

# 长沙市某院 6535 例肺结核患者耐药结果分析

郭婧玮<sup>1, 2</sup>, 谭云洪<sup>2</sup>, 易松林<sup>2</sup>, 陈忠南<sup>2</sup>, 王诗<sup>1</sup>, 袁仕善<sup>1</sup>

1 湖南师范大学医学院 (长沙 410006); 2 湖南省结核病防治所 (长沙 410013)

**摘要:**目的 调查长沙市某院就诊肺结核患者耐药情况。方法 收集 2013 年-2014 年湖南省胸科医院就诊结核患者 6535 例, 采用绝对浓度法测定病人对异烟肼、利福平、乙胺丁醇、链霉素、卡那霉素、氧氟沙星 6 种常用抗结核药物的敏感性, 采用  $\chi^2$  检验对数据进行统计分析。结果 经痰结核菌培养阳性 1140 例, 初治患者 591 例, 复治患者 549 例; 耐药肺结核患者 443 例, 总耐药率为 38.86% (443/1140), 其中初治患者耐药率为 25.38% (150/591), 复治患者耐药率为 53.37% (293/549)。在耐多药患者中, 耐多药率为 23.7% (270/1140), 复治患者的耐多药率 35.15% (193/549) 高于初治耐多药患者 13.03% (77/591), 复治患者在阳性率、耐药率和耐多药率方面均高于初治患者, 其差异均有统计学意义 (分别  $\chi^2=104.91$ ,  $P=0.000$ ;  $\chi^2=93.84$ ,  $P=0.000$ ;  $\chi^2=77.09$ ,  $P=0.000$ )。根据性别分类, 男性患者阳性率 19.46% 高于女性患者阳性率 13.32% ( $\chi^2=37.75$ ,  $P=0.000$ ), 但女性患者分别在单耐 RFP 和单耐 SM 均高于男性患者, 差异有统计学意义 (分别  $\chi^2=4.152$ ,  $P=0.042$ ;  $\chi^2=10.257$ ,  $P=0.001$ )。RFP、INH 和 SM 为单药耐药率最高的前三位, 分别为 28.50%、28.42% 和 21.58%。而在 MDR-TB 中, 以同时耐利福平、异烟肼和链霉素所占比例最高, 达 32.2% (87/270)。结论 长沙市某院就诊肺结核患者的总耐药率和耐多药率均较高, MDR-TB 中, 菌株中以异烟肼、利福平和链霉素三种药物同时耐药的患者数最高, 中老年人群是结核病及耐药结核的高发人群, 复治患者在阳性率、耐药率和耐多药率方面均高于初治患者。

关键词: 结核; 药敏试验; 耐多药结核

## Investigation on the drug resistance from 6535 pulmonary tuberculosis patients in a hospital

GUO Jing-wei, YUAN Shi-shan, TAN Yun-hong, et al.

Medical College in Hunan Normal University, Changsha 410013, Hunan, China

*Key words:* tuberculosis; susceptibility test; multi-drug resistant tuberculosis

结核病 (tuberculosis, TB) 是我国危害最大的传染病之一, 自 20 世纪 90 年代后期以来, 结核病危害呈增长态势, 尽管存在诸多社会因素, 但结核分枝杆菌 (mycobacterium tuberculosis, MTB) 的耐药性增加是造成这一趋势的主要因素。近年来, 耐多药结核病 (multi-drug resistant tuberculosis, MDR-TB) 和广泛耐药结核病 (extensively drug resistant tuberculosis, XDR-TB) 的传播流行加剧了结核病的全球疫情<sup>[1]</sup>。据 WHO 统计, 全世界有十几亿人口感染结核分枝杆菌, 每年新发患者 1000 万例, 有将近 500 万例死亡, 为传染病中死亡例数的第一位, 耐药菌流行是结核病疫情日趋严重的主要原因<sup>[2-3]</sup>。耐药结核病常规的疫情监测不仅是临床用药和评价化疗方案的重要依据, 也是流行病学和结核病控制工作的重要指标<sup>[4]</sup>。为此, 我们在湖南省胸科医院 2013 年 6 月 25 日—2014 年 6 月 24 日期间就诊结核患者中, 对分离出的结核分枝杆菌菌株进

行 6 种常用抗结核药的药物敏感试验，通过耐药结果分析，了解结核病专科医院目前抗结核药的耐药现状，为临床用药和选择化疗方案提供科学依据。

## 1. 材料与方法

### 1.1 材料

标本均采集于 2013 年 6 月 25 日至 2014 年 6 月 24 日期间湖南省胸科医院 6535 例就诊的肺结核患者，其中男 4137 例，女 2398 例，年龄 2 岁—96 岁。主要为结核患者的痰液、肺泡灌洗液标本和胸腹水，进行 MTB 快速培养及药敏检测，药敏实验的对照为标准菌株 H37Rv。

### 1.2 方法

1.2.1 结核分枝杆菌分离培养与菌型鉴定：按照中国防痨协会制订的《结核分枝杆菌检验细菌学检验规程》进行，用 TCH 和对硝基苯甲酸(PNB)培养基表型鉴定。

1.2.2 药物敏感实验：采用绝对浓度法药敏试验，分枝杆菌药敏罗氏培养基均为自制，配置药敏培养基所用药粉均购于美国 Sigma-Aldrich 公司，药敏罗氏培养基包括链霉素（SM，E）、异烟肼（INH，H）、利福平（RFP，R）、乙胺丁醇（EMB，E）、卡那霉素（KM，K）、氧氟沙星（OFX，K）6 种。菌悬液的制备及接种：将 2~3 周菌龄的分枝杆菌用接种环小心取出，置于含 0.5% Tween-80 的无菌试管内，研磨成乳酪状，生理盐水稀释，与麦氏比浊管比浊，配成 1mg/mL 的菌悬液，1:100 稀释，各吸取 0.1mL 分别接种于每支含药培养基的斜面上，并接种 2 支空白对照管（不含药的改良罗氏培养基）。以标准菌株 H37RV 做培养基质控。接种完毕后，置 35℃ 恒温箱内培养，4 周后观察结果。以无药对照管生长，含药高、低浓度管均不生长为敏感；含药低浓度管生长、高浓度管不生长，则中度耐药；高、低浓度管均生长为高度耐药。H37R<sub>v</sub> 株对 6 种药均敏感。

### 1.3 质量控制

病例分组按《中国结核病防治规划实施工作指南》(2008 年版)<sup>[5]</sup>定义：初治是指从未因结核病应用过抗结核药物治疗或正进行标准化疗方案规律用药而未满疗程以及不规则化疗未满 1 个月的患者。复治是指因结核不合理或不规律用抗结核药品治疗超 1 个月以及初治失败和复发的患者。

本实验研究建立了严格的室内质控制度，并接受国家结核病参比实验室的质控（QC）测试，以评价检测结果的科学性和准确性。

### 1.4 统计学处理

建立数据库，采用 SPSS 16.0 软件对实验数据进行处理分析，主要采用  $\chi^2$  检验对数据进行统计分析，以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2. 结果

2.1 培养阳性率 6535 例患者标本均经过罗氏固体培养法和菌型鉴定，其中男性患者 4388 例，女性患者

2147 例。年龄 2~96 岁，共有 1140 例培养阳性，培养阳性率为 17.44%。根据联合国卫生组织的年龄分段将患者分为 4 组，经每两两各组比较，仅中年组和老年组培养阳性率的差异存在统计学意义 ( $\chi^2=11.151$ ,  $P=0.001$ )，老年组阳性率高于中年组。在 1140 例阳性标本中，经药敏培养，有耐药病例 443 例，耐药检出率为 38.86%，不同年龄组之间耐药率差异有统计学意义 ( $\chi^2=15.370$ ,  $P=0.002$ )，其中，中年组耐药率最高，如表 1 所示。

表 1 不同年龄患者培养阳性及耐药情况

年龄分组	患者例数合计	培养阳性例数	培养阳性率 (%)	耐药例数	耐药率 (%)
童年少年组 (0~17 岁)	137	24	17.52	6	25.00
青年组 (18~40 岁)	2097	387	18.45	145	37.47
中年组 (41~65 岁)	3477	557	16.02	243	43.63
老年组 (66 岁以上)	824	172	20.87	49	28.49
合计	6535	1140	17.44	443	38.86

2.2 初治和复治患者耐药率 根据性别分类，不同性别仅培养阳性率上的差异有统计学意义 ( $\chi^2=37.754$ ,  $P=0.000$ )，男性患者阳性率更高 (19.46%)，但在耐药率和耐多药率方面，男女患者的差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。根据治疗史分类，初治患者与复治患者在阳性率、耐药率和耐多药率方面的差异均有统计学意义 (阳性率:  $\chi^2=104.960$ ,  $P=0.000$ ; 耐药率:  $\chi^2=93.844$ ,  $P=0.000$ ; 耐多药率:  $\chi^2=77.089$ ,  $P=0.000$ )，复治患者的耐药率和耐多药率明显高于初治患者。

表 2 不同影响因素中肺结核患者耐药情况

影响因素	病例数	培养阳性例数	培养阳性率 (%)	耐药株例数	耐药率 (%)	耐多药例数	耐多药率 (%)
性别	男	4388	854	19.46	328	201	23.54
	女	2147	286	13.32	115	69	24.13
患者分类	初治	4246	591	13.91	150	77	13.03
	复治	2289	549	23.98	293	193	35.15
合计	6535	1140	17.44	443	38.86	270	23.68

2.3 患者对六种常用药物的单药耐药率 患者对 INH、RFP、SM、EMB、KM、OFX 的单药耐药率分别为 28.42%、28.50%、21.58%、3.16%、2.81%、12.28%，除了 OFX 高低水平耐药率差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ) 外，其余 5 种药物高低水平耐药率差异均有统计学意义 (INH:  $\chi^2=78.803$ ,  $P=0.000$ ; RFP:  $\chi^2=279.300$ ,  $P=0.000$ ; SM:  $\chi^2=81.820$ ,  $P=0.000$ ; EMB:  $\chi^2=5.532$ ,  $P=0.019$ ; KM:  $\chi^2=18.256$ ,  $P=0.000$ )。INH 和 EMB 的低水平耐药率高于高水平耐药率，RFP、SM 和 KM 则相反，高水平耐药率明显高于低水平耐药率。在不同性别比较时，仅利福平和链霉素的差异有统计学意义 (RFP:  $\chi^2=4.152$ ,  $P=0.042$ ; SM:  $\chi^2=10.257$ ,  $P=0.001$ )，女性患者的 RFP 和 SM 单药耐药率均高于男性患者 (表 3)。

表 3 1140 例培养阳性肺结核患者对 6 种常用药物的单耐药率

培养基 药物	培养基含 药浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	男 (n=854)		女 (n=286)		合计 (n=1140)		$\chi^2$ 值	P 值
		耐药数	耐药率 (%)	耐药数	耐药率 (%)	耐药数	耐药率 (%)		
INH	1	165	19.32	71	24.83	236	20.70	1.743	0.187
	10	69	8.08	19	6.64	88	7.72		
	小计	234	27.40	90	31.47	324	28.42		
RFP	50	15	1.76	8	2.80	23	2.02	4.152	0.042
	250	215	25.18	87	30.42	302	26.49		
	小计	230	26.93	95	33.22	325	28.50		
SM	10	33	3.86	23	8.04	56	4.91	10.257	0.001
	100	132	15.46	58	20.28	190	16.67		
	小计	165	19.32	81	28.32	246	21.58		
EMB	5	20	2.34	5	1.75	25	2.20	0.630	0.427
	50	9	1.05	2	0.70	11	0.96		
	小计	29	3.40	7	2.45	36	3.16		
KM	10	4	0.47	0	0	4	0.35	1.511	0.219
	100	17	1.99	11	3.85	28	2.46		
	小计	21	2.46	11	3.85	32	2.81		
OFX	2	48	5.62	23	8.04	71	6.23	2.049	0.152
	10	50	5.85	19	6.64	69	6.05		
	小计	98	11.48	42	14.69	140	12.28		

注：INH1、RFP50、SM10、EMB5、KM10、OFX2 耐药表示低水平耐药，INH10、RFP250、SM100、EMB50、KM100、OFX10 表示高水平耐药。

2.4 菌株的耐药谱 1140 株 MTB 临床分离株中有 697 株对 6 种药物全敏，占 61.14%。270 株耐多药（至少同时耐利福平和异烟肼）菌株中以异烟肼、利福平和链霉素三种药物同时耐药的患者最多，构成比达 7.63%，占 MDR-TB 的比例达 32.2% (87/270)。

表 4 1140 株结核分枝杆菌的耐药谱

分类	药敏结果						菌株数	构成比 (%)
	INH	RFP	SM	EMB	KM	OFX		
全敏感	S	S	S	S	S	S	697	61.14
耐 H+R	R	R	S	S	S	S	65	5.70
耐 H+R+S	R	R	R	S	S	S	87	7.63
耐 H+R+E	R	R	S	R	S	S	5	0.44
耐 H+R+O	R	R	S	S	S	R	22	1.93
耐 H+R+S+E	R	R	R	R	S	S	12	1.05
耐 H+R+S+O	R	R	R	S	S	R	44	3.86
耐 H+R+S+K	R	R	R	S	R	S	9	0.79
耐 H+R+E+O	R	R	S	R	S	R	3	0.26
耐 H+R+K+O	R	R	S	S	R	R	4	0.35
耐 H+R+S+E+K	R	R	R	R	R	S	1	0.09
耐 H+R+S+K+O	R	R	R	S	R	R	10	0.88
耐 H+R+S+E+O	R	R	R	R	S	R	2	0.18

耐 H+R+E+K+O	R	R	S	R	R	R	2	0.18
耐 H+R+S+E+K+O	R	R	R	R	R	R	4	0.35
其它耐药							173	15.18
合计							1140	

注：+表示联合耐药，耐药谱一栏 H 代表异烟肼、R 代表利福平、S 代表链霉素、E 代表乙胺丁醇、K 代表卡那霉素、O 代表氧氟沙星。药敏结果一栏 S 表示敏感，R 表示耐药。

### 3.讨论

我国肺结核病疫情处在较高水平，更不乐观的是耐药和耐多药结核病例有逐渐增多的趋势，给临床治疗带来了难度<sup>[6]</sup>。而耐药结核病治疗困难，传染期长、传播风险大，是导致结核病患率和病死率高居不下的主要原因之一，遏制耐药结核病的流行是当前全球结核病控制进程中迫切需要解决的问题<sup>[7]</sup>。我们通过对一年期间 6535 例肺结核病患者进行标本培养和 6 种常用抗结核药的药物敏感试验，结果显示，有 1140 例为培养阳性，培养阳性率达 17.44%，其中有 443 例耐药，即总耐药率为 38.86%。根据年龄段分组，经统计学处理仅中年组和老年组培养阳性率的差异存在统计学意义 ( $\chi^2=11.151$ ,  $P=0.001$ )，老年组阳性率更高。而不同年龄组之间耐药率差异有统计学意义 ( $\chi^2=15.370$ ,  $P=0.002$ )，其中，以中年组耐药率最高，这说明中老年人是社会结核病控制治疗工作中的重点对象。初治阳性率 13.91% (591/4246) 要远远低于复治患者的阳性率 23.98% (549/2289) 初治患者与复治患者在阳性率的差异有统计学意义 ( $\chi^2=104.960$ ,  $P=0.000$ )。尽管男性患者的阳性率 (19.46%) 要高于女性患者 (13.32%)，但两者的耐药率和耐多药率均无统计学差异 (耐药率:  $\chi^2=0.293$ ,  $P=0.588$ ,  $P>0.05$ ; 耐多药率:  $\chi^2=0.041$ ,  $P=0.839$ ,  $P>0.05$ ) 这说明相耐药率和耐多药率与性别无关。RFP、INH 和 SM 是单药耐药率最高的前三名，分别为 28.50%、28.42%和 21.58%，而二线药物 OFX 的耐单药率达到 12.28%。单耐药的顺位为 R>H>S>O>E>K，相比于本医院 2003 年—2007 年<sup>[8-9]</sup>的单耐药情况 (RFP: 7.3%; INH: 3%; SM: 1.4%; OFX: 2.2%) 均有上升趋势，但耐多药率却有所下降，其中原因有待进一步研究。在单药耐药方面，除了 OFX 高低水平耐药率差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ) 外，其余 5 种药物高低水平耐药率差异均有统计学意义 (INH:  $\chi^2=78.803$ ,  $P=0.000$ ; RFP:  $\chi^2=279.300$ ,  $P=0.000$ ; SM:  $\chi^2=81.820$ ,  $P=0.000$ ; EMB:  $\chi^2=5.532$ ,  $P=0.019$ ; KM:  $\chi^2=18.256$ ,  $P=0.000$ )。但结果显示，INH 和 EMB 的低水平耐药率高于高水平耐药率，RFP、SM 和 KM 则相反，高水平耐药率明显高于低水平耐药率。这说明 INH 和 EMB 的高浓度可以在临床治疗方面有很好的治疗效果和研究意义。

本实验结果中，1140 例培阳患者中有 270 例耐多药患者，耐多药率为 23.7%(270/1140)。比较而言，湖南省胸科医院 2013—2014 年的耐多药率明显高于全国水平，2007 年全国结核病耐药性基线调查报告我国结核分枝杆菌的总耐药率为 37.8%，耐多药率为 8.3%<sup>[10]</sup>；2010 年全国第 5 次结核病流行病学调查结果显示，结核分枝杆菌的总耐药率及耐多药率分别为 36.8%和 6.8%<sup>[11]</sup>。我们在研究中发现复治患者耐药率

53.37% (293/549) 和耐多药率 35.15% (193/549) 均高于初治耐药患者耐药率 25.38% (150/591) 和耐多药率 13.03% (77/591), 初治患者与复治患者在耐药率和耐多药率方面的差异均有统计学意义 (耐药率:  $\chi^2=93.84$ ,  $P=0.000$ ; 耐多药率:  $\chi^2=77.09$ ,  $P=0.000$ )。这表明耐抗结核药物使用不当造成的耐药仍是目前耐药率高的的重要因素。梅建等人<sup>[12]</sup>的研究认为也要重视原发性耐药, 控制原发性耐药就能有效控制结核病传染源, 减少耐药结核病产生。而获得性耐药在总耐药率、耐多药率方面均要高于原发性耐药, 这与结核分枝杆菌耐药机制有一定关系, 由于抗结核药物作用的靶标细菌 DNA 发生基因突变, 对药物产生耐受作用, 在药物的筛选下敏感菌株被杀死, 而耐药突变菌株不断增殖, 抗结核药物使用不当是导致其产生的主要原因<sup>[13]</sup>。由此可见, 获得性耐药是 MDR-TB 流行与传播的主要方式, 然而受限于本研究中样本量相对较少, 对更大样本的耐多药菌株的耐药率分析将有助于证实上述推论。本研究还发现, 在耐多药模式中, 以同时耐利福平、异烟肼和链霉素模式最多, 占 1140 例药敏试验构成比达 7.63%, 占 MDR-TB 的比例达 32.2% (87/270), 这可能与临床治疗过程中, 一线结核药物的组合有关。耐药率高低通常反映一个地区耐多药结核病诊断能力状况, 可作为抗结核药物化疗效果评价, 也能为临床治疗中制定抗结核化疗方案提供重要参考依据<sup>[14]</sup>。而耐多药结核分枝杆菌菌株对二线抗结核药物的耐药性逐渐增高, 会对结核病控制和耐多药结核病控制带来严峻的挑战, 对耐多药结核病患者的早期发现, 特别是对患者标本中分离的菌株进行准确的传统药物敏感性试验的结果将成为指导患者用药的重要依据。

#### 参考文献:

- [1] World Health Organization. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response [R]. Geneva: WHO, 2010.
- [2] Yu CC, Chang CY, Liu CE, et al. Drug resistance pattern of Mycobacterium tuberculosis complex at a medical center in central Taiwan [J]. Microbiol Immunol Infect, 2010, (4): 285-290.
- [3] Gumbo T. New susceptibility breakpoints for first-line antituberculosis drugs based on antimicrobial pharmacokinetic science and population pharmacokinetic variability [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(4): 1484-1491.
- [4] 许丽, 杨应周, 吴清芳, 等. 深圳市结核病一线抗结核药的耐药监测结果分析 [J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(12): 204-207.
- [5] 卫生部疾病预防控制局, 卫生部医政司, 中国疾病预防控制中心. 中国结核病防治规划实施工作指南 (2008 年版) [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 52.
- [6] 王雅宁. 荧光定量 PCR 技术检测结核杆菌临床应用分析 [J]. 实用预防医学, 2012, 19(9): 1404-1406.
- [7] Sharma SK, Mohan A. Multidrug-resistant tuberculosis [J]. Chest, 2006, 130(1): 261-272.
- [8] 谭云洪, 易松林, 梁珍. 591 株结核分枝杆菌耐药情况分析 [J]. 中国防痨杂志, 2009, 31(3): 157-159.
- [9] 谭云洪, 姚孟晖, 易松林, 等. 湖南省 2001-2006 年结核分枝杆菌耐药性分析 [J]. 中国预防医学杂志, 2008, 9(3): 193-196.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 全国结核病耐药性基线调查报告 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.

- [11] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组.2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J].中国防痨杂志, 2012,34(8):485-508.
- [12] 梅建,薛桢,沈鑫,等.原发性耐药是耐药结核病产生的重要原因[J].中华结核和呼吸杂志,2006,29(2):75-76.
- [13] 李霞,梅建,高谦.试论耐多药结核病的传播[J].中国防痨杂志,2010,32(10):676-679.
- [14] 袁正泉,陈中湘,刘湘林.岳阳市 2009-2010 年结核分枝杆菌耐药情况分析.实用预防医学,2011,18(9):1777-1778.