

# 肺组织mNGS诊断免疫功能正常的血行播散性肺结核1例并文献复习

刘顺苹, 韩利梅\*, 阿仙·乌日娜

新疆医科大学第二附属医院呼吸与危重症医学科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年11月11日; 录用日期: 2023年12月4日; 发布日期: 2023年12月11日

## 摘要

目的: 探讨不同标本类型送检mNGS对结核的诊断效能, 结合文献资料提高对血行播散性肺结核的认识。方法: 报道1例肺泡灌洗液及血液mNGS阴性, 最终利用肺组织送检mNGS诊断出的免疫功能正常的血行播散性肺结核病例, 同时进行系统的文献复习。以“二代测序”或“mNGS”和“肺结核”为关键词, 通过万方和中国知网数据库对2023年5月前的中文文献进行检索; 以“mNGS, infectious disease, China”为关键词, 通过PubMed数据库检索英文文献, 结合病例及文献进行分析。结果: 本病例中, 患者病情进展迅速且常规抗感染无效, 取患者支气管肺泡灌洗液及血液标本送检mNGS均未检测出致病菌, 最终通过CT引导下细针穿刺肺组织送检mNGS检出结核分枝杆菌复合群而做出确切诊断; 通过对中英文文献进行检索分析, 文献报道中均提出mNGS检测技术在感染性疾病中的诊断价值, 同时提出不同的标本类型会对mNGS的结果产生影响。结论: mNGS对不明原因的肺部感染的诊断具有良好价值; 对于结核的诊断选择肺组织送检mNGS相较于其他标本有更好的优势; 对于病情进展迅速的高度疑似肺结核感染的患者, 即使其免疫功能正常, 也考虑血行播散性肺结核的可能。

## 关键词

mNGS, 血行播散性肺结核, 诊断

# Metagenomic Next-Generation Sequencing for Diagnosis of Hematogenous Pulmonary Tuberculosis of an Immunocompetent Patient: A Case Report and Literature Review

\*通讯作者。

文章引用: 刘顺苹, 韩利梅, 阿仙·乌日娜. 肺组织 mNGS 诊断免疫功能正常的血行播散性肺结核 1 例并文献复习[J]. 临床医学进展, 2023, 13(12): 18925-18931. DOI: 10.12677/acm.2023.13122662

## Shunping Liu, Limei Han\*, A Sin-Uzhina

Respiratory and Critical Care Medicine Department, Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Nov. 11<sup>th</sup>, 2023; accepted: Dec. 4<sup>th</sup>, 2023; published: Dec. 11<sup>th</sup>, 2023

### Abstract

**Objective:** Exploring the diagnostic efficacy of mNGS for tuberculosis in different sample types and combining literature to improve the understanding of hematogenous disseminated pulmonary tuberculosis. **Method:** A case of hematogenous pulmonary tuberculosis with normal immune function diagnosed by pulmonary tissue mNGS was reported. Using the keywords “Metagenomic Next-Generation Sequencing” or “mNGS” and “tuberculosis”, Chinese literature before May 2023 was searched through Wanfang and CNKI databases; Taking “mNGS, infectious disease, China” as the key words, English literature was searched through the PubMed database. **Result:** In this case, the patient’s disease progressed rapidly and conventional anti-infection measures were ineffective. No pathogenic bacteria were detected in the mNGS of the patient’s bronchoalveolar lavage fluid and blood samples, and the final diagnosis was made by CT guided fine needle aspiration of lung tissue to detect the mNGS. Through the retrieval and analysis of literature, that have proposed the diagnostic value of mNGS detection technology in infectious diseases, and proposed that different specimen types will affect the results of mNGS. **Conclusion:** MNGS has good value in the diagnosis of unexplained pulmonary infections; For the diagnosis of tuberculosis, mNGS in lung tissue has a better advantage than other specimens; For highly suspected pulmonary tuberculosis patients with rapid disease progression, even if their immune function is normal, the possibility of hematogenous disseminated pulmonary tuberculosis should be considered.

### Keywords

mNGS, Hematogenous Pulmonary Tuberculosis, Diagnosis

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

血行播散性肺结核(hematogenous disseminated tuberculosis, HDT)是一种严重的结核感染性疾病,多见于营养不良、合并严重基础疾病、长期服用免疫抑制剂导致抵抗力低下的人群。目前,诊断肺结核的主要方法仍然是病原体培养、痰涂片、影像学和组织病理学检查等。痰培养是结核诊断的金标准,但其敏感性低,培养时间长,不能满足临床快速诊断的需要;痰涂片作为一种简单、快速的检测工具,其灵敏度和特异性较低;组织病理学标本难以获得且有时只显示肉芽肿而没有典型的干酪样坏死,对结核病的诊断不具有特异性;对疑似血行播散性肺结核患者的诊断,胸部影像学检查是临床一种最常用方法,但是病程早期并非都能显示出典型的粟粒影像学改变,另外,隐匿性粟粒性结核的非典型临床表现和部分患者伴发急性呼吸窘迫综合征而掩盖原发病,使得粟粒性肺结核的早期诊断成为临床上一大难题[1]。宏

基因组二代测序技术(metagenomic Next-Generation Sequencing, mNGS)是一项能对标本中所有微生物脱氧核糖核酸含量进行高通量测序的技术,可检测包括结核分枝杆菌在内的多种病原微生物,为痰涂阴性肺结核的诊断提供了一个全新的选择。在送检 mNGS 的标本类型选择方面,肺泡灌洗液仍是临床送检的最常见类型,另外还包括肺组织、痰液、血液、胸腔积液等,目前尚缺少有关标本类型与 mNGS 检测结果间关系的研究。本文报道 1 例利用肺组织送检 mNGS 诊断出的免疫功能正常的血行播散型肺结核,结合文献复习,探讨 mNGS 在不同标本类型中检测结核分枝杆菌的诊断效能。现分析报道如下。

## 2. 病例报告

患者 43 岁哈萨克族女性,因“间断咳嗽、咳痰 1 月余,加重 4 天”于 2023 年 2 月 11 日就诊于我院呼吸与危重症医学科。患者自诉 1 月余前无明显诱因出现间断咳嗽、咳痰不适,痰为白色粘痰,量少易咳出,否认发热、寒战、盗汗、咯血,否认胸闷、胸痛等。当时就诊于当地医院予以止咳化痰等对症治疗后症状稍有好转。但此后咳嗽、咳痰症状反复发作,多次于当地诊所就诊予以静脉药物应用(具体不详),效欠佳。此次为 4 天前,患者感咳嗽频率较前增多,咳嗽症状夜间较为明显,严重影响睡眠,偶有胸闷及活动后气短不适,为进一步诊治故就诊于我院。既往体健,否认罹患糖尿病、结缔组织病、严重传染病等,否认使用免疫抑制剂等病史。

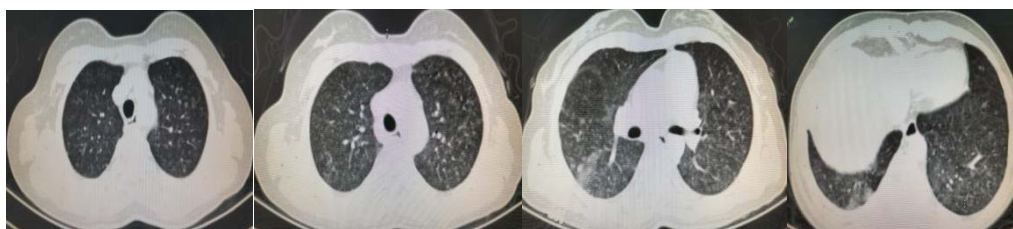
查体:生命体征平稳,急性面容,呼吸均匀,唇稍显紫绀,肋间隙正常,双肺叩诊轻音,双肺呼吸音稍粗,未闻及干湿啰音,心律齐,心脏及各瓣膜听诊区未闻及明显病理性杂音,余查体无明显异常。实验室检查:血常规:白细胞计数  $3 \times 10^9/L$ 、血红蛋白 108 g/L、淋巴细胞百分率 12.5%、中性粒细胞百分率 78.1%、超敏 C-反应蛋白 43.96 mg/L, PCT: 0.052 ng/L; 电解质:钾 3.08 mmol/L, 钙 1.94 mmol/L, 铁 3.3 umol/L; TORCH 病毒全项:风疹病毒 IgG、弓形虫 IgG、单纯疱疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG 阳性,提示既往感染;余 T 淋巴细胞亚群、肝肾功、肿瘤标记物等未见明显异常,在院期间动态感染指标监测如表 1 所示。2023 年 2 月 11 日胸部 CT 平扫:双肺多发斑片状稍高密度影,边界模糊,以胸膜下分布为著,右肺下叶后基底段可见斑片状实变影;双肺散在结节高度度影,边界清晰,较大者约 4 mm × 5 mm;双肺散在索条影;右侧胸腔积液(图 1)。入院后考虑诊断社区获得性肺炎,经验性予以左氧氟沙星注射液(0.5 g)每日一次静滴抗感染,期间咳嗽、咳痰症状无明显好转,反复多次痰培养、痰涂片及抗酸染色未见明显异常。2 月 21 日患者出现高热,体温最高 39.2℃,为稽留热,血氧饱和度下降至 85%左右,查体患者呼吸急促、口唇紫绀明显,双肺可闻及细湿啰音,心腹查体同前无明显异常,双下肢无水肿。考虑病情逐渐恶化,升级抗生素为亚胺培南西司他丁继续抗感染治疗,但效欠佳,仍间断发热,体温最高 39℃左右,咳嗽咳痰症状较前缓解不明显,不吸氧状态下血氧饱和度难以维持在正常水平。2 月 21 日行支气管镜检查镜下未见明显异常,留取支气管肺泡灌洗液同时抽取外周血送检金匙医学公司行 mNGS 检查,结果回示未检出病原菌。2 月 21 日复查胸部 CT 示(图 2):双肺弥漫性小结节病变,右侧少量胸腔积液,右肺可见结节状、条片状密度增高影,边缘清晰,较大约 5 mm × 5 mm,结合患者病程特点及复查胸部 CT 结果,考虑肺结核可能,但期间反复痰培养、痰抗酸杆菌染色及支气管肺泡灌洗液培养均无结核杆菌感染证据,故行 CT 引导下肺穿刺活检,取肺组织送至我院病理科,同时将活检肺组织再次送检金匙医学公司行 mNGS 检测,结果回示:病理:少许肺组织,肺泡扩张,局灶炎细胞浸润纤维细胞增生;少许肺组织有炎细胞浸润及肉芽肿形成(图 3)。mNGS:检出结核分枝杆菌复合群 23 条(表 2)。结合患者临床表现、影像学及 mNGS 结果,最终确诊为:急性血行播散性肺结核(重症),予以四联抗结核药物治疗后,患者症状明显好转,感染指标逐渐下降,病情得到有效控制后,转胸科医院进一步专科治疗。通过电话随访了解到,患者对抗结核药物耐受性良好,无明显不良反应,目前未再出现发热、咳嗽、咳痰等不适,复查影像学检查肺部病变明显缩小,也再次确定了急性血行播散性肺结核的诊断。

**Table 1.** Monitoring of infection indicators during hospitalization**表 1.** 住院期间感染指标监测

日期	白细胞计数( $\times 10^9$ )	中性粒细胞百分比(%)	CRP (mg/L)	PCT (ng/ml)
Day1 (2023-2-11)	3	78.1	43.96	0.052
Day6	4.02	82.6	49.1	0.094
Day10	5.71	89	71.46	0.139
Day12	3.7	89.8	1.37	0.094
Day14	4.03	82.8	23.23	-
Day18	7.74	84.5	29.2	-

**Table 2.** mNGS results for different specimen types**表 2.** 不同标本类型 mNGS 结果

标本类型	送检日期	结果	序列数
肺泡灌洗液	2023-2-16	检出人体常见定植菌	-
外周血	2023-2-21	未检出病原体	-
肺组织	2023-2-25	结核分枝杆菌复合群	23

**Figure 1.** 2023-2-13, chest CT plain scan showed infectious lesions in both lungs, with scattered nodular lesions and right pleural effusion in both lungs**图 1.** 2023-2-13 胸部 CT 平扫示双肺感染性病变，双肺散在结节灶、右侧胸腔积液**Figure 2.** 2023-2-21 chest CT plain scan showing diffuse lesions in both lungs with right pleural effusion**图 2.** 2023-2-21 胸部 CT 平扫示双肺弥漫性病变，右侧胸腔积液**Figure 3.** Pathologically shows a small amount of lung tissue with infiltration of inflammatory cells and granuloma formation**图 3.** 病理示少许肺组织，有炎细胞浸润及肉芽肿形成

### 3. 讨论

播散性肺结核是结核分枝杆菌通过淋巴或血行播散所引起急性重型肺结核，早期多缺乏特异性的临床表现，多因发热、乏力、体重减轻、咳嗽等症状为首发就诊原因。血行播散性肺结核包括急性粟粒性肺结核及亚急性、慢性血行播散性肺结核，血行播散性肺结核主要发生在如合并 HIV 感染、血糖控制不佳的糖尿病患者、罹患严重血液病等免疫功能缺陷或长期使用免疫抑制剂的患者中，极少发生在免疫功能正常者[2]，国内有关在免疫功能正常患者中发生播散性肺结核的研究较少，Yuanting Ye [3]于 2021 年报道了一例免疫功能正常的血行播散性肺结核患者，其病变累及肺、肝、脊柱、纵隔和前列腺多部位，多次辗转未得到确诊，最终通过 mNGS 确定了全身播散性结核的诊断的病例。虽然粟粒性肺结核在结核中的发病率仅为 0.5%~10%，但其死亡率极高，据相关报道，粟粒性肺结核需要机械通气治疗的患者高达 65% [4]。在本病例中，由于最初误诊为一般普通病原体导致的肺部感染，即使在高级别抗生素的支持下，患者血氧饱和度仍难以维持正常，并出现高热寒战等症状，这要求临床医生应早期对肺部感染做出准确的病原学诊断，但由于检测手段的局限性，即使在发达国家，对粟粒性结核诊断的滞后性往往对患者的预后产生了巨大的不良影响[5]。目前对粟粒性肺结核的诊断还没有统一的指南推荐，临床一般采用以下诊断标准[6]：① 与结核诊断相一致的临床表现，如发热伴夜间体温升高、体重减轻、厌食、心动过速和夜间盗汗超过 6 周；② 胸部 X 线片上的典型粟粒型；③ 胸片或 HRCT 均显示双侧漫网状结节样病变，背景为粟粒影；④ 结核病的微生物学、细胞病理学、组织病理学或分子证据。胸部影像学在血型播散性肺结核的诊断中起着重要作用，但并非所有患者都能显示出典型的粟粒改变，或者在疾病晚期才表现出三均匀粟粒结节，加之部分患者多合并肺部炎性渗出灶而掩盖了随机分布的小结节，使得影像学检查在早期播散性肺结核的诊断中参考价值有限。正如本病例中，患者入院胸部 CT 平扫显示“双肺多发斑片状稍高密度影，考虑炎症渗出性病变可能，双肺散在结节考虑良性结节可能”，病程初期尚未显示出明显的节段性分布小叶中心结节影，加之合并的炎症渗出性病变的干扰，使得入院时胸部 CT 仅考虑了肺部感染的诊断，而忽略了粟粒性肺结核的可能。十天我们通过复查胸部 CT 发现双肺弥漫性小结节病变明显，这也为考虑特殊病原体感染而进一步送检 mNGS 而提供了指导性意义。通过本病例，也提醒在临床中，当常规抗感染效果欠佳的情况下，及时复查胸部 CT 有助于做出准确的诊断及指导下一步诊疗方案。

mNGS，即宏基因组二代测序技术，其直接从样本中提取所有遗传物质片段而不分离特定的病原体，利用较高通量的新一代测序技术对送检样本中所有微生物基因独立或并行测序后，将检测到的样本序列与全面覆盖已知病原体的可靠数据库进行比较，从而得出检测结果[7]。mNGS 目前可用于病原微生物的鉴定、医院感染性疾病暴发的调查、未知病原体的检测、毒力分析、耐药基因组的研究等方面[8]。国内外针对 mNGS 临床应用的研究已有初步成果，包括病例个案报道、病例系列报道、大样本研究等，涉及骨关节感染、皮肤软组织感染、肺部感染、中枢神经系统感染等方面，研究结果均表明，mNGS 对病原体的检出效能较传统检测方法优势明显，可大大提高感染性疾病的病原体诊断效率[3]。对于临床高度可疑结核感染而痰培养阴性的患者，通过收集其支气管肺泡灌洗液、痰及肺组织送检，mNGS 可直接获得样本中所有微生物的物种核苷酸及表达丰度的客观信息，并进行比对，列出临床样本中可能的病原体，不仅可以明确结核杆菌感染是否存在，还可以一次性发现合并感染情况、了解耐药性指导临床用药，对全面诊断和综合治疗具有重要意义。另一方面，mNGS 可以获得样本中的所有核苷酸序列信息，其中包括来自人类的核苷酸序列、操作过程中的污染物、无害的寄生微生物和真正的病原体，从而给数据处理和结果解释带来挑战，这也是未来 mNGS 发展需要进一步解决的问题。目前国内外发表的 mNGS 与结核病诊断相关的文献多以病例报道及小样本临床研究为主，mNGS 对结核病的诊断价值尚缺乏评价，对于

mNGS 检出报告的解读也尚存疑惑[9]。已有的回顾性研究[10]显示 mNGS 诊断结核病的敏感度为 46%，显著高于培养法。查阅国内外文献，mNGS 在肺泡灌洗液、痰、胸水、血液、脑脊液等标本类型均可能检出结核分枝杆菌。与现有的检测方法相比，孙雯雯[11]等研究结果显示，mNGS 诊断结核病的总体敏感度显著高于培养法、涂片法及 Xpert MTB 法，特异度为 100%。Peixin Chen [12]等人的研究比较了传统培养、GeneXpert MTB/RIF、mNGS 三种方法诊断结核的效能，结果显示：mNGS 诊断结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、约登指数分别为 66.7%、97.1%、96.0%、73.3%、63.8%，灵敏度 mNGS (66.7%) > GeneXpert MTB/RIF (61.5%) > 传统培养(36.1%)；以传统培养作为金标准，mNGS 的约登指数为 88.2%，以 GeneXpert MTB/RIF 为金标准，mNGS 的约登指数为 100%，说明 mNGS 在确诊结核方面与现有方法一致性较好。这一结论与 Zhou X [13]等人的研究结果一致，即 mNGS 与 GeneXpert MTB/RIF 灵敏度相差不大，但显著高于传统培养。在本病例中，我们对同一患者留取支气管肺泡灌洗液及血液送检金匙医学公司行 mNGS 未检出病原菌，后行 CT 引导下肺穿刺活检术取肺组织再次送检金匙医学公司行 mNGS 检测，检出结核分枝杆菌复合群。根据本病例，我们提出 mNGS 对不同标本类型的诊断效能的疑问。

基于 mNGS 的检测技术原理，mNGS 对相对无菌的标本有更好的检测效能，例如肺泡灌洗液、脑脊液、血液或活检组织的样本，有关指南指出在脑脊液等清洁标本，即使检测出微小结核杆菌核酸片段，也可以做出结核感染的诊断。对于 mNGS 在肺结核诊断的标本选择上，到目前为止关于 mNGS 在肺泡灌洗液和肺活检组织标本中检测结核分枝杆菌的效能差异的相关研究还很少。Meng Fu [14]在一项回顾性研究中，分别计算了每位患者肺泡灌洗液及肺活检组织中结核杆菌序列数在总序列中的比例，比较 BALF 组和肺活检组之间的相对丰度，得出 mNGS 在肺活检组织中具有更高的效率的结论。Sun W [15]的前瞻性研究表明，mNGS 在疑似结核患者的诊断中，肺内样本的敏感性为 62%~87.5%，肺外样本的敏感性为 47.4%~60%，在各种样本中几乎 100%的特异性，这与 Zhou X [13]以及 Chen PX [12]等的研究结果一致，这表明 mNGS 在结核感染的敏感性及特异性均较高，在标本选择方面，肺组织送检或许可以得到更高的诊断率。分析其原因，可能是因为结核杆菌是一种胞内菌，由于其胞内生长特性，往往释放较少的胞外核酸而导致 mNGS 能检测到的序列较少。然而，在获取肺组织标本的活检过程中可能导致组织和细胞的破坏而释放出核酸片段，因此检测的灵敏度得到了提高，但这缺少相关实验佐证。肺泡灌洗液取样主要通过支气管镜获得，肺活检组织可通过超声支气管镜引导肺组织活检术(R-EBUS-TBLB)、经皮肺穿刺活检(PNLB)和胸腔镜活检获得。大多数患者对普通支气管镜检查的耐受性较差，对于老年合并心脑血管疾病患者，在麻醉风险高的情况下，无法开展无痛气管镜手术，加之如果是周围型的肺部病变使得取样的阳性率大打折扣，这时肺活检无非是一个良好的替代技术。另外，肺部结核感染灶从影像学上有时难以与恶性占位鉴别，因此对于那些肺部病变部位特定的患者也更倾向于选择肺组织活检，既可以获得感染学依据，也可以得到病理诊断。总之，当 BALF 样本对特殊病变部位的病原体捕获价值有限或患者有 BALF 手术禁忌症时，肺活检组织是 mNGS 检测结核的分枝杆菌感染的可选良好标本，然而，对于结核感染患者，肺组织 mNGS 是否优于支气管肺泡灌洗液 mNGS，还需要进一步的前瞻性多中心随机对照研究。

#### 4. 结论

综上所述，根据本病例的经验及相关文献分析，当影像学提示有散在分布的结节且常规抗感染效果欠佳，即使在免疫功能正常的患者中也应考虑播散性结核病可能。临床医生在遇到可疑标本时及时进行病原性检查至关重要，对于难以找到结核杆菌感染证据的高度疑似肺结核患者，mNGS 可作为结核病诊断的宝贵补充手段，另外，肺组织送检 mNGS 相较于肺泡灌洗液或许对结核的诊断能有一个更高的诊断

效能, 但这需要大样本多中心研究加以佐证。

## 参考文献

- [1] 梁晨, 于佳佳, 唐神结. 世界卫生组织《全球结核病报告 2022》解读[J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(1): 21-30.
- [2] Suarez, I., Maria Funger, S., Jung, N., Lehmann, C., Reimer, R.P., Mehrkens, D., *et al.* (2019) Severe Disseminated Tuberculosis in HIV-Negative Refugees. *The Lancet Infectious Diseases*, **19**, e352-e359. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30162-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30162-8)
- [3] Ye, Y., Yang, N., Zhou, J., Qian, G. and Chu, J. (2021) Case Report: Metagenomic Next-Generation Sequencing in Diagnosis of Disseminated Tuberculosis of Animmunocompetent Patient. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **8**, Article ID: 687984. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.687984>
- [4] 李天予, 王雅岩. 左侧髌髌关节结核继发急性血行播散性肺结核 1 例[J]. 吉林医学, 2022, 43(1): 278-280.
- [5] Boushab, B.M. and Basco, L.K. (2019) Military Tuberculosis and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, **16**, Article ID: 10113. <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2019.100113>
- [6] Vohra, S. and Dhaliwal, H.S. (2021) Military Tuberculosis. Stat Pearls Publishing, Treasure Island, FL, 1-157.
- [7] Gu, W., Miller, S. and Chiu, C.Y. (2019) Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection. *Annual Review of Pathology*, **14**, 317-336. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012751>
- [8] 王硕, 张志华. 宏基因组学在感染性疾病诊治中的研究进展[J]. 河北医学, 2020, 26(5): 878-880.
- [9] Miao, Q., Ma, Y., Wang, Q., *et al.* (2018) Microbiological Diagnostic Performance of Metagenomic Next-Generation Sequencing When Applied to Clinical Practice. *Clinical Infectious Diseases*, **67**, S231-S240. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy693>
- [10] 王硕, 张志华. 宏基因组学在感染性疾病诊治中的研究进展[J]. 河北医学, 2020, 26(5): 878-880.
- [11] 孙雯雯, 顾瑾, 范琳. 宏基因组二代测序对不同类型结核病的诊断价值[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(2): 96-100.
- [12] Chen, P.X., Sun, W.W. and He, Y.Y. (2020) Comparison of Metagenomic Next-Generation Sequencing Technology, Culture and GeneXpert MTB/RIF Assay in the Diagnosis of Tuberculosis. *Journal of Thoracic Disease*, **12**, 4014-4024. <https://doi.org/10.21037/jtd-20-1232>
- [13] Zhou, X., Wu, H.L., Ruan, Q.L., *et al.* (2019) Clinical Evaluation of Diagnosis Efficacy of Active Mycobacterium Tuberculosis Complex Infection via Metagenomic Next-Generation Sequencing of Direct Clinical Samples. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **9**, 351. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00351>
- [14] Fu, M., Cao, L.J., Xia, H.-L., *et al.* (2022) The Performance of Detecting Mycobacterium Tuberculosis Complex in Lung Biopsy Tissue by Metagenomic Next-Generation Sequencing. *BMC Pulmonary Medicine*, **22**, Article Number: 288. <https://doi.org/10.1186/s12890-022-02079-8>
- [15] Sun, W., Lu, Z. and Yan, L. (2021) Clinical Efficacy of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Rapid Detection of Mycobacterium Tuberculosis in Smear-Negative Extrapulmonary Specimens in a High Tuberculosis Burden Area. *International Journal of Infectious Diseases*, **103**, 91-96. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.11.165>