

# 北京市昌平区地区 2011—2015 年结核分枝杆菌的流行特征

张治国 吴进凤 王莉 王路钦 韩露 马树波 高铁杰

102200 北京市昌平区结核病防治所(张治国、吴进凤、王莉、王路钦、韩露、马树波);

102200 北京市昌平区妇幼保健院(高铁杰)

通信作者:张治国, Email: zhgz8689@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.09.019

**【摘要】** 目的 了解昌平区地区结核分枝杆菌不同基因型流行特征,以及不同基因型和耐药性的关系,探讨基因分型用于评价本地区结核病控制中的应用价值。方法 选取北京市昌平区 2011—2015 年所有培养阳性结核分枝杆菌 1 099 株,采用 Spoligotyping 和 Gao 等推荐的 12 位点 VNTR 进行基因分型,同时检测上述菌株对利福平、异烟肼、乙胺丁醇、链霉素、阿米卡星和氧氟沙星的耐药性。结果 2011—2015 年,昌平区地区结核对氧氟沙星耐药率提高(2.9%比 8.9%,  $P=0.01$ )。在所有菌株中,北京基因型菌株总计 976 株,占 88.8%,非北京基因型菌株总计 123 株,占 11.2%,其中北京基因型菌株中还包括 189 株(17.2%)古代北京基因型和 787 株(71.6%)现代北京基因型。北京基因型所占比例在 5 年期间无显著性变化,从 2011 年的 81.1%到 2015 年的 82.0%。采用 VNTR 基因分型后,仅有 2 株菌成簇,成簇率为 0.1%。北京基因型对阿米卡星的耐药率(1.7%)低于非北京基因型(4.9%,  $P=0.02$ );而古代北京基因型对链霉素耐药率(28.0%)高于现代北京基因型(15.7%,  $P=0.01$ )。结论 近 5 年来,昌平区地区结核对氧氟沙星耐药率提高。北京基因型所占比例在 5 年期间无明显变化,且菌株成簇率较低,提示近期传播率低。

**【关键词】** 结核病; 流行; 耐药; 北京

**基金项目:**北京市自然科学基金(7174323);北京市教育委员会科技发展计划重点项目(KZ201510025024)

**Genotyping and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolated in Changping district in Beijing, 2011–2015** Zhang Zhiguo, Wu Jinfeng, Wang Li, Wang Luqin, Han Lu, Ma Shubo, Gao Tiejie

Changping District Center for Tuberculosis Prevention and Treatment, Beijing 102200, China (Zhang ZG, Wu JF, Wang L, Wang LQ, Han L, Ma SB); Changping District Center for Maternal and Child Health Care, Beijing 102200, China (Gao TJ)

Corresponding author: Zhang Zhiguo, Email: zhgz8689@126.com

**【Abstract】** **Objective** To understand the genotype distribution of *Mycobacterium tuberculosis* and the drug susceptibility of *M. tuberculosis* with different genotypes in Changping district of Beijing and evaluate the application of genotyping of *M. tuberculosis* in local tuberculosis (TB) prevention and control. **Methods** A total of 1 099 *M. tuberculosis* strains isolated in Changping from 2011 to 2015 were used. Spoligotyping and 12-locus VNTR recommended by Gao were used for the genotyping of these isolates. In addition, the susceptibility of the *M. tuberculosis* isolates to rifampin (RFP), isoniazid (INH), ethambutol (EMB), streptomycin (SM), amikacin (AMK) and ofloxacin (OFX) were detected by using conventional drug susceptibility test. **Results** From 2011 to 2015, the detection rate of OFX-resistance increased from 2.9% to 8.9% ( $P=0.01$ ). Of all the *M. tuberculosis* isolates, 976 belonged to Beijing genotype (88.8%), and the other 123 belonged to non-Beijing genotype (11.2%). In addition, there were 189 ancient Beijing genotype isolates and 787 modern Beijing genotype isolates, respectively. The proportion of Beijing genotype strains showed no significant increase in the past five years (81.1% in 2011 vs. 82.0% in 2015). On the basis of VNTR genotyping, only 2 isolates belonged to one cluster (0.1%). In addition, the AMK resistant rate of Beijing genotype strains (1.7%) was significantly lower than that of non-Beijing genotype strains (4.9%,  $P=0.02$ ). Compared with modern Beijing genotype strains, the SM resistant rate of ancient Beijing genotype strains was significantly higher (28.0% vs. 15.7%,  $P=0.01$ ). **Conclusions** In the past five years, the OFX-

resistant rate of *M. tuberculosis* in Changping was in increase. There was no significant difference in the detection of Beijing genotype strains during this period. In addition, the low clustering rate indicated that the TB transmission rate was low in Changping.

**【Key words】** Tuberculosis; Prevalence; Drug resistance; Beijing

**Fund programs:** Beijing Natural Science Foundation Program (7174323); Scientific Research Key Program of Beijing Municipal Commission of Education (KZ201510025024)

结核病是全球公共卫生领域面临的重大挑战。据WHO估算,2015年全球新发结核病患者1 040万,且有140万患者死于结核病<sup>[1]</sup>。我国是结核病高负担国家之一,虽然近年来结核病发病率呈逐年下降趋势,涂阳肺结核发病率从1990年的170/10万降至2010年的59/10万,但是每年仍有新发结核病患者92万,位居世界第三位<sup>[1-2]</sup>。如何有效控制结核病是我国面临的一项重大公共卫生及社会问题<sup>[3]</sup>。

结核分枝杆菌基因分型是了解结核病的流行规律的重要工具<sup>[4]</sup>。其中间隔区寡聚核苷酸分型技术(Spoligotyping)是用于鉴定结核分枝杆菌家族遗传机构的重要技术,特别是在区分北京基因型和非北京基因型方面,但是该技术操作过程繁琐,结果判读较复杂,因此近些年来逐渐被SNP法取代<sup>[5]</sup>。北京基因型菌株是目前全球主要流行的基因型之一,特别是在东亚及北美地区均为当地的优势菌群<sup>[3]</sup>。我国分离的结核分枝杆菌也以北京基因型为主,但是北京基因型在不同地区的分布呈现出明显的地域特征,其中北方地区的北京基因型的比例显著高于南方地区<sup>[3]</sup>。可变数目串联重复序列分析(variable number tandem repeat, VNTR)是以PCR技术为基础的基因分型方法,该技术的分辨率更高,结果更易分析,且具有很高的重复性,特别是其数字化的结果展现形式使得不同实验室之间的结果相互比较<sup>[6]</sup>。本研究选取北京市昌平区2011—2015年所有培养阳性结核分枝杆菌1 099株,采用SNP和高谦课题组等推荐的12位点VNTR进行基因分型,同时检测菌株对6种抗结核药物的耐药性,以初步了解该地区结核分枝杆菌不同基因型的流行特征,以及基因型和耐药性的关系,探讨基因分型用于评价本地区结核病控制中的应用价值。

## 材料与方法

1. 菌株来源:本研究纳入2011—2015年昌平区所有肺结核疑似患者痰标本,对其进行传统固体培养和鉴定,共获得1 099株结核分枝杆菌阳性菌株。所有菌株的获得均得到患者知情同意。对照标准菌株H37Rv(ATCC27294)由国家结核病参比实验室提供。

2. 主要试剂:2×Taq Master Mix、100 bp DNA Ladder和琼脂糖均购自北京康为世纪生物科技有限公司。异烟肼、利福平、链霉素、乙胺丁醇、阿米卡星和氧氟沙星均购自美国SIGMA公司。

3. DNA提取:将结核分枝杆菌临床分离株接种于L-J培养基,37℃培养4~8周,至有菌落生长后,取一接种环菌于400 μl TE缓冲液(pH 8.3)中悬菌,100℃煮沸15 min,12 000 r/min离心10 min,取上清用做基因分型模板,-20℃保存备用<sup>[3]</sup>。

4. VNTR基因分型:反应体系和条件:采用25 μl PCR反应体系:2×Taq Master Mix 12.5 μl、DNA模板2 μl、上下游引物各0.5 μl(10 μmol/L)、双蒸水9.5 μl补充至反应体积。PCR反应条件:预变性94℃10 min;变性94℃30 s,退火58℃30 s,延伸72℃45 s,共35个循环,最终延伸72℃10 min。引物及序列参照文献,引物由北京擎科生物有限公司合成,见表1。结果检测:用1%琼脂糖凝胶电泳PCR产物,Gelred核酸染料染色,用100 bp DNA Ladder来确定相对分子质量的大小,以标准株H37Rv作为对照,计算出不同结核分枝杆菌各个位点的重复拷贝数,再用BioNumerics (Version 5.0)软件进行聚类分析。应用Hunter-Gaston分辨率指数(Hunter-Gaston index, HGI)分析各位点的多态性,公式:

$$HGI = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^s n_j(n_j - 1) \quad [7]$$

5. Taqman探针基因分型:采用10 μl反应体系:10×反应缓冲液1 μl、dNTP 0.4 μl、上游引物0.05 μl(0.02 μmol/L)、下游引物1 μl(0.4 μmol/L)、探针0.2 μl(0.2 μmol/L)、酶0.2 μl、DNA 0.5 μl、双蒸水6.65 μl。反应条件:预变性95℃2 min;变性95℃10 s,退火58℃10 s,延伸72℃10 s,共40个循环,最终延伸72℃5 min。溶解曲线分析条件为:95℃变性5 min,40~80℃溶解曲线分析,每升高1°采集一次荧光,检测FAM和ROX 2个通道。引物、探针及序列参照文献<sup>[7]</sup>,由北京擎科生物有限公司合成,见表2。

6. 药物敏感试验:对异烟肼、利福平、乙胺丁醇、链霉素、阿米卡星和氧氟沙星的药物敏感性试验采用WHO推荐的比例法,对任意一种药物耐药称为

表 1 VNTR 位点、重复片段大小以及在 H37Rv 中的重复次数

序号	名称	引物序列(5' ~ 3')	重复单位大小(bp)	H37Rv 中重复次数	扩增片段大小(bp)
1	QUB-11b	CGTAAGGGGATGCGGAAATAGG CGAAGTGAATGGTGGCAT	69	5	412
2	QUB-18	ATCGTCAGCTGCGGAATAGT AATACCGGGGATATCGGTTC	78	5	621
3	Mtub21	AGATCCCAGTTGTCGTCGTC CAACATCGCCTGGTTCTGTA	57	2	206
4	MIRU26	GCGGATAGGCTACCGTCAAATC TCCGGGTCATACAGCATGATCA	48	3	387
5	QUB-26	AACGCTCAGCTGTCGGAT GGCCAGTCTCTCCCGAT	111	5	708
6	Mtub04	GTCCAGTTGCAAGAGATGG GGCATCTCAACAACGGTAG	51	2	269
7	MIRU31	CGTCGAAGAGAGCCTCATCAATCAT AACCTGCTGACCGATGGCAATATC	52	3	264
8	VNTR2372	ACCTCCGTTCCGATAATC CAGCTTTCAGCCTCCACA	57	2	298
9	MIRU40	GATTCCAACAAGACGAGATCAAGA TCAGGTCTTTCTCTCACGCTCTCG	50	1	276
1	QUB-3232	CAGACCCGGCGTCATCAAC CCAAGGGCGGCATTGTGTT	56	3	591
2	VNTR4120	GTTACCCGGAGCCAACC GAGGTGGTTTCGTGGTCG	447	2	57
3	VNTR3820	TGCGCGGTGAATGAGACG ACCTTCATCTTGCGCAC	444	3	57

耐药菌株,至少对异烟肼和利福平同时耐药称为耐多药菌株(MDR),对异烟肼和利福平耐药,并同时  
对任何氟喹诺酮类药物以及 3 种二线注射药物(卷曲霉素、卡那霉素和阿米卡星)中至少一种具耐药称为广泛耐多药菌株(XDR)<sup>[8]</sup>。

7. 统计学分析:使用 SPSS 17.5 软件,采用  $\chi^2$  检验对不同基因型菌株的药敏结果进行比较分析,  
 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 耐药率动态变化:本研究纳入 2011—2015 年期间昌平区结防所连续收集的所有培养阳性的结核分枝杆菌菌株,其中各年份收集的菌株分别为 175 株(15.9%)、194 株(17.7%)、198 株(18.0%)、261 株(23.7%)和 271 株(24.7%)。对菌株采用传统比例法药敏试验检测其对 4 种一线抗结核药物链霉素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇以及 2 种二线抗结核药物氧氟沙星和阿米卡星的耐药情况,结果表明,2011—2015 年各种抗结核药物的耐药率都有不同程度提

高:链霉素(18.3% vs. 24.7%,  $P=0.07$ )、异烟肼(11.4% vs. 15.9%,  $P=0.19$ )、利福平(9.1% vs. 14.8%,  $P=0.14$ )、乙胺丁醇(4.0% vs. 10.3%,  $P=0.13$ )、阿米卡星(1.1% vs. 2.6%,  $P=0.32$ )、氧氟沙星(2.9% vs. 8.9%,  $P=0.01$ )。此外,结核分枝杆菌 MDR 从 2011 年的 6.3% 提高到 2015 年 8.9%,而 XDR 从 2011 年 1.1% 提高到 2015 年的 1.8%,但差异无统计学意义(MDR:  $P=0.37$ ; XDR:  $P=0.53$ )。见图 1。

2. 北京基因型的动态变化:在所有菌株中,北京基因型菌株 976 株,占 88.8%,非北京基因型菌株 123 株,占 11.2%,其中北京基因型菌株中还包括 189 株(17.2%)古代北京基因型和 787 株(71.6%)现代北京基因型。2011 年,90.9% 的结核分枝杆菌属于北京基因型,到 2015 年,该比例为 88.2%,两者差异无统计学意义。此外,进一步分析表明,现代北京基因型所占比例在 5 年期间无显著性变化,从 2011 年的 81.1% 到 2015 年的 82.0%。见表 3。

3. 不同基因型菌株与耐药性的关系:不同基因型结核分枝杆菌耐药率呈现出不同的特征,北京基因型对阿米卡星的耐药率(1.7%)低于非北京基因型(4.9%,  $P=0.02$ )。在古代北京基因型和现代北京基因型方面,两种基因型的菌株仅在链霉素耐药率方面存在统计学差异,其中古代北京基因型对链霉素耐药率(28.0%)高于现代北京基因型(15.7%,  $P=0.01$ )。见表 4。

表 2 SNP 位点引物及探针序列

SNP 位点	引物/探针	序列(5' ~ 3')	浓度(μmol)
Rv2952 (北京/非北京)	探针_W	ROX-TGGGAAGTACCCTCTGGGC-BHQ2	0.20
	引物_L	CATGCGCGATCTCATGTGTT	0.02
	引物_R	GCACTGTTACCCGCACTTTC	0.40
Ogt12 (古老/现代)	探针_W	FAM-CCATCGGGCCATTAACCCT-BHQ1	0.20
	引物_L	GCAAGAGAAGATCGCATGAT	0.02
	引物_R	GGAGGTCAAGTCCACATCG	0.40

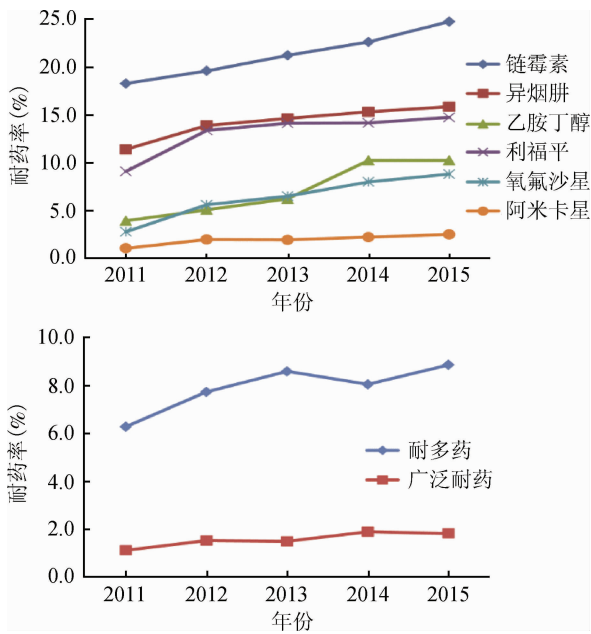


图 1 2011—2015 年菌株对不同药物的耐药率动态变化

表 3 2011—2015 年昌平地区结核分枝杆菌菌株分布

年份	菌株数	基因型 (%)			
		北京基因型	古代基因型	现代基因型	非北京基因型
2011	175(15.9)	159(90.9)	30(18.9)	129(81.1)	16(9.1)
2012	194(17.7)	173(89.2)	36(20.8)	137(79.2)	21(10.8)
2013	198(18.0)	173(87.4)	30(17.3)	143(82.7)	25(12.6)
2014	261(23.7)	232(88.9)	50(21.6)	182(78.4)	29(11.1)
2015	271(24.7)	239(88.2)	43(18.0)	196(82.0)	32(11.8)
合计	1 099(100.0)	976(88.8)	189(19.4)	787(80.6)	123(11.2)

4. VNTR 位点多态性分析:本次首先选取了 9 个 VNTR 位点进行检测分析,为了比较不同位点的多态性,应用 HGI 对各个位点的分辨力进行分析。9 个位点 HGDI 差异较大, HGI 为 0.441 ~ 0.792, 其中高分辨率 (HGDI ≥ 0.6) 的 VNTR 位点 6 个 (Qub11b、Qub18、Mtub21、MIRU26、Qub26 和 VNTR2372), 其余 3 个位点属于中分辨率位点 (0.6 > HGDI > 0.3)。进一步分析 VNTR 位点在不同基因型结核分枝杆菌的分辨率, 结果表明同一 VNTR 位点对于非北京基因型菌株的分辨率明显高于北京基因型; 而对北京基因型菌株, 现代北京基因型菌株的分辨率高于古

代基因型菌株。见表 5。

5. 结核分枝杆菌 VNTR 基因分型: 1 099 株结核分枝杆菌经聚类分析后, 共分为 934 个基因型 (H37Rv 为参照株), 其中 929 株为单一基因型, 170 株可归为 67 个基因簇之一, 成簇率为 15.5% (170/1 099), 每簇包括 2 ~ 6 株临床分离株, 最大一簇含 6 株分离株。进一步对成簇菌株采用超高分辨率位点 VNTR3232, VNTR3820 以及 VNTR4120 进行基因分型, 结果表明仅有 2 株菌株成簇。

### 讨论

耐药结核的传播是我国结核病防控体系面临的重大难题。2016 年 WHO 年报表明我国耐多药结核病仅有 20% 被诊断并治疗, 尚有超过 80% 的耐多药结核未能被及时发现, 而这些患者成为潜在的传染源导致耐药结核的进一步播散<sup>[1,9]</sup>。本研究系统分析了 2011—2015 年耐药结核的变化趋势, 结果表明, 昌平地区结核分枝杆菌链霉素、异烟肼、利福平等多种药物耐药性并无显著性增长, 而氧氟沙星耐药率显著提高。由于抗菌谱广、副作用低, 喹诺酮类药物被广泛用于治疗不同病原微生物感染, 在呼吸道感染中使用频率较高<sup>[10]</sup>; 喹诺酮的不规则使用可能造成误诊为其他感染的肺结核患者体内的结核分枝杆菌对其耐药性提高, 因此, 研究结果提示应进一步规范喹诺酮在治疗其他感染领域的应用。此外, 喹诺酮药物同时被广泛用于畜牧业治疗或预防牲畜的治疗中, 有研究表明我国河流、土地等环境中抗生素残留明显<sup>[11]</sup>, 因此这也可能是造成结核分枝杆菌喹诺酮耐药率上升的重要原因。近期的一项基于全国流行病学调查分离的菌株进行的药敏试验表明, 结核分枝杆菌对莫西沙星的耐药率显著提高<sup>[12]</sup>, 作为治疗耐多药结核最核心的药物之一, 喹诺酮耐药率直接决定耐药患者的治疗结局, 因此, 结核分枝杆菌日益增长的对喹诺酮的耐药性是我们未来需要面对的结核分枝杆菌防控的新问题。

表 4 2011—2015 年昌平地区结核分枝杆菌不同基因型菌株与耐药性的关系

药物	菌株 (n=1 099)	北京基因型			OR 值 (95%CI)	P 值	非北京基因型 (n=123)	OR 值 (95%CI)	P 值
		古代 (n=189)	现代 (n=787)	合计 (n=976)					
SM	238(21.7)	53(28.0)	150(19.1)	203(20.8)	1.66(1.15-2.38)	0.01	35(28.5)	0.66(0.43-1.01)	0.05
INH	159(14.5)	32(16.9)	110(14.0)	142(14.5)	1.25(0.82-1.93)	0.30	17(13.8)	1.06(0.62-1.83)	0.80
EMB	63(5.7)	11(5.8)	42(5.3)	53(5.4)	1.10(0.55-2.17)	0.79	10(8.1)	0.65(0.32-1.31)	0.23
RFP	147(13.4)	24(12.7)	105(13.3)	129(13.2)	0.94(0.59-1.52)	0.82	18(14.6)	0.89(0.52-1.51)	0.66
AMK	23(2.1)	2(1.1)	15(1.9)	17(1.7)	0.55(0.12-2.43)	0.42	6(4.9)	0.35(0.13-0.89)	0.02
OFX	74(6.7)	10(5.3)	52(6.7)	62(6.4)	0.79(0.39-1.58)	0.50	12(9.8)	0.63(0.33-1.20)	0.16
MDR	83(7.6)	19(10.1)	53(6.7)	72(7.4)	1.55(0.89-2.68)	0.12	11(8.9)	0.81(0.42-1.58)	0.54
XDR	9(0.8)	1(0.5)	7(0.9)	8(0.8)	0.59(0.07-4.85)	0.62	1(0.8)	1.01(0.12-8.13)	0.994

表5 VNTR位点多态性

位点	HGDI (北京基因型)	HGDI (古代)	HGDI (现代)	HGDI (非北京)	HGDI (所有菌株)
Qub11b	0.77	0.74	0.83	0.86	0.79
Qub18	0.67	0.67	0.74	0.82	0.72
Mtub21	0.67	0.64	0.72	0.81	0.72
MIRU26	0.65	0.62	0.70	0.77	0.69
Qub26	0.65	0.61	0.66	0.71	0.68
VNTR2372	0.61	0.60	0.64	0.70	0.63
MTUB04	0.47	0.44	0.59	0.67	0.53
MIRU31	0.43	0.42	0.50	0.64	0.51
MIRU40	0.40	0.39	0.42	0.60	0.44

北京基因型菌株是我国目前最主要的结核分枝杆菌家族,其分布呈现出明显的地域特征,北方地区显著高于南方地区,本研究结果表明昌平地区北京基因型结核分枝杆菌菌株所占比例为88.8%,与河南(89.8%)和黑龙江(89.5%)的报道类似,低于之前甘肃(91.9%)、河北(91.0%)的报道,高于内蒙古(79.0%)和山东(77.7%)<sup>[13]</sup>。但是北京基因型在2011—2015年期间的比例未发生显著性提高,与近年来基于全国流调的菌株数据结果不同,提示北京基因型未发生进一步人群中传播。与北京基因型结果类似,VNTR分型研究结果表明上述菌株成簇率低于1%,提示结核分枝杆菌在本地区近期传播比例较低。结核病分子流行病学研究结果表明昌平地区近年来结核分枝杆菌未发生明显的人际传播,与上述结果相一致,马树波等<sup>[14]</sup>的研究结果表明2006—2015年昌平地区肺结核发病率呈下降趋势,但是在某些特殊人群中发病率较高,包括该地区的流动人口以及老年人群,提示该地区疫情与外地输入性病例以及内源性复发相关,结果表明昌平地区结核病防治工作措施有效,但需要重点针对流动人口、老年人群等结核高发人群采用一些创新性的措施,如主动筛查、加强宣教,有助于减少结核病在该人群中的传播。同时本研究提示9+3位点对本地区结核分枝杆菌提供了良好的分辨率,是一种具有良好推广意义的VNTR分型位点组合<sup>[7]</sup>。

北京基因型与耐药结核分枝杆菌耐药性密切相关。基于全国耐药基线调查的数据表明北京基因型菌株与利福平、氟喹诺酮等多种药物耐药性密切相关<sup>[3]</sup>;但是来自上海地区的研究结果与之不同,北京基因型菌株与耐药性无关<sup>[15]</sup>。本研究结果与后者类似,仅有阿米卡星耐药性与非北京基因型相关,推测与阿米卡星耐药菌株数目较少有关。此外,近期来自Pang等<sup>[16]</sup>的研究结果表明,与现代北京基因型相比,古代北京基因型与耐药更相关,本研究结果支持上述发现,古代北京基因型对链霉素耐药率显著高

于现代北京基因型。现代北京基因型出现时间较晚,特别是近几十年才在全世界大规模播散,其接受链霉素选择的时间较短,因此耐药率比暴露时间更长的古代北京基因型更低。

利益冲突 无

## 参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016[R]. Geneva: WHO, 2016.
- [2] Wang LX, Zhang H, Ruan YZ, et al. Tuberculosis prevalence in China, 1990–2010; a longitudinal analysis of national survey data[J]. Lancet, 2014, 383(9934): 2057–2064. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)62639-2.
- [3] Pang Y, Zhou Y, Zhao B, et al. Spoligotyping and drug resistance analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains from national survey in China[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e32976. DOI: 10.1371/journal.pone.0032976.
- [4] 田丽丽,丁北川,祝秉东,等. 结核分枝杆菌基因分型方法及其应用[J]. 中国防痨杂志, 2015(8): 885–891. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2015.08.018.
- [5] Tian LL, Ding BC, Zhu BD, et al. The application of genotyping method of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Chin J Antituberc, 2015(8): 885–891. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2015.08.018.
- [6] Coll F, McNeerney R, Guerra-Assunção JA, et al. A robust SNP barcode for typing *Mycobacterium tuberculosis* complex strains[J]. Nat Commun, 2014, 5: 4812. DOI: 10.1038/ncomms5812.
- [7] 罗涛,杨崇广,逢宇,等. 建立适合我国结核分枝杆菌特征的可变串联重复序列(VNTR)分型方法[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(5): 322. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2014.05.002.
- [8] Luo T, Yang CG, Pang Y, et al. Development of a hierarchical variable-number tandem repeat typing scheme for *Mycobacterium tuberculosis* in China[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2014, 37(5): 322. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2014.05.002.
- [9] Luo T, Yang CG, Pang Y, et al. Development of a hierarchical variable-number tandem repeat typing scheme for *Mycobacterium tuberculosis* in China[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89726. DOI: 10.1371/journal.pone.0089726.
- [10] Zhao YL, Xu SF, Wang LX, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China[J]. N Engl J Med, 2012, 366(23): 2161–2170. DOI: 10.1056/NEJMoal108789.
- [11] 高谦,梅建. 传播才是造成我国结核病高耐药率的主要原因[J]. 中国防痨杂志, 2015, 37(11): 1091–1096. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2015.11.002.
- [12] Gao Q, Mei J. Transmission is the main cause of high rate of drug-resistant tuberculosis in China[J]. Chin J Antituberc, 2015, 37(11): 1091–1096. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2015.11.002.
- [13] Zhang ZJ, Lu J, Wang YF, et al. Prevalence and molecular characterization of fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(1): 364–369. DOI: 10.1128/AAC.01228-13.
- [14] Zhang QQ, Ying GG, Pan CG, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. Environ Sci Technol, 2015, 49(11): 6772–6782. DOI: 10.1021/acs.est.5b00729.
- [15] Pang Y, Zhang ZJ, Wang YF, et al. Genotyping and prevalence of pyrazinamide- and moxifloxacin-resistant tuberculosis in China, 2000 to 2010: findings from the national survey data[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(2): e02170–16. DOI: 10.1128/AAC.02170-16.
- [16] Liu ZW, Pang Y, Chen SH, et al. A First insight into the genetic diversity and drug susceptibility pattern of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Zhejiang, China[J]. BioMed Res Int, 2016, 2016: 8937539. DOI: 10.1155/2016/8937539.
- [17] 马树波,王娜,杨震,等. 2006—2015年北京市昌平区肺结核报告发病情况分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(10): 1176–1181. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.008.
- [18] Ma SB, Wang N, Yang Z, et al. Reported incidence of tuberculosis cases in Changping district, Beijing, 2006–2015[J]. Pract Prev Med, 2016, 23(10): 1176–1181. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.008.
- [19] Yang CG, Luo T, Sun GM, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains favor transmission but not drug resistance in China[J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(9): 1179–1187. DOI: 10.1093/cid/cis670.
- [20] Zhang ZJ, Lu J, Liu M, et al. Genotyping and molecular characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from China[J]. J Infect, 2015, 70(4): 335–345. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.11.008.

(收稿日期:2017-04-01)

(本文编辑:王岚)