

GeneXpert MTB/RIF技术在结核分枝杆菌利福平耐药 基因突变特征中的应用

林永通^{1*}, 麦世康², 黄隆¹, 黎永华¹, 王冠瑜¹, 陈丽翠¹

1. 三亚市疾病预防控制中心, 海南 三亚 572000; 2. 三亚市皮肤性病与精神卫生防治中心, 海南 三亚 572000

摘要: **目的** 分析GeneXpert结核分枝杆菌及利福平耐药(*Mycobacterium tuberculosis*/rifampicin resistance, MTB/RIF, 简称GeneXpert)检测诊断对结核分枝杆菌检测的准确性、可行性及利福平耐药 $rpoB$ 基因的突变特征。**方法** 选择三亚市结核病定点医院2015—2021年诊断的可疑肺结核患者痰样本(4 234份), 同时进行痰涂片、固体培养、固体比例法药敏试验和GeneXpert检测。**结果** 4 234份痰样本痰涂片、固体培养和GeneXpert检测, 阳性检出率分别为29.24%(1 238/4 234)、32.17%(1 362/4 234)、35.40%(1 499/4 234), GeneXpert法检测的阳性率较痰涂片高, 差异有统计学意义($\chi^2=36.775, P<0.01$); 与固体培养法比较, 差异无统计学意义($\chi^2=9.908, P=0.02$)。以固体培养结果为金标准, GeneXpert检测方法检测结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)的灵敏度和特异度分别为91.04%(1 240/1 362)和90.98%(2 613/2 872)。以比例法药敏试验结果为金标准, GeneXpert法对利福平耐药的灵敏度和特异度分别为96.96%(96/99)和98.86%(1 128/1 141), 一致率为98.71%; GeneXpert无探针突变组利福平耐药准确度明显低于有探针突变组; 初治和复治病例的探针突变频率差异有统计学意义。对 $rpoB$ 基因突变频率特征分析: 探针E(50.00%)>探针A(22.12%)>探针D(14.42%)>探针B(6.73%)>联合探针(5.77%)>探针C(0.96%)。**结论** GeneXpert检测能快速有效地诊断耐利福平结核病, 有助于临床早期诊断和治疗。本地区耐利福平结核病 $rpoB$ 基因突变探针主要发生在探针E和探针A, 探针C突变最少。

关键词: 结核分枝杆菌; GeneXpert结核分枝杆菌及利福平耐药; 利福平耐药; $rpoB$ 基因突变

中图分类号: R52 文献标识码: A 文章编号: 1009-9727(2023)07-748-06

DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2023.07.13

Application of GeneXpert MTB/RIF technology in rifampicin resistance gene mutation of *Mycobacterium tuberculosis*

LIN Yongtong¹, MAI Shikang², HUANG Long¹, LI Yonghua¹, WANG Guanyu¹, CHEN Licui¹

1. Sanya Center for Disease Control and Prevention, Sanya, Hainan 572000, China;

2. Sanya Dermatology and Mental Health Prevention and Treatment Center, Sanya, Hainan 572000, China

Corresponding author: LIN Yongtong, E-mail: ffly-345@163.com

Abstract: **Objective** To analyze the accuracy and feasibility of GeneXpert MTB/RIF (GeneXpert) detection in the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and the characteristics of rifampicin-resistant $rpoB$ gene mutations. **Methods** A total of 4 234 sputum samples from suspected tuberculosis patients diagnosed in Sanya tuberculosis designated hospitals from 2015 to 2021 were selected and subjected to sputum smear, solid culture, drug sensitivity test by solid proportion method and GeneXpert detection. **Results** The positive detection rates of sputum smear, solid culture and GeneXpert of 4 234 sputum samples were 29.24% (1 238/4 234), 32.17% (1 362/4 234) and 35.40% (1 499/4 234), respectively. The positive detection rate of GeneXpert was higher than that of sputum smear, and the difference was statistically significant ($\chi^2=36.775, P<0.01$). It was slightly higher than solid culture, and the difference was not statistically significant ($\chi^2=9.908, P=0.02$). Taking solid culture results as the gold standard, the sensitivity and specificity of GeneXpert for detecting MTB were 91.04% (1 240/1 362) and 90.98% (2 613/2 872), respectively. According to the proportional drug susceptibility test results as the gold standard, the sensitivity and specificity of GeneXpert in detecting rifampicin resistance were 96.96% (96/99) and 98.86% (1 128/1 141), respectively, with the consensus rate of 98.71%. The accuracy of rifampicin resistance in GeneXpert group without probe mutation was significantly lower than that in group with probe mutation. There was a statistical difference in probe mutation frequency between newly treated and retreated cases. The analysis of $rpoB$ gene mutation frequency characteristics showed: Probe E (50.00%) > Probe A (22.12%) > Probe D (14.42%) > Probe B (6.73%) > combined probe (5.77%) > Probe C (0.96%). **Conclusions** GeneXpert detection can quickly and effectively diagnose rifampicin-resistant tuberculosis, which is helpful for early clinical diagnosis and treatment. In this region, the $rpoB$ gene mutation probes of rifampicin-resistant tuberculosis mainly occur in Probe E and Probe A, with the least mutations in Probe C.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; GeneXpert MTB/RIF; drug resistance; $rpoB$ gene mutation

作者简介: 林永通(1984—), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 病原微生物。

*通信作者: 林永通, E-mail: ffly-345@163.com

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染引起,尤其耐多药结核病(multi-drug-resistant tuberculosis, MDR-TB)和利福平耐药结核病(rifampicin-resistant tuberculosis, RR-TB)对全球结核病流行的预防、控制带来严峻的挑战。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)2020年全球结核病报告估算^[1],2019年全球罹患RR-TB约有50万人,其中MDR-TB患者占78%,而中国将新增利福平耐药结核约为7万例。耐药结核病是导致全球结核病发病率激增的一个重要因素,这其中包括缺乏灵敏度高的诊断手段;作为金标准的培养检查方法耗时较长,延误了患者的诊断和治疗时间,从而使耐药结核病传播扩散几率增大。早期诊断结核分枝杆菌的利福平(rifampicin, RIF)耐药尤为重要,因为我国也是30个耐多药结核病和耐药结核病高负担国家之一。GeneXpert结核分枝杆菌及利福平耐药(简称GeneXpert)检测技术依据巢式荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)的原理,设计出覆盖利福平耐药相关*rpoB*基因81 bp的利福平耐药决定区(rifampicin resistance determining region, RRDR)的5个相互重叠的分子信标探针(probe A~E)来实现同时检测MTB和利福平耐药基因,整个检测流程只需2.5 h完成^[2]。WHO推荐该技术用于诊断不同类型的结核病,并对利福平耐药基因进行检测。本文目的在于探讨GeneXpert法诊断利福平耐药的可行性和准确性,以及耐药*rpoB*基因突变特征的分析。

1 资料与方法

1.1 资料来源 2015—2021年三亚市结核病数据来源于中国疾病预防控制中心信息系统的子系统—结核病报告信息管理系统,病原学检测资料由三亚结核病实验室提供。

1.2 样本来源 收集三亚市结核病定点医院2015—2021年诊断的可疑肺结核患者的痰样本。肺结核可疑症状者的诊断标准为咳嗽、咯痰时间长达2周以上,因呼吸道症状就诊并接受检查。实验室对肺结核可疑症状者的同一份合格痰样本开展痰涂片、固体培养、固体比例法药敏试验和GeneXpert检测。合格的痰样本为黏液样或干酪样性状的痰液,避免使用口水痰。结核病实验室对收集到的4 384例患者的检测结果进行数据整理,剔除掉79份重复样本、18份培养污染样本、21份GeneXpert检测失败样本,最终对4 266份样本进行分析。

1.3 实验材料 从珠海贝索生物技术有限公司购得抗酸染液、酸性罗氏分离培养基、改良中性罗氏培养基、菌种鉴定培养基和RIP含药培养基;4% NaOH消

化液由实验室现配。GeneXpert MTB/RIF检测仪及配套试剂由Cepheid公司提供。

1.4 检测方法 按照《结核病实验室检验规程》^[3]对结核分枝杆菌进行痰涂片、培养和分离培养,采用WHO《结核病药物耐药性监测指南》^[4]推荐的固体比例法及药物浓度,对分离菌株进行菌型鉴定和利福平耐药性检测。按照Cepheid公司的GeneXpert MTB/RIF试剂盒说明书操作步骤进行GeneXpert MTB/RIF检测,结果通过专业软件判读。依照探针的循环阈值(cycle threshold, Ct值),当内对照探针Ct值 ≤ 38 即为阳性,反之则为无效,提示标本的DNA提取不合格或含有聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)抑制物,5个探针中至少2个探针Ct值 ≤ 38 即为检测到MTB。该方法检测利福平耐药的基础在于MTB特异性分子信标早期Ct值和晚期Ct值之差,即 ΔCt 值,当 $\Delta Ct > 3.5$ 时提示对利福平耐药,当 $\Delta Ct \leq 3.5$ 时提示对利福平敏感。

1.5 质量控制 涂片镜检和培养的质量保证按常规国家相关规定执行;药敏试验符合国家参比实验室抗结核药物敏感性试验考核要求;每批药敏试验均用结核分枝杆菌标准株H37Rv(ATCC27294)检测含药培养基的质量。

1.6 统计学分析 应用SPSS19.0统计软件进行统计学分析,对3种不同检测方法阳性检出率的比较采用配对 χ^2 检验, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义,以固体培养法为标准,计算痰涂片和GeneXpert法检测结果的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、符合率和一致性。采用Wilson估计法计算符合率95%CI值;采用Fisher确切概率法进行两组间的比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;2种检验方法的一致性采用Kappa检验, ≥ 0.75 说明两者之间一致性较好, < 0.4 说明一致性较差, $0.75 > Kappa \geq 0.4$ 说明一致性一般。

2 结果

2.1 调查对象基本情况 在三亚定点结核门诊就诊患者,相同标本同时进行了痰涂片、固体培养和GeneXpert法检测4 266例,其中经菌型鉴定,剔除32例非结核分枝杆菌,共4 234例鉴定为结核分枝杆菌复合群样本;其中阳性检出率分别为29.24%(1 238/4 234)、32.17%(1 362/4 234)、35.40%(1 499/4 234)。GeneXpert法阳性检出率高于痰涂片,差异有统计学意义($\chi^2 = 36.775, P < 0.01$);略高于固体培养,差异无统计学意义($\chi^2 = 9.908, P = 0.02$)。以固体培养为基准, GeneXpert法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为91.04%(1 240/1 362)、90.98%(2 613/2 872)、82.72%(1 240/1 499)、95.54%(2 613/2 735),2

种方法检测结果符合率为91.00%(3 853/4 234), *Kappa* 值为0.799, 两者一致性较好; 痰涂片检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为73.64%、91.82%、81.02%、88.02%, 2种方法检测结果符合率为85.97%, *Kappa* 值为0.671, 两者一致性一般, 见表1。

2.2 利福平耐药检测结果分析 GeneXpert法检出利福平耐药109例比例法药敏检出利福平耐药99例。2种检测方法对利福平检测结果的符合率为98.71%(1 224/1 240); 采用*Kappa* 检验, *K* 值为0.916 \geq 0.75, 2种方法的检测结果具有较好的一致性。在耐药检测中有5例无探针A~E突变, 但比例法药敏结果却显示有4例利福平耐药; 有104例有探针突变, 但比例法药敏结果却有12例利福平敏感, 以培养药敏结果作为利福平耐药的金标准, 2组间进行配对 χ^2 检验, 差异有统计学意义($\chi^2=0.325, P=0.569$), GeneXpert探针突变组在利福平耐药基因检测的准确性比无探针突变组高。见表2。

2.3 GeneXpert探针耐药突变相关结果分析 GeneXpert耐药探针检测利福平突变结果发现率分别为探针A 22.12%、探针B 6.73%、探针C 0.96%、探针D

14.42%、探针E 50.00%、联合探针突变5.77%; 6例联合探针突变类型分别为AB、AD、AE、DE及ACE。在104例存在探针突变的利福平耐药病例中, 初治为67.31%(70/104), 复治为32.69%(34/104); 初治利福平耐药病例中, 探针突变的发生率分别为探针A 24.29%、探针B 7.14%、探针C 0、探针D 14.29%、探针E 51.43%、联合探针突变2.86%; 复治利福平耐药病例中, 探针突变的发生率分别为探针A 17.65%、探针B 5.88%、探针C 2.94%、探针D 14.71%、探针E 47.06%、联合探针突变11.76%; 初治组的联合探针突变类型分别为AE型和AD型; 复治组的联合探针突变类型分别为AB型、AD型、DE型及ACE型。RR-TB不同探针突变频率特点与治疗史的相关性分析, 采用Fisher确切概率法进行比较, 初治组与复治组不同探针突变频率比较差异有统计学意义($P<0.05$), 见表3。

2.4 GeneXpert探针突变曲线 GeneXpert法对不同痰样品检出, 探针突变曲线不同, 其结果与痰样品中结核分枝杆菌中DNA模板初始浓度有关。GeneXpert仪器显示的探针突变结果的代表性曲线见图1。

表1 以固体培养为基准比较痰涂片和GeneXpert法检测痰样本的效能

Table 1 Comparison of sputum smear and GeneXpert in the detection of sputum samples using solid culture as standard

检测方法 Detection method	固体培养 Solid culture		灵敏度 Sensitivity (95%CI)/%	特异度 Specificity (95%CI)/%	符合率 Coincidence rate (95%CI)/%	阳性预测值 Positive (95%CI)/%	阴性预测值 Negative (95%CI)/%	<i>Kappa</i> 值 (95%CI)/%
	阳性 Positive	阴性 Negative						
痰涂片 Sputum smear			73.64 (71.20~75.95)	91.82 (90.74~92.78)	85.97 (84.91~87.04)	81.02 (78.70~83.14)	88.02 (86.79~89.15)	0.671 (0.647~0.695)
阳性 Positive	1 003	235						
阴性 Negative	359	2 637						
GeneXpert			91.04 (89.37~92.48)	90.98 (89.86~91.99)	91.00 (90.10~91.89)	82.72 (80.69~84.58)	95.54 (94.68~96.27)	0.799 (0.779~0.819)
阳性 Positive	1 240	259						
阴性 Negative	122	2 613						

表2 GeneXpert MTB/RIF法与比例法药敏对利福平耐药结果的比较

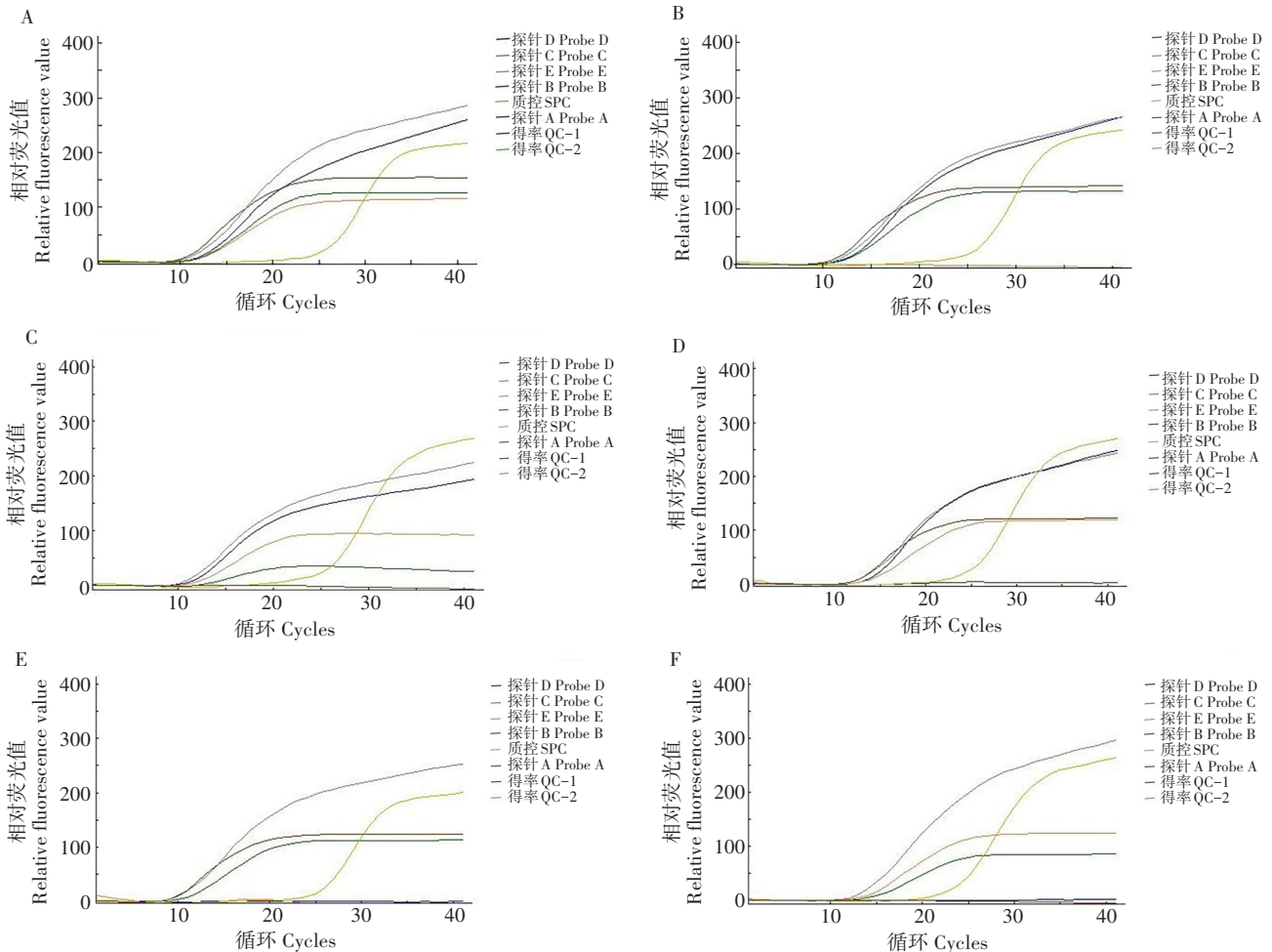
Table 2 Comparison of GeneXpert MTB/RIF method and proportion method for rifampicin resistance

检测方法 Detection method	比例法药敏 Proportion method			灵敏度 Sensitivity (95%CI)/%	特异度 Specificity (95%CI)/%	符合率 Coincidence rate (95%CI)/%	<i>Kappa</i> 值 (95%CI)/%
	耐药 Resistance	敏感 Sensitive	合计 Total				
GeneXpert				96.96 (90.76~99.21)	98.86 (98.01~99.37)	98.71 (98.12~99.29)	0.916 (0.875~0.957)
耐药 Resistance	96	13	109				
敏感 Sensitive	3	1 128	1 131				
合计 Total	99	1 141	1 240				
利福平耐药 RR-MTB (GeneXpert)							
无探针突变 Probe free mutation	4	1	5				
有探针突变 A probe mutation	92	12	104				
合计 Total	96	13	109				

表3 不同探针突变频率特征与治疗史的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between different probe mutation characteristics and treatment history

治疗史 Medical history	探针 A Probe A	探针 B Probe B	探针 C Probe C	探针 D Probe D	探针 E Probe E	联合探针 Combined probe	合计 Total
初治 Initial treatment	17	5	0	10	36	2	70
复治 Retreatment	6	2	1	5	16	4	34
合计 Total	23	7	1	15	52	6	104



注:A.无探针;B.探针E;C.探针A;D.探针B;E.探针D和探针E;F.探针A和探针D。

Note: A. without probe; B. Probe E; C. Probe A; D. Probe B; E. Probe D and Probe E; F. Probe A and Probe D.

图1 GeneXpert探针突变的曲线
Fig. 1 Mutation curve without probe

3 讨论

肺结核的早期诊断和耐药检测是防治肺结核耐药的关键,随着分子生物学技术的不断发展,结核病诊断不再运用单一传统表型检测,为结核分枝杆菌的检测、鉴定和药敏试验提供了极大的方便。GeneXpert MTB/RIF是近年来发展迅速的一项基因诊断新技术,灵敏度和特异度与传统表型检测结果相比均有显著提升^[4]。以固体培养为基准, GeneXpert法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为91.04%、90.98%、82.72%、95.54%,2种检测方法结果

的符合率为91.00%,两者间一致性较好(Kappa值为0.799);对利福平耐药的灵敏度和特异度分别为96.96%和98.86%,与国内外文献报道一致^[5-7], GeneXpert检测利福平耐药与固体药敏的符合率为98.71%,2种方法的检测结果具有较好的一致性(Kappa值为0.916)。此外由于大多数RIF耐药菌株同时对异烟肼(isoniazid, INH)耐药^[8-9],因此GeneXpert对RIF耐药菌株的检测在一定程度上可以作为耐多药MTB的筛选指标^[8-10],在RR-TB结核病的早期诊断中尤其重要。GeneXpert检测作为一种既能同时诊断MTB,又

能提供利福平耐药基因检测结果的快速、简便技术,现已广泛应用于临床。在本次研究中, GeneXpert MTB/RIF 采用探针技术检测 MTB 的 RIF 耐药相关基因 *rpoB*, 实现同时报告 MTB 检出情况和 RIF 的耐药性, 与固体痰培养、鉴定和比例法药敏相比自动化程度高、对操作人员要求低、检测用时短, 从而能够在 2.5 h 内完成结核病诊断和利福平耐药性的同时评估。因此 GeneXpert 检测可以快速有效地诊断 RR-TB 耐药, 对治疗方案的早期制定起着重要价值^[9]。

GeneXpert 检测和比例法药敏试验对利福平耐药检测结果存在着不一致, 其中有 3 例 GeneXpert 检测利福平敏感, 但比例法药敏显示耐药。这是由于 GeneXpert 检测仅覆盖了 *rpoB* 基因 RRDR 核心区, 而 MUSSER^[11] 学者研究表明在编码 RNA 聚合酶 β 亚基的基因 (*rpoB*) 的 81 bp 区域发生突变, 导致 96% 的结核分枝杆菌和许多麻风分枝杆菌分离株对利福平产生耐药性。GeneXpert 检测利福平耐药有 13 例, 但比例法药敏却显示利福平敏感, 有研究报道表明 *rpoB* 基因 RRDR 核心区中最常见的突变密码子是 531、526 和 516^[11]。在少数研究中, MDR-TB 分离株中的 *rpoB* 基因 RRDR 核心区不存在突变的可能性是由于 RRDR 之外存在其他罕见的 *rpoB* 突变。这将导致使用分子诊断技术在检测利福平耐药基因时会出现假阳性的可能, 而表型药敏结果为敏感^[12]。因此迫切需要能够识别与多种抗结核药物相关的广泛突变的分子方法, 以扩大耐药突变的研究。

GeneXpert 通过覆盖 *rpoB* 基因 81 bp 的 RRDR 核心区中 A~E 5 个探针是否突变来检测利福平耐药, 其中 5 个探针覆盖的耐药基因突变密码子分别为探针 A (密码子 507~511)、探针 B (密码子 512~518)、探针 C (密码子 518~523)、探针 D (密码子 523~529) 和探针 E (密码子 529~533)^[13]。本次研究显示利福平耐药菌株基因突变发生的频率为探针 E>探针 A>探针 D>探针 B>联合探针>探针 C, 其中探针 E 的突变频率最高, 为 50.00%, 其次为探针 A 的 22.12% 和探针 D 的 14.42%, 而探针 C 突变最少。*rpoB* 基因 RRDR 核心区中最常见的密码子突变是 531、526 和 516^[14], 这 3 个密码子分别与探针 E、探针 D、探针 B 3 个探针的覆盖区相一致, 但本研究显示探针 E、探针 D 2 个探针突变频率与 531、526 密码子突变频率相吻合^[15], 但探针 B 与综述分析不一致。而且前 3 位探针突变频率与高春景等^[16]、乐军等^[17] 研究不一致, 但与杨健等^[18] 研究的一致。说明不同地区所流行的利福平耐药基因型不同。本次研究显示利福平耐药结核不管是初治还是复治探针 A~E 5 个探针突变频率顺序一致, 均为探针 E>探

针 A>探针 D>探针 B>探针 C, 但 2 组间的探针突变频率有差异。探针 A 和探针 D 的突变频率, 初治组高于复治组; 探针 E 的突变频率, 初治组低于复治组; 探针 B 在两组的突变频率上基本一致; 探针 C 在 2 组突变上则各有 1 例。联合探针突变频率中, 初治组低于复治组, 初治组的 4 例联合探针突变频率中均包含有探针 E 突变, 而复治 3 例的联合探针突变频率中仅有 1 例合并有探针 E 突变; 这可能是由于不同地区的耐药基因型不同所导致^[16-18], 结核定点门诊原发耐药占 65.03% (70/104), 原发感染占比较高, 和梅建等^[19] 研究的耐药结核病产生的原因相一致。进一步阐明了耐药结核病的早诊断与治疗, 并对其进行有效的控制, 可有效地遏制耐药结核病在该地区的传播蔓延。

在 GeneXpert 法检测的 109 例利福平耐药病例中, 5 例无探针突变, 但结果却显示利福平耐药。判读规则除了探针结合和突变的存在之外, 还判断探针之间的浓度差, 若探针最高 Ct 值和最低 Ct 值的差 Δ Ct 值 > 3.5, 则认为浓度值有差异, 具有突变潜力的探针将报告利福平耐药性^[12]。5 例未发现探针突变, 但 Δ Ct 值偏大, GeneXpert 检测结果显示利福平耐药病例中, 1 例培养药敏为利福平敏感。以比例法药敏检测利福平耐药为金标准, GeneXpert 探针突变组对利福平耐药检测的准确度明显高于非探针突变组。由于本项研究为回顾性分析, 4 例无探针突变株未进行其他相关基因检测, 因此利福平耐药基因是否存在突变还需进一步的研究。

综上所述, 利福平耐药的结核病探针突变大多数发生在探针 E 和探针 D, 探针 C 突变极少。GeneXpert 检测的特点是快速、灵敏度高, 能快速检测 RIF 耐药的能力, 可作为临床 MTB 和耐药菌株的快速检测的筛选试验^[20], 特别是在耐多药 MTB 中。筛查可用于临床诊断耐药结核病治疗方案的选择与调整, 这对于早期发现和治疗, 防止耐药结核病的传播, 并减少原发感染很有意义。

伦理审查与知情同意 本研究不涉及伦理, 患者基本信息的采集和各项检测、治疗均获得受检者或其家属的知情同意

利益冲突声明 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2020[R]. Geneva: World Health Organization, 2020.
- [2] MOHAMED A A, ADALBERT L, MARIO R, et al. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. 2nd ed[R]. Geneva: World Health Organization, 2003: 1-71.
- [3] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 1-35.
- [4] 丁兴, 丁海云, 胡庆刚, 等. 肺泡灌洗液 GeneXpert 联合结核酶联

- 免疫斑点试验、结核抗体对菌阴肺结核的诊断效能[J]. 中国热带医学, 2022, 22(9): 850-855.
- DING X, DING H Y, HU Q G, et al. Clinical study of GeneXpert combined with T-SPOT and TB-Ab on bacterial-negative pulmonary tuberculosis[J]. China Trop Med, 2022, 22(9): 850-855.(in Chinese)
- [5] 李静, 郁晨蕾, 张阳奕, 等. GeneXpert MTB/RIF 联合线性探针检测技术在耐药结核病诊断中的应用研究[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(10): 1102-1106.
- LI J, YU C L, ZHANG Y Y, et al. Application of GeneXpert MTB/RIF combined with linear probe detection technology in the diagnosis of drug-resistant tuberculosis[J]. Chin J Antituberc, 2021, 43(10): 1102-1106.(in Chinese)
- [6] 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[J]. 中国防痨杂志, 2017, 39(8): 829-832.
- NIU H J, WANG G, LI M H. Assessment of GeneXpert MTB/RIF test for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. Chin J Antituberc, 2017, 39(8): 829-832.(in Chinese)
- [7] 马进宝, 任斐, 康磊, 等. 不同类型标本中 GeneXpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌及其利福平耐药性的分析[J]. 中国热带医学, 2021, 21(6): 540-545.
- MA J B, REN F, KANG L, et al. Diagnostic value for GeneXpert MTB/RIF to detect *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance in different types of specimens[J]. China Trop Med, 2021, 21(6): 540-545.(in Chinese)
- [8] 林永通, 黎永华, 黄隆, 等. 三亚市 2014—2017 年涂阴培阳肺结核患者耐药分析[J]. 中国热带医学, 2019, 19(2): 157-159, 164.
- LIN Y T, LI Y H, HUANG L, et al. Drug resistance of smear-negative and culture-positive patients with tuberculosis in Sanya, 2014-2017[J]. China Trop Med, 2019, 19(2): 157-159, 164.(in Chinese)
- [9] 刘亚芹, 杨振斌, 冯冬霞, 等. GeneXpert 法检测结核分枝杆菌及其对利福平耐药性的研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(4): 85-88.
- LIU Y Q, YANG Z B, FENG D X, et al. Analysis on GeneXpert MTB/RIF test for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance[J]. Chin J Exp Clin Infect Dis Electron Version, 2015, 9(4): 85-88.(in Chinese)
- [10] 方木通, 苏优峰, 毛智, 等. GeneXpert MTB/RIF 检测利福平耐药结核分枝杆菌的表型药物敏感性试验耐药情况[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(11): 1159-1163.
- FANG M T, SU Y F, MAO Z, et al. Analysis of phenotypic drug sensitivity test of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by GeneXpert MTB/RIF[J]. Chin J Antituberc, 2021, 43(11): 1159-1163.(in Chinese)
- [11] MUSSER J M. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights[J]. Clin Microbiol Rev, 1995, 8(4): 496-514.
- [12] 孙明洁, 张江峰, 张亚丽, 等. 结核分枝杆菌利福平耐药株 *rpoB* 基因突变特征研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(21): 5201-5203.
- SUN M J, ZHANG J F, ZHANG Y L, et al. Study on mutation of *rpoB* gene in rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Chin J Nosocomiology, 2014, 24(21): 5201-5203.(in Chinese)
- [13] LAWN S D, NICOL M P. Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance[J]. Future Microbiol, 2011, 6(9): 1067-1082.
- [14] ZAW M T, EMRAN N A, LIN Z. Mutations inside rifampicin-resistance determining region of *rpoB* gene associated with rifampicin-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. J Infect Public Health, 2018, 11(5): 605-610.
- [15] HUANG H R, JIN Q, MA Y, et al. Characterization of *rpoB* mutations in rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated in China[J]. Tuberculosis, 2002, 82(2/3): 79-83.
- [16] 高春景, 杨洋, 阚宗卫, 等. Xpert MTB/RIF 对结核菌利福平耐药的诊断价值及 *rpoB* 基因突变特点的分析[J]. 临床肺科杂志, 2021, 26(5): 723-727.
- GAO C J, YANG Y, KAN Z W, et al. Diagnostic value of Xpert MTB/RIF assay in rifampicin resistance of *Mycobacterium tuberculosis* and analysis of *rpoB* gene mutation characteristics[J]. J Clin Pulm Med, 2021, 26(5): 723-727.(in Chinese)
- [17] 乐军, 曾而良, 谢建平, 等. 中国耐多药结核分枝杆菌临床分离株 *rpoB* 基因突变特点[J]. 遗传学报, 2004, 31(12): 1332-1336.
- LE J, ZENG E L, XIE J P, et al. Molecular mutations of *rpoB* gene of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from China[J]. Acta Tabacaria Sin, 2004, 31(12): 1332-1336.(in Chinese)
- [18] 杨健, 王西娣, 陈美玲, 等. 2013—2015 年陕西地区结核分枝杆菌对利福平耐药性及 *rpoB* 基因突变的相关研究[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(2): 53-55, 59.
- YANG J, WANG X D, CHEN M L, et al. Related research on resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to rifampin and *rpoB* gene mutations in Shaanxi from 2013 to 2015[J]. J Mod Lab Med, 2016, 31(2): 53-55, 59.(in Chinese)
- [19] 梅建, 薛楨, 沈鑫, 等. 原发性耐药是耐药结核病产生的重要原因[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(2): 75-78.
- MEI J, XUE Z, SHEN X, et al. Primary drug-resistance is the main cause of drug-resistant tuberculosis[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2006, 29(2): 75-78.(in Chinese)
- [20] 阮云洲, 苏伟, 姜佳雯, 等. 经济欠发达地区应用 GeneXpert MTB/RIF 检测发现肺结核及利福平耐药的效果分析[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(12): 1275-1279.
- RUAN Y Z, SU W, JIANG J W, et al. The effect of case finding of pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance tuberculosis with GeneXpert MTB/RIF test in economic undeveloped areas[J]. Chin J Antituberc, 2021, 43(12): 1275-1279.(in Chinese)