

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.15.018

## 纳米孔测序技术在肺曲霉菌感染中的诊断价值\*

朱庆东<sup>1</sup>, 赵春艳<sup>1</sup>, 农影星<sup>2</sup>, 黄爱春<sup>1</sup>, 许超艳<sup>1</sup>, 罗利利<sup>1</sup>, 宋 畅<sup>1△</sup>

广西壮族自治区南宁市第四人民医院:1. 结核科;2. 医务科, 广西南宁 530023

**摘要:**目的 分析纳米孔测序技术对肺曲霉菌感染的诊断价值。方法 回顾性选取 2022 年 5 月至 2023 年 8 月该院收治的 69 例疑似肺曲霉菌感染患者作为研究对象, 以临床综合诊断为金标准, 将最终诊断为肺曲霉菌感染的患者作为感染曲霉菌组, 未诊断为肺曲霉菌感染的患者作为未感染曲霉菌组。收集患者相应样本(痰液、支气管肺泡灌洗液、组织)进行纳米孔测序、真菌培养及真菌 1-3-β-D-葡聚糖试验(G 试验)。结果 纳米孔测序的 Kappa 值为 0.609, 真菌培养的 Kappa 值为 0.430, G 试验的 Kappa 值为 -0.059。真菌培养联合纳米孔测序的 Kappa 值为 0.703, 高于纳米孔测序联合 G 试验的 Kappa 值(Kappa=0.442)。结论 纳米孔测序技术在诊断肺曲霉菌感染方面展现出卓越的性能, 显著优于传统真菌培养和 G 试验等病原学诊断方法, 显示出其在该领域的巨大应用前景。

**关键词:** 纳米孔测序; 肺曲霉菌感染; 真菌 1-3-β-D-葡聚糖试验; 真菌培养; 诊断价值

中图分类号: R519.8; R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)15-2110-05

## Diagnostic value of nanopore sequencing technology in pulmonary aspergillosis infection\*

ZHU Qingdong<sup>1</sup>, ZHAO Chunyan<sup>1</sup>, NONG Yingxing<sup>2</sup>, HUANG Aichun<sup>1</sup>,XU Chaoyan<sup>1</sup>, LUO Lili<sup>1</sup>, SONG Chang<sup>1△</sup>

1. Department of Tuberculosis; 2. Department of Medicine, the Fourth People's Hospital of Nanning, Nanning, Guangxi 530023, China

**Abstract: Objective** To analyze the diagnostic value of nanopore sequencing technology for pulmonary aspergillus infection. **Methods** A total of 69 patients with suspected pulmonary aspergillosis infection admitted to the hospital from May 2022 to August 2023 were retrospectively selected as the research objects. Taking the clinical comprehensive diagnosis as the gold standard, the patients who were finally diagnosed with pulmonary aspergillosis infection were selected as the infected aspergillosis group, and the patients who were not diagnosed with pulmonary aspergillosis infection were selected as the non-infected aspergillosis group. The corresponding samples (sputum, bronchoalveolar lavage fluid, tissue) were collected for nanopore sequencing, fungal culture and fungal 1-3-β-D-glucan test (G test). **Results** The Kappa value of nanopore sequencing was 0.609, the Kappa value of fungal culture was 0.430, and the Kappa value of G test was -0.059. The Kappa value of fungal culture combined with nanopore sequencing was 0.703, which was higher than that of nanopore sequencing combined with G test (Kappa=0.442). **Conclusion** The nanopore sequencing technology showed excellent performance in the diagnosis of pulmonary aspergillosis infection, which was significantly better than the traditional fungal culture and G test, indicating its great application prospects in this field.

**Key words:** nanopore sequencing; pulmonary aspergillosis infection; fungal 1-3-β-D-glucan test; fungal culture; diagnostic value

肺曲霉菌感染是由曲霉属真菌引起的一种肺部感染疾病, 通常发生在免疫功能受损的个体身上。其依据临床表现可以分为侵袭性肺曲霉菌感染(IPA)、慢性肺曲霉菌感染(CPA)和过敏性支气管肺曲霉

感染<sup>[1]</sup>。据报道, 全球每年 IPA 患者达 20 万, 其总体病死率约为 50%, 但如果出现诊断漏诊或延迟, 则几乎 100% 致命<sup>[2]</sup>。在重症病例中, 曲霉菌可能进一步感染并侵犯肺组织, 形成肺部炎症灶和空洞, 严重时

\* 基金项目: 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z-A20231211); 广西壮族自治区南宁市科学研究与技术开发计划项目(20233069)。

作者简介: 朱庆东, 男, 副主任医师, 主要从事传染病诊断与治疗方向的研究。△ 通信作者, E-mail: songchang2022@163.com。

会导致严重的肺实质损害和呼吸衰竭。然而肺曲霉菌感染的临床表现与其他呼吸系统感染疾病相似,使诊断变得复杂<sup>[3]</sup>。肺曲霉菌感染的症状众多,包括咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、发烧及体质量减轻等,这些症状与结核病(TB)极为相似,大大增加了诊断的难度<sup>[4]</sup>。同时,影像学检查的病灶难以鉴别,实验室检测方法的局限性(低灵敏度、低特异度、培养周期长等)也增加了诊断的难度。因此,亟需开发一种快速、准确的检测方法,以区分肺曲霉菌感染和肺结核等其他具有相似临床表现的呼吸系统疾病,使医生能够在最短的时间内做出准确判断,从而实现及时的治疗方案调整和疗效评估。随着第三代纳米孔测序技术在临床传染病中越来越广泛的应用,可能为临床医生实时诊断肺曲霉菌感染带来革命性的改变。纳米孔测序的 1 个关键特点是在测序过程中不依赖 DNA 聚合酶,而是通过纳米孔直接读取 DNA 或 RNA 分子,实现了真正意义上的实时测序<sup>[5-6]</sup>。相比于传统的培养和微生物学检测方法,纳米孔测序能够更快地识别出病原体,甚至在病原体浓度极低的情况下也能进行检测,大大提升了诊断的准确率和效率<sup>[7]</sup>。

然而,目前有关纳米孔测序在肺曲霉菌感染中的诊断价值的研究较少见。据此,本研究回顾性分析了 2022 年 5 月至 2023 年 8 月本院收治的 69 例疑似肺曲霉菌感染患者,采集病变部位标本及血液进行真菌培养、真菌 1-3-β-D-葡聚糖试验(G 试验)及纳米孔测序,以最终确诊结果为依据评估纳米孔测序在肺曲霉菌感染中的诊断价值。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

回顾性选取 2022 年 5 月至 2023 年 8 月本院收治的 69 例疑似肺曲霉菌感染患者作为研究对象,平均(55.61±15.6)岁;男 50 例,女 19 例;人类免疫缺陷病毒(HIV)感染 6 例,合并糖尿病 8 例,合并非结核分枝杆菌(NTM)感染 9 例,合并 TB 42 例。纳入标准:(1)经临床和影像学检查等怀疑有肺曲霉菌感染;(2)经历完整的真菌培养、G 试验及纳米孔测序,并具有明确结果。排除标准:临床资料不完整。本研究经本院伦理委员会批准[(2023)24],所有参与者签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 真菌培养

采集患者临床样本(痰液、支气管肺泡灌洗液、组织)。(1)痰液样本:清晨口腔漱口后用无菌容器收集新鲜的痰液样本,痰液样本采用 4% NaOH 消毒和去污染。(2)支气管肺泡灌洗液样本:在支气管镜检查中,将 37℃左右的灭菌生理盐水缓慢注入支气管肺泡内,每次注入量为 50 mL,总量一般为 200 mL,然后以-15 kPa 负压吸引装置回收灌

洗液至无菌容器中。(3)病变部位组织样本:采用 B 型超声检查引导胸腔穿刺,获取病变部位液体或者组织样本,使用 10%中性甲醛溶液对病变部位的组织样本进行固定和保存。立即送至实验室,样本被接种于含有抗菌药物的沙保罗琼脂培养基(沙保罗琼脂培养基粉 65 g/L,氯霉素 125 mg/L,纯化水 1 L)上(珠海贝索斯有限公司),培养温度为 25~30℃。从第 2 天开始每天观察培养基上的菌落形态、颜色、生长速度等,持续至少 7 d,并将培养出的菌落制备成涂片或悬液,使用显微镜观察菌丝、孢子等结构。

#### 1.2.2 G 试验

采集患者早晨空腹静脉血 2 mL,放入专用无热原肝素抗凝管中,离心(3 500 r/min)10 min,取血浆。试验开始前,开启 LKM 动态试管检测仪,向反应管中加入 100 μL 冷却后的血浆(每份血浆分为 2 管),轻轻摇匀,立即插入已编排好位置的 LKM 动态试管检测仪,分别加入 50 μL β-G 试剂或 β-G 试剂复溶液。加样完毕后在 37℃环境中反应 75 min,检测软件计算测量值。正常(1,3)-β-D 葡聚糖测量值<100.5 pg/mL。β-G 试剂(0.25 mL/支),β-G 试剂复溶液(0.30 mL/支)均购自湛江安度斯公司。

#### 1.2.3 纳米孔测序

本研究三代测序交于杭州圣庭医疗科技有限公司进行测序分析。前期准备蛋白酶 K、溶菌酶、质粒等核酸提取剂,并加入待检标本(痰液、肺泡灌洗液、组织)进行处理。进行核酸提取,先加待测样本于核酸提取中,孵化后取无水乙醇振荡后采用离心机进行离心(上海卢湘仪离心机仪器有限公司、海门市其林贝尔仪器制造有限公司)放回 EP 管板,添加磁珠涡旋振荡并静置后弃去上清液,再取 1×WB 液,并添加无水乙醇后弃去上清液。处理完 EP 管,活化磁珠后静置孵化。利用 Qubit 4.0 DNA 浓度测量仪器进行核酸质量检测并确认是否符合标准。配制聚合酶链反应(PCR)的反应体系,加入 DNA 并进行审核,然后将反应管放入 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)中运行。结束后进行纯化处理,最后吸取 DNA 文库。对多重 PCR 的产品进行 barcode 标记及 PCR,然后保存产物。对 PCR 产物进行纯化和质检,带有不同标签的产物进行混合后,按照纳米孔链接建库试剂盒说明书进行后续操作。制备文库,进行 GridION 测序。数据收集后进行质量过滤和比对,生成病原体种类与分析结果。

#### 1.2.4 评估肺曲霉菌感染

最终由临床医生根据美国传染病学会<sup>[8]</sup>及欧洲临床微生物学和传染病学会<sup>[9]</sup>定义的诊断标准结合患者临床特征、影像学检查、实验室指标及治疗反应评估是否为肺曲霉菌感染。具体诊断至少满足以下 4 个条件之一,同时结合胸部 CT 检查显示的新月征、肺空洞或存在免疫受损

基础:(1)血清 GM 试验结果 $\geq 0.5$ ;(2)微生物培养中发现曲霉菌;(3)支气管肺泡灌洗液 GM 试验结果 $\geq 0.8$ ;(4)支气管肺泡灌洗液宏基因组测序(mNGS)检测到曲霉菌。根据是否确诊为肺曲霉菌感染,将患者分为感染曲霉菌组和未感染曲霉菌组。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,2 组间比较采用独立样本  $t$  检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。诊断效能评价指标包括灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及 Kappa 系数。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 感染曲霉菌组、未感染曲霉菌组一般资料比较** 依据诊断标准结合临床表现、影像学检查、实验室检查,69 例疑似患者中最终 30 例确诊肺曲霉菌感染。感染曲霉菌组、未感染曲霉菌组年龄、性别、HIV 感染、合并糖尿病、合并 NTM 感染、合并 TB 比例比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 感染曲霉菌组、未感染曲霉菌组一般资料比较 [ $\bar{x} \pm s$  或  $n(\%)$ ]

项目	感染曲霉菌组 ( $n=30$ )	未感染曲霉菌组 ( $n=39$ )	$t/\chi^2$	$P$
年龄(岁)	51.83 $\pm$ 17.05	58.51 $\pm$ 13.91	-1.792	0.078
性别				
男	23(76.67)	27(69.23)	0.470	0.493
女	7(23.33)	12(30.77)		
HIV 感染	2(6.67)	4(10.26)	0.275	0.600
合并糖尿病	2(6.67)	6(15.38)	1.257	0.262
合并 NTM 感染	6(20.00)	3(7.69)	2.265	0.132
合并 TB	20(66.67)	22(56.41)	0.749	0.387

**2.2 真菌培养、G 试验及纳米孔测序检测效能分析** 纳米孔测序的 Kappa 值为 0.609,真菌培养的 Kappa 值为 0.430,G 试验 Kappa 值为 -0.059。真菌培养联合纳米孔测序的 Kappa 值为 0.703,高于纳米孔测序联合 G 试验的 Kappa 值(Kappa=0.442)。见表 2、3。

表 2 真菌培养、G 试验及纳米孔测序的诊断结果

方法	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
纳米孔测序			
阳性	21	4	25
阴性	9	35	44
合计	30	39	69

续表 2 真菌培养、G 试验及纳米孔测序的诊断结果

方法	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
真菌培养			
阳性	12	0	12
阴性	18	39	57
合计	30	39	69
G 试验			
阳性	3	6	9
阴性	27	33	60
合计	30	39	69
真菌培养联合纳米孔测序			
阳性	24	4	28
阴性	6	35	41
合计	30	39	69
G 试验联合纳米孔测序			
阳性	21	10	31
阴性	9	29	38
合计	30	39	69

表 3 真菌培养、G 试验及纳米孔测序检测效能分析

方法	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
纳米孔测序	70.00	89.70	84.00	79.50
真菌培养	40.00	100.00	100.00	68.40
G 试验	10.00	84.60	33.30	55.00
真菌培养联合纳米孔测序	80.00	89.70	85.70	85.40
G 试验联合纳米孔测序	70.00	74.40	67.70	76.30

## 3 讨 论

侵袭性曲霉菌感染是免疫功能低下患者发病和死亡的主要原因<sup>[10]</sup>。然而这种病症的诊断极具挑战性,主要因为曲霉菌与人体肺部之间的持续相互作用导致易感患者出现多种临床综合征<sup>[11]</sup>。传统的诊断方法,包括病原体培养和组织病理学检查,往往耗时较长且不够敏感,难以满足快速准确诊断的需求。而 G 试验难以排除念珠菌等其他侵袭性真菌感染的可能,其特异性差,假阳性率高<sup>[12]</sup>。

近年来纳米孔测序技术的发展促进传染病病原体的临床诊断。纳米孔测序技术是一种新兴的单分子直接测序 DNA/RNA 技术,其核心是借助 1 个膜上的纳米孔将单链 DNA 或 RNA 通过电压驱动后,根据电流的变化来识别各个碱基<sup>[13]</sup>。与二代测序相比,纳米孔测序能够提供数千和数十万个碱基对的读长,可以延长测序读取长度<sup>[14]</sup>。这对于基因组组装、病原体鉴定等许多应用具有重要意义。长读长极大

地方便了染色体级别的基因组拼接和结构变异的检测,有助于揭示 DNA 序列的更长范围内的组织状况,可提供更高的诊断准确率<sup>[15]</sup>。更为重要的是,纳米孔 MinION 测序技术在设备尺寸、简单的文库制备工作流程、实时测序数据生成和分析方面显示出优势<sup>[16-17]</sup>。上述纳米孔测序的优势极大迎合了临床快速诊断肺曲霉菌感染的需求。然而目前尚无研究报道揭示纳米孔测序在肺曲霉菌感染诊断中的价值。本研究将纳米孔测序和临床中常用的真菌培养及 G 试验进行综合对比评估诊断准确性。

本研究中,纳米孔测序技术表现出卓越的诊断能力。通过对 69 名符合入选标准的参与者进行研究,纳米孔测序成功地诊断出 21 例真阳性病例,其灵敏度高达 70.00%,展现了明显的优势。阳性预测值和阴性预测值分别代表了阳性和阴性测试结果中确实为阳性和确实为阴性的比例<sup>[18]</sup>。这 2 个指标对于医生和临床决策者在制订治疗计划和管理疾病策略时至关重要。高阳性预测值增强了对疾病患者采取治疗和干预措施的信心,而高阴性预测值有助于确定是否需要进一步的检查或治疗。纳米孔测序技术以其高阳性预测值(84.00%)和阴性预测值(79.50%)满足了临床管理的高标准。真菌培养作为一种传统的“金标准”检测手段,确实以其高特异度在临床诊断中占据了重要地位。其结果的可靠性源于真菌在恒定条件下生长和繁殖的特性,使得研究人员能够准确观察并鉴定菌种。然而,真菌培养的时间成本是一个不可忽视的问题<sup>[19]</sup>。曲霉菌等真菌的培养和生长需要在恒温条件下进行,且通常需要数天到几周的时间。这对于急需迅速诊断和治疗的肺曲霉菌感染患者而言,显然是一个巨大的挑战。尽管其特异度较高,但在面对低浓度菌群时,真菌培养可能无法有效检出,导致假阴性结果的出现。此外,培养过程中还存在污染的风险,这可能会干扰结果的准确性。本研究中的数据进一步揭示了真菌培养在临床应用中的实际表现。虽然其特异度达到了 100.00%,但灵敏度仅为 40.00%,这意味着有相当一部分的真菌感染患者可能被漏诊。同时,其阳性预测值虽然高达 100.00%,但阴性预测值仅为 68.40%,这表明在排除真菌感染方面,真菌培养的能力相对有限。G 试验通过检测血清中的 1-3-β-D-葡聚糖提供了一种快速、相对无创的检测方法。这种方法在系统性真菌感染的早期检测中有较高价值,因为它可以快速识别潜在的广泛真菌种类。然而,G 试验在灵敏度方面显得不足,这意味着有相当比例的感染可能未被检测出。此外,G 试验的结果可能受到如细菌感染和环境污染等多种因素的干扰导致假阳性,从而限制了其在某些情况下的使

用<sup>[20-21]</sup>。本研究中,G 试验报告了 9 例阳性病例,其中 6 例为假阳性病例。G 试验旨在检测和量化样品中的 1-3-β-D-葡聚糖含量。1-3-β-D-葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分之一,在本研究中存在的假阳性病例可能受到体内其他机会病原菌的影响。更进一步,本研究通过对比纳米孔测序与真菌培养、G 试验的联合诊断效能,发现真菌培养联合纳米孔测序在 4 个指标中均展现出优势。

综上所述,纳米孔测序技术在诊断肺曲霉菌感染中具有卓越性能。相较于传统的真菌培养和 G 试验,纳米孔测序的长读长、实时数据生成和简化的工作流程显著提升了其在临床快速诊断中的潜力。未来的大规模前瞻性研究将进一步验证和巩固其在侵袭性曲霉菌感染诊断中的关键作用。本研究存在一些不足之处:本研究为回顾性研究且纳入的病例数较少,因此关于纳米孔测序在肺曲霉菌感染中的诊断价值需要更大样本研究进一步证实。

## 参考文献

- [1] KOSMIDIS C, DENNING D W. Republished; the clinical spectrum of pulmonary aspergillosis[J]. *Postgrad Med J*, 2015, 91(1077):403-410.
- [2] BROWN G D, DENNING D W, GOW N A R, et al. Hidden killers: human fungal infections[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(165):165rv13.
- [3] 孙洁, 刘健, 封继宏. 宏基因二代测序诊断侵袭性肺曲霉病 1 例报道[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(29):177-181.
- [4] BAO S J, SONG H H, CHEN Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of pulmonary aspergillosis in non-neutropenic patients: a retrospective study [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 925982.
- [5] CHEN J, XU F. Application of nanopore sequencing in the diagnosis and treatment of pulmonary infections[J]. *Mol Diagn Ther*, 2023, 27(6):685-701.
- [6] GUO Y F, LI Z Z, LI L J, et al. A dual-process of targeted and unbiased Nanopore sequencing enables accurate and rapid diagnosis of lower respiratory infections[J]. *EBio-Medicine*, 2023, 98:104858.
- [7] ZHAO M N, ZHANG Y Y, CHEN L, et al. Nanopore sequencing of infectious fluid is a promising supplement for gold-standard culture in real-world clinical scenario [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14:1330788.
- [8] PATTERSON T F, THOMPSON G R, DENNING D W, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the infectious diseases society of America [J]. *Clin Infect Dis*, 2016, 63(4):e1-e60.
- [9] ULLMANN A J, AGUADO J M, ARIKAN-AKDAGLI S, et al. Diagnosis and management of asp-(下转第 2118 页)

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.15.019

## 数字 PCR 应用于大规模呼吸系统疾病流行监测的可行性研究\*

王 涵<sup>1</sup>, 焦文波<sup>1</sup>, 宋伶俐<sup>2</sup>, 齐 翀<sup>3△</sup>1. 长春中医药大学附属医院检验科, 吉林长春 130021; 2. 北华大学附属医院, 吉林吉林 132000;  
3. 吉林大学第一医院转化医学研究院, 吉林长春 130021

**摘要:**目的 探讨数字聚合酶链反应(dPCR)应用于大规模呼吸系统疾病流行监测的可行性。方法 利用核酸体外转录 RNA 标准物质制备标准品, 分别绘制荧光定量聚合酶链反应(qPCR)和 dPCR 方法的标准曲线, 比较 2 种检测方法的线性范围, 结合临床诊断结果, 评价 qPCR 和 dPCR 方法的优劣。结果 qPCR 检测基因 1 的最低检测限(LoD)值为 17.10 copy/ $\mu$ L, 基因 2 的 LoD 值为 17.60 copy/ $\mu$ L, 标准曲线  $R^2$  分别为 0.960 7 和 0.958 1, dPCR 检测基因 1 的 LoD 值为 0.80 copy/ $\mu$ L, 基因 2 的 LoD 值为 0.40 copy/ $\mu$ L,  $R^2$  分别达到 0.999 3 和 0.999 9。结论 应用 dPCR 方法检测病原微生物感染患者的样本, 其 LoD 值高于 qPCR 方法 20 倍以上, 且 dPCR 敏感性和特异性均优于 qPCR。在进行大规模呼吸系统疾病流行监测的过程中, dPCR 有望能够较 qPCR 更加准确有效地判定样本中病原微生物载量。

**关键词:**数字聚合酶链反应; 荧光定量聚合酶链反应; 病原微生物; 标准曲线; 最低检测限  
**中图法分类号:**R183.3; R446.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2025)15-2114-05

### Feasibility study on using digital PCR for large-scale detecting disease of respiratory system during the course of epidemic\*

WANG Han<sup>1</sup>, JIAO Wenbo<sup>1</sup>, SONG Lingli<sup>2</sup>, QI Chong<sup>3△</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130021; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Beihua University, Jilin, Jilin 132000, China; 3. Institute of Translational Medicine, the First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130021, China

**Abstract: Objective** To investigate the feasibility of applying digital polymerase chain reaction (dPCR) to large-scale epidemic surveillance of respiratory system disease. **Methods** The standard curves of both fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and dPCR were generated by using the nuclear acid standards, and the linear ranges of the two detection methods were compared. The advantages and disadvantages of each method were evaluated by considering clinical diagnosis results. **Results** The limit of detection (LoD) of qPCR for the gene NO. 1 was 17.10 copy/ $\mu$ L, and for the gene NO. 2, it was 17.60 copy/ $\mu$ L. The standard curve shows that  $R^2$  value was 0.960 7 and 0.958 1 respectively. The LoD of dPCR for gene NO. 1 and gene NO. 2 were 0.80 and 0.40 copy/ $\mu$ L respectively, with  $R^2$  values of 0.999 3 and 0.999 9 respectively. **Conclusion** The LoD of dPCR method for nuclear acid standards is at least 20 times higher than that of qPCR method. Additionally, dPCR demonstrates both higher sensitivity and specificity compared to qPCR. Therefore, in the process of large-scale epidemic monitoring of respiratory system disease, dPCR is expected to be more accurate and effective in determining the pathogen load in samples compared to qPCR.

**Key words:** digital polymerase chain reaction; fluorescence quantitative polymerase chain reaction; pathogen; standard curve; limit of detection

在重大传染性疾病的大规模筛查中, 通常需要对大量的样本进行检测。在固定地域内, 准确的检测结果不仅有利于流行病学调查及溯源, 也为相应政策法

规的制定实施提供可靠依据。目前针对呼吸系统疾病患者核酸样本的大规模筛查仍然使用传统的荧光定量聚合酶链反应(qPCR)方法, 其敏感性和准确性

\* 基金项目: 吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20230952KJ); 吉林省科技发展计划项目(20210203084SF)。

作者简介: 王涵, 女, 副主任技师, 主要从事微生物学与分子生物学方向的研究。△ 通信作者, E-mail: qichong@jlu.edu.cn。