析病毒组的诸多挑战。ViroCap 使用一组具有高特异度的 DNA 探针捕获病毒基因组序列,然后进行高通量测序,通过比对已知病毒基因组数据库鉴定检测到的病毒,具有高度的灵敏度和特异度,可在短时间内检测出多种病毒,提供更全面的病毒诊断和监测信息,在病毒诊断、发病机制研究、流行病学调查等方面有广泛的应用前景,可帮助科学家更好地了解病毒的种类、分布和传播途径,从而制订针对性的防控措施。目前已有多个研究使用 ViroCap 进行病毒检测。不同于 mNGS 技术, DNA 和 RNA 检测流程需分开进行, tNGS 可实现 DNA 和 RNA 共检。LI 等^[2]的研究中 tNGS 就检出了鼻病毒 A、B、C,而 mNGS 未检测出,因为鼻病毒为 RNA 病毒,而研究中 mNGS 只进行了 DNA 过程,但 mNGS 在 33 例患者中检出人疱疹病毒,而 tNGS 未检测到。有研究指出, mNGS 虽检出较多人疱疹病毒,但多数患者未予治疗病情好转,考虑定植可能性大^[7]。WYLIE 等^[10]在研究中比较了 ViroCap 和宏基因组鸟枪测序检测病毒的效能,发现捕获富集后,基因组代表性显著增强,病毒序列读数百分比的中位数和中位覆盖宽度明显增加,且除检测到所有预期的病毒外,还检测到 30 个额外的病毒,其中大多数是临床实验室没有检测的病毒,或来自标本上没有被要求检测的病毒。由此可见,病毒捕获测序不仅可以检出病毒,还可以在一定范围内发现新病毒。但其也存在局限性,首先,探针捕获与文库杂交、测序及分析前的标本处理都增加了检测时间;其次,新病毒基因组可能不会与捕获探针序列高度不同的病毒基因组富集;最后,若只检测少量标本,捕获探针的成本可能会让人望而却步^[10]。ViroCap 通过杂交到较大基因组片段中的短保守序列检测新病毒,降低宿主背景,提高了平均覆盖率,几乎获得了所有病毒的全长序列^[11],提供更多关于病毒遗传多样性、基因分型和毒力的信息^[12]。tNGS 解决了病毒变异的问题,增加病毒基因序列读数、覆盖的广度及深度,对病毒感染的诊断具有明显优势,且基因序列可进行病毒分型。

2.3 结核杆菌 有学者利用靶向 DNA 富集技术对 43 份痰标本进行结核分枝杆菌测序,认为痰测序比痰培养有潜力提供更综合、快速的耐药检测^[12]。WU

等^[13]对上海肺科医院 130 例肺结核患者的 BALF 标本进行 tNGS 检测,结果显示, tNGS 的检出率明显高于抗酸杆菌涂片、培养和免疫检测,与抗酸杆菌涂片和培养相比, tNGS 在涂片阴性和培养阴性病例中检出率较高,而与结核分枝杆菌及利福平耐药检测比较,则显示出几乎相同的灵敏度;以表型药敏试验作为参考标准, tNGS 检测利福平耐药性的灵敏度和特异度均为 100%,检测异烟肼耐药性的灵敏度和特异度分别为 80%和 100%。由此可见, tNGS 可能是一种有前途的工具,可扩大结核病检测的技术储备。有研究发现, tNGS 对不同耐药谱结核分枝杆菌的检测与 WGS 一致性相当,优于 Sanger 测序的一致性, tNGS 可在耐药结核病中全面准确预测耐药性^[14]。自 WHO 指南发布以来, WGS 和 tNGS 已用于预测结核病的耐药性,特别是 tNGS 可为靶向耐药基因提供覆盖深度大的全长序列信息,对预测耐药非常重要^[15]。tNGS 的优势还在于可区分结核和其他抗酸杆菌,抗酸杆菌包括结核分枝杆菌、麻风杆菌和其他非结核分枝杆菌,痰涂片抗酸染色不能区分上述三者。LI 等^[2]采用多重 PCR 靶向测序鉴定 10 种涉及人类疾病的主要分枝杆菌,结果发现其可特异地识别分枝杆菌物种,且不会发生交叉反应,同时检测某些抗菌药物耐药基因型也是可行的。CHAE 等^[16]在研究中亦正确识别结核分枝杆菌和 5 种非结核分枝杆菌物种,包括 M. 脓肿杆菌亚种。tNGS 检测结核分枝杆菌的灵敏度较高,可提高检测效能,还可区分结核与其他抗酸杆菌,在区别亚型、检测耐药基因方面的优势显著。

2.4 真菌 下呼吸道真菌感染多继发于免疫功能紊乱或低下、长期使用抗菌药物等情况,近年来肺部真菌感染的发病率及病死率逐年上升,但目前肺部真菌感染的诊断存在一些问题,如耗时长、特异度低、易污染等。姚璐^[17]报道了 1 例经 DNA 靶向测序明确诊断为 M. 暗色丝孢霉的播散性感染,根据测序结果给予针对性抗真菌治疗后,患者病情明显好转,查阅文献发现,报道的 9 例人类感染 M. 暗色丝孢霉均为个案报道,其中 8 例通过基因测序确诊,仅 1 例通过常规培养确诊,可见病原靶向测序可提高检测的灵敏度。在一项关于 102 例成人肺炎的研究中 tNGS 真菌检出率为 12.56%, mNGS 真菌检出率为 13.45%^[2]。真菌细胞壁厚,细菌 DNA 的提取方法应用于真菌核酸的提取很有可能会使提取效率降低,且不同真菌 DNA 检测方法可能会产生不一样的结果,因此,仍需继续优化相关配套技术和条件。郑凯文^[18]选择屎肠球菌和白色念珠菌两种厚壁、较难破碎的病原菌为代表进行物理破壁条件的探索,结果破壁后靶向测序检出 5 例屎肠球菌,未检出白色念珠菌,常规培养对这两种菌株均未检出。由此可见,若改善破壁条件可提升核酸提取率, tNGS 对真菌的检出很可能会优于常

规培养法。目前 tNGS 在呼吸道真菌感染鉴定中的研究较少,未来仍有很大探索空间。

2.5 其他非典型病原体 引起 LRTI 的非典型病原体包括支原体、衣原体和立克次体等。在 DUNLAP 等^[19]的 1 份病例报告中,1 例患者经 tNGS 发现为肺炎支原体感染,予针对性治疗后,病情明显改善,而此前血培养结果为坏死梭杆菌,可见下一代测序可早期建立病因诊断指导精准抗菌药物管理。肺炎支原体没有细胞壁,主要定植于呼吸道黏膜表面,正确的采集方法和时机对检测结果影响较大。有研究指出, BALF 中肺炎支原体的检出率明显高于痰标本^[7]。目前 tNGS 在肺炎支原体感染中的研究较少,有研究显示 tNGS 在肺炎支原体中的检出率较低^[2],但因标本来自成人,故不能以偏概全反映靶向测序在肺炎支原体感染中的实际诊断效能。就呼吸道感染的衣原体而言,肺炎衣原体感染的概率并不是很高,近年来鹦鹉热衣原体感染有增加的趋势,不应再单纯检测肺炎衣原体,而应将鹦鹉热、沙眼衣原体也加入到检测项目中。目前已有多篇研究探讨了 mNGS 在鹦鹉热衣原体感染鉴定中的应用,均表现出良好的检测效能^[20-21],但尚无 tNGS 应用于衣原体检测的报道,有待进一步研究。立克次体病在急性期很难进行病因诊断,因确诊常需在康复后再次采血,比较急性期和恢复期的血清变化。HUANG 等^[6]报道了 1 例全膝关节置换术后发生假体移位和假体周围骨溶解的病例,通过 mNGS 和 tNGS 检测到贝纳柯克斯体,而此前微生物培养结果均为阴性。有研究通过分型培养的嗜肺军团菌验证了 tNGS 的实用性,结果发现,在 tNGS 中,全部的基因分析得到了与全基因组数据分析相同的嗜肺军团菌株分类,并在随后直接对患者呼吸道标本进行的嗜肺军团菌靶向检测中,也可根据相应的培养菌株正确对患者进行分类,由此可见, tNGS 有潜力在肺炎军团菌感染鉴定中发挥重要作用^[22]。目前, tNGS 在非典型病原体中的应用多集中在个案报道,期待未来有更多的研究体现 tNGS 对非典型病原体的诊断价值。

2.6 混合感染 LRTI 具有病原谱复杂、多样,且易混合感染的特点,常规检测手段难以在单一标本中同时检出多种病原体,而 NGS 可在鉴别混合感染中发挥重要作用。有研究表明,在混合标本中病原靶向测序的基因组覆盖率未受到影响,2 份标本中两种病毒的基因组覆盖率均达到 95%~100%^[23], TAS 和多重 PCR 检测在鉴别混合感染方面比常规培养法有明显优势^[24]。

3 总结与展望

LRTI 是常见且多发的感染性疾病,也是导致患者病情加重、甚至死亡的重要原因。在靶标范围内, tNGS 与 mNGS 的检测效能相当,而对新型、罕见菌的检测, mNGS 明显优于 tNGS。相对于 mNGS,

tNGS 去除了人源基因的影响,灵敏度提升,实现了 DNA 和 RNA 共检,时间和经济成本大幅降低,更重要的是 tNGS 可在鉴定病原体的同时,区分病原体的亚型、检测耐药性和毒力基因,这些都是临床应用中需要着重考虑的因素。目前, tNGS 在非典型病原体感染中的研究较少,有待进一步探索。tNGS 的局限性:(1)缺乏统一的质控标准和规范的测序流程^[3];(2)无法鉴别污染、定植还是活动性感染;(3)没有解决对真菌、胞内菌等检出率低的问题,相关配套技术和条件仍需继续优化;(4)tNGS 只对靶标进行扩增测序,虽增加了灵敏度,但势必会错过非靶向序列。未来 tNGS 技术仍需不断改善,以提高其在 LRTI 中的诊断效能,从而更好地满足临床应用需求。

参考文献

- [1] DAI Y, SHENG K, HU L. Diagnostic efficacy of targeted high-throughput sequencing for lower respiratory infection in preterm infants[J]. Am J Transl Res, 2011, 14 (11):8204-8214.
- [2] LI S Y, TONG J, LIU Y, et al. Targeted next generation sequencing is comparable with metagenomic next generation sequencing in adults with pneumonia for pathogenic microorganism detection[J]. J Infect, 2022, 85 (5): 127-129.
- [3] GASTON D C, MILLER H B, FISSEL J A, et al. Evaluation of metagenomic and targeted next-generation sequencing workflows for detection of respiratory pathogens from bronchoalveolar lavage fluid specimens[J]. J Clin Microbiol, 2022, 60 (7): e0052622.
- [4] FENG W L, JIANG X B, ZHANG R J, et al. Diagnosis of an acinetobacter pittii from a patient in China with a multiplex PCR-based targeted gene sequencing platform of the cerebrospinal fluid: a case report with literature review [J]. Medicine(Baltimore), 2022, 101(42): e31130.
- [5] GAO D Q, HU Y Q, JIANG X B. Applying the pathogen targeted next generation sequencing method to pathogen identification in cerebrospinal fluid[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(22): 1675.
- [6] HUANG C Y, DING H Q, LIN Y M, et al. Diagnosis of coxiella burnetii prosthetic joint infection using mNGS and ptNGS: A case report and literature review[J]. Orthop Surg, 2023, 15(1): 371-376.
- [7] 小巴桑, 张艳艳, 史丹丹, 等. 基于下呼吸道标本靶向宏基因组测序技术评估西藏高原地区社区获得性肺炎的病原学分布特征[J]. 西藏科技, 2022, 47(10): 42-48.
- [8] 郑凯文, 黄晓园, 陈渡波, 等. 基于多重 PCR 和第二代高通量测序技术快速检测下呼吸道感染病原微生物方法的建立和应用[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(17): 2066-2070.
- [9] LI F, WANG Y, ZHANG Y H, et al. Etiology of severe pneumonia in children in alveolar lavage fluid using a high-throughput gene targeted amplicon sequencing assay

[J]. Front Pediatr, 2021, 9: 659164.

[10] WYLIE K M, WYLIE T N, BULLER R, et al. Detection of viruses in clinical samples by use of metagenomic sequencing and targeted sequence capture[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(12): e01123.

[11] DOYLE R M, BURGESS C, WILLIAMS R, et al. Direct whole-genome sequencing of sputum accurately identifies drug-resistant Mycobacterium tuberculosis faster than MGIT culture sequencing[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(8): e00666.

[12] YANG Y, WALLS S D, GROSS S M, et al. Targeted sequencing of respiratory viruses in clinical specimens for pathogen identification and genome-wide analysis [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1838: 125-140.

[13] WU X C, LIANG R B, XIAO Y Q, et al. Application of targeted next generation sequencing technology in the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis and first line drugs resistance directly from cell-free DNA of bronchoalveolar lavage fluid[J]. J Infect, 2023, 86(4): 399-401.

[14] RIGOUTS L, MIOTTO P, SCHATS M, et al. Fluoroquinolone heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis: detection by genotypic and phenotypic assay in experimentally mixed populations[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 11760.

[15] WU S H, XIAO Y X, HSIAO H C, et al. Development and assessment of a novel whole-gene-based targeted next-generation sequencing assay for detecting the susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to 14 drugs [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(6): e0260522.

[16] CHAE H, HAN S J, KIM S Y, et al. Development of a

one-step multiplex PCR assay for differential detection of major Mycobacterium species[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(9): 2736-2751.

[17] 姚璐. M. arundinis 引起播散性暗色丝孢霉病 1 例报道并文献复习[D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.

[18] 郑凯文. 基于多重 PCR 与第二代高通量测序技术的下呼吸道感染病原检测方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.

[19] DUNLAP D G, MARSHALL C W, FITCH A, et al. Improved detection of culprit pathogens by bacterial DNA sequencing affects antibiotic management decisions in severe pneumonia[J]. Am J Case Rep, 2018, 19: 1405-1409.

[20] 吴秀秀, 胡嘉艺, 龙剑海, 等. 5 例鹦鹉热衣原体肺炎的临床特征及诊治特点[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(9): 630-631.

[21] 祝青, 张彬. 鹦鹉热衣原体肺炎 12 例临床分析[J]. 南通大学学报(医学版), 2022, 42(2): 183-185.

[22] DOMAZETOVSKA A, JENSEN S O, GRAY M, et al. Culture-free phylogenetic analysis of legionella pneumonia using targeted CRISPR/Cas9 next generation sequencing[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(4): e0035922.

[23] O'FLAHERTY B M, LI Y, TAO Y, et al. Comprehensive viral enrichment enables sensitive respiratory virus genomic identification and analysis by next generation sequencing[J]. Genome Res, 2018, 28(6): 869-877.

[24] CHUNG H Y, JIAN M J, CHANG C K, et al. Novel dual multiplex real-time PCR assays for the rapid detection of SARS-COV-2, influenza A/B, and respiratory syncytial virus using the BD MAX open system[J]. Emerg Microbes Infect, 2021, 10(1): 161-166.

(收稿日期: 2022-12-29 修回日期: 2023-05-11)

• 综述 • DOI: 10.3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 20. 030

宫颈癌血清肿瘤标志物的研究进展

钟学进¹综述, 曾 涛^{2△}审校

1. 广东医科大学附属第二医院检验科, 广东湛江 524003; 2. 广东医科大学附属第一医院检验科, 广东湛江 524003

摘 要: 尽管临床治疗宫颈癌的手段及技术不断增多, 但晚期或复发宫颈癌患者的预后仍然很差, 宫颈癌早发现、早治疗是保障女性生命健康的重大卫生问题。血清肿瘤标志物具有取材方便、检测操作简单、检测费用低廉等优势, 是诊断恶性肿瘤的常见参考。该文分别对不同性质的宫颈癌血清肿瘤标志物(包括蛋白质、DNA 及 RNA 三大种类)进行归纳总结, 旨在为宫颈癌的诊断提供参考依据。

关键词: 宫颈癌; 血清肿瘤标志物; 蛋白质类标志物; DNA 类标志物; RNA 类标志物
中图法分类号: R737. 33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2023)20-3072-04

Research progress of cervical cancer serum tumor markers*

ZHONG Xuejin¹, ZENG Tao^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524003, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524003, China

Abstract: Despite the increasing number of clinical treatment methods and technologies for cervical cancer,

[△] 通信作者, E-mail: zengt@smu. edu. cn.