

• 短篇论著 •

# 40 株耐多药结核分枝杆菌临床分离株对利奈唑胺及特地唑胺药物敏感性的研究

罗明 张汇征 严晓峰 陈耀凯 黄正谷 周刊 李同心 李俊刚 王静 廖传玉

**【摘要】** 为比较分析耐多药结核分枝杆菌(MDR-MTB)对利奈唑胺(Lzd)和特地唑胺(Tzd)的药物敏感性,笔者采取直接抽选法选取 2018 年 1—11 月间重庆市公共卫生医疗救治中心中心实验室培养分离并经药物敏感性试验(简称“药敏试验”)鉴定为 MDR-MTB 的 40 株菌株,采用微孔板法测定 Lzd 和 Tzd 的最低抑菌浓度(MIC),并分析相关结果。结果发现,Lzd 对 MDR-MTB 的 MIC 的中位数(四分位数)为 0.500(0.500,1.000) mg/L,其中 87.5%(35/40)的菌株 MIC 处于 0.500~1.000 mg/L;Tzd 对 MDR-MTB 的 MIC 的中位数(四分位数)为 0.250(0.250,0.250) mg/L,其中 87.5%(35/40)的菌株 MIC 处于 0.125~0.250 mg/L。Lzd 对 MDR-MTB 的 MIC<sub>50</sub>和 MIC<sub>90</sub>分别为 0.500、1.000 mg/L;Tzd 对 MDR-MTB 的 MIC<sub>50</sub>和 MIC<sub>90</sub>均为 0.250 mg/L。Tzd 的 MIC 明显小于 Lzd 的 MIC,差异有统计学意义( $Z=-5.51, P<0.001$ )。参照比例法药敏试验结果,40 株 MDR-MTB 临床分离株可分为 13 株 MDR-MTB,20 株前广泛耐药结核分枝杆菌(pre-XDR-MTB)和 7 株广泛耐药结核分枝杆菌(XDR-MTB)。Lzd 对 MDR-MTB、pre-XDR-MTB、XDR-MTB 菌株的 MIC 中位数(四分位数)均为 0.500(0.500,1.000) mg/L;Tzd 对 MDR-MTB、pre-XDR-MTB 菌株、XDR-MTB 菌株的 MIC 中位数(四分位数)均为 0.250(0.250,0.250) mg/L,差异均无统计学意义(Lzd:  $H=0.84, P=0.659$ ; Tzd:  $H=0.59, P=0.746$ )。可见,Lzd 和 Tzd 对 MDR-MTB 菌株均有很好的杀菌效果,Tzd 具有较 Lzd 更好的抗结核效果。

**【关键词】** 分枝杆菌, 结核; 抗药性, 多药; 恶唑烷酮类; 微生物敏感性试验

**Study on drug-susceptibility of linezolid and tedizolid against 40 clinical isolates of multidrug-resistant tuberculosis**  
LUO Ming, ZHANG Hui-zheng, YAN Xiao-feng, CHEN Yao-kai, HUANG Zheng-gu, ZHOU Kan, LI Tong-xin, LI Jun-gang, WANG Jing, LIAO Chuan-yu. Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China  
Corresponding author: LIAO Chuan-yu, Email: 542341136@qq.com

**【Abstract】** In order to compare and analyze the drug-susceptibility of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-MTB) to linezolid (Lzd) and tedizolid (Tzd), 40 isolates, which were isolated and identified as MDR-MTB by drug susceptibility test in the central laboratory from Jan. 2018 to Nov. 2018, were selected from Chongqing Public Health Medical Center by direct selection method. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of Lzd and Tzd against these isolates were determined by microplate method and the relative data were analyzed. The results showed that the MIC ( $M(Q_1, Q_3)$ ) of Lzd against to MDR-MTB isolates was 0.500 (0.500, 1.000) mg/L, of which 87.5% (35/40) of the strains had MIC of 0.500—1.000 mg/L. And the MIC ( $M(Q_1, Q_3)$ ) of Tzd against to MDR-MTB isolates was 0.250 (0.250, 0.250) mg/L, of which 87.5% (35/40) of the strains were in the range of 0.125—0.250 mg/L. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of Lzd against to MDR-MTB isolates were 0.500 and 1.000 mg/L, respectively, while those of Tzd against to MDR-MTB isolates were both 0.250 mg/L. The MIC of Tzd was obviously lower than that of Lzd ( $Z=-5.51, P<0.001$ ). According to the results of the proportional susceptibility test, 40 MDR-MTB clinical isolates were identified as 13 strains of MDR-MTB, 20 strains of pre-extensive drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (pre-XDR-MTB) and 7 strains of XDR-MTB. The MICs ( $M(Q_1, Q_3)$ ) of Lzd against to MDR-MTB, pre-XDR-MTB and XDR-MTB isolates were 0.500 (0.500, 1.000) mg/L; while those of Tzd were 0.250 (0.250, 0.250) mg/L, without significant difference between the MICs of Lzd or Tzd among MDR-MTB, pre-XDR-MTB and XDR-MTB (Lzd:  $H=0.84, P=0.659$ ; Tzd:  $H=0.59, P=0.746$ ). In conclusion, both Lzd and Tzd have good bactericidal effects on MDR-MTB strains, and the anti-



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。

基金项目:中国科学院高致病性病原生物学与生物安全重点实验室开放研究基金(2017SPCAS004);重庆市科卫联合医学科项目(2019MSXM023);重庆市卫生局医学科研计划(2013-2-141)  
作者单位:400036 重庆市公共卫生医疗救治中心  
通信作者:廖传玉,Email:542341136@qq.com

tuberculosis effect of Tzd was better than that of Lzd.

**【Key words】** *Mycobacterium tuberculosis*; Drug resistance, multiple; Oxazolidinones; Microbial sensitivity tests

耐多药结核病(MDR-TB)的治疗疗程长,费用高,治愈率仅为 55%左右,而广泛耐药结核病(XDR-TB)的治愈率更是低至 34%<sup>[1]</sup>。恶唑烷酮类药物是一类全新合成的抗菌药物,利奈唑胺(Lzd)作为第一种上市的恶唑烷酮类抗生素,已被 WHO 列为治疗 MDR-TB 的 A 组药物<sup>[2-3]</sup>。特地唑胺(Tzd)作为第二代恶唑烷酮类药物,虽已有研究表明其不仅对革兰阳性菌(包括分枝杆菌)表现出了很好的抗菌活性,而且对 Lzd 敏感性降低的病原菌仍有很好的效果<sup>[4]</sup>,但目前尚未用于结核病的治疗。笔者通过检测 40 株 MDR-MTB 临床分离株对 Lzd 和 Tzd 的敏感性,以初步了解 MDR-MTB 菌株对这两种药物的敏感性差异,为今后将 Tzd 用于结核病的临床治疗提供实验室数据支持。

### 材料和方法

1. 菌株来源及菌种鉴定:采用简单随机抽样法中的直接抽选法从重庆市公共卫生医疗救治中心中心实验室 2018 年 1—12 月间培养分离并经药物敏感性试验(简称“药敏试验”)鉴定为 MDR-MTB 的菌株中选取 40 株。结核分枝杆菌 H37Rv(ATCC27294)标准菌株由中国疾病预防控制中心国家结核病参比实验室提供。

2. 试剂和仪器:中性罗氏培养基和结核分枝杆菌药敏检测试剂盒(比例法)由珠海银科医学工程有限公司生产。Lzd、Tzd 原药药粉由美国 MCE 公司生产。7H9 肉汤培养基、油酸-白蛋白-葡萄糖-过氧化氢酶(OADC)增菌液购自美国 BD 公司。吐温 80 及二甲亚砜(DMSO)均购自美国 Sigma 公司。

3. 比例法药敏试验:参照《结核病诊断实验室检验规程》<sup>[5]</sup>,对分枝杆菌阳性培养物进行利福平(R, 40 μg/ml)、异烟肼(H, 0.2 μg/ml)、阿米卡星(Am, 30 μg/ml)、卷曲霉素(Cm, 40 μg/ml)、左氧氟沙星(Lfx, 2 μg/ml)等抗结核药物的药敏试验,耐药判定标准参照文献<sup>[5-6]</sup>。

4. 最小抑菌浓度(MIC)法药敏检测:采用 MIC 检测耐多药结核分枝杆菌(MDR-MTB)临床分离株对 Lzd 和 Tzd 的敏感性。按照文献<sup>[5]</sup>操作,药物浓度均倍比稀释设置为 0.030~16.000 mg/L 的 10 个梯度<sup>[5]</sup>。刮取罗氏培养基上处于生长对数期的培养物,经研磨分散重悬后,用 7H9 培养基配成 1 个麦氏浓度溶液,按 1:10 稀释至含 10% OADC 的 7H9 培养基中。在制备好的药敏平板每孔加入稀释后的菌液 100 μl,37℃恒温培养 7 d。每孔加入 20 μl 刃天青显色液,再在 37℃培养 24 h 后观察显色读取 MIC,完全没有变色的最小药物浓度即为该菌株对这种药物的 MIC<sup>[5, 7]</sup>。

5. 统计学处理:采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析,计量资料为偏态分布,以“中位数(四分位数)”表示;计数资料以“率(%)”表示;Lzd 与 Tzd 对菌株 MIC 之间差异

的比较采用 Wilcoxon 配对设计符号秩和检验,Lzd 和 Tzd 对不同耐药类型菌株 MIC 间差异的比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,均以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. Lzd 和 Tzd 对 MDR-MTB 的 MIC 检测结果:Lzd 对 MDR-MTB 的 MIC 范围在 0.250~2.000 mg/L,中位数(四分位数)为 0.500(0.500, 1.000) mg/L,其中 87.5%(35/40)的菌株 MIC 处于 0.500~1.000 mg/L;Tzd 对 MDR-MTB 的 MIC 范围在 0.060~1.000 mg/L,中位数(四分位数)为 0.250(0.250, 0.250) mg/L,其中 87.5%(35/40)的菌株 MIC 处于 0.125~0.250 mg/L。Lzd 对 MDR-MTB 的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 分别为 0.500、1.000 mg/L;Tzd 对 MDR-MTB 的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 均为 0.250 mg/L。Tzd 的 MIC 明显小于 Lzd 的 MIC,差异有统计学意义( $Z=-5.51, P<0.001$ )。97.5%(39/40)的菌株 Lzd 的 MIC 大于 Tzd 的 MIC,仅 1 株菌对 2 种药物的 MIC 相同,均为 1.000 mg/L。1 株菌对 Lzd 耐药(MIC=2.000 mg/L),其 Tzd 的 MIC 为 0.500 mg/L。

2. Lzd 和 Tzd 与其他药物的交叉耐药性:参照比例法药敏试验结果,40 株 MDR-MTB 临床分离株按对 Lfx、Am 和 Cm 的不同耐药谱可分为 13 株 MDR-MTB,20 株前广泛耐药结核(pre-XDR-MTB)和 7 株 XDR-MTB。Lzd 对 MDR-MTB、pre-XDR-MTB 和 XDR-MTB 的 MIC 的中位数(四分位数)均为 0.500(0.500, 1.000) mg/L。Tzd 对 MDR-MTB、pre-XDR-MTB 和 XDR-MTB 的 MIC 的中位数(四分位数)均为 0.250(0.250, 0.250) mg/L。Lzd 和 Tzd 对不同耐药类型菌株的 MIC 差异均无统计学意义(Lzd:  $H=0.84, P=0.659$ ; Tzd:  $H=0.59, P=0.746$ )。

### 讨 论

MDR-TB 的出现和传播,极大地阻碍了全世界控制结核病的进程。中国是结核病和耐药结核病的双重高负担国家之一,WHO<sup>[1]</sup>估算在 2017 年我国约有 88.9 万例新发结核病,其中有 5.8 万例为 MDR-TB 或耐利福平结核病(rifampin-resistant tuberculosis, RR-TB)。由于新的抗结核药物的缺乏,使得 MDR-TB 的治疗极为困难,而发掘现有药物的抗结核活性并用于临床成为一条便捷的途径。

恶唑烷酮是一类人工合成的抗生素,表现出很好的抗分枝杆菌活性,其作用机制为与核糖体 50S 亚基结合,阻止了 70S 起始复合物的形成,从而在翻译的早期阶段抑制了细菌蛋白质的合成<sup>[3]</sup>。

在本研究中,通过 MIC 法检测 Lzd 和 Tzd 的抗结核活性,两种药物均表现出了很好的效果。在 40 株 MDR-MTB

中,仅有 1 株菌对 Lzd 耐药,Tzd 对所有菌株的 MIC 均低于美国临床标准化实验室协会(CLSI)推荐的 Lzd 耐药折点(>1 mg/L)<sup>[8]</sup>。Lzd 对 MDR-MTB 临床分离株的 MIC 多处于 0.500~1.000 mg/L,略高于其他研究报道的 0.250~0.500 mg/L 的结果<sup>[9-11]</sup>;Tzd 对 MDR-MTB 临床分离株的 MIC 多处于 0.125~0.250 mg/L,与廖传玉等<sup>[12]</sup>及 Ruiz 等<sup>[13]</sup>的研究结果一致。这种不同表现是否由于流行菌株谱系差异所造成,尚需进一步研究。

在本研究中,Lzd 对 MDR-MTB 的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 分别为 0.500、1.000 mg/L;Tzd 对 MDR-MTB 的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 均为 0.250 mg/L,提示 Tzd 相比 Lzd 具有更好的抗结核效果,与 Ruiz 等<sup>[13]</sup>研究结果一致。结果也显示,即使是对 Lzd 耐药的 1 株菌株,其 Tzd 的 MIC 仍小于 Lzd 的 1 mg/L 的耐药折点,说明即使是对 Lzd 耐药的菌株,对 Tzd 仍可能是敏感的,这与 Ruiz 等<sup>[13]</sup>研究结果一致。同时我们也注意到,有一株菌株两种药物的 MIC 相同,提示对于部分菌株来说,Tzd 的效果并不一定好于 Lzd。本研究还显示,Lzd 和 Tzd 对 MDR-MTB、pre-XDR-MTB 和 XDR-MTB 的 MIC 没有差异,这与文献<sup>[12-14]</sup>研究结果一致,提示目前恶唑烷酮类药物敏感性与其他药物无关,在制定 MDR-TB 治疗方案时,其他药物的药敏结果对恶唑烷酮类药物的选用不具有参考价值。

本研究存在一定局限,即纳入的样本量较小且为非多中心研究。但本次研究结果初步明确了 Lzd 和 Tzd 两种恶唑烷酮类药物对 MDR-MTB 的 MIC 分布。结果表明,Lzd 和 Tzd 对 MDR-MTB 菌株均有较好的杀菌效果,Tzd 具有较 Lzd 更好的抗结核效果,而且对 Lzd 耐药的菌株对 Tzd 仍可能是敏感的。Tzd 已展现出了作为抗结核药物的良好潜力,下一步仍需要多中心、大样本的临床研究,以进一步明确其对耐药结核病的有效性。

参 考 文 献

[1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, 2018.  
[2] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on

drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization, 2019.  
[3] 中华医学会结核病学分会,利奈唑胺抗结核治疗专家共识编写组. 利奈唑胺抗结核治疗专家共识. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(1): 14-19.  
[4] Kanafani ZA, Corey GR. Tedizolid (TR-701): a new oxazolidinone with enhanced potency. Expert Opin Investig Drugs, 2012, 21(4): 515-522.  
[5] 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.  
[6] World Health Organization. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2014.  
[7] Pang Y, Zong Z, Huo F, et al. In vitro drug susceptibility of bedaquiline, delamanid, linezolid, clofazimine, moxifloxacin, and gatifloxacin against extensively drug-resistant tuberculosis in Beijing, China. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(10). pii: e00900-17.  
[8] Vera-Cabrera L, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr, et al. In vitro activities of the novel oxazolidinones DA-7867 and DA-7157 against rapidly and slowly growing mycobacteria. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(12): 4027-4029.  
[9] 宗兆婧,荆玮,霍凤敏,等. 广泛耐药结核分枝杆菌对利奈唑胺的耐药情况分析. 新发传染病电子杂志, 2017, 2(3): 160-163.  
[10] Yang JS, Kim KJ, Choi H, et al. Delamanid, bedaquiline, and linezolid minimum inhibitory concentration distributions and resistance-related gene mutations in multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in Korea. Ann Lab Med, 2018, 38(6): 563-568.  
[11] 王前,宋媛媛,王玉峰,等. 158 株耐多药结核分枝杆菌对利奈唑胺耐药及相关基因突变情况研究. 中国防痨杂志, 2016, 38(9): 712-717.  
[12] 廖传玉,李同心,陈天刚,等. 特雷唑来对结核分枝杆菌体外抑菌作用的初步研究. 临床肺科杂志, 2017, 22(7): 1169-1172.  
[13] Ruiz P, Causse M, Vaquero M, et al. In vitro activity of tedizolid against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(4). pii: e01939-18.  
[14] 黄海荣,于霞,姜广路,等. 利奈唑胺对分枝杆菌体外抑菌作用的初步研究. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(8): 575-578.

(收稿日期:2019-05-09)  
(本文编辑:李敬文)