

结核分枝杆菌耐药机制和治疗的最新研究进展

丁磊¹, 徐俊驰², 邱文娜¹, 李晋², 胥萍²

(1. 苏州市吴江区儿童医院 / 苏州大学附属儿童医院吴江院区检验科, 江苏苏州 215200; 2. 苏州大学附属传染病医院 / 苏州市结核病防治重点实验室, 江苏苏州 215007)

摘要: 结核病 (tuberculosis, TB) 是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 引起的慢性传染病。近年来, 结核分枝杆菌的耐药性变异尤为突出, 耐药结核病已成为一个不可忽视的全球公共卫生问题。一直以来, 国内外诸多研究聚焦于耐药结核发病机制及治疗方法的研究, 并且不断形成新的机制理论和治疗方案。该文着重于对 MTB 耐药机制及治疗的最新进展进行综述, 从而为耐药结核的新药研制及制定更合理的治疗方案提供参考。

关键词: 结核分枝杆菌; 耐药机制; 靶点

中图分类号: R378.911; R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 02-001-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.001

Latest Research Progress on the Drug Resistance Mechanism and Treatment of *Mycobacterium Tuberculosis*

DING Lei¹, XU Jun-chi², QIU Wen-na¹, LI Jin², XU Ping²

(1. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Wujiang District/Wujiang Branch of Children's Hospital Affiliated to Suzhou University, Jiangsu Suzhou 215200, China; 2. Infectious Disease Hospital of Suzhou University/Suzhou Key Laboratory of Tuberculosis Prevention and Treatment, Jiangsu Suzhou 215007, China)

Abstract: Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). In recent years, the drug-resistant mutation of *Mycobacterium tuberculosis* has become particularly prominent, and drug-resistant tuberculosis has become a global public health problem that cannot be ignored. For a long time, many domestic and foreign studies have focused on the pathogenesis and treatment of drug-resistant tuberculosis, and new mechanism theories and treatment plans have been continuously formed. This article focuses on reviewing the latest developments in the mechanism and treatment of MTB resistance, so as to provide references for the development of new drugs and the formulation of more reasonable treatment plans for drug-resistant TB.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; drug resistance mechanism; target

结核病是全球传染病死亡的首要死因。世界卫生组织 (WHO) “global tuberculosis report 2018” 报告显示: 2017 年全球新发结核病患者约 1 000 万例, 我国约有 90 万例, 占全球 9%; 患有利福平耐药结核病 (rifampicin-resistant TB, RR-TB) 患者约 55.8 万例, 其中耐多药结核病 (multidrug-resistant TB, MDR-TB) 患者占比 82%。我国患 RR-TB/MDR-TB 约 7.2 万例, 占全球 13%^[1]。耐药结核病的治疗费用极高, 病死率占全球结核病死亡率的 25%, 且出现了对贝达喹啉 (Bbq)、德拉马尼 (Dlm) 等新药耐药及无药可治的情况^[2]。最新估算显示全球约有 23% 的人群可能患有潜伏性结核感染, 而每 83 例患有潜伏性结核感染的人中就有一人感染耐多药结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MDR) 株,

在 15 岁以下的儿童中, 每 34 例患有潜伏性结核感染的人中就有一人感染 MDR 株^[3]。这些情况将会破坏全球结核病防治的进程, 耐药结核病防治工作已经到了刻不容缓的地步。本文将对近年来 MTB 耐药机制和治疗方案方面的研究进展进行综述。

1 MTB 耐药分类

为了适应耐药结核病防治新形势, WHO 于 2013 年^[4]重新修订了耐药结核病的分类和定义, 增加了利福平耐药, 分类如下。①单耐药: 对任何一种一线抗结核药耐药; ②多耐药: 对除利福平和异烟肼以外的任何一种及以上一线抗结核药耐药; ③耐多药: 至少同时对利福平和异烟肼耐药; ④广泛耐药: 在耐多药的基础上, 还对任意一种氟喹诺酮类药物和阿米卡星、卷曲霉素、卡那霉素这三种二

基金项目: 江苏省科技项目基础研究计划 (BK20161230); 苏州市民生科技-关键技术应用研究 (SS201879)。

作者简介: 丁磊 (1988-), 男, 本科, 主管检验技师, 研究方向: 呼吸系统感染性疾病检测。

通讯作者: 胥萍, 女, 主任技师, E-mail: 573311485@qq.com。

线注射药物之一耐药;⑤利福平耐药:不论患者对其他抗结核药物是否耐药,但是通过表型或基因型方法确定其对利福平耐药。

2 MTB 耐药机制

目前部分阐明的 MTB 耐药机制分为固有性耐药机制(主要包括细胞壁渗透性降低、外排泵作用和细胞代谢)和获得性耐药机制(靶基因突变),且药物作用的靶基因突变导致获得性分子耐药机制是 MTB 耐药的主要机制,即获得性突变是 MTB 耐药的主要原因^[5-7]。

2.1 固有耐药机制

2.1.1 细胞壁特殊结构: MTB 的耐药机制相当复杂,与其它病原菌相比,其有独特且复杂的细胞壁结构,对菌体构成强大的保护屏障,这种构造赋予 MTB 对多种抗结核药物天然的耐药性^[8]。MTB 细胞壁富含脂类,内层主要是分枝菌酸包围在肽聚糖层外面,外层主要是长链的脂肪酸,使得 MTB 对大多数抗生素是不通透的^[9]。已有研究表明,MTB 细胞壁生物合成的过程对生物膜的形成很重要,MTB 细胞壁的脂质主要负责生物膜的形成,这些生物膜被证明富有自由分枝菌酸,同时存在耐药细胞^[10]。Rv0024 编码肽链内切酶,作为 MTB 中 NipC/p60 蛋白家族第 5 成员,主要参与生物膜的形成及耐药性。研究显示,非致病性耻垢分枝杆菌菌株在异烟肼和吡嗪酰胺这两种抗结核药物的耐药性实验中,Rv0024 基因的表达水平至少增加了 10 倍^[11]。Wag31 作为 DivIVA 的同族体,参与细胞壁生物合成。Wag31 可以和 6 种脂肪酸与分枝杆菌酸合成相关的蛋白之间相互作用,包括 InhA, AccA3, AccD4, ccD5, MmpL3 和 Fas。实验表明耻垢分枝杆菌中 Wag31 的表达水平下调,可增加耻垢分枝杆菌细胞壁对脂类分子的通透性,进而增强耻垢分枝杆菌对四种脂类抗生素(氯法齐明、利福平、新生霉素、红霉素)的敏感性^[12]。由此可见,找到编码 MTB 细胞壁合成过程的靶基因,降低其表达水平是克服抗生素抗性的有效途径。

2.1.2 药物外排泵:细菌对进入其体内的抗生素会进行主动外排来减低菌体内药物浓度,这是细菌产生耐药的一个重要机制。细菌外排泵是位于细菌质膜中的转运蛋白,目前发现有六种不同的转运蛋白家族:MFS, SMR, MATE, ABC, RND, PACE^[13]。结核菌属中有大约 20 个基因被确定为编码外排泵的相关基因,主要集中在 MFS, RND, SMR^[14]。MACHADO 等^[15]研究显示,暴露于低浓度抗生素中的耐异烟肼结核分枝杆菌菌株,大多数外排泵基因表达水平上调。结核杆菌泛素样蛋白酶系统(*Mycobacterium tuberculosis* ubiquitin-like protein-

proteasome system, MTB PPS)是由 MTB 泛素样蛋白与 MTB 蛋白酶体组成,该系统介导的蛋白质降解过程中所需的辅助因子有 Dop, PafA 和 Mpa。MTB PPS 主要介导和调节结核分枝杆菌体内蛋白质的选择性降解,对菌体的生长代谢发挥着重要调控功能^[16]。张帅等^[17]研究指出 MTB PPS 对单耐异烟肼结核分枝杆菌耐药的产生有影响,其作用机制可能是通过单耐异烟肼结核分枝杆菌外排泵的功能来调控的。但关于 MTB PPS 是否通过调节 MTB 外排泵来调控其耐药性的产生还尚无相关报道。因此,了解相应外排泵蛋白的功能,找到抑制其活性的方法是一种克服抗生素抗性的有效途径。

2.1.3 MTB 细胞代谢: 抗生素诱导目标细胞产生有害活性氧(ROS)是一种常见的杀菌途径。MTB 在使用抗结核药物治疗后产生抗药性,因为它能够重塑代谢网络和电子传递链,从而绕过抗生素介导的 ROS 产物,避免造成自身受到损伤^[18, 21]。海藻糖是 MTB 中含量丰富的非还原葡萄糖二糖,是细胞表面海藻糖单菌酸(TMM)和海藻糖二菌酸(TDM)的核心成分。MTB 通过下调 TMM/TDM 并重构海藻糖代谢产物从而进入非复制耐药状态^[19-20]。LEE 等^[21]研究表明了 MTB 改变其细胞内海藻糖代谢作为一种适应性策略,以实现短暂的药物耐受,这可能是一种持久的生存策略,并在 MTB 抵抗贝达喹啉、利福平及异烟肼的实验中得到了验证。研究表明在宿主体内,MTB 可分解代谢脂质,包括胆固醇等作为其主要营养成分。脂质分解代谢反过来又与脂质生物合成有关,这些脂质起着能量储存、毒性和免疫调节相关因子的作用,是 MTB 独特而复杂细胞壁的组成部分。真核型蛋白激酶 G(PknG)主要参与调节结核分枝杆菌毒力,与底物 GarA 通过蛋白-蛋白结合调节结核分枝杆菌和其他放线菌的三羧酸循环,缺乏 PknG 基因表达的结核分枝杆菌的毒力在小鼠的巨噬细胞中严重减低^[22]。因此,深入研究 MTB 的细胞代谢过程,找到细胞代谢过程中的某一限速酶,可能是 MTB 治疗的新靶点。

2.2 获得性耐药机制 获得性耐药可能通过基因突变或水平基因转移发生,但在 MTB 中通过质粒或可移动遗传原件水平转移耐药基因的研究尚未见报道,所有目前已知的 MTB 获得性耐药是通过抗生素使用的选择性压力下染色体突变介导的^[7, 23]。常见的结核耐药相关基因有:利福平(rpoB)、异烟肼(KatG, inhA, ahpC, kasA, ndh)、乙胺丁醇(embCAB, embR)、吡嗪酰胺(pncA, rspA)、链霉素(rpsL, rrs, gidB, whiB7)、阿米卡星/卡那霉素(rrs, eis, whiB7)、乙硫异烟胺(ethA, ethR, inhA, ndh, mshA)、氟喹诺酮类药物(gyrA,

gyrB)、环丝氨酸(alrA, cycA, ddl)、对氨基水杨酸(thyA, dfrA, folC, ribD)、卷曲霉素(tlyA, rrs)等。

不同基因或相同基因不同位点突变频率各不相同,所引起的耐药程度也均有差异。以利福平耐药为例,超过96%的利福平耐药菌株在rpoB基因81 bp热点区域(密码子507~533位点)发生突变。最常见的突变发生在密码子531和526,占利福平耐药株的62.5%~81.1%。531和526位点突变对利福平产生高水平耐药,511, 514, 522, 533等位点突变对利福平产生低水平耐药^[24-25]。再以异烟肼耐药为例:约50%~85%的异烟肼耐药菌株发生在katG(315位点)突变,其中katG基因片段完全缺失约占异烟肼耐药的8%~25%,另外点突变、碱基对插入及部分缺失也会引起异烟肼耐药^[25-26];约10%~40%的异烟肼耐药发生在inhA突变,当katG和inhA同时发生突变时,MTB耐异烟肼的能力显著增强,这种情况约占异烟肼耐药的20%^[25, 27],katG和inhA突变是异烟肼耐药的主要原因,其次是ahpC, kasA, ndh, iniABC, fadE, furA, Rv1592c和Rv1772^[28]。另外,利福平和异烟肼耐药结核分枝杆菌的突变频率还因地理位置而异,掌握这些结果有利于更好地了解当地耐药结核病的传播及演变动态^[27,29]。因此详细了解MTB耐药的相应靶基因,有利于耐药结核病的早期诊断、新药研发及制定更加优化的治疗方案。

3 MTB治疗最新进展

3.1 化学药物治疗方案 化疗是治疗结核病的首选方法,2008年^[30],2014年^[31],2016年^[32]WHO指南均将抗结核药分为5组:2014年将Bbq, Dlm加入第5组;2016年将5组药物进行重新分类,将口服药物利福平(RIF)、异烟肼(INH)、吡嗪酰胺(PZA)、乙胺丁醇(EMB)划归一线抗结核药,将二线抗结核药分为A, B, C, D四组,其中A组(氟喹诺酮类)、B组(注射用抗结核药)、C组(口服抑菌类)为核心二线药,D组(疗效不确切,又分为D1, D2, D3三个小组)为非核心附加药物。

WHO于2016年更新发布了“耐药结核病治疗指南”^[32],第一次推出MDR-TB短期化疗方案。WHO于2018年8月发布了“关于耐多药和利福平耐药结核病治疗重大变化”^[33]的文件,根据各成员国通报的最新数据进行荟萃分析,对耐多药结核病长程治疗方案推荐使用的药物重新分组。2018年12月底发布指南:耐多药和利福平耐药结核病的治疗(更新版)^[34],对新的药物分组进行了肯定。短程治疗方案(疗程为9~12个月)和长程治疗方案(疗程为≥20个月)各有优缺点,二者在设计原则、药物组成、患者适应症、用药负担等方面均不

相同,目前关于短期治疗方案的相关研究仍在优化中^[35-36]。

3.2 免疫治疗方案 单一的化学治疗难以治愈耐多药的结核病,WHO在20世纪90年代提出化学与免疫治疗相结合的方案,但由于临床上免疫制剂的选择、用量、疗程等诸多问题,目前免疫治疗仍是一种辅助治疗手段。免疫治疗主要通过调节T淋巴细胞、调节自身免疫、诱导细胞免疫应答、活化巨噬细胞等来清除体内MTB,治疗药物主要包括:疫苗、细胞因子、抗体、免疫调节剂及其它生物制剂等^[37]。研究表明细胞外囊泡(EVs)携带微生物组分并在宿主防御感染中起重要作用,MTB RNA通过SecA2依赖性途径传递到巨噬细胞衍生的EVs中,并且从MTB感染的巨噬细胞释放的EVs刺激宿主RIG-I/MAVS/TBK1/IRF3 RNA传感途径,导致受体细胞产生I型干扰素。这些EVs还以RIG-I/MAVS依赖性方式促进含MTB的吞噬体通过非经典LC3途径成熟,增强杀灭细菌能力^[38]。白细胞介素-32(IL-32)在宿主抵抗诸如MTB等病原体方面起着重要作用,IL-32存在6种选择性剪接亚型,其中IL-32ε具有最强的抗结核作用,诱导MTB细胞凋亡率最高^[39]。相信随着免疫学研究的发展,新的免疫治疗药物将在MTB治疗中起到至关重要的作用。

3.3 改变给药方式或药量 目前国内关于常用抗结核药物在雾化吸入、气管内给药、空洞内给药等给药方式以及药物超剂量用法等方面形成了专家共识^[40]。SANKHE等^[41]研究新型的肺部给药系统能增强新的/现有的抗结核药物的功效、增强患者的依从性,从而减少副作用、治疗的频率和治疗时间。Bello-Monroy等^[42]研究发现在感染了MDR株的BALB/C小鼠中,通过管饲或气管内途径高剂量使用利福平和异烟肼,并联合重组人干细胞生长因子,在降低肝损伤的同时能起到较好地清除小鼠肺部耐药结核菌的效果。新的临床给药方式的应用虽然取得了一些成效,但仍处于探索阶段,因此还需长期观察。

3.4 寻找治疗新靶点 随着二代测序技术和全蛋白质组测序技术的广泛应用,近年来大量新的治疗靶点被发现。一种策略是通过针对结核杆菌生长所必需的信号通路设计新的靶向药物。GroEL2^[43]和GuaB2^[44]是结核生长所必需的分子,现有研究通过靶向抑制GroEL/ES(HSP60/10)蛋白系统或者GuaB2蛋白可以减缓结核杆菌的生长。另一种策略则是通过增加宿主对结核杆菌的免疫力,蛋白酪氨酸磷酸酶B(PtpB)是MTB免疫逃避的重要蛋白,WASHBURN等^[45]人的研究发现PtpB抑制剂可有效增加宿主针对MTB免疫反应,抑制肉芽肿形成

使其成为结核免疫治疗的新靶点。还有研究发现以PD-1为代表的免疫卡控点在结核感染时期发生异常表达,通过相应的免疫卡控点阻断抗体很可能为结核病的治疗提供新的治疗方向^[46]。

4 MTB 治疗展望

MTB 的耐药机制非常复杂,至今为止尚未完全阐明。而新机制的发现对耐药结核病的诊断和新药研发均意义重大,因此还需广大学者进一步深入研究。新药研发成本高、周期长、难度大,全球应联合起来,相互协作,资源共享。政府应引起重视,加大人才、资金、设备投入,加快新药研发进程。进而优化治疗方案,提高治疗效率。另外需加强特效、长效结核病疫苗的研发,包括预防性和治疗性疫苗,从源头上遏制结核病的传播。在关注耐药结核病发病机制和研发新药的同时,也要注重耐药结核病患者的治疗管理,尽可能结合患者自身情况制定个体化方案。只有多管齐下,才能最终实现消灭结核病的目标。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2018[Z]. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [2] DHEDA K, CHANG K C, GUGLIELMETTI L, et al. Clinical management of adults and children with multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2017, 23(3): 131-140.
- [3] KNIGHT G M, MCQUAID C F, DODD P J, et al. Global burden of latent multidrug-resistant tuberculosis: trends and estimates based on mathematical modelling[J]. the Lancet Infectious Diseases, 2019, 19(8): 903-912.
- [4] World Health Organization (2013). Definitions and reporting framework for tuberculosis[Z]. Geneva: <http://www.who.int/tb/publications/definitions/en>.
- [5] ALMEIDA D A SILVA P E A, PALOMINO J C. Molecular basis and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: classical and new drugs[J]. the Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011, 66(7): 1417-1430.
- [6] 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): 329-332.
KONG Weiwei, XING Yingru, HU Wanfa, et al. Correlation analysis between drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and drug-resistant gene mutation [J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2019, 54(2): 329-332.
- [7] GYGLI S M, BORRELL S, TRAUNER A, et al. Antimicrobial resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: mechanistic and evolutionary perspectives[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41(3): 354-373.
- [8] ABRAHAMS K A, BESRA G S. *Mycobacterial* cell wall biosynthesis: a multifaceted antibiotic target[J]. Parasitology, 2018, 145(2): 116-133.
- [9] GROVER N, PASKALEVA E E, MEHTA K K, et al. Growth inhibition of *Mycobacterium smegmatis* by mycobacteriophage-derived enzymes[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2014, 63: 1-6.
- [10] 刘巍, 李东, 曾范利, 等. 分枝杆菌 Rv0024 诱导生物膜的形成和抗细胞壁作用研究进展 [J]. 动物医学进展, 2017, 38(7): 70-73.
LIU Wei, LI Dong, ZENG Fanli, et al. Progress on Rv0024 induced biofilm formation and resistance against cell wall acting in mycobacterium [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(7): 70-73.
- [11] PADHI A, NAIK S K, SENGUPTA S, et al. Expression of *Mycobacterium tuberculosis* NLPC/p60 family protein Rv0024 induce biofilm formation and resistance against cell wall acting anti-tuberculosis drugs in *Mycobacterium smegmatis*[J]. Microbes and Infection, 2016, 18(4): 224-236.
- [12] 李启明. 结核分枝杆菌耐药基因的鉴定及耐药分子机理的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2018.
LI Qiming. The identification of *Mycobacterium tuberculosis* resistant genes and mechanism [D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [13] AYGÜL A. The importance of efflux systems in antibiotic resistance and efflux pump inhibitors in the management of resistance[J]. Mikrobiyol Bul, 2015, 49(2): 278-291.
- [14] GHAAVAND H, KAMAKOLI M K, KHANIPOUR S, et al. Scrutinizing the drug resistance mechanism of multi- and extensively-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*: mutations versus efflux pumps[J]. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2019, 8(1): 70.
- [15] MACHADO D, PIRES D, PERDIGÃO J, et al. Ion channel blockers as antimicrobial agents, efflux inhibitors, and enhancers of macrophage killing activity against drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0149326.
- [16] 朱彬, 吴芳, 章乐, 等. 结核分枝杆菌 Pup-蛋白酶体系统与不同毒力结核分枝杆菌致病性的相关性研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(7): 583-586, 636.
ZHU Bing, WU Fang, ZHANG Le, et al. Study of the correlation between the prokaryotic ubiquitin-like protein (Pup)-proteasome system of *Mycobacterium tuberculosis* and the pathogenicity of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Journal of Parasitic Biology, 2014, 9(7): 583-586, 636.
- [17] 张帅, 张舜文, 吴芳, 等. 泛素样蛋白蛋白酶体系统对单耐异烟肼结核分枝杆菌耐药性机制研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12(6): 489-494.
ZHANG Shuai, ZHANG Shunwen, WU Fang, et al. Study on the mechanism by which the ubiquitin-like protein-proteasome system confers drug resistance to isoniazid-monoresistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Journal of Parasitic Biology, 2017, 12(6): 489-494.
- [18] NANDAKUMAR M, NATHAN C, RHEE KY. Isocitrate lyase mediates broad antibiotic tolerance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nat Commun, 2014, 5: 4306/1-4306/7.

- [19] EOH H, WANG Zhe, LAYRE E, et al. Metabolic anticipation in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nature Microbiology, 2017, 2(8):852-856.
- [20] GALAGAN J E, MINCH K, PETERSON M, et al. The *Mycobacterium tuberculosis* regulatory network and hypoxia[J]. Nature, 2013, 499(7457): 178-183.
- [21] LEE J J, LEE S K, SONG Naomi, et al. Transient drug-tolerance and permanent drug-resistance rely on the trehalose-catalytic shift in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): ITC17-ITC32.
- [22] RIECK B, DEGIACOMI G, ZIMMERMANN M, et al. PknG senses amino acid availability to control metabolism and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. PLoS Pathogens, 2017, 13(5): e1006399.
- [23] SMITH T, WOLFF K A, NGUYEN L. Molecular biology of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Current topics in Microbiology and Immunology, 2013, 374: 53-80.
- [24] HORNG Y T, JENG W Y, CHEN Y Y, et al. Molecular analysis of codon 548 in the *rpoB* gene involved in *Mycobacterium tuberculosis* resistance to rifampin[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015, 59(3): 1542-1548.
- [25] 邓叶华. 湖南省结核病耐药情况分析 & 耐药突变位点分布 [D]. 衡阳: 南华大学, 2016.
DENG Yehua. Analysis of tuberculosis drug resistance and distribution of drug-resistance mutations in hunan province [D]. Hengyang: University of South China, 2016.
- [26] UNISSA A N, DUSTHACKER V N A, KUMAR M P, et al. Variants of *katG*, *inhA* and *nat* genes are not associated with mutations in efflux pump genes (*mmpL3* and *mmpL7*) in isoniazid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from India[J]. Tuberculosis (Edinburgh, Scotland), 2017, 107(107): 144-148.
- [27] BOLLELA V R, NAMBURETE E I, FELICIANO C S, et al. Detection of *katG* and *inhA* mutations to guide isoniazid and ethionamide use for drug-resistant tuberculosis[J]. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2016, 20(8): 1099-1104.
- [28] UNISSA A N, SUBBIAN S, HANNA L E, et al. Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Infection Genetics and Evolution, 2016, 45(45): 474-492.
- [29] SALVATO R S, SCHIEFELBEIN S, BARCELLOS R B, et al. Molecular characterisation of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a high-burden tuberculosis state in Brazil[J]. Epidemiology and Infection, 2019, 147. DOI: 10.1017/S0950268819001006.
- [30] World Health Organization (2008). Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis [Z]. Geneva: Word Health Organization, 2008.
- [31] Word Health Organization (2014). WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2014 update[Z]. Geneva: Word Health Organization, 2014.
- [32] World Health Organization (2016). WHO Treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis 2016 Update[Z]. Geneva: Word Health Organization, 2016.
- [33] Word Health Organization. Rapid Communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB)[Z]. Geneva: Word Health Organization, 2018.
- [34] Word Health Organization. WHO treatment guidelines for multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis 2018 update pre-final text[Z]. Geneva: Word Health Organization, 2018.
- [35] 中华医学会结核病学分会. 耐多药结核病短程治疗中国专家共识编写组. 耐多药结核病短程治疗中国专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42 (1): 5-8.
Chinese Society for Tuberculosis, Chinese Medical Association, Writing Group of Expert Consensus on Short-Course Therapy of Multi-drug Resistant Tuberculosis on China. Expert consensus on short-course therapy of multi-drug resistant tuberculosis [J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2019, 42 (1) : 5-8.
- [36] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南 (2015)[J]. 中国防痨杂志, 2015, 37(5):421-469.
China Anti Tuberculosis Association. Guidelines for chemotherapy of drug resistant tuberculosis (2015) [J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2015, 37 (5): 421-469
- [37] 吴雪琼. 重视并进一步探索结核病的免疫治疗 [J]. 中国防痨杂志, 2017, 39(2):111-113.
WU Xueqiong. Pay attention and explore the immunotherapy of tuberculosis [J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2017, 39(2): 1000-6621.
- [38] CHENG Yong, SCHOREY J S. Extracellular vesicles deliver *Mycobacterium* RNA to promote host immunity and bacterial killing[J]. EMBO Reports, 2019, 20(3): e46613.
- [39] LI Zhongxia, WANG Yizhi, LIU Xin, et al. Interleukin-32 ϵ induces caspase-independent apoptosis mediated by N-Myc interactor in macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. FEBS Journal, 2019, 286(3): 572-583.
- [40] 中华医学会结核病学分会. 抗结核药物超说明书用法专家共识编写组. 抗结核药物超说明书用法专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(6):447-460.
Chinese Society for Tuberculosis, Chinese Medical Association, Expert Consensus on the Use of Anti-Tuberculosis Drugs Over-Instructions. Expert consensus on the use of anti-tuberculosis drugs over-instructions[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2018, 41(6): 447-460.
- [41] SANKHE K, KHAN T, BHAVSAR C, et al. Selective drug deposition in lungs through pulmonary drug delivery system for effective management of drug-resistant TB[J]. Expert Opinion on Drug Delivery, 2019, 16(5): 525-538.