

• 论 著 •

微量液体培养硅胶显色法快速检测结核分枝杆菌吡嗪酰胺耐药性*

黄 飞¹, 陈俊林^{1△}, 顾德林¹, 瞿 梅¹, 胡忠义², 丁元生³

(1. 江苏省南通市第六人民医院结核科 226011; 2. 同济大学附属上海市肺科医院检验科 200433; 3. 上海积彩医疗器械有限公司 200433)

摘要:目的 建立用 24 孔微量液体培养硅胶显色板对结核分枝杆菌(MTB)吡嗪酰胺(PZA)药物敏感性判断的方法,并评价该方法临床应用价值。方法 以 MGIT960 药敏结果作为标准对照,应用硅胶显色板对 30 株已知 PZA 药敏结果 MTB 临床分离株进行 PZA 药敏检测,观察不同 pH 值,不同接种浓度对其结果的影响,并对最佳检测条件进行探讨。最后应用硅胶显色板和 MGIT960 同时对 98 株未知 PZA 药敏结果的 MTB 临床分离株进行检测,判断灵敏度、特异度、准确度。结果 24 孔微量液体培养显色板,液体培养基最佳 pH 值为 5.8~5.9,最佳接种菌量为 2.5×10^{-1} mg/mL,7~14 d 即可报告结果。PZA 临界浓度 100 μ g/mg 时灵敏度达 95.50%,特异度为 96.30%,准确度为 98.21%;PZA 临界浓度 200 μ g/mg 时灵敏度均可达 90.90%,特异度为 92.59%,准确度为 91.84%。结论 使用 24 孔微量液体培养硅胶显色板能对 MTB 的 PZA 药物敏感性进行快速鉴定,结果准确度高,操作简便,成本低廉。

关键词:结核分枝杆菌; 吡嗪酰胺; 最低抑菌浓度; 药物敏感性; 微量液体培养硅胶显色板

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.14.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)14-1879-04

Rapid detection on resistance of pyrazinamide for Mycobacterium tuberculosis by microplate allochroic silica gel assay*

HUANG Fei¹, CHEN Junlin^{1△}, GU Delin¹, QU Mei¹, HU Zhongyi², DING Yuansheng³

(1. Department of Tuberculosis Medical, Nantong Sixth People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226011, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Pulmonary Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200433, China; 3. Shanghai Jicai Medical Instrument Limited Company, Shanghai 200433, China)

Abstract: Objective To establish a method of judge the pyrazinamide (PZA) susceptibility for Mycobacterium tuberculosis (MTB) with 24-hole micro-liquid culture silica gel color plate, and evaluate the clinical application value of this method. **Methods** According to the result of MGIT960, to detect PZA drug susceptibility for 30 MTB clinical isolates of whose PZA susceptibility were known with silica gel color plate. The effects of different pH value, different inoculation concentrations on the results were observed, and the optimum detection conditions were discussed. Finally, the 98 MTB clinical isolated of whose PZA susceptibility were unknown were simultaneously detected by gel color plate and MGIT960, the sensitivity, specificity and accuracy were judged by PZA drug sensitivity. **Results** The best pH was 5.8-5.9 and the best concentration was 2.5×10^{-1} mg/mL in gel color plate. The best results were read after 7-14 d. The sensitivity, specificity and accuracy were 95.50%, 96.30%, and 98.21% respectively just at PZA critical concentration was 100 μ g/mg. The sensitivity, specificity and accuracy were 90.90%, 92.59%, and 91.84% respectively just at PZA critical concentration was 200 μ g/mg. **Conclusion** The PZA susceptibility for MTB with 24-hole micro-liquid culture silica gel color plate is accurate, rapid, low-cost and simple.

Key words: Mycobacterium tuberculosis; pyrazinamide; minimal inhibitory concentration; drug susceptibility; micro-liquid culture silica gel color plate

吡嗪酰胺(PZA)是非常重要的—线抗结核药物,能有效杀灭巨噬细胞内的结核分枝杆菌(MTB),在耐多药抗结核方案中被推荐为最主要的药物,并建议全程使用^[1-4]。但近年有报道称 MTB 对 PZA 耐药率不断上升^[5]。由于 PZA 在特定 pH 值的酸性环境中才能表现出抗菌活性,而同样条件下 MTB 生长不良,致使常规的罗氏药敏法较难测定 PZA 耐药性,而文献报道的一些快速 PZA 耐药性检测技术存在诸多缺陷,不能精准地进行 PZA 耐药性检测^[6-8]。本研究小组通过特制的微量液体培养硅胶显色板来快速检测 MTB PZA 耐药性,取得满意的效果,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 MTB 标准株(H37Rv ATCC27294)和牛分枝

杆菌(M. bovis ATCC 19210)购自国家菌种保藏中心,30 株已知结果的 MTB 临床分离株来自上海市肺科医院菌株库,已知 PZA 药敏结果,30 株菌株中 15 株为 PZA 敏感的 MTB 菌株,15 株为 PZA 耐药的 MTB 菌株。98 株未知药敏结果的 MTB 临床分离株,来源于上海市肺科医院结核科 2011 年 1-12 月住院患者的痰标本培养物,经菌种鉴定为 MTB。

1.2 仪器与试剂 MGIT960 检测仪、61010A-1 型比浊仪购自美国 BD 公司;GNP-92700 隔水式培养箱购自上海精宏实验设备有限公司;24 孔培养显色培养板由上海积彩医疗器械有限公司生产,此显色板为含变色硅胶橡胶及含 PZA 药物的培养板。24 孔显色板酸性液体培养基:液体培养基(pH6.0)配制参见文献[9],以营养肉汤为基础液,辅以牛血清蛋白、葡萄糖

* 基金项目:国家十二五结核重大专项资助项目(2013ZX10003001-003-003)。

作者简介:黄飞,女,主管技师,主要从事结核病基础与临床研究。△ 通信作者,E-mail:cjnt@126.com。

等,孔雀绿抑制非分枝杆菌微生物生长。同时配制 pH5.7、pH5.8、pH5.9、pH6.0 这 4 种不同 pH 值的培养基。

1.3 检测方法

1.3.1 微量显色板检测 PZA 敏感性 将待测菌株于液体培养基培养 2 周后,用液体培养基重悬,加入玻璃珠在涡旋振荡器上研磨 5~10 min 后静置 10~15 min,取上层均匀的悬浊液用液体培养基比浊至待用。取 1 mg/mL 的菌液按终浓度进行稀释,菌液终浓度为 2.5×10^{-1} 、 1×10^{-1} mg/mL。24 孔板中 A、B 排控制孔不含药物,C、D 排为测试孔包被了药物 PZA100 μ g,200 μ g。每株菌在 A、B、C、D 上下 4 孔中使用比例法进行测试。A 孔只加培养基不接种菌,作为阴性对照;B 孔接种测试孔菌量的 10% (0.025 mL) 为阳性参照孔;C、D 孔接种比浊至 1 mg/mL 的菌液 0.25 mL,4 个孔接种总量均为 1 mL。用透明胶带将培养板封好装入一次性密封袋,置于 37 $^{\circ}$ C 温箱培养。从培养第 2 天起,每天观察硅胶颜色变化,一直观察至第 21 天,实验结果通过比较测试孔与阳性参照孔中细菌生长速度进行判断,判断方法是当接种了 10% 菌量的阳性参照孔生长时,测试孔尚未生长,说明测试菌生长被 PZA 抑制,判为 PZA 敏感;而当测试孔菌先于参照孔或与参照孔同时生长,说明药物 PZA 不能抑制测试菌繁殖,判断该测试菌对 PZA 耐受。结果获得时间为 5~21 d,超过 21 d 不生长需重复试验。

1.3.2 结果观察 将 24 孔 U 型板放置于自制的倒置放大镜上,从倒置放大镜中可以观察微孔板底硅胶的颜色变化。结果获得时间为 5~21 d,超过 21 d 不生长需重复试验。

1.3.3 MGIT960 检测 PZA 敏感性 PZA 临界浓度根据试剂盒要求设定为 100 μ g/mL,操作步骤严格按照说明书进行。结果获得时间为 5~21 d,超过 21 d 需重新试验。

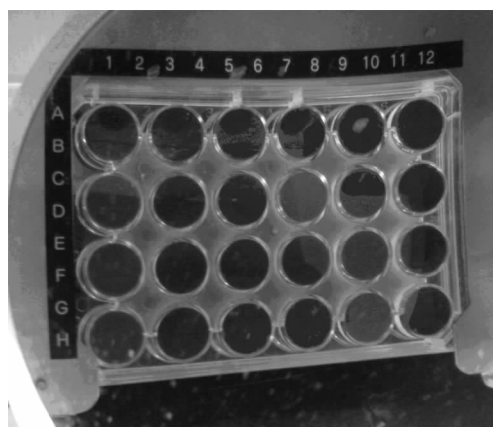
1.4 质量控制 每次实验均以 H37Rv 为敏感株质控,以牛分枝杆菌为耐药株质控,同一菌株的测试结果重复检测 3 次;对已知结果的菌株抽取 10% 同时进行 MGIT960 检测,以确保结果的可靠性。实验时标准菌的孔底硅胶颜色由天蓝色逐渐变黄色,肉眼可直接观察,见图 1。

1.5 统计学处理 应用 STATA8.0 软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 最佳检测菌量的选择 同时进行 2.5×10^{-1} 、 1×10^{-1} mg/mL 两种浓度的接种菌量。30 株已知药敏结果的菌株显示:接种 1×10^{-1} mg/mL 浓度时 15 株敏感株 14 d 以后方可观

察结果,平均 15 d 出结果,15 株耐药株结果平均天数为 14 d;接种 2.5×10^{-1} mg/mL,15 株敏感菌 7 d 颜色变化,平均 12 d 出结果,15 株耐药菌株平均天数为 9 d。为保证实验结果,本研究最佳检测菌量使用 2.5×10^{-1} mg/mL。



注:第 1 列为牛分枝杆菌耐药株(阳性);第 4 列为 H37Rv 为敏感株(阴性);第 2、3、5、6 列为所做菌株;A 排为阴性对照;B 排 10% 对照;C、D 两排分别加 100、200 μ g PZA 药。

图 1 24 孔板从放大镜中观察到的底部

2.2 最佳检测 pH 值的选择 30 株已知结果的菌株显示,当 $pH < 5.7$ 的时候,接种 14 d 以后方可观察结果,且有些菌株对照孔无颜色变化,不见生长。当 pH 值为 5.8~5.9 时,6 d 后,在含药物浓度孔内菌体生长,颜色开始变化;当 $pH > 6.0$ 时,3 d 后敏感菌株 10% 对照孔和含药孔底部硅胶颜色都开始变黄,无法判断结果,所以为保证实验结果,本研究最佳检测 pH 值为 5.8~5.9,pH 值过低菌株生长太慢,药敏结果时间长;pH 值过高,敏感菌株的含药孔颜色也发生变化,结果不正确。pH 值在 5.8~5.9 时,30 株已知 PZA 药敏结果的菌株结果与 MGIT960 检测结果符合率为 100%,15 株敏感株平均 12 d 得到结果,15 株耐药菌株平均 10 d 得到结果。见表 1。

2.3 临床菌株的 PZA 药敏检测结果 98 株 MTB 临床分离株,MGIT960 药敏检测敏感株 54 株,耐药 44 株;以 MGIT960 药敏结果为标准,见表 2,PZA 临界浓度 100 μ g/mg (最佳 MIC) 时灵敏度均可达 95.50%,特异度分别为 96.30%,准确度为 98.21% ($\chi^2 = 6.63, P > 0.05$);MIC 200 μ g/mg 时灵敏度均可达 90.90%,特异度分别为 92.59%,准确度为 91.84% ($\chi^2 = 6.25, P > 0.05$)。微孔板显色法检测结果同 MGIT960 药敏法高度一致。见表 2。

表 1 30 株已知结果的 MTB 菌株检测结果

MGIT960 药敏结果	菌株数(n)	pH 值	微孔显色板法出结果的天数(d)						
			<4	6	8	10	12	14	>14
15 S	15	<5.7	0	0	0	0	0	6	9
	15	5.8	0	4	8	2	1	0	
	15	5.9	0	6	7	1	0	1	
	3	>6.0	0	3	0	0	0	0	0
15 R	15	<5.7	0	0	0	1	2	5	9
	15	5.8	0	9	5	0	1	0	
	15	5.9	0	4	6	1	1		
	27	>6.0	19	6	2	0	0	0	0

表 2 微孔板显色法与 MGIT960 药敏结果比较

MIC 耐药界值(≥μg/mg)	药敏结果	MGIT960 药敏结果(n)		灵敏度(%)	特异度(%)	准确度(%)
		R	S			
100	R	42	2	95.50	96.30	98.21
	S	2	52			
200	R	40	4	90.90	92.59	91.84
	S	4	50			

注:R 为耐药;S 为敏感。

2.4 报告时间比较 98 株未知药敏结果的 MTB 临床菌株,微量药敏检测中 5~7 d 时 7 株生长,8~10 d 时 43 株生长,11~14 d 时 46 株生长,18 d 1 株,20 d 1 株,平均(11.52±3.23) d;MGIT960 出现阳性最早 5 d,最晚 18 d,5~7 d 有 28 株,8~10 d 有 45 株,11~14 d 有 13 株,15~18 d 有 2 株,平均(10.57±2.31) d。微孔板显色法检测时间稍长于 MGIT960 药敏法,但差异无统计学意义($t=3.58, P>0.05$)。

3 讨论

已公开报道的检测 PZA 耐药性的方法主要有快速培养仪检测法、绝对浓度法、基因检测等技术。基因检测技术快速,但需要专门仪器,实验要求较高,操作繁琐,且耐 PZA 结核分枝杆菌可能存在多个未知的基因突变位点,导致突变检出率偏低,对耐 PZA 株存在漏检可能^[10-11]。MGIT960 培养仪作为世界卫生组织推荐方法之一^[12-13],检测 PZA 耐药菌快速、可靠性高,但因其需要专用培养基及配套试剂,费用较高,限制了它的推广应用。本研究小组结合现有国内外 PZA 药敏检测技术^[14-16],利用变色硅橡胶具有高活性吸附性能及易深加工等特点^[17],经过反复比较和测试,在常用微孔培养板底部通过特殊工艺固定固载特殊指示剂的变色硅橡胶(指示剂为对二甲酚蓝),变色硅橡胶对 CO₂ 浓度敏感,颜色能随孔内 CO₂ 浓度变化发生改变,变色硅橡胶颜色变化直接显示孔内微生物生长及代谢状态。优点是在一个微孔内紧密连接了两个不同的反应体系,即将指示剂完全隔离在另一个反应体系内,克服了既往指示剂直接加入培养基中可能导致结核分枝杆菌生长环境改变并影响结果判断,完美地解决结核分枝杆菌生长环境和指示剂相互影响的难题。使用这一方法可以精准调节微量液体培养基的 pH 值、菌液浓度、药物浓度,通过对各关节要素进行研究观察,对 30 株已知 PZA 结果的实验室培养结核分枝杆菌株测试,并与 MGIT960 检测药物敏感结果进行比较,结果符合率为 100%;最佳菌量接种在 2.5×10^{-1} mg/mL, pH 值应该调整在 5.8~5.9, 7~14 d 即可观察结果。菌量太低,检测时间会延长; pH 值太低导致判断结果时间推迟, pH 值过高又影响 PZA 杀菌活性。进一步对 98 株 MTB 临床分离菌株进行 PZA 敏感性试验,并同时进行了 MGIT960 法药物试验,最终检测结果显示,用该方法在最佳接种条件 MIC 100 μg/mg 和 MIC 200 μg/mg 时灵敏度、特异度和准确度均达到理想结果,提示微量液体培养硅胶显色法已达到临床检测 PZA 敏感性试验要求。

本研究选用 MGIT960 药敏体系作为对照标准^[18],以 10% 对照生长为结果观察的终止点, MIC960 的结果判读也是比较含药孔与 10% 对照孔中菌量的差异。优点是以 10% 对照生长决定药敏观察时间降低药敏检测中可能的假敏感结果;结果判读比较的是含药孔与 10% 对照孔中菌量的差异,减少只有 100% 对照孔是结果观察的主观性。但是 MGIT960 是通过

仪器读取 10% 对照管与对照管的 GU 值,所以有 2 株 MGIT960 药敏结果为耐药而微量硅胶显色法出现敏感的结果,可能与人眼观察灵敏度达不到有关,菌株的活性菌含量也直接影响结果的准确性。

微量液体培养硅胶显色法也存在一些不足之处,首先,在结果观察上虽然颜色变化较简便,但仍然需要有经验的人员进行判断,且存在一定的主观性;其次,由于进行活菌操作,需在符合生物安全的实验室中进行;是否能对患者痰标本直接进行检测还需要大规模实验数据验证。

微量液体培养硅胶显色法目前仅国内少数几家结核实验室在不断地进行优化试验,相关实验数据分析显示利用该方法检测 PZA 药物敏感性,不仅时间短,而且不需要昂贵的仪器设备,仅凭肉眼就可判断结果,真正达到准确、快速、低成本和操作简单的优点,可以满足临床需求,丰富了临床实验室检测 MTB 对 PZA 敏感性的方法,成为替代 MGIT960 的 PZA 药敏检测的潜在方法,具有良好的推广应用前景。

参考文献

- [1] 黄盛晶,饶运帷,谭守勇. 吡嗪酰胺耐药对初治菌阳肺结核复发的影响[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(13): 2224-2226.
- [2] Zhang Y, Shi W, Zhang W, et al. Mechanisms of pyrazinamide action and resistance[J]. Microbiol Spect, 2014, 2(4): 1-12.
- [3] 梁庆福,郑金凤,陈求扬,等. 218 例涂阳肺结核吡嗪酰胺耐药情况分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2012, 28(10): 1000-1002.
- [4] 刘伟,孙峰,张文宏,等. 基于吡嗪酰胺药物敏感性改善耐药多药结核病治疗结局的研究进展[J]. 结核病与肺部健康杂志, 2014, 3(2): 77-81.
- [5] Whitfield MG, Soeters HM, Warren RM, et al. A global perspective on pyrazinamide resistance: Systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133869.
- [6] 黄海波,季恒,周俊立,等. 结核分枝杆菌对吡嗪酰胺的药物敏感性试验分析[J]. 中国医药科学, 2013, 3(1): 31-33.
- [7] 吴俐健,张含玉,贾本智,等. 噬菌体法与 BacT/ALERT3D 检测吡嗪酰胺对耐药性结核分枝杆菌的比较研究[J]. 医学临床研究, 2011, 28(4): 600-602.
- [8] 黄自坤,李俊明,熊国亮,等. 显微镜观察药物灵敏度检测技术在结核分枝杆菌吡嗪酰胺耐药性检测中的应用[J]. 广东医学, 2013, 34(11): 1664-1667.
- [9] Sanders CA, Nieda RR, Desmond EP. Validation of the use of Middlebrook 7H10 agar, MGIT960, and BACTEC 460 12B media for testing the susceptibility of (下转第 1884 页)

C3 水平由高到低依次为急性肝炎组、CHB 组、肝细胞癌组、肝硬化组。CHB 患者血清补体 C3 下降的原因可能为:(1)CHB 导致机体免疫功能紊乱,体内形成大量抗原抗体复合物,激活补体系统,使 C3 被大量消耗;(2)补体 C3 是在肝脏合成的,CHB 患者的肝脏组织受病毒感染,从而使肝细胞合成补体 C3 能力下降;(3)CHB 可能会引起补体旁路激活途径中的 C3b 灭活因子即 I 因子的减少,使血清中补体 C3 大量消耗^[14]。在本研究中好转组患者和恶化组患者的 HBV-DNA 无明显差异。曾有报道,不同程度 CHB 患者在受抗病毒治疗后,HBV-DNA 无明显差异,可能与患者对抗病毒药物的反应性不同有关^[15]。HBV-DNA 载量的高低能反映病毒的复制水平,但其复制并不总伴有肝损伤,它的变化可能是病毒本身的因素,也可能是众多因素影响的综合结果^[16]。HBV-DNA 值的高低难以判断机体的免疫状况,其值的高低是机体免疫防御与病毒复制之间此消彼长的结果。

综上所述,CHB 患者外周血中的补体 C3 水平,似乎更能反映肝功能损伤的情况,相比 T 淋巴细胞亚群、补体 C4 和 HBV-DNA 具有更好的敏感性,对判断机体免疫防御与病毒复制之间此消彼长的状态具有更高的参考价值。而且,补体 C3 检测在许多基层医院均可开展,且价格相对较低,可作为指导 CHB 抗病毒治疗的参考指标之一。

参考文献

- [1] 谢晶日,李婷婷,李明,等.慢性乙型病毒性肝炎免疫耐受的研究进展[J].中华中医药学刊,2014,32(1):12-14.
- [2] 纪翠霞,胡九东,邢练军,等.乙型肝炎慢性化机制的研究现状[J].临床肝胆病杂志,2012,28(2):149-152.
- [3] 黄河玉,方峰.补体在适应性免疫中的调节作用[J].中国免疫学杂志,2016,32(4):600-604.
- [4] 滕惠琴,张盛杰,齐艳艳,等.慢性乙型肝炎病毒感染者 T 淋巴细胞亚群的变化[J].肝脏,2012,17(2):108-109.
- [5] 中华医学会肝病学会.慢性乙型肝炎防治指南 2010 年更新版[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2011,5(1):50-60.

- [6] 熊颖,房志刚,胡云毅,等.慢性乙型肝炎免疫治疗的研究[J].公共卫生与预防医学,2012,23(3):65-67.
- [7] 于晓辉,赵夏平,王维,等.乙型肝炎肝硬化患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞的变化及临床意义[J].肝脏,2014,19(4):254-256.
- [8] 叶蔚,王小奇,叶彬.不同程度肝硬化患者血 T 细胞亚群及补体系统检测的意义[J].浙江临床医学,2005,7(1):73-74.
- [9] 杨晋辉,李祥金.乙型病毒性肝炎患者血清补体 C3、补体 C4 的临床意义[J].临床肝胆病杂志,2007,23(5):355-356.
- [10] 陈轶,陈益耀,韩向阳,等.乙型肝炎病毒感染患者外周血 T 细胞亚群的表达特征与相关性研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(5):979-981.
- [11] 林孟新,苏智军,郭如意.乙型肝炎患者血清免疫球蛋白和补体 C3/C4 检测的意义[J].实用肝脏病杂志,2015,18(2):182-183.
- [12] 吕邦泰,高国生,冯家飞,等.慢性乙型肝炎患者血清补体 C3 和 C4 检测的临床意义再探讨[J].中国卫生检验杂志,2012,22(6):1327-1328.
- [13] 邱国华,高媛娇,申戈,等.肝病患者血清补体 C3 检测的临床意义[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2012,6(2):32-35.
- [14] 刘兴晖,周新,宋惠,等.乙型肝炎病毒在体内外抑制补体 C3 和 C4 表达的研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,2011,31(10):927-930.
- [15] 张继承,鲁晓攀,张跃新.核苷类似物治疗慢性重型乙型肝炎后 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞表达下降[J].肝脏,2010,15(1):5-7.
- [16] 王平忠,张中伟,周永兴,等.定量 PCR 检测慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 及其意义[J].世界华人消化杂志,2000,8(7):755-758.

(收稿日期:2017-01-14 修回日期:2017-03-20)

(上接第 1881 页)

- Mycobacterium tuberculosis to levofloxacin[J]. J Clin Microbiol,2004,42(11):5225-5228.
- [10] 田亚楠,邹月丽,钱雨花,等.结核分枝杆菌耐药分子机制及应对策略[J].中国现代神经疾病杂志,2014,14(8):671-675.
 - [11] 洪创跃,刘小立,桂静,等.耐多药结核分枝杆菌 pncA 基因突变特征及与吡嗪酰胺耐药相关性研究[J].中华预防医学杂志,2012,46(5):436-439.
 - [12] Pierre-Audigier C, Surcouf C, Cadet-Daniel V, et al. Fluoroquinolone and pyrazinamide resistance in multidrug-resistant tuberculosis[J]. Int Tuberc Lung Dis,2012,16(2):221-223.
 - [13] 张会芬,苏俊华,李晓非,等. MGIT960 960 仪的临床应用评价[J].国际检验医学杂志,2013,34(18):2453-2454.

- [14] 王冬敏,林健雄,彭东东,等.颗粒显色指示技术快速检测结核分枝杆菌对吡嗪酰胺耐药性的价值[J].中国防痨杂志,2011,33(9):596-599.
- [15] 王敏,付光宇,罗江卫.刃天青显色法检测结核分枝杆菌的耐药性[J].检验医学与临床,2012,9(13):1587-1588.
- [16] 卢峰岳,张天宇,谭耀驹,等.吡嗪酰胺敏感性检测在结核病治疗中的应用[J].广东医学,2015,10(10):1509-1511.
- [17] 张虎,朱佳媚,何凯歌,等.硅胶固载咪唑离子液体的制备及二氧化碳吸附性能[J].现代化工,2011,31(11):45-48.
- [18] Ando H, Mitarai S, Kondo Y, et al. Pyrazinamide resistance in multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in Japan[J]. Clin Microbiol Infect,2015,16(8):1164-1168.

(收稿日期:2017-02-01 修回日期:2017-04-01)