

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20221895

· 论 著 ·

宜昌地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的鉴定及 VNTR 分型

李 丹^{1,2}, 胡晓红^{1,2}, 徐新娟^{1,2}, 杜德兵^{1,2}, 吴文艳^{1,2}, 王德成^{2,3}, 庄 倩^{1,2}, 陈志杰^{1,2}, 金 柱^{1,2}

(1. 宜昌市第三人民医院肺病科, 湖北 宜昌 443003; 2. 三峡大学感染与炎症损伤研究所, 湖北 宜昌 443002; 3. 三峡大学医学院, 湖北 宜昌 443002)

[摘要] **目的** 研究宜昌地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的多态性和流行特征, 揭示该地区结核病的分子流行病学特征, 为结核病防治提供科学依据。**方法** 选择 2018 年 1 月—2019 年 12 月具有完整病例信息的结核分枝杆菌 298 株, 进行人型结核分枝杆菌的鉴定, 用扩增 RD105 缺失片段的多重 PCR (DTM-PCR) 鉴定北京基因型菌株; 应用优化的 9 位点数目可变串联重复序列技术 (VNTR) 分析北京基因型菌株的多态性。**结果** 298 株结核分枝杆菌中, 260 株为人型结核分枝杆菌, DTM-PCR 鉴定发现北京基因型菌株 140 株 (53.85%), 非北京基因型菌株 120 株 (46.15%)。北京基因型菌株耐药率 (32.14%) 高于非北京基因型菌株耐药率 (10.83%), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。VNTR-9 位点对北京基因型菌株的分辨率为 0.998 5, 成簇率为 12.15%。**结论** 北京基因型菌株在宜昌地区呈较高流行趋势, 且北京基因型菌株耐药率更高。VNTR-9 位点基因分型方法用于该地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的鉴别, 能准确反映宜昌地区结核分枝杆菌的分子流行病学特征。

[关键词] 结核分枝杆菌; 北京基因型; 可变串联重复序列技术; 分子流行病学

[中图分类号] R181.3⁺2

Identification and VNTR typing of Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Yichang area

LI Dan^{1,2}, HU Xiao-hong^{1,2}, XU Xin-juan^{1,2}, DU De-bing^{1,2}, WU Wen-yan^{1,2}, WANG De-cheng^{2,3}, ZHUANG Qian^{1,2}, CHEN Zhi-jie^{1,2}, JIN Zhu^{1,2} (1. Department of Pulmonary Diseases, The Third People's Hospital of Yichang, Yichang 443003, China; 2. Institute of Infection and Inflammation, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3. Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

[Abstract] **Objective** To study the polymorphism and epidemic characteristics of the Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) in Yichang area, reveal the molecular epidemiological characteristics of tuberculosis in this area, and provide scientific evidence for the prevention and treatment of tuberculosis. **Methods** 298 strains of Mtb with complete case information from January 2018 to December 2019 were selected for the identification of human Mtb, Beijing genotype strains were identified by multiplex polymerase chain reaction (DTM-PCR) which amplifying RD105 deletion fragment; polymorphism of Beijing genotype strains was analyzed by optimized 9-locus variable-number tandem repeat technique. **Results** Among 298 strains of Mtb, 260 strains were human Mtb, DTM-PCR identification found that 140 strains (53.85%) were Beijing genotype and 120 strains (46.15%) were non-Beijing genotype. Drug resistance rate of Beijing genotype strains was higher than that of non-Beijing genotype strains (32.14% vs 10.83%, $P < 0.05$). The resolution of VNTR-9 locus to Beijing genotype strains was 0.998 5 and the clustering rate was 12.15%. **Conclusion** Beijing genotype strains showed a high prevalence trend in Yichang area, drug resistance rate of Beijing genotype strains is higher. VNTR-9 genotyping method used to identi-

[收稿日期] 2021-09-14

[基金项目] 湖北省卫生与健康委员会科研项目 (WJ2019F080)

[作者简介] 李丹 (1976-), 女 (汉族), 湖北省宜昌市人, 主任医师, 主要从事结核病的临床与基础研究。

[通信作者] 金柱 E-mail: 18654108@qq.com

fy Beijing genotype strains of Mtb in this area can accurately reflect the molecular epidemiological characteristics of Mtb in Yichang.

[Key words] *Mycobacterium tuberculosis*; Beijing genotype; variable-number tandem repeat technique; molecular epidemiology

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的一种危害严重的传染病,根据世界卫生组织(WHO)最新报道,2020 年全球新发结核病病例约 1 000 万,我国超过 83 万,依然是全球 30 个结核病高负担国家之一^[1]。在结核分枝杆菌感染与传播过程中,某些基因型菌株致病性强、传播速度快且适应性强,容易引起大范围广泛传播和流行,对结核病的流行至关重要。大量数据证实北京基因型菌株是具有相似遗传背景和高致病性与传播力的代表,该菌株已在世界多地传播和流行^[2-4],我国也屡有相关报道^[5-11]。北京基因型菌株是结核分枝杆菌家族中传播迅速和致病性强的一类优势菌株,由于不同地域结核病的流行病学差异,不同地域来源的北京家族菌株的特征也不尽相同。Supply 等根据结核分枝杆菌基因组 DNA 中特定位点的数目可变串连重复序列技术(variable-number tandem repeat, VNTR)建立的基因型分型方法^[12],经过不断改进和优化后已广泛应用于结核病分子流行病学研究^[6-8, 10-11, 13-15]。联合 VNTR 分型结果、临床信息及流行病学数据,可将结核病的传播链与分子流行病学研究有机连接,对了解结核病的传播动态十分有价值。

宜昌位于我国中西部地区,结核病历年位居地区传染病报告发病率前三位,已成为威胁本地区人民健康和社会经济发展的重大公共卫生问题。北京基因型菌株是结核分枝杆菌家族最重要的成员。收集本地区结核分枝杆菌菌株进行鉴定和分型,研究本地区北京基因型菌株的多态性,既能揭示本地区北京基因型菌株的分子流行病学特征,也能认识和预测结核病的发生和传播模式,最终为建立适宜本地区的结核病监测平台和制定相应的结核病防控策略提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集 2018 年 1 月—2019 年 12 月宜昌地区(含下辖区县)的结核分枝杆菌菌株,纳入标准为痰抗酸染色阳性或痰结核分枝杆菌培养阳性,并根据菌株信息核对患者的流行病学资料、年龄、性别、病史资料等信息^[16],最终获得具有完整患

者信息的菌株共计 298 株。标准菌株 H37Rv 购自中国药品生物制品检定所。

1.2 药敏试验 所有菌株接种罗氏培养基复种后,采用比例法对 4 种抗结核药物进行药敏试验,培养基内药物的终浓度分别为:异烟肼(INH)0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,利福平(RFP)40 $\mu\text{g}/\text{mL}$,乙胺丁醇(EMB)2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,链霉素(SM)4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。耐药标准:含药培养基菌落数/对照培养基菌落数 $\geq 1\%$ 即为耐药。

1.3 北京基因型菌株鉴定 所有菌株接种罗氏培养基复种,采用煮沸法提取细菌基因组 DNA。按照下述方法操作鉴定菌株是否为北京基因型。第一步设计 4 条引物(表 1 中 1~4 号),PCR 扩增后,凝胶电泳比较产物大小,如果扩增出 850 bp 和 361 bp 两条带,则说明标本 DNA 属于人型结核分枝杆菌,据此筛选出 298 个标本中人型结核分枝杆菌并进行北京基因型菌株的鉴定。RD105 区域缺失是北京基因型菌株所特有,针对 RD105 区域设计引物进行多重 PCR 扩增鉴定北京基因型菌株。根据 Chen 等^[17]建立的 RD105 缺失片段的 DTM-PCR 检测方法,设计 3 条引物序列(表 1 中 5~7 号),PCR 扩增后比较电泳产物,如果只能扩增出 1 495 bp 条带,则是非北京基因型菌株;如果扩增出 786 bp 的条带,该标本则是北京基因型。电泳结束后在紫外凝胶成像分析系统下观察结果,以国际参考菌株 H37Rv 作为对照。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for PCR

编号	基因	引物序列(5'-3')
1	Mtb-1	ATAGGGAATGCTCGCAAC
2	Mtb-2	CAACATCGACGCAGTACCC
3	IS6110-P1	TCAGGTCGAGTACGCCTTCT
4	IS6110-P2	CGTCGCAGAGATCCGCGGTC
5	RD105_P1	GGAGTCGTTGAGGGTGTTCATCAGCTCA
6	RD105_P2	CGCCAAGGCCGCATAGTCACGGTCC
7	RD105_P3	GGTTGCC CACTGGTCGATATGGTGGACTT

1.4 数据分析

1.4.1 分析方法 将所有北京基因型菌株 VNTR

位点的重复次数输入 <https://www.miru-vntr-plus.org/MIRU/index> 网站, 获得 VNTR 分型结果, 各 VNTR 位点的分辨率和总分辨率用 Hunter-Gaston 指数表示, 计算公式为:

$$HGI = 1 - \frac{1}{n(n-1)} \sum_{j=1}^s n_j(n_j - 1)$$

其中, n 为总的菌株数, s 为获得的基因型总数, n_j 为某基因型的菌株数。

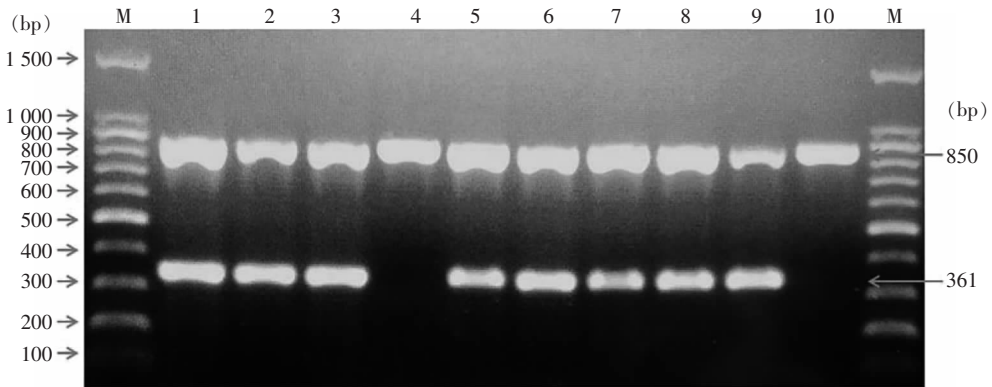
1.4.2 成簇结果分析 VNTR 分型根据文献^[18-20]方法进行优化 VNTR 重复单元数目计算公式如下, 各 VNTR 重复单元数目 = (PCR 产物长度 - 各 VNTR 侧翼片段长度)/重复单元长度。两个或两个以上的北京基因型菌株具有完全相同的 VNTR

图谱, 既认为是成簇菌株。

1.5 统计学处理分析 应用 SPSS 20.0 统计软件进行分析, 计数资料以百分率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

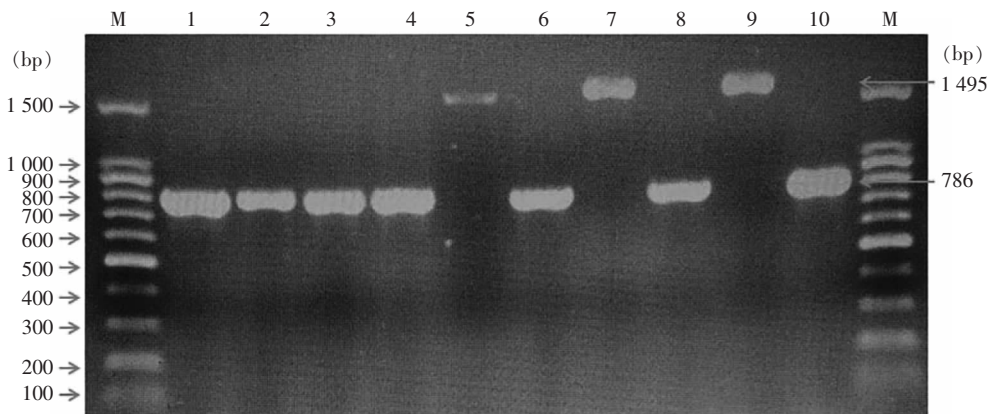
2.1 北京基因型菌株鉴定结果 共获得 298 株临床菌株, 其中 260 株(占 87.25%)鉴定为人型结核分枝杆菌, 见图 1; DTM-PCR 分型结果发现, 260 株结核分枝杆菌中, 140 株(53.85%)属于北京基因型菌株, 见图 2。



注: M 为 DNA Marker, 1~10 为结核分枝杆菌的标本, 电泳检测出现 850、361 bp 两条带, 说明模板 DNA 是人型结核分枝杆菌, 只扩增出 850 bp 条带的标本 4 和 10 则属于结核分枝杆菌复合群, 不是人型结核分枝杆菌。

图 1 人型结核分枝杆菌的 PCR 产物电泳图

Figure 1 Electrophoresis map of PCR products of human *Mycobacterium tuberculosis*



注: M 为 DNA Marker, 1~10 为结核分枝杆菌的标本, 电泳检测出现 786 bp 条带的标本, 则为北京基因型菌株, 而出现 1495 bp 的标本为非北京基因型菌株。

图 2 北京基因型菌株的 PCR 产物电泳图

Figure 2 Electrophoresis map of Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis*

2.2 临床菌株基本信息 分析 260 株人型结核分枝菌株来源的患者信息,其中 162 例男性,98 例女性患者;年龄范围为 14~82 岁,平均年龄 49 岁。<30 岁、30~岁、45~岁和>60 岁患者分别为 24、60、97、79 例,各年龄组感染北京基因型菌株的比率分别为 9.28%、22.86%、36.43%、31.43%,北京基因型菌株和非北京基因型菌株感染患者性别、年龄以及治疗史各组比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),见表 2。

表 2 北京基因型与非北京基因型菌株感染患者基本资料比较[例(%)]

Table 2 Comparison of basic data of patients infected with Beijing genotype and non-Beijing genotype strains (No. of case[%])

类别	北京基因型菌株 (n=140)	非北京基因型菌株 (n=120)	χ^2	P
性别			0.748	0.416
男	85(52.47)	77(47.53)		
女	55(56.12)	43(43.88)		
年龄(岁)			5.186	0.267
<30	13(54.17)	11(45.83)		
30~	32(53.33)	28(46.67)		
45~	51(52.58)	46(47.42)		
>60	44(55.70)	35(44.30)		
治疗史			0.512	0.476
新患者	107(54.87)	88(45.13)		
复发患者	33(50.77)	32(49.23)		

2.3 临床菌株药敏试验结果 对 260 株人型结核分枝杆菌进行一线抗结核药药敏试验,4 种抗结核药中,总体耐药率由高至低依次为:INH>RFP>EMB>SM;北京基因型菌株耐药率(32.14%)高于非北京基因型菌株耐药率(10.83%),差异有统计学意义($P=0.007$)。见表 3。

2.4 VNTR 基因分型 VNTR-9 位点(QUB-11b、QUB-18、QUB-26、MIRU26、MIRU31、MIRU40、Mtub21、Mtub04、VNTR2372)的分辨能力见表 4,其中 QUB-11b、QUB-18、QUB-26 显示较高的 HGI,而 VNTR2372 显示较低的 HGI,VNTR-9 位点的 HGI 为 0.998 5。VNTR-9 位点的分型结果显示,140 株北京基因型菌株呈明显的多态性(见图 3),根据 MIRU-VNTR 位点规则,发现有 3 组成簇菌株,其中一个基因簇包含 8 株菌株,成簇率为 12.15%。

表 3 北京基因型与非北京基因型菌株耐药率比较[株(%)]

Table 3 Comparison of drug resistance rates between Beijing genotype and non-Beijing genotype strains (No. of isolates[%])

耐药情况	北京基因型菌株 (n=140)	非北京基因型菌株 (n=120)	χ^2	P
耐药株	45(32.14)	13(10.83)	8.321	0.007
单耐 INH	33(23.57)	10(8.33)	7.953	0.009
单耐 RFP	26(18.57)	8(6.67)	7.032	0.012
单耐 EMB	15(10.71)	4(3.33)	9.508	0.006
单耐 SM	13(9.29)	5(4.17)	5.964	0.028
全耐株	11(7.86)	3(2.50)	9.137	0.006

表 4 VNTR-9 位点的 HGI 值

Table 4 Hunter-Gaston index of VNTR-9 locus

序号	VNTR 位点	HGI 值
1	QUB-11b	0.801
2	QUB-18	0.792
3	QUB-26	0.751
4	MIRU26	0.695
5	MIRU31	0.576
6	MIRU40	0.542
7	Mtub21	0.683
8	Mtub04	0.523
9	VNTR2372	0.264

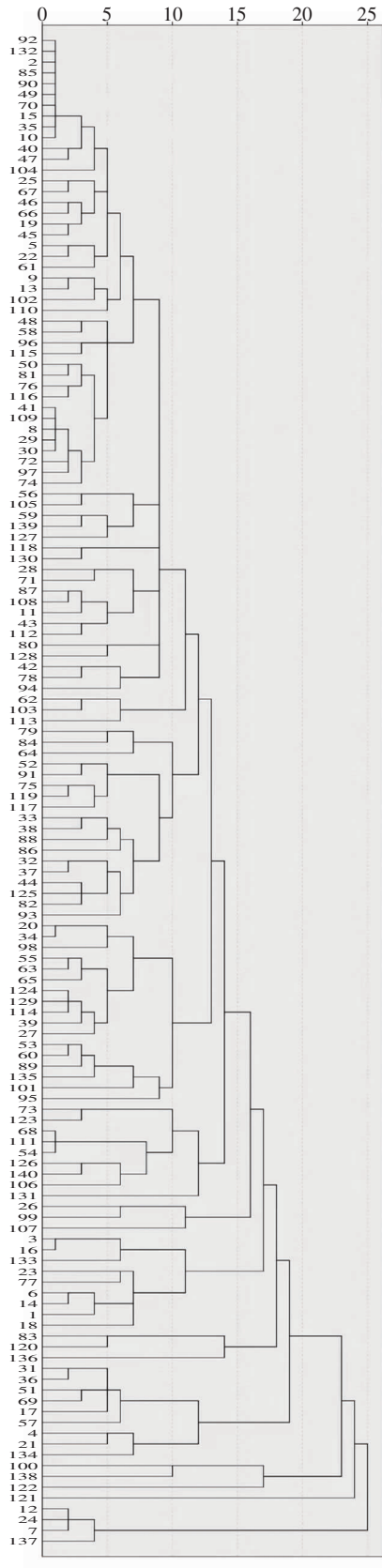


图 3 140 株北京基因型菌株聚类分析图谱

Figure 3 Cluster analysis map of 140 Beijing genotype strains

3 讨论

结核分枝杆菌北京基因型家族易导致大范围感染与流行,基因型鉴定和分型相关研究引起了广泛关注。相较于传统针对 IS6110 序列的 RFLP 和 spoligotyping 鉴定手段,Chen 等^[17]建立的 DTM-PCR 鉴定方法操作简单。北京基因型家族菌株缺乏 RD105 区域,而非北京基因型菌株保留有该区域,因此针对 RD105 区域设计引物进行多重扩增,能获得不同长度的 DNA 片段,以区分北京基因型或非北京基因型。该方法简单、高效,已广泛应用于北京基因型菌株的鉴定^[8-10, 21-25]。本研究对 260 株人型结核分枝杆菌进行 DTM-PCR 检测,发现 140 株为北京基因型菌株,与丁冰冰等^[26]报道武汉地区所选的 85 株菌株中 91.8%(78 株)为北京基因型菌株存在一定差异。本研究首次对宜昌地区北京基因型菌株进行鉴定,结果表明北京基因型菌株在该地区的感染与发病中占据优势地位,同时也需要关注非北京基因型菌株相关研究。

北京基因型菌株是耐药结核病流行的重要原因。本研究结果显示,北京基因型菌株耐药率(32.14%),与全国的调查结果基本一致(33.10%),高于非北京基因型菌株耐药率(10.83%),结果显示宜昌地区结核分枝杆菌的耐药性以北京基因型菌株为主,研究结果对指导本地耐药结核病的防控具有重大意义。由于结核分枝杆菌受宿主因素和环境因素等多因素影响,关于宜昌地区北京基因型菌株的生物学特征还需进一步探索。

VNTR 已广泛应用于对北京基因型菌株的分型和成簇的研究。Mazars 选择了 VNTR-12 位点对来自美国的 72 株结核分枝杆菌进行分型,发现 VNTR-12 位点的分辨率高于 IS6110-RFLP^[27]。Supply 基于全球结核分枝杆菌菌株信息大量数据,对 VNTR-12 分型技术进行了改进,推出了 VNTR-15 及-24 位点的分型技术^[12]。随着 VNTR-12、15 及 24 位点分型技术的应用,研究者发现这些位点是针对所有来源的菌株,但对北京基因型菌株的识别能力尚有不足。Zhang 等^[20]针对北京基因型菌株的特点,比较 45 个用于北京基因型菌株分型的 VNTR 位点的分辨率,最后推荐 VNTR-7 和 VNTR-16 位点可作为北京基因型菌株的分型。后续研究对 VNTR-7 和 VNTR-16 位点进一步进行优化,发现 VNTR-9 位点对结核分枝杆菌北京基因型菌株具有较好的识

别能力^[18],目前已得到广泛应用^[28-30]。本研究中发现 QUB-11b 位点的识别能力最强,且总 HGI 为 0.998 5,说明该方法对本地区北京基因型菌株具有较高的分辨能力。

本研究首次运用 DTM-PCR 和 VNTR-9 位点技术对宜昌地区的北京基因型菌株进行鉴定和分型,相对于刘晓俊等^[31]采用的 VNTR-24 位点对 2016—2017 年宜昌地区收集的 367 株结核分枝杆菌的分型结果,本研究重点对该地区北京基因型菌株进行了鉴定和分型,结果表明目前本地区的北京基因型菌株仍然处于流行的优势地位。另外,使用 VNTR-24 分型方法,位点多、操作繁琐,且部分位点不适用于本地区菌株的检测。本研究中采用 DTM-PCR 和 VNTR-9 位点对北京基因型菌株具有较高的鉴定和分型能力,操作简单,节约时间和操作成本,适用于本地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的快速鉴定和分型,为宜昌地区北京基因型菌株分子流行病学的研究和结核病防治提供科学依据。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2020 [EB/OL]. (2020-10-15)[2021-08-15]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>.
- [2] Sun L, Chen X, Zhang WH, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype family strain isolated from naturally infected plateau zokor (*Myosorex baileyi*) in China[J]. Emerg Microbes Infect, 2017, 6(6): e47.
- [3] Mohajeri P, Moradi S, Atashi S, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in western Iran: distribution and drug resistance[J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(10): DC05 - DC07.
- [4] den Hertog AL, Menting S, van Soolingen D, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype resistance to transient rifampin exposure[J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(11): 1932 - 1933.
- [5] 谭英征,陈双华,肖鹏程,等. 株洲地区北京基因型结核分枝杆菌感染与利福平耐药的相关研究[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(8): 1496 - 1499.
Tan YZ, Chen SH, Xiao PC, et al. Correlative research between Beijing genotypes MTB infection in Zhuzhou and rifampin resistance[J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2017, 22(8): 1496 - 1499.
- [6] 孙蕾,梁佳元,毛宁,等. 辽宁省与日本流行北京基因型结核分枝杆菌基因的异同[J]. 中国卫生工程学, 2017, 16(1): 7 - 10, 13.

- Sun L, Liang JY, Mao N, et al. The similarities and differences of the gene of Beijing genotype *M. tuberculosis* between in Liaoning province and in Japan[J]. Chinese Journal of Public Health Engineering, 2017, 16(1): 7 - 10, 13.
- [7] 陈连勇,杨星,马利,等. 云南省部分地区结核分枝杆菌北京基因型流行情况分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10(9): 825 - 829.
Chen LY, Yang X, Ma L, et al. Analysis of the distribution of Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* in parts of Yunnan province[J]. Journal of Pathogen Biology, 2015, 10(9): 825 - 829.
- [8] 刘美伶. 华东部分地区 W-北京基因型结核分枝杆菌传播特征研究[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
Liu ML. Transmission characteristics of W-Beijing genotype *Mycobacterium tuberculosis* in part area of eastern China[D]. Shanghai: Fudan University, 2013.
- [9] 陈志,陈佳,先德强,等. 绵阳地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的鉴定和感染因素分析[J]. 现代预防医学, 2012, 39(12): 3066 - 3068.
Chen Z, Chen J, Xian DQ, et al. The identification and infection factors analysis on Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* strains in Mianyang area[J]. Modern Preventive Medicine, 2012, 39(12): 3066 - 3068.
- [10] 李雨晴. 中国北方四省(区)结核分枝杆菌北京基因型菌株的流行特征及耐药性分析[D]. 衡阳: 南华大学, 2017.
Li YQ. An investigation Beijing genotype and drugs resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in the four province (autonomous regions) of north China[D]. Hengyang: University of South China, 2017.
- [11] 赵秀芹,董海燕,刘志广,等. 中国部分地区结核分枝杆菌北京基因型菌株分布初步分析[J]. 实用预防医学, 2012, 19(5): 662 - 664.
Zhao XQ, Dong HY, Liu ZG, et al. Preliminary analysis of the distribution of Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* in parts of China[J]. Practical Preventive Medicine, 2012, 19(5): 662 - 664.
- [12] Supply P, Allix C, Lesjean S, et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(12): 4498 - 4510.
- [13] 杜永成,魏淑贞,赵永,等. 福建省耐多药结核分枝杆菌 VNTR 和 Spoligotyping 基因多态性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(12): 1310 - 1313.
Du YC, Wei SZ, Zhao Y, et al. Analysis of the genetic diversity of multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates by VNTR and spoligotyping in Fujian province[J]. Journal of Pathogen Biology, 2018, 13(12): 1310 - 1313.
- [14] 陈连勇,杨星,茹浩浩,等. 云南省 271 株结核分枝杆菌分离株基因分型研究[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(1): 62 - 67.
Chen LY, Yang X, Ru HH, et al. A study on genotype of 271 *Mycobacterium tuberculosis* isolates in 6 prefectures in Yunnan

- province[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2018, 52(1): 62-67.
- [15] 罗丹. 广西耐药结核病流行特征及结核分枝杆菌基因分型的研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
Luo D. Epidemic characteristics of drug-resistant tuberculosis and genotyping of *Mycobacterium tuberculosis*[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2013.
- [16] 于海娟, 赵梅, 王佳月, 等. 肺结核患者结核杆菌耐药情况及耐多药结核病的危险因素[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(1): 58-62.
Yu HJ, Zhao M, Wang JY, et al. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* and risk factors of multidrug-resistant tuberculosis in patients with pulmonary tuberculosis[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2020, 19(1): 58-62.
- [17] Chen J, Tsolaki AG, Shen X, et al. Deletion-targeted multiplex PCR (DTM-PCR) for identification of Beijing/W genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Tuberculosis (Edinb), 2007, 87(5): 446-449.
- [18] 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.
- [19] Sun G, Chen C, Li J, et al. Discriminatory potential of a novel set of variable number of tandem repeats for genotyping *Mycobacterium marinum*[J]. Vet Microbiol, 2011, 152(1-2): 200-204.
- [20] Zhang L, Chen J, Shen X, et al. Highly polymorphic variable-number tandem repeats loci for differentiating Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Shanghai, China[J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 282(1): 22-31.
- [21] 彭哲, 朱朝敏, 辛琳琳, 等. 结核分枝杆菌北京基因型菌株与重庆地区结核患儿耐药表型的相关分析[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(23): 2545-2548.
Peng Z, Zhu CM, Xing LL, et al. Correlation between Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* and drug-resistant phenotypes in Chongqing children with tuberculosis[J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2010, 32(23): 2545-2548.
- [22] 杨洪毅, 李辉, 马士文, 等. MIRU-VNTR 技术对源于河南的北京基因型结核分枝杆菌分型研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(6): 1305-1307, 1353.
Yang HY, Li H, Ma SW, et al. Study on power of MIRU-VNTR detection method used to distinguish Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* from Henan[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2010, 20(6): 1305-1307, 1353.
- [23] Chen KS, Liu T, Lin RR, et al. Tuberculosis transmission and risk factors in a Chinese antimony mining community[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2016, 20(1): 57-62.
- [24] 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.
- [25] Yuan XL, Zhang TT, Kawakami K, et al. Genotyping and clinical characteristics of multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis in a tertiary care tuberculosis hospital in China [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13: 315.
- [26] 丁冰冰, 马峻, 陈高瞻, 等. 武汉地区结核分枝杆菌临床分离株乙胺丁醇耐药分子特征研究[J]. 武汉工业学院学报, 2013, 32(3): 13-17.
Ding BB, Ma J, Chen GZ, et al. Molecular characterization of ethambutol-resistant *Mycobacteria tuberculosis* isolates recovered from Wuhan[J]. Journal of Wuhan Polytechnic University, 2013, 32(3): 13-17.
- [27] Mazars E, Lesjean S, Banuls AL, et al. High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(4): 1901-1906.
- [28] Maeda S, Hijikata M, Hang NTL, et al. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* spreading in Hanoi, Vietnam using conventional and whole genome sequencing methods[J]. Infect Genet Evol, 2020, 78: 104107.
- [29] Yang CG, Gao Q. Recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in China: the implication of molecular epidemiology for tuberculosis control[J]. Front Med, 2018, 12(1): 76-83.
- [30] Yang CG, Luo T, Shen X, et al. Transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Shanghai, China: a retrospective observational study using whole-genome sequencing and epidemiological investigation[J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(3): 275-284.
- [31] 刘晓俊, 余枫华, 余云芳, 等. 宜昌地区结核分枝杆菌基因分型与成簇特征分析[J]. 中国防痨杂志, 2019, 41(3): 308-314.
Liu XJ, Yu FH, Yu YF, et al. MIRU-VNTR genotyping and clustering of *Mycobacterium tuberculosis* in Yichang[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2019, 41(3): 308-314.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式:李丹,胡晓红,徐新娟,等.宜昌地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的鉴定及VNTR分型[J].中国感染控制杂志,2022,21(3):232-238. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221895.

Cite this article as: LI Dan, HU Xiao-hong, XU Xin-juan, et al. Identification and VNTR typing of Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Yichang area[J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(3): 232-238. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221895.