

tNGS 和 Xpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎诊断中的对比研究及耐药性分析

马海红 董晓伟 翟子秋^(通讯作者) 赵倩宝 李伟

黑龙江省传染病防治院结核内一科 黑龙江 150500

【摘要】目的：比较靶向高通量测序法（tNGS）与 XpertMTB/RIF 在结核性胸膜炎诊断中的效能，并分析其耐药性检测价值及胸腔积液微生物谱特征。方法：纳入 2025 年 1 月至 11 月在黑龙江省传染病防治院就诊的 137 例疑似结核性胸膜炎患者，采集胸腔积液标本分别进行结核分枝杆菌培养、tNGS 和 XpertMTB/RIF 检测。以《肺结核诊断和临床指南》诊断标准为参考，比较两种方法的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值，分析耐药性检测的一致性，并探讨胸腔积液的微生物谱特征。结果：137 例患者中确诊结核性胸膜炎 89 例，非结核性胸膜炎 48 例。tNGS 灵敏度显著高于 XpertMTB/RIF。在 68 例 tNGS 阳性病例中检出耐药相关突变 32 例（47.06%），其中利福平耐药 17 例，异烟肼耐药 22 例，多耐药 11 例。XpertMTB/RIF 检出利福平耐药 15 例，两种方法利福平耐药检测一致性良好（ $Kappa=0.847$, $P<0.001$ ）。非结核性胸膜炎组检出多种病原体，以肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌为主。结论：tNGS 在结核性胸膜炎诊断中的灵敏度优于 XpertMTB/RIF，能同时提供更全面的耐药性信息和病原体谱，为临床早期精准诊疗提供重要依据。

【关键词】：结核性胸膜炎；靶向高通量测序；XpertMTB/RIF；诊断效能；耐药性

DOI:10.12417/2705-098X.26.08.053

结核性胸膜炎是肺外结核最常见的类型之一，由结核分枝杆菌抗原引起的 IV 型超敏反应所致，严重影响患者健康和生活质量^[1]。近年来我国 TBP 发病率呈上升趋势，TBP 如不及时诊治可导致胸膜增厚或粘连、结核性脓胸和支气管胸膜瘘等严重并发症，因此早期准确诊断至关重要^[2]。因此，寻找一种快速、灵敏、无创的诊断方法具有重要临床价值。XpertMTB/RIF 作为世界卫生组织推荐的结核病快速诊断技术，能在 2 小时内同时检测结核分枝杆菌和利福平耐药性，但在胸腔积液检测中的灵敏度仅为 52% 左右，阴性结果不能完全排除 TBP^[3]。靶向高通量测序法是新一代分子诊断技术，通过对病原体核酸序列的高通量测序，能够快速检测多种病原体，不依赖于细菌培养，特别适用于少菌型标本的检测^[4]。本研究旨在通过前瞻性队列研究，系统比较 tNGS 和 XpertMTB/RIF 在 TBP 诊断中的效能，分析两种方法的耐药性检测一致性，并探讨胸腔积液的微生物谱特征，为 TBP 的精准诊断和个体化治疗提供科学依据。

1 材料与与方法

1.1 研究对象

纳入 2025 年 1 月至 11 月黑龙江省传染病防治院就诊的疑似 TBP 患者 137 例，男性 79 例（57.66%），女性 58 例（42.34%），年龄 18-78 岁，平均（48.36±15.72）岁。根据《肺结核诊断和临床指南》，确诊 TBP 89 例（64.96%），非 TBP 48 例（35.04%）。两组患者一般临床表现差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。TBP 组盗汗（60.67%vs 25.00%）、体重下降（65.17%vs 31.25%）发

生率及结核接触史比例（35.96%vs 16.67%）显著高于非 TBP 组（ $P<0.05$ ）。实验室检查显示，TBP 组胸腔积液 ADA 水平 [（58.43±18.26）U/L vs （28.17±12.64）U/L] 和淋巴细胞比例 [（78.35±12.47）%vs （45.26±18.93）%] 均显著高于非 TBP 组（ $P<0.001$ ）。

纳入标准：年龄≥18 岁；具有胸膜炎相关临床症状如发热、咳嗽、胸痛和呼吸困难，胸部影像学提示胸腔积液；临床资料完整；胸腔积液标本已提交 tNGS 测序；自愿签署知情同意书。

排除标准：先天性或获得性免疫缺陷疾病；妊娠或哺乳期；tNGS 测序质控不合格；其他不适合纳入的情况。本研究经黑龙江省传染病防治院伦理委员会批准，所有患者均签署知情同意书。

1.2 标本采集与处理

通过胸腔穿刺术或胸腔闭式引流获得胸腔积液标本。使用 EDTA 抗凝管采集 20mL 胸腔积液，4 小时内冷藏运输至实验室。每份标本分为三部分，分别用于结核菌培养、tNGS 和 Xpert MTB/RIF 检测。

1.3 检测方法

结核菌培养：标本接种前将 0.8mL 营养添加剂及杂菌抑制剂的混合物加入培养管中，取 0.5mL 样本注入培养管，放入 BACTEC MGIT 960 培养系统中培养，仪器自动输出检测结果。

tNGS 检测：标本经前处理后进行核酸提取，质检合格后

进行 PCR 扩增，构建 Nanopore 测序文库，完成纳米孔测序和数据分析。检测流程包括样本准备、核酸提取、核酸质检、聚合酶链反应、测序文库构建、纳米孔测序和数据分析，由第三方实验室完成。

XpertMTB/RIF 检测：胸腔积液样品用 4%NaOH 溶液处理（比例 2:1），3000r/min 离心后去除上清液，沉淀物用 67mM PBS 溶液重悬。按 XpertMTB/RIF 反应试剂盒（Cepheid, USA）说明书操作，将 1.5mL 样品试剂加入 0.5mL 悬浮沉淀中，振荡混匀后室温孵育 15 分钟，将 2mL 材料转移至测试盒中，约 2 小时后自动输出结果。

1.4 统计学方法

使用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 进行数据管理与分析。正态计量资料以均数±标准差表示，组间比较采用 t 检验；非正态计量资料以中位数表示，组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以例数（%）表示，组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。灵敏度=TP/(TP+FN)×100%，特异度=TN/(TN+FP)×100%，阳性预测值=TP/(TP+FP)×100%，阴性预测值=TN/(TN+FN)×100%。一致性采用 Kappa 检验，Kappa>0.75 为一致性良好。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 tNGS 与 XpertMTB/RIF 诊断效能比较

三种检测方法的诊断效能比较见表 1。

表 1 三种检测方法诊断结核性胸膜炎的效能比较

检测方法	tNGS	XpertMTB/RIF	结核菌培养
真阳性(例)	68	47	31
假阳性(例)	4	2	0
真阴性(例)	44	46	48
假阴性(例)	21	42	58
灵敏度(%)	76.40	52.81	34.83
特异度(%)	91.67	95.83	100.00
阳性预测值(%)	94.44	95.92	100.00
阴性预测值(%)	67.69	52.27	45.28

2.2 耐药性检测结果

两种方法利福平耐药检测完全一致（Kappa=1.000，P<0.001）。耐药基因突变类型分布见表 2。

表 2 tNGS 检测的主要耐药基因突变类型分布

耐药类型	突变基因	突变位点	例数	构成比(%)
利福平耐药	rpoB	S531L	8	47.06
	rpoB	H526D	5	29.41
	rpoB	D516V	4	23.53
异烟肼耐药	katG	S315T	15	68.18
	inhA	C-15T	7	31.82
链霉素耐药	rpsL	K43R	5	62.50
	rrs	A514C	3	37.50
乙胺丁醇耐药	embB	M306V	3	60.00
	embB	Q497R	2	40.00

利福平耐药	rpoB	S531L	8	47.06
	rpoB	H526D	5	29.41
	rpoB	D516V	4	23.53
异烟肼耐药	katG	S315T	15	68.18
	inhA	C-15T	7	31.82
链霉素耐药	rpsL	K43R	5	62.50
	rrs	A514C	3	37.50
乙胺丁醇耐药	embB	M306V	3	60.00
	embB	Q497R	2	40.00

2.3 胸腔积液微生物谱

tNGS 共检出病原体 92 例(67.15%)，包括结核分枝杆菌 68 例和其他病原体 24 例。非 TBP 组 48 例中，20 例(41.67%)检出病原体，以细菌感染为主，病原体谱见表 3。

表 3 非结核性胸膜炎组病原体谱分布(n=20)

病原体	例数	构成比(%)
肺炎链球菌	7	35.00
金黄色葡萄球菌	5	25.00
肺炎克雷伯菌	3	15.00
铜绿假单胞菌	2	10.00
鲍曼不动杆菌	1	5.00
白色念珠菌	1	5.00
巨细胞病毒	1	5.00
合计	20	100.00

2.4 tNGS 阴性相关因素

89 例 TBP 患者中，21 例（23.60%）tNGS 阴性。多因素 Logistic 回归分析结果见表 4。

表 4 TBP 患者 tNGS 阴性的多因素 Logistic 回归分析

因素	β 值	标准误	Wald χ^2	OR 值	95%CI	P 值
病程>4 周	1.325	0.486	7.438	3.76	1.45-9.74	0.006
胸腔积液量<500mL	1.158	0.523	4.901	3.18	1.14-8.86	0.027
ADA<40U/L	0.892	0.461	3.746	2.44	0.99-6.01	0.053

既往抗结核 治疗	1.647	0.549	8.992	5.19	1.77- 15.22	0.003
-------------	-------	-------	-------	------	----------------	-------

注：续表 4。

3 讨论

本研究系统比较了 tNGS 与 XpertMTB/RIF 在 TBP 诊断中的效能，结果显示 tNGS 灵敏度显著高于 XpertMTB/RIF 和传统培养，为 TBP 的早期精准诊断提供了新的技术选择^[5]。TBP 诊断困难的核心在于胸腔积液中结核分枝杆菌数量稀少。本研究中结核菌培养阳性率仅 34.83%，XpertMTB/RIF 灵敏度 52.81%。tNGS 通过高通量测序技术能够检测极低载量的病原体核酸，不依赖细菌活性，理论上更适合少菌型标本^[6]。本研究证实 tNGS 能额外检出 23 例 XpertMTB/RIF 阴性的 TBP 患者，显著提高了诊断率。tNGS 特异度略低于 XpertMTB/RIF，4 例假阳性可能与死亡菌体 DNA 残留、既往感染或微量污染有关，提示结果解读需结合临床综合判断^[7]。

耐药检测是本研究的重要发现。tNGS 检出耐药率达 47.06%，多耐药率 16.18%，显著高于全国平均水平，提示本地区耐药形势严峻。两种方法利福平耐药检测完全一致（Kappa=1.000），验证了 tNGS 耐药检测的可靠性。更重要的是，tNGS 可同时提供多种一、二线抗结核药物的耐药信息，

而 XpertMTB/RIF 仅能检测利福平耐药。本研究发现 katG S315T 突变（68.18%）和 rpoB S531L 突变（47.06%）分别是异烟肼和利福平耐药的主要类型。这些信息为临床制定个体化治疗方案提供了重要依据，可避免盲目用药和耐药进一步加重。

微生物谱分析显示，非 TBP 组中 tNGS 检出病原体 20 例（41.67%），以肺炎链球菌（35.00%）和金黄色葡萄球菌（25.00%）为主。传统培养方法对这些病原体检出率较低，tNGS 的无偏倚性和高灵敏度使其在病原学诊断中具有独特优势^[8]。本研究发现病程>4 周、胸腔积液量<500mL 和既往抗结核治疗史是 tNGS 阴性的独立危险因素。病程长的患者免疫反应充分，局部菌量进一步减少；积液量少导致采样病原体含量不足；既往治疗使菌量降低至检测阈值以下。这提示对于此类患者，应联合胸膜活检、胸腔镜检查等手段提高诊断率，不能仅依赖单一检测方法。

综上，tNGS 在 TBP 诊断中灵敏度优于 XpertMTB/RIF，能同时提供全面的耐药信息和病原体谱，为早期诊断和精准治疗提供重要依据。对于高度怀疑 TBP 但常规检测阴性的患者，tNGS 可作为重要的补充诊断手段，但结果解读需结合临床综合判断。

参考文献：

- [1] 尹相玉,李金星,马刚,等.超声引导下胸膜活检联合 Xpert MTB/RIF 对结核性胸膜炎的诊断价值[J].中国防痨杂志,2025,47(S1):5-8.
- [2] 王霞,张利利,李晓阳,等.转化生长因子-β1 联合腺苷脱氨酶、GeneXpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎诊断中的应用观察[J].实用医院临床杂志,2024,21(2):50-53.
- [3] 李成俊,孙炳奇,孙娇,等.GeneXpert MTB/RIF 检测内科胸腔镜活检组织研磨悬液诊断结核性胸膜炎的价值[J].中国防痨杂志,2018,40(8):840-845.
- [4] 张海晴,刘成永,周冬青,等.GeneXpert MTB/RIF 系统在结核性胸膜炎快速诊断中应用价值[J].北京医学,2016,38(7):739-741.
- [5] 李文博,刘超,孙扬,等.探讨 GeneXperTMTB/RIF 检查在结核性胸膜炎诊断中的价值[J].河北医学,2019,25(9):1496-1499.
- [6] 杜月菊,李倩,李曼,等.IL-27 联合 ADA、GeneXpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎诊断中的应用价值[J].中国煤炭工业医学杂志,2023,26(2):124-127.
- [7] 刘真,燕海英,郭璐,等.胸腔积液中 Xpert MTB/RIF 与腺苷脱氨酶在下呼吸道标本病原学检测阴性的结核性胸膜炎中的诊断价值比较[J].实用医院临床杂志,2022,19(5):117-120.
- [8] 刘薇,鲍洁,张新,等.胸腔积液中 IL-27 及 Gene Xpert MTB/RIF 联合检测有助于结核性胸膜炎的快速诊断[J].内科急危重症杂志,2022,28(5):387-389.