

167 株耐多药结核分枝杆菌药物敏感谱分析

陈蓉^{1,2} 李马超² 赵丽丽² 赵秀芹² 刘海灿² 刘志广² 鲁瑶³ 邓云丽^{1,2}
陈紫昕^{1,2} 万康林² 袁秀琴¹

¹南华大学公共卫生学院, 衡阳 421001; ²中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
传染病预防控制国家重点实验室 感染性疾病诊治协同创新中心, 北京 102206; ³温州
医科大学检验医学院 生命科学院 325035

陈蓉和李马超对本文有同等贡献

通信作者: 袁秀琴, Email: wtjysh@126.com; 万康林, Email: wankanglin@icdc.cn

【摘要】 目的 了解耐多药结核分枝杆菌的药敏谱, 为耐多药结核病(MDR-TB)的临床药物选择和防控提供科学依据。方法 选取既往收集的 MDR-TB 167 株, 采用 *lysX* 基因测序方法进行基因分型, 并采用微孔板药敏法及 BACTEC™ MGIT 960™ 液体培养法对其进行 13 种抗结核药物的敏感性检测, 分析不同基因型 MDR-TB 菌株与耐药表型的相关性及药物交叉耐药情况。采用 χ^2 检验比较计数资料组间差异。结果 167 株 MDR-TB 菌株对除异烟肼、利福平外 11 种抗结核药物总耐药率为 95.81%, 准广泛耐药结核病(pre-XDR) 比例为 31.14% (52/167), 广泛耐药结核病比例为 6.59% (11/167)。北京基因型中链霉素耐药率高于非北京基因型, 差异有统计学意义($\chi^2=30.682, P<0.05$), 非北京基因型中 pre-XDR 比例高于北京基因型, 差异有统计学意义($\chi^2=5.332, P<0.05$); 氧氟沙星耐药率和吡嗪酰胺耐药率在现代北京基因型与古典北京基因型中差异有统计学意义($\chi^2=4.105$ 和 $\chi^2=3.912, P<0.05$)。利福平与利福布丁存在交叉耐药, 交叉耐药率为 86.23%, 且不同程度利福平耐药组间利福布丁耐药率差异有统计学意义($\chi^2=45.912, P<0.05$)。氧氟沙星耐药与莫西沙星耐药有相关性、阿米卡星耐药与卡那霉素耐药有相关性, r 分别为 0.87 和 0.91。结论 MDR-TB 菌株对 11 种抗结核药物呈高度耐药, 且同类型药物之间交叉耐药较为严重; 北京基因型菌株是 MDR-TB 的主要流行菌株, 与链霉素耐药高度相关。

【关键词】 耐多药结核病; 药物敏感性试验; 交叉耐药; 基因型

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX10302302001005)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20191121-00823

Analysis on drug sensitivity spectrum of 167 multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China

Chen Rong^{1,2}, Li Machao², Zhao Lili², Zhao Xiuqin², Liu Haican², Liu Zhiguang², Lu Yao³, Deng Yunli^{1,2},
Chen Zixin^{1,2}, Wan Kanglin², Yuan Xiuqin¹

¹School of Public Health, University of South China, Hengyang 421001, China; ²State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China; ³School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

Chen Rong and Li Machao contributed equally to the article

Corresponding authors: Yuan Xiuqin, Email: wtjysh@126.com; Wan Kanglin, Email: wankanglin@icdc.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the drugs-sensitivity spectrum of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) in China and provide a scientific evidence for the drug selection in clinical therapy and the control of MDR-TB. **Methods** A total of 167 strains of MDR-TB were included in this study. Every strain was genotyped by *lysX* gene sequencing and their sensitivity to 13 different anti-TB drugs was tested by using MicroDST™ and BACTEC™ MGIT 960™ liquid-culturing method. The association between drug resistance and genotypes as well as cross drug resistance was also analyzed. The results were analyzed by means of the comparison of enumeration data between two groups with χ^2 test. **Results** The overall resistance rate of 167 MDR-TB strains to 11 anti-TB drugs, except isoniazide and rifampicin, was 95.81%, the rates of pre-extensive drug-resistance (pre-XDR)

and extensive drug-resistance were 31.14%(52/167) and 6.59% (11/167), respectively. The streptomycin resistance rate of Beijing genotypes was significantly higher than that of the non-Beijing genotypes ($\chi^2=30.682, P<0.05$), while the pre-XDR proportion in Beijing genotypes was lower than that in non-Beijing genotypes ($\chi^2=5.332, P<0.05$). The resistance rates of Ofloxacin and Pyrazinamide in the modern Beijing genotype were significantly higher than those in classical ones ($\chi^2=4.105$ and $\chi^2=3.912, P<0.05$). In addition, the cross-resistance rate to rifampicin and rifabutin was 86.23%. A significant difference in drug-resistance rate to rifabutin was seen among groups with different levels of rifampicin resistance ($\chi^2=45.912, P<0.05$). There was positive correlation not only between ofloxac resistance and moxifloxac resistance, but also between amikacin resistance and kanamycin resistance, with the coefficient of 0.87 and 0.91, respectively. **Conclusions** In this study, we observed that there were high incidences of the resistance to 11 anti-TB drugs in 167 clinical MDR-TB strains and the cross resistance phenomena between drugs of the same type were quite serious. The majority of MDR-TB strains belonged to Beijing genotype, which was highly associated with streptomycin resistance.

【Key words】 Multidrug-resistant tuberculosis; Drug sensitivity test; Cross resistance; Genotype
Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10302302001005)
 DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20191121-00823

目前结核病在全球范围仍然是一个重大的公共卫生问题,耐多药结核病(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)和广泛耐药结核病(extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB)所导致的高死亡率尤其令人担忧。MDR-TB是指结核病患者感染的结核分枝杆菌至少同时对异烟肼(Isoniazid, INH)、利福平(Rifampicin, RIF)耐药。2018年全球结核病报告指出,2017年全球范围内,在MDR-TB患者中有8.5%为XDR-TB^[1]。MDR-TB具有发现率低、治疗时间长、疗效差、患者死亡率高特征,且未治愈的患者可作为传染源进一步传播耐药菌株,导致MDR-TB在全球范围内不断扩散、并导致XDR-TB的出现,给结核病的防控带来严峻挑战。北京基因型是全球结核病流行的主要基因型,有研究表明,北京基因型菌株能有效地传播^[2]、增加毒力^[3]和增加耐药风险^[4-5],更有可能发展成MDR-TB^[6-7]。我国是全球第二大结核病高负担国家^[8]。在本研究中,对收集保存的MDR-TB临床分离菌株进行了基因型鉴定及13种临床常用的一、二线抗结核药物的药物敏感性检测,为临床上选择更加有效治疗方案、制定更为科学的MDR-TB防控策略提供依据。

材料与方法

1. 菌株来源:从中国CDC传染病预防控制所结核病室保存的9个省份临床送检菌株(福建22株、甘肃11株、广西17株、贵州17株、湖南23株、吉林23株、内蒙古22株、新疆12株、西藏23株)中,挑取已经比例法初步鉴定为MDR-TB的菌株,采用罗氏培养基进行传种复活后用于本研究。对菌株进行复苏、传代培养作为药物敏感性检测样本;选择结核分枝

杆菌参考菌株H37Rv(ATCC27294)作为质控菌株。

2. 药物敏感性检测试剂:药物敏感性检测采用微孔板药敏检测法,选择赛默飞世尔科技(中国)有限公司生产的结核分枝杆菌药敏检测板(MYCOTBI)用于最小抑菌浓度(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)测定。MYCOTBI可检测结核分枝杆菌对12种临床常用一、二线抗结核药物的敏感性,包括INH、RIF、乙胺丁醇(Ethambutol, EMB)、链霉素(Streptomycin, SM)、利福布汀(Rifabutin, RFB)、乙硫异烟胺(Ethionamide, ETO)、环丝氨酸(Cycloserine, CS)、氧氟沙星(Ofloxacin, OFL)、莫西沙星(Moxifloxacin, MOX)、卡那霉素(Kanamycin, KAN)和阿米卡星(Amikacin, AMI)。

吡嗪酰胺(Pyrazinamide, PZA)药物敏感性试验采用WHO推荐的BACTEC™ MGIT 960™液体培养方法检测,BACTEC™ MGIT 960™全自动分析仪和PZA药敏试剂盒购于美国BD公司。

结核分枝杆菌药敏检测的临界浓度参考CLSI M24-A3批准的药敏实验解释标准^[9](CS临界浓度参考MYCOTBI药敏板说明书)。见表1。

表1 抗结核药物临界浓度

抗结核药物	MIC值范围(μg/ml)	临界浓度(μg/ml)
异烟肼(INH)	0.03 ~ 4	0.2
利福平(RIF)	0.12 ~ 16	1
乙胺丁醇(EMB)	0.5 ~ 32	5
阿米卡星(AMI)	0.12 ~ 16	4
乙硫异烟胺(ETO)	0.3 ~ 40	5
卡那霉素(KAN)	0.6 ~ 40	5
莫西沙星(MOX)	0.06 ~ 7	0.5
氧氟沙星(OFL)	0.25 ~ 32	2
对氨基水杨酸(PAS)	0.5 ~ 64	2
利福布汀(RFB)	0.12 ~ 16	0.5
链霉素(SM)	0.25 ~ 32	2
环丝氨酸(CS)	2 ~ 256	25
吡嗪酰胺(PZA)	-	100

3. 药物敏感性检测:

(1)微孔板法药敏检测:根据结核分枝杆菌药敏板操作说明书进行,将配制好的菌悬液转移 100 μl 至每个孔中,密封平板并在 37 °C 孵育 14 d 后由 Vizion™ 数字观察系统辅助测量。MIC 定义为与阳性对照相比没有明显可见细菌生长的最低浓度。

(2) PZA 药敏检测:根据 BACTEC™ MGIT 960™ PZA 试剂盒操作说明书进行,将配制好的菌悬液分别转移 500 μl 至对应的液体培养管中,再放入 BACTEC™ MGIT 960™ 全自动分析仪培养 4 ~ 13 d, 根据生长单位 (growthunit) 值,分析仪自动报告药敏试验结果。

4. 基因分型:

(1)DNA 制备:刮取新鲜培养的菌落,水煮法制备 DNA, -20 °C 保存备用。

(2)基因测序:通过扩增 *lysX* 基因、并与参考序列比对的方法,对 MDR-TB 菌株进行基因分型^[10]。上游引物 *lysX*-F: 5' -CGGCCTATTGCATCACGA CGGCTC-3', 下游引物 *lysX*-R: 5' -GGCATCCCA TTGGGTCCGATAGGGG-3'; 扩增体系 (50 μl): 25 μl 2×Taq Master Mix, 引物各 2 μl, DNA 样品 4 μl 及水 16 μl。反应条件:94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 66 °C 30 s, 72 °C 45 s, 30 个循环; 72 °C 10 min; 扩增产物为 1 156 bp。PCR 产物测序结果使用 BioEdit 软件与标准菌株 H37Rv 基因序列进行比对。密码子 995 发生突变 (CCG→CCA) 为北京基因型,未发生突变为非北京基因型;密码子 701 (ATT→ACT) 和 995 密码子同时突变为现代北京基因型^[10]。

5. 统计学分析:使用 Excel 软件双录入,采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。不同抗结核药物之间的耐药相关矩阵使用 R 软件 (判断: $|r| < 0.4$ 为低度相关, $0.4 < |r| < 0.7$ 为中度相关, $|r| > 0.7$ 为高度相关)。

结 果

1. MDR-TB 菌株的耐药情况:170 株纳入本研究的菌株中,3 株未能复活成功 (甘肃 2 株、新疆 1 株),最终将 167 株纳入本研究结果分析。

167 株 MDR-TB 菌株对除 INH、RIF 外 11 种抗结核药物呈现高度耐药,总耐药率达到 95.81%,耐药率从高到低依次为 RFB (86.23%)、SM (61.08%)、PZA (47.90%)、EMB (43.11%)、OFL (30.54%)、MOX (27.54%)、PAS (16.77%)、KAN (11.98%)、AMI

(11.38%)、ETO (8.38%)、CS (7.19%)。见表 2。

表 2 167 株 MDR-TB 菌株的药物敏感性

药物种类	耐药菌株数	耐药率 (%)	95%CI
≥1 种药物	160	95.81	0.927 ~ 0.989
乙胺丁醇 (EMB)	72	43.11	0.355 ~ 0.507
链霉素 (SM)	102	61.08	0.536 ~ 0.685
环丝氨酸 (CS)	12	7.19	0.032 ~ 0.111
乙硫异烟胺 (ETO)	14	8.38	0.041 ~ 0.126
对氨基水杨酸 (PAS)	28	16.77	0.110 ~ 0.225
利福布汀 (RFB)	144	86.23	0.862 ~ 0.915
卡那霉素 (KAN)	20	11.98	0.070 ~ 0.170
氧氟沙星 (OFL)	51	30.54	0.235 ~ 0.376
莫西沙星 (MOX)	46	27.54	0.207 ~ 0.344
阿米卡星 (AMI)	19	11.38	0.065 ~ 0.162
吡嗪酰胺 (PZA)	80	47.90	0.402 ~ 0.556

2. 菌株耐药性分析:共检出 XDR-TB 11 株,占 MDR-TB 的 6.59%; XDR-TB 菌株中 OFL 耐药组合类型所占比例最高,共 11 株;在本研究中,对 MOX 耐药的 XDR-TB 菌株均对 OFL 耐药;对 AMI 耐药的 XDR-TB 菌株均对 KAN 耐药;pre-XDR 菌株共 52 株,占 MDR-TB 的 31.14%,氟喹诺酮类药物耐药为主要耐药形式,共 42 株,其中又以 OFL+MOX 耐药形式为主,共 33 株。见表 3。

表 3 167 株耐多药结核分枝杆菌耐药类型构成

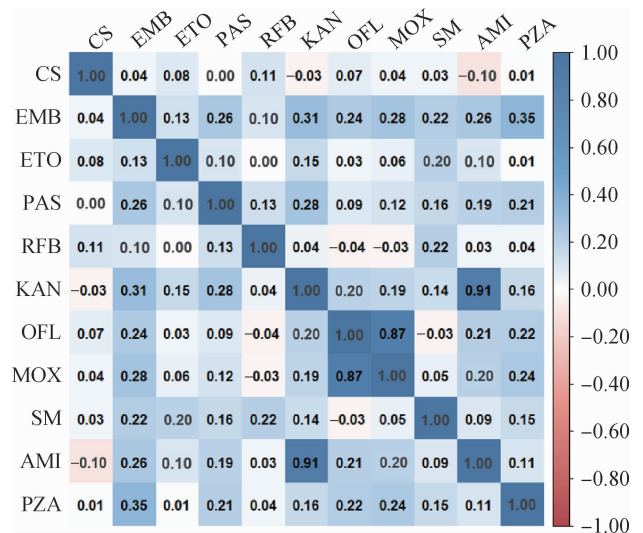
类 别	合计	耐药率 (%)	95%CI
广泛耐药结核病	11	6.59	0.028 ~ 0.104
OFL+KAN	11	6.59	0.028 ~ 0.104
OFL+AMI	11	6.59	0.028 ~ 0.104
OFL+KAN+AMI	11	6.59	0.028 ~ 0.104
OFL+MOX+KAN+AMI	10	5.99	0.024 ~ 0.096
OFL+KAN+PAS	6	3.59	0.007 ~ 0.064
OFL+KAN+ETO+AMI	3	1.80	-
OFL+KAN+PAS+AMI	6	3.59	0.007 ~ 0.064
OFL+KAN+ETO+PAS+AMI	2	1.20	-
MOX+KAN	10	5.99	0.024 ~ 0.096
MOX+AMI	10	5.99	0.024 ~ 0.096
MOX+KAN+AMI	10	5.99	0.024 ~ 0.096
MOX+KAN+PAS	6	3.59	0.007 ~ 0.064
MOX+KAN+ETO+AMI	3	1.80	-
MOX+KAN+PAS+AMI	6	3.59	0.007 ~ 0.064
MOX+KAN+ETO+PAS+AMI	2	1.20	-
准广泛耐药结核病	52	31.14	0.240 ~ 0.382
耐氟喹诺酮类药物	42	25.15	0.185 ~ 0.318
耐注射类药物	10	5.99	0.024 ~ 0.096
OFL+MOX	33	19.67	0.137 ~ 0.259
KAN+AMI	7	4.19	0.011 ~ 0.073
OFL	7	4.19	0.011 ~ 0.073
MOX	2	1.20	-
KAN	2	1.20	-
AMI	1	0.60	-

注:-:未计算 OFL:氧氟沙星; KAN:卡那霉素; AMI:阿米卡星; MOX:莫西沙星; PAS:对氨基水杨酸; ETO:乙硫异烟胺

3. MDR-TB 菌株基因型与药物敏感性分析:对 *lysX* 基因的测序结果进行比较,167株MDR-TB菌株中,北京基因型122株(73.05%),非北京基因型45株(26.95%)。北京基因型菌株中,古典北京基因型50株(40.98%),现代北京基因型72株(59.02%)。北京基因型SM耐药率高于非北京基因型,差异有统计学意义($\chi^2=30.682, P<0.05$),非北京基因型pre-XDR发生率高于北京基因型,差异有统计学意义($\chi^2=5.332, P<0.05$),此外,OFL耐药率与PZA耐药率在现代北京基因型与古典北京基因型中差异有统计学意义($\chi^2=4.105$ 和 $\chi^2=3.912, P<0.05$)。见表4。

4. 交叉耐药情况:不同抗结核药物耐药关联性分析发现,MDR-TB菌株中OFL耐药与MOX耐药有相关性($r=0.87$)、KAN耐药与AMI耐药有相关性($r=0.91$),关联程度较高;不同抗结核药物耐药相关性见图1。

氟喹诺酮类药物耐药共53株,其中OFL耐药51株,MOX耐药45株,对二者同时耐药43株;关联性分析显示,OFL耐药与MOX耐药有关联性($\chi^2=122.750, P<0.05$), $r=0.87>0.7$,高度相关。对注射类药物耐药共21株,其中KAN耐药20株,AMI耐药19株,对二者同时耐药18株;关联性分析显示,KAN耐药与AMI耐药有关联性($\chi^2=139.297, P<0.05$),



注:本研究选用MDR-TB菌株,相关矩阵不纳入INH和RIF;CS:环丝氨酸;EMB:乙胺丁醇;ETO:乙硫异烟胺;PAS:对氨基水杨酸;RFB:利福布汀;KAN:卡那霉素;OFL:氧氟沙星;MOX:莫西沙星;SM:链霉素;AMI:阿米卡星;PZA:吡嗪酰胺

图1 不同抗结核药物耐药相关矩阵

$r=0.91>0.7$,高度相关。见表5。

RFB耐药共144株,与RIF交叉耐药率为86.23%。将RIF分为低浓度耐药(MIC值为2~8 μg/ml)和高浓度耐药(MIC值≥16 μg/ml),RIF低浓度耐药与RFB交叉耐药率为18.18%(2/11),而高浓度RIF耐药与RFB交叉耐药率为91.03%(142/156);关联性

表4 不同基因型耐多药结核分枝杆菌对不同抗结核药物耐药情况

耐药类型	北京基因型			χ^2 值	P值	非北京基因型	χ^2 值	P值
	古典	现代	合计					
乙胺丁醇(EMB)	20(16.39)	37(30.33)	57(46.72)	1.538	0.215	15(33.33)	2.402	0.159
链霉素(SM)	34(27.87)	56(45.90)	90(73.77)	1.458	0.227	12(26.67)	30.682	0.001
环丝氨酸(CS)	1(0.82)	8(6.56)	9(7.38)	2.376	0.123	3(6.67)	0.000	1.000
乙硫异烟胺(ETO)	2(1.64)	8(6.56)	10(8.20)	1.151	0.283	4(8.89)	0.000	1.000
对氨基水杨酸(PAS)	7(5.74)	16(13.11)	23(18.85)	1.304	0.253	5(11.11)	1.410	0.235
利福布汀(RFB)	42(34.43)	65(53.28)	107(87.70)	1.078	0.299	37(82.22)	0.832	0.362
卡那霉素(KAN)	4(3.28)	13(10.66)	17(13.93)	2.488	0.115	3(6.67)	1.647	0.199
氧氟沙星(OFL)	9(7.38)	25(20.49)	34(27.87)	4.105	0.043	17(37.78)	1.522	0.217
莫西沙星(MOX)	10(8.20)	24(19.67)	34(27.87)	2.610	0.106	12(26.67)	0.024	0.877
阿米卡星(AMI)	4(3.28)	12(9.84)	16(13.11)	1.945	0.163	3(6.67)	1.356	0.244
吡嗪酰胺(PZA)	18(14.75)	39(31.97)	57(46.72)	3.912	0.048	23(51.11)	0.254	0.614
准广泛耐药结核病(pre-XDR)	8(5.74)	25(16.39)	33(22.13)	3.254	0.071	19(40.00)	5.332	0.021
广泛耐药结核病(XDR-TB)	3(2.46)	7(5.74)	10(8.20)	0.161	0.688	1(2.22)	1.082	0.298
全敏感	3(2.46)	1(0.82)	4(3.28)	0.792	0.304	3(6.67)	0.285	0.593

注:括号外数据为耐药菌株数,括号内数据为耐药率(%)

表5 氧氟沙星与莫西沙星、卡那霉素与阿米卡星之间交叉耐药情况

OFL	MOX			χ^2 值	P值	AMI	KAN			χ^2 值	P值
	耐药	敏感	合计				耐药	敏感	合计		
耐药	43	8	51	122.750	0.000	耐药	18	1	19	139.297	0.000
敏感	2	114	116			敏感	2	146	148		
合计	45	122	167			合计	20	147	167		

注:OFL:氧氟沙星;MOX:莫西沙星;AMI:阿米卡星;KAN:卡那霉素

分析显示,低浓度 RIF 耐药组与高浓度 RIF 耐药组之间 RFB 耐药率差异有统计学意义($\chi^2=45.912$, $P=0.000$)。见表 6。

表 6 利福平与利福布汀交叉耐药情况

RIF 耐药程度	RFB(株)		合计	χ^2 值	P 值
	耐药	敏感			
低浓度耐药	2	9	11	45.912	0.000
高浓度耐药	142	14	156		
合计	144	23	167		

注:RIF:利福平;RFB:利福布汀

讨 论

在本研究中,167 株 MDR-TB 菌株对除 INH、RIF 外 11 种抗结核药物耐药率高达 95.81%,整体耐药形势非常严峻。pre-XDR 菌株所占比例低于印度的 49.4%^[10],pre-XDR 菌株中,氟喹诺酮类药物耐药形式所占比例最高;XDR-TB 菌株比例低于国内^[11]、南非^[12]及 WHO 的报告;氟喹诺酮类药物耐药是 MDR-TB 发展为 pre-XDR 甚至 XDR-TB 的主要形式,其耐药情况不容忽视。临床应开展快速准确的抗结核药物药敏试验,尽早发现 MDR-TB 及 pre-XDR,并及时合理地治疗,阻止其向 XDR-TB 进展,减少 XDR-TB 的产生和传播。

本研究中,SM、EMB 的耐药率低于国内其他报道^[13],PZA 耐药率高于其他研究^[13],本研究中 PZA 耐药情况比较严峻。PZA、EMB、PAS 和 ETH 均为作为长程 MDR-TB 治疗方案中的备选药物^[14],在采用其他抗结核药物可以组成合理治疗方案的情况下,不推荐使用该类物质;选择 EMB 时需要考虑患者的用药史,尤其是复治患者,如果患者有长期使用 EMB 的情况,即使药敏结果敏感,也不推荐使用该药物。ETO 是一种异烟酸衍生物类抗结核药物,其抗结核作用仅为 INH 的 1/5,由于 MDR-TB 的流行,因此 ETO 成为 MDR-TB 化疗方案中一个基本组成部分^[15]。CS 耐药率与韩国报道的 7.1%一致^[16]。CS 是治疗耐药结核病口服类药物中最为优先选择的药品^[15],主要用于耐药尤其是 MDR-TB 和 XDR-TB 的治疗,与其他抗结核药物无交叉耐药。本研究中 MDR-TB 菌株中 CS 耐药率较低,表明 CS 在治疗 MDR-TB 中的重要作用,可在临床上推广使用。

北京基因型是全球结核病流行的主要基因型。在动物研究中北京基因型较其他基因型显示出更高的致病性和死亡率^[17];一些研究表明北京基因型突变率高,是导致结核病耐药的优势菌株^[18-19],更有可

能发展成 MDR-TB^[6-7]。也有研究认为,北京基因型菌株与结核病耐药之间没有相关性^[20]。在本研究中,北京基因型菌株占 73.05%,表明在 MDR-TB 菌株中北京基因型的主导地位。不同基因型 MDR-TB 菌株与药物耐药率的比较,仅发现 SM 耐药与北京基因型有相关性,pre-XDR 发生与非北京基因型有相关性,这可能是不同研究中北京基因型各亚型菌株比例的差异导致。本研究中,现代北京基因型菌株占 59.02%,提示现代北京基因型菌株可能更容易在人群中传播。另外,本结果还显示,现代北京基因型 OFL 耐药率与 PZA 耐药率显著高于古典北京基因型,提示 OFL 耐药与 PZA 耐药同现代北京基因型关系更为密切。

本研究中 RFB 与 RIF 的交叉耐药率为 86.23%,不同浓度 RIF 耐药菌株中 RFB 耐药率的差异有统计学意义,提示 RIF 和 RFB 交叉耐药现象随 RIF 耐药程度上升而增加。RFB 与 RIF 存在高度交叉耐药,所以当结核分枝杆菌对 RIF 耐药时,应避免使用 RFB。研究结果显示 OFL、MOX 的耐药率较高,这可能是由于氟喹诺酮类药物作为广谱类抗生素,经常被不规范用于临床抗感染治疗导致;且 OFL 耐药与 MOX 耐药高度相关。对于 MDR-TB 患者而言,应该谨慎使用氟喹诺酮类药物。有研究提示耐低代氟喹诺酮类药物的菌株使用高代氟喹诺酮类药物时,仍具有一定的抗菌活性^[14]。本研究中一些 MDR-TB 菌株 OFL 耐药时对 MOX 仍敏感,因此对于低代氟喹诺酮类药物(如 OFL)耐药的患者,无其他有效药物选择时可考虑使用高代氟喹诺酮类药物(如 MOX),但不应将其作为 MDR-TB 化疗方案中的核心用药。氟喹诺酮类药物之间具有不完全交叉耐药,在条件允许的情况下,推荐临床根据患者药敏试验结果直接使用高代氟喹诺酮类药物如 MOX 等,确保疗效的同时降低氟喹诺酮类药物耐药概率,临床上也应加强氟喹诺酮类药物的规范管理及合理使用。本研究中,KAN 或 AMI 呈高度交叉耐药,因此,建议已知对 KAN 和 AMI 其中一种药物耐药时,不主张使用另一种药物。SM、KAN 和 AMI 均为注射类抗结核药物,注射类药物由于操作不便,患者依从性差,所以在有新药如贝达奎宁等的情况下,一般不推荐用于 MDR-TB 的治疗;相比于 SM 和 KAN,AMI 对结核分枝杆菌的杀菌活性更高,不良反应小^[15],对于复治、耐药结核病的患者中推荐使用 AMI。

MDR-TB 一直是结核病防控的重点和难点,在临床结核病治疗过程中开展快速准确的药敏谱检

测,根据药敏试验制定合理的MDR-TB化疗方案,对于提高MDR-TB的治疗效果、减少MDR-TB的传播具有重要意义。本研究通过微孔板药敏法检测MDR-TB菌株对11种主要的一线及二线抗结核药物的耐药情况,为临床制定合理的MDR-TB治疗方案提供重要的参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2018[R]. Geneva: WHO, 2018.
- [2] Yang CG, Luo T, Sun GM, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains favor transmission but not drug resistance in China [J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(9): 1179-1187. DOI: 10.1093/cid/cis670.
- [3] Hanekom M, van der Spuy GD, Streicher E, et al. A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is associated with an increased ability to spread and cause disease [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(5): 1483-1490. DOI: 10.1128/JCM.02191-06.
- [4] European Concerted Action on New Generation Genetic Markers and Techniques for the Epidemiology and Control of Tuberculosis. Beijing/W genotype *Mycobacterium tuberculosis* and drug resistance [J]. Emerg Infect Dis, 2006, 12(5): 736-743. DOI: 10.3201/eid1205.050400.
- [5] Casali N, Nikolayevskyy V, Balabanova Y, et al. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population [J]. Nat Genet, 2014, 46(3): 279-286. DOI: 10.1038/ng.2878.
- [6] Buu TN, Huyen MN, Lan NTN, et al. The Beijing genotype is associated with young age and multidrug-resistant tuberculosis in rural Vietnam [J]. Int J Tubercul Lung Dis, 2009, 13(7): 900-906.
- [7] Singh J, Sankar MM, Kumar P, et al. Genetic diversity and drug susceptibility profile of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from different regions of India [J]. J Infect, 2015, 71(2): 207-219. DOI: 10.1016/j.jinf.2015.04.028.
- [8] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016[R]. Geneva: WHO, 2016.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardia spp., and other aerobic actinomycetes [M]. 3rd ed. CLSI, 2018.
- [10] Zhao LL, Xiao TY, Sun Q, et al. Mutations in *lysX* as the new and reliable markers for tuberculosis Beijing and modern Beijing strains [J]. Tuberculosis, 2016, 97: 33-37. DOI: 10.1016/j.tube.2015.12.006.
- [11] Zhao YL, Ou XC, Yu P, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China [J]. N Engl J Med, 2012, 366(23): 2161-2170. DOI: 10.1056/NEJMoa1108789.
- [12] Said HM, Kock MM, Ismail NA, et al. Molecular characterization and second-line antituberculosis drug resistance patterns of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the northern region of South Africa [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(9): 2857-2862. DOI: 10.1128/JCM.00358-12.
- [13] Huang HR, Ding N, Yang TT, et al. Cross-sectional whole-genome sequencing and epidemiological study of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China [J]. Clin Infect Dis, 2018, 69(3): 405-413. DOI: 10.1093/cid/ciy883.
- [14] 中华医学会结核病学分会. 中国耐多药和利福平耐药结核病治疗专家共识(2019年版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(10): 733-749. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.10.006. Chinese Society for Tuberculosis of Chinese Medical Association. Chinese expert consensus on multidrug-resistant tuberculosis and Rifampicin-resistant tuberculosis treatment [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2019, 42(10): 733-749. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.10.006.
- [15] 肖和平. 耐药结核病化学治疗指南(2019年简版) [J]. 中国防痨杂志, 2019, 41(10): 1025-1073. Xiao HP. Guidelines for chemotherapy of drug resistant tuberculosis [J]. Chin J Antituberc, 2019, 41(10): 1025-1073.
- [16] Mok JH, Kang BH, Lee T, et al. Additional drug resistance patterns among multidrug-resistant tuberculosis patients in Korea: implications for regimen design [J]. J Korean Med Sci, 2017, 32(4): 636-641. DOI: 10.3346/jkms.2017.32.4.636.
- [17] Parwati I, van crevel R, van Soolingen D. Possible underlying mechanisms for successful emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains [J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(2): 103-111. DOI: 10.1016/S1473-3099(09)70330-5.
- [18] Merker M, Kohl TA, Roetzer A, et al. Whole genome sequencing reveals complex evolution patterns of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains in patients [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82551. DOI: 10.1371/journal.pone.0082551.
- [19] Pang H, Tong J, Liu HC, et al. Molecular characterization and drug-resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains in Xuzhou, China [J]. Biomed Environ Sci, 2014, 27(12): 960-964. DOI: 10.3967/bes2014.136.
- [20] Zhao LL, Li MC, Liu HC, et al. Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* is less associated with drug resistance in south China [J]. Int J Antimicrob Agents, 2019, 54(6): 766-770. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.08.005.

(收稿日期: 2019-11-21)

(本文编辑: 万玉立)