

doi:10.11816/cn.ni.2025-241984



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

• 论 著 •

靶向高通量测序技术对急性呼吸道感染病原体诊断效能的 Meta 分析

徐梓轩^{1,2}, 夏金荣³, 许飞杨⁴, 王冠杰⁴, 濮紫晗², 蒋龙凤^{2,5}, 陈文森^{1,2}, 胡必杰^{6,7,8}, 杨悦^{1,2,6,9}

1. 南京医科大学第一附属医院感染管理处, 江苏 南京 210029; 2. 南京医科大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029; 3. 南京医科大学第二临床医学院, 江苏 南京 210011; 4. 南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 211166; 5. 南京医科大学第一附属医院感染病科, 江苏 南京 210029; 6. 上海市重大传染病和生物安全研究院, 上海 200032; 7. 复旦大学附属中山医院感染病科 8. 医院感染管理科, 上海 200032; 9. 江苏省人民医院重庆医院(南京医科大学第一附属医院重庆医院)国家区域医疗中心建设办公室, 重庆 綦江 401420

摘要: **目的** 通过 Meta 分析探究靶向高通量测序(t-NGS)对呼吸道病原体的诊断价值,为临床应用提供参考。**方法** 检索 PubMed 数据库、Web of Science 数据库、万方数据库、CNKI 数据库、Sinomed 数据库,检索时间范围为 2010 年 1 月—2024 年 5 月。通过既定标准筛选文献,利用 QUADAS-2 评估质量,Revman 5.4 绘制偏倚风险图,Stata 16.0 进行数据分析。**结果** 本研究纳入 9 篇文献。Meta 分析结果显示,灵敏度异质性检验 $Q = 268.21, P < 0.01, I^2 = 97.02\%$; 特异度异质性检验 $Q = 210.04, P < 0.01, I^2 = 96.19\%$; 合并灵敏度 = 0.88 (95%CI: 0.62~0.97); 合并特异度 = 0.68 (95%CI: 0.41~0.86); 合并阳性似然比 = 2.72 (95%CI: 1.44~5.15); 合并阴性似然比 = 0.18 (95%CI: 0.06~0.53); 合并诊断分值 = 2.74 (95%CI: 1.68~3.80); 合并诊断比值比 = 15.44 (95%CI: 5.34~44.66)。综合受试者工作特征(SROC)曲线下面积(AUC) = 0.85 (95%CI: 0.82~0.88)。Deeks 漏斗图结果显示 $P = 0.99$, 提示没有明显的发表偏倚。**结论** tNGS 在急性呼吸道感染病原体检测中具有较高的灵敏度,特异度有待提高,但其综合能力较好,对早期临床诊断具有一定的价值。

关键词: 靶向高通量测序; 呼吸道感染; 病原体; Meta 分析; 诊断价值

中图分类号: R446 文献标识码: A 文章编号: 1005-4529(2025)18-2731-05

Efficiency of targeted next-generation sequencing in diagnosis of pathogens causing acute respiratory tract infections: a meta-analysis

XU Zixuan*, XIA Jinrong, XU Feiyang, WANG Guanjie, PU Zihan, JIANG Longfeng, CHEN Wensen, HU Bijie, YANG Yue

* The First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Abstract: **OBJECTIVE** To explore the value of targeted next-generation sequencing (t-NGS) in diagnosis of respiratory tract pathogens through meta-analysis so as to provide reference for clinical application. **METHODS** PubMed database, Web of Science database, Wanfang database, CNKI database and Sinomed database were retrieved, and the time period of retrieval ranged from Jan. 2010 to May 2024. The literatures were screened out based on the established standards. The quality was assessed by QUADAS-2, the risk of bias graph was drawn by Revman 5.4,

收稿日期: 2024-12-20

基金项目: 国家卫生健康委卫生发展研究中心感控循证研究项目(2020-53); 上海申康医院发展中心市级医院诊疗技术推广及优化管理项目(SHDC22024315); 复旦大学医院感染与控制研究所(2024XKPT37); 南京医科大学大学生创新创业训练计划项目(X2025103120040)

通讯作者: 杨悦, E-mail: yangyue@jsph.org.cn

作者简介: 徐梓轩(2005—), 女, 本科在读, 研究方向: 呼吸系统疾病

引用本文: 徐梓轩, 夏金荣, 许飞杨, 等. 靶向高通量测序技术对急性呼吸道感染病原体诊断效能的 Meta 分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2025, 35(18): 2731-2735. doi:10.11816/cn.ni.2025-241984

and the statistical analysis was performed by Stata 16.0. **RESULTS** A total of 9 literatures were included in the study. The result of meta-analysis showed that the heterogeneity test Q for sensitivity was 268.21, $P < 0.01$, $I^2 = 97.02\%$, with the heterogeneity test Q for specificity 210.04, $P < 0.01$, $I^2 = 96.19\%$, the combined sensitivity 0.88(95%CI:0.62 to 0.97), combined specificity 0.68(95%CI:0.41 to 0.86), combined positive likelihood ratio 2.72(95%CI:1.44 to 5.15), combined negative likelihood ratio 0.18(95%CI:0.06 to 0.53), combined diagnosis score 2.74(95%CI:1.68 to 3.80), and combined diagnostic odds ratio 15.44(95%CI:5.34 to 44.66). The area under synthesize receiver operating characteristic (SROC) curve (AUC) was 0.85 (95%CI:0.82 to 0.88). The result of Deeks funnel plot showed that P was 0.99, indicating that there was no obvious publication bias. **CONCLUSIONS** The sensitivity of tNGS is high in detection of the pathogens causing acute respiratory tract infection, the specificity needs to be improved, but its comprehensive ability is satisfactory. It has certain value in early clinical diagnosis.

Keywords: Targeted next-generation sequencing; Respiratory tract infection; Pathogen; Meta-analysis; Diagnostic value

急性呼吸道感染在儿童、老年人以及免疫低下群体发病率与病死率相对较高,感染病原体复杂^[1]。传统病原体主要通过分离培养、抗原或抗体检测来确定^[2],然而这些方法具有部分缺点,包括灵敏度低、特异度低、标本检测周期时间较长,且不能在单个样本中检测多种病原体^[3],难以满足临床需要。

近几年,分子生物学检测方法不断发展,目前二代测序(Next-generation sequencing, NGS)逐步应用于感染性疾病的临床实践,包括宏基因组学二代测序(Metagenomics next-generation sequencing, mNGS)和靶向高通量测序(Targeted next-generation sequencing, tNGS)等^[3]。其中 tNGS 具有灵敏度高^[4]、特异性高、覆盖度广且快捷便利的特点,相比于 mNGS, tNGS 测序成本更低、检测快速^[3]。但是目前 tNGS 的临床研究仍有限,尚未在临床实践中得到广泛应用。为了科学评价 tNGS 检测呼吸道感染病原体的价值,并推动其在临床实践中的优化应用,本研究检索了相关文献并据此进行 Meta 分析。

1 资料与方法

1.1 文献检索策略 检索 PubMed 数据库、Web of Science 数据库、万方数据库、CNKI 数据库、Sinomed 数据库。检索时间限定为 2010 年 1 月—2024 年 5 月。英文检索词包括:Respiratory Pathogens, respiratory infection, targeted next-generation sequencing, tNGS。中文检索词包括:tNGS, 靶向测序, 呼吸道感染, 呼吸道病原体。本研究已预先在国际系统综述注册平台 PROSPERO(<https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>)中注册,注册号为 CRD420251071788。

1.2 文献纳入与排除标准 纳入标准:(1)确诊为呼吸道感染人群,且有明确的诊断标准,包括影像学检查、医院实验室检查、病原体传统培养等。(2)检

测方法中包括 tNGS 检测。(3)文献含有能够构建四格表的数据,包括真阳性值、假阳性值、真阴性值、假阴性值。(4)文献语言为中文或英文。排除标准:(1)无法获取全文的文章。(2)文献中无法提取有效数据。(3)样本量少于 50。(4)学位论文、病例报告、讲座、综述等类型文献。

1.3 文献筛选与数据提取 遵循既定的检索策略,将筛选的文献导入 EndNote,去除重复项。通过审阅标题和摘要,排除不相关的文献。对剩余文献进行全文阅读,以确定是否符合研究要求。提取文献信息并录入 Excel 数据表,所录入的信息涵盖:作者、发表时间、国家、样本量、四格表数据。

1.4 文献质量评价 在 Revman 5.4 中使用 QUADAS-2 工具对纳入研究的诊断准确性研究进行质量评估和偏倚风险分析,包含病例的选择、待评价试验、参考标准、病例流程和进展情况四个方面。根据结果绘制偏倚风险图。

1.5 统计分析 本研究使用 Stata 16.0 软件进行 Meta 分析,以评估敏感性和特异性的异质性,并确定研究间的一致性。通过合并各个研究的数据点,构建综合受试者工作特征(Synthesize receiver working characteristic, SROC)曲线,并计算曲线下面积(Area under the curve, AUC)及其 95%置信区间。使用 Spearman 相关分析来检测是否存在阈值效应,利用 P 值评估纳入研究之间的异质性,结合 I^2 统计量来量化异质性的程度。当 $P > 0.05$ 且 $I^2 \leq 50\%$ 时,则选择固定效应模型;否则,认为存在显著异质性,采用随机效应模型来处理各项诊断指标。采用 Deeks 漏斗图探究文献发表偏倚。

2 结果

2.1 文献筛选流程及结果 根据既定的检索策略,在各个数据库中检索到总共 1 260 篇文献。在初步

筛选过程中,排除 272 篇重复文献,剩下 988 篇。通过审阅文献的标题和摘要,进一步排除 963 篇不满足研究主题或条件的文献,剩下 25 篇待进一步分析。在对全文进行仔细阅读后,再次排除 16 篇文献,最终纳入 9 篇文献进行研究分析。文献筛选的具体流程和结果详见图 1。

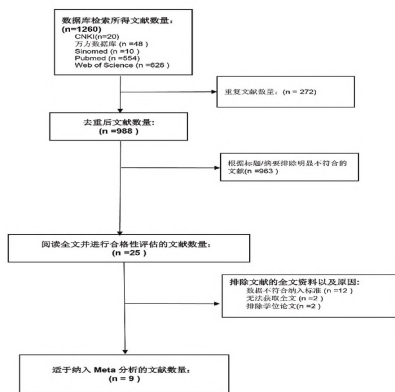


图 1 文献筛选流程图

Figure 1 Screening flowchart of literatures

2.2 文献基本特征 本研究共纳入 9 篇文献,其中 7 篇来自国内,2 篇来自国外,共包括 1 273 例患者。根据真阳性值、假阳性值、真阴性值和假阴性值,计算得出每项研究的敏感度和特异度。敏感度最小值为 0.35,最大值为 1.00;特异度最小值为 0.06,最大值为 0.92。纳入文献的基本特征见表 1。

2.3 文献质量评价 利用 QUADAS-2 评价工具对所纳入的 9 篇文献进行了质量评估,评估结果见图 2。总体来看,结果均呈现较低的偏倚风险。

2.4 Meta 分析结果

2.4.1 异质性检验 tNGS 森林图显示异质性检验结果:在灵敏度分析中, $Q=268.21, P<0.01, I^2=97.02\%$,灵敏度的异质性具有统计学意义,异质性较为显著;在特异度分析中, $Q=210.04, P<0.01, I^2=96.19\%$,特异度的异质性具有统计学意义。因此,采用随机效应模型对各效应值进行合并处理,结果见图 3。

2.4.2 合并效应量结果 合并灵敏度=0.88 (95%CI:0.62~0.97),合并特异度=0.68(95%

表 1 纳入文献的基本特征

Table 1 The basic characteristics of the enrolled literatures

序号	作者	年份	国家	样本数	检测方法	真阳性值	假阳性值	假阴性值	真阴性值	敏感度	特异度
1	Thorburn 等 ^[5]	2015	新西兰	89	tNGS	41	12	7	29	0.85	0.71
2	Gaston 等 ^[6]	2022	美国	241	tNGS	56	17	66	102	0.46	0.86
3	陈华等 ^[7]	2023	中国	212	tNGS	100	7	22	83	0.82	0.92
4	倪晓洁等 ^[8]	2023	中国	50	tNGS	15	32	1	2	0.94	0.06
5	颜新生等 ^[9]	2023	中国	102	tNGS	60	35	0	7	1.00	0.17
6	廖毓香等 ^[10]	2024	中国	295	tNGS	288	1	2	4	0.99	0.80
7	Ye 等 ^[11]	2024	中国	52	tNGS	32	3	8	9	0.80	0.75
8	Zhang 等 ^[12]	2024	中国	129	tNGS	53	3	56	17	0.49	0.85
9	Zheng 等 ^[13]	2024	中国	103	tNGS	25	4	47	27	0.35	0.87

CI:0.41~0.86),合并阳性似然比=2.72(95%CI:1.44~5.15),合并阴性似然比=0.18(95%CI:0.06~0.53),合并诊断分值=2.74(95%CI:1.68~3.80),合并诊断比值比=15.44(95%CI:5.34~44.66)。SROC 的 AUC=0.85(95%CI:0.82~0.88),显示具有较好的诊断价值。

2.5 文献发表偏倚 绘制 Deeks 漏斗图,结果显示 $P=0.99$,提示文献没有存在明显的发表偏倚。见图 4。

3 讨论

本研究基于系统评价与 Meta 分析方法,整合 9 项诊断性研究,共纳入 1 273 例样本,通过构建双变量混合效应模型评估 tNGS 对呼吸道病原体的诊断

效能。本文显示,tNGS 技术的 SROC 曲线 AUC=0.85,相比传统微生物培养和涂片的金标准,其在诊断呼吸道感染性病原体方面显示出了较高的诊断价值。

早期诊断呼吸道感染病原体是有效治疗的关键。然而,传统检测方法的一个共同问题是检测到的病原体的广度有限^[14]。tNGS 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^[3]。tNGS 作为一项新技术,有望增强临床诊断病原体的能力^[15]。

有研究^[6]显示 tNGS 和 mNGS 病原微生物检测能力相似,mNGS 在检测肺部感染细菌方面表现出更高的灵敏度^[16]。由于 mNGS 的高成本^[17],

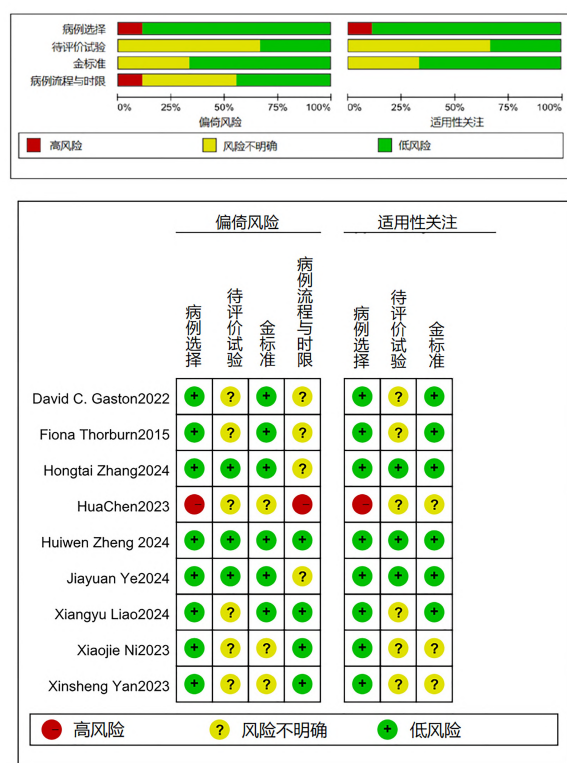


图2 质量评价的偏倚风险图

Figure 2 The risk of bias plot for assessment of quality

tNGS在实际应用中更易被患者接受。同时关于tNGS在呼吸道病原体诊断方面的性能和价值的研究逐渐增多,但有研究显示其特异性较差^[18],诊断价值未达成共识。

本文 Meta 分析结果显示,灵敏度和特异度分别为 0.88 和 0.68,这表明 tNGS 在识别目标病原体方面具有较高的敏感性和中等水平的特异性,能够有效降低漏检风险,但在排除非目标病原体干扰方面仍需进一步优化。敏感性(0.88)与部分研究者所报道的敏感度(0.99)^[9-10]相比,本研究结果存在一定差距,深入分析表明,差异主要源于两方面:其一,本研究纳入的样本包括肺泡灌洗液和痰液,前者的敏感度显著高于后者,可能因后者受上呼吸道定植菌干扰所致^[19];其二纳入研究涵盖具有复杂细胞壁的病原体如结核分枝杆菌,造成核酸提取效率低^[20-21]、检测性能下降。尽管 tNGS 在灵敏度上表现优异,但其特异度中等,主要归因于以下三点:首先,在正常生理情况下,呼吸道微生物群落中存在部分病原微生物^[22],呼吸道常见定植菌(如肺炎链球菌)信号尽管丰度较低,有可能会被 tNGS 错误判断为致病菌^[23];其次,环境中微生物 DNA 污染或宿主

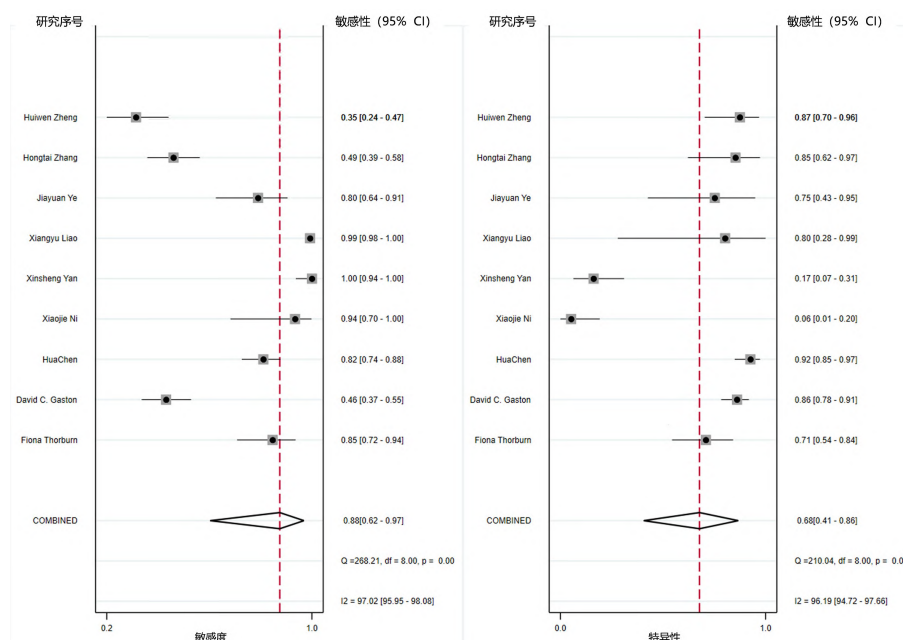


图3 tNGS 诊断呼吸道病原体的森林图

Figure 3 Forest plot of tNGS in diagnosis of respiratory tract pathogens

核酸残留可致假阳性,若试剂未控制背景菌,则临床常见病原体(如大肠杆菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌)可能同时存在于核酸提取及试剂背景中,使得微生物来源难以判断;最后,传统培养法作为临床微

生物学“金标准”在病毒及厌氧菌检测中存在显著局限性,可能导致 tNGS 检测存在部分阳性结果^[24-25], Miller 等^[26]以及 Grumaz 等^[27]曾有相关研究报道。

本研究尚存在一些不足。首先,针对 tNGS 的

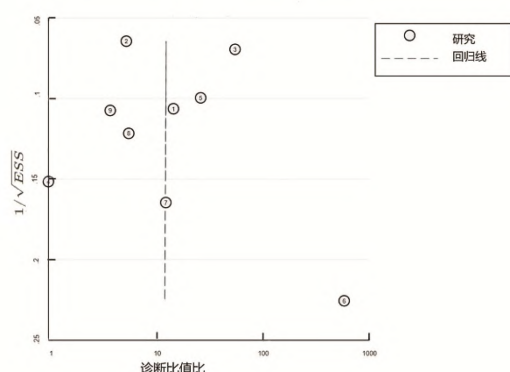


图 4 Deeks 漏斗图

Figure 4 Deeks funnel plot

诊断性研究相关文献数目较少且研究时间较短,可能存在一定的发表偏倚;其次,由于所纳入的文献数量有限,未能进一步开展亚组分析以深入探究本研究结果异质性的来源;最后,部分研究的样本量偏小,且纳入样本选择存在偏倚,可能对评估 tNGS 的诊断准确性有一定限制。

参考文献

- [1] 张玉林,曹彬. 呼吸道感染的病原学检测及其临床应用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2024, 47(5): 497-500.
- [2] 马鹏程,陈榆. 呼吸道病原体检测方法研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2024, 24(1): 118-122.
- [3] 赵聪琳,刘凯,周永召. 靶向二代测序技术与宏基因组二代测序技术在病原微生物检测中的应用[J]. 中华预防医学杂志, 2024, 58(1): 114-121.
- [4] Bursle E, Robson J. Non-culture methods for detecting infection[J]. Aust Prescr, 2016, 39(5): 171-175.
- [5] Thorburn F, Bennett S, Modha S, et al. The use of next generation sequencing in the diagnosis and typing of respiratory infections[J]. J Clin Virol, 2015, 69: 96-100.
- [6] Gaston DC, Miller HB, Fissel JA, 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.
- [7] 陈华,陈品儒,李艳阳,等. 靶向高通量测序鉴定非结核分枝杆菌菌种的应用价值[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(4): 362-366.
- [8] 倪晓洁,单洪武,王翔,等. 肺泡灌洗液靶向高通量测序在确定成人下呼吸道感染病原体中的应用[J]. 名医, 2023(4): 57-59.
- [9] 颜新生,张丹,王栋,等. 疑似肺炎患者 BALF 样本应用 tNGS 技术进行病原学诊断的价值研究[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(5): 12-16.
- [10] 廖毓香,朱水泉,伍桂雄,等. 靶向高通量测序技术(tNGS)在下呼吸道感染病原体检测中的诊断价值[J]. 系统医学, 2024, 9(6): 81-83, 87.
- [11] Ye JY, Huang K, Xu YJ, et al. Clinical application of nanopore-targeted sequencing technology in bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary infections[J]. Microbiol Spectr, 2024, 12(6): e0002624.
- [12] Zhang HT, Dai XW, Hu PL, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing and the Xpert MTB/RIF assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical isolates and sputum specimens[J]. Microbiol Spectr, 2024, 12(5): e0409823.
- [13] Zheng HW, Yang HM, Wang YH, et al. Diagnostic value of tNGS vs Xpert MTB/RIF in childhood TB[J]. Heliyon, 2024, 10(1): e23217.
- [14] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. Annu Rev Pathol, 2019, 14: 319-338.
- [15] Qian YY, Wang HY, Zhou Y, et al. Improving pulmonary infection diagnosis with metagenomic next generation sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 567615.
- [16] Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(5): 778-788.
- [17] 周健,师永霞,张璐,等. 靶向二代测序研究进展[J]. 中国口岸科学技术, 2024, 6(4): 4-8.
- [18] Davidson KR, Ha DM, Schwarz MI, et al. Bronchoalveolar lavage as a diagnostic procedure: a review of known cellular and molecular findings in various lung diseases[J]. J Thorac Dis, 2020, 12(9): 4991-5019.
- [19] 陆旻雅,郭佳钰,张栋,等. 宏基因组高通量测序技术在中枢神经系统感染性疾病中的临床价值分析[J]. 协和医学杂志, 2023, 14(5): 1005-1010.
- [20] 文岚,王孝君,郭彦昌,等. 痰中结核分枝杆菌 DNA 提取方法的比较及在 LAMP 检测中的应用[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2013, 10(3): 61-65.
- [21] Kumpitsch C, Koskinen K, Schopf V, et al. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease[J]. BMC Biol, 2019, 17(1): 87.
- [22] Dai Y, Sheng K, Hu L. Diagnostic efficacy of targeted high-throughput sequencing for lower respiratory infection in pre-term infants[J]. Am J Transl Res, 2022, 14(11): 8204-8214.
- [23] 高通量测序共识专家组,初乃惠,黄海荣,等. 高通量测序技术在分枝杆菌病诊断中的应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2023, 41(3): 175-182.
- [24] 邱会茹,王佳琳,薛文成,等. PCR-HRM 方法分析 16S rRNA 基因进行细菌鉴定的可行性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3): 37-41.
- [25] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 341-355.
- [26] Miller S, Naccache SN, Samayoa E, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. Genome Res, 2019, 29(5): 831-842.
- [27] Grumaz S, Stevens P, Grumaz C, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in septic patients[J]. Genome Med, 2016, 8(1): 73.