

· 临床论著 ·

耐多药结核分枝杆菌临床分离株 30 株 对氟喹诺酮类及二线注射类抗结核药 敏感性的分析

刘一典 桂徐蔚 景玲杰 郝晓晖 姚岚 韩敏 陈晋 唐神结

【摘要】 目的 了解耐多药结核分枝杆菌对氟喹诺酮类和(或)二线注射类抗结核药物的敏感性情况。方法 收集2011年6~9月采用Bactec-MGIT 960检测的30株耐多药结核分枝杆菌临床分离株,检测其对氟喹诺酮类及二线注射类抗结核药的药敏结果并进行分析。结果 30株耐多药结核分枝杆菌菌株对氟喹诺酮类和二线注射类抗结核药物耐药共21株(70%)。单药耐药依次为:氧氟沙星耐药19株(63.33%),莫西沙星耐药13株(耐药率43.33%),左氧氟沙星耐药10株(耐药率33.33%),阿米卡星耐药9株(耐药率30%),卷曲霉素最少(26.67%)。氧氟沙星耐药率高于左氧氟沙星耐药和三种氟喹诺酮类药物同时耐药,差异有统计学意义($P=0.038$)。氟喹诺酮类任意耐药及两种注射类药物任意耐药共8株[即广泛耐药结核病(XDR-TB)]。氟喹诺酮类任意耐药及两种注射类药物敏感为11株,氟喹诺酮类均敏感及两种注射类药物任意耐药为2株,相比差异有统计学意义($P=0.001$)。结论 耐多药结核病(MDR-TB)临床分离株对氟喹诺酮类药物耐药严重,氟喹诺酮类药物的耐药也是早期XDR-TB菌株的耐药主要形式。因此,氧氟沙星不建议作为MDR-TB的治疗用药。而MDR-TB临床分离株对阿米卡星和卷曲霉素敏感性较好,推荐可用于MDR-TB的首选药物。

【关键词】 结核,抗多种药物性;分枝杆菌,结核;喹诺酮类;卷曲霉素硫酸盐;丁胺卡那霉素

Fluoroquinolones and second-line injectable anti-TB drug susceptibility analysis in 30 multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates LIU Yi-dian, GUI Xu-wei, JING Ling-jie, HAO Xiao-hui, YAO Lan, HAN Min, CHEN Jin, TANG Shen-jie. Department of Tuberculosis, Shanghai Pulmonary Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: TANG Shen-jie, Email: tangsj1106@sina.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the drug susceptibility of fluoroquinolones and/or second-line injectable anti-TB drugs in multidrug resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis*. **Methods** A total of 30 clinical isolates of MDR *Mycobacterium tuberculosis* were gathered, identified by Bactec-MGIT 960, tested for drug susceptibility of fluoroquinolones and second-line injectable anti-TB drug, and the results were analysed. **Results** Twenty one isolates were resistant to fluoroquinolones or second-line injectable anti-TB drug in 30 MDR *Mycobacterium tuberculosis* isolates. Single drug resistance followed by: ofloxacin resistance was 19 isolates (resistance rate 63.33%); moxifloxacin resistance was 13 isolates (resistance rate 43.33%); levofloxacin resistance was 10 isolates (33.33%); Amikacin resistance was 9 isolates (30%) and with capreomycin 8 isolates (26.67%). The resistant rate of Ofloxacin was higher than that of levofloxacin and total of the three fluoroquinolones, and there was statistically significance ($P=0.038$). 8 isolates were resistant to any one of fluoroquinolones and at least one of two injectable drugs (XDR-TB). 11 isolates were resistant to any one of fluoroquinolones and also sensitive to two injectable drugs. 2 isolates were sensitive to all three fluoroquinolones and resistant to at least one of two injectable drugs. The difference was statistically significant ($P=0.001$). **Conclusions** MDR-TB clinical isolates are resistant to fluoroquinolones seriously. Meanwhile, resistance to fluoroquinolones was a mainly form of pre-XDR-TB isolates. Therefore, Ofloxacin is not recommended for the treatment of MDR-TB. However, MDR-TB clinical isolates are more sensitive to amikacin and capreomycin which can be applied to the treatment of MDR-TB.

【Key words】 Tuberculosis, multidrug-resistant; *Mycobacterium tuberculosis*; Quinolones; Capreomycin sulfate; Amikacin

耐药和耐多药结核病(MDR-TB)的流行是目前结核病疫情居高不下的主要原因^[1-2]。广泛耐药结核病(XDR-TB)自发现以来,对全球公共卫生构成了极大的威胁。WHO最新报告显示,截止2011年3月在世界69个国家证实了XDR-TB的存在,随着全球耐药监测范围的进一步扩大,XDR-TB病例将会在越来越多的国家被发现^[3]。在MDR-TB的治疗中,氟喹诺酮类药物和二线注射类抗结核药物尤为重要,是组成MDR-TB治疗方案的核心。对这两类药物的耐药不仅意味着疗效不佳,也意味着进展为XDR-TB。为了解耐多药结核分枝杆菌对氟喹诺酮类和注射类抗结核药物的敏感性情况,我们收集耐多药结核分枝杆菌临床分离株,使用Bactec-MGIT 960对上述两类药物的敏感性进行了研究分析,报道如下。

资料与方法

一、菌株来源

耐多药结核分枝杆菌临床分离株为收集2011年6~9月上海市肺科医院住院及门诊肺结核患者,使用Bactec-MGIT 960分枝杆菌培养系统培养结果阳性,经对硝苯甲酸(PNB)、噻吩二羧酸肼(TCH)菌种鉴定,排除非结核分枝杆菌,经Bactec-MGIT 960药敏测试同时对利福平和异烟肼耐药的菌株。结核病病例来源绝大部分为上海周边省市,部分来自于其他省市。

二、接种培养与药敏检测

使用美国BD公司的Bactec-MGIT 960液体培养管、添加剂及药敏试剂盒。左氧氟沙星、莫西沙星购自Sigma公司。严格按照Bactec 960操作规程进行,痰标本经前处理后,接种于MGIT培养管中送入Bactec 960全自动分枝杆菌检测系统进行孵育培养,阳性培养管进行涂片染色观察及菌型鉴定;药敏操作程序按照《Bactec-MGIT 960全自动分枝杆菌检测仪培训手册》药敏规定标准方法操作,卷曲霉素、阿米卡星、氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星的药物敏感性试验参考相关文献执行^[4-5]。

三、药敏检测浓度

检测药物包括阿米卡星、卷曲霉素、氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星。各种药物药敏检测的终浓度:阿米卡星 1.0 μg/ml,卷曲霉素 2.5 μg/ml,氧氟沙星 2.0 μg/ml,左氧氟沙星 2.0 μg/ml,莫西沙星 0.25 μg/ml。

四、统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件进行统计处理,组间差异选用Fisher精确概率法计算, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

一、耐多药结核分枝杆菌菌株对氟喹诺酮类及注射类抗结核药的总体耐药情况

30株耐多药结核分枝杆菌菌株共21株对氟喹诺酮类和注射类抗结核药物耐药(70%)。总体耐药情况如下:阿米卡星、卷曲霉素、氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星5种抗结核药均敏感9株,5种抗结核药全耐药3株。单药耐药以氧氟沙星耐药最多(63.33%),卷曲霉素最少(26.67%)。耐药类型中以氟喹诺酮类任意耐药最多(63.33%),注射类全敏感最多(66.67%)。XDR-TB中5药全耐药最多(37.5%),见表1。

表1 30株MDR-TB菌株对5种二线药物耐药情况

耐药情况	菌株数	耐药率(%)
全敏感	9	30.00
全耐药	3	10.00
单药耐药		
氧氟沙星	19	63.33
左氧氟沙星	10	33.33
莫西沙星	13	43.33
阿米卡星	9	30.00
卷曲霉素	8	26.67
耐药类型		
氟喹诺酮类全敏感	11	36.66
氟喹诺酮任意耐药	19	63.33
氟喹诺酮类全耐药	10	33.33
注射类全敏感	20	66.67
注射类任意耐药	10	33.33
注射类全耐药	7	23.33
XDR-TB类型	8	
5药全耐药	3	37.50
氧氟沙星耐药+注射类全耐药	2	25.00
氟喹诺酮类全耐药+注射类任意耐药	2	25.00
氧氟沙星耐药+阿米卡星耐药	1	12.50
Pre-XDR-TB类型	13	
氟喹诺酮类全耐药+注射类全敏感	5	38.46
氧氟沙星耐药+注射类全敏感	3	23.08
氧氟沙星莫西沙星耐药+注射类全敏感	3	23.08
氟喹诺酮类全敏感+注射类全耐药	2	15.38

二、对注射类抗结核药物敏感性情况

30株耐多药结核分枝杆菌菌株中,对阿米卡星耐药9株(耐药率30%),卷曲霉素耐药8株(耐药率26.67%)。20株(66.67%)对阿米卡星和卷曲霉素同时敏感;7株(23.33%)对两药同时耐药。其余3株为

2株对阿米卡星耐药和卷曲霉素敏感,1株为对卷曲霉素耐药和阿米卡星敏感。

三、对氟喹诺酮类药物敏感性情况

30株耐多药结核分枝杆菌菌株对氧氟沙星耐药19株(耐药率63.33%),对左氧氟沙星耐药10株(耐药率33.33%),莫西沙星耐药13株(耐药率43.33%)。同时对三药耐药10株(33.33%),同时对三药敏感11株(36.67%),其余9株中6株对氧氟沙星耐药,而对左氧氟沙星和莫西沙星同时敏感;其余3株为对氧氟沙星耐药,对左氧氟沙星敏感,而对莫西沙星耐药。氧氟沙星耐药率高于左氧氟沙星耐药和三种氟喹诺酮类药物同时耐药,差异有统计学意义($P=0.038$)。

四、对氟喹诺酮类药物和注射类抗结核药物的联合药物敏感性情况

氧氟沙星(耐药19株)与阿米卡星(耐药9株)及卷曲霉素(耐药8株)的耐药株的差异有统计学意义($P=0.019$ 和 $P=0.009$),其余药物之间耐药株的差异未见统计学意义。对氟喹诺酮类药物和注射类抗结核药物两类药物的联合药物敏感性分析示各组间的分布较接近,结果详见表2。其中氟喹诺酮类任意耐药及两种注射类药物任意耐药(即XDR-TB)共8株(26.67%);氟喹诺酮类全耐药及注射类两药任意耐药共5株两者相比无统计学差异($P=0.532$)。氟喹诺酮类任意耐药及注射类药物敏感为11株,氟喹诺酮类均敏感及注射类药物任意耐药为2株,相比差异有统计学意义($P=0.001$)。

表2 氟喹诺酮类药物和注射类抗结核药物敏感/耐药株数的联合分析表(株)

项目	阿米卡星耐药	阿米卡星敏感	卷曲霉素耐药	卷曲霉素敏感	两药任意耐药	两药敏感
氧氟沙星耐药	7	12	6	13	8	11
氧氟沙星敏感	2	9	2	9	2	9
左氧氟沙星耐药	4	15	4	6	5	5
左氧氟沙星敏感	6	5	4	16	5	15
莫西沙星耐药	4	9	4	9	5	8
莫西沙星敏感	5	12	4	13	5	12
氟喹诺酮任意耐药	7	12	6	13	8	11
氟喹诺酮类全敏感	2	0	2	0	2	9
氟喹诺酮全耐药	4	6	5	5	5	5

讨 论

我国是全球22个结核病高负担国家之一,结核病发病人数居世界第二位^[6]。我国于2007~2008年在全国范围开展了最新的结核病耐药基线调查,结果显

示,我国肺结核病患者中总耐药率38%,单耐药率21%;耐多药率为8.32%,广泛耐药率为0.68%,均远高于平均水平^[7]。据此估计,全国每年新发耐药结核病患者56万,MDR-TB 12万,XDR-TB近1万人。如此众多的耐多药肺结核患者是持续不断的传染源,被认为是实施DOTS计划后结核发病率下降缓慢的重要因素。

本次调查示MDR-TB临床分离株耐药严重,对二线药物耐药达70%。以氟喹诺酮类药物耐药为主,氧氟沙星耐药最为严重,达63.33%,如此高的耐药,说明氧氟沙星并不适用于MDR-TB的治疗。其余药物单药耐药在26.67%~43.33%。按照WHO耐药结核病规划管理指南^[8-9]及我国的耐药结核病化学治疗指南(2009)^[10],在MDR-TB的治疗方案中注射类抗结核药物和氟喹诺酮类药物显得尤为重要,是MDR-TB治疗方案中强有力的核心药物。多项研究肯定了氟喹诺酮类药物的抗结核作用^[11],故WHO及我国指南将其列为MDR-TB治疗药物的第三组^[8-10],临床也将氟喹诺酮类药物作为耐药结核病治疗中最主要的药物^[12]。本次调查发现,在所有的二线5种药物中氧氟沙星耐药率最高(63.33%),氧氟沙星的耐药率与左氧氟沙星耐药率相比差异有统计学意义,说明氧氟沙星的耐药尤为严重,不建议选用该药。

需要注意的是,氧氟沙星耐药19株,其中分别有10株三种氟喹诺酮类药物全耐药及10株左氧氟沙星耐药,氧氟沙星耐药株与两者相比差异有统计学意义($P=0.038$),但与13株莫西沙星耐药相比差异无统计学意义。证实氧氟沙星耐药并不代表左氧氟沙星耐药。同时可见,氧氟沙星耐药株其中分别有47.37%(9株/19株)和31.57%(6株/19株)的菌株对左氧氟沙星和莫西沙星敏感,由此可见,氧氟沙星耐药者使用左氧氟沙星、莫西沙星仍可能有较好疗效,当然本次菌株数有限,期待更多耐药资料分析。因实际工作中,并未日常开展左氧氟沙星和莫西沙星的药物敏感性测定工作,在工作中需结合用药史,对氧氟沙星耐药者或考虑氟喹诺酮类药物可能耐药者,可直接选用莫西沙星或加替沙星,但不应将其视为耐药结核病化疗中的核心药物^[11]。本次调查也说明迫切需要引进所有氟喹诺酮类药物耐药性测定,以指导耐药结核的治疗用药。

3株MDR-TB菌株对氧氟沙星和莫西沙星耐药,而对左氧氟沙星敏感,是否与左氧氟沙星的早期杀菌活性优于莫西沙星有关^[13],需要更多的研究;考虑可能与参考文献的药物浓度设定有关(氧氟沙星2.0 μg/ml,左氧氟沙星2.0 μg/ml,莫西沙星0.25 μg/ml),同样有学者对此浓度提出质疑^[14],也需要更多的研究和调查分析。

二线注射类抗结核药物为指南的MDR-TB治疗药物的第二组。二线注射类抗结核药物的耐药率(阿米

卡星耐药率 30%, 卷曲霉素耐药率 26.67%) 低于氟喹诺酮类药物耐药率(氧氟沙星耐药率 63.33%, 左氧氟沙星耐药率 33.33%, 莫西沙星耐药率 43.33%), 并与氧氟沙星相比有统计学差异, 与既往报道调查类似, 氧氟沙星的耐药率最高, 显著高于阿米卡星和卷曲霉素^[15]。说明阿米卡星和卷曲霉素的耐药显著少于氟喹诺酮类, 在 MDR-TB 菌株中, 对二线注射类抗结核药物的敏感性较高, 有利于在治疗中优先选择使用。

本次调查中 XDR-TB 菌株 8 株(26.67%), 二线药物全敏感 5 株, 在其余 13 株对二线抗结核药物耐药的 MDR-TB 菌株(可称为早期 XDR-TB 菌株)中, 11 株为对氟喹诺酮类药物一种至全部耐药, 同时对阿米卡星和卷曲霉素敏感; 2 株为对阿米卡星和卷曲霉素两药耐药, 对氟喹诺酮类药物敏感, 相比差异有统计学意义($P=0.001$), 说明对氟喹诺酮类药物的耐药是早期 XDR-TB 菌株的耐药主要形式, 对氟喹诺酮类药物的耐药是 MDR-TB 向 XDR-TB 进展的耐药主要形式。

总之, 通过本次调查, 发现 MDR-TB 临床分离株对氟喹诺酮类及注射类抗结核药耐药严重, 对以氧氟沙星为主的氟喹诺酮类药物耐药尤为严重, 氟喹诺酮类药物的耐药也是早期 XDR-TB 菌株的耐药主要形式。氧氟沙星不建议作为 MDR-TB 的治疗用药。MDR-TB 临床分离株对二线注射类抗结核药物敏感性与氟喹诺酮类药物相比更好, 可优先选择使用。临床工作中, 迫切需要引进所有氟喹诺酮类药物耐药性测定, 以指导耐药结核的治疗用药。

参 考 文 献

[1] WHO. Global tuberculosis control and patient care: a ministerial meeting of high M/XDR-TB burden countries. Beijing: China, 2009.

刘一典, 桂徐蔚, 景玲杰, 等. 耐多药结核分枝杆菌临床分离株 30 株对氟喹诺酮类及二线注射类抗结核药敏感性的分析[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(4): 1565-1568.

- [2] 唐神结, 肖和平. 广泛耐药结核病的现状与对策. 中华医学杂志, 2011, 91: 355-358.
- [3] WHO. Towards universal access to diagnosis and treatment of multi-drug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis by 2015: WHO progress report 2011.
- [3] WHO. Geneva: 2008. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs.
- [4] Rüscher-Gerdes S, Pfyffer GE, Casal M, et al. Multicenter Laboratory Validation of the BACTEC MGIT 960 Technique for Testing Susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis to Classical Second-Line Drugs and Newer Antimicrobials. J Clin Microbiol, 2006, 44: 688-692.
- [5] Donald PR, van Helden PD. The global burden of tuberculosis-combating drug resistance in difficult times. N Engl J Med, 2009, 360: 2393-2395.
- [6] 王黎霞. 中国耐多药结核病的控制亟待加强. 中华结核和呼吸杂志, 2009, 32: 561-563.
- [7] WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. 2008.
- [8] WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis 2011 update.
- [9] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2009). 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33: 485-497.
- [10] 唐神结, 高文. 临床结核病学. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [11] 初乃惠, 黄学锐. 氟喹诺酮类药物在结核病治疗中的应用[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2010, 4: 905-907.
- [12] 唐神结, 肖和平. 严重耐多药结核病的研究进展. 中华结核和呼吸杂志, 2009, 32: 380-383.
- [13] 崔振玲, 王洁, 陆俊梅, 等. 结核分枝杆菌临床分离株对三种氟喹诺酮类药物的敏感性分析研究[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2009, 3: 1947-1952.
- [14] 沈鑫, 李静, 高谦, 等. 2009年上海市耐药肺结核患者二线抗结核药物耐药状况调查. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34: 451-453.
- [15] 刘一典, 唐神结, 景玲杰, 等. 上海地区结核分枝杆菌对一线和二线药物的耐药性分析. 中华传染病杂志, 2011, 9: 544-548.

(收稿日期: 2012-10-30)

(本文编辑: 戚红丹)