

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.03.002

· 论 著 ·

河北省五市结核分枝杆菌耐药情况及耐多药菌株对利奈唑胺的敏感性

许 怡, 张 志, 田岳颀, 李雅楠, 高会霞

(石家庄市第五医院, 河北 石家庄 050021)

[摘要] **目的** 了解河北省结核分枝杆菌耐药情况, 以及耐多药结核分枝杆菌对利奈唑胺的敏感性, 指导临床治疗耐多药结核病。**方法** 收集河北省五市六所医院 2016 年 1—12 月 974 例结核病患者分离菌株及患者临床信息, 检测结核分枝杆菌对抗结核药物异烟肼(INH)、利福平(RFP)、链霉素(SM)、乙胺丁醇(EMB)、氧氟沙星(OFX)、卡那霉素(KM)的敏感性, 采用分层随机法选取 100 株耐多药结核分枝杆菌, 检测其对利奈唑胺的敏感性。**结果** 结核病初治患者的耐药率和耐多药率分别为 26.6%(200/753)和 13.5%(102/753), 复治患者的耐药率和耐多药率分别为 59.7%(132/221)和 53.4%(118/221), 复治患者耐药率和耐多药率均高于初治患者(χ^2 值分别为 83.7、93.5, 均 $P < 0.01$)。一线抗结核药物 INH、RFP、SM 和 EMB 的耐药率分别为 25.8%、23.7%、16.7% 和 7.1%; 二线抗结核药物 OFX 和 KM 的耐药率为 4.7%(37/782)和 4.0%(31/782); 耐多药结核分枝杆菌对利奈唑胺的敏感率为 80.8%(59/73)。**结论** 结核病复治患者耐药率和耐多药率高于初治患者, 利奈唑胺体外对耐多药结核分枝杆菌具有良好的抗菌活性。

[关键词] 结核病; 结核分枝杆菌; 利奈唑胺; 耐多药; 体外敏感性

[中图分类号] R181.3⁺2 R521 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2018)03-0191-05

Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* and susceptibility of multidrug-resistant strains to linezolid in 5 cities in Hebei Province

XU Yi, ZHANG Zhi, TIAN Yue-yang, LI Ya-nan, GAO Hui-xia (The Fifth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050021, China)

[Abstract] **Objective** To understand the drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and susceptibility of multidrug-resistant MTB (MDR-MTB) to linezolid in Hebei Province, so as to guiding clinical treatment of MDR tuberculosis. **Methods** The isolated strains and clinical information of patients with tuberculosis in 6 hospitals of 5 cities in Hebei Province between January and December 2016 were collected, susceptibility of MTB to antituberculous drugs isoniazid (INH), rifampicin(RFP), streptomycin (SM), ethambutol(EMB), ofloxacin(OFX), and kanamycin(KM) were detected, 100 strains of MDR-MTB were selected by stratified random sampling method, susceptibility to linezolid was detected. **Results** Drug resistance rate and MDR rate of the initially treated cases were 26.6%(200/753) and 13.5%(102/753) respectively, drug resistance rate and MDR rate of the retreatment cases were 59.7%(132/221) and 53.4%(118/221) respectively, drug resistance rate and MDR rate of the retreatment cases were both statistically higher than initially treated cases ($\chi^2 = 83.7, P < 0.01$; $\chi^2 = 93.5, P < 0.01$). Resistance rates of MTB to first-line antituberculous drugs INH, RFP, SM, and EMB were 25.8%, 23.7%, 16.7%, and 7.1% respectively, to second-line antituberculous drugs OFX and KM were 4.7%(37/782) and 4.0%(31/782) respectively; susceptibility of MDR-MTB to linezolid was 80.8% (59/73). **Conclusion** Drug resistance rate and MDR rate of the retreated tuberculosis patients are higher than initially treated patients, linezolid has good in vitro antimicrobial activity against MDR-MTB.

[收稿日期] 2017-07-28

[基金项目] 河北省医学科研重点课题项目(20150155)

[作者简介] 许怡(1984-), 女(汉族), 河北省石家庄市人, 主管检验师, 主要从事感染免疫方面研究。

[通信作者] 高会霞 E-mail: 13313215651@163.com

[Key words] tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; linezolid; multidrug resistance; in vitro antimicrobial susceptibility

[Chin J Infect Control, 2018, 17(3): 191-195]

结核病是严重危害人类健康的一类传染病,由感染结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引起,可分为肺结核和肺外结核。2014 年世界卫生组织(WHO)全球结核病报告数据显示,2013 年全球约有 900 万新发结核病例,其中有 150 万例患者死亡,我国的结核病新发病例 98 万例,约占全球的 11%,仅次于印度,位居全球第 2 位^[1]。耐多药结核病(multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB)多数是由于结核病患者在患病期间不规范用药和 MTB 自身生物因素形成。MDR-TB 患者有逐年增加的趋势,使得结核病成为重大的全球公共卫生问题。MDR-TB 患者的治疗通常需要使用二线抗结核药物,且疗程长、治愈率低,因此,需要新的、更有效的抗结核药物来替代目前的治疗方案。利奈唑胺是噁唑烷酮类抗生素,体外试验及动物实验表明,利奈唑胺对耐多药 MTB 表现出良好的抑菌活性^[2]。本研究主要通过通过对河北省五市六所医院的 MTB 的耐药情况进行分析,并研究利奈唑胺对耐多药 MTB 的体外药物敏感性,为临床上 MDR-TB 患者的治疗提供支持依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集河北省石家庄市第五医院、沧州市传染病医院、保定市传染病医院、河北大学附属医院、秦皇岛市第三医院、邢台市传染病医院五个地市六所医院 2016 年 1—12 月结核病患者培养的阳性菌株共 974 株。974 例患者年龄 15~78 岁,平均(38.46±1.97)岁,其中男性 676 例,女性 298 例,收集每个菌株的来源、药敏结果及患者信息。结核分枝杆菌标准菌株 H37Rv 购自中国药品生物制品检定所。

1.2 标准与定义

1.2.1 纳入标准 纳入菌株应符合以下标准:(1)菌株来源患者应为河北省户籍或者长期在河北省省内居住的外来人口;(2)入选菌株的药敏资料齐全,均已做过常用的抗结核药物的药敏试验。耐药组为对异烟肼(INH)和利福平(RFP)同时耐药,不论其是否对其他药物耐药的菌株;敏感组为对所有抗结核药物均敏感。

1.2.2 菌株定义 (1)敏感 MTB:对检测的 6 种抗

结核药物均敏感的 MTB。(2)耐药 MTB:对检测的任一种或一种以上的抗结核药物耐药的 MTB。(3)耐多药 MTB:至少同时对 RFP 及 INH 耐药的 MTB。

1.3 研究方法

1.3.1 固体药敏试验 根据《中国结核病防治规划实施工作指南(2008)》推荐的比例法(固体)检测结核分枝杆菌对常见抗结核药物的敏感性。接种两种不同浓度的菌液在两块药物浓度相同的中性改良罗氏培养基上,计数对照培养基(未加药)和含药培养基上细菌生长菌落数量,然后计算耐药百分比,确定菌株对该药的耐药性。药敏试验判断的临界度为 1%。含药培养基药液终浓度分别为:INH 0.2 μg/mL, RFP 40 μg/mL,链霉素(SM)4 μg/mL,乙胺丁醇(EMB)2 μg/mL,卡那霉素(KM)30 μg/mL,氧氟沙星(OFX)4 μg/mL。6 种药物的药敏试验由 6 所医院用上述实验方法及统一试剂(河南赛诺特生物技术有限公司提供的结核分枝杆菌药敏培养基)进行药敏试验,然后将药敏结果上报后统一进行分析。

1.3.2 液体药敏试验 通过 BACTETMMG-ITTM960 系统进行液体药敏试验,该技术是比较先进的荧光增强技术。首先在 MGITTM 培养管底部包埋有对氧浓度高度敏感的荧光指示剂,分枝杆菌在培养管内生长时消耗培养基中的氧气,荧光指示剂发出的荧光随氧浓度的下降逐渐增强。系统每 60 min 检测一次荧光值的变化,并通过系统软件自动计算并判断培养结果。将空白对照管(不含药)和含药培养基(每种药均设定关键浓度)中的信号进行比较,从而判断是否耐药。系统采用美国临床实验标准委员会(NCCLS)推荐的比例法(临界值为 1%)作为药敏结果的判断方法,自动判断药敏结果。含药培养基药液终浓度为利奈唑胺 1.0 μg/mL,阿米卡星 4.0 μg/mL。石家庄市第五医院统一对六所医院运送的菌株进行两种药物的药敏检测。

1.3.3 质量控制 对参加试验的人员进行统一培训,检测人员应具有熟练的药敏试验操作技术,且入选的菌株应具有完整的药敏信息,菌株来源的患者相关信息完整。数据收集过程,应该由一名工作人员负责采集信息,另一名工作人员负责复核。数据分析过程中严格控制混杂信息。

1.4 统计分析 应用 SPSS 19.0 统计学软件进行数

据处理,计数资料以分类频次及比率表示,组间差异比较采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTB 对一线抗结核药物的耐药情况 974 株 MTB 进行 INH、RFP、SM 和 EMB 4 种一线抗结核药物的药敏试验,其中 642 株 MTB 对 4 种药物全部

敏感,332 株至少对一种抗结核药物耐药,耐药率为 34.1%(332/974)。结核病初治患者耐药 200 例,耐多药 102 例,耐药率和耐多药率分别为 26.6%(200/753)和 13.5%(102/753);复治患者耐药 132 例,耐多药 118 例,耐药率和耐多药率为 59.7%(132/221)和 53.4%(118/221)。复治患者耐药率和耐多药率高于初治患者($\chi^2 = 83.7, P < 0.01; \chi^2 = 93.5, P < 0.01$)。见表 1。

表 1 结核病初治和复治患者对 4 种一线抗结核药物的药敏结果

Table 1 Antimicrobial susceptibility testing result of initially treated and retreated tuberculosis patients to 4 kinds of first-line anti-tuberculous drugs

药敏结果	初治 (n = 753)		复治 (n = 221)		合计 (n = 974)	
	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)
敏感	553	73.4	89	40.3	642	65.9
单耐药						
INH	27	3.6	4	1.8	31	3.2
RFP	9	1.2	2	0.9	11	1.1
SM	55	7.3	8	3.6	63	6.5
EMB	7	0.9	0	0.0	7	0.7
耐多药						
INH + RFP	42	5.6	45	20.4	87	8.9
INH + RFP + SM	35	4.6	36	16.3	71	7.3
INH + RFP + EMB	14	1.9	19	8.6	33	3.4
INH + RFP + SM + EMB	11	1.5	18	8.1	29	3.0

2.2 MTB 对一线抗结核药物的耐药率排序情况 检测的 4 种一线抗结核药物中,974 株 MTB 耐药率分别为 INH 25.8%, RFP 23.7%, SM 16.7%, EMB 7.1%;初治患者的耐药率为:INH 17.1%, RFP 14.7%, SM 13.4%, EMB 4.2%;复治患者的耐药率为:INH 55.2%, RFP 54.3%, SM 28.1%, EMB 16.7%。

2.3 MTB 对二线抗结核药物的耐药情况 974 株 MTB 中共 782 株菌株进行 OFX 和 KM 药敏检测,其中初治 605 例,复治 177 例。703 株菌对两种药物均敏感,敏感率为 89.9%(703/782);OFX 单耐药率为 4.7%(37/782),KM 单耐药率为 4.0%(31/782);OFX 和 KM 共同耐药率为 1.4%(11/782)。见表 2。

表 2 结核病初治和复治患者对两种二线抗结核药物的药敏结果

Table 2 Antimicrobial susceptibility testing result of initially treated and retreated tuberculosis patients to 4 kinds of second-line anti-tuberculous drugs

药敏结果	初治 (n = 605)		复治 (n = 177)		合计 (n = 782)	
	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)
敏感	563	93.1	140	79.1	703	89.9
单耐药						
OFX	21	3.5	16	9.0	37	4.7
KM	19	3.1	12	6.8	31	4.0
OFX + KM 耐药	2	0.3	9	5.1	11	1.4

2.4 耐多药 MTB 对利奈唑胺和阿米卡星的耐药情况 利用分层随机法从 974 株菌株选取 100 株耐多药 MTB,将选取的菌株在罗氏培养基中进行复苏,最

终有 73 株菌株复苏成功,对 73 株细菌进行药敏试验,结果显示耐多药 MTB 对利奈唑胺和阿米卡星的敏感率分别为 80.8%(59/73)和 76.7%(56/73)。见表 3。

表 3 各地区耐多药 MTB 对利奈唑胺和阿米卡星的药敏结果 (株)

Table 3 Antimicrobial susceptibility of MDR-TB to linezolid and amikacin in different cities (strain)

地区	阿米卡星		利奈唑胺	
	耐药	敏感	耐药	敏感
保定	2	5	4	3
石家庄	10	28	8	30
秦皇岛	2	5	0	7
邢台	0	10	1	9
沧州	3	8	1	10
合计	17	56	14	59

2.5 患者临床特征与耐多药分析 对 974 例患者的临床特征进行分析,结果显示,不同性别、年龄,吸烟与否,是否合并糖尿病,有无结核分枝杆菌接触史患者耐多药率比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);复治患者的耐多药率高于初治患者的耐多药率,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 974 例 MDR-TB 患者临床特征及耐多药情况

Table 4 Clinical features and multidrug resistance of 974 MDR-TB patients

项目	例数	耐多药例数	耐多药率 (%)	χ^2	P
性别				0.073	0.763
男性	676	151	22.3		
女性	298	69	23.2		
年龄(岁)				7.172	0.058
≤ 30	412	88	21.4		
31~	361	101	28.0		
≥ 60	201	31	15.4		
吸烟史				0.151	0.795
是	121	27	22.3		
否	853	193	22.6		
糖尿病				0.013	0.936
是	94	21	22.3		
否	880	199	22.6		
治疗史				94.296	< 0.001
初治	753	102	13.5		
复治	221	118	53.4		
接触史				0.814	0.327
有	78	22	28.2		
无	896	198	22.1		

3 讨论

目前,我国 MDR-TB 的病例较多,位居全球第二,仅次于印度;且中国和印度 MDR-TB 病例总数约占全球的 50%^[1]。2010 年第五次全国结核病流行病学调查资料显示,对常用抗结核药物进行药敏分析,

我国一线抗结核药物耐药率为 36.8%,二线抗结核药物耐药率为 24.6%,耐多药率为 6.8%^[2]。本次研究中,河北省五地市六所医院一线抗结核药物和二线抗结核药物的耐药率分别为 34.1%和 10.1%,均较 2010 年全国的调查结果低;耐多药率为 22.6%,则较 2010 年全国的调查结果高。此情况的出现原因可能包括以下几点:(1)当地人群免疫水平低下,且抗结核药物使用不规范使耐多药率偏高。(2)本次调查虽覆盖河北省五地市,但样本量较全国数据仍偏小,样本代表性相对偏小。(3)此次选取的菌株大多来自于各地市的结核病定点治疗医院,MDR-TB 患者所占比例较高,因此,耐多药率高于全国结核病耐多药率。

据全国流行病学资料统计,我国 15 岁以上的 MDR-TB 患者数是 33.9 万,广泛耐药结核病患者是 10.5 万^[3]。近年来,不少研究者报道患者年龄可能与产生耐药相关,本研究结果显示 31~59 岁结核病患者更容易产生耐药。影响耐多药 MTB 产生的因素包括结核病临床治疗管理和患者个体特征,此两点均与 MTB 耐药的形成和传播有关。在临床治疗管理方面,如果患者在治疗过程中缺乏有效监督、药物供应不足或中断、药品质量差、药物管理方案和措施不合理,以及国家结核病治疗管理措施不到位均会使得 MDR-TB 病例增加。患者的个体特征包括既往治疗史、治疗延误、性别、年龄、人口流动等。管红云等^[4]报道的非户籍人口耐多药率高于户籍人口耐多药率。

MDR-TB 因病程长、治疗费用高、治愈率低、复发率高等特点,成为全球范围内突出的公共卫生问题。目前,MDR-TB 的治疗方法有化学治疗、外科手术、介入治疗和中医药治疗等^[5]。为更好地治疗 MDR-TB,近年来对一些抗结核新药进行了相关研究,包括喹诺酮类药物、大环内酯类药物、噁唑烷酮类药物等。利奈唑胺是一种人工合成的噁唑烷酮类抗生素,作用机制是作用于细菌的 50S 核糖体亚单位,使细菌的蛋白质合成受到抑制,其独特的作用部位和方式,使利奈唑胺与其他抗菌药无交叉耐药的现象,对大多数革兰阳性菌的抗菌活性良好^[6-8]。体外敏感试验^[9]显示,利奈唑胺对几乎所有的革兰阳性菌都有较好的抗菌活性,但是对革兰阴性杆菌不敏感,其原因可能与革兰阴性杆菌的外排机制有关。

多项研究^[10-15]表示,利奈唑胺在体外和体内对 MTB 都具有良好的抗菌活性。研究^[16-18]显示,利

奈唑胺对 MDR-TB 和广泛耐药结核病具有较好的临床疗效。黄海荣等^[19]采用微孔板 Alamar Blue 法测定利奈唑胺对结核菌株的体外作用,结果 94.2% (114/121) 的临床分离株可被利奈唑胺抑制。Yang 等^[20]研究结果显示,利奈唑胺的最小抑菌浓度为 0.125~0.5 μg/mL。目前,利奈唑胺用于临床治疗 MDR-TB 的报道越来越多。刘建锋等^[21]利用利奈唑胺治疗 38 例 MDR-TB 患者,观察治疗 12 个月后的效果,结果显示,治疗组痰菌阴转率、CT 病灶吸收率及结核空洞好转率分别为 89.47%、89.47% 和 87.50%,均高于对照组的 57.89%、57.89% 和 53.33%。Cox 等^[22]对利奈唑胺治疗 MDR-TB 的治疗效果进行了分析,该研究收集了利奈唑胺治疗 MDR-TB 的 11 项临床研究,纳入 MDR-TB 患者共计 148 例,治疗成功率为 67.99% (95%CI:58.00~78.99),治愈成功率优于 MDR-TB 的常规治疗。

本研究表明,利奈唑胺对于体外耐多药 MTB 的敏感性较好,有效率为 80.8%。大量研究^[21-22]表明,利奈唑胺对 MDR-TB 有良好的疗效,虽然研究^[23]表明,利奈唑胺在临床上应用时有一些不良反应,但大多数不良反应与使用剂量有关。所以,当使用一线或二线抗结核药物治疗 MDR-TB 无效时,可以考虑使用利奈唑胺提高治疗成功率。本研究选取的六所医院均为当地的传染病医院,结核病患者相对较集中。在今后的研究中,还需扩大研究的范围及样本量,并且加入关于临床用药疗效观察方面的研究,从而可以更好地治疗结核病和 MDR-TB。

【参考文献】

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2014 [S]. Geneva, World Health Organization, 2014.
- [2] 王前,宋媛媛,王玉峰,等. 158 株耐多药结核分枝杆菌对利奈唑胺耐药及相关基因突变情况研究[J]. 中国防痨杂志, 2016, 38(9):712-717.
- [3] 梁立波,李玲,孙宏,等. 耐多药结核流行及影响因素研究进展[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(9):1221-1225.
- [4] 管红云,杨应周,谭卫国,等. 深圳市流动人口肺结核耐药情况及相关因素分析[J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(8):557-561.
- [5] 郭翠菊,杜先智. 耐多药结核病的治疗进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(3):375-377.
- [6] 唐神结,肖和平. 利奈唑胺抗结核作用的研究及其最新进展[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2010, 4(1):54-57.
- [7] 王金河,梁建琴,武丽红. 利奈唑胺治疗耐多药结核病的研究进展[J]. 中国临床医生杂志, 2014, 42(1):21-22.
- [8] 杜玉明. 利奈唑胺治疗重症监护室革兰阳性球菌感染的疗效及安全性[J]. 中国医药导报, 2012, 9(8):84-85.
- [9] Stefani S, Bongiorno D, Mongelli G, et al. Linezolid resistance in *Staphylococci* [J]. Pharmaceuticals, 2010, 3(7): 1988-2006.
- [10] 张鑫,秦茸,刘又宁. 利奈唑胺治疗耐药结核病的研究进展[J]. 中华内科杂志, 2014, 53(2): 142-144.
- [11] Prammananan T, Chaiprasert A, Leechawengwongs M. In vitro activity of linezolid against multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) and extensively drug-resistant (XDR-TB) isolates [J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(2): 190-191.
- [12] Huang TS, Liu YC, Sy CL, et al. In vitro activities of linezolid against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated in Taiwan over 10 years [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(6): 2226-2227.
- [13] Dietze R, Hadad DJ, McGee B, et al. Early and extended early bactericidal activity of linezolid in *Pulmonary tuberculosis* [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 178(11): 1180-1185.
- [14] 李志江. 对耐多药结核病 (MDT-TB) 患者采用含利奈唑胺联合方案治疗的临床效果研究[J]. 航空航天医学杂志, 2016, 27(7):881-882.
- [15] 张晓飞,张范华,张艳,等. 利奈唑胺对耐多药结核分枝杆菌及非结核分枝杆菌体外敏感性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(7): 535-538.
- [16] 梁建琴,王金河,武丽红,等. 利奈唑胺治疗耐多药肺结核的临床观察[J]. 中国临床医生杂志, 2014, 42(10): 44-47.
- [17] 张丽帆,边赛男,刘晓清,等. 利奈唑胺治疗广泛耐药结核研究进展[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2016, 10(6): 649-653.
- [18] 李昕艳. 利奈唑胺治疗广泛耐药结核病的疗效观察[J]. 中国药物经济学, 2014, (z2): 169-170.
- [19] 黄海荣,于霞,姜广路,等. 利奈唑胺对分枝杆菌体外抑菌作用的初步研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(8): 575-578.
- [20] Yang C, Lei H, Wang D, et al. In vitro activity of linezolid against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*, including multidrug-resistant and extensively drug-resistant strains from Beijing, China [J]. Jpn J Infect Dis, 2012, 65(3): 240-242.
- [21] 刘建锋,雷建平,徐小花,等. 利奈唑胺治疗耐多药结核病疗效研究[J]. 江西医药, 2015, 50(12): 1319-1322.
- [22] Cox H, Ford N. Linezolid for the treatment of complicated drug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2012, 16(4): 447-453.
- [23] Xu HB, Jiang RH, Li L, et al. Linezolid in the treatment of MDR-TB: a retrospective clinical study [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2012, 16(3): 358-363.