



基于新疆维吾尔自治区南疆地区169株结核分枝杆菌探讨基因缺失对贝达喹啉的耐药机制

向煜 杨淑柳 武娅宁 王泉 曹滨 高晓平 于晋杰 肖开提·米吉提 赵秀芹 李马超 赵丽丽 万康林 刘海灿 李桂莲 袁秀琴

Mechanism of gene deletion induced resistance to bedaquiline based on 169 strains of *Mycobacterium tuberculosis* in southern Xinjiang

Xiang Yu Yang Shuliu Wu Yaning Wang Quan Cao Bin Gao Xiaoping Yu Jinjie Xiaokaiti · mijiti Zhao Xiueqin Li Machao Zhao Lili Wan Kanglin Liu Haican Li Guilian Yuan Xiuqin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3784/jbjc.202311200629>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

宁波市耐多药肺结核二线抗结核药物耐药状况及耐药基因突变特征研究

Characteristics of second-line anti-tuberculosis drug resistance and gene mutation of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Ningbo

疾病监测. 2021, 36(10): 1075 <https://doi.org/10.3784/jbjc.202103100114>

浙江省宁波市耐多药结核分枝杆菌吡嗪酰胺耐药特征及与二线抗结核药物耐药关系

Characteristics of Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and its correlation with second-line drug resistance

疾病监测. 2020, 35(3): 237 <https://doi.org/10.3784/j.issn.1003-9961.2020.03.013>

甘肃省53株非结核分枝杆菌对9种常用抗结核药物的敏感性分析

Analysis on susceptibility of 53 non tuberculosis mycobacterium isolates to 9 common anti-tuberculosis drugs in Gansu

疾病监测. 2018, 33(6): 515 <https://doi.org/10.3784/j.issn.1003-9961.2018.06.016>

外排泵基因 *Rv1456c*、*Rv1457c*、*Rv1458c* 表达与结核分枝杆菌耐药关系探讨

Drug efflux pump *Rv1456c*, *Rv1457c* and *Rv1458c* gene expressions with drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*

疾病监测. 2019, 34(6): 501 <https://doi.org/10.3784/j.issn.1003-9961.2019.06.007>

浙江省宁波地区耐多药结核分枝杆菌北京基因型的流行及与喹诺酮耐药关系的研究

Genotyping and quinolone resistance analysis of multi-drug resistant tuberculosis strains in Ningbo, China

疾病监测. 2017, 32(12): 962 <https://doi.org/10.3784/j.issn.1003-9961.2017.12.016>

2013 - 2017年湖南省耒阳市结核分枝杆菌耐药性特征的动态研究

Dynamic characteristics of drug resistant tuberculosis in Leiyang, Hunan, 2013-2017

疾病监测. 2020, 35(4): 350 <https://doi.org/10.3784/j.issn.1003-9961.2020.04.016>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

耐药监测

开放科学
(OSID)

基于新疆维吾尔自治区南疆地区 169 株结核分枝杆菌探讨基因缺失对贝达喹啉的耐药机制

向煜^{1,2}, 杨淑柳^{1,2}, 武娅宁², 王泉³, 曹滨^{1,2}, 高晓平³, 于晋杰^{1,2}, 肖开提·米吉提³, 赵秀芹², 李马超², 赵丽丽², 万康林², 刘海灿², 李桂莲², 袁秀琴¹

摘要: 目的 挖掘与结核分枝杆菌(MTB)对贝达喹啉耐药相关的基因缺失片段。方法 2017—2020 年期间从新疆维吾尔自治区南疆地区收集 807 株 MTB 分离株,对菌株进行全基因组测序,采用 TB-Profiler 4.1.2 检测菌株的家系和预测异烟肼、利福平、氟喹诺酮类等 7 种药物的敏感性;选择 44 株准广泛耐药(Pre-XDR)菌株和 125 株随机菌株,采用 Delyly 0.9.1 软件检测基因缺失情况,采用 C++脚本程序检测 *Rv0678*、*atpE* 和 *pepQ* 基因突变情况,采用微量肉汤稀释微孔板法检测菌株对贝达喹啉的最小抑菌浓度(MIC)及耐药情况。采用 χ^2 检验和秩和检验等方法分析基因缺失与贝达喹啉耐药的相关性及不同家系菌株对贝达喹啉耐药性及敏感程度的差异。结果 44 株 Pre-XDR 株中共鉴定出 23 株贝达喹啉耐药株(MIC ≥ 0.25 $\mu\text{g/mL}$)和 49 种基因缺失类型,发生缺失菌株数 >5 株的缺失类型共有 8 种,其中 2729618 bp~2729833 bp(*Rv2434c*)缺失组贝达喹啉耐药率和 MIC 水平低于未缺失组($\chi^2=6.145$, $P=0.013$ 和 $Z=-2.224$, $P=0.026$); 2235169 bp~2235233 bp(*ctpG*)、1710766 bp~1711557 bp(*Rv1519-Rv1520*)和 3952924 bp~3954223 bp(*echA19-Rv3517*)多基因缺失组贝达喹啉耐药率和 MIC 水平均高于未缺失组($\chi^2=4.322$, $P=0.038$ 和 $Z=-2.526$, $P=0.012$)。但是在 125 株验证用菌株(含贝达喹啉耐药株 23 株)中均未发现差异具有统计学意义($\chi^2=1.660$, $P=0.198$ 和 $Z=-1.152$, $P=0.249$)。将 44 株菌株和 125 株菌株合并分析,仅发现 2235169 bp~2235233 bp(*ctpG*)、1710766 bp~1711557 bp(*Rv1519-Rv1520*)和 3952924 bp~3954223 bp(*echA19-Rv3517*)多基因缺失组贝达喹啉耐药率高于未缺失组($\chi^2=6.396$, $P=0.011$)。该多基因缺失仅发生于 L3 家系菌株,同时两两比较发现 L3 家系菌株的贝达喹啉耐药率显著高于 L4 家系($P<0.017$)。结论 2235169 bp~2235233 bp(*ctpG*)、1710766 bp~1711557 bp(*Rv1519-Rv1520*)和 3952924 bp~3954223 bp(*echA19-Rv3517*)多基因缺失为南疆地区 L3 家系菌株特有的基因缺失类型(与该地其他家系相比),其与贝达喹啉耐药性的关系不稳健,L3 家系菌株可能比 L4 家系对贝达喹啉耐药的易感性更高。由于样本量较小,需扩大样本量做进一步验证,以上结果为进一步了解贝达喹啉的耐药机制及控制相关耐药菌株的传播提供了线索。

关键词: 结核分枝杆菌; 耐药; 基因缺失; 贝达喹啉; L3 家系

中图分类号: R211; R521

文献标志码: A

文章编号: 1003-9961(2024)05-0639-08

Mechanism of gene deletion induced resistance to bedaquiline based on 169 strains of *Mycobacterium tuberculosis* in southern Xinjiang Xiang Yu^{1,2}, Yang Shuliu^{1,2}, Wu Yaning², Wang Quan³, Cao Bin^{1,2}, Gao Xiaoping³, Yu Jinjie^{1,2}, Xiaokaiti·mijiti³, Zhao Xiuqin², Li Machao², Zhao Lili², Wan Kanglin², Liu Haican², Li Guilian², Yuan Xiuqin¹. 1. School of Public Health, University of South China, Hengyang 421002, Hunan, China; 2. National Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Communicable Diseases, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China; 3. The Eighth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China

Corresponding authors: Yuan Xiuqin, Email: wtjysh@126.com; Li Guilian, Email: liguilian@icdc.cn; Liu Haican, Email: liuhaican@icdc.cn

Abstract: Objective To understand gene deletion associated bedaquiline resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.

Methods During 2017–2020, a total of 807 strains of *M. tuberculosis* were collected from the southern area of Xinjiang

基金项目:北京市自然科学基金面上项目(No. 7242189); 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所青年基金项目(No. 08064; 0104327); 新疆科技重大专项(No. 2017A03006-3); “十三五”国家科技重大专项(No. 2018ZX10103001-003-012)

作者单位:1. 南华大学公共卫生学院, 湖南 衡阳 421001; 2. 传染病溯源预警与智能决策全国重点实验室, 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 北京 102206; 3. 新疆医科大学第八附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830017

作者简介:向煜, 男, 湖南省株洲市人, 硕士在读, 主要从事结核分枝杆菌药物敏感性分析及生物信息学分析研究, Email: bianjiz4528155@163.com; 杨淑柳, 女, 湖南省泸溪县人, 硕士在读, 主要从事疾病预防与控制研究, Email: m17369322047@163.com

通信作者:袁秀琴, Tel: 15886418896, Email: wtjysh@126.com; 李桂莲, Tel: 18519884112, Email: liguilian@icdc.cn; 刘海灿, Tel: 13146850727, Email: liuhaican@icdc.cn

向煜和杨淑柳同为第一作者

收稿日期:2023-11-20 网络出版日期:2024-02-29



Uygur autonomous region for whole genome sequencing, then TB-Profler was used to detect the strain lineages and predict the strains' susceptibilities to 7 antibiotics, including isoniazid, rifampicin, fluoroquinolone, and so on. In the 807 isolates, 44 pre-extensively drug resistant (Pre-XDR) strains were selected and 125 isolates were randomly selected for the tests of gene deletion by using Delly 0.9.1 software, the mutations in *Rv0678*, *atpE* and *pepQ* by using C++ script program, and the minimum inhibitory concentrations (MICs) of bedaquiline to the strains by using the micro-broth dilution microplate method. The association between gene deletion and bedaquiline resistance and the difference in bedaquiline resistance rates and MIC levels among the strains in different lineages were analyzed by χ^2 test and rank-sum test. **Results** A total of 49 gene deletion types, including 8 types involving > 5 strains, and 23 bedaquiline resistant strains were identified in 44 Pre-XDR strains. In the 44 Pre-XDR isolates, the bedaquiline resistance rate and MIC level of the deletion group of 2 729 618 bp–2 729 833 bp (*Rv2434c*) were lower than those of the non-deletion group ($\chi^2=6.145$, $P=0.013$ and $Z=-2.224$, $P=0.026$); multi-gene deletion group of 2 235 169 bp–2 235 233 bp (*ctpG*), 1 710 766 bp–1 711 557 bp (*Rv1519–Rv1520*) and 3 952 924 bp–3 954 223 bp (*echA19–Rv3517*) showed higher bedaquiline resistance rate and MIC level compared with non-deletion group ($\chi^2=4.322$, $P=0.038$ and $Z=-2.526$, $P=0.012$). However, no significant difference was found among the 125 strains (including 23 bedaquiline resistant strains) used for validation ($\chi^2=1.660$, $P=0.198$ and $Z=-1.152$, $P=0.249$). Combined analysis on the 44 strains and 125 strains revealed that only the multi-gene deletion group of 2 235 169 bp–2 235 233 bp (*ctpG*), 1 710 766 bp–1 711 557 bp (*Rv1519–Rv1520*) and 3 952 924 bp–3 954 223 bp (*echA19–Rv3517*) had higher bedaquiline resistance rate compared with non-deletion group ($\chi^2=6.396$, $P=0.011$), and the multi-gene deletion occurred only in the lineage 3 strains, meanwhile, one-by-one comparisons revealed that the resistance rate to bedaquiline was significantly higher in the lineage 3 strains than in the lineage 4 strains ($P<0.017$). **Conclusion** Multi-gene deletions of 2 235 169 bp–2 235 233 bp (*ctpG*), 1 710 766 bp–1 711 557 bp (*Rv1519–Rv1520*) and 3 952 924 bp–3 954 223 bp (*echA19–Rv3517*) were unique in the lineage 3 strains in southern Xinjiang (compared with other lineages in this area), and its relationship with bedaquiline resistance was not stable. The lineage 3 strains might be more inclined to resistant to bedaquiline compared with the lineage 4 strains. The sample size of the study was small and further validation in larger samples is needed. These results provide clues for the understanding of the mechanism of bedaquiline resistance and the control of the spread of bedaquiline resistant strains.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*; Drug resistance; Gene deletion; Bedaquiline; Lineage 3

This study was supported by Beijing Natural Science Foundation (No. 7242189), the Fund of Young Scholars of National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention (No. 08064, 0104327), the Foundation of the Major Science and Technology Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region (No. 2017A03006-3) and the National Science and Technology Mega Project during the 13th Five-year Plan Period (No. 2018ZX10103001-003-012)

结核病是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 复合群感染引起的一种慢性传染病, 据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO)《2023 年全球结核病报告》显示, 2022 年全球结核病总发生数为 1060 万例, 发病率约为 133/10 万人^[1]。在过去几十年里, 全球大部分国家和地区采用异烟肼、利福平、乙胺丁醇和吡嗪酰胺等常见一线抗结核药物治疗敏感结核病, 利福平耐药 (rifampicin resistant, RR) 和耐多药 (multi-drug resistant, MDR) 结核病的出现给结核病控制带来了严重挑战, 2021 年全球新发和复发结核病患者治愈率约为 87%, 而用二线药物治疗广泛耐药或广泛耐药 (pre-/extensively drug resistant, Pre-XDR/XDR) 结核病的治愈率更低, 仅为 58%^[1]。Pre-XDR/XDR 结核病的流行给 2035 年终止结核病流行的策略目标带来了严重挑战^[2]。因此, 需要持续开发新的治疗药物和不断优化治疗药物组合, 同时开展新药物的耐药机制及已有药物的新的耐药机制的研究。

近年来, WHO^[3] 和我国防痨协会^[4]、中华医学会结核病学分会^[5] 均推荐将贝达喹啉联合利奈唑胺、

氯法齐明和(或)环丝氨酸等药物用于治疗 Pre-XDR、MDR、RR 结核病^[6], 并经实践证明具有良好的治疗效果^[7-8]。随着贝达喹啉在临床上的广泛使用, 迫切需要深入了解其耐药机制。目前认为, 由染色体基因突变导致的耐药被认为是 MTB 耐药的主要机制, 其中以单核苷酸突变 (single nucleotide variation, SNV) 最为常见^[9-10]。如 95% 的利福平耐药与 *rpoB* 基因上的 SNV 有关^[11-12]、50%~75% 的异烟肼耐药与 *katG* 和 *inhA* 基因的 SNV 相关^[13]。但也有研究发现, 基因缺失与菌株耐药性密切相关。

Horinouchi 等^[14] 通过在 3 种不同的抗生素压力下, 对 173 个转录因子单基因缺失的大肠埃希菌展开耐药性进化研究, 结果发现基因缺失可能会加速或者抑制耐药性的进化, 并证实了 *arcA* 和 *gutM* 基因缺失会抑制耐药性的进化过程。此外, Prater 等^[15] 通过构建 LiaFSR 通路缺失的尿肠球菌发现, 缺失型相对于野生型对达托霉素的敏感性增加。其他学者报告, 吡嗪酰胺和对氨基水杨酸耐药的 MTB 中分别存在 *pncA*^[16-17] 和 *thyA*^[18] 基因的大量缺失, 并分别与吡嗪酰胺和对氨基水杨酸耐药具有较好的统计学

相关性。文献报道与贝达喹啉耐药相关的基因有 *Rv0678*、*pepQ*、*atpE*、*mmpL5*^[19-21] 等,其中前 3 个基因的突变用于预测贝达喹啉耐药,灵敏度仅为 49.4%^[22],因此亟需从其它角度研究贝达喹啉的耐药机制。目前关于基因缺失与贝达喹啉耐药的相关性研究较少,本研究拟选择 2017—2020 年从新疆维吾尔自治区(新疆)南疆地区收集的 MTB 临床分离菌株,采用全基因组测序、生物信息分析方法和表型药敏方法,分析与贝达喹啉耐药相关的基因缺失。

1 材料与方法

1.1 菌株选择 收集 2017 年 6 月至 2020 年 12 月期间来自新疆医科大学第八附属医院、喀什地区肺科医院、库车县传染病医院和乌什县人民医院确诊、登记且年满 16 周岁的结核病住院/门诊患者的临床分离 MTB 菌株 807 株。参考菌株为中国疾病预防控制中心传染病预防控制所结核室保存的 H37Rv (ATCC27294)。首先选择经基因突变预测(方法见 1.2)为 Pre-XDR(指 MTB 对利福平耐药,且对任何一种氟喹诺酮类药物耐药)的 44 株分离株,采用 Dely 0.9.1 软件检测基因缺失情况,获得与贝达喹啉耐药性相关的基因缺失,再从余下菌株(不包括 44 株测试菌株)中采用完全随机抽样的方法选择 125 株用于验证以上基因缺失与贝达喹啉耐药的相关性。

1.2 全基因组测序 采用十六烷基三甲基溴化铵法提取全基因组,利用 NanodropND-1000 核酸分析仪测定核酸样本的浓度及纯度,合格样本采用 MGISEQ-2000 测序仪(深圳华大基因科技服务有限公司)进行 2×150 bp 双末端、500×测序。完成测序后使用 SOAPnuke 及 FastQC 对原始 FASTQ 序列进行过滤。选取 Reads 测序深度超过 400×,基因组覆盖度超过 90% 的样本,并利用 TB-Profler 4.1.2 (<https://github.com/jodyphelan/TBProfler>)软件对 807 株菌株检测其 SNV、谱系并预测菌株对异烟肼、利福平和氟喹诺酮类等药物的药物敏感性。参考序列为 H37Rv(GenBank accession No. NC 000962.3)。

1.3 贝达喹啉耐药相关基因及其他基因的突变检测 根据 WHO 公布的《结核分枝杆菌复合群耐药相关基因突变名录》^[22],选择与贝达喹啉(临时)耐药相关的 3 个基因 *Rv0678*、*atpE* 和 *pepQ*。其他基因指本研究分析获得的其他基因。突变检测方法:采用实验室编制的 C++脚本程序运行 TB-Profler 4.1.2 分析获得的 VCF 文件,获得 SNV、插入和缺失情况。

1.4 菌株结构变异的检测 根据 TB-Profler 4.1.2 运行后获得的 bam 文件,利用 Dely 0.9.1 软件进行结构变异(structure variation, SV)检测,仅对其中发生基因

缺失这一类型的 SV 展开后续分析,对检测到的基因缺失按以下标准进行筛选:(1)剔除低质量和不准确的结构变异。(2)剔除仅发生于非编码区、编码 PE/PPE 蛋白基因、IS6110 移动原件或重复区域的基因缺失。(3)纳入长度在 20 bp~20 Kbp 之间的基因缺失。

1.5 菌株对贝达喹啉的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 值及药物敏感性的检测 贝达喹啉购自美国 CSNpharm 公司,采用二甲基亚砜溶解至 0.64 mg/mL,分装,-80 °C 保存备用。刮取 1 满环 3~4 周 MTB 新鲜培养物于 2 mL 生理盐水,超声分散约 30 s,静置 10~15 min;取适量菌液上清到 5 mL 比浊管中,用生理盐水调节浓度至 0.5 个麦氏浓度,吸取 100 μL 菌液于 15 mL 离心管中,用含有 10% 油酸-清蛋白-葡萄糖-过氧化氢酶添加剂的 7H9 培养基稀释至 5 mL;在 96 孔板中每孔加入 50 μL 的 7H9 培养基,第一列再加入 47.5 μL 培养基,然后在第一列加入 2.5 μL 的贝达喹啉 (0.64 mg/mL),按 2 倍梯度稀释原则依次稀释,至第 11 列,最后再往每孔加入 50 μL 制备好的菌液。将以上培养板封上封口膜,密封完毕后,置于 37 °C 培养箱中培养约 10~14 d,当第 12 列无药对照孔出现菌落沉淀时,记录菌株的 MIC。本研究 MIC 定义为无可见菌落生长的最小药物浓度。贝达喹啉的浓度检测范围为 8~0.0078 μg/mL,当菌株的 MIC 大于等于 0.25 μg/mL^[10]时,认为菌株对贝达喹啉耐药,每株菌株至少检测 2 次, MIC 取至少两次实验中的一致值。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析,组间比较采用两组或多组独立样本的秩和检验(Mann-Whitney *U*)、 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。通过 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)对基因功能进行注释。

2 结果

2.1 与贝达喹啉耐药相关的基因缺失片段初探 本研究首先在 44 株 Pre-XDR 菌株中挖掘与贝达喹啉耐药相关的基因缺失。

2.1.1 44 株准广泛耐药菌株对贝达喹啉的 MIC 分布、耐药结果及基因突变检测结果 44 株 Pre-XDR 菌株对贝达喹啉的 MIC 分布见表 1, MIC 几何均数为 0.204 μg/mL,其中贝达喹啉耐药株为 23 株(52.27%)。23 株耐药株中,3 株发生 *Rv0678* 突变,突变率为 13.04%,未发现 *atpE* 和 *pepQ* 突变株。21 株敏感株中,仅 1 株发生 *pepQ* Gly138Asp (GGC-GAC),突变率为 4.76%。具体突变类型及相应菌株的 MIC 见表 1。

表 1 新疆维吾尔自治区南疆地区 169 株结核分枝杆菌对贝达喹啉的最小抑菌浓度分布及贝达喹啉耐药相关基因突变情况

Table 1 Distribution of minimum inhibitory concentrations of bedaquiline and mutations in bedaquiline resistance associated genes in 169 *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the Southern region of Xinjiang Uygur Autonomous Region

最小抑菌浓度 (μg/mL)	44株准广泛耐药株	125株验证株
8	0	0
4	1 (1Rv0678 320 ins C)	0
2	2 (1Rv0678 320 ins C; 1Rv0678 Met73Val)	1 (1Rv0678 Tyr92Cys)
1	3	1
0.5	4	9 (1Rv0678 Ala102Val ^b ; 1Rv0678 Arg109Leu ^b)
0.25	13	12
0.125	12 (1pepQ Gly138Asp)	26 (1Rv0678 Asp5Tyr; 1Rv0678 Gly41Val ^b)
0.0625	6	23
0.0313	3	22 (1Rv0678 Ala128Val)
0.0156	0	15 (1pepQ Pro359Gln; 1pepQ Thr315Ala)
0.0078	0	3
0.0039	0	13
几何均数 ^a	0.204	0.054

注: a. 菌株对贝达喹啉最小抑菌浓度的几何均数 (μg/mL); b. 该位点为世界卫生组织发布的《结核分枝杆菌复合群耐药相关基因突变名录》报告的不确定与贝达喹啉耐药性相关的位点, 其他基因突变类型均为首次报道; 括号外数据为菌株数 (株); 括号内数据为菌株数、耐药基因和突变情况

2.1.2 44 株准广泛耐药菌株基因缺失的检测结果
通过 Delly 0.9.1 软件对 44 株 Pre-XDR 分离株进行结构变异检测, 共检测出 1 582 种不同类型的结构变异, 含 742 种不同的基因缺失类型。剔除低质量的基因缺失 216 种、不准确的基因缺失 180 种、杂合缺失和未缺失 212 种(0/1 或 0/0), 其他缺失中 IS6110 移动元件 8 种、重复区域 7 种、非编码区 9 种和 PE/PPE 家族蛋白质 61 种。随后共纳入 49 种不同类型的基因缺失进行分析, 其中小缺失 11 种(29 bp~91 bp, 中位数:65 bp)、大缺失 38 种(106 bp~7 838 bp, 中位数: 1146 bp)。49 种不同类型的基因缺失中, 有 8 种发生缺失的菌株数>5 株, 见表 2。其余 41 种仅发生在 1~4 株分离株中。表 2 的 8 种缺失类型中, 2 550 008 bp~2 551 367 bp 基因缺失发生于所有 Pre-XDR 菌株中, 不利于统计学分析将其舍去。此外, 由于基因缺失 2 235 169 bp~2 235 233 bp、1 710 766 bp~1 711 557 bp 与 3 952 924 bp~3 954 223 bp 在菌株中同时发生, 本研究在部分分析中将其归为一类, 命名为 2 235 169 bp~2 235 233 bp、1 710 766 bp~1 711 557 bp 和 3 952 924 bp~3 954 223 bp 多基因缺失。因此, 本研究将分析 5 种缺失类型与贝达喹啉耐药的关系。

2.1.3 44 株准广泛耐药菌株基因缺失与贝达喹啉耐

药率和 MIC 水平的关系 本研究首先在 44 株 Pre-XDR 菌株中分析 5 种基因缺失类型与贝达喹啉耐药率和 MIC 水平的关系。结果如表 3 和表 4 显示, 2 729 618 bp~2 729 833 bp 缺失组耐药率和 MIC 水平均显著低于未缺失组($\chi^2=6.145, P=0.013$ 和 $Z=-2.224, P=0.026$), 2 235 169 bp~2 235 233 bp、1 710 766 bp~1 711 557 bp 和 3 952 924 bp~3 954 223 bp 多基因缺失组的耐药率和 MIC 水平均显著高于未缺失组, 差异有统计学意义($\chi^2=4.322, P=0.038$ 和 $Z=-2.526, P=0.012$)。

2.2 基因缺失与贝达喹啉耐药关系的验证 为了验证 2.1.3 发现的 2 729 618 bp~2 729 833 bp 缺失和 2 235 169 bp~2 235 233 bp、1 710 766 bp~1 711 557 bp 和 3 952 924 bp~3 954 223 bp 多基因缺失与贝达喹啉耐药率和 MIC 水平的关系, 本研究从其他南疆地区的菌株中随机抽取 125 株分离株进行验证。

2.2.1 125 株验证菌株对贝达喹啉的 MIC 分布、耐药结果及基因突变检测结果 125 株验证菌株对贝达喹啉的 MIC 分布见表 1, MIC 几何均数为 0.054 μg/mL, 其中 23 株为贝达喹啉耐药株 (18.40%, 23/125), 3 株发生 Rv0678 突变, 未发现 *atpE* 和 *pepQ* 突变株, 耐药株总突变率为 13.04%(3/23)。

表 2 新疆维吾尔自治区南疆地区 44 株准广泛耐药菌株中发现的 8 种基因缺失情况

Table 2 Eight gene deletions in 44 pre-extensively drug resistant strains in the Southern region of Xinjiang Uygur Autonomous Region

缺失片段的起-止核苷酸位置 (bp) ^a	长度 (bp)	基因	菌株数量 (个)
2 550 008~2 551 367	1 360	Rv2277c	44
4 231 859~4 231 949	91	Rv3785	38
2 535 431~2 536 142	712	Rv2263	30
2 729 618~2 729 833	216	Rv2434c	25
859 242~859 499	258	Rv0766c	8
2 235 169~2 235 233	65	Rv1992c	6
1 710 766~1 711 557	792	Rv1519、Rv1520	6
3 952 924~3 954 223	1 300	Rv3516、Rv3517	6

注: a. 核苷酸位置以结核分枝杆菌标准株H37Rv的序列 (GenBank accession No. NC 000962.3) 为参照, 对比之后获得

表3 2017—2020年新疆维吾尔自治区南疆地区169株携带不同类型基因缺失的结核分枝杆菌对贝达喹啉耐药率的差异

Table 3 Differences in resistance rates to bedaquiline among 169 strains of *Mycobacterium tuberculosis* with different types of gene deletions in the southern region of Xinjiang Uygur Autonomous Region during 2017–2020

缺失类型 (bp)	分组	44株准广泛耐药株				125株验证菌株				169株菌株			
		耐药	敏感	χ^2 值	P值	耐药	敏感	χ^2 值	P值	耐药	敏感	χ^2 值	P值
4231859~4231949	缺失	21	17	0.313	0.576	-	-	-	-	-	-	-	-
	未缺失	2	4			-	-			-	-		
2535431~2536142	缺失	13	17	3.020	0.082	-	-	-	-	-	-	-	-
	未缺失	10	4			-	-			-	-		
2729618~2729833	缺失	9	16	6.145	0.013	9	52	1.055	0.304	18	68	3.496	0.062
	未缺失	14	5			14	50			28	55		
859242~859499	缺失	3	5	0.285	0.594	-	-	-	-	-	-	-	-
	未缺失	20	16			-	-			-	-		
多基因缺失 ^a	缺失	6	0	4.322	0.038	6	13	1.660	0.198	12	13	6.396	0.011
	未缺失	17	21			17	89			34	110		

注: a. 核酸片段2235169 bp~2235233 bp、1710766 bp~1711557 bp和3952924 bp~3954223 bp同时缺失; - 未检测该缺失片段在样本中的情况

表4 2017—2020年新疆维吾尔自治区南疆地区169株携带不同类型基因缺失的结核分枝杆菌对贝达喹啉的最小抑菌浓度的差异

Table 4 Differences in Minimum Inhibitory Concentrations of bedaquiline in 169 strains of *Mycobacterium tuberculosis* with different types of genetic deletions in the southern region of Xinjiang Uygur Autonomous Region during 2017–2020

缺失类型 (bp)	分组	44株准广泛耐药株				125株验证菌株				169株菌株			
		G	M (Q_{25} , Q_{75})	Z值	P值	G	M (Q_{25} , Q_{75})	Z值	P值	G	M (Q_{25} , Q_{75})	Z值	P值
4231859~4231949	缺失	0.228	0.250 (0.125, 0.250)	-1.561	0.119	-	-	-	-	-	-	-	-
	未缺失	0.099	0.094 (0.039, 0.219)			-	-			-	-		
2535431~2536142	缺失	0.181	0.125 (0.125, 0.250)	-1.215	0.224	-	-	-	-	-	-	-	-
	未缺失	0.630	0.250 (0.156, 0.500)			-	-			-	-		
2729618~2729833	缺失	0.148	0.125 (0.125, 0.250)	-2.224	0.026	0.052	0.060 (0.020, 0.130)	-0.315	0.753	0.070	0.063 (0.031, 0.125)	-0.643	0.520
	未缺失	0.311	0.250 (0.188, 0.750)			0.056	0.060 (0.030, 0.130)			0.083	0.125 (0.031, 0.250)		
859242~859499	缺失	0.162	0.125 (0.125, 0.250)	-0.577	0.564	-	-	-	-	-	-	-	-
	未缺失	0.214	0.250 (0.109, 0.500)			-	-			-	-		
多基因缺失 ^a	缺失	0.630	0.375 (0.250, 1.625)	-2.526	0.012	0.084	0.060 (0.030, 0.500)	-1.152	0.249	0.136	0.125 (0.031, 0.500)	1.826	0.068
	未缺失	0.170	0.125 (0.125, 0.250)			0.050	0.060 (0.020, 0.130)			0.069	0.063 (0.031, 0.125)		

注: a. 核酸片段2235169 bp~2235233 bp、1710766 bp~1711557 bp和3952924 bp~3954223 bp同时缺失; G. 最小抑菌浓度的几何平均数 ($\mu\text{g/mL}$); M (Q_{25} , Q_{75}): M. 最小抑菌浓度的中位数, (Q_{25} , Q_{75})为最小抑菌浓度的25%~75%区间; - 未检测该缺失片段在样本中的情况

102株敏感株中, 3株发生 *Rv0678* 突变, 2株发生 *pepQ* 突变, 未发现 *atpE* 突变株, 总突变率为 4.90% (5/102)。具体突变类型及相应菌株的 MIC 见表 1。

经过 TB-Profiler 预测, 102株贝达喹啉表型敏感株中利福平耐药菌株 54株 (52.94%, 54/102), 异烟肼耐药菌株 38株 (37.25%, 38/102), MDR 菌株 12株 (11.76%, 12/102), Pre-XDR 菌株 9株 (8.82%, 9/102)。23株贝达喹啉表型耐药株中利福平耐药株 9株 (39.13%, 9/23), 异烟肼耐药菌株 9株 (39.13%, 9/23), MDR 菌株 2株 (8.70%, 2/23), Pre-XDR 菌株 4株 (17.39%, 4/23)。

2.2.2 125株验证菌株及169株菌株中基因缺失与贝达喹啉耐药敏感性的相关性结果 在125株验证菌株中均未发现 2729618 bp~2729833 bp 缺失和 2235169 bp~2235233 bp、1710766 bp~1711557 bp 和 3952924 bp~3954223 bp 多基因缺失与贝达喹啉耐药率和 MIC 水平具有相关性 (均 $P>0.05$) (表 3 和表 4)。

将 44株 Pre-XDR 菌株和 125株验证菌株合并 (共 169株菌株), 分析以上 2种缺失类型与贝达喹啉

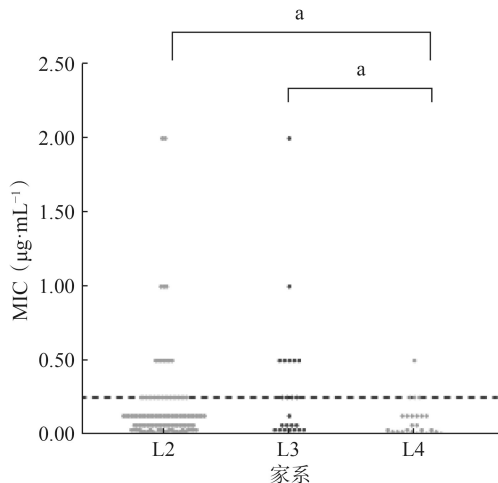
耐药率和 MIC 水平的相关性时发现, 2729618 bp~2729833 bp 基因缺失组与未缺失组菌株的贝达喹啉耐药率和 MIC 水平均未发现统计学差异 (均 $P>0.05$); 而 2235169 bp~2235233 bp、1710766 bp~1711557 bp 和 3952924 bp~3954223 bp 多基因缺失组的贝达喹啉耐药率显著高于未缺失组, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.396$, $P=0.011$), 两组间的贝达喹啉 MIC 水平差异无统计学意义 ($\chi^2=1.826$, $P=0.068$) (表 3 和表 4)。

2.3 多基因缺失在不同家系菌株中的分布情况 对 169株菌株进行分析发现, L2家系菌株 116株 (68.64%, 116/169), L3家系为 25株 (14.79%, 25/169), L4家系为 28株 (16.57%, 28/169)。2235169 bp~2235233 bp、1710766 bp~1711557 bp 和 3952924 bp~3954223 bp 多基因缺失在 L3家系中的发生率为 100.00% (25/25), 在 L2 和 L4家系中发生率均为 0.00%, 在 L3家系中的发生率显著高于其他家系 (L2 和 L4) 菌株 ($\chi^2=161.159$, $P<0.001$)。

2.4 不同家系菌株间贝达喹啉耐药率和 MIC 水平的差异 根据 2.3 结果, 2235169 bp~2235233 bp、1710766 bp~1711557 bp 和 3952924 bp~3954223 bp

多基因缺失和 L3 家系密切相关。为探讨 L3 家系菌株是否通过以上多基因缺失介导对贝达喹啉耐药的易感性,本研究将从分析不同家系菌株间贝达喹啉耐药率和 MIC 水平的差异,进行初步的探讨。

对 169 株不同家系菌株的贝达喹啉耐药率进行比较,发现 L3 家系菌株对贝达喹啉的耐药率最高,且明显高于 L4 家系菌株($P < 0.017$);对不同家系菌株的贝达喹啉 MIC 水平进行比较,发现 L2($G = 0.081 \mu\text{g/mL}$)和 L3($G = 0.136 \mu\text{g/mL}$)家系菌株的 MIC 水平均高于 L4($G = 0.034 \mu\text{g/mL}$)家系菌株(图 1)。



注: L3 家系中有一株菌最小抑菌浓度为 $4 \mu\text{g/mL}$, 图中未显示; a. $\alpha = 0.017 (0.05/3)$ 水平下, 不同家系之间最小抑菌浓度水平的差异有统计学意义; MIC. 最小抑菌浓度

图 1 2017—2020 年新疆维吾尔自治区南疆地区 169 株不同家系结核分枝杆菌对贝达喹啉的最小抑菌浓度分布

Figure 1 Distribution of Minimum Inhibitory Concentrations of 169 *Mycobacterium tuberculosis* isolates of different lineages in the southern region of Xinjiang Uygur Autonomous Region during the period of 2017–2020

2.5 基因功能注释 本研究发现的 2235 169 bp~2235 233 bp、1710 766 bp~1711 557 bp 和 3952 924 bp~3954 223 bp 多基因缺失中, 1710 766 bp~1711 557 bp 和 3952 924 bp~3954 223 bp 为跨基因缺失, 前者累及 *Rv1519* 和 *Rv1520* 基因, 后者累及 *Rv3516* 和 *Rv3517* 基因; 2235 169 bp~2235 233 bp 缺失仅发生于单基因 *Rv1992c* 上, 见表 5。

通过 DAVID(<https://david.ncicrf.gov/>)对上述 5 个基因进行功能注释, 发现 *Rv1992c* 基因编码阳离子转运蛋白 CtpG, 其与腺苷三磷酸(adenosine

triphosphate, ATP)合成密切相关; *Rv3516* 对应的基因 *echA19* 编码烯酰基-辅酶 A 水合酶 EchA19, 其主要参与 MTB 脂质代谢过程, *Rv3517*、*Rv1519* 和 *Rv1520* 基因均编码假设蛋白, 相关实验室证据较少, 见表 5。

2.6 169 株分离株 *ctpG* 等基因 SNV 分布情况 由于 25 株 L3 家系菌株均发生以上 5 个基因片段的缺失, 导致基因功能发生改变, 此处仅检测 L2 和 L4 家系共 144 株菌株的突变情况。取突变频率大于 0.9 的非同义突变类型进行分析。 *Rv1520* Arg215Cys 和 *echA19* Gly86Asp 突变率分别高达为 78.47%(113/144) 和 100.00%(144/144), 可认为是固定突变, 计算各基因的突变率不包括在内。 *Rv1519* 和 *Rv3517* 未发现突变。 *Rv1520*、*ctpG* 和 *echA19* 的总突变率均较低, 分别为 3.47%(5/144)、2.78%(4/144)和 2.08%(3/144)。

3 讨论

贝达喹啉于 2012 年始用于 MDR 结核病的治疗 [23], 其主要通过抑制 MTB 的 ATP 合成酶而发挥抗结核作用, 对 MTB 敏感株、耐药株以及休眠株均有较强的杀菌活性 [24]。目前的研究表明, 与贝达喹啉耐药有关的基因主要为 *atpE*、*Rv0678* 和 *pepQ* [19-21]。本研究共发现 46 株贝达喹啉耐药株, 均未检测到上述基因的缺失, 3 个基因中仅检测到 *Rv0678* 的 SNV, 突变率为 13.04%(6/46), 远低于文献报道的 49.4% [22]。本研究未获得 2235 169 bp~2235 233 bp (*ctpG*)、1710 766 bp~1711 557 bp(*Rv1519*-*Rv1520*)和 3952 924 bp~3954 223 bp(*echA19*-*Rv3517*)多基因缺失与贝达喹啉耐药相关的稳健联系, 需要扩大样本量进行研究。为启示贝达喹啉耐药机制的研究, 本研究通过文献检索以上多基因缺失所涉及的多个基因的研究现状, 发现 *ctpG* 和 *echA19* 缺失具备导致贝达喹啉耐药的可能性。

其中 *ctpG* 为 MTB 细胞膜上的阳离子转运 ATP 酶活性功能基因, 主要负责 Cd^{2+} 和 Cu^{2+} 的跨膜转运 [25]。López 等 [25] 通过构建表达 MTB *ctpG* 基因的耻垢分枝杆菌, 发现 *ctpG* 基因对维持细胞内外 Cu^{2+} 的平衡起着重要作用。已知的贝达喹啉耐药相关基因 *Rv0678* 的突变也会导致铁载体蛋白编码基因 *mmpL5/mmpS5* 的表达上调进而促进药物外

表 5 3 种基因缺失片段涉及的 5 个基因的功能注释

Table 5 Functional annotation of five genes involved in three gene deletions

缺失类型 (bp)	基因	缺失基因 (起-止碱基)	功能注释
2235 169~2235 233	<i>Rv1992c</i>	<i>ctpG</i> (179G~243G)	金属阳离子转运蛋白
1710 766~1711 557	<i>Rv1519</i>	<i>Rv1519</i> (34G~270A)	假设蛋白
	<i>Rv1520</i>	<i>Rv1520</i> (1G~530A)	可能为糖基转移酶
3952 924~3954 223	<i>Rv3516</i>	<i>echA19</i> (381C~792G)	烯酰基-辅酶A水合酶19
	<i>Rv3517</i>	<i>Rv3517</i> (1G~793G)	假设蛋白

排,从而导致耐药。*echA19* 基因编码烯酰基-辅酶 A 水合酶 EchA19,其主要参与胆固醇侧链分解代谢的过程^[26-27]。有研究发现,胆固醇在菌体中的累积会影响 MTB 细胞壁的通透性^[28]。

2235 169 bp~2235 233 bp、1710766 bp~1711 557 bp 和 3952924 bp~3954 223 bp 多基因缺失与贝达喹啉耐药率和 MIC 水平的统计学联系不稳定,这可能与验证菌株中 Pre-XDR 菌株的比例仅为 10.40%(13/125)有关。但本研究通过菌株家系进一步分析发现,169 株菌株中 25 株 L3 家系菌株均携带 2235 169 bp~2235 233 bp(*ctpG*)、1710 766 bp~1711 557 bp(*Rv1519-Rv1520*) 和 3952924 bp~3954 223 bp(*echA19-Rv3517*)多基因缺失。以前多个文献报道 L2 家系菌株的链霉素耐药率以及耐多药率显著高于其他家系^[29-30]。本研究在 169 株菌中分析不同家系菌株对贝达喹啉耐药率和耐药水平的差异,发现 L3 均显著高于 L4 家系,是否为 2235 169 bp~2235 233 bp(*ctpG*)、1710766 bp~1711 557 bp(*Rv1519-Rv1520*) 和 3952924 bp~3954 223 bp(*echA19-Rv3517*)多基因缺失介导 L3 家系菌株对贝达喹啉耐药的易感性增加,仍需实验进一步证实。

本研究 Pre-XDR 菌株中贝达喹啉的耐药率为 52.27%(23/44),远高于国内一项多中心研究报道的 1.42%(2/141)^[31]。但与南非一项评价贝达喹啉治疗效果的队列研究报道的总耐药率(55.26%, 21/38)相近^[32]。不同的研究贝达喹啉耐药率相差较大,原因推测如下:(1)贝达喹啉乃抗结核新药,多个组织仅推荐了临时药物临界浓度或流行病学界值^[33-34],本研究采用的微量肉汤稀释微孔板法和 BACTET MGIT 960 法虽然采用的培养基一致,但采用的折点浓度相差较大(MIC \geq 0.25 μ g/mL vs. 临界浓度=1 μ g/mL)^[35-37]。(2)本研究采用的是新疆地区的菌株,L3 家系在新疆所占比例明显高于其他省、直辖市或自治区^[38],本研究发现其与贝达喹啉高耐药率相关。

本研究尚有一定的不足之处,首先,本研究发现 L3 家系对贝达喹啉耐药的易感性高于 L4 家系,但样本量较小,需扩大样本量进行研究;其次,本研究考虑到二代测序技术对高 GC 含量片段测序结果的准确度,剔除了 61 种 PE/PPE 家族的基因缺失(其中影响菌株数 $>$ 5 的为 21 种),但近年来,有研究表明 PE/PPE 家族蛋白同样可能影响药物的敏感性^[39],因此可能遗漏相关信息。

综上所述,贝达喹啉是抗结核治疗新药,目前缺乏对其耐药机制的全面理解,其结果将导致检测手段不足而导致贝达喹啉耐药株的扩散。本研究虽未获得与贝达喹啉具有稳健统计学联系的基因缺失

片段,但研究结果为贝达喹啉耐药机制的研究提供线索,弥补了当前通过基因 SNV 发现耐药相关机制的不足,为进一步研究贝达喹啉的耐药机制提供重要科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

志谢 对为本次研究提供样本的新疆医科大学第八附属医院、喀什地区肺科医院、库车县传染病医院和乌什县人民医院的老师们深表感谢

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2023[R]. Geneva: World Health Organization, 2023.
- [2] Uplekar M, Weil D, Lonnroth K, et al. WHO's new end TB strategy[J]. *Lancet*, 2015, 385(9979): 1799-1801. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60570-0.
- [3] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: Module 4: Treatment: Drug-susceptible tuberculosis treatment[R]. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [4] 首都医科大学附属北京胸科医院/北京市结核病胸部肿瘤研究所,中国防痨协会,《中国防痨杂志》编辑委员会. 耐药肺结核全口服化学治疗方案中国专家共识(2021年版)[J]. *中国防痨杂志*, 2021, 43(9): 859-866. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2021.09.002. Beijing Chest Hospital, Capital Medical University/Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Research Institute, Chinese Antituberculosis Association, Editorial Board of Chinese Journal of Antituberculosis. Chinese expert consensus on the all-oral treatment of drug-resistant pulmonary tuberculosis (2021 Edition)[J]. *Chin J Antituberc*, 2021, 43(9): 859-866. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2021.09.002.
- [5] 中华医学会结核病学分会. 抗结核新药贝达喹啉临床应用专家共识(2020年更新版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(2): 81-87. DOI: 10.3760/cma.j.cn112147-20200714-00805. Chinese Society for Tuberculosis, Chinese Medical Association. Expert consensus on clinical application of new anti-tuberculosis drug bedaquiline (2020 update)[J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2021, 44(2): 81-87. DOI: 10.3760/cma.j.cn112147-20200714-00805.
- [6] Nahid P, Mase SR, Migliori GB, et al. Treatment of drug-resistant tuberculosis. An official ATS/CDC/ERS/IDSA clinical practice guideline[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(10): e93-e142. DOI: 10.1164/rccm.201909-1874ST.
- [7] Collaborative Group for the Meta-Analysis of individual Patient Data in MDR-TB Treatment-2017, Ahmad N, Ahuja SD, et al. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis[J]. *Lancet*, 2018, 392(10150): 821-834. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31644-1.
- [8] Fu L, Zhang XL, Xiong J, et al. Selecting an appropriate all-oral short-course regimen for patients with multidrug-resistant or pre-extensive drug-resistant tuberculosis in China: a multicenter prospective cohort study[J]. *Int J Infect Dis*, 2023, 135: 101-108. DOI: 10.1016/j.ijid.2023.08.001.
- [9] Farhat MR, Sultana R, Iartchouk O, et al. Genetic determinants of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and their diagnostic value[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194(5): 621-630. DOI: 10.1164/rccm.201510-2091OC.
- [10] World Health Organization. Optimized broth microdilution plate methodology for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex[R]. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [11] Lai CX, Xu J, Tozawa Y, et al. Genetic and physiological characterization of *rpoB* mutations that activate antibiotic production in *Streptomyces lividans*[J]. *Microbiology*, 2002, 148(11): 3365-3373. DOI: 10.1099/00221287-148-11-3365.
- [12] Zaw MT, Emran NA, Lin Z. Mutations inside rifampicin-resistance determining region of *rpoB* gene associated with rifampicin-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Infect Public Health*, 2018, 11(5): 605-610. DOI: 10.1016/j.jiph.2018.04.005.
- [13] Bang DD, Andersen PH, Andersen AB, et al. Isoniazid-resistant tuberculosis in Denmark: mutations, transmission and treatment

- outcome[J]. *J Infect*, 2010, 60(6): 452–457. DOI: 10.1016/j.jinf.2010.03.017.
- [14] Horinouchi T, Maeda T, Kotani H, et al. Suppression of antibiotic resistance evolution by single-gene deletion[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4178. DOI: 10.1038/s41598-020-60663-6.
- [15] Prater AG, Mehta HH, Beabout K, et al. Daptomycin resistance in enterococcus faecium can be delayed by disruption of the LiaFSR stress response pathway[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65(4): e01317–20. DOI: 10.1128/AAC.01317-20.
- [16] Suzuki Y, Suzuki A, Tamaru A, et al. Rapid detection of pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by a PCR-based in vitro system[J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(2): 501–507. DOI: 10.1128/JCM.40.2.501-507.2002.
- [17] Gomes LC, Campino S, Marinho CRF, et al. Whole genome sequencing reveals large deletions and other loss of function mutations in *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance genes[J]. *Microb Genom*, 2021, 7(12): 000724. DOI: 10.1099/mgen.0.000724.
- [18] Moradigaravand D, Grandjean L, Martinez E, et al. *dhfrA* *thyA* double deletion in *para*-aminosalicylic acid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(6): 3864–3867. DOI: 10.1128/AAC.00253-16.
- [19] Koul A, Dendouga N, Vergauwen K, et al. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase[J]. *Nat Chem Biol*, 2007, 3(6): 323–324. DOI: 10.1038/nchembio884.
- [20] Milano A, Pasca MR, Provvedi R, et al. Azole resistance in *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by the MmpS5-MmpL5 efflux system[J]. *Tuberculosis*, 2009, 89(1): 84–90. DOI: 10.1016/j.tube.2008.08.003.
- [21] Almeida D, Ioerger T, Tyagi S, et al. Mutations in *pepQ* confer low-level resistance to bedaquiline and clofazimine in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(8): 4590–4599. DOI: 10.1128/AAC.00753-16.
- [22] World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance, second edition[R]. Geneva: World Health Organization, 2023.
- [23] Cox E, Laessig K. FDA approval of bedaquiline--the benefit-risk balance for drug-resistant tuberculosis[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(8): 689–691. DOI: 10.1056/NEJMp1314385.
- [24] Ke H, Gui XW, Sun WW, et al. The safety and efficacy of prolonged use of bedaquiline for the treatment of patients with pulmonary multi-drug resistant/rifampin-resistant tuberculosis: A prospective, cohort study in China[J]. *Infect Drug Resist*, 2023, 16: 5055–5064. DOI: 10.2147/IDR.S419996.
- [25] López M, Quitian LV, Calderón MN, et al. The P-type ATPase CtpG preferentially transports Cd²⁺ across the *Mycobacterium tuberculosis* plasma membrane[J]. *Arch Microbiol*, 2018, 200(3): 483–492. DOI: 10.1007/s00203-017-1465-z.
- [26] Lee W, Vanderven BC, Fahey RJ, et al. Intracellular *Mycobacterium tuberculosis* exploits host-derived fatty acids to limit metabolic stress[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(10): 6788–6800. DOI: 10.1074/jbc.M112.445056.
- [27] Bonds AC, Yuan TA, Werman JM, et al. Post-translational succinylation of *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-CoA hydratase EchA19 slows catalytic hydration of cholesterol catabolite 3-Oxochol-4, 22-diene-24-oyl-CoA[J]. *ACS Infect Dis*, 2020, 6(8): 2214–2224. DOI: 10.1021/acinfecdis.0c00329.
- [28] Brzostek A, Pawelczyk J, Rumijowska-Galewicz A, et al. *Mycobacterium tuberculosis* is able to accumulate and utilize cholesterol[J]. *J Bacteriol*, 2009, 191(21): 6584–6591. DOI: 10.1128/JB.00488-09.
- [29] Song ZX, Liu CF, He WC, et al. Insight into the drug-resistant characteristics and genetic diversity of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(5): e0132423. DOI: 10.1128/spectrum.01324-23.
- [30] Zhao LL, Liu HC, Sun Q, et al. Identification of mutations conferring streptomycin resistance in multidrug-resistant tuberculosis of China[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2015, 83(2): 150–153. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.06.020.
- [31] Li SS, Tan YJ, Deng YF, et al. The emerging threat of fluoroquinolone-, bedaquiline-, and linezolid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China: observations on surveillance data[J]. *J Infect Public Health*, 2024, 17(1): 137–142. DOI: 10.1016/j.jiph.2023.11.018.
- [32] Derendinger B, Dippenaar A, De Vos M, et al. Bedaquiline resistance in patients with drug-resistant tuberculosis in cape town, South Africa: a retrospective longitudinal cohort study[J]. *Lancet Microbe*, 2023, 4(12): e972–982. DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00172-6.
- [33] Torrea G, Coeck N, Desmaretz C, et al. Bedaquiline susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in an automated liquid culture system[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(8): 2300–2305. DOI: 10.1093/jac/ckv117.
- [34] Kaniga K, Aono A, Borroni E, et al. Validation of bedaquiline phenotypic drug susceptibility testing methods and breakpoints: a multilaboratory, multicountry study[J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(4): e01677–19. DOI: 10.1128/JCM.01677-19.
- [35] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters[EB/OL]. Version 14.0, (2024-01-01)[2024-02-01]. https://www.megumed.de/wp-content/uploads/2024/02/v_14_0_Breakpoint_Tables.pdf.
- [36] 赵雁林, 陈明亭. 中国结核病防治工作技术指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2021.
- Zhao YL, Chen MT. Technical guidelines for tuberculosis prevention and control in China[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2021.
- [37] World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis[M]. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [38] Liu QY, Liu HC, Shi L, et al. Local adaptation of *Mycobacterium tuberculosis* on the Tibetan Plateau[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(17): e2017831118. DOI: 10.1073/pnas.2017831118.
- [39] Li W, Yan ZF, Zhang N, et al. Novel role of PE_PGRS47 in the alteration of mycobacterial cell wall integrity and drug resistance[J]. *Arch Microbiol*, 2023, 205(5): 174. DOI: 10.1007/s00203-023-03515-x.

向煜 ORCID: 0009-0000-8169-6385

杨淑柳 ORCID: 0009-0007-9333-7487

作者贡献:

向煜: 生信分析、药敏试验、数据整理及论文撰写

杨淑柳、武娅宁、曹滨、于晋杰: 药敏试验、DNA提取

王泉、高晓平、肖开提·米吉提: 菌株收集、组织协调

赵秀芹、李马超、赵丽丽: 菌株培养

袁秀琴、李桂莲、刘海灿、万康林: 项目指导、论文修改、经费支持

本文创新点和学术评论句见开放科学(OSID)平台, 欢迎扫描开放科学(OSID)二维码, 与作者开展交流互动

引用本文: 向煜, 杨淑柳, 武娅宁, 等. 基于新疆维吾尔自治区南疆地区 169 株结核分枝杆菌探讨基因缺失对贝达喹啉的耐药机制[J]. 疾病监测, 2024, 39(5): 639–646. DOI: 10.3784/jbjc.202311200629

Xiang Y, Yang SL, Wu YN, et al. Mechanism of gene deletion induced resistance to bedaquiline based on 169 strains of *Mycobacterium tuberculosis* in southern Xinjiang[J]. *Dis Surveill*, 2024, 39(5): 639–646. DOI: 10.3784/jbjc.202311200629

(本文编辑: 蒋毅)