

宏基因二代测序技术对活动性结核与非结核分枝杆菌感染的鉴别诊断价值

郭洋

沈阳市第十人民医院

DOI:10.12238/ffcr.v3i5.16204

[摘要] 目的：针对宏基因二代测序技术对活动性结核与非结核分枝杆菌感染鉴别诊断的价值进行观察。方法：选取2022年1月—2022年12月确诊活动性分枝杆菌感染病例50例，其中结核分枝杆菌感染患者30例，对于NTM培养阳性患者，根据诊断标准，判断是否符合活动性NTM感染，共确诊非结核分枝杆菌感染患者20例。所有纳入患者均开展宏基因二代测序技术检测，评估鉴别诊断效果。结果：宏基因二代测序技术诊断准确率与临床最终诊断对比， $P>0.05$ 。诊断准确率为96.00% (48/50)，漏诊率为3.33% (1/30)，特异度95.00% (19/20)、灵敏度96.67% (29/30)。结论：在对活动性结核与非结核分枝杆菌感染患者进行鉴别诊断的过程中利用宏基因二代测序技术进行诊断，可以提升临床对该部分患者的诊断效率，促使患者可以迅速得到确诊。

[关键词] 宏基因二代测序技术；活动性结核；非结核分枝杆菌感染；鉴别诊断

中图分类号：R446.5 文献标识码：A

The Differential Diagnostic Value of Metagenomic Second-generation Sequencing Technology for Active Tuberculosis and Non Tuberculosis Mycobacterial Infections

Yang Guo

Shenyang Tenth People's Hospital

Abstract: Objective: To observe the value of metagenomic second-generation sequencing technology in the differential diagnosis of active tuberculosis and non tuberculosis mycobacterial infections. Method: 50 cases of confirmed active Mycobacterium infection from January 2022 to December 2022 were selected, including 30 cases of Mycobacterium tuberculosis infection. For patients with positive NTM culture, the diagnostic criteria were used to determine whether they met the criteria for active NTM infection. A total of 20 patients were diagnosed with non tuberculosis Mycobacterium infection. All included patients underwent metagenomic second-generation sequencing technology testing to evaluate the effectiveness of differential diagnosis. Result: The diagnostic accuracy of metagenomic second-generation sequencing technology was compared with the final clinical diagnosis, $P>0.05$. The diagnostic accuracy was 96.00% (48/50), the missed diagnosis rate was 3.33% (1/30), the specificity was 95.00% (19/20), and the sensitivity was 96.67% (29/30). Conclusion: The use of metagenomic second-generation sequencing technology in the differential diagnosis of active tuberculosis and non tuberculosis mycobacterial infection patients can improve the clinical diagnostic efficiency of this group of patients and promote rapid diagnosis.

Keywords: Macrogene second-generation sequencing technology; Active tuberculosis; Non tuberculous mycobacterial infection; differential diagnosis

引言

结核病为当前临床最常见的病症类型，在诊断以及治疗方面均存在有一定难度。活动性结核与非结核分枝杆菌感染在早期症状等方面具有较高的相似性。为综合保障临床对活动性结核与非结核分枝杆菌感染患者的诊断效率，促使患者可以迅速得到针对性治疗，需在治疗过程中采取有效诊断措

施促使患者可以迅速得到确诊^[1]。宏基因二代测序技术为当前临床所采用的新型病原学检测方法，具备通量高、敏感性高、成本低以及无偏倚等方面优势。在该技术的作用下，通过捕捉新合成的末端的标记来确定DNA的序列，可以同时测定几百万甚至上亿条DNA或者RNA序列，可以为诊断准确率提供保障^[2]。本次研究主要对宏基因二代测序技术

对活动性结核与非结核分枝杆菌感染的鉴别诊断价值进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年1月—2022年12月确诊活动性分枝杆菌感染病例50例，其中结核分枝杆菌感染患者30例，对于NTM培养阳性患者，根据诊断标准，判断是否符合活动性NTM感染，共确诊非结核分枝杆菌感染患者20例。本组患者中男性27例，女性23例，年龄在53—78岁间，均值为(63.23±1.83)岁。体质指数21~25kg/m²，均值为(22.34±1.83)kg/m²。

1.2 方法

在开展宏基因二代测序技术检测前需指导患者做好相关准备工作，确保患者知情同意。

(1) 样品准备。进行常规的血细胞分析、CRP、PCT、G试验、GM试验、痰涂片、痰培养、血培养+药敏、胸部CT等检查。事先做好支气管镜肺泡灌洗常规准备工作，准备就绪后由经验丰富的主管医生进行支气管镜肺泡灌洗术，术中严格遵守无菌操作原则。根据镜下所见将纤维支气管镜插入至病变最为严重的肺段，快速注入37℃灭菌生理盐水，每次25~50ml，灌洗病变肺段，灌洗后负压吸引回收灌洗液(一般回收率为40%~60%)，装入灭菌硅塑瓶中，并将这些支气管肺泡灌洗液(BALF)样品分成两个相等的部分，瓶身标记好患者的住院信息，一份标本送至本院的检验科进行涂片、培养、分离和鉴定。另一份即刻于-20℃保存后由专业人员送去mNGS检测。

(2) 文库构建及测序。取300 μL BALF样本，使用病原微生物检测试剂盒提取DNA，完成核酸提取工作。随后进行cDNA合成，先合成第一链cDNA，接着合成第二链cDNA，然后纯化，Qubit荧光计进行DNA/cDNA定量。采用DA8600基因测序仪进行测序。

(3) 数据分析。测序数据按照测序标签拆分样本、剪掉接头、过滤低质量序列、基于比对数据库去除宿主序列、病原数据库比对、结果注释。满足以下条件的序列保留下来用来注释：(1) 比对长度≥50bp，不允许插入缺失；(2) 比对NT数据库为唯一比对或者评分排名最前，且evalue小于等于1e-5。

1.3 观察指标

以临床NTM培养作为最终诊断，分析宏基因二代测序技术对活动性结核与非结核分枝杆菌感染的鉴别诊断价值。在进行宏基因二代测序技术诊断过程中，阳性结果暂无统一的判读标准，故本研究通过覆盖度比例及排名界定阳性报告，及由经管医生根据患者临床病史特征及相关辅助检查判断

是否感染以及感染的病原微生物。

1.4 统计学方法

研究中相关数据都按照SPSS 25.0进行处理，百分数对计数资料进行表示，卡方检验，配对样本间的比较采用配对卡方检验及一致性检验(McNemar检验与Kappa检验)，p值<0.05被认为差异有统计学意义，Kappa值<0.4被认为一致性较差，>0.7被认为一致性较好。

2 结果

宏基因二代测序技术诊断准确率96.00%(48/50)与临床最终诊断100.00%(50/50)对比，P=0.145，X²=0.758，见表1所示。诊断准确率为96.00%(48/50)，漏诊率为3.33%(1/30)，特异度95.00%(19/20)、灵敏度96.67%(29/30)。

表1 宏基因二代测序技术与临床最终诊断对比

宏基因二代 测序技术	临床最终诊断		
	活动性结核	非结核分枝 杆菌感染	总计
活动性结核	29	1	30
非结核分枝 杆菌感染	1	19	20
总计	30	20	50

3 讨论

结核病为当前临床最常见且发生率较高的病症类型，主要因结核分枝杆菌感染所导致，其中以肺结核最为常见，会直接影响到患者健康以及日常生活。结合当前临床实际可以发现，在多方面因素影响下，结核病患者数量存在有明显增加的趋势，病症具有较高的风险性，甚至可能危及患者生命安全。

结核分枝杆菌在感染后病症表现较为多样，进展速度快，部分患者早期无典型症状，而在持续发展下甚至可能直接危及生命安全^[3]。非结核分枝杆菌感染在临床同样较为常见，主要出现在免疫抑制人群中。随着老年人口患者数量的不断增加，活动性结核与非结核分枝杆菌感染群体数量同样存在有明显增加的趋势。且病症存在有一定传染性，若患者未及时得到针对性治疗，可能对患者家人、朋友等健康造成威胁^[4]。两种感染类疾病在诊断方面存在有较大的难度，需及时采取有效诊断措施促使患者可以迅速确诊并开展针对性治疗。部分非结核分枝杆菌感染患者在常规检验过程中，容易被误诊成为结核菌感染而开展抗结核治疗，从而影响到治疗效果。若患者未及时得到针对性治疗，在病症持续发展的情况下，甚至可能导致患者出现肝功能损伤或者神经毒性等，对患者健康造成更加严重的影响^[5]。从当前临床接诊情况可以发现，活动性结核与非结核分枝杆菌感染患者在早期症状方面存在有较高的相似性，多数患者会存在有呼吸急促、发

热、喘息等方面症状,会直接影响到患者日常生理活动。且病症存在有进展性发展的特点,在感染症状长时间的影响下,容易对患者机体其他组织、器官功能造成影响,同样不利于患者进行恢复。在临床常规诊断措施的作用下,对于活动性结核与非结核分枝杆菌感染的鉴别存在有一定难度。尤其部分非结核分枝杆菌感染患者尤其是痰找抗酸杆菌阳性者,在诊断过程中容易被误诊为结核感染,从而促使患者接受抗结核治疗。但从当前临床治疗可见非结核分枝杆菌感染对于抗结核药物的敏感性较低,在治疗效果方面存在有较大的局限性。同时,部分抗结核药物在使用过程中存在有一定副作用,容易导致患者出现神经毒性或者肝损伤等症状,从而影响到临床对非结核分枝杆菌感染患者的整体治疗效果。因此,临床在对活动性结核与非结核分枝杆菌感染患者进行诊断与治疗的过程中,需要采取更加有效的诊断措施,实现对病症的鉴别诊断,并开展针对性治疗。

运用宏基因组二代测序技术开展活动性结核与非结核分枝杆菌感染患者诊断逐步在临床得到运用。运用宏基因组二代测序技术为当前临床进行病原学检验的新方案,在该检验技术的作用下,按照边合成边测序的原则,可以准确对新合成的DNA序列末端进行标记,从而对感染菌类型鉴别提供指导^[6]。同时,该检测技术可以在短时间内对大量DNA、RNA序列进行检测,具备有极高的检测通量,且灵敏度、准确率均较高^[7]。此外,在利用运用宏基因组二代测序技术进行检测的过程中,几乎不受培养结果的影响,能够直接对病原体中的核酸序列进行识别,并通过生物信息技术开展核酸序列对比,从而保障鉴别诊断的准确性^[8]。在本次检测过程中,通过观察可以发现,运用宏基因组二代测序技术在对活动性结核与非结核分枝杆菌感染鉴别诊断方面,诊断准确率为96.00% (48/50),漏诊率为3.33% (1/30),特异度95.00% (19/20)、灵敏度96.67% (29/30)。可见在利用宏基因组二代测序技术实施诊断的过程中,能够有效保障临床对活动性结核与非结核分枝杆菌感染鉴别诊断的准确性,促使患者可以迅速得到确诊,保障后续治疗方案的针对性^[9]。避免非结核分枝杆菌感染患者在临床诊断过程中因误诊为活动性结核感染而开展抗结核治疗,从而影响到对该部分患者的治疗效果,避免因非结核分枝杆菌对常规抗结核药物耐药性而影响对该部分患者的整体治疗效果,不利于患者病情迅速得到改善,甚至增加患者在治疗期间的医疗费用^[10-11]。

综合本次研究,临床在对活动性结核与非结核分枝杆菌

感染患者进行鉴别诊断的过程中可以优先按照宏基因组二代测序技术进行诊断,综合保障临床对该部分感染患者鉴别诊断的效率,促使患者能够迅速得到确诊,为患者迅速恢复提供基础。

[参考文献]

[1]覃淑娟,彭水华,冯洁美,等.支气管肺泡灌洗液宏基因组二代测序技术在疑似肺结核患者的诊断价值[J].现代诊断与治疗,2025,36(5):719-721,733.

[2]齐齐,蔡青山,陈园园,等.宏基因组二代测序技术对胸内淋巴结结核的诊断价值[J].中国防痨杂志,2024,46(S1):4-8.

[3]郭路明,于龙,李力韬,等.宏基因组二代测序技术对结核性与非结核性脊柱感染疾病的诊断价值研究[J].解放军医学院学报,2024,45(5):457-462,480.

[4]夏晶,蒋军红,赵晔,等.宏基因组二代测序技术在异基因造血干细胞移植后结核分枝杆菌感染中的应用[J].临床血液学杂志,2024,37(1):41-45.

[5]高陆,任娜娜,刘宝茹,等.宏基因组二代测序在造血干细胞移植治疗疑难危重感染性血液病中的临床价值[J].遵义医科大学学报,2023,46(12):1190-1195.

[6]林霞,颜满珍,王根绪,等.宏基因组二代测序技术对疑似中枢神经系统感染性疾病的病原诊断价值[J].中国医药科学,2023,13(10):15-19.

[7]孔娇,陈园园,蔡青山,等.宏基因组二代测序技术对非结核分枝杆菌肺病的诊断价值[J].中国防痨杂志,2022,44(11):1135-1140.

[8]缪青,姚雨濛,潘珏,等.宏基因组二代测序技术对非结核分枝杆菌感染病原学诊断的价值[J].中国临床医学,2020,27(4):559-562.

[9]李俏,苏振中,许璐璐,等.宏基因组二代测序技术在肺部感染病原学检测中应用的研究进展[J].吉林大学学报(医学版),2023,49(05):1382-1387.

[10]朱艳,陈众众,刘家昌.宏基因组二代测序技术在肺部阴影发热病例诊断中的应用价值[J].临床肺科杂志,2023,28(09):1368-1373.

[11]冯倩桐.宏基因组二代测序在肺部感染病原体诊断中的应用价值研究[D].山西医科大学,2021,41(11):154-155.

作者简介:

郭洋(1979.12-),男,汉族,沈阳人,硕士,主任医师,研究方向为间质性肺病的诊治及内科胸腔镜的应用。