

结核分支杆菌耐药现状及相关检测技术价值

雍或滔^{1,2,3,4}, 廖 璞^{1,2,3,4*}

¹重庆医科大学, 重庆

²中国科学院重庆绿色智能技术研究院, 重庆

³中国科学院大学重庆学院, 重庆

⁴重庆市人民医院检验科, 重庆

收稿日期: 2023年3月26日; 录用日期: 2023年4月21日; 发布日期: 2023年4月28日

摘 要

结核病是一种由结核分支杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)引起的慢性感染性疾病, 结核分支杆菌的耐药性问题日益严重, 已成为全球公共卫生的重要问题。本文综述了结核分支杆菌耐药现状及相关检测技术运用价值。介绍了结核分支杆菌的耐药现状及相关检测技术。探讨了目前耐药性相关检测技术运用价值、局限性及未来发展方向。结核分支杆菌检测技术在结核病的预防、诊断、治疗和控制中发挥着重要作用。它们可以提高结核病的早期诊断率和治疗成功率, 减少疾病的传播和死亡率, 同时还可以帮助卫生机构更好地掌握结核病的流行情况和传播路径, 从而制定更加有效的预防措施。随着技术的不断进步和完善, 结核分支杆菌耐药性检测技术将会得到更广泛的应用, 从而更好地服务于结核病的预防、诊断和治疗工作。

关键词

结核分枝杆菌, 耐药检测, 运用价值, 未来发展

Current Status of Drug Resistant *Mycobacterium tuberculosis* and the Value of Relevant Detection Techniques

Yutao Yong^{1,2,3,4}, Pu Liao^{1,2,3,4*}

¹Chongqing Medical University, Chongqing

*通讯作者。

²Chongqing Institute of Green and Intelligent Technology, Chinese Academy of Sciences, Chongqing

³Chongqing School, University of Chinese Academy of Sciences, Chongqing

⁴Department of Clinical Laboratory, Chongqing General Hospital, Chongqing

Received: Mar. 26th, 2023; accepted: Apr. 21st, 2023; published: Apr. 28th, 2023

Abstract

Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). The problem of drug resistance of MTB is becoming more and more serious, and it has become an important problem of global public health. This article reviewed the status of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* and the application value of relevant detection techniques. The current situation of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* and related detection techniques were introduced. The application value, limitation and future development of drug resistance-related detection technology were discussed. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* plays an important role in the prevention, diagnosis, treatment and control of tuberculosis. They can increase the rate of early diagnosis and successful treatment of tuberculosis, reduce the spread and mortality of the disease, and help health agencies to better understand the prevalence and transmission routes of tuberculosis, to develop more effective preventive measures. With the continuous progress and improvement of technology, the detection of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* will be more widely used, so as to better serve the prevention, diagnosis and treatment of tuberculosis.

Keywords

Mycobacterium tuberculosis, Drug Resistance Detection, Application Value, Future Development

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

结核分支杆菌是一种致病菌, 引起结核病。随着人口增长、城市化进程加快以及艾滋病等慢性疾病的普及, 结核病在全球范围内依然是一个重要的公共卫生问题。与此同时, 结核分支杆菌的耐药性问题也逐渐引起人们的关注。目前, 结核分支杆菌耐药性的检测技术已经有了很大的进展, 本文将对结核分支杆菌耐药现状及相关检测技术进行详细介绍。

2. 结核分枝杆菌耐药现状

2.1. 结核分枝杆菌耐药的概念和分类

结核病是一种由结核分支杆菌引起的慢性传染病, 其传播方式主要是通过空气传播。结核分支杆菌可以感染人体各个器官, 尤其是肺部, 导致肺结核[1]。然而, 随着抗生素的广泛应用, 结核分支杆菌耐药性的问题逐渐凸显。结核分支耐药的概念是指结核分支杆菌对结核病常用抗生素产生了抗药性, 使得治疗效果大大降低或失效[2]。目前, 结核分支耐药已经成为全球公共卫生领域的一大难题。

结核分枝杆菌耐药的分类包括多药耐药性(multi-drug resistance, MDR-TB)、广谱耐药性(extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB)和超级耐药性(totally drug-resistant tuberculosis, TDR-TB) [3]。其中,

MDR-TB 是指对常用的两种一线抗结核药物异烟肼和利福平耐药; XDR-TB 是指在 MDR-TB 基础上, 耐药性还扩展到青霉素、头孢菌素等抗生素; 而 TDR-TB 是指对所有已知的抗结核药物均产生了耐药性[4]。

2.2. 全球结核分枝杆菌耐药疫情的现状

全球结核分支耐药疫情现状十分严峻。根据世界卫生组织(WHO)的《2020 年全球结核病报告》, 全球每年有大约 1000 万人感染结核病, 其中约有 50 万人感染的结核菌株为多药耐药结核(MDR-TB) [1]。此外, 大约有 40 万人感染的结核菌株为耐多药结核(XDR-TB)。尽管结核病在全球范围内都是一个问题, 但不同地区的结核耐药性疫情存在很大的差异。亚洲地区是结核耐药性的高发区。根据 WHO 的报告, 亚洲地区每年有大约 30 万人感染多药耐药结核, 占全球总数的 60%。中国、印度和俄罗斯是亚洲地区耐药性结核病的高发地区[1]。

2.3. 结核分枝杆菌耐药的危害和挑战

结核分支杆菌的耐药性问题是当前结核病防治面临的严峻挑战之一。耐药结核病对患者的健康、医疗资源的消耗以及公共卫生安全都带来了严重的危害。

结核分支杆菌耐药性的主要危害是增加了治疗难度和治疗时间, 从而加重了患者的痛苦和健康风险[4]。对于耐药结核病的治疗, 需要使用更多的药物和设备, 患者需要更长时间的住院治疗, 这将使得医疗资源的消耗变得更加严重[5]。结核分支杆菌耐药性对公共卫生安全也是一个极大的威胁。耐药结核病可以通过空气传播, 对社区中其他人的健康构成威胁。耐药结核病的传播速度很快, 可能会导致疫情爆发和流行, 从而威胁整社会[6][7]。

除了公共卫生方面的危害, 结核分支杆菌的耐药性也带来了许多严重的挑战。

治疗困难: 结核分支杆菌耐药性导致传统的结核病治疗方法失效。这意味着治疗非耐药性结核病的方法不再适用于耐药性结核病, 而需要使用更昂贵、更有毒、更不可靠的药物进行治疗[8]。此外, 这些药物还会导致严重的副作用, 如肝功能损害、视力问题和耳毒性等[9]。传染性增强: 耐药性结核分支杆菌的传播比非耐药性菌株更难控制。当耐药性菌株感染未经治疗的患者时, 他们将成为超级传播者, 将菌株传播给其他人, 并促进耐药性结核菌株的形成和传播。这种情况对于处于营养不良、免疫力低下和社会经济弱势的人群尤其危险[10]。成本问题: 耐药性结核病的治疗成本显然高于非耐药性结核病。在发展中国家, 这个问题尤其严重, 因为很少有患者能够承担治疗费用[4]。如果患者未能得到适当的治疗, 那么耐药性结核病将进一步传播和加剧, 从而导致更多的治疗成本和社会负担。

此外, 结核病患者的流动性和传染性也是耐药结核病防控的重要难点之一。结核病患者往往居住在贫困地区, 因生活水平低下、饮食不卫生、空气质量差等原因, 更容易感染结核杆菌[5]。在现代社会, 全球化的趋势也为结核病传播带来了挑战。随着人员流动的增加, 结核病病原体也跨越国界传播, 特别是在一些发展中国家, 由于卫生条件落后, 结核病的传播风险更加严重, 这使得全球耐药结核病的防控工作面临着更加复杂和严峻的挑战。

3. 结核分支杆菌及其耐药的检测技术

结核分支杆菌检测技术可以分为常用检测技术和新兴检测技术两类。

3.1. 常用的结核分支杆菌及其耐药检测技术及其原理

3.1.1. 结核菌培养

结核菌培养是一种常用的结核病检测方法, 可以检测结核分支杆菌的存在。结核菌培养分为液体培

养和固体培养两种。液体培养具有快速、灵敏的特点, 但是成本较高; 固体培养的成本较低, 但是需要较长的培养时间。结核菌培养的缺点是需要进行大量的试验和操作, 而且容易受到污染和干扰[11]。

3.1.2. 传统药敏试验

传统药敏试验是基于传统的结核分支杆菌培养方法, 如 Lowenstein-Jensen 培养基、Middlebrook 培养基等, 通过将不同抗生素加入培养基中, 观察菌株的生长情况, 从而判断其对不同抗生素的敏感性和耐药性。该方法的优点是简单易行, 可以同时检测多种药物的耐药性, 而且检测结果可靠。但是, 传统药敏试验需要较长的培养时间, 通常需要 2~3 周, 且有一定的误差率[11] [12] [13]。

3.1.3. 液体培养药敏试验

液体培养药敏试验是将结核分支杆菌培养于液体培养基中, 如 BACTEC MGIT 960 等, 观察不同抗生素对菌株的敏感性和耐药性。该方法的优点是快速、灵敏, 可以在 1~2 周内得到结果, 且准确率高, 可以检测到低浓度的结核分支杆菌。缺点是设备成本高, 且对培养条件的要求较高[12] [14]。

3.1.4. 抗酸染色

抗酸染色是一种简单、快速的检测方法, 可以检测出结核分支杆菌的存在。抗酸染色的原理是结核分支杆菌细胞壁富含脂质, 可以被染料染色。抗酸染色的优点是简单易行, 但是缺点是检测灵敏度较低, 可能会出现假阴性结果[15] [16] [17]。

3.1.5. 结核菌素试验

结核菌素试验是一种常用的结核病检测方法, 可以检测出被感染的人群。结核菌素试验的原理是注射结核菌素进入皮下, 观察注射部位的皮肤反应。结核菌素试验的优点是简单、快速, 但是不能区分活动性和非活动性结核病, 也可能出现假阴性和假阳性结果[18] [19]。

3.1.6. PCR

PCR 是聚合酶链式反应的缩写, 是一种快速、敏感、特异性高的核酸检测技术。PCR 的原理是通过 DNA 聚合酶复制目标 DNA 序列, 产生大量的 DNA 片段。PCR 的优点是快速、灵敏、特异性高, 可以检测出微量的目标 DNA 序列。PCR 技术可以分为传统 PCR、实时荧光 PCR 和数字 PCR 等不同的类型[20] [21] [22]。

3.1.7. Xpert MTB/RIF

Xpert MTB/RIF 是一种快速检测结核分支杆菌和耐药基因的分子诊断方法, 由美国 Cepheid 公司开发。该方法采用基于实时聚合酶链式反应(real-time PCR)的技术, 可以用于检测结核病的临床样本, 包括痰、尿液、脑脊液等。该方法可以快速、准确地检测结核分支杆菌, 并可以同时检测耐药基因, 从而助临床医生选择合适的治疗方案。此外, 该方法还可以用于结核病的流行病学调查和监测, 以及评估结核病的治疗效果[23] [24] [25]。

3.1.8. LAMP

LAMP 是环介导等温扩增的缩写, 是一种新型的核酸检测技术。LAMP 的原理是在等温条件下, 通过 DNA 聚合酶复制目标 DNA 序列, 产生大量的 DNA 片段。LAMP 的优点是快速、敏感、特异性高, 同时还可以在常温下进行, 不需要 PCR 仪器的支持[26] [27]。

3.1.9. 基因芯片

基因芯片是一种高通量的检测技术, 可以同时检测大量的目标序列。基因芯片的原理是将多个探针固定在芯片表面上, 探针与目标序列匹配后发生杂交反应, 然后通过荧光标记检测目标序列的存在。基

因芯片的优点是高通量、高灵敏度、高特异性,可以同时检测多个耐药相关基因[28]。结核分支杆菌耐药相关基因的检测可以帮助临床医生准确地诊断结核病,并且选择最合适的治疗方案。

3.2. 新兴的结核分支杆菌及其耐药检测技术及其优势

3.2.1. 全基因组测序技术

全基因组测序技术可以检测所有基因的突变位点,为确定结核分支杆菌的耐药性提供了更为全面的信息。近年来,随着全基因组测序技术的快速发展,全基因组测序技术也开始被广泛应用于结核分支杆菌耐药性的研究。全基因组测序技术可以高效地检测结核分支杆菌中所有可能的突变位点,提供更为全面的耐药信息[29]。

3.2.2. 快速诊断技术

在结核病的治疗中,快速诊断是至关重要的,可以帮助医生快速选择最合适的治疗方案。近年来,一些新型的快速诊断技术也被应用于结核分支杆菌耐药性的检测中,例如基于核酸检测的 CRISPR 技术 [30] [31] [32]和基于免疫学的快速诊断技术[33] [34] [35]等。这些技术可以快速、准确地检测结核分支杆菌的耐药性,为患者提供更为及时、有效的治疗。

4. 相关检测技术运用价值

4.1. 结核分支杆菌检测技术在结核病诊断中的作用

结核分支杆菌检测技术在结核病诊断中发挥着关键作用。对于临床症状相似的疾病,结核分支杆菌检测技术能够快速准确地区分结核病和非结核性疾病。不仅如此,结核分支杆菌检测技术也能在早期诊断和预防结核病方面发挥重要作用。

目前最常用的结核分支杆菌检测技术是微生物学检测方法。这种方法可以通过在临床标本(例如痰、血液、尿液等)中培养结核分支杆菌,然后进行药敏试验和分子生物学检测来确定结核分支杆菌的菌株和耐药性。然而,这种方法需要长时间的培养,通常需要数周的时间才能得到结果。在一些需要紧急治疗的情况下,这种方法并不是最优选择。

随着技术的发展,分子生物学检测技术也被广泛应用于结核分支杆菌的检测中。这些方法包括 PCR、LAMP、线性扩增等技术[36]。这些检测技术的优点是可以在短时间内得到结果,并且在检测的敏感性和特异性方面表现出色。然而,这些技术的缺点是成本较高,需要相应的设备和实验室,以及高水平的技术人员。

4.2. 结核分支杆菌检测技术在结核病治疗中的作用

结核分支杆菌检测技术在结核病治疗中也起着至关重要的作用。及时检测和识别结核分支杆菌的耐药性,可以有效地指导医生选择最有效的药物治疗方案。因此,结核分支杆菌检测技术可以帮助医生更加精确地制定个性化的治疗计划,提高治疗成功率,减少治疗失败率和复发率[37]。

现代医学技术的发展,结核分支杆菌检测技术的进步和不断完善,使得可以通过分子生物学检测技术,对结核病患者进行个性化的治疗方案。分子生物学检测技术可以快速检测到结核分支杆菌,并可以检测出其耐药性。针对患者的耐药性检测结果,医生可以针对性地选择使用适当的抗结核药物进行治疗,达到更好的治疗效果。并且,对于病情严重的患者,个性化治疗方案也能减少治疗方案的时间,避免抗药性变异。

4.3. 结核分支杆菌检测技术在结核病预防中的作用

结核分支杆菌检测技术在结核病预防中也发挥着重要的作用。它可以帮助医生和公共卫生部门更快地识别结核病的感染源,进一步预防和控制结核病的传播[38]。

早期的结核病预防主要依靠的是对结核病高危人群的筛查, 如幼儿、老年人和免疫功能低下的人群。这些人群虽然容易感染结核分支杆菌, 但是他们的免疫系统可能还不足以发挥病毒的最大作用。因此, 结核分支杆菌检测技术的应用可以更好地识别患者, 避免疾病的传播。

4.4. 结核分支杆菌检测技术在结核病流行病学研究中的作用

结核分支杆菌检测技术在结核病流行病学研究中也发挥着重要的作用。它可以帮助研究人员更好地了解结核病的发病机制、疾病传播规律和地理分布等情况[38] [39]。

流行病学研究需要对结核病患者和感染者进行广泛而深入的调查, 确定不同群体的结核病感染情况、疾病进展情况以及不同区域的疾病分布情况。结核分支杆菌检测技术可以提供快速准确的检测结果, 帮助研究人员更好地理解结核病的流行病学特征。

此外, 结核分支杆菌检测技术也可以对结核病传播的途径进行研究。通过对结核病感染者的检测, 可以追踪和确定感染的源头和传播路径。这有助于公共卫生部门更好地制定和实施结核病的预防和控制措施。

5. 结核分支杆菌检测技术的局限性和未来发展方向

尽管结核分支杆菌检测技术在结核病的诊断、治疗和控制方面有着重要的作用, 但是它也存在一些局限性和挑战。

5.1. 局限性

5.1.1. 检测灵敏度的限制

目前结核分支杆菌检测技术的灵敏度已经相当高, 但是在某些情况下仍然存在限制。例如, 对于一些非典型的结核病病原体, 检测灵敏度可能会降低。此外, 对于一些病程较短的结核病患者, 结核分支杆菌的含量可能会很少, 这也会影响检测的灵敏度。

5.1.2. 检测特异性的限制

尽管结核分支杆菌检测技术已经具备了高度的特异性, 但在某些情况下仍然存在误诊的可能。例如, 某些非结核分枝杆菌或其他细菌感染也可能导致结核分支杆菌阳性反应。此外, 对于一些患有肺结核和非结核分支杆菌感染的患者, 结核分支杆菌检测技术也可能出现假阴性的结果。

5.1.3. 检测成本的限制

结核分支杆菌检测技术的成本相对较高, 这也限制了其在一些资源匮乏地区的普及和应用。此外, 一些高端的检测技术, 如 NGS 等, 仍然存在较高的成本。

5.1.4. 检测时间的限制

目前大部分结核分支杆菌检测技术的检测时间仍然较长, 需要数小时至数天的时间。这也限制了其在急诊诊断和治疗过程中的应用。

5.2. 发展方向

随着科技的不断发展, 结核分支杆菌检测技术也将不断改进和完善。未来, 我们可以期待以下方向的发展:

1) 多种检测技术的结合: 将不同的检测技术结合起来, 可以克服单一检测技术的局限性, 提高检测的灵敏度和特异性。

2) 分子生物学检测技术的发展: 分子生物学技术已经成为结核分支杆菌检测的主流技术之一。未来, 我们可以期待分子生物学技术的不断发展和完善, 如 NGS 技术、CRISPR-Cas 系统等, 以提高检测的灵敏度、特异性和速度。

3) 便携式检测设备的发展: 便携式检测设备可以在不同场所进行快速、准确的结核分支杆菌检测, 有望在结核病的早期诊断和治疗方面发挥重要作用。

4) 智能化检测系统的发展: 智能化检测系统可以实现检测过程的自动化和数字化, 大大提高检测的效率和准确性。

5) 结合人工智能的发展: 人工智能可以通过大数据分析和机器学习等技术, 帮助我们更加准确地判断结核病的诊断和治疗方案。

6. 结论

尽管结核病的治疗和防控取得了一定的成效, 但结核分支杆菌的耐药性问题依然是当前的一个严重挑战。结核分支杆菌耐药性的产生和传播涉及多个因素, 需要全社会共同参与, 采取综合措施加以应对。

在解决结核分支杆菌耐药性问题的过程中, 结核分支杆菌检测技术起到了非常重要的作用。不同的检测技术具有不同的优缺点[40] [41], 在实际应用中需要根据具体情况进行选择。在新的技术不断涌现的情况下, 我们需要加强相关技术的研发和应用, 不断提高检测的灵敏度和准确性, 以更好地为结核病的早期诊断、治疗和预防提供支持。

结核病的防治工作需要全社会的共同参与, 在预防结核病耐药性的形成和传播方面, 需要通过提高公众的卫生意识和科普教育, 加强结核病的监测和预警, 加强对结核病的标本采集、处理和运输, 规范抗结核药物的使用和管理等方面进行综合管理和应对。

总之, 结核分支杆菌检测技术在结核病的预防、诊断、治疗和控制中发挥着重要作用。它们可以提高结核病的早期诊断率和治疗成功率, 减少疾病的传播和死亡率, 同时还可以帮助卫生机构更好地掌握结核病的流行情况和传播路径, 从而制定更加有效的预防措施。随着技术的不断发展, 结核分支杆菌检测技术将会变得更加灵敏、准确、简便、快速和经济, 从而更好地服务于结核病的预防和治疗工作。

参考文献

- [1] World Health Organization (2020) Global Tuberculosis Report 2020. World Health Organization, Geneva. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
- [2] Gygli, S.M., Borrell, S., Trauner, A. and Gagneux, S. (2017) Antimicrobial Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Mechanistic and Evolutionary Perspectives. *FEMS Microbiology Reviews*, **41**, 354-373. <https://doi.org/10.1093/femsre/flux011>
- [3] Sharma, D., Dhuriya, Y.K., Deo, N. and Bisht, D. (2017) Repurposing and Revival of the Drugs: A New Approach to Combat the Drug Resistant Tuberculosis. *Frontiers in Microbiology*, **8**, Article 2452. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02452>
- [4] Seung, K.J., Keshavjee, S. and Rich, M.L. (2015) Multidrug-Resistant Tuberculosis and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **5**, a017863. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017863>
- [5] Migliori, G.B., Tiberi, S., Zumla, A., Petersen, E., Chakaya, J.M., Wejse, C., *et al.* (2020) MDR/XDR-TB Management of Patients and Contacts: Challenges Facing the New Decade. The 2020 Clinical Update by the Global Tuberculosis Network. *International Journal of Infectious Diseases*, **92**, S15-S25.
- [6] Outhred, A.C., Britton, P.N. and Marais, B.J. (2017) Drug-Resistant Tuberculosis—Primary Transmission and Management. *The Journal of Infection*, **74**, S128-S135. [https://doi.org/10.1016/S0163-4453\(17\)30203-7](https://doi.org/10.1016/S0163-4453(17)30203-7)
- [7] Sulis, G., Roggi, A., Matteelli, A. and Raviglione, M.C. (2014) Tuberculosis: Epidemiology and Control. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, **6**, e2014070. <https://doi.org/10.4084/mjihid.2014.070>
- [8] Mirzayev, F., Viney, K., Linh, N.N., Gonzalez-Angulo, L., Gegia, M., *et al.* (2021) World Health Organization Rec-

- ommendations on the Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis, 2020 Update. *The European Respiratory Journal*, **57**, Article ID: 2003300. <https://doi.org/10.1183/13993003.03300-2020>
- [9] Conradie, F., Diacon, A.H., Ngubane, N., Howell, P., Everitt, D., *et al.* (2020) Treatment of Highly Drug-Resistant Pulmonary Tuberculosis. *The New England Journal of Medicine*, **382**, 893-902. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1901814>
- [10] Seaworth, B.J. and Griffith, D.E. (2017) Therapy of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Microbiology Spectrum*, **5**. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TNMI7-0042-2017>
- [11] Cirillo, D.M., Miotto, P. and Tortoli, E. (2017) Evolution of Phenotypic and Molecular Drug Susceptibility Testing. In: Gagneux, S., Ed., *Strain Variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control. Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 1019, Springer, Cham, 221-246. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7_12
- [12] Migliori, G.B., Matteelli, A., Cirillo, D. and Pai, M. (2008) Diagnosis of Multidrug-Resistant Tuberculosis and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: Current Standards and Challenges. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*, **19**, 169-172. <https://doi.org/10.1155/2008/857901>
- [13] Deberu, O., Nkrumah, B., Sylverken, A.A., Sambian, D., *et al.* (2021) Common Bacteria in Sputum or Gastric Lavage of Patients Presenting with Signs and Symptoms of Lower Respiratory Tract Infections. *The Pan African Medical Journal*, **38**, Article 383. <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.38.383.26333>
- [14] Koh, W.-J., Ko, Y., Kim, C.-K., Park, K.S. and Lee, N.Y. (2012) Rapid Diagnosis of Tuberculosis and Multidrug Resistance Using a MGIT 960 System. *Annals of Laboratory Medicine*, **32**, 264-269. <https://doi.org/10.3343/alm.2012.32.4.264>
- [15] Makaen, J. and Maure, T. (2014) Bleach Processed Smear for Acid Fast Bacilli Staining in Papua New Guinea. *Laboratory Medicine*, **45**, e140-e141. <https://doi.org/10.1309/LMN45Y0ZMNPKLRMS>
- [16] Vilch ze, C. and Kremer, L. (2017) Acid-Fast Positive and Acid-Fast Negative Mycobacterium tuberculosis: The Koch Paradox. *Microbiology Spectrum*, **5**. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TBTB2-0003-2015>
- [17] Zhao, D., Yang, X.-M., Chen, Q.-Y., Zhang, X.-S., Guo, C.-J. and Che, X.-Y. (2012) A Modified Acid-Fast Staining Method for Rapid Detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Microbiological Methods*, **91**, 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.07.024>
- [18] Monaghan, M.L., Doherty, M.L., Collins, J.D., Kazda, J.F. and Quinn, P.J. (1994) The Tuberculin Test. *Veterinary Microbiology*, **40**, 111-124. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)90050-7](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)90050-7)
- [19] Chadha, V.K. (2001) Tuberculin Test. *Indian Journal of Pediatrics*, **68**, 53-58. <https://doi.org/10.1007/BF02728860>
- [20] Farzam, B., Imani Fooladi, A.A., Izadi, M., Hossaini, H.M. and Feizabadi, M.M. (2014) Comparison of *cyp141* and *IS6110* for Detection of *Mycobacterium tuberculosis* from Clinical Specimens by PCR. *Journal of Infection and Public Health*, **8**, 32-36. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2014.08.005>
- [21] Narang, A., Marras, S.A.E., Kurepina, N., Chauhan, V., Shashkina, E., *et al.* (2022) Ultrasensitive Detection of Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Using SuperSelective Primer-Based Real-Time PCR Assays. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 15752. <https://doi.org/10.3390/ijms232415752>
- [22] Chen, G., Qin, C.-J., Wu, M.-Z., Wu, B.-B., Luo, W.-R., *et al.* (2022) Clinical Application of RT-PCR in Tuberculosis DNA Detection Combined with TB-IGRA in the Diagnosis of Sputum Smear-Negative Pulmonary Tuberculosis. *Acta Clinica Croatica*, **61**, 193-197. <https://doi.org/10.20471/acc.2022.61.02.04>
- [23] Opota, O., Mazza-Stalder, J., Greub, G. and Jaton, K. (2019) The Rapid Molecular Test Xpert MTB/RIF Ultra: Towards Improved Tuberculosis Diagnosis and Rifampicin Resistance Detection. *Clinical Microbiology and Infection*, **25**, 1370-1376. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.021>
- [24] Kim, S.-K., Chang, J., Choi, S.-H., Sung, H. and Kim, M.-N. (2021) Performance of Xpert MTB/RIF for the Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis. *Clinical Laboratory*, **67**. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2020.200423>
- [25] Steingart, K.R., Schiller, I., Horne, D.J., Pai, M., Boehme, C.C., *et al.* (2014) Xpert[®] MTB/RIF Assay for Pulmonary Tuberculosis and Rifampicin Resistance in Adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, No. 1, Article ID: CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
- [26] Wu, D., Kang, J., Li, B. and Sun, D. (2017) Evaluation of the RT-LAMP and LAMP Methods for Detection of Mycobacterium Tuberculosis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **32**, e22326. <https://doi.org/10.1002/jcla.22326>
- [27] Acharya, B., Acharya, A., Gautam, S., Ghimire, S.P., Mishra, G., *et al.* (2020) Advances in Diagnosis of Tuberculosis: An Update into Molecular Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecular Biology Reports*, **47**, 4065-4075. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05413-7>
- [28] Wu, W., Cheng, P., Lyu, J., Zhang, Z. and Xu, J. (2018) Tag Array Gene Chip Rapid Diagnosis Anti-Tuberculosis

- Drug Resistance in Pulmonary Tuberculosis—A Feasibility Study. *Tuberculosis*, **110**, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2018.03.010>
- [29] Meehan, C.J., Goig, G.A., Kohl, T.A., Kohl, T.A., Verboven, L., *et al.* (2019) Whole Genome Sequencing of *Mycobacterium tuberculosis*: Current Standards and Open Issues. *Nature Reviews Microbiology*, **17**, 533-545. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0214-5>
- [30] Ai, J.-W., Zhou, X., Xu, T., Yang, M., Chen, Y., *et al.* (2019) CRISPR-Based Rapid and Ultra-Sensitive Diagnostic Test for *Mycobacterium tuberculosis*. *Emerging Microbes & Infections*, **8**, 1361-1369. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1664939>
- [31] Huang, Z., LaCourse, S.M., Kay, A.W., Stern, J., Escudero, J.N., *et al.* (2022) CRISPR Detection of Circulating Cell-Free *Mycobacterium tuberculosis* DNA in Adults and Children, Including Children with HIV: A Molecular Diagnostics Study. *The Lancet Microbe*, **3**, E482-E492. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(22\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00087-8)
- [32] Sam, I.K., Chen, Y.-Y., Ma, J., Li, S.-Y., Ying, R.-Y., *et al.* (2021) TB-QUICK: CRISPR-Cas12b-Assisted Rapid and Sensitive Detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of Infection*, **83**, 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.04.032>
- [33] Ahmed, M., Tezera, L.B., Elkington, P.T. and Leslie, A.J. (2022) The Paradox of Immune Checkpoint Inhibition Re-Activating Tuberculosis. *The European Respiratory Journal*, **60**, Article ID: 2102512. <https://doi.org/10.1183/13993003.02512-2021>
- [34] Kim, Y., Han, M.-H., Kim, S.-W. and Won, D.I. (2022) CD69 Flow Cytometry to Complement Interferon- γ Release Assay for Active Tuberculosis. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, **102**, 471-486. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.22093>
- [35] Cantera, J.L., Lillis, L.M., Peck, R.B., Moreau, E., Schouten, J.A., Davis, P., Drain, P.K., Andama, A., Pinter, A., Kawasaki, M., Källenius, G., Sundling, C., Dobos, K.M., Flores, D., Chatterjee, D., Murphy, E., Halas, O.R. and Boyle, D.S. (2022) Performance of Novel Antibodies for Lipoarabinomannan to Develop Diagnostic Tests for *Mycobacterium tuberculosis*. *PLOS ONE*, **17**, e0274415. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274415>
- [36] Oommen, S. and Banaji, N. (2017) Laboratory Diagnosis of Tuberculosis: Advances in Technology and Drug Susceptibility Testing. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **35**, 323-331. https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_16_204
- [37] Zhou, X., Wu, H., Ruan, Q., Jiang, N., Chen, X., *et al.* (2019) Clinical Evaluation of Diagnosis Efficacy of Active *Mycobacterium tuberculosis* Complex Infection via Metagenomic Next-Generation Sequencing of Direct Clinical Samples. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **9**, Article 351. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00351>
- [38] Shafeque, A., Bigio, J., Hogan, C.A., Pai, M. and Banaei, N. (2020) Fourth-Generation QuantiFERON-TB Gold Plus: What Is the Evidence? *Journal of Clinical Microbiology*, **58**, e01950-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.01950-19>
- [39] Walker, T.M., Miotto, P., Köser, C.U., Fowler, P.W., *et al.* (2022) The 2021 WHO Catalogue of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Mutations Associated with Drug Resistance: A Genotypic Analysis. *The Lancet Microbe*, **3**, e265-e273.
- [40] Gholoobi, A., Masoudi-Kazemabad, A., Meshkat, M. and Meshkat, Z. (2014) Comparison of Culture and PCR Methods for Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* in Different Clinical Specimens. *Jundishapur Journal of Microbiology*, **7**, e8939. <https://doi.org/10.5812/jjm.8939>
- [41] Lu, C., Jing, H., Lu, Z. and Deng, Y. (2021) Comparison of Different Methods for the Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampin-Resistance. *Clinical Laboratory*, **67**. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2020.200745>