

· 论著 ·

2016 年广东省涂阴培阳肺结核患者耐药情况分析

陈燕梅 黄新春 孙琦 张晨晨 温文沛 陈亮

【摘要】 目的 了解广东省涂阴培阳肺结核患者的耐药情况。**方法** 收集广东省 2016 年 1—12 月 32 个结核病耐药监测点 12 323 例临床确诊的初治涂阴肺结核患者作为研究对象,均进行了分枝杆菌培养检测,其中 1224 例阳性,涂阴培阳率为 9.9%。经菌种鉴定,1177 例(96.16%)为结核分枝杆菌复合群,47 例(3.84%)为非结核分枝杆菌。对确定为结核分枝杆菌复合群的 1177 株菌株进行异烟肼(INH)、链霉素(Sm)、利福平(RFP)、乙胺丁醇(EMB)、卡那霉素(Km)、氧氟沙星(Ofx)、卷曲霉素(Cm)、丙硫异烟胺(Pto)、对氨基水杨酸(PAS)等 9 种药物的药物敏感性试验(简称“药敏试验”)。**结果** 12 323 例初治涂阴肺结核患者进行培养,涂阴培阳肺结核患者总耐药率为 29.57%(348/1177),耐多药率为 2.38%(28/1177),广泛耐药率为 0.08%(1/1177),单耐药率为 17.42%(205/1177),多耐药率为 9.77%(115/1177)。男性耐多药率(2.94%,25/849)高于女性(0.91%,3/328),差异有统计学意义($\chi^2=4.20$, $P=0.040$)。多耐药谱有 52 种类型,其中耐 INH+Sm 者最多,占 20.87%(24/115);其次为耐 Sm+Km 者(9.57%,11/115)。**结论** 广东省涂阴培阳肺结核患者有较高的耐药率,应加强监测与管理,减少耐药结核病的发生。

【关键词】 分枝杆菌, 结核; 集落计数, 微生物; 抗药性, 细菌; 微生物敏感性试验

Analysis of drug resistance in patients with smear-negative and culture-positive pulmonary tuberculosis in Guangdong province in 2016 CHEN Yan-mei, HUANG Xin-chun, SUN Qi, ZHANG Chen-chen, WEN Wen-pei, CHEN Liang. Center for Tuberculosis Control of Guangdong Province, Guangzhou 510630, China
Corresponding author: CHEN Liang, Email: 18928929722@126.com

【Abstract】 Objective This study aimed to investigate the drug resistance status of patients with smear-negative while culture-positive pulmonary tuberculosis (PTB) in Guangdong province. **Methods** A total of 12 323 newly diagnosed smear-negative PTB patients from 32 tuberculosis drug resistance surveillance sites in Guangdong province during January-December 2016 were collected as research subjects. After sputum culture, 1224 were culture positive, with culture positive rate of smear-negative of 9.9%. The results of strain identification tests indicated that 1177 cases (96.16%) were *Mycobacterium tuberculosis complex*, and 47 cases (3.84%) were nontuberculous mycobacteria (NTM). Then, drug sensitivity tests were performed on 1177 strains identified as *Mycobacterium tuberculosis complex* with 9 different anti-TB drugs, which were isoniazid (INH), streptomycin (Sm), rifampicin (RFP), ethambutol (EMB), kanamycin (Km), ofloxacin (Ofx), capriomycin (Cm), propionamide (Pto) and p-aminosalicylic acid (PAS). **Results** Totally, 12 323 sputum isolates from newly diagnosed patients with smear-negative PTB were cultured, and the results showed that the total resistance rate was 29.57% (348/1177), including a multidrug resistance (MDR) rate of 2.38% (28/1177), extensive drug resistance (XDR) rate of 0.08% (1/1177), single drug resistance rate of 17.42% (205/1177), and a polyresistance rate of 9.77% (115/1177). We also found that the MDR rate (2.94%, 25/849) in men were significantly higher than those in women (0.91%, 3/328), with significant statistical differences ($\chi^2=4.19$, $P=0.040$). There were 52 types of MDR spectrum, among which, INH + Sm resistant types were the most, accounting for 20.87% (24/115), followed by Sm+Km resistant types, accounting for 9.57% (11/115). **Conclusion** Patients with smear-negative and culture-positive PTB in Guangdong province have a higher drug resistance rate. Monitoring and management should be strengthened to reduce the occurrence of drug-resistant tuberculosis.

【Key words】 *Mycobacterium tuberculosis*; Colony count, microbial; Drug resistance, bacterial; Microbial sensitivity tests



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:“十三五”国家科技重大专项(2018ZX10715004-002、2018ZX1072301-004-004)

作者单位:510630 广州,广东省结核病控制中心

通信作者:陈亮,Email:18928929722@126.com

近年来,耐药结核病的产生和流行对我国结核病控制工作及降低结核病疫情造成了很大挑战。我国及广东省曾开展结核病耐药性调查工作,但仅获得了涂阳肺结核患者耐药情况^[1-2]。对涂阴培阳肺结核患者耐药情况进行监测,掌握其耐药情况对控制结核病流行非常必要。笔者收集广东省 2016 年 32 个耐药监测点的涂阴培阳肺结核患者分离菌株的药物敏感性试验(简称“药敏试验”)结果,并进行分析,以了解广东省涂阴培阳肺结核患者的耐药情况。

资料和方法

1. 一般资料:收集广东省 2016 年 1—12 月 32 个结核病耐药监测点 12 323 例初治涂阴肺结核患者作为研究对象,均进行了分枝杆菌培养检测,其中 1224 例阳性,涂阴培阳率为 9.9%。经菌种鉴定,1177 例(96.16%)为结核分枝杆菌复合群,47 例(3.84%)为非结核分枝杆菌。对确定为结核分枝杆菌复合群的 1177 株菌株送至通过抗结核药物敏感性熟练度测试合格的市级结核病实验室进行药敏试验。

2. 痰涂片镜检:按照《中国结核病防治规划痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》^[3]中的标准化操作程序进行。

3. 分枝杆菌分离培养及菌种鉴定:参照文献^[4],痰标本采用 4% 的 NaOH 去污染处理后直接接种至酸性罗氏固体培养基上,接种后第 3 天和第 7 天观察培养情况,然后每周观察 1 次,直到第 8 周末。对培养阳性标本采用对硝基苯甲酸(PNB)鉴别培养基,初步鉴别结核分枝杆菌复合群和非结核分枝杆菌。

4. 药敏试验:参照文献^[5]的操作规程,采用固体比例法药敏试验,对确定为结核分枝杆菌复合群的菌株进行药敏试验,抗结核药物的终浓度为:异烟肼(INH) 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、链霉素(Sm) 40 $\mu\text{g/ml}$ 、利福平(RFP) 40 $\mu\text{g/ml}$ 、乙胺丁醇(EMB) 2 $\mu\text{g/ml}$ 、卡那霉素(Km) 30 $\mu\text{g/ml}$ 、氧氟沙星(Ofx) 4 $\mu\text{g/ml}$ 、卷曲霉素(Cm) 40 $\mu\text{g/ml}$ 、丙硫异烟胺(Pto) 1 $\mu\text{g/ml}$ 、对氨基水杨酸(PAS) 40 $\mu\text{g/ml}$ 。每批药敏试验均用结核分枝杆菌标准株 H37Rv(敏感株)检测含药培养基的质量。空白对照管须菌落生长良好,且高稀释度对照培养基上菌落数应 >20 个,否则重复试验。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4 周,在对照培养基生长良好的情况下,含药培养基上生长的菌落数与对照培养基上生

长的菌落数之比 $>1\%$ 为耐药, $<1\%$ 为敏感。

5. 质量控制:每个监测点按照《广东省结核病耐药性监测实施手册》要求进行,由全省 21 个市级结核病防治机构对辖区内的监测点在监测期间进行至少 3 次现场督导并负责结束后进行验收工作。

6. 耐药结核病定义:耐多药、多耐药、广泛耐药、单耐药结核病的定义参照《耐药结核病化学治疗指南(2019 年简版)》^[6]。

7. 统计学处理:应用 SPSS 22.0 统计软件进行分析,计数资料采用“率(%)”表示,对不同特征患者耐药情况的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况:1177 例患者的临床分离株确定为结核分枝杆菌复合群,其中,男 849 例(72.13%),女 328 例(27.87%);年龄范围 10~86 岁,其中,10~岁年龄组 66 例(5.61%)、20~岁年龄组 554 例(47.07%)、40~岁年龄组 375 例(31.86%)、 ≥ 60 岁年龄组 182 例(15.46%)。

2. 药敏试验结果:总耐药率为 29.57%(348/1177),耐多药率为 2.38%(28/1177),广泛耐药率为 0.08%(1/1177),单耐药率为 17.42%(205/1177),多耐药率为 9.77%(115/1177)。不同性别和年龄涂阴培阳肺结核患者总耐药率、单耐药率、多耐药率间差异无统计学意义;而男性耐多药率高于女性,差异有统计学意义,见表 1。

3. 耐药情况:涂阴培阳肺结核患者对 9 种药物的单耐药率由高到低依次为 Sm(59.02%,121/205)、INH(16.58%,34/205)、EMB(5.85%,12/205)、Cm(5.85%,12/205)、Ofx(4.39%,9/205)、RFP(3.41%,7/205)、Km(2.44%,5/205)、Pto(1.46%,3/205)、PAS(0.98%,2/205)。一线抗结核药物中 Sm 的单耐药比率最高,其次是 INH;二线抗结核药物中 Cm 的单耐药比率最高,最低是 PAS。

28 例耐多药涂阴培阳肺结核患者的耐药谱以同时耐 INH+RFP+EMB 者最多(6 例),其次是耐 INH+RFP+Sm+EMB 者(3 例)。28 例患者中,耐 Sm 者有 17 例,耐 EMB 者有 14 例。

多耐药谱有 52 种类型,其中耐 INH+Sm 者最多,占 20.87%(24/115);其次为耐 Sm+Km 者(9.57%,11/115);同时耐 8 种药物者占 0.87%(1/115),具体见表 2。

表 1 2016 年广东省不同人口学特征涂阴培阳肺结核患者耐药情况比较

人口学特征	总例数	总耐药		耐多药		广泛耐药		多耐药		单耐药	
		例数	总耐药率(%)	例数	耐多药率(%)	例数	广泛耐药率(%)	例数	多耐药率(%)	例数	单耐药率(%)
性别											
男	849	245	28.86	25	2.94	1	0.12	83	9.78	137	16.14
女	328	103	31.40	3	0.91	0	0.00	32	9.76	68	20.73
χ^2 值		0.74		4.20		0.39		0.00		3.47	
<i>P</i> 值		0.391		0.040		0.534		0.992		0.062	
年龄组(岁)											
10~	66	19	28.79	1	1.52	0	0.00	4	6.06	13	19.70
20~	554	164	29.60	11	1.99	1	0.18	45	8.12	109	19.67
40~	375	111	29.60	14	3.73	0	0.00	40	10.67	57	15.20
≥60	182	54	29.67	2	1.10	0	0.00	26	14.29	26	14.29
χ^2 值		0.02		4.83		1.13		7.29		4.73	
<i>P</i> 值		0.999		0.185		0.771		0.063		0.193	
合计	1177	348	29.57	28	2.38	1	0.08	115	9.77	205	17.42

表 2 2016 年广东省涂阴培阳肺结核患者的多耐药谱

药物组合		例数	构成比(%)	药物组合		例数	构成比(%)
耐 2 种药物				Sm+EMB+PAS		1	0.87
INH+Sm		24	20.87	Sm+RFP+Km		1	0.87
INH+EMB		4	3.48	Sm+RFP+Pto		1	0.87
INH+Km		1	0.87	Sm+Km+Cm		1	0.87
INH+PAS		2	1.74	Sm+Km+PAS		1	0.87
Sm+EMB		4	3.48	Sm+Pto+Cm		1	0.87
Sm+RFP		1	0.87	EMB+RFP+Pto		1	0.87
Sm+Km		11	9.57	EMB+Pto+Cm		1	0.87
Sm+Pto		7	6.09	EMB+Cm+Ofx		1	0.87
Sm+Cm		5	4.35	EMB+Cm+PAS		1	0.87
Sm+PAS		2	1.74	Km+Cm+PAS		1	0.87
EMB+Pto		1	0.87	Pto+Cm+Ofx		1	0.87
EMB+Cm		3	2.61	耐 4 种药物			
Km+Cm		1	0.87	INH+Sm+EMB+Cm		1	0.87
Pto+PAS		1	0.87	INH+Sm+EMB+PAS		1	0.87
耐 3 种药物				INH+Sm+Km+PAS		2	1.74
INH+Sm+EMB		3	2.61	Sm+EMB+Pto+Cm		2	1.74
INH+Sm+Ofx		1	0.87	Sm+EMB+Cm+PAS		2	1.74
INH+Sm+PAS		1	0.87	Sm+Km+Pto+PAS		1	0.87
INH+EMB+Pto		1	0.87	Sm+Km+Ofx+PAS		1	0.87
INH+EMB+Cm		1	0.87	耐 5 种药物			
INH+EMB+PAS		2	1.74	INH+Sm+EMB+Km+PAS		1	0.87
INH+Km+PAS		1	0.87	INH+Sm+EMB+Pto+PAS		1	0.87
Sm+EMB+Km		2	1.74	INH+Sm+Cm+Ofx+PAS		1	0.87

续表 2		
药物组合	例数	构成比(%)
INH+EMB+Km+Ofx+PAS	1	0.87
Sm+EMB+Pto+Cm+PAS	5	4.35
耐 6 种药物		0.00
INH+Sm+EMB+Km+Cm+PAS	1	0.87
INH+Sm+EMB+Km+Ofx+PAS	1	0.87
耐 7 种药物		
INH+Sm+EMB+Km+Cm+Ofx+PAS	1	0.87
INH+Sm+EMB+Pto+Cm+Ofx+PAS	1	0.87
耐 8 种药物		
INH+Sm+EMB+Km+Pto+Cm+Ofx+PAS	1	0.87
合计	115	100.00

注 INH: 异烟肼, Sm: 链霉素, RFP: 利福平, EMB: 乙胺丁醇, Km: 卡那霉素, Ofx: 氧氟沙星, Cm: 卷曲霉素, Pto: 丙硫异烟胺, PAS: 对氨基水杨酸

讨 论

我国结核病疫情尤其耐药结核病的防控工作仍然严峻,准确诊断和治愈涂阴肺结核患者将是降低结核病疫情关键环节。《2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告》^[7]显示,目前全国活动性肺结核患者中绝大多数为涂阴患者,因此,掌握涂阴患者的耐药情况,制订个体化治疗方案及科学防控策略乃当务之急。

本研究结果显示,2016 年广东省涂阴培阳肺结核患者总耐药率、耐多药率,以及单耐药率均低于《全国结核病耐药性基线调查报告(2007—2008 年)》^[1]结果(35.6%、5.71%、21.27%),但也不容乐观,尤其是总耐药率非常接近;总耐药率高于周丽平等^[8]的调查数据,与车洋等^[9]的调查结果相近。本次调查结果显示,男性患者耐多药率明显高于女性,主要为中青年,可能此时正是其工作和生活压力最大的时期,与不规律生活导致休息不好、抵抗力低,且治疗依从性较低、治疗不规范等原因有关。单耐药以 Sm 耐药率最高,此原因较复杂,有该药物实验室药敏试验可靠性原因,也有可能为患者感染了原发耐药菌株;其次是 INH,提示在单用 INH 作为潜伏感染预防性用药时,要规范治疗,整个疗程不能随意中断,并需加强督导管理。EMB 的单耐药率较《广东省 2008—2009 年结核病耐药性基线调查研究》^[2]报告的结果高,说明耐 EMB 菌株存在增加的

趋势,应加强对 EMB 的耐药监测工作。Cm 的单耐药率在二线抗结核药物中最高,如果选择将其用于耐多药结核病治疗时需要考虑其耐药情况。

本次调查显示,涂阴肺结核患者多耐药率高于《全国结核病耐药性基线调查报告(2007—2008 年)》^[1]结果(8.19%),共出现了 52 种耐药谱型;说明广东省涂阴肺结核患者耐药谱具有多态性和复杂性,提示目前采用的标准治疗方案未必能够覆盖全耐药谱型。如果对已经耐药的患者采取含耐药药物的治疗方案,则会出现药物放大效应,导致耐药谱的扩大^[10]。因此,在制订治疗方案时对涂阴肺结核患者应尽量避免选择耐药药物的组合。

综上所述,笔者通过对广东省涂阴培阳肺结核患者耐药情况分析,发现其耐药情况不容忽视,提示在结核病防治策略实施过程中应重视涂阴培阳患者的发现,建议涂阴肺结核患者均常规开展培养检测并对培阳菌株进行药敏试验,从而早期诊断耐药结核病患者,制订有效的治疗方案,避免耐药结核病流行。

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国卫生部. 全国结核病耐药性基线调查报告(2007—2008 年). 北京: 人民卫生出版社, 2010.

[2] 钟球, 尹建军, 钱明, 等. 广东省结核病耐药性基线调查研究. 中国防痨杂志, 2011, 33(7): 416-422.

[3] 赵雁林, 刘宇红, 姜广路, 等. 中国结核病防治规划痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册. 北京: 中国协和医院大学出版社, 2008: 18-39.

[4] 赵雁林, 王黎霞, 成诗明, 等. 分枝杆菌分离培养标准化操作程序及质量保证手册. 北京: 人民卫生出版社, 2013.

[5] 赵雁林, 王黎霞, 成诗明, 等. 结核分枝杆菌药物敏感性试验标准化操作程序及质量保证手册. 北京: 人民卫生出版社, 2013.

[6] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2019 年简版). 中国防痨杂志, 2019, 41(10): 1025-1073.

[7] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.

[8] 周丽平, 侯双翼, 刘勋, 等. 158 例涂阴培阳肺结核患者分离菌株耐药情况分析. 中国防痨杂志, 2015, 37(6): 628-631.

[9] 车洋, 于梅, 平国华, 等. 780 例涂阴培阳肺结核患者耐药特征及影响因素分析. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(12): 2036-2038.

[10] 谭守勇, 丁秀秀, 谭耀驹, 等. 异烟肼和利福平治疗方案对单耐异烟肼或利福平肺结核患者的治疗效果. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(12): 915-918.

(收稿日期: 2019-10-09)
(本文编辑: 李敬文)