

三种分子生物学方法检测结核分枝杆菌 耐药性的效能分析

马进宝 杨翰 任斐 党丽云

【摘要】 目的 评价 GeneXpert MTB/RIF(简称“GeneXpert”)、基因芯片检测及实时荧光定量 PCR 熔解曲线法(简称“PCR 熔解曲线法”)检测结核分枝杆菌(MTB)耐药性的价值。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月西安市胸科医院有表型药物敏感性试验(简称“表型药敏试验”)结果的痰 MTB 培养阳性的 774 例肺结核患者作为研究对象,收集其表型药敏试验、GeneXpert、基因芯片及 PCR 熔解曲线法检测结果。以表型药敏试验结果为参照标准,评估 3 种分子生物学方法检测 MTB 耐药性的效能;根据受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积比较 3 种分子生物学方法检测 MTB 对利福平(RFP)耐药性的准确度。**结果** 以表型药敏试验结果为参照标准, GeneXpert 检测 MTB 对 RFP 耐药性的敏感度和特异度分别为 95.6%(87/91)和 93.6%(249/266);基因芯片检测 MTB 对 RFP 和异烟肼(INH)耐药性的敏感度分别为 92.8%(90/97)和 78.8%(130/165),特异度分别为 96.8%(610/630)和 99.1%(557/562);PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 RFP、INH、左氧氟沙星(Lfx)和阿米卡星(Am)耐药性的敏感度分别为:94.4%(51/54)、82.4%(61/74)、87.1%(27/31)、75.0%(6/8),特异度分别为:93.9%(138/147)、95.3%(121/127)、98.8%(164/166)、99.5%(188/189)。以表型药敏试验结果为参照标准, GeneXpert 检测 MTB 对 RFP 耐药性 ROC 曲线下面积为 0.95 ± 0.02 , 基因芯片法和 PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 RFP 耐药性曲线下面积均为 0.93 ± 0.03 。**结论** GeneXpert、基因芯片及 PCR 熔解曲线法检测 MTB 培养阳性肺结核患者对一线抗结核药物耐药性均比较可靠;PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 Lfx 和 Am 耐药性比较可靠。

【关键词】 结核, 抗多种药物性; 微生物敏感性试验; 分子探针技术; 核酸扩增技术; 评价研究

Evaluation of three molecular methods for the detection of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* MA Jin-bao, YANG Han, REN Fei, DANG Li-yun. Xi'an Chest Hospital, Xi'an 710061, China
Corresponding author: DANG Li-yun, Email: dangliyun@sina.com

【Abstract】 Objective To analyze the value of GeneXpert MTB/RIF (GeneXpert), gene chip and MeltPro TB in the detection of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). **Methods** A total of 774 cases of pulmonary TB with positive culture of MTB in sputum from January 2017 to January 2018 in Xi'an Chest Hospital were retrospectively analyzed. The results of phenotypic drug sensitivity test, GeneXpert detection, gene chip detection and MeltPro TB detection were collected. Based on phenotypic drug susceptibility criteria, the efficacy of the three molecular biology methods to detect drug resistance of MTB was analyzed. The accuracy of the three molecular biology methods to detect rifampicin (RFP) resistance was compared according to the area under receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** With phenotypic drug susceptibility as standard, the sensitivity and specificity were 95.6% (87/91) and 93.6% (249/266) for GeneXpert in detecting RFP resistance; and for gene chip in detecting RFP and isoniazid (INH) resistance, the sensitivity were 92.8% (90/97) and 78.8% (130/165), and the specificity were 96.8% (610/630) and 99.1% (557/562). For MeltPro TB in detecting RFP, INH, levofloxacin (Lfx) and amikacin (Am), the sensitivity were 94.4% (51/54), 82.4% (61/74), 87.1% (27/31) and 75.0% (6/8), and the specificity were 93.9% (138/147), 95.3% (121/127), 98.8% (164/166) and 99.5% (188/189). The area under the ROC curve of GeneXpert in detecting RFP resistance was 0.95 ± 0.02 ; the area under the ROC curve of gene chip and MeltPro TB in detecting RFP resistance were 0.93 ± 0.03 . **Conclusion** Detection of MTB resistance to the first-line anti-tuberculosis drugs by GeneXpert, gene chip and MeltPro TB was reliable, and detection of MTB resistance to Lfx and Am by MeltPro TB was reliable.

【Key words】 Tuberculosis, multidrug-resistant; Microbial sensitivity tests; Molecular probe techniques; Nucleic acid amplification techniques; Evaluation studies

耐药结核病的发生给控制结核病带来了巨大挑战,及时、准确地获得患者耐药情况是治疗及控制耐药结核病的关键^[1]。目前,表型药物敏感性试验(简称“表型药敏试验”)仍是诊断结核分枝杆菌(MTB)耐药性的主要方法。然而,表型药敏试验获取结果时间较长,如 BACTEC MGIT 960 系统培养,其取得结果时间平均为 18 d^[2]。这使得患者无法获得及时和有效的治疗,从而导致其痰菌载量增加,肺损伤加重及传染性持续^[3]。分子生物学检测方法能够快速检测 MTB 耐药性,如 GeneXpert MTB/RIF(简称“GeneXpert”)检测在 2 h 内便能获得利福平(RFP)耐药结果。《结核病病原学分子诊断专家共识》认为 GeneXpert、基因芯片、实时荧光定量 PCR 熔解曲线法(简称“PCR 熔解曲线法”)等技术检测 MTB 耐药性有较好的敏感度及特异度^[4]。《WS 288—2017 肺结核诊断》标准已将分子生物学检查阳性作为肺结核病原学诊断依据^[5],然而对于分子生物学检查能否作为 MTB 耐药性诊断依据仍存在一定的争议,且对于何种分子生物学检测方法更优亦无定论。笔者通过分析 GeneXpert、基因芯片、PCR 熔解曲线法检测 MTB 耐药性的效能,评价 3 种方法的临床应用价值。

资料和方法

1. 研究对象:选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月西安市胸科医院有表型药敏试验结果的痰 MTB 培养阳性的 774 例肺结核患者作为研究对象,其中,男 521 例(67.3%),女 253 例(32.7%);年龄 6~96 岁,平均年龄(38.5±18.9)岁;初治 637 例(82.3%),复治 137 例(17.7%);异烟肼(INH)耐药 210 例(27.2%),RFP 耐药 142 例(18.4%),耐多药 133 例(17.2%)。774 例患者均有一、二线抗结核药物表型药敏试验结果,其中 357 例患者 GeneXpert 检测阳性,727 例患者基因芯片检测阳性,201 例患者 PCR 熔解曲线法检测阳性。

2. 液体培养及药敏试验:采用 BACTEC MGIT 960 培养系统进行液体培养,参照《结核分枝杆菌药物敏感性试验标准化操作程序及质量保证手册》^[6]操作。取处理好的痰标本 0.5 ml 加入 MGIT 液体培养管中,放入 BACTEC MGIT 960 培养系统中进行培养,培养阳性标本,进一步用 MPB64 单克隆抗体(杭州创新生物检控技术有限公司)进行测定,鉴定为 MTB 菌株进行表型药敏试验。一线抗结核药物 INH 和 RFP 耐药性应用 BACTEC MGIT 960

液体药敏试验检测,INH 药物浓度为 0.1 μg/ml, RFP 药物浓度为 1.0 μg/ml;二线抗结核药物耐药性应用比例法药敏试验检测,左氧氟沙星(Lfx)药物浓度为 2 μg/ml,莫西沙星(Mfx)药物浓度为 2 μg/ml,阿米卡星(Am)药物浓度为 30 μg/ml,卷曲霉素(Cm)药物浓度为 40 μg/ml。

3. GeneXpert 检测:取 1 ml 痰标本放置在有螺旋盖的前处理管中,然后加入相当于痰标本 2 倍体积的检测样品试剂(SR),旋紧前处理管,在涡旋振荡器上振荡 15~30 s,室温静置 15 min,使痰标本充分液化。打开反应盒,使用试剂盒内提供的专用无菌吸管,取 2 ml 处理后样品由加样孔缓慢加入反应盒,然后将反应盒放置到检测模块,仪器开始自动化检测。接种后的痰标本消化液按照 GeneXpert(美国 Cepheid 公司)标准化操作手册步骤进行操作^[7]。

4. 基因芯片检测:基因芯片检测系统及配套试剂均由北京博奥生物有限公司生产,将消化液(10 ml 2.94% 柠檬酸三钠、10 ml 4% 氢氧化钠、0.1 g 乙酰半胱氨酸)预处理好的痰标本放入晶芯 Extractor 核酸快速提取仪中提取核酸,将提取的核酸放入基因扩增仪中进行扩增,基因扩增产物经变性后加入到 MTB 耐药检测试剂盒的芯片点阵中,然后放入晶芯 BioMixer II 杂交仪进行芯片反应,再将完成杂交的芯片放入晶芯 Slide Washer 芯片洗干仪中进行洗干,将洗干的芯片载入晶芯 LuxScan10K-B 微阵列芯片扫描仪中,自动进行结果判读。

5. PCR 熔解曲线法:由厦门致善生物科技股份有限公司研发。取处理好痰标本 1 ml 加入有螺旋盖的前处理管中,加入相当于痰标本 2 倍体积的处理液,旋紧管口振荡 15~30 s,室温静置 15 min,打开反应盒,取 2 ml 处理好的标本由加样孔缓慢加入反应盒,然后将反应盒放在检测模块,仪器自动检测,反应结束后在窗口下直接观察结果。

6. 统计学分析:使用 SPSS 18.0 软件进行分析,计算各检测方法检测效能:敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%;阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)×100%;阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%。两种方法检测结果一致性用 Kappa 值判定,Kappa 值≥0.75 说明一致性好,Kappa 值<0.4 说明一致性差,0.75>Kappa 值≥0.4 说明一致性一般。使用 MedCalc 18.2.1 软件分析受试者工作特征曲线(ROC 曲线)

下面积,曲线下面积差异性分析使用 Z 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1. GeneXpert 检测:357 例 GeneXpert 检测阳性患者中有初治患者 264 例(74.0%),复治患者 93 例(26.0%)。其中,表型药敏试验检测 RFP 耐药 91 例(25%),GeneXpert 检测 RFP 耐药 104 例(29%)例。以表型药敏试验结果为参照标准, GeneXpert 检测 MTB 对 RFP 耐药性的敏感度为 95.6%,特异度为 93.6%,阳性预测值及阴性预测值分别为 83.7%、98.4%,两种方法有较好的一致性。分别对初、复治患者进行检测, GeneXpert 检测初治患者对 RFP 耐药性的阳性预测值较低,而检测复治患者对 RFP 耐药性的阳性预测值为 95.1%,见表 1。

2. 基因芯片检测:727 例基因芯片检测阳性患者中有初治患者 616 例(84.7%),复治患者 111 例(15.3%);其中,表型药敏试验检出 RFP 耐药 97 例(13.3%),INH 耐药 165 例(22.7%);基因芯片检出 RFP 耐药 110 例(15.1%),INH 耐药 135 例(18.6%)。以表型药敏试验结果为参照标准,基因

芯片法检测 MTB 对 RFP 耐药性的敏感度和特异度分别为 92.8%和 96.8%;分别检测初、复治患者,基因芯片检测初治患者对 RFP 耐药性的阳性预测值较低(71.9%);检测初、复治患者对 RFP 耐药性的阴性预测值均大于 94%。两种检测方法检测 MTB 对 RFP 耐药性有较好的一致性,见表 2。以表型药敏试验结果为参照标准,基因芯片法检测 MTB 对 INH 耐药性的敏感度和特异度分别为 78.8%和 99.1%,阳性预测值及阴性预测值分别为 96.3%和 96.1%,两种方法检测 MTB 对 INH 耐药性的一致性较好,见表 3。

3. PCR 熔解曲线法:201 例患者 PCR 熔解曲线法检测阳性,以表型药敏试验结果为参照标准,PCR 熔解曲线法检测 MTB 对一线抗结核药物、氟喹诺酮类药物及二线注射类抗结核药物耐药性的效能见表 4。PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 RFP 及 INH 耐药性的阳性预测值及阴性预测值均较高,与表型药敏试验一致性较好;检测 MTB 对二线药物 Lfx 和 Am 耐药性的效能与表型药敏试验一致性较好;但检测 MTB 对 Mfx、Cm 耐药性的效能与表型药敏试验一致性一般。

表 1 GeneXpert 检测以表型药敏试验结果为标准检测 MTB 对利福平耐药性的效能

GeneXpert 检测	表型药敏试验		合计 (例)	敏感度 [% (95%CI 值)]	特异度 [% (95%CI 值)]	阳性预测值 [% (95%CI 值)]	阴性预测值 [% (95%CI 值)]	Kappa 值
	耐药(例)	敏感(例)						
全部患者				95.6 (88.5~98.6)	93.6 (89.8~96.1)	83.7 (74.8~89.9)	98.4 (96.7~99.5)	0.85
耐药(例)	87	17	104					
敏感(例)	4	249	253					
合计(例)	91	266	357					
初治患者				87.9 (70.9~96.0)	93.9 (89.8~96.5)	67.4 (51.3~80.4)	98.1 (95.1~99.4)	0.72
耐药(例)	29	14	43					
敏感(例)	4	217	221					
合计(例)	33	231	264					
复治患者				100.0 (92.3~100.0)	91.4 (75.8~97.8)	95.1 (85.4~98.7)	100.0 (86.6~100.0)	0.93
耐药(例)	58	3	61					
敏感(例)	0	32	32					
合计(例)	58	35	93					

表 2 基因芯片法以表型药敏结果为参考标准检测 MTB 对利福平耐药性的效能

基因芯片 检测	表型药敏试验		合计 (例)	敏感度 [% (95%CI 值)]	特异度 [% (95%CI 值)]	阳性预测值 [% (95%CI 值)]	阴性预测值 [% (95%CI 值)]	Kappa 值
	耐药(例)	敏感(例)						
全部患者				92.8 (85.2~96.8)	96.8 (95.1~98.0)	81.8 (73.1~88.3)	98.9 (97.6~99.5)	0.85
耐药(例)	90	20	110					
敏感(例)	7	610	617					
合计(例)	97	630	727					
初治患者				91.1 (77.9~97.1)	97.2 (95.4~98.3)	71.9 (58.3~82.6)	99.3 (98.0~99.8)	0.79
耐药(例)	41	16	57					
敏感(例)	4	555	559					
合计(例)	45	571	616					
复治患者				94.2 (83.1~98.5)	93.3 (82.7~97.8)	92.5 (80.9~97.6)	94.8 (84.7~98.7)	0.87
耐药(例)	49	4	53					
敏感(例)	3	55	58					
合计(例)	52	49	111					

表 3 基因芯片法以表型药敏结果为参考标准检测 MTB 对异烟肼耐药性的效能

基因芯片 检测	表型药敏试验		合计 (例)	敏感度 [% (95%CI 值)]	特异度 [% (95%CI 值)]	阳性预测值 [% (95%CI 值)]	阴性预测值 [% (95%CI 值)]	Kappa 值
	耐药(例)	敏感(例)						
全部患者				78.8 (71.6~84.6)	99.1 (97.8~99.7)	96.3 (91.1~98.6)	94.1 (91.7~95.8)	0.83
耐药(例)	130	5	135					
敏感(例)	35	557	592					
合计(例)	165	562	727					
初治患者				78.8 (69.5~86.0)	99.4 (98.1~99.8)	96.5 (89.3~99.1)	95.9 (93.7~97.3)	0.84
耐药(例)	82	3	85					
敏感(例)	22	509	531					
合计(例)	104	512	616					
复治患者				78.7 (66~87.7)	96.0 (85.1~99.3)	96.0 (85.1~99.3)	78.7 (66.0~87.7)	0.73
耐药(例)	48	2	50					
敏感(例)	13	48	61					
合计(例)	61	50	111					

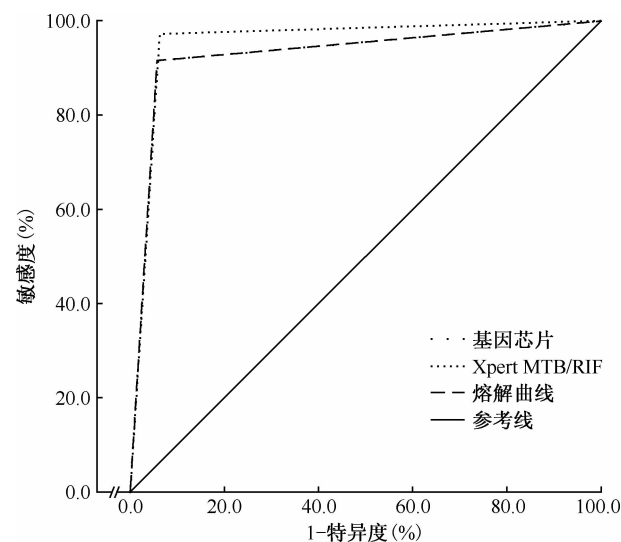
表 4 PCR 熔解曲线法以表型药敏试验结果为标准检测结核分枝杆菌耐药性的效能

PCR 熔解 曲线法	表型药敏试验		合计 (例)	敏感度 [% (95%CI 值)]	特异度 [% (95%CI 值)]	阳性预测值 [% (95%CI 值)]	阴性预测值 [% (95%CI 值)]	Kappa 值
	耐药(例)	敏感(例)						
利福平				94.4 (83.6~98.6)	93.9 (88.4~97.0)	85.0 (72.9~92.5)	97.9 (93.4~99.4)	0.85
耐药(例)	51	9	60					
敏感(例)	3	138	141					
合计(例)	54	147	201					
异烟肼				82.4 (71.5~90.0)	95.3 (89.6~98.1)	91.0 (80.9~96.3)	90.3 (83.7~94.5)	0.79
耐药(例)	61	6	67					
敏感(例)	13	121	134					
合计(例)	74	127	201					
左氧氟沙星				87.1 (69.2~95.8)	98.8 (95.3~99.8)	93.1 (75.8~98.8)	97.6 (93.6~99.2)	0.88
耐药(例)	27	2	29					
敏感(例)	4	164	168					
合计(例)	31	166	197					
莫西沙星				87.0 (65.3~96.6)	94.8 (90.1~97.5)	69.0 (49.0~84.0)	98.2 (94.4~99.5)	0.70
耐药(例)	20	9	29					
敏感(例)	3	165	168					
合计(例)	23	174	197					
阿米卡星				75.0 (35.6~95.5)	99.5 (96.6~99.9)	85.7 (42.0~99.2)	98.9 (95.8~99.8)	0.79
耐药(例)	6	1	7					
敏感(例)	2	188	190					
合计(例)	8	189	197					
卷曲霉素				71.4 (30.3~94.9)	98.9 (95.8~99.8)	71.4 (30.3~94.9)	98.9 (95.8~99.8)	0.70
耐药(例)	5	2	7					
敏感(例)	2	188	190					
合计(例)	7	190	197					

4. ROC 曲线分析:以表型药敏试验结果为参照标准,绘制 3 种分子生物学检测方法检测 MTB 对 RFP 耐药性 ROC 曲线,GeneXpert 法 ROC 曲线下面积大于基因芯片及 PCR 熔解曲线法 ROC 曲线下面积,GeneXpert 法 ROC 曲线下面积为 0.95±0.02,基因芯片法和 PCR 熔解曲线法 ROC 曲线下面积均为 0.93±0.03,三种方法曲线下面积差异无统计学意义($Z=0.87,P=0.387$)(图 1)。

讨 论

本研究结果显示,3 种分子生物学方法检测 MTB 对 RFP 耐药性均比较可靠($Kappa$ 值均大于 0.75),考虑是因为 GeneXpert、基因芯片法及 PCR 熔解曲线法均通过测定 MTB 的 *rpoB* 基因突变检测 RFP 耐药。并且,RFP 耐药 MTB 的 *rpoB* 基因突变率为 95%^[8]。本次研究中,GeneXpert 检测



基因芯片与 PCR 熔解曲线法 ROC 曲线完全重合

图 1 以表型药敏试验结果为标准,3 种分子生物学方法检测 MTB 对 RFP 耐药性的 ROC 曲线

MTB 对 RFP 耐药性的敏感度和特异度分别为 95.6% 和 93.6%, 与国内文献报道一致^[9-10], 比较 ROC 曲线下面积发现 GeneXpert 的曲线下面积大于其他两种方法, 这可能与 GeneXpert 是集痰标本处理、DNA 提取、核酸扩增、MTB 特异核酸检测、RFP 耐药基因 *rpoB* 突变检测于一体的方法有关^[11]。

另外, 本次研究发现 GeneXpert 及基因芯片检测 MTB 对 RFP 耐药性的阳性预测值在复治患者中高于初治患者, 提示这两种方法在复治患者中检出 RFP 耐药更可靠, 考虑是因为在复治患者中 RFP 耐药发生率较初治患者高有关^[12]。根据 WHO 估计, 中国 RFP 耐药在初、复治患者中发生率分别为 12%、69%^[13], 复治患者中 RFP 耐药率是初治患者中的 5 倍。复治患者中 GeneXpert 及基因芯片检测 MTB 对 RFP 耐药性阳性预测值为 95.1% 和 92.5%, 与表型药敏试验一致性较好, 结果支持《结核病病原学分子诊断专家共识》^[4]中提出当分子生物学方法测出 RFP 耐药时当患者为耐药高危人群时, 应同时进行传统的药敏试验, 并采用二线抗结核药物治疗的观点。

氟喹诺酮类药物在耐药结核病治疗中至关重要, 世界卫生组织(WHO)2016 年及 2018 年耐药结核病治疗指南中氟喹诺酮类药物均在 A 组药物当中^[3,14]。由于近 10 余年来, 氟喹诺酮类药物在临床上的广泛应用, 尤其是在我国呼吸和结核病领域的滥用, 其耐药率呈逐年上升趋势^[15]。因此, 在制定

耐药患者药物治疗方案时获得氟喹诺酮类药物耐药情况尤为重要, WHO 也建议对于 RFP 耐药结核病使用分子生物学方法进行氟喹诺酮类药物药敏试验^[16]。本次研究发现, PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 Lfx 及 Am 耐药性敏感度为 87.1% 和 75.0%, 特异度为 98.8% 和 99.5%, 且与表型药敏试验有较好的一致性, 与 Pang 等^[17]报道一致。因此, 笔者认为在获得表型药敏试验结果之前制定耐药结核病药物治疗方案时, 可根据 PCR 熔解曲线法检测结果选择 Lfx 和 Am。

本次研究显示, 以表型药敏试验结果为参照标准, 基因芯片检测 INH 耐药性敏感度和特异度分别为 78.8% 和 99.1%, 与林明冠等^[18]报道一致, 但阳性及阴性预测值与该文献报道结果有异, 可能与所选研究对象 INH 耐药率不同及对照方法不同有关。另外, 笔者发现基因芯片法检测 INH 耐药性的阴性预测值在复治患者中低于初治患者, 与 Zhu 等^[19]研究结果基本一致, 其阴性预测值均小于 90%, 说明在复治患者中基因芯片法检出 INH 敏感时, 可信度较差。

PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 INH 耐药性突变基因包括 *KatG*、*inhA*、*ahPc*^[20]。本次研究显示, PCR 熔解曲线法检测 MTB 对 INH 耐药性的敏感度和特异度分别为 82.4% 和 95.3%, 与 Pang 等^[17]和王晓艳等^[21]报道一致, 且敏感度均高于本次研究基因芯片法, 亦高于林明冠等^[18]和 Zhang 等^[22]报道的基因芯片法检测敏感度。这可能与 PCR 熔解曲线法增加了 *ahPc* 位点检测有关, 说明随着耐药基因检测位点的完善, 分子生物学方法检测效能会增加。

综上所述, 本次研究分析了 3 种分子生物学方法检测 MTB 耐药性的效能, 结果显示 3 种方法均有较高的敏感度和特异度; 分析了在初、复治患者中 GeneXpert 及基因芯片法检测效能差异, 结果显示在不同类型患者中其阳性及阴性预测值不同, 提示在临床工作中除了考虑检测方法敏感性与特异度外, 需结合患者情况具体分析其临床意义。本次研究不足为 INH 和 RFP 表型药敏试验应用 BACTEC MGIT 960 液体药敏试验, 虽然该方法与比例法药敏试验有较好的一致性^[11], 但仍可能导致结果差异, 可能影响对 3 种分子生物学方法检测效能的判断。另外, 本次研究为回顾性分析, 且研究对象例数较多, 可能导致收集的患者信息(包括年龄、初复治、耐药结果等)存在偏倚。临床应用中比较检

测方法优劣时应同时考虑经济因素,但本研究未对该方面问题进行分析。

参 考 文 献

- [1] 姜世闻,胡屹,张慧,等. 耐药结核病的流行简况. 中国防痨杂志, 2010, 32(6): 57-59.
- [2] 郭苏珊,林健雄,郭金镇,等. BACTEC MGIT960 用于结核分枝杆菌直接药敏试验的研究. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(10): 946-952.
- [3] World Health Organization. Treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update. Geneva: World Health Organization, 2016.
- [4] 中华医学会结核病学分会临床检验专业委员会. 结核病病原学分子诊断专家共识. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(9): 688-695.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 288—2017 肺结核诊断. 2017-11-09.
- [6] 王黎霞. 结核分枝杆菌药物敏感性试验标准化操作程序及质量保证手册. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [7] Blakemore R, Story E, Helb D, et al. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. J Clin Microbiol, 2010, 48(7): 2495-2501.
- [8] 赵玉玲,石大伟,贾琼,等. 河南省耐多药结核分枝杆菌利福平耐药相关基因 *rpoB* 突变分析. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(5): 389-390.
- [9] 牛海军,王歌,李明虎. GeneXpert MTB/RIF 检测在肺结核诊断中的价值评估. 中国防痨杂志, 2017, 39(8): 829-832.
- [10] 路丽苹,陆斌,刘梅,等. GeneXpert MTB/RIF 技术在结核病早诊断中的应用. 中国防痨杂志, 2017, 39(1): 71-75.
- [11] 中国防痨协会结核病临床专业委员会. 结核病临床诊治进展年度报告(2014 年)(第一部分 结核病临床诊断). 中国防痨杂志, 2015, 37(6): 549-582.
- [12] 唐神结,许绍发,李亮. 耐药结核病学. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 118-125.
- [13] World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [14] World Health Organization. Rapid communication: key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Geneva: World Health Organization, 2018.
- [15] 唐神结. 氟喹诺酮类药物在耐药结核病中应用的再评价. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(10): 727-729.
- [16] World Health Organization. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: policy guidance. Geneva: World Health Organization, 2016.
- [17] Pang Y, Dong H, Tan Y, et al. Rapid diagnosis of MDR and XDR tuberculosis with the MeltPro TB assay in China. Sci Rep, 2016, 6: 25330.
- [18] 林明冠,吴元东,朱中元,等. 基因芯片技术在结核分枝杆菌耐药检测中的效果分析. 中国防痨杂志, 2018, 40(1): 58-62.
- [19] Zhu L, Liu Q, Martinez L, et al. Diagnostic value of GeneChip for detection of resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with differing treatment histories. J Clin Microbiol, 2015, 53(1): 131-135.
- [20] 胡春梅,郭晶,严虹,等. 荧光定量 PCR 探针熔解曲线法在结核分枝杆菌耐药基因检测中的应用. 中国防痨杂志, 2016, 38(1): 38-41.
- [21] 王晓艳,王云超,王珍,等. 探针溶解曲线法检测痰结核杆菌耐异烟肼突变. 中国医学工程, 2015, 11(23): 68-69.
- [22] Zhang MJ, Ren WZ, Sun XJ, et al. GeneChip analysis of resistant *Mycobacterium tuberculosis* with previously treated tuberculosis in Changchun. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 234.

(收稿日期:2018-10-22)

(本文编辑:李敬文)