

mNGS 对影像学不典型肺结核患者的诊断及混合感染识别价值

邹艳梅¹, 陈红霞², 单小芳³

(宁夏回族自治区第四人民医院, 1. 综合内科; 2. 睡眠与心理健康门诊; 3. 感染性疾病科, 宁夏 银川 750021)

【摘要】目的: 探究宏基因组二代测序(mNGS)对不典型影像表现的疑似肺结核患者的诊断价值及对混合感染的识别价值。**方法:** 纳入 2024 年 7 月至 2025 年 6 月收治的 200 例 CT 特征不典型且痰涂片阴性患者的临床资料进行回顾性分析, 以最终诊断分组为肺结核组($n=124$)和非肺结核组($n=76$)。比较两组患者支气管肺泡灌洗液-mNGS、痰培养、CT 特征对肺结核的诊断效能, 并分析 mNGS 对肺结核混合感染及非结核病原体的检出率。**结果:** 两组患者咯血/血痰、咳嗽、发热、盗汗、体质量下降比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。肺结核组非上叶尖后段局限性病变、单纯粟粒样小结节、薄壁空洞发生率均高于非肺结核组($P<0.05$); 单侧胸腔积液伴胸膜增厚、磨玻璃影伴支气管气相发生率均低于非肺结核组($P<0.05$)。mNGS 诊断肺结核敏感度、特异度、准确率分别为 71.77%、94.74%、80.50%, 与最终诊断一致性 $Kappa$ 值为 0.616。肺结核组混合感染检出 31 例, 检出率 25.00%, 非结核组 mNGS 明确病原体 50 例, 检出率 65.79%。**结论:** 支气管肺泡灌洗液-mNGS 可提升不典型肺结核诊断特异性, 高效识别混合感染及非结核分枝杆菌等病原, 为精准抗感染提供依据。

【关键词】 宏基因组二代测序; mNGS; 肺结核; 临床诊断

【中图分类号】 R521 **【文献标志码】** A

Value of mNGS in the diagnosis of patients with imaging atypical pulmonary tuberculosis and in identifying mixed infection

ZOU Yan-mei¹, CHEN Hong-xia², SHAN Xiao-fang³

(1. Department of Comprehensive Internal Medicine; 2. Department of Sleep and Mental Health Outpatient; 3. Department of Infectious Diseases, the Fourth People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750021, Ningxia, China)

【Abstract】Objective: To explore the diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) on patients with suspected pulmonary tuberculosis accompanied by atypical imaging manifestations and the value in identifying mixed infection. **Methods:** The data of 200 patients with atypical CT features and negative sputum smear in the hospital from July 2024 to June 2025 were selected for retrospective analysis. According to the final diagnosis, the patients were categorized into pulmonary tuberculosis group ($n=124$) and non-pulmonary tuberculosis group ($n=76$). The diagnostic efficiency of bronchoalveolar lavage fluid mNGS, sputum culture and CT features on pulmonary tuberculosis was compared, and the detection rates of pulmonary tuberculosis mixed infection and non-tuberculosis pathogens by mNGS were analyzed. **Results:** There were no significant differences in hemoptysis/blood sputum, cough, fever, night sweats and weight loss between the pulmonary tuberculosis group and the non-pulmonary tuberculosis group ($P>0.05$). The incidence rate of localized lesions in the basal segment of the middle and lower lobes, simple miliary nodules and thin-walled cavity in the pulmonary tuberculosis group were higher than those in the non-pulmonary tuberculosis group ($P<0.05$) while the incidence rates of unilateral pleural effusion with pleural thickening and ground-glass opacity with air bronchogram were lower ($P<0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy rate of mNGS in the diagnosis of pulmonary tuberculosis were 71.77%, 94.74% and 80.50%, respectively, and the consistency $Kappa$ value with the final diagnosis was 0.616. In the pulmonary tuberculosis group, 31 cases of mixed infection were detected, with a detection rate of 25.00%. In the non-pulmonary tuberculosis group, mNGS identified pathogens in 50 cases, with a detection rate of 65.79%. **Conclusion:** Bronchoalveolar lavage fluid mNGS can improve the diagnostic specificity of atypical pulmonary tuberculosis, and efficiently identify mixed infection and pathogens such as non-tuberculous mycobacteria, providing a basis for accurate anti-infection.

【Key words】 Next-generation high-throughput sequencing; mNGS; Pulmonary tuberculosis; Clinical diagnosis

肺结核是由结核分枝杆菌感染引起的高负担传染性疾病,是单一传染病中的重要死因^[1]。肺结核典型临床表现为咳嗽、咯血、低热盗汗及体质量下降,但近 30% 患者症状隐匿或不典型^[2]。目前,肺结核诊断依赖影像学筛查、病原学确认等综合诊断模式,胸部 CT 是初筛核心手段,利用典型影像特征诊断肺结核特异性达 90% 以上^[3]。然而,临床仍存在部分活动性肺结核呈现不典型影像表现,包括非上叶尖后段孤立结节、弥漫粟粒样改变或单纯胸腔积液等,此类病变易与肺炎、肺癌及真菌感染混淆,具有较高误诊风险^[4]。在病原学检测中,痰涂片因依赖肉眼检测抗酸杆菌,敏感度较低;痰培养准确率虽然高,但由于结核分枝杆菌生长缓慢,需 2~8 周才能获得结果,往往会延误诊断和治疗^[5]。宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)技术通过高通量检测临床样本中全部微生物核酸序列,实现无偏倚病原体筛查,其优势在于可检测周期压缩至 24~48 h,可同步检测结核分枝杆菌复合群及多病原体,尤其擅长罕见菌种鉴定,而且最低检测限达 0.1% 基因组覆盖度,能提升涂阴样本检出率^[6]。既往研究^[7]表明, mNGS 对肺结核诊断效能较高,但仍缺乏针对影像不典型人群的系统评估。因此,本研究聚焦不典型影像表现的疑似肺结核患者,分析 mNGS 对其的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入 2024 年 7 月至 2025 年 6 月宁夏回族自治区第四人民医院收治的 200 例不典型影像表现的疑似肺结核患者为研究对象。纳入标准:(1)年龄>18 岁,性别不限;(2)接受 CT 扫描评估为不典型肺结核影像表现;(3)痰涂片阴性,同时接受痰培养,通过支气管镜采集支气管肺泡灌洗液样本进行 mNGS 检测;(4)CT 影像及临床资料完整。排除标准:(1)存在典型肺结核影像特征;(2)合并肺癌、肺纤维化、活动性肺脓肿等其他肺部疾病;(3)既往抗结核治疗史;(4)近 1 个月内接受免疫调节药物治疗;(5)妊娠期及哺乳期女性;(6)CT 影像质量不佳。

1.2 方法

1.2.1 CT 检查操作 使用 GE Revolution 64 排 CT 进行检查,检查时患者呈仰卧位,双臂上举过头,扫描范围从肺尖至肋膈角。CT 扫描参数:管电压 120 kV,管电流采用自动管电流调制模式,矩阵 512×512,层厚 1 mm 薄层重建,重建算法为高分辨率骨算法和标准肺算法。CT 影像由两名临床工作年限>5 年的放射科医生双阅片,结果以二者讨论

均认可的结果为准,若意见不一致,由第三位高年资放射科医生复核裁决。记录 CT 征象,CT 典型征象包括厚壁空洞、树芽征、上叶尖后段病变。不典型征象包括:(1)非上叶尖后段分布孤立性结节/实变;(2)单纯粟粒样小结节(直径<3 mm 且无树芽征);(3)单侧胸腔积液伴胸膜增厚(无空洞/钙化);(4)局灶性磨玻璃影伴支气管气相(非肺叶段性分布)。

1.2.2 痰涂片及痰培养操作 痰培养样本为患者晨起深咳痰液,唾液成分>90% 为无效样本,需要重新取样。采集有效痰样本后加入等体积 1% N-乙酰半胱氨酸-2% NaOH 液化剂去污染,涡旋振荡 30 s,室温静置 15 min,然后加入磷酸盐缓冲液(PBS)稀释至浓度为 1%。取液化痰液 10 μL,均匀涂布 10×20 mm 卵圆形区域,自然干燥后热固定,然后经石炭酸品红、乙醇脱色、亚甲蓝复染操作制片,以×100 油镜下观察,鲜红色抗酸杆菌,>10 条/100 视野为阳性,全片观察≥300 视野无抗酸杆菌为阴性。同上液化痰液接种至 BACTECTMMGITTM 960 分枝杆菌培养鉴定药敏系统中的液体培养基,接种量均为 0.5 mL 处理痰液至 MGIT 管,孵育条件设定 37℃、5% CO₂,持续监测 8 周。制片及镜检阳性判断痰涂片。质控管理操作:研究涉及痰培养由 ISO15 189 认证微生物实验室技师操作,均使用 H37Rv 标准菌株(ATCC 27 294)。定期复测监控污染率<5%。

1.2.3 支气管镜检查及 mNGS 检测操作 支气管镜检查前使用 2% 利多卡因喷雾咽喉部局麻。全程心电监护,使用奥林巴斯电子支气管镜 BF-1TQ290 经鼻进镜,选取病灶所属叶、段支气管开口,37℃ 无菌生理盐水,分 3 次注入,20 mL/次,每次注入后以 50~100 mmHg 负压回收,回收的支气管肺泡灌洗液置入无菌硅化塑料管 30 min 内送检。支气管镜操作均由临床工作时间>5 年的呼吸内镜医师执行,检查固定两名护士配合操作。使用支气管肺泡灌洗液作为样本进行 mNGS 检查,样本添加 DNase I(10 U/mL)37℃ 消化 30 min,去人源 DNA,以半径 16 cm、速度 3 500 r/min、时间 5 min 离心去上清,使用结核菌专用裂解液 95℃ 加热 10 min 灭活。使用 Illumina NextSeq 550 进行建库测序,核酸提取 QIAamp UCP Pathogen Kit,DNA 文库 KAPA HyperPlus Kit,RNA 文库 NEBNext Ultra II RNA Kit,测序参数双端测序(PE150),数据量≥20 million reads/样本。阳性判断:参考《中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识》^[8],结合本实验室验证结果设定阈值。质控操作:所有操作由固定团队完成,操作前统一培训,均为 PCR 上岗证持证人员;内参添加海豹疱疹病毒

(phocine herpesvirus, PhHV) 控制提取效率, 阴性对照每批次 ≥ 2 个无菌水样本, 使用灭活菌株 (ATCC 25177) 作阳性对照。

1.2.4 资料收集 使用医院信息系统调取纳入患者病历资料, 内容包括: 性别、年龄、临床症状、CT 影像、痰培养结果、mNGS 结果。

1.2.5 分组标准 以最终诊断分组为肺结核组 ($n=124$) 和非肺结核组 ($n=76$), 肺结核诊断参考《肺结核基层诊疗指南(2018 年)》中标准^[9], 包括: (1) 具有肺结核的临床表现, ①持续咳嗽 ≥ 2 周; ②咯血或痰中带血; ③午后低热 ($37.5 \sim 38.5\text{ }^{\circ}\text{C}$); ④夜间盗汗; ⑤不明原因体质量下降。(2) 辅助检查支持结核感染, 满足下列至少 1 项: ①干扰素 γ 释放试验 (IGRA) 阳性; ②结核菌素皮肤试验 (TST), 硬结直径 $\geq 15\text{ mm}$ 或水疱/坏死; ③血清结核抗体阳性。(3) 排除其他肺部疾病, 以下情况不作为肺结核临床诊断依据: 细菌性肺炎、肺癌、真菌感染、非结核分枝杆菌病。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 26.0 进行数据分析。计量资料经 Kolmogorov-Smirnov 法检验正态分布后用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间进行独立样本 t 检验; 计数资料用 [n (%)] 表示, 组间进行独立样本 χ^2 检验, mNGS 诊断肺结核以最终诊断为金标准进行 $Kappa$ 一致性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料及临床症状比较

非肺结核患者最终诊断包括: 肺结节 43 例、肺癌 16 例、支气管炎 7 例、肺炎 10 例。两组性别、年龄、咯血/血痰、咳嗽、发热、盗汗、体质量下降比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者一般资料及临床症状比较 [$\bar{x} \pm s, n$ (%)]

资料	肺结核组 ($n=124$)	非肺结核组 ($n=76$)	χ^2/t 值	P 值
性别			0.018	0.892
男	73(58.87)	44(57.89)		
女	51(41.13)	32(42.11)		
年龄(岁)	56.76 $\pm$ 12.83	54.72 $\pm$ 13.78	1.061	0.290
临床症状				
咳嗽	124(100.00)	76(100.00)	—	—
发热	57(45.97)	32(42.11)	0.285	0.594
盗汗	43(34.68)	21(27.63)	1.075	0.300
咯血/血痰	21(16.94)	20(26.32)	2.544	0.111
体质量下降	42(33.87)	22(28.95)	0.525	0.469

2.2 两组患者 CT 征象比较

两组患者 CT 征象比较, 差异有统计学意义

($P < 0.05$), 其中肺结核组非上叶尖后段局限性病变、单纯粟粒样小结节、薄壁空洞发生率均高于非肺结核组 ($P < 0.05$), 单侧胸腔积液伴胸膜增厚、磨玻璃影伴支气管气相发生率均低于非肺结核组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者 CT 征象比较 [n (%)]

征象	肺结核组 ($n=124$)	非肺结核组 ($n=76$)	χ^2 值	P 值
非上叶尖后段局限性病变	53(42.74)	20(26.32)	5.485	0.019
单纯粟粒样小结节	37(29.84)	11(14.47)	6.099	0.014
薄壁空洞	17(13.71)	2(2.63)	6.726	0.010
单侧胸腔积液伴胸膜增厚	21(16.94)	27(35.53)	8.928	0.003
磨玻璃影伴支气管气相	18(14.52)	21(27.63)	5.163	0.023

2.3 mNGS 诊断肺结核效能比较

以最终诊断为金标准, mNGS 诊断肺结核敏感度、特异度、准确率分别为 71.77%、94.74%、80.50%, 与最终诊断一致性 $Kappa$ 值为 0.616。见表 3。

表 3 mNGS 诊断肺结核效能比较(例)

诊断方法	最终诊断		合计
	肺结核	非肺结核	
mNGS			
肺结核	89	4	93
非肺结核	35	72	107
合计	124	76	200

2.4 mNGS 鉴别诊断结果

肺结核组混合感染检出 31 例, 检出率 25.00%, 包括合并其他病毒感染 23 例; 合并真菌感染 4 例; 合并非结核分枝杆菌 4 例。非结核组 mNGS 明确病原体 50 例, 检出率 65.79%, 包括非结核分枝杆菌 28 例、真菌 11 例、细菌 11 例。

3 讨论

本研究中, 两组患者各项临床症状发生率比较, 差异均无统计学意义。这可能源于不典型肺结核的病理特性病灶局限性、免疫状态影响、基础疾病等干扰, 不典型病变较少累及支气管血管束, 咯血发生率低; 本研究中, 老年患者居多, 免疫应答减弱导致典型结核中毒症状隐匿; 非结核组中肺癌、肺炎等疾病占比较高, 其症状可与肺结核重叠。提示临床症状对影像不典型肺结核的鉴别价值有限, 需依赖病原学及影像学深度分析。

本研究显示, 肺结核组与非肺结核组 CT 征象比较, 差异有统计学意义, 肺结核组患者非上叶尖后段局限性病变、单纯粟粒样小结节、薄壁空洞发生率

均高于非肺结核组。分析可能原因:结核分枝杆菌经支气管播散至重力依赖区,形成增殖性肉芽肿,因此非上叶尖后段局限性病变,而且血行播散粟粒结节直径多<3 mm,随机分布;薄壁空洞由于酪样坏死物排出后形成,有别于肺癌厚壁空洞,其壁厚通常<4 mm。此外肺结核组单侧胸腔积液伴胸膜增厚、磨玻璃影伴支气管气相发生率低于非肺结核组,考虑是因为肺结核的影像特征反映肉芽肿性炎,而肺癌/肺炎以渗出、坏死或占位性病变为主^[10-11]。

本研究痰涂片阴性患者经 mNGS 诊断肺结核敏感度、特异度、准确率分别为 71.77%、94.74%、80.50%,与最终诊断一致性 *Kappa* 值为 0.616,提示其具有较高诊断效能。从 mNGS 技术角度分析,其优势在于:(1)检测敏感:mNGS 采用 DNA 联合 RNA 双流程测序,可同时检测结核分枝杆菌基因组 DNA 及活跃转录的 RNA 片段,最低检测限达 0.1%基因组覆盖度;(2)抗干扰:去人源 DNA 处理降低宿主背景干扰,提高病原序列占比,同时内参监控提取效率,有助于避免假阴性;(3)复合病原检测:mNGS 通过宏基因组分析同步筛查多种病原体,而痰培养仅针对分枝杆菌属,难以判断混合感染^[12-13]。本研究显示,mNGS 对混合感染及非结核病原体的检出率分别达 25.00%和 65.79%,与上述优势相印证,mNGS 的非靶向测序可同步捕获病毒、真菌、细菌及罕见病原,避免传统培养的选择性漏诊。

根据上述分析可见,对于影像学不典型且痰涂片阴性的疑似肺结核患者,支气管肺泡灌洗液-mNGS 可作为一线检测手段。优化诊断效能,当联合培养及 Xpert 检测时,敏感性可有效提升,高于单一方法检测^[14-15];病原覆盖广泛,既往研究^[16]显示,与靶向测序识别病原体效能类似,但检测成本较靶向测序成本明显更低;有效识别混合感染,25%的混合感染检出率为个体化治疗提供关键依据。

综上,mNGS 能提升不典型肺结核诊断效能,有效识别混合感染并快速鉴别非结核病原体,为精准抗感染提供关键依据。

参考文献

[1] 陈雪倩,方诗宇,于江,等. 结核分枝杆菌分泌蛋白 ESAT-6、CFP-10 在肺结核组织中的表达[J]. 川北医学院学报,2024,39(1): 18-21.

[2] Fernández Castro I,Isorno-Porto MJ,Novo-Veleiro I,et al. An atypical manifestation of *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *European Journal of Case Reports in Internal Medicine*, 2021, 8

(7): 22.

[3] Zhang F,Han H,Li M,et al. Revolutionizing diagnosis of pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* based on CT: a systematic review of imaging analysis through deep learning[J]. *Frontiers in Microbiology*,2025,15: 1510026.

[4] Zeng Y,Zhai XL,Wáng YXJ,et al. Illustration of a number of atypical computed tomography manifestations of active pulmonary tuberculosis[J]. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*,2021,11(4): 1651-1667.

[5] Zhang H,Dai X,Hu P,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]. *Microbiology Spectrum*,2024,12(5): e0409823.

[6] Jin W,Wang M,Wang Y,et al. Targeted next-generation sequencing: a promising approach for *Mycobacterium tuberculosis* detection and drug resistance when applied in pAUCibaccillary clinical samples[J]. *Microbiology Spectrum*, 2025, 13(7): e03127-24.

[7] 段学波,任英杰,蔡永莉,等. 支气管肺泡灌洗液二代测序技术对疑似肺结核患者的诊断及鉴别诊断的临床应用价值[J]. 宁夏医科大学学报,2024,46(10): 1025-1030,1036.

[8] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020,38(11): 681-689.

[9] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 肺结核基层诊疗指南(2018 年)[J]. 中华全科医师杂志, 2019,18(8):709-717.

[10] 张倬,凌杰,尹曲华,等. 不典型肺结核 MSCT 影像分析[J]. 医学影像学杂志,2023,33(9): 1594-1597,1607.

[11] 戴梦缘,尤青海. 30 例不典型肺结核临床特点及诊断方法分析[J]. 临床肺科杂志,2023,28(8): 1190-1194.

[12] 张丹丹,兰箭. 高通量测序技术在肺真菌病诊断中的研究进展[J]. 国际呼吸杂志,2024,44(2): 143-147.

[13] 刘亚萌,李冠英,刘翠,等. ROSE 联合 NGS 技术在重症肺炎病原学诊断及治疗中的应用效果[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2025,17(6): 1113-1116.

[14] Wang L,Chen Y,Wang Q,et al. Comparison of molecular testing methods for diagnosing non-tuberculous mycobacterial infections[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*,2025,44(1): 109-116.

[15] Xu P,Yang K,Yang L,et al. Next-generation metagenome sequencing shows superior diagnostic performance in acid-fast staining sputum smear-negative pulmonary tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease[J]. *Frontiers in Microbiology*,2022,13: 898195.

[16] Sun W,Zheng L,Kang L,et al. Comparative analysis of metagenomic and targeted next-generation sequencing for pathogens diagnosis in bronchoalveolar lavage fluid specimens[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024, 14: 1451440.

(收稿日期:2025-07-16 修回日期:2025-09-08)