

1819 株非结核分枝杆菌行药物敏感性试验的结果分析

吴龙章 谭守勇 谭耀驹 杨建良 潘美玉 陈剑锋 曾少芳 刘燕文

【摘要】 目的 对广州市 1819 株非结核分枝杆菌临床分离株行药物敏感度试验的结果进行回顾性分析,为临床第一线治疗非结核分枝杆菌病提供可靠的科学依据。**方法** 按照中国防痨协会制定的《结核病诊断实验室检验规程》,对 2009—2011 年来自广州市胸科医院门诊就诊和住院患者以及少部分院外单位在实验室中从痰液、支气管冲洗液、胸腹腔积液、尿液以及咽拭子等样品培养出的 14 095 株分枝杆菌进行菌型鉴定,对确认为 NTM 的实验菌株 3264 株,选择没有混合感染的株种 1819 株采用临床上常用的一、二线药物(包括 INH、RFP、S、EMB、Am、Clr、Lfx、Mfx、环丙沙星(CIP)、力克菲蒺、Rfb、Pto 和 Cm 共计 13 种药物)进行敏感度试验。**结果** 非结核分枝杆菌对 INH 和力克菲蒺耐药率达 96.15%(1749/1819)和 95.41%(1248/1308);其他依次为 S 76.25%(1387/1819)、Pto 73.94%(817/1105)、Lfx 72.94%(954/1308)、RFP 72.51%(1319/1819)、EMB 70.42%(1281/1819)、Mfx 65.29%(854/1308)、CIP 60.13%(543/903)、Rfb 56.87%(236/415)和 Cm 50.50%(102/202);而 Clr 和 Am 对非结核分枝杆菌的敏感率为 88.17%(1163/1319)和 67.73%(892/1317)。**结论** 非结核分枝杆菌对一线抗结核药物具有高度的原始耐受性,而大环内酯类的 Clr 和氨基糖甙类的 Am 则对非结核分枝杆菌有较强的抑菌效能,因而对实验室中分离出的非结核分枝杆菌有必要进行药物敏感度试验。

【关键词】 微生物敏感性试验; 分枝杆菌,非典型性; 回顾性研究

The results of drug susceptibility test in 1819 non-tuberculosis mycobacterial strains WU Long-zhang, TAN Shou-yong, TAN Yao-ju, YANG Jian-liang, PAN Mei-yu, CHEN Jian-feng, ZENG Shao-fang, LIU Yan-wen. *Research Division on Tuberculosis, National Key Laboratory on Respiratory Diseases, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou 510095, China*
Corresponding author: WU Long-zhang, Email: wlz8160@yahoo.cn

【Abstract】 Objective To analyze drug sensitivity of non-tuberculosis mycobacteria (NTM) in Guangzhou, to provide reliable scientific basis for the clinical treatment. **Methods** 14 095 mycobacterial isolates were identified by traditional mycobacterial species identification method. 1819 NTM isolates were determined their sensitivity to 13 first-line and second-line anti-tuberculosis drugs (including INH, RFP, S, EMB, Am, Clr, Lfx, Mfx, CIP, Depasac, Rfb, Pto, Cm). **Results** Of 1819 NTM isolates, the INH- and depasac- resistant rates reached 96.15%(1749/1819)and 95.41%(1248/1308), other drug-resistant rates were 76.25% (1387/1819) (S), 73.94% (817/1105) (Pto), 72.94% (954/1308) (Lfx), 72.51% (1319/1819) (RFP), 70.42% (1281/1819) (EMB), 65.29% (854/1308) (Mfx), 60.13% (543/903) (CIP), 56.87% (236/415) (Rfb)and 50.50% (102/202) (Cm), respectively. While Clr- and Am-sensitive rates were 88.17% (1163/1319) and 67.73% (892/1317), respectively. **Conclusion** NTM showed natural resistance to the first-line anti-tuberculosis drugs. The macrolide Clr and Amino sugar glycoside have stronger bacteriostatic effect on NTM. NTM isolates need perform the drug sensitivity testing.
【Key words】 Microbial sensitivity tests; Mycobacteria, atypical; Retrospective studies

非结核分枝杆菌(non-tuberculosis mycobacteria, NTM)肺病是近年来受到重视的肺部疾病。王忠仁等^[1]报道,结核病与 NTM 病比较,结核病倾向于减少,NTM 病则有增多的趋势。日本对 NTM

病进行统计后发现:从 1971—1983 年的 12 年间 NTM 病患者数量上升了 10 倍左右^[2]。绝大多数 NTM 对一线抗结核药物呈现原始耐受性(即 NTM 对某种药物呈先天性耐受)^[3],导致患者病程迁延多年,成为慢性排菌者或难治性患者。而 NTM 的分离率,在实验室中近年来也有上升的趋势^[4-5]。为进一步了解广州市近年来 NTM 对临床上常用药物的耐药情况,为临床第一线治疗 NTM 病提供科学依据,笔者对 1819 株 NTM 进行药物敏感度(简称“药敏”)试验的结果进行了回顾性分析。

基金项目:广东省科技厅(2012A030400035);广州市医药卫生科技项目(20121A011082)
作者单位:510095 广州市胸科医院 呼吸疾病国家重点实验室 结核病研究室
通信作者:吴龙章,Email:wlz8160@yahoo.cn

材料和方法

一、实验菌株

1819 株 NTM 均为 2009—2011 年来自广州市胸科医院门诊就诊和住院患者,以及少部分院外单位在实验室中从痰液、支气管冲洗液、胸腹腔积液、尿液以及咽拭子等样品培养出的 14 095 株分枝杆菌中经菌型鉴定确认为 NTM 的实验菌株。

二、实验方法

1. 试剂:菌型鉴定与药敏试验试剂均按照中国防痨协会制定的《结核病诊断实验室检验规程》要求配制^[6]。

2. 方法:菌种鉴定采用传统的生化反应法;药敏试验采用罗氏培养基为基础的间接比例法^[6]。

3. 实验药物:包括 INH (0.2 μg/ml)、RFP (40 μg/ml)、S(4.0 μg/ml)、EMB(2.0 μg/ml)、Am (40 μg/ml)、Clr(20 μg/ml)、Lfx(3.0 μg/ml)、Mfx (2.0 μg/ml)、环丙沙星(CIP,2.0 μg/ml)、力克菲蒺 (INH+对氨基水杨酸钠合剂,1.0 μg/ml)、Rfb (20 μg/ml)、Pto(10 μg/ml)和 Cm(20 μg/ml)共计 13 种。

结 果

一、各 NTM 分离率

14 095 株分枝杆菌中经实验室菌型鉴定确认为 NTM 的有 3264 株,分离率 23.16%(3264/14 095)。其中以 Runyon IV 群(简称“IV 群”,其他群也如此表示)的龟-脓肿分枝杆菌复合群分离率最高,占 NTM 分离率的 44.61%(1456/3264),其次是Ⅲ群的鸟-胞内分枝杆菌复合群,占 23.35%(762/3264)。各 NTM 菌株分离率见表 1。

二、药敏结果

对其中没有混合感染的株种 1819 株 NTM 进行了药敏试验。结果显示:NTM 对 INH 和力克菲蒺呈现高度的原始耐受性,耐药率高达 96.15%(1749/1819)和 95.41%(1248/1308);其他依次为 S 76.25%(1387/1819)、Pto 73.94%(817/1105)、Lfx 72.94%(954/1308)、RFP 72.51%(1319/1819)、EMB 70.42%(1281/1819)、Mfx 65.29%(854/1308)、CIP 60.13%(543/903)、Rfb 56.87%(236/415)和 Cm 50.50%(102/202);而 Clr 和 Am 则有较强的抑菌效果,NTM 对这 2 种药物敏感率分别为 88.17%(1163/1319)和 67.73%(892/1317)。各 NTM 菌群药敏实验结果见表 2。

表 1 3264 株 NTM 菌株的分离率

Runyon 群	菌名(22 种)	分离株数 (3264 株)	分离率 (%)
I 群	堪萨斯分枝杆菌	85	2.61
	猿分枝杆菌	63	1.93
	海鱼分枝杆菌	31	0.95
Ⅱ 群	戈登分枝杆菌	167	5.12
	苏尔加分枝杆菌	59	1.81
	瘰癧分枝杆菌	54	1.65
Ⅲ 群	鸟-胞内分枝杆菌复合群	762	23.35
	不产色分枝杆菌	70	2.14
	玛尔摩分枝杆菌	52	1.59
	地分枝杆菌	40	1.23
	次要分枝杆菌	32	0.98
	胃分枝杆菌	21	0.64
	嗜血分枝杆菌	16	0.49
	蟾蜍分枝杆菌	16	0.49
	施氏分枝杆菌	16	0.49
	溃疡分枝杆菌	6	0.18
Ⅳ 群	龟-脓肿分枝杆菌复合群	1456	44.61
	偶然分枝杆菌	161	4.93
	耻垢分枝杆菌	126	3.86
	金色分枝杆菌	14	0.43
	草分枝杆菌	12	0.37
	抗热分枝杆菌	5	0.15

讨 论

我国是世界上 22 个结核病高负担国家之一,结核病患者数量居世界第二位。更为严重的是:我国肺结核耐药情况十分突出,耐药率高达 46%,在 WHO 公布的世界 38 个国家和地区结核病耐药检测资料中,我国在引起警示的国家和地区中排名第一。耐药导致结核病患者化疗失败,造成排菌患者和难治患者数量增加,并导致更多的人被耐药 Mtb 感染,更多的新患者难以治愈^[7]。

临床上,难治、复治患者中由 NTM 引起感染的 NTM 病均已受到临床第一线的广泛重视,其临床症状酷似由 Mtb 引起的结核病^[7],病程长,反复出现咳嗽、发热和咯血等症状,部分患者痰涂片镜检抗酸杆菌长期阳性,一线抗结核药物常规治疗效果差,甚至无效。从表 2 的药敏结果可以看出:NTM 对 INH 和力克菲蒺呈现高度的原始耐受性,对 RFP、S 和 EMB 也有 70%以上的耐药率。此外由 NTM 引起的肺部疾病,其 X 线胸片特征与由 Mtb 引起的肺

表 2 不同药物对非结核分枝杆菌各群属的药敏试验结果

药物	I 群			II 群			III 群			IV 群			合计		
	耐药株数	实验株数	耐药率 (%)	耐药株数	实验株数	耐药率 (%)	耐药株数	实验株数	耐药率 (%)	耐药株数	实验株数	耐药率 (%)	耐药株数	实验株数 ^a	耐药率 (%)
INH	45	46	97.83	268	284	94.37	528	573	92.15	908	916	99.13	1749	1819	96.15
RFP	12	46	26.09	54	284	19.01	355	573	61.95	898	916	98.03	1319	1819	72.51
S	31	46	67.39	57	284	20.07	401	573	69.98	898	916	98.03	1387	1819	76.25
EMB	11	46	23.91	124	284	43.66	258	573	45.03	888	916	96.94	1281	1819	70.42
Am	4	35	11.43	13	252	5.16	94	387	24.29	314	643	48.83	425	1317	32.27
Clr	2	35	5.71	3	262	1.15	23	387	5.94	128	635	20.16	156	1319	11.83
Lfx	11	35	31.43	52	252	20.63	306	387	79.07	585	634	92.27	954	1308	72.94
Mfx	7	35	20.00	29	252	11.51	243	387	62.79	575	634	90.69	854	1308	65.29
力克菲蒺	32	35	91.43	235	252	93.25	353	387	91.21	628	634	99.05	1248	1308	95.41
Rfb	2	18	11.11	2	31	6.45	29	149	19.46	203	217	93.55	236	415	56.87
Pto	10	32	31.25	78	197	39.59	196	329	59.57	533	547	97.44	817	1105	73.94
CIP	10	17	58.82	52	220	23.64	194	238	81.51	287	428	67.06	543	903	60.13
Cm	0	3	0.00	8	55	14.55	20	57	35.09	74	87	85.06	102	202	50.50

注^a:实验株数根据临床要求做药敏的数量而定,总数不都是 1819 株

结核没有任何的区别^[8]。

表 2 的药敏结果显示:在广州市胸科医院实验室分离出的 I 群(包括堪萨斯、海鱼、猿分枝杆菌)、II 群(包括瘰癧、戈登、苏尔加分枝杆菌)、III 群(包括鸟-胞内复合群、嗜血、胃、地、次要、不产色、施氏、玛尔摩、溃疡、蟾蜍分枝杆菌)以及 IV 群(包括龟-脓肿复合群、耻垢、偶然、草、抗热、金色分枝杆菌)等共计 22 种 NTM,对 INH 和力克菲蒺的耐药率都在 90% 以上。而对其他药物的耐药率,NTM 各菌群属间则有着明显的差异。总体分析表现:II 群 NTM 对 13 种药物的敏感度为 4 个群 NTM 中较为敏感的一组菌群,其次为 I 群 NTM。而 IV 群 NTM 对 13 种药物的耐药率,除对 CIP 耐药率位居第二之外,其他 12 种药物均居于其他菌群之首。

一线抗结核药物(包括 INH、RFP、S 和 EMB),是临床上治疗结核病的常规药物。NTM 对这类抗结核药物尤其是对 INH 具有高度的原始耐受性^[3],但各 NTM 群间对 RFP、S 和 EMB 却有着程度不同的敏感度。其中 II 群 NTM 对 RFP 和 S 有较高的敏感度,敏感率分别为 80.99%(230/284)和 79.93%(227/284);I 群 NTM 则对 EMB 和 RFP 较为敏感,敏感率分别为 76.09%(35/46)和 73.91%(34/46);III 群 NTM 除对 EMB 有 54.97%(315/573)的敏感率外,对 RFP 和 S 则有 60% 以上的耐药率。而 IV 群 NTM 对临床第一线治疗结核病的常规药物呈现出高度的原始耐受性,耐药率均达到 97% 以上(除 EMB 为 96.94%)。

在二线抗结核药物(包括 Am、Clr、Lfx、Mfx、

CIP、力克菲蒺、Rfb、Pto 和 Cm)中,Clr 对 NTM 有很强的抑菌效果。其中 II 群 NTM 对其耐药率仅有 1.15%(3/262),I 群和 III 群的耐药率也只有 5.71%(2/35)和 5.94%(23/387),IV 群对其耐药率则为 20.16%(128/635)。其次是氨基糖甙类药物的 Am,II 群对其耐药率只有 5.16%(13/252),I 群仅为 11.43%(4/35),III 群为 24.29%(94/387),IV 群对其耐药率除 Clr 外(20.16%),是耐药率第二低的药物,为 48.83%(314/643)。此外,同属为利福霉素类衍生物的 Rfb^[9],对 NTM 的有效抑菌效果明显比 RFP 要高,其中 I、II 群 NTM 对前者的耐药率分别为 11.11%(2/18)和 6.45%(2/31),后者为 26.09%(12/46)和 19.01%(54/284),两者间相差分别有 14.98 和 12.56 个百分点;而 III 群 NTM 对 Rfb 的耐药率是 19.46%(29/149),对 RFP 的耐药率则高达 61.95%(355/573),相差更是有 42.49 个百分点,但 IV 群 NTM 则对此二种药物呈现高度的原始耐受性,耐药率均在 93% 以上。喹诺酮类药物中,Lfx、Mfx 和 CIP 三者也尽显不同的抑菌效果。其中 Lfx 对 II 群 NTM 有较好的抑菌效果,耐药率仅为 20.63%(52/252),其次是 I 群 NTM,为 31.43%(11/35),III 群 NTM 的耐药率则高达 79.07%(306/387);Mfx 对 NTM 的抑制效果比 Lfx 明显要强,II 群 NTM 的耐药率只有 11.51%(29/252),I 群也仅为 20.00%(7/35),III 群的耐药率比 Lfx 也要低,为 62.79%(243/387);而 CIP 在 3 种喹诺酮类药物中的抑菌效果是最低的,除对 IV 群 NTM 的耐药率比 Lfx 和 Mfx 稍微要低(67.06%)外,对其

他 NTM 群体的耐药率都比后两者要高。而 Pto 对 I、II 群 NTM 的抑菌效果基本相同,IV 群则对其有高度的原始耐受性。

此外,分离出的 3264 株 NTM,其中以 IV 群的龟-脓肿分枝杆菌复合群分离率最高,占 NTM 分离率的 44.61% (1456/3264),其次是 III 群的鸟-胞内分枝杆菌复合群,占 23.35% (762/3264);两者占 NTM 总数的 67.95% (2218/3264),可见 IV 群的龟-脓肿分枝杆菌复合群是广州地区主要感染菌株,其次是 III 群的鸟-胞内分枝杆菌复合群。

另外,为了使药敏实验结果具有可靠性以避免误导临床第一线用药,本研究的 1819 株 NTM 所做的药敏实验所用的株种均为单一感染株而非混合感染株种。

综上所述:II 群 NTM 对抗生素的敏感度较高,而 IV 群 NTM 则对抗生素有着高度的天然耐受性,是临床第一线治疗 NTM 病不容忽视的重要致病源^[8]。在临床上治疗 NTM 病时,大环内酯类的 Clr 和氨基糖甙类的 Am 以及利福霉素类衍生物 Rfb,外加一线抗结核药物 EMB,是首选的药物治疗方案^[9]。如考虑氨基糖甙类药物的不良反应^[10],则可选用喹诺酮类药物中的 Mfx。因此在实验室中分离

出 NTM 时,菌型鉴定和药敏试验就显得非常重要。

参 考 文 献

[1] 王忠仁,张宗德,张本. 非结核分枝杆菌病的流行趋势. 中华结核和呼吸杂志,2000,23(5):263-265.
[2] 张敦熔. 结核病新概念. 北京:中国农业科技出版社,1995:414-419.
[3] 吴龙章,蔡杏珊,谭守勇. 试管内药物抑制分枝杆菌生长的观察. 广东医学,2001,22(6):512-516.
[4] 吴龙章,陈素颖,曾少芳,等. 广州市 12 年间分枝杆菌菌型与药物敏感性结果变迁的分析. 中华预防医学杂志,2011,45(1):26-29.
[5] 林世平,杨应周,谭卫国,等. 深圳地区生态环境中非结核分枝杆菌分布状况调查. 中华流行病学杂志,2007,28(5):430-432.
[6] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程. 北京:中国教育文化出版社,2006:30-96.
[7] World Health Organization. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Geneva:WHO,2000.
[8] 吴龙章,蔡杏珊,关玉华,等. 66 例非结核分枝杆菌肺病的临床分析. 中国防痨杂志,2003,25(4):257-259.
[9] 谭守勇,吴龙章. 不同组合的抗结核药物对结核分枝杆菌药敏试验测定. 中国综合医学杂志,2000,13(12):58-59.
[10] 宋文虎,肖成志,宋礼章. 结核病学进展. 2 版. 光明日报出版社,1995:95-159.

(收稿日期:2012-08-16)

(本文编辑:郭萌)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

论文中名词术语的使用规则

1. 医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词,可选用最新版《医学主题词表(MeSH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。对没有通用译名的名词术语于文内第一次出现时应注明原词。中西药名以最新版本《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写)为准。英文药物名称则采用国际非专利药名。在题名及正文中药名一般不得使用商品名,确需使用商品名时应先注明其通用名称。中医名词术语按 GB/T 16751.1-1997《中医临床诊疗术语疾病部分、证候部分、治法部分》执行,经络针灸学名词术语按 GB/T 16751.2-1997《经穴部位》和 GB/T 16751.3-1997《耳穴名称与部位》执行。中药应采用正名,药典未收录者应附注拉丁文。

2. 冠以外国人名体的征、病名、试验、综合征、方法、手术等,人名可以用中译名,但人名后不加“氏”(单字名除外,例如福氏杆菌);也可以用外文,但人名后不加“s”。例如: Babinski 征,可以写成巴宾斯基征,不写成 Babinski's 征,也不写成巴宾斯基氏征。

3. 已被公知公认的缩略语可以不加注释直接使用。如: DNA、RNA、HBsAg、PCR、CT、WBC 等。不常用的、尚未被公知公认的缩略语以及原词过长在文中多次出现者,若为中文可于文中第一次出现时写出全称,在圆括号内写出缩略语;若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称,在圆括号内写出外文全称及其缩略语。例如:流行性脑脊髓膜炎(流脑),阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome,OSAS)。不超过 4 个汉字的名词不宜使用缩略语,以免影响文章的可读性。不要使用临床口头简称(例如将“人工流产”简称“人流”)。西文缩略语不得拆开转行。

4. 中国地名以最新公布的行政区划名称为准,外国地名的译名以新华社公开使用的译名为准。

5. 复合名词用半字线连接。例如:下丘脑-垂体-肾上腺轴等。

6. 英文名词除专有名词(国名、地名、姓氏、协作组、公司、会议等)首字母大写外,其余均小写。德文名词一律首字母大写。

(本刊编辑部)