

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.03.009

利福平耐药结核病患者表型药敏试验结果分析及与 Xpert MTB/RIF 结果比较*

万 荣¹, 李光妹¹, 季永静¹, 黄 艳¹, 刘 蕾², 李明武^{1△}

1. 云南省昆明市第三人民医院结核二科, 云南昆明 650041; 2. 大理大学公共卫生学院, 云南大理 671000

摘 要:目的 分析利福平(RIF)耐药结核病患者表型药敏试验结果,并与结核分枝杆菌(MTB)及 RIF 耐药菌检测(Xpert MTB/RIF)结果进行对比。**方法** 回顾性收集 2019 年 1 月至 2021 年 12 月昆明市第三人民医院收治的经 Xpert MTB/RIF 证实 RIF 耐药的 288 例结核患者的临床资料,其中 MTB 培养阴性 63 例, MTB 培养阳性 225 例。除 8 例患者因联系不上未行药敏试验外,其余 213 例 MTB 培养阳性患者均采用微孔板比例法进行药敏试验。比较表型药敏检测结果及其与 Xpert MTB/RIF 结果的差异。**结果** 行药敏试验的 213 例 RIF 耐药结核病患者中,MDR 患者比例最高,占 53.5%(114/213),广泛耐药患者占 22.5%(48/213);男性耐药患者比例[65.7%(140/213)]高于女性[34.3%(73/213)],但差异无统计学意义($P>0.05$);RIF 耐药结核病患者中,初治患者耐药发生率较高;在 MDR 和广泛耐药患者中,复治患者耐药发生率均高于初治患者,差异均有统计学意义($\chi^2=5.648, 13.385, P<0.05$)。一线抗结核药物耐药率从高到低依次为 RIF、利福喷汀、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇,其耐药率分为 96.7%(206/213)、96.7%(206/213)、76.1%(162/213)、26.8%(57/213)、20.2%(43/213)二线抗结核药物耐药率从高到低依次为利福布汀、莫西沙星、左氧氟沙星、对氨基水杨酸钠、阿米卡星、帕司烟肼、卡那霉素、卷曲霉素、丙硫异烟胺、克拉霉素、氯法齐明,耐药率分别为 93.8%(200/213)、19.2%(41/213)、18.8%(40/213)、6.1%(13/213)、4.7%(10/213)、4.7%(10/213)、4.7%(10/213)、4.2%(9/213)、1.4%(3/213)、1.4%(3/213)、0.9%(2/213)。进行表型药敏试验的 213 例患者中,有 7 例(3.3%)显示基因耐药表型敏感,206 例(96.7%)显示基因耐药表型耐药。**结论** 氟喹诺酮类耐药率在二线药物中耐药率最高,故应加强 Xpert MTB/RIF 检测和抗结核药物表型药敏试验,以指导临床用药。

关键词:利福平; 耐药; 结核分枝杆菌; 表型药敏; 结核病

中图分类号:R446.5,R52

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)03-0325-04

Analysis of phenotypic drug sensitivity test results in rifampicin-resistant tuberculosis patients and comparison with Xpert MTB/RIF results*

WAN Rong¹, LI Guangmei¹, JI Yongjing¹, HUANG Yan¹, LIU Lei², LI Mingwu^{1△}

1. The Second Department of Tuberculosis, Kunming Third People's Hospital, Kunming, Yunnan 650041, China; 2. School of Public Health of Dali University, Dali, Yunnan 671000, China

Abstract: **Objective** To analyze the results of phenotypic drug sensitivity test results in rifampicin (RIF)-resistant tuberculosis patients, and compare the results of Mycobacterium tuberculosis (MTB) and RIF resistance (XpertMTB/RIF) assay. **Methods** The clinical data of 288 patients with tuberculosis admitted to the Third People's Hospital of Kunming City with RIF-resistance confirmed by Xpert MTB/RIF from January 2019 to December 2021 were retrospectively collected, of which 63 cases were MTB culture negative and 225 cases were MTB culture positive. All 213 MTB culture-positive patients were subjected to drug sensitivity testing by the microtiter plate proportional method, except for 8 patients who did not undergo drug sensitivity testing because they could not be contacted. The phenotypic drug sensitivity results and their differences with Xpert MTB/RIF results were compared. **Results** Among the 213 RIF-resistance tuberculosis patients who underwent drug sensitivity testing, the proportion of MDR patients was the highest, accounting for 53.5% (114/213), and the proportion of extensively drug-resistant patients was 22.5% (48/213); the proportion of drug-resistant patients in men[65.7% (140/213)] was higher than that in women[34.3% (73/213)], but the difference was not statistically significant ($P>0.05$); among RIF-resistance tuberculosis patients, the incidence of resistance was higher in primary-treated patients; among MDR and extensively resistant patients, the

* 基金项目:云南省昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目(2021-03-08-006)。

作者简介:万荣,女,副主任医师,主要从事耐药结核病诊治方向的研究。△ 通信作者, E-mail: ynklmw@sina.com。

incidence of RIF- resistance in retreated patients was higher than that in primary-treated patients, and the differences were statistically significant ($\chi^2=5.648,13.385,P<0.05$). The resistance rates of first-line anti-tuberculosis drugs were RIF, rifapentine, isoniazid, streptomycin and ethambutol in descending order, which were 96.7% (206/213), 96.7% (206/213), 76.1% (162/213), 26.8% (57/213) and 20.2% (43/213), respectively; while the rates of second-line antituberculosis drugs were rifabutin, moxifloxacin, levofloxacin, sodium para aminosalicylate, amikacin, pasinized, kanamycin, capreomycin, propionate isoniazid, clarithromycin, clofazimine in descending order, with resistance rates of 93.8% (200/213), 19.2% (41/213), 18.8% (40/213), 6.1% (13/213), 4.7% (10/213), 4.7% (10/213), 4.7% (10/213), 4.2% (9/213), 1.4% (3/213), 1.4% (3/213) and 0.9% (2/213) respectively. In 213 patients who underwent phenotypic drug susceptibility testing, 7 cases (3.3%) showed genetically resistant phenotypic sensitivity and 206 cases (96.7%) showed genetically resistant phenotypic resistance. **Conclusion** Fluoroquinolones have the highest rate of resistance among second-line drugs, so Xpert MTB/RIF testing and phenotypic drug sensitivity testing of anti-TB drugs should be strengthened to guide clinical medication.

Key words: rifampicin; resistant; Mycobacterium tuberculosis; phenotypic drug sensitivity; tuberculosis

结核病是全球面临的重大公共卫生问题,尤其是近些年耐药菌株的流行,使结核病的控制面临更加严峻的局面。耐多药(MDR)结核病是指结核病患者感染的结核分枝杆菌(MTB)经体外药物敏感性试验(以下简称药敏试验)证实至少同时对异烟肼和利福平(RIF)耐药^[1]。世界卫生组织(WHO)2022年发布的《全球结核病年度报告》显示,2021年我国估算的结核病新发患者数量为78万,实验室确诊病例16 826例,仍是耐药高负担国家之一^[2]。由于90%的RIF耐药株同时也对异烟肼耐药,因此,RIF耐药被认为是MDR的重要标志^[3]。研究RIF耐药患者耐药情况,对后期制订合理用药方案有重要意义。笔者通过对288例RIF耐药结核病患者对一线、二线抗结核药物耐药情况进行分析,以期为临床用药提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集2019年1月至2021年12月昆明市第三人民医院收治的经结核分枝杆菌及利福平耐药快速检测(Xpert MTB/RIF)鉴定为MTB感染、并对RIF耐药的288例患者的临床资料。其中经BACTEC MGIT 960 System鉴定MTB培养阴性63例,男39例、女24例,平均年龄(42.5±12.0)岁,初治肺结核30例、复治肺结核33例;MTB培养阳性225例,男148例、女77例,平均年龄(41.4±10.5)岁,初治肺结核78例、复治肺结核147例。本研究经本院医学伦理委员会审批通过(审批号:2021021806)。所有研究对象对本研究均知情同意。

1.2 方法 225例MTB培养阳性患者中,除8例患者因联系不上未行药敏检测外,其余213例患者均采用微孔板比例法进行表型药敏试验,主要包括异烟肼、RIF、乙胺丁醇、链霉素、利福喷汀5种一线抗结核药及左氧氟沙星、阿米卡星、卷曲霉素、丙硫异烟胺、

帕司烟肼、莫西沙星、对氨基水杨酸钠、克拉霉素、利福布汀、卡那霉素、氯法齐明11种二线抗结核药物。

1.3 观察指标 比较表型药敏结果及其与Xpert MTB/RIF结果的差异。

1.4 统计学处理 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析。计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RIF耐药结核病患者耐药情况分析 213例行微孔板药敏试验的结核病患者中,MDR患者比例最高,占53.5% (114/213),广泛耐药患者占22.5% (48/213),且男性耐药患者比例[65.7% (140/213)]高于女性[34.3% (73/213)],但差异无统计学意义($P>0.05$);单耐RIF的结核病患者中,初治患者耐药发生率较高;在MDR和广泛耐药患者中,复治患者耐药发生率均高于初治患者($\chi^2=5.648,13.385,P<0.05$)。见表1。

表 1 RIF 耐药结核病患者耐药情况分析[n(%)]					
耐药情况	n	性别		治疗史	
		男	女	初治	复治
全敏	5	3(60.0)	2(40.0)	3(60.0)	2(40.0)
单耐异烟肼	2	2(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(100.0)
单耐 RIF	39	24(61.6)	15(38.4)	21(53.8)	18(46.2)
多耐药	5	5(100.0)	0(0.0)	2(40.0)	3(60.0)
MDR	114	73(64.0)	41(36.0)	37(32.6)	77(67.5) ^a
广泛耐药	48	33(68.8)	15(31.2)	8(16.7)	40(83.3) ^a
合计	213	140(65.7)	73(34.3)	71(33.3)	142(66.7)

注:与同一耐药情况初治患者比较,^a $P<0.05$ 。

2.2 213 例行微孔板药敏试验患者中一、二线抗结核

药物耐药情况 一线抗结核药物耐药率从高到低依次为 RIF、利福喷汀、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇,其耐药率分别为 96. 7% (206/213)、96. 7% (206/213)、76. 1% (162/213)、26. 8% (57/213)、20. 2% (43/213);二线主要抗结核药物耐药率从高到低依次为利福布汀、莫西沙星、左氧氟沙星、对氨基水杨酸钠、阿米卡星、帕司烟肼、卡那霉素、卷曲霉素、丙硫异烟胺、克拉霉素、氯法齐明,耐药率分别为 93. 8% (200/213)、19. 2% (41/213)、18. 8% (40/213)、6. 1% (13/213)、4. 7% (10/213)、4. 7% (10/213)、4. 7% (10/213)、4. 2% (9/213)、1. 4% (3/213)、1. 4% (3/213)、0. 9% (2/213)。见表 2。

表 2 213 例行微孔板药敏试验患者中一、二线抗结核药物耐药情况[n (%)]

药物名称	耐药数量	药物名称	耐药数量
异烟肼	162(76.1)	丙硫异烟胺	3(1.4)
RIF	206(96.7)	帕司烟肼	10(4.7)
乙胺丁醇	43(20.2)	莫西沙星	41(19.2)
链霉素	57(26.8)	对氨基水杨酸钠	13(6.1)
利福喷汀	206(96.7)	克拉霉素	3(1.4)
左氧氟沙星	40(18.8)	利福布汀	200(93.8)
阿米卡星	10(4.7)	卡那霉素	10(4.7)
卷曲霉素	9(4.2)	氯法齐明	2(0.9)

2.3 Xpert MTB/RIF 与 RIF 耐药表型药敏检测结果比较 本研究 Xpert MTB/RIF 检出 RIF 耐药患者 288 例,有 75 例(26. 1%)显示基因耐药表型未知;进行表型药敏试验的 213 例患者中,有 7 例(3. 3%)显示基因耐药表型敏感,206 例(96. 7%)显示基因耐药表型耐药。

3 讨 论

有学者研究发现,约 80% 的 RIF 耐药结核病患者同时并发异烟肼耐药^[3],WHO 推荐单耐 RIF 的结核病患者可按照 MDR 结核病患者进行治疗^[4]。但由于早期耐药方案缺乏其他药物的表型药物敏感试验结果支撑,一旦这些药物已发生耐药,则会明显影响其治疗效果及预后^[5]。本研究 288 例 Xpert MTB/RIF 检测 RIF 耐药患者中,但有 26. 1% 耐药表型药敏试验结果为未知。因此,为进一步了解 RIF 耐药的结核病患者对其他结核药物的耐药情况,笔者对 RIF 耐药结核患者的表型药敏试验结果进行分析,为制订有效的治疗方案提供参考。

2022 全球结核病年报,再次推荐快速分子诊断检测,实现更早和更准确诊断结核病。2021 年 640 万新发结核病病例中,仅有 38% 使用 WHO 推荐的快速分子检测^[2]。GeneXpert MTB/RIF 检测整合了 MTB 核酸及 RIF 耐药基因检测技术,灵敏度及特异度均较

高,具有良好的可靠性^[6-8]。2013 年 WHO 将 Xpert MTB/RIF 作为 MTB 感染的首选复筛查方法,替代传统的抗酸杆菌涂片和结核菌培养^[9]。有研究发现, GeneXpert MTB/RIF 检测结果与 RIF 表型耐药检测结果具有高度一致性,可高达 95% 左右,已成为当前诊断 MTB RIF 耐药的金标准^[10]。本研究以 Xpert MTB/RIF 检测显示的 RIF 耐药结核病患者 288 例为研究对象,其中 225 例 RIF 耐药结核病患者培养阳性;行表型药敏试验的 213 例患者中,表型结果显示有 5 例全敏,2 例为单耐异烟肼,RIF 耐药(包括单耐 RIF、多耐、耐多、广泛耐药)206 例(96. 7%),与文献^[13]研究结果相似。本研究中有 7 例(3. 3%)药敏检测结果显示基因耐药表型敏感,但依据《结核病病原学分子诊断专家共识》^[11],认为此种情况多为表型药敏试验耐药检测错误所致,推荐参照 Xpert MTB/RIF 检测结果。罗嘉韵等^[12]研究 Xpert MTB/RIF 检出耐药菌株 92. 31%,表型药敏检测为 96. 15%,二者灵敏度、特异度比较差异均无统计学意义($P > 0. 05$),二者检测一致性检的 Kappa 值为 0. 795。同时本研究发现 Xpert MTB/RIF 检测阳性但培养阴性 63 例,培养阳性有 225 例。方木通等^[13]研究发现,在 RIF 耐药患者中,41. 04% 的患者为初治患者,说明耐药 MTB 的传播是 RIF 耐药结核病的重要来源,管理并治愈 RIF 耐药患者,尽早降低其传染性,是控制 RIF 耐药结核病的根本方法。

根据《耐药结核病化学治疗指南(2019 年简版)》^[1]进行耐药分类,本研究结果显示耐多药结核病例数最高达 53. 5% (114/213),广泛耐药的比例也高达 22. 5% (48/213),且 2 种耐药患者中以复治患者占多数。本研究发现,一线抗结核药物耐药率从高到低依次是 RIF、利福喷汀、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇,其耐药率分别为 96. 7%、96. 7%、76. 1%、26. 8%、20. 2%;异烟肼耐药率为 76. 1%,与 WHO 估算的全球异烟肼平均耐药水平(78%)基本一致,这也是 WHO 主张将 RIF 耐药结核病与 MDR 结核病同样对待的重要原因^[2]。《中国结核病预防控制工作技术规范》在 RIF 耐药方案中,左氧氟沙星和莫西沙星位于 A 组内首位,可见其组成耐药方案的重要性^[12]。本研究中二线抗结核药物敏感性试验发现,莫西沙星和左氧氟沙星耐药率较高(19. 2%、18. 8%),明显高于其他二线抗结核药物,且 MDR 与广泛耐药患者中,复治患者耐药发生率明显高于初治患者($P < 0. 05$)。方木通等^[13]研究结果显示,当以 RIF 表型耐药结果为金标准时,其耐药率达到 26. 30%,且复治患者耐药发生比例较多。左氧氟沙星和莫西沙星作为核心药物,若出现此类药物耐药,会明显降低治疗方案的疗效,使治疗失败率上升^[14-17]。治疗强化期应选择至少 4 种可能有效的抗结核药物组成方案,巩固期应选择至少 3

种可能有效的抗结核药物组成方案^[18];评估某种药品在治疗中能否有效,需要综合多方面因素考量,包括患者个体药物敏感性试验结果、患者感染来源者的药敏试验结果、患者是否对存在交叉耐药的药物有耐药性、患者所在地区药物耐药水平,以及在患者既往治疗失败的方案中是否包含这一药品^[19-20]。因此,临床医生在制订治疗方案之前,要详细询问其用药史,同时启用分子生物学方法检查氟喹诺酮类药物是否存在耐药基因突变,并对培养阳性患者进行一、二线抗菌药物药敏试验十分必要。本研究不足之处为未对分子生物学基因突变与表型药物敏感试验进行对比研究。

综上所述,RIF 耐药结核病患者中,初治患者耐药发生率较高,在初治患者中开展 Xpert MTB/RIF 检测非常必要,MDR 患者耐药多发生于复治患者,对于复治患者除常规开展 Xpert MTB/RIF 检测外,还必须行 MTB 培养及一、二线抗结核药物表型药敏试验,且氟喹诺酮类耐药率在二线药物中耐药率最高,应加强分子生物学和表型试验对氟喹诺酮类药物灵敏度检测。

参考文献

- [1] 中国防痨协会.《中国耐药结核病化学治疗指南》编委会. 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.
- [2] SANJEET B. WHO's global tuberculosis report 2022 [S]. Lancet Microbe,2023,4(1):e20.
- [3] SOMOSKOVI A,PARSONS L M,SALFINGER M. The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in Mycobacterium tuberculosis [J]. Respir Res,2001,2(3):164-168.
- [4] TIBERI S,UTJESANOVIC N,GALVIN J,et al. Drug resistant TB-latest developments in epidemiology,diagnostics and management[J]. Int J Infect Dis,2022,124(Suppl 1):S20-S25.
- [5] 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.
- [6] GÜNTHER G,RUSWA N,KELLER P M. Drug-resistant tuberculosis: advances in diagnosis and management [J]. Curr Opin Pulm Med,2022,28(3):211-217.
- [7] MVELASE N R,BALAKRISHNA Y,LUTCHMINAIRAIN K,et al. Evolving rifampicin and isoniazid mono-resistance in a high multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis region;a retrospective data analysis[J]. BMJ Open,2019,9(11):e031663.
- [8] 谢平,陈彩萍,白茹,等. GeneXpert MTB/RIF 在快速诊断肺结核和检测利福平耐药中的临床应用价值[J]. 国际呼吸杂志,2020,40(24):1856-1861.
- [9] World Health Organization. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary in adults and children[S]. Geneva: World Health Organization, 2013.
- [10] ZHANG Q,ZHANG Q,SUN B Q,et al. GeneXpert MTB/RIF for rapid diagnosis and rifampin resistance detection of endobronchial tuberculosis[J]. Respirology, 2018,23(10):950-955.
- [11] 中华医学会结核病学分会临床检验专业委员会. 结核病病原学分子诊断专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018,41(9):688-695.
- [12] 罗嘉韵,余明均,廖卫平. 结核分枝杆菌利福平耐药分子药敏结果与其表型药敏差异的研究[J]. 海南医学,2022, 33(6):725-728.
- [13] 方木通,苏优峰,毛智,等. GeneXpert MTB/RIF 检测利福平耐药结核分枝杆菌的表型药物敏感性试验耐药情况 [J]. 中国防痨杂志,2021,43(11):1159-1163.
- [14] 姚嵩,方雪晖.《中国结核病预防控制工作技术规范(2020 年版)》解读与思考[J]. 热带病与寄生虫学,2020,18(3): 138-141.
- [15] SINGH N,SINGH P K,SINGH U,et al. Fluroquinolone drug resistance among MDR-TB patients increases the risk of unfavourable interim microbiological treatment outcome;an observational study[J]. J Glob Antimicrob Resist,2021,24:40-44.
- [16] TAHSEEN S,KHANZADA FM,RIZVI AH,et al. Isoniazid resistance profile and associated levofloxacin and pyrazinamide resistance in rifampicin resistant and sensitive isolates/from pulmonary and extrapulmonary tuberculosis patients in Pakistan;a laboratory based surveillance study 2015-19 [J]. PLoS One, 2020, 15 (9): e0239328.
- [17] ZHANG X,CHEN X,WANG B,et al. Molecular characteristic of both Levofloxacin and Moxifloxacin resistance in Mycobacterium tuberculosis from individuals diagnosed with preextensive drug-resistant tuberculosis[J]. Microb Drug Resist,2022,28(3):280-287.
- [18] VANINO E,GRANOZZI B,AKKERMAN OW,et al. Update of drug-resistant tuberculosis treatment guidelines;a turning point[J]. Int J Infect Dis,2023,130(Suppl 1):S12-S15.
- [19] 首都医科大学附属北京胸科医院/北京市结核病胸部肿瘤研究所,中国防痨协会《中国防痨杂志》编辑委员会. 耐药肺结核全口服化学治疗方案中国专家共识(2021 年版)[J]. 中国防痨杂志,2021,43(9):859-866.
- [20] FELKER I,TRAJMAN A. Shorter regimens for multidrug-/rifampicin-resistant TB[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2023,27(1):3-4.