

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.23.016

应用噬菌体生物扩增法对 HIV/TB 双重感染患者 抗结核药耐药性分析研究^{*}

何茂锐¹,向明确^{1△},罗 谊²,廖 兵²,万荣珍¹,龙泉鑫³,陈作芬¹,邱 媛¹

(1. 重庆市第九人民医院感染科 400700;2. 重庆市第九人民医院检验科 400700;3. 重庆医科大学 400016)

[摘要] **目的** 利用噬菌体生物扩增法(PhaB)分析人类免疫缺陷病毒(HIV)合并结核病(TB)双重感染患者的结核分枝杆菌的耐药状况,优化防治对策。**方法** 运用 PhaB 法对重庆市第九人民医院收治的 112 例 HIV/TB 双重感染患者(HIV/TB 组)做 TB 菌的药敏检测,并与 208 例单纯肺结核患者(单纯 TB 组)的药敏检测做对比分析。**结果** HIV/TB 组的抗 TB 药耐药率要比单纯 TB 组低,HIV/TB 双重感染患者 5 种常见抗 TB 药物的耐药率分别为异烟肼(INH)7.14%、吡嗪酰胺(PZA)7.14%、利福平(RFP)5.36%、链霉素(SM)5.36%、乙胺丁醇(EMB)4.46%,与单纯 TB 组患者比较(RFP 17.31%、INH 13.46%、PZA 11.54%、EMB 10.58%、SM 9.62%),HIV/TB 组 RFP 的耐药率低于单纯 TB 组,差异有统计学意义($P<0.05$),其他 4 种抗 TB 药耐药率与单纯 TB 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),与绝对浓度法结果符合率分别为 INH 96.4%、RFP 98.2%、PZA 96.4%、EMB 93.8%和 SM 96.4%。**结论** 本地区 HIV/TB 双重感染患者结核分枝杆菌对 RFP 耐药率较普通肺结核患者低,与该类患者良好的服药依从性相关。PhaB 测定所需时间短,操作简便,不需特殊仪器设备,可作为结核分枝杆菌耐药性的快速筛选方法。

[关键词] 分枝杆菌噬菌体;获得性免疫缺陷综合征;结核;双重感染;耐药

[中图法分类号] R516 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)23-3219-03

Study on antimicrobial resistance of anti-tuberculosis drugs in patients with double infection of HIV/TB using phage bio-amplification method

He Maorui¹,Xiang Mingque^{1△},Luo Yi²,Liao Bing²,Wan Rongzhen¹,Long Quanxin³,Chen Zuofen¹,Qiu Yuan¹

(1. Department of Infection,Chongqing Ninth People's Hospital,Chongqing 400700,China;2. Department of Clinical Laboratory,Chongqing Ninth People's Hospital,Chongqing 400700,China;3. Chongqing Medical University,Chongqing 400016,China)

[Abstract] **Objective** To analyze the drug resistance status of mycobacterium tuberculosis in patients with double immunization of human immunodeficiency virus (HIV) and tuberculosis (TB) by phage bioassay (PhaB),and to optimize the control strategy. **Methods** One hundred and twelve cases of HIV/TB infected patients in Chongqing Ninth People's Hospital were treated with PhaB method,and the drug susceptibility testing results were compared with 208 cases of simple pulmonary tuberculosis patients. **Results** The anti-tuberculosis drug resistance rate of HIV/TB patients was lower than that of simple pulmonary tuberculosis patients. The resistance rates of 5 common anti-tuberculosis drugs in HIV/TB patients were 7.14% of isoniazid (INH),7.14% of pyrazinamide (PZA),5.36% of rifampicin(RFP)streptomycin(SM),and 4.46% of ethambutol (EMB),compared with simple pulmonary tuberculosis(resistance rates of RFP were 17.31%,INH 13.46%,PZA 11.54%,EMB 10.58%,SM 9.62%),RFP resistance rate of HIV/TB infected patients was lower($P<0.05$). There was no significant difference between two groups in the other four anti-tuberculosis drug($P>0.05$). The coincidence rate with the absolute concentration method were INH 96.4%,RFP 98.2%,PZA 96.4%,EMB 93.8% and SM 96.4%,respectively. **Conclusion** The resistance rate of mycobacterium tuberculosis to RFP in patients with HIV/TB infection in this region is lower than that in patients with common pulmonary tuberculosis,which is related to the good medication compliance of these patients. PhaB has the characteristic of fast, simple,without special equipment,it can be used as a rapid screening of mycobacterium tuberculosis drug resistance method.

[Key words] mycobacterium tuberculosis;acquired immunodeficiency syndrome;tuberculosis;double infection;drug resistance

我国是一个结核病(tuberculosis,TB)高发国家,严重威胁人民生命健康,而 TB 又是 HIV/AIDS 较常见和先发生的机会性感染。我国 TB 病疫情的卷土重来,其中一个重要的原因就是获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的流行,TB 病加重人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者的病程发展,AIDS 的流行促进了 TB 菌的传播,因此,HIV 和 TB 的双重感染被认为是一种致死性的结合模式,已经成为我国公共卫生的重大问题^[1-2]。同时耐

药结核分枝杆菌株特别是耐多药结核分枝杆菌[至少同时耐异烟肼(INH)和利福平(RFP)]的逐渐增多使得 TB 的全球传播变得更加难以防控。大多数学者认为,结核分枝杆菌快速检测、耐药性筛查及新型抗结核药物的研发是 TB 病防治的关键。然而,常规耐药性检测方法耗时过久,严重影响临床治疗的实际需要;快速培养测定系统虽然可明显减少时间,但仍需 4~8 d,且仪器设备及检测试剂昂贵;分子生物学检测技术虽

^{*} 基金项目:重庆市卫生局资助项目(渝卫科技 2011-2-398)。 作者简介:何茂锐(1979—),副主任医师,主要从事艾滋病防治研究。
[△] 通信作者,E-mail:mqxiang@sina.com。

然准确、灵敏,但操作复杂、对操作者技术要求高,临床推广应用较困难。而近年来逐渐开展的噬菌体生物扩增法(PhaB)具备操作简单、快速,不需特殊仪器设备、对环境污染较小等优点,2~3 d 即可获得结果,又有较高的敏感度和特异度,非常适合我国中小医院及基层医疗机构推广应用。

本研究采用 PhaB 法检测 HIV/TB 双重感染患者痰标本的结核分枝杆菌对常见抗结核药物耐药状况,为防止该类患者耐药结核分枝杆菌的发生及临床治疗优化提供实验依据,现将重庆市第九人民医院 2011—2015 年收治的 112 例 HIV/TB 双重感染患者痰标本所做的结核分枝杆菌耐药检测与同期 208 例 TB 患者的痰标本 TB 耐药检测做对比分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 重庆市第九人民医院 2011—2015 年门诊和住院收治的 HIV/TB 双重感染患者 112 例,其中男 89 例,女 23 例,年龄平均 39.2 岁(17~72 岁);普通 TB 患者 208 例,其中男 152 例,女 56 例,平均年龄 45.6 岁(19~75 岁)。患者主要来自重庆市北碚区、合川区、渝北区、四川省广安市等地区。

1.2 试剂 无淀粉改良罗氏培养基购于青岛海博生物科技公司。INH、RFP、吡嗪酰胺(PZA)购于上海信宜药厂。链霉素(SM)、乙胺丁醇(EMB)购于西南药业公司。Middlebrook 7H9 培养基购于 BD 公司。耻垢分枝杆菌(ATCC607)购于国家菌种保藏中心。硫酸亚铁胺购于 Sigma 公司。分枝杆菌噬菌体 D29 由上海肺科医院赠送。

1.3 研究对象分组方案

1.3.1 入组患者按我国 AIDS 防治指南(2005 版)及肺结核诊疗指南(2013 版)制订的诊断标准纳入,并按试验要求分组如下:HIV/TB 组(痰涂片阳性)112 例;单纯 TB 组(痰涂片阳性)208 例。

1.3.2 抗结核药物耐药分类标准 初始性耐药:既往未进行过抗结核治疗或接受抗结核治疗不满 1 个月发生的抗药物耐药。获得性耐药:既往进行抗结核治疗 1 个月以上发生的抗结核药物耐药。多重耐药:同一标本出现 2 种或 2 种以上抗结核药物耐药。

1.4 检测方法

1.4.1 PhaB 法 取 0.1 mL 噬菌体与待检菌液混匀作用约 1 h,然后加入 0.1 mL 杀毒剂,混匀,室温作用约 10 min,再加入 5 mL 改良罗氏培养基和 1 mL 指示细胞,混匀后与等量熔化琼脂混合浇注平板,冷却、成形后置 37 ℃ 培养 18~24 h,最后观察平板有无出现噬菌斑并计数。每次检测均设噬菌体对照、杀毒剂对照、阴性及阳性对照。结果观察:肉眼观察,数出平板

上的噬菌斑,同一平板上的噬菌斑数至少经过 2 人确认。耐药性判断:计算每个菌株的加药管与对照管的噬菌斑减少率(加药管噬菌斑个数/对照管噬菌斑个数×100%),敏感为噬菌斑减少率大于或等于 95%,反之为耐药。

1.4.2 绝对浓度法 参照中国防痨协会制订的操作规程^[2],用 pH 值约为 5.5 的改良罗氏固体培养基,进行常规细菌的绝对浓度法 5 种抗结核药物耐药性检测,药物终浓度分别为 INH 1 μg/mL, RFP 50 μg/mL, PZA 100 μg/mL, EMB 5 μg/mL, SM 10 μg/mL。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对所有检验结果进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PhaB 检测 5 种抗结核药耐药性结果 HIV/TB 组与单纯 TB 组 5 种抗结核药的耐药率:HIV/TB 耐药率分别为 INH 7.14%、PZA 7.14%、RFP 5.36%、SM 5.36%、EMB 4.46%。单纯 TB 组耐药分别为 RFP 17.31%、INH 13.46%、PZA 11.54%、EMB 10.58%、SM9.62%。其中 RFP 的耐药率低于单纯 TB 组,差异有统计学意义($P<0.05$),其余 4 种抗结核药耐药率与单纯 TB 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 TB/HIV 和单纯 TB 的耐药率比较					
药物	单纯 TB 组($n=208$)		HIV/TB 组($n=112$)		χ^2 P
	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	
INH	28	13.46	7	7.14	3.89 >0.05
RFP	36	17.31	6	5.36	9.12 <0.05
PZA	24	11.54	7	7.14	2.33 >0.05
EMB	22	10.58	5	4.46	3.52 >0.05
SM	20	9.62	6	5.36	1.77 >0.05

表 2 TB/HIV 和单纯 TB 患者的初始、获得、多重及总耐药率比较[$n/n(\%)$]				
组别	初始耐药	获得耐药	多重耐药	总耐药
TB/HIV	20/87(22.99)	7/25(28.00)	4/112(3.57)	27/112(24.11)
单纯 TB	40/135(29.63)	34/73(46.58)	41/208(19.71)	74/208(35.58)
χ^2	1.18	2.64	15.69	4.43
P	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

表 3 208 例单纯 TB 患者 PhaB 法与绝对浓度法 5 种抗结核药物耐药性检测结果比较

噬菌体法	绝对浓度法(INH)			绝对浓度法(RFP)			绝对浓度法(PAS)			绝对浓度法(EMB)			绝对浓度法(SM)		
	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计
敏感株(n)	179	1	180	171	1	172	180	4	184	181	5	186	184	5	189
耐药株(n)	2	26	28	3	33	36	5	19	24	2	20	22	4	15	19
合计(n)	181	27	208	174	34	208	185	23	208	183	25	208	188	20	208
敏感度(%)	92.9			91.7			79.2			90.9			78.9		
特异度(%)	99.4			99.4			97.8			97.3			97.4		
阳性预测值(%)	96.3			97.1			82.6			80.0			75.0		
阴性预测值(%)	98.9			98.3			97.3			98.9			97.9		
准确率(%)	98.6			98.1			95.7			96.6			95.6		

表 4 112 例 HIV/TB 患者 PhaB 法与绝对浓度法 5 种抗结核药耐药性检测结果比较

噬菌体法	绝对浓度法(INH)			绝对浓度法(RFP)			绝对浓度法(PZA)			绝对浓度法(EMB)			绝对浓度法(SM)		
	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计	敏感株	耐药株	合计
敏感株(<i>n</i>)	103	2	105	105	1	106	104	1	105	102	5	107	104	2	106
耐药株(<i>n</i>)	2	5	7	1	5	6	3	4	7	2	3	5	2	4	6
合计(<i>n</i>)	105	7	112	106	6	112	107	5	112	104	8	112	106	6	112
敏感度(%)	71.4			83.3			57.1			60.0			66.7		
特异度(%)	98.1			99.1			99.0			95.3			98.1		
阳性预测值(%)	71.4			83.3			80.0			37.5			66.7		
阴性预测值(%)	98.1			98.1			97.2			98.1			98.1		
准确率(%)	96.4			98.2			96.4			93.8			96.4		

2.2 2 组患者初始、获得与总耐药率 HIV/TB 组初始耐药率为 22.99%，获得耐药率为 28.00%，多重耐药率为 3.57%，总耐药率为 24.11%；单纯 TB 组初始耐药率、获得耐药率、多重耐药率、总耐药率分别为 29.63%、46.58%、19.71%、35.58%。两组比较其中多重耐药率、总耐药率差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 2。

2.3 PhaB 检测单纯 TB 组患者 5 种抗结核药物耐药性结果和绝对浓度法检测结果对比 分别用 PhaB 法和绝对浓度法检测 208 份单纯 TB 患者痰标本 5 种抗结核药物耐药性。以绝对浓度法检测结果为检测标准，则 PhaB 法对 5 种抗结核药耐药性检测的敏感度、特异度和准确率分别为：INH 92.9%、99.4%、98.6%，RFP 91.7%、99.4%、98.1%，PZA 79.2%、97.8%、95.7%，EMB 90.9%、97.3%、96.6%、SM，78.9%、97.4%、95.6%，提示 PhaB 法检测结果和经典的绝对浓度法高度一致，见表 3。

2.4 PhaB 检测 HIV/TB 组患者 5 种抗结核药物耐药性结果和绝对浓度法检测结果对比 分别用 PhaB 法和绝对浓度法检测 112 份 HIV/TB 患者痰标本 5 种抗结核药耐药性。以绝对浓度法检测结果为判断标准。则 PhaB 法对 5 种抗结核药耐药性检测的敏感度、特异度和准确率分别为 INH 71.4%、98.1%、96.4%，RFP 83.3%。99.1%。98.2%，PZA 57.1%、99%、96.4%，EMB 60%、95.3%、93.8%，SM 66.7%、98.1%、96.4%，见表 4。

3 讨 论

目前我国 TB 发病人数仅次于印度居世界的第 2 位，疫情十分严峻。同时随着 AIDS 在我国的逐渐流行，该类患者细胞免疫功能低，HIV 病毒破坏机体的 CD4⁺T 淋巴细胞及巨噬细胞的正常免疫功能，可导致感染者发生内源或外源性的 TB 菌感染，从而导致 AIDS 合并 TB 患者逐渐增多，有研究显示，HIV 感染可使 TB 的发病率增加 30 倍^[3]。反之，结核分枝杆菌感染可激活 CD4⁺T 淋巴细胞，为 HIV 病毒复制提供更多宿主细胞，加速 AIDS 病情进展。因此，AIDS 的流行已成为我国 TB 死灰复燃的主要原因。国内外有学者调查显示 HIV/TB 感染者对抗结核药物的耐药性高于 HIV 阴性者，其中以 RFP 和 INH 最为突出，Yoshiyama 等^[4]于 1996—1998 年的 25 个月期间在泰国北部的 ChiangRai 省，Haar 等^[5]于 1993—2001 年间在荷兰调查 HIV/TB 的耐药情况，结果发现 HIV 阳

性患者 TB 获得性耐药发病率高于 HIV 阴性者。郑献民^[6]对河南省某 AIDS 高发地区 HIV 感染合并耐多药肺结核的成因进行调查，结果显于 24 例 HIV(+)合并耐多药患者均为获得性耐多药。而本研究显示本地区 TB/HIV 双重感染者结核分枝杆菌对 INH、RFP、SM、PZA、EMB 耐药率比单纯 TB 患者低，且其中对 RFP 的耐药率差异有统计学意义($P<0.05$)。本研究还显示 HIV/TB 双重感染者多重耐药率、总耐药率也低于单纯 TB 患者，差异有统计学意义($P<0.05$)。因此本研究结果考虑与如下因素有关：(1)与依从性的教育差别有关：笔者在 TB/HIV 双重感染者初次就诊时即重视服药依从性教育，绝大多数 TB/HIV 双重感染者服药依从性可达到 90%以上，良好的服药依从性是 TB/HIV 双重感染者耐药率降低的主要原因，而单纯 TB 患者因对疾病本身重视不足等原因导致服药依从性较差，提示要降低普通 TB 患者的耐药率需要加强对患者的依从性教育。(2)HIV 感染者出现肺外 TB 可能性较高，有学者统计其发生率达 54.8%^[7]，如果肺外 TB 按普通 TB 治疗，常因为疗程不足导致复发，进而诱导耐药的发生，而 TB/HIV 双重感染者往往抗结核治疗疗程足，因此耐药率较低。(3)早期诊断的重要性：本院对于 TB 或 HIV 患者均进行 HIV 和结核的筛查，这样对于无明显症状的 HIV/TB 患者可早期诊断，尽早治疗，从而减少耐药的发生。(4)AIDS 规范化治疗对 TB 治疗的影响：目前，我国对 AIDS 患者进行免费 HARRT 治疗，要求患者在专科医生指导下规律用药，全程监管，这对于合并 TB 的患者进行抗 TB 治疗亦有一定作用。因此，对于 TB/HIV 双重感染者，应在有经验的医务人员按照抗结核治疗用药原则即早期、联合、适量、规律、全程指导下进行治疗，整个治疗期间重视依从性教育，减少耐药性的产生。

PhaB 是一种操作简单、费用低廉、快速地检测结核耐药的新方法，与常规结核耐药性检测结果符合率高，目前认为这是一种极具发展前景的新方法^[8]。其基本原理是：对于生长缓慢的结核分枝杆菌和快速生长的耻垢分枝杆菌，分枝杆菌噬菌体 D29 均能感染。当抗结核药物与结核杆菌作用一定时间后，敏感株因被抗结核药物杀死，而耐药菌能继续生长，并被随后加入的噬菌体所感染，随后加入杀毒剂杀死未能感染结核分枝杆菌的噬菌体。而进入菌体内的噬菌体不受影响，从而在菌体内大量繁殖，并将结核分枝杆菌裂解，释放出的噬菌体可立即感染随后加入的耻垢分枝杆菌(指示菌)并使其裂解，由于指示菌繁殖迅速，所以 24 h 观察到在培养皿上会出(下转第 3225 页)

ol,with midazolam,for outpatient colonoscopy;analgesia, sedation,and safety[J]. Dig Dis Sci,2006,51(11):1946-1951.

[5] Lee H, Kim JH. Superiority of split dose midazolam as conscious sedation for outpatient colonoscopy[J]. World J Gastroenterol,2009,15(30):3783-3787.

[6] Jin EH, Hong KS, Lee Y, et al. How to improve patient satisfaction during midazolam sedation for gastrointestinal endoscopy? [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23 (6): 1098-1105.

[7] Khalid-De BC, Jonkers DM, Hameeteman W, et al. Cardiopulmonary events during primary colonoscopy screening in an average risk population[J]. Neth J Med,2011, 69(4):186-191.

[8] Yetkin G, Oba S, Uludag M, et al. Effects of sedation during upper gastrointestinal endoscopy on endocrine response and cardiorespiratory function[J]. Braz J Med Biol Res,2007,40(12):1647-1652.

[9] Denzer U, Mollenhauer M, Kanzler S, et al. Prospective comparison of cardiopulmonary events during minilaparoscopy and colonoscopy under conscious sedation[J]. Endoscopy,2005,37(5):460-465.

[10] Chung JI, Kim N, Um MS, et al. Learning curves for colonoscopy:a prospective evaluation of gastroenterology fellows at a single center[J]. Gut Liver,2010,4(1):31-35.

[11] Kim YH, Kim JW, Lee KL, et al. Effect of midazolam on cardiopulmonary function during colonoscopy with conscious sedation[J]. Dig Endosc,2014,26(3):417-423.

[12] Ma WT, Mahadeva S, Quek KF, et al. Tolerance and safety to colonoscopy with conscious sedation in Malaysian adults[J]. Med J Malaysia,2007,62(4):313-318.

[13] Pambianco DJ, Whitten CJ, Moerman A, et al. An assessment of computer-assisted personalized sedation;a sedation delivery system to administer propofol for gastrointestinal endoscopy[J]. Gastrointest Endosc,2008,68(3):542-547.

[14] Ristikankare M, Julkunen R, Mattila M, et al. Conscious sedation and cardiorespiratory safety during colonoscopy [J]. Gastrointest Endosc,2000,52(1):48-54.

[15] Gasparovic S, Rustemovic N, Opacic M, et al. Comparison of colonoscopies performed under sedation with propofol or with midazolam or without sedation[J]. Acta Med Austriaca,2003,30(1):13-16.

[16] Levy Vstad RZ. Morphine and midazolam levels in plasma during sedation of critically ill patients [J] Clin Intens Care,2011,7(6):282-290.

[17] Kotze DA, Klebe E, Sommers DK. Dose-sparing effect of midazolam on etomidate when inducing hypnosis[J]. Clin Drug Invest,2000,20(5):385-389.

(收稿日期:2017-03-30 修回日期:2017-04-21)

(上接第 3221 页)

现明显噬菌斑。因此,只要根据噬菌斑的有无及数量的多少即可判断待检菌株的耐药性^[9]。目前,国内尚未见用该方法对 HIV/TB 双重感染者进行耐药性检测研究的报道。本研究显示:PhaB 法具有较高的敏感度、特异度,与 Sharma 等^[10]研究结果相符。本研究结果与常规绝对浓度法比较,所需的时间仅为 3 d,大大快于常规检测方法,且成本较低,操作简单。由于条件限制,本研究未对两种方法结果不符的标本进行最低抑菌浓度(MIC)和基因芯片方法检测。同时该方法可简便、快速获得药敏试验结果^[11],能基本满足临床诊治要求,肉眼即可观察结果,不需特殊仪器设备,成本低廉,便于在中小医院及基层医疗机构推广应用^[12]。对及时筛查耐药的肺结核患者有重要的临床应用价值。此外,利用该法进行检测中耐药菌株被完全裂解,不易造成院内感染和环境污染,对耐药结核分枝杆菌预防和控制极为有利。

参考文献

[1] 林艳荣,许丁空,汤卓. HIV/TB 双重感染结核分枝杆菌耐多药现状[J]. 内科,2009,4(1):83-85.

[2] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程[J]. 中国防痨杂志,1996,18(1):28.

[3] 刘德纯. 艾滋病病理学[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2002:146.

[4] Yoshiyama T, Supawitkul S, Kunyanone N, et al. Prevalence of drug-resistant tuberculosis in an HIV endemic area in northern Thailand[J]. Int J Tuberc Lung Dis,2001, 5(1):32-39.

[5] Haar CH, Cobelens FG, Kalisvaart NA, et al. Tuberculo-

sis drug resistance and HIV infection, the Netherlands [J]. Emerg Infect Dis,2007,13(5):776-778.

[6] 郑献民. 艾滋病合并结核病与 CD4⁺之间关系的临床分析[J]. 中国民康医学,2005,17(4):135-136.

[7] Kangombe CT, Harries AD, Ito K, et al. long-term outcome in patients registered with tuberculosis in Zomba Malawi; mortality at 7 years according to initial HIV status and type of TB[J]. Int J Tuberc Lung Dis,2004,8 (7):829-836.

[8] Mcnerney R, Wilson SM, Sidhu AM, et al. Inactivation of mycobacteriophage D29 using ferrous ammonium sulphate as a tool for the detection of viable Mycobacterium smegmatis and M. tuberculosis[J]. Res Microbiol,1998,149 (7):487-495.

[9] 胡忠义,倪莲娣,靳安佳,等. 噬菌体生物扩增法快速检测结核分枝杆菌方法学研究[J]. 中华结核和呼吸杂志,2004,27(12):801-805.

[10] Sharma SK, Mohan A, Kadiravan T, et al. HIV-TBco-infection;epidemiogy,diagnosis and management[J]. Indian J Med Res,2005,121(4):550-567.

[11] 彭丽,罗永艾,王国治. 噬菌体生物扩增法快速检测结核分枝杆菌标准化研究[J]. 中华结核和呼吸杂志,2004,27 (12):806-810.

[12] 靳安佳,王洁,胡忠义,等. 噬菌体生物扩增法检测肺结核患者痰标本临床应用研究[J]. 中华检验医学杂志,2005, 28(8):807-808.

(收稿日期:2017-02-02 修回日期:2017-03-23)