

Đánh giá giải trình tự gen thế hệ mới trong xác định lao kháng thuốc và khảo sát dòng vi khuẩn lao tại Bệnh viện Phổi Trung ương

Đào Gia Bách^{1,2}, Đinh Văn Lượng^{1*}

¹Bệnh viện Phổi Trung ương, 463 Hoàng Hoa Thám, phường Ngọc Hà, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Kim Liên, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/7/2026; ngày chuyển phản biện 13/7/2026; ngày nhận phản biện 27/7/2026; ngày chấp nhận đăng 29/7/2026

Tóm tắt:

Mục tiêu: Đánh giá kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) sử dụng bộ kit Deeplex Myc-TB trong xác định lao kháng thuốc và khảo sát dòng vi khuẩn lao tại Bệnh viện Phổi Trung ương. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực hiện trên 79 chủng vi khuẩn lao kháng thuốc được lưu tại kho chủng Khoa Vi sinh và Labo Lao chuẩn Quốc gia, Bệnh viện Phổi Trung ương bằng kỹ thuật NGS sử dụng bộ kit Deeplex Myc-TB trên nền tảng Illumina. **Kết quả:** Kỹ thuật NGS có độ tương đồng cao so với kỹ thuật kháng sinh đồ kiểu hình, đặc biệt đối với thuốc isoniazid và streptomycin. Các thuốc có độ tương đồng thấp hơn lần lượt là ethambutol, rifampicin, pyrazinamide, amikacin, kanamycin. **Kết quả phân tích dịch tễ phân tử** cho thấy, dòng lineage 2 (Beijing) chiếm ưu thế (84,8%). Tỷ lệ nhiễm hỗn hợp 41,8% chủ yếu ở cặp lineage 2 và lineage 2.2.1, phản ánh mối quan hệ loài gần và đa dạng tiến hóa của vi khuẩn. **Kết luận:** Kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới có độ đồng thuận cao so với kỹ thuật kháng sinh đồ kiểu hình lỏng MGIT. **Kết quả dịch tễ phân tử** cho thấy, dòng lineage 2 (Beijing) chiếm ưu thế, phù hợp với xu hướng lưu hành của chủng này tại Việt Nam. Ngoài ra, tỷ lệ nhiễm hỗn hợp 41,8% nhưng phần lớn là cặp lineage 2 và lineage 2.2.1 có quan hệ gần phản ánh đa dạng tiến hóa vi mô hơn so với việc nhiễm hai chủng độc lập.

Từ khóa: giải trình tự gen thế hệ mới, kháng sinh đồ lỏng MGIT, *Mycobacterium tuberculosis* kháng thuốc.

Chỉ số phân loại: 3.1, 3.2, 3.3

Evaluation of next-generation sequencing for detecting drug-resistant tuberculosis and investigating *Mycobacterium tuberculosis* lineages at the National Lung Hospital

Gia Bach Dao^{1,2}, Van Luong Dinh^{1*}

¹National Lung Hospital, 463 Hoang Hoa Tham Street, Ngoc Ha Ward, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam

Received 10 July 2026; revised 27 July 2026; accepted 29 July 2026

Abstract:

Objectives: To evaluate the performance of next-generation sequencing (NGS) using the Deeplex Myc-TB kit in detecting drug-resistant tuberculosis and investigating *Mycobacterium tuberculosis* lineages at the National Lung Hospital. **Subjects and methods:** This study included 79 *M. tuberculosis* strains retrieved from the strain bank of the Department of Microbiology and the National Tuberculosis Reference Laboratory, National Lung Hospital, which were analysed by NGS using the Deeplex Myc-TB kit on the Illumina platform. **Results:** NGS demonstrated high concordance with phenotypic drug susceptibility testing (DST), particularly for isoniazid and streptomycin. Lower concordance levels were observed for ethambutol, rifampicin, pyrazinamide, amikacin, and kanamycin. Molecular epidemiological analysis revealed that lineage 2 (Beijing) was predominant (84.8%). Mixed infection accounted for 41.8% of isolates, primarily involving lineage 2 and lineage 2.2.1, reflecting their close phylogenetic relationship and the microevolutionary diversity of *M. tuberculosis*. **Conclusions:** NGS showed a high level of agreement with the MGIT liquid phenotypic drug susceptibility testing method. Molecular epidemiological characterisation confirmed the predominance of lineage 2 (Beijing), consistent with the circulating pattern of this lineage in Vietnam. Additionally, the mixed-infection rate reached 41.8%, but most mixed infections involved the closely related lineage 2 and lineage 2.2.1, suggesting microevolutionary diversification rather than infection with two independent strains.

Keywords: drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, next-generation sequencing, MGIT liquid drug susceptibility testing.

Classification numbers: 3.1, 3.2, 3.3

*Tác giả liên hệ: Email: dinhvanluong66@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Bệnh lao nói chung và lao kháng thuốc nói riêng đang là thách thức lớn đối với sức khỏe cộng đồng không chỉ tại Việt Nam mà còn trên toàn thế giới. Công tác kiểm soát bệnh lao đã đạt được những thành tựu nhất định, song bệnh lao vẫn là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2025, trong năm 2024, trên thế giới ghi nhận khoảng 10,7 triệu ca mắc lao. Trong đó, số ca mắc bệnh lao kháng đa thuốc hoặc kháng rifampicin (MDR/RR-TB) khoảng 390 nghìn, tỷ lệ tử vong do bệnh lao khoảng 1,2 triệu ca [1]. Tại Việt Nam, trong năm 2024, tổng số ca mắc lao khoảng 184 nghìn. Trong đó, số ca lao kháng đa thuốc hoặc kháng rifampicin ước tính khoảng 9,4 nghìn và tử vong do bệnh lao khoảng hơn 12,4 nghìn ca [2]. Nghiên cứu dịch tễ học bệnh lao đóng vai trò then chốt trong việc phát hiện các “điểm nóng” lao, lao kháng đa thuốc để từ đó thiết kế can thiệp trong việc kiểm soát và khống chế bệnh lao.

Với sự phát triển vượt bậc của khoa học và kỹ thuật, công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới NGS là công nghệ tiên tiến hiện đại. Bộ kit Deeplex Myc-TB của GenoScreen, Pháp giúp phát hiện vi khuẩn lao, vi khuẩn lao kháng thuốc nhanh chóng cùng dữ liệu phân tích các gen kháng thuốc cũng như phân loại được các dòng vi khuẩn lao chính xác. Toàn bộ quy trình giải trình tự cho kết quả trong khoảng 24-48 giờ [3], nhanh hơn nhiều so với thời gian trả kết quả kháng sinh đồ lỏng dương tính (khoảng 14 ngày). Tuy nhiên, kỹ thuật kháng sinh đồ lỏng vẫn được xem là “tiêu chuẩn vàng” trong việc xác định tính kháng thuốc của vi khuẩn lao. Căn cứ vào tính cấp thiết và thời sự, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu: “Đánh giá kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong xác định lao kháng thuốc và khảo sát dòng vi khuẩn lao tại bệnh viện Phổi Trung ương”.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là các chủng vi khuẩn lao kháng thuốc được lưu giữ tại kho chủng của Khoa Vi sinh và Labo Lao chuẩn Quốc gia, Bệnh viện Phổi Trung ương năm 2024.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, có phân tích và sử dụng dữ liệu hồi cứu.

2.2.2. Phương pháp chọn mẫu

Chọn mẫu theo phương pháp thuận tiện các chủng

vi khuẩn lao kháng thuốc lưu tại kho chủng của Khoa Vi sinh và Labo Lao chuẩn quốc gia, Bệnh viện Phổi Trung ương. Các mẫu này có đầy đủ hồ sơ về kết quả kháng sinh đồ kiểu hình. Cơ mẫu lựa chọn được là 79 mẫu.

2.2.3. Quy trình nghiên cứu

Các mẫu chủng vi khuẩn lao được cấy truyền sang môi trường lỏng MGIT. Hút 1 ml huyền dịch để thực hiện kỹ thuật giải trình tự gen đích (tNGS: targeted-Next Generation Sequencing) của vi khuẩn lao kháng thuốc sử dụng bộ kit Deeplex Myc-TB (GenoScreen, Pháp). Các mẫu chủng vi khuẩn lao được tách chiết DNA bằng bộ kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Đức). Lượng DNA thu được sau tách chiết được khuếch đại sử dụng bộ kit PCR Deeplex Myc-TB (GenoScreen, Pháp). Sản phẩm PCR được tinh sạch sử dụng hạt từ AMPure XP (Beckman Coulter, Hoa Kỳ) và thực hiện các bước chuẩn bị thư viện sử dụng bộ kit Illumina DNA Library Prep Kit (Illumina, Hoa Kỳ). Tiến hành giải trình tự trên hệ thống Illumina MiSeq. Sau quá trình giải trình tự, các tệp dữ liệu giải trình tự thô sẽ được phân tích tin sinh học tự động bằng phần mềm phân tích.

2.2.4. Thu thập và phân tích số liệu

Dữ liệu thô sau giải trình tự được phân tích tự động bằng phần mềm. Dữ liệu sau đó được thu thập và làm sạch trên Excel và phân tích bằng phần mềm R.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện tại Khoa Vi sinh và Labo Lao chuẩn Quốc gia, Bệnh viện Phổi Trung ương.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện với một mục đích duy nhất nhằm phục vụ và bảo vệ sức khỏe cộng đồng. Các chủng nghiên cứu và kết quả xét nghiệm đã được mã hóa thông tin và không thu thập bất kỳ thông tin nào khác nhằm bảo mật trong quá trình thu thập và phân tích số liệu.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. So sánh mức độ tương đồng giữa kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới và kháng sinh đồ lỏng MGIT

Độ chính xác của kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới được so sánh với kỹ thuật kháng sinh đồ kiểu hình môi trường MGIT (KSĐ lỏng MGIT) thông qua hệ số Cohen’s Kappa (κ) với 12 loại thuốc: Isoniazid (INH), streptomycin (SM), nhóm fluoroquinolone (FLQ), pyrazinamide (PZA), kanamycin (KAN), ethambutol (EMB), rifampicin (RIF), amikacin (AMI), bedaquiline

(BDQ), capreomycin (CAP), clofazimine (CFZ), linezolid (LZD). Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả so sánh kỹ thuật tNGS và kháng sinh đồ kiểu hình lòng MGIT.

Tên thuốc	n*	Kappa (k)	% đồng thuận
INH	77	0,87	97,4
SM	78	0,85	96,2
FLQ	71	0,62	91,5
PZA	75	0,59	80,0
KAN	77	0,31	87,0
EMB	78	0,28	61,5
RIF	77	0,26	79,2
AMI	77	0,21	85,7
BDQ	75	0,00	98,7
CAP	78	0,00	98,7
CFZ	75	N/A	100
LZD	76	N/A	100

N/A: không xác định, n: cỡ mẫu, k: thước đo độ tin cậy trong nghiên cứu. *Cỡ mẫu không đạt 79 ở các loại thuốc do loại bỏ một số kết quả không xác định hoặc không phân loại được.

Kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới sử dụng bộ kit Deeplex Myc-TB là một kỹ thuật sinh học phân tử hiện đại cho phép phát hiện vi khuẩn lao cũng như tính kháng thuốc nhanh. Tuy nhiên, theo Tổ chức Y tế Thế giới, kỹ thuật kháng sinh đồ kiểu hình lòng MGIT vẫn được coi là “tiêu chuẩn vàng” trong việc xác định tính kháng thuốc của vi khuẩn lao. Chính vì vậy, việc so sánh kỹ thuật tNGS và kỹ thuật KSD lòng MGIT để xác định độ chính xác của kỹ thuật tNGS là cần thiết. I. Bonnet và cs (2021) [4] tiến hành nghiên cứu đánh giá về bộ kit Deeplex Myc-TB đều cho thấy mức độ phù hợp cao với kháng sinh đồ kiểu hình với mức độ đồng thuận tổng thể là 85,4% giữa hai phương pháp. Một nghiên cứu xác nhận của A. Jouet và cs (2021) [5] trên 429 chủng phân lập cho thấy, Deeplex dự đoán được 92,2% kiểu hình với độ nhạy khoảng 95,3% và độ đặc hiệu trung bình là 97,4%.

Kết quả bảng 1 cho thấy, hai thuốc có (k) cao nhất là isoniazid và streptomycin (0,87 và 0,85) do cơ chế đề kháng đặc trưng về mặt di truyền (đột biến trội tại *katG* S315T, *inhA* cho INH; *rpsL* K43R, *gidB*, *rrs* cho SM) nên khả năng dự đoán kiểu hình từ kiểu gen có độ chính xác rất cao. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của S. Feuerriegel và cs (2021) [6] với mức độ đồng thuận thuốc INH là 94,9%. Bên cạnh đó, kết quả cũng cho thấy một

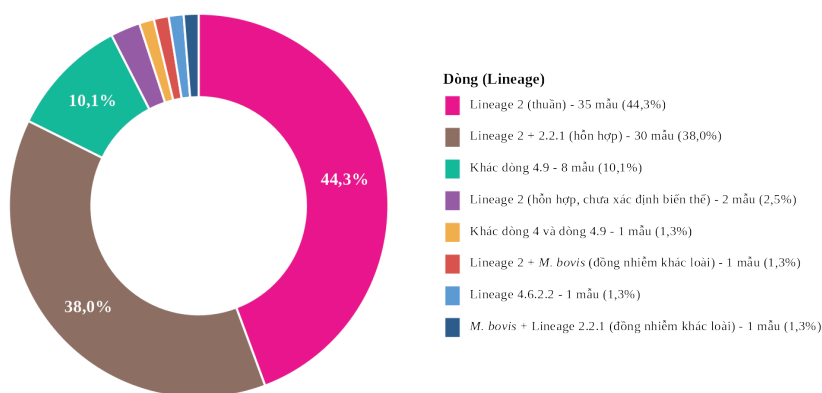
số thuốc như PZA, EMB, RIF, KAN, AMI có (k) thấp, tuy nhiên tỷ lệ phần trăm đồng thuận tương đối cao. Theo S. Mok và cs (2021) [7], PZA chỉ có hoạt tính ở pH acid nên gây ra hiện tượng kháng giả trên hệ thống BACTEC MGIT 960 khiến cho các so sánh với các kỹ thuật về gen có mức độ đồng thuận thấp. Điều này tương tự với nghiên cứu của A. Jouet và cs [5] khi ghi nhận 81,2% các bất đồng liên quan đến pyrazinamide, ethambutol, ethionamide. Ngoài ra, kết quả tại bảng 1 ghi nhận các thuốc như BDQ, CAP, CFZ, LZD là các thuốc có mức độ đồng thuận bằng 0 hoặc không xác định. Tuy nhiên, đây là hiện tượng nghịch lý của hệ số Kappa (Kappa-paradox) do quần thể vi khuẩn lao nghiên cứu hầu hết đều nhạy cảm với cả hai phương pháp, cùng với đó là tỷ lệ đồng thuận ngẫu nhiên cao dẫn đến việc (k) bị giảm xuống gần bằng 0 hoặc không có giá trị thống kê [8]. Đối với các trường hợp thuốc RIF, AMI, KAN, bất đồng có thể xảy ra do hiện tượng vi khuẩn không đồng nhất. Các nghiên cứu giải trình tự sâu cho thấy, hiện tượng heteroresistance (sự hiện diện của biến thể thiếu số kháng thuốc) có thể tồn tại với tần suất dưới 1% và không phải lúc nào cũng được phát hiện đồng nhất giữa kỹ thuật giải trình tự gen và kỹ thuật kháng sinh đồ kiểu hình. Các nghiên cứu trước đây sử dụng bộ kit Deeplex đã ghi nhận các bất đồng xuất phát từ các biến thể có tần suất thấp gây đề kháng ở mức độ nhẹ, ví dụ với đột biến *katG* S315G chỉ xuất hiện với tần suất 5,5% [6, 9].

3.2. Kết quả dịch tễ học phân tử

Kỹ thuật giải trình tự gen sử dụng bộ kit Deeplex cho phép phân tích đồng thời thông tin về chủng loại vi khuẩn lao theo phương pháp spoligotype và single nucleotide polymorphism (SNP). Đây là kết quả không thể có khi làm kháng sinh đồ kiểu hình. Kết quả được trình bày trong hình 1.

Phân bố chủng lao theo dòng (Lineage)

Tổng số mẫu: n = 79



Hình 1. Tỷ lệ các dòng vi khuẩn lao.

Kết quả hình 1 cho thấy, Lineage 2 (bao gồm cả dạng thuần và cả dạng hỗn hợp với 2.2.1) chiếm ưu thế khoảng 84,8% (35 mẫu thuần + 30 mẫu hỗn hợp 2.2.1 + 2 mẫu hỗn hợp không xác định biến thể = 67/79). Tỷ lệ lineage 2 (Beijing) chiếm tỷ lệ áp đảo phù hợp chặt chẽ với các nghiên cứu dịch tễ phân tử vi khuẩn lao tại Việt Nam. Nghiên cứu đa trung tâm đầu tiên ở cấp Quốc gia của V.A.T. Nguyen và cs (2016) [10] trên các bệnh viện tuyến Trung ương của cả ba miền đều ghi nhận Beijing là dòng phổ biến nhất với tỷ lệ 55,4%, sau đó là EAI (27,5%), đồng thời cho thấy xu hướng dòng Beijing dần thay thế dòng EAI. Đặc biệt, tại miền Bắc và miền Trung, sự áp đảo của chủng Beijing kéo theo xu hướng gia tăng tỷ lệ lao kháng thuốc trong tương lai [10]. Tại TP. Hồ Chí Minh, một nghiên cứu với quy mô lớn của K.E. Holt và cs (2018) [11] ghi nhận tỷ lệ lineage 2 lên đến 63,6%, phản ánh hiện tượng du nhập và lây truyền liên tục của dòng Beijing gây gánh nặng bệnh lao ngày một cao hơn [12]. Một khảo sát ở miền Bắc Việt Nam do V.A.T. Nguyen và cs (2012) [12] ghi nhận tỷ lệ 38,5% xuất hiện ở cả dòng Beijing và EAI, đã cho thấy xu hướng gia tăng và phát triển của dòng Beijing theo thời gian.

Trong nghiên cứu này (hình 2), tỷ lệ nhiễm hỗn hợp (mixed infection) đạt 41,8% cho thấy, dữ liệu này tương đối cao so với khoảng tham chiếu thường được báo cáo tại các vùng có gánh nặng bệnh lao cao dao động trong khoảng 10-20%. Một nghiên cứu sử dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ bộ gen (WGS: Whole Genome Sequencing) ghi nhận khả năng phát hiện nhiễm hỗn hợp phụ thuộc vào tần suất của các chủng thiểu số. Khi tần suất của chủng thiểu số đủ cao, các allele hỗn hợp sẽ dễ dàng được nhận diện. Ngược lại, nếu chủng thiểu số ít phổ biến, các allele hỗn hợp sẽ khó để phát hiện

với các biến thể hiếm khác [13]. Bên cạnh đó, không loại trừ trường hợp xuất hiện hiện tượng tiến hóa vi mô cùng vật chủ hơn là nhiễm hai chủng độc lập thực sự. Trong số 30/33 trường hợp nhiễm hỗn hợp, sự hiện diện của dòng lineage 2 và lineage 2.2.1. Lineage 2.2.1 là một sublineage của chính lineage 2, chứ không phải hai dòng khác biệt nhau về mặt di truyền. Các nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng, phương pháp phân loại dựa trên SNP có nguy cơ nhầm lẫn giữa trường hợp nhiễm hỗn hợp thật sự (hai chủng lây nhiễm độc lập) và sự đa dạng tiến hóa của dòng có chung nguồn gốc, tổ tiên trong quá trình nhiễm trùng kéo dài. Hơn nữa, bộ kit Deeplex Myc-TB được thiết kế để giải trình tự các vùng gen mục tiêu, không phải toàn bộ bộ gen nên khả năng nhận biết và phân biệt hai trường hợp này chưa thực sự tốt [13]. Tuy nhiên, nếu xác nhận được trường hợp là nhiễm hỗn hợp thực sự, có ý nghĩa rất lớn trong lâm sàng, do đây là nguyên nhân dẫn đến phần lớn các thất bại trong phác đồ điều trị. Đồng thời, có thể gây ra kết quả kháng sinh đồ kiểu hình không nhất quán, làm phức tạp phác đồ và quá trình điều trị [9, 13].

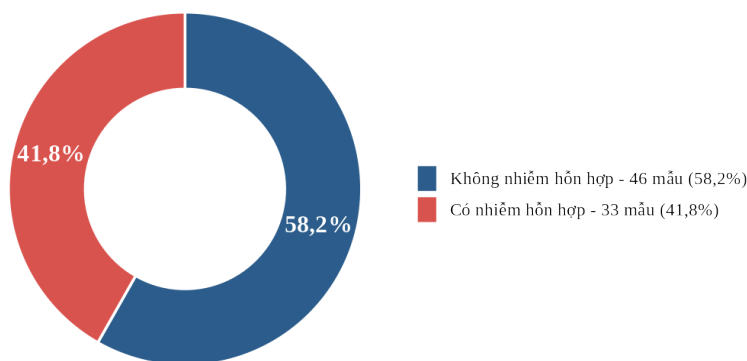
Nghiên cứu còn một số hạn chế như: Các mẫu nghiên cứu đều thực hiện trên chủng nuôi cấy, không thực hiện trên mẫu đờm. Đối với một số thuốc có hệ số Kappa thấp, hầu hết các chủng đều cùng kháng hoặc nhạy cảm, không có nhóm đối chứng dẫn đến hệ số Kappa bị giảm. Nghiên cứu này chưa so sánh với các kỹ thuật sinh học phân tử khác như Xpert hay LPA.

4. Kết luận

Kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới sử dụng bộ kit Deeplex Myc-TB cho thấy độ tương đồng cao so với kỹ thuật kháng sinh đồ kiểu hình lỏng MGIT, đặc biệt đối với thuốc INH và SM ($k=0,87$ và $0,85$). Trong khi đó, mức độ tương đồng thấp hơn lần lượt ở các thuốc PZA, RIF, EMB, KAN, AMI.

Khảo sát đặc điểm dịch tễ phân tử cho thấy, dòng lineage 2 (Beijing) chiếm ưu thế khoảng 84,8% phản ánh sự phù hợp với xu hướng lưu hành của chủng này ghi nhận tại Việt Nam. Tỷ lệ nhiễm hỗn hợp tương đối cao (41,8%) nhưng phần lớn là cặp lineage 2 và lineage 2.2.1 có quan hệ gần, có thể phản ánh đa dạng hóa sự tiến hóa vi mô hơn là nhiễm hai chủng độc lập.

Tỷ lệ mẫu nhiễm hỗn hợp
Tổng số mẫu: n = 79



Hình 2. Tỷ lệ mẫu nhiễm hỗn hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization (2025a), *Global Tuberculosis Report 2025*, <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/e97dd6f4b56743968680717bac6869a9/content>, accessed 10 June 2026.
- [2] World Health Organization (2025b), *Vietnam TB profile 2025*, https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&tab=%22charts%22&lan=%22EN%22&iso3=%22VNM%22&entity_type=%22country%22, accessed 10 June 2026.
- [3] Deeplex (nd), "Deeplex Myc-TB the all-in-one solution for extensive detection of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance", <https://www.deeplex.com/deeplex-myc-tb-tuberculosis-drug-resistance-diagnostic-kit/>, accessed 10 June 2026.
- [4] I. Bonnet, V. Enouf, F. Morel, et al. (2021), "A comprehensive evaluation of GeneLEAD VIII DNA platform combined to Deeplex Myc-TB® assay to detect in 8 days drug resistance to 13 antituberculous drugs and transmission of *Mycobacterium tuberculosis* complex directly from clinical samples", *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **11**, DOI: 10.3389/fcimb.2021.707244.
- [5] A. Jouet, C. Gaudin, N. Bedalato (2021), "Deep amplicon sequencing for culture-free prediction of susceptibility or resistance to 13 anti-tuberculous drugs", *European Respiratory Journal*, **57(3)**, DOI: 10.1183/13993003.02338-2020.
- [6] S. Feuerriegel, T. A. Kohl, C. Utpatel (2021), "Rapid genomic first- and second-line drug resistance prediction from clinical *Mycobacterium tuberculosis* specimens using Deeplex-MycTB", *European Respiratory Journal*, **57(1)**, DOI: 10.1183/13993003.01796-2020.
- [7] S. Mok, E. Roycroft, PR. Flanagan, et al. (2021), "Overcoming the challenges of pyrazinamide susceptibility testing in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **65(8)**, DOI: 10.1128/aac.02617-20.
- [8] Assessing agreement using Cohen's kappa (2015), <https://www-users.york.ac.uk/~mb55/intro/kappa4.htm#top>, accessed 10 June 2026.
- [9] S.S. Shin, C. Modongo, Y. Baik, et al. (2018), "Mixed *Mycobacterium tuberculosis*-strain infections are associated with poor treatment outcomes among patients with newly diagnosed tuberculosis, independent of pretreatment heteroresistance", *The Journal of Infectious Diseases*, **218(12)**, pp.1974-1982, DOI: 10.1093/infdis/jiy480.
- [10] V.A.T. Nguyen, AL. Bañuls, T.H.T. Tran, et al. (2016), "*Mycobacterium tuberculosis* lineages and anti-tuberculosis drug resistance in reference hospitals across Viet Nam", *BMC Microbiology*, **16(1)**, DOI: 10.1186/s12866-016-0784-6.
- [11] K.E. Holt, P. McAdam, P.V.K. Thai, et al. (2018), "Frequent transmission of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage and positive selection for the EsxW Beijing variant in Vietnam", *Nature Genetics*, **50(6)**, pp.849-856, DOI: 10.1038/s41588-018-0117-9.
- [12] V.A.T. Nguyen, M. Choisy, D.H. Nguyen, et al. (2012), "High prevalence of Beijing and EA14-VNM genotypes among *M. tuberculosis* isolates in Northern Vietnam: Sampling effect, rural and urban disparities", *PLOS ONE*, **7(9)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0045553.
- [13] M. Gan, Q. Liu, C. Yang, et al. (2016), "Deep whole-genome sequencing to detect mixed infection of *Mycobacterium tuberculosis*", *PLOS ONE*, **11(7)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0159029.