

## • 论著 •

## 深圳市耐多药结核分枝杆菌流行株耐药基因序列分析

崔运勇<sup>1,2</sup> 王峰<sup>1</sup> 刘小立<sup>1</sup> 杨慧<sup>1</sup> 桂静<sup>1</sup> 胡思玉<sup>3</sup>

(1. 深圳市慢性病防治中心 深圳 518020; 2. 南昌大学医学院免疫学教研室 南昌 330046;

3. 厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

**摘要:** **目的** 了解深圳市耐多药结核分枝杆菌(multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, MDR-TB)的分子流行病学特征。**方法** 参照WHO/IUATLD标准,使用L-J药敏培养基,采用1%比例法药敏试验筛选出敏感株和异烟肼(isoniazid, INH)、利福平(rifampicin, RFP)双耐药临床分离株,通过DNA测序检测深圳地区153株敏感株与132株MDR-TB的INH耐药基因*katG*、*inhA*、*oxyR-ahpC*基因间区域及RFP耐药基因*rpoB*碱基排列顺序,运用DNASTAR和blastn进行序列分析。**结果** 153株敏感株突变率为27.5%(42/153)。132株MDR-TB突变率为98.5%(130/132),其中*katG*基因突变率为73.5%(97/132),68.9%(91/132)为*katG*315位突变;*inhA*基因突变率为18.2%(24/132),11.4%(15/132)为启动子区域突变,未发现*inhA*94特异突变株;*ahpC*基因突变率为16.7%(22/132),10.6%(14/132)为启动子区域突变;*rpoB*基因81bp核心区域突变率为93.2%(123/132)。**结论** *katG*315、*inhA*启动子区域、*ahpC*启动子区域以及*rpoB*81bp核心区域突变为深圳地区耐多药结核分枝杆菌主要突变类型,与其他国家和地区差异无统计学意义;但深圳地区未见*inhA*94突变株。

**关键词:** 分枝杆菌, 结核; 抗药性, 多种, 细菌; 序列分析, DNA; 突变; 深圳市

**通讯作者:** 杨慧(yh2009cn@yahoo.com.cn)

Analyze the epidemical multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* from Shenzhen by DNA sequencingCui Yunyong<sup>1,2</sup>, Wang Feng<sup>1</sup>, Liu Xiaoli<sup>1</sup>, Yang Hui<sup>1</sup>, Gui Jing<sup>1</sup>, Hu Siyu<sup>3</sup>

1. Shenzhen Center for Chronic Disease Control, Shenzhen 518020, China;

2. Department of Immunology, Nanchang University, Nanchang 330046, China;

3. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China

**Abstract: Objective** To investigate the epidemiologic characteristic of multidrug resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in Shenzhen. **Methods** According to the standard of WHO, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD), drug-susceptible and MDR MTB strains were collected by drug susceptibility test (DST) of 1% proportion method. *katG*, *inhA*, intergenic region of *oxyR-ahpC* and 81bp core region of *rpoB* genes in 153 drug-susceptible strains and 132 MDR strains were analyzed by DNA sequencing. **Results** 27.5%(42/153) of drug-susceptible strains and 98.5%(130/132) of MDR strains showed gene mutations. Of 132 MDR strains, 73.5%(97/132) had *katG* mutations, and 68.9%(91/132) of *katG* mutations were at codon 315; 18.2%(24/132) had *inhA* mutations, and none specific mutations were found at codon 94 of *inhA*; 11.4%(15/132) had mutations at *inhA*-promoter region; 16.7%(22/132) had *ahpC* mutations, 10.6%(14/132) had mutations at intergenic region of *oxyR-ahpC*; 93.2%(123/132) had mutations at the 81bp core region of *rpoB*. **Conclusion** The codon 315 of *katG*, promoter region

of *inhA*, *ahpC* and the 81bp core region of *rpoB* play predominant roles in MDR-TB in Shenzhen.

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*; Drug resistance, multiple, bacterial; sequence analysis, DNA; mutation; Shenzhen city

**Correspondence to:** Yang Hui(yh2009cn@yahoo.com.cn)

结核病的患病率高居不下,主要原因之一是大量耐药菌株的出现。INH 和 RFP 是抗结核药中重要的一线药物,在我国 INH 的耐药率高达 17.6%, RFP 的初治耐药率达 8.10%<sup>[1]</sup>。结核分枝杆菌基因突变是导致 INH 和 RFP 耐药的重要原因<sup>[2]</sup>。为了解深圳地区耐多药流行株的主要突变类型及与其他国家地区的差异,本文利用测序法对深圳地区 285 株结核分枝杆菌的 *katG*、*inhA*、*oxyR-ahpC* 基因间区域和 *rpoB* 基因进行了序列分析。

## 1 材料和方法

**1.1 材料和试剂** 285 株 MTB(含 153 株全敏感株和 132 株耐多药株)来源于深圳市慢性病防治中心 2007—2009 年承担的国家基线调查项目和市耐药监测项目中分离、筛选出的菌株。药物粉剂纯品 INH、RFP 购自美国 Sigma 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 菌株准备** 参照世界卫生组织/国际防痨和肺病联合会(WHO/IUATLD)标准,对筛选出的菌株,使用 L-J 药敏培养基,1% 比例法药敏试验重复测定其耐药性,方法参照《结核病诊断细菌学检验规程》<sup>[3]</sup>,选择药敏结果稳定(在含药培养基上重复生长程度均在 2+ 以上)的菌株作为此次实验研究菌株。

**1.2.2 DNA 提取** 取筛得的 285 份菌株转种培养后,置于 100 °C 水浴箱中煮沸灭活 20 min, 14 000 转/min 离心 10 min,取上清液作为 DNA 模板,沉淀保留,均放置于-20 °C 冰箱中保存。

**1.2.2.1 引物设计** 所用引物依据文献[4]设计,由上海英峻生物工程有限公司合成,为保证 *inhA* 与

*oxyR-ahpC* 启动子区得到有效的扩增和测序结果,故扩增片段包含了一部分编码区在内,具体见表 1。

**1.2.2.2 DNA 测序及分析** 将所提取的 DNA 进行 PCR 扩增、纯化及双向测序。测序由上海英峻生物工程有限公司完成,测序方法为双脱氧末端终止法。采用 25 μl 反应体系,成分分别为 buffer 2.5 μl, dNTP 2 μl, Taq 0.25 μl, 上游引物 2 μl, 下游引物 2 μl, 模板 5 μl, ddH<sub>2</sub>O 11.25 μl。PCR 扩增条件为:热盖温度 103 °C,预变性 95 °C 5 min,变性 95 °C 10 s,退火 58 °C 20 s,延伸 72 °C 25 s,最终延伸 72 °C 10 min,4 °C 保存。运用 blastn 进行序列比对和分析。

## 2 结果

MDR 株、敏感株突变率分别为 98.5% (130/132)、27.5% (42/153)。耐多药株中 *katG* 突变率为 73.5% (97/132), *inhA* 突变率为 18.2% (24/132), *ahpC* 突变率为 16.7% (22/132), 81 bp 核心区域突变率为 93.2% (123/132); *katG* 315 位 AGC → ACC 突变率为 63.6% (84/132); *inhA* 启动子区域突变率 11.4% (15/132), 其中-15 位共有 12 株,占总数的 9.1% (12/132),未发现 *inhA* 94 突变株; *ahpC* 启动子区域突变位点较分散,-6、-9、-10、-12 和-30 位点都存在突变; *rpoB* 81 bp 内的 511、512、515、516、522、526、530、531、533 均存在突变,其中 531 位 TCG → TTG 突变率为 68.2% (90/132) (表 2, 3)。敏感株突变的主要位点是 *katG* 283 位 GAT → GWT; *inhA* 83T → W, 94~95 insG; *ahpC* 850~851insGC, 853 A → W(表 2)。

表 1 结核分枝杆菌相关耐药基因的扩增引物、产物长度及 GENE BANK 号

Target gene	Primer set	Nucleotide sequence(5'-3')	Product size(bp)	genebank
<i>katG</i>	forward	5'-CGAGACGTTTCGGCGCATG-3'	288	X68081.1
	reverse	3'-GTTATGTGGCGTTCCTGCG-5'		
<i>inhA</i>	forward	5'-ACATACCTGCTGCGCAATTG-3'	261	U66801.1
	reverse	3'-CTCCTTTGGCCCCCTAGCG-5'		
<i>oxyR-ahpC</i>	forward	5'-CTTGCCGGAAAGACATGCCG-3'	359	U16243.1
	reverse	3'-TGATGAAAGTGGTGATAGTGCTG-5'		
<i>inhA94</i>	forward	5'-CGTTTCACATCGCACGGGTAG-3'	305	U02492.1
	reverse	3'-GCTCTACACCTACGGGAACCTG-5'		
<i>rpoB</i>	forward	5'-GGGAGCGGATGACCACCCA-3'	350	U12205.1
	reverse	3'-CAAGTAGCTTTCGGCATGCCG-5'		

表2 INH 测序各突变类型、氨基酸变化、药敏结果对比统计表

突变类型	氨基酸变化	INH <sup>S</sup>	INH <sup>R</sup>	合计
<i>katG</i> 突变				
2834-2835 insGGG		0	1	1
283 GAT <sup>→</sup> GWT	Thr <sup>→</sup> Ser	4	0	4
301 TGG <sup>→</sup> TGC	Trp <sup>→</sup> Cys	0	1	1
315 AGC <sup>→</sup> ACC	Thr <sup>→</sup> Ser	1	84	85
315 AGC <sup>→</sup> AAC	Ser <sup>→</sup> Asn	0	5	5
315 AGC <sup>→</sup> ASC		0	1	1
315 AGC <sup>→</sup> AGG	Ser <sup>→</sup> Arg	0	1	1
323 AGC <sup>→</sup> MGC		0	1	1
327 AAA <sup>→</sup> AAG	无变化	2	1	3
329 GAC <sup>→</sup> TAC	Asp <sup>→</sup> Tyr	0	1	1
329 GAC <sup>→</sup> GGC	Asp <sup>→</sup> Gly	0	1	1
合计		7 <sup>a</sup>	97	104
<i>inhA</i> 突变				
启动子区域				
- 8 T <sup>→</sup> G		1	0	1
- 15 C <sup>→</sup> T		0	12	12
- 18 A <sup>→</sup> W		0	3	3
编码区				
83 T <sup>→</sup> W		8	0	8
85~ 86 insG		11	0	11
99 A <sup>→</sup> W		1	0	1
229-230 insM		0	1	1
296 CGG <sup>→</sup> GGG	Arg <sup>→</sup> Gly	2	4	6
26/296 delC		1	2	3
<i>inhA94</i>				
227A <sup>→</sup> W		3	0	3
230A <sup>→</sup> M		0	2	2
合计		27	24	51
<i>oxyR-ahpC</i> 突变				
启动子区域				
- 6 G <sup>→</sup> A		0	1	1
- 6 G <sup>→</sup> R		0	2	2
- 9 G <sup>→</sup> A		0	5	5
- 10 C <sup>→</sup> T		0	3	3
- 10 C <sup>→</sup> Y		0	1	1
- 10 C <sup>→</sup> A		0	1	1
- 30 C <sup>→</sup> T		0	1	1
编码区				
580 GGT <sup>→</sup> GCT	Gly <sup>→</sup> Ala	1	0	1
580 GGT <sup>→</sup> GST		1	0	1
730 A <sup>→</sup> G		1	0	1
732~ 733 ins CA		0	1	1
783 C <sup>→</sup> T		1	0	1
791 G <sup>→</sup> A		0	1	1

续表 2

突变类型	氨基酸变化	INH <sup>S</sup>	INH <sup>R</sup>	合计
814 A → W		2	0	2
836~ 837 insC		2	1	3
849 A → R		1	0	1
850~ 851 ins GC		1	0	1
852~ 853 ins C		10	3	13
853 A → W	10	0	10	
856 del C		1	1	2
862 del T		0	3	3
合计		21	34	45

a) *katG* 有 1 株敏感株存在双重突变, 因此敏感株突变总数为 6

表 3 RFP 测序各突变类型、氨基酸变化、药敏结果对比统计表突变位点

突变类型	氨基酸变化	S	R	合计
511CTG → CCG	Leu → Pro	0	6	6
512AGC → WGC		2	0	2
1884 1885 ins A		1	0	1
515ATG → AWG		1	0	1
515ATG → AGG	Met → Arg	0	1	1
515ATG → ATC	Met → Ile	0	1	1
516GAC → TAC	Asp → Tyr	0	1	1
516GAC → GGC	Asp → Gly	0	5	5
516GAC → GTC	Asp → Val	0	2	2
522TCG → TTG	Ser → Leu	0	2	2
526CAC → GAC	His → Asp	0	5	5
526CAC → TAC	His → Tyr	0	6	6
526CAC → AAC	His → Asn	0	2	2
526CAC → YAC		0	1	1
526CAC → CGC	His → Arg	0	8	8
526CAC → CTC	His → Leu	0	2	2
526CAC → CAA	His → Glu	0	2	2
530CTG → GTG	Leu → Met	0	1	1
530CTG → ATG		0	1	1
531TCG → TTG	Ser → Leu	0	90	90
531TCG → TGG	Ser → Trp	0	1	1
531TCG → TYG		0	1	1
531TCG → TCC	Ser → Ser	0	1	1
533CTG → CCG	Leu → Pro	1	2	3
1953 C → T <sup>a</sup>		0	1	1
1972 A → G <sup>a</sup>		0	2	2
2035 A → C <sup>a</sup>		0	1	1
2055 A → G <sup>a</sup>		0	1	1
2098 C → M <sup>a</sup>		0	6	6

a) 81bp 核心区外的突变类型

表4 联合突变位点信息表

基因	突变位点	<i>katG</i>			<i>inhA</i>			<i>ahpC</i>		
		合计	315位	非315位	合计	启动子	编码区	合计	启动子	编码区
<i>katG</i>	合计	97	91	6	11	4	7	10	3	7
	315位	91	91	0	11	4	7	9	2	7
	非315位	6	0	6	0	0	0	1	1	0
<i>inhA</i>	合计	11	11	0	24	15	9	3	2	1
	启动子	4	4	0	15	15	0	1	0	1
	编码区	7	7	0	9	0	9	2	2	0
<i>ahpC</i>	合计	10	9	1	3	2	1	22	14	8
	启动子	3	2	1	1	0	1	14	14	0
	编码区	7	7	0	2	2	0	8	0	8

本次测序还发现耐药株中有2株存在 *katG*315 联合 *ahpC* 启动子突变, 4株存在 *katG*315 联合 *inhA* 启动子突变(表4)。敏感株中未发现此联合突变现象。

### 3 讨论

在测序结果中, *katG*315 突变率为 68.9% (91/132), 这与多数文献报道相一致<sup>[5-6]</sup>, 但有少数国家和地区的耐药流行株检测的突变率出现明显不同, 如马德里的调查只显示了 34.6% 的突变率, 而在俄罗斯的调查中突变率高达 93.6%, *katG*315 位 AGC → ACC 的突变率为 65.3% (98/150), 与许多国家和地区的报道一致<sup>[7-9]</sup>。在其他文献报道中还存在着 AGC → ACA、ACT、ATC、ACG 突变类型, 而本次测序中并未发现。*inhA* 启动子位点突变率为 11.4% (15/132), 与其他国家和地区的报道一致<sup>[5-8]</sup>。*inhA*94 位未发现突变位点, 可能与不同地域和人群耐药结核分枝杆菌分布不同有关, 也可能是抽样的随机性误差导致, 有文献认为不同地区的结核防治措施与病人的配合程度会影响某些耐药突变的出现, 这也可能与此次研究中未发现 *inhA*94 位突变有关。*ahpC* 启动子位点突变率为 10.6% (14/132), 分别位于-6、-9、-10、-12、-30 位点, 而已经被证实的与 INH 耐药无关的-46 位突变在本次研究中没有出现。另外, 有2株的 *katG* 片段经 PCR 反复扩增仍未成功, 推测可能存在 *katG* 基因缺失, *katG* 基因缺失可导致 INH 的高度耐药, 这已在其他国家和地区的研究中被证实。香港的一项研究<sup>[10]</sup> 中所筛选的菌株中有 213 株 (213/250) 均表现为至少耐利福平与异烟肼2种药物, 并推测 MTB 产生耐药性时是趋向于耐多药的; 而本研究中菌株均来自抗结核药物初治病人, 其耐

药结果同样趋向于耐多药。

有研究认为 *katG*315 与 *inhA* 启动子区域突变无关联, 并推测菌株的耐药性是 *katG*315 突变导致, 而不需要 *inhA* 启动子突变来增强耐药能力<sup>[11]</sup>, 本次研究发现4株耐多药菌株存在 *katG*315 联合 *inhA* 启动子突变, 但尚不足以证明以上观点。还有文献推测 *ahpC* 启动子区突变与 *katG* 非315位突变相关<sup>[12-13]</sup>, 而本次研究14株 *ahpC* 启动子突变株中, 既有 *katG* 非315位联合突变(1株), 又存在 *katG*315 位联合突变(2株), 因此尚不能认为2者相关。

虽然 *katG*315 位 AGC → ACC 与 *rpoB*531 位 TGC → TTG 分别是异烟肼与利福平的主要耐药突变位点, 但我们发现在敏感株中亦分别存在1株 *katG*315 位 AGC → ACC 和 *rpoB*531 位 TGC → TTG 突变, 且其他文献中也有同样报道<sup>[14-16]</sup>, 说明这2个位点并不是 100% 指示耐药, 同时我们认为可能存在其他未发现的与 *katG*315、*rpoB*531 有协同作用的耐药机制。

除了一些核心突变位点如 *katG*315 外, 耐药菌株的其他位点突变率在不同报道中虽然各不相同<sup>[17-19]</sup>, 但都说明了这些突变位点在 MTB 耐药机制中1个不可或缺的作用。另外我们还发现一些菌株在同一基因区内同时存在多个位点突变, 如在 *rpoB* 81 bp 区域内同时存在3个位点突变, 在 *katG*、*inhA*、*ahpC* 内同时存在3个甚至4个位点突变, 但突变位点个数多少是否与菌株对利福平、异烟肼耐药水平呈正相关, 需经进一步做最低抑菌浓度 (Minimal inhibitory concentration, MIC) 试验, 方能阐明。本次深圳地区的132株 MDR-TB 耐药相关基因的序列研究发现了文献报道的大部分突变位点, 反应出深圳地区的 MDR-TB 的基因突变与世界

其他国家与地区差异无统计学意义。

#### 4 参考文献

- [1] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国结核病流行病学抽样调查办公室. 2000年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2002, 24(2): 65.
- [2] Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update[J]. Tuberc Lung Dis, 1998, 79(1): 3–29.
- [3] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006: 49–51.
- [4] Dalla Costa ER, Ribeiro MO, Silva MS, Arnold LS, Rostirolla DC, Cafrune PI, Espinoza RC, Palaci M, Telles MA, Ritacco V, Suffys PN, Lopes ML, Campelo CL, Miranda SS, Kremer K, da Silva PE, Fonseca Lde S, Ho JL, Kritski AL, Rossetti ML. Correlations of mutations in *katG*, *oxyR* and *ahpC* and *inhA* genes and *in vitro* susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains segregated by spoligotype families from tuberculosis prevalent countries in South America[J]. BMC Microbiol, 2009, 9: 39.
- [5] Cho EH, Bae HK, Kang SK, Lee EH. Detection of isoniazid and rifampicin resistance by sequencing of *katG*, *inhA*, and *rpoB* Genes in Korea[J]. Korean J Lab Med, 2009, 29(5): 455–460.
- [6] Abdelaal A, El-Ghaffar HA, Zaghoul MH, El-Mashad N, Badran E, Fathy A. Genotypic detection of rifampicin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains by DNA sequencing: a randomized trial[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrobiol, 2009, 8: 4.
- [7] Ramaswamy SV, Dou SJ, Rendon A, Yang Z, Cave MD, Graviss EA. Genotypic analysis of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Monterrey, Mexico[J]. Med Microbiol, 2004, 53(2): 107–113.
- [8] Sajduda A, Brzostek A, Poplawska M, Augustynowicz-Kopec E, Zwolska Z, Niemann S, Dziadek J, Hillemann D. Molecular characterization of rifampin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Poland[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(6): 2425–2431.
- [9] Guo JH, Xiang WL, Zhao QR, Luo T, Huang M, Zhang J, Zhao J, Yang ZR, Sun Q. Molecular characterization of drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Sichuan province in China[J]. Jpn J Infect Dis, 2008, 61(4): 264–268.
- [10] Chan RC, Hui M, Chan EW, Au TK, Chin ML, Yip CK, AuYeung CK, Yeung CY, Kam KM, Yip PC, Cheng AF. Genetic and phenotypic characterization of drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Hong Kong[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(5): 866–873.
- [11] Hazbón MH, Brimacombe M, Bobadilla del Valle M, Cavatore M, Guerrero MI, Varm & Basil M, Billmar Jacobe H, Laverder C, Fyfe J, Gardar Gardar L, León CI, Bose M, Chaves F, Murray M, Eisenach KD, Sifuentes Osornio J, Cave MD, Ponce de León A, Alland D. Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(8): 2640–2649.
- [12] Wilson TM, Collins DM. *ahpC*, a gene involved in isoniazid resistance of the *Mycobacterium tuberculosis* complex[J]. Mol Microbiol, 1996, 19(5): 1025–1034.
- [13] Mokrousov I, Otten T, Vyshnevskiy B, Narvskaya O. Detection of *embB306* mutations in ethambutol susceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Northwestern Russia: implications for genotypic resistance testing[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(10): 3810–3813.
- [14] Kim SY, Park YJ, Kim WI, Lee SH, Ludgerus Chang C, Kang SJ, Kang CS. Molecular analysis of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates recovered from South Korea[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2003, 47(3): 497–502.
- [15] Mokrousov I, Otten T, Filipenko M, Vyazovaya A, Chrapov E, Limeschenko E, Steklova L, Vyshnevskiy B, Narvskaya O. Detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain by a multiplex allele specific PCR assay targeting *KatG* codon 315 variation[J]. Clin Microbiol, 2002, 40(7): 2509–2512.
- [16] Wilson TM, de Lisle GW, Collins DM. Effect of *inhA* and *katG* on isoniazid resistance and virulence of *Mycobacterium bovis*[J]. Mol Microbiol, 1995, 15(6): 1009–1015.
- [17] Morlock GP, Metchock B, Sikes D, Crawford JT, Cooksey RC. *dhA*, *inhA*, and *katG* loci of ethionamide resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(12): 3799–3805.
- [18] Cardoso RF, Cooksey RC, Morlock GP, Barco P, Cecon L, Forestiero F, Leite CQ, Sato DN, Shikama Mde L, Mamizuka EM, Hirata RD, Hirata MH. Screening and characterization of mutations in isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates obtained in Brazil[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(9): 3373–3381.
- [19] Leung ET, Ho PL, Yuen KY, Woo WL, Lam TH, Kao RY, Seto WH, Yam WC. Molecular characterization of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: identification of a novel mutation in *inhA*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(3): 1075–1078.

(收稿日期: 2010-09-16)

(本文编辑: 张晓进)