

纳米孔靶向测序技术鉴定分枝杆菌及分析 结核分枝杆菌耐药性

黄银燕¹, 王勤¹, 徐翔²

1. 杭州市疾病预防控制中心 (杭州市卫生监督所), 浙江 杭州 310021; 2. 杭州圣庭医疗科技有限公司, 浙江 杭州 311113

摘要: **目的** 应用纳米孔靶向测序技术鉴定分枝杆菌及分析结核分枝杆菌耐药性, 为结核病快速诊断提供方法参考。**方法** 收集结核病定点医院2022年3—11月18~80岁临床高度怀疑为结核分枝杆菌感染并诊断为分枝杆菌感染的患者样本进行纳米孔靶向测序技术检测, 分析分枝杆菌的检出情况、结核分枝杆菌耐药种类和基因突变位点。**结果** 收集200份样本, 其中呼吸道样本160份, 非呼吸道样本40份。纳米孔靶向测序技术检出分枝杆菌阳性194份, 检测敏感性为97.00% (95%CI: 93.28%~98.77%); 检出结核分枝杆菌阳性187份, 检出率为93.50%; 检出非结核分枝杆菌7份, 检出率为3.50%。纳米孔靶向测序技术检出利福平耐药基因 *rpoB* 的核酸突变位点11个, 异烟肼耐药基因 *katG* 的核酸突变位点1个和 *inhA* 的核酸突变位点2个, 乙胺丁醇耐药基因 *embB* 的核酸突变位点3个, 链霉素耐药基因 *rpsL* 的核酸突变位点2个和 *rrs* 的核酸突变位点1个, 吡嗪酰胺耐药基因 *pncA* 的核酸突变位点11个, 氟喹诺酮类耐药基因 *gyrA* 的核酸突变位点6个和 *gyrB* 的核酸突变位点2个, 氨基糖苷类耐药基因 *rrs* 的核酸突变位点3个。纳米孔靶向测序技术完成1份样本检测耗时5~6 h。**结论** 纳米孔靶向测序技术检测分枝杆菌的敏感性较高, 可检出7种抗结核药物9个耐药基因42个核酸突变位点, 耗时较短, 在结核病快速诊断和耐药基因分析方面有一定适用性。

关键词: 纳米孔靶向测序; 分枝杆菌; 耐药基因

中图分类号: R446.5; R52 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2025) 06-0640-05

Identification of *Mycobacterium* and analysis of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using nanopore targeted sequencing technology

HUANG Yinyan¹, WANG Meng¹, XU Xiang²

1. Hangzhou Center for Disease Control and Prevention (Hangzhou Health Supervision Institution), Hangzhou, Zhejiang 310021, China; 2. Hangzhou Shengting Medical Technology Co., Ltd, Hangzhou, Zhejiang 311113, China

Abstract: Objective To identify *Mycobacterium* and analyze the drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* by using nanopore targeted sequencing technology, so as to provide the methodological reference for the rapid diagnosis of tuberculosis. **Methods** Samples from patients aged 18 to 80 years old who were highly suspected of *Mycobacterium tuberculosis* infection and diagnosed with *Mycobacterium tuberculosis* infection in designated tuberculosis hospitals from March to November 2022 were collected for nanopore targeted sequencing technology. The detection status of *Mycobacterium*, types of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, and gene mutation sites were analyzed. **Results** A total of 200 samples were collected, including 160 respiratory tract samples and 40 non-respiratory tract samples. Nanopore targeted sequencing technology detected 194 positive mycobacterial samples, with a detection sensitivity of 97.00% (95%CI: 93.28%~98.77%). There were 187 positive cases of *Mycobacterium tuberculosis* and 7 cases of nontuberculous mycobacteria, with detection rates of 93.50% and 3.50%, respectively. Nanopore targeted sequencing technology identified 11 mutations in the rifampicin resistance gene *rpoB*, 1 mutation in the isoniazid resistance gene *katG*, 2 mutations in the gene

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2025.06.021

基金项目: 杭州市科技局引导项目 (20220919Y060)

作者简介: 黄银燕, 硕士, 副主任技师, 主要从事结核病的预防和控制工作

通信作者: 王勤, E-mail: wangm@hzcdc.com.cn

inhA, 3 mutations in the ethambutol resistance gene *embB*, 2 mutations in the streptomycin resistance gene *rpsL*, 1 mutation in the gene *rrs*, 11 mutations in the pyrazinamide resistance gene *pncA*, 6 mutations in the fluoroquinolone resistance gene *gyrA*, 2 mutations in the gene *gyrB*, and 3 mutations in the aminoglycoside resistance gene *rrs*. It took 5–6 hours to complete the detection of one sample using nanopore targeted sequencing technology. **Conclusions** The nanopore targeted sequencing technology has high sensitivity for detecting *Mycobacterium tuberculosis* and can identify 42 nucleic acid mutation sites in 9 drug resistance genes associated with 7 anti-tuberculosis drugs. It is time-efficient and has certain applicability in the rapid diagnosis of tuberculosis and the analysis of drug resistance genes.

Keywords: nanopore targeted sequencing; *Mycobacterium*; drug resistant gene

耐多药结核病 (multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB) 和广泛耐药结核病 (extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB) 在全球范围内的扩散给结核病防控带来挑战。2023 年世界卫生组织 (WHO) 报告显示, 2022 年全球估算新发结核病患者 1 060 万例, 其中 41 万例是 MDR-TB 患者; 我国新发结核病患者 74.8 万例, 其中 3.0 万例是 MDR-TB 患者^[1]。我国 MDR-TB 患者治疗成功率为 51.00%, 低于全球平均水平的 63.00%^[1], 快速准确的早期诊断对防治结核病传播和预后具有重要意义。结核分枝杆菌生长缓慢, 传统药敏试验耗时长, 对细菌活性要求高, 会引起诊断延迟^[2]。结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测 (Xpert® *Mycobacterium tuberculosis* / rifampin assay, Xpert MTB/RIF) 速度快, 但仅能检测利福平耐药性^[3]。此外, 临床上常发现 Xpert MTB/RIF 检测基因型与表型不匹配的现象, 说明还存在其他未知的耐药表达位点^[4]。纳米孔靶向测序技术是集速度快、通量高、超长读长和靶向捕获于一体的测序技术, 能够同时进行菌种鉴定和耐药基因检测, 在传染病监测、基因组学研究方面应用广泛^[5-7]。本研究探讨纳米孔靶向测序技术在分枝杆菌鉴定及结核分枝杆菌耐药基因检测中的应用, 为结核病的快速诊断提供方法参考。

1 资料与方法

1.1 资料来源

本研究样本资料来源于 2022 年 3—11 月结核病定点医院 18~80 岁临床高度怀疑结核分枝杆菌感染并最终诊断为分枝杆菌感染的患者, 排除已诊断为非感染性疾病患者的样本。样本包括 160 份患者呼吸道样本 (肺泡灌洗液、痰液) 和 40 份患者非呼吸道样本 (脑脊液、脓液、组织、穿刺液和尿液), 放置于 4℃ 冰箱。

1.2 试剂与仪器

核酸提取试剂盒和圣庭 TBseq 检测试剂盒 (杭

州圣庭医疗科技有限公司)。汉赞迪 CANTUS SCREEN-16 全自动核酸提取仪 (上海汉赞迪生命科技有限公司); Applied Biosystems 2720 热循环仪 (美国 Applied Biosystems 公司); GridION Mk1 测序仪 (英国 ONT 公司)。

1.3 方法

样本预处理: 取 400 μL 样本, 5 510×g 离心 5 min, 取沉淀重悬于 400 μL 磷酸盐缓冲溶液 (PBS), 加入 2.20% 皂苷溶液, 室温孵育 10 min 后加入 350 μL ddH₂O, 孵育 30 s, 继续加入 12 μL NaCl (5 mol/L), 3 099×g 离心 5 min, 取沉淀重悬于 PBS; 悬液加入 100 μL 热不稳定性耐高盐核酸酶缓冲液, 37℃ 下振荡孵育 15 min, 3 099×g 离心 3 min, 后用 PBS 重复洗涤 2 次。

使用全自动核酸提取仪提取 DNA, 设计特异性引物开展靶向扩增, 构建测序文库。靶向扩增 *rpoB*、*hsp65*、*IS6110*、*gyrB* 和 *mpt64* 基因鉴定分枝杆菌。靶向扩增 *rpoB* 基因检测利福平耐药; 靶向扩增 *katG*、*inhA*、*ahpC* 和 *kasA* 基因检测异烟肼耐药; 靶向扩增 *rpsL*、*rrs* 和 *gidB* 基因检测链霉素耐药; 靶向扩增 *embB*、*embA*、*embC* 和 *embR* 基因检测乙胺丁醇耐药; 靶向扩增 *pncA*、*rpsA* 和 *panD* 基因检测吡嗪酰胺耐药; 靶向扩增 *gyrA*、*gyrB* 基因检测氟喹诺酮类耐药; 靶向扩增 *rrs*、*rrl* 和 *tlyA* 基因检测氨基糖苷类耐药。使用 GridION Mk1 测序仪进行测序, 通过杭州圣庭医疗科技有限公司开发的“结核分枝杆菌和耐药基因检测软件”进行数据分析, 对比上述靶向扩增的耐药基因与参考基因组, 分析靶向耐药基因突变情况。采用 Excel 2019 软件整理数据, 定性资料采用相对数描述。

2 结果

2.1 分枝杆菌检出情况

200 份样本中, 纳米孔靶向测序技术检出分枝杆菌阳性 194 份, 检测敏感性为 97.00% (95%CI: 93.28%~98.77%); 检出结核分枝杆菌阳性 187 份,

检出率为 93.50%；检出非结核分枝杆菌 7 份，检出率为 3.50%。呼吸道样本 160 份，检出结核分枝杆菌阳性 152 份，检出率为 95.00%；检出非结核分枝杆菌阳性 6 份，检出率为 3.75%。非呼吸道样本 40 份，检出结核分枝杆菌阳性 35 份，检出率为 87.50%；检出非结核分枝杆菌阳性 1 份，检出率为 2.50%。7 份非结核分枝杆菌中，脓肿分枝杆菌阳性 3 份，胞内分枝杆菌阳性 2 份，堪萨斯分枝杆菌和鸟分枝杆菌阳性各 1 份。

2.2 结核分枝杆菌耐药性分析

纳米孔靶向测序技术对利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、吡嗪酰胺和氨基糖苷类 7 种药物均有检出耐药，分别为 160、119、73、66、64、46 和 12 份，检出率分别为 80.00%、59.50%、36.50%、33.00%、32.00%、23.00% 和 6.00%。检出生利福平耐药基因 *rpoB* 的核酸突变位点 11 个，异烟肼耐药基因 *katG* 的核酸突变位点 1 个和 *inhA* 的核酸突变位点 2 个，乙胺丁醇耐药基因 *embB* 的核酸突变位点 3 个，链霉素耐药基因 *rpsL* 的核酸突变位点 2 个和 *rrs* 的核酸突变位点 1 个，吡嗪酰胺耐药基因 *pncA* 的核酸突变位点 11 个，氟喹诺酮类耐药基因 *gyrA* 的核酸突变位点 6 个和 *gyrB* 的核酸突变位点 2 个，氨基糖苷类耐药基因 *rrs* 的核酸突变位点 3 个。见表 1。纳米孔靶向测序技术完成 1 份样本检测耗时 5~6 h。

3 讨论

本研究采用纳米孔靶向测序技术对临床采集的 200 份样本进行分枝杆菌鉴定和结核分枝杆菌耐药基因检测。在分枝杆菌检测灵敏度方面，纳米孔靶向测序技术检测敏感性为 97.00%，高于分枝杆菌检测“金标准”培养法^[2]（如 MGIT 960）的 81.5%^[8]。培养法可以分离出分枝杆菌，但需要进一步借助染色、生化反应分子检测和质谱等手段鉴定菌种，多方法联合延长了检测周期。在非结核分枝杆菌检测方面，纳米孔靶向测序技术可以在不依赖其他检测的前提下，快速精准地鉴定非结核分枝杆菌，有利于临床早诊断、早治疗；而 Xpert MTB/RIF 只能检测结核分枝杆菌，培养法无法直接鉴定非结核分枝杆菌菌种^[9]。

在结核分枝杆菌耐药基因检测方面，纳米孔靶向测序技术对利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、链霉素、氟喹诺酮类和氨基糖苷类耐药基因均能检出。纳米孔靶向测序技术可精准检测结核分枝杆菌耐药基因位点^[10]。结核分枝杆菌体外药敏试验能够从

表 1 纳米孔靶向测序技术检出结核分枝杆菌耐药基因突变位点

Table 1 The variants of *Mycobacterium tuberculosis* detected by nanopore target sequencing technology

耐药种类	耐药基因	核酸突变位点	密码子突变位点	检出份数
利福平	<i>rpoB</i>	1532T>G	Leu511Arg	2
		1532T>C	Leu511Pro	6
		1538A>C	Gln513Pro	4
		1537C>A	Gln513Lys	2
		1546G>T	Asp516Tyr	4
		1547A>C	Asp516Ala	1
		1576C>G	His526Asp	7
		1576C>A	His526Asn	5
		1576C>T	His526Tyr	12
		1592C>T	Ser531Leu	109
		1598T>C	Leu533Pro	8
异烟肼	<i>katG</i>	944G>C	Ser315Thr	102
		<i>inhA</i>	—	11
		—8C>T	—	6
乙胺丁醇	<i>embB</i>	918G>A	Met306Ile	20
		916A>G	Met306Val	39
		1216G>A	Gly406Ala	7
链霉素	<i>rpsL</i>	128A>G	Lys43Arg	62
		263A>G	Lys88Arg	6
吡嗪酰胺	<i>rrs</i>	514A>C	—	5
		<i>pncA</i>	Gln10Pro	4
		153C>A	His51Gln	6
		202T>C	Trp68Arg	3
		226A>C	Thr76Pro	5
		287A>G	Lys96Arg	5
		340A>G	Thr114Ala	6
		373G>T	Val125Phe	2
		403A>C	Thr135Pro	5
		416T>C	Val139Ala	1
		422A>C	Gln141Pro	5
氟喹诺酮类	<i>gyrA</i>	515T>C	Leu172Pro	4
		269C>T	Ala90Val	10
		271T>C	Ser91Pro	4
		281A>C	Asp94Ala	14
		281A>G	Asp94Gly	26
		280G>T	Asp94Tyr	3
		280G>C	Asp94His	2
		<i>gyrB</i>	Asn499Thr	2
		1503A>C	Glu501Asp	3
		<i>rrs</i>	—	9
			—	1
			—	2

注：—表示该位点不在编码区，不涉及密码子突变。

表型上直接确定结核分枝杆菌对抗结核药物的敏感性，具有较高的准确性，但无法判定基因位点。

Xpert MTB/RIF 的检测仅限于 *rpoB* 基因利福平耐药决定区的 81 bp 碱基,无法检测其他一线和二线抗结核药物的耐药情况,在抗结核药物耐药日趋加剧的情况下,无法提供更多的耐药基因位点信息,尚不能满足临床诊断和治疗需求^[11]。纳米孔靶向测序技术通过分析核酸水平的突变,不仅能够覆盖一线抗结核药物,对二线抗结核药物也有良好的检测能力,有助于发现新的耐药基因突变位点及其对结核分枝杆菌耐药性的影响^[10]。

在检测周期方面,纳米孔靶向测序技术 5~6 h 内可完成 1 份样本检测,远快于培养法 (7~14 d)^[12],极大地提高了分枝杆菌感染等进展较慢的感染性疾病早期诊疗的可能性。虽然 Xpert MTB/RIF 检测周期相对较短,但其基于聚合酶链反应原理,检测范围仅限于结核分枝杆菌及其利福平耐药性。纳米孔靶向测序技术可通过多重靶向扩增并结合三代纳米孔测序,能够直接获取微生物基因组的核酸序列,借助生物信息学分析,该方法不仅能确定样本中的分枝杆菌菌种,还能分析结核分枝杆菌耐药基因突变位点,从而进一步提升测序数据的利用价值^[13]。

200 份样本中,7 种抗结核药物的耐药检出率依次是利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、吡嗪酰胺和氨基糖苷类,可能与药物的作用机制、临床使用强度、耐药突变成本和细菌种群适应性有关。利福平耐药检出份数最多的突变位点是 *rpoB* Ser531Leu,该位点是利福平耐药的核心位点,利福平在结核病治疗中广泛使用,使该突变位点在耐药菌株中高度富集^[14]。异烟肼耐药检出份数最多的突变位点是 *katG* Ser315Thr,该位点突变阻碍异烟肼与过氧化氢酶-过氧化物酶的结合,可导致酶活性部分丧失从而引发耐药^[15]。链霉素耐药检出份数最多的突变位点是 *rpsL* Lys43Arg,该位点是链霉素耐药的主要位点,突变可导致核糖体与链霉素的结合亲和力下降,增加耐药风险^[16]。提示精准耐药位点的检出为结核病患者用药的合理性和实用性提供了依据。

此外,纳米孔靶向测序技术也存在一定局限。纳米孔靶向测序技术获得的耐药基因突变位点依赖“结核分枝杆菌和耐药基因检测软件”中的结核分枝杆菌耐药基因数据库,因此需保持较高频率的维护和更新。临床上,纳米孔靶向测序技术获得的耐药基因突变位点需要参考 WHO 指南^[17]中与结核分枝杆菌耐药相关性较高的突变位点,以判定实际结核分枝杆菌耐药性。由于存在耐药表型与基因型不一致的情

况,无法完全替代培养法和结核分枝杆菌体外药敏试验成为结核分枝杆菌耐药检测的“金标准”,但可以为暂未获得或无法获得培养法和结核分枝杆菌体外药敏试验结果的患者提供参考。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2023 [R]. Geneva: WHO, 2023.
- [2] 余泽林,李月,夏辉,等.结核分枝杆菌体外药敏试验标准株的建立与评价[J].疾病监测,2023,38(12):1460-1465.
YU Z L, LI Y, XIA H, et al. Establishment of Chinese reference strains for *in vitro* drug sensitivity testing of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Dis Surveill, 2023, 38(12): 1460-1465. (in Chinese)
- [3] BAINOMUGISA A, GILPIN C, COULTER C, et al. New Xpert MTB/XDR: added value and future in the field [J]. Eur Clin Respir J, 2020, 56(5): 1-5.
- [4] 王少华,赵国连,王佩,等.结核分枝杆菌利福平基因型药敏和表型药敏检测结果不一致原因分析[J].中国防痨杂志,2022,44(2):169-173.
WANG S H, ZHAO G L, WANG P, et al. Analysis of inconsistency between genotypic and phenotypic results of *Mycobacterium tuberculosis* rifampicin susceptibility test [J]. Chin J Antituberc, 2022, 44(2): 169-173. (in Chinese)
- [5] WANG Y H, ZHAO Y, BOLLAS A, et al. Nanopore sequencing technology and its applications in basic and applied research [J]. Nat Biotechnol, 2021, 39(11): 1348-1365.
- [6] 杨晨,高卫卫,郭羿成,等.纳米孔靶向测序在分枝杆菌鉴定和耐药基因检测中的研究进展[J].中国防痨杂志,2024,46(5):578-583.
YANG C, GAO W W, GUO Y C, et al. Research progress of nanopore targeted sequencing in *Mycobacterium* identification and drug resistance gene detection [J]. Chin J Antituberc, 2024, 46(5): 578-583. (in Chinese)
- [7] 李中滋,杜彩丽,林彦锋,等.纳米孔测序技术在环境微生物研究中的应用[J].生物工程学报,2022,38(1):5-13.
LI Z H, DU C L, LIN Y F, et al. Application of nanopore sequencing in environmental microbiology research [J]. Chin J Biotech, 2022, 38(1): 5-13. (in Chinese)
- [8] CRUCIANI M, SCARPARO C, MALENA M, et al. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of *Mycobacteria* [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(5): 2321-2325.
- [9] HUANG Y Y, LI Q S, LI Z D, et al. Rapid diagnosis of *Mycobacterium marinum* infection using targeted nanopore sequencing: a case report [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1-6.
- [10] HALL M B, RABODOARIVELO M S, KOCH A, et al. Evaluation of nanopore sequencing for *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility testing and outbreak investigation: a genomic analysis [J]. Lancet Microbe, 2023, 4(2): 84-92.
- [11] 《中国防痨杂志》编辑委员会,中国医疗保健国际交流促进会

- (4): 561–565. (in Chinese)
- [6] MANGANELLI R, CIOETTO-MAZZABÒ L, SEGAFREDDO G, et al. SigE: a master regulator of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Front Microbiol, 2023, 7 (3): 1–8.
- [7] 江丽娜, 穆成, 孙蕊, 等. 即时痰和体外培养条件下结核分枝杆菌 sigma 因子表达差异分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2023, 34 (3): 52–55.
- JIANG L N, MU C, SUN R, et al. Analysis of expression differences of sigma factors in *Mycobacterium tuberculosis* under immediate sputum and *in vitro* culture conditions [J]. J Public Health Prev Med, 2023, 34 (3): 52–55. (in Chinese)
- [8] 江丽娜, 高丽, 王志锐, 等. Sigma 因子基因表达与结核分枝杆菌异烟肼耐药关系探讨 [J]. 中国热带医学, 2024, 24 (3): 299–303.
- JIANG L N, GAO L, WANG Z R, et al. Study on the relationship between sigma factor gene expression and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. China Trop Med, 2024, 24 (3): 299–303. (in Chinese)
- [9] 江丽娜, 高丽, 王志锐, 等. 结核分枝杆菌异烟肼或利福平不同耐药表型中 sigma 因子表达差异研究 [J]. 疾病监测, 2024, 39 (9): 1198–1203.
- JIANG L N, GAO L, WANG Z R, et al. Study on expression differences of sigma factors in different drug-resistant phenotypes of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid or rifampicin [J]. Dis Surveill, 2024, 39 (9): 1198–1203. (in Chinese)
- [10] 车洋, 杨天池, 平国华, 等. 外排泵基因 *Rv1456c*、*Rv1457c*、*Rv1458c* 表达与结核分枝杆菌耐药关系探讨 [J]. 疾病监测, 2019, 34 (6): 1–5.
- CHE Y, YANG T C, PING G H, et al. Study on the relationship between the expression of efflux pump genes *Rv1456c*, *Rv1457c*, *Rv1458c* and drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Dis Surveill, 2019, 34 (6): 1–5. (in Chinese)
- [11] VERGNE I, CHUA J, SINGH S B, et al. Cell biology of *Mycobacterium tuberculosis* phagosome [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2004, 20 (1): 367–394.
- [12] MICHELE T M, KO C, BISHAI W R. Exposure to antibiotics induces expression of the *Mycobacterium tuberculosis* *sigF* gene: implications for chemotherapy against mycobacterial persisters [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1999, 43 (2): 218–225.
- [13] MISRA R, MENON D, ARORA G, et al. Tuning the *Mycobacterium tuberculosis* alternative sigma factor sigF through the multi-domain regulator Rv1364c and osmosensory kinase protein kinase D [J/OL]. J Bacteriol, 2019, 201 (7) [2025–06–04]. <https://doi.org/10.1128/JB.00725-18>.
- [14] CIOETTO-MAZZABÒ L, BOLDRIN F, BEAUVINEAU C, et al. SigH stress response mediates killing of *Mycobacterium tuberculosis* by activating nitronaphthofuran prodrugs via induction of Mrx2 expression [J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51 (1): 144–165.
- [15] YEW W W, CHAN D P, CHANG K C, et al. Does oxidative stress contribute to antituberculosis drug resistance [J]. J Thorac Dis, 2019, 11 (7): 100–102.
- [16] OCAMPO P S, LAZAR V, PAPP B, et al. Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58 (8): 4573–4582.
- 收稿日期: 2025–01–16 修回日期: 2025–06–04 本文编辑: 郑敏

(上接第643页)

- 结核病防治分会基础学组和临床学组. 结核分枝杆菌耐药性检测专家共识 [J]. 中国防痨杂志, 2019, 41 (2): 129–137.
- Editorial Board of *Chinese Journal of Anti tuberculosis*, Basic and Clinical Groups of Tuberculosis Control Branch of China International Exchange and Promotive Association for Medical and Health Care. Expert consensus on the detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Chin J Antituberc, 2019, 41 (2): 129–137. (in Chinese)
- [12] 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.
- ZHAO Y L, PANG Y. Laboratory procedures for tuberculosis testing [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015. (in Chinese)
- [13] CABIBBE A M, SPITALERI A, BATTAGLIA S, et al. Application of targeted next-generation sequencing assay on a portable sequencing platform for culture-free detection of drug-resistant tuberculosis from clinical samples [J]. J Clin Microbiol, 2020, 58 (10): 1–9.
- [14] BRANDIS G, HUGHES D. Genetic characterization of compensatory evolution in strains carrying *rpoB* Ser531Leu, the rifampicin resistance mutation most frequently found in clinical isolates [J]. J Antimicrob Chemother, 2013, 68 (11): 2493–2497.
- [15] LI Y F, KONG X L, SONG W M, et al. Genomic analysis of lineage-specific transmission of multidrug resistance tuberculosis in China [J]. Emerg Microbes Infect, 2024, 13 (1): 1–14.
- [16] WANG Y L, LI Q L, GAO H X, et al. The roles of *rpsL*, *rrs*, and *gidB* mutations in predicting streptomycin-resistant drugs used on clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Hebei Province, China [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12 (7): 2713–2721.
- [17] World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance (second edition) [EB/OL]. [2025–02–05]. Geneva: WHO, 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240082410>.
- 收稿日期: 2024–11–19 修回日期: 2025–02–05 本文编辑: 徐亚慧