

呼吸与危重症

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001210

重庆市耐多药肺结核可疑患者药敏结果分析

胡彦¹, 杨春², 卢楠², 刘洁¹, 刘英¹, 余锋平¹, 沈静¹, 朱大冕¹, 冯鑫¹, 王晓英¹

(1. 重庆市结核病防治所结核病参比实验室, 重庆 400050; 2. 重庆医科大学基础医学院病原生物学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:通过分析重庆市耐多药肺结核(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)可疑患者药敏结果,为重庆市耐多药结核病的发现及控制提供参考和依据。**方法:**2014年7月至2016年2月重庆市39个区县573例MDR-TB可疑患者痰培养阳性分离株,采用比例法进行4种一线抗结核药物和6种二线抗结核药物的药敏试验,对药敏结果进行统计分析。**结果:**573例MDR-TB可疑患者的MDR-TB检出率为25.0%,明显高于单耐药结核病(single drug-resistant tuberculosis, SDR-TB)检出率(9.6%)及多耐药结核病(poly drug-resistant tuberculosis, PDR-TB)检出率(8.0%)($P<0.001$)。高危人群MDR-TB检出率为26.6%(130/488),明显高于新患者的15.3%(13/85)($P=0.026$)。高危人群中,复治失败患者MDR-TB检出率最高,为42.1%(16/38),其次为初治失败患者,为40.0%(18/45)。**结论:**重庆市耐多药肺结核可疑患者MDR-TB检出率高,耐多药肺结核防控形势严峻。高危人群尤其是复治失败和初治失败患者应该作为耐多药肺结核筛查的重点人群。

【关键词】结核分枝杆菌;耐多药;高危人群;药敏试验;重庆市

【中图分类号】R446.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2016-04-27

Drug susceptibility test to anti-tuberculosis drugs from the suspected MDR-TB patients in Chongqing

Hu Yan¹, Yang Chun², Lu Nan², Liu Jie¹, Liu Ying¹, Yu Fengping¹,
Shen Jing¹, Zhu Damian¹, Feng Xin¹, Wang Xiaoying¹

(1. Tuberculosis Reference Laboratory, Chongqing Institute for Tuberculosis Control and Prevention;

2. Teaching and Research Section of Pathogen Biology, College of Basic Medicine,

Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To analyze the drug susceptibility of *M. tuberculosis* isolates from suspected multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) patients in Chongqing, so as to provide scientific evidence for MDR-TB discovery and control. **Methods:** Totally 573 *M. tuberculosis* isolates from suspected MDR-TB patients were collected from July 2014 to February 2016. Four kinds of first-line anti-TB drugs (INH, RFP, Sm, EMB) and six kinds of second-line drugs (Ofx, Km, Cm, Pto, PAS, Am) were tested for susceptibility by the proportion method. **Results:** Among the 573 suspected MDR-TB cases, 143 cases (25.0%) were identified as MDR-TB, meanwhile, 55 cases (9.6%) were single drug-resistant tuberculosis (SDR-TB) and 46 cases (8.0%) were poly drug-resistant tuberculosis (PDR-TB). The proportion of MDR-TB was significantly higher than that of SDR-TB and PDR-TB ($P<0.001$). In terms of MDR-TB, the high risk groups had a higher drug resistance rate (26.6%, 130/488) than the new patients (15.3%, 13/85), $P=0.026$. Among the high risk groups, the detection rate of MDR-TB was the highest (42.1%, 16/38) in the patients who failed in the re-treatment, followed by those failed in the initial treatment (40.0%, 18/45). **Conclusion:** The detection rate of MDR-TB is moderately high among the suspected MDR-TB patients in Chongqing. A long way remained to go in controlling MDR-TB. The screening for MDR-TB should target at high risk groups especially the patients failed in the re-treatment and initial treatment.

【Key words】 *Mycobacterium tuberculosis*; multidrug-resistance; high risk groups; drug susceptibility testing; Chongqing

结核病是一种由于感染结核分枝杆菌复合群而引起的慢性传染病。近年来,伴随结核病化疗的

普及应用,结核病耐药问题也愈发严重。我国是全球27个耐多药结核病(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)高负担国家之一^[1]。2007至2008年全国结核病耐药性基线调查结果显示,我国初治肺结核耐多药率为5.7%,复治肺结核耐多药率为25.6%,明显高于全球平均水平^[2]。MDR-TB的出现已成为我国结核病疫情控制的重大障碍,进一步加剧了对

作者介绍:胡彦, Email: huyanz025@163.com,

研究方向:结核分枝杆菌实验室诊断。

通信作者:杨春, Email: yangchunim@163.com。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20170313.1137.080.html>

(2017-03-13)

我国公共卫生的威胁。为了积极应对严重的 MDR-TB 疫情,重庆市于 2014 年 1 月开始在全市 39 个区县开展 MDR-TB 防治工作,对 MDR-TB 可疑者进行耐多药筛查。本文就 2014 年 7 月至 2016 年 2 月重庆市 MDR-TB 可疑者药敏结果进行分析,为下一步重庆市耐药尤其是耐多药结核病的发现及控制提供参考和依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

1.1.1 研究对象 2014 年 7 月至 2016 年 2 月重庆市 39 个区(县)结核病防治机构推荐的可疑 MDR-TB 涂阳患者,经区县结防机构培养,阳性分离株送至重庆市结核病防治所结核病参比实验室进行菌种鉴定及药物敏感性试验共计 587 例,经菌种鉴定 14 例(2.4%, 14/587)为非结核分枝杆菌,573 例(97.6%, 573/587)为结核分枝杆菌复合群。573 例结核分枝杆菌复合群感染患者最终纳入本次分析,其中男性 459 例,女性 114 例,年龄 16~91 岁,平均(48.9±14.5)岁。

1.1.2 分类 根据治疗史登记,分为:新患者、复发、返回、初治失败、复治失败、初治 2/3 个月末痰涂片阳性及其他共 7 类,除新患者外的后 6 类为耐多药高危人群^[3]。

1.2 实验方法

1.2.1 主要试剂 改良 L-J 培养基、药物敏感性试验培养基、对硝基苯甲酸(p-nitrobenzoic acid, PNB)培养基和噻吩-2-羧酸肼(2-thiophene carbonylic acid hydrazide, TCH)培养基均购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.2.2 比例法药敏试验及菌种鉴定 具体操作参考文献^[4]进行。药敏试验共包括 4 种一线抗结核药物和 6 种二线抗结核药物,培养基内药物终浓度一线药物为:异烟肼(isoniazid, INH)0.2 μg/mL,利福平(rifampicin, RFP)40 μg/mL,乙胺丁醇(ethambutol, EMB)2 μg/mL,链霉素(streptomycin, Sm)4 μg/mL;二线药物为:卡那霉素(kanamycin, Km)30 μg/mL,氧氟沙星(ofloxacin, Ofx)2 μg/mL,卷曲霉素(capreomycin, Cm)40 μg/mL,丙硫异烟胺(Prothionamide, Pto)40 μg/mL,对氨基水杨酸(p-aminosalicylic acid, PAS)1 μg/mL,阿米卡星(amikacin, Am)30 μg/mL。采用 PNB 生长试验和 TCH 生长试验对分枝杆菌进行菌种鉴定,培养基中 PNB 浓度为 500 μg/mL, TCH 浓度为 5 μg/mL。每批药敏试验选取 H37Rv 标准菌株作为对照。结果判断标准:含药培养基与对照培养基表面菌落数之比≥0.01 判断为耐药。

1.2.3 结果解释相关概念 单耐药结核病(single drug-resistant tuberculosis, SDR-TB):对 1 种抗结核药物耐药;多耐药结核病(poly drug-resistant tuberculosis, PDR-TB):对 2 种或 2 种以上的抗结核药物耐药(不包括同时耐 RFP 和 INH);耐多药结核病(MDR-TB):至少对 RFP 和 INH 同时耐药;广泛耐药结核病(extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB):在 MDR-TB 基础上,对任何氟喹诺酮类药物耐药且至少对一种二线注射药物(Cm、Km、Am)耐药^[5]。

1.3 统计学分析

采用 Excel 2007 建立数据库,SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析。计数资料的组间比较采用卡方检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 不同性别、年龄组 MDR-TB 可疑者耐药情况

重庆市 MDR-TB 可疑患者以中青年男性为主,其中男性 459 人,女性 114 人,青年组、中年组及老年组分别为 203 人、201 人及 168 人。男性的 MDR-TB 检出率为 21.6%,低于女性的 38.6%,差异有统计学意义($P=0.000$)。青年组的 MDR-TB 检出率为 36.0%,高于中年组的 20.3%及老年组的 17.3%,差异有统计学意义(均 $P=0.000$),见表 1。

表 1 不同性别、年龄组 MDR-TB 可疑者不同耐药类型检出情况(n, %)

比较项目	例数	SDR-TB	PDR-TB	MDR-TB	总耐药
性别					
男	459	46(10.0)	39(8.5)	99(21.6)	184(40.1)
女	114	9(7.9)	7(6.1)	44(30.6)	60(52.6)
χ^2 值		0.476	0.687	14.138	5.877
P 值		0.490	0.407	0.000	0.015
年龄(岁)					
青年组(<45)	203	17(8.4)	16(7.9)	73(36.0) ^{bd}	106(52.2) ^{ac}
中年组(45~59)	202	22(10.9)	18(8.9)	41(20.3) ^f	81(40.6) ^e
老年组(>59)	168	11(6.5)	17(10.1)	29(17.3)	57(33.9)
χ^2 值		2.221	0.568	20.778	13.362
P 值		0.329	0.753	0.000	0.001

注:与中年组比较, a 表示 $\chi^2=5.982$, $P=0.014$; b 表示 $\chi^2=12.282$, $P=0.000$ 。与老年组比较, c 表示 $\chi^2=12.482$, $P<0.001$; d 表示 $\chi^2=16.123$, $P=0.000$ 。与老年组比较, e 表示 $\chi^2=1.493$, $P=0.222$; f 表示 $\chi^2=0.551$, $P=0.458$ 。

2.2 不同区域 MDR-TB 可疑者耐药情况

573 例 MDR-TB 可疑患者中,两翼地区 MDR-TB 可疑者人数为 296 人,SDR-TB、PDR-TB、MDR-TB 检出率及总耐药率分别为 9.8%、8.1%、24.7%及 42.6%;一小时经济圈的 MDR-TB 可疑者人数为 277 人,其 SDR-TB、PDR-TB、MDR-TB 检出率及总耐药率分别为 9.4%、7.9%、25.3%及 42.6%,与两翼地区相当(均 $P>0.05$),见表 2。

2.3 不同登记分类 MDR-TB 可疑者耐药情况

573 例 MDR-TB 可疑患者的 MDR-TB 检出率为 25%,明显高于 SDR-TB 检出率(9.6%)和 PDR-TB 检出率(8.0%)($\chi^2=47.280$, $P=0.000$; $\chi^2=59.615$, $P=0.000$)。MDR-TB 可疑患者中高危人群 488 例,新患者 85 例,高危人群的 MDR-TB 检出率为 26.6%,明显高于新患者的 15.3%($\chi^2=4.975$, $P=0.026$)。高危人群中,复治失败患者 MDR-TB 检出率最高为 42.1%,其次为初治失败患者为 40.0%。另外,检出 XDR-TB 20 例,占 MDR-TB 病例的 11.2%(20/143),见表 3。

表 2 不同区域 MDR-TB 可疑者不同耐药类型检出情况 ($n, \%$)

区域	可疑者数	SDR-TB	PDR-TB	MDR-TB	总耐药
两翼地区	296	29 (9.8)	24 (8.1)	73 (24.7)	126 (42.6)
一小时经济圈	277	26 (9.4)	22 (7.9)	70 (25.3)	118 (42.6)
χ^2 值		0.028	0.005	0.028	0.000
P 值		0.867	0.942	0.866	0.994

注:按重庆市功能区域划分,两翼地区包括万州区、梁平县、城口县、巫山县、巫溪县、忠县、云阳县、开州区、奉节县、丰都县、垫江县、黔江区、武隆区、石柱县、秀山县、酉阳县、彭水县;一小时经济圈包括永川区、江津区、合川区、大足区、綦江区、万盛区、南川区、荣昌区、铜梁区、璧山区、潼南区、涪陵区、长寿区、渝中区、江北区、九龙坡区、沙坪坝区、大渡口区、南岸区、北碚区、渝北区、巴南区

表 3 不同登记分类 MDR-TB 可疑者不同耐药类型检出情况 ($n, \%$)

患者登记分类	可疑者数	SDR-TB	PDR-TB	MDR-TB ^a	XDR-TB	总耐药
新患者	85	11 (12.9)	7 (8.2)	13 (15.3)	4 (4.7)	31 (36.5)
高危人群	488	44 (9.0)	39 (8.0)	130 (26.6)	16 (3.3)	213 (43.6)
复发	291	26 (8.9)	22 (7.6)	67 (23.0)	7 (2.4)	115 (39.5)
返回	15	2 (13.3)	0 (0.0)	3 (20.0)	0 (0.0)	5 (33.3)
初治失败	45	6 (13.3)	7 (15.6)	18 (40.0)	4 (8.9)	31 (68.9)
复治失败	38	3 (7.9)	7 (18.4)	16 (42.1)	4 (10.5)	26 (68.4)
初治 2/3 个月末阳性	71	4 (5.6)	1 (1.4)	18 (25.4)	0 (0.0)	23 (32.4)
其他	28	3 (10.7)	2 (7.1)	8 (28.6)	1 (3.6)	13 (46.4)
合计	573	55 (9.6)	46 (8.0)	143 (25.0)	20 (3.5)	244 (42.6)
χ^2 值 ^b		1.285	0.006	4.975	0.438	1.525
P 值 ^b		0.257	0.939	0.026	0.508	0.217

注:a,MDR-TB 病例数中包含 XDR-TB 例数;b:新患者与高危人群比较

2.4 MDR-TB 可疑者对 10 种抗结核药物的耐药情况

在 573 例 MDR-TB 可疑患者中,高危人群的 RFP 任意耐药率、EMB 任意耐药率分别为 32.0%、9.4%,均明显高于新患者的 18.8%及 1.2% ($\chi^2=5.953, P=0.015; \chi^2=6.543, P=0.011$)。6 种二线抗结核药物中 Ofx 任意耐药率最高为 16.1%,其余 5 种二线抗结核药物任意耐药率均小于 6.0%,6 种二线抗结核药物的任意耐药率在新患者与高危人群中均无统计学差异 (均 $P>0.05$),具体见表 4。

表 4 10 种抗结核药物在 573 例 MDR-TB 可疑者中的耐药情况 ($n, \%$)

任意耐药	可疑者数 ($n=573$)	新患者 ($n=85$)	高危人群 ($n=488$)	χ^2 值	P 值
INH	182 (31.8)	22 (25.9)	160 (32.8)	1.525	0.217
RFP	172 (30.0)	16 (18.8)	156 (32.0)	5.953	0.015
Sm	149 (26.0)	16 (18.8)	133 (27.3)	2.674	0.102
EMB	47 (8.2)	1 (1.2)	46 (9.4)	6.543	0.011
Ofx	92 (16.1)	16 (18.8)	76 (15.6)	0.567	0.451
Km	30 (5.2)	4 (4.7)	26 (5.3)	0.056	0.812
Cm	18 (3.1)	2 (2.4)	16 (3.3)	0.204	0.652
Pto	19 (3.3)	5 (5.9)	14 (2.9)	2.051	0.152
PAS	23 (4.0)	2 (2.4)	21 (4.3)	0.715	0.398
Ak	23 (4.0)	3 (3.5)	20 (4.1)	0.061	0.805

3 讨 论

结核分枝杆菌的耐药性多是由药物作用靶位基因的突变引起,耐多药的产生则多被认为是多个基因突变的积累^[6]。通过药敏试验对 MDR-TB 可疑患者进行耐药监测是及时发现 MDR-TB 患者的关键,是 MDR-TB 治疗、管理以及减少和消除传染危险源的前提。重庆市以往对 MDR-TB 可疑患者药敏结果的报道很少,有文献^[7]报道三峡库区 6 个区县 MDR-TB 患者的发现情况,样本覆盖地域窄,本研究样本来源于重庆市所辖 39 个区县,覆盖范围广,样本量大,研究结果代表性好。通过本研究,我们发现以下特点。

3.1 重庆市 MDR-TB 疫情形势较为严峻

重庆市 573 例 MDR-TB 可疑患者中,MDR-TB 检出率为 25.0%,略高于广西的 23.2%^[8],高于山东的 14.3%^[9]和广东的 14.07%^[10];MDR-TB 可疑患者 MDR-TB 检出率明显高于 SDR-TB 检出率(9.6%)和 PDR-TB 检出率(8.0%),提示重庆市 MDR-TB 可疑

患者一旦发生耐药,则多为 MDR-TB,重庆市 MDR-TB 疫情形势较为严峻。

本研究检出 XDR-TB 20 例,占 MDR-TB 病例的 11.2%,高于 WHO 报告的 9.7%^[1]及全国的 8.0%^[2]。值得注意的是本研究中 4 例 XDR-TB 病例为新患者,提示有可能存在 XDR-TB 的近期传播。由于对 XDR-TB 敏感的药物很少,一旦发展成 XDR-TB,或将处于无药可治的窘境。因此,对 XDR-TB 的防控刻不容缓。

3.2 高危人群尤其是复治失败与初治失败患者是 MDR-TB 筛查的重点人群

本研究高危人群 MDR-TB 检出率(26.6%)明显高于新患者(15.3%),与三峡库区 6 区县的报道相似^[7]。在各登记分类中,复治失败与初治失败患者 MDR-TB 检出率相对较高,分别为 42.1%和 40.0%,与全国其他地区的报告一致^[8-10]。以上提示在当前重庆地区资源和能力相对有限情况下,集中力量重点对高危人群尤其是复治失败与初治失败患者开展耐多药筛查,可有效提高 MDR-TB 患者的发现率。

3.3 高危人群的 RFP 耐药快速检测阳性结果可替代诊断 MDR-TB

本研究任意耐 RFP 的患者中,83.1%(143/172)表现为 MDR-TB 患者,表明 RFP 耐药常合并 INH 耐药。RFP 耐药快速检测阳性结果常常提示 MDR-TB 的可能性很大,对 RFP 的耐药检测被认为是诊断 MDR-TB 的一个替代指标^[5]。本研究中高危人群的 RFP 耐药率显著高于新患者,因此,可在高危人群中通过快速 RFP 耐药检测技术来快速筛查 MDR-TB,从而提高 MDR-TB 早期发现水平。

3.4 Ofx 耐药应引起重视

Ofx 是组成 MDR-TB 治疗方案的核心二线药物,本研究中 Ofx 耐药率最高为 16.1%,且新患者 Ofx 耐药率 18.8%高于高危人群(多为复治患者)的 15.6%,分析其原因可能是因为 Ofx 近年来在临床上作为广谱抗生素被广泛应用于一般的细菌抗感染治疗,从而增加了其耐药性。但 Ofx 耐药并不意味着其他氟喹诺酮类药物如左氧氟沙星、莫西沙星、加替沙星等耐药^[11],Ofx 耐药者使用其他氟喹诺酮类药物仍可能有较好疗效,这就要求尽快开展这些药物的药敏试验,以指导耐药结核病的治疗。

3.5 MDR-TB 检出无明显区域性差异,女性、青壮年 MDR-TB 检出率较高

重庆市地处我国西部,各区县社会经济发展不

均衡情况较为突出。本研究两翼地区 MDR-TB 可疑人群的 MDR-TB 检出率与一小时经济圈相当,但两大区域的 MDR-TB 发病率是否有区域性差异有待今后进一步阐明。本研究中女性 MDR-TB 检出率高于男性,与文献^[2]报道的女性是 MDR-TB 发生的影响因素相符。青年组 MDR-TB 检出率明显高于中、老年组,原因可能是重庆市农村人口多,青壮年外出务工人员多,流动性大,患者管理存在一定困难,且这部分人群往往受教育程度低,对结核病认识不足,治疗依从性差,不规则服药率较高。

总体说来,耐多药结核病的检测和防治仍然任重而道远。实验室应加强网络建设,引入快速、可靠和便捷的耐药检测技术,缩短耐药结核病诊断时间,同时增加药敏试验药物种类。相信随着重庆市 MDR-TB 防治工作的逐步开展和完善,耐药结核病的产生和传播定将逐渐减少。

参 考 文 献

- [1] WHO. Global tuberculosis report 2015 (WHO/HTM/TB/2015.22) [M]. Geneva: World Health Organization, 2015.
- [2] Zhao Y, Xu S, Wang L, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China[J]. N Engl J Med, 2012, 366(23): 2161-2170.
- [3] 王宇. 耐多药肺结核防治管理工作方案[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2012: 6-8.
- [4] 中国防痨协会. 结核病实验室检验规程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 59-65.
- [5] WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: emergency update 2008 (WHO/HTM/TB/2008.402) [M]. Geneva: World Health Organization, 2008.
- [6] 苏雯婕. 广州地区耐多药结核分枝杆菌 KatG 及 rpoB 基因突变的分子特征研究[D]. 广州: 广州医学院, 2012.
- [7] 刘英, 曹奕, 张文, 等. 重庆市六区(县)耐多药肺结核患者发现治疗现状分析[J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(10): 808-811.
- [8] 黄曙海, 刘飞鹰, 徐广保, 等. 广西耐药结核病可疑者耐药性筛查结果分析[J]. 应用预防医学, 2014, 20(5): 272-276.
- [9] 李海涛, 张修磊, 徐欣, 等. 山东省耐多药肺结核可疑者筛查情况分析[J]. 中国医药科学, 2012, 2(17): 121-122, 164.
- [10] 吴惠忠, 尹建军, 钟耐容, 等. 广东省全球基金耐多药结核病项目阶段性实施情况分析[J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(10): 799-802.
- [11] Zhang ZJ, Lu J, Wang Y, et al. Prevalence and molecular characterization of fluoroquinolone-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(1): 364-369.

(责任编辑: 张辉洁)