

基础研究

分子线性探针技术在检测脊柱标本中结核分枝杆菌及其耐药性中的应用价值

兰汀隆,董伟杰,范俊,李元,唐恺,严广璇,王恒,秦世炳

(首都医科大学附属北京胸科医院 北京结核病胸部肿瘤研究所骨科 101149 北京市)

【摘要】目的:评估分子线性探针技术(HAIN)应用于检测脊柱标本中的结核分枝杆菌(MTB)及其耐药性的临床价值。**方法:**回顾性分析首都医科大学附属北京胸科医院骨科 2015 年 6 月~2016 年 12 月收治的脊柱感染的患者 235 例,其中男 132 例,女 103 例,年龄 1~84 岁,平均 42.8±18.1 岁,根据伽马干扰素释放试验、标本普通细菌培养和真菌培养结果进行分组,脊柱结核(结核组)219 例,脊柱感染其他细菌或真菌(非结核组)16 例,通过穿刺或手术获取脓液或组织标本(含肉芽组织、干酪样坏死物和骨质),然后在 2h 内采用 HAIN 技术和联合培养法对相同标本进行 MTB 检测,并进行抗结核药物的敏感性试验。比较两种方法检测 MTB 的敏感度和特异度,以及检测利福平耐药、异烟肼耐药和耐多药的敏感度和特异度。**结果:**HAIN 和联合培养法检测 MTB 结果为阳性的分别有 120 例和 104 例。HAIN 和联合培养法检测 MTB 的敏感度分别为 54.8%和 47.5%,特异度均为 100%。HAIN 在 MTB 培养阳性标本和培养阴性标本中的阳性率分别为 63.5%、47.0%,两组的阳性率的差异有统计学意义($\chi^2=6.006, P<0.05$)。HAIN 检测利福平耐药、异烟肼耐药和耐多药的敏感度分别为 87.5%、66.7%和 85.7%,特异度分别为 94.8%、86.0%和 93.2%,一致性检验 Kappa 值分别为 0.743($P<0.001$)、0.427($P<0.001$)和 0.664($P<0.001$)。**结论:**HAIN 在检测脊柱结核中的结核分枝杆菌及其利福平耐药和异烟肼耐药中展现出了高敏感度和特异度的技术特点,具有良好的临床应用前景。

【关键词】脊柱结核;分子线性探针技术;药敏试验;耐药性

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2020.06.11

中图分类号:R378.91 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2020)-06-0552-06

The value of linear probe assay (HAIN) for the diagnosis of M. tuberculosis and the detection of rifampin and isoniazid resistance in spinal tuberculosis/LAN Tinglong, DONG Weijie, FAN Jun, et al// Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2020, 30(6): 552-557

【Abstract】 Objectives: To evaluate the value of Hain GenoType MTBDR plus(HAIN) for the diagnosis of M. tuberculosis and the detection of rifampin(RIF) and isoniazid(INH) resistance in spinal tuberculosis. **Methods:** 235 hospitalized patients with spinal infection were enrolled, including 132 males and 103 females, aged from 1 to 84 years with an average age of 42.8±18.1 years, selected from the Orthopedic Department of Beijing Chest Hospital affiliated to Capital Medical University from June 2015 to December 2016. According to the results of interferon gamma release test, common bacterial culture and fungal culture, all patients were divided into two groups. One was tuberculous group including 219 cases with spinal tuberculosis and the other group was non-tuberculous group including 16 cases with spinal infection with non-tuberculous bacterium or fungus. All patients' specimens were collected using needle puncture or surgery and sent for the detection of MTB using HAIN and co-culture within 2 hours. The co-culture was to carry out BACTEC MGIT 960 system culture and modified Roche medium culture at the same time. As long as one method of culture was to be positive, co-culture was to be identified as positive. Then the culture positive strains were to be performed for drug sensitivity test (DST). The sensitivity and specificity of HAIN for detection of MTB was to be

基金项目:北京市科技计划课题(编号:D141107005214002)

第一作者简介:男(1980-),副主任医师,硕士研究生,研究方向:脊柱和关节感染

电话:(010)89509318 E-mail:lt_dy@163.com

通讯作者:秦世炳 E-mail:qinsb@sina.com

compared with co-culture. The sensitivity and specificity of detection of RIF resistance and INH resistance and multiple drug-resistance (MDR, both RIF and INH resistance) were to be compared between HAIN and DST. The consistency of HAIN test results was evaluated according to the results of DST. **Results:** The positive detection of MTB was found in 120 cases and 104 cases using HAIN and co-culture, respectively. The sensitivity of detection of MTB was 54.8% and 47.5% without a significant difference ($\chi^2=2.339, P=0.126$), respectively. The specificity using HAIN and co-culture were both 100%. The positive rate of detection of MTB was 63.5% and 47.0%, respectively, in culture positive specimens and culture negative specimens using HAIN, with a significant difference ($\chi^2=6.006, P<0.05$). Compared with the DST, the sensitivity and specificity of detection of RIF resistance, INH resistance and MDR was 87.5% and 94.8% (Kappa=0.743, $P<0.001$), 66.7% and 86.0% (Kappa=0.472, $P<0.001$), 85.7% and 93.2% (Kappa=0.664, $P<0.001$), respectively, using HAIN. **Conclusions:** The HAIN, which is an accurate tool for the detection of MTB and its RIF resistance and INH resistance, has a good application prospect in spinal tuberculosis.

【Key words】 Mycobacterium tuberculosis; Spine; Drug sensitivity testing; Drug resistance; Linear probe assay

【Author's address】 Department of Orthopaedics, Beijing Chest Hospital, Capital Medicine University, Beijing Tuberculosis and thoracic Tumor Research Institute, Beijing, 101149, China

脊柱结核是一种常见的肺外结核, 约占全部骨关节结核的 50%^[1], 占全部结核病的 3%~5%^[2]。耐药药结核病(multiple drug-resistant tuberculosis, MDR TB)指患者感染的结核分枝杆菌在体外被证实对异烟肼和利福平平均耐药^[3]。随着 MDR TB 的流行和传播, 脊柱结核的治疗及预后受到了极大挑战。MDR TB 的检出率低, 疗程长, 平均治疗成功率仅 48%^[4], 而且医药费用是治疗非耐药结核病的 100 倍左右, 给个人、家庭及社会均造成巨大的经济压力。所以早期诊断脊柱结核, 早期鉴定是否存在结核药耐药就显得极其重要。目前结核病的诊断金标准是结核分枝杆菌(*M. tuberculosis*, MTB)培养, 其检测耗时长, 一般需要 1~2 个月, 应用于脊柱结核时阳性率低^[5], 患者常常因此延误诊疗, 导致脊柱出现后凸畸形, 严重时甚至出现截瘫。同时, 脊柱结核病变深埋体内, 获取病变组织标本困难, 且难以多次重复检测, 更增加了脊柱结核的诊断难度。因此, 临床上迫切需要一种快速而准确的检测技术来帮助确诊脊柱结核, 让患者能早期使用敏感的抗结核药物治疗, 提高治疗的成功率, 改善患者的预后。

近十余年出现的分子生物学快速诊断技术使得耐药结核病的快速、准确诊断成为可能。分子线性探针技术(Hain GenoType MTBDR plus, HAIN)是一种基于多位点 DNA 杂交技术的方法, 可快速、直接、特异地检测 MTB, 同时检测该菌株的耐药相关基因 *rpoB*、*katG* 及 *inhA* 位点的常见突变, 推测其对利福平(rifampin, RIF)和异烟肼(isoniazid, INH)耐药性。HAIN 技术已经让许多的

肺结核得到了快速、准确的诊治^[6-8], 但应用于脊柱结核的诊断的研究仍然比较少。本研究拟对临床上收治脊柱感染的患者采集组织标本, 采用 HAIN 技术进行 MTB 及其耐药相关基因 *rpoB*、*katG* 及 *inhA* 位点的突变检测^[9,10], 并与传统的培养法和药物敏感性试验相比较, 探讨 HAIN 技术的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

首都医科大学附属北京胸科医院骨科 2015 年 6 月~2016 年 12 月收治的诊断脊柱感染的住院患者 235 例, 其中男性 132 例, 女性 103 例, 年龄 1~84 岁, 平均 42.8±18.1 岁, 均通过穿刺获取脓液标本或手术获取脓液或组织标本(含肉芽组织、干酪样坏死物和骨质), 在 2h 内采用 HAIN 技术和联合培养法(同时进行 BACTEC MGIT960 系统培养和改良罗氏培养基培养, 只要其中有一种方法培养阳性, 即认定培养阳性)对同一试管标本进行 MTB 的检测。

将所有病例分为两组:(1)结核组(219 例), 伽马干扰素释放试验阳性, 标本普通细菌培养和真菌培养阴性, 抗结核治疗 6 个月以上证实抗结核治疗疗效确切的;(2)非结核组(16 例), 伽马干扰素释放试验阴性, 普通细菌培养阳性或真菌培养阳性, 且根据抗生素药敏试验选用一种或两种抗生素联合治疗 1.5~5 个月获得治愈的。研究 HAIN 技术和联合培养法的检测脊柱结核病灶标本中的结核分枝杆菌的敏感度(sensitivity)、特异

度(specificity)。联合培养法检测阳性后再进行药敏试验,比较 HAIN 技术与药敏试验在 RIF 耐药、INH 耐药和 MDR 等的差异,并作一致性评价。

1.2 样本处理

所有的标本相关具体操作步骤参照《结核病诊断细菌学检验规程》^[11]。由于标本由脓液和组织标本(包含干酪样物、肉芽组织和骨质)等一种或多种不同类型的材质组成,为避免不同大小颗粒对实验的过程造成干扰,从而影响诊断准确性,本研究所有的组织标本均先进行处理,然后使用同一份标本进行 HAIN 技术和培养法检测。标本按照世界卫生组织(WHO)指导指南^[12]进行推荐的 NALC/NaOH 方法进行标本处理,然后将 5 颗玻璃珠放入标本管中,再将管对称的放入微型研磨器(美国 MP Biomedicals 公司)中,3000r/min 旋转 15min。研磨后取下标本试管,在 II 级安全柜中将标本(细胞团块)均匀混合悬浮于无菌磷酸盐缓冲液中备用。

1.3 结核分枝杆菌的检测

1.3.1 BACTEC MGIT 960 系统培养法 是美国 BD 公司研发的液体培养基全自动结核分枝杆菌快速鉴定系统。采用灵敏的连续荧光探测技术直接测定伴随分枝杆菌生长所引起的 O₂ 浓度变化以监测培养管内分枝杆菌生长状态。该方法每 60min 连续测定培养管内荧光强度,报告阳性结果一般需要 10~15d,报告阴性结果则需 42d。如果仪器报告阳性,则取沉淀物涂片做抗酸染色,若抗酸染色涂片阳性,则判读为结核分枝杆菌生长阳性。本方法操作步骤及其结果判读按照 BACTEC MGIT960 系统的标准流程进行。

1.3.2 改良罗氏培养基培养法 接种到改良罗氏固体培养基中培养,根据烟酸产生试验和菌落形状的观察,鉴定区别是结核分枝杆菌还是非结核分枝杆菌,但是结核分枝杆菌的生长速度非常缓慢,而且烟酸分析也需要相当数量的菌落,所以报告培养阳性结果一般需要 4~6 周的时间,报告阴性结果则需要 8 周^[13]。

1.3.3 HAIN 技术 首先取 500 μ l 标本悬浮液,在 II 级安全柜中用台式离心机,气溶胶密封的转子 10000g 离心 15min,其次去除上清液并用 100~300 μ l 蒸馏水中重新悬浮标本,置于 95 $^{\circ}$ C 蒸馏水中灭活 20min 后,在超声波水浴中超声裂解 15min,再全速离心 5min,再用移液管 5 μ l 上清液

行 PCR 对 DNA 进行扩增,在实验槽内先后杂交缓冲液、严格漂洗液和变性溶液等对 DNA 进行杂交,放入试纸条,之后漂洗晾干对试纸条进行判读。按试剂盒说明进行判读,其试条包括 5 个对照区:1 个结合对照区(检查结合物在试纸条上的结合和正确的显色反应)、1 个扩增对照区(检查扩增反应是否成功)、3 个基因座对照区(rpoB、katG 和 inhA)。将试条与试剂盒提供的模板的 3 个区域即标记物质控区(conjugate control,CC)、扩增质控区(amplification control,AC)和结核分枝杆菌复合群条带区(M. tuberculosis complex,TUB)校对,确定是否可以判读,是否存在 MTB,是否存在 rpoB、katG、inhA 等基因突变,可在 24~48h 得到结果^[14]。rpoB 基因突变即意味着 RIF 耐药,无突变则意味着 RIF 敏感;katG 和 inhA 基因只要其中之一发生突变,即意味着 INH 耐药,两者均无突变则意味着 INH 敏感。

1.4 药敏试验

采用改良罗氏绝对浓度间接法进行 RIF 和 INH 的敏感性试验。目前 WHO 已经推荐的固体培养基一线和二线抗结核药物敏感性试验方法所需的药物临界浓度^[15],但需要 4 周才能报告结果。

1.5 统计学方法

使用 SPSS 17.0 统计学软件分析数据,分别计算各检测试验的敏感度和特异度:(1)计数资料率的比较采用 χ^2 检验,数据不满足检验条件时采用 Fisher 确切概率法;(2)一致性检验采用 Kappa 法;(3)结果末位数采用四舍五入原则;(4)检验水准取 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 MTB 检测结果

HAIN 和联合培养法的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 95%的置信区间如表 1 所示。HAIN 与联合培养法在敏感度上的差异无统计学意义($\chi^2=2.339,P=0.126$)。HAIN 在联合培养阳性病例和阴性病例中的阳性率分别为 63.5%、47.0%,两组的阳性率的差异有统计学意义($\chi^2=6.006,P<0.05$)。

2.2 耐药性检测结果

药敏试验检测出 INH 或 RIF 耐药病例 12 例,其中单独 RIF 耐药 2 例,单独 INH 耐药 3 例,MDR 7 例。HAIN 检测出 INH 或 RIF 耐药 27 例;

其中 RIF 耐药 17 例, 占 14.2%, INH 耐药 23 例, 占 19.3% (23/120), 两者之间阳性率的差异无统计学意义 ($\chi^2=19.080, P=0.299$); 其中单独 RIF 耐药 4 例, 单独 INH 耐药 10 例, MDR 13 例。以药敏试验为参照, HAIN 检测利福平耐药、异烟肼耐药和耐多药的敏感度分别为 87.5%、66.7% 和 85.7%, 特异度分别为 94.8%、86.0% 和 93.2%, 一致性检验 Kappa 值分别为 0.743 ($P<0.001$)、0.427 ($P<0.001$) 和 0.664 ($P<0.001$, 表 2)。

3 讨论

中国 1/3 的新发结核病例和 1/2 的复治结核病例存在耐药情况, 其中在新发结核病例中 MDR-TB 所占的比率为 5.7%, 是世界中位数的 3 倍和平均数的 2 倍, 而在复治结核病例中 MDR-TB 所占的比例更是高达 25.6%^[16]。传统的 MTB 培

养检测耗时长, 脊柱结核患者可能会因此而耽误最佳的治疗时期, 造成治疗的延误和病情的加重。线性探针技术 HAIN 能鉴定标本中是否含有结核分枝杆菌的 DNA, 同时检测出利福平和异烟肼相关耐药基因是否存在变异, 最快可以在 7h 内获得结果。

Safianowska 等^[6]应用 HAIN 对 161 例临床分离菌株进行结核分枝杆菌鉴定, 阳性率为 100%。Crudu 等^[7]应用 HAIN 对 348 份肺结核痰标本进行结核分枝杆菌鉴定, 总的敏感度和特异度分别为 87.6% 和 99.2%; 其中 257 份痰抗酸涂片阴性的标本的敏感度和特异度分别为 79.8% 和 99.2%; 以结核分枝杆菌培养为参照, 对 RIF 耐药和 INH 耐药的敏感度分别为 94.3% 和 96%。Trombert-Paolantoni 等^[8]应用 PCR 鉴定结核分枝杆菌, 检测 50 例肺结核和 7 例肺外结核抗酸涂片阳性标本的敏感度均为 100%, 检测 37 份肺结核和 56 例肺外结核抗酸涂片阴性标本的敏感度分别为 78.7% 和 51.8%。Bansal 等^[17]对 11 例眼玻璃体标本用 HAIN 检测出 6 份结核分枝杆菌阳性, 阳性率约为 54.5%, 并发现其中 3 例 RIF 耐药。本研究中, 应用 HAIN 鉴定结核分枝杆菌的敏感度约为 54.8%, 特异度为 100%, 敏感度虽高于联合培养法, 但两者之间的差异没有统计学意义 ($\chi^2=2.339, P=0.126$), 可能需进一步扩大样本量进行研究。这与 Trombert-Paolantoni 等^[8]应用 PCR 检测抗酸涂片阴性的肺外结核标本的 51.8% 的敏感度和 Bansal 等^[17]检测眼玻璃体标本的 54.5% 的阳性率相近, 远远低于 Safianowska 等^[6]、Crudu 等^[7]、Trombert-Paolantoni 等^[8]应用 HAIN 或 PCR 检测分离菌株或肺结核标本的 78.7%~100% 的敏感度, 而且这些研究的特异度均处于一个很高的水平。这些显示 HAIN 鉴定脊柱结核标本的敏感度低, 可能与脊柱结核标本较难获取或因标本量较少导致的含菌量少有关。另外, 本研究中 HAIN 在结核分枝杆菌培养阳性标本 63.5% 的阳性率明显高于结核分枝杆菌培养阴性标本中 47.0% 的阳性率 (两组的阳性率的差异有统计学意义, $\chi^2=6.006, P<0.05$), 这也与 Crudu 等^[7]和 Trombert-Paolantoni 等^[8]鉴定时发现抗酸涂片阳性标本的敏感度要高于抗酸阴性标本的敏感度的情况相一致。从中我们可以看出 HAIN 鉴定结核分枝杆菌的阳性率和敏感度的高低与标本中的含菌量可能存在正相关

表 1 HAIN 和联合培养法结果 (n)

Table 1 Results of HAIN and co-culture

	结核组 TB group	非结核组 Non-TB group	总计 Total
HAIN			
阳性 Positive	120	0	120
阴性 Negative	99	16	115
联合培养 Co-culture			
阳性 Positive	104	0	104
阴性 Negative	115	16	131

表 2 HAIN 与药敏试验检测 RIF 耐药、INH 耐药和耐多药结果 (n)

Table 2 Results of RIF resistance, INH resistance and MDR between HAIN and DST

	DST 耐药 DST resistance	DST 敏感 DST sensitivity	合计 Total
利福平 RIF			
HAIN 耐药 HAIN resistance	7	3	10
HAIN 敏感 HAIN sensitivity	1	55	56
异烟肼 INH			
HAIN 耐药 HAIN resistance	6	8	14
HAIN 敏感 HAIN sensitivity	3	49	52
耐多药情况 Multi-drug resistance			
HAIN 耐多药 HAIN MDR	6	4	10
HAIN 非耐多药 HAIN non-MDR	1	55	56

的关系。

Ling等^[18]通过 Meta 分析得出 HAIN 检测 RFP 耐药和 INH 耐药的敏感度分别为 98.1% 和 84.3%, 特异度分别为 98.7% 和 99.5%。李强等^[19]以传统比例法药物敏感试验为金标准, HAIN 检测临床分离株对 RIF 和 INH 耐药的敏感度分别为 88.6% 和 79.3%, 特异度分别为 98.8% 和 98.8%。刘亚芹等^[20]应用 HAIN 检测新发涂阳肺结核患者的痰标本对 RFP 耐药和 INH 耐药的敏感度分别为 95.8% 和 80.4%, 特异度分别为 99.6% 和 96.6%, 对 MDR-TB 的敏感度为 78.9%, 特异度为 97.9%。Saglik 等^[21]以液体培养法 (BACTEC MGIT460) 为金标准, HAIN 检测临床分离株对 RIF 耐药和 INH 耐药的敏感度分别为 85.7% 和 57.1%, 特异度分别为 98.7% 和 100%。Singhal 等^[22]以液体培养法 (BACTEC MGIT960) 为金标准, HAIN 检测涂片阳性的肺结核患者的痰标本对 RFP 耐药和 INH 耐药的敏感度分别为 97.6% 和 83.3%, 特异度分别为 94.4% 和 93.8%。Chikamatsu 等^[23]应用 HAIN 对已明确的 44 例 MDR 菌株和 67 例不耐药菌株进行检测对 RIF 耐药和 INH 耐药的敏感度分别为 97.7% 和 65.9%, 特异度均为 100%。本研究中, 以联合培养法加药敏试验为参照, HAIN 检测 RIF 耐药和 INH 耐药的敏感度分别约为 87.5% 和 66.7%, 特异度分别约为 94.8% 和 86.0%, 一致性检验 Kappa 值分别约为 0.743 ($P < 0.001$) 和 0.427 ($P < 0.001$); 对 MDR 的敏感度为 85.7%, 特异度为 93.2%, 一致性检验 Kappa 值约为 0.664 ($P < 0.001$)。本研究中 HAIN 检测 RIF 耐药和 INH 耐药的敏感度与 Saglik 等^[21]的研究结果近似, 检测 INH 耐药的敏感度与 Chikamatsu 等^[23]的研究结果近似, 但远低于 Crudu 等^[7]、Ling 等^[18]、李强等^[19]、刘亚芹等^[20]的研究结果, 可能与脊柱结核标本中的结核分枝杆菌含量较少有关。另外, 我们发现既往研究^[18-21]和本研究的结果都显示 HAIN 对 RIF 耐药的敏感度要高于 INH 耐药的敏感度, 而且与药敏试验的一致性水平也较好, 可能因为 HAIN 检测的与 RIF 耐药相关的 *rpoB* 基因突变能解释超过 90% 的 RIF 耐药情况^[24, 25], 而检测的 INH 耐药相关的 *KatG* 和 *inhA* 基因仅能解释大约 80% 的 INH 耐药情况^[21-23]。

在我国, 大多数的综合医院因缺乏高生物安全性的参比实验室而无法进行结核分枝杆菌培

养。同时, 综合医院病床周转速度快, 而抗结核治疗周期较长, 临床工作中大多医生只能在患者术后出现伤口不愈合、脓肿复发、内固定松动等临床症状时才进一步考虑结核耐药性的可能, 此时即使取标本行 MTB 培养, 也会因之前长时间的抗结核治疗导致出现假阴性结果并干扰治疗^[5]。本研究提示我们, 即便 MTB 培养为阴性的复发复治型脊柱结核患者, HAIN 技术仍可获得比较高的阳性检测结果, 有助于及时对抗结核治疗方案做出调整。综上所述, HAIN 检测技术具有敏感度和特异度高, 且能同时检测利福平耐药和异烟肼耐药等优点, 尤其对难以获取标本的脊柱结核, 对于早期诊断及规范化治疗, 能够起到很好的临床指导作用。

4 参考文献

- Rajasekaran S, Khandelwal G. Drug therapy in spinal tuberculosis[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(Suppl 4): 587-593.
- Ekinci S, Tatar O, Akpınar S, et al. Spinal tuberculosis[J]. *J Exp Neurosci*, 2015, 9: 89-90.
- Dennis F, Holger JS, Elizabeth H, et al. World Health Organization treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update[J]. *Eur Respir J*, 2017, 49(3): 1602308.
- Gustavo EV, Mercedes CB, Irina YG, et al. Improving outcomes for multidrug-resistant tuberculosis: aggressive regimens prevent treatment failure and death[J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 59(1): 9-15.
- 秦世炳, 董伟杰, 兰汀隆, 等. 128 例脊柱结核耐药患者的临床分析[J]. *中国防痨杂志*, 2013, 35(5): 299-304.
- Safianowska A, Walkiewicz R, Nejman-Gryz P, et al. Diagnostic utility of the molecular assay GenoType MTBC (HAIN Lifesciences, Germany) for identification of tuberculous mycobacteria[J]. *Pneumonol Alergol Pol*, 2009, 77(6): 517-520.
- Crudu V, Stratan E, Romancenco E, et al. First evaluation of an improved assay for molecular genetic detection of tuberculosis as well as rifampin and isoniazid resistances [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(4): 1264-1269.
- Trombert-Paolantoni S, Figarella P, Clairet V. Contribution of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and nonrespiratory specimens[J]. *Pathol Biol (Paris)*, 2006, 54(8-9): 488-492.
- Musser JM. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights[J]. *Clin Microbiol*, 1995, 8(4): 496-514.
- Doustdar F, Khosravi AD, Farnia P, et al. Molecular analysis of isoniazid resistance in different genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Iran [J]. *Microb Drug Resist*, 2008, 4(14): 273-279.

11. 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程[J]. 中国防痨杂志, 1996, 18(1): 28-31.
12. Fattorini L, Orefici G, Tassone A. Sputum examination for tuberculosis by direct microscopy in low income countries. Technical guide[M]. 5th ed. Paris: International Union against Tuberculosis and Lung Disease, 2000. 7-12.
13. Heymann SJ, Brewer TF, Eitling M. Effectiveness and cost of rapid and conventional laboratory methods for Mycobacterium tuberculosis screening[J]. Public Health Rep, 1997, 112(6): 513-523.
14. 姚超, 林文红, 刘盛盛, 等. 线性探针技术诊断耐多药肺结核的临床应用评价[J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(8): 1500-1504.
15. World Health Organization. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs [M]. World Health Organization, Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008.
16. Zhao Y, Xu S, Wang L, Chin DP, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China[J]. N Engl J Med, 2012, 366(23): 2161-2170.
17. Bansal R, Sharma K, Gupta A, et al. Detection of mycobacterium tuberculosis genome in vitreous fluid of eyes with multifocal serpiginoid choroiditis[J]. Ophthalmology, 2015, 22(4): 840-850.
18. Ling DI, Zwerling AA, Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2008, 32(5): 1165-1174.
19. 李强, 赵雁林. 197 例临床结核菌分枝杆菌分离株的快速耐药性检测报告[J]. 中国防痨杂志, 2009, 31(12): 709-712.
20. 刘亚芹, 杨振斌, 冯冬霞. HAIN 用于检测原发性耐药性的研究[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(8): 1266-1268.
21. Saglik I, Oz Y, Kiraz N. Evaluation of the GenoType MTBDR assay for detection of rifampicin and isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis complex isolates [J]. Indian J Med Microbiol, 2014, 32(3): 318-322.
22. Singhal R, Arora J, Lal P, et al. Comparison of line probe assay with liquid culture for rapid detection of multi-drug resistance in Mycobacterium tuberculosis [J]. Indian J Med Res, 2012, 136(6): 1044-1047.
23. Chikamatsu K, Mizuno K, Aono A, et al. Evaluation of GenoType MTBDRplus for the detection of multi-drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains[J]. Kekkaku, 2011, 86(7): 697-702.
24. Riska PF, Jacobs WR Jr, Alland D. Molecular determinants of drug resistance in tuberculosis[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2000, 4(2): 4-10.
25. Tan KE, Ellis BC, Lee R, et al. Prospective evaluation of a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system in a hospital clinical microbiology laboratory for identification of bacteria and yeasts: a bench-by-bench study for assessing the impact on time to identification and cost-effectiveness[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(10): 3301-3308.

(收稿日期:2019-12-23 修回日期:2020-05-05)

(英文编审 庄乾宇/谭 啸)

(本文编辑 姜雅浩)

消息

更正声明

本刊于 2019 年第 29 卷第 8 期上所发表文章《腰椎后路峡部植骨钉棒系统固定治疗青年腰椎双侧峡部裂疗效分析》(中脊收字 180794 号)。页码:712~716。作者蓝云、张建政、孙天胜。经作者核实,将通讯作者孙天胜的单位名称由“中国人民解放军总医院第七医学中心”改为“南方医科大学第二临床医学院 中国人民解放军总医院第七医学中心”,其他作者单位信息不变。