

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20194326

· 论 著 ·

基因芯片法与线性探针法对痰标本中结核分枝杆菌检测的应用价值

钟业腾¹, 吕志辉², 林 翀¹, 林明冠¹, 陈灼霖¹, 苏应仙¹, 陈少文¹, 裴 华¹

(1. 海南医学院第二附属医院检验科, 海南 海口 570311; 2. 海南省临高县疾病预防控制中心检验科, 海南 临高 571800)

[摘要] **目的** 探讨基因芯片法与线性探针法检测痰标本中结核分枝杆菌(MTB)的应用价值。**方法** 海南医学院第二附属医院 2018 年 3—7 月门诊和住院的 106 例疑似肺结核患者纳入研究, 采用基因芯片法、线性探针法对患者送检的痰进行检测, 并与改良罗氏培养法进行比较; 以比例法药敏试验为金标准, 分析上述两种方法检测利福平和异烟肼耐药性的效能。**结果** 对 106 份痰标本进行改良罗氏培养, 阳性率为 52.83%(56/106), 经鉴定其中 46 份标本为 MTB 阳性。基因芯片法和线性探针法分别检出 MTB 46、53 株, 基因芯片法、线性探针法与改良罗氏培养法检测 MTB 结果比较, 差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。基因芯片法、线性探针法与比例法检测 MTB 对利福平的耐药性比较, 差异均无统计学意义, 且具有较好一致性(均 $P>0.05$, 均 $Kappa>0.75$)。对利福平的耐药性检测, 基因芯片法的灵敏度、特异度分别为 84.62%、90.00%, 线性探针法分别为 84.62%、85.00%。基因芯片法、线性探针法与比例法检测 MTB 对异烟肼的耐药性比较, 差异均无统计学意义, 但一致性一般(均 $P>0.05$, 均 $Kappa<0.75$)。对异烟肼的耐药性检测, 基因芯片法的灵敏度、特异度分别为 69.23%(18/26)、95.00%(19/20), 线性探针法分别为 65.38%(17/26)、85.00%(17/20)。**结论** 基因芯片法和线性探针法均可准确、快速地从大部分疑似结核患者的痰标本中鉴定出 MTB, 也适用于利福平和异烟肼耐药结果的快速检测, 从而指导临床用药, 值得临床推广。

[关键词] 基因芯片; 线性探针; 比例法; 结核分枝杆菌; 利福平; 异烟肼; 罗氏培养

[中图分类号] R521 R446

Application value of gene chip method and linear probe method in detecting *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens

ZHONG Ye-teng¹, LV Zhi-hui², LIN Chong¹, LIN Ming-guan¹, CHEN Zhuo-lin¹, SU Ying-xian¹, CHEN Shao-wen¹, PEI Hua¹ (1. Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570311, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Lingao County Center for Disease Control and Prevention, Lingao 571800, China)

[Abstract] **Objective** To explore the application value of gene chip method and linear probe method in detecting *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in sputum specimens. **Methods** 106 suspected pulmonary tuberculosis outpatients and inpatients in the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University in March-July 2018 were enrolled in the study, sputum specimens were detected by gene chip method and linear probe method, then compared with the modified Roche culture method; proportional susceptibility test was as gold standard to analyze the efficacy of above two methods in detection of rifampicin and isoniazid resistance. **Results** 106 sputum specimens were cultured by modified Roche culture method, positive rate was 52.83%(56/106), 46 specimens were identified as MTB positive. 46 and 53 strains of MTB were detected by gene chip method and linear probe method respectively, there was no significant difference in MTB detection results between gene chip method, linear probe method, and modified

[收稿日期] 2018-10-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81860002); 海南医学院第二附属医院内课题资助项目(琼海医二附院 2017-09)

[作者简介] 钟业腾(1984-), 男(汉族), 海南省文昌市人, 主管技师, 主要从事临床微生物学研究。

[通信作者] 裴华 E-mail: phzmb61@aliyun.com

Roche culture method (all $P > 0.05$). There was no significant difference but good consistency in detection of rifampicin resistance of MTB between gene chip method, linear probe method, and proportional method (all $P > 0.05$, all $Kappa > 0.75$). For rifampicin resistance detection, the sensitivity and specificity of gene chip method were 84.62% and 90.00% respectively, and the linear probe method were 84.62% and 85.00% respectively. There was no significant difference but general consistency in detection of isoniazid resistance of MTB between gene chip method, linear probe method, and proportional method (all $P > 0.05$, all $Kappa < 0.75$). For isoniazid resistance detection, the sensitivity and specificity of gene chip method were 69.23% (18/26) and 95.00% (19/20) respectively, linear probe method were 65.38% (17/26) and 85.00% (17/20) respectively. **Conclusion** Both gene chip method and linear probe method can accurately and rapidly identify MTB from sputum specimens of most suspected tuberculosis patients, they can also be used for rapid detection of rifampicin and isoniazid resistance, thus guiding clinical antimicrobial use, which are worthy of clinical promotion.

[Key words] gene chip; linear probe; proportional method; *Mycobacterium tuberculosis*; rifampin; isoniazid; Roche culture

结核病是当前危害人类健康最重要的慢性传染病之一^[1],是全世界公共卫生面临的重大威胁^[2]。目前,全球结核病控制工作面临着耐药结核病疫情的严峻挑战^[3-4],世界卫生组织(WHO)估计约 2/3 的结核病患者处于耐多药的危险中^[5]。实验室的传统检测方法主要是痰涂片、痰培养及药敏,临床上诊断结核病的金标准是结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)的培养^[6],而诊断耐多药结核病的传统方法是抗结核药物敏感试验^[7-8]。传统检测方法虽可靠,但费时、费力,不能完全满足临床诊疗需求,还可能造成耐多药菌株增多和传播^[9]。因此,建立早期、快速的耐药性检测技术是当前控制结核病疫情的关键。目前,临床实验室用于检测 MTB 的快速分子生物学方法主要有基因芯片法和线性探针法,两种方法均是通过检测标本中 MTB 及其耐药相关基因突变情况,判定是否感染 MTB 及其对利福平、异烟肼的耐药情况,具有快速、简便等特点,一次能同时检测十几至几十个基因位点,适用于多位点分析^[10]。国内很多地区开展了基因芯片法或线性探针法检测 MTB 及其耐药基因,可能是出于经济成本的考虑,基本采用单个基因检测方法,极少比较基因芯片法和线性探针法检测 MTB 及其耐药基因效果的相关报道^[11]。在结核病防治工作中,患者痰是最直接的标本来源,直接检测痰中 MTB 及其耐药基因,能更快地获得 MTB 耐药结果。本研究采用基因芯片法、线性探针法对海南地区疑似肺结核患者送检的痰进行检测,并与改良罗氏培养法进行比较;以比例法药敏试验为金标准,分析上述两种方法检测利福平和异烟肼耐药性的效能。

1 对象与方法

1.1 研究对象 根据国家卫生与计划生育委员会制定的肺结核病诊断标准^[6],凡符合下列之一均纳入疑似肺结核患者:(1)有肺结核可疑症状的 5 岁以下儿童,同时具备肺结核患者密切接触史、结核菌素试验强阳性和 γ -干扰素释放试验阳性中任一条;(2)仅胸部影像学检查显示与活动性肺结核相符的病变。

按照以上诊断标准,将海南医学院第二附属医院 2018 年 3—7 月门诊和住院的 106 例疑似肺结核患者纳入研究范围,其中男性 76 例,年龄 17~84 岁,女性 30 例,年龄 1~87 岁。每例患者留取 3 份痰标本,每份标本 2~3 mL,留取质量较好的痰标本 2 份,各取 1 mL 混匀,共获得 106 份混合痰标本,每份 2 mL。每份标本同时进行结核菌涂片、改良罗氏培养药敏试验、基因芯片及线性探针耐药基因检测,质控菌株为 H37Rv ATCC 27294 标准株,由国家疾病预防控制中心(CDC)结核病参比实验室提供。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 SlideWasherTM 8 芯片洗干仪、BioMixerTM II 芯片杂交仪、ExtractorTM 36 核酸快速提取仪和 LuxScanTM 10K-B 微阵列芯片扫描仪等均为博奥生物集团有限公司生产, TwinCubator 振动平台仪器为德国 Hain Lifescience 公司生产, TC-96/G/H(b)B 基因扩增仪和 Life Express 基因扩增仪均为杭州博日科技有限公司生产, BSC-1600 II B2 型和 BSC-1600 II A2 型生物安全柜均为苏州安泰空

气技术有限公司生产, BPX-272 电热恒温培养箱为上海博迅公司生产。

1.2.2 试剂 MTB DNA 提取试剂和晶芯结核分枝杆菌耐药基因检测试剂盒(DNA 微阵列芯片法)均为北京博奥生物集团有限公司生产, GenoType MTBDRplus 试剂盒(PCR-线性杂交酶显色法)为德国 Hain Lifescience 公司生产, 分枝杆菌药敏培养基(比例法)、改良酸性罗氏培养基(培养法)、结核菌抗酸染色液、对硝基苯甲酸(PNB)和噻吩-2-羧酸肼(TCH)鉴定培养基均为珠海贝索生物技术有限公司生产。

1.3 痰标本处理及痰涂片抗酸染色检查 取患者痰标本直接进行痰涂片镜检, 严格按照《结核病实验室检验规程》^[12]的要求进行痰涂片抗酸染色检查, 再加入等量的现配 4% NaOH 溶液, 涡旋振荡混合后, 室温静止 15 min, 制成预处理痰标本。

1.4 改良罗氏培养法及菌种初步鉴定 用无菌吸管吸取已预处理的痰标本上清液, 各取 0.1 mL(2 滴)分别接种至改良罗氏培养基、PNB 和 TCH 鉴定培养基上, 尽量使菌液均匀铺满斜面, 置 37 °C 培养, 培养第 3 天观察结果后, 每周各观察 1 次, 直到第 8 周。

1.5 比例法药物敏感试验 用一次性无菌接种环刮取改良酸性罗氏培养基上(2~3 周)的新鲜菌落, 置于磨菌瓶中, 研磨后与标准麦氏管比对制成 1 mg/mL 菌悬液, 用灭菌生理盐水稀释成 10^{-2} mg/mL 和 10^{-4} mg/mL 2 个浓度, 然后用一次性无菌接种蘸取 1 环(即 10 μ L), 采用划线法分别均匀接种至中性罗氏培养基和含利福平(40 mg/L)、异烟肼(0.2 mg/L)的药敏培养基上, 37 °C 培养 4 周后观察结果。

1.6 DNA 提取 吸取 1 mL 已进行预处理的痰标本上清液于微量离心管中, 12 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液; 再加入 1 mL 的生理盐水, 充分振荡后 12 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液; 向微量离心管加入 50 μ L 核酸提取液, 混合均匀后, 吸取所有混合液放入核酸提取管中, 用核酸快速提取仪振荡 10 min, 再置于 95 °C 水浴 10 min, 12 000 r/min 离心 1 min, 制备成核酸提取物。

1.7 PCR 扩增及杂交

1.7.1 基因芯片法 把 PCR 扩增试剂 1、2、3(分别含有 MTB 鉴定基因扩增引物、耐利福平 *rpoB* 基因扩增引物、耐异烟肼 *katG/inhA* 基因扩增引物)

按 18 μ L/管分装于 PCR 管中, 将所得核酸提取物 2 μ L 依次加入到 PCR 管中, 混匀, 每个标本重复 3 次, 放入基因扩增仪进行扩增, 得到 PCR 产物。将 PCR 产物经变性后按照说明书要求加入至 MTB 耐药检测试剂盒的芯片点阵中, 然后放入晶芯 Bi-oMixerTM II 杂交仪进行芯片反应, 再将完成杂交的芯片放入晶芯 SlideWasherTM 8 芯片洗干仪中进行洗干, 将洗干的芯片放入晶芯 LuxScanTM 10K-B 微阵列芯片扫描仪中, 利用晶芯结核分枝杆菌药敏检测分析系统进行信号的读取及结果判断。

1.7.2 线性探针法 取核酸提取物 5 μ L 加入用多重 PCR 扩增体系(含有 MTB 鉴定基因扩增引物、耐利福平 *rpoB* 基因扩增引物和耐异烟肼 *katG/inhA* 基因扩增引物)中, 放入基因扩增仪进行扩增, 所得 PCR 产物与 GenoType MTBDRplus 试剂盒中的探针试纸按说明书进行杂交, 并判断结果。

1.8 质量控制 严格按照《结核病实验室检验规程》的要求进行质量控制, 痰标本分枝杆菌分离培养的涂阳培阴率应小于 10%, 污染率应小于 5%; 比例法药物敏感性试验的高稀释度菌液(10^{-4} mg/mL)在中性罗氏培养基(对照培养基)上生长的菌落数少于 20 个菌落, 则应从对照管传代培养, 重复试验。海南医学院第二附属医院结核病实验室每年均通过国家抗结核药敏试验熟练度考核及结核病分子诊断技术能力验证。

1.9 数据处理 应用 SPSS 20.0 统计学软件对实验结果进行处理, 两种方法的一致性检验用 *Kappa* 检验判别($Kappa \geq 0.75$, 两者一致性较好; $0.4 \leq Kappa < 0.75$, 两者一致性一般; $Kappa < 0.4$, 两者一致性较差), 采用卡方检验比较两种方法检测结果, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义^[13]。

2 结果

2.1 痰涂片抗酸染色和改良罗氏培养结果 对 106 份痰标本进行涂片抗酸染色和改良罗氏培养, 痰涂片抗酸染色阳性率 34.91%(37/106), 改良罗氏培养阳性率 52.83%(56/106), 涂阳培阴性率为 8.11%(3/37), 未出现培养污染标本, 两者均符合质量控制的要求。56 份培养阳性痰标本经 PNB 及 TCH 培养鉴定, 46 株为 MTB 和 10 株为非结核分枝杆菌。

2.2 基因芯片法和线性探针法 MTB 检出情况

106 份痰标本,基因芯片法检出分枝杆菌 52 株,其中 46 株 MTB,6 株非结核分枝杆菌;线性探针法检出 MTB 5 3 株,基因芯片法、线性探针法 MTB 的检出率分别为 43.40%、50.00%。基因芯片法、线性探针法与改良罗氏培养法检测 MTB 结果比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 1。

表 1 106 份痰标本基因芯片法和线性探针法 MTB 检出情况
Table 1 Detection of MTB from 106 sputum specimens by gene chip method and linear probe method

方法	改良罗氏培养法(份)		χ^2	P	
	阳性	阴性			
基因芯片法	阳性	40	6	59.68	1.00
	阴性	6	54		
线性探针法	阳性	39	14	36.91	0.19
	阴性	7	46		

注:以改良罗氏培养法为金标准

2.3 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对利福平、异烟肼的耐药性

以比例法药敏试验为金标准,鉴定为 MTB 的 46 株菌株均进行比例法药敏试验。

表 3 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对利福平耐药情况的诊断效能(%)

Table 3 Diagnostic efficacy of gene chip method and linear probe method in detecting rifampicin resistance of MTB(%)

方法	灵敏度	特异度	符合率	阳性预测值	阴性预测值
基因芯片法	84.62	90.00	86.96	91.67	81.82
线性探针法	84.62	85.00	84.78	88.00	80.95

2.3.2 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对异烟肼的耐药性

基因芯片法、线性探针法与比例法检测 MTB 对异烟肼的耐药性结果比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),但一致性一般($Kappa$ 分别为 0.70、0.59)。见表 4。对异烟肼的耐药性检测,基因芯片法和线性探针法的灵敏度、特异度、符合率、阳性预测值、阴性预测值见表 5。

同时采用基因芯片法和线性探针法检测 46 株 MTB 对利福平、异烟肼的耐药性,两种方法分别检测出 40、39 株菌对两种药物的耐药结果。

2.3.1 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对利福平的耐药性

基因芯片法、线性探针法与比例法检测 MTB 对利福平的耐药性比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),具有较好一致性($Kappa$ 分别为 0.85、0.78)。见表 2。对利福平的耐药性检测,基因芯片法和线性探针法的灵敏度、特异度、符合率、阳性预测值、阴性预测值见表 3。

表 2 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对利福平的耐药结果
Table 2 Rifampicin resistance of MTB detected by gene chip method and linear probe method

方法	比例法(株)		P	Kappa	
	耐药	敏感			
基因芯片法	耐药	22	2	1.00	0.85
	敏感	1	15		
线性探针法	耐药	22	3	0.63	0.78
	敏感	1	13		

表 4 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对异烟肼的耐药结果

Table 4 Isoniazid resistance of MTB detected by gene chip method and linear probe method

方法	比例法(株)		P	Kappa	
	耐药	敏感			
基因芯片法	耐药	18	1	0.22	0.70
	敏感	5	16		
线性探针法	耐药	17	3	0.73	0.59
	敏感	5	14		

表 5 基因芯片法和线性探针法检测 MTB 对异烟肼耐药情况的诊断效能(%)

Table 5 Diagnostic efficacy of gene chip method and linear probe method in detecting isoniazid resistance of MTB(%)

方法	灵敏度	特异度	符合率	阳性预测值	阴性预测值
基因芯片法	69.23	95.00	80.43	94.74	70.37
线性探针法	65.38	85.00	73.91	85.00	65.38

3 讨论

临床实验室通常会对待疑似肺结核患者的痰标本进行涂片抗酸染色和传统培养,为临床诊断提供实验室的确诊数据;但痰涂片抗酸染色阳性率偏低,又无法鉴定是否为 MTB,也不能区分死菌与活菌,不足以满足临床需求^[14-15];传统培养法虽可以分离鉴定 MTB 并可进行药敏试验,但是检测时限过长,也不能满足临床诊疗及患者的需要^[16]。随着分子生物学的快速发展并在结核病的诊疗领域广泛应用,线性探针法和基因芯片法均很好地用于 MTB 耐药基因检测,原来至少需 4~8 周的时长,最快可缩短至 1 d,节约临床的诊断时间,也可防止 MDR-TB 的蔓延^[17-18]。

基因芯片法与线性探针法虽检测时长相差不大,但基因芯片法配有杂交仪、洗干仪及扫描仪等整套设备,自动化程度较高;而线性探针法仅配有杂交仪,杂交、洗涤及结果判读等实验步骤均需人工操作,人为影响因素较大,杂交时标本及探针试纸也暴露于空气中,容易造成交叉污染,但线性探针具有仪器设备投入成本低、试剂成本相对较低的优势。

本研究从检出 MTB 阳性率的角度分析了改良罗氏培养法、线性探针法及基因芯片法的优劣性。本研究中线性探针法 MTB 检出率为 50.00%,低于郭明日等^[19]报道的 58%;基因芯片法 MTB 检出率为 43.40%,高于吴国兰等^[20]报道的 32.5%,两种方法 MTB 检出率可能与患者所留痰标本的质量及保存条件有关。基因芯片法和改良罗氏培养法可直接鉴定出非结核分枝杆菌,而线性探针法不能鉴定出非结核分枝杆菌,因为线性探针法检测耐药基因试剂盒没有相关检测基因序列。线性探针法、基因芯片法对 MTB 的检出率与改良罗氏培养法比较,差异均无统计学意义,说明基因芯片法和线性探针法均可很好地应用于痰标本中 MTB 的鉴定。

以比例法药敏试验为金标准,采用基因芯片法和线性探针法检测痰标本中 MTB 利福平和异烟肼

耐药基因,基因芯片法对利福平和异烟肼的灵敏度为 84.62%、69.23%,特异度为 90.00%、95.00%,低于文献^[21-22]报道的结果,可能与地域差异或方法学的熟练度有关。线性探针法对利福平和异烟肼耐药基因检测的灵敏度为 84.62%和 65.38%,特异度均为 85.00%,均低于文献^[23-24]报道(用线性探针针对临床分离株进行检测),本研究采用线性探针法直接检测痰中 MTB 耐药基因。本研究采用线性探针法检测痰标本,效果不如直接对临床分离株检测耐药基因好,但可节省 2~4 周的时间^[25],可有效快速指导临床用药。对海南地区疑似肺结核患者的痰标本进行 MTB 的耐药基因检测,基因芯片法比线性探针法检测效果相对好,可能是线性探针法在杂交过程与结果判读均为人工,也可能是方法学或检测的耐药基因位点不同所致。

本研究检测痰标本 MTB 中利福平耐药基因,分别将两种耐药基因检测方法与比例法药敏试验比较,结果差异均无统计学意义,具有较高一致性,故两种耐药基因检测方法在检测 MTB 对利福平的耐药性中有较好稳定性。检测 MTB 对异烟肼的耐药性时,两种方法与比例法药敏试验比较,差异均无统计学意义,但一致性一般,结果与欧维正等^[11]研究有所不同,可能与地域差异或方法学的熟练度有关。

本研究也存在一些局限性:(1)由于成本问题,本研究标本数量相对不足,尤其是三种方法共同检测阳性标本相对较少,在耐药性评价中存在局限性;(2)两种耐药基因检测方法所检测耐药基因位点有所不同,故无法对其基因突变类型进一步比较分析。研究首次采用两种基因检测方法直接检测疑似肺结核痰标本中 MTB 及其相关耐药基因,比较全面、客观地评价这两种基因检测方法在本地区结核病诊断中应用价值,为临床实验室方法学选择及临床诊疗提供参考。

综上所述,基因芯片法和线性探针法均可在海南地区疑似肺结核痰标本中快速准确鉴定 MTB,也适用于结核分枝杆菌对利福平及异烟肼耐药性快速检测,值得临床推广。

[参 考 文 献]

- [1] Russell DG, Barry CE 3rd, Flynn JL. Tuberculosis: what we don't know can, and does, hurt us[J]. *Science*, 2010, 328(5980): 852-856.
- [2] 许怡, 张志, 田岳, 等. 河北省五市结核分枝杆菌耐药情况及耐药多药菌株对利奈唑胺的敏感性[J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(3): 191-195.
- [3] 秦楠, 栗东芳, 杨瑞馥. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用[J]. *微生物学报*, 2011, 51(4): 445-457.
- [4] 龚德华, 李艳红, 万燕萍, 等. 2013—2016 年湖南省耐药结核菌疫情特征[J]. *中国感染控制杂志*, 2017, 16(8): 708-713.
- [5] Feuerriegel S, Oberhauser B, George AG, et al. Sequence analysis for detection of firstline drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains from a high incidence setting[J]. *BMC Microbiol*, 2012, 12: 90.
- [6] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国卫生行业标准 肺结核诊断: WS 288—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [7] 付沛文, 李世宝, 李洪春, 等. Xpert MTB/RIF 试验快速诊断结核病的研究进展[J]. *中国感染控制杂志*, 2017, 16(8): 779-783.
- [8] 赵雁林, 王黎霞, 成诗明, 等. 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[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [9] 钟业腾, 林明冠, 林翀, 等. DNA 微阵列芯片法检测结核分枝杆菌耐药烟肼基因的研究[J]. *中国热带医学*, 2017, 17(3): 270-273.
- [10] Guo Y, Zhou Y, Wang C, et al. Rapid, accurate determination of multidrug resistance in *M. tuberculosis* isolates and sputum using a biochip system[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2009, 13(7): 914-920.
- [11] 欧维正, 厉宁, 蒙俊, 等. Hain 和基因芯片技术在结核分枝杆菌异烟肼耐药性检测中的应用评价[J]. *中国病原生物学杂志*, 2016, 11(12): 1062-1065.
- [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.
- [13] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [14] Wang S, Zang C, Xiao T, et al. Modeling cis-regulation with a compendium of genome-wide histone H3K27ac profiles[J]. *Genome Res*, 2016, 26(10): 1417-1429.
- [15] Gomez RL, Jose L, Ramachandran R, et al. The multiple stress responsive transcriptional regulator Rv3334 of *Mycobacterium tuberculosis* is an autorepressor and a positive regulator of kstR[J]. *FEBS J*, 2016, 283(16): 3056-3071.
- [16] Lin K, O'Brien KM, Trujillo C, et al. *Mycobacterium tuberculosis* thioredoxin reductase is essential for thiol redox homeostasis but plays a minor role in antioxidant defense[J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(6): e1005675.
- [17] Zhu L, Jiang G, Wang S, et al. Biochip system for rapid and accurate identification of mycobacterial species from isolates and sputum[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(10): 3654-3660.
- [18] 许榕青, 李丹, 林银霞, 等. 基因芯片技术检测结核分枝杆菌利福平和异烟肼耐药性临床应用评价[J]. *中国人兽共患病学报*, 2017, 33(1): 43-48.
- [19] 郭明日, 张丽霞. 非结核分枝杆菌病实验室诊断及药敏试验研究进展[J]. *淮海医药*, 2017, 35(2): 246-249.
- [20] 吴国兰, 陈晓红, 翁丽珍, 等. 基因芯片技术在鉴定分枝杆菌属及早期诊断耐药结核中的价值分析[J]. *中国医刊*, 2016, 51(5): 44-47.
- [21] 王丹吉, 刘巧, 卢鹏, 等. 基因芯片技术快速检测结核分枝杆菌耐药性的临床应用研究[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(11): 2047-2051.
- [22] 胡晓红, 向启云, 韩宇, 等. 基因芯片技术在宜昌地区结核分枝杆菌耐药情况监测中的应用[J]. *中国病原生物学杂志*, 2015, 10(4): 351-354.
- [23] 张海燕, 缪家文, 潘洪秋, 等. 应用线性探针杂交技术快速检测结核分枝杆菌的多药耐药性[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2017, 27(6): 539-541.
- [24] 辛宝林, 于秀坤, 刘金玲. 线性探针技术快速检测耐药结核分枝杆菌的应用评价[J]. *当代医学*, 2017, 23(13): 108-110.
- [25] Hoek KG, Van Rie A, van Helden PD, et al. Detecting drug-resistant tuberculosis: the importance of rapid testing[J]. *Mol Diagn Ther*, 2011, 15(4): 189-194.

(本文编辑: 豆清娅、左双燕)

本文引用格式: 钟业腾, 吕志辉, 林翀, 等. 基因芯片法与线性探针法对痰标本中结核分枝杆菌检测的应用价值[J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18(4): 283-288. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20194326.

Cite this article as: ZHONG Ye-teng, LV Zhi-hui, LIN Chong, et al. Application value of gene chip method and linear probe method in detecting *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens[J]. *Chin J Infect Control*, 2019, 18(4): 283-288. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20194326.