

# 世界卫生组织《优化肉汤微孔板法结核分枝杆菌复合群药物敏感性试验方法学》解读

夏辉 郑扬 宋媛媛

**【摘要】** 世界卫生组织(World Health Organization, WHO)之前关于表型药物敏感性试验(简称“药敏试验”)的应用及操作相关指南均针对改良罗氏培养基比例法药敏试验、液体药敏试验、Middle 7H10/7H11 比例法药敏试验,从未就微孔板法药敏试验进行详细描述。考虑到利用肉汤微孔板法进行药物敏感性试验的优势,基于已有的研究基础和使用现状,WHO于2022年4月首次发布了《优化肉汤微孔板法结核分枝杆菌复合群药敏试验方法学》文件。笔者就该文件出台的背景、微孔板法药敏试验的优势、药物布局设计、方法学方面应考虑的事宜及对我国相关工作的启示等进行解读,以供我国相关科研、医疗人员及厂商参考。

**【关键词】** 微生物敏感性试验; 分枝杆菌, 结核; 总结性报告(主题)

**【中图分类号】** R446.5

**Interpretation of the Optimized broth microdilution plate methodology for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex issued by World Health Organization** XIA Hui, ZHENG Yang, SONG Yuan-yuan. National Tuberculosis Reference Laboratory, National Center for Tuberculosis Control and Prevention, China CDC, Beijing 102206, China

Corresponding author: XIA Hui, Email: xiahui@chinacdc.cn

**【Abstract】** The previous guidelines on the application and operational procedure of phenotypic drug susceptibility testing issued by World Health Organization (WHO) are all relevant to the modified L-J medium-based proportion drug susceptibility test (DST), liquid medium DST, and Middle 7H10/7H11 DST; however, the microdilution plate method has never been described in detail. Because of the advantages of the microplate method for DST, and based on the previous research results and application, the WHO first released the *Optimized broth microdilution plate methodology for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex* in April 2022. Here we interprets the background of the document, advantages of microplate DST, drug layout design, issues to be considered in methodology, and implications for relevant work in China, so as to provide the reference for relevant scientific research, medical staffs and manufacturers in China.

**【Key words】** Microbial sensitivity tests; *Mycobacterium tuberculosis*; Consensus development conferences as topic

**【Fund program】** Central Government Funds for Tuberculosis Prevention and Control Project-Daily Operation (228711)

尽管世界卫生组织(World Health Organiza-

tion, WHO)推荐并广泛应用的分子生物学耐药检测技术如 GeneXpert MTB/RIF、线性探针检测等解决了结核分枝杆菌(MTB)对利福平(RFP)、异烟肼(INH)及氟喹诺酮类药物耐药性的快速检测问题<sup>[1]</sup>,但毕竟检测药物种类有限。基因组测序技术可以同时预测 MTB 对多种药物的耐药,弥补了商品化分子生物学检测技术的不足,但是在寻找和解释 MTB 新型突变时若没有可靠的表型药物敏感性试验(简称“药敏试验”)结果,则仍存在挑战<sup>[2]</sup>。目前应用的传统表型药敏试验方法是一支培养基对应一种药品的一个浓度,且大多数药物仅基于一个临界浓度(critical concentration)进行敏感或耐药的定



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

doi:10.19982/j.issn.1000-6621.20220187

基金项目:中央财政结核病预防控制项目-结核业务日常运转(228711)

作者单位:中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心国家结核病参比实验室,北京 102206

通信作者:夏辉,Email: xiahui@chinacdc.cn

性分类。临界浓度是一个较低的浓度,但对于某些药物如莫西沙星(Mfx),建议在更高的临床折点浓度(clinical breakpoint)下进一步检测其耐药性。这里所说临界浓度指体外实验抗结核药物能抑制99%的表型野生型菌(phenotypically wild type, pWT)生长时的最低浓度。而临床折点浓度则是一个高于临界浓度的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC),使用该浓度将可能对治疗有反应的菌株与可能对治疗无反应的菌株区分开来。即在体外低浓度检测耐药但高浓度下仍敏感时意味着患者使用更高的药物剂量可以克服在较低剂量下观察到的耐药,该浓度的确定需要依据临床治疗结果、MIC分布和药代动力学/药效学数据(包括药物剂量)等综合确定。MIC指在固体培养基或液体肉汤培养基药敏试验中,能阻止99%以上微生物生长的抗菌剂的最低浓度。还有一个重要的概念是流行病学临界值(epidemiological cut-off value, ECOFF)。ECOFF在以前结核病实验室诊断领域未被引入,但是在其他病原菌的药敏试验中是非常重要的概念。现阶段结核病诊断领域的临界浓度即对应于ECOFF<sup>[3]</sup>。通常,当使用标准化方法测试MIC时,针对pWT会形成单个高斯分布形态,即pWT分布;ECOFF对应于pWT分布的右端(即通常包含99%的pWT菌株)。

肉汤微孔板法结核分枝杆菌复合群药敏试验一般使用96孔微孔板(单孔底面积约0.32 cm<sup>2</sup>,加液量不超过200 μl),根据药物在微孔板上的排列方式和每种药物包含的浓度范围,每块微孔板可以同时检测多种药物,相比以往的基于单支培养基的固体和液体表型药敏试验可以减轻工作量,同时减少孵育空间需求。并且,微孔板法可以得到每株具体的MIC值,区别于单纯的二分类敏感/耐药定性结果。下面将重点针对微孔板法药敏试验的优势及优化方法进行解读。

一、肉汤微孔板法结核分枝杆菌复合群药敏试验介绍及优化思路

#### (一)方法优势

1. 识别不同水平耐药:目前抗结核治疗方案的选择依据药物药敏试验结果(耐药和敏感),尤其是某些核心药物如RFP和氟喹诺酮类药物药敏试验结果。因为对于大多数药物而言,传统表型药敏试验仅检测基于临界浓度的结果(Mfx除外),无法获知耐药水平对疗效的影响。尽管已知某些突变导致的MTB耐药为低水平耐药,但多数情况下基因型药敏试验也仅报告敏感或耐药二分类结果,临床也仅依据该结果制定相应的治疗方案。尽管WHO

已更新了线性探针技术的结果解读和报告,但在临床系统并未进行更新<sup>[4]</sup>。而微孔板法可以包含数量不等的高于临界浓度的多个浓度,可以区分低水平和高水平耐药,进一步告知临床医师是使用标准的药物剂量还是需要提高药物剂量来治疗感染MIC轻微升高MTB菌株的患者。同时,通过积累数据还可以为其他药敏试验方法是否需要设置高于ECOFF的折点(即临床折点)提供更多的证据。而这些都是以往基于耐药/敏感的二分类结果的表型药敏试验无法获得的。

2. 解释并发现某些不稳定结果及不一致结果:多数情况下耐药MTB菌株的MIC值升高较明显,但对于部分抗结核药物因某些耐药机制(如某些*rpoB*临界突变引起的RFP耐药)导致的耐药MTB的MIC仅轻微升高<sup>[5]</sup>,致其MIC分布与敏感菌株的MIC分布重叠较多,意味着选定的临界浓度与这些耐药机制引起的耐药菌株MIC分布会发生交叉。对此类菌株如果仅依据单一的临界浓度检测耐药与敏感二分类结果,重复性必然会差。减少这种将耐药误分类为敏感的最佳方法是通过减少MIC检测技术不确定性来消除或最小化MIC分布之间的重叠程度。因ECOFF或临界浓度的设置是抑制99%的pWT菌株,所以理论上当耐药菌株在全部菌株中占比接近1%时,现有表型药敏试验方法的阳性预测值会很差,因为这1%的敏感菌株会由于不可避免的技术层面的不确定性被错误分类为耐药。某种程度上,可以获得具体MIC值的微孔板法将能够识别这种随机的错误导致的耐药结果,即当MIC值升高仅高于ECOFF一个浓度时出现此类错误的概率会较大,而对于MIC值高于ECOFF两个浓度的菌株,则不太可能发生此类错误。对于某些基因型和表型药敏试验不一致结果,也可以通过具体的MIC值解释。

#### (二)方法设计需考虑的问题

1. 现行使用的微孔板法存在的问题:技术专家小组对现有的商品化微孔板或定制微孔板的现状尤其是存在的问题进行了汇总。全球应用最多的是自2010年开始商业化的称为Sensititre™ MYCOTB或Sensititre™ MYCOTBI的微孔板(简称“MYCOTB”)。该商品在我国也已经获得批准使用。除了MYCOTB微孔板外,还分析了另外5种主要用于科研用途的由美国ThermoFisher公司提供的定制板,包含需要冷冻储存及干燥形式的两类微孔板,药品涵盖12~14种。欧洲抗菌药物敏感试验委员会(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)则推荐了非商品化微孔板法的

标准参考方法。

MYCOTB 在 96 孔微孔板中固定 12 种冻干的一线 and 二线抗结核药物,但不包含 A 组和 B 组中的重要药物,因此,无法界定更新的准广泛或广泛耐药结核病。此外,也没有明确界定临界浓度,从而无法给出敏感或耐药分类结果。某些药品的浓度范围设置也不合理,无法确保使用质控菌株 H37Rv 获得可靠的质控结果,且 MYCOTB 说明书中的质控浓度范围与美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)制定的标准也不相同<sup>[6]</sup>。

除了药物及浓度外,药粉在几种微孔板的存在形式(干燥或冷冻)、培养基的成分、接种菌悬液的配制流程及浓度、是否使用 CO<sub>2</sub> 孵育也不完全相同。

2. 药品数量设置需要考虑的问题:基于药物浓度范围的需求、各组药物重要性、同类药物中共同耐药机制及交叉耐药的情况,文件提出了优化的同一微孔板的药品数量上限。鉴于其他细菌病原体的质控浓度范围通常包括 3~4 个浓度,假设质控范围的上限对应于所有药物的临界浓度,这意味着至少需要 5~6 个浓度才能确保质控菌株 H37Rv 浓度范围符合这一通用标准,即包括质控范围下限以下的一个浓度和临界浓度以上的一个浓度。

技术专家小组承认对于大多数抗结核药物而言,细分药物的耐药水平在现阶段更多的是科研用途而非临床诊断,因此,不应为了刻意引入额外的高于临界浓度的临床折点而舍弃其他药物。但是对于以下这些药物的临床折点的作用已被 WHO 承认或将在近期进行推荐,因此应该纳入。如左氧氟沙星(Lfx)应至少包含临界浓度(1 mg/L)以上的两个浓度,以便作为 Mfx 高浓度耐药检测的替代。再如 INH,目前利用基因型方法依据不同的耐药基因及位点的突变可以进行耐药水平的区分,但表型药敏试验并未设置临床折点。如果要推荐一个浓度用于区分仅有 *inhA* 启动子区域突变的低水平耐药和其他突变导致的高水平耐药,其临床折点可能需要设置在高于临界浓度(0.125 mg/L)三个浓度的位置(如 1 mg/L)。而如果认为 *katG* S315T 突变的菌株也有可能获益于高剂量 INH 治疗,那么还需要增加额外更高的浓度。高剂量 RFP 治疗也在评估中,对于临界 *rpoB* 耐药导致的轻微的 MIC 水平增高,增加 RFP 剂量可能有效。虽然这项评估结果预期短期内无法获得,但是包含 ECOFF 之上 3~4 个浓度有助于日常收集数据以便获得更多的证据。另外,如果卡那霉素(Km)作为阿米卡星(Am)的替代,那么 Km 需要包含 ECOFF 之上的一个临床折点浓度。

经过分析各种药物的特征,结合最新的结核病治疗指南及药物分组,在文件中列出了纳入优化后的微孔板的药物优先级别,分为非常高、高、中等、低、极低 5 个级别:(1)4 种一线药物除了乙胺丁醇为高外,其他均为非常高级别,但须注意吡嗪酰胺药敏试验由于需要酸性培养基,因此不适合纳入同一微孔板。(2)A 组药物中 Lfx/Mfx、贝达喹啉(Bdq)、利奈唑胺(Lzd)均为非常高级别,同时提出 Lfx 耐药检测可作为 Mfx 耐药检测的替代。(3)B 组药物中氯法齐明(Cfz)属于非常高级别,环丝氨酸(Cs)为高级别,特立齐酮(Trd)耐药检测可以使用 Cs 作为替代。(4)C 组药物中仅有德拉玛尼(Dlm)是最高级别,乙硫异烟胺(Eto)为高[同时替代丙硫异烟胺(Pto)的耐药检测],Am 中等且推荐由 Km 的耐药检测替代,链霉素(Sm)、对氨基水杨酸(PAS)、亚胺培南-西司他丁(Imp-Cln)和美罗培南(Mpm)均为低优先级。(5)其他组别药物中普瑞玛尼(PMD)为非常高优先级,但目前并未建立相应的方法,利福喷丁耐药检测可以由 RFP 替代,而利福布汀是极低级别,氧氟沙星等同于 Lfx, Km 可以作为 Am 的替代,卷曲霉素不需要纳入。

综合以上各个药品优先级别及替代检测药品,同时考虑判读结果时读板的简便性,认为一块 96 孔微孔板上最多能包含 12 种药品,分别是 RFP、INH、EMB、Lfx、Bdq、Lzd、Cfz、Cs、Dlm、Eto、PMD、Km。文中后续还列出每种药品在结核病治疗中的作用及地位,同时也指明了其药敏试验存在的问题和特点,并解释了采用某些药品替代另一种药品药敏试验的可行性及理由,但也指出了这种替代性方法存在潜在问题和风险。

3. 药物位置布局及浓度设置的考虑问题:文件推荐了临时的药物及浓度布局框架,但须注意这仅是现阶段临时推荐,仍然需要更多研究验证。现阶段推荐的药物位置布局及浓度设置主要从以下几方面考虑:(1)平衡对照孔放在左上角的好处及风险后,将阴性和 2 个阳性对照生长放在最左上角。(2)96 孔微孔板每列设置一个药品,以尽量减少结果判读时的错误。(3)对于重要性相对低的药品如 EMB、Eto,将其安排在微孔板的最外侧,因为如果孵育过程中由于液体蒸发而影响结果判读时,相对于其他药品来说这两个药品重要性要低一些。(4)与其他成熟的表型药敏试验方法比,目前对于微孔板法的很多药物的 ECOFF 仍缺乏全面和系统的评估。考虑到现阶段各微孔板法的多样性,文件提出需要着重考虑的因素包括:①尽可能考虑到药物分组及共同的耐药机制,如 Lfx 的 ECOFF 仅用于定

义检测 Lfx 耐药和低水平 Mfx 耐药,而临床折点仅作为 Mfx 高水平耐药检测的替代。Km 的 ECOFF 为 4 mg/L,但仅作为参考,临床已很少应用 Km, 8 mg/L 的临床折点浓度将用作 Am 耐药性检测的替代。②新型药物的 ECOFF 值并不完全确定。Bdq 的 ECOFF 目前也有不同的观点,如 0.125 mg/L 和 0.25 mg/L。而对于 Lzd, 冷冻药物微孔板的 ECOFF 为 2 mg/L,但 1 mg/L 似乎更适合干燥的药物微孔板。Lzd 的 H37Rv 的质控范围也需要更多研究,因其似乎比临床菌株更加耐药。Cfz、Cs 的 ECOFF 目前也不是十分确定。考虑到 Dlm 的 pWT 的 MIC 分布  $\leq 0.008$  mg/L,其目前的临界浓度 0.125 mg/L 似乎太高,因此,为了更好地定义 pWT 的 MIC 分布下限并设置质控范围/目标,微孔板需要包括低至至少 0.002 mg/L 的浓度。可以预期的是,一旦确定了质控范围的下限,Dlm 的浓度范围也将被重新优化。(5)虽然 PMD 的优先级别非常高,但迄今为止对该药品仅在 MGIT 960 系统中进行了系统检测。目前建议的浓度范围仅作为评估在冻干药粉微孔板方法中与 MGIT 相比是否匹配及在多大程度上偏移的初始浓度范围。因此,现阶段尚无推荐的临界浓度。(6)对于 Bdq 和 Cfz 包含了 ECOFF 之上的 2 个或 3 个浓度以促进对 *Rv0678* 突变菌株的解释。先前的研究对 pWT 分布进行建模时,未排除 *Rv0678* 突变菌株,而 *Rv0678* 突变导致 *mmpL5-mmpS5* 外排泵的高表达,如果泵是有活性的,表型非野生型菌株的 MIC 分布将会与 pWT 分布的右端重叠,从而可能导致高估 pWT 的 MIC 分布的第 99 百分位的浓度。

### (三)方法学及结果判读优化考虑事宜

1. 方法学方面:文件中通过对现有商品化微孔板及其他方法的回顾发现方法学多种多样。因此,提出几项非常细节的措施以确保高质量检测:(1)推荐药物采用干燥而非冷冻形式,减少运输对于冷链的需求。(2)使用 U 形底微孔板便于缩短阅读时间,微孔板材质应由聚苯乙烯制成,以确保 Bdq 和 Cfz 可以准确测试,并且其表面应未经处理。不同类型的聚苯乙烯可能会影响一些药物的 MIC,故更换微孔板供应商也应受到监控。(3)微孔板应覆盖半渗透密封膜,以提高生物安全性并最大限度地减少蒸发。(4)设置 1 个阴性生长对照孔及 2 个阳性对照孔(分别是 100%和 1%的接种菌悬液)。从视觉上突出显示这 3 个孔(例如用不同颜色圈画出)将最大限度地减少加液错误。在微孔板上显示每列药品的缩写名称可以最大限度地减少主观读板错误。最后,在板上标记临界浓度或临床折点有助于将注

意力集中在这些阈值附近的孔的生长,当然这也可能导致一些偏倚。(5)微孔板法使用的 7H9-OADC 培养基不得含有孔雀绿,培养基严禁包括丙氨酸,因为会干扰 Cs 抗菌活性。也不能使用吐温-80,会影响 MIC 值。当前使用的甘油可继续应用,但需要继续研究不包括丙酮酸时对于非洲分枝杆菌和动物适应性的结核分枝杆菌复合群其他成员生长的影响。(6)某些药品必须使用二甲基亚砜(DMSO)来制备储存液和随后的稀释液,确保药品不发生沉淀(如 Bdq 和 Cfz)。考虑到移液器头并不是聚苯乙烯材质,故药品稀释步骤的多少可能也会产生影响。(7)使用符合国际标准化组织要求的浓度(即基于 1 mg/L 的 2 倍稀释系列),并且必须能够使用 H37Rv 进行质控测试来定义质控范围和目标。(8)与比例法相比,微孔板法更容易出现接种菌悬液量的波动,可采取一系列措施来减少这种波动。如使用校准的浊度仪制备 0.5 麦氏浊度菌悬液,每次或定期进行细菌单克隆计数,制备菌悬液后应进行沉淀并将上清转移至新管再比浊,以减少大块菌落的干扰,减少生物安全风险。(9)由新鲜 MGIT 阳性培养物进行微孔板法的方法尚未成熟,使得微孔板法常规临床的应用价值受到限制(因需要在固体培养基上进行长时间的传代培养,从而更加延长结果报告时间)。(10)如果按照 CLSI 要求使用 CO<sub>2</sub> 将会阻碍该方法推广使用,因为大多数基层实验室不具备 CO<sub>2</sub> 气体,因此,微孔板法应在普通空气环境孵育下进行更多的验证。未使用 CO<sub>2</sub> 可能会导致部分菌株在第 21 天没有显示出足够的生长,但通过与 1%生长对照进行比较,将会减少出现假阴性结果。(11)接种后第 2 或第 3 天应检查微孔板是否被快速生长的微生物污染,以避免不必要的延误。

2. 结果判读:关于结果判读,虽然 WHO 目前将 MIC 定义为“在固体培养基或肉汤稀释药敏试验中,能够阻止 99%以上微生物生长的抗菌剂的最低浓度”。但其他大多数病原菌定义为抑制肉眼所有可见生长的最低浓度(以下称为“视觉临界比例”),而且所有美国 ThermoFisher 公司生产的微孔板,EUCAST 推荐的参考方法及其他病原体的微孔板均以后者为准。因为即使在孵育结束时添加染料通过显色法判读,也无法用肉眼对 1%的生长程度进行准确界定。此外,出于生物安全考虑,应避免使用显色法,因为需要二次打开培养阳性的板子。另外,染料测试的是代谢活动,与观察生长比较,染料不一定产生与视觉判读生长可比的结果。

当然,对于 MTB 来说,选择 1%的临界比例仍有其作用,如为了增加重复性,且这个临界比例代表

低于这个界值的耐药菌株占比与临床治疗效果不存在相关性,但是同时技术专家组也承认至少对于新药来说,没有明确的证据表明更低比例耐药菌占比用该药物治疗时有反应,而高于 1% 则是治疗无反应。尽管 1% 的临界比例看起来具有任意性,且没有明确的临床证据表明 1% 是最佳临界比例,但技术专家小组同意微孔板法需要有一个约 1% 耐药比例的检测限。为了达到这一目的,推荐了 EUCAST 微孔板法中的关于读取 MIC 的方法,使用浊度计进行菌悬液的准确定量,确保 1% 生长对照能在 21 d 内生长。此举主要目的是尽量减少接种量的不确定性,并确保仅在生长对照足够时读板以检测低频率异质性耐药。此外,大家一致认为应该在 1% 和 100% 对照孔阳性但阴性对照不生长时的最早的时间点读板。具体来说,建议在第 7、14 和 21 天,而不是美国 ThermoFisher 公司目前推荐的第 10 天和第 21 天的组合,因考虑到如果周末无法判读结果,原定的第 10 天读板可能会因为延迟影响结果的判读。选择最早时间点读板是为了尽量减小理论上设定的 1% 比例和实际视觉临界比例的差异引起的 MIC 偏移的样本比例。这一点很重要,因为结核分枝杆菌复合群的表型药敏试验都是从包含多个菌落的具有异质性的阳性培养物而不是从纯化的单一的菌落中进行的。

## 二、微孔板微量肉汤稀释法药敏试验在我国应用现状及建议

该文件认为除吡嗪酰胺外,所有关键的抗结核药物都可以排列在一个 96 孔板上,同时满足必要的质控要求。但还存在一系列悬而未决的问题,包括替代药物检测的准确性等。技术专家组认为按照目前的共识而设计的微孔板法并经过持续的验证后,与其他方法一样基于对所有可用证据的全面综合和评估,证明该方法能够有效检测出最重要的抗结核药物与临床显著相关的耐药性后,微孔板法可以得到 WHO 的认可。

虽然目前微孔板法并未经 WHO 推荐,但微孔板法已在包括我国在内的许多地区使用。目前我国应用的 MTB 耐药性检测商品化产品主要来自于 4 个厂商,除了 MYCOTB 板是进口商品外,其余 3 种均为国内产品。通过查阅分析其操作说明,4 种商品包含药物种类差异很大,浓度范围设置更是不尽相同,操作方法包括读板及结果报告也都不同。结合 2021 年我国表型药敏试验熟练度测试中使用微孔板法的实验室的测试结果,发现大多数实验室使用不同的微孔板产品在熟练度测试的药物显示了

较好的结果,即耐药/敏感检出结果与标准结果的一致率较高。但是考虑到熟练度测试的菌株选取的是 MIC 值低的敏感株和 MIC 值高的耐药菌株,不存在 MIC 的重叠,因此,在检测临床分离菌株,尤其是某些临界突变导致耐药的菌株时,可能会发生漏检或误判。其次,熟练度测试菌株中对于新药的耐药菌株非常少,高一一致率可能掩盖由于浓度范围不适宜引起的潜在问题。

鉴于目前我国仍缺乏微孔板法标准化的方法,因此,建议我国首先对现有商品化产品进行系统的评估,并且评估时应选取有代表性的菌株和病例进行多中心评估。其次,建立国内的微孔板法标准化指南或者共识,参与制定人员应包含实验室及临床方面的专家。再次,厂商进行产品设计时宜参考 WHO 优化原则,同时也要参考我国临床需要,并根据治疗药物的更新,对商品的上市后使用情况进行随访评估。最后,更重要的是我国科研及医疗工作者和厂商应积极协作产出自主的产品,并为全球提供科学、系统的中国证据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献** 夏辉:直接参与(酝酿和设计实验)、文章撰写(起草文章、对文章的知识性内容作批评性审阅)、工作支持(指导);郑扬:文章撰写(起草文章)、工作支持(支持性贡献);宋媛媛:工作支持(行政、技术或材料支持)

## 参 考 文 献

- [1] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: Module 3: diagnosis-rapid diagnostics for tuberculosis detection. Geneva: World Health Organization, 2020.
- [2] World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [3] World Health Organization. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva: World Health Organization, 2021.
- [4] World Health Organization. Line probe assays for detection of drug-resistant tuberculosis: interpretation and reporting manual for laboratory staff and clinicians. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [5] Xia H, Song Y, Zheng Y, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Rifampicin Resistance Conferred by Borderline *rpoB* Mutations: Xpert MTB/RIF is Superior to Phenotypic Drug Susceptibility Testing. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 1345-1352. doi:10.2147/IDR.S358301.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Susceptibility Testing of *Mycobacteria*, *Nocardia*, *Spp.*, and Other Aerobic Actinomycetes. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

(收稿日期:2022-05-20)

(本文编辑:李敬文)