

• 论 著 •

Xpert MTB/RIF、mNGS 与 T-SPOT. TB 检测在 肺结核诊断中的关系分析*

张丽苇¹, 周 燕¹, 何 建¹, 包 静^{2△}

陆军军医大学第一附属医院: 1. 呼吸内科; 2. 检验科, 重庆 400038

摘要: **目的** 分析肺泡灌洗液 Xpert 结核分枝杆菌/利福平耐药检测 (MTB/RIF)、宏基因组二代测序 (mNGS) 与外周血结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT. TB) 在肺结核诊断中的关系。 **方法** 选取 2023 年 1 月至 2024 年 12 月该院送检肺泡灌洗液 Xpert MTB/RIF 的患者共 2 748 例, 分析 Xpert MTB/RIF 阳性, 并送检 mNGS 和 (或) T-SPOT. TB 患者的检测数据。 **结果** 共纳入 324 例肺泡灌洗液 Xpert MTB/RIF 阳性患者, 同时送检外周血 T-SPOT. TB 192 例 (59.3%), 肺泡灌洗液 mNGS 检测 69 例 (21.3%)。 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 T-SPOT. TB 的 192 例患者中, 不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级与 T-SPOT. TB 的 A 斑点/阳性对照、B 斑点/阳性对照、A+B 斑点/阳性对照均存在明显关联 ($P<0.05$)。 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 mNGS 的 69 例患者中, 不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级与 mNGS 检出结核 DNA 序列数及相对丰度存在关联, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 菌量等级越高, mNGS 的检出序列数和相对丰度越高。 mNGS 未检出结核 DNA 9 例 (13.0%), 均为 Xpert MTB/RIF 微量菌量和极低菌量等级。 mNGS 同时检出其他可疑致病病原体 42 例 (60.9%), 特殊病原体 6 例 (8.7%)。 **结论** Xpert MTB/RIF 半定量分级与 T-SPOT. TB 的 A 斑点/阳性对照、B 斑点/阳性对照、A+B 斑点/阳性对照, 以及 mNGS 检出结核 DNA 序列数、相对丰度之间存在关联, 临床怀疑肺结核患者, 可进行外周血 T-SPOT. TB 检测, 同时根据患者病情选择肺泡灌洗液 Xpert MTB/RIF 或 mNGS 作为确诊方法, 避免不必要的联合检测。

关键词: Xpert 结核分枝杆菌/利福平耐药检测; 结核感染 T 细胞斑点试验; 宏基因组二代测序

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.23.006 **中图法分类号:** R446.5

文章编号: 1673-4130(2025)23-2846-05 **文献标志码:** A

Analysis of the relationship between Xpert MTB/RIF, mNGS and T-SPOT. TB detection in the diagnosis of pulmonary tuberculosis*

ZHANG Liwei¹, ZHOU Yan¹, HE Jian¹, BAO Jing^{2△}

1. Department of Respiratory Medicine; 2. Department of Clinical Laboratory,
the First Hospital Affiliated to Army Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract: Objective To analyze the relationship between Xpert Mycobacterium tuberculosis/rifampicin resistance test (MTB/RIF) in bronchoalveolar lavage fluid, metagenomic next-generation sequencing (mNGS), and peripheral blood tuberculosis infection T-cell spot test (T-SPOT. TB) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Methods** A total of 2 748 patients who underwent Xpert MTB/RIF testing of bronchoalveolar lavage fluid in a hospital from January 2023 to December 2024 were included. The study analyzed the detection data of patients who tested positive by Xpert MTB/RIF and were additionally tested with mNGS and/or T-SPOT. TB. **Results** A total of 324 patients with Xpert MTB/RIF-positive bronchoalveolar lavage fluid were included in the study. Among them, 192 cases (59.3%) simultaneously underwent peripheral blood T-SPOT. TB testing, and 69 cases (21.3%) underwent bronchoalveolar lavage fluid metagenomic next-generation sequencing (mNGS). Among the 192 patients who were positive for Xpert MTB/RIF and simultaneously sent T-SPOT. TB for examination, different semi-quantitative grades of Xpert MTB/RIF were significantly associated with the A-spot/positive control, B-spot/positive control, and A+B-spot/positive control of T-SPOT. TB ($P<0.05$). Among the 69 patients who were positive for Xpert MTB/RIF and simultaneously sent mNGS for examination, different semi-quantitative grades of Xpert MTB/RIF were associated with the num-

* 基金项目: 四大慢病国家科技重大专项 (2024ZD0533100)。

作者简介: 张丽苇, 女, 技师, 主要从事肺功能、纤支镜检查等研究。 △ 通信作者, E-mail: baojing_1991@tmmu.edu.cn。

ber and relative abundance of tuberculosis DNA sequences detected by mNGS, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The higher the bacterial quantity grade, the higher the number of detected sequences and relative abundance of mNGS. Tuberculosis DNA was not detected in 9 cases (13.0%) by mNGS, all of which were at the trace and very low levels of Xpert MTB/RIF. mNGS simultaneously detected 42 cases (60.9%) of other suspected pathogenic pathogens and 6 cases (8.7%) of special pathogens. **Conclusion** There is an association between the semi-quantitative grading of Xpert MTB/RIF and the A spot/positive control, B spot/positive control, A+B spot/positive control of T-SPOT. TB, as well as the number and relative abundance of tuberculosis DNA sequences detected by mNGS. For patients clinically suspected of having pulmonary tuberculosis, peripheral blood T-SPOT. TB testing can be conducted. Meanwhile, the bronchoalveolar lavage fluid Xpert MTB/RIF or mNGS is selected as the diagnostic method according to the patient's condition to avoid unnecessary combined tests.

Key words: Xpert Mycobacterium tuberculosis/rifampicin resistance test; tuberculosis infection T-cell spot assay; metagenomic next-generation sequencing

肺结核是全球最常见的传染病之一,对人类健康造成了严重影响。传统的肺结核诊断方法包括痰涂片、结核菌素试验、胸部计算机断层扫描、痰培养等,存在灵敏度低、特异度低或耗时长等局限性,难以及时、准确地诊断肺结核。近年来,免疫学和分子生物学检测技术的兴起为肺结核的快速诊断和鉴别诊断提供了新的手段。Xpert 结核分枝杆菌及利福平耐药检测(MTB/RIF)采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)技术,能够在短时间内检测结核分枝杆菌及其利福平的耐药性,显著提高了结核病的诊断效率^[1-2]。结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)通过检测机体对结核分枝杆菌特异性抗原的 T 细胞免疫反应,能够辅助诊断肺结核,但对活动性肺结核的诊断效率不高^[3]。宏基因组二代测序(mNGS)作为一种高通量、无偏倚的病原体检测技术,能够在不同的临床样本中快速、全面地检测多种病原体,同样适合于怀疑肺结核等肺部感染性疾病的诊断。因此,本研究分析 Xpert MTB/RIF、mNGS 与 T-SPOT. TB 检测在肺结核诊断中的关系,对于优化结核病诊断流程、提高诊断水平、避免不必要的重复检测和降低医疗成本具有重要意义。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2023 年 1 月至 2024 年 12 月本院送检肺泡灌洗液进行 Xpert MTB/RIF 的患者共 2 748 例,重点分析同时送检 T-SPOT. TB、mNGS 患者的临床数据。其中 Xpert MTB/RIF 阳性 324 例,利福平耐药基因阳性 12 例,利福平耐药基因阴性 273 例,利福平耐药基因不明确 39 例,Xpert 阴性 2 424 例。Xpert 阳性患者中同时送检 T-SPOT. TB 192 例,送检 mNGS 69 例。本研究已经通过本院伦理委员会审批[审批号:(B)KY2025157]。

1.2 方法

1.2.1 Xpert MTB/RIF Xpert MTB/RIF 采用

GeneXpert 全自动核酸检测系统,通过 qPCR 技术,实现结核分枝杆菌核酸的提取、扩增及利福平耐药基因检测。样本经前处理后直接上机检测,系统可自动完成核酸提取、扩增及结果判读。判读标准:当内对照探针循环阈值(C_t) ≤ 38 时视为标本合格,反之则不合格,提示标本的 DNA 提取不合格或含有 qPCR 抑制物。5 个探针中至少有 2 个探针的 $C_t \leq 38$ 时,即判定为检测到结核分枝杆菌,进一步按照 C_t 对结核分枝杆菌进行半定量分级, $C_t < 16$ 为高菌量, C_t 在 $16 \sim < 22$ 为中菌量, C_t 在 $22 \sim < 28$ 为低菌量, C_t 在 $28 \sim 34$ 为极低菌量, $C_t > 34$ 为微量菌量。通过早期 C_t 和晚期 C_t 之差,即 ΔC_t 判读利福平耐药。 $\Delta C_t > 3.5$ 提示对利福平耐药, $\Delta C_t \leq 3.5$ 提示对利福平敏感。当早期探针 $C_t > 34.5$ 或晚期探针 $C_t > 38$ 时,利福平耐药结果为不确定。

1.2.2 T-SPOT. TB 检测 分离患者外周血单个核淋巴细胞,加入早期分泌抗原靶 6(ESAT-6)/培养滤液蛋白 10(CFP-10)特异性抗原刺激,经 γ -干扰素捕获与酶联斑点显色,记录斑点形成数量。检测结果包括 ESAT-6 刺激孔(A 孔)和 CFP-10 刺激孔(B 孔)的反应强度,分别记为 A 斑点数、B 斑点数,二者之和为 A+B 斑点数。阳性对照孔和阴性对照孔用于判断实验有效性。为反映结核特异性 T 细胞免疫应答的强度,进一步计算 A 斑点/阳性对照、B 斑点/阳性对照及 A+B 斑点/阳性对照的比值,用以表征结核特异性 T 细胞反应水平。

1.2.3 mNGS 检测 肺泡灌洗液经宿主脱氧核糖核酸去除与核酸提取后,采用 Illumina CN500 测序平台进行单端测序(SE50, 2 000 万条读序列/样本)。通过 Fastp 质控、人源序列过滤后,联合 Kraken2(基于 k-mer 的快速物种分类算法)与 BWA-MEM(基于序列比对的基因组覆盖度分析算法)双算法进行物种注释。根据病原体数据库及质控阈值生成病原体报告,

并记录结核分枝杆菌的 mNGS 检出序列数和 mNGS 检出相对丰度,用以反映其在样本中的检出水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS29.0 软件进行数据处理,计数资料以例数和百分率表示,组间比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者基本情况 本研究共筛选 2 748 例患者,男性 1 833 例(66.7%)、女性 915 例(33.3%),平均(57.4±13.7)岁。Xpert MTB/RIF 阳性 324 例(11.8%),其中男性 203 例(62.7%),女性 121 例(37.3%),平均(56.6±15.2)岁。利福平耐药阳性检出 12 例(3.7%),利福平耐药结果不确定 39 例(12.0%)。Xpert MTB/RIF 半定量分级结果以低菌量和极低菌量为主(35.2%、31.5%)。不同年龄患者 Xpert MTB/RIF 半定量分级比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。不同性别患者 Xpert MTB/RIF 半定

量分级比较差异有统计学意义($P < 0.05$),男性患者低菌量占比显著高于女性患者。见表 1。

2.2 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 T-SPOT. TB 患者结果分析 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 T-SPOT. TB 的 192 例患者中,男性 123 例(64.1%),女性 69 例(35.9%)。Xpert MTB/RIF 半定量分级以低菌量和极低菌量为主,性别及年龄在不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的 A 斑点/阳性对照比值、B 斑点/阳性对照比值和 A+B 斑点/阳性对照比值比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。两两比较发现,Xpert MTB/RIF 半定量分级中菌量的 A 斑点/阳性对照比值、B 斑点/阳性对照比值、A+B 斑点/阳性对照比值显著高于微量菌量和极低菌量($P < 0.05$),Xpert MTB/RIF 半定量分级低菌量的 A 斑点/阳性对照比值、B 斑点/阳性对照比值、A+B 斑点/阳性对照比值显著高于极低菌量($P < 0.05$)。

表 1 324 例患者不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的年龄、性别分布[$\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	微量菌量($n=29$)	极低菌量($n=102$)	低菌量($n=114$)	中菌量($n=59$)	高菌量($n=20$)	F/χ^2	P
年龄(岁)	55.8±13.8	54.5±15.1	59.5±14.7	55.6±16.2	55.2±16.5	1.650	0.161
男性	12(5.9)	65(32.0)	82(40.4)	35(17.2)	9(4.4)	12.796	0.012
女性	17(14.0)	37(30.6)	32(26.4)	24(19.8)	11(9.1)		

表 2 192 例患者不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的年龄、性别分布[$\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	微量菌量($n=18$)	极低菌量($n=57$)	低菌量($n=65$)	中菌量($n=41$)	高菌量($n=11$)	F/χ^2	P
年龄(岁)	63.8±16.1	53.4±16.1	57.5±14.1	54.5±15.1	59.3±10.5	2.031	0.092
男	13(10.6)	35(28.5)	45(36.6)	22(17.9)	8(6.5)	3.736	0.443
女	5(7.2)	22(31.9)	20(29.0)	19(27.5)	3(4.3)		

表 3 不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的 T-SPOT. TB 比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

项目	微量菌量($n=18$)	极低菌量($n=57$)	低菌量($n=65$)	中菌量($n=41$)	高菌量($n=11$)	H	P
A 斑点/阳性对照	0.039(0.003,0.192)	0.037(0.006,0.088)	0.067(0.017,0.136)	0.108(0.036,0.212)	0.071(0.047,0.108)	13.682	0.008
B 斑点/阳性对照	0.026(0.005,0.098)	0.062(0.004,0.177)	0.096(0.025,0.297)	0.200(0.050,0.343)	0.066(0.009,0.252)	14.029	0.007
A+B 斑点/阳性对照	0.062(0.015,0.269)	0.119(0.031,0.303)	0.198(0.049,0.422)	0.320(0.103,0.519)	0.193(0.108,0.381)	16.175	0.003

2.3 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 mNGS 患者结果分析 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 mNGS 的 69 例患者中,男性 46 例(66.7%),女性 23 例(33.3%)。Xpert MTB/RIF 半定量分级中,高菌量病例仅 3 例,与中菌量合并为中菌量+高菌量。各分级中以低菌量和极低菌量为主。mNGS 未检出结核分枝杆菌 9 例患者均为微量菌量和极低菌量。69 例

不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的性别占比比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 mNGS 的 69 例患者中,不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的 mNGS 检出序列数及 mNGS 检出相对丰度比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两两比较结果显示,中菌量+高菌量的 mNGS 检出序列数及 mNGS 检出

相对丰度显著高于微量菌量、极低菌量和低菌量($P<0.05$);低菌量的 mNGS 检出序列数及 mNGS 检出相

对丰度显著高于微量菌量和极低菌量($P<0.05$)。见表 5。

表 4 69 例不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的性别分布[n(%)]

性别	微量菌量($n=13$)	极低菌量($n=22$)	低菌量($n=21$)	中菌量+高菌量($n=13$)	χ^2	P
男	9(19.6)	14(30.4)	15(32.6)	8(17.4)	0.498	0.919
女	4(17.4)	8(34.8)	6(26.1)	5(21.7)		

表 5 69 例患者不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级 mNGS 检出序列数、相对丰度分布[M(P_{25} , P_{75})]

项目	微量菌量($n=13$)	极低菌量($n=22$)	低菌量($n=21$)	中菌量+高菌量($n=13$)	H	P
mNGS 检出序列数	0.0(0.0,7.0)	6.0(1.5,26.5)	48.0(20.0,437.0)	5 562.0(3 467.5,28 784.5)	36.284	<0.001
mNGS 检出相对丰度	0.0(0.0,0.1)	0.1(0.1,0.1)	0.1(0.1,0.4)	4.4(2.0,64.8)	35.133	<0.001

2.4 mNGS 检出其他病原菌体分布 Xpert MTB/RIF 阳性和同时送检 mNGS 患者 69 例中,42 例患者检测出其他病原体(60.9%),分别是阴性菌 21 例(30.4%)、病毒 21 例(30.4%)和真菌 15 例(21.7%,包括曲霉 4 例、酵母菌 11 例)、阳性菌 13 例(18.8%)、特殊病原体 6 例(8.7%,包括鸟分枝杆菌 1 例、人型支原体 1 例、新生隐球菌 1 例、惠普尔养障体 1 例、耶氏肺孢子菌 2 例)。

3 讨 论

肺结核仍然是临床常见病和疑难病之一,临床可通过痰液抗酸染色、痰培养、T-SPOT. TB、胸部计算机断层扫描、mNGS 等检查方法辅助诊断,但上述检查都有各自优劣性,并且在不同层级医院开展情况不一,如何更好地诊断肺结核,同时避免不必要的联合检测,是临床需要关注的问题。

Xpert MTB/RIF 具有快速、灵敏度高、特异度高、可检测耐药性等优点,极大提升了结核病及耐药结核的早期诊断能力^[1-2]。本研究共筛选 2 748 例患者,Xpert MTB/RIF 阳性 324 例,阳性率较低,提示临床认可 Xpert MTB/RIF 对肺结核诊断的重要价值,但需要适当减少不必要的送检,以提高检测阳性率。本研究利福平耐药检出 12 例(3.7%),与文献[4]结果一致。既往研究表明,Xpert MTB/RIF 半定量分级与患者的临床表现及影像学严重程度具有一定相关性,高菌量患者更可能出现典型的肺结核影像学表现,并具有较高的传染性,而在极低菌量样本或存在非典型突变的情况下,检测结果可能出现假阴性或假阳性^[5-8]。本研究 mNGS 未检出结核分枝杆菌 9 例患者均为微量菌量和极低菌量,提示微量和极低菌量等级的 Xpert MTB/RIF 阳性对于肺结核的诊断意义有限。Xpert MTB/RIF 报告中的“利福平耐药结果为不确定”通常指检测到细菌 RNA 聚合酶 β 亚基(rpoB)基因区域存在突变,但突变类型无法明确归类

为已知耐药突变,或检测信号处于临界值(如探针延迟扩增等情况)^[9]。本研究利福平耐药检出 12 例(3.7%),利福平耐药结果不确定 39 例(12.0%)。Xpert MTB/RIF 仅用于检测利福平耐药性,无法检测其他抗结核药物的耐药性^[10],因此,Xpert MTB/RIF 对于临床诊断肺结核,特别是判读肺结核的耐药性方面仍存在局限性。

T-SPOT. TB 检测通过分离患者外周血单个核淋巴细胞,经结核分枝杆菌特异性抗原 ESAT-6 和 CFP-10 刺激,促使特异性 T 细胞分泌干扰素- γ 。干扰素- γ 经酶联斑点显色反应形成可见斑点,斑点形成数量用于反映结核特异性 T 细胞免疫应答的强度。T-SPOT. TB 检测不能区分活动性结核和潜伏性结核感染,但结合临床表现、影像学和其他实验室检查时,可为活动性结核的诊断提供重要参考;对于免疫功能低下者,T-SPOT. TB 检测的灵敏度和特异度优于结核菌素试验;对于既往接种过卡介苗的人群,其诊断价值更高;对于严重免疫抑制患者,可能出现假阴性;对于无症状但有结核感染风险的人群,T-SPOT. TB 检测可用于潜伏性结核感染的筛查及预防性治疗决策。本研究 Xpert MTB/RIF 阳性且同时送检 T-SPOT. TB 的 192 例患者中,不同 Xpert MTB/RIF 半定量分级的 A 斑点/阳性对照比值、B 斑点/阳性对照比值和 A+B 斑点/阳性对照比值比较差异有统计学意义($P<0.05$)。因此,对于 A 斑点/阳性对照、B 斑点/阳性对照或 A+B 斑点/阳性对照较高的患者,临床可进一步选择纤支镜肺泡灌洗液送检 Xpert MTB/RIF 或 mNGS 检测,以进一步明确诊断。mNGS 检测为感染性疾病的精准诊断提供了强有力的工具,尤其在复杂、疑难和危重病例中显示出独特优势。mNGS 检出序列数和 mNGS 检出相对丰度是评估病原体的重要指标。mNGS 检出序列数越多,说明该微生物在样本中的丰度越高,结果越可靠;mNGS 检出

相对丰度反映该微生物在样本中占比,有助于判断其是否为主要致病菌^[11-12]。本研究发现 mNGS 检出结核 DNA 序列数和相对丰度与灌洗液 Xpert MTB/RIF 半定量分级存亦在明显关联,这提示对于临床单纯考虑肺结核的患者,两种检查选择一种即可。既往研究报道,结核合并其他病原体感染或定植的发生率较高,包括细菌、真菌、病毒及其他特殊病原体等^[13-18]。本研究 Xpert MTB/RIF 阳性和同时送检 mNGS 患者 69 例中,42 例患者检测出其他病原体(60.9%)。因此,在解读 mNGS 检测结果时,需结合其他临床特征评估病原体的诊断价值。

本研究发现,Xpert MTB/RIF 半定量分级与 T-SPOT.TB 的斑点值、mNGS 检出结核 DNA 序列数及相对丰度之间存在关联,这为临床合理选择上述检测方法,避免不必要的 mNGS 与 Xpert MTB/RIF 半定量分级联合检测提供了理论依据。本研究的不足之处是选取的研究人群仅为 Xpert MTB/RIF 阳性患者,未充分结合临床和其他检测指标来涵盖所有肺结核患者。在后续研究中,应纳入更广泛的肺结核人群,以全面评估不同检查指标在临床中的意义。

参考文献

[1] 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]. *Microbiol Spectr*, 2024,12(5):e0409823.

[2] LI K,HU Q,LIU J,et al. Effects of sputum bacillary load and age on GeneXpert and traditional methods in pulmonary tuberculosis: a 4-year retrospective comparative study[J]. *BMC Infect Dis*,2023,23(1):831.

[3] GOLETTI D,DELOGU G,MATTEELLI A,et al. The role of IGRA in the diagnosis of tuberculosis infection, differentiating from active tuberculosis, and decision making for initiating treatment or preventive therapy of tuberculosis infection[J]. *Int J Infect Dis*,2022,124(Suppl 1):S12-S19.

[4] 王乐乐,唐神结,李佩波. 世界卫生组织《全球结核病报告 2024》解读及结核病诊治进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2025, 45(4):338-348.

[5] 陈蕾,吴桂辉. Xpert MTB/RIF 技术在诊断肺结核及利福平耐药的临床价值[J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(2): 204-207.

[6] SUN Y,ZHANG Q,ZHANG Q,et al. Diagnostic efficacy of Xpert MTB/RIF assay in bronchoalveolar lavage fluid

for tracheobronchial tuberculosis: a retrospective analysis [J]. *Front Med (Lausanne)*,2021,8(1):682107.

[7] WANG J,ZHANG X,HUO F,et al. Analysis of Xpert MTB/RIF results in retested patients with very low initial bacterial loads: a retrospective study in China[J]. *J Infect Public Health*,2023,16(6):911-916.

[8] 饶有益,刘畅,辛秋丹,等. Xpert MTB/RIF 检测极低菌量样本利福平耐药假阳性分析[J]. *公共卫生与预防医学*, 2024,35(5):24-27.

[9] 梁晨,唐神结. 临床结核病病原体分子生物学诊断年度进展 2022[J]. *中华结核和呼吸杂志*,2023,46(2):176-182.

[10] The CRyPTIC Consortium. A data compendium associating the genomes of 12,289 *Mycobacterium tuberculosis* isolates with quantitative resistance phenotypes to 13 antibiotics[J]. *PLoS Biol*,2022,20(8):e3001721.

[11] LAI L M,DAI Q B,CAO M L,et al. Clinical utility of metagenomic next-generation sequencing in pathogen detection for lower respiratory tract infections[J]. *Sci Rep*, 2025,15(1):19039.

[12] CHIU C Y,MILLER S A. Clinical metagenomics[J]. *Nat Rev Genet*,2019,20(6):341-355.

[13] SHI C L,HAN P,TANG P J,et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. *J Infect*,2020,81(4):567-574.

[14] 唐彬,黄屹. mNGS 在诊断痰涂阴性肺结核合并真菌感染中的应用[J]. *临床肺科杂志*, 2025, 30(5):767-770.

[15] ZOU X,ZHU Y,QIN Y,et al. Value analysis of next-generation sequencing combined with Xpert in early precise diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*,2023,107(1):115921.

[16] YONG Y,ZHOU L,ZHANG X,et al. The clinical value of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of pulmonary tuberculosis and the exploration of lung microbiota characteristics [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 12568.

[17] PAI M,ZWERLING A,MENZIES D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection; an update [J]. *Ann Intern Med*, 2008, 149(3):177-184.

[18] LEWINSOHN D M,LEONARD M K,LOBUE P A,et al. Official American thoracic society/infectious diseases society of America/centers for disease control and prevention clinical practice guidelines; diagnosis of tuberculosis in adults and children[J]. *Clin Infect Dis*,2017,64(2): 111-115.