DOI:10.12138/j.issn.1671－9638.20262972

·论著·

荧光 PCR-熔解曲线法检测结核分枝杆菌复合群对异烟肼、氟喹诺酮类药物耐药性的检测性能评价

万小洁,郭婧玮,王 珏,段 洁,钟 彪,刘彬彬
[湖南省结核病防治所(湖南省胸科医院)检验科,湖南 长沙 410013]

[摘 要] **目的** 评估一种新的荧光 PCR-熔解曲线法(简称“熔解曲线法”)检测结核分枝杆菌复合群(MTBC)对异烟肼(INH)和氟喹诺酮类药物(FQS)耐药性的应用价值。**方法** 前瞻性收集 2024 年 4—10 月湖南省胸科医院肺结核住院患者痰标本,依据纳入和排除标准,共筛选出 231 例病原学阳性的结核病患者标本,对其进行 Sanger 测序、BACTEC MGIT 960 (简称“MGIT 960”)液体培养和表型药敏试验,同时采用熔解曲线法检测 INH、FQS 相关耐药基因突变,排除 28 份熔解曲线结果阴性的标本,最终纳入 203 份 MTBC 阳性标本。分别以 Sanger 测序和表型药敏结果为参考标准,计算熔解曲线法检测 INH 和 FQS 耐药性的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值,分析两者一致性(*kappa* 检验)。**结果** 以 Sanger 测序为参考标准,熔解曲线法检测 MTBC 对 INH、FQS 耐药性的灵敏度分别为 97.92%(95%*CI*:89.11%～99.63%)、100%(95%*CI*:88.97%～100%),特异度分别为 100%(95%*CI*:97.47%～100%)、100%(95%*CI*:97.72%～100%),两者一致性高(*kappa* 值分别为 0.986、1.000)。以表型药敏试验为参考标准,熔解曲线法检测 MTBC 对 INH、FQS 耐药性的灵敏度分别为 96.67%(95%*CI*:83.33%～99.41%)、94.44%(95%*CI*:74.24%～99.01%),特异度分别为 98.55%(95%*CI*:92.24%～99.74%)、97.53%(95%*CI*:91.44%～99.32%),两者一致性高(*kappa* 值分别为 0.952、0.900)。**结论** 熔解曲线法对 INH、FQS 耐药突变检测具有较高的灵敏度和特异度,对耐药结核病早期、快速诊断具有重要价值。

[关 键 词] 熔解曲线法;痰液;结核分枝杆菌复合群;耐药;异烟肼;氟喹诺酮类药物
[中图分类号] R446.9

Evaluation of the detection performance of fluorescent PCR-melting curve method in detecting the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex to isoniazid and fluoroquinolones

WAN Xiaojie, GUO Jingwei, WANG Jue, DUAN Jie, ZHONG Biao, LIU Binbin (Department of Laboratory Medicine, Hunan Institute for Tuberculosis Control [Hunan Chest Hospital], Changsha 410013, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the application value of a novel fluorescent polymerase chain reaction (PCR)-melting curve method (referred to as “melting curve method”) in detecting the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) to isoniazid (INH) and fluoroquinolones (FQS). **Methods** Sputum specimens from hospitalized patients with pulmonary tuberculosis in Hunan Chest Hospital from April to October 2024 were collected prospectively. According to inclusion and exclusion criteria, 231 pathogenic positive specimens from tuberculosis patients were selected for Sanger sequencing, BACTEC MGIT 960 (referred to as “MGIT 960”) liquid culture and phenotypic drug susceptibility testing, INH and FQS resistance-related gene mutations were detected with melting curve method, 28 specimens with negative melting curve results were excluded. A total of 203 MTBC-positive

[收稿日期] 2025－09－12
[基金项目] 湖南省卫生健康高层次人才重大科研项目(R2023098)
[作者简介] 万小洁(1981－),女(汉族),湖南省岳阳市人,主管技师,主要从事病原微生物检测及耐药研究。
[通信作者] 刘彬彬 E-mail:253034937@qq.com

specimens were finally included in the analysis. Sanger sequencing and phenotype drug susceptibility results were taken as reference standards, respectively, the sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of the melting curve method for detecting INH and FQS resistance were calculated, consistency of the two was analyzed (*kappa* test). **Results** Taking Sanger sequencing as a reference standard, the sensitivity of the melting curve method in detecting MTBC resistance to INH and FQS was 97.92% (95%*CI*: 89.11% - 99.63%) and 100% (95%*CI*: 88.97% - 100%), respectively, the specificity was 100% (95%*CI*: 97.47% - 100%) and 100% (95%*CI*: 97.72% - 100%), respectively. The two methods showed high consistency (*kappa* values were 0.986 and 1.000, respectively). Taking phenotype drug susceptibility testing as a reference standard, the sensitivity of the melting curve method in detecting MTBC resistance to INH and FQS was 96.67% (95%*CI*: 83.33% - 99.41%) and 94.44% (95%*CI*: 74.24% - 99.01%), respectively, the specificity was 98.55% (95%*CI*: 92.24% - 99.74%) and 97.53% (95%*CI*: 91.44% - 99.32%), respectively. The two methods showed high consistency (*kappa* values were 0.952 and 0.900, respectively). **Conclusion** The melting curve method has high sensitivity and specificity in detecting INH and FQS drug-resistant mutations, which is of great value for the early and rapid diagnosis of drug-resistant tuberculosis.

[**Key words**] melting curve method; sputum; *Mycobacterium tuberculosis* complex; drug resistance; isoniazid; fluoroquinolones

随着广泛耐药结核分枝杆菌(XDR-MTB)的出现,耐药结核病已成为全球健康问题,这使得世界卫生组织(WHO)结核病控制计划的实施受到限制[1]。耐药结核病的控制以早期诊断为基础,2021 年 WHO 建议对所有结核病患者进行利福平(RFP)和异烟肼(INH)耐药检测,同时对耐多药结核病/利福平耐药结核病(MDR/RR-TB)患者进行氟喹诺酮类药物(FQS)耐药检测[2]。中国耐药结核病疫情亦不容乐观,2023 年新发 MDR/RR-TB 患者约 2.9 万例,居全球第 4 位;另外经细菌学确诊的肺结核患者中,89%接受 RFP 耐药性检测,而 RFP 耐药的肺结核患者同时接受 FQS 敏感性检测的占比仅为 34%[3]。众所周知,传统的表型药敏是 WHO 推荐的检测耐药结核的金标准[4],但操作复杂,检测周期长达 1～2 个月,且生物安全性要求高,因此以核酸扩增为基础的分子诊断技术,因其快速及高灵敏度被大力推广。近十余年来,随着 Xpert MTB/RIF 技术的普及,RFP 耐药筛查率已得到了显著提高,尽管 Xpert MTB/XDR 目前已经可以检测除利福平以外的其他抗结核药物(如 INH、FQS 等)的耐药性,但该技术尚未在我国推广和应用[5],并且由于其需要价格高昂的进口设备和高成本的配套试剂,使该技术不适合在结核病高负担地区进行大规模筛查。“熔解曲线法”作为国内自主研发的新型检测技术,在检测成本、操作便捷性以及覆盖可及性方面均较 Xpert 技术更具优势[6]。

本研究所评价的分子耐药诊断技术,基于熔解曲线法,使用全自动核酸检测分析仪搭配卡盒,在 2 h 内即可完成标本的核酸提取、扩增和检测。因此本研究通过评估该技术对 INH 和 FQS 耐药性的快速检测性能,旨在快速精准识别传染源,缩短耐药结核病的诊断时间,实现“早发现、早隔离”。对整个公共卫生体系而言,当局部区域暴发疫情时,通过该技术进行大面积筛查,快速获得耐药谱数据,可指导公共卫生部门更精准地开展流行病学调查和接触者追踪,实现“关口前移”,从被动应对转为主动出击。

1 对象与方法

1.1 研究对象 前瞻性选取 2024 年 4—10 月湖南省胸科医院收治的 435 例入院诊断为肺结核的患者为研究对象,收集其痰标本,最终通过已上市的分子诊断技术、痰培养和痰涂片检测筛选入组病原学阳性的结核病患者 231 例,对入组的标本进行分装,分别进行 Sanger 测序、熔解曲线法、MGIT 960 液体培养及表型药敏的检测,其中 28 例熔解曲线检测结果为阴性,最终纳入 203 例患者的结核分枝杆菌复合群(MTBC)阳性标本分析。其中男性 155 例(占 76.35%),女性 48 例(占 23.65%),年龄 16～85 岁,平均年龄(54.57±16.26)岁。

1.2 检测方法

1.2.1 Sanger 测序 将痰标本灭活,再进行核酸提取。将提取的 DNA 样本送至杨凌天润奥科生物科技有限公司进行 Sanger 测序。

1.2.2 结核分枝杆菌培养、菌种鉴定和表型药敏试验 严格按照《结核病实验室检验规程》[7]进行

BACTEC MGIT 960 液体培养，阳性培养物通过萋-尼抗酸染色进行确认，并进一步用胶体金 MPT 64 抗原检测和对硝基苯甲酸（PNB）鉴别培养基进行鉴定，对鉴定为 MTBC 阳性的培养物采用结核分枝杆菌药敏板（特锐科）进行 INH 及氧氟沙星（OFX）、莫西沙星（MFX）两种 FQS 的药敏试验。

1.2.3　熔解曲线法耐药基因检测　使用鲲鹏科学仪器有限公司生产的结核分枝杆菌 INH 和 FQS 耐药基因检测试剂盒，以及配套的 iFIND S 8 全自动核酸检测分析仪对痰标本进行检测，严格按照试剂说明书进行操作。具体步骤：在痰标本中加入 2 倍体积的标本处理液，盖紧后涡旋振荡 1 min 左右使标本均质化，室温放置 15～30 min，待标本完全液化。取 2 mL 液化标本缓慢加入试剂卡盒的标本孔内，放置到检测模块，仪器开始自动化检测。

1.3　质量控制　所有试验操作人员均接受严格培训后方可进行试验操作。实验室参加国家结核病参比实验室组织的药敏试验熟练度测试和分子能力验证，成绩均合格。MGIT 960 液体培养、药敏试验室内质控均合格，熔解曲线法设有内标质控和探针质控、阳性质控品和阴性质控品，结果均合格。

1.4　统计学方法　使用 R 语言（Version 4.3.1）进行数据统计分析。计数资料用例数（率）描述，分别以表型药敏结果和基因测序结果为参考标准，分析熔解曲线法检测 INH、FQS 的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值，并进行 *kappa* 一致性检验（*kappa* 值≥0.75，两者一致性高；0.4≤*kappa*＜0.75，一致性中等；*kappa* 值＜0.40，一致性差），以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2　结果

2.1　一般情况　共入组 231 例病原学阳性的结核病患者，28 例熔解曲线检测结果为阴性，最终纳入 203 份 MTBC 阳性标本分析。其中 Sanger 测序过程中有 7 份扩增失败，最终获得 196 份测序结果。203 份标本经结核分枝杆菌 MGIT 960 液体培养，获得阳性菌株 144 株，选取 99 株阳性株完成 INH、OFX、MFX 表型药敏试验。

2.2　熔解曲线法对结核分枝杆菌 INH 耐药性检测性能评价　以 Sanger 测序为参考标准：熔解曲线法检测 INH 耐药的灵敏度为 97.92%（95% *CI*：89.11%～99.63%），特异度为 100%（95% *CI*：97.47%～100%），对熔解曲线法与 Sanger 测序法行一致性分析，显示 *kappa* 值为 0.986（$P<0.05$）。以表型药敏为参考标准：熔解曲线法检测 INH 耐药的灵敏度为 96.67%（95% *CI*：83.33%～99.41%），特异度为 98.55%（95% *CI*：92.24%～99.74%），经一致性分析显示熔解曲线法与表型药敏法的 *kappa* 值为 0.952（$P<0.05$）。见表 1、2。

表 1　熔解曲线法检测 MTBC 对 INH、FQS 耐药试验评价（份）

Table 1　Evaluation of melting curve method for detecting MTBC resistance to INH and FQS (No. of specimens)

熔解曲线法	Sanger 测序		合计	表型药敏		合计
	耐药（+）	敏感（-）		耐药（+）	敏感（-）	
INH 耐药检测						
耐药（+）	47	0	47	29	1	30
敏感（-）	1	148	149	1	68	69
合计	48	148	196	30	69	99
FQS 耐药检测						
耐药（+）	31	0	31	17	2	19
敏感（-）	0	165	165	1	79	80
合计	31	165	196	18	81	99

2.3　熔解曲线法对结核分枝杆菌 FQS 耐药性检测性能评价　以 Sanger 测序为参考标准：熔解曲线法检测结果与测序结果一致，灵敏度为 100%（95% *CI*：88.97%～100%），特异度为 100%（95% *CI*：97.72%～100%），对熔解曲线法与 Sanger 测序法行一致性分析，显示 *kappa* 值为 1.000（$P<0.05$）。以表型药敏为参考标准：其检测 FQS 的灵敏度为 94.44%（95% *CI*：74.24%～99.01%），特异度为 97.53%（95% *CI*：91.44%～99.32%），经一致性分析显示熔解曲线法与表型药敏法的 *kappa* 值

为 0.900($P<0.05$)。见表 1、2。

表 2　熔解曲线法检测 MTBC 对 INH、FQS 耐药的诊断性能评价

Table 2　Evaluation of diagnostic performance of melting curve method for detecting MTBC resistance to INH and FQS

检测方法	灵敏度(95%*CI*,%)	特异度(95%*CI*,%)	阳性预测值(95%*CI*,%)	阴性预测值(95%*CI*,%)	*kappa*	*P*
INH 耐药检测						
Sanger 测序(金标准)	97.92(89.11～99.63)	100(97.47～100)	100(92.44～100)	99.33(96.30～99.88)	0.986	<0.001
表型药敏(金标准)	96.67(83.33～99.41)	98.55(92.24～99.74)	96.67(83.33～99.41)	98.55(92.24～99.74)	0.952	<0.001
FQS 耐药检测						
Sanger 测序(金标准)	100(88.97～100)	100(97.72～100)	100(88.97～100)	100(97.72～100)	1.000	<0.001
表型药敏(金标准)	94.44(74.24～99.01)	97.53(91.44～99.32)	89.47(68.60～97.06)	98.75(93.25～99.78)	0.900	<0.001

2.4　Sanger 测序突变类型统计　经 Sanger 测序结果为 INH 耐药的 48 份标本中,*Kat*G 基因编码区第 315 位密码子由丝氨酸突变为苏氨酸(*kat*G S315T)的发生率最高,占 72.92%,其次为 *inh*A 启动子区第 15 位碱基由胞嘧啶变为胸腺嘧啶(*inh*A C-15T),占比 14.58%,其突变类型统计结果见表 3。

Sanger 测序结果为 FQS 耐药的 31 份标本中,*gyr*A 基因编码区第 94 位密码子由天冬氨酸突变为甘氨酸 (*gyr*A D94G)发生率最高,占 58.06%,具体突变类型统计结果见表 4。

表 3　48 份 INH 耐药标本的基因测序结果

Table 3　Gene sequencing results of 48 INH-resistant specimens

突变类型	份数	构成比(%)
*kat*G S315T	35	72.92
*inh*A C-15T	7	14.58
*inh*A C-15T + *kat*G S315T	4	8.34
*inh*A T-8C	1	2.08
*inh*A T-8C + *kat*G S315T	1	2.08
合计	48	100

表 4　31 份 FQS 耐药标本的基因测序结果

Table 4　Gene sequencing results of 31 FQS-resistant specimens

突变类型	份数	构成比(%)
*gyr*A D94G	18	58.06
*gyr*A D94Y	4	12.90
*gyr*A A90V	3	9.68
*gyr*A A90V + *gyr*A D94G	3	9.68
*gyr*A S91P	2	6.45
*gyr*A D94N	1	3.23
合计	31	100

2.5　熔解曲线法与 Sanger 测序、表型药敏试验结果不一致的情况统计　INH 耐药性检测,熔解曲线法与表型药敏法结果不一致 2 份,熔解曲线法与测序结果不一致 1 份。FQS 耐药性检测,熔解曲线法与表型药敏法结果不一致共 3 份。见表 5。

表 5　熔解曲线法与 Sanger 测序、表型药敏试验检测结果不一致的标本统计

Table 5　Statistics of specimens with inconsistent detection results by melting curve method and Sanger sequencing as well as phenotypic drug susceptibility testing

标本序号	熔解曲线法	表型药敏	测序	
INH 耐药性检测			INH-*inh*A	INH-*kat*G
1	耐药	敏感	无突变	*kat*G S315T 突变
2	敏感	耐药	无突变	无突变
3	敏感	敏感	*Inh*A C-15T 突变	无突变
FQS 耐药性检测			FQS-*gyr*A	
4	耐药	敏感	*gyr*A D94Y 突变	
5	耐药	敏感	*gyr*A D94Y 突变	
6	敏感	耐药	无突变	

3　讨论

缺乏快速诊断是耐药结核病出现和迅速蔓延的一个重要因素。近年来,随着分子检测技术的发展和结核分枝杆菌耐药机制研究的深入,更多的结核分枝杆菌耐药相关基因的分子检测方法被广泛推广和应用。2021 年 WHO 发布《关于更新使用结核分枝杆菌及其耐药性核酸扩增检测技术的建议》,建议

根据操作复杂程度将此类技术分为低、中、高 3 个级别，Xpert MTB/XDR 技术因操作简单、检测耗时短被归类为低复杂程度自动化核酸扩增技术[8]。本研究所评价的技术是基于荧光 PCR 扩增技术的熔解曲线法，具备与 Xpert MTB/XDR 技术同样的优点，是目前快速检测结核分枝杆菌耐药性的新型分子生物学方法之一[9-10]。该技术是我国自主研发，成本效益高，弥补了 Xpert MTB/RIF 目前在我国只能检测单一药物的不足，且检测试剂不会因报关或运输等原因出现供应不及时等问题，具有一定优势。另外，目前国内对于熔解曲线法同时检测 INH 和 FQS 耐药突变的相关研究较少，具备一定创新性。

基因测序被认为是核酸序列分析的“金标准”[11]，而表型药敏试验是目前覆盖面最广的传统药敏方法，也是公认的耐药结核病诊断金标准。因此本研究将 Sanger 测序和表型药敏分别作为参考标准，对实验结果进行分析。结果显示，以 Sanger 测序为参考标准，熔解曲线法检测 INH、FQS 耐药的灵敏度和特异度均在 94%以上，而且 *kappa* 值分别为 0.986、1.000，一致性较高。此外，以传统表型药敏为参考标准，熔解曲线法检测 INH、FQS 耐药的灵敏度和特异度均在 95%以上，*kappa* 值分别为 0.952、0.900，一致性良好，与文献[12-13]研究结果基本一致。以上结果均提示，熔解曲线法检测 INH 和 FQS 耐药的灵敏度较高，可尽早发现和诊断 INH 和 FQS 耐药结核病。

现有研究结果表明，75%～90%的 INH 耐药与 *katG* 或 *inhA* 启动子区域的突变有关[14-15]，*katG* 315 和 *inhA* 15 是最常见的突变密码子[16]。MTBC 对 FQS 耐药的主要机制为 *gyrA* 基因突变，且主要集中在 *gyrA* 基因的 90、91、94 位点，以 94 位点突变最多见[17]。对照以上结果，本研究所检测到的突变类型涵盖了 INH 和 FQS 耐药检测靶核酸区域内的常见突变，提示该技术设计可满足预期用途。另外，湖南省的调研数据结果显示，2021 年全省 14 个市州中仅 6 所结核病定点医疗机构开展了类似熔解曲线法的耐药检测技术，至 2024 年已应用于 11 个市州 14 所结核病定点医疗机构，覆盖省、市、县三级，运行稳定，有能力下沉到基层医疗机构。

本研究显示，该技术与表型药敏试验、测序检测结果存在不一致的情况。导致熔解曲线法与表型药敏检测结果不一致的原因是多方面的，主要原因有：(1)异质性耐药。即标本中可能同时存在敏感菌和耐药菌混合。研究表明，表型药敏试验(如比例法)，对结核分枝杆菌异质性耐药检测能力较高，当标本中耐药菌比率为 1%即可检出[18]，而耐药菌比例低于分子耐药检测技术灵敏度时，就会判定为敏感菌[19]。(2)熔解曲线荧光探针设计的局限性。无法覆盖全部耐药相关的突变位点[20]。(3)临床试验中存在痰标本中结核分枝杆菌本身活力不足或由于培养时间过长导致老化、生长力不够的现象，从而导致耐药菌在药敏培养基上未生长，表型药敏显示敏感，而熔解曲线法检测为耐药。熔解曲线法与测序结果不一致的主要原因可能在于两者对于基因突变位点检测灵敏度存在差异。

本研究仍存在一定的局限性，一方面是表型药敏试验未对所有 FQS 进行药敏试验，只选择代表性药物 OFX 和 MFX；另一方面本研究仅选取患者痰标本，未分析支气管肺泡灌洗液、胸腔积液、脓液等其他类型标本；另外本研究只选取部分阳性培养物进行表型药敏试验。

综上所述，荧光 PCR 的熔解曲线技术可直接通过痰标本在 2 h 内快速检测结核分枝杆菌一线药 INH 和二线药 FQS 耐药基因突变，同时该技术实现了标本核酸提取和检测的一体化设计，具备灵敏度高、操作简便、检测周期短、成本较低的优势。本研究首次较全面地评估熔解曲线法检测 INH 和 FQS 耐药的诊断性能，具有一定的参考意义。随着该技术的深入研究和试剂盒的优化，未来有望在基层推广，结合表型药敏助力耐药结核病诊疗。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] 杜晶辉，黄自坤，刘旻，等. 液体培养基硝酸还原酶试验快速检测临床常用抗结核药物最小抑菌浓度和临界浓度效果评价[J]. 检验医学，2022，37(6)：568－576.
Du JH，Huang ZK，Liu M，et al. Rapid determination of minimum inhibitory concentration and cut-off concentration of *Mycobacterium tuberculosis* by nitrate reductase assay using liquid medium[J]. Laboratory Medicine，2022，37(6)：568－576.

[2] WHO. WHO consolidated guidelines on tuberculosis：module 3：diagnosis：rapid diagnostics for tuberculosis detection，2021 update[EB/OL]. (2021－07－07)[2025－07－25]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240029415.

[3] WHO. Global tuberculosis report 2024[EB/OL]. (2024－10－29)[2025－07－25]. https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024.

[4] WHO. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuber-

culosis treatment[EB/OL]. (2019-03-20)[2025-07-25]. https://www.who.int/publications/i/item/9789241550529.

[5] Cao Y, Parmar H, Gaur RL, et al. Xpert MTB/XDR: a 10-color reflex assay suitable for point-of-care settings to detect isoniazid, fluoroquinolone, and second-line-injectable-drug resistance directly from *Mycobacterium tuberculosis*-positive sputum[J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(3): e02314-20.

[6] 秦万，王明栋，欧维正，等. 荧光 PCR 熔解曲线法在耐多药结核病诊治中的应用及分析[J]. 安徽医学，2024，45(2)：163-167.
Qin W, Wang MD, Ou WZ, et al. Application and analysis of fluorescence PCR melting curve in the diagnosis and treatment of multidrug-resistant tuberculosis[J]. Anhui Medical Journal, 2024, 45(2): 163-167.

[7] 赵雁林，逄宇. 结核病实验室检验规程[M]. 北京：人民卫生出版社，2015.
Zhao YL, Feng Y. Tuberculosis laboratory testing manual [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015.

[8] WHO. Update on the use of nucleic acid amplification tests to detect TB and drug-resistant TB: rapid communication[EB/OL]. (2021-02-16)[2025-07-26]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240020269.

[9] 李爱芳，崔晓利，康磊，等. 荧光 PCR 探针熔解曲线法检测结核分枝杆菌耐药性的价值[J]. 中国防痨杂志，2020，42(9)：998-1002.
Li AF, Cui XL, Kang L, et al. Value of fluorescence PCR probe melting curve method in detecting resistance of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2020, 42(9): 998-1002.

[10] 吴慧娜，孙付胜，刘清文，等. 荧光 PCR 探针熔解曲线法检测结核分枝杆菌复合群对利福平和异烟肼耐药性的价值[J]. 中国防痨杂志，2019，41(1)：74-79.
Wu HN, Sun FS, Liu QW, et al. The value of fluorescent PCR probe melting curve analysis in detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex for rifampicin and isoniazid resistance [J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2019, 41(1): 74-79.

[11] 熊艳蕾，王雷明，刘莉，等. 荧光聚合酶链反应-毛细管电泳法与 Sanger 测序法检测胶质瘤中端粒酶反转录酶基因启动子突变状态对比分析[J]. 北京医学，2022，44(3)：245-248.
Xiong YL, Wang LM, Liu L, et al. Comparative analysis of telomerase reverse transcriptase gene promoter mutation in glioma between fluorescence polymerase chain reaction-capillary electrophoresis and Sanger sequencing[J]. Beijing Medical Journal, 2022, 44(3): 245-248.

[12] 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.

[13] 胡琴琴，张金花，宋克玉，等. 荧光 PCR 熔解曲线法检测结核分枝杆菌对利福平和异烟肼耐药性的价值[J]. 中国人兽共患病学报，2022，38(12)：1057-1062.
Hu QQ, Zhang JH, Song KY, et al. The value of the fluorescence PCR melting curve method in detecting the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to rifampicin and isoniazid[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2022, 38(12): 1057-1062.

[14] Roshdi Maleki M. Genetic analysis of molecular mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* against four major first-line anti-tuberculosis drugs (isoniazid, rifampin, ethambutol, and pyrazinamide)[J]. Infect Drug Resist, 2025, 18: 4901-4915.

[15] 陈昕昶，陈嘉臻，张文宏. 抗结核药物及其耐药相关突变位点的研究进展[J]. 微生物与感染，2019，14(2)：106-112.
Chen XC, Chen JZ, Zhang WH. Advances in research on anti-tuberculosis drugs and resistance-related mutations[J]. Journal of Microbes and Infections, 2019, 14(2): 106-112.

[16] 田丽，周伟，黄星，等. 中国异烟肼耐药结核分枝杆菌基因突变特征分析[J]. 中国防痨杂志，2022，44(4)：354-361.
Tian L, Zhou W, Huang X, et al. Analysis of gene mutation characteristics of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2022, 44 (4): 354-361.

[17] 张海晴，陈效友，周冬青，等. 结核分枝杆菌 *gyr*A 基因突变与氟喹诺酮类药物体外最低抑菌浓度的关系[J]. 实用临床医药杂志，2021，25(14)：4-8，14.
Zhang HQ, Chen XY, Zhou DQ, et al. Relationship between *gyr*A gene mutation in *Mycobacterium tuberculosis* and the minimum inhibitory concentration of fluoroquinolones *in vitro* [J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2021, 25(14): 4-8, 14.

[18] Tu CX, Su BY, Xiong YF, et al. Identification and quantification of *gyr*A variants in fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in a MeltArray reaction[J]. J Clin Microbiol, 2025, 63(7): e0014625.

[19] 高旭，李静，柳清云，等. 异质性耐药对结核分枝杆菌表型和基因型耐药检测结果的影响[J]. 中华结核和呼吸杂志，2014，37(4)：260-265.
Gao X, Li J, Liu QY, et al. Heteroresistance in *Mycobacteria tuberculosis* is an important factor for the inconsistency between the results of phenotype and genotype drug susceptibility tests[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2014, 37(4): 260-265.

[20] Chen ZH, Hu PL, Guo JW, et al. Discrepancies in isoniazid susceptibility profiles: bactec MGIT 960-resistant but genotype MTBDR plus-susceptible *Mycobacterium tuberculosis* strains in Hunan, China[J]. Microbiol Spectr, 2025, 13(11): e0110125.

（本文编辑：左双燕）

本文引用格式：万小洁，郭婧玮，王珏，等. 荧光 PCR-熔解曲线法检测结核分枝杆菌复合群对异烟肼、氟喹诺酮类药物耐药性的检测性能评价[J]. 中国感染控制杂志，2026，25(5)：738-743. DOI：10.12138/j.issn.1671-9638.20262972.

Cite this article as: WAN Xiaojie, GUO Jingwei, WANG Jue, et al. Evaluation of the detection performance of fluorescent PCR-melting curve method in detecting the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex to isoniazid and fluoroquinolones[J]. Chin J Infect Control, 2026, 25(5): 738-743. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20262972.