

· 论 著 ·

84 株广泛耐药结核分枝杆菌对新型氟喹诺酮类药物的耐药情况分析

宗兆婧 荆玮 霍凤敏 董玲玲 马异峰 逢宇 黄海荣

【摘要】 目的 研究广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株对新型氟喹诺酮类药物的耐药特征以及氟喹诺酮类药物耐药相关基因突变的特点。**方法** 选取 2012 年 4 月至 2014 年 4 月在北京胸科医院住院治疗的 84 例广泛耐药结核患者的临床分离菌株,应用微孔板阿尔玛蓝显色法(micro-plate alamar blue assay, MABA)检测菌株对左氧氟沙星、莫西沙星和加替沙星的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),所有菌株都进行了 *gyrA* 基因和 *gyrB* 基因的耐药决定区(QRDR)的序列测定。**结果** 84 株广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株经 MABA 检测,分别以 1 $\mu\text{g/ml}$ 、2 $\mu\text{g/ml}$ 、1 $\mu\text{g/ml}$ 作为耐药判读标准,左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星 3 种氟喹诺酮类药物的耐药率分别是 88.1%(74/84)、44.0%(37/84)、61.9%(52/84)。89.3%(75/84)的临床分离株发生了 *gyrA* 基因耐药决定区突变,其中以第 94 位点突变最为常见,Asp94Gly 突变菌株的 MIC 值较高,而所有菌株的 *gyrB* 基因均为野生型。**结论** 广泛耐药结核分枝杆菌对新型氟喹诺酮类药物耐药形势严峻,耐药基因突变形式以 *gyrA* 基因突变为主,第 94 位点的 Asp94Gly 突变可能和高水平耐药有关。

【关键词】 泛耐药结核病; 分枝杆菌,结核; 喹诺酮类; 微生物敏感性试验; 多药耐药相关蛋白质类; 点突变

Resistance analysis of 84 extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates against three new generation fluoroquinolones ZONG Zhao-jing, JING Wei, HUO Feng-min, DONG Ling-ling, MA Yi-feng, PANG Yu, HUANG Hai-rong. National Clinical Laboratory on Tuberculosis, Beijing Key Laboratory for Drug-resistant Tuberculosis Research, Beijing Chest Hospital, Capital Medical University, Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Institute, Beijing 101149, China

Corresponding author: HUANG Hai-rong, Email: huanghairong@tb123.org

【Abstract】 Objective To investigate the resistant status of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates against new generation fluoroquinolones (FQs). **Methods** Extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (XDR-MTB) clinical isolates were collected from Beijing Chest Hospital between 2012—2014. Absolute concentration method was used for ofloxacin (Ofx) and levofloxacin (Lfx) susceptibility testing, while broth dilution method was used to detect the minimal inhibitory concentration (MIC) of the isolates against three FQs, including Lfx, moxifloxacin (Mfx) and gatifloxacin (Gfx). The quinolone resistance determining regions (QRDR) of *gyrA* and *gyrB* were sequenced for all the enrolled isolates. **Results** A total of 84 XDR-MTB isolates were enrolled. Among them, 74 (74/84, 88.1%), 37 (37/84, 44.0%) and 52 (52/84, 61.9%) isolates were resistant to Lfx, Mfx and Gfx according the cut-off criteria recommended by WHO, respectively. Mutations at 88, 90, 91 and 94 locus of *gyrA* were detected among 89.3% (75/84) of the enrolled isolates, and Asp94Gly accounting for high-level FQs resistance. All the strains had wild type *gyrB*. **Conclusion** Our findings demonstrated that new generation FQs resistance were very frequently observed among XDR-MTB isolates, and mutation within QRDR of *gyrA* was the main mechanism of FQs resistance.

【Key words】 Extensively drug-resistant tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Quinolones; Microbial sensitivity tests; Multidrug resistance-associated proteins; Point Mutation

结核病耐药形势日趋严重,新型抗结核药物的

开发和针对耐药结核病治疗的新方案制定迫在眉睫。氟喹诺酮类药物(fluoroquinolones, FQs)抗菌谱广、杀菌效果好、半衰期长,并且对结核分枝杆菌同样有效,因此被认为是一类治疗耐药结核病的有力药物^[1]。包含氟喹诺酮类药物的抗结核治疗方案可提高痰菌转阴率,缩短抗结核治疗周期,对减少结

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2017.08.005

作者单位:101149 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 国家结核病临床实验室

通信作者:黄海荣,Email: huanghairong@tb123.org

核病的传播和耐药结核病的发生有重要意义^[2]。第三代氟喹诺酮类药物左氧氟沙星在我国已被广泛应用于耐药结核病的治疗,拥有更强抗分枝杆菌活性的第四代氟喹诺酮类药物莫西沙星和加替沙星,近年来也逐步在临床得到使用。氟喹诺酮类药物与常用的一线、二线抗结核药物无交叉耐药^[3],莫西沙星和加替沙星不仅有强大的杀菌活性,对人体内持留菌也有杀菌作用^[4],因此对耐药结核病的治疗显示出良好的应用前景。在 WHO 耐药结核病指南^[5]和我国耐药结核病诊疗指南^[6]中,都推荐第三代和第四代氟喹诺酮类药物用于耐药结核病的治疗,但氟喹诺酮类药物对广泛耐药(extensive drug resistance, XDR)结核病的应用价值,无论是技术指南还是临床实践,都缺乏针对性的数据。

氟喹诺酮类药物通过与细菌的 DNA 旋转酶(拓扑异构酶 II)结合,阻止 DNA 的复制和转录,导致 DNA 降解和细菌死亡,进而达到杀灭结核分枝杆菌的作用。结核分枝杆菌对氟喹诺酮类药物发生耐药的分子机制主要是编码 DNA 促旋酶的基因突变^[7]。DNA 促旋酶由 *gyrA* 和 *gyrB* 编码的 A 亚基和 B 亚基组成, A 亚基是多数氟喹诺酮类药物的作用靶点,因此不同氟喹诺酮类药物之间容易出现交叉耐药^[8]。由于氟喹诺酮类药物的不合理使用和抗生素滥用,结核分枝杆菌复合群对该类药物的耐药情况日益加重,环丙沙星、氧氟沙星、左氧氟沙星等已经出现较高的耐药性^[9]。而且,随着临床用药时间的延长,氟喹诺酮类药物的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)还会随之逐渐升高^[10],耐药程度加重。

因此,了解广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株对不同氟喹诺酮类药物的药物耐受情况及耐药相关基因突变情况,可以为广泛耐药结核病方案中氟喹诺酮类药物的选择提供依据。本研究选择广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株,对左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星进行体外药敏试验以及耐药相关基因突变的检测分析。

资料和方法

一、菌株和试剂来源

1. 菌株来源:本研究的 84 株广泛耐药结核分枝杆菌菌株来自北京胸科医院 2012 年 4 月至 2014 年 4 月住院患者临床分离株。所有菌株均经对硝基苯甲酸(PNB)抑制生长试验鉴定为结核分枝杆菌,且绝对浓度法临床检测均对氧氟沙星耐药。

2. 试剂仪器来源:药敏试验所用左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星、7H9 培养基药粉均购买于 Sigma 公司。营养添加剂 OADC 购买于美国 BD 公司,罗氏培养基购买于珠海银科公司,96 孔板购买于美国 Costar 公司,阿尔玛蓝(Alamar blue)购买于美国 Bio-Rad 公司。

二、研究方法

1. 微孔板阿尔玛蓝显色法(micro-plate Alamar blue assay, MABA)药敏试验:刮取罗氏培养基上生长 4 周的新鲜菌落,磨菌瓶研磨均匀,稀释菌悬液至 1 麦氏比浊度,再稀释 1/20,向预制的含药 96 孔板中每孔加入 100 μ l 菌液。37 $^{\circ}$ C 培养 7 d,再向微孔板中加入 20 μ l 阿尔玛蓝和 50 μ l 5% Tween-80 的预混显色液,37 $^{\circ}$ C 继续培养 24 h 观察 96 孔板颜色变化。判定标准:蓝色孔为无菌生长,粉色孔为有菌生长,蓝色孔的最低药物浓度记为能抑制结核分枝杆菌生长的 MIC。对 3 种氟喹诺酮类药物(左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星)均设置 11 个倍比稀释的浓度测试梯度,为 0.032~32 μ g/ml。当 MIC>判定界值时判断为耐药,反之则为敏感。按照 WHO 推荐标准,分别按照 1 μ g/ml、2 μ g/ml、1 μ g/ml 作为左氧氟沙星、莫西沙星和加替沙星的流行病学耐药判读标准^[5],其中高水平耐药按照 MIC \geq 4 μ g/ml 判读^[11]。

2. 氟喹诺酮类耐药相关基因扩增及序列测定:新鲜菌落 80 $^{\circ}$ C 金属浴 2 h,离心半径 8 cm, 12 000 r/min 离心 10 min 去上清,每个环氧树脂(EB)离心管内加 20 μ g/ml 溶菌酶 200 μ l 和菌沉淀 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜。按照 MasterPure 基因组 DNA 提取试剂盒流程抽提菌株的基因组 DNA。设计引物对 *gyrA* 和 *gyrB* 进行扩增、产物测序。*gyrA* 上游引物序列 5'-GATGACAGACACGACGTTGC-3',下游引物序列 5'-GGGCTTCGGTGTACCTCAT-3',扩增产物大小为 398 bp; *gyrB* 上游引物序列 5'-GAGTTG-GTGCGGCGTAAGAGC-3',下游引物序列 5'-CG-GCCATCAAGCACGATCTTG-3',扩增产物大小为 322 bp。以上扩增产物均送睿博兴科公司测序。

结 果

1. 左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星的 MIC 结果:在 84 株广泛耐药菌株中,左氧氟沙星的 MIC 值分布在 0.25~16 μ g/ml 之间,莫西沙星的 MIC 值分布在 0.125~16 μ g/ml 之间,加替沙星的 MIC 值分布在 0.125~8 μ g/ml 之间。所有广泛耐药结核

表 1 84 株广泛耐药 MTB 菌株对左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星的 MIC 值分布情况

药物	不同 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 的菌株数(株)											耐药判读 ($\mu\text{g/ml}$)	耐药菌株[株, (耐药率, %)]
	≤ 0.032	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	≥ 32		
Lfx	0	0	0	1	3	6	14	26	29	5	0	1	74(88.1)
Mfx	0	0	2	1	5	13	26	28	7	2	0	2	37(44.0)
Gfx	0	0	2	2	10	18	33	16	3	0	0	1	52(61.9)

注 Lfx:左氧氟沙星;Mfx:莫西沙星;Gfx:加替沙星

分枝杆菌临床分离株对左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星的 MABA 法药敏试验 MIC 结果如表 1 所示。分离株对左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星的耐药率分别是 88.1%、44.0%、61.9%。

2. 三种新型喹诺酮类药物之间的交叉耐药结果:按照 WHO 推荐的 1 $\mu\text{g/ml}$ 、2 $\mu\text{g/ml}$ 、1 $\mu\text{g/ml}$ 判读左氧氟沙星、莫西沙星和加替沙星耐药情况,84 株临床分离株中包括左氧氟沙星耐药 74 株、莫西沙星耐药 37 株、加替沙星耐药 52 株,对这 3 种新型氟喹诺酮类药物同时耐药的菌株有 37 株。按照 WHO 提出的莫西沙星耐药临界值 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 判读,临床分离株对左氧氟沙星、莫西沙星和加替沙星耐药的菌株数目分别是 74、76、52 株,对 3 种药物同时耐药的菌株有 52 株,如图 1 所示。

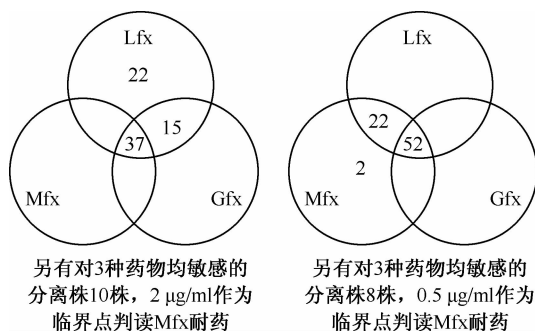


图 1 左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星三种新型氟喹诺酮类药物之间的交叉性耐药情况

3. 耐药相关基因测序分析结果:对菌株进行 *gyrA* 和 *gyrB* 测序分析, *gyrA* 基因突变率较高(89.3%, 75/84)。突变集中在第 88、90、91、94 位点,以第 94 位点突变为主(57.1%, 48/84),且在该位点检测到 Asp94Gly、Asp94Asn、Asp94Ala、Asp94Tyr、Asp94His 共 5 种氨基酸突变形式,其中存在 Asp94Gly 突变的菌株 MIC 较高,该突变位点和形式可能与氟喹诺酮类药物高水平耐药相关,具体数据见表 2。 *gyrB* 未见碱基突变,均为野生型,未见 *gyrA* 和 *gyrB* 两基因联合突变。

讨 论

氟喹诺酮类药物在耐药结核病治疗中非常重要,但此类药物兼有广谱抗生素身份,在社区获得性肺炎、支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病急性加重期、泌尿系感染等一般细菌感染中广泛应用,因而易于出现过多药物暴露而发生耐药。广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株对新型氟喹诺酮类抗菌药物出现较高的耐药率,将给临床抗结核治疗方案的制定造成极大难题。

通过 MABA 法检测 84 株广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株的 MIC 值显示,同一菌株中莫西沙星和加替沙星的 MIC 小于左氧氟沙星,与研究报道一致^[12]。WHO 曾经推荐的莫西沙星耐药的临床临界值为 0.5 $\mu\text{g/ml}$,新的指南改为推荐 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 和 2 $\mu\text{g/ml}$ 两个浓度,但更倾向于推荐应用 2 $\mu\text{g/ml}$ 的浓度^[5]。在 84 株临床分离株中,所测试的 3 种药物之间存在着双向交叉耐药,结核分枝杆菌复合群对第三代和第四代氟喹诺酮类药物有较高的耐药比例,这一结论也和目前指南^[5-6]指出的第四代氟喹诺酮类药物体外药敏试验提示交叉耐药一致^[12-15]。当按照 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 标准判读莫西沙星耐药时,耐药菌株比例(76/84, 90.5%)甚至超过左氧氟沙星耐药的菌株(74/84, 88.1%),但按照 2 $\mu\text{g/ml}$ 耐药界值判读,则莫西沙星耐药菌株的比例大幅度降低(44.0%, 37/84)。由此不难发现,药物敏感性试验中临界值的选定对于耐药和交叉耐药的判定起着决定性影响,因此临界浓度的确定需要在长期、多中心、大数据评估的基础之上建立才可能更准确。

除了莫西沙星外,WHO 新的指南也调整了左氧氟沙星的耐药临界浓度,由 2 $\mu\text{g/ml}$ 更改为 1 $\mu\text{g/ml}$ ^[5]。本课题组一项研究也证实目前应用的左氧氟沙星临界浓度值大于结核分枝杆菌的流行病学界值,故而会将一些含有耐药相关基因突变的菌株判读为野生菌株^[17]。Poissy 等^[11]对 5 株广泛耐药菌株进行动物实验得出结论,对左氧氟沙星耐药的广泛耐药菌

表 2 84 株广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株中 *gyrA* 基因突变形式和 MIC

突变形式 和位点	氟喹 诺酮类 药物	不同 MIC($\mu\text{g/ml}$)的菌株数									耐药菌株 [株, 耐药 率(%)]	高水平耐药 菌株[株, 耐药率(%)]
		0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	合计 (株)		
Gly88Ala	Lfx	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0(0.0)	0(0.0)
	Mfx	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0(0.0)	0(0.0)
	Gfx	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0(0.0)	0(0.0)
Ala90Val	Lfx	0	0	2	2	6	6	3	1	20	16(80.0)	10(50.0)
	Mfx	1	0	2	6	8	3	0	0	20	17(85.0)	3(15.0)
	Gfx	1	1	3	7	7	1	0	0	20	8(40.0)	1(5.0)
Ser91Pro	Lfx	0	0	0	3	1	1	1	0	6	3(50.0)	2(33.3)
	Mfx	0	0	0	2	2	1	0	1	6	6(100.0)	2(33.3)
	Gfx	0	0	0	2	2	1	1	0	6	4(66.7)	2(33.3)
Asp94Gly	Lfx	0	0	0	0	1	13	21	2	37	37(100.0)	36(97.3)
	Mfx	0	0	0	1	9	21	6	0	37	37(100.0)	27(73.0)
	Gfx	0	0	1	5	17	13	1	0	37	32(86.5)	14(37.8)
Asp94Asn	Lfx	0	0	0	0	0	2	2	0	4	4(100.0)	4(100.0)
	Mfx	0	0	0	0	2	2	0	0	4	4(100.0)	2(50.0)
	Gfx	0	0	0	1	3	0	0	0	4	3(75.0)	0(0.0)
Asp94Ala	Lfx	0	0	0	0	2	0	1	0	3	3(100.0)	1(33.3)
	Mfx	0	0	0	1	1	0	1	0	3	3(100.0)	1(33.3)
	Gfx	0	0	1	1	0	1	0	0	3	1(66.6)	1(33.3)
Asp94Tyr	Lfx	0	0	0	0	0	2	1	0	3	3(100.0)	3(100.0)
	Mfx	0	0	0	0	2	1	0	0	3	3(100.0)	1(33.3)
	Gfx	0	0	0	0	3	0	0	0	3	3(100.0)	0(0.0)
Asp94His	Lfx	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1(100.0)	1(100.0)
	Mfx	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1(100.0)	0(0.0)
	Gfx	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1(100.0)	0(0.0)
无突变	Lfx	0	1	4	2	1	0	0	1	9	2(22.2)	1(11.1)
	Mfx	1	0	3	3	1	0	0	1	9	5(55.6)	1(11.1)
	Gfx	1	0	5	2	0	0	1	0	9	1(11.1)	1(11.1)

注 Lfx:左氧氟沙星;Mfx:莫西沙星;Gfx:加替沙星;Ala:丙氨酸;Asn:天冬酰胺;Val:缬氨酸;Pro:脯氨酸;His:组氨酸;Tyr:酪氨酸;Gly:甘氨酸;Cys:半胱氨酸;Asp:天冬氨酸;Ser:丝氨酸;耐药菌株数目按照流行病学界值判读;高水平耐药定义为 $\text{MIC} \geq 4 \mu\text{g/ml}$

株在莫西沙星 $\text{MIC} < 2 \mu\text{g/ml}$ 时仍可在广泛结核病治疗中应用。Maitre 等^[18]认为无论氟喹诺酮类耐药还是敏感,在广泛耐药结核病的治疗中莫西沙星的治疗效果明显优于左氧氟沙星。本研究有 39 株 (39/84, 46.43%) 临床分离株因莫西沙星耐药临界值由 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 变为 $2 \mu\text{g/ml}$ 而被判读为莫西沙星敏感菌株,有 13 株 (13/84, 15.48%) 菌株对左氧氟沙星的 MIC 为 $1 \mu\text{g/ml}$ 、因临界值改变由原来的敏感菌株被判读为耐药菌株。然而,这些患者应用莫

西沙星方案是否有效尚不得而知。耐药临界值是提示结核分枝杆菌对药物敏感情况的一项重要指标,在患者抗结核方案的制定中起到非常重要的作用。然而 WHO 对莫西沙星 MIC 判读标准改变原因并未做出详细的解释,左氧氟沙星耐药且莫西沙星 MIC 介于 $0.5 \sim 2 \mu\text{g/ml}$ 之间的菌株对莫西沙星临床治疗效果如何,还需要进一步的临床观察和评估。

按照莫西沙星临床耐药临界浓度 $2 \mu\text{g/ml}$ 的标准,左氧氟沙星、莫西沙星和加替沙星三者之间比

较,出现了左氧氟沙星、加替沙星耐药但莫西沙星敏感的现象。本研究加替沙星耐药率高于莫西沙星,考虑是因为加替沙星作为第四代氟喹诺酮类药物,杀菌活性较强,然而其 MIC 临界值则使用了和三代氟喹诺酮类药物相同的 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 标准。不排除随着加替沙星使用的增多,在获得更多数据的情况下会对耐药临界值的调整。

因氟喹诺酮类药物不同于一线抗结核药物的杀菌机制,被广泛应用于耐药结核病的治疗^[19]。本研究发现的突变热点主要集中在 *gyrA* 基因的 QRDR,该段序列高度保守,是氟喹诺酮类药物结合的主要部位^[21]。本研究结果初步表明,*gyrA* 基因突变是广泛耐药结核分枝杆菌对以上 3 种氟喹诺酮类药物耐药主要机制。本研究得到的 *gyrA* 基因突变均为错义突变,主要发生在基因保守区第 67~106 位的密码子区,第 88 位、90 位、91 位、94 位密码子上,与国内外报道一致^[16,21]。Asp94Gly 和 Ala90Val 的改变是最常见的耐药突变类型,与同类研究结果一致^[16,22]。在 *gyrA* 基因突变类型中,Asp94Gly 位点突变可能与氟喹诺酮类高水平耐药有关,该种突变形式相关的高水平耐药菌株数目为左氧氟沙星>莫西沙星>加替沙星,说明在目前左氧氟沙星更易出现高水平耐药突变。可能与该位点基因突变类型引起致氟喹诺酮类药物靶标 *gyrA* 结构的显著改变有关,氟喹诺酮类药物和 *gyrA* 结合位点发生改变,使 A 亚基和氟喹诺酮类药物结合能力显著下降,进而导致 MIC 的变化并出现耐药。

在本研究的 84 株广泛耐药结核分枝杆菌临床分离株中,未检测到 *gyrA* 突变也无 *gyrB* 的菌株有 9 株,其中分别有 4 株对左氧氟沙星耐药、5 株对莫西沙星耐药。此种表型药敏试验和基因型药敏结果不一致的现象,推测可能与菌群的异质性有关。患者感染的结核分枝杆菌复合群同时存在对氟喹诺酮类药物耐药和敏感的不同菌群,如敏感菌株为优势菌群,可能会因为耐药菌株比例较低而无法检测到相关耐药基因突变,而表型药敏试验由于能检测到较低比例的耐药菌群的存在,因此报告耐药^[23]。另外,*gyrA* 和 *gyrB* 基因突变以外的其他耐药机制也可能造成上述结果的不一致,如拓扑异构酶 IV 的改变、细胞膜通透性改变、药物外排泵等机制。

部分广泛耐药菌株在第 88 和第 90 位点存在突变(Gly88Ala 突变 3 株、Ala90Val 突变 4 株),但这些菌株仍表现为对这 3 种新型氟喹诺酮类药物敏感的药敏表型,考虑为氨基酸结构原因。缬氨酸

(Val)、甘氨酸(Gly)和丙氨酸(Ala)同属于非极性氨基酸,且这三种氨基酸在结构、荷电性等方面相似,因此 Gly88Ala、Ala90Val 的改变未能引起 *gyrA* 基因与氟喹诺酮类药物结合能力的明显改变,故未能导致明显耐药表型改变。

综上所述,广泛耐药结核分枝杆菌中氟喹诺酮类药物耐药形势严峻,新型氟喹诺酮类药物已存在严重耐药,氟喹诺酮类药物在广泛耐药结核病治疗中的应用受到极大地挑战。在广泛耐药结核病治疗方案制定中,应按照药敏实验结果评估相应的用药指征,而耐药界值的判定需要更多的临床数据验证。

参 考 文 献

- [1] Rustomjee R, Lienhardt C, Kanyok T, et al. A Phase II study of the sterilising activities of ofloxacin, gatifloxacin and moxifloxacin in pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2008, 12(2):128-38.
- [2] Jindani A, Harrison TS, Nunn AJ, et al. High-dose rifapentine with moxifloxacin for pulmonary tuberculosis. *N Engl J Med*, 2014, 371(17):1599-1608.
- [3] Kohno S, Koga H, Kaku M, et al. Prospective comparative study of ofloxacin or ethambutol for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Chest*, 1992, 102(6):1815-1818.
- [4] Merle CS, Fielding K, Sow OB, et al. A four-month gatifloxacin-containing regimen for treating tuberculosis. *N Engl J Med*, 2014, 371(17):1588-1598.
- [5] World Health Organization. Companion handbook to the guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2014.
- [6] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2015). 中国防痨杂志, 2015, 37(5):421-469.
- [7] Chen TC, Lu PL, Lin CY, et al. Fluoroquinolones are associated with delayed treatment and resistance in tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *In J Infect Dis*, 2011, 15(3):e211-e216.
- [8] 卢峰岳, 俞日霞, 胡族琼, 等. 结核分枝杆菌 DNA 促旋酶基因突变与耐氟喹诺酮类药物的相关性研究. 中国防痨杂志, 2014, 36(6): 429-433.
- [9] Sun Z, Zhang J, Zhang X, et al. Comparison of *gyrA* gene mutations between laboratory-selected ofloxacin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical isolates. *Int J Antimicrob Agents*, 2008 31(2):115-121.
- [10] 黄学锐, 高微微, 张旭霞, 等. 氧氟沙星和左氧氟沙星抗结核分枝杆菌临床耐药界限的研究. 中华结核和呼吸杂志, 2004, 27(2):84-88.
- [11] Poissy J, Aubry A, Fernandez C, et al. Should moxifloxacin be used for the treatment of extensively drug-resistant tuberculosis? An answer from a murine model. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(11):4765-4771.
- [12] Ginsburg AS, Grosset JH, Bishai WR. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. *Lancet Infect Dis*, 2003, 3(7): 432-442.
- [13] 王前, 宋媛媛, 逢宇, 等. 耐氧氟沙星结核分枝杆菌对五种氟喹诺酮类药物交叉耐药的研究. 中国防痨杂志, 2014, 36(6): 453-457.
- [14] Kempker RR, Barth AB, Vashakidze S, et al. Cavitary penetration of levofloxacin among patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(6): 3149-3155.

- [15] Lee J, Lee CH, Kim DK, et al. Retrospective comparison of levofloxacin and moxifloxacin on multidrug-resistant tuberculosis treatment outcomes. *Korean J Intern Med*, 2011, 26(2):153-159.
- [16] Chien JY, Chiu WY, Chien ST, et al. Mutations in *gyrA* and *gyrB* among Fluoroquinolone- and Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(4):2090-2096.
- [17] Yu X, Wang G, Chen S, et al. Wild-Type and Non-Wild-Type *Mycobacterium tuberculosis* MIC Distributions for the Novel Fluoroquinolone Antofloxacin Compared with Those for Ofloxacin, Levofloxacin, and Moxifloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(9):5232-5237.
- [18] Maitre T, Petitjean G, Chauffour A, et al. Are moxifloxacin and levofloxacin equally effective to treat XDR tuberculosis? *J Antimicrob Chemother*, 2017. [Epub ahead of print]
- [19] Ziganshina LE, Squire SB. Fluoroquinolones for treating tuberculosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, (1): CD004795.
- [20] Lau RW, Ho PL, Kao RY, et al. Molecular characterization of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: functional analysis of *gyrA* mutation at position 74. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(2):608-614.
- [21] 张治国, 杜春英, 张倩, 等. 我国结核分枝杆菌 *gyrA* 不同突变类型对氟喹诺酮类药物耐药水平的相关性研究. *中国防痨杂志*, 2016, 38(9):706-711.
- [22] Aldred KJ, Blower TR, Kerns RJ, et al. Fluoroquinolone interactions with *Mycobacterium tuberculosis* gyrase: Enhancing drug activity against wild-type and resistant gyrase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(7):E839-846.
- [23] 柳清云, 孙刚, 高谦. 结核分枝杆菌(MTB)异质性耐药研究进展. *复旦学报医学版*, 2013, 40(1):1-4.

(收稿日期:2017-06-19)

(本文编辑:范永德)

首届临床结核病超声诊断与治疗新进展研讨会征文通知

超声在结核病的诊断与治疗中不可或缺,应该引起业界同仁的高度重视并进行实践探索。超声及超声介入技术简便易行,具有高性价比,尤其超声技术对脏器的可企及性,更是开辟了对多种脏器结核病诊断与治疗的新领域。为及时交流临床结核病超声诊断与治疗的经验和科研成果,掌握最新学术动态,推动结核病超声诊疗工作的规范化进程,由中国防痨协会《中国防痨杂志》期刊社、杭州市红十字会医院联合主办的“首届临床结核病超声诊断与治疗新进展研讨会”拟于2017年10月19—22日在浙江省杭州市召开。大会将邀请国内结核病超声领域、临床领域、基础研究领域知名专家对结核病诊疗国内外最新研究动向、最新理论等进行精彩的专题学术讲座,同时将遴选优秀会议征文进行大会发言,并拟于《中国防痨杂志》组织专题重点号刊发。

征文要求:(1)凡符合超声诊断与介入技术在结核病临床应用、基础研究方面内容的稿件均在征文之列。来稿要求未在国内公开发行人刊物上发表(请在文题上方注明“未公开发表,未一稿多投”);(2)论著类稿件需提供全文+800字

左右的摘要,摘要包括目的、方法、结果和结论,也可仅提供符合上述要求的摘要;(3)其他类型稿件为全文投稿;(4)全文4000字以内,编排顺序为:题目、邮编、单位(至科室)、姓名、中文摘要、正文、参考文献;(5)本次会议征文不接收通过邮局邮寄的纸质版论文,只接收Word版电子文件;格式为:题目3号黑体、正文5号宋体,单倍行距;(6)请务必附第一作者与通信作者的通信地址、联系电话、手机、Email。入选论文将纳入会议《资料汇编》,经大会学术委员会评选出的优秀论文将推荐刊登于《中国防痨杂志》或《结核病与肺部健康杂志》,并安排大会发言;(7)征文请通过Email发送至郭萌编辑邮箱(手机:17718596164;电话:010-62257257;Email:guomenggg@163.com)。邮件注明“结核病超声会议”;截止日期:2017年9月1日。

《中国防痨杂志》期刊社
杭州市红十字会医院