

# 高分辨率熔解曲线在结核分枝杆菌检测中的应用

解炳倩<sup>1</sup>, 王玉清<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>青海大学研究生院, 青海 西宁

<sup>2</sup>青海省第四人民医院呼吸科, 青海 西宁

收稿日期: 2023年5月7日; 录用日期: 2023年5月31日; 发布日期: 2023年6月9日

## 摘要

随着耐药结核病的流行, 结核病的防治形势非常严峻。高分辨率熔解曲线检测技术(**high-resolution melting analysis, HRM**), 在诊断率较高的基础上, 有助于缩短患者等待的时间, 并且使耐药肺结核治疗方案更加优化, 在降低疾病传播中起到重要的作用。本文将对**HRM**技术检测结核分枝杆菌的应用作一综述。

## 关键词

高分辨率熔解曲线, 结核分枝杆菌, 耐药性

# Application of High-Resolution Melting Curve in the Detection of *Mycobacterium tuberculosis*

Bingqian Xie<sup>1</sup>, Yuqing Wang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

<sup>2</sup>Respiratory Department, The Fourth People's Hospital of Qinghai Province, Xining Qinghai

Received: May 7<sup>th</sup>, 2023; accepted: May 31<sup>st</sup>, 2023; published: Jun. 9<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

With the prevalence of drug-resistant tuberculosis, situation of drug-resistant tuberculosis control

\*通讯作者。

is very serious. Based on the high diagnostic rate, high-resolution melting analysis detection technology can help shorten the waiting time of patients and optimize the treatment plan of drug-resistant tuberculosis, which plays an important role in reducing the spread of the disease. This article will review the application of HRM in the detection of *Mycobacterium tuberculosis*.

## Keywords

High-Resolution Melting Curve, *Mycobacterium tuberculosis*, Drug Resistant

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

结核病(TB)具有传播性并可通过空气传播,是全球第13大死因。它既是艾滋病毒感染者的主要杀手,也是抗菌素耐药导致死亡的主要原因。据 WHO 报道,2021 年全球新发结核病患者 1060 万人,耐药结核病负担较 2020 年也有所增加,中国是结核患者占全球总数的 2/3 以上的国家之一,使用世界卫生组织推荐的快速分子诊断技术,使得患者得到早期和诊断准确是“终结结核病流行策略”下强化实验室能力的三个主要内容之一[1]。快速诊断技术的推广仍然缓慢,在 2021 年新诊断的 640 万结核病患者中,只有 38%是快速分子诊断技术所诊断的,因此,加快推广快速分子诊断技术,及时而准确地提供病原菌药敏结果对于正确给药、控制病原菌耐药以及挽救病人生命具有重要的意义。HRM 技术从基因的角度出发,在菌种鉴定和耐药性检测上都更直接地反映待测标本的菌株信息,该检测方法因检测速度快、特异度高而引起了广泛关注[2],本文就其在结核分枝杆菌检测中的应用进行描述。

## 2. HRM 技术介绍

HRM 技术是 2002 年美国爱德华科技公司与美国犹他大学 Carl Wittwer 实验室合作开发的一种基因序列分析的新技术[3],该技术操作简单,成本较低,在密闭的环境中检测,生物安全性高,检测时间短;灵敏度、特异度高[4],现已广泛用于医学、遗传学、微生物学、动植物学、法医学和农业等学科。HRM 技术的应用领域主要在单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism)分析、基因分型、甲基化分析、突变扫描、序列匹配等方面[5]。其实质是在实时荧光定量 PCR (RT-PCR)的基础上,将饱和染料加入,在 PCR 反应扩增完后直接通过高分辨熔解分析仪进行熔解分析,从而得到结果。

### 技术原理

HRM 技术是 PCR 扩增技术与熔解曲线分析技术相结合,建立在核酸分子的物理性质不同的基础上,实时升高温度监测 DNA 荧光染料与 PCR 扩增产物的结合情况,通过仪器检测扩增子中饱和荧光染料的荧光强度变化,获得特征性熔解曲线。当温度升高时,双链 DNA 离解成单链,此时荧光染料解离下来,导致荧光强度开始逐渐降低。最初下降的速度较缓慢,当达到某一特定温度时,信号强度迅速降低,这一温度就是熔解温度,即  $T_m$  值, $T_m$  值下降的幅度与发生错配的碱基数目、类型和位置有关,据此可以区分和检测突变型和野生。这是一种易于执行的单管方法,可在大约两小时内得出结果。此外,HRM 技术不限于培养材料,而是能够检测直接从组织样本中提取的临床样本中的 DNA [6]。

### 3. HRM 技术的应用

#### 3.1. HRM 技术在结核分枝杆菌菌种鉴定中的应用

与传统的检测方法相比, 该检测方法可利用临床痰标本直接检测, 无需使用阳性培养物进行检测, 同时受标本中细菌量的多少和细菌的纯度影响较小; HRM 技术具有极高的灵敏度, 通过选取不同的靶基因合成不同的引物, 可对临床常见的结核分枝杆菌进行分型, 检测出单个碱基之间的差别, 形成相应的特征曲线, HRM 技术和传统罗氏培养法的结果相比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) [2] [7] [8] [9]。Landoilt 等[6]通过以位于 *gyrB* 的 SNPs 为基础的 HRM 技术, 验证了 HRM 技术在鉴定结核分枝杆菌复合体 (*Mycobacterium tuberculosis complex*, MTBC)的分型中较高的特异性及灵敏性。

#### 3.2. HRM 技术在结核分枝杆菌耐药性检测中的应用

由于抗结核药物的滥用, 控制肺结核任务更加艰巨, 开发和应用快速、准确的检测方法, 是推进结核病实验室诊断的最佳策略。研究者们通过 HRM 技术对结核分枝杆菌的耐药相关基因进行分析, 根据检测位点的突变情况来判断其耐药性。

1) 利福平: 利福平为利福霉素类半合成广谱抗生素, 利福平与结核分枝杆菌 DNA 依赖的 RNA 聚合酶的  $\beta$  亚基(*ropB* 蛋白)特异性结合, 通过阻断 mRNA 的转录, 起到杀菌作用, 利福平耐药基因突变主要集中在 *ropB* 蛋白基因长度为 81 bp 的热点区域[10]。近年来, 针对利福平耐药决定区决定区(*rifampicin resistance determining region*, RRDR)的研究成为了热点。Zaw 等[11]回顾了 2010 年至 2016 年间发表的关于 RIF 耐药突变的文献, 发现 *ropB* 基因 RRDR 中最常见的突变密码子是 531、526、516, 其中 531 位点氨基酸发生突变最为广泛。

当前, 利福平耐药相关基因的研究已较明确, HRM 技术对结核耐药的检测主要针对 *ropB* 基因[12] [13]。杨敏等[12]对 21 株利福平耐药菌株进行检测, 其敏感性为 86.36%、特异性为 92.59%。杨彩虹等[13]通过 HRM 技术对利福平耐药性进行检测, 发现 84 株菌株 *ropB* 基因 RRDR 区中存在 7 个突变位点, 3 种突变形式, 在 23 株利福平耐药菌株中, 以 531 位密码子单位点突变为主, 其敏感性为 83.3%、特异性为 95%。这些检测结果均提示 HRM 技术用于检测的敏感性和特异性均较高, 为以后进行其他相关研究提供参考。

2) 异烟肼: 异烟肼是一种半合成的杀菌类抗生素, 具有较强的杀菌力, 通过阻碍生长繁殖期的结核分枝杆菌细胞壁的合成、干扰代谢和干扰酶的活性而发挥其杀菌作用, 可有效杀除细胞内外的结核分枝杆菌。异烟肼耐药分子机制非常复杂, 其耐药性与多基因的多位点突变有关, 例如过氧化氢酶-过氧化氢酶基因(*katG*)、烯酰基-ACP 还原酶基因(*inhA*)及其启动子烷基过氧化氢还原酶基因(*ahpC*), 以及 *oxyR* 和 *ahpC* (*oxyR-ahpC*)基因之间的基因间区域, 其中 *katG* 突变和 *inhA* 启动子区突变被认为是导致 INH 耐药的主要分子机制[14] [15]。

*katG* 基因常见的点突变位点是第 315 位氨基酸, Ser315Thr 被认为是 INH 耐药的主要原因, *katG* 基因第 315 位氨基酸突变可能是由于 *katG* 氧化酶活性的丧失, 保留了其过氧化氢酶活性[16] [17]。*inhA* 是一种参与脂肪酸合成的关键酶, 主要是真菌酸生物合成, 是 NADH 依赖性酰基载体蛋白激酶家族的一部分。*inhA* 是异烟肼的主要靶点, 它需要通过 *katG* 将异烟肼氧化与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸结合的酰基自由基来激活, 形成复合物[18]。*ahpC* 为烷基-过氧化氢还原酶的结构基因, 该还原酶还原细胞内各种过氧化物底物, 它能控制解毒酶基因的表达, 如 *katG* 基因的表达[19]。*oxyR* 基因既是基因转录的活化剂又是氧压的感应器, 控制 *katG* 和 *ahpC* 编码。*ahpC* 的突变极少, 主要集中在 *oxyR-ahpC* 基因间隔区内, 在异烟肼耐药菌株中 *ahpC* 启动子序列的突变常伴随着 *katG* 活性的不足[20] [21]。

异烟肼耐药相关基因较多, 耐药机制比较复杂, 目前研究人员使用 HRM 技术检测异烟肼耐药主要针对其主要基因。杨彩虹等[22]对 20 株异烟肼耐药菌株进行 *katG* 和 *inhA* 启动子区域分析, 发现 *katG* 基因有 4 种突变类型, 分别是 234 单位点突变, 234、315 双位点突变, 234、463 双位点突变, 234、315、463 三位点联合突变; 发现 *inhA* 基因有 3 种突变类型, 即-8 位、-15 位、-152 位; 敏感性为 95%, 特异性为 82.76%。Parsa 等[23]对 431 株耐药结核分枝杆菌分离株进行检测, 88.8%的异烟肼抗性样本在 *katG* 基因和 *mabA-inhA* 启动子区发生突变, 其中最高的突变发生在 *katG* 基因的密码子 315 (AGC→ACC), 敏感性为 83.3%, 特异性为 98.8%。Anthwal 等[24]对结核分枝杆菌分离株进行检测, 发现约 85%在 *katG* 基因的 315 密码子处显示突变, 其余 15%在 *inhA* 区域内显示突变, *katG* 测定的敏感性为 86.4%, 特异性为 100%, *inhA* 基因测定的灵敏性及特异性均为 100%。随着对异烟肼耐药相关基因和耐药机制的进一步研究, 其敏感性及特异性必定会得到较大提高。

3) 乙胺丁醇: 乙胺丁醇为结核菌阿拉伯糖转移酶抑制剂, 与细胞壁合成有关, 同时, 该药破坏细菌细胞壁屏障作用, 有利于亲脂性抗结核药物如利福平进入菌体内, 增强抗菌活性[25] [26]。结核分枝杆菌对乙胺丁醇耐药性的产生主要与 *embCAB* 基因突变有关, 且以 *embB* 基因, 该基因突变导致糖基转移酶结构改变, 影响了乙胺丁醇和糖基转移酶的结合而产生耐药, 特别是在密码子 306、406 和 497 处, 它们被认为是热点耐药密码子[26]。

Rezaei F 等[27]使用 HRM 技术对 21 株乙胺丁醇耐药菌株进行分析, 发现 11 株在 *embB* 基因的 306 密码子处显示突变, 5 株在 497 密码子处显示突变, 2 株在 40 密码子处显示突变, 1 株在 366 密码子处显示突变, 测得敏感性和特异性分别为 90.4%和 96.6%。

4) 链霉素: 链霉素是氨基环醇糖苷类抗菌药物, 主要干扰结核分枝杆菌蛋白合成多个环节[25], 编码小亚基核糖体蛋白 S12 的 *rpsL* 基因和编码 16sRNA 的 *rrs* 基因突变是结核分枝杆菌耐链霉素的主要分子机制[28]。Rezaei 等[27]使用 HRM 技术对 25 株链霉素耐药菌株进行 *rpsL* 基因和 *rrs* 基因分析, 发现 52%的耐药菌株在 *rpsL* 基因上发生突变, 其中 28%在第 43 位点发生突变, 20%在第 88 位点发生突变, 4%在第 44 位点发生突变; 发现 36%的耐药菌株在 *rrs* 基因上发生突变, 测得敏感性和特异性分别为 88%和 100.0%。杨彩虹等[29]通过 HRM 技术对 84 株结核分枝杆菌分离株进行 *rpsL* 基因和 *rrs* 基因分析, 其中 24 株链霉素耐药菌株, 23 株在 *rpsL* 基因发生突变, 1 株在 *rrs* 基因发生突变, 敏感性为 75%, 特异性为 85.9%。

5) 吡嗪酰胺: 吡嗪酰胺经结核分枝杆菌细胞内的吡嗪酰胺酶代谢为吡嗪酸, 后者通过影响结核菌脱氢酶而干扰结核菌代谢发挥抗菌作用[25]。其耐药性是由于一些靶标基因突变产生的, 包括编码吡嗪酰胺酶的 *pncA* 基因、编码 30S 核糖体蛋白质 S1 的 *rpsA* 基因、编码天门冬氨酸脱羧酶的 *panD* 基因等[30], 结核分枝杆菌耐吡嗪酰胺的分子机制主要是 *pncA* 基因, 特别是密码子 63、138 和 14 处。Filipenko 等[31]通过 HRM 技术对 38 株吡嗪酰胺耐药株进行 *pncA* 基因分析, 其中 33 株出现了该基因氨基酸序列修饰突变, 敏感性及特异性分别为 88.57%和 82.61%。

6) 氟喹诺酮类: 氟喹诺酮类药物属于广谱抗生素药物, 主要作用于结核分枝杆菌的 DNA 旋转酶, 目前认为氟喹诺酮类药物耐药机制主要为耐药基因决定区(QRDR) *gyrA* 基因或 *gyrB* 基因的突变, 其中 QRDR 的 *gyrA* 基因突变为主要机制[32]。杨彩虹等[33]通过 HRM 技术对对 84 株结核分枝杆菌分离株氧氟沙星耐药性检测, 检测出 14 株为氧氟沙星耐药菌株, 8 株为 *gyrA90/gyrA94* 突变的菌株, HRM 检测菌株耐药性的敏感性为 75%、特异性为 93.1%, 检测 *gyrA* 基因耐药突变的敏感性为 80%、特异性为 91.9%。Sirous 等[34]对 32 种耐药分离株进行 *gyrA* 基因分析, 发现 5 株为氧氟沙星耐药菌株, 其中 80%在 *gyrA* 基因发生突变, 敏感性和特异性分别为 80%和 100%。



## 4. 讨论

HRM 技术为一项近年来新兴分子生物学技术, 目前开展该项技术的医院较少, 在结核分枝杆菌的检测上缺少临床数据的支持。同时, HRM 技术也存在一些不足, 一方面, 目前 HRM 技术检测主要针对的临床常用的抗结核药物, 尤其是一线药物耐药相关基因的高频位点, 今后可以扩大位点范围和检测药物种类[35]。另一方面, 有研究表明, HRM 技术测定的准确性在很大程度上取决于样品来源, 制备, 提取的 DNA 的质量、浓度、扩增子长度、GC 含量、设备和染料, 当使用新鲜样品或小于 600 bp 的片段进行 HRM 时, 可以实现更高的灵敏度, 因为 DNA 可能在采样过程中退化[35], 因此建立标准的优化程序, 可在一定程度上增加 HRM 技术测定的准确性。

综上所述, HRM 技术用于结核分枝杆菌的检测, 虽然在检测的稳定性及可靠性方面, 与表型药敏试验的结果存在一些偏差, 但该技术也有其优势, 如高敏感性、高特异性、低成本、污染少、节约时间等, HRM 技术可以在临床实践中起到较好的辅助诊断作用, 为应用于临床进行早期、有效的检测, 为临床医师提供用药思路, 早日治疗结核病提供帮助。

## 参考文献

- [1] Kravtsov, A.V., Klypin, A.A. and Khokhlov, A.M. (1997) Adaptive Refinement Tree: A New High-Resolution N-Body Code for Cosmological Simulations. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, **111**, 73-94. <https://doi.org/10.1086/313015>
- [2] 龙丽娟, 张冬青, 赵娇, 王海滨. 基因芯片和高分辨率熔解曲线在结核分枝杆菌检测中的应用分析[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(12): 1716-1718.
- [3] Gundry, C.N., Vandersteen, J.G., Reed, G.H., *et al.* (2003) Amplicon Melting Analysis with Labeled Primers: A Closed-Tube Method for Differentiating Homozygotes and Heterozygotes. *Clinical Chemistry*, **49**, 396-406. <https://doi.org/10.1373/49.3.396>
- [4] 董思佳, 王鑫. 结核分枝杆菌检测技术研究进展[J]. 中国热带医学, 2020, 20(4): 320-324.
- [5] 李瑜琴, 刘权贤, 袁阳, 张建勇, 陈玲. 高分辨熔解曲线技术及其临床应用进展[J]. 海南医学, 2018, 29(7): 984-986.
- [6] Landolt, P., Stephan, R. and Scherrer, S. (2019) Development of a New High Resolution Melting (HRM) Assay for Identification and Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Samples. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 1850. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38243-6>
- [7] 李爱芳, 谈小文, 崔晓利, 等. 荧光 PCR 熔解曲线法在非结核分枝杆菌菌种鉴定中的应用价值[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(7): 664-669.
- [8] 张娴, 陈春宇, 何纲, 甄沛林. 基于 PCR 的分子生物学技术在检测非结核分枝杆菌中的进展[J]. 生物医学工程与临床, 2022, 26(4): 519-523.
- [9] Landolt, P., Stephan, R., Stevens, M.J.A. and Scherrer, S. (2019) Three-Reaction High-Resolution Melting Assay for Rapid Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Members. *MicrobiologyOpen*, **8**, e919. <https://doi.org/10.1002/mbo3.919>
- [10] 王菊红, 穆丽平. 耐多药结核分枝杆菌异烟肼和利福平耐药相关基因突变特征观察[J]. 内蒙古医学杂志, 2022, 54(8): 988-990.
- [11] Zaw, M.T., Emran, N.A. and Lin, Z. (2018) Mutations inside Rifampicin-Resistance Determining Region of *rpoB* Gene Associated with Rifampicin-Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Infection and Public Health*, **11**, 605-610. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.04.005>
- [12] 杨敏, 于璐, 吴长新, 等. 高分辨率熔解曲线检测结核分枝杆菌对利福平耐药性研究[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(3): 161-164.
- [13] 杨彩虹, 张萍, 买买提艾力·艾合木提, 等. 结核分枝杆菌利福平耐药突变位点分析及耐药性快速检测[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(12): 1387-1392.
- [14] Guo, S., Chongsuvivatwong, V. and Lei, S. (2022) Comparison on Major Gene Mutations Related to Rifampicin and Isoniazid Resistance between Beijing and Non-Beijing Strains of *Mycobacterium tuberculosis*: A Systematic Review and Bayesian Meta-Analysis. *Genes*, **13**, Article No. 1849. <https://doi.org/10.3390/genes13101849>

- [15] 梁小烟. 广西结核分枝杆菌异烟肼耐药流行病学及耐药基因特征分析[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西医科大学, 2020.
- [16] 赵刚, 贾庆军, 吴亦斐, 等. 浙江地区耐多药结核分枝杆菌基因突变特征分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2021, 25(1): 66-71.
- [17] 杨燕, 张向荣. 结核分枝杆菌异烟肼耐药基因突变与耐药水平的相关性研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2023, 43(3): 392-396.
- [18] Prasad, M.S., Bhole, R.P., Khedekar, P.B. and Chikhale, R.V. (2021) Mycobacterium Enoyl Acyl Carrier Protein Reductase (InhA): A Key Target for Antitubercular Drug Discovery. *Bioorganic Chemistry*, **115**, Article ID: 105242. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105242>
- [19] 王兆芬, 申秀丽, 李斌, 等. 青海地区结核分枝杆菌异烟肼耐药相关基因突变特征[J]. 国际药学研究杂志, 2019, 46(1): 71-76.
- [20] 张立夫, 张炜煜, 杨修军, 等. 吉林省结核分枝杆菌 *oxyR-ahpC* 基因耐药相关性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(7): 769-771.
- [21] Norouzi, F., Moghim, S., Farzaneh, S., et al. (2022) Significance of the Coexistence of Non-Codon 315 *katG*, *inhA*, and *oxyR-ahpC* Intergenic Gene Mutations Among Isoniazid-Resistant and Multidrug-Resistant Isolates of *Mycobacterium Tuberculosis*: A Report of Novel Mutations. *Pathogens and Global Health*, **116**, 22-29. <https://doi.org/10.1080/20477724.2021.1928870>
- [22] 杨彩虹, 杨敏, 于璐, 等. 高分辨率熔解曲线技术用于结核分枝杆菌临床分离株异烟肼耐药性的快速检测[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(5): 403-412.
- [23] Parsa, S., Yaghoubi, A., Izadi, N., et al. (2022) Detection of Isoniazid and Rifampin Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates from Sputum Samples by High-Resolution Melting Analysis. *Current Microbiology*, **79**, Article No. 257. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02960-z>
- [24] Anthwal, D., Gupta, R.K., Bhalla, M., et al. (2017) Direct Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance in Sputum Samples from Tuberculosis Patients by High-Resolution Melt Curve Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, **55**, 1755-1766. <https://doi.org/10.1128/JCM.02104-16>
- [25] 高丹丹. 抗结核药物的研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2020, 41(7): 882-885.
- [26] 王彦明, 栾思睿, 周辛波, 樊士勇. 抗结核药物的现状与研究进展[J]. 临床药物治疗杂志, 2018, 16(4): 9-13, 22.
- [27] Rezaei, F., Haeili, M., Fooladi, A.I. and Feizabadi, M.M. (2017) High Resolution Melting Curve Analysis for Rapid Detection of Streptomycin and Ethambutol Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Maedica*, **12**, 246-257.
- [28] 戚应杰, 刘婷, 查晓丹, 等. 合肥地区耐多药结核分枝杆菌异烟肼、链霉素及乙胺丁醇耐药相关基因位点表达研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(14): 1713-1716.
- [29] 杨彩虹, 张萍, 买买提艾力·艾合木提, 等. 高分辨率熔解曲线快速检测结核分枝杆菌对链霉素耐药情况的研究[J]. 中国动物传染病学报, 2021: 1-7.
- [30] 周婷婷, 郑小曼, 欧阳净, 等. 结核分枝杆菌对吡嗪酰胺耐药的相关基因及耐药机制研究进展[J]. 中国防痨杂志, 2022, 44(1): 102-105.
- [31] Filipenko, M.L., Dymova, M.A., Cherednichenko, A.G., et al. (2019) Detection of Mutations in *Mycobacterium tuberculosis pncA* Gene by Modified High-Resolution Melting Curve Analysis of PCR Products. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **16**, 264-269. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04688-6>
- [32] 张海晴, 陈效友, 周冬青, 等. 结核分枝杆菌 *gyrA* 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.
- [33] 杨彩虹, 张萍, 买买提艾力·艾合木提, 等. 高分辨率熔解曲线检测结核分枝杆菌对氧氟沙星耐药性研究[J]. 中国动物传染病学报, 2021: 1-9.
- [34] Sirous, M., Khosravi, A.D., Tabandeh, M.R., et al. (2018) Molecular Detection of Rifampin, Isoniazid, and Ofloxacin Resistance in Iranian Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* by High-Resolution Melting Analysis. *Infection and Drug Resistance*, **11**, 1819-1829. <https://doi.org/10.2147/IDR.S178831>
- [35] Arefzadeh, S., Azimi, T., Nasiri, M.J., et al. (2020) High-Resolution Melt Curve Analysis for Rapid Detection of Rifampicin Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Single-Centre Study in Iran. *New Microbes and New Infections*, **35**, Article ID: 100615. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100665>