

三种喹诺酮类药物抗结核分支杆菌 最低抑菌浓度分布状况研究

张旭霞¹, 王苏民¹, 高微微¹

摘要:目的 探索三种喹诺酮类药物抗结核分支杆菌的抑菌浓度, 分析三种药物的最低抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 分布。方法 采用试管等倍稀释法测药物 MIC。结果 未用喹诺酮类药物的结核菌株 21 株中 20 株 (95.2%) 的 MIC 分布与 H₃₇Rv 的 MIC 值相近。应用喹诺酮类药物于 4 周的结核菌株 15 株中 13 株 (86.7%) MIC 分布与未用药组 MIC 分布相同, 用喹诺酮类药物 4 周以上的结核菌株 16 株中 15 株 (93.7%) 的 MIC 的分布与未用药组的 MIC 分布相比, 增高的趋势明显。结论 长时间应用喹诺酮类药物可能会引起 MIC 的增高而影响临床疗效。

关键词: 分支杆菌, 结核; 喹诺酮类/药代动力学

Study on MICs' distribution of three kinds of fluoroquinolone against *Mycobacterium tuberculosis*

ZHANG Xu-xia, WANG Su-min, GAO Wei-wei.

Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Research Institute, Beijing 101149

Abstract: Objective To explore the MICs' distribution of ofloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin against clinical isolate of *Mycobacterium tuberculosis* in vitro strains. Methods The MICs of these drugs were determined by equivalent dilution method. Results Of 21 clinical isolates of *M. tuberculosis* not previously exposed, and of 15 clinical isolates previously exposed within 4 weeks to these drugs, the MICs of 20 (95.2%) and 13 (86.7%) respectively were closed to that of *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv's, of 16 isolates of *M. tuberculosis* previously exposed beyond 4 weeks, MICs of 15 isolates (93.7%) were higher than that of H₃₇Rv. Conclusion If the three drugs were treated patients with tuberculosis for a long time, the MICs of *M. Tuberculosis* of these drugs might be increased.

Key words: *Mycobacterium, tuberculosis*; Fluoroquinolones/pharmacokin

我国是结核病的高负担国家之一, 随着全球结核病疫情的回升和耐多药菌株的扩散, 耐药结核菌已成为化疗失效的重要原因。因此对于耐异烟肼、利福平的耐多药结核病人和由于肝功能异常或高龄者应用含喹诺酮类药物方案成为治疗的主要选择。但目前尚未制定出统一的结核菌对喹诺酮类药物的敏感依据, 难以为临床提供喹诺酮类药物耐药标准。因此研究喹诺酮类药物体外抗结核 MIC 分布对于临床治疗结核病具有重要实际意义。本文通过三种

喹诺酮类药物对 52 株结核菌临床分离株 (21 株未用喹诺酮类药物, 15 株用喹诺酮类药物时间在 4 周以内, 16 株用喹诺酮类药物时间大于 4 周 (45 ~ 900 天) 的 MIC 值的测定, 初步探讨几种喹诺酮类药物的 MIC 的分布, 交叉耐药以及进口药物与国产药物抑菌作用的比较。

材料和方法

1. 药物: 本研究使用的氧氟沙星由日本第一制

药株式会社提供,北京松鹤制药厂生产左氧氟沙星纯粉,进口左氧氟沙星纯粉由日本第一制药株式会社提供,国产司帕沙星纯粉由天丰制药厂提供,进口司帕沙星为大日本制药公司产品。

2. 试管内抑菌实验:培养基:含 2% 小牛血清改良苏通半流体培养基;改良罗氏固体培养基。药物溶解:分别定量称取三种药物,溶解于适量二甲基甲酰胺中,再用灭菌蒸馏水进行稀释,使药物在培养基中为所设计的各种浓度(试管二倍稀释法)。临床菌株在培养基中的浓度:挑取适量在改良罗氏培养基中传代两周后生长良好的临床菌株,用磨菌器研磨成菌悬液,应用比浊法确定其浓度为 1mg/ml,使其在培养基中的终浓度为 1×10^{-3} mg/ml。培养与观察:于 37℃ 培养箱中,以培养四周的结果为准。

结果与讨论

随着耐多药结核病的出现,喹诺酮类药物因其良好的抗结核性,目前已成为治疗耐多药结核病的主要选用药物。目前有关结核菌对喹诺酮类药物的敏感性的报道尚不多,因此,研究喹诺酮类药物对结核菌的 MIC 具有重要意义。本文对三种喹诺酮类药物的 MIC 分布,交叉耐药以及国产与进口药物的比较情况做了初步的研究,为喹诺酮类药物的临床应用提供了实验依据。

一、三种喹诺酮类药物对临床结核菌株的 MIC 分布

表 1 三种喹诺酮类药物对临床结核菌株的 MIC 分布

药物 μg/ml	改良罗氏固体培养基			2% 血清苏通半流体培养基		
	MIC	例数	MIC*	MIC	例数	MIC*
氧氟沙星	1.00	20	1.00	0.50	19	0.50
	4.00	1		1.00	1	
				2.00	1	
左氧氟沙星 (国产)	0.50	18	0.50	0.25	18	0.25
	1.00	2		0.50	2	
	2.00	1		1.00	1	
左氧氟沙星 (进口)	0.50	19	0.50	0.25	17	0.25
	1.00	1		0.50	3	
	2.00	1		1.00	1	
司帕沙星 (国产)	0.13	4	0.25	0.06	1	0.13
	0.25	16		0.13	14	
				0.25	5	
司帕沙星 (进口)	1.00	1		0.50	1	
	0.13	6	0.25	0.06	1	0.13
	0.25	13		0.13	16	
	0.50	1		0.25	3	
	2.00	1		0.50	1	

注:MIC* 为喹诺酮类药物对结核菌标准株 H₃₇Rv 的 MIC

由表 1 可见,未用喹诺酮类药物的 21 株结核菌临床分离株中 20 株(95.2%)3 种药物在改良罗氏固体培养基上 MIC 集中分布为:氧氟沙星 1μg/ml,左氧氟沙星 0.5 ~ 1μg/ml,司帕沙星 0.13 ~ 0.5μg/ml。以上三种药物的 MIC 与文献报道的氧氟沙星 1μg/ml,左氧氟沙星 0.5μg/ml,司帕沙星 0.2 ~ 0.5μg/ml 的 MIC 结果相符^[1~4]。20 株中 4 株为耐异烟肼、利福平的耐多药菌株。结果提示喹诺酮类药物与异烟肼、利福平之间无交叉耐药,此结果为临床应用喹诺酮类药物治疗耐异烟肼、利福平的耐多药结核病的可行性提供了实验依据。1 株(4.8%)结核临床分离菌株的喹诺酮类药物的 MIC 与以上 20 株相比出现了较大的偏离。

表 2 用喹诺酮类药物少于 4 周 15 株结核分支杆菌临床分离株的 MIC 分布

药物 μg/ml	改良罗氏固体培养基			2% 血清苏通半流体培养基		
	MIC	例数	MIV*	MIC	例数	MIC*
氧氟沙星	1.00	13	1.00	0.50	13	0.50
	8.00	2		4.00	2	
左氧氟沙星 (国产)	0.50	12	0.50	0.25	12	0.25
	1.00	1		0.50	1	
左氧氟沙星 (进口)	8.00	2		4.00	2	
	0.50	13	0.50	0.25	13	0.25
司帕沙星 (国产)	2.00	1		1.00	1	
	4.00	1		4.00	1	
	0.13	2	0.25	0.13	12	0.13
司帕沙星 (进口)	0.25	11		0.25	1	
	1.00	1		1.00	1	
	4.00	1		4.00	1	
司帕沙星 (进口)	0.13	3	0.25	0.13	13	0.13
	0.25	10				
	1.00	1		1.00	1	
	4.00	1		4.00	1	

注:MIC* 为喹诺酮类药物对结核菌标准株 H₃₇Rv 的 MIC

表 2 显示,用喹诺酮类药物少于 4 周 15 株结核病人临床分离株(5 株用氧氟沙星,8 株用左氧氟沙星,2 株用司帕沙星)中 13 株(86.7%)喹诺酮类药物在改良罗氏固体培养基的 MIC 分布集中在:氧氟沙星 1μg/ml,左氧氟沙星 0.5μg/ml,司帕沙星 0.13 ~ 0.25μg/ml,2 株(13.3%)分别应用左氧氟沙星 7 天,21 天的菌株的 3 种药物 MIC 为氧氟沙星 8μg/ml,左氧氟沙星 2μg/ml,4μg/ml,司帕沙星 1μg/ml,4μg/ml 与以上 13 株相比 MIC 值明显增大。

表 3 用喹诺酮类药物多于 4 周 16 株结核
分支杆菌临床分离株的 MIC 分布

药物 μg/ml	改良罗氏固体培养基		2% 血清苏通半流体培养基			
	MIC	例数	MIC*	MIC	例数	MIC*
氧氟沙星	1.00	1	1.00	0.50	1	0.50
	4.00	3		2.00	3	
	8.00	10		4.00	10	
	16.00	2		8.00	2	
左氧氟沙星 (国产)	0.50	1	0.50	0.25	1	0.25
	2.00	3		1.00	3	
	4.00	7		2.00	7	
	8.00	5		4.00	5	
左氧氟沙星 (进口)	0.50	1	0.50	0.25	1	0.25
	2.00	3		2.00	9	
	4.00	10		4.00	4	
	8.00	2		8.00	2	
司帕沙星 (国产)	0.25	1	0.25	0.13	1	0.13
	0.50	3		0.25	3	
	1.00	6		0.50	4	
	2.00	3		1.00	4	
	4.00	3		2.00	4	
司帕沙星 (进口)	0.25	1	0.25	0.06	1	0.13
	0.50	7		0.25	4	
	1.00	5		0.50	7	
	2.00	1		1.00	3	
	4.00	2		2.00	1	

注: MIC* 为喹诺酮类药物对结核杆菌标准株 H₃₇Rv 的 MIC

表 3 显示, 16 株用喹诺酮类药物时间多于 4 周 (45 ~ 900 日) 的病人菌株中, 其中 1 株三种喹诺酮类药物的 MIC 为氧氟沙星 1 μg/ml, 左氧氟沙星 0.5 μg/ml, 司帕沙星 0.25 μg/ml, 与未用喹诺酮类药物菌株的 MIC 相近。其他 15 株菌株 (14 株是结核病复治且为喹诺酮类药物复治的病人临床分离菌株, 另外 1 株为结核病初治且司帕沙星初治 4 个月后结核菌临床分离株) 的 MIC 集中分布为氧氟沙星 4 ~ 16 μg/ml, 左氧氟沙星 2 ~ 8 μg/ml, 司帕沙星 0.5 ~ 4 μg/ml 与未

用喹诺酮类药物的 MIC 分布相比显示出明显的增高趋势。

表 1 ~ 3 显示喹诺酮类药物在改良固体培养基上的 MIC 与在 2% 小牛血清苏通半流体培养基上的 MIC 呈 2 倍的关系。

二、三种喹诺酮类药物之间的交叉耐药情况

在 16 株用喹诺酮类药物多于 4 周的结核菌临床分离株中, 有 1 株仅用司帕沙星 4 个月, 三种药物在改良罗氏固体培养基 MIC 为氧氟沙星 8 μg/ml, 左氧氟沙星 4 μg/ml, 司帕沙星 1 μg/ml, 4 株仅用氧氟沙星 (2 ~ 24 个月), 三种药物在改良罗氏固体培养基上的 MIC 为氧氟沙星 4 ~ 8 μg/ml, 左氧氟沙星 2 ~ 4 μg/ml, 司帕沙星 0.5 ~ 4 μg/ml, 结果可能提示司帕沙星与左氧氟沙星和氧氟沙星两种药物之间存在交叉耐药。氧氟沙星与司帕沙星和左氧氟沙星两种药物之间存在交叉耐药。

三、国产与进口药物的抑菌作用比较

从以上结果可以看出国产与进口的左氧氟沙星抑菌作用基本相同, 国产与进口的司帕沙星的抑菌作用也基本相同。

关于三种药物的耐药界限有待进一步研究。
(注: 文中所述药物的 MIC 均为进口药物在改良罗氏固体培养基上的 MIC)

参考文献:

- [1] 段连山, 梁桂芳, 李惠文, 等. 国产氧氟沙星抗结核活性的实验研究[J]. 中华结核呼吸杂志, 1997, 20(2): 98 ~ 100.
- [2] 陆宇, 朱莉贞, 段连山, 等. 左氧氟沙星的抗结核作用的研究[J]. 中华结核呼吸杂志, 2000, 23(1): 50 ~ 54.
- [3] 朱井田, 徐金生. 司帕沙星的抗分支杆菌的活性及光毒性[J]. 冶金防痨, 1997, 7(2): 112 ~ 114.
- [4] 段连山, 梁桂芳, 李惠文, 等. 甲磺酸左氧氟沙星抗结核作用的药效学研究[J]. 结核病胸部肿瘤[J], 1999, (2): 74 ~ 77.