

• 论著 •

吡嗪酰胺酶活性与耐多药肺结核近期临床疗效的相关性研究

吴碧彤 蔡杏珊 邱浩斌 刘志辉 孟繁荣 王楠 高俊文 谭守勇

【摘要】 目的 研究吡嗪酰胺酶活性与耐多药肺结核(multidrug-resistant pulmonary tuberculosis, MDR-PTB)近期疗效的相关性,为 MDR-PTB 患者化学药物治疗的选择提供指导。**方法** 采用前瞻性队列研究的方法,将广州市胸科医院 2018 年 7 月至 2019 年 12 月收治的 85 例 MDR-PTB 患者作为研究对象,均接受世界卫生组织推荐的 6Am-Mfx-PZA-Pto-Cs/18Mfx-PZA-Pto-Cs(Am:阿米卡星;Mfx:莫西沙星;PZA:吡嗪酰胺;Pto:丙硫异烟胺;Cs:环丝氨酸)治疗方案。85 例患者中,剔除 9 例丢失、中断治疗、失访患者,共 76 例患者纳入最终研究。以 Wayne 方法检测吡嗪酰胺酶活性,以 BACTEC MGIT 960 方法检测吡嗪酰胺药物敏感性;比较吡嗪酰胺酶阳性患者与阴性患者治疗 2、4、6 个月末痰菌阴转、病灶吸收和空洞闭合情况。**结果** 76 例患者中,吡嗪酰胺酶阳性 32 例(42.1%),吡嗪酰胺酶阴性 44 例(57.9%);吡嗪酰胺表型耐药 36 例(47.4%),吡嗪酰胺表型敏感 40 例(52.6%)。吡嗪酰胺药物敏感性检测与吡嗪酰胺酶活性检测的一致性较高($Kappa=0.687, P=0.000$)。吡嗪酰胺酶阳性患者治疗 4 个月末病灶吸收率(59.4%,19/32)及空洞闭合有效率(65.5%,19/29)均高于吡嗪酰胺酶阴性患者[分别为 36.4%(16/44)和 36.8%(14/38)],差异均有统计学意义($\chi^2=3.949, P=0.047; \chi^2=5.411, P=0.020$)。吡嗪酰胺酶阳性患者治疗 6 个月后的空洞闭合有效率(86.2%,25/29)高于吡嗪酰胺酶阴性患者(63.2%,24/38),差异有统计学意义($\chi^2=4.447, P=0.035$)。**结论** MDR-PTB 患者的疗效与吡嗪酰胺酶活性有关,吡嗪酰胺酶阳性患者应用含吡嗪酰胺的 MDR-PTB 标准方案治疗后,病灶吸收及空洞闭合的效果优于吡嗪酰胺酶阴性患者。

【关键词】 吡嗪酰胺; 结核,肺; 结核,抗多种药物性; 治疗结果

Correlation between pyrazinamidase activity and the short-term clinical efficacy of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis WU Bi-tong, CAI Xing-shan, KUANG Hao-bin, LIU Zhi-hui, MENG Fan-rong, WANG Nan, GAO Jun-wen, TAN Shou-yong. State Key Laboratory of Respiratory Disease/Department of Tuberculosis, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou 510095, China

Corresponding author: TAN Shou-yong, Email: tanshouyong@163.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between pyrazinamidase (PZase) activity and the short-term efficacy of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis (MDR-PTB), and to provide guidance for the choice of chemotherapy for MDR-PTB patients. **Methods** A prospective cohort study was conducted on 85 MDR-PTB patients admitted to Guangzhou Chest Hospital from July 2018 to December 2019. All the patients received 6Am-Mfx-PZA-Pto-Cs/18Mfx-PZA-Pto-Cs (Am: amikacin; Mfx: moxifloxacin; PZA: pyrazinamide; Pto: protionamide; Cs: cycloserine) regimen recommended by WHO. Of the 85 MDR-PTB patients, 9 patients were excluded, including those who lost, interrupted treatment or lost to follow-up, and 76 patients were included in the final study. Wayne method was used to detect PZase activity, and BACTEC MGIT 960 system was used to detect the drug sensitivity to PZA. The sputum negative conversion, lesion absorption and cavity closure in patients positive or negative for PZase at the end of 2, 4 and 6 months after treatment were compared. **Results** Of the 76 patients, PZase was positive in 32 cases (42.1%) and negative in 44 cases (57.9%); 36 cases (47.4%) PZA were with phenotypic resistance and 40 cases (52.6%) were with PZA phenotypic sensitivity. High consistency was found between PZA drug sensitivity test and PZase activity test ($Kappa=0.687, P=0.000$). At the end of the 4th



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2021.12.014

基金项目:国家自然科学基金(81572037);广州市科技计划项

目(155700012、201508020248);广东省医学科学技术研究基金(A2018359)

作者单位:510095 呼吸疾病国家重点实验室/广州市胸科医院结核内科(吴碧彤、邱浩斌、谭守勇),检验科(蔡杏珊),肺部疾病研究所(刘志辉、孟繁荣、王楠、高俊文)

通信作者:谭守勇,Email:tanshouyong@163.com

month of the treatment, the lesion absorption rate in PZase-positive patients were significantly higher than those in PZase-negative patients (59.4% (19/32) vs 36.4% (16/44), $\chi^2=3.949$, $P=0.047$; 65.5% (19/29) vs 36.8% (14/38), $\chi^2=5.411$, $P=0.020$). After 6-month treatment, the effective rate of cavity closure in PZase-positive patients was significantly higher than that in PZase-negative patients (86.2% (25/29) vs 63.2% (24/38), $\chi^2=4.447$, $P=0.035$). **Conclusion** The efficacy of MDR-PTB patients is related to PZase activity. The effect of lesion absorption and cavity closure in PZase-positive patients treated with standard regimen of MDR-PTB containing PZA is better than that in PZase-negative patients.

【Key words】 Pyrazinamide; Tuberculosis, pulmonary; Tuberculosis, multidrug-resistant; Treatment outcome

吡嗪酰胺(pyrazinamide)是唯一具有杀灭酸性环境中或巨噬细胞内半休眠状态结核分枝杆菌效果的抗结核药品,其可显著缩短初治肺结核的治疗疗程,提升治愈率。随着吡嗪酰胺在结核病治疗领域的广泛应用,其耐药率明显上升^[1]。吡嗪酰胺耐药率上升给耐多药肺结核(multidrug-resistant pulmonary tuberculosis, MDR-PTB)的治疗带来不利影响,但现阶段吡嗪酰胺的药物敏感性试验(简称“药敏试验”)存在诸多缺陷,如阳性率低、检测周期长、检测重复性差等^[2]。由于吡嗪酰胺仅在 pH 值为 5.5 的酸性条件下才能转化为具有杀菌活性的吡嗪酸,而结核分枝杆菌在酸性环境下生长不良,使传统药物敏感性检测方法不能可靠地反映菌株对吡嗪酰胺的耐药情况,进而导致吡嗪酰胺耐药性检测成为实验室检查的一个难题。吡嗪酰胺的杀菌作用是在吡嗪酰胺酶的作用下转化为有活性的吡嗪酸,吡嗪酸能够对结核分枝杆菌产生杀灭作用。有研究发现,吡嗪酰胺耐药菌株的出现可能与吡嗪酰胺酶的活性丧失有关,吡嗪酰胺酶失活将导致吡嗪酰胺无法转变为吡嗪酸,进而无法实现杀灭结核分枝杆菌的效果^[3-4]。为明确吡嗪酰胺酶活性检测是否有利于指导 MDR-PTB 患者使用吡嗪酰胺进行治疗,本研究采用前瞻性的研究方法,分析了吡嗪酰胺酶活性、吡嗪酰胺表型耐药与 MDR-PTB 近期临床疗效的相关性。

资料和方法

一、研究对象

本研究经广州市胸科医院医学伦理委员会批准(批准编号:胸医伦理[2017]26 号),患者知情并同意研究的内容。研究将广州市胸科医院 2018 年 7 月 1 日至 2019 年 12 月 31 日收治的 85 例 MDR-PTB 患者作为研究对象。其中,男性 54 例,女性 31 例;

年龄 23~57 岁,平均年龄(38.6±7.4)岁;73 例并发空洞。剔除 9 例丢失、中断治疗、失访患者,最终 76 例纳入研究。76 例患者中,病灶位于左侧 9 例,右侧 17 例,双侧 50 例;67 例患者并发空洞。

二、纳入、排除及退出标准

1. 纳入标准:(1)符合《WHO 耐药结核病治疗指南(2016 更新版)》^[5]中关于耐多药结核病的诊断标准;(2)年龄 18~65 岁;(3)治疗前痰培养为阳性,并获得一二线抗结核药物药敏试验结果;(4)患者同意抗结核治疗并签署参与项目同意书。

2. 排除标准:(1)存在二线注射类抗结核药品(卡那霉素、阿米卡星、卷曲霉素)耐药和(或)氟喹诺酮类药品(氧氟沙星、左氧氟沙星、莫西沙星)耐药;(2)合并严重肝病[如丙氨酸氨基转移酶(ALT)或天门冬氨酸氨基转移酶(AST)≥2.5 倍正常值];(3)合并肾病史(如血肌酐>177 μmol/L);(4)合并精神疾病史;(5)孕妇及糖尿病患者;(6)合并尘肺病史;(7)HIV 抗体阳性;(8)长期使用免疫抑制剂;(9)严重营养不良。

3. 退出标准:(1)因药物不良反应而更改治疗方案;(2)中断治疗≥2 个月;(3)失访。

三、研究方法

1. 样本量计算:根据《WHO 耐药结核病治疗指南(2016 更新版)》^[5],耐多药结核病的治愈率约为 55%。本课题组前期研究显示,经 6Am-Mfx-PZA-Pto-Cs/18Mfx-PZA-Pto-Cs (Am:阿米卡星;Mfx:莫西沙星;PZA:吡嗪酰胺;Pto:丙硫异烟胺;Cs:环丝氨酸)治疗的耐多药结核病患者,治疗有效率约为 75%,二者合计为 65%。取 $\alpha=0.05$ (单侧), $\text{power}=0.90$,代入公式 $N=\frac{(U_{\alpha}+U_{\beta})^2 24 \pi_c (1-\pi_c)}{(\pi_1-\pi_2)^2}$ 计算, $N=85$ 例。

2. 治疗方法:所有患者均给予 WHO 推荐的耐多药结核病治疗方案(6Am-Mfx-PZA-Pto-Cs/

18Mfx-PZA-Pto-Cs)进行治疗。具体用药方法:阿米卡星 0.4 g/次,1 次/d,肌肉注射或静脉注射;莫西沙星 0.4 g/次,1 次/d,口服;吡嗪酰胺 1.5 g/次,1 次/d,口服;丙硫异烟胺 0.2 g/次,3 次/d,口服;环丝氨酸 0.25 g/次,2 次/d,口服。治疗期间对患者进行随访跟踪,每个月进行复查,包括 3 次痰涂片找抗酸杆菌、1 次痰结核分枝杆菌培养,记录患者每个月的痰菌情况及药物不良反应发生情况;每 2 个月行 1 次胸部 X 线摄片检查,记录病灶变化情况。

3. 吡嗪酰胺酶活性检测:采用 Wayne 法检测,将 2.35 g 7H9 肉汤培养基,450 ml 超纯水,2 ml 甘油,400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吡嗪酰胺,1.5% 琼脂糖混匀高压灭菌,分装 5 ml 于灭菌管中,保持管直立,备用。从罗氏培养基上刮取尽可能多的生长良好的细菌,分别接种于 2 个培养管中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养,其中一管培养 7 d,另一管培养 14 d。培养 7 d 后取出一管加入 1 ml 1% 的硫酸亚铁氨(现用现配),于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内放置 4 h 后取出,在日光灯下,以白纸作为背景,通过肉眼观察培养管中的颜色变化,结果至少经过 2 名研究者确认。结果判读:透明培养管中出现红色条带者(各种程度),即为吡嗪酰胺酶阳性;如无红色条带,14 d 后取出第二管,依上法进行测定,如仍无红色条带即为吡嗪酰胺酶阴性。

4. 吡嗪酰胺药物敏感性检测:采用 BACTEC MGIT 960 系统法,取结核分枝杆菌培养物,制备 1 mg/ml 菌悬液,稀释到 10^6 CFU/L,取 0.5 ml 菌悬液加入至吡嗪酰胺药敏试验专用 MGIT 培养管中(含吡嗪酰胺添加剂,药物浓度 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$);以菌悬液 1:10 的比例稀释加入至吡嗪酰胺药敏专用 MGIT 培养管中(生长对照管;不含吡嗪酰胺)。然后置于 BACTEC MGIT 960 仪器中,仪器根据分枝杆菌生长情况自动报告药敏试验结果。

5. 疗效评估:比较 MDR-PTB 患者治疗 2、4、6 个月末痰菌阴转、病灶吸收和空洞闭合情况。

1)痰菌阴转:采集患者痰液,痰液涂片检查抗酸杆菌 3 次,结果均呈阴性,视为痰菌阴转。

2)病灶吸收:(1)显著吸收:病灶吸收 $\geq 1/2$ 原病灶;(2)吸收:病灶吸收 $< 1/2$ 原病灶;(3)不变:病灶无明显变化;(4)恶化:病灶扩大。吸收率(%)=(显著吸收例数+吸收例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

3)空洞闭合:(1)闭合:空洞闭合或阻塞闭合;

(2)缩小:空洞缩小 $\geq$ 原空洞直径的 $1/2$;(3)不变:空洞缩小或增大 $< 1/2$ 原空洞直径;(4)增大:空洞增大 $> 1/2$ 原空洞直径。空洞闭合有效率(%)=(闭合例数+缩小例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

4)不良反应:包含胃肠道不良反应、肾功能损伤、肝损伤、神经系统损伤、疲劳等。

四、统计学处理

采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计数资料以“百分率(%)”描述,采用卡方检验或校正卡方检验进行组间比较;计量资料呈正态分布时,以“ $\bar{x} \pm s$ ”描述;采用 t 检验进行组间比较。均以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义的判定标准。诊断试验的一致性检验采用 Kappa 检验, $0.8 \leq \text{Kappa 值} \leq 1$ 表明一致性高, $0.6 \leq \text{Kappa 值} < 0.8$ 表明一致性较高, $0.4 \leq \text{Kappa 值} < 0.6$ 表明一致性一般, Kappa 值 < 0.4 表明一致性差。

结 果

一、基线资料的比较

76 例患者中,根据吡嗪酰胺药敏试验结果分为吡嗪酰胺耐药(36 例,47.4%)和吡嗪酰胺敏感(40 例,52.6%);根据吡嗪酰胺酶活性检测结果,分为吡嗪酰胺酶阳性(32 例,42.1%)和吡嗪酰胺酶阴性(44 例,57.9%);吡嗪酰胺药物敏感性检测与吡嗪酰胺酶活性检测诊断结果一致性较高(Kappa = 0.687)。吡嗪酰胺酶阳性与吡嗪酰胺酶阴性患者基线资料的比较,差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05)。见表 1。

二、吡嗪酰胺酶阳性与治疗结果的关系

吡嗪酰胺酶阳性患者治疗 4 个月末病灶吸收率及空洞闭合有效率均高于吡嗪酰胺酶阴性患者,差异均有统计学意义(P 值均 < 0.05);吡嗪酰胺酶阳性患者治疗 6 个月末空洞闭合有效率高于吡嗪酰胺酶阴性患者,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组患者在治疗 2、4 及 6 个月末痰菌阴转率的比较,差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05);两组患者在治疗 2、4 及 6 个月末药物不良反应发生率的比较,差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05)。见表 2~5。

三、药物不良反应发生情况

吡嗪酰胺酶阳性患者在治疗 2 个月末有 3 例患者出现药物性肝损伤,经护肝治疗后好转;1 例出现

表 1 不同临床特征在吡嗪酰胺酶阳性和阴性患者中的分布情况

特征	吡嗪酰胺酶阳性(32 例)	吡嗪酰胺酶阴性(44 例)	检验值	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	40.6 $\pm$ 10.4	41.4 $\pm$ 10.6	$t=0.312$	0.763
性别[例(构成比, %)]			$\chi^2=0.441$	0.507
男性	22(68.8)	27(61.4)		
女性	10(31.2)	17(38.6)		
治疗分类[例(构成比, %)]			$\chi^2=0.105$	0.746
初治	6(18.8)	7(15.9)		
复治	26(81.2)	37(84.1)		
病灶位置[例(构成比, %)]			$\chi^2=0.215$	0.643
单侧	10(31.2)	16(36.4)		
双侧	22(68.8)	28(63.6)		
并发空洞[例(发生率, %)]	29(90.6)	38(86.4)	$\chi^2=0.322$	0.570
吡嗪酰胺表型药敏[例(构成比, %)]			$Kappa=0.687^a$	0.000
敏感	30(93.8)	10(22.7)		
耐药	2(6.2)	34(77.3)		

注 ^a: $0.6 \leq Kappa < 0.8$ 时, 表明一致性较高

表 2 吡嗪酰胺酶活性与耐多药肺结核患者治疗后不同时间点痰菌阴转情况的比较[例(阴转率, %)]

分类	2 个月末	4 个月末	6 个月末
吡嗪酰胺酶阴性(44 例)	18(40.9)	23(52.3)	28(63.6)
吡嗪酰胺酶阳性(32 例)	19(59.4)	22(68.8)	25(78.1)
χ^2 值	2.529	2.083	1.843
P 值	0.112	0.149	0.175

表 3 吡嗪酰胺酶活性与耐多药肺结核患者治疗后不同时间点病灶吸收情况的比较[例(吸收率, %)]

分类	2 个月末	4 个月末	6 个月末
吡嗪酰胺酶阴性(44 例)	15(34.1)	16(36.4)	30(68.2)
吡嗪酰胺酶阳性(32 例)	17(53.1)	19(59.4)	26(81.3)
χ^2 值	2.753	3.949	1.632
P 值	0.097	0.047	0.201

表 4 吡嗪酰胺酶活性与耐多药肺结核患者治疗后不同时间点空洞闭合有效情况的比较[例(有效率, %)]

分类	2 个月末	4 个月末	6 个月末
吡嗪酰胺酶阴性(38 例)	13(34.2)	14(36.8)	24(63.2)
吡嗪酰胺酶阳性(29 例)	14(48.3)	19(65.5)	25(86.2)
χ^2 值	1.352	5.411	4.447
P 值	0.245	0.020	0.035

表 5 吡嗪酰胺酶活性与耐多药肺结核患者治疗后不同时间点不良反应发生情况的比较[例(发生率, %)]

分类	2 个月末	4 个月末	6 个月末
吡嗪酰胺酶阴性(44 例)	5(11.4)	7(15.9)	11(25.0)
吡嗪酰胺酶阳性(32 例)	4(12.5)	6(18.8)	7(21.9)
χ^2 值	0.000 ^a	0.105	0.101
P 值	1.000	0.750	0.750

注 ^a: 为校正的 χ^2 值; 治疗后不同时间点发生不良反应的例数为各组患者治疗过程中合计出现的不良反应例数

尿酸升高, 无关节疼痛表现, 调整低尿酸饮食后好转; 治疗 4 个月末有 2 例患者出现手足末端指关节麻木感, 考虑为环丝氨酸导致的神经毒性, 加用维生素 B6(200 mg/次, 3 次/d) 治疗后症状好转; 治疗 6 个月末有 1 例患者出现听力下降, 考虑为阿米卡星引起的不良反应, 在强化期结束, 停用阿米卡星后, 患者听力恢复。

吡嗪酰胺酶阴性患者在治疗 2 个月末有 1 例出现药物性肝损伤, 经护肝治疗后好转; 2 例出现尿酸升高, 伴关节疼痛表现, 给予别嘌醇治疗尿酸有所下降; 2 例出现胃肠道不良反应, 在调整为餐后服药后症状有所缓解; 治疗 4 个月末有 1 例患者出现明显疲乏的症状, 加用维生素 B6 治疗后症状好转; 另有 1 例出现尿酸升高, 经控制饮食后好转。治疗

6 个月末有 2 例患者出现听力下降,停用阿米卡星后听力恢复;2 例患者出现促甲状腺激素升高,经减少丙硫异烟胺用量后,促甲状腺激素降至正常水平。

讨 论

吡嗪酰胺是抗结核化学治疗的重要药品,是唯一可在酸性环境中杀灭半休眠状态结核分枝杆菌的药品,可缩短抗结核治疗疗程。Njire 等^[6]研究发现,吡嗪酰胺在原发性 MDR-PTB 患者治疗的预后优于未使用吡嗪酰胺的患者,且远期复发率低于未使用吡嗪酰胺的患者。吡嗪酰胺与氟喹诺酮类药物及异烟肼联合使用可提升杀菌活性^[7]。WHO 于 2016 年制定的《WHO 耐药结核病治疗指南(2016 更新版)》^[5]建议,耐多药结核病患者治疗的强化期至少选用包括吡嗪酰胺和 4 种核心的二线抗结核药品。Shi 等^[8]提出,吡嗪酰胺本身并无抗菌活性,其可被动扩散进入结核分枝杆菌内,通过破坏跨膜质子浓度,影响膜的能量代谢及膜的运输能力,引发细菌死亡。Khan 等^[9]和 Bouzouita 等^[10]的研究发现,吡嗪酸可绑定对结核分枝杆菌至关重要的核糖体蛋白 S1(RpsA),抑制其与 tmRNA 之间的结合,阻止 DNA 编码蛋白途径,抑制维系结核病生存的蛋白,实现抑菌的功效,吡嗪酰胺耐药菌株与吡嗪酰胺酶活性丧失密切相关。因此,吡嗪酰胺酶活性可作为吡嗪酰胺在耐多药结核病疗效评估中的重要指标。

随着吡嗪酰胺的广泛应用,其耐药情况也日渐严重。车洋等^[11]对浙江省宁波地区的 110 株耐多药结核分枝杆菌菌株吡嗪酰胺耐药性进行检测,发现耐药率高达 59.09%,且耐多药结核分枝杆菌菌株的吡嗪酰胺耐药性与链霉素、乙胺丁醇、氧氟沙星、左氧氟沙星的耐药性密切相关。Yee 等^[12]对 218 例耐多药结核病患者进行的研究发现,单耐吡嗪酰胺治愈率低于全敏感患者,复发率及死亡率高于全敏感患者。笔者前期对 120 例 MDR-PTB 患者采用 WHO 推荐的含吡嗪酰胺的治疗方案,截至 24 个月的随访研究发现,吡嗪酰胺敏感的耐多药结核患者的病灶吸收率高于吡嗪酰胺耐药的患者;吡嗪酰胺敏感的耐多药结核患者的痰菌阴转率高于吡嗪酰胺耐药的患者,差异均有统计学意义^[13]。

目前,传统吡嗪酰胺表型药敏试验存在诸多缺

陷,包括检测阳性率低、检测周期长及不同实验室的检测结果一致性较差等。由于对吡嗪酰胺敏感的结核分枝杆菌可产生吡嗪酰胺酶,其可将吡嗪酰胺分解为有活性功能的吡嗪酸,而耐吡嗪酰胺者则缺少此酶。因此,测定吡嗪酰胺酶活性代替吡嗪酰胺药物敏感性检测可能是一种有效的筛选方法,本研究结果也显示吡嗪酰胺表型药敏试验与吡嗪酰胺酶活性检测方法的诊断结果一致性较高。检测吡嗪酰胺酶活性的常见方法为 Wayne 法,Wayne 法阴性被认为吡嗪酰胺酶无活性,结核分枝杆菌对吡嗪酰胺耐药。本研究显示,吡嗪酰胺酶阳性患者在治疗 4 个月末的病灶吸收率及空洞闭合有效率,以及治疗 6 个月末的空洞闭合有效率均高于吡嗪酰胺酶阴性患者,差异均有统计学意义;但是两组患者在治疗 2、4 及 6 个月末痰菌阴转率的比较,差异均无统计学意义。考虑结核空洞的形成可导致局部低氧环境及酸性环境的改变,均可增强吡嗪酰胺的活性,且方案中包含了氟喹诺酮类药物,吡嗪酰胺与氟喹诺酮类药物有协同杀菌作用,可增强疗效,研究结果显示治疗 2 个月末吡嗪酰胺酶阳性患者的空洞闭合有效率虽较吡嗪酰胺酶阴性患者有所升高,但未达到有统计学意义的标准,考虑可能与本研究患者例数少,且影像学上吸收改变存在延迟有关。但总体仍说明对吡嗪酰胺敏感的 MDR-PTB 患者治疗效果优于对吡嗪酰胺耐药的 MDR-PTB 患者,与文献^[14-16]的研究结论较为符合。

本研究的局限性在于,研究样本量较小,且为非多中心研究,可能对研究结果产生偏倚。同时由于在进行此项研究时,利奈唑胺、贝达喹啉等药物在本院未能获得有效供应,因此所采用的是 WHO 早先提出的耐多药结核病治疗方案,而非近年的治疗方案。对吡嗪酰胺酶活性检测法为生化显色反应,检测结果的判读会存在主观性误判的可能,且吡嗪酰胺酶活性检测法要求检测样本新鲜和样本量大,如样本不符合要求可能会导致无红色条带出现,从而导致结果的误判。此外,由于研究时间较短,本研究中 MDR-PTB 患者疗效均为强化期后进行的评估,未纳入巩固期疗效数据,吡嗪酰胺敏感性及吡嗪酰胺酶活性对远期疗效的影响值得进一步探讨。吡嗪酰胺耐药性与 *pncA* 基因突变关联密切^[17-19],但是吡嗪酰胺酶活性与 *pncA* 基因突变的关联尚未明

确,本研究并未对全部患者的耐药菌株进行基因检测,故上述基因诱发吡嗪酰胺酶活性的确切关联还要留待后续研究加以明确。

参 考 文 献

- [1] Huy NQ, Lucie C, Hoa TTT, et al. Molecular analysis of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Vietnam highlights the high rate of pyrazinamide resistance-associated mutations in clinical isolates. *Emerg Microbes Infect*, 2017, 6(10): e86. doi:10.1038/emi.2017.73.
- [2] Hoffner S, Angeby K, Sturegård E, et al. Proficiency of drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* against pyrazinamide; the Swedish experience. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2013, 17(11): 1486-1490. doi:10.5588/ijtld.13.0195.
- [3] Daum LT, Konstantynovska OS, Solodiankin OS, et al. Characterization of novel *Mycobacterium tuberculosis* *pncA* gene mutations in clinical isolates from the Ukraine. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2019, 93(4):334-338. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.018.
- [4] Ramirez-Busby SM, Rodwell TC, Fink L, et al. A Multinational Analysis of Mutations and Heterogeneity in PZase, RpsA, and PanD Associated with Pyrazinamide Resistance in M/XDR *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3790. doi:10.1038/s41598-017-03452-y.
- [5] World Health Organization. WHO treatment guideline for drug-resistant tuberculosis (2016 update). Geneva: World Health Organization, 2016.
- [6] Njire M, Tan Y, Mugweru J, et al. Pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*; Review and update. *Adv Med Sci*, 2016, 61(1): 63-71. doi:10.1016/j.advms.2015.09.007.
- [7] Iacobino A, Piccaro G, Giannoni F, et al. Fighting tuberculosis by drugs targeting nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis* bacilli. *Int J Mycobacteriol*, 2017, 6(3):213-221. doi:10.4103/ijmy.ijmy_85_17.
- [8] Shi W, Zhang X, Jiang X, et al. Pyrazinamide inhibits translation in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2011, 333(6049): 1630-1632. doi:10.1126/science.1208813.
- [9] Khan MT, Khan A, Rehman AU, et al. Structural and free energy landscape of novel mutations in ribosomal protein S1 (*rpsA*) associated with pyrazinamide resistance. *Sci Rep*, 2019, 9(1):7482. doi:10.1038/s41598-019-44013-9.
- [10] Bouzouita I, Cabibbe AM, Trovato A, et al. Is sequencing better than phenotypic tests for the detection of pyrazinamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis*, 2018, 22(6): 661-666. doi:10.5588/ijtld.17.0715.
- [11] 车洋, 杨天池, 林相, 等. 浙江省宁波市耐多药结核分枝杆菌吡嗪酰胺耐药特征及与二线抗结核药物耐药关系. *疾病监测*, 2020, 35(3): 237-241. doi:10.3784/j.issn.1003-9961.2020.03.013.
- [12] Yee DP, Menzies D, Brassard P. Clinical outcomes of pyrazinamide-mono-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Quebec. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(5):604-609. doi:10.5588/ijtld.11.0376.
- [13] 吴碧彤, 邝浩斌, 刘志辉, 等. 标准耐多药结核病化疗方案中是否对吡嗪酰胺耐药的疗效对比研究. *中国防痨杂志*, 2019, 41(4):447-451. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2019.04.015.
- [14] Njire M, Tan Y, Mugweru J, et al. Pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*; Review and update. *Adv Med Sci*, 2016, 61(1): 63-71. doi:10.1016/j.advms.2015.09.007.
- [15] Gupta UD, Vemuri N, Gupta P, et al. Efficacy of moxifloxacin & econazole against multidrug resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* in murine model. *Indian J Med Res*, 2015, 142(3): 323-329. doi:10.4103/0971-5916.166599.
- [16] Sun F, Li Y, Chen Y, et al. Introducing molecular testing of pyrazinamide susceptibility improves multidrug-resistant tuberculosis treatment outcomes; a prospective cohort study. *Eur Respir J*, 2019, 53(3): 1801770. doi:10.1183/13993003.01770-2018.
- [17] 关平. 广东地区结核分枝杆菌吡嗪酰胺耐药的 *pncA*、*rpsA*、*panD* 基因分型特征研究. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(17): 2066-2069. doi:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.17.004.
- [18] Werngren J, Alm E, Mansjö M. Non-*pncA* Gene-Mutated but Pyrazinamide-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*; Why Is That? *J Clin Microbiol*, 2017, 55(6):1920-1927. doi:10.1128/JCM.02532-16.
- [19] 洪创跃, 杨婷婷, 李金莉, 等. 深圳市耐多药结核分枝杆菌耐药基因突变特征分析. *中国防痨杂志*, 2020, 42(6):583-589. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2020.06.009.

(收稿日期:2021-06-28)

(本文编辑:郭萌)