

耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药物敏感性观察

陈惠芬¹, 黄秋生¹, 高爱霞¹, 华少鹏¹, 程亮¹, 刘君², 黄茂³

(¹ 无锡市第五人民医院呼吸科, ² 检验科, 江苏 无锡 214000; ³ 南京医科大学第一附属医院呼吸科, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:了解本地区耐多药结核分枝杆菌(multiple drug-resistance *Mycobacterium tuberculosis*, MDR-MTB)对二线抗结核药物耐药状况,为治疗耐多药结核病提供参考。方法:收集本院2010年1月~2012年12月来自涂阳肺结核患者的痰培养阳性、经菌种鉴定和一线药物的药物敏感性试验确定为耐多药的结核分枝杆菌株77株,采用绝对浓度法对5种二线抗结核药物:氧氟沙星(OFLX)、对氨基水杨酸(PAS)、丁胺卡那(AMK)、卷曲霉素(CPM)及丙硫异烟胺(Pto)进行药物敏感性检测,并对耐药状况进行分析。结果:2010~2012年本院培养分离出MDR-MTB77株,其中25株来自初治肺结核患者,52株来自复治肺结核患者,对5种二线药物的总耐药率为72.73%(56/77),初治耐药率为60.0%(15/25),复治耐药率为71.15%(37/52);广泛耐多药结核分枝杆菌(XDR-MTB)21株占27.27%(21/77),其中来自初治者1例(4%),来自复治者20例(38.46%)。MDR-MTB对PAS、AMK、CPM、OFLX、Pto的耐药率分别为33.77%、14.29%、19.48%、64.94%和24.68%。MDR-MTB对不同组合的二线抗结核药物(OFLX+Pto、OFLX+CPM+Pto、OFLX+AMK+Pto、OFLX+Pto+PAS、CPM+PAS+OFLX+Pto和AMK+PAS+OFLX+Pto)分别为23.38%、10.39%、5.19%、12.99%、6.49%和6.49%。结论:无锡地区MDR-MTB对二线抗结核药物耐药性较严重,应加强对MDR-MTB的耐药性监测,合理选择二线抗结核药物治疗MDR-TB。

[关键词] 结核分枝杆菌;耐多药结核分枝杆菌;二线抗结核药物;药敏试验

[中图分类号] R978.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)01-069-03

doi:10.7655/NYDXBNS20140117

目前全球结核病疫情恶化,耐药结核分枝杆菌的出现,特别是耐多药结核分枝杆菌(MDR-MTB)的感染是造成结核病疫情居高不下的重要原因之一^[1]。二线抗结核药物[氨基水杨酸(PAS)、丁胺卡那霉素(AMK)、卷曲霉素(CPM)、氧氟沙星(OFLX)、丙硫异烟胺(Pto)]在治疗耐多药结核分枝杆菌感染的肺结核病中起着非常重要作用。但是,近些年很多来自于涂阳肺结核患者的MTB菌株表现为耐多药,甚至广泛耐多药结核分枝杆菌(extensively drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*, XDR-MTB),对二线抗结核药物的耐药性也日趋明显,给临床治疗带来极大困难。了解本地区MDR-MTB对二线抗结核药物的耐药状况极其重要,为此笔者对2010~2012年分离出的MDR-MTB对二线抗结核药物耐药状况进行分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

收集2010年1月~2012年12月于无锡市第五人民医院(无锡市传染病医院)就诊涂阳肺结核病例的MTB菌株,其中菌种鉴定为结核分枝杆菌的耐

多药菌株(即包含耐异烟肼和利福平在内的2种以上药物者)77株。

1.1.2 标准菌株和抗结核药物

人型结核分枝杆菌(H37Rv)及PAS、AMK、CPM、OFLX、Pto由中国结核病防治临床中心国家参比实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 培养

所有标本均经痰抗酸杆菌涂片,萋尼氏热染,对痰涂片阳性的标本采用MGIT960培养箱进行MTB的分离培养并进行菌型鉴定和一线药物的药物敏感性试验确定为耐多药的结核分枝杆菌株。

1.2.2 药敏试验

采用绝对浓度法对PAS、AMK、CPM、OFLX、Pto进行药物敏感性测定。PAS、AMK、CPM、OFLX、Pto按生物效价准确计算,配方和制备方法按《临床技术操作规范结核病分册》^[2]进行。PAS、AMK、CPM、OFLX、Pto浓度见表1。每批药敏试验用MTB标准菌株H37Rv作为敏感对照,考核含药培养基质量。含药培养基上生长菌落数>20个,则判定为耐药;没有菌落生长则判定为敏感;若对照培养基上生长的菌落数<20个,则重复试验。

表 1 5 种二线抗结核分枝杆菌药物的浓度

药物名称	浓度($\mu\text{g/ml}$)
对氨基水杨酸(PAS)	1
丁胺卡那霉素(AMK)	10
卷曲霉素(CPM)	100
氧氟沙星(OFLX)	5
丙硫异烟胺(Pto)	25

1.3 统计学方法

标本的检测数据结果统计采用 Microsoft Excel, 药物敏感性分析使用 WHO 的 SDRTB4 结核病耐药检测软件, 统计耐药率。

2 结果

2.1 总体耐药情况

2010~2012 年本院培养分离出 MDR-MTB 77 株, 其中来自初治涂阳肺结核患者的 MDR-MTB 25 株, 来自复治肺结核患者的 MDR-MTB 52 株。对 5 种二线药物的总耐药率为 72.73%(56/77)。初治耐药率为 60.0%(15/25), 复治耐药率达 71.15%(37/52)。根据广泛耐药的定义: 患者所感染结核分枝杆菌除同时对异烟肼、利福平和喹诺酮类抗生素耐药之外, 还对二线抗结核注射药物中的至少 1 种耐受。XDR-MTB 21 株占 27.27%(21/77), 包括来自初治者 1 株[4.00%(1/25)], 来自复治者 20 株[38.46%(20/52)]。

2.2 MDR-MTB 对 5 种二线抗结核单种药物敏感率

77 株 MDR-MTB 对常见的二线抗结核药物的耐药率处于较高水平, 从高到低依次为 OFLX、PAS、Pto、CPM、AMK, 尤其 MDR-MTB 对 OFLX 的耐药率高达 64.94%(表 2)。

表 2 MDR-MTB 对二线抗结核药物的耐药率

药物	耐药菌株(株)	耐药率(%)
PAS	26/77	33.77
AMK	11/77	14.29
CPM	15/77	19.48
OFLX	50/77	64.94
Pto	19/77	24.68

2.3 MDR-MTB 对不同二线抗结核药物组合的药物敏感率

77 株 MDR-MTB 对不同二线抗结核药物组合的药物敏感试验结果表明 MDR-MTB 对不同二线抗结核药物组合及不同数量二线抗结核药物组合的耐药率有不同(表 3)。

表 3 MDR-MTB 对不同二线抗结核药物组合的药物敏感试验结果

药物组合	耐药菌株(株)	耐药率(%)
OFLX+Pto	18/77	23.38
OFLX+CPM+Pto	8/77	10.39
OFLX+AMK+Pto	4/77	5.19
OFLX+Pto+PAS	10/77	12.99
CPM+PAS+OFLX+Pto	5/77	6.49
AMK+PAS+OFLX+Pto	5/77	6.49

3 讨论

WHO 资料显示中国现有的耐药结核病患者数占全球 20% 左右, 结核病防治形势严峻。2007~2008 年全国结核病耐药基线调查显示: 我国肺结核患者中耐多药率为 8.32%, 广泛耐药率为 0.68%^[3], 耐药状况比较严重, 结核病的控制面临着巨大挑战。PAS、AMK、CPM、OFLX、Pto 作为常用的二线抗结核药物, 在多耐药、耐多药、泛耐药 MTB 感染的防治中起着极其重要作用。目前 MDR-MTB 日益增多, 给临床工作带来相当困难, 因此了解本地区 MTB 对二线抗结核药物耐药状况非常有必要, 并可为耐多药结核病防治提供参考。

本文对 77 例 MDR-MTB 的 5 种二线药物敏感性检测发现其对二线药物的耐药到了非常严重程度, 对 5 种药的总耐药率为 72.73%(56/77), 初治耐药率为 60.0%(15/25), 复治耐药率达 71.15%(37/52)。提示本地区 MDR-MTB 对二线抗结核药物的耐药状况令人堪忧。目前泛耐药结核病在全球呈蔓延之势^[4], 本研究发现了 XDR-MTB 21 例, 其中来自初治肺结核患者 1 例(4%), 复治肺结核患者 20 例(38.46%), XDR-MTB 所占比例为 27.27%(21/77), 大大高于 2007~2008 年全国结核病耐药性基线调查报告结果[401 株耐多药菌株中, 广泛耐药菌株有 29 株(7.23%)]^[5], 这给本地区结核病防治带来极大的困难, 需引起人们的高度关注和警觉。

本研究结果显示, 77 株来自初治涂阳肺结核的 MDR-MTB 菌株对二线抗结核药物初始单药耐药率从高到低依次为 OFLX(64.94%)>PAS(33.77%)>Pto(24.68%)>CPM(19.48%)>AMK(14.29%), MDR-MTB 对上述 5 种二线抗结核药物耐药严重, 尤其对 OFLX 的耐药极其严重, 其耐药率高达 64.94%, 分析其原因可能是因为氧氟沙星近年来在临床上广泛应用甚至滥用, 从而增加了其耐药率。OFLX 与一、二线抗结核药物存在交叉耐药性, 对 OFLX 的高耐药率增加了治疗耐药结核病的难度^[6]。本研究中 MDR-

MTB 对 CPM 及 AMK 的耐药顺位靠后,考虑与本地区近些年临床上 AMK 应用少有关,而 CPM 在临床上仅仅作为二线抗结核药物使用,但耐药率仍显著高于陈松华等^[7]的报道结果(11.11%、3.70%)。PAS 的耐药率达 33.77%,也明显高于陈松华等^[7]的报道结果(29.63%);PAS 主要应用于耐多药、多耐药及泛耐药结核病,临床使用频率不高,耐药率高的原因可能与临床医生在一些治疗效果欠佳的初治肺结核患者中应用力克肺疾(异烟肼+对氨基水杨酸)而导致 PAS 耐药性增加。

尽管临床上极少应用,但本研究结果显示 MDR-MTB 对丙硫异烟胺的耐药率达 24.68%,分析其耐药率较高的原因可能与丙硫异烟胺的特性有关,与其他二线药物相比,丙硫异烟胺在临床使用后较易出现耐药并且与异烟肼存在交叉耐药^[8]。de Kantor 等^[9]发现未使用过抗结核药物治疗患者对乙硫异烟胺的耐药率分别为 13.2%,而经过乙硫异烟胺治疗 3 个月后,耐药率为 86%。

临床上治疗 MDR-TB 或 XDR-TB 多选用由多种敏感二线抗结核药物组成的抗结核方案。本文就本地区常用的 5 种二线抗结核药物进行组合,开展 MDR-MTB 对组合二线药物敏感实验,以期为本地区耐多药结核病治疗提供了相应的药物敏感依据,为临床耐多药结核病治疗的药物组合提供参考。研究发现 MDR-MTB 对不同的药物组合的敏感性不同,OFLX+AMK+Pto 及 CPM(AMK)+PAS+OFLX+Pto 组合耐药率较低,OFLX+Pto、OFLX+CPM+Pto 及 OFLX+Pto+PAS 组合耐药率较高。建议经验性治疗 MDR-TB 或 XDR-TB 应结合本地区耐药监测资料,根据药敏试验结果再制订个体化抗痨方案。

综上所述,本地区来自涂阳肺结核患者的 MDR-MTB 对二线抗结核药物的耐药状况非常严重,需引起我们的足够重视。结核分枝杆菌耐药突

变株的自然变异率极低,MDR-MTB 的产生主要是由于不规律治疗、不合理用药等因素所致^[10],因此在肺结核病防治中应该坚持规律合理用药,这样可以减少 MDR-MTB 的产生。

[参考文献]

- [1] 李仁龙,林琳. 100 株结核分枝杆菌耐药情况分析[J]. 中国实用医药,2007,2(33):88-89
- [2] 中华医学会. 临床技术操作规范[M]. 北京:人民军医出版社,2004:32-34
- [3] 中华人民共和国卫生部. 全国结核病耐药性基线调查报告(2007-2008)[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:2-3
- [4] Wright A,Bai G,Barrera L,et al. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs worldwide,2000-2004 [R]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep,2006,55:301-305
- [5] 中华人民共和国卫生部. 全国结核病耐药性基线调查报告(2007-2008)[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:33
- [6] Walwaikar PP,Morge VK,Gawde AS. Ofloxacin in multidrug resistant tuberculosis [J]. J Indian Med Assoc, 2003,101(3):210-212
- [7] 陈松华,王晓萌,柳正卫,等. 浙江省耐多药结核病例中二线耐药状况分析 [J]. 中国预防医学杂志,2011,12(9):761-764
- [8] Vilcheze C,Weisbrod TR,Chen B,et al. Altered NADH/NAD + ratio mediates coresistance to isoniazid and ethionamide in mycobacteria [J]. Antimicrob Agents Chemother,2005,49(2):708-720
- [9] De Kantor IN,Barrera L. Susceptibility tests to second line drugs and retreatment of tuberculosis revisiting early experiences [J]. Medicina (B Aires),2007,67(3):231-237
- [10] WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis[M]. Geneva:WHO,2006:361

[收稿日期] 2013-07-28