

本文引文格式:罗兰波,黄丽花,周游,等.靶向高通量测序技术在结核分枝杆菌及其耐药性快速检测中的应用[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):87-91,110.

【论著与临床报道】

靶向高通量测序技术在结核分枝杆菌及其耐药性快速检测中的应用

罗兰波¹,黄丽花¹,周游¹,胡敏¹,眭文娴¹,陈桂彬¹,石柳春²,杨小兵³

(1. 广西壮族自治区胸科医院医学检验科,广西 柳州 545005;

2. 广西壮族自治区胸科医院公卫中心,广西 柳州 545005;

3. 广西壮族自治区胸科医院科教科,广西 柳州 545005)

摘要:目的 评价运用靶向高通量测序(tNGS)检测临床标本结核分枝杆菌(MTB)及其耐药性的价值。方法 回顾性分析2022年1月1日至2023年12月31日在广西胸科医院收治的疑似耐药肺结核患者的痰样本或气管肺泡灌洗液(BALF)样本213例进行tNGS,并将结果与传统培养及表型药物敏感性试验(DST)、快速分子技术进行比较,以表型DST为标准,进一步分析tNGS对抗结核药物耐药性的敏感度、特异度、准确度、Kappa值。结果 213例临床标本(痰液、BALF)传统培养结核分枝杆菌检出率为64.32%(137/213),tNGS法结核分枝杆菌检出率为96.24%(205/213),快速分子方法结核分枝杆菌检出率为74.18%(158/213),tNGS法检测MTB的阳性检出率最高,明显高于快速分子方法($\chi^2=41.149, P<0.001$)和传统培养($\chi^2=68.568, P<0.001$)。与137例有表型药敏结果比较,表型药敏试验与tNGS对利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、对氨基水杨酸、卡那霉素、卷曲霉素的耐药检出率,差异均无统计学意义($P>0.05$);以表型药敏结果为金标准,tNGS法检测利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、对氨基水杨酸、氟喹诺酮类、卡那霉素、卷曲霉素的敏感度分别为95.97%、87.37%、71.70%、74.47%、0、82.76%、50.00%及100%;特异度分别为92.31%、97.62%、97.62%、91.11%、100%、97.22%、100%和99.26%;准确度分别为95.62%、90.51%、87.59%、85.40%、99.27%、94.16%、97.81%及99.27%;Kappa值分别为0.776、0.792、0.726、0.669、—、0.821、0.657和0.796。**结论** tNGS法可以直接从临床标本中快速准确地检测结核分枝杆菌,预测利福平、异烟肼、氟喹诺酮类、卷曲霉素、链霉素、乙胺丁醇、卡那霉素和对氨基水杨酸等抗结核药物耐药性的准确度达到85%以上,对利福平、异烟肼、氟喹诺酮类药物、卷曲霉素的耐药性诊断有较好的应用价值。

关键词:靶向高通量测序;结核分枝杆菌;耐药

中图分类号:R378.911

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)01-0087-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.015

Application of targeted next-generation sequencing technology in the rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and its drug resistance

LUO Lanbo¹, HUANG Lihua¹, ZHOU You¹, HU Min¹, SUI Wenxian¹,
CHEN Guibin¹, SHI Liuchun², YANG Xiaobing³

(1. Department of Medical Laboratory, Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 2. Public Health Center, Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 3. Department of Science and Education, Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the value of targeted next-generation sequencing (tNGS) in detecting *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and its drug resistance in clinical specimens. **Methods** A retrospective a-

基金项目:广西科技重大专项(AA22096027);广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2021031)

第一作者:罗兰波,主管技师,研究方向:结核分子检测,E-mail:31658561@qq.com

通讯作者:杨小兵,主任技师,研究方向:结核分子检测,E-mail:42225686@qq.com

analysis was conducted of 213 sputum samples or bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples from patients with suspected drug-resistant pulmonary tuberculosis admitted to Guangxi Zhuang Autonomous Region Chest Hospital from January 1, 2022, to December 31, 2023. These samples underwent tNGS and the results were compared with those of traditional culture and phenotypic drug susceptibility testing (DST), as well as rapid molecular techniques. Using phenotypic DST as the gold standard, the sensitivity, specificity, accuracy, and Kappa values of tNGS for detecting resistance to anti-tuberculosis drugs were further analyzed. **Results** Among the 213 clinical specimens (sputum and BALF), the detection rate of MTB by traditional culture was 64.32% (137/213), while the detection rate by tNGS was 96.24% (205/213) and by rapid molecular methods was 74.18% (158/213). The positive detection rate of MTB by tNGS was the highest, significantly higher than that by rapid molecular methods ($\chi^2 = 41.149, P < 0.001$) and traditional culture ($\chi^2 = 68.568, P < 0.001$). When compared with the phenotypic DST results of 137 specimens, there were no statistically significant differences in the detection rates of resistance to rifampin, isoniazid, streptomycin, ethambutol, fluoroquinolones, para-aminosalicylic acid, kanamycin, and capreomycin between phenotypic DST and tNGS ($P > 0.05$). Taking phenotypic DST as the gold standard, the sensitivity of tNGS for detecting resistance to rifampin, isoniazid, streptomycin, ethambutol, para-aminosalicylic acid, fluoroquinolones, kanamycin, and capreomycin was 95.97%, 87.37%, 71.70%, 74.47%, 0%, 82.76%, 50.00%, and 100%, respectively; the specificity was 92.31%, 97.62%, 97.62%, 91.11%, 100%, 97.22%, 100%, and 99.26%, respectively; the accuracy was 95.62%, 90.51%, 87.59%, 85.40%, 99.27%, 94.16%, 97.81%, and 99.27%, respectively; and the Kappa values were 0.776, 0.792, 0.726, 0.669, —, 0.821, 0.657, and 0.796, respectively. **Conclusion** tNGS can rapidly and accurately detect MTB directly from clinical specimens and predict resistance to anti-tuberculosis drugs such as rifampin, isoniazid, fluoroquinolones, capreomycin, streptomycin, ethambutol, kanamycin, and para-aminosalicylic acid with an accuracy of over 85%. It has good application value in diagnosing drug resistance to rifampin, isoniazid, fluoroquinolones, and capreomycin.

Key words: targeted next-generation sequencing; *Mycobacterium tuberculosis*; drug resistance

在全球范围内,结核病仍然是一个巨大的公共卫生问题。2021 年全球估计新增 1 060 万人(95% CI: 990 万~1100 万)患上结核病,耐药结核病的出现和传播是 2035 年结束全球结核病流行这一目标的主要威胁^[1]。耐药结核病(DR-TB)主要指耐利福平结核病(RR-TB)以及耐多药结核病(MDR-TB)(即对利福平和异烟肼都产生耐药的结核病)。2022 年报告显示,我国共有 12 846 例 MDR/RR-TB 患者开始接受治疗,但是 2019 年开始治疗的 MDR/RR-TB 患者的治疗成功率仅为 53%^[1],稍低于全球耐药结核病治疗成功率(60%)。因此,快速准确鉴定 DR-TB 患者对指导早期临床用药,提高治愈率具有重要意义。DR-TB 的药敏试验目前有快速分子检测、表型药敏检测及测序技术^[2]。当前,结核病的实验室诊断技术不断进步,从传统抗酸染色、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)培养、体外药敏等经典细菌学检查发展成包括结核免疫学、分子生物学检测及结核病辅助检测等多方面的结核病临床检验体系。现有的商业化耐药结核检测方法包括 XpertMTB/RIF assay、线性探针技术、基因芯片技术、探针-熔解曲线技术等,已经能一定程度上提高耐药结核的诊断及时率和准确

率,但是对于组合抗结核药物的使用情况以及后继耐药出现的监测上目前分子检测技术还存在仅检测部分药物的耐药突变基因,无法确定异质性耐药比例,有些突变(同义突变、沉默突变等)不会影响耐药以及未覆盖所有的耐药突变位点等缺点。靶向高通量测序属于高通量测序技术的一种,高通量测序泛指二代测序技术和三代测序,也被统称为新一代测序技术(next generation sequencing, NGS)。依据检测策略的不同,高通量测序方法主要分为靶向测序(targeted tNGS)、宏基因组(metagenomics NGS),以及全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)。tNGS 先通过靶向捕获特定基因后再进行高通量测序,具有能同时平行检测多个靶基因的特点,近期在 MTB 耐药基因检测领域开始被应用^[3]。现有证据支持对确诊的结核病患者采用 tNGS 技术进行快速诊断耐药,以为结核病治疗方案的制定提供更全面的耐药谱,提高化疗方案制定的精准性^[4]。随着测序技术的成熟及成本的降低,基因组测序已在 MTB 的研究中发挥了巨大的作用^[5-6]。综合以上考虑,选取了靶向高通量测序作为本次研究的主要检测手段。本研究对广西壮族自治区胸科医院 2022 年 1 月至 2023 年 12 月运用 tNGS 技术

直接检测疑似耐药结核患者的痰、支气管肺泡灌洗液(BALF)等标本,并将结果与传统培养、快速分子技术检测结果进行比较分析,评价运用 tNGS 检测临床标本结核分枝杆菌及其耐药性的价值。

1 材料和方法

1.1 研究材料 2022 年 1 月至 2023 年 12 月在广西壮族自治区胸科医院结核利福平快筛检测阳性的 213 例疑似耐药结核患者的临床标本,其中 124 例痰液标本、89 例 BALF 标本。每例样本留取 3 份,1 份进行传统的分枝杆菌培养、菌种鉴定和表型药敏试验,1 份进行 tNGS 检测 MTB 及其耐药性检测,另 1 份进行快速分子方法(Xpert MTB/RIF 或荧光 PCR 熔解曲线法)检测。

1.2 仪器与试剂 改良罗氏培养基、噻吩-2 羧酸肼(TCH)、对硝基苯甲酸(PNB),以及利福平(RFP)、异烟肼(INH)等抗结核药物含药培养基购自珠海贝索生物技术有限公司;至善 Lab-Aid824s 核酸提取仪、MTB 的 REP 和 INH 药物荧光定量 PCR 探针熔解曲线法耐药性检测试剂盒、实时荧光定量 PCR 仪(SLAN-96S 型)及熔解曲线分析软件为厦门致善生物科技股份有限公司产品。美国 Cepheid 公司的 Xpert MTB/RIF 实时荧光 PCR 仪及配套检测试剂盒。高通量测序仪 MGISEq200、纳米孔测序仪 ONT MinION 及思可愈 TBseq 检测试剂盒。

1.3 试验方法

1.3.1 分枝杆菌培养、菌种鉴定和表型药敏试验 对临床标本进行处理后,接种于珠海贝索生物技术有限公司生产的改良罗氏培养基(批号 202307261650081030001),置 37 °C 进行分枝杆菌培养。分枝杆菌培养阳性的分离株采用 PNB(珠海贝索生物技术有限公司生产,批号 202312211046336900004)和 TCH(批号 202308171638306700004)含药培养基进行鉴别培养,待鉴定为 MTB 后,进行表型药敏试验比例法。表型药敏试验采用珠海贝索生物技术有限公司生产的药敏培养基(批号 202308171638306700004),该试验涉及的药物种类包括利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、对氨基水杨酸、氧氟沙星、卡那霉素和卷曲霉素等 8 种。

1.3.2 DNA 制备及加样 临床标本经液化和洗涤处理后,采用至善 Lab-Aid824s 核酸提取仪和核酸提取试剂,按照说明书进行 DNA 提取,然后置于 -20 °C 储存备用。

1.3.3 PCR 熔解曲线法 RFP/INH 耐药性检测 厦门致善生物科技股份有限公司研发的利福平(批号 22120501)、异烟肼(批号 22120601)耐药检测试剂盒,将提取好的核酸按照说明书进行 MTB 对 RFP 和 INH 耐药性检测。

1.3.4 Xpert MTB/RIF 检测 取 1 mL 痰液或其它样本加入 2 mL 标本处理液,按照操作规程将处理好的样本加入检测盒(瑞典赛沛公司生产的结核分枝杆菌 *rpoB* 基因和突变检测试剂盒,批号 1000654374),置于 GeneXpert 检测模块自动检测,针对结核分枝杆菌利福平耐药 *rpoB* 基因检测其突变情况。

1.3.5 tNGS 检测 多重 PCR、文库制备和测序: NanoTNGS 检测的文库制备涉及两步聚合酶链式反应(PCR)过程。第一步 PCR 中,30 μ L 的 PCR 混合液包括 50 ng 的 DNA 提取物、3 μ L 浓度为 0.2 pmol/ μ L 的引物和 15 μ L 的多重 PCR 母液(货号 BR0200801, Biotechrabbit GmbH, 柏林, 德国)。引物设计用于靶向 16S rDNA 和 *hsp65* 以鉴定分枝杆菌种类,并靶向 *rpoB*、*katG*、*thyA*、*ahpC*、*alr*、*eis*、*embA*、*embB*、*ethA*、*folC*、*gibB*、*gyrA*、*gyrB*、*inhA*、*pncA*、*rplC*、*rpsL*、*rrs*、*rv0678*、*atpE* 和 *tlyA* 以预测耐药基因。扩增反应如下:在 95 °C 下预变性 3 min,随后进行 35 个循环的变性(95 °C、15 s),退火(60 °C、45 s),延伸(72 °C、15 s),最后在 72 °C 下延伸 3 min。从第一次扩增步骤中获得的产物然后使用相同的多重 PCR 母液进行纳米孔 PCR 条形码扩展。这一步的反应条件为:在 95 °C 下预变性 3 min,随后进行 35 个循环的变性(95 °C、30 s),退火(64 °C、30 s),延伸(72 °C、1 min),最后在 72 °C 下延伸 3 min。在这个过程中,为了评估纯化文库的浓度,本课题组使用了 Equalbit 1 \times dsDNA HS 检测试剂盒(货号 EQ121-01, 南京微测生物科技有限公司)。端修复使用了 VAHTS 通用端修复模块(货号 N203, 南京微测生物科技有限公司)中的端修复混合物 4。接头连接使用了 VAHTS 通用 DNA 文库制备试剂盒(Illumina V3, 货号 ND607, 南京微测生物科技有限公司)中的快速 DNA 连接酶和快速连接缓冲液。文库构建使用了连接测序试剂盒 V14(SQK-LSK114, Oxford Nanopore Technologies, 英国牛津)。每次扩增步骤后都使用 VAHTS DNA 纯化珠(货号 N411-01, 南京微测生物科技有限公司)进行纯化。最后,将 12 μ L 的混合文库加载到纳米孔流动单元(R9.4.1)中,在 GridION 测序平台上进行测序。基础调用数据使用 MinKNOW 2.0 版本生成,小尺寸和/或低质量的读数使用 NanoFilt 移除。当至少一个读数映射到物种或属水平时,认为结核分枝杆菌呈阳性^[7]。通过靶向纳米孔测序检测到的抗生素耐药基因使用综合抗生素耐药数据库(CARD)、ResFinder 或 TBProfiler 数据库进行预测,默认对齐设置为($\geq 80\%$ 的身份率覆盖 $\geq 60\%$ 的目标基因长度^[8]。变异调用的阈值设定为等位基因频率 $> 10\%$,深度 > 10 ,等位基因深度 > 5 ^[9]。

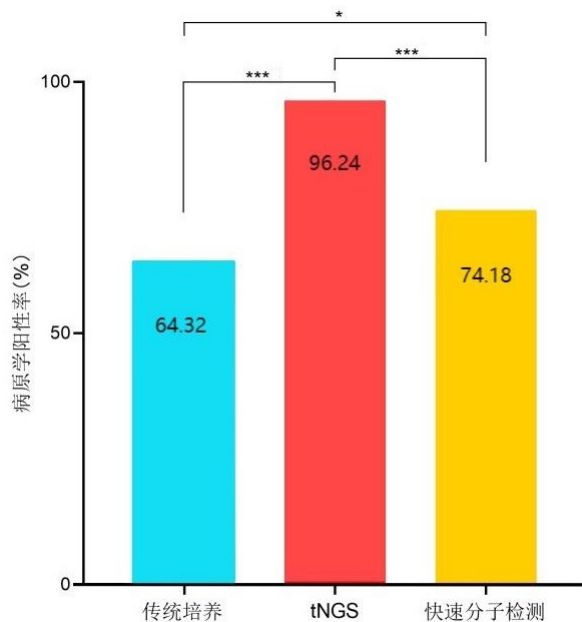
1.4 统计学方法 用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料采用频数(n)和百分数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以表型药敏试验结果为金标准,计算 tNGS 和荧光 PCR 溶解曲线法的敏感度、特异度、符合率和 Kappa 值。Kappa 值 ≥ 0.75 说明一致性好;Kappa 值 < 0.4 说明一致性差; $0.75 > \text{Kappa 值} \geq 0.4$,说明一致性一般^[10]。

2 结果

2.1 不同检测方法对结核分枝杆菌(MTB)检出率的比较 213 例临床标本(痰液、BAL),传统培养结果为 74 例培养阴性,139 例培养阳性。对阳性菌株进行 PNB 和 TCH 菌种鉴定结果是非结核分枝杆菌 2 株、结核分枝杆菌 137 株,结核分枝杆菌检出率为 64.32% (137/213);tNGS 法检测结果为非结核分枝杆菌 1 例、阴性 7 例、结核分枝杆菌 205 例,结核分枝杆菌检出率为 96.24% (205/213)。快速分子方法检测结果为结核分枝杆菌 158 例,阴性 55 例,结核分枝杆菌检出率为 74.18% (158/213)。tNGS 法检测 MTB 的阳性检出率最高,明显高于快速分子方法($\chi^2 = 41.149$, $P < 0.001$)和传统培养($\chi^2 = 68.568$, $P < 0.001$)。见图 1。

2.2 137 例 tNGS 与表型药敏方法对 MTB 的检出阳性率及抗结核耐药性检出结果比较 213 例临床标本中,有 137 例同时有 tNGS 与表型药敏法的 MTB 检

出率及抗结核耐药性药敏结果。以这 137 例标本做为研究对象,表型药敏试验与 tNGS 对利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、对氨基水杨酸、卡那霉素、卷曲霉素的耐药检出率,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。以表型药敏试验结果为标准,tNGS 法检测利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、对氨基水杨酸、氟喹诺酮类、卡那霉素、卷曲霉素的敏感度,见表 2。



注: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 213 例临床标本传统培养、tNGS 及快速分子检测 MTB 结果比较

表 1 tNGS 与表型药敏法的耐药性检出结果比较

检测方法	n	利福平	异烟肼	链霉素	乙胺丁醇	氟喹诺酮类	对氨基水杨酸	卡那霉素	卷曲霉素
表型药敏试验	137	124(90.51)	95(69.34)	53(38.69)	47(34.31)	29(21.17)	1(0.73)	6(4.38)	2(1.46)
tNGS	137	120(87.59)	84(61.31)	40(29.20)	43(31.39)	27(19.71)	0(0.00)	3(2.19)	3(2.19)
χ^2		0.599	1.950	2.751	0.265	0.090	—	0.460	0.000
P		0.439	0.163	0.097	0.607	0.764	1.000	0.498	1.000

注:表内计数资料数据用[n (%)]表示。

表 2 tNGS 法检测结核分枝杆菌耐药性的效能

检测药物	药敏试验		敏感度 (%,95% CI)	特异度 (%,95% CI)	准确度 (%,95% CI)	Kappa 值	P	
	耐药	敏感						
利福平	耐药	119	1	95.97(92.51~99.43)	92.31(77.82~100.00)	95.62(92.19~99.05)	0.776	< 0.001
	敏感	5	12					
异烟肼	耐药	83	1	87.37(80.69~94.05)	97.62(93.01~100.00)	90.51(85.60~95.42)	0.792	< 0.001
	敏感	12	41					
链霉素	耐药	38	2	71.70(59.57~83.83)	97.62(94.36~100.00)	87.59(82.07~93.11)	0.726	< 0.001
	敏感	15	82					
乙胺丁醇	耐药	35	8	74.47(62.00~86.93)	91.11(85.23~96.99)	85.40(79.49~91.31)	0.669	< 0.001
	敏感	12	82					

表 2(续) tNGS 法检测结核分枝杆菌耐药性的效能

检测药物	药敏试验		敏感度 (%,95% CI)	特异度 (%,95% CI)	准确度 (%,95% CI)	Kappa 值	P	
	耐药	敏感						
对氨基水杨酸	耐药	0	0	100(100.00~100.00)	99.27(97.84~100.00)	—		
	敏感	1	136					
氟喹诺酮类	耐药	24	3	82.76(69.01~96.51)	97.22(94.12~100.00)	94.16(90.23~98.09)	0.821	<0.001
	敏感	5	105					
卡那霉素	耐药	3	0	50.00(9.99~90.01)	100.00(100.00~100.00)	97.81(95.36~100.00)	0.657	<0.001
	敏感	3	131					
卷曲霉素	耐药	2	1	100.00(100.00~100.00)	99.26(97.81~100.00)	99.27(97.84~100.00)	0.796	<0.001
	敏感	0	134					

注:对于对氨基水杨酸,由于没有耐药病例,敏感度无法计算,故标为“—”。

3 讨论

中国仍然是全球耐药结核病高负担国家之一。耐药结核病由于早期诊断和治疗存在困难,目前已成为结核病控制的热点和难点之一,明显降低了结核病的治愈率。传统的 MTB 检测技术主要以痰涂片和培养为主,固体培养及药敏试验耗时长,通常需要 2~3 个月,无法达到对结核病患者的及时发现和合理治疗的目的。快速分子诊断技术,如 Xpert MTB/RIF、线性探针技术和焦磷酸测序等,这些方法都是快速检测与耐药性相关的基因突变且只评估有限的基因靶标^[11]。自世界卫生组织指南发布以来,全基因组测序(WGS)和靶向下一代测序(tNGS)方法已被用于预测结核病的耐药性^[12]。本研究数据显示,tNGS 直接检测 213 例疑似耐药结核病患者的临床标本的 MTB 检出阳性率 96.24% 高于 HE Y 等^[13]研究的检出 MTB 阳性率 83.3%,接近 KAMBLIP 等^[14]报道的 MTB 检出阳性率 97.5%。tNGS、传统培养和快速分子技术检测临床标本 MTB 的阳性检出率差异有统计学意义,tNGS 阳性检出率明显高于快速分子技术和传统培养。

本研究通过 Kappa 一致性分析以及计算敏感度、特异度、准确度等,对本研究中同时具有表型药敏结果和 tNGS 检测结果的 137 例临床标本进行分析。本研究结果发现,只有利福平和卷曲霉素敏感度在 95% 以上,其余药物均低于 90%,而特异度均在 90% 以上且高于敏感度。敏感度低于特异度的原因与可能结核分枝杆菌复合群的异质性耐药有关^[15]。COLL F 等^[16]研究中利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇、氟喹诺酮类、卡那霉素及卷曲霉素的敏感度分别为 96.2%、92.8%、87.1%、88.7%、85.5%、87.3% 及 60.7%;特异度分别为 98.1%、100%、89.7%、81.7%、94.9%、93.4% 及 90.7%;准确度分别为 97.4%、96.8%、88.5%、83.9%、91.4%、91.1% 及 83.2%。本研究结果与 COLL F 等^[16]结果对比,发现本研究中卷曲霉素敏感度高于 COLL F 等^[16]研究,利福平和氟喹诺酮类敏感度与之接近,其余药物则略低;特异度则是利福平

接近,其余药物则高于 COLL F 等^[16]研究;准确度相比则是均较为接近。而本研究中有表型结果是耐药而 tNGS 结果则为敏感,分析其原因如下:一是样本来源单一中心,可能不具有全区代表性,与既往研究结果可能存在差异;二是全部检验试验并非同一时间段、使用同一批试剂进行检测,可能存在人为误差;三是检测样本来源虽源于同一患者,但并非同时采集,检测结果也可能存在一定误差。

因此疑似耐药结核患者可根据表型 DST 与 tNGS 联合检测优势互补,通过 tNGS 对 DR-TB 尤其 MDR-TB 做出早期诊断并先进行及时合理的治疗;待表型 DST 结果出来后,经临床综合判断是否需要进一步调整治疗方案。tNGS 可快速准确地识别抗结核药物的耐药性或敏感性,优于传统方法。该技术的临床应用可以及时识别耐药结核病,并为选择合适的抗结核药物提供指导,靶向测序在临床实践中作为一种经济有效且更快速的诊断工具来治疗结核病。分子诊断技术将极大地补充传统方法,为临床提供高效准确的结果。此外,本研究为单中心研究,可能由于样本的地域问题会限制研究结果的可靠性及广泛适用性。接下来,本课题组将开展更大规模的多中心、标准化研究进一步评估其诊断价值。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2022[R/OL]. (2022-10-27)[2025-02-28]. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022.pdf>.
- [2] WHO. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2018 [EB/OL]. [2025-02-28]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275469.pdf>.
- [3] 高通量测序共识专家组. 高通量测序技术在分枝杆菌病诊断中的应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2023, 41(3):175-182.

(下转第 110 页)

参考文献:

- [1] 马剑平. 广西养老服务高质量发展的实践困境与对策研究[J]. 中国市场, 2023, (24): 87-90.
- [2] 邱均平, 邹菲. 关于内容分析法的研究[J]. 中国图书馆学报, 2004, 30(2): 14-19.
- [3] 李瑞昌, 林华旌. 高质量公共政策设计逻辑[J]. 公共行政评论, 2024, 17(1): 105-120.
- [4] ROTHWELL R, ZEGVELD W. An assessment of government innovation policies[J]. Review of Policy Research, 1984, 3(3-4): 436-444.
- [5] RUIZ E M A, YAP S F, NAGARAJ S. Beyond the ceteris paribus assumption: modeling demand and supply assuming omnia mobilis[J]. Social Science Electronic Publishing, 2010, DOI: <http://dx.doi.org/>.
- [6] 郭跃伟, 毛君, 王明永, 等. 基于政策工具的河南省医养结合政策文本分析[J]. 中国卫生事业管理, 2024, 41(2): 225-230.
- [7] 黄伊. 加快推进广西养老服务体系建设的思考[J]. 经济研究参考, 2015(35): 19-22.
- [8] 王艳翠, 田侃. 养老保障体系与养老产业协同发展的策略性应对[J]. 社会福利, 2024(1): 25-32.
- [9] 谷明静, 赖佳燕. 基于 PMC 指数模型的我国省级养老服务政策设计的评价[J]. 闽江学院学报, 2023, 44(3): 68-79.
- [10] 邹钰莹, 娄峥嵘. 中央层面养老服务政策内容量化评价——基于 PMC 指数模型的分析[J]. 电子科技大学学报(社科版), 2020, 22(3): 68-76.
- [11] 周圣焱, 李莉, 井力加, 等. 我国社区居家养老政策文本量化研究[J]. 现代预防医学, 2022, 49(2): 268-272.
- [12] 聂爱霞, 陈寿. 我国养老服务政策思考与研究——基于“十三五”时期国家政策文本量化分析[J]. 秘书, 2022, (3): 14-27.
- [13] 朱笑笑, 糜泽花, 钱爱兵. 政策文献计量视角下江苏省养老服务特征及优化策略[J]. 中国卫生事业管理, 2020, 37(3): 227-231.
- [14] 翟运开, 田远航, 赵栋祥. 政策供需匹配视角下养老产业数字化政策效果评估及提升路径[J]. 中国卫生事业管理, 2023, 40(7): 481-485, 490.
- [15] 黄石松, 孙书彦. 政策工具视角下我国养老服务体系研究[J]. 中国卫生政策研究, 2022, 15(9): 19-26.

收稿日期: 2024-08-30; 修回日期: 2024-10-13

(本文编辑 钟琳)

(上接第 91 页)

- [4] 黄海荣. 世界卫生组织《应用新一代靶向测序技术检测耐药结核菌: 快速通告, 2023》解读[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(10): 921-924.
- [5] SHEA J, HALSE T A, LAPIERRE P, et al. Comprehensive whole-genome sequencing and reporting of drug resistance profiles on clinical cases of *Mycobacterium tuberculosis* in New York State[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(6): 1871-1882.
- [6] KO D H, LEE E J, LEE S K, et al. Application of next-generation sequencing to detect variants of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: genotype-phenotype correlation[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2019, 18(1): 2.
- [7] MIAO Q, MA Y Y, Wang Q Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(suppl_2): S231-S240.
- [8] YONKUS J A, WHITTLE E, ALVA-RUIZ R, et al. “Answers in hours”: a prospective clinical study using nanopore sequencing for bile duct cultures[J]. Surgery, 2022, 171(3): 693-702.
- [9] CRyPTIC Consortium and the 100,000 Genomes Project, Allix-Béguec C, Arandjelovic I, et al. Prediction of susceptibility to first-line tuberculosis drugs by DNA sequencing[J]. N Engl J Med, 2018, 379(15): 1403-1415.
- [10] ROBLEDO C A, YEUNG E H, MENDOLA P, et al. Examining the prevalence rates of preexisting maternal medical conditions and pregnancy complications by source: evidence to inform maternal and child research[J]. Matern Child Health J, 2017, 21(4): 852-862.
- [11] World Health Organization. Global tuberculosis report 2015. twentieth ed [R]. Geneva: World Health Organization, 2015. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/191102>.
- [12] WHO. 2018. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- [13] HE Y, GONG Z Y, ZHAO X K, et al. Comprehensive Determination of *Mycobacterium tuberculosis* and *Non-tuberculous mycobacteria* from targeted capture sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 449.
- [14] KAMBLI P, AJBANI K, KAZI M B, et al. Targeted next generation sequencing directly from sputum for comprehensive genetic information on drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Tuberculosis, 2021, 127: 102051.
- [15] 柳清云, 孙刚, 高谦. 结核分枝杆菌(MTB)异质性耐药研究进展[J]. 复旦学报(医学版), 2013, 40(1): 1-4.
- [16] COLL F, MCNERNEY R, PRESTON M D, et al. Rapid determination of anti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences[J]. Genome Med, 2015, 7(1): 51.

收稿日期: 2024-07-28; 修回日期: 2024-11-15

(本文编辑 覃洪含)