



中国防痨杂志
Chinese Journal of Antituberculosis
ISSN 1000-6621, CN 11-2761/R

《中国防痨杂志》网络首发论文

题目: 世界卫生组织《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录(第2版)》解读
作者: 裴少君, 欧喜超
DOI: 10.19982/j.issn.1000-6621.20230450
收稿日期: 2023-12-20
网络首发日期: 2024-01-18
引用格式: 裴少君, 欧喜超. 世界卫生组织《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录(第2版)》解读[J/OL]. 中国防痨杂志.
<https://doi.org/10.19982/j.issn.1000-6621.20230450>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

• 标准解读 •

世界卫生组织《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录（第2版）》解读

裴少君¹ 欧喜超²

基金项目：国家重点研发计划（2022YFC2305204）

作者单位：¹北京大学公共卫生学院全球卫生学系，北京 100191；²中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心国家结核病参比实验室，北京 102206

通信作者：欧喜超，Email: ouxc@chinacdc.cn



【摘要】 耐药结核病是 2035 年实现全球终结结核病流行目标的巨大障碍。世界卫生组织（World Health Organization, WHO）倡导采用快速分子药物敏感性检测技术进行耐药结核病早期诊断，而覆盖全面可靠的耐药检测靶标是提高分子药敏检测技术可靠性的关键。WHO 于 2023 年 11 月发布《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录（第 2 版）》，目的是基于更广泛的全球数据汇总形成更为全面准确的耐药相关基因突变目录，为开发与完善基于测序或其他方法的新型分子药物敏感性检测技术提供支持。本文对第 2 版目录相较于第 1 版目录在分析流程与耐药突变等内容的更新进行了详细的解读，并对未来目录完善的方向进行了展望。

【关键词】 分枝杆菌，结核；抗药性，细菌；微生物敏感性试验；基因；突变

doi: 10.19982/j.issn.1000-6621.20230450

【中图分类号】 R378.91; R446

Interpretation of the World Health Organization's *Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance* (2nd Edition)

Pei Shaojun¹, Ou Xichao². ¹School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China; ²National Tuberculosis Reference Laboratory, National Center for Tuberculosis Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: Ou Xichao, Email: ouxc@chinacdc.cn

【Abstract】 Drug-resistant tuberculosis is a major obstacle to the achievement of the End TB Strategy by 2035. The World Health Organization (WHO) promotes the use of rapid molecular drug susceptibility testing technology

for early diagnosis of drug-resistant tuberculosis. Covering comprehensive and reliable drug resistance-related mutations is the key to improving the reliability of molecular drug resistance diagnosis. WHO has released the second edition of the *Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance* in November 2023. This catalogue described more comprehensive and accurate drug-resistance-related gene mutations based on the largest collection of multinational *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates, so as to support the development and improvement of the molecular drug susceptibility testing technology. This article provides a detailed interpretation of the updates in the analysis process and drug-resistant mutations in the second edition of the catalogue compared with the first edition, and looks forward to the future direction of improving the catalogue.

【Key words】 *Mycobacterium tuberculosis*; Drug resistance, bacterial; Microbial sensitivity tests; Genes; Mutation

【Fund program】 National Key Research and Development Program (2022YFC2305204)

2022 年，全球估算新发结核病患者 1060 万例，其中，耐多药/利福平耐药结核病患者 45 万例^[1]。推广应用快速准确的药物敏感性试验（简称“药敏试验”）技术对于耐药结核病患者早期诊断具有重要临床意义。近些年，随着快速分子药敏检测技术的广泛应用，利福平耐药筛查率得到显著改善^[2]。2012 年，全球仅 7% 的病原学阳性结核病患者接受利福平耐药性检测^[3]；到 2022 年，病原学阳性结核病患者利福平耐药筛查率增加到 73%^[1]，并且在此期间，开展耐多药/利福平耐药治疗的患者从 77 321 例增加到 175 650 例，充分表明实验室诊断在指导结核病治疗决策中的核心作用^[1, 3]。世界卫生组织（World Health Organization, WHO）建议对所有结核病患者进行利福平和异烟肼耐药性检测，并且对耐多药/利福平耐药患者进行氟喹诺酮类（fluoroquinolones, FQs）药物耐药性检测^[4]。已有商品化的分子药敏检测试剂盒可以完成上述药物耐药性的检测^[5-6]，但目前尚缺乏能够快速诊断抗结核新药和再利用药物耐药性的分子检测技术^[7-9]。WHO 在 2023 年 7 月发布《应用新一代靶向测序技术检测耐药结核病：快速通告，2023》，推荐了几种基于靶向测序的耐药结核病分子诊断技术^[10]。新一代靶向测序技术可以通过对临床标本直接检测，实现对十几种抗结核药物耐药性的快速判定，但基于目前对部分二线抗结核药物尤其是新药的耐药分子机制仍然知之甚少，从而限制了靶向测序耐药检测技术的检测效能。

2021 年 WHO 发布第 1 版《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录》（以下简称《目录》），第 1 版《目录》包含高质量、全面的表型耐药相关基因突变列表及其置信度分级^[11]，但纳入菌株的地理区域代表性较差，且有关新药和再利用药物耐药相关基因突变的数据非常有限。因此，WHO 于 2023 年修订并发布《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录（第 2 版）》。新版《目录》包含约 52 000 株结核分枝杆菌的全基因组测序数据及表型药敏试验结果，纳入分析菌株数量较第 1 版增加 14 000 株，同时，修订的《目录》创建分析

方法，药物覆盖范围也更加全面，包括所有一线抗结核药物（利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺），以及 A 组（左氧氟沙星、莫西沙星、贝达喹啉、利奈唑胺）、B 组（氯法齐明）和 C 组（德拉马尼、阿米卡星、链霉素、乙硫异烟胺、丙硫异烟胺）二线药物。笔者重点从第 1、2 版《目录》差异入手，对《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录（第 2 版）》进行解读。

一、优化分析流程

第 2 版《目录》相较于第 1 版，提供了更加集中、高效、开源、可持续的分析流程，以减少未来《目录》更新的工作量。在第 1 版《目录》中，所有表型/基因型药敏试验数据和所有计算过程，均基于访问受限的学术高性能计算集群。在第 2 版《目录》中，所有数据和计算过程都转移到 WHO 监督的云服务器中，构建基于开源关系型数据库管理系统的样本标准数据库（GenPhenSQL），并将后续生物信息学处理及耐药相关性统计分级的分析流程存储在 Github 中（<https://github.com/GTB-tbsequencing/mutation-catalogue-2023>）。整个分析流程可移植到任何云服务器上运行，实现了数据的规范化管理与标准化分析。

（一）数据采集

第 1 版《目录》涵盖的菌株相关分析数据集主要来自出版物、CRyPTIC 联盟，以及各个国家为响应 WHO 全球结核病规划贡献的呼吁而直接提交的数据集。第 2 版《目录》在此基础上实现了与国家生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information, NCBI）或欧洲核苷酸档案馆数据库（European Nucleotide Archive, ENA）的同步更新，可以获取更多公开数据。因此，第 2 版《目录》纳入菌株数量更多，67 个国家贡献菌株数量大于 5 株，耐药菌株所占比例也有显著提升，尤其是新药及再利用药物耐药菌株。

（二）表型药敏数据

第 2 版《目录》对表型药敏试验结果的可信度进行了更细致分层。其根据 WHO 对不同药敏试验方法的认可程度，将表型药敏试验数据分为 8 个层级，前 3 个层级为使用 WHO 推荐试验方法得到的数据集（WHO 数据集）。第 1 层级包括根据最新 WHO 推荐的关键浓度^[5, 12]所得到的基于固体培养或者 MGIT 液体培养方法的药敏试验数据，以及以 1 mg/L 作为利福平关键浓度和以 0.4 mg/L 作为异烟肼关键浓度获得的显微镜观察药敏试验（MODS）数据^[13-14]；第 2 层级为基于低于之前 WHO 推荐的关键浓度，但高于当前 WHO 推荐的关键浓度获得的莫西沙星药敏试验数据^[15]；第 3 层级包括根据基于之前的 WHO 推荐的关键浓度所得到的基于固体培养或者 MGIT、BACTEC™ 460 液体培养方法的药敏试验数据；第 4 层级包括未标注所采用 WHO 推荐关键浓度版本的基于固体培养或者 MGIT、BACTEC™ 460 液体培养方法获得的药敏试验数据；第 5~8 层级为其他表型药敏试验方法获得的数据，包括基于微量肉汤稀释法的最小抑菌浓度（minimum inhibitory concentration, MIC）药敏试验等。这种分层方式能够创建更为标准化的数据集，为后续分析奠定基础。

（三）全基因组数据分析方法

第 2 版《目录》对全基因组测序数据分析方法进行了更新，采用 Freebayes 识别小于 15 bp 的变异，并加入 delly 识别大片段缺失，可获得更为全面和准确的变异列表。保留等位基因频率≥75%（第 1 版为 90%）的变异进行后续关联分析，同时，对等位基因频率阈值下调到 25%进行额外评估，有助于探究异质性耐药对药敏试验结果的影响。除此之外，第 2 版《目录》采用人类基因组变异协会命名法对变异进行了规范化注释。

（四）基因突变耐药关联分级方法

第 2 版《目录》补充完善基因突变与耐药相关性分级方法，扩充了候选耐药基因，并规范了其上游/增强子序列的范围。第 1 版《目录》仅包括了 49 个候选耐药基因，第 2 版《目录》扩充到 68 个，增加的基因包括参与甘油代谢的 *glpK*，以及参与类固醇和有机酸代谢的 *Rv1129c* 等，部分基因从第 1 版《目录》候选基因中移除，例如，*fprA* 及 *aftB* 从阿米卡星的第 2 层级耐药候选基因中移除。第 1 版《目录》中候选耐药突变的范围包括各个耐药候选基因及其上游 100 bp 的范围，第 2 版《目录》中对每个基因的上游区域都进行了定义。第 2 版《目录》进一步完善“附加分级规则”。例如，修订了功能缺失突变的定义，将框内突变从功能缺失突变中移除；将交叉耐药性加入附加规则中，*Rv0678* 和 *pepQ* 突变会导致贝达喹啉和氯法齐明交叉耐药，*fabG1* 和 *inhA* 突变会导致乙硫异烟胺和异烟肼交叉耐药（表 1）。第 2 版《目录》修改了第 4/5 组（可能与敏感相关的突变）算法，仅将在 WHO 数据集中，突变单独发生时的阳性预测值 95%置信区间上限小于 10%的突变列为第 4/5 组，将不满足上述要求的同义突变也归为第 4 组。

表 1 世界卫生组织《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录（第 2 版）》基因突变与耐药相关性分级候选耐药基因

药物	第 1 层级候选基因	第 2 层级候选基因
异烟肼	<i>inhA</i> (<i>Rv1484</i>) , <i>katG</i> (<i>Rv1908c</i>), <i>ahpC</i> (<i>Rv2428</i>), <i>f</i> <i>abG1</i> (<i>Rv1483</i>), <i>furA</i> (<i>Rv1909c</i>)	<i>mslA</i> (<i>Rv0486</i>), <i>Rv1258c</i> , <i>ndh</i> (<i>Rv1854c</i>), <i>Rv2752c</i> , <i>dnaA</i> (<i>Rv0001</i>), <i>Rv0010c</i> , <i>hadA</i> (<i>Rv0635</i>), <i>Rv1129c</i> , <i>glpK</i> (<i>Rv36</i> <i>96c</i>)
利福平	<i>rpoB</i> (<i>Rv0667</i>)	<i>rpoA</i> (<i>Rv3457c</i>), <i>rpoC</i> (<i>Rv0668</i>), <i>Rv2752c</i> , <i>nusG</i> (<i>Rv0639</i>), <i>Rv1129c</i> , <i>Rv2477c</i> , <i>lpqB</i> (<i>Rv3244c</i>), <i>mtrB</i> (<i>Rv3245c</i>), <i>mtrA</i> (<i>Rv3246c</i>), <i>glpK</i>
乙胺丁醇	<i>embA</i> (<i>Rv3794</i>), <i>embB</i> (<i>Rv3795</i>), <i>embC</i> (<i>Rv3793</i>), <i>aftA</i> (<i>Rv3792</i>), <i>ubiA</i> (<i>Rv3806c</i>)	<i>embR</i> (<i>Rv1267c</i>), <i>Rv2477c</i> , <i>Rv2752c</i> , <i>glpK</i> , <i>aftB</i>
吡嗪酰胺	<i>pncA</i> (<i>Rv2043c</i>), <i>c1pC1</i> (<i>Rv3596c</i>) <i>, panD</i> (<i>Rv3601c</i>)	<i>Rv1258c</i> , <i>PPE35</i> (<i>Rv1918c</i>), <i>Rv3236c</i> , <i>rpsA</i> (<i>Rv1630</i>), <i>sigE</i> (<i>Rv1221</i>)

氟喹诺酮类	<i>gyrB</i> (Rv0005), <i>gyrA</i> (Rv0006)	<u><i>Rv1129c</i></u> , <u><i>Rv2477c</i></u> , <u><i>Rv2752c</i></u> , <u><i>glpK</i></u>
贝达喹啉	<i>mmpL5</i> (Rv0676c), <i>mmpS5</i> (<i>Rv0677c</i>), <i>Rv0678</i> , <i>atpE</i> (Rv1305) , <i>pepQ</i> (Rv2535c)	<i>Rv1979c</i> , <u><i>lpqB</i></u> , <u><i>mtrB</i></u> , <u><i>mtrA</i></u>
利奈唑胺	<i>rp1C</i> (Rv0701), <i>rrl</i> (MTB000020)	<u><i>tsnR</i></u> (Rv1644)
氯法齐明	<i>mmpL5</i> , <i>mmpS5</i> , <i>Rv0678</i> , <i>pepQ</i> , <u><i>Rv1979c</i></u>	<u><i>fgd1</i></u> (Rv0407), <u><i>fbiC</i></u> (Rv1173), <u><i>Rv2983</i></u> , <u><i>fbiA</i></u> (Rv3261), <u><i>fbiB</i></u> (Rv3262)
德拉马尼	<i>fgd1</i> , <i>ddn</i> (Rv3547), <i>fbiC</i> , <i>Rv2983</i> , <i>fbiA</i> , <i>fbiB</i>	<u><i>ndh</i></u>
阿米卡星	<i>rrs</i> (MTB000019), <i>eis</i> (<i>Rv2416c</i>), <i>whiB7</i> (Rv3197A)	<i>ccsA</i> (Rv0529), <i>whiB6</i> (Rv3862c), <u><i>bacA</i></u> (Rv1819c), <u><i>Rv2477c</i></u> , - <i>fprA</i> , <i>aftB</i>
链霉素	<i>rpsL</i> (Rv0682), <i>Rv1258c</i> , <i>rrs</i> , <i>whiB7</i> , <i>gid</i> (Rv3919c)	<u><i>bacA</i></u> , <u><i>Rv2477c</i></u> , <u><i>glpK</i></u> , <i>whiB6</i>
乙硫异烟胺	<i>inhA</i> , <i>ethA</i> (Rv3854c), <u><i>mshA</i></u> , <u><i>fabG1</i></u>	<i>ndh</i> , <i>Rv3083</i> , <i>ethR</i> (Rv3855), <u><i>Rv0565c</i></u>
卡那霉素	<i>rrs</i> , <i>eis</i> , <i>whiB7</i>	<i>ccsA</i> , <i>bacA</i> , <u><i>Rv2477c</i></u> , <i>whiB6</i>
卷曲霉素	<i>rrs</i> , <i>tlyA</i> (Rv1694)	<i>whiB6</i> , <i>ccsA</i> , <u><i>rrl</i></u> , <u><i>bacA</i></u> , <u><i>Rv2680</i></u> , <u><i>Rv2681</i></u> , <i>fprA</i> , <i>aftB</i>

注 表中下划线表示第 2 版目录中新增的基因；波浪下划线表示由第 1 版目录二层级基因上升到第 2 版目录一级基因；删除线表示第 2 版目录移除的基因

二、更新耐药基因突变目录

（一）基因突变及其分级列表

第 2 版《目录》共有 246 个 1 组（与耐药相关）突变，其中，包括 53 个第 1 版的 2 组突变及 18 个第 1 版的 3 组突变，另有 8 个突变未出现在第 1 版《目录》。第 2 版《目录》共有 1122 个 2 组（暂定与耐药相关）突变，包括 107 个第 1 版 3 组突变，126 个未在第 1 版《目录》中出现的突变。需要注意的是，第 1 版《目录》中有 13 个 1 组突变下调到了 2/3 组。此外，第 1 版《目录》的 106 个 2 组突变下调到第 3/4 组，主要是框内突变（表 2）。新药和再利用药物耐药相关基因突变显著增多，其中，贝达喹啉、氯法齐明在第 1 版《目录》中未找到满足 1/2 组要求的突变，第 2 版《目录》中贝达喹啉增加了 5 个 1 组突变，81 个 2 组突变，氯法齐明增加了 2 个 1 组突变及 56 个 2 组突变。对于利奈唑胺，第 1 版《目录》有 1 个 1 组突变，第 2 版《目录》在此基础上增加了 7 个 2 组突变。对于德拉马尼，第 1 版《目录》有 1 个 2 组突变，第 2 版

《目录》在此基础上又增加了 23 个 2 组突变。除此之外，第 2 版《目录》对异烟肼、莫西沙星的耐药相关突变进行了高/低水平耐药的标注。

表 2 世界卫生组织《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录》第 1 版和第 2 版中 5 个组别基因突变数量的差异

第 2 版	第 1 版					
	1 组	2 组	3 组	4 组	5 组	无
1 组	167	53	18	0	0	8
2 组	9	880	107	0	0	126
3 组	4	7 (98) ^a	12581	3	8	21178
4 组	0	(1) ^a	7	20	29	1 (12358) ^b
5 组	0	0	36	5	136	182 (126) ^b

注：^a：括号内数字表示框内突变的个数；^b：括号内数字表示同义突变的个数

（二）基因型耐药预测性能

第 2 版《目录》对大多数药物基因型耐药预测效能值与第 1 版《目录》较为接近，1 组和 2 组突变组合预测的敏感度 $\geq 70\%$ ，特异度 $\geq 90\%$ （表 3）。2 组突变对利福平、异烟肼、乙胺丁醇及氟喹诺酮类药物的耐药预测效能无明显影响，但对于吡嗪酰胺和乙硫异烟胺，2 组突变能够明显增加其耐药预测效能。第 2 版《目录》对新药和再利用药物的基因型耐药预测效能明显提升，但耐药检测敏感度仍不足 50%，对新药和再利用药物的耐药机制还有待深入研究。

表 3 世界卫生组织《结核分枝杆菌耐药相关基因突变目录（第 2 版）》基因型耐药预测效能

药物	1 组（耐药相关突变）	2 组（暂定与耐药相关）	1 组+2 组
利福平			
敏感度（%，95%CI）	92.1（91.7~92.5）	1.1(1.0~1.3)	93.3(92.9~93.7)
特异度（%，95%CI）	97.1（96.9~97.3）	99.8(99.8~99.9)	96.9(96.7~97.1)
阳性预测值（%，95%CI）	94.5（94.2~94.9）	76.5(70.8~81.6)	94.2（93.9~

			94.6)
异烟肼			
敏感度 (%, 95%CI)	89.6 (89.2~90.0)	2.0 (1.8~2.2)	91.6 (91.2~92.0)
特异度 (%, 95%CI)	98.2 (98.1~98.4)	99.7 (99.6~99.7)	97.9 (97.8~98.1)
阳性预测值 (%, 95%CI)	97.5 (97.2~97.7)	82.5 (78.9~85.7)	97.1 (96.8~97.3)
乙胺丁醇			
敏感度 (%, 95%CI)	81.1 (80.3~81.9)	0.0	81.1 (80.3~81.9)
特异度 (%, 95%CI)	91.6 (91.3~91.9)	100.0 (100.0~100.0)	91.6 (91.3~91.9)
阳性预测值 (%, 95%CI)	71.9 (71.0~72.8)	0.0	71.9 (71.0~72.8)
吡嗪酰胺			
敏感度 (%, 95%CI)	63.5 (62.0~64.9)	14.6 (13.5~15.6)	78.0 (76.8~79.2)
特异度 (%, 95%CI)	98.6 (98.5~98.8)	99.2 (99.1~99.3)	97.9 (97.6~98.1)
阳性预测值 (%, 95%CI)	92.4 (91.4~93.4)	82.9 (80.1~85.5)	90.5 (89.5~91.4)
左氧氟沙星			
敏感度 (%, 95%CI)	83.6 (82.6~84.5)	1.2 (1.0~1.6)	84.8 (83.9~85.7)
特异度 (%, 95%CI)	97.3 (97.0~97.5)	99.6 (99.6~99.7)	96.9 (96.7~97.1)
阳性预测值 (%, 95%CI)	89.2 (88.4~90.0)	48.3 (40.1~56.6)	88.1 (87.3~

			89.0)
莫西沙星			
敏感度 (%, 95%CI)	84.8 (83.7~85.9)	0.9 (0.6~1.2)	85.7 (84.6~ 86.8)
特异度 (%, 95%CI)	94.0 (93.6~94.3)	99.5 (99.4~99.6)	93.5 (93.2~ 93.9)
阳性预测值 (%, 95%CI)	75.2 (73.9~76.4)	29.5 (21.6~38.4)	74.0 (72.7~ 75.2)
贝达喹啉			
敏感度 (%, 95%CI)	26.3 (23.7~29.1)	23.0 (20.5~25.7)	49.4 (46.3~ 52.5)
特异度 (%, 95%CI)	99.4 (99.3~99.5)	99.3 (99.1~99.4)	98.7 (98.5~ 98.9)
阳性预测值 (%, 95%CI)	78.2 (73.5~82.4)	72.0 (66.8~76.8)	75.2 (71.8~ 78.4)
利奈唑胺			
敏感度 (%, 95%CI)	27.3 (22.8~32.1)	6.7 (4.4~9.7)	34.0 (29.2~ 39.0)
特异度 (%, 95%CI)	99.8 (99.8~99.9)	100.0 (99.9~100.0)	99.8 (99.7~ 99.9)
阳性预测值 (%, 95%CI)	78.5 (70.4~85.2)	78.1 (60.0~90.7)	78.4 (71.3~ 84.5)
氯法齐明			
敏感度 (%, 95%CI)	4.3 (2.9~6.1)	12.7 (10.3~15.4)	17.0 (14.2~ 20.0)
特异度 (%, 95%CI)	99.8 (99.7~99.8)	98.9 (98.7~99.1)	98.7 (98.5~ 98.9)
阳性预测值 (%, 95%CI)	46.0 (33.4~59.1)	36.0 (29.9~42.4)	38.1 (32.6~

			43.8)
德拉马尼			
敏感度 (%, 95%CI)	0.0 (0.0~1.5)	14.7 (10.6~19.7)	14.7 (10.6~19.7)
特异度 (%, 95%CI)	100.0 (100.0~100.0)	99.9 (99.8~99.9)	99.9 (99.8~99.9)
阳性预测值 (%, 95%CI)	0.0	72.5 (58.3~84.1)	72.5 (58.3~84.1)
阿米卡星			
敏感度 (%, 95%CI)	68.9 (67.0~70.7)	4.0 (3.2~4.8)	72.8 (71.0~74.6)
特异度 (%, 95%CI)	99.2 (99.0~99.3)	99.2 (99.0~99.3)	98.3 (98.1~98.5)
阳性预测值 (%, 95%CI)	90.1 (88.7~91.4)	34.3 (28.8~40.1)	82.8 (81.2~84.4)
链霉素			
敏感度 (%, 95%CI)	72.1 (71.2~72.9)	7.6 (7.1~8.1)	79.7 (78.9~80.5)
特异度 (%, 95%CI)	97.6 (97.4~97.8)	96.5 (96.2~96.8)	94.1 (93.7~94.4)
阳性预测值 (%, 95%CI)	95.2 (94.7~95.7)	58.8 (56.1~61.4)	89.9 (89.3~90.5)
乙硫异烟胺			
敏感度 (%, 95%CI)	45.8 (44.4~47.1)	29.1 (27.8~30.3)	74.8 (73.6~76.0)
特异度 (%, 95%CI)	94.0 (93.6~94.3)	91.9 (91.5~92.3)	85.9 (85.3~86.4)
阳性预测值 (%, 95%CI)	71.7 (70.1~73.2)	54.6 (52.7~56.4)	63.9 (62.7~65.1)

卡那霉 ^a			
敏感度（%，95%CI）	74.4（73.0~75.9）	0.4（0.3~0.7）	74.9（73.4~76.3）
特异度（%，95%CI）	96.7（96.5~97.0）	100.0（99.9~100.0）	96.7（96.4~96.9）
阳性预测值（%，95%CI）	79.4（78.0~80.8）	66.7（44.7~84.4）	79.3（77.9~80.7）
卷曲霉 ^a			
敏感度（%，95%CI）	61.2（59.1~63.3）	4.9（4.0~6.0）	66.2（64.1~68.2）
特异度（%，95%CI）	98.0（97.8~98.2）	99.8（99.7~99.9）	97.8（97.6~98.1）
阳性预测值（%，95%CI）	80.4（78.4~82.3）	76.1（68.0~83.1）	80.1（78.1~81.9）

注^a：此类药物不再被推荐用于抗结核治疗

三、未来《目录》研究展望

（一）完善数据集

通过收集更多菌株全基因组测序和抗结核药物 MIC 数据，用以探究基因突变与耐药水平高低的相关性。《结核病整合指南模块 3：诊断：结核病快速诊断》中表明，异烟肼和莫西沙星的耐药水平对治疗效果具有明显影响^[4]，但目前关于不同耐药基因突变类型所造成的耐药程度差异还有待进一步证实。例如，是否所有 *katG* 突变都会赋予高水平异烟肼耐药性，对于较罕见的氟喹诺酮类药物耐药突变，需要更多的 MIC 值去确定其耐药水平的高低^[15-16]。一些突变仅造成 MIC 值的小幅升高，如果仅升高到临界浓度附近，则很难对其进行耐药与敏感的精准判读^[17-18]。需要进一步增加纳入分析数据的代表性，降低数据偏倚；同时，还要覆盖更多谱系菌株以探究谱系对耐药性的影响^[19-20]，并收集更多既有耐药菌株又有敏感菌株的数据集，以降低对耐药性的高估。

（二）优化分析流程

关于测序数据生物信息学分析流程，应进一步加入大片段插入（如 *IS6110*）分析，研究其对药物耐药性的影响^[21]，并从核苷酸水平探究核苷酸突变对耐药性的影响，包括导致同一氨基酸突变的核苷酸突

变对耐药性的影响^[22-23]。现有生物信息学分析流程主要针对二代高通量测序数据，未来应考虑构建同时适用于三代测序数据的分析流程。对于基因突变耐药关联分级方法，一方面要继续优化“附加分级规则”，例如 *rpoB* T427A 虽然在利福平耐药性决定区（RRDR）中，但可能不导致利福平耐药^[24-25]。还需要继续更新候选耐药基因，例如，*dprE2*（*Rv3791*）可能是德拉马尼和普托马尼的潜在耐药相关基因^[26]。未来建议通过加入回归等其他的分级方法，对补偿性及上位性突变进行深入研究与分类。

四、结语

目前，商品化分子药敏检测试剂盒已广泛应用于临床耐药结核病诊断。随着测序技术的普及，以高通量测序技术为基础的新一代靶向测序试剂盒也将逐步应用于耐药结核病诊断。这些技术可以在短时间内获得多种药物的耐药性信息，进而指导治疗决策。分子药敏检测技术可靠性和实用性的提高取决于对抗结核药物耐药机制研究的不断进步，《目录》可为分子药敏检测靶标选择提供标准化参考。但当前《目录》的算法仅考虑药物候选基因突变与耐药的相关性，未能对新的耐药相关基因进行挖掘。基于《目录》所产生的海量数据，未来在机器学习及神经网络算法的支持下，可以尝试从基因组学出发，对新的耐药相关基因进行探究^[27-28]。此外，《目录》在实用性上也有待进一步提升。《目录》中 1 组和 2 组突变位点与目前商品化分子检测试剂盒的检测靶点存在一定的差异（如 *ahpC* 突变位点），且《目录》中包含的耐药突变位点数目众多，但商品化分子药敏检测所能覆盖的检测靶点有限，需要筛选出发生频率高、与高水平耐药相关等特征的突变位点作为商品化分子药敏检测试剂盒的检测靶点。因此，建议未来《目录》对目前已有的分子药敏检测技术覆盖的检测靶点进行评估，并且对耐药相关位点进行靶点推荐性排序。除此之外，还需要考虑《目录》在更新过程中的一致性。例如，第 2 版《目录》与第 1 版《目录》在突变的命名上有较大的改变，不利于对两版《目录》进行对照。建议对每次更新过程中新增和移除的耐药相关突变进行额外评估，为更新的必要性提供更多的证据支撑。未来，相信《目录》在更多数据集的支持下，将能够进一步提高通过耐药基因突变预测抗结核药物耐药性的效能，尤其是对新药和再利用药物耐药性的预测。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献 裴少君：采集数据、起草文章；欧喜超：起草文章、对文章的知识性内容作批评性审阅、指导

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization, 2023.
- [2] Mohamed S, Köser CU, Salfinger M, et al. Targeted next-generation sequencing: a Swiss army knife for mycobacterial diagnostics?. Eur Respir J, 2021, 57(3): 2004077. doi:10.1183/13993003.04077-2020.

- [3] World Health Organization. Global tuberculosis report 2013. Geneva: World Health Organization, 2013.
- [4] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis – rapid diagnostics for tuberculosis detection, 2021 update. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [5] World Health Organization. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva: World Health Organization, 2021.
- [6] Miotto P, Tessema B, Tagliani E, et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Eur Respir J, 2017, 50(6):1701354. doi:10.1183/13993003.01354-2017.
- [7] Köser CU, Maurer FP, Kranzer K. ‘Those who cannot remember the past are condemned to repeat it’ : Drug-susceptibility testing for bedaquiline and delamanid. Int J Infect Dis, 2019, 80S: S32–S35. doi:10.1016/j.ijid.2019.02.027.
- [8] Alagna R, Cabibbe AM, Miotto P, et al. Is the new WHO definition of extensively drug-resistant tuberculosis easy to apply in practice?. Eur Respir J, 2021, 58(1): 2100959. doi:10.1183/13993003.00959-2021.
- [9] Ness T, Van LH, Petermane I, et al. Rolling out new anti-tuberculosis drugs without diagnostic capacity. Breathe (Sheff), 2023, 19(2):230084. doi:10.1183/20734735.0084-2023.
- [10] World Health Organization. Use of targeted next-generation sequencing to detect drug-resistant tuberculosis: rapid communication, July 2023. Geneva: World Health Organization, 2023.
- [11] World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [12] World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [13] World Health Organization. Noncommercial culture and drug-susceptibility testing methods for screening patients at risk for multidrug-resistant tuberculosis. Policy statement. Geneva: World Health Organization, 2011.
- [14] Martin L, Coronel J, Faulx D, et al. A field evaluation of the Hardy TB MODS Kit™ for

the rapid phenotypic diagnosis of tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. PLoS One, 2014, 9(9):e107258. doi:10.1371/journal.pone.0107258.

[15] World Health Organization. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2018.

[16] Matrat S, Veziris N, Mayer C, et al. Functional analysis of DNA gyrase mutant enzymes carrying mutations at position 88 in the A subunit found in clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* resistant to fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(12):4170–4173. doi:10.1128/AAC.00944-06.

[17] Antimycobacterial Susceptibility Testing Group. Updating the approaches to define susceptibility and resistance to anti-tuberculosis agents: implications for diagnosis and treatment. Eur Respir J, 2022, 59(4):2200166. doi:10.1183/13993003.00166-2022.

[18] Köser CU, Robledo J, Shubladze N, et al. Guidance is needed to mitigate the consequences of analytic errors during antimicrobial susceptibility testing for TB. Int J Tuberc Lung Dis, 2021, 25(10):791–794. doi:10.5588/ijtld.21.0428.

[19] Bateson A, Ortiz Canseco J, McHugh TD, et al. Ancient and recent differences in the intrinsic susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* complex to pretomanid. J Antimicrob Chemother, 2022, 77(6):1685–1693. doi:10.1093/jac/dkac070.

[20] Modlin SJ, Marbach T, Werngren J, et al. Atypical genetic basis of pyrazinamide resistance in monoresistant *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother, 2021, 65(6):e01916–20. doi:10.1128/AAC.01916-20.

[21] Antoine R, Gaudin C, Hartkoorn RC. Intragenic distribution of *IS6110* in clinical *Mycobacterium tuberculosis* strains: bioinformatic evidence for gene disruption leading to underdiagnosed antibiotic resistance. Microbiol Spectr, 2021, 9(1):e0001921. doi:10.1128/Spectrum.00019-21.

[22] Köser CU, Cirillo DM, Miotto P. How to optimally combine genotypic and phenotypic drug susceptibility testing methods for pyrazinamide. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 64(9):e01003–20. doi:10.1128/AAC.01003-20.

[23] Yadon AN, Maharaj K, Adamson JH, et al. A comprehensive characterization of PncA polymorphisms that confer resistance to pyrazinamide. Nat Commun, 2017, 8(1):588.

doi:10.1038/s41467-017-00721-2.

[24] Köser CU, Georghiou SB, Schön T, et al. On the consequences of poorly defined breakpoints for rifampin susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex. J Clin Microbiol, 2021, 59(4):e02328-20. doi:10.1128/JCM.02328-20.

[25] Fitzgibbon MM, Roycroft E, Sheehan G, et al. False detection of rifampicin resistance using Xpert® MTB/RIF Ultra assay due to an A451V mutation in *Mycobacterium tuberculosis*. JAC Antimicrob Resist, 2021, 3(3):dlab101. doi:10.1093/jacamr/dlab101.

[26] Abrahams KA, Batt SM, Gurucha SS, et al. DprE2 is a molecular target of the anti-tubercular nitroimidazole compounds pretomanid and delamanid. Nat Commun, 2023, 14(1):3828. doi:10.1038/s41467-023-39300-z.

[27] Jiang Z, Lu Y, Liu Z, et al. Drug resistance prediction and resistance genes identification in *Mycobacterium tuberculosis* based on a hierarchical attentive neural network utilizing genome-wide variants. Brief Bioinform, 2022, 23(3): bbac041. doi: 10.1093/bib/bbac041.

[28] Gröschel MI, Owens M, Freschi L, et al. GentB: A user-friendly genome-based predictor for tuberculosis resistance powered by machine learning. Genome Med, 2021, 13(1):138. doi: 10.1186/s13073-021-00953-4.

（收稿日期：2023-12-20）

（本文编辑：李敬文）