

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20234121

· 论 著 ·

荧光 PCR 熔解曲线法分析宜昌地区非结核分枝杆菌感染的流行特征

胡晓红¹, 韩宇¹, 庄倩¹, 李静¹, 刘洋¹, 江琦²

(1. 宜昌市第三人民医院检验科, 湖北宜昌 443000; 2. 武汉大学公共卫生学院, 湖北武汉 430061)

[摘要] **目的** 应用荧光 PCR 熔解曲线法分析宜昌地区非结核分枝杆菌 (NTM) 的感染趋势、分布特征、流行状况, 为该地区 NTM 感染的防治提供参考依据。 **方法** 收集 2016—2020 年间宜昌地区在某院就诊的疑似结核病患者的胸腔积液、腹腔积液、痰、支气管肺泡灌洗液标本, 经萋-尼抗酸染色涂片、MGIT 960 快速培养和改良罗氏培养检出的所有分枝杆菌阳性标本进一步经荧光 PCR 熔解曲线法鉴定结核分枝杆菌 (MTB) 及 NTM 菌种。以全基因组测序 (WGS) 为金标准, 对比分析荧光 PCR 熔解曲线法鉴定 MTB 及 NTM 的准确性, 总结该地区 NTM 感染患者的临床特征。 **结果** 共收集 7 496 份分枝杆菌阳性标本, 经荧光 PCR 熔解曲线法鉴定, 检出 6 997 株 (93.34%) MTB 与 499 株 (6.66%) NTM。NTM 菌种鉴定共确定 469 株 (93.99%) NTM 菌种, 其余 30 株 (6.01%) 为未知菌种。检出最多的 NTM 为胞内分枝杆菌 (189, 37.88%), 其次依次为脓肿分枝杆菌 (68 株, 13.63%)、戈登分枝杆菌 (25 株, 5.01%)。选择荧光 PCR 熔解曲线法鉴定的 22 株 MTB 和 18 株 NTM 行 WGS, 符合率为 98.15%, 灵敏度为 99.80%, 特异度为 93.54%。分析 NTM 流行特征发现, 该地区 NTM 检出率逐年升高, 自 2016 年的 3.56% 上升至 2020 年的 13.21%。NTM 阳性患者中, 男性占 57.52% (287/499), 52.30% 的患者 (261/499) 集中在 55~74 岁年龄段。 **结论** 宜昌地区 NTM 流行率呈快速增加趋势, 以脓肿、戈登、堪萨斯分枝杆菌为主, 荧光 PCR 熔解曲线法可有效快速辅助诊断。老年人 NTM 感染风险高, 临床上鉴别诊断 NTM 意义重大。

[关键词] 非结核分枝杆菌; 流行特征; 熔解曲线法

[中图分类号] R181.3⁺2 R378.91

Epidemic characteristics of non-tuberculous mycobacterial infection in Yichang area by fluorescence polymerase chain reaction melting curve method

HU Xiao-hong¹, HAN Yu¹, ZHUANG Qian¹, LI Jing¹, LIU Yang¹, JIANG Qi² (1. Department of Laboratory Medicine, The Third People's Hospital of Yichang, Yichang 443000, China; 2. School of Public Health, Wuhan University, Wuhan 430061, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the infection trend, distribution characteristics and epidemic status of non-tuberculous mycobacterial (NTM) infection in Yichang area by fluorescence polymerase chain reaction (PCR) melting curve method, providing reference for the prevention and treatment of NTM infection in this area. **Methods** Pleural effusion, peritoneal effusion, sputum and bronchoalveolar lavage fluid from patients with suspected tuberculosis in a hospital in Yichang area from 2016 to 2020 were collected. All *Mycobacterium* positive specimens detected by Ziehl-Neelsen acid-fast staining smear, MGIT 960 rapid culture and modified Loewenstein-Jenson medium culture were further identified *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and NTM by fluorescence PCR melting curve method. With whole genome sequencing (WGS) as the gold standard, the accuracy of fluorescence PCR melting curve method in identifying MTB and NTM was compared and analyzed, and clinical characteristics of NTM infected patients in Yichang area were summarized. **Results** A total of 7 496 *Mycobacterium* positive specimens were collected. After identified by fluorescence PCR melting curve method, 6 997 (93.34%) MTB strains and 499 (6.66%) NTM

[收稿日期] 2023-02-17

[基金项目] 湖北省宜昌市医疗卫生研究项目 (A22-2-076)

[作者简介] 胡晓红 (1980-), 女 (汉族), 湖北省宜昌市人, 副主任技师, 主要从事感染性疾病分子诊断研究。

[通信作者] 江琦 E-mail: jiang.qi@whu.edu.cn

strains were detected. A total of 469 (93.99%) NTM strains were identified, while the remaining 30 (6.01%) strains were unknown strains. The most commonly detected NTM was *Mycobacterium intracellulare* ($n=189$, 37.88%), followed by *Mycobacterium abscessus* ($n=68$, 13.63%) and *Mycobacterium gordonae* ($n=25$, 5.01%). 22 MTB strains and 18 NTM strains identified by fluorescence PCR melting curve method were selected to perform WGS, and the coincidence rate, sensitivity, and specificity were 98.15%, 99.80%, and 93.54%, respectively. The epidemic characteristics of NTM showed that the detection rate of NTM in this area has been increasing year by year, from 3.56% in 2016 to 13.21% in 2020. Among NTM positive patients, 57.52% (287/499) were male, 52.30% (261/499) of the patients were aged 55–74 years old. **Conclusion** The prevalence of NTM in Yichang area presents a rapid increasing trend, with *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium gordonae* and *Mycobacterium kansasii* as the main pathogens. Fluorescence PCR melting curve method can effectively and quickly assist in diagnosis. The risk of NTM infection in elderly people is high, and differential diagnosis is of great significance in clinical practice.

[**Key words**] non-tuberculous mycobacterium; epidemic characteristic; melting curve method

非结核分枝杆菌(non-tuberculous mycobacterium, NTM)是指除结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)复合群(MTB、牛分枝杆菌等)及麻风分枝杆菌以外的一类分枝杆菌。NTM 致病性及传染性都不及 MTB,因此,很长一段时间都未引起临床及科研工作者的关注。随着社会老龄化,后天免疫系统疾病如获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者,以及先天免疫功能缺陷人群的增加,NTM 感染患者逐年增加,临床症状也呈现出多样性,如肺部脓肿,皮肤软组织感染、淋巴结炎等^[1-3]。NTM 与 MTB 感染的临床症状及影像学表现高度相似,且 NTM 对大多数抗结核药物天然耐药^[4-6],给临床诊治工作带来极大困难。快速准确地诊断 NTM 感染,对临床医生规范化、针对性地用药和治疗具有重要意义。

目前实验室鉴定分枝杆菌的主要方法有分离培养鉴定法(PNB 法)、DNA 测序及 PCR 反向点杂交法。荧光 PCR 熔解曲线法鉴定分枝杆菌是根据分枝杆菌 18sRNA-23sRNA 基因内转录间隔区(ITS)片段的特异序列设计探针,采用特定的荧光通道和熔点进行分枝杆菌的鉴定,能同时鉴定出包括 MTB 复合群在内的 19 种分枝杆菌,整个试验过程仅需 5~6 h。目前,已有荧光 PCR 熔解曲线法用于 MTB 的鉴定和利福平、异烟肼的耐药检测,利福平耐药检测灵敏度为 100%,特异度为 97.10%,异烟肼耐药检测灵敏度为 76.00%,特异度为 99.19%^[7-8]。本文利用多色荧光 PCR 熔解曲线法鉴定分枝杆菌菌种,以全基因组测序(WGS)为金标准分析其准确性,同时总结宜昌地区 NTM 感染的临床特征。

1 资料与方法

1.1 标本来源及资料收集 收集宜昌市某结核病

定点治疗医院有结核病疑似症状患者的临床标本,包括胸腔积液、腹腔积液、痰、支气管肺泡灌洗液标本,采用抗酸染色、改良罗氏培养管及 MGIT 960 系统进行分枝杆菌培养鉴定,所有阳性标本采用荧光 PCR 熔解曲线法鉴别 NTM 至菌种。收集 2016 年 1 月 1 日—2020 年 12 月 31 日期间该院门诊及住院疑似结核患者的临床检测数据,分析 NTM 感染情况,同时收集 NTM 感染患者临床资料,包括性别、年龄、初治复治、合并其他疾病等信息,分析其特征。

1.2 磁珠法提取核酸 痰、支气管肺泡灌洗液、胸腔积液、腹腔积液等标本离心吸取沉淀,加入 2 倍体积消化液,消化 15 min 至标本完全液化后吸取 1 mL 转移至 1.5 mL EP 管中。快速培养标本直接吸取培养液 1 mL 加入 1.5 mL EP 管中,12 000 r/min 离心 5 min,弃上清,重悬于 300 μ L 裂解液中。改良罗氏培养基上生长的分枝杆菌用 22SWG 标准接种环收集细菌一环,重悬于 300 μ L 裂解液中。99 $^{\circ}$ C 加热 10 min 后静置。将灭活好的标本加入提取试剂条样本孔,安装好磁棒,打开 Lab-Aid 824s 核酸提取仪,运行结核核酸提取程序“MTB-Maxi-Fast”获取纯化的 DNA,转移至干净 EP 管备用。

1.3 荧光 PCR 熔解曲线法鉴定分枝杆菌至菌种 分枝杆菌鉴定试剂盒(荧光 PCR 熔解曲线法)购自厦门致善生物科技股份有限公司,反应体系及 PCR 扩增程序严格按照说明书操作。扩增仪使用全自动医用 PCR 分析系统 Slan-96S real-time PCR system(上海宏石医疗科技有限公司)。反应完成后,用仪器自带分析软件 MeltPro Manager version 1.0(致善科技有限公司)对扩增及熔解曲线进行比对分析。

根据不同分枝杆菌 ITS 片段的特异序列设计探针^[9],采用特定的荧光通道和熔点鉴定分枝杆菌,同时在扩增体系中加入外源性内控模板(拟南芥管

家基因 *suc2*) 进行质量控制。

1.4 WGS 分析 部分培养阳性的分枝杆菌经 80℃ 30 min 水浴灭活后,利用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)提取法提取菌株 DNA,根据 WGS 建库试剂盒说明书,建立 DNA 双端测序文库,在 Illumina HiSeq 2500 平台上进行 WGS。测序下机数据上传至 SAM-TB 平台 (<https://samtb.szmbzx.com/>) 分析,鉴定菌种,并与荧光 PCR 熔解曲线法鉴定结果对比。

1.5 临床肺结核病及 NTM 肺病的入组标准 肺结核符合中华医学会发布的《肺结核基层诊疗指南(2018 年)》^[10] 标准。NTM 肺病诊断符合《非结核分枝杆菌病诊断与治疗指南(2020 年版)》^[11] 诊断标准,经分枝杆菌培养及菌种鉴定后,结合患者临床表现、实验室和病理检查结果,并在排除其他病因的情况下进行诊断。所有病例均排除临床资料不全、并发严重精神疾病及认知功能障碍、住院期间因其他系统疾病导致病情恶化或死亡者。

1.6 统计分析方法 应用 Excel 2016 软件整理试验数据及患者信息,SPSS 24.0 软件对 NTM 感染者的信息进行描述性分析。采用非参数检验分析不同特征患者感染的 NTM 菌种的分布特征,卡方检验比较感染 MTB 与 NTM 患者特征。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本检测情况 2016—2020 年,共 7 496 份疑似结核患者的临床标本分枝杆菌培养阳性,进一步进行 NTM 鉴别,共检出 6 997 株 MTB 与 499 株 NTM,NTM 总检出率为 6.66%。

研究期间,NTM 检出率逐年上升,从 2016 年的 3.56% (54/1 516) 上升至 2020 年的 13.21% (123/931),见表 1。Cochran-Armitage 趋势检验提示上升趋势显著 ($Z = 8.267, P < 0.001$)。2020 年标本数大幅下降,可能与新型冠状病毒疫情期间患者就诊减少有关。

2.2 NTM 菌种鉴定结果 利用荧光 PCR 熔解曲线法对以上 499 株初步鉴定为 NTM 菌株进行菌种鉴定,共鉴定出 469 株(93.99%) 常见 NTM 菌种,30 株(6.01%) 报告为其他未知 NTM 菌种,超出该方法检测范围。胞内、脓肿分枝杆菌是该地区最流行的 NTM 菌种,分别占 NTM 标本中的 37.88% (189 株)、13.63% (68 株),其余常见 NTM 菌种依

表 1 2016—2020 年宜昌地区分枝杆菌检出情况

Table 1 Detection results of *Mycobacterium* in Yichang area from 2016 to 2020

年份	MTB	NTM	合计	NTM 检出率(%)
2016	1 462	54	1 516	3.56
2017	1 534	69	1 603	4.30
2018	1 481	97	1 578	6.15
2019	1 712	156	1 868	8.35
2020	808	123	931	13.21
合计	6 997	499	7 496	6.66

次为戈登(25 株,5.01%)、偶然(24 株,4.81%)、堪萨斯(16 株,3.21%)、鸟(9 株,1.80%)、缓黄(7 株,1.40%)、龟(6 株,1.20%)、瘰疬(3 株,0.60%)、耻垢分枝杆菌(2 株,0.40%)、土、海、蟾蜍、苏加、马尔摩、猿分枝杆菌均为 1 株(各占 0.20%)。

2.3 WGS 验证荧光 PCR 熔解曲线法鉴定分枝杆菌效能 选择荧光 PCR 熔解曲线法鉴定的 MTB 菌株 22 株及 NTM 菌株 18 株行 WGS,以验证两种方法鉴定分枝杆菌菌种符合情况。结果显示,两种方法鉴别 MTB 与 NTM 的符合率为 98.15%,灵敏度为 99.80%,特异度为 93.45%。其中,WGS 检测 18 株 NTM 菌种包括 9 株脓肿分枝杆菌、3 株鸟分枝杆菌复合群、3 株堪萨斯分枝杆菌、1 株偶然分枝杆菌、1 株马尔摩分枝杆菌、1 株未知菌种,与荧光 PCR 熔解曲线法检测结果基本一致。

2.4 MTB 与 NTM 感染患者特征比较 对诊断的 6 997 例 MTB 感染患者及 499 例 NTM 感染患者的临床资料进行对比分析,发现宜昌地区 MTB 和 NTM 感染患者中,男性比例均高于女性 ($P < 0.001$)。对患者人群进行年龄分层,MTB 与 NTM 感染患者均主要集中在 65~74 岁年龄组,其次为 55~64 岁及 75~ 岁年龄组。分析患者年龄趋势发现,随年龄增大,MTB 和 NTM 的感染风险也增大,各年龄组间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。NTM 感染患者中,52.30% (261/499) 的患者集中在 55~74 岁年龄段。比较 MTB 和 NTM 感染患者初治和复治比例发现,MTB 感染患者中 80.64% (5 633 例) 为初治,19.36% (1 352 例) 为复治;而 NTM 患者 66.53% (332 例) 为初治,33.47% (167 例) 为复治。此外,NTM 肺病合并疾病中支气管扩张最多(56 例,11.22%),其次为慢性阻塞性肺疾病(21 例,4.21%)、恶性肿瘤(6 例,1.20%) 和 AIDS(2 例,0.40%)。见表 2。

表 2 MTB 与 NTM 感染患者特征比较[例, (%)]

Table 2 Comparison of characteristics between MTB and NTM infected patients (No. of cases [%])

特征	MTB 感染组 (n = 6 997)	NTM 感染组 (n = 499)	χ^2	P	特征	MTB 感染组 (n = 6 997)	NTM 感染组 (n = 499)	χ^2	P
性别			49.792	<0.001	MTB 感染患者			57.383	<0.001
男	5 059(72.30)	287(57.52)			初治	5 643(80.65)	332(66.53)		
女	1 938(27.70)	212(42.48)			复治	1 354(19.35)	167(33.47)		
年龄(岁)			18.597	0.002	合并症			2.906	0.397
<35	839(11.99)	51(10.22)			支气管扩张	123(1.76)	56(11.22)		
35~44	469(6.70)	29(5.81)			慢性阻塞性肺 疾病	68(0.97)	21(4.21)		
45~54	1 157(16.54)	89(17.84)			恶性肿瘤	23(0.33)	6(1.20)		
55~64	1 210(17.29)	120(24.05)			AIDS	8(0.11)	2(0.40)		
65~74	2 084(29.78)	141(28.26)							
75~	1 238(17.69)	69(13.83)							

3 讨论

NTM 肺病患者数量在全球范围内呈不断上升趋势,其发病率在发达国家已超过肺结核,在发展中国家亦呈明显上升趋势。发展中国家及落后国家因总体检测能力有限而对其了解不足^[12],我国也缺乏流行病学大样本或全人群的研究^[13-14]。根据某些省市的分析研究,NTM 病在我国呈地域化分布,发病率南方高于北方,特别是广东沿海地区,发病率远高于西北地区;感染的菌种也呈地域化分布,南方多见胞内、堪萨斯、脓肿、溃疡、海分枝杆菌,北方多见胞内、鸟、脓肿等 NTM 菌种^[15-16]。宜昌处于长江中下游温带季风气候地区,四季分明,夏季潮湿闷热,冬季干旱少雨,水资源丰富,为某些 NTM 菌(胞内、脓肿)提供了适宜的生长环境。近年来,随着分子生物学技术的发展,NTM 菌种的鉴定在各地级市开展,本文采用荧光 PCR 熔解曲线法鉴定分枝杆菌菌种,以 WGS 为金标准,比较两种方法检测 NTM 菌种的符合率,分析荧光 PCR 熔解曲线法的灵敏度及特异度,并对该地区 MTB 及 NTM 菌种的临床感染特征进行分析。

针对我国 NTM 疾病的流行情况,Liu 等^[17]的研究显示,在分枝杆菌培养标本中,我国 NTM 分离率为 6.4%(317/4 917);也有研究^[18]表明,我国结核病可疑症状者中 NTM 分离率由 2004—2009 年的 1.6% 上升至 2012—2017 年的 3.13%;2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查^[19]则报告 NTM 分离率为 22.9%(83/363),远高于临床实验室的相关报道。宜昌地区 NTM 的分离率自 2016 年的 3.56%

(54/1 516) 上升至 2020 年的 13.21%(123/931),虽然低于 2010 年报道的 22.9%,但也呈明显的上升趋势,公共卫生预防部门及临床医生在诊治分枝杆菌感染性疾病时应高度关注。

目前,我国针对 NTM 的早期、快速诊断尚没有敏感且特异的标准化诊断程序^[20]。随着分子生物学技术的发展,NTM 肺病的实验室检测技术也进一步发展,目前市面上的检测产品包括 PCR 熔解曲线法检测试剂盒、PCR 荧光探针法检测试剂盒、微阵列基因芯片试剂盒、质谱法及 16srRNA 测序技术,各种检测方法的效能比较已有研究^[21-22]。本研究结果显示,荧光 PCR 熔解曲线法作为最新的分子诊断手段,检测成本及所需时间远低于基因测序技术(成本昂贵、检测时间约 3 d,需专业技术人员),灵敏度、特异度均 >93%,值得临床推广应用。

本研究中,NTM 肺病出现在各个年龄段,以 55~74 岁年龄段老年人群占比最高(52.30%,261/499),与大部分研究^[23-24]结果一致。本地区 MTB 和 NTM 感染患者的男女性别比例比较,差异有统计学意义(P<0.001)。不论是 MTB 还是 NTM,男性感染者均高于女性,尤其是 MTB,男性感染者远高于女性,其原因是否与男性吸烟、不健康的生活方式,以及社会压力等因素有关,还需进一步研究。

NTM 肺病常发生于有慢性肺部疾病,如结核病、慢性阻塞性肺疾病、肺囊性纤维化等患者,以及免疫功能受损,如 AIDS、恶性肿瘤和实体器官移植等患者^[2]。本研究显示,NTM 合并症中支气管扩张症最多见,该类患者由于气道受阻及结构异常,导致环境及空气中 NTM 长期滞留于肺部而诱发

NTM 肺病; 肿瘤及 AIDS 患者自身免疫功能低下, 也是 NTM 致病的重要原因之一。NTM 患者复治比率为 33.47%, 提示 NTM 治疗迁延不愈易复发, 与 NTM 生物学特征及耐药性有关, 后期也将继续追踪患者治疗转归及药敏情况。

综上所述, 肺部有支气管扩张改变, 特别是合并肺气肿且长期进行治疗的免疫功能低下的老年患者, 当抗酸染色阳性时, 需高度怀疑 NTM 感染。我国一项多中心研究^[25]表明, 胞内分枝杆菌是东部地区检出的主要 NTM 菌种, 脓肿分枝杆菌在南部地区检出率高。本研究显示, 宜昌地区检出的 NTM 以胞内分枝杆菌最多 (37.88%), 其次是脓肿分枝杆菌 (13.63%), 其余依次为戈登 (5.01%)、偶然 (4.81%)、堪萨斯 (3.21%), 与上海、广州不同^[16,26]。该地区的 NTM 分布特点可为宜昌市 NTM 的流行趋势研究提供参考, 但未对检出的 NTM 进行药敏试验, 缺乏随访和转归数据以评价患者的治疗效果, 具有一定局限性, 后期应考虑在既往研究的基础上进一步完善药敏试验和随访结果分析。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] Sharma SK, Upadhyay V. Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases[J]. Indian J Med Res, 2020, 152(3): 185 - 226.

[2] Pavlik I, Ulmann V, Hubelova D, et al. Nontuberculous *Mycobacteria* as saprozoites; a review[J]. Microorganisms, 2022, 10(7): 1345.

[3] Mencarini J, Cresci C, Simonetti MT, et al. Non-tuberculous *Mycobacteria*; epidemiological pattern in a reference laboratory and risk factors associated with pulmonary disease[J]. Epidemiol Infect, 2017, 145(3): 515 - 522.

[4] Maya TG, Komba EV, Mensah GI, et al. Drug susceptibility profiles and factors associated with non-tuberculous *Mycobacteria* species circulating among patients diagnosed with pulmonary tuberculosis in Tanzania[J]. PLoS One, 2022, 17(3): e0265358.

[5] 周亚娣, 金法祥. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定非结核分枝杆菌及药敏试验分析[J]. 中华全科医学, 2022, 20(9): 1548 - 1550.

Zhou YD, Jin FX. Identification of nontuberculous *Mycobacteria* by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and analysis of drug-sensitivity test [J]. Chinese Journal of General Practice, 2022, 20(9): 1548 - 1550.

[6] 朱春玲, 魏素梅, 侯远沛, 等. 徐州市 92 株非结核分枝杆菌

菌种鉴定及药敏结果分析[J]. 实验与检验医学, 2021, 39(2): 278 - 280.

Zhu CL, Wei SM, Hou YP, et al. Analysis of species identification and drug sensitivity results of 92 strains of nontuberculous *Mycobacteria* in Xuzhou[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2021, 39(2): 278 - 280.

- [7] 徐丽霞, 雷永良, 吴燕飞, 等. 荧光 PCR 熔解曲线法检测结核分枝杆菌耐药性价值及耐药特征分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(11): 1318 - 1321.
- Xu LX, Lei YL, Wu YF, et al. Value of fluorescence PCR fusion curve method in detection of *Mycobacterium tuberculosis* and analysis of its drug resistance and characteristics[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2022, 32(11): 1318 - 1321.
- [8] 刘春平, 谭耀驹, 苏碧仪, 等. 荧光 PCR 探针熔解曲线法检测结核分枝杆菌对利福平、异烟肼、喹诺酮及卡那霉素耐药性的评价[J]. 广东医学, 2021, 42(4): 377 - 381.
- Liu CP, Tan YJ, Su BY, et al. The value of fluorescent PCR probe melting curve analysis in detection of *Mycobacterium tuberculosis* for rifampicin, isoniazid, fluoroquinolone and kanamycin resistance[J]. Guangdong Medical Journal, 2021, 42(4): 377 - 381.
- [9] Xu Y, Liang B, Du C, et al. Rapid identification of clinically relevant *Mycobacterium* species by multicolor melting curve analysis[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(1): e01096 - 18.
- [10] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 肺结核基层诊疗指南(2018 年)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(8): 709 - 717.
- Chinese Medical Association, Journal of Chinese Medical Association, General Practice Branch of Chinese Medical Association, et al. Guideline for primary care of pulmonary tuberculosis (2018) [J]. Chinese Journal of General Practitioners, 2019, 18(8): 709 - 717.
- [11] 刘盛盛, 唐神结. 《非结核分枝杆菌病诊断与治疗指南(2020 年版)》解读[J]. 结核与肺部疾病杂志, 2021, 2(2): 108 - 115.
- Liu SS, Tang SJ. Interpretation of the guidelines for diagnosis and treatment of non-tuberculous *Mycobacteria* disease (2020 edition)[J]. Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2021, 2(2): 108 - 115.
- [12] Chin KL, Sarmiento ME, Alvarez-Cabrera N, et al. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections: current state and future management[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39(5): 799 - 826.
- [13] Zhou L, Xu D, Liu HC, et al. Trends in the prevalence and antibiotic resistance of non-tuberculous *Mycobacteria* in Mainland China, 2000 - 2019: systematic review and Meta-analysis [J]. Front Public Health, 2020, 8: 295.
- [14] 聂琦, 周勇, 陈华, 等. 非结核分枝杆菌病流行病学研究进展 [J]. 中华临床感染病杂志, 2020, 13(5): 394 - 400.
- Nie Q, Zhou Y, Chen H, et al. Progress in epidemiological studies on non-tuberculous mycobacterial disease[J]. Chinese Journal of Clinical Infectious Diseases, 2020, 13(5): 394 - 400.

- [15] Ma Q, Chen RD, Yang EH, et al. Non-tuberculous mycobacterial infection of the musculoskeletal system detected at two tertiary medical centres in Henan, China, 2016 – 2020[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 791918.
- [16] 雷杰, 吴玲, 王楠, 等. 广州地区 552 株非结核分枝杆菌感染患者流行病学分析[J]. *现代医院*, 2021, 21(8): 1245 – 1247, 1251.
Lei J, Wu L, Wang N, et al. Epidemiological analysis of 552 patients infected with non-tuberculous *Mycobacteria* in Guangzhou[J]. *Modern Hospitals*, 2021, 21(8): 1245 – 1247, 1251.
- [17] Liu CF, Song YM, He WC, et al. Nontuberculous *Mycobacteria* in China: incidence and antimicrobial resistance spectrum from a nationwide survey[J]. *Infect Dis Poverty*, 2021, 10(1): 59.
- [18] Xu D, Han C, Wang MS, et al. Increasing prevalence of non-tuberculous mycobacterial infection from 2004 – 2009 to 2012 – 2017: a laboratory-based surveillance in China[J]. *J Infect*, 2018, 76(4): 422 – 424.
- [19] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J]. *中国防痨杂志*, 2012, 34(8): 485 – 508.
Technical Guidance Group of the Fifth National TB Epidemiological Survey, The Office of the Fifth National TB Epidemiological Survey. The fifth national tuberculosis epidemiological survey in 2010[J]. *Chinese Journal of Antituberculosis*, 2012, 34(8): 485 – 508.
- [20] 李文彬, 胡培磊, 陈忠南, 等. 湖南省 525 株非结核分枝杆菌临床分离株的菌种鉴定与流行特征[J]. *中国人兽共患病学报*, 2022, 38(5): 417 – 422.
Li WB, Hu PL, Chen ZN, et al. Identification and epidemiological characteristics of 525 strains of nontuberculous *Mycobacteria* isolated from a Hunan clinic[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2022, 38(5): 417 – 422.
- [21] 易俊莉, 杨新宇, 张洁, 等. 三种检测技术鉴别结核分枝杆菌复合群与非结核分枝杆菌的效能评价[J]. *结核与肺部疾病杂志*, 2020, 1(4): 240 – 244.
Yi JL, Yang XY, Zhang J, et al. Application evaluation of three methods for identification between *Mycobacterium tuberculosis* complex and non-tuberculous *Mycobacteria*[J]. *Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2020, 1(4): 240 – 244.
- [22] 吴祥兵, 吴联朋, 项领, 等. DNA 微阵列芯片与质谱技术快速鉴定非结核分枝杆菌的差异性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(1): 16 – 20.
Wu XB, Wu LP, Xiang L, et al. Difference in rapid identification of nontuberculous *Mycobacteria* between DNA microarray chip and MALDI-TOF MS[J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2022, 32(1): 16 – 20.
- [23] Sun Q, Yan J, Liao XL, et al. Trends and species diversity of non-tuberculous *Mycobacteria* isolated from respiratory samples in Northern China, 2014 – 2021[J]. *Front Public Health*, 2022, 10: 923968.
- [24] Huang JJ, Li YX, Zhao Y, et al. Prevalence of nontuberculous *Mycobacteria* in a tertiary hospital in Beijing, China, January 2013 to December 2018[J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1): 158.
- [25] Pang Y, Tan YJ, Chen J, et al. Diversity of nontuberculous mycobacteria in eastern and southern China: a cross-sectional study[J]. *Eur Respir J*, 2017, 49(3): 1601429.
- [26] 彭荣, 龚倩, 杨馨怡. 上海市青浦区非结核分枝杆菌肺病的临床特征及菌种分布分析[J]. *检验医学与临床*, 2022, 19(9): 1247 – 1249.
Peng R, Gong Q, Yang XY. Clinical characteristics and strain distribution of non-tuberculous *Mycobacterium* lung disease in Qingpu District, Shanghai[J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2022, 19(9): 1247 – 1249.

(本文编辑: 翟若南)

本文引用格式: 胡晓红, 韩宇, 庄倩, 等. 荧光 PCR 熔解曲线法分析宜昌地区非结核分枝杆菌感染的流行特征[J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(8): 939 – 944. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20234121.

Cite this article as: HU Xiao-hong, HAN Yu, ZHUANG Qian, et al. Epidemic characteristics of non-tuberculous mycobacterial infection in Yichang area by fluorescence polymerase chain reaction melting curve method[J]. *Chin J Infect Control*, 2023, 22(8): 939 – 944. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20234121.