

结核分枝杆菌异烟肼与乙硫异烟胺交叉耐药的相关基因研究

夏强¹, 刘海灿², 赵秀芹², 万康林², 赵丽丽²

1. 迪安医学检验中心, 浙江, 杭州 310012; 2. 中国疾病预防控制中心, 北京 102206

摘要: **目的** 分析结核分枝杆菌异烟肼 (INH) 和乙硫异烟胺 (Eto) 交叉耐药及与相关耐药基因突变的关系, 为耐多药结核病的临床诊断和治疗提供依据。**方法** 选择126株结核分枝杆菌临床分离株, 包括88株耐多药结核分枝杆菌和38株INH与RFP敏感结核分枝杆菌。采用药物敏感性试验检测菌株对INH和Eto耐药情况; 采用PCR检测INH和Eto耐药相关基因 *katG*、*inhA*、*ethA*、*mshA*、*ndh*、*oxyR-ahpC* 间隔区和 *inhA* 启动子; 以表型耐药为金标准, 计算通过突变基因检测INH与Eto交叉耐药菌株的灵敏度、特异度和准确性。**结果** 126株结核分枝杆菌临床分离株中, INH与Eto交叉耐药菌株37株, 占29.37%; INH耐药+Eto敏感的菌株51株, 占40.48%; INH敏感+Eto耐药菌株4株, 占3.17%; INH与Eto敏感菌株34株, 占26.98%。41株Eto耐药菌株中, INH耐药37株, 占90.24%。检出 *katG* 突变64株, 突变率为50.79%; *oxyR-ahpC* 间隔区突变4株, 突变率为3.17%; *inhA* 突变2株, 突变率为1.59%; 均为INH耐药。*inhA* 启动子突变11株, 突变率为8.73%; *ndh* 突变1株; 均为INH与Eto交叉耐药。*ethA* 突变23株, 突变率为18.25%; *mshA* 突变40株, 突变率为31.75%; 在Eto耐药株和敏感株中均检出。*inhA* 启动子检测INH与Eto交叉耐药菌株的灵敏度为29.73% (95%CI: 16.44%~47.17%), 特异度为100.00% (95%CI: 87.36%~100.00%), 准确性为63.38% (95%CI: 51.76%~73.63%)。**结论** Eto耐药菌株中INH耐药率较高。*inhA* 启动子突变与结核分枝杆菌对INH和Eto交叉耐药相关, 利用*inhA* 启动子区域突变检测INH与Eto交叉耐药具有一定的参考意义。

关键词: 结核病; 异烟肼; 乙硫异烟胺; 交叉耐药

中图分类号: R521

文献标识码: A

文章编号: 2096-5087 (2022) 08-0836-06

Study on genes for cross-resistance to isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*

XIA Qiang¹, LIU Haican², ZHAO Xiuqin², WAN Kanglin², ZHAO Lili²

1. Hangzhou Di'an Medical Laboratory Center, Hangzhou, Zhejiang 310012, China; 2. Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Abstract: Objective To examine the association between the cross-resistance to ethionamide (Eto) and isoniazid (INH) and mutations of drug resistant genes in *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), so as to provide the evidence for clinical diagnosis and treatment for multidrug-resistant (MDR) tuberculosis. **Methods** Totally 126 MTB clinical isolates were selected, including 88 MDR-MTB clinical isolates and 38 INH- and rifampicin (RFP)-sensitive isolates. The resistance to INH and Eto was tested in MTB clinical isolates using the drug susceptibility test, and the mutations in the spacer region of INH and Eto resistance-related *katG*, *inhA*, *ethA*, *mshA*, *ndh*, spacer region of *oxyR-ahpC* and *inhA* promoter were detected using PCR assay. The phenotypic resistance served as a gold standard, and the sensitivity, specificity and accuracy of gene mutation tests were calculated for detection of MTB clinical isolates cross-resistant to INH and Eto. **Results** Of the 126 MTB clinical isolates, there were 37 isolates cross-resistant to INH and Eto (29.37%), 51 isolates with resistance to INH and susceptibility to Eto (40.48%), 4 isolates with susceptibility to INH and resistance to Eto (3.17%) and 34 isolates with susceptibility to INH and Eto (26.98%). Among the 41 Eto-resistant MTB clinical isolates,

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.08.016

作者简介: 夏强, 硕士, 主管技师, 主要从事细菌耐药相关研究

通信作者: 赵丽丽, E-mail: zhaolili@icdc.cn

there were 37 isolates with resistance to INH (90.24%). There were 64 MTB clinical isolates detected with *katG* mutations (50.79%), 4 isolates with mutation in the spacer region of *oxyR-ahpC* (3.17%), 2 isolates with *inhA* mutations (1.59%), and these isolates were all resistant to INH. There were 11 MTB clinical isolates detected with mutation in the *inhA* promoter (8.73%) and one isolate with *ndh* mutation, and all these isolates were cross-resistant to INH and Eto. There were 23 MTB clinical isolates detected with *ethA* mutations (18.25%) and 40 isolates with *mshA* mutations (31.75%), in which Eto-susceptible and -resistant isolates were detected. The diagnostic sensitivity, specificity and accuracy of *inhA* promoter tests for detection of cross-resistance to INH and Eto were 29.73% (95%CI: 16.44%-47.17%), 100.00% (95%CI: 87.36%-100.00%) and 63.38% (95%CI: 51.76%-73.63%) in MTB clinical isolates. **Conclusions** The prevalence of INH resistance is high in Eto-resistant MTB clinical isolates. Mutation in the *inhA* promoter region correlates with the cross-resistance to INH and Eto in MTB clinical isolates, and detection of mutation in the *inhA* promoter may be feasible to detect the cross-resistance to INH and Eto in MTB clinical isolates.

Keywords: tuberculosis; ethionamide; isoniazid; cross-resistance

世界卫生组织 (WHO) 报道, 2020 年我国估算结核病新发患者 84.2 万, 发病数在 30 个结核病高负担国家中居第二位^[1]。近年来, 耐多药结核病 (multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB) 给我国结核病治疗带来了巨大的挑战, 有研究预测如果不干预当前耐药状况, 2050 年 MDR-TB 患病率预计将达到 58/10 万^[2]。异烟肼 (isoniazid, INH) 是结核病标准化疗方案的重要组成药物; 乙硫异烟胺 (ethionamide, Eto) 作用与 INH 相似, 常代替 INH 组成治疗方案, 被广泛用于 MDR-TB 治疗^[3]。结核分枝杆菌 INH 耐药分子机制主要与 *katG*、*inhA*、*ndh*、*inhA* 启动子和 *oxyR-ahpC* 间隔区的突变有关, 其中 *katG* 突变在 INH 耐药的结核分枝杆菌中检出率超过 70%^[4], 可能是影响 INH 耐药的主要基因。结核分枝杆菌 Eto 耐药的分子机制可能与 *ethA*、*mshA*、*ndh*、*inhA* 及 *inhA* 启动子有关^[5]。既往研究发现 Eto 与 INH 的耐药相关基因可能存在重叠^[6]。本研究检测结核分枝杆菌临床分离株的 INH 和 Eto 相关耐药基因及其元件的突变位点, 分析二者耐药基因与交叉耐药之间的关系, 为快速诊断耐多药结核病、优化抗结核病治疗方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 选择 126 株结核分枝杆菌临床分离株, 包括 88 株耐多药菌株、38 株 INH 与利福平 (rifampicin, RFP) 敏感菌株, 均由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所结核病室传代培养、保存。结核分枝杆菌 H37Rv 标准株 (ATCC27294) 购自中国食品药品检定研究院, 由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所结核病室保存。

1.2 药物敏感性试验 采用 Bactec MGIT 960 全自动快速分枝杆菌培养鉴定药敏仪, 操作流程参考文献^[7]。H37Rv 标准株 (ATCC27294) 为质控菌株,

INH 临界浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Eto 临界浓度为 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。INH 和 Eto 购自 Sigma 公司。

1.3 耐药基因分析 生理盐水收集结核分枝杆菌新鲜培养物 50~100 mg (湿重), 采用十六烷基三甲基溴化铵法^[8]提取 DNA, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。*katG*、*ethA*、*mshA*、*ndh*、*inhA*、*inhA* 启动子和 *oxyR-ahpC* 间隔区引物序列按照 H37Rv DNA 序列 (GenBank 序列号: NC_000962) 设计, 见表 1。PCR 反应体系总体积 20 μL , 包括 1 \times easytaq PCR Buffer (TRANS), 1.25 U easytaq DNA 聚合酶 (TRANS), 0.125 mmol/L dNTP, 正向引物 F 和反向引物 R 各 0.15 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 模板 DNA 40~100 ng。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 10 min。PCR 产物送北京擎科兴业公司纯化并测定核酸序列, 采用 BioEdit 7.0.9 软件分析基因测序结果, 参比序列为野生型 (wild type, WT) H37Rv DNA 序列 (GenBank 序列号: NC_000962)。

1.4 统计分析 采用 SPSS 20.0 软件和 MedCalc 18.2.1 软件统计分析。参考文献^[4-5], 筛选在 INH 耐药菌株和 Eto 耐药菌株中均发生突变的耐药基因, 以表型耐药为金标准计算灵敏度、特异度和准确性^[9]。定性资料采用相对数描述, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物敏感性试验结果 126 株结核分枝杆菌临床分离株中, INH 与 Eto 交叉耐药菌株 37 株, 占 29.37%; INH 耐药+Eto 敏感菌株 51 株, 占 40.48%; INH 敏感+Eto 耐药菌株 4 株, 占 3.17%; INH 与 Eto 敏感菌株 34 株, 占 26.98%。88 株耐多药菌株中, Eto 耐药菌株 37 株, 占 42.05%。38 株 INH 与

RFP 敏感菌株中, Eto 耐药菌株 4 株, 占 10.53%。41 株 Eto 耐药菌株中, INH 耐药菌株 37 株, 占 90.24%。见表 2。

2.2 耐药基因突变情况 突变株 100 株, 占 78.63%; 野生型菌株 26 株, 占 21.37%。*katG* 突变菌株 64 株, 突变率为 50.79%; *oxyR-ahpC* 间隔区突变菌株 4 株, 突变率为 3.17%; *inhA* 突变菌株 2 株,

突变率为 1.59%; 均为 INH 耐药。*inhA* 启动子突变菌株 11 株, 突变率为 8.73%; *ndh* 突变菌株 1 株, 突变率为 0.79%; 均为 INH 与 Eto 交叉耐药。*ethA* 突变菌株 23 株, 突变率为 18.25%; *mshA* 突变菌株 40 株, 突变率为 31.75%; 基因突变位点分布分散, 在 Eto 耐药株和敏感株中均有发现。见表 2。

表 1 PCR 扩增和测序引物
Table 1 Primers for PCR and sequencing

基因名称 Gene	引物序列 (5'-3') sequence	基因组中的位置 Position	序列长度 Length/bp
<i>katG</i>	GATCGTCGGCGTCACACTT CGTTGACTCCCACCCGACT	2 154 587~2 155 317	731
<i>oxyR-ahpC</i> 间隔区 Spacer region of <i>oxyR-ahpC</i>	GTCACGCACTGCACGACG CAATCGAAACCCCAAGGATCT	2 725 776~2 726 454	679
<i>inhA</i> 启动子 <i>inhA</i> promoter	TGCCCAGAAAGGGATCCGTCATG ATGAGGAATGCGTCCGCGGA	1 674 126~1 674 259	455
<i>inhA</i>	ACAAGGACGCACATGACAGGA CGAACGACAGCAGCAGGAC	1 674 190~1 675 050	861
<i>ethA</i>	ATCATCGTCTGACTATGGC TGGCAGCTTACTACGTGTCG	4 325 954~4 327 546	1 593
<i>mshA</i>	GACCTCGAGCGCATTCTGG GCGTGTCACTTCGGTTCCTG	575 323~576 840	1 518
<i>ndh</i>	GAGGTGACCCCGTCAGGAGC TTTGGCGTTGGCGGTGGC	2 101 588~2 103 070	1 483

表 2 126 株结核分枝杆菌临床分离株 INH 和 Eto 耐药基因突变结果
Table 2 Mutations of drug resistance genes related to INH and Eto in 126 isolates of *Mycobacterium tuberculosis*

耐药类型 Drug-resistant type	菌株数 Isolates [n (%)]	<i>katG</i>	<i>oxyR-ahpC</i> 间隔区 Spacer region of <i>oxyR-ahpC</i>	<i>inhA</i> 启动子 <i>inhA</i> promoter	<i>inhA</i>	<i>ethA</i>	<i>mshA</i>	<i>ndh</i>
INH 与 Eto 交叉耐药 Cross-resistance to INH and Eto	7 (18.92)	S315T	WT	WT	WT	WT	A187V	WT
	4 (10.81)	S315T	WT	WT	WT	WT	WT	WT
	1 (2.70)	S315T	WT	WT	WT	R132T, G815A ^b	A187V	WT
	1 (2.70)	S315T	WT	WT	WT	A207V	A187V	WT
	1 (2.70)	S315T	WT	WT	WT	WT	A187V	A154V
	1 (2.70)	S315T	WT	WT	C471T ^a	1037delA	WT	WT
	1 (2.70)	S315T	WT	T (-7) C	WT	WT	A187V	WT
	1 (2.70)	S315T	WT	T (-8) C	WT	WT	WT	WT
	1 (2.70)	S315T	WT	T (-8) C	WT	N379D	WT	WT
	1 (2.70)	S315R	WT	WT	WT	I325S	WT	WT
	1 (2.70)	A345V	WT	C (-15) T	WT	WT	A187V	WT
	2 (5.41)	S368P	WT	C (-15) T	WT	D362G	WT	WT
	1 (2.70)	S368P	WT	C (-15) T	WT	WT	WT	WT
	1 (2.70)	F408L	WT	WT	WT	WT	WT	WT

表 2 (续) Table 2 (continued)

耐药类型 Drug-resistant type	菌株数 Isolates [n (%)]	<i>katG</i>	<i>oxyR-ahpC</i> 间隔区 Spacer region of <i>oxyR-ahpC</i>	<i>inhA</i> 启动子 <i>inhA</i> promoter	<i>inhA</i>	<i>ethA</i>	<i>mshA</i>	<i>ndh</i>
	1 (2.70)	D419H	WT	WT	WT	WT	WT	WT
	3 (8.11)	WT	WT	C (-15) T	WT	WT	WT	WT
	1 (2.70)	WT	G (-25) A	WT	WT	WT	WT	WT
	1 (2.70)	WT	G (-48) A	G (-19) A	WT	G867A ^b	WT	WT
	1 (2.70)	WT	WT	WT	WT	A598T ^b	WT	WT
	1 (2.70)	WT	C (-14) T	WT	WT	WT	WT	WT
	5 (13.51)	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT
INH 耐药+Eto 敏感	13 (25.49)	S315T	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Resistance to INH and susceptibility to Eto	4 (7.84)	S315T	WT	WT	WT	G798C ^a	WT	WT
	1 (1.96)	S315T	WT	WT	WT	P334A	WT	WT
	11 (21.57)	S315T	WT	WT	WT	WT	A187V	WT
	1 (1.96)	S315T	WT	WT	WT	V409G	A187V	WT
	1 (1.96)	S315T	WT	WT	WT	WT	A413Q	WT
	3 (5.88)	S315N	WT	WT	WT	WT	WT	WT
	1 (1.96)	S315N	WT	WT	I95L	1051delC	G730T ^a	WT
	1 (1.96)	I317V	WT	WT	WT	WT	WT	WT
	1 (1.96)	W328R	WT	WT	WT	WT	WT	WT
	1 (1.96)	D329V	WT	WT	WT	WT	WT	WT
	1 (1.96)	W411R	WT	WT	WT	WT	G730T ^a	WT
	1 (1.96)	WT	WT	WT	WT	G470D	WT	WT
	1 (1.96)	WT	WT	WT	WT	WT	V201D, A187V	WT
	2 (3.92)	WT	WT	WT	WT	WT	A187V	WT
	2 (3.92)	WT	WT	WT	WT	G798C ^a	WT	WT
	1 (1.96)	WT	C (-9) T	WT	WT	WT	WT	WT
	5 (9.80)	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT
INH 敏感+Eto 耐药	2 (50.00)	WT	WT	WT	WT	WT	A187V	WT
Susceptibility to INH and resistance to Eto	1 (25.00)	WT	WT	WT	WT	D362G	WT	WT
	1 (25.00)	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT
INH 与 Eto 敏感	15 (44.12)	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Susceptibility to INH and Eto	16 (47.56)	WT	WT	WT	WT	WT	A187V	WT
	1 (2.94)	WT	WT	WT	WT	A54G	WT	WT
	2 (5.88)	WT	WT	WT	WT	G798C ^a	WT	WT

注: a表示同义突变; b表示无义突变。Note: a, synonymous mutation; b, nonsense mutation.

2.3 表型耐药与基因型耐药的关系分析 *inhA* 启动子检测 INH 与 Eto 交叉耐药菌株的灵敏度为 29.73% (95%CI: 16.44%~47.17%), 特异度为 100.00% (95%CI: 87.36%~100.00%), 准确性为 63.38% (95%CI: 51.76%~73.63%)。INH 与 Eto 交叉耐药菌株和 INH 与 Eto 敏感菌株的 *inhA* 启动子突变率比

较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=11.961, P=0.001$)。 *inhA* 和 *ndh* 分别检测 INH 与 Eto 交叉耐药菌株, 灵敏度均为 2.70% (95%CI: 0.14%~15.81%), 特异度均为 100.00% (95%CI: 87.36%~100.00%), 准确性均为 49.30% (95%CI: 38.00%~60.66%)。INH 与 Eto 交叉耐药菌株和 INH 与 Eto 敏感菌株的 *inhA* 和 *ndh*

突变率比较, 差异均无统计学意义 ($\chi^2=0.932$, $P=0.334$; $\chi^2=0.932$, $P=0.334$)。

3 讨论

研究结果显示, INH 与 RFP 敏感菌株 Eto 耐药率为 10.53%, 耐多药菌株 Eto 耐药率为 42.05%, Eto 耐药菌株 INH 耐药率为 90.24%, 说明 Eto 耐药菌株易对 INH 耐药。2010 年我国 Eto 总耐药率为 12.9%^[10]; 2016 年对医院结核分枝杆菌敏感性调查显示 Eto 在耐多药结核病患者 Eto 耐药率为 11.2%, 且耐药谱越大, Eto 耐药率越高^[11]; 提示 Eto 可能与多种抗结核药物存在交叉耐药, 筛选交叉耐药基因具有重要意义。

inhA 编码 Enoyl-ACP 还原酶, 依赖还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 作用阻断分枝菌酸的生物合成^[12]。有研究报道, 8%~43% 的 INH 耐药和 33%~65% 的 Eto 耐药临床分离株存在 *inhA* 基因或启动子区突变^[9, 13], *inhA* 基因和 *inhA* 启动子区域突变可能是 INH 和 Eto 交叉耐药的关键位点。本研究中, INH 与 Eto 交叉耐药菌株中有 11 株发生 *inhA* 启动子突变, 其中 C (-15) T 突变类型为主。利用 *inhA* 启动子检测 INH 与 Eto 交叉耐药具有较高的特异度和准确性, 可作为 INH 与 Eto 交叉耐药的分子标识。而仅有 2 株菌株 *inhA* 编码区域发生突变, 整体突变率远低于 *inhA* 启动子区, 无法判断该基因在 2 种药物交叉耐药中的贡献。

ndh 编码 NADH 脱氢酶, 突变导致 NADH 浓度增加, 竞争性抑制异烟肼烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、乙硫异烟胺烟酰胺腺嘌呤二核苷酸与 *inhA* 结合, 导致 INH 和 Eto 耐药^[14-15]。本研究仅发现 1 株 INH 与 Eto 交叉耐药菌株出现 *ndh* 突变, 且与 *katG* 的 S315T 突变及 *mshA* 的 A187V 突变协同出现, 无法判断该基因在交叉耐药中的贡献。*mshA* 是编码糖基转移酶参与分枝硫醇合成的基因, 与结核分枝杆菌 INH 和 Eto 耐药相关^[16]。本研究 34 株 INH 与 Eto 敏感的临床分离株中, 16 株 *mshA* 发生 A187V 突变, 提示该突变不赋予 Eto 和 INH 耐药性。

研究显示, *katG* 和 *ethA* 编码的酶均作用于 enoyl-ACP 还原酶, 阻断分枝菌酸的生物合成, 分别导致 INH 和 Eto 耐药^[12]。本研究 88 株耐多药菌株中, *katG* 突变率较高, 均分布在 INH 敏感菌株中, 其中 S315T 基因型突变为主, 提示利用 *katG* 可快速检测

INH 敏感性^[17]。DE SOUZA 等^[18] 研究显示, 对 Eto 耐药的耐多药菌株中有 50% 以上存在 *ethA* 突变, 其中 Y50C 和 T453I 突变是引起 Eto 耐药的主要位点。而本研究中 *ethA* 的突变点位分布在整个编码区域, 并未发现优势突变位点。

综上所述, 在 Eto 耐药菌株更容易出现 INH 耐药, 鉴定交叉耐药可以有效指导临床用药; 可以尝试通过 *inhA* 启动子进行基因筛查, 参考突变情况对患者用药进行相应调整。本研究同时发现一部分交叉耐药菌株未发生上述基因突变, 提示存在其他影响交叉耐药的关键基因。后期研究应扩大样本, 筛选潜在的耐药相关基因。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2020 [R/OL]. [2022-06-07]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131.pdf>.
- [2] LI B Y, SHI W P, ZHOU C M, et al. Rising challenge of multi-drug-resistant tuberculosis in China: a predictive study using Markov modeling [J/OL]. *Infect Dis Poverty*, 2020, 9 (3): 57-64. [2022-06-07]. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00682-7>.
- [3] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment [M]. Geneva: World Health Organization, 2019.
- [4] LIU Q, YANG D, QIU B, et al. Drug resistance gene mutations and treatment outcomes in MDR-TB: a prospective study in Eastern China [J/OL]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2021, 15 (1) [2022-06-07]. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009068>.
- [5] 宋艳华, 高孟秋, 李琦. 结核分枝杆菌对乙硫异烟胺/丙硫异烟胺耐药的机制及其增敏剂研究进展 [J]. *中国防痨杂志*, 2020, 42 (2): 173-177.
- [6] SONG Y H, GAO M Q, LI Q. Research progress on the mechanism of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to ethionamide/ptionamide and ethionamide boosters [J]. *Chin J Antitubercul*, 2020, 42 (2): 173-177.
- [7] VILCHÈZE C, JACOBS W R, Jr. Resistance to isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*: genes, mutations, and causalities [J/OL]. *Microbiol Spectr*, 2014, 2 (4) [2022-06-07]. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MGM2-0014-2013>.
- [8] World Health Organization. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs [M]. Geneva: World Health Organization, 2008.
- [9] SOMERVILLE W, THIBERT L, SCHWARTZMAN K, et al. Extraction of *Mycobacterium tuberculosis* DNA: a question of containment [J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43 (6): 2996-2997.
- [10] ISLAM M M, TAN Y, HAMEED H M A, et al. Detection of novel mutations associated with independent resistance and cross-resistance to isoniazid and prothionamide in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates [J/OL]. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25 (8) [2022-06-07]. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.008>.

- [10] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告 [J]. 中国防痨杂志, 2012, 8 (34): 485-508.
 Technical Guidance Group of the Fifth National TB Epidemiological Survey, the Office of the Fifth National TB Epidemiological Survey. The fifth national tuberculosis epidemiological survey in 2010 [J]. Chin J Antitubercul, 2012, 8 (34): 485-508
- [11] 宋艳华, 王桂荣, 霍凤敏, 等. 耐多药和广泛耐药 MTB 的 *inhA* 基因突变与对丙硫异烟胺耐药的相关性分析 [J]. 中国防痨杂志, 2018, 40 (8): 821-824.
 SONG Y H, WANG G R, HUO F M, et al. Correlation analysis between *inhA* gene mutation and protonamide-resistance in multi-drug resistance and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Chin J Antitubercul, 2018, 40 (8): 821-824.
- [12] HALDER S K, ELMA F. *In silico* identification of novel chemical compounds with antituberculosis activity for the inhibition of *InhA* and *EthR* proteins from *Mycobacterium tuberculosis* [J/OL]. J Clin Tuberc Other Mycobacterial Dis, 2021, 24 [2022-06-07]. <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2021.100246>.
- [13] ZHANG Y, YEW W W. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: update 2015 [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2015, 19 (11): 1276-1289.
- [14] MIESEL L, WEISBROD T R, MARCINKEVICIENE J A, et al. NADH dehydrogenase defects confer isoniazid resistance and conditional lethality in *Mycobacterium smegmatis* [J]. J Bacteriol, 1998, 180 (9): 2459-2467.
- [15] ROHDE K H, SORCI L. The prospective synergy of antitubercular drugs with NAD biosynthesis inhibitors [J/OL]. Front Microbiol, 2021, 11 [2022-06-07]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.634640>.
- [16] VILCHÈZE C, AV-GAY Y, ATTARIAN R, et al. Mycothiol biosynthesis is essential for ethionamide susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Mol Microbiol, 2008, 69 (5): 1316-1329.
- [17] PINHATA J M W, BRANDAO A P, MENDES F D F, et al. Correlating genetic mutations with isoniazid phenotypic levels of resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients with drug-resistant tuberculosis in a high burden setting [J/OL]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2021, 40 (12): 2551-2561 [2022-06-07]. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04316-0>.
- [18] DE SOUZA V C, ANTUNES D, SANTOS L H, et al. Insights into the mechanism of ethionamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis* through an *in silico* structural evaluation of *EthA* and mutants identified in clinical isolates [J/OL]. Catalysts, 2020, 10 (5) [2022-06-07]. <https://doi.org/10.3390/catal10050543>.

收稿日期: 2022-03-10 修回日期: 2022-06-07 责任编辑: 吉兆洋

· 读者 · 作者 · 编者 ·

论文作者署名和单位著录格式

1. 作者署名 作者姓名置于文题下方, 多位作者的署名之间用逗号“,” 隔开。仅以协作组署名时, 文章首页地脚应注明通信作者姓名及有关项目, 执笔人及协作组成员姓名可标注于文末。个人与协作组共同署名时, 如作者要求, 可以是某位或某几位作者代表某协作组, 也可以是作者姓名与协作组名称并列, 协作组成员姓名可标注于文末。简讯等短文的作者姓名可标注于文末。

2. 作者单位 应著录全部作者单位及其所属单位。第一作者和通信作者单位应注明全称 (到科室), 并注明所在省、市及邮政编码。在作者姓名右上角加注不同的阿拉伯数字序号, 在作者名下依序号分述其单位名称, 不同单位之间用分号“;” 隔开。

3. 通信作者 通信作者的姓名和 E-mail 地址置于文章首页地脚。

摘自《中华预防医学会系列期刊编排规范》