

• 案例分析 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 13. 038

初治耐多药结核性脑膜炎伴氟喹诺酮耐药 1 例报道并文献分析

秦 万,徐 勇,杨儒斌,王明栋,欧维正,张 娟
贵州省贵阳市公共卫生救治中心检验科,贵州贵阳 550024

关键词:初治; 耐多药结核性脑膜炎; 氟喹诺酮; 基因突变
中图分类号:R446. 5 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2022)13-1865-04

结核性脑膜炎(TBM)是由结核分枝杆菌通过血-脑屏障进入中枢神经系统引起感染的非化脓性炎症性疾病,约占全身性结核病的 6%^[1],该病是肺外结核最为严重的一种^[2]。如果诊断不及时,错过了治疗的最佳时机,TBM 患者可能会留下后遗症或导致终身残疾甚至死亡。因此,结核病专科医院临床实验室对结核病原菌及药敏试验检验设备和人员检测技术都应该有一定的要求,才能及时提供正确的信息,给临床医生及时制订治疗方案提供参考。随着耐药及耐多药肺结核(MDR-TB)的流行,耐药 TBM 患者逐渐增多,由于血-脑屏障的影响,耐药 TBM 的治疗方案和药物选择存在困难,致使治疗效果不理想,影响了 TBM 的预后^[3]。同时,传统脑脊液细菌学检查阳性率较低,而脑脊液结核菌罗氏培养作为确诊需要的细菌依据,目前认为脑脊液培养阳性率为 30%~40%^[4]。因此,TBM 的诊断和治疗比 MDR-TB 的诊断和治疗还要困难,特别是对于部分专科医疗单位,如果没有现代快速诊断检验设备,单靠传统的抗酸涂片染色或罗氏培养来检测病原菌,不但检出率低,而且还会延误患者治疗的最佳时机。所以,现在最为热点推荐的分子生物学检测的临床应用,不但检测时间快,而且准确可靠。故作者回顾性分析 1 例初治伴氟喹诺酮耐药且耐多药结核性脑膜炎(MDR-TBM)患者实验室病原学检测及相关药敏试验,以及在本院治疗 3 年均未治愈的原因及治疗情况,并且结合相关文献复习,以期对 MDR-TBM 目前的治疗进展有进一步认识并引起重视,减少后遗症和病死率,提高治愈率。

1 临床资料

患者,男,21 岁,无业,未婚;发育正常,营养欠佳,体型偏瘦;发病 3 年来体质量减轻 10 kg;既往身体健康,无传染病、慢性病,无输血、药物过敏史等;预防接种史不详。个人史:出生后生活在原籍,无疫区居住史,偶有饮酒,无吸烟史;家族史:否认有家族遗传病及类似疾病;否认粉尘、结核接触史。3 年前无明显诱因出现咳嗽伴发热,于本院就医诊断为肺结核,予以板式抗结核治疗和入院规范治疗后,病情仍未好转。1 个月后出现头痛、发热,体温 38. 5℃左右,再次入院就诊,行头颅磁共振成像检查提示颅内感染,考虑“结核”转至结核病专科医院治疗,完善检查后明确诊断

为“初治 MDR-TB 和初治 MDR-TBM”。予抗结核、脱水及对症等治疗,并定期腰椎穿刺+鞘内注药,治疗期间患者反复头痛,查痰液和脑脊液结核分枝杆菌核酸检测阳性,并采用基因芯片法检测利福平与异烟肼耐药基因,结果显示,利福平与异烟肼多个相关耐药基因突变。采用溶解曲线法检测利福平、异烟肼、乙胺丁醇和氟喹诺酮均显示耐药基因突变。此后因患者反复头痛、发热、恶心等来本院住院治疗达 10 余次。抗结核治疗过程中出现皮疹,每次入院就诊的症状都相似,后来入院就治疗时,对抗结核治疗方案进行了调整,方案为“莫西沙星、环丝氨酸、吡嗪酰胺、丙硫异烟肼、利奈唑胺、氯法齐明”,经治疗后患者发热、头痛好转出院。出院 5 d 后患者又出现厌油、头痛等症状再次入院,该患者入院治疗时进行对症治疗,临床症状有所缓解,院外规律治疗 3 个月后又出现纳差、厌油,间断头痛,后就诊于昆明某传染病专科医院,但患者病情仍未见好转,再一次来本院治疗,行腰椎穿刺提示颅内压高,予“阿米卡星、莫西沙星、环丝氨酸、吡嗪酰胺、丙硫异烟肼”+激素抗结核、脱水降颅内压及对症治疗,病情好转后出院,院外规律抗结核治疗(其中阿米卡星 6 个月,激素遵医嘱逐渐减量),但最终治疗效果仍欠佳,最后追踪调查得知,该患者后期临床症状愈发严重,后经治疗无效病逝。

2 实验室药敏试验检测指标及结果

2.1 药敏试验检测指标 基因芯片法检测指标包括利福平和异烟肼的 3 个耐药相关基因(rpoB 基因、katG 基因及 inhA 基因)启动子的野生型及不同突变型。对于利福平耐药相关基因(rpoB 基因)检测 6 个位点;对于异烟肼耐药相关基因(katG 基因及 inhA 基因)启动子各检测 1 个位点。溶解曲线法检测指标包括利福平[rpoB507~533(81 bp)耐药决定区]、异烟肼[ahpC 启动子区(-44~-30 及 -15~3 位点)]、inh94 密码子、inhA 启动子区(-17~-8 位点)及 katG315 密码子;乙胺丁醇(embB306、406、497 密码子突变);氟喹诺酮(gyrA88~94 耐药决定区);试剂与配套仪器均由厦门致善生物科技股份有限公司提供。MicroDST™ 微孔板药敏试验是一种 MDR-TB 的检测方法,该方法是一种基于液体培养基中进行的比例法,测定药物的灵敏度,可对常用一、二线共 16

种结核药物进行测试,即链霉素、利福平、异烟肼、乙胺丁醇、利福喷丁、左氧氟沙星、阿米卡星、卷曲霉素、丙硫异烟肼、力克肺疾、莫西沙星、对氨基水杨酸、克拉霉素、利福布汀、卡那霉素、氯法齐明,试剂与配套仪器由珠海银科生物科技有限公司提供。

2.2 脑脊液标本药敏试验结果

2.2.1 患者 2019 年 9 月首次入院脑脊液结核分枝杆菌核酸阳性基因芯片药敏试验结果 利福平:rpoB 531(C→T)突变型被检标本发现与利福平耐药相关基因突变,该菌株对利福平耐药;异烟肼:katG 315(G→C)突变型和 inhA-15(C→T)突变型被检标本发现与异烟肼耐药相关基因突变,该菌株对异烟肼耐药。

2.2.2 2021 年 8 月回顾性应用患者脑脊液罗氏培养阳性的保存菌株溶解曲线药敏试验结果 利福平、异烟肼、乙胺丁醇和氟喹诺酮均显示耐药。

2.2.3 2019 年 11 月患者脑脊液罗氏培养阳性菌株 MicroDST™ 微孔板药敏试验结果 MicroDST™ 微孔板药敏试验对 16 种抗结核药物的结果分别是链霉素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇、利福喷丁、左氧氟沙星、莫西沙星、利福布汀均耐药;阿米卡星、卷曲霉素、丙硫异烟肼、力克肺疾、对氨基水杨酸、克拉霉素、卡那霉素、氯法齐明均敏感。

3 讨 论

据世界卫生组织 2018 年报告显示,2017 年我国结核病患者约 78 万例,其中耐多药患者约 5.8 万例^[5],进一步说明我国目前 MDR-TB 的严峻性。从以上临床资料可知,该患者是 1 例典型的初治 MDR-TB 和初治 MDR-TBM 患者,而且前后在省内入院治疗 10 余次,除了对症治疗外,治疗效果欠佳,究其原因除因为 TBM 是肺外结核最难治疗外,最主要的原因还是因为该患者是 1 例典型的初治 MDR-TBM,而 MDR-TBM 治疗疗程长,通常需 2~3 年,且效果差,病死率高^[6],因而导致 TBM 患者病死率较高。由以上药敏试验结果看出,该患者对利福霉素类利福平、利福喷丁和利福布汀均耐药,进一步证实利福霉素类药物具有交叉耐药现象^[7]。除此之外,该患者还对氟喹诺酮类左氧氟沙星和莫西沙星呈现耐药,这一现象的产生,有可能会该患者进一步发展为广泛耐药肺结核(XDR-TB)。因此,要治愈该患者难度非常大,由以上患者治疗过程的资料可知,经一线和二线抗结核药物联合治疗 2~3 年,治疗效果仍然欠佳,同时还有其他并发症发生,特别是早期患者用利福平联合其他抗结核药物时就发生过皮疹,后经调整治疗方案后就没发生该并发症,说明利福平的不良反应与皮疹的发生相关。

该患者是一位非常年轻的男性,从某种意义上来说,其体质较好,免疫功能较强,治疗效果应该比年老或年幼体质较弱或免疫功能差的患者好才对。治疗过程中经过几次方案的调整,特别是采用二线体外药

敏试验敏感的药物进行治疗,但治疗后仍未见好转,反而并发症有加重的可能,这可能是因为二线药物不良反应较大,而治疗效果欠佳的原因有可能是治疗药物多个耐药基因突变和 TBM 固有特征等诸多因素,影响其他治疗药物的效果,这也是值得研究的问题。在临床上曾经遇到 1 例 MDR-TB 患者,基因芯片法检测出其利福平有多个位点缺失疑似菌株,后经基因测序后证实有多个位点缺失,同时对其做了液体微孔板药敏试验,按其要求药敏试验报告时间为 7~14 d^[8],然而其耐药孔菌株 14 d 以后生长欠佳,排除菌株老化或菌株存活较少外,为了对比验证,又把该药敏板存放在温箱 37℃ 孵育近 1 个月,才见利福平、异烟肼等耐药孔细菌生长良好,敏感孔仍未见细菌生长,本例菌株也是如此,由此可见,耐药基因的突变或缺失都有可能导致原本耐药的菌株生长受到暂时抑制,错误地在方法学规定药敏时间内显示敏感,从而导致临床医生在治疗方案药物选择上错误搭配,因此就导致患者久治难愈。其他抗结核治疗药物体外药敏试验敏感,但治疗效果欠佳,这有可能与多个位点耐药基因突变或缺失而导致机体耐受紊乱,从而影响其他抗结核药物疗效有关。

从上述临床资料诊断中还可知,该患者是一位初治 MDR-TBM 和初治 MDR-TB 患者,对于这种天然 MDR-TB,特别是天然 MDR-TBM 患者,治疗效果更差。而本例患者极有可能是由肺结核继发感染为 TBM 的,有关研究显示,有 5%~15% 的肺结核患者继发 TBM^[9]。TBM 的早期诊断、治疗与预后密切相关^[10]。TBM 早期诊断非常重要,对患者的治疗和预后均有重要临床意义。然而 TBM 的临床特点与实验室诊断因早期症状不典型及缺少有效辅助检查,容易被误诊、误治^[11]。还有就是 TBM 治疗的药物选择也很有限,因为要选择一种既有疗效,同时还要具备能穿透血-脑屏障而且又安全的药物,就目前的条件非常困难,特别是针对耐药性 TBM 更是任重道远,这是导致 TBM 致死率高或后遗症多的原因。再者就是 MDR-TBM 诊断难度大、病死率及致残率均较高,是目前结核病控制工作的重点和难点^[12]。以往 TBM 诊断的“金标准”快速培养因诊断准确率高、检测时间相对较短而得名^[13],目前由于分子生物学检测技术的不断开展,TBM 的诊断准确率得到很大提高。有关文献报道,RNA 恒温扩增法对含菌量较少的脑脊液标本的检测更具临床应用价值,对确诊患者的检出率达 90% 以上^[14]。Gen Xpert MTB/RIF 临床检测的投入,对 TBM 的检测诊断和利福平耐药性筛查均有较大的临床意义,因为该检测技术对含菌量较少标本的检出率较高。同时,快速分子生物学药敏检测的开展,如结核分枝杆菌溶解曲线法的开展,其药敏检测只需 2~3 h,故对 MDR-TB 的及早诊断和有效药物治疗筛选均有重要临床意义。

临床治疗方面,值得期待的是,近几年有关实验室及临床研究显示,将克拉维酸加入含有敏感的二线药物方案中治疗 MDR-TB/XDR-TB 具有较好的疗效,且美罗培南的血-脑屏障穿透率高,中枢神经系统不良反应发生率低,在耐药性 TBM 治疗中具有一定优势^[15]。此外,近期在全国临床专科结核病医院推荐使用的贝达喹啉、德拉马尼和利奈唑胺对 MDR-TB 的治疗效果也得到广大临床医生和患者认可,但这只是对 MDR-TBM 以外的 MDR-TB 患者有用,因为据 AKKERMAN 等^[16]报道显示,贝达喹啉对血-脑屏障的穿透性可能较差,需更大样本研究结果支持,而且该药适合于作为联合治疗的一部分治疗成人 MDR-TB^[17],所以该药是否适合于治疗 MDR-TBM 还有待进一步研究。德拉马尼现在主要用于 MDR-TB 的化疗,而是否可用于 MDR-TBM 的治疗有待研究,但 SHIBATA 等^[18]的研究结果显示,该药具有良好的血-脑屏障渗透性,可能是治疗耐药性 TBM 的有效药物。而利奈唑胺则具有治疗 MDR-TBM 的良好效果,ALSLEBEN 等^[19]成功治愈 1 例 MDR-TBM 患者,在治疗方案中就加用了利奈唑胺。除此之外,吡嗪酰胺不但作为抗结核的一线药物,而且在抗 MDR-TBM 中也是作为核心抗结核药物,但常规比例法药敏试验则无法检测其耐药性,因此,建议采用结核分枝杆菌对吡嗪酰胺进行耐药基因检测^[20]。有关研究显示,氟喹诺酮类药物莫西沙星或左氧氟沙星联合其他抗结核敏感药物在 MDR-TBM 的治疗中也有一定疗效,所以该类药物在体外药敏试验敏感的情况下可联合用药,对 MDR-TBM 的治疗具有不错的疗效^[21-22]。然而本文报道的该患者的两种药敏试验结果均耐药,如果使用或加大剂量务必会导致 XDR-TBM 发生,这也是临床医生在制订治疗方案时应该要考虑的,所以,对于该疾病治疗有效、安全措施的拟定非常棘手。

综上所述,该患者是 1 例典型的初治 MDR-TB 和初治 MDR-TBM 患者,从发病到入院治疗 10 余次,治疗效果欠佳,这可能是因为除目前没有特效的 MDR-TBM 药物外,还极有可能是因为该患者多个基因突变的影响,改变了机体自身的免疫功能对药物耐受性的变化,因而导致其他体外敏感药物进入机体后降低或失去了抗菌作用。所以,该患者即使是治疗了 3 年多仍未见好转,而且反复的临床表现愈来愈频繁,这也许是初治 MDR-TBM 多个基因耐药突变耐药或广谱抗菌药物氟喹诺酮类药物的耐药性导致治疗欠佳或失败的重要原因。据后期追踪调查了解到,该患者还留下了一定的后遗症,后期因 MDR-TBM 病情越来越重而死亡。因而,作者对此案例进行分析和探讨,并进行相关文献复习,是希望广大医务工作者及有关部门高度重视,加大这方面的科学研究和经费投入,尽快研发出对该疾病治疗的有效药物,提高该疾

病的治愈率,减少该疾病的后遗症,降低病死率。

参考文献

[1] 秦万,欧维正,蒙俊,等. 结核性脑膜炎对 6 种抗结核药全耐药的 1 例报道[J]. 临床肺科杂志,2015,20(12):2320-2321.

[2] 戈启萍,杜亚东,黄学锐,等. 一例耐多药结核性脑膜炎患者的诊治过程并文献复习[J]. 中国防痨杂志,2019,41(7):795-798.

[3] 刘珂伟,张立群. 耐药性结核性脑膜炎的治疗进展[J]. 中华结核和呼吸杂志,2019,42(5):382-385.

[4] 中华医学会. 临床诊疗指南结核病学分册[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:58-61.

[5] World Health Organization. Global tuberculosis report 2018 [R]. Geneva:WHO,2018.

[6] 陆秀琴,周新风,周文健,等. 耐多药结核患者生存质量的研究进展[J]. 护理实践与研究,2016,13(12):18-20.

[7] 张姝,白金泉. 源于天然产物的抗耐多药结核病优秀候选药物[J]. 国外医药(抗生素分册),2010,31(3):114-118.

[8] 李静,王智存,白广红,等. MicroDST™ 微孔板检测法对抗结核一、二线药物敏感性试验的临床价值[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2018,11(5):583-587.

[9] 马占云,陈鹏,范学文. 结核性脑膜炎临床研究进展[J]. 中国现代神经疾病杂志,2014,14(8):664-670.

[10] 金慧芳,刘鑫. 脑脊液 Gene Xpert MTB/RIF 检测和结核杆菌快速培养辅助诊断结核性脑膜炎的价值比较[J]. 临床内科杂志,2018,35(8):529-530.

[11] 李国芬,胡天喜,童湘豫,等. 57 例结核性脑膜炎的临床表现及实验室检查分析[J]. 中国现代医学杂志,2005,15(2):309-310.

[12] FALZON D,SEHINEMANN H J,HARAUZS E,et al. World Health Organization treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update [J]. Eur Respir J, 2017,49(3):1602308.

[13] 姚源蓉,罗新华. 结核性脑膜炎的诊断及其研究进展[J]. 临床内科杂志,2017,34(11):737-739.

[14] 秦万,王琼,王明栋,等. RNA 恒温扩增法与 PCR-荧光探针法在含结核菌菌量较少标本中检出率的比较[J]. 贵州医药,2019,43(9):1457-1459.

[15] 陈旋,张炜. 美罗培南联合克拉维酸对耐多药和广泛耐药结核分枝杆菌的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志,2018,41(1):51-54.

[16] AKKENNAN O W,ODISH O F,BOLHUIS M S,et al. Pharmacokinetics of bedaquiline in cerebrospinal fluid and serum in multidrug-resistant tuberculous meningitis[J]. Clin Infect Dis,2016,62(4):523-524.

[17] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南:2015[J]. 中国防痨杂志,2015,37(5):421-469.

[18] SHIBATA M,SHIMOKAWA Y,SASAHARA K,et al. Absorption,distribution and excretion of the anti-tuberculosis drug delamanid in rats:extensive tissue distribution suggests potential therapeutic value for extrapulmonary tuberculosis [J]. Biopharm Drug Dispos, 2017, 38(4):301-312.

[19] ALSLEBEN N,GARCIA-PRATS M,HESELING A C, et al. Successful treatment of a child with extensively drug-resistant tuberculous meningitis[J]. J Pediatric Infect Dis Soc,2015,4(3):41-44.

[20] ALIANA S,SHASHKINA E,MATHEMA B,et al. Pnca gene mutations associated with pyrazinamide resistance in drug-resistant tuberculosis, south africa and georgia[J]. Fmerg Infect Dis,2017,23(3):491-495.

[21] 黄荣. 莫西沙星与抗结核药物联用治疗难治性结核性脑膜炎的疗效观察[J]. 保健文汇,2020,21(2):155-156.

[22] 杜冉. 左氧氟沙星辅助治疗重症结核性脑膜炎的可行性及安全性分析[J]. 中国实用神经疾病杂志,2016,19(13):127-128.

(收稿日期:2021-11-18 修回日期:2022-03-18)

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.13.039

胆道蓝氏贾第鞭毛虫病 1 例^{*}

叶海燕,袁燕飞,曾 胜,邢凡凡,阳 晋,刘永棠,劳锦辉
香港大学深圳医院临床微生物及感染控制科,广东深圳 518000

关键词:胆汁湿片镜检法; 蓝氏贾第鞭毛虫病; 胆总管囊肿
中图分类号:R183.5 **文献标志码:**C **文章编号:**1672-9455(2022)13-1868-03

十二指肠贾第虫也称为蓝氏贾第鞭毛虫或肠贾第虫,是一种能够引起散发性或流行性腹泻的原虫类寄生虫,其主要寄生于人和某些哺乳类动物的小肠^[1]。高危人群包括婴幼儿、跨国被收养者、旅行者、免疫功能低下者和囊性纤维化患者。蓝氏贾第鞭毛虫病在卫生设施落后、水处理条件有限的地区尤其常见。世界范围内,十二指肠蓝氏贾第鞭毛虫是 5 岁以下儿童中腹泻的第三大病原体,仅次于轮状病毒和隐孢子虫,每年报道有 3 亿多例病例^[2]。十二指肠蓝氏贾第鞭毛虫传播的途径有 3 种:水源性传播、食源性传播或粪-口传播^[1],蓝氏贾第鞭毛虫病临床表现严重程度不一,有无症状者,急性、慢性感染者。急性感染主要表现为腹泻、脂肪泻、腹胀、发热及呕吐等,慢性感染者可因吸收不良导致体质量下降,以及获得性乳糖不耐受。在罕见情况下,蓝氏贾第鞭毛虫可从十二指肠播撒至胆管和胰管,导致胆囊炎、胆管炎或肉芽肿性肝炎。本文将本院采用胆汁湿片镜检法诊断的 1 例胆道蓝氏贾第鞭毛虫病报道如下。

1 临床资料

患者,男,30 岁,在深圳工作生活 10 年。婴儿时期曾有不明病因的黄疸性肝炎,治疗后好转。儿时居住在农村,平时喜食生的瓜果蔬菜,6~12 岁每年夏天不明原因腹痛 1~2 个月,服用中药后好转。12 岁后未再出现腹痛及腹泻。近 2 年感疲惫,喝牛奶后易出现腹胀及腹泻,乳糖不耐受,近期无外出旅行史,无高血压及糖尿病等慢性疾病,无长期服用药物史,近期无动物接触史。

患者因发现胆总管囊肿 20 d 就诊,入院前 2 周偶有腹胀伴恶心,无呕吐,无发热,无腹泻及腹痛,无胸

痛,无消瘦,无皮疹。腹部无压痛及反跳痛,Murphy 征为阴性,肝、脾、肋下未扪及,移动性浊音为阴性。血常规检查显示,白细胞计数 $8.06 \times 10^9/L$,血红蛋白 159 g/L,血小板计数 $216 \times 10^9/L$,嗜酸性粒细胞 $0.26 \times 10^9/L$ 。肝功能检查显示,丙氨酸氨基转移酶 13.7 U/L,天门冬氨酸氨基转移酶 17.6 U/L,清蛋白 45.1 g/L,总胆红素 $9.6 \mu\text{mol/L}$,直接胆红素 $3.9 \mu\text{mol/L}$ 。血淀粉酶 74 U/L,血糖正常,人类免疫缺陷病毒(HIV)抗原及抗体均为阴性,免疫球蛋白(Ig)A 2.53 g/L。腹部 CT 检查显示肝门下-胰头区较大囊性灶,考虑胆总管囊肿(I 型),最大径为 $49 \text{ mm} \times 49 \text{ mm} \times 77 \text{ mm}$,胰头部胰管略受压扩张(图 1),入院后行胆总管囊肿切除及胆肠吻合术。

2 胆汁湿片镜检法

本院所有肝胆外科手术均会在术中采用胆汁湿片镜检法找寄生虫及虫卵、胆汁细菌培养,通过胆汁湿片镜检发现数个左右摆动的梨形滋养体(图 2)。为进一步形态学鉴定,做了革兰染色(图 3)和吉姆萨染色(图 4),见两侧对称梨形滋养体,尾部、虫体两侧及腹部均可见鞭毛,头部有 2 个对称卵圆形细胞核,经形态学鉴定为蓝氏贾第鞭毛虫滋养体。为进一步确诊,用胆汁提取 2 份 DNA 进行实时荧光定量 PCR 扩增 SSU rRNA 基因。上游引物序列为 5'-GACG-GCTCAGGACAACGGTT-3',下游引物序列为 5'-TTGCCAGCGGTGTCCG-3',探针序列为 5'-LC610-CCC GCGCGGTCCCTGCTAG-BBQ-3',扩增序列长度为 62 bp。图 5A 和 B 扩增结果均证实为蓝氏贾第鞭毛虫。

^{*} 基金项目:深圳医疗卫生三名工程(SZSM201911014)。