

# 纳米孔靶向二代测序(tNGS)技术在临床肺结核实验诊断中的价值研究

冯永忠, 林媛, 吴碧彤, 蔡智群(广州市胸科医院肺外结核科, 广州 510095)

**摘要:** 目的 探讨纳米孔靶向二代测序(tNGS)技术在临床肺结核(PTB)实验诊断中的价值。方法 采集2023年6月~2024年5月广州市胸科医院肺外结核科收治的210例疑似PTB患者的病例资料,以临床诊断为金标准确诊肺结核患者132例为PTB组,78例为非PTB组。收集所有研究对象的支气管肺泡灌洗液(BALF)样本,进行纳米孔tNGS、抗酸染色涂片、结核分枝杆菌(TB)-RNA检测、X-pert和分枝杆菌培养。比较两组基本资料,及不同检测方法的诊断效能。结果 PTB组与非PTB组相比,在年龄、吸烟史方面差异具有统计学意义( $\chi^2=5.294, 8.226$ , 均 $P<0.05$ ),PTB组更倾向于年轻或老年人群,且吸烟者患PTB的风险显著高于非吸烟者;纳米孔tNGS诊断灵敏度与其他四种检测技术相比(75.76% vs 30.30%、31.82%、43.94%、45.45%)、特异度与抗酸染色涂片、分枝杆菌培养比较(100.00% vs 61.54%、83.33%)均较高,差异具有统计学意义( $Z=28.375, 15.483$ , 均 $P<0.001$ )。经一致性检验发现,纳米孔tNGS与抗酸染色、TB-RNA检测、X-pert检测、分枝杆菌培养对PTB诊断的Kappa值分别为0.296、0.524、0.425、0.278。受试者操作特征(ROC)曲线下面积(AUC)结果显示,纳米孔tNGS的AUC高于其他各种检测技术,差异具有统计学意义( $Z=18.426, P<0.001$ )。结论 与传统病原学检测方法相比,基于纳米孔tNGS检测BALF样本诊断效能更好,与其他几种检测方法联合检测能够更精准的对PTB患者进行筛查。

**关键词:** 纳米孔靶向二代测序;肺结核;结核分枝杆菌;病原学检测

中图分类号: R521; R446.19 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2026)02-005-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2026.02.002

## Analysis on the Value of Nanopore Targeted Next-Generation Sequencing Technology in Clinical Laboratory Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis

FENG Yongzhong, LIN Yuan, WU Bitong, CAI Zhiqun (Department of Extrapulmonary Tuberculosis, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou 510095, China)

**Abstract: Objective** To explore the value of nanopore targeted next-generation sequencing (tNGS) technology in the laboratory diagnosis of clinical pulmonary tuberculosis (PTB). **Methods** A total of 210 suspected PTB patients admitted to the Department of Extrapulmonary Tuberculosis of Guangzhou Chest Hospital from June 2023 to May 2024 were collected. Based on clinical diagnostic criteria, 132 patients with confirmed PTB were classified as the PTB group, and 78 patients were classified as the non-PTB group. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples were collected from all subjects for nanopore tNGS, acid-fast staining smears, Mycobacterium tuberculosis (TB)-RNA detection, X-pert, and mycobacterium culture. Basic characteristics and diagnostic performance of different methods were compared between groups. **Results** There were significant differences in age and smoking history between the PTB group and the non-PTB group ( $\chi^2=5.294, 8.226$ , all  $P<0.05$ ). The pulmonary tuberculosis group is more likely to be younger or older, and smokers had a significantly higher risk of PTB than non-smokers. The diagnostic sensitivity of nanopore tNGS was significantly higher than other detection technologies (75.76% vs 30.30%, 31.82%, 43.94%, 45.45%), and the specificity compared favorably with acid-fast staining smears and mycobacterium culture (100.00% vs 61.54%, 83.33%) with statistically significant differences ( $Z=28.375, 15.483$ , all  $P<0.001$ ). Consistency testing revealed Kappa values for nanopore tNGS with acid-fast staining, TB-RNA detection, X-pert detection and mycobacterium culture in PTB diagnosis were 0.296, 0.524, 0.425 and 0.278, respectively. The results of area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) showed that the AUC of nanopore tNGS was higher than those of other detection techniques ( $Z=18.426, P<0.001$ ). **Conclusions** Compared with traditional pathogen detection methods, nanopore tNGS-based detection of BALF samples demonstrates superior diagnostic performance. Combined use with other detection methods enables more precise screening of PTB patients.

**Keywords:** nanopore targeted next-generation sequencing; pulmonary tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; etiological detection

肺结核(pulmonary tuberculosis, PTB),作为一种 由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)

基金项目:广州市科技局市校(院)企联合资助项目(2024A03J0585)。

作者简介:冯永忠(1968-),男,本科,副主任医师,研究方向:结核病, E-mail: fffz0524@163.com。

诱导的经呼吸道传播的感染性疾病,已构成我国公共卫生领域亟待解决的重大难题,同时也是全球范围内成年人因传染病致死的关键因素之一<sup>[1]</sup>。鉴于该疾病初期症状不显,实现精确的早期诊断,无论是对患者的个性化治疗还是对公共卫生层面的传染病防控策略均具有重要意义。PTB具有高隐蔽性、高传播性及高危害性特征,早期诊断对PTB患者的疾病控制、预后改善及公共卫生安全保障具有多重核心价值,PTB患者的早期诊断不仅对于遏制疾病蔓延、削减死亡率具有关键作用,还在防止耐药MTB的播散及缓解公共卫生系统承受的压力方面发挥着不可或缺的作用<sup>[2-3]</sup>。传统的病原体检测途径主要建立在微生物的培养与鉴别之上,然而,此方法难以全面捕获样本中全部病原体,存在明显局限。在临床诊断实践中,结核病诊断所采纳的常见样本包括痰液、血液样本、肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、脑脊液、胸腹腔积液以及胸膜组织活检等多种样本类型<sup>[4]</sup>。近年来,随着新一代测序技术在临床病原菌诊断领域的广泛应用与深化,纳米孔靶向二代测序(targeted netx-generation sequencing, tNGS)技术在结核病早期诊断及耐药性分析方面的优势逐渐凸显<sup>[5]</sup>。在此背景下,本研究通过对比分析疑似PTB患者接受涂片镜检、培养检测及纳米孔tNGS检测的数据,旨在深入探索纳米孔tNGS技术在早期甄别疑似PTB患者中的应用效能。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2023年6月~2024年5月在广州市胸科医院肺外结核科收治的疑似PTB患者210例病例资料,疑似患者纳入标准:①影像学检查表现与活动性肺结核相似,或有咳嗽、发热、咯血、盗汗、体质量减轻等结核中毒症状;②临床资料完整无缺失;③临床样本和检测过程通过纳米孔tNGS的质量控制。排除标准:①临床和实验室资料不完整;②诊断不明确;③样本泄漏和污染;④检测依从性不高者。参照《结核病病理学诊断规范》(T/CRHA 029-2023)<sup>[5]</sup>以最终临床诊断为金标准,确诊PTB患者132例为PTB组(62.86%),非PTB组78例(37.14%)。其中PTB组男性83例,女性49例;年龄47.8(30.2, 71.5)岁,肺部并发症45例(34.09%),吸烟史92例(69.70%);非PTB组男性44例,女性34例;年龄56.0(48.5, 69.0)岁,肺部并发症10例(12.82%),吸烟史32例(41.03%);两组在年龄、吸烟史方面,差异具有统计学意义( $\chi^2/Z=5.294, 8.226$ , 均 $P<0.05$ ),PTB组更倾向于年轻或老年人群,且吸烟者患PTB的风险显著高于非吸烟者。在性别、肺部并发症等方面比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.863, 1.047$ , 均 $P>0.05$ )。本研究符合广州市胸科医院伦理规范,胸医伦理[2023]24

号,所有患者均知情同意。

1.2 仪器与试剂 BD BACTEC MGIT 960全自动分枝杆菌检测系统(美国BD公司),无菌容器、核酸扩增仪(上海仁度),实时荧光定量核酸扩增仪(苏州澜沧生物科技),Qubit 4.0荧光定量仪(赛默飞世尔)。扩增检测液(广州建仑生物科技),丝氨酸乙酰转移酶(SAT)(北京迈迪安生物),生理盐水(上海碧云天生物技术)。

## 1.3 方法

1.3.1 临床数据收集:收集患者的临床数据,涵盖性别、年龄、并发症、血液生化指标、组织病理学检查发现以及治疗转归等信息。

1.3.2 BALF的采集与送检流程:所有患者均接受支气管镜检查,并遵循支气管镜BALF采集的标准操作流程。将支气管镜的前端精确放置于目标支气管节段或亚节段的开口位置,随后通过其操作通道分批次迅速灌注室温下的生理盐水,每次20~50ml,总量控制在60~120ml。注入后立即使用合适的负压吸引来采集BALF,确保总回收率不低于30%。采集的BALF使用无菌容器盛装,送检量不少于5ml,且在室温下2h内完成送检。

1.3.3 检测方法:收集所有研究对象的BALF样本,进行纳米孔tNGS、抗酸染色涂片、TB-RNA检测、X-pert和分枝杆菌培养。BALF标本经过采集后,通常需要在4℃以下12 000~16 000×g离心10~15分钟,去除细胞沉淀后取上清液用于后续核酸提取。抗酸染色涂片:对BALF标本进行涂片、干燥、制片后,进行荧光染色。对玻片进行镜检,在暗背景下抗酸菌发出黄色荧光,呈杆状略弯曲,可判定为抗酸菌阳性;TB-RNA检测: BALF标本离心提取RNA加入核酸扩增仪体系中,通过实时核酸恒温扩增技术检测MTB的16sRNA,取2μl处理物加入含30μl扩增检测液的反应管中,再向管内悬空加入10μl SAT,放入核酸扩增仪中,运行设置好的程序,得出结果;X-pert检测:利用利福平耐药实时荧光定量核酸扩增仪进行X-pert检测;快速分枝杆菌培养(液体法):处理后的BALF标本接种于MGIT培养管内,放入BD BACTEC MGIT 960全自动分枝杆菌检测系统,检测有荧光产生,可判断为阳性,随后进行抗酸染色,确认抗酸杆菌。

纳米孔tNGS:处理后的BALF样本在测序前需经历蛋白酶K及溶菌酶处理,并使用质粒等相关试剂进行前处理。向BALF样本中加入蛋白酶K(终浓度50~200μg/ml)和溶菌酶(针对细菌样本,1mg/ml),在37℃~55℃孵育15分钟至2小时,以裂解细胞并释放核酸;同时降解与核酸结合的蛋白质及细胞壁。核酸提取阶段,样本与特定试剂反应后,利用无水乙醇进行清洗,随后再进行

磁珠处理和洗涤步骤。处理完毕后,利用Qubit 4.0对核酸质量进行检测。之后进行PCR反应,反应完成后对DNA文库进行纯化与提取,并对多重PCR产物进行标记。再次进行PCR扩增与纯化,将不同标记的产物混合以制备最终的测序文库。文库制备完成后,采用GridION测序仪进行测序并收集数据,执行质量过滤与比对分析,最终输出病原体种类及耐药基因的分析结果。

1.4 统计学分析 采用SPSS 28.0统计软件包对实验数据进行分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验,对于计数资料采用 $n(\%)$ 表示,组间比较采用卡方检验。两两比较采用LSD针对数据是否处于正态分布,采用 $Z$ 检验。利用受试者操作特征(ROC)曲线评估各诊断指标的效能,并衡量各

诊断指标的真实性;同时,采用Kappa系数评价诊断结果与实际状况之间的一致性程度。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各种检测技术诊断效果对比 见表1。经比较分析,纳米孔tNGS诊断灵敏度明显高于抗酸染色涂片、TB-RNA、X-pert和分枝杆菌培养,差异具有统计学意义( $Z=28.375, P < 0.001$ );纳米孔tNGS诊断特异度明显高于抗酸染色涂片、分枝杆菌培养,差异具有统计学意义( $Z=15.483, P < 0.001$ )。经一致性检验发现,纳米孔tNGS与抗酸染色、TB-RNA检测、X-pert检测、分枝杆菌培养对PTB诊断的Kappa值分别为0.296、0.524、0.425和0.278。

表1 各种检测技术诊断效果对比

检测方法	结果	临床病理诊断		灵敏度 (%)	特异度 (%)
		非 PTB	PTB		
纳米孔 tNGS	阴性	78	32	75.76	100.0
	阳性	0	100		
抗酸染色涂片	阴性	48	90	31.82	61.54
	阳性	30	42		
TB-RNA	阴性	78	74	43.94	100.0
	阳性	0	58		
X-pert	阴性	78	72	45.45	100.0
	阳性	0	60		
分枝杆菌培养	阴性	65	92	30.30	83.33
	阳性	13	40		

2.2 各种检测技术诊断效能对比 见表2。ROC 曲线下面积对比结果显示,纳米孔tNGS的AUC最高,高于抗酸染色、TB-RNA检测、X-pert和分枝杆菌培养,差异具有统计学意义( $Z=18.426, P < 0.001$ )。

表2 各种检测技术诊断效能对比

检测方法	AUC	95% CI
纳米孔 tNGS	0.795	0.624 ~ 0.903
抗酸染色涂片	0.408	0.216 ~ 0.649
TB-RNA	0.667	0.483 ~ 0.852
X-pert	0.672	0.491 ~ 0.864
分枝杆菌培养	0.538	0.368 ~ 0.792

## 3 讨论

PTB早期诊断通过“早发现-早治疗-早阻断”的链式干预,可显著降低患者病死率、致残率及耐药风险,同时控制传染源、节约医疗资源并减轻社会经济负担。本研究通过对研究对象的调查分析,PTB组更倾向于年轻或老年人群,且吸烟者患PTB的风险显著高于非吸烟者,尤其是免疫功能相对较弱或暴露于MTB风险较高的群体。年轻人群可能因学习、

工作、社交活动频繁,在通风不良的密闭环境中长时间停留,增加了感染风险;而老年人群则可能因免疫力下降,更容易在感染后发病。同时,吸烟史较为普遍,吸烟会损害呼吸道黏膜,降低呼吸道局部抵抗力,使MTB更易侵入并繁殖。

当前时期,结核病病原体的诊断方式主要包括MTB的培养、抗酸染色显微镜检查,以及近年来愈发广泛采用的分子诊断技术,诸如TB-RNA检测和X-pert系统等。尽管抗酸染色显微镜检查具有操作简便快捷的优点,但其灵敏度较低,且不具备区分MTB与其他非MTB的能力<sup>[6-7]</sup>。相比之下,培养法虽特异度较高,但MTB生长周期长,对疾病的早期确诊构成障碍。尽管传统的病原微生物检测技术仍在临床PTB诊断中占据一席之地,然而,它们在灵敏度、特异度、时效性以及信息全面性等方面存在局限,特别是在面对未知或罕见病原体时,难以实现迅速鉴别<sup>[8]</sup>。其中,抗酸染色涂片技术仅能提供分枝杆菌感染的线索,本研究数据显示其灵敏度仅为31.82%,且无法将MTB与非MTB加以区分。近年来,tNGS技术在PTB诊断领域的应用逐渐凸显其重要性。该技

术结合了纳米孔测序的高读长优势与靶向测序的高特异度,为PTB的早期诊断及耐药性分析开辟了新的道路。与早期的测序技术相比,纳米孔tNGS展现出更高的测序通量、更长的读取长度以及实时检测的功能,从而显著加快了样本分析的速度,该技术有望成为结核病诊断领域的一次革新<sup>[9-10]</sup>。tNGS通过多重PCR技术富集特定病原体的核酸,随后进行高通量测序,以提升检测的灵敏度和简化生物信息学分析<sup>[11]</sup>。纳米孔tNGS结合了这两种技术的优势,既提高了检测的特异度,又保留了长读长的特点<sup>[12-13]</sup>。该技术能够富集MTB的核酸,进而提高检测的灵敏度。多项研究已证实,与传统培养方法相比,纳米孔tNGS在PTB诊断中的灵敏度有了显著提升。本研究结果,纳米孔tNGS的灵敏度75.76%,显著高于传统培养方法。纳米孔tNGS技术可以在较短时间内完成从样本处理到结果输出的全过程<sup>[14]</sup>。相比传统培养方法需要数周甚至数月的时间,纳米孔tNGS能够在几天甚至几小时内得出诊断结果,有助于实现PTB的早期诊断。此外,纳米孔tNGS不仅能够检测MTB的存在,还能同时分析其对多种抗结核药物的耐药性<sup>[15]</sup>。因此,借助对MTB基因组中耐药基因变异的检测,纳米孔tNGS技术能够为临床医生提供定制化的药物治疗指导,从而提升治疗效果。

通过研究表明,纳米孔tNGS技术在PTB诊断中展现出显著优势,如高灵敏度、快速检测耐药基因等,但其局限性仍不可忽视。纳米孔tNGS对真菌等微生物的检测敏感度较低,可能漏诊混合感染中的低丰度病原体。临床研究显示,该技术虽能缩短检测时间至16~17h,但存在假阴性问题,尤其在样本质量不佳或病原体载量低时,检测可靠性可能下降。耐药基因检测的临床意义存在局限性,例如部分突变位点与耐药表型的关联性尚未完全明确,导致检测结果与实际耐药情况存在偏差。因此,未来需通过优化技术流程、建立标准化操作规范、降低检测成本等措施,提升纳米孔tNGS在PTB诊断中的实用性和可靠性。综上,纳米孔tNGS技术为PTB的早期诊断及耐药性分析带来了创新的解决方案。随着该技术的持续发展与完善,其在PTB防控领域的应用潜力有望得到进一步释放。展望未来,随着样本处理流程、测序平台及数据分析技术的不断优化,纳米孔tNGS技术有望成为PTB诊断的主流手段之一。同时,加大对相关技术培训和推广的力度,提升临床医生和实验室工作人员对纳米孔tNGS技术的认知与应用技能,也是当前的重要任务。

#### 参考文献:

[1] 钟业腾,陈灼霖,王洁莹,等.海南省肺部感染患者非结核分枝杆菌的菌种鉴定分析[J].疾病监测,2022,

37(8):1054-1059.

ZHONG Y T, CHEN Z L, WANG J Y, et al. Species identification of non-*Tuberculous mycobacteria* from patients with pulmonary infection in Hainan [J]. *Disease Surveillance*, 2022, 37(8): 1054-1059.

[2] LIU Z F, YANG Y, WANG Q F, et al. Diagnostic value of a nanopore sequencing assay of bronchoalveolar lavage fluid in pulmonary tuberculosis [J]. *BMC Pulmonary Medicine*, 2023, 23(1): 77.

[3] 胡静,甘红辉,刘学礼,等.老年肺结核患者外周血中VPS33A水平表达与临床预后的相关性研究[J].现代检验医学杂志,2024,39(5):162-167.

HU J, GAN H H, LIU X L, et al. Study on the correlation between the expression of VPS33A level in peripheral blood of elderly patients with pulmonary tuberculosis and clinical prognosis [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2024, 39(5): 162-167.

[4] 刘菁,王宇,汤艳芬,等.肺结核患者血清HLA-B27和SAA水平表达与病情严重程度及并发肺部其他病原菌感染的相关性研究[J].现代检验医学杂志,2025,40(1):132-137.

LIU J, WANG Y, TANG Y F, et al. Study on the correlation between the expression of serum HLA-B27 and SAA levels in patients with pulmonary tuberculosis and the severity of the disease and the infection of other pulmonary pathogens[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2025, 40(1): 132-137.

[5] 赵艳丽,车南颖.《结核病病理学诊断规范》团体标准解读[J].中国防痨杂志,2024,46(4):371-374.

ZHAO Y L, CHE N Y. Interpretation of social organization standard of specification for pathological diagnosis of tuberculosis [J]. *Chinese Journal of Antituberculosis*, 2024, 46(4): 371-374.

[6] 王玉静,陆梓涔,陈俊煜,等.高通量测序技术的发展及其在临床检测中的应用[J].厦门大学学报(自然科学版),2021,60(5):811-820.

WANG Y J, LU Z C, CHEN J Y, et al. Development of the high-throughput sequencing technology and its application in clinical detection[J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2021, 60(5): 811-820.

[7] WANG X Q, WEI X J, VAN DER ZALM M M, et al. Quantitation of circulating *Mycobacterium tuberculosis* antigens by nanopore biosensing in children evaluated for pulmonary tuberculosis in South Africa [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(21): 21093-21104.

[8] 梅金周,王云霞,张梅娟,等.基于全基因组测序的宝安区耐药结核菌株基因突变及其特征分析[J].现代预防医学,2021,48(23):4345-4348.

MEI J Z, WANG Y X, ZHANG M J, et al. Analysis on genetic mutations and characteristics of drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* based on whole-genome sequencing in Bao'an district[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 48(23): 4345-4348.

[9] 秦翊翔,蓝如束,覃慧芳,等.广西壮族自治区结核分枝杆菌异烟肼与利福平耐药基因联合突变特征分析[J].疾病监测,2022,37(6):787-791.

QIN Y X, LAN R S, QIN H F, et al. Characterization of combined mutation of isoniazid and rifampicin resis-

- tance genes in *Mycobacterium tuberculosis* in Guangxi[J]. Disease Surveillance, 2022, 37(6): 787-791.
- [10] 陈佳璐,黄硕. 纳米孔测序技术在核酸修饰检测中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2023, 44(3): 119-129.  
CHEN J L, HUANG S. Applications of nanopore sequencing technology in the detection of nucleic acid modifications[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2023, 44(3): 119-129.
- [11] CHEN S T, WANG C L, ZOU Y J, et al. Tuberculosis-targeted next-generation sequencing and machine learning: an ultrasensitive diagnostic strategy for paucibacillary pulmonary tuberculosis and tuberculous meningitis [J]. Clinica Chimica Acta, 2024, 553: 117697.
- [12] 雷卉,张书,李婷,等. 基于全基因组测序的四川省22例复发肺结核患者感染模式及耐药情况分析[J]. 中国防痨杂志,2024,46(6):641-647.  
LEI H, ZHANG S, LI T, et al. Analysis of infection patterns and drug resistance of 22 recurrent pulmonary tuberculosis patients in Sichuan based on whole-genome sequencing[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2024, 46(6): 641-647.
- [13] 徐钰,何玉坤,周德训,等. 基于宏基因组测序的肺结  
核患者下呼吸道微生态菌落分布特点分析[J]. 中国防痨杂志,2024,46(6):634-640.  
XU Y, HE Y K, ZHOU D X, et al. Analysis of the distribution characteristics of microbial communities in the lower respiratory tract of pulmonary tuberculosis patients based on metagenomic sequencing[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2024, 46(6): 634-640.
- [14] YU G C, SHEN Y Q, YAO L W, et al. Evaluation of nanopore sequencing for diagnosing pulmonary tuberculosis using negative smear clinical specimens [J]. Infection and Drug Resistance, 2024, 17(5): 673-682.
- [15] 张述耀,侯铁英,黎小妍,等. 纳米孔测序在病原微生物检测中的应用专家共识[J]. 中国药房, 2024, 35(14): 1673-1682.  
ZHANG S Y, HOU T Y, LI X Y, et al. Expert consensus on the application of nanopore sequencing technology in the detection of pathogenic microorganisms [J]. Chinese Pharmacy, 2024, 35(14): 1673-1682.
- 收稿日期: 2025-01-09  
修回日期: 2025-06-05
- (上接第4页)
- 法的建立和应用评估[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2024, 42(5): 608-614, 622.  
XU G L, FENG Y Y, HU W. Establishment and application evaluation of a rapid visualization detection method for *Schistosoma Japonicum* specific nucleic acid fragments based on RPA-CRISPR/Cas12a technology[J]. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, 2024, 42(5): 608-614, 622.
- [12] ZHAO L X, QIU M Y, LI X J, et al. CRISPR-Cas13a system: a novel tool for molecular diagnostics [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1060947.
- [13] CUI H, XU S Q, XU X, et al. Multienzyme isothermal rapid amplification and lateral flow dipstick combination assay for visible detection of chicken chaphamaparvovirus [J]. Poultry Science, 2023, 102(12): 103144.
- [14] 王思琦,吴泽,余楠. 基于CRISPR-Cas12a系统的病原体核酸床旁检测技术方法研究的最新进展[J]. 现代检验医学杂志,2025,40(1):213-220.  
WANG S Q, WU Z, YU N. Research advances in pathogen nucleic acid point-of-care testing techniques based on CRISPR-Cas12a system[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2025, 40(1): 213-220.
- [15] RAABE V N, SHANE A L. Group B *Streptococcus*(*Streptococcus agalactiae*)[J]. Microbiology Spectrum, 2019, 7(2): 10.1128/microbiolspec.gpp3-0007-2018.
- [16] UM S, HER J, KIM S H, et al. Performance of BD MAX group B *Streptococcus* (GBS) assay without enrichment for the detection of GBS[J]. Annals of Laboratory Medicine, 2022, 42(4): 478-481.
- [17] 黄晓玲,郭继忠,翁立坚,等. 新生儿B族链球菌脑膜炎的临床特点分析[J]. 中国妇幼保健, 2025, 40(4): 646-649.  
HUANG X L, GUO J Z, WENG L J, et al. Analysis of clinical characteristics of neonates with group B *Streptococcal* meningitis[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2025, 40(4): 646-649.
- [18] MEGLI C J, CARLIN S M, GIACOB E J, et al. Virulence and pathogenicity of group B *Streptococcus*: virulence factors and their roles in perinatal infection[J]. Virulence, 2025, 16(1): 2451173.
- [19] RUIJTER J M, BARNEWALL R J, MARSH I B, et al. Efficiency correction is required for accurate quantitative PCR analysis and reporting[J]. Clinical Chemistry, 2021, 67(6): 829-842.
- [20] PARK J W. Principles and applications of loop-mediated isothermal amplification to point-of-care tests[J]. Biosensors-Basel, 2022, 12(10): 857.
- [21] SOROKA M, WASOWICZ B, RYMASZEWSKA A. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): the better sibling of PCR?[J]. Cells, 2021, 10(8): 1931.
- [22] 周健,付爱华,彭静,等. 基于RPA/CRISPR-Cas12a技术的马铃薯早疫病病菌快速检测方法[C]//中国植物病理学会2024年学术年会. 云南师范大学生命科学学院; 云南省马铃薯生物学重点实验室, 2024.  
ZHOU J, FU A H, PENG J, et al. Rapid detection method for potato early blight pathogen based on RPA/CRISPR-Cas12a technology[C]. 2024 Annual Conference of the Chinese Society of Plant Pathology. School of Life Sciences, Yunnan Normal University; Yunnan Provincial Key Laboratory of Potato Biology, 2024.
- [23] YANG Y X, YI W F, GONG F, et al. An all-in-one assay based on CRISPR/Cas13a and a DNA circuit for rapid and ultrasensitive detection of *Echovirus* 11 [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2023, 388: 133851.
- [24] LIU Y G, LIN L Y, WEI H G, et al. Design and development of a rapid meat detection system based on RPA-CRISPR/Cas12a-LFD[J]. Current Research in Food Science, 2023, 7: 100609.
- [25] HAN M Y, XIE C, HUANG Q Q, et al. Evaluation of Xpert GBS assay and Xpert GBS LB assay for detection of *Streptococcus agalactiae*[J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2021, 20(1): 62.
- 收稿日期: 2025-03-27  
修回日期: 2025-05-12