

耐药结核病实验室诊断方法的研究进展

李瑜琴, 陈玲

【摘要】 20世纪90年代以来全球结核病疫情开始回升, 而结核分枝杆菌耐药是导致结核病发病率升高的重要原因之一, 我国是全球30个结核病高负担国家之一。近年来, 由于诊断延迟、化疗不当或管理不善等而导致耐药结核病增多, 治疗难度增加, 常需联合二线抗结核药物, 但目前临床上所用二线抗结核药物不仅毒副作用较大、费用较昂贵, 且整体控制效果较差。近年来, 随着分子生物学技术发展, 结核病诊断技术尤其是耐药结核病诊断技术突飞猛进。本文主要综述了耐药结核病实验室诊断方法的研究进展, 旨在为耐药结核病的诊治提供参考。

【关键词】 结核; 耐药; 结核分枝杆菌; 诊断; 综述

【中图分类号】 R 52 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2017.12.003

李瑜琴, 陈玲. 耐药结核病实验室诊断方法的研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25 (12): 8-11. [www.syxnf.net]

LI Y Q, CHEN L. Progress on laboratory diagnostic methods for drug-resistant tuberculosis [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2017, 25 (12): 8-11.

Progress on Laboratory Diagnostic Methods for Drug-resistant Tuberculosis LI Yu-qin, CHEN Ling

The Second Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China

Corresponding author: CHEN Ling, E-mail: lingjuncd@163.com

【Abstract】 Global tuberculosis epidemic situation began to rise due to mycobacterium tuberculosis resistance since the 1990s, China is one of thirty high tuberculosis burden countries in the world. In recent years, drug-resistant tuberculosis significantly increased due to delayed diagnosis, improper chemotherapy, poor management and so on, treatment of drug-resistant tuberculosis is more difficult which need combination of second-line antituberculosis drugs, but now second-line antituberculosis drugs have high risk of toxic and side effects and poor overall control effect, mostly are expensive. As the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81360002)

563000 贵州省遵义市, 遵义医学院附属医院呼吸二科

通信作者: 陈玲, E-mail: lingjuncd@163.com

[16] European Heart Rhythm Association (EHRA), European Society of Cardiology (ESC), Heart Rhythm Society, et al. 2012 EHRA/HRS expert consensus statement on cardiac resynchronization therapy in heart failure: implant and follow-up recommendations and management [J]. *Europace*, 2012, 14 (9): 1236-1286. DOI: 10.1093/europace/eus222.

[17] BRIGNOLE M, AURICCHIO A, BARON-ESQUIVIAS G, et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA) [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34 (29): 2281-2329.

[18] 张澍, 黄德嘉, 华伟, 等. 心脏再同步治疗慢性心力衰竭的建议 (2009年修订版) [J]. *中华心律失常学杂志*, 2010, 14 (1): 46-58. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2010.01.013.

[19] 张澍, 黄德嘉, 华伟, 等. 心脏再同步治疗慢性心力衰竭的建议 (2013年修订版) [J]. *中华心律失常学杂志*, 2013, 17 (4): 247-261. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2013.04.002.

[20] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014 [J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42 (2): 98-122.

[21] CAZEAU S, LECLERCQ C, LAVERGNE T, et al. Effects of multisite biventricular pacing in patients with heart failure and intraventricular conduction delay [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344 (12): 873-880.

[22] 梁义秀, 宿燕岗. 再同步化治疗的致室性心律失常作用 [J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2009, 23 (4): 303-305.

(收稿日期: 2017-10-12; 修回日期: 2017-12-19)
(本文编辑: 宋朋花)

advances in molecular biology, diagnostic techniques for tuberculosis especially for drug - resistant tuberculosis rapidly advanced. This paper reviewed the progress on laboratory diagnostic methods for drug - resistant tuberculosis, in order to provide a reference for the clinical diagnosis and treatment.

【Key words】 Tuberculosis; Drug resistant; Mycobacterium tuberculosis; Diagnosis; Review

结核病是由结核分枝杆菌 (mycobacterium tuberculosis, MTB) 感染引起的慢性传染病。《2017 全球结核病报告》指出, 2016 年, 结核病仍是头号传染病, 是全球范围内第九大致死性疾病。近年来, 结核病患者由于诊断延迟、化疗不当或管理不善等原因而导致越来越多的 MTB 对主流抗结核药物产生了耐药性, 给结核病防控工作带来严峻挑战^[1-4]。耐多药结核病 (multidrug - resistant tuberculosis, MDR - TB) 是指 MTB 至少同时对利福平和异烟肼耐药, 其治疗难度增加, 需联合二线抗结核药物, 但目前临床上所用二线抗结核药物不仅毒副作用较大、费用较昂贵, 且整体控制效果较差; 更为严峻的是, 随着二线抗结核药物使用, 广泛耐药结核病 (extensively drug resistant tuberculosis, XDR - TB) 已悄然出现并持续增加及扩散^[3,5-6], 目前几乎无特效药物, 且许多涂阳的耐药患者至死仍具有传染性, 耐药结核病已成为全球结核病防治的难题。近年来, 随着分子生物学技术发展, 结核病尤其是耐药结核病的诊断技术突飞猛进。本文通过检索相关文献, 旨在对耐药结核病实验室诊断方法的研究进展进行综述。

1 耐药结核病流行现状

世界卫生组织 (WHO) 与国际防痨和肺病联合会 (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, IUATLD) 于 1994 年建立了全球性抗结核药物耐药监测计划, 2008—2013 年第 5 轮监测计划中提到, XDR - TB 已在全球 100 个国家报道, 其中约 9.0% 的 MDR - TB 为 XDR - TB^[7]; 截至 2016 年, 抗结核药物耐药监测计划已覆盖 155 个国家及地区, 2015 年全球新发结核病患者约 1 040 万, 其中约 3.9% 初治和 21.0% 复治结核病患者为 MDR - TB, 耐利福平或耐多药结核病 (MDR/RR - TB) 患者约为 58 万, 其中约 9.5% 的 MDR - TB 为 XDR - TB。我国一直是全球结核病高负担国家, 结核病新发人数位居全球第三, MDR - TB 新发人数位居全球第二, 仅次于印度^[8]。2007—2008 年全国结核病耐药基线调查报告显示, 肺结核患者耐多药 (MDR) 率为 8.32%, 广泛耐药 (XDR) 率为 0.68%, 估算每年新发 MDR 肺结核患者为 12 万, 每年新发 XDR 肺结核患者为 1 万。全国第五次结核病流行病学抽样调查报告显示, 分离的 MTB 对二线抗结核药物耐药率为 24.6%, MDR 率为 6.8%, XDR 率为 2.1%^[9-11]。大多数结核病患者可通过早期诊断而得到合理治疗, 病死率较低, 但估计新发结核病患者人数与报告登记患者人数缺口高达 40%。因此, 加强结核病尤其是耐药结核病的早期诊断刻不容缓。

2 常规细菌学检测方法

目前, 耐药结核病常规细菌学检测方法主要是建立在 MTB 培养阳性基础上, 并根据 MTB 生长及代谢状态进行判定。

2.1 传统药敏试验 目前, 耐药结核病的诊断仍主要依靠传

统药敏试验, 主要分为直接法和间接法。直接法是指涂片镜检确认阳性的临床标本, 经处理后直接接种于含药培养基; 间接法是建立在 MTB 培养阳性基础上, 将培养出的 MTB 接种于含药培养基。直接法虽然较间接法报告结果快, 但由于其接种量不易液化、污染不易控制及可能存在涂阳培阴等情况而导致临床应用受限。目前, 临床常用的药敏试验方法是琼脂比例法^[12], 其能准确计算对某种药物耐药的 MTB 比例, 且成本较低, 适合在基层医院应用; 但由于 MTB 生长速度缓慢, 传统固体药敏试验通常需 3 个月才能获得结果, 易延误耐药结核病患者开展有效治疗; 再者, 抗结核药物浓度与耐药结果关系密切, 目前二线抗结核药物的药敏试验均存在可靠性及可重复性不足等问题^[13]。

2.2 BacT/ALert 3D 全自动细菌/分枝杆菌培养监测系统

BacT/ALert 3D 全自动细菌/分枝杆菌培养监测系统由法国梅里埃公司研发, 是一种集 MTB 快速生长培养及药敏试验为一体的全自动培养仪, 其原理是利用微生物生长代谢过程中产生的二氧化碳 (CO₂), 通过培养瓶底部特殊的激光器及固定的传感器连续检测接种标本的培养瓶中的 CO₂ 及其变化, 从而判断有无 MTB 生长; 药敏试验是将原始管分离的菌液倒入配置含药的药敏培养基及空白对照培养基中, 然后置于培养仪中, 根据 MTB 生长情况判断耐药性。BacT/ALert 3D 全自动细菌/分枝杆菌培养监测系统安全、环保、无放射性污染, 且可自动监测, 与传统改良酸性罗氏培养法相比具有安全、快速、能减少工作量等优点^[14], 但该系统投入成本较高, 很难在基层医院开展。

2.3 BACTEC - 460TB 检测系统 BACTEC - 460TB 检测系统

由美国 BD 公司生产, 其工作原理与 BacT/ALert 3D 全自动细菌/分枝杆菌培养监测系统基本相同, 在培养系统中加入放射性同位素¹⁴C 标记的棕榈酸, MTB 生长代谢过程中会特异性利用被标记的棕榈酸, 该检测系统可自动检测代谢产物¹⁴C 的放射活性, 换算成生长指数值后进行分析报告, 一般 10 ~ 14 d 可检测出阳性结果, 同时还可进行相应的药敏试验。但 BACTEC - 460TB 检测系统采用放射性培养基, 存在放射污染, 目前已被 MTB 生长指示管 (MGIT) 960 检测系统取代^[15]。

2.4 MGIT 960 检测系统 MGIT 960 检测系统

是指不含放射性培养基的 BACTEC - 460TB 检测系统, 其原理是通过监测培养管底部能被氧分子抑制的荧光指示剂而观察 MTB 生长状态, 当培养管中有 MTB 生长时大量氧分子被消耗, 原先被抑制的荧光指示剂被激活, 在 365 nm 波长紫外光照射下出现荧光, 即可判断阳性结果。MGIT 960 检测系统不存在放射性污染, 且具有检出阳性率较高、耗时较短、特异性较高等优点, 但因试剂和检测仪器昂贵而难以在基层医院开展^[16-17]。

2.5 Etest 法 Etest 法实际是一种改良琼脂扩散试验, 其原理是将药物以 log₂ 梯度稀释成不同浓度, 并用特殊技术固定于

特制的塑料条 (5 mm × 50 mm) 上, 然后将药条贴于处理过的含 MTB 的改良培养板表面并观察其抑菌圈。Etest 法是一种定量检测方法, 能同时测试多种药物, 5 ~ 10 d 可以报告其药敏结果; 但该方法易受到其他因素影响, 阴性率与假阳性率较高^[18], 目前国内尚未有该方法用于诊断 MTB 的报道。

2.6 微量快速显色药敏检测法 微量快速显色药敏检测法的原理是 MTB 在变色培养基基础液中生长, 当加入一定量结核药物作用一定时间后, 对药物敏感的 MTB 减少, 故不能使变色剂变色; 对药物耐药的 MTB 活力无明显降低, 仍能增殖, 使变色剂变色。微量快速显色药敏检测法通过观察培养基颜色及比较对照孔变化来判断药物敏感性, 2 ~ 6 d 可获得结果; 但该方法对菌液浓度要求较高, 不易操作, 精确性易受影响^[19], 须专业人员在无菌条件下进行。

3 分子生物学检测方法

分子生物学检测方法主要包括 MTB DNA 提取、针对结核药物耐药位点设计引物、通过聚合酶链反应 (PCR) 扩增与耐药性有关的基因片段及分析 PCR 扩增产物进行耐药性判断等。

3.1 普通 PCR 技术 DNA 直接测序是检测基因突变的最客观、最直接的方法, 即从 MTB 中提取 DNA, 设计相应药物所对应基因片段的引物, PCR 扩增后测序, 与 H37RV 标准菌株基因组比较并判断有无基因突变。普通 PCR 技术可准确检测突变基因及突变类型, 但费用较高、操作繁琐、易出现假阳性, 需特定的实验室设备及专业人员进行, 目前多用于科学研究。

3.2 Gene Xpert 检测系统 Gene Xpert 检测系统由美国 Cepheid 公司研发, 其原理是将样本加入 Gene Xpert 反应盒后自动进行样品纯化、核酸扩增、目标序列测定。Xpert MTB/RIF 检测技术作为 WHO 推荐的一种耐药基因突变检测方法, 采用了 Gene Xpert 检测系统, 是针对 MTB 利福平耐药基因 *rpoB* 的 81bp 利福平耐药决定区设计引物、探针, 在检测有无 MTB 的同时检测是否发生基因突变, 从而判断 MTB 是否对利福平耐药^[20]。BOEHME 等^[21] 研究结果显示, Xpert MTB/RIF 检测技术检测利福平耐药性 MTB 的灵敏度和特异度分别为 97.6%、98.1%。王霄等^[22] 应用 Xpert MTB/RIF 检测技术诊断肺外结核 (浅表淋巴结结核) 的阳性率为 78.1%。Xpert MTB/RIF 检测技术操作简单, 耗时较短, 交叉污染较小, 对环境和实验室人员安全; 但 Gene Xpert 检测系统仅能检测利福平耐药情况, 且该技术属于国外进口, 费用较昂贵, 缺乏我国自主知识产权。超级 Xpert (Xpert Ultra) 作为第二代 Xpert MTB/RIF 检测技术, 与液体培养灵敏度相当, 检测菌量极限可低至 10 cfu/ml, 能更准确地检测利福平耐药情况, 但目前尚缺乏多中心研究进一步证实^[8,23]。

3.3 高分辨溶解曲线技术 (HRM) HRM 由美国犹他大学与美国 Idaho 公司共同合作开发, 是 PCR 扩增技术与溶解曲线分析技术结合形成的新技术^[24], 其依据不同核酸分子 GC 含量、GC 分布不同及解链时所形成的溶解曲线不同的原理, 在 PCR 扩增完成后通过高分辨率仪器检测扩增产物中饱和荧光染料荧光强度变化而获得特征性溶解曲线, 通过与野生型溶解曲线比较而判断序列是否突变及区分单个碱基的序列差

异^[25-26]。HRM 无需序列特异性探针, 已有相关商品化产品用于检测包括异烟肼、利福平、乙胺丁醇、链霉素、喹诺酮类药物在内的抗结核药物, 该技术属于我国自主研发产品, 已逐步用于耐药结核病分子诊断, 但目前仍缺少系统的临床研究。

3.4 线性探针 (LPA) LPA 通过设计被生物素修饰的特异性引物, 经过多重 PCR 扩增而使扩增产物携带生物素, 然后将扩增产物变性, 使扩增产物与特异探针进行杂交, 采用酶免疫显色法判定结果。LPA 最短 6 h 可诊断出耐药结核病, 故被 WHO 推荐作为诊断耐药结核病的主要方法之一^[8], 与传统药敏试验比较, 其可极大地缩短耐药结核病报告时间, 且灵敏度和特异度较高; 但受膜上探针限制而不能检测所有类型耐药结核病, 目前已知的有德国 HAI 公司 GenoType MTBDR 和 GenoType MTBDRsl 检测试剂盒。商业化的 LPA 试剂盒价格较高, 且 LPA 检测对实验室条件及实验室人员要求严格, 故该技术在基层实验室推广使用受限^[27-29]。

3.5 基因芯片技术 基因芯片技术是一种新型核酸检测方法, 其基本原理是将大量不同的生物信息分子以高密度密集的方式有序地固定在玻璃上形成微阵列, 当荧光标记的靶分子与芯片上的探针结合后, 通过扫描即可进行量化分析。基因芯片技术可快速检测 MTB 耐利福平和异烟肼 3 个基因 (*ropB*、*KatG*、*inhA*) 的常见突变位点^[30-31], 准确率高, 但只能检测常见的突变基因, 且费用较昂贵, 需特定的实验室设备及专业人员进行, 目前多应用于科学研究。

3.6 全基因组测序 (WGS) WGS 是一种高通量测序技术, 能更全面、精准地分析 MTB 全基因组的碱基序列^[32], 充分了解其所包含的遗传信息, 如耐药、分型等, 并通过与不同个体或群体比对发现二者之间的遗传特性及基因突变特点, 从而加深对耐药结核病发生、发展的认识, 并制定相应的治疗策略, 提高其检出率; WGS 已成为药物敏感性检测的另外一个策略。但 WGS 目前仅用于培养分离株, 并未用于痰标本, 且工作量较大、费用较高, 测序后生物信息学分析更是错综复杂, 故尚难以在临床上推广, 多应用于科学研究^[33]。

4 小结与展望

目前, MTB 传统药敏试验仍是耐药结核病的诊断金标准, 但其耗时较长、成本较高, 有待进一步改进。近年来随着分子生物学技术快速发展, 涌现出大量 MTB 耐药基因检测技术, 可快速、准确地检测出针对某种抗结核药物的突变基因, 但并不是所有突变均提示耐药, 也不是所有耐药均存在基因突变, 目前还有许多抗结核药物耐药相应突变基因及其耐药机制尚未明确。因此, 结核病的防治工作尤其是耐药结核病诊治任重道远, 需全社会共同努力。

参考文献

- [1] AZIZ M A, WRIGHT A, LASZLO A, et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis [J]. *Lancet*, 2006, 368 (9553): 2142-2154.
- [2] 范晓萍, 张文宏. 广泛耐药结核分枝杆菌耐药机制及其疾病诊断的研究进展 [J]. *微生物与感染*, 2011, 6 (2): 117-121. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6184.2011.02.010.

- [3] World Health Organization. Global Tuberculosis Control: WHO report 2010 [R]. World Health Organization, 2010.
- [4] CHANG K C, YEW W W. Management of difficult multidrug - resistant tuberculosis and extensively drug - resistant tuberculosis: update 2012 [J]. *Respirology*, 2013, 18 (1): 8 - 21. DOI: 10. 1111/j. 1440 - 1843. 2012. 02257. x.
- [5] ZHAO L L, SUN Q, ZENG C Y, et al. Molecular characterisation of extensively drug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in China [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 45 (2): 137 - 143. DOI: 10. 1016/j. ijantimicag. 2014. 09. 018.
- [6] ACOSTA C D, DADU A, RAMSAY A, et al. Drug - resistant tuberculosis in Eastern Europe: challenges and ways forward [J]. *Public Health Action*, 2014, 4 (Supp 2): S3 - 12. DOI: 10. 5588/pha. 14. 0087.
- [7] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2014 [R]. World Health Organization, 2014.
- [8] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2016 [R]. World Health Organization, 2016.
- [9] ZHAO Y, XU S, WANG L, et al. National survey of drug - resistant tuberculosis in China [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366 (23): 2161 - 2170. DOI: 10. 1056/NEJMoa1108789.
- [10] ZHANG J, GOU H, HU X, et al. Status of drug - resistant tuberculosis in China: A systematic review and meta - analysis [J]. *Am J Infect Control*, 2016, 44 (6): 671 - 676. DOI: 10. 1016/j. ajic. 2015. 12. 042.
- [11] 王黎霞, 成诗明, 陈明亭, 等. 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告 [J]. *中国防痨杂志*, 2012, 34 (8): 485 - 508.
- [12] KIM S J. Drug - susceptibility testing in tuberculosis: methods and reliability of results [J]. *Eur Respir J*, 2005, 25 (3): 564 - 569.
- [13] 李亮, 许绍发. 中国结核病诊疗现状及展望 [J]. *中国实用内科杂志*, 2015, 35 (8): 643 - 646.
- [14] 陈军, 王飞, 任易, 等. BacT/Alert 3D 系统与罗氏培养基分离分枝杆菌的比较 [J]. *中国防痨杂志*, 2007, 29 (2): 151 - 153. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000 - 6621. 2007. 02. 011.
- [15] RODRIGUES C S, SHENAI S V, ALMEIDA D, et al. Use of bactec 460 TB system in the diagnosis of tuberculosis [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2007, 25 (1): 32 - 36.
- [16] 张娟, 蒋俊, 张红, 等. MGIT960 与罗氏培养法在结核分枝杆菌培养及药敏试验中的比对分析 [J]. *中国防痨杂志*, 2011, 33 (6): 361 - 365.
- [17] 陈忠南, 赵丽丽, 易松林, 等. BACTEC MGT960 在结核分枝杆菌药物敏感性试验中的临床研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2013, 29 (2): 166 - 169. DOI: 10. 3969/cjz. j. issn. 1002 - 2694. 2013. 02. 013.
- [18] VERMA J S, RAWAT D, HASAN A, et al. The use of E - test for the drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*—A solution or an illusion? [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2010, 28 (1): 30 - 33. DOI: 10. 4103/0255 - 0857. 58725.
- [19] 赵锦, 徐萍, 张涛, 等. 微量快速显色药敏检测法临床应用评价 [J]. *中国防痨杂志*, 2007, 29 (3): 273 - 274. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000 - 6621. 2007. 03. 022.
- [20] 张治国, 欧喜超, 孙倩, 等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术检测痰标本中结核分枝杆菌及其耐药性的研究 [J]. *中国防痨杂志*, 2013, 35 (1): 13 - 16.
- [21] BOEHME C C, NABETA P, HILLEMANN D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356 (9): 1005 - 1015. DOI: 10. 1056/NEJMoa0907847.
- [22] 王霄, 文强, 岳健博, 等. GeneXpert Mtb/RIF、抗酸染色及培养在浅表淋巴结结核诊断中的比较研究 [J]. *遵义医学院学报*, 2016, 39 (3): 275 - 278.
- [23] BAHR N C, NUWAGIRA E, EVANS E E, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculous meningitis in HIV - infected adults: a prospective cohort study [OL]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18 (1): 68 - 75. DOI: 10. 1016/S1473 - 3099 (17) 30474 - 7. [2017 - 09 - 14].
- [24] WITTER C T, REED G H, GUNDRY C N, et al. High - resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen [J]. *Clin Chem*, 2003, 49 (6 Pt 1): 853 - 860.
- [25] 王姣, 尤崇革. 高分辨率熔解曲线技术及应用新进展 [J]. *兰州大学学报 (医学版)*, 2016, 42 (5): 55 - 61. DOI: 10. 13885/j. issn. 1000 - 2812. 2016. 05. 011.
- [26] 柳正卫, 黄玉, 赵雁林. 结核分枝杆菌基因突变检测方法研究进展 [J]. *中国防痨杂志*, 2013, 35 (9): 748 - 751.
- [27] 王斌, 邓建平, 李群, 等. 线性探针技术用于临床结核分枝杆菌耐药性的应用 [J]. *预防医学情报杂志*, 2016, 32 (3): 285 - 288.
- [28] 雷永良, 雷丽倩, 王晓光, 等. 线性探针技术在丽水地区结核菌耐药检验中的应用 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26 (9): 1265 - 1267.
- [29] 王小平, 陆峰. 应用线性探针技术 (HAIN) 对临床结核菌分离株进行快速耐药性分析 [J]. *江苏预防医学*, 2016, 27 (3): 265 - 267. DOI: 10. 13668/j. issn. 1006 - 9070. 2016. 03. 03.
- [30] 陈蕾. 基因芯片法在肺结核诊断中的临床应用价值 [J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22 (10): 1879 - 1883.
- [31] 高会霞, 冯爱东, 柳晓金, 等. 基因芯片技术诊断耐多药结核病的临床应用研究 [J]. *天津医药*, 2016, 44 (9): 1155 - 1159. DOI: 10. 11958/20150264.
- [32] MAHOMED S, NAIDOOET K, DOOKIE N, et al. Whole genome sequencing for the management of drug - resistant TB in low income high TB burden settings: Challenges and implications [J]. *Tuberculosis*, 2017, 107: 137 - 143. DOI: 10. 1016/j. tube. 2017. 09. 005.
- [33] 姚伟明, 陈重, 蒲彰, 等. 全基因组测序分析耐甲氧西林金黄色葡萄球菌利奈唑胺耐药相关变异位点 [J]. *中国感染控制杂志*, 2017, 16 (1): 1 - 5. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671 - 9638. 2017. 01. 001.

(收稿日期: 2017 - 10 - 16; 修回日期: 2017 - 12 - 16)

(本文编辑: 谢武英)