

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.16.030

## 结核分枝杆菌感染的实验室诊断研究进展

张 壮<sup>1</sup>, 宋晓晴<sup>2</sup>, 张晓戈<sup>1</sup>, 曾凡伸<sup>1</sup>综述, 王槐堂<sup>1△</sup>审校1. 湖北健康职业学院医学技术系, 湖北咸宁 437000; 2. 吉林省结核病医院/  
吉林省传染病医院检验科, 吉林长春 130500

**摘要:**结核分枝杆菌感染在全球范围内仍具有一定流行性, 中国也面临着较大的疾病负担, 实验室检测对于结核分枝杆菌感染的诊断和治疗控制具有重要意义。该文总结了现有结核分枝杆菌感染的实验室传统经典检测方法及未来有望应用于临床一线的新方向检测技术的诊断方法及相应的优缺点, 包括病原学、免疫学、分子生物学、新兴技术等。不同层次实验室可以根据相应条件及其自身特点选择适合的检测方法, 以期对临床结核分枝杆菌感染的早期诊断和有效控制提供参考。现有结核分枝杆菌感染的实验室检测方法总体耗时较长, 成本较高, 未来需要研究人员加强实验室快速检测技术的研究并降低检测成本, 探索不同实验室检测技术的改进, 完善并加以展望, 实现及时、准确地诊断结核分枝杆菌感染对后续的个体化精准治疗提供一定帮助。

**关键词:** 结核分枝杆菌; 实验室检测; 免疫学; 分子生物学; 新兴技术

中图分类号: R446.5; R52 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2024)16-2454-05

### Research progress in laboratory diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection

ZHANG Zhuang<sup>1</sup>, SONG Xiaoqing<sup>2</sup>, ZHANG Xiaoge<sup>1</sup>, ZENG Fanshen<sup>1</sup>, WANG Huaitang<sup>1△</sup>

1. Department of Medical Technology, Hubei Health Vocational College, Xianning, Hubei 437000, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Tuberculosis Hospital of Jilin Province/Jilin Provincial  
Infectious Disease Hospital, Changchun, Jilin 130500, China

**Abstract:** Mycobacterium tuberculosis infection still has a certain prevalence worldwide, and China is also facing a significant disease burden. Laboratory testing is of great significance for the diagnosis, treatment and control of mycobacterium tuberculosis infection. This article summarizes the traditional and classic laboratory detection methods for tuberculosis infection, as well as their corresponding advantages and disadvantages of new direction detection technologies that are expected to be applied in the clinical front line in the future, including microbiology, immunology, molecular biology, emerging technologies, etc. Laboratories at different levels can choose suitable detection methods based on their respective conditions and characteristics, in order to provide reference for early diagnosis and effective control of clinical tuberculosis infection. The existing laboratory testing methods for tuberculosis infection are generally time-consuming and costly. In the future, researchers need to strengthen the research on rapid laboratory detection technology and reduce detection costs, explore the improvement and perfection of different laboratory detection technologies, and provide prospects for timely and accurate diagnosis of tuberculosis infection, which will provide certain assistance for personalized and precise treatment in the future.

**Key words:** mycobacterium tuberculosis; laboratory testing; immunology; molecular biology; emerging technologies

结核分枝杆菌(MTB)感染是严重危害全人类健康的疾病之一, 已经逐渐演变为世界级公共卫生的巨大难题。MTB感染后能侵犯机体多个组织及器官引发慢性传染病——结核病(TB), 其中又以肺结核(PTB)最常见。近年来PTB的发病率及病死率都保持在较高水平, 故对MTB感染的早期诊断和有效控制显得尤为重要<sup>[1]</sup>。目前TB的诊断手段有实验室检测、影像学检查、临床特点及流行病学等多方面综合

分析判断, 其中最主要的为MTB实验室检测。MTB实验室检测方法目前包括病原生物学、免疫学、分子生物学等。MTB的早期诊断对TB患者的有效治疗和病情控制具有重要意义, 但目前临床诊断TB仍存在一定漏诊率, 所以研发新的MTB检测技术尤为重要。本文总结了近年来MTB实验室检测领域的研究进展, 并介绍新兴的检测方向和技术, 以期对临床实验室开展MTB检测提供一定帮助。

△ 通信作者, E-mail: 1346561576@qq.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20240729.1435.008.html> (2024-07-30)

## 1 病原生物学检测技术

病原生物学检测 MTB 感染是最经典、最传统的技术,也是目前临床实验室应用最多的方法。

**1.1 MTB 镜检技术** 目前 MTB 的显微镜检查主要有两种染色技术,第 1 种为经典的萋尼抗酸染色,利用分枝菌酸抵抗盐酸乙醇的脱色原理,在光学显微镜下使 MTB 呈现红色其余细菌呈现蓝色;第 2 种为金胺 O 荧光染色,原理为带有正电荷的金胺 O 染料与带有负电荷 MTB 相结合,通过荧光二极管(LED)显微镜观察到 MTB 呈现出金胺 O 染料的黄色。LED 镜检相对于普通光学镜检可在低倍镜下观察更多视野,在一定程度上检出率有所提高。SHARMA 等<sup>[2]</sup>对萋尼抗酸染色与金胺 O 荧光染色的 LED 镜检结果进行比较,发现 LED 镜检对于 MTB 检测更为敏感,且操作简便、耗时少,更有优势。自世界卫生组织(WHO)开始推荐 LED 镜检后,LED 镜检正逐渐取代普通光学显微镜,LED 镜检在提高灵敏度的同时可通过增强质量控制、自动化流水线作业等提高 MTB 检测的准确度。MTB 镜检技术具有对实验室要求较低、价格便宜、耗时短、特异度较高等优点,但存在无法判断 MTB 存活状态及镜检结果受人工操作影响等缺点,主要适用于基层医院和各级临床实验室进行初步 MTB 检测<sup>[3]</sup>。

**1.2 MTB 培养技术** MTB 培养技术是目前最可靠的检测方法之一,对于临床上高度怀疑 TB 患者应该强烈推荐 MTB 培养技术。MTB 的培养技术主要包括以罗-琴培养基为代表的固体培养法和以 Bactec MGIT 960 全自动培养系统为代表的液体培养法。固体培养法细菌生长缓慢,导致报阳时间较长且阳性率较低,不利于 MTB 感染的早期诊断,但此法仍不能舍弃,为提高检出率建议同时使用固体和液体培养法。以 Bactec MGIT 960 全自动培养系统为代表的液体培养法,因其含有丰富营养物质使 MTB 生长繁殖加快,具有报阳时间短、阳性率高、检测样本量多等优点。液体培养法除细菌培养效果较好外,在耐药性检测中也表现出较好的应用前景。EL-MONAEM 等<sup>[4]</sup>研究发现了一种 BLM 培养基,无论在痰涂片阳性还是阴性时其均比罗-琴培养基培养结果更为敏感且检测耗时更短,故研发新型培养基对于 MTB 培养技术的发展具有一定意义。MTB 培养技术是检测 MTB 的金标准,同时也是药敏试验所必需的,尤其液体培养法无论在细菌培养还是耐药性检测中均表现出较好的应用前景,应该在各类临床实验室推广使用,有利于医务工作者对 TB 患者的诊断。

**1.3 MTB 药物敏感性试验(药敏试验)** MTB 的药敏试验根据试验方法、培养基性质等因素可分为不同类型。根据标本处理方式不同可分为直接法和间接法:直接法报告时间较短,但是药敏试验结果不理想;

间接法是在 MTB 培养后进行药敏试验,能较好控制细菌接种量,但培养时间需 3~4 周,报告时间较长。间接法又可分为琼脂比例法和绝对浓度法,琼脂比例法为检测 MTB 耐药的金标准,其原理为将不同浓度的菌液接种在含有药物的琼脂格和对照无药琼脂格,比较药物琼脂格和对照琼脂格二者细菌生长比例并确定测试菌株对此药物的耐药性,此方法能控制细菌接种量使结果更为准确。绝对浓度法原理为将同一菌液接种在不同浓度的药物培养基上,根据含有药物培养基上的菌落数量判断结果,此方法拥有标准化接种量和药物浓度梯度等特点。以上两种传统固体药敏试验耗时费力,以 Bactec MGIT 960 全自动培养系统为代表的药敏试验是以液体培养为基础进行耐药性分析,相对于以往药敏报告时间有所缩短。液体培养药敏试验虽报告时间有所缩短但仪器昂贵,耗材成本高,目前大多在结核专科医院使用。

**1.4 噬菌体裂解技术** 噬菌体裂解技术原理是依靠一种可感染 MTB 的噬菌体进行检测,MTB 噬菌体感染范围仅限于存活状态的 MTB,若检测标本中没有 MTB,加入消毒剂后 MTB 噬菌体直接被灭活,此时再加入反应指示细胞,因 MTB 噬菌体已被灭活故指示细胞呈现正常生长状态,反应液中无噬菌斑出现;若检测标本中存在 MTB,MTB 噬菌体感染 MTB 后可避免消毒剂杀伤,此时在加入指示细胞会被 MTB 噬菌体感染使其破裂形成噬菌斑<sup>[5]</sup>。噬菌体裂解技术具有耗时短、灵敏度较高等优点,但操作复杂且难度较大并不适用于在基层医院开展。

## 2 免疫学检测技术

**2.1 血清学试验** 血清学试验主要是指在机体的外环境下对 MTB 的抗原或 MTB 刺激人体后产生的抗体进行测定,常用的实验室检测方法有酶联免疫吸附试验和胶体金免疫试纸条等技术。血清学试验具有操作简便、价格低廉等特点,曾被临床实验室广泛使用,但后来因其参考意义极为局限,目前仅有部分医院作为初筛使用。

**2.2 结核菌素皮肤试验(TST)** TST 原理是将结核菌素作为异物性抗原通过皮内注射刺激机体形成迟发型超敏反应,以出现的红斑硬结大小作为判断标准。目前已采用结核菌素纯蛋白衍生物(PPD)代替结核菌素进行皮肤试验,故 TST 又称 PPD 试验。此试验已有百年历史,是检测 MTB 感染的重要辅助手段,但易与卡介苗或非结核分枝杆菌形成交叉反应,同时也受机体免疫状态影响,进而造成 PPD 试验特异度偏低。目前,针对 MTB 皮肤试验的新型变应原也有一定进展。RUHWALD 等<sup>[6]</sup>研究发现一种新型的 C-Tb 皮肤试验,采用双抗原(CFP-10 和 ESAT-6)结合注射刺激机体,发现在人群中的诊断特异度明显高于 TST。新型变应原的研究对于皮肤试验的发展

具有重要意义。TST 具有对实验室要求较低、操作简便、准确度和灵敏度较高等优点,但其特异度不高且不能判断 MTB 潜伏感染及活动性结核,因此适用于 TB 高发地区和经济欠发达地区的基层结核防控机构进行 MTB 感染筛选。

**2.3  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 释放试验 (IGRA)** IFN- $\gamma$  会在机体再次接触 MTB 时由效应 T 淋巴细胞高水平释放,是 MTB 感染的标志物之一,对于 MTB 感染的早期诊断和筛查具有重要辅助作用<sup>[7]</sup>。IGRA 主要是通过检测机体 IFN- $\gamma$  水平来判断是否感染 MTB。IGRA 传统检测方法包括酶联免疫吸附试验和酶联免疫斑点试验等,IGRA 相对于 TST 特异度较高,但操作也相对复杂。近年来新兴的生物传感器和微流控技术也应用在 IFN- $\gamma$  的检测之中。SÁNCHEZ-TIRADO 等<sup>[8]</sup>发明了一种检测唾液中 IFN- $\gamma$  水平的三明治结构电化学免疫传感器,利用 IFN- $\gamma$  抗原抗体特异性结合原理进行检测。LIU 等<sup>[9]</sup>研制了一种利用磁性纳米颗粒形成检测平台的微流控装置,可以实现对细胞培养液或血清 IFN- $\gamma$  水平的连续检测。IGRA 可排除卡介苗和非结核分枝杆菌的干扰,其特异度和灵敏度较高,但机体免疫功能较低时其试验结果易受影响,一般要与其他诊断方法相结合,现已逐渐成为筛查和辅助诊断 MTB 感染的重要手段。

### 3 分子生物学检测技术

**3.1 基于核酸扩增检测技术** 实时荧光定量聚合酶链反应 (PCR) 是目前在分子生物学中检测 MTB 感染应用最多的技术。分子生物学检测技术已逐渐成为 MTB 实验室检测的主要方法之一。GeneXpert MTB/ RIF (简称 Xpert) 是实时荧光定量 PCR 技术的主要代表,是一种以 *rpoB* 为检测靶基因进行全自动核酸扩增的快速检测技术。Xpert 可在 2 h 内完成 MTB 检测及分析利福平耐药情况,具有操作简便、报告时间短、特异度和灵敏度较高等优点<sup>[10]</sup>。RIMAL 等<sup>[11]</sup>将 Xpert 与 MTB 培养结果进行对比,发现二者诊断 MTB 感染的一致性高达 90.91%,因此可判断二者检测性能几乎相当,故在痰涂片阴性标本中 Xpert 检测结果具有可信性。Xpert MTB/ RIF Ultra (简称 Ultra) 是新一代检测技术,为增强检测系统的灵敏度添加了 2 种新的靶基因即靶标 IS1081 和靶标 IS6110,使 MTB 的检测下限大幅度下降;Ultra 同时为提高检测样本量增加了核酸扩增室极大提高了工作效率<sup>[12]</sup>。KAY 等<sup>[13]</sup>研究发现 GeneXpert 系统的灵敏度和特异度会因标本来源不同而发生变化,在 Xpert 中以检测胃内容物标本的灵敏度最高,检测痰液和粪便标本的灵敏度依次降低,其检测鼻咽标本的灵敏度最低,但所有标本的特异度可达到 98% 以上,在痰液中 Ultra 相对于 Xpert 表现出更高的灵敏度,但其特异度略低。

恒温扩增检测是一种保持相同温度的扩增,可脱离传统梯度温度的循环。环介导恒温扩增 (LAMP) 为目前的主要代表,LAMP 对实验室要求较低,其结果可通过紫外荧光进行肉眼观察,整个扩增过程不超过 2 h。LAMP 具有多样性靶标,其中以高灵敏度和高特异度的靶标 IS6110 应用最多<sup>[14]</sup>。KIM 等<sup>[15]</sup>的一项 Meta 分析表明,LAMP 对 PTB 患者诊断的特异度高达 94%,诊断的灵敏度为 89.6%。LAMP 操作简单,无需复杂试剂,对实验室要求较低,且通过肉眼观察荧光即可直接判断结果,建议基层临床实验室或经济欠发达地区选择使用,因其检测快速即时未来有望应用于床旁检测。

**3.2 核酸分子杂交检测** 线性探针检测 (LPA) 是以多重 PCR 核酸扩增为基础,其扩增产物与预先固定在膜上的特异性 DNA 寡核苷酸探针进行杂交,最后经酶联免疫比色通过肉眼即可观察结果。LPA 除检测 MTB 感染外,也可分析其耐药性。LIN 等<sup>[16]</sup>的一项 Meta 分析表明,LPA 对于检测 MTB 感染表现出较高的准确度,其灵敏度为 89%,但特异度可高达 94%;检测利福平耐药性 TB 灵敏度为 96%,特异度为 99%;检测异烟肼耐药性 TB 灵敏度为 91%,特异度为 99%。

**3.3 基因测序** 宏基因组二代测序 (mNGS) 是通过病原微生物的 DNA 序列进行高通量测序从而实现的检测技术。研究人员发现在痰涂片阴性或疑似 PTB 但痰液稀薄较少的标本检测中,mNGS 的灵敏度为 89.13%,高于常规技术,其特异度为 98.36%,与常规技术相似,故 mNGS 在检测痰涂片阴性或疑似 PTB 但痰液稀薄较少的标本中可能表现出更高的诊断效能<sup>[17]</sup>。YU 等<sup>[18]</sup>的一项 Meta 分析表明,mNGS 对于肺外结核的结核性脑膜炎检测的灵敏度为 27%~84%,特异度为 96%~100%,mNGS 表现出中等灵敏度和极高特异度,可作为结核性脑膜炎的早期诊断技术。

全基因组测序 (WGS) 是对微生物的所有基因组进行 DNA 序列检测,包括基因编码及非编码区等。WGS 目前已在 TB 的菌种鉴定、耐药性分析、基因分型和流行病学调查中成功应用,但其对实验设备要求较高且成本昂贵,目前尚未推广使用<sup>[19]</sup>。近年来,WGS 的发展使得临床工作者能够更全面地了解 MTB 的遗传变异和耐药机制,随着研究的不断进展,WGS 有望作为耐药性 TB 的早期诊断方法<sup>[20]</sup>。

### 4 新兴检测技术

**4.1 质谱分析检测技术** 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法 (MALDI-TOF MS) 检测原理为不同的离子拥有不同的质量,在同一电场中不同质量的离子飞离时间不同,根据质荷比即可进行离子分离从而达到检测细菌的目的<sup>[21]</sup>。MALDI-TOF MS 在 MTB 的

菌种鉴定中表现出较好的检测性能,具有检测快速及较高的灵敏度和特异度的优点。MALDI-TOF MS 的劣势为检测仪器的成本较高及设备维护技术较难,并不适用于基层临床实验室开展 MTB 检测<sup>[22]</sup>。

**4.2 显微拉曼光谱技术(MRS)** MRS 是运用光学显微镜和拉曼光谱技术相结合的拉曼显微镜以实现细菌的检测,当光源照射到标本后经散射被 MRS 物镜收集,通过探测器孔径进入到拉曼光谱仪,产生的光谱信号会和数据库中的光谱数据进行对比分析,快速检索匹配后即可实现对细菌的鉴定<sup>[23]</sup>。目前, MRS 已被应用在 MTB 的菌种鉴定,现有 PCR 检测技术虽具有较高灵敏度但无法判断细菌存活状况, MRS 除鉴定外还可判断细菌存活状态,且 MRS 主要是通过活细菌内部的蛋白质和氨基酸等进行分析检测,表现出超高灵敏度和分辨率,是一种对 MTB 检测快速且无损害的技术,随着研究的不断深入, MRS 有望作为 MTB 感染检测的临床实验室新手段<sup>[24]</sup>。

**4.3 生物传感器技术** 近年来生物传感器技术在 MTB 检测中发展迅速,不断涌现出各类的新型生物传感器。CHATURVEDI 等<sup>[25]</sup>研发了一种三元纳米材料(还原氧化石墨烯、聚多巴胺和金纳米颗粒)的电化学生物传感器,原理是通过将 MTB 的 DNA 探针固定在三元纳米材料所覆盖的电极上从而进行检测,这种传感器响应时间迅速且具有较高的灵敏度和较强的稳定性。各类生物传感器技术呈现出检测耗时短、所需样本量少、成本较低、稳定性好,且具有高灵敏度和高特异度等特点,适合经济欠发达地区和偏远山区进行 MTB 筛查检测。

## 5 结论与展望

综上所述,本文从病原学、免疫学、分子生物学、新兴技术等不同方向介绍了现有 MTB 感染的实验室检查现状及最新进展, MTB 实验室检测技术的不断发展和创新为 TB 的早期诊断、耐药性检测和流行病学调查提供了有力支持。然而,尽管现有的检测方法已取得了显著进展,但仍存在一些挑战: MTB 实验室检测的灵敏度及特异度的不断提高;实验室检测成本的降低及检测人员要求的提高;满足在资源有限地区的应用等。近年来随着 MTB 分型及耐药机制的不断进展,分子生物学检测技术已逐渐表现出其优势并逐渐成为 MTB 实验室检测的主流。因此,未来的研究应继续探索新的 MTB 检测方法,并加强 MTB 检测技术的标准化,以实现更准确、更快速、更可靠的 MTB 实验室检测。

## 参考文献

[1] RAHLWES K C, DIAS B R S, CAMPOS P C, et al. Pathogenicity and virulence of mycobacterium tuberculosis [J]. *Virulence*, 2023, 14(1): 2150449.

[2] SHARMA M, BROOR S, MAHESHWARI M, et al. Comparison of conventional diagnostic methods with molecular method for the diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. *Indian J Tuberc*, 2023, 70(2): 182-189.

[3] HUANG H C, KUO K L, LO M H, et al. Novel TB smear microscopy automation system in detecting acid-fast bacilli for tuberculosis—a multi-center double blind study[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2022, 135: 102212.

[4] EL-MONAEM B H A, HUSSEIN S M, EL-ATTAR L A, et al. Bilayered medium for rapid isolation of mycobacterium tuberculosis[J]. *Lab Med*, 2018, 49(3): 239-245.

[5] ZEYNALI K F, KHANJANI S, FARDSANEI F, et al. Bacteriophages of mycobacterium tuberculosis, their diversity, and potential therapeutic uses: a review[J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1): 957.

[6] RUHWALD M, AGGERBECK H, GALLARDO R V, et al. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection, compared with an interferon  $\gamma$  release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5(4): 259-268.

[7] GILANI B, SERGENT S R. Interferon test[M]. San Francisco: StatPearls Publishing, 2020.

[8] SÁNCHEZ-TIRADO E, GONZÁLEZ-CORTÉS A, YÁÑEZ-SEDEÑO P, et al. Electrochemical immunosensor for the determination of the cytokine interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) in saliva[J]. *Talanta*, 2020, 211: 120761.

[9] LIU G Z, CAO C M, NI S N, et al. On-chip structure-switching aptamer-modified magnetic nanobeads for the continuous monitoring of interferon-gamma ex vivo[J]. *Microsyst Nanoeng*, 2019, 5: 35.

[10] UDDIN M K M, ATHER M F, KABIR S, et al. Diagnostic performance of different laboratory methods for the detection of extrapulmonary tuberculosis[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(4): 1066.

[11] RIMAL R, SHRESTHA D, PYAKUREL S, et al. Diagnostic performance of GeneXpert MTB/RIF in detecting MTB in smear-negative presumptive TB patients [J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1): 321.

[12] RINDI L. Rapid molecular diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis by xpert/RIF ultra[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 817661.

[13] KAY A W, GONZÁLEZ F L, TAKWOINGI Y, et al. Xpert MTB/RIF and xpert MTB/RIF ultra assays for active tuberculosis and rifampicin resistance in children[J/CD]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, 8(8): CD013359.

[14] KECHIN A, OSCORBIN I, CHEREDNICHENKO A, et al. Selection of IS6110 conserved regions for the detection of mycobacterium tuberculosis using qPCR and LAMP [J]. *Arch Microbiol*, 2023, 205(2): 71.

[15] KIM C K, CHO E A, SHIN D M, et al. Comparative evaluation of the loop-mediated isothermal amplification assay for detecting pulmonary tuberculosis[J]. *Ann Lab Med*, 2018, 38

(2):119-124.

- [16] LIN M, CHEN Y W, LI Y R, et al. Systematic evaluation of line probe assays for the diagnosis of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 533: 183-218.
- [17] ZHU N, ZHOU D B, LI S Q. Diagnostic accuracy of metagenomic next-generation sequencing in sputum-scarce or smear-negative cases with suspected pulmonary tuberculosis [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9970817.
- [18] YU G C, ZHAO W C, SHEN Y Q, et al. Metagenomic next Generation sequencing for the diagnosis of tuberculosis meningitis; a systematic review and Meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0243161.
- [19] HASAN Z, RAZZAK S A, KANJI A, et al. Whole-genome sequencing reveals genotypic resistance in phenotypically susceptible mycobacterium tuberculosis clinical isolates [J]. *Int J Mycobacteriol*, 2023, 12(2): 179-183.
- [20] GÜNTHER G, RUSWA N, KELLER P M. Drug-resistant tuberculosis: advances in diagnosis and management [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2022, 28(3): 211-217.
- [21] EVANGELISTA A J J, FERREIRA T L. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in the diagnosis of microorganisms [J]. *Future Microbiol*, 2022, 17: 1409-1419.
- [22] SHI J C, HE G Q, NING H Y, et al. Application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in the detection of drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in re-treated patients [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2022, 135: 102209.
- [23] PETERSEN M, YU Z L, LU X N. Application of raman spectroscopic methods in food safety: a review [J]. *Biosensors (Basel)*, 2021, 11(6): 187.
- [24] KUMAR S, GOPINATHAN R, CHANDRA G K, et al. Rapid detection of bacterial infection and viability assessment with high specificity and sensitivity using Raman microspectroscopy [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(11): 2505-2516.
- [25] CHATURVEDI M, PATEL M, BISHT N, et al. Reduced graphene oxide-polydopamine-gold nanoparticles; a ternary nanocomposite-based electrochemical genosensor for rapid and early mycobacterium tuberculosis detection [J]. *Biosensors (Basel)*, 2023, 13(3): 342.

(收稿日期: 2023-10-25 修回日期: 2024-03-01)

(上接第 2453 页)

- [31] HILTUNEN M O, TURUNEN M P, HÄKKINEN T P, et al. DNA hypomethylation and methyltransferase expression in atherosclerotic lesions [J]. *Vasc Med*, 2002, 7(1): 5-11.
- [32] PENG J, YANG Q, LI A F, et al. Tet methylcytosine dioxygenase 2 inhibits atherosclerosis via upregulation of autophagy in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47): 76423-76436.
- [33] PAOLILLO S, MARSICO F, PRASTARO M, et al. Diabetic cardiomyopathy: definition, diagnosis, and therapeutic implications [J]. *Heart Fail Clin*, 2019, 15(3): 341-347.
- [34] CHENG Y X, ZHAO W, ZHANG X D, et al. Downregulation of microRNA-1 attenuates glucose-induced apoptosis by regulating the liver X receptor  $\alpha$  in cardiomyocytes [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 1814-1824.
- [35] KAO Y H, CHEN Y C, CHENG C C, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  decreases sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase expressions via the promoter methylation in cardiomyocytes [J]. *Crit Care Med*, 2010, 38(1): 217-222.
- [36] LI C L, LIU B, WANG Z Y, et al. Salvianolic acid B improves myocardial function in diabetic cardiomyopathy by suppressing IGFBP3 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 139: 98-112.
- [37] ECAMWASAM A, NOVAKOVIC B, MEYER B, et al. DNA methylation profiling identifies epigenetic differences between early versus late stages of diabetic chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2021, 36(11): 2027-2038.
- [38] OBA G Y Y, AYUZAWA N, NISHIMOTO M, et al. Aberrant DNA methylation of Tgfb1 in diabetic kidney mesangial cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16338.
- [39] LI W J, SARGSYAN D, WU R Y, et al. DNA methylome and transcriptome alterations in high glucose-induced diabetic nephropathy cellular model and identification of novel targets for treatment by tanshinone II A [J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(10): 1977-1988.
- [40] KOWLURU R A, SHAN Y. Role of oxidative stress in epigenetic modification of MMP-9 promoter in the development of diabetic retinopathy [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2017, 255(5): 955-962.
- [41] CHEN H, ZHANG X Z, LIAO N Y, et al. Identification of NLRP3 inflammation-related gene promoter hypomethylation in diabetic retinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61(13): 12.
- [42] BERDASCO M, GÓMEZ A, RUBIO M J, et al. DNA methylomes reveal biological networks involved in human eye development, functions and associated disorders [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11762.

(收稿日期: 2023-11-13 修回日期: 2024-03-18)