

高分辨率熔解曲线检测背景下结核分枝杆菌链霉素和乙胺丁醇耐药模式分析

郭腾飞¹,王珍珍^{1,2},侯义³,赵战勤⁴,祖向阳²,江涛¹,薛云²

摘要 目的 研究洛阳市和县区结核分枝杆菌链霉素与乙胺丁醇耐药模式,指导临床用药,补充当地耐药结核的流行病学数据。方法 该研究共纳入 2 941 例高分辨率熔解曲线(HRM)的阳性结果,评估与链霉素和乙胺丁醇耐药相关的危险因素。结果 在被纳入的 2 941 例 HRM 阳性病例中,18.4%对链霉素耐药,8.0%对乙胺丁醇耐药,男性对链霉素和乙胺丁醇耐药率均高于女性(19.0% vs 16.9%, $P = 0.129$; 8.0% vs 7.9%, $P = 0.987$),城市群体高于乡村(21.3% vs 16.6%, $P = 0.002$; 9.8% vs 6.9%, $P = 0.004$),复诊群体远高于初诊患者(25.8% vs 17.3%, $P < 0.001$; 12.1% vs 7.4%, $P = 0.002$),年龄 < 51 岁群体链霉素耐药率高于年龄 > 50 岁的群体(21.1% vs 16.1%, $P < 0.001$)。

按年龄分层,链霉素及乙胺丁醇最高耐药率,男性分别出现在 31 ~ 35 岁和 56 ~ 60 岁,而女性则分别出现在 21 ~ 25 岁及 56 ~ 60 岁。多变量模型中,在调整了涂片结果和年份检测后,既往治疗史、年龄 < 51 岁、城镇地区与链霉素和乙胺丁醇耐药性呈正相关。结论 该地区男性、既往治疗史、年龄 < 51 岁和城镇居住群体是链霉素与乙胺丁醇耐药结核的重点监测目标。

关键词 结核分枝杆菌;耐药模式;分子耐药;链霉素;乙胺丁醇

中图分类号 R 378.91+1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1227-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.028

2023-03-17 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32072899);河南科技发展计划项目(编号:212102310741);河南省科技攻关计划项目(编号:LHGJ20200589)

作者单位:¹ 河南科技大学临床医学院,河南科技大学第一附属医院检验科,洛阳 471000

² 河南科技大学医学技术与工程学院,洛阳 471000

³ 洛阳市疾病预防控制中心,洛阳 471000

⁴ 河南科技大学动物科技学院,洛阳 471000

作者简介:郭腾飞,男,硕士研究生,主管技师;

薛云,女,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: xuyun6688@163.com

结核分枝杆菌感染是世界常见的单病种死亡病因之一^[1]。中国是结核病高负担国家^[2]。结核的传播及耐药模式具有地域差异,而监测数据的不完全性,阻碍了结核的及时诊断及耐药的风险评估。近年来分子检测技术广泛地应用于临床,使耐药结核(drug-resistant tuberculosis, DR-TB)患者的精准防控成为可能。其中 HRM 技术能同时分析多种抗结核药物的分子易感性,用于补充结核感染和分子耐药的流行病学资料。乙胺丁醇(ethambutol, EMB)和链霉素(streptomycin, SM)是治疗 DR-TB 的第一组

risk factors of the efficacy of sequential osimertinib treatment. **Methods** The data of 138 advanced NSCLC patients with acquired EGFR exon 20 T790M mutation who took sequential osimertinib as second-line treatment. Kaplan-Meier variable was used for survival analysis. The Log-rank method was used for univariate analysis. The COX risk regression model was used for multivariate analysis. The survival status and influencing factors of patients treated with sequential osimertinib were analyzed. **Results** At the last follow-up, 99 of the 138 patients died. Median progression free survival (PFS1) of first-line of first- or second-generation epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors(EGFR-TKIs) was 11 months (95% CI: 10.1 - 11.9); median PFS2 of osimertinib was 10 months (95% CI: 8.5 - 11.5); The median PFS with sequential osimertinib treatment was 24 months(95% CI: 21.7 - 26.3), the median OS was 32 months(95% CI: 28.9 - 35.1). In univariate and multivariate analysis, PFS1 was an independent prognostic factor for PFS and OS($P < 0.001$). **Conclusion** Sequential osimertinib treatment for advanced NSCLC patients with acquired EGFR exon 20 T790M mutation achieved good PFS(24 months) and OS(32 months).

Key words epidermal growth factor receptor; EGFR exon 20 T790M mutation; non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors; osimertinib

药物,但其耐药模式在该地区却是空白。引起结核乙胺丁醇耐药(ethambutol resistance, EMB-R)的分子机制主要是基因 EmbB 和 EmbC 突变;链霉素耐药(streptomycin resistance, SM-R)主要是由基因 rrs 和 Rpsl 43 及 88 位密码子的突变引起^[3-4],不同国家和地区的结核耐药突变位点也有所不同。该研究旨在结核感染群体特征的宏观现象上,分析 EMB 及 SM 的耐药特征及耐药在碱基水平的微观表现,这将有助于改进现有的快速耐药检测技术,探索药物活性的新靶点。

1 材料与方法

1.1 病例资料 该研究对洛阳市和县区(偃师县、栾川县、嵩县、汝阳县、洛宁县、孟津县、新安县、宜阳县、伊川县)2019年1月—2021年12月期间所有的临床确诊及疑似病例的痰液、胸水或肺泡灌洗液行 HRM 扩增后将阳性结果纳入分析。分析前按照姓名、性别、年龄、地区等因素排除重复检测者,将年龄 < 15 岁和年龄 > 86 岁的个体汇总为单一年龄类别,其他均按 5 年为一个单位。变量包括检测日期、HRM 阳性结果(乙胺丁醇和链霉素耐药结果)、性别、年龄、地区(县区统一归为乡镇区域)、痰涂结果和系统记录或自我报告的治疗史。

疑似和确诊病例;经临床诊断已明确有结核分枝杆菌感染或过往感染的群体;抗结核治疗失败,有结核治疗史或既往结核感染未彻底治愈;有临床症状或潜伏感染者;免疫病理有结核分枝杆菌感染特征者;影像学有感染提示者;排菌患者密切接触者;结核菌素试验强阳反应。

1.2 病例诊断标准 根据中华人民共和国卫生行业标准(WS196-2017)^[5],根据治疗史对患者进行分类,初治结核病。初治患者指符合下列情况之一:①从未因结核病应用过抗结核药物治疗的患者;②正进行标准化疗方案规则用药而未满疗程的患者;③不规则化疗未滿 1 个月的患者。复治患者指符合下列情况之一:①因结核病不合理或不规则用抗结核药物治疗 ≥ 1 个月的患者;②初治失败和复发患者。

1.3 基因突变位点检测 该研究采用 HRM 针对 EMB 耐药高突变的 embB 基因(embB 306、embB 406、embB 497、embB 368/378/380)进行检测,SM 检测主要是 rpsL 基因 43、88 位密码子和 rrs 基因的 513~517 位点及 905~908 位点。

1.4 统计学处理 使用 STATA/SE 15.1 软件对所

有可能与 EMB-R 和 SM-R 发生有关的变量纳入多变量 Logistic 回归分析,同时对不同治疗史、区域分布、痰涂结果背景下的性别及耐药情况进行 Pearson 卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 按性别分层的链霉素和乙胺丁醇耐药结果

2019—2021 年,该地区共有 2 941 例非重复 HRM 阳性病例中 SM、EMB 耐药率初诊患者分别为 17.3% 和 7.4%,复治患者分别为 25.8% 和 12.1%,城市患者分别为 21.3% 和 9.8%,农村患者分别为 16.6% 和 6.9%,痰涂阳性人群分别为 17.8% 和 6.9%,痰涂阴性分别为 19.2% 和 9.0%。SM-R 和 EMB-R 按性别分层检出性差异见表 1。

表 1 HRM 阳性人群特征及在不同因素下 SM-R 和 EMB-R 情况[n(%)]

项目	男	女
整体		
SM-R	413(19.0)	127(16.5)
EMB-R	173(8.0)	61(7.9)
初诊		
SM-R	360(18.4)	86(13.8)
EMB-R	146(7.5)	44(7.1)
复诊		
SM-R	53(24.2)	41(28.1)
EMB-R	27(12.3)	17(11.6)
涂片阳性		
SM-R	241(18.9)	53(13.5)
EMB-R	94(7.4)	21(5.4)
涂片阴性		
SM-R	144(19.1)	61(19.4)
EMB-R	65(8.6)	31(9.9)
涂片未知		
SM-R	28(18.8)	13(21.0)
EMB-R	14(9.4)	9(1.5)
城镇阳性		
SM-R	164(20.6)	66(23.2)
EMB-R	76(9.6)	30(10.6)
乡村阳性		
SM-R	249(18.1)	61(12.6)
EMB-R	97(7.0)	31(6.4)
2019 年		
SM-R	146(22.4)	37(17.2)
EMB-R	84(12.9)	26(12.1)
2020 年		
SM-R	104(15.3)	34(14.3)
EMB-R	33(4.9)	12(5.1)
2021 年		
SM-R	163(19.3)	56(17.7)
EMB-R	56(6.6)	23(7.3)

2.2 不同变量下的链霉素和乙胺丁醇耐药结果

SM-R 和 EMB-R 因性别、年龄、结核治疗史及地区分布有关。总体而言,在结核分枝杆菌感染患者中,SM 耐药率男性为 19.0%,女性为 16.5% ($\chi^2 = 2.309, P = 0.129$),EMB 耐药率男性为 8.0%,女性为 7.9% ($\chi^2 = 0, P = 0.987$)。初诊和复诊群体中 SM 耐药率分别为 17.3% 和 25.8% ($\chi^2 = 15.192, P < 0.001$),而 EMB 耐药率则为 7.4% 和 12.1% ($\chi^2 = 9.557, P = 0.002$)。该研究对初复诊群体不同性别的 EMB-R 和 SM-R 检出率行 χ^2 检验分析显示,EMB-R 差异存在于初诊男性及复诊男性之间 ($\chi^2 = 6.340, P = 0.012$) 及初诊女性与复诊男性之间 ($\chi^2 = 5.786, P = 0.016$);SM 在复诊男女之间耐药率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.690, P = 0.406$)。在城市和乡村患者中 SM 的耐药率分别为 21.3% 和 16.6% ($\chi^2 = 9.927, P = 0.002$),EMB 的耐药率分别为 9.8% 和 6.9% ($\chi^2 = 8.115, P = 0.004$)。SM-R 的检出无论是乡村男女,还是城市与乡村的男女之间均有差异,但在城市男女之间差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.850, P = 0.356$);而 EMB-R 在城市与乡村不同性别之间耐药性差异更不明显。痰涂阳性群体对 SM 和 EMB 耐药率分别为 17.8%、6.9%,而痰涂阴性为 19.2%、9.0%。EMB-R 在痰涂阳性和痰涂阴性群体之间的差异有统计学意义 ($\chi^2 = 3.979, P = 0.028$),SM-R 在痰涂阳性群体男女之间的差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.974, P = 0.015$)。对不同年龄范围群体的耐药率分析可知,年龄 < 51 岁群体对 SM 耐药率高于年龄 > 50 岁群体 ($\chi^2 = 12.572, P < 0.001$)。

2.3 按年龄分层的耐药结果 SM 耐药率最高的年龄范围是 31 ~ 35 岁 (32.2%),与其他所有年龄类

别相比,31 ~ 35 岁的男性 (38.9%) 及 56 ~ 60 岁女性 (26.7%) 对 SM 耐药率最高。EMB 耐药率高峰出现在 21 ~ 25 岁 (12.7%) 的年龄范围,男性对 EMB 耐药率峰值 (15.8%) 与总体 EMB 耐药率一致,均是 21 ~ 25 岁,女性对 EMB 耐药率峰值的年龄范围依旧是 56 ~ 60 岁,耐药率为 12.8%。按年龄类别分类的 HRM 阳性结果总数以条形图表示,SM 和 EMB 耐药率以折线表示 (第二 y 轴)。见图 1。

2.4 多因素 Logistic 回归分析结果 采用多因素 Logistic 回归分析来确定性别、年龄、治疗史、地区、痰涂、年份是否与 SM-R 及 EMB-R 的检出相关。结果显示,男性、年龄 < 51 岁、城市和结核治疗史均与 SM-R 和 EMB-R 风险增加呈正相关 (表 2)。在调整了痰涂结果和检测年份的影响后,男性被诊断为 SM-R 的可能性高于女性;51 岁及以下被诊断为 SM-R 的可能性高于 50 岁以上个体;与无治疗史个体相比,有结核治疗史被诊断为 SM-R 及 EMB-R 的可能性更高;城市群体被诊断为 SM-R 和 EMB-R 的可能性高于乡村。

2.5 引起链霉素和乙胺丁醇耐药基因位点 引起 SM-R 的基因突变中,单位点突变率为 91.8%,其次是双位点 8.2%。在单位点突变中, rpsL 43 位密码子突变率最高,为 59.0%,其次是 rpsL 88 和 rrs 905 ~ 908 位点,在全部突变模式中分别占 16.4% 和 13.1%,另外有 rrs 513 ~ 517 单位点突变率为 3.3%;另外该研究表明 rpsL 43 联合 rrs 905 ~ 908 及 rpsL 88 联合 rrs 905 ~ 908 位点的双位点突变率分别为 4.9%、3.3%。而 EMB-R 的分子突变位点中,只发现了单位点突变,其中 embB 306、embB 406、embB 497 和 embB 368/378/380 的突变率分别为 66.7%、18.4%、10.7% 和 4.3%。引起 SM 和

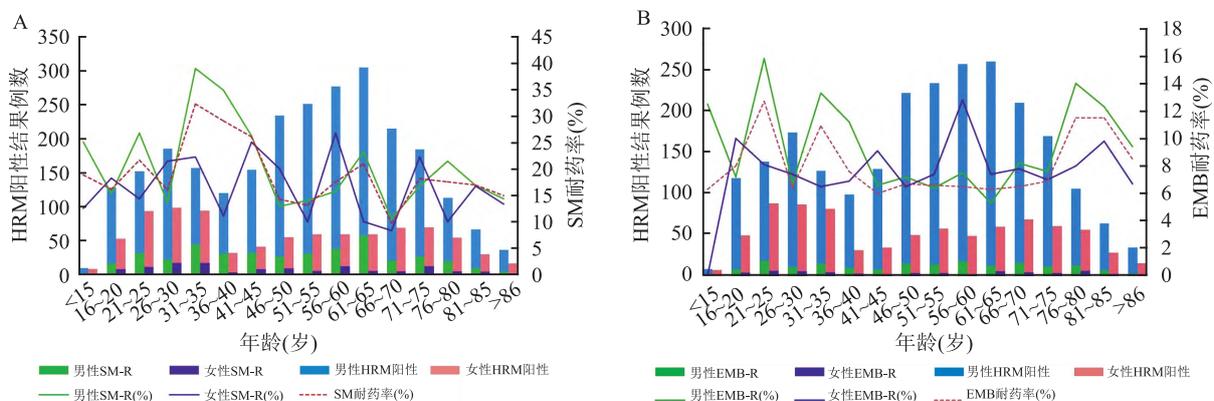


图1 按年龄和性别分类的 HRM 阳性结果及 SM-R 和 EMB-R 的比例

A:按年龄和性别分类的 HRM 阳性结果例数及 SM 耐药率;B:按年龄和性别分类的 HRM 阳性结果例数及 EMB 耐药率

表2 链霉素耐药和乙胺丁醇耐药的多项式 Logistic 回归分析[n(%)]

项目	链霉素耐药组 (n=540)	调整后 OR(95% CI)	P 值	乙胺丁醇耐药组 (n=234)	调整后 OR(95% CI)	P 值
性别						
女	127(16.5)	参照		61(7.9)	参照	
男	413(19.0)	1.32(1.05~1.65)	0.02	173(8.0)	1.10(0.80~1.50)	0.56
年龄(岁)						
>50	258(16.1)	参照		117(7.3)	参照	
<51	282(21.1)	1.45(1.20~1.75)	<0.01	117(8.8)	1.25(0.95~1.64)	0.11
涂片						
阴性	205(19.2)	参照		96(9.0)	参照	
阳性	294(17.8)	0.84(0.68~1.04)	0.10	115(6.9)	0.74(0.55~0.99)	0.05
未知	41(19.4)	0.81(0.54~1.20)	0.29	23(10.9)	0.84(0.50~1.40)	0.50
治疗史						
初诊	446(17.3)	参照		190(7.4)	参照	
复诊	94(25.8)	1.74(1.34~2.26)	<0.01	44(12.1)	1.66(1.16~2.38)	<0.01
区域						
乡村	310(16.6)	参照		128(6.9)	参照	
城市	230(21.3)	1.41(1.16~1.73)	<0.01	106(9.8)	1.61(1.21~2.15)	<0.01
检测年限(年)						
2019	183(21.1)	参照		110(12.7)	参照	
2020	138(15.1)	0.66(0.52~0.85)	<0.01	45(4.9)	0.36(0.25~0.52)	<0.01
2021	219(18.9)	0.91(0.73~1.15)	0.43	79(6.8)	0.53(0.39~0.73)	<0.01

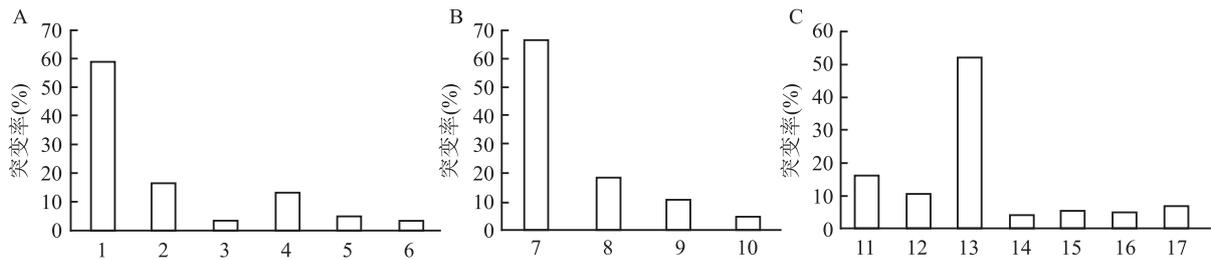


图2 结核分枝杆菌基因耐药相关突变率

A: SM 耐药突变率; B: EMB 耐药突变率; C: SM、EMB 同时耐药突变率; 1: rpsL 43; 2: rpsL 88; 3: rrs 513~517; 4: rrs 905~908; 5: rpsL 43 联合 rrs 905~908; 6: rpsL 88 联合 rrs 905~908; 7: embB 306; 8: embB 406; 9: embB 497; 10: embB 368/378/380; 11: rpsL 88 联合 embB 406; 12: rpsL 43 联合 embB 497; 13: rpsL 43 联合 embB 306; 14: rrs 513~517 联合 embB 306; 15: rpsL 88、rrs 905~908 联合 embB 406; 16: rpsL 43 联合 embB 406; 17: rpsL 88 联合 embB 406

EMB 同时耐药的分子模式,主要是 rpsL 43 联合 embB 306, rpsL 88 联合 embB 497, rpsL 43 联合 embB 406 和 rpsL 88 联合 embB 306,分别占全部突变模式的 52.1%、16.0%、10.5% 和 6.8%。见图 2。

3 讨论

本研究揭示了该地区高风险人群 SM 和 EMB 耐药模式及耐药相关的危险因素。该地区 SM 和 EMB 耐药率分别是 18.4% 和 8.0%, 低于青海省的 40.9% 和 30.3%^[6], 而高于山东省的 14.7% 和 2.6%^[7]。2019—2021 年期间 SM-R 和 EMB-R 的检出率均有下降趋势。这说明近几年来该地区在结核病督导短程化疗 DOTS 战略上的总体布局是有成效的。

第 5 次结核耐药的全国调查报告显示,初诊病例 SM 和 EMB 的耐药率分别为 27.7% 和 4.9%, 复治病例耐药率分别是 37.2%、17.2%^[8], 而在该地区 SM 和 EMB 的初诊耐药率分别是 17.3% 和 7.4%, 复诊耐药率则是 25.8% 和 12.1%。该地区初诊耐药率从 2019—2021 年有下降趋势,但初诊群体中 EMB 的耐药率依旧高于全国水平,说明仍需要通过加强结核患者的管理,降低耐药率。该地区复诊耐药率明显高于初诊个体,且近 3 年来 SM-R 检出率呈现升高趋势(25.0%、19.4%、32.0%), 提示该研究仍需要加强服药依从性宣传及管理,另外由于 MTB 药敏结果耗时较长,临床对于结核患者的初期治疗更加依赖于经验性用药,这也在一定程度上增加了结核杆菌的获得性耐药,因此基层地区急需

要更快速、更准确的药敏检测手段辅助临床精准抗结核。

乡村 HRM 检出率却远低于城市,这可能是由于医疗水平的差异,乡村在对高风险结核病例的初筛的确定性上有待进一步考证。城镇群体 SM 和 EMB 耐药率均高于乡村,这说明城市是耐药结核的高负担地区。结核是聚集性传染病,特别容易在高密度人群中播散。而城市人口密度相对较大,流动性强,而且因为医疗水平等差异可能会使得疑难、复杂结核感染病例更加向城市集中。另外据研究^[9]表明,高精神压力和低身体质量指数是结核感染的独立危险因素。

虽然该地痰涂阴性群体的 SM 及 EMB 耐药率均高于痰涂阳性群体,但只有 EMB-R 在痰涂阳性和痰涂阴性群体之间差异显著,多因素回归模型中痰涂阴性对结核耐药风险增加的 OR 值比较接近于 1,所以痰涂结果是否作为结核耐药的危险因素,还有待在扩大标本量且排除抽样偏倚等因素下进一步考证。

多因素回归模型显示,男性、结核治疗史、年龄 <51 岁及城市分布均是导致 SM-R 及 EMB-R 风险增加的因素。有学者表示结核耐药风险与性别密切相关^[10],有报道^[11]则称结核耐药与性别无关。在该研究中,虽然男性对 SM 和 EMB 的耐药率均高于女性,但其耐药差异均无统计学意义,因此,性别是否能使结核耐药风险增加,还需要进一步实验数据的支持。SM 和 EMB 耐药率均出现在年轻的群体中 (SM-R 31 ~ 35 岁, EMB-R 21 ~ 25 岁),年龄 <51 岁群体耐药率高于年龄 >50 岁的群体,且年龄 <51 岁对 SM-R 和 EMB-R 的检出均是危险因素,这与之前的研究^[12]一致,但与安徽省及台湾地区的耐药性的年龄类别不一致^[11,13],这说明通常被认为是低危人群的年轻人可能需要额外的耐药结核检测。该研究中由于年龄 <15 岁和年龄 >85 岁群体的结核耐药性数据过少,该课题组将在今后的研究中进一步探究。

该地区 SM 耐药机制复杂,其主要是 rpsL 43 和 rpsL 88 突变引起的,其次是 rrs 905 ~ 908,这与国内其他地方的报道^[14]相似,另外还有部分 SM-R 是由 rpsL 联合 rrs 突变引起,尤其是集中在 rpsL 43、88 位密码子和 rrs 905 ~ 908 位点的联合突变。临床上通常将 embB 306 作为 EMB 耐药诊断标志物。在该地引起 EMB-R 的分子基础主要是 embB 306 和 embB 406 的单基因突变,这与一些研究^[15-16]结果相似。

了解和阻断 rpsL 43、rpsL 48、rrs 905 ~ 908 和 embB 306 的突变规律及传播机制,对于阻止结核耐药的发生及扩散都是十分重要且必须的。

该研究是首次较大范围揭示该地区结核耐药的分子基础,可为后期探究耐药结核的分子生物标志或者基因筛选提供初始数据,另外对该地区结核病尤其是耐药结核病的防治具有重要意义。研究未通过基因测序来进一步确认 HRM 检测到的单个核苷酸突变多态性或耐药相关的多个突变的准确性,该课题组会在今后的研究中继续探明。

参考文献

- [1] Drain P K, Bajema K L, Dowdy D, et al. Incipient and subclinical tuberculosis; a clinical review of early stages and progression of infection[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31(4): e00021-18.
- [2] Chakaya J, Khan M, Ntoumi F, et al. Global tuberculosis report 2020 - reflections on the global TB burden, treatment and prevention efforts[J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 113 Suppl 1 (Suppl 1): S7-12.
- [3] 孔伟伟,邢应如,胡万发,等. 耐药结核分枝杆菌与耐药基因突变的相关性分析[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(2): 329-32.
- [4] Hameed H M A, Islam M M, Chhotaray C, et al. Molecular targets related drug resistance mechanisms in MDR-, XDR-, and TDR-*Mycobacterium tuberculosis* strains[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8:114.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 结核病分类 (WS196—2017)[J]. *新发传染病电子杂志*, 2018, 3(3): 191-2.
- [6] 申秀丽. 青海高原结核分枝杆菌耐药特征研究[D]. 西宁:青海大学, 2018.
- [7] He X, Zhang X, Zhao J, et al. Epidemiological trends of drug-resistant tuberculosis in China from 2007 to 2014[J]. *Medicine*, 2016, 95(15): e3336.
- [8] Zhao Y L, Xu S F, Wang L X, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(23): 2161-70.
- [9] Li X X, Lu W, Zu R Q, et al. Comparing risk factors for primary multidrug-resistant tuberculosis and primary drug-susceptible tuberculosis in Jiangsu province, China; a matched-pairs case-control study[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2015, 92(2): 280-5.
- [10] Seifert M, Aung H T, Besler N, et al. Age and sex distribution of *Mycobacterium tuberculosis* infection and rifampicin resistance in Myanmar as detected by Xpert MTB/RIF[J]. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1): 781.
- [11] 徐东芳,王庆,李擎,等. 安徽省 420 株结核分枝杆菌对一线和二线抗结核药物药敏结果分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(1): 54-7.
- [12] Liu Q, Zhu L, Shao Y, et al. Rates and risk factors for drug resistance tuberculosis in northeastern China[J]. *BMC Public Health*, 2018, 18(1): 1-10.

- Health, 2013, 13(1): 1171.
- [13] Chuang P H, Wu M H, Fan S Y, et al. Population-based drug resistance surveillance of multidrug-resistant tuberculosis in Taiwan, 2007–2014[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0165222.
- [14] Zhao L L, Chen Y, Chen Z N, et al. Prevalence and molecular characteristics of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Hunan, China[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(6): 3475–80.
- [15] Shi D W, Li L, Zhao Y L, et al. Characteristics of embB mutations in multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Henan, China[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(10): 2240–7.
- [16] Li Y, Wang Y, Zhang Z, et al. Association between embB Codon 306 mutations, phenotypic resistance profiles and genotypic characterization in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Hebei, China[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(12): 7295–302.

Distribution characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* and streptomycin and ethambutol resistance patterns by high-resolution melt analysis

Guo Tengfei¹, Wang Zhenzhen^{1,2}, Hou Yi³, Zhao Zhanqin⁴, Zu Xiangyang², Jiang Tao¹, Xue Yun²

(¹College of Clinical Medicine, Henan University of Science and Technology, Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000; ²College of Medical Technology and Engineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000; ³Luoyang Center for Disease Control and Prevention, Luoyang 471000; ⁴Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000)

Abstract Objective To study the resistance pattern of streptomycin and ethambutol in *Mycobacterium tuberculosis* in Luoyang area, guide clinical medication and supplement epidemiological data on local drug-resistant tuberculosis. **Methods** The positive results of high-resolution melting curve (HRM) in 2 941 cases in Luoyang area were analyzed to assess the risk factors associated with streptomycin and ethambutol resistance. **Results** Of the 2 941 HRM-positive patients, 18.4% were resistant to streptomycin and 8.0% were ethambutol. Both streptomycin and ethambutol and resistance rates were higher in men than those in women (19.0% vs 16.9%, $P=0.129$; 8.0% vs 7.9%, $P=0.987$). The resistance rates to streptomycin and ethambutol were higher in urban than those in rural areas (21.3% vs 16.6%, $P=0.002$; 9.8% vs 6.9%, $P=0.004$). The resistance rate was much higher in previously treated patients than those newly diagnosed for MTB infection (25.8% vs 17.3%, $P<0.001$; 12.1% vs 7.4%, $P=0.002$). The resistance rates to streptomycin were higher in the <51 years than those in the >50 years group (21.1% vs 16.1%, $P<0.001$). According to age, the highest resistance rates to streptomycin and ethambutol occurred in the age range of 31–35 years and 56–60 years in men, respectively, while in the age range of 21–25 years and 56–60 years in women, respectively. In multivariate models, prior treatment history, age less than 51 years, and urban area were positively associated with streptomycin and ethambutol resistance after adjusting for smear results and year testing. **Conclusion** Men, prior treatment history, age less than 51 years, and urban residents are key monitoring targets for streptomycin and ethambutol resistant tuberculosis.

Key words *Mycobacterium tuberculosis*; resistance patterns; molecular resistance; streptomycin; ethambutol