

· 论 著 ·

## DNA 微阵列芯片法在海南地区结核病诊断及耐药性检测中的应用\*

冯所远<sup>1</sup>, 陈灼霖<sup>2</sup>, 符史健<sup>1</sup>, 钟业腾<sup>2△</sup>

1. 海口市第四人民医院重症医学科, 海南海口 571100; 2. 海南医学院第二附属医院检验科, 海南海口 570311

**摘要:**目的 探讨 DNA 微阵列芯片法在海南地区结核病诊断及耐药性检测中的应用。方法 采用抗酸杆菌涂片法、罗氏培养法、比例法药敏试验及 DNA 微阵列芯片法对海南地区的 2 069 例疑似结核病患者痰标本进行检测, 并对结核分枝杆菌检出率、耐药性及耐药基因突变特征进行分析。结果 DNA 微阵列芯片法检测结核分枝杆菌检出率为明显高于罗氏培养法和抗酸杆菌涂片法( $P < 0.05$ )。以比例法药敏试验为金标准, DNA 微阵列芯片法与比例法药敏试验检测耐利福平、耐异烟肼结核分枝杆菌及耐多药结核分枝杆菌的效果比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但均有较好的一致性( $Kappa \geq 0.75$ )。耐利福平基因突变类型主要为 rpoB531(C→T), 占 56.3%; 耐异烟肼基因突变类型主要为 KatG315(G→C), 占 84.6%; 耐多药结核分枝杆菌基因突变类型主要为 rpoB531+KatG315 占 54.6%。结论 DNA 微阵列芯片法可快速、准确地对海南地区疑似结核患者的痰标本进行结核分枝杆菌及其耐药性检测, 从而指导临床用药。

**关键词:** DNA 微阵列芯片; 结核分枝杆菌; 异烟肼; 利福平; 基因突变

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.04.007

中图法分类号: R183.3

文章编号: 1673-4130(2021)04-0416-05

文献标志码: A

### Application of DNA microarray in diagnosis and drug resistance detection of tuberculosis in Hainan area\*

FENG Suoyuan<sup>1</sup>, CHEN Zhuolin<sup>2</sup>, FU Shijian<sup>1</sup>, ZHONG Yeteng<sup>2△</sup>

1. Fourth People's Hospital of Haikou City, Hainan, Haikou 571100, China;

2. Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan 570311, China

**Abstract: Objective** To explore the application of DNA microarray in the diagnosis and drug resistance detection of tuberculosis in Hainan. **Methods** Acid fast bacilli smear method, Roche culture method, proportion method, drug susceptibility and DNA microarray method were used to detect the sputum samples of 2 069 suspected tuberculosis patients in Hainan area, and the detection rate, drug resistance and drug resistance gene mutation characteristics of Mycobacterium tuberculosis were analyzed. **Results** The detection rate of Mycobacterium tuberculosis by using DNA microarray was significantly higher than that by Roche culture or acid fast bacilli smear ( $P < 0.05$ ). Taking proportion method as the gold standard, DNA microarray method and proportion method were compared in the detection of rifampicin resistance, isoniazid resistance and multi-drug resistance of Mycobacterium tuberculosis, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ), while there was good consistency ( $Kappa \geq 0.75$ ). The gene mutation which lead to rifampicin resistance was mainly rpoB531(C→T), accounting for 56.3%; the gene mutation which lead to isoniazid resistance was mainly KatG315(G→C), accounting for 84.6%; the gene mutation which lead to multi-drug resistance of Mycobacterium tuberculosis was mainly rpoB531+KatG315, accounting for 54.6%. **Conclusion** Mycobacterium tuberculosis in sputum samples and its drug resistance of suspected tuberculosis patients in Hainan area can be detected by using DNA microarray method quickly and accurately, thereby guiding clinical medication.

**Key words:** DNA microarray chip; Mycobacterium tuberculosis; isoniazid; rifampin; gene mutation

\* 基金项目: 海南省自然科学基金项目(820MS144); 海南省医药卫生科研项目(19A200162); 海南医学院第二附属医院院内课题(琼海医二附院 2017-09)。

作者简介: 冯所远, 男, 主治医师, 主要从事呼吸道感染及重症医学诊疗的相关研究。△ 通信作者, E-mail: zhongyeteng@163.com。

本文引用格式: 冯所远, 陈灼霖, 符史健, 等. DNA 微阵列芯片法在海南地区结核病诊断及耐药性检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(4): 416-420.

结核病是由结核分枝杆菌(MTB)感染引起的一种严重危害人类健康的慢性传染性疾病<sup>[1]</sup>。据 2019 年世界卫生组织(WHO)报道,我国结核病患者数量仅次于印度,占全球的 9%;2018 年全球约有 48.4 万新发耐利福平结核病,我国占 14%,远超全球平均水平<sup>[2]</sup>。耐药结核病疫情形势严峻,全球结核病防控工作面临挑战<sup>[3]</sup>。早发现、早治疗是减少结核发病及传播的重要途径<sup>[4]</sup>,但截至 2015 年年底,我国结核病的病原学检出率仅为 33%,明显低于《“十三五”全国结核病防治规划》中要求的 50%<sup>[5]</sup>。这与临床实验室诊断技术水平滞后有关,当前各级医疗机构主要使用的检测方法是痰涂片与传统的细菌培养加药敏试验,前者虽价格低廉但灵敏度低,后者虽为诊断金标准但耗时过长,无法满足临床快速诊断的需求<sup>[6]</sup>,有可能造成 MTB 耐药株的传播。因此,当前控制结核病疫情的关键在于尽快建立早期快速诊断 MTB 感染及其耐药性检测的技术。WHO 及我国先后把分子生物学诊断纳入结核病诊断标准<sup>[7]</sup>。DNA 微阵列芯片法(以下简称为“DNA 芯片法”)是通过检测标本中 MTB 及其相关耐药基因的突变,从而判定是否感染 MTB 及其对利福平和异烟肼耐药性的一种分子生物学诊断技术,可在 6~8 h 得到结核病诊断及耐药性检测结果。虽然国内很多文献报道了关于 DNA 芯片法在结核病诊断中的应用,但是应用大样本量的痰标本直接评估 DNA 芯片法在 MTB 诊断和耐药性检测中的应用还很少<sup>[8-9]</sup>,且不同地区 MTB 耐药基因突变位点也存在差异。本研究主要采用 DNA 芯片法对海南地区疑似结核病患者痰标本进行了检测,探讨了 DNA 芯片法在海南地区结核病诊断及耐药性检测中的应用价值,同时分析海南地区 MTB 耐药基因的特征。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 将 2017 年 1 月至 2019 年 12 月于海南医学院第二附属医院和海口市第四人民医院就诊 2 069 例疑似结核病患者纳入研究。其中男性 1 566 例,年龄(53.3±16.2)岁;女性 503 例,年龄(50.3±18.0)岁。

**1.2 仪器与试剂** MTB DNA 提取试剂、MTB 耐药基因检测试剂盒(DNA 芯片法)、核酸快速提取仪、芯片洗干仪、芯片杂交仪和微阵列芯片扫描仪等均购自北京博奥公司;酸性罗氏培养基、比例法药敏试验相关试剂、硝基苯甲酸(PNB)/噻吩-2-羧酸肼(TCH)培养基和抗酸染色液均购自珠海贝索公司;BSC-1600 II B2 型生物安全柜购自苏州安泰公司。MTB H37Rv(ATCC27294)标准株由中国疾病预防控制中心结核病参比实验室提供。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本预处理和抗酸杆菌涂片染色** 每例患者分别留取随机、晚上及早上 3 份痰标本,每份痰标本至少 2 mL;检测时,吸取每例患者的 2 份质量较好的痰标

本各 1 mL 进行混合,共得到 2 069 份痰标本。痰标本按照《结核病实验室检验规程》<sup>[1]</sup>要求进行涂片抗酸染色镜检。再加入 1~2 倍体积的 4% NaOH 溶液,然后振荡混匀,室温静置 15 min,制成预处理痰标本。

**1.3.2 MTB 的分离培养鉴定及药敏试验** 按照《结核病实验室检验规程》<sup>[1]</sup>要求进行试验,预处理痰标本采用罗氏培养法进行分离培养;培养阳性的菌株采用 PNB/TCH 培养基进行初步菌种鉴定;采用 WHO 推荐的比例法对利福平(40 μg/mL)和异烟肼(0.2 μg/mL)进行 MTB 的药敏试验。

**1.3.3 DNA 芯片法** 吸取 1 mL 预处理痰标本上清液于 1.5 mL 微量离心管中,按照 MTB 耐药基因检测试剂盒使用说明书操作,制备成核酸提取物。吸取所得核酸提取物 2 μL 依次加入到 3 个分别预先分装好 18 μL PCR 扩增试剂的 1、2、3 号 PCR 管中,放入基因扩增仪中进行扩增,所得 PCR 产物经变性后严格按照试剂盒说明书要求进行 PCR 产物点样、杂交及芯片洗干、芯片扫描分析,在晶芯 MTB 药敏检测分析系统进行信号分析及结果判断。

**1.4 质量控制** 涂片阳性标本中培养阳性(涂阳培阳)率不低于 90%,培养污染率应小于 5%;海南医学院第二附属医院结核病实验室每年参加中国疾病预防控制中心结核病参比实验室和结核病防治临床中心的抗酸杆菌涂片检查、分枝杆菌分离培养、抗结核药敏试验及结核病分子技术室间质量评价活动。

**1.5 统计学处理** 用 SPSS20.0 软件进行数据分析,采用配对四格  $\chi^2$  检验评估两种方法的差异性, $P < 0.05$  为差异有统计学意义;两种方法检测结果的一致性检验用 Kappa 检验判别,当  $Kappa \geq 0.75$ ,一致性较好;当  $Kappa$  为  $0.4 \sim < 0.75$ ,一致性一般;当  $Kappa < 0.4$ ,一致性较差<sup>[10]</sup>。

## 2 结果

**2.1 痰标本的检测情况** 在 2 069 份痰标本中,抗酸杆菌涂片阳性率为 30.3%(626/2 069);分离培养阳性率为 45.6%(944/2 069),涂阳培阳率为 90.7%(568/626),污染率为 0.2%(4/2 069);符合痰培养质控要求。所有痰标本分别经 PNB/TCH 培养基鉴定和 DNA 芯片法菌种基因鉴定共检测出 1 054 份单独 MTB 感染、131 份单独非结核分枝杆菌(NTM)和 7 份 MTB+NTM 混合感染的痰标本。剔除 131 份单独 NTM 感染、7 份 MTB+NTM 混合感染、4 份培养污染和 8 份 DNA 芯片法检测信号异常痰标本,共有 1 919 份痰标本纳入本研究分析。

**2.2 DNA 芯片法与两种传统方法检测 MTB 的比较** 在纳入研究分析的 1 919 份痰标本中,采用 DNA 芯片法、罗氏培养法和抗酸杆菌涂片法检测 MTB 的阳性率分别为 46.9%(900/1 919)、42.4%(814/1 919)和 29.5%(567/1 919)。DNA 芯片法分别与罗氏培养法比较、抗酸杆菌涂片法比较,差异均

有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 DNA 芯片法与两种传统方法检测 MTB 的比较

方法	结果	DNA 芯片法		$\chi^2$	P
		阳性	阴性		
罗氏培养法	阳性	720	87	1 016.897	<0.05
	阴性	173	939		
抗酸杆菌涂片法	阳性	557	10	856.987	<0.05
	阴性	340	1 016		

表 2 DNA 芯片法与比例法检测 MTB 耐药性的比较

药物类型	DNA 芯片法	比例法		$\chi^2$	P	Kappa	特异度(%)	灵敏度(%)	符合率(%)
		耐药	敏感						
利福平	耐药	236	32	559.287	<0.05	0.882	93.29	97.12	94.58
	敏感	7	445						
异烟肼	耐药	184	11	456.444	<0.05	0.792	97.73	77.97	91.25
	敏感	52	473						

**2.3.2 两种方法检测 MTB 多重耐药(MDR)的结果比较** DNA 芯片法与比例法检测多重耐药结核(MDR-TB)的结果比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但具有较好一致性(Kappa=0.778),以比例法为金标准,灵敏度为 76.41%,特异度为 97.33%,符合率为 91.67%。见表 3。

**2.4 DNA 芯片法检测 MTB 耐药基因突变位点** 耐利福平突变菌株主要基因突变位点为 rpoB531,占 58.2%(156/268);其中主要突变类型为 C→T,占 56.3%(151/268)。耐异烟肼突变菌株主要基因突

**2.3 DNA 芯片法与比例法检测 MTB 耐药性的比较**

**2.3.1 DNA 芯片法与比例法检测 MTB 耐药性的比较** 对 720 份 DNA 芯片法与罗氏培养法同为阳性的痰标本采用 DNA 芯片法和比例法进行 MTB 的耐药性检测,以比例法为金标准。DNA 芯片法与比例法检测 MTB 对耐利福平、异烟肼的耐药性的结果比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但均具有较好一致性(Kappa $\geq 0.75$ ),见表 2。

位点为 KatG315,占 89.7%(175/195);其中主要突变类型为 G→C,占 84.6%(165/195)。MDR-TB 耐药基因突变位点主要为 rpoB531+KatG315,占 54.6%(89/163)。见表 4、5。

表 3 DNA 芯片法与比例法检测 MDR-TB 的比较分析

DNA 芯片法	比例法	
	MDR	非 MDR
MDR	149	14
非 MDR	46	511

表 4 DNA 芯片法检测 MTB 耐药基因突变位点分布情况

药物类型	突变位点	突变菌株[n(%)]	突变类型	各类型突变菌株[n(%)]
利福平	rpoB531	156(58.2)	C→T	151(56.3)
			C→G	5(1.9)
	rpoB526	58(21.6)	C→T	30(11.2)
			C→G	14(5.2)
			A→G	9(3.4)
			A→T	5(1.9)
	rpoB511	19(7.1)	T→C	19(7.1)
	rpoB516	19(7.1)	A→T	10(3.7)
			G→T	6(2.2)
			A→G	3(1.1)
T→C			7(2.4)	
rpoB533	7(2.6)	T→C	7(2.4)	
rpoB513	4(1.5)	A→C	2(0.7)	
		C→A	2(0.7)	
rpoB511+516	3(1.1)	T511C+A516G	1(0.4)	
		T511C+G516T	1(0.4)	
		T511C+A516T	1(0.4)	

续表 4 DNA 芯片法检测 MTB 耐药基因突变位点分布情况

药物类型	突变位点	突变菌株[n(%)]	突变类型	各类型突变菌株[n(%)]
	rpoB513+516	1(0.4)	C513A+A516T	1(0.4)
	rpoB516+533	1(0.4)	A516G+T533C	1(0.4)
	合计	268(100.0)	—	—
异烟肼	KatG315	175(89.7)	G→C	165(84.6)
			G→A	10(5.1)
	inhA-15	16(8.2)	C→T	16(8.2)
	KatG315+inhA-15	4(2.1)	G315C+C(-15)T	4(2.1)
	合计	195(100.0)	—	—

注：—表示该项无数据。

表 5 DNA 芯片法检测 MDR-TB 的耐药基因突变位点分布情况

突变位点	突变菌株[n(%)]
rpoB531+KatG315	89(54.6)
rpoB526+KatG315	34(20.9)
rpoB516+KatG315	11(6.7)
rpoB511+KatG315	9(5.5)
rpoB531+inhA-15	6(3.7)
rpoB533+KatG315	2(1.2)
rpoB526+inhA-15	2(1.2)
rpoB516++inhA-15	1(0.6)
rpoB511+rpoB516+KatG315	3(1.8)
rpoB531+KatG315+inhA-15	3(1.8)
rpoB513+rpoB516+KatG315	1(0.6)
rpoB516+rpoB533+KatG315	1(0.6)
rpoB526+KatG315+inhA-15	1(0.6)
合计	163(100.0)

### 3 讨论

历年的海南地区流行病学调查显示,该地区结核病患者数量一直处于全国前列<sup>[11-12]</sup>,这主要跟当地的历史、经济、文化有关,该地区临床实验室筛查结核病的方法主要还是痰涂片与传统的培养和药敏试验,这已无法满足结核病诊断和治疗的需求。DNA 芯片法作为一种分子生物学诊断技术,近年来在我国已广泛地应用于结核病的诊断和治疗,有相关文献报道 DNA 芯片法检测 MTB 有较高的特异度和灵敏度<sup>[13]</sup>。本研究采用 DNA 芯片法直接检测痰标本中 MTB 及其相关耐药基因,这缩短了 MTB 诊断及其耐药性检测的时间。本研究对 1 919 份痰标本的分析发现,DNA 芯片法检测 MTB 的阳性率为 46.9%,明显高于赵静等<sup>[14]</sup>的报道,其检测 MTB 的阳性率明显高于罗氏培养法和抗酸杆菌涂片法,这表明 DNA 芯片法在结核病患者痰标本 MTB 的诊断中有较高的应用价值,有助于提高 MTB 的检出率。

本研究发现,以比例法为金标准,DNA 芯片法检测耐利福平、异烟肼 MTB 及 MDR-TB 的特异度分别为 93.29%、97.73%、97.33%,灵敏度分别为 97.12%、77.97% 和 76.41%,符合率为 94.58%、91.25%、91.67%,其中耐利福平、异烟肼 MTB 及 MDR-TB 检测的特异度和符合率与赵冰等<sup>[15]</sup>、陈林等<sup>[16]</sup>的报道相近,但耐利福平 MTB 检测的灵敏度明显高于文献报道,而耐异烟肼 MTB 及 MDR-TB 检测灵敏度则均低于文献报道,这可能是海南地区的 MTB 耐利福平及异烟肼相关基因突变特征与文献所报道地区不同有关,也可能与本研究为大样本量研究有关。本研究中,DNA 芯片法对痰标本 MTB 的耐利福平基因检测灵敏度比耐异烟肼和 MDR-TB 效果好,这可能是因为本研究所使用的 DNA 芯片检测试剂盒所能检测的耐异烟肼基因突变位点不够全面,未能覆盖海南地区 MTB 常见的耐异烟肼基因突变位点。有文献报道,耐利福平 MTB 有 95% 以上是由 rpoB 基因突变所致<sup>[17-18]</sup>;耐异烟肼 MTB 耐药株主要是由 KatG(占 45%~75%)和 inhA(占 15%~25%)基因突变引起的,但还存在一定比例耐异烟肼 MTB 是由 ahpC 和 KasA 等基因突变引起<sup>[19]</sup>;海南地区部分耐异烟肼 MTB 可能存在其他耐药机制;不能排除痰标本中有多种耐药类型的 MTB 耐药株存在。而 MDR-TB 检测效果较差也是受异烟肼耐药株检测效果影响所致。这说明 DNA 芯片法在结核病耐药性检测中还存在一定局限性,不能完全取代传统药敏试验,但作为 WHO 推荐用于 MDR-TB 的快速分子诊断方法,本研究也发现了其在海南地区疑似结核患者的痰标本 MTB 利福平、异烟肼耐药性及 MDR-TB 检测中均有较高特异度和灵敏度,是可以应用于海南地区临床实验室对耐药结核的诊断或筛查。

本研究发现,海南地区 MTB 耐利福平基因突变类型主要是 rpoB531(C→T),而耐异烟肼基因突变类型主要是 KatG315(G→C),MDR-TB 耐药基因突变类型主要为 rpoB531+KatG315,与许榕青等<sup>[20]</sup>的报



道相近,明显高于王丹吉等<sup>[9]</sup>的报道,这表明 MTB 相关耐药基因突变导致的耐药存在一定的地域差异,也说明海南地区的 MTB 耐利福平基因突变主要与 rpoB 上 531 密码子突变有关,耐异烟肼基因突变主要与 KatG 上 315 密码子发生突变有关,但也应注意有一定比例 MTB 耐药株是 inhA 基因启动子突变引起的对异烟肼的低水平耐药。

本研究还从 2 069 份痰标本中发现 131 份单独 NTM 感染和 7 份为 NTM+MTB 混合感染的患者,这显示海南地区在防控结核病疫情中应注意鉴别 NTM 感染和 NTM+MTB 混合感染,在进行传统抗酸杆菌涂片和罗氏培养时,容易受 NTM 干扰,无法鉴别是否存在 MTB 感染,且 NTM 对 PNB/TCH 和常用抗结核药物具有高耐药性的特征,容易引起临床误诊、误治<sup>[6]</sup>,而 DNA 芯片法可直接检测患者标本中的 MTB 及其相关耐药基因,可有效避免标本中 NTM 的干扰,可更快速、准确地对 MTB 及其相关耐药基因进行检测。

综上所述,DNA 芯片法在 MTB 检测中具有快速、准确的特点,对临床及时、准确地进行抗结核治疗具有重要意义。

## 参考文献

- [1] 中国防痨协会. 结核病实验室检验规程[M]. 北京:人民卫生出版社,2015.
- [2] World Health Organization. Global tuberculosis report 2019 [R]. Geneva: World Health Organization, 2019.
- [3] 林翀,林明冠,廉芳,等. DNA 微阵列芯片法检测结核分枝杆菌耐利福平基因的研究[J]. 中国热带医学, 2016, 16(2): 107-110.
- [4] SREEMAREDDY C T, PANDUM K V, MENTEN J, et al. Time delays in diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review of literature[J]. BMC Infect Dis, 2009, 9(1): 91.
- [5] 中华人民共和国国务院办公厅. “十三五”全国结核病防治规划[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2017, 24(5): 1-5.
- [6] 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.
- [7] 中华医学会结核病学分会临床检验专业委员会. 结核病病原学分子诊断专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(9): 688-695.
- [8] PANG Y, XIA H, ZHANG Z, et al. Multicenter evaluation of genechip for detection of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(6): 1707-1713.
- [9] 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.
- [10] 虞仁和. SPSS 18 及其医学应用[M]. 长沙:中南大学出版社, 2012.
- [11] 王宇. 全国第五次结核病流行病学抽样调查资料汇编[M]. 北京:军事医学科学出版社, 2011.
- [12] 杜建伟,王春雷,张广恩,等. 海南省 2010 年结核病流行病学抽样调查[J]. 中国热带医学, 2012, 12(11): 1323-1326.
- [13] ZHU L, LIU Q, MARTINEZ L, et al. Diagnostic value of GeneChip for detection of resistant Mycobacterium tuberculosis in patients with differing treatment histories[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(1): 131-135.
- [14] 赵静,王凤平,孙清清,等. DNA 微阵列法检测结核分枝杆菌对利福平和异烟肼的耐药性[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2015, 35(11): 1651-1654.
- [15] 赵冰,时金艳,逢宇,等. 基因芯片结核分枝杆菌耐多药检测在地市级实验室的应用性评估[J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(9): 718-722.
- [16] 陈林,沈静,朱大冕,等. 基因芯片技术在检测痰涂阳肺结核患者结核分枝杆菌耐药性的应用效果[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(9): 1220-1223.
- [17] PHAM M, LEMBERG D A, DAY A S. Probiotics: sorting the evidence from the myths[J]. Med J Aust, 2008, 188(5): 304-308.
- [18] TELENTI A. Genetics of drug resistant tuberculosis[J]. Thorax, 1998, 53(9): 793-797.
- [19] HUI M M, CHAN E W, CHIN M L, et al. Genotypic rpoB and gyrA profiles for detection of rifampicin and fluoroquinolone susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis isolates directly from clinical sputum specimens [J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 34(2): 186-187.
- [20] 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.

(收稿日期:2020-05-26 修回日期:2020-11-17)