

2018—2020 年四川省自贡市耐药结核分枝杆菌分子流行病学分析

唐静¹, 王斌², 龙莹¹, 汪川¹, 罗睿心², 邓建平²

1. 四川大学华西公共卫生学院(华西第四医院), 四川 成都 610041; 2. 自贡市疾病预防控制中心

摘要:目的 探究 2018—2020 年自贡市耐药结核分枝杆菌的聚类情况, 分析菌株之间的亲缘关系, 推测不同病人中分离的耐药菌株之间是否存在潜在的相关性, 为自贡市耐药结核病的防治提供参考依据。方法 以 2018—2020 年自贡市结核病定点医院分离得到的 120 株耐药结核分枝杆菌菌株为研究对象, 采用标准 MIRU - VNTR 12 位点法进行分型研究。用 PCR 和琼脂糖凝胶电泳对扩增产物的条带大小进行分析, 获得菌株不同位点的重复次数; 将数据导入到 MIRU - VNTRplus 数据库和 SITVIT2 网站, 构建系统发育树图和最小生成树, 并对分离得到的菌株进行全球来源分析; 通过位点多态性分析, 评价 12 位点法的分辨能力; 通过计算成簇率和近期传播率, 分析当地耐药结核病的流行和传播情况。结果 MIRU - VNTR 标准 12 位点分型的总体分辨力 HGI 指数为 0.974, MIRU26 和 MIRU31 呈现高多态性, MIRU10、MIRU16、MIRU39 和 MIRU40 呈现中等多态性, 其余位点呈现低多态性。重复次数最集中的位点是 MIRU2, 最为分散的位点是 MIRU26。120 株耐药菌株包含 77 个基因型, 成簇率为 46.67%, 近期传播率为 34.17%。最小生成树显示 120 株耐药菌株根据 VNTR 分型结果可以分成三个克隆复合体 CC1、CC2 和 CC3。120 份菌株中有 32 株菌的 12 个基因型可以在 SITVIT2 网站中找到相应的 12MIT 编号, 12 个基因型分布于全球五个洲 14 个国家。结论 标准 VNTR - 12 位点法对于耐药结核菌株有较好的分辨力, 自贡市的耐药结核病存在一定的传播范围, 近期传播率较高, 针对性的监测有助于结核病的防治。

关键词: 自贡市; 耐药结核分枝杆菌; 分子流行病学

中图分类号: R521 文献标志码: A 文章编号: 1003 - 8507(2024)08 - 1493 - 06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202311202

Molecular epidemiological analyses of drug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Zigong City, 2018 - 2020

TANG Jing*, WANG Bin, LONG Ying, WANG Chuan, LUO Rui - xin, DENG Jian - ping

* West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: Objective To explore the clustering of drug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in Zigong from 2018 to 2020, analyze the genetic relationship between strains, and speculate whether there is a potential correlation between drug - resistant strains isolated from different patients, so as to provide a reference for the prevention and treatment of drug - resistant tuberculosis in Zigong. **Methods** The drug - resistant MTB strains isolated from Zigong from 2018 to 2020 were used as the research objects and the standard MIRU - VNTR 12 - loci method was used for typing study. The band sizes of the amplified products were analyzed by PCR and agarose gel electrophoresis to obtain the number of replicates of different loci of the strains. The data were imported into the MIRU - VNTRplus database and the SITVIT2 website to construct the phylogenetic tree diagrams and the minimum spanning trees, and the global source analysis of the isolated strains was performed. The discriminatory ability of the 12 - locus method was evaluated by locus polymorphism analysis, and the local prevalence and transmission of drug - resistant TB were analyzed by calculating the cluster formation rate and recent transmission rate. **Results**

The overall resolution HGI index of MIRU - VNTR standard 12 - loci typing was 0.974. MIRU26 and MIRU31 showed high polymorphism; MIRU10, MIRU16, MIRU39, and MIRU40 showed moderate polymorphism, and the remaining loci showed low polymorphism. The most concentrated locus was MIRU2, and the most dispersed locus was MIRU26. The 120 drug - resistant strains contained 77 genotypes, with a clustering rate of 46.67% and a recent transmission rate of 34.17%. The

基金项目: 成都市科技局重大应用示范项目(2022 - YF09 - 00011 - SN)

作者简介: 唐静(2000—), 女, 硕士在读, 研究方向: 疾病防控实验技术与应用

通信作者: 汪川, E - mail: wangchuan@scu.edu.cn

minimum spanning tree showed that 120 drug-resistant strains could be divided into three clonal complexes, CC1, CC2, and CC3, according to the VNTR typing results. Among the 120 valid strains, 12 genotypes of 32 strains could be found on the SITVIT2 website, and the corresponding 12 MIT numbers were distributed in 14 countries on five continents worldwide.

Conclusion The standard VNTR-12 locus method resolves drug-resistant tuberculosis strains well. There is a certain range of transmission of drug-resistant TB in Zigong, and the recent transmission rate is high, targeted surveillance is helpful in the prevention and control of tuberculosis.

Keywords: Zigong City; Drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*; Molecular epidemiology

结核病 (tuberculosis, TB) 是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium Tuberculosis*, MTB) 引起的慢性呼吸道传染病, 是全球和我国公共卫生面临的重大挑战之一。根据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 发布的《2022 年全球结核病报告》, 我国 2021 年估算的结核病新发患者数在 30 个结核病高负担国家中排第 3 位^[1]。WHO 提出的终止结核病战略的愿景是在 2015 年的基础上, 到 2035 年实现结核病死亡率下降 95%, 发病率下降 90%, 不再因结核病对家庭造成灾难性支出^[2], 但是耐药结核病, 特别是耐多药结核病和广泛耐药结核病的出现和广泛传播, 成为了实现这一目标的主要障碍^[3]。

结核分枝杆菌基因分型在确定患者感染类型和追踪结核传播方面具有重要作用, 有助于对结核传播进行分类、治疗和控制^[4]。目前, 多种分子分型方法被用于 MTB 分型, IS6110 限制性片段长度多态性 (Insertion Sequences 6110 - Restricted Fragment Length Polymorphism, IS6110 - RFLP) 分析被公认为确定 MTB 亚种最可靠的结核病流行病学分析方法^[5]。然而, IS6110 - RFLP 技术有一些局限性, 例如需要大量的高质量 DNA、步骤繁琐、技术要求高等。串联重复序列可变数目分型 (Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit - Variable Number Tandem Repeat Typing, MIRU - VNTR) 是一种新的基于 PCR 的分型方法, 通过扩增结核分枝杆菌基因组中的插入重复序列来确定每个基因座的大小和重复数。其操作简单、成本经济、结果可重复和鉴别力高, 因而近年来广泛应用于结核菌基因分型^[6], 并且该方法得到的数字结果可以在实验室之间直接和可靠地进行比较, 从而可基于互联网构建用于大规模流行病学和群体遗传研究的全球数据库^[7]。

四川省近几年肺结核报告发病率位于我国前列^[8], 结核病防控问题十分严峻。自贡市地处成渝地区双城经济圈建设南翼、川南城市群中心, 截至 2022 年末, 全市常住人口 245.2 万人。同时, 自贡市近 5 年的结核病报告发病率均处于全省的中间水平, 选择自贡市作为研究对象可以较好地反映四川省结核病整体情况。本研究以自贡市 2018—2020 年临床分离得到的耐药结核分枝杆菌菌株为研究对象, 对其进行

VNTR-12 位点分型, 通过基因型探究菌株的聚类情况, 分析菌株之间的亲缘关系, 推测不同病人来源的耐药菌株之间是否存在潜在的相关性, 为自贡市耐药结核病的防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 菌株标准 菌株 H37Rv 来源于四川省疾病预防控制中心。120 株耐药结核分枝杆菌临床分离株来源于自贡市各区县定点医院 (自贡市第一人民医院、自贡市第三人民医院、荣县人民医院和富顺县人民医院), 从病人的痰液中分离培养得到, 保存于自贡市疾病预防控制中心。

1.2 主要试剂与仪器 NaCl、Tris、EDTA、绿色荧光核酸染料 (北京索莱宝科技有限公司); 冰乙酸 (重庆川东化工集团有限公司); 琼脂糖 (BIOWEST); 2x Taq PCR mix、100 bp marker、Marker I (康为世纪生物科技股份有限公司); 药敏罗氏培养基 (珠海贝索生物技术有限公司); 普通 PCR 仪 (SENSO); 电泳仪、凝胶成像仪 (BIO - RAD); 超声破碎仪 (Elmasonic S 30); 离心机 (Eppendorf)。

1.3 方法

1.3.1 耐药菌株鉴定 对临床分离菌株进行比例法药敏试验判定为耐药的菌株, 即计算耐药百分比 (含药培养基上生长的菌落数/对照培养基上生长的菌落数 $\times 100\%$), 结果 $> 1\%$ 就认为该菌对于该种药物耐药。

1.3.2 DNA 提取 采用金属浴和超声破碎的方法, 提取菌株的基因组 DNA。吸取 500 μl 的超纯水于 EP 管中, 然后用接种环刮取培养基上的耐药结核分枝杆菌菌落 2~3 环于 EP 管中, 置于金属浴中于 98 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min, 结束后将 EP 管放入超声破碎仪中超声 15 min, 最后将 EP 管转至离心机中 13 400 g 离心 3 min, 吸取上清液 400 μl 作为样本 DNA 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.3 PCR 扩增 配制 PCR 反应体系, PCR 扩增条件为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。将 PCR 产物在 250 V 电泳 30 min, 电泳结束后进行紫外成像。MIRU - VNTR 12 位点引物序列见表 1。

表 1 MIRU - VNTR 12 位点引物序列

Table 1 MIRU - VNTR 12 - locus primer sequences

位点	引物序列 (5' - 3')	H37Rv 产物大小 (bp)
MIRU2	F: TGGACTTGCAGCAATGGACCAACT R: TACTCGGACGCCGGCTCAAAT	508
MIRU4	F: GCGCGAGAGCCCGAACTGC R: GCGCAGCAGAAACGTCAGC	353
MIRU10	F: GTTCTTGACCAACTGCGATCGTCC R: GCCACCTTGGTGATCAGCTACCT	643
MIRU16	F: TCGGTGATCGGGTCCAGTCCAAGTA R: CCCGTCGTGCAGCCCTGGTAC	671
MIRU20	F: GCCCTTCGAGTTAGTATCGTCGGTT R: CAATCACCGTTACATCGACGTCATC	375
MIRU23	F: CTGTCGATGGCCGAACAAAACG R: AGCTCAACGGTTCGCCCTTTTGTC	465
MIRU24	F: CGACCAAGATGTGCAGGAATACAT R: GGGCGAGTTGAGCTCACAGAA	447
MIRU26	F: TAGGTCTACCGTCGAAATCTGTGAC R: CATAGGCGACCAGGCGAATAG	438
MIRU27	F: TCGAAAGCCTCTGCGTGCCACTAA R: GCGATGTGAGCGTCCACTCAA	657
MIRU31	F: ACTGATTGGCTTCATACGGCTTTA R: CTGCCGACGTGCTTTGAT	651
MIRU39	F: CGCATCGACAACTGGAGCCAAAC R: CGGAAACGTCTACGCCCCACACAT	646
MIRU40	F: GGGTTGCTGGATGACAACGTGT R: GGGTGATCTCGCGAAATCAGATA	408

1.3.4 条带分析 根据 marker 对应的条带大小和产物长度对照表(表 2)判读并记录每个位点的重复单元数。

表 2 不同位点重复次数产物长度对照表(bp)

Table 2 Product length comparison of different site repetition times (bp)

重复次数	MIRU2	MIRU4	MIRU10	MIRU16	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	MIRU40
1	455	199	537	618	298	200	447	334	551	545	593	408
2	508	276	590	671	375	253	501	385	604	598	646	462
3	561	353	643	724	452	306	555	436	657	651	699	516
4	614	430	696	777	529	359	609	487	710	704	752	570
5	667	507	749	830	606	412	663	538	763	757	805	624
6	720	584	802	883	683	465	717	589	816	810	858	678
7	773	661	855	936	760	518	771	640	869	863	911	732
8	826	738	908	989	837	571	825	691	922	916	964	786
9	879	815	961	1 042	914	624	879	742	975	969	1 017	840
10	932	892	1 014	1 095	991	677	933	793	1 028	1 022	1 070	894

2 结果

2.1 一般情况 本研究共获得 120 株耐药结核分枝杆菌临床分离株,包括 6 株单耐利福平菌株、35 株单耐异烟肼菌株和 79 株耐多药菌株,120 株样本均成功进行了 VNTR - 12 位点分型。

2.2 菌株不同位点的重复次数分析 部分菌株的 MIRU26 位点重复次数琼脂糖凝胶电泳结果见图 1,不同 MIRU 位点不同重复次数的菌株数量分布见图

元数。

1.3.5 遗传多样性和亲缘性分析 将所有菌株 VNTR 位点的重复次数导入到 MIRU - VNTRplus 数据库 (<https://www.miru-vntrplus.org/MIRU/index>),采用非加权配对算术平均法(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, UPGMA)进行聚类分析获得系统发育树图,运用 iTOL (<http://itol.embl.de/>)对树状图进行美化。以 categorical 法计算相似性系数,构建最小生成树。同时将 MIRU - VNTR 结果上传至 SITVIT2 网站(<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2>),对分离得到的菌株进行全球来源分析。

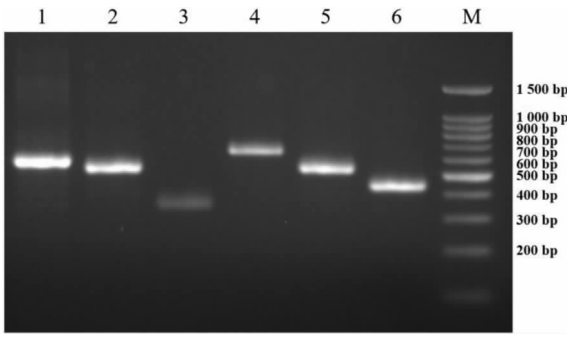
1.3.6 成簇性分析 两个或两个以上菌株具有完全相同的 MIRU - VNTR 图谱,即被认为是成簇菌株,成簇率 = 成簇菌株数/总菌株数。近期传播率 = (成簇菌株总数 - 成簇基因型数)/菌株总数 × 100%。

1.3.7 位点分辨力和分辨力指数(Hunter - Gaston Index, HGI) 根据 Hunter 和 Gaston 用于描述分型方法分辨指数的公式^[9]计算不同 MIRU 位点的 HGI 值。各 VNTR 位点的分辨率和总分辨率用 Hunter - Gaston 指数表示。

1.3.8 位点多态性分析 对于 MIRU - VNTR 位点: HGI > 0.6 认为其具有高多态性,0.3 ≤ HGI ≤ 0.6 呈中等程度的多态性,HGI < 0.3 为低多态性。

2。MIRU2 是重复次数集中的位点,120 株耐药菌株中仅有一个单元重复次数“2”;MIRU26 是重复次数最为分散的位点,120 株耐药菌株中有 11 个重复单元次数。

2.3 遗传多样性和亲缘性分析 在 SITVIT2 网站对这 120 株菌株的 MIRU - VNTR 结果进行查询,其中有 32 株菌的 12 个基因型可以在网站中找到相应的 12MIT 编号,见下表 3。其余 88 株菌的基因型尚未在数据库中被定义,为新的基因型。在 MIRU - VNTR



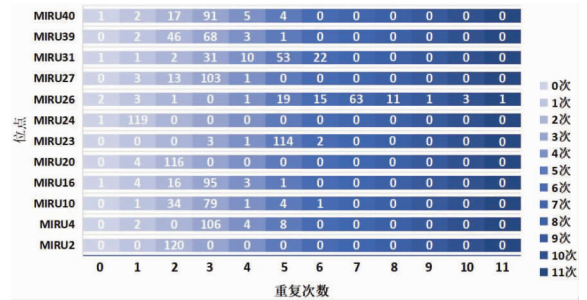
注:图中 M 为 DNA 100 bp marker,6 为标准菌株 H37Rv,1-5 为样本菌株,重复次数从左至右依次为 6、5、1、7、5。

图 1 部分菌株的 MIRU26 位点 PCR 扩增琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis results of PCR amplification of MIRU26 locus of some strains

plus 进行相应的聚类分析和最小生成树分析分别形成如图 3 和图 4 所示的系统发育树图和最小生成树。在最小生成树中,一个圈代表一个序列类型 (Sequence Typing, ST),圈的颜色深浅代表菌株数量的多少,圈之间连线上的数字代表两个 ST 之间相同

等位基因的数量,相同阴影下的圈属于同一个 ST 群。最小生成树显示 120 株菌根据 MIRU - VNTR 分型结果可以分成三个克隆复合体 CC1、CC3 和 CC3,其中 C1 复合体中包含的菌株数量最多(共包含 74 株菌),成簇号为 13 的菌株被认为是进化的起始菌株,位于复合体的中心。



注:图中蓝色色条由浅到深分别代表重复次数由 0 到 11,色条上的数字代表菌株数。

图 2 不同 MIRU 位点不同重复次数的菌株数量分布图

Fig. 2 Distribution of the number of strains with different MIRU sites and different repetition times

表 3 SITVIT2 网站分析结果

Table 3 SITVIT2 website analysis results

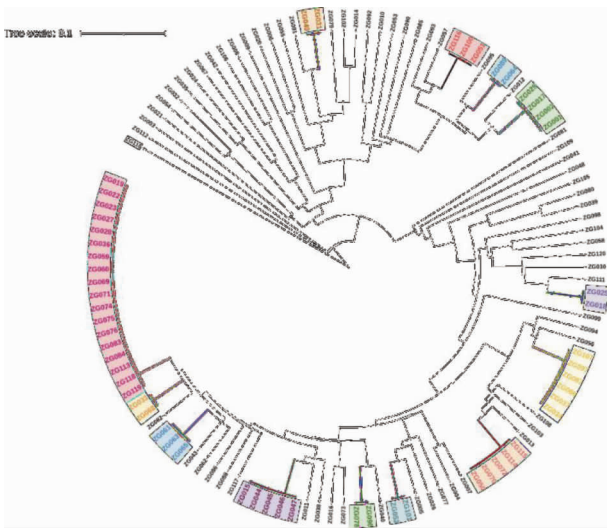
菌株编号	MIRU - VNTR 12 位点法	I2MIT	相同型别分布 ^a	相同型别基因家族	相同型别耐药类型 ^b
ZG079	242 325 152 322	106	AUS、CHN、GBR、SGP、USA、ZAF	T1、T2	0.1.2.3
ZG051	232 325 153 323	109	CHN、CAN、SGP	T3、H3	0.3
ZG100、ZG116、ZG057	232 325 153 324	1 109	CAN、CHN、COL、ESP、GBR	S、T1、T2	0.1.2.3
ZG088	233 325 173 532	1 137	JPN、SGP	Beijing	0.1
ZG091	232 325 153 322	1 161	COL	T1、H3	0.1.2.3
ZG007	233 325 172 433	1 421	CHN	Beijing、MANU2	2
ZG052	233 325 173 433	1 423	CHN	Beijing	2.3
ZG101、ZG005	233 225 173 433	1 433	CHN	Beijing	1.2.3
ZG094	233 325 173 523	1 468	CHN	Beijing	1
ZG111	233 225 173 533	1 492	CHN	Beijing、MANU2	1
ZG093	233 325 153 323	311	BGR、DOM、GBR、GUF、PAN、USA、ZAF	S、T1、H1	0.1.2
ZG019、ZG022、ZG023、ZG027、ZG028、ZG036、ZG059、ZG060、ZG069、ZG071、ZG074、ZG075、ZG076、ZG083、ZG084、ZG113、ZG118、ZG119	233 325 173 533	570	ESP、JPN、PAN、USA	Beijing	0.1

注:a. 国家缩写:AUS 澳大利亚、BGR 保加利亚、CAN 加拿大、CHN 中国、COL 哥伦比亚、DOM 多米尼加、ESP 西班牙、GBR 英国、GUF 法属圭亚那、JPN 日本、PAN 巴拿马、SGP 新加坡、USA 美国、ZAF 南非 b. 耐药类型:0 未知、1 敏感、2 MDR - TB、3 其他耐药类型。

2.4 成簇率分析 120 株耐药菌株的 MIRU 分型结果包含 77 个基因型(13 个基因簇和 64 个独立基因型),成簇率为 46.67% (56/120)。13 个成簇的基因簇中,含菌株数最多的一簇有 18 株菌。根据传播率计算公式计算出近期传播率为 34.17% (41/120)。分析成簇菌株的耐药表型,有些成簇的菌株其药敏谱即耐药表型也是相似的,如簇号 1、3 所包含菌株的耐药表型均为异烟肼(isoniazid, INH),簇号 5 所包含菌

株的耐药表型均为 INH、利福平(rifampicin, RIF)、链霉素(streptomycin, SM)、阿米卡星(amikacin, AMK);但簇号 2、4、6、7、8、11、13 所包含的菌株的耐药表型不完全相同,说明 MIRU - VNTR 基因型别的相似并不代表耐药表型也相似。

2.5 位点分辨力 HGI 值和多态性分析 MIRU - VNTR 12 位点法对菌株总的分辨力 HGI 值为 0.974。VNTR - 12 各个位点的分辨力 HGI 指数见表 4。其中



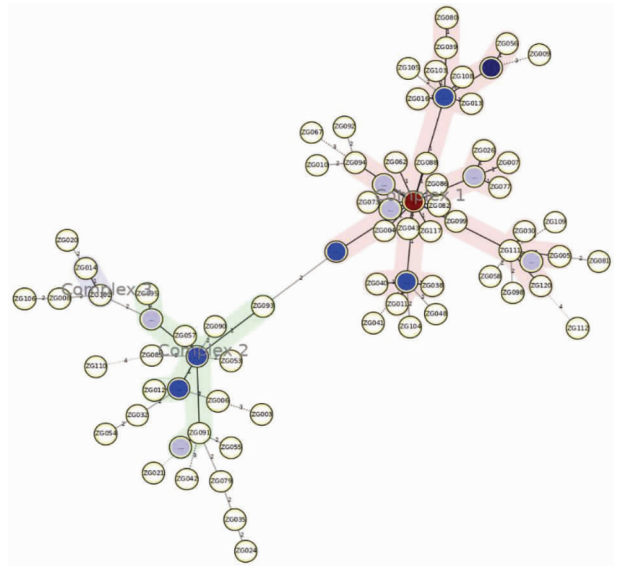
注:成簇菌株用相同颜色的彩色阴影标注。

图 3 120 株耐药结核分枝杆菌的 MIRU 分型系统发育树图

Fig. 3 Phylogenetic tree of MIRU typing of 120 strains of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

MIRU26 和 MIRU31 呈现高多态性, MIRU10、MIRU16、MIRU39 和 MIRU40 呈现中等多态性,其余位点即 MIRU2、MIRU4、MIRU20、MIRU23、MIRU24 和 MIRU27 呈现低多态性,其中, MIRU2 位点的重复

单元次数均为 2,未表现出多态性。



注:每一个圈代表一个 ST,圈的颜色深浅表示一个 ST 型中包含的菌株数量的多少,颜色越深包含菌株菌株数量越多,相邻圈线上的数字表示两种 ST 差异位点数量。

图 4 120 株耐药结核分枝杆菌 MIRU 分型最小生成树

Fig. 4 Minimum spanning tree of MIRU typing of 120 strains of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

表 4 不同位点的 HGI 值

Table 4 HGI values at different sites

位点名称	MIRU2	MIRU4	MIRU10	MIRU16	MIRU20	MIRU23	MIRU24	MIRU26	MIRU27	MIRU31	MIRU39	MIRU40
HGI	0.000	0.216	0.489	0.357	0.065	0.097	0.017	0.679	0.253	0.703	0.535	0.405

3 讨论

耐药结核病的治疗由于药物毒副作用大、疗程长、不良反应发生率高、治疗费用高,是结核病控制的沉重负担,可能导致患者治疗效果差或死亡,对患者身心健康及其家庭造成巨大损害。分子分型方法是监测控制结核病传播以及检测确认结核病暴发的有力辅助手段,对制定有效的感染控制政策具有重要价值。MIRU-VNTR12 位点法是一种基于重复序列的分子生物学技术,用于结核分枝杆菌分离株的不同 MIRU-VNTR 位点分型方法中, MIRU-VNTR 12 位点法是目前使用最广泛的方法,并且已在美国等国家范围内被整合到结核病控制系统中^[10]。MIRU-VNTR 基于结核分枝杆菌基因组中的短串联重复序列,这些序列在不同的菌株间会有不同的复制数目,因此可以用来区分不同的菌株。这种方法的优点在于,可以在许多不同的菌株中进行大规模和快速的分型,而且分辨率较高, MIRU-VNTR 12 位点法分型鉴别力接近 IS6110-RFLP 分型的鉴别力。因此, MIRU-VNTR 被广泛应用于结核病的流行病学研究

和监测,以了解疾病的传播模式和菌株的遗传变异。

本研究选择了自贡市 2018 至 2020 年的 120 株耐药菌株进行分析, MIRU-VNTR 12 位点法分辨率 HGI 值为 0.974,与印度^[11]、伊朗^[12]、北京^[13]等研究的分辨率结果相符合。除了 MIRU02 外,其余 11 个位点均呈现出一定的多态性。其中, MIRU26 和 MIRU31 的 HGI 指数大于 0.6,呈现高多态性,而在自贡市对 2010 年菌株的分型研究中仅 MIRU26 呈现高多态性,但 MIRU31 的 HGI 为 0.592 也呈现较高的多态性位居第二^[14],提示近 5 年自贡市流行的结核分枝杆菌从基因型方面来说可能变化较小。

对这些菌株聚类分析可以发现,这 120 株耐药菌株的成簇率高达 45.83%,远高于同类型的其他研究,如宜昌(12.15%)^[15]、新疆(7.93%)^[16]。成簇率高反映了这些菌株存在一定的亲缘关系,可能是近期感染导致的。在本研究中近期传播率为 35%,高于同类型的其他研究^[17],反映自贡市的耐药菌株存在一定的传播范围,这些菌株来源的患者可能存在一定的空间交集,成簇菌株间是否存在流行病学关联还需进一步验证。

SITVIT2 分析结果显示,本次纳入的菌株中有 26.7% 的菌株可以在网站上找到相同型别的菌株数据,这些相同型别的菌株来自全球 14 个国家五个洲,包括 12 个型别,12 个型别中有 5 个型别只在中国被发现,有 4 个型别只在国外有所报道。由于这些数据的上传时间都在 2012 年以前,因此可以看出在最近 10 年的时间里,由于与欧美国家的贸易旅游往来增加,一些欧美国家的流行株也被引入国内^[18]。同时,从成簇菌株的耐药表型结果可见,同型别不同菌株的耐药情况是多样化的,说明 MIRU - VNTR 型别与耐药的的关系不大,仅靠分型结果还无法预测菌株的耐药类型。

本研究结果证实 MIRU - VNTR 分型是研究区域环境中耐药 MTB 遗传多样性的有效工具,发现自贡市的耐药结核病存在一定的传播范围,近期传播率较高,提示在之后的耐药病人管理上还需要采取进一步的措施。然而,这项研究样本量相对较小,今后的研究可以扩大样本量,将 MIRU - VNTR 分型方法与其他分型方法(如 spoligotype 和 IS6110 RFLP)相结合,有助于对正在研究的分离株进行更广泛的区分。综上,本研究对自贡市近年来耐药结核分枝杆菌的基因构成和流行情况进行了描述,VNTR - 12 “233325173533”型别为自贡市近年耐药菌株中为最主要的流行类型,同时也存在个别独立型的流行。建议在自贡市范围内加强对耐药结核菌株的监测和筛查工作,特别是针对 VNTR - 12 “233325173533”型别的菌株进行重点监测,与此同时积极共享关于耐药结核菌株的信息,加强地区间的卫生监测与防控合作。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2022 [EB/OL]. [2024 - 03 - 20]. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>.
- [2] Uplekar M, Weil D, Lonnroth K, et al. WHO's new end TB strategy[J]. Lancet, 2015, 385(9979): 1799 - 1801.
- [3] Liu DX, Huang F, Zhang GL, et al. Whole - genome sequencing for surveillance of tuberculosis drug resistance and determination of resistance level in China[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2022, 28(5): 731.e9 - 731.e15.
- [4] Munro - Rojas D, Fernandez - Morales E, Zarrabal - Meza J, et al. Genetic diversity of drug and multidrug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* circulating in Veracruz, Mexico [J]. PLOS One, 2018, 13(3): e0193626.
- [5] Gonzalo - Asensio J, Pérez I, Aguiló N, et al. New insights into the transposition mechanisms of IS6110 and its dynamic distribution between *Mycobacterium tuberculosis* complex lineages [J]. PLOS Genetics, 2018, 14(4): e1007282.
- [6] Garzon - Chavez D, Garcia - Bereguain MA, Mora - Pinargote C, et al. Population structure and genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in Ecuador [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 6237.
- [7] Dezhkhi H, Farnia P, Haddadi A, et al. Characterization of clinical isolates of *Mycobacterium simiae* using drug susceptibility tests and molecular analyses[J]. Current Microbiology, 2021, 78(6): 2324 - 2331.
- [8] 王前,李涛,杜昕,等. 2015—2019 年全国肺结核报告发病情况分析[J]. 中国防痨杂志,2021,43(2):107 - 112.
Wang Q, Li T, Du X, et al. The analysis of national tuberculosis reported incidence and mortality [J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2021, 43(2): 107 - 112.
- [9] Shamebo T, Gumi B, Zewude A, et al. Molecular epidemiology and drug sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* in homeless individuals in the Addis Ababa city, Ethiopia [J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 21370.
- [10] Bakula Z, Marczak M, Bluszcz A, et al. Phylogenetic relationships of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Poland; The emergence of Beijing genotype among multidrug - resistant cases[J]. Frontiers in Cellular Infection Microbiology, 2023, 13:1161905.
- [11] Chawla K, Kumar A, Shenoy VP, et al. Strain diversity and relative transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in South coastal Karnataka, India[J]. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: the Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2018, 22(8): 878 - 883.
- [12] Asgharzadeh M, Kafil HS, Roudsary AA, et al. Tuberculosis transmission in Northwest of Iran: using MIRU - VNTR, ETR - VNTR and IS6110 - RFLP methods [J]. Infection Genetics and Evolution, 2011, 11(1): 124 - 131.
- [13] Zhang D, An J, Wang YF, et al. Genetic diversity of multidrug - resistant tuberculosis in a resource - limited region of China[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2014, 29: 7 - 11.
- [14] Liu HC, Deng JP, Dong HY, et al. Molecular typing characteristic and drug susceptibility analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Zigong, China [J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 6790985.
- [15] 李丹,胡晓红,徐新娟,等. 宜昌地区结核分枝杆菌北京基因型菌株的鉴定及 VNTR 分型[J]. 中国感染控制杂志,2022,21(3):232 - 238.
Li D, Hu XH, Xu XJ, et al. Identification and VNTR typing of Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Yichang area [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2022, 21(3): 232 - 238.
- [16] 邓炜. 新疆地区结核分枝杆菌基因型与耐药频度分布相关性研究[D]. 厦门:厦门大学,2019.
Deng W. Research of *Mycobacterium tuberculosis* complex genotyping and drug - resistance frequency distribution correlation in Xinjiang area [D]. Xiamen: Xiamen University, 2019.
- [17] 郭俊,陈军,周美兰,等. 武汉市耐多药结核分枝杆菌耐药基因突变特征分析[J]. 公共卫生与预防医学,2022,33(6):42 - 46.
Wu J, Chen J, Zhou ML, et al. Mutation characteristics of drug resistance genes in multidrug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Wuhan [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2022, 33(6): 42 - 46.
- [18] 魏淑贞,赵永,林建,等. 2017 - 2019 年福建省结核分枝杆菌分离株基因型特征及其耐药性分析[J]. 中国防痨杂志,2023,45(1):73 - 78.
Wei SZ, Zhao Y, Lin J, et al. Analysis of genotype characteristics and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Fujian Province from 2017 to 2019 [J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2023, 45(1): 73 - 78.