

· 综述 ·

纳米孔测序技术在感染性疾病快速诊断及治疗中的应用

赵缦娜 赵卫峰

苏州大学附属第一医院感染科, 苏州 215006

通信作者: 赵卫峰, Email: zhaoweifeng@suda.edu.cn

【摘要】 感染性疾病是威胁全球人类健康的主要问题。目前临床病原体快速诊断的方法仍有局限性, 纳米孔测序作为新一代测序的新方法因具有超长读长、实时测序、设备便携和成本低等独特优势, 被医学领域广泛关注和应用。本文就纳米孔测序技术的原理、优势及其在临床感染性疾病快速诊断和指导抗生素治疗中的应用进行介绍, 并探讨该技术未来的发展。

【关键词】 纳米孔测序; 感染性疾病; 病原学检测; 耐药基因; 抗生素应用

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20231103-00071

Nanopore sequencing technology in the rapid diagnosis and treatment of infectious diseases

Zhao Manna, Zhao Weifeng

Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Zhao Weifeng, Email: zhaoweifeng@suda.edu.cn

【Abstract】 Infectious diseases remain a major threat to human health on a global scale. Current methods for rapid diagnosis of clinical pathogens still have limitations. Nanopore sequencing, as a novel method for next-generation sequencing, has unique advantages such as ultra-long reads, real-time sequencing, portable equipment, and low cost, which has been widely focused on and applied in the medical field. This review introduces the principles and advantages of nanopore sequencing technology, and discusses its application in the rapid diagnosis of pathogens and guidance of antibiotic treatment. It also discusses the future development of this technology.

【Key words】 Nanopore sequencing; Infectious diseases; Pathogen detection; Drug-resistance gene; Antibiotic application

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20231103-00071

感染性疾病具有传播迅速、病因复杂、累及部位多样的特点, 由于病原体诊断困难、临床诊疗决策困难等原因, 导致死亡率居高不下^[1-4]。快速诊断和精准用药是决定感染性疾病预后的两大重要因素。目前, 针对感染性疾病的病原学检测方法主要包括: 基于培养法的传统微生物学检测、基于抗原抗体的血清学检测、基于分子生物学技术的 PCR 和高通量测序技术。传统微生物检测方法仍有局限性, 以血培养为例, 培养周期长(2~5 d)且仅限可培养病原体。近年来, 高通量、宏基因组二代测序(next-generation sequencing, NGS)发展迅速, 该方法无需特异性扩增病原体, 也无需通过长时间的微生物培养^[5-6], 这弥补了传统检测技术的局限性, 为解决不明原因感染疾病提供新思路。然而, 以 Illumina 为代表的 NGS 平台, 多基于短序列组合(读长 50~300 bp), 无法实时分析检测结

果, 存在周转时间较慢(约 10 h)等缺点^[7-9]。牛津纳米孔测序技术(Oxford Nanopore Technologies, ONT)为代表的三代测序技术^[10], 解决了目前 Illumina 平台无法实时测序及短读长测序分析困难等问题, 对解读微生物基因组提供新的检测技术^[11]。越来越多研究表明, 纳米孔测序有助于临床快速诊断感染性疾病, 并指导早期抗生素精准用药。

一、纳米孔测序技术的发展

1. 定义及原理

纳米孔测序的概念最早在 1980 年提出, 随着纳米孔和相关运动蛋白技术的发展, 最终在 2014 年 Oxford 公司推出了第一台 MinION 纳米孔测序仪, 纳米孔测序技术开始应用于基础和临床研究领域^[10]。

基于纳米孔测序技术的病原体 NGS, 不需要 PCR 扩增,

而是通过电泳技术对每条核酸分子独立测序。基本原理是利用跨膜电场驱动单链核酸分子穿过纳米孔蛋白,并在该测序过程中对通过纳米孔的单个碱基进行识别和确认^[12-13]。在一层具有高电阻率薄膜上嵌入大量蛋白质构成的纳米孔,将该生物纳米孔薄膜置于含有离子的盐溶液中,利用膜两侧电压,使离子从纳米孔一侧移动到另一侧并产生相应电流。待测核酸分子被薄膜上的接头引入机动蛋白,该蛋白具有解螺旋和限制核酸分子通过速度的功能,并牵引解螺旋的核酸单链分子从负极向正极移动通过纳米孔^[10],可以实现每个碱基依次通过。由于不同碱基的空间构型有差异,通过纳米孔时会产生特定的电信号。通过分析这些电信号的变化,实现对碱基的识别和确认碱基序列,从而实现实时高效的核酸测序^[5]。

2. 纳米孔测序技术的优势

纳米孔测序具有设备便携、超长测序读长、实时测序、成本低的独特优势。首先,纳米孔测序设备更便携,可实现床边快速测序,如 MinION 纳米孔测序仪的体积只有 60 cm³,重量 90 g^[12]。其次,纳米孔测序的读长更长,读段长度范围在数百 bp 到数 Mb 之间,如 MinION 系统一次性可获得最大的读长为 882 kb^[14],为检测病原体耐药基因和毒力基因提供可靠依据。第三,样本可获得性高,仅需要有限的样本制备,通常不需要底物扩增,因此该技术检测速度快,能实时产生测序数据,从而实现对病原体的快速鉴定。纳米孔测序目前已被应用于基因组组装、全长转录组检测和碱基修饰检测,以及其他更专业的临床感染和流行病学领域,如快速临床诊断和疫情监测^[15]。

二、纳米孔测序在临床感染性疾病快速诊断中的应用

1. 呼吸系统感染

有研究招募了 146 例疑似下呼吸道感染的患者,比较靶向纳米孔测序技术和传统培养法对呼吸道样本的检测性能,结果显示靶向纳米孔测序技术的检测灵敏度为 91.1%,周转时间为 16~17 h,传统培养灵敏度为 25.3%,周转时间为 24~72 h^[16]。靶向纳米孔测序技术具有良好的临床检测性能,且能在更短周转时间内完成对病原体的早期诊断,这有助于指导精准抗生素使用和缩短治疗周期。在临床培养困难的病原体中,纳米孔测序技术也具有突出优势,可有助于不明病因感染的诊断。最新报道表明,利用纳米孔测序检测了 18 份肺泡灌洗液样本,对结核分枝杆菌检测的阳性率为 33.3%,而传统培养均为阴性^[17]。Yu 等^[18]对 164 例结核感染患者进行诊断验证性研究,发现纳米孔测序对肺结核诊断准确性最高,将灵敏度从传统培养的 57.8% 提升至 94.8%。因此,纳米孔测序技术可弥补目前临床上结核分枝杆菌确诊难的问题,揭示了其在不明病原感染性疾病诊断中的潜在应用前景^[18-19]。

病毒由于种类多、变异快及培养困难等特点^[10],临床上需依赖基于分子生物学的 PCR 及 NGS 进行检测。COVID-19 疫情中,纳米孔测序弥补了 PCR 检测灵敏度低的局限性,能精准识别 SARS-CoV-2 和流感病毒,有助于早期指导临床抗感染药物的施用和精准诊疗。Li 等^[20]对 1 例疑似 SARS-CoV-2 感染患者的体液行常规 PCR 检测,结果为阴性,但通过纳米孔测序成功检测到 SARS-CoV-2 基因组序列,并利用实时数据分析出病毒变异情况。另外,利用多重 PCR 扩增和 MinION 系统的快速全基因组测序,可实现 SARS-CoV-2 变异株的快速识别,检测时间仅需 30 min^[21],揭示了纳米孔测序技术在新发病原体快速诊断上的应用价值和优势。

2. 血流感染

目前血流感染的诊断金标准仍是血培养,但因其培养周期长、假阴性率高等不足,在临床实践中仍存在局限性。2015 年,Greninger 等^[22]首次使用 MinION 纳米孔测序完成 4 份病毒感染患者的血液样本检测,在 6 h 内完成病原体诊断,大大缩短周转时间。此后更多学者应用纳米孔测序对血流感染患者进行病原学的识别和诊断。2021 年,研究者收集了武汉地区 251 份疑似血流感染患者的血液样本,通过纳米孔测序和血培养方法同时进行鉴定,结果发现纳米孔测序检出病原菌 119 份(47.4%),远远高于血培养的 23 份(9.2%)^[23],这提示该测序方法不仅能快速诊断病原体,还能提高病原体检出率。Hong 等^[24]在 202 例发热性粒细胞减少合并血流感染的患者中,利用纳米孔测序诊断血流感染的病原体,通过与血培养和 PCR 方法进行比较,评估了纳米孔测序临床检测灵敏度为 92.11%,尤其对广谱病原体的鉴定更敏感。因此,纳米孔测序技术不仅弥补了传统血培养周期长、假阴性率高等不足,还可降低因使用抗生素造成的病原体鉴定方面的影响,这对临床快速精准确诊,进而指导抗生素治疗具有重要的临床价值。

3. 中枢神经系统感染

中枢神经系统感染严重时可危及生命或导致严重的后遗症,但由于血脑屏障的存在,有超过 50% 中枢神经系统感染者无法通过传统微生物检测方法检出病原体^[25]。Pallerla 等^[26]对疑似脑膜炎患者的脑脊液使用 MinION 进行测序,并同步行脑脊液培养,结果提示纳米孔测序将病原体诊断灵敏度从培养的 40% 提升至 57%,并可在 6 h 内实现对病原体的检出,不受抗生素使用后低细菌滴度的影响。有报道称通过调整测序方案可以进一步提高灵敏度并缩短 MinION 测序的周转时间^[27]。因此,纳米孔测序弥补了血脑屏障对传统检测方法的影响,当中枢神经系统感染患者的传统培养阴性或诊断困难时,可选择纳米孔测序作为传统检测方法的潜在补充手段,进一步指导临床诊断。

4. 其他感染性疾病

目前纳米孔测序逐渐显示出在其他临床感染中的应用潜力。在消化系统疾病中,肝脓肿患者的传统培养最常见病原体是肺炎克雷伯菌。使用纳米孔测序对肝脓肿内的肺炎克雷伯菌株进行独立分析,不仅能分辨出高毒力型肺炎克雷伯菌,还可检测出更多高毒力序列类型和毒力基因的多样性^[28-29]。在腹水感染性疾病中,传统腹水培养阳性率较低,而纳米孔测序技术对厌氧菌检测灵敏度远高于传统腹水培养^[30]。在泌尿道感染中,纳米孔测序克服了传统培养周转时间长和培养困难的局限性,提高了尿路感染中的病原体检出率,尤其在混合尿路感染中病原体的检出率远高于传统尿液培养,还实现了 6 h 内成功预测耐药表型^[31]。在骨关节感染的病例中,Han 等^[32]针对 36 例膝关节假体感染患者的体液样本检测发现,纳米孔测序鉴定结果与常规培养高度一致,但周转时间明显缩短(10.8 h vs 100.9 h)。可见,纳米孔测序在各个系统感染性疾病中,均能发挥诊断性高、周期短等优势,还能检测耐药基因及毒力基因,这弥补了传统检测方法对感染样本要求高、阳性率低、周期长等局限。

三、纳米孔测序在病原体耐药性预测及指导治疗中的应用

1. 耐药基因检测

检测病原体耐药性是当前临床抗生素治疗的关键问题。早期确定病原体抗菌药物耐药性(associated antimicrobial resistance, AMR)是限制 AMR 基因水平转移和有效治疗的先决条件^[33-34]。纳米孔测序技术的出现,为快速检测病原体和耐药基因提供了新的解决思路。靶向纳米孔测序和多重 PCR 技术相结合,利用引物来特异性扩增临床样本中 AMR 基因,结合序列比对和生物信息学分析,实现在复杂临床样本中获得准确的微生物耐药基因鉴定和表型^[35],还可以检测出新的耐药突变基因位点。此外,基于纳米孔测序的全基因组测序能够在 1~2 h 内快速识别病原体,并检测质粒在不同细菌之间的转移、质粒融合和 AMR 基因重排^[36-37]。目前已报道纳米孔测序可应用于临床常见的肺炎克雷伯杆菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌以及培养困难的结核分枝杆菌,结果均表明纳米孔测序有助于减少传统药敏试验培养时间,提高了对耐药基因预测的准确性^[38-39]。

2. 指导抗生素应用

传统药敏试验耗时周期长,且受限于试验的抗生素种类和微生物的可培养性^[40-41]。有研究报道使用纳米孔测序技术可快速进行 AMR 基因测定,通过确定抗生素的耐药性以及相关耐药基因,用于指导临床治疗。有学者应用 MinION 检测分离出的肺炎克雷伯菌菌株,在 1 h 内快速鉴定出产 β -内酰

胺酶的抗性基因^[42],有望用于血流感染的快速诊断,同时指导早期抗生素精准使用。Chew 等^[43]采用 MinION 和传统药敏试验对念珠菌的耐药基因表型进行评估,两种方法的结果显示,念珠菌对唑类和棘白菌素类药物抗性相关的耐药表型基因具有较高一致性,但前者周转时间更短。纳米孔测序还能监测细菌中耐药基因的进化轨迹^[44],有利于预防多重耐药细菌的产生和传播。

四、展望和不足

纳米孔测序技术作为三代测序的代表,具有超长测序读长、实时测序、便携性强等特点,逐渐被应用于各种临床感染性疾病的快速诊断和指导治疗,但该技术仍存在一些不足之处,如测序准确率尚待提高^[45]等。既往曾报道纳米孔测序对于同一物种的多个菌株类型难以进行有效区分,进而影响正确病原体的诊断^[46]。但随着近年来的不断优化和改进,纳米孔测序结果的准确度和灵敏度已显著提高^[47]。期待将来纳米孔测序技术在临床病原学快速诊断中更广泛地应用,并为指导抗生素临床治疗提供可靠依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] COVID-19 Excess Mortality Collaborators. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: A systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020-21[J]. *Lancet*, 2022, 399(10334): 1513-1536. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02796-3.
- [2] Leng Y, Gao C, Li F, et al. The supportive role of international government funds on the progress of sepsis research during the past decade (2010-2019): A narrative review[J]. *Inquiry*, 2022, 59: 469580221078513. DOI: 10.1177/00469580221078513.
- [3] Zhu L, Hao Y, Li W, et al. Significance of pleural effusion detected by metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of aspiration pneumonia [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:992352. DOI: 10.3389/fcimb.2022.992352.
- [4] McGill F, Griffiths MJ, Bonnett LJ, et al. Incidence, aetiology, and sequelae of viral meningitis in UK adults: A multicentre prospective observational cohort study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(9): 992-1003. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30245-7.
- [5] Xiao K, Zhao D, Luo Y, et al. Streptococcus constellatus causing brain abscess identified by metagenomics next-generation sequencing[J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2022, 23(2): 207-208. DOI: 10.1089/sur.2021.338.
- [6] Sheka D, Alabi N, Gordon P. Oxford nanopore sequencing in clinical microbiology and infection diagnostics[J]. *Brief Bioinform*, 2021, 22(5): bbaa403 [pii]. DOI: 10.1093/bib/bbaa403.
- [7] Han D, Li Z, Li R, et al. mNGS in clinical microbiology laboratories: On the road to maturity[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2019, 45(5-6): 668-685. DOI: 10.1080/1040841X.2019.1681933.

- [8] Han D, Yu F, Zhang D, et al. The real-world clinical impact of plasma mNGS testing: An observational study[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(2): e0398322. DOI: 10.1128/spectrum.03983-22.
- [9] Ashton PM, Nair S, Dallman T, et al. MinION nanopore sequencing identifies the position and structure of a bacterial antibiotic resistance island[J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(3): 296-300. DOI: 10.1038/nbt.3103.
- [10] 林勤清, 周华. 纳米孔测序技术在临床感染性疾病病原诊断中的应用[J]. *现代实用医学*, 2023, 35(3): 281-284. DOI: 10.3969/j.issn.1671-0800.2023.03.001.
- [11] Han D, Li Z, Li R, et al. mNGS in clinical microbiology laboratories: On the road to maturity[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2019,45(5-6): 668-685. DOI: 10.1080/1040841X.2019.1681933.
- [12] Lu H, Giordano F, Ning Z. Oxford nanopore minion sequencing and genome assembly[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14(5): 265-279. DOI: 10.1016/j.gpb.2016.05.004.
- [13] van Dijk EL, Jaszczyszyn Y, Naquin D, et al. The third revolution in sequencing technology[J]. *Trends Genet*, 2018, 34(9): 666-681. DOI: 10.1016/j.tig.2018.05.008.
- [14] Ameer A, Kloosterman WP, Hestand MS. Single-molecule sequencing: Towards clinical applications[J]. *Trends Biotechnol*, 2019, 37(1): 72-85. DOI: 10.1016/j.tibtech.2018.07.013.
- [15] Guliy OI, Evstigneeva SS, Karavaeva OA. Antimicrobial resistance and current methods for its detection[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2023, 15(3): 19. DOI: 10.31083/j.fbe1503019.
- [16] Zhang H, Wang M, Han X, et al. The application of targeted nanopore sequencing for the identification of pathogens and resistance genes in lower respiratory tract infections[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 1065159. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1065159.
- [17] Luo W, He Y, Xu J, et al. Comparison of third-generation sequencing technology and traditional microbiological detection in pathogen diagnosis of lower respiratory tract infection[J]. *Discov Med*, 2023, 35(176): 332-342. DOI: 10.24976/Discov.Med.202335176.34.
- [18] Yu G, Shen Y, Zhong F, et al. Diagnostic accuracy of nanopore sequencing using respiratory specimens in the diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. *Int J Infect Dis*, 2022, 122: 237-243. DOI: 10.1016/j.ijid.2022.06.001.
- [19] Meehan CJ, Goig GA, Kohl TA, et al. Whole genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis*: Current standards and open issues [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(9): 533-545. DOI: 10.1038/s41579-019-0214-5.
- [20] Li Z, Li Y, Chen L, et al. A confirmed case of SARS-CoV-2 pneumonia with negative routine reverse transcriptase-polymerase chain reaction and virus variation in Guangzhou, China[J]. *Clin Infect Dis*, 2021, 73(2): e426-e433. DOI: 10.1093/cid/ciaa941.
- [21] Brinkmann A, Ulm SL, Uddin S, et al. AmpliCoV: Rapid whole-genome sequencing using multiplex PCR amplification and real-time Oxford Nanopore MinION sequencing enables rapid variant identification of SARS-CoV-2 [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12:651151. DOI: 10.3389/fmicb.2021.651151.
- [22] Greninger AL, Naccache SN, Federman S, et al. Rapid metagenomic identification of viral pathogens in clinical samples by real-time nanopore sequencing analysis[J]. *Genome Med*, 2015, 7:99. DOI: 10.1186/s13073-015-0220-9.
- [23] 吴泽刚, 顾剑, 郑红云, 等. 纳米孔测序在血流感染中的应用 [J]. *华西医学*, 2022, 37(8): 1166-1169. DOI: 10.7507/1002-0179.202206082.
- [24] Hong M, Peng D, Fu A, et al. The application of nanopore targeted sequencing in the diagnosis and antimicrobial treatment guidance of bloodstream infection of febrile neutropenia patients with hematologic disease[J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(4): 506-514. DOI: 10.1111/jcmm.17651.
- [25] Venkatesan A, Tunkel AR, Bloch KC, et al. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: Consensus statement of the international encephalitis consortium[J]. *Clin Infect Dis*, 2013, 57(8): 1114-1128. DOI: 10.1093/cid/cit458.
- [26] Pallerla SR, Van Dong D, Linh LTK, et al. Diagnosis of pathogens causing bacterial meningitis using Nanopore sequencing in a resource-limited setting [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2022, 21(1):39. DOI: 10.1186/s12941-022-00530-6.
- [27] Moon J, Kim N, Kim TJ, et al. Rapid diagnosis of bacterial meningitis by nanopore 16S amplicon sequencing: A pilot study[J]. *Int J Med Microbiol*, 2019, 309(6): 151338. DOI: 10.1016/j.ijmm.2019.151338.
- [28] Pei N, Liu X, Jian Z, et al. Genome sequence and genomic analysis of liver abscess caused by hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[J]. *3 Biotech*, 2023,13(3):76. DOI: 10.1007/s13205-023-03458-6.
- [29] Gong L, Huang YT, Wong CH, et al. Culture-independent analysis of liver abscess using nanopore sequencing[J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0190853. DOI: 10.1371/journal.pone.0190853.
- [30] Goelz H, Wetzel S, Mehrbarzin N, et al. Next-and third-generation sequencing outperforms culture-based methods in the diagnosis of ascitic fluid bacterial infections of ICU patients[J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3226. DOI: 10.3390/cells10113226.
- [31] Zhang L, Huang W, Zhang S, et al. Rapid detection of bacterial pathogens and antimicrobial resistance genes in clinical urine samples with urinary tract infection by metagenomic nanopore sequencing[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 858777. DOI: 10.3389/fmicb.2022.858777.
- [32] Han HS, Ro DH, Chung J, et al. Nanopore 16S amplicon sequencing enables rapid detection of pathogen in knee periprosthetic joint infection[J]. *Int J Med Microbiol*, 2022, 312(8): 151570. DOI: 10.1016/j.ijmm.2022.151570.
- [33] Leggett RM, Alcon-Giner C, Heavens D, et al. Rapid MinION profiling of preterm microbiota and antimicrobial-resistant pathogens[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(3): 430-442. DOI: 10.1038/s41564-019-0626-z.
- [34] Chng KR, Li C, Bertrand D, et al. Cartography of opportunistic pathogens and antibiotic resistance genes in a tertiary hospital environment[J]. *Nat Med*, 2020, 26(6): 941-951. DOI: 10.1038/s41591-020-0894-4.
- [35] Zhang C, Xiu L, Li Y, et al. Multiplex PCR and nanopore sequencing of genes associated with antimicrobial resistance in

- Neisseria gonorrhoeae* directly from clinical samples[J]. Clin Chem, 2021, 67(4): 610-620. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa306.
- [36] Taxt AM, Avershina E, Frye SA, et al. Rapid identification of pathogens, antibiotic resistance genes and plasmids in blood cultures by nanopore sequencing [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 7622. DOI: 10.1038/s41598-020-64616-x.
- [37] Zhou M, Wu Y, Kudinha T, et al. Comprehensive pathogen identification, antibiotic resistance, and virulence genes prediction directly from simulated blood samples and positive blood cultures by nanopore metagenomic sequencing[J]. Front Genet, 2021, 12: 620009. DOI: 10.3389/fgene.2021.620009.
- [38] Liu Y, Xu Y, Xu X, et al. Metagenomic identification of pathogens and antimicrobial-resistant genes in bacterial positive blood cultures by nanopore sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1283094. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1283094.
- [39] Zhao K, Tu C, Chen W, et al. Rapid identification of drug-resistant tuberculosis genes using direct PCR amplification and oxford nanopore technology sequencing[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2022, 2022: 7588033. DOI: 10.1155/2022/7588033.
- [40] Anjum MF. Screening methods for the detection of antimicrobial resistance genes present in bacterial isolates and the microbiota[J]. Future Microbiol, 2015, 10(3): 317-320. DOI: 10.2217/fmb.15.2.
- [41] Randall LP, Lemma F, Rogers JP, et al. Prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* from pigs at slaughter in the UK in 2013[J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 69 (11): 2947-2950. DOI: 10.1093/jac/dku258.
- [42] Vidal-García M, Urrutikoetxea-Gutiérrez M, Forero Niampira JC, et al. Ultrafast detection of β -lactamase resistance in *Klebsiella pneumoniae* from blood culture by nanopore sequencing[J]. Future Microbiol, 2023, 18: 1309-1317. DOI: 10.2217/fmb-2023-0057.
- [43] Chew KL, Octavia S, Jureen R, et al. Targeted amplification and MinION nanopore sequencing of key azole and echinocandin resistance determinants of clinically relevant *Candida spp.* from blood culture bottles[J]. Lett Appl Microbiol, 2021, 73(3): 286-293. DOI: 10.1111/lam.13516.
- [44] Li R, Du P, Zhang P, et al. Comprehensive genomic investigation of coevolution of *mcr* genes in *Escherichia coli* strains via nanopore sequencing[J]. Glob Chall, 2021, 5(3): 2000014. DOI: 10.1002/gch2.202000014.
- [45] Wang K, Li P, Lin Y, et al. Metagenomic diagnosis for a culture-negative sample from a patient with severe pneumonia by nanopore and next-generation sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 182. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00182.
- [46] 范师华, 杜鹏程, 郭军. 纳米孔测序技术在呼吸系统感染病原学诊断中的应用价值与展望[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(25): 2013-2015. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20201027-02942.
- [47] Pratanwanich PN, Yao F, Chen Y, et al. Identification of differential RNA modifications from nanopore direct RNA sequencing with xPore[J]. Nat Biotechnol, 2021, 39(11): 1394-1402. DOI: 10.1038/s41587-021-00949-w.

(收稿日期:2023-11-03)

欢迎订阅

2025 年《国际流行病学传染病学杂志》