

# 黔北地区城、乡肺结核发病及分子流行病学特征差异比较

申旭波<sup>1</sup>, 亢玲玲<sup>2</sup>, 周远忠<sup>1</sup>, 瞿彬<sup>3</sup>, 司壮丽<sup>1</sup>

1. 遵义医学院公共卫生学院、贵州省结核病综合防治 2011 协同创新中心、遵义医学院流行病学研究所, 贵州 遵义 563000;  
2. 成都市青白江区疾病预防控制中心, 四川 成都 610000; 3. 遵义市疾病预防控制中心, 贵州 遵义 563000

**摘要:** **目的** 比较黔北地区城乡肺结核患者流行病学特征及结核分枝杆菌基因型特征的差异, 分析农村结核高发的原因。**方法** 对 2011 年 12 月-2013 年 6 月期间黔北地区某医院及某疾病预防控制中心就诊肺结核患者的人口学资料及结核相关的行为生活方式特征进行调查, 收集痰液标本并进行培养, 培养阳性的进一步采用分枝杆菌散在重复单元 (MIRU) 技术对结核分枝杆菌进行基因分型。**结果** 农村患者初中以下文化程度、家庭年均收入少于 4 000 元及肉类摄食每天不足一次者的构成比分别为 56%、67.18%、54.96%, 高于城市 (镇) 的 26.15%、50.77%、40% (均  $P < 0.05$ ); 农村患者的结核分枝杆菌基因成簇率为 19.08% (25/131), 高于城市 (镇) 的 7.69% (5/65) ( $P < 0.05$ ), 农村组基因簇群中具有流行病学关联的占 48%, 高于城镇组的 0%。**结论** 黔北地区贫穷及高近期传播仍然可能是农村肺结核高发的原因。

**关键词:** 分枝杆菌; 结核; 基因型; 分枝杆菌散在重复单元

**中图分类号:** R521 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2019)03-0321-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.03.018

最新调查显示, 我国农村结核病活动性和涂阳患病率为 569/10 万和 78/10 万, 分别高于城镇的 307/10 万和 49/10 万<sup>[1]</sup>。贵州省属于典型的欠发达地区, 城乡二元结构明显。本研究选用结核分枝杆菌散在重复单元 (mycobacterial interspersed repetitive unit, MIRU) 基因分型方法, 对来自黔北地区城市 (城镇) 和农村肺结核患者的临床分离株进行基因型鉴定、计算成簇率, 并纳入既往文献报道过的与结核发病及流行有关的人口学、行为生活方式等因素, 比较城乡患者发病差异的原因。

## 1 对象与方法

**1.1 调查对象** 选取 2011 年 12 月-2013 年 6 月就诊于黔北地区某三甲医院及某疾病预防控制中心肺结核患者 (按照 GB 15987-1995《传染性肺结核诊断标准及处理原则》<sup>[2]</sup> 诊断), 按照患者来源分农村组和城市 (城镇) 组。

## 1.2 调查内容及方法

**1.2.1 问卷调查** 采用自行设计的调查问卷, 由经统一培训后的课题组成员担任调查员; 经调查对象知情

同意后, 采用面访的方式进行问卷调查。问卷内容为文献报道过可能与结核发病有关的因素, 包括一般情况 (年龄、文化程度、人均家庭收入、性别等); 行为生活方式资料 [卡介苗 (Bacillus Calmette Guérin, BCG) 接种情况、烟酒嗜好、是否接受过结核方面教育、是否在人口密集处逗留、劳动强度、工作压力、肉类摄食情况、果蔬摄食情况、蛋类摄食情况等]。

**1.2.2 结核菌标本** 采集就诊肺结核患者的即时痰、晨间痰、夜间痰三份痰标本合并保存、培养。

**1.2.3 结核菌培养与鉴定** 菌株培养、鉴定按照中国防痨协会《结核病诊断实验室检验规程》<sup>[3]</sup> 进行。采用对硝基苯甲酸 (PNB)、噻吩二羧酸酰肼 (TCH) 初步鉴定菌型。

**1.2.4 基因型分型** 根据参考文献<sup>[4]</sup> 设计 MIRU12 个位点正反向引物序列, 由宝生物工程 (大连) 有限公司合成。根据 Kwara 等<sup>[5]</sup> 介绍的 MIRU 实验方法进行基因分型: (1) 肺结核患者痰标本进行结核分枝杆菌培养。(2) CTAB (溴代十六烷基三甲胺) 法提取结核分枝杆菌 DNA。(3) PCR 扩增: 25  $\mu$ l 反应体系 Premix  $\times$  ExT (13  $\mu$ l)、DNA 模板 (1  $\mu$ l)、ddH<sub>2</sub>O (10  $\mu$ l)、上游及下游引物 (1  $\mu$ l)<sup>[4-7]</sup>。(4) PCR 反应扩增条件: ①预变性 94  $^{\circ}$ C (5 min); ②变性 94  $^{\circ}$ C (1 min); ③退火 60  $^{\circ}$ C (1 min); ④延伸 72  $^{\circ}$ C (1 min), 25 个循环; ⑤最后延伸 72  $^{\circ}$ C (6 min)。(5) 结果检测: PCR 扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶加入 Gold view 核酸染料染色,

**基金项目:** 贵州省科技厅社会攻关项目 (黔科合 SY [2010] 3056; 黔科合 SY [2012] 3112); 贵州省结核病综合防治 2011 协同创新中心项目 (培育)

**作者简介:** 申旭波 (1977-), 女, 副教授, 研究方向: 传染病流行病学。

**通信作者:** 周远忠, E-mail: zhouyuanzhong@163.com。

用 DNA Marker 来确定相对分子量的大小。(6)重复数计算方法:各个可变数目串联重复序列(MIRU)位点的相对分子量来计算重复次数,计算公式=(PCR 扩增片段大小-侧翼序列长度)/重复序列大小=重复序列的重复次数(侧翼序列长度、重复序列大小已知)<sup>[8-9]</sup>,每个菌株的数据结果由 12 个数字表示。根据基因型是否相同,判断菌株是成簇还是独立型。

1.2.5 主要试剂与仪器 Premix×E×Taq、DNA Ladder Marker、蛋白酶、溶菌酶,均购于宝生物工程(大连)有限公司;凝胶成像仪、基因扩增仪为美国 Applied Biosystems 公司产品;水平电泳槽及电泳仪由北京日化生产。

1.3 统计学分析 数据采用 Epi Data 3.02 录入,转入 SPSS 18.0 进行统计分析。两组间率及构成比的差异比较采用 $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 调查对象人口学基本特征 本次调查共计获得 196 株结核分枝杆菌临床分离株,其中农村病例 131 例,城镇病例 65 例。农村组患者中初中以下文化程度所占比例、家庭人均年收入低于 4 000 元所占比例均显著高于城镇组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );两组在性别、年龄、是否低保、婚姻状况等方面的构成差异无统计学意义(均  $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 调查对象人口学特征

变量	乡村(n=131)		城镇(n=65)		$\chi^2$ 值	P 值
	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)		
性别						
男	74	56.49	37	56.92	0.003	0.954
女	57	43.51	28	43.08		
文化程度						
初中以下	56	42.75	17	26.15	5.118	0.024
初中及以上	75	57.25	48	73.85		
年龄(岁)						
<60	80	61.07	47	72.31	2.406	0.121
≥60	51	38.93	18	27.69		
家庭人均年收入(元)*						
<4 000	88	67.18	33	50.77	4.95	0.026
≥4 000	43	32.82	32	49.23		
是否低保						
是	15	11.45	4	6.15	1.392	0.238
否	116	88.55	61	93.85		
婚姻状况						
已婚	110	83.97	47	72.31	3.707	0.054
未婚	21	16.03	18	27.69		

注:\* 分类参考全国社会最低生活保障费标准。

2.2 结核相关的行为生活方式特征 研究结果显示,农村组患者肉类摄食每天不足一次者的比例(54.96%)显著高于城镇组(40.0%)( $P<0.05$ );而两组在 BCG 接种史、吸烟、饮酒、劳动强度、结核相关教

育、工作压力等方面构成比差异无统计学意义(均  $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 结核相关的行为生活方式特征

变量	乡村(n=131)		城镇(n=65)		$\chi^2$ 值	P 值
	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)		
BCG 接种						
有	35	26.72	19	29.23	0.137	0.711
无	96	73.28	46	70.77		
是否吸烟						
是	62	47.33	34	52.31	0.431	0.511
否	69	52.67	31	47.69		
饮酒						
是	49	37.40	27	41.54	0.313	0.576
否	82	62.60	38	58.46		
是否接受过结核方面教育						
是	57	43.51	24	36.92	0.778	0.378
否	74	56.49	41	63.08		
是否在人口密集处逗留						
有	67	51.15	37	56.92	0.582	0.445
无	64	48.85	28	43.08		
体力劳动强度 <sup>△</sup>						
Ⅱ~Ⅳ级	77	58.78	30	46.15	2.793	0.095
I 级	54	41.22	35	53.85		
自觉工作压力						
大、一般	82	62.60	39	60.00	0.124	0.725
小	49	37.40	26	40.00		
近 1 年内肉类摄食情况						
平均每天不足 1 次	72	54.96	26	40.00	3.890	0.049
每天至少 1 次	59	45.04	39	60.00		
近 1 年果蔬摄食情况						
每天 200 g 以下	111	84.73	58	89.23	0.740	0.390
每天 200 g 及以上	20	15.27	7	10.77		
近 1 年蛋类摄食情况(折合鸡蛋)						
每天不足一个	19	14.50	9	13.85	0.015	0.901
每天至少 1 个	112	85.50	56	86.15		

注:△体力劳动强度分级按照中华人民共和国 GB 3869-1977。

2.3 菌株基因成簇性及分子流行病学关联 对两组患者结核分枝杆菌分离株进行了 12 个 MIRU 位点基因分型,农村患者 131 株菌株共分为 106 个独立基因型,9 个基因簇,簇的范围为 2~5 株,最大的簇包含 5 株,有 25 株成簇菌株,成簇率为 19.08%(25/131);城镇患者 65 株菌株共分为 60 个独立基因型,2 个基因簇,簇的范围为 2~3 株,最大的簇包含 3 株,有 5 株成簇菌株,成簇率为 7.69%(5/65),两组患者菌株成簇率差异有统计学意义( $\chi^2=4.349,P=0.037$ )。

2.4 基因簇群流行病学关联性调查 农村患者 9 个基因簇群中 6 个簇群发现关联关系,编号为 1 的簇群

中 2 人为家人关系,其余未发现关联性,关联率为 8%;编号 2、3、4、9 簇群中 2 人均居住位置紧邻,关联率均为 8%;编号为 5 的簇群中 2 人为同村关系,关联率为 8%,农村患者流行病学总关联率为 48%。城镇患者 2 个基因簇群均未发现关联性。见表 3。

表 3 成簇患者分子流行病学关联情况

编号	MIRU	成簇菌株数	流行病学相关例数	关联率(%)	说明
农村					
1	223225163433	5	2	8	2 人为同一家庭
2	222225133322	2	2	8	居住位置紧邻
3	223325153322	2	2	8	居住位置紧邻
4	223325153320	2	2	8	居住位置紧邻
5	224126113322	2	2	8	同村关系
6	223325153332	2	0	0	
7	223225153433	4	0	0	
8	223225153333	4	0	0	
9	223325153333	2	2	8	2 人居住位置紧邻
合计	-	25	12	48	-
城镇					
1	223325113432	2	0	0	
2	223225153333	3	0	0	

注:关联率=流行病学相关例数/成簇菌株数总数×100%。

3 讨论

我国结核病流行表现出明显地域和城乡差异,约有 80% 的结核病人来自农村,农村地区肺结核患病率是城镇地区的 1.6 倍<sup>[6]</sup>。一般而言,城市相对拥挤,空气质量差,封闭场所多,与传染源接触甚至密切接触的几率均远高于农村,从这些因素上来看应该是城市的结核发病率高于农村。因此,如何合理解释农村结核患病率反而高于城市需要更多的证据。本课题基于黔北地区城乡肺结核发病率差异,选择来自医院及疾控中心就诊的肺结核病人,比较两组在结核发病因素上的差异,分析造成该地农村结核高发的原因。

既往大量研究表明,贫穷、蛋白质摄食不足、文化程度低、结核认知率低以及男性、未婚或离异、重体力劳动、嗜好烟酒、BCG 接种缺失等均是结核发病的重要社会因素与生物学因素<sup>[7-9]</sup>。本研究发现,该地农村患者家庭人均年收入低于 3 999 元以下者所占比例(67.18%)显著高于城市患者(50.77%),农村患者肉类摄食每天不足 1 次者的比例(54.96%)显著高于城镇组(40%),农村肺结核患者初中以下文化程度者所占比例(42.75%)显著高于城市(镇)(26.15%),而其它因素在城乡患者之间未见显著差别。据此推测,农村经济条件不佳是导致其发病率高于城市的重要原因;贫穷导致蛋白质摄食不足,贫穷导致受教育水平不高,前者可能直接减低机体的免疫力,后者则可能降低当事人对结核的主动防范能力,所以从本质上贫穷才是导致农村结核高发的根本原因。因此,治病先治贫,

大力提高农村经济、改善农村文化、生活水平,可能是降低该地农村结核发病率的根本手段。

同时,本研究结果显示,农村患者菌株成簇率为 19.08%(25/131),城镇患者为 7.69%(5/65);提示农村地区肺结核患者的近期传播率高于城镇。农村患者流行病学总关联率为 48%,但其中仅有 2 人为同一家庭,相互之间有过接触,占成簇者的 8%,其余 10 例没有直接证据证明患者间有接触,但根据其居住位置均为同村或邻村关系,认为具有潜在流行病学联系。据此推测,该地农村存在较高的结核近期传播,且主要为家庭外接触传播。可能的原因一是发现延迟:受经济条件制约,该地农村患者患病后普遍发现延迟<sup>[10]</sup>,致使其成为新的传染源而传染更多易感者;二是病人欠规范化管理:该地农村受传统思想影响,确诊的患者因担心受歧视而不愿意将病情让家人以外的人知晓,家庭内接触者因为知晓病情主动防范而有效避免感染,但因患者隐瞒病情导致家庭外接触者不能有效防范<sup>[11-12]</sup>进而导致传染发生。因此,早期发现,规范管理可能是降低农村结核的近期传播率的有效手段。

本文利用从黔北地区某医院及某疾病预防控制中心收集的结核病例,对农村与城市的病例进行发病特征的比较,从而初步揭示农村结核高发的原因。但是本文未进行抽样,基于指定医院和疾控中心收集的病例代表性不好,研究结果不能代表所有城乡人群。因此,未来需要进一步通过抽样调查,通过大样本社区人群资料进行证实。

参考文献

[1] 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[J]. 中国防痨杂志,2012,34(8):485-508.

[2] 中华人民共和国卫生部. GB15987-1995 传染性肺结核诊断标准及处理原则[S]. 北京:人民卫生出版社,1995:78-85.

[3] 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[M]. 北京:中国教育文化出版社,2006:30-96.

[4] Anthony GT,Sebastian G,Alexander SP,et al. Geno micdeletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. J Clin Microbiol,2005,43(7):3185-3191.

[5] Kwara A, Schiro R, Cowan LS,et al. Evaluation of the epidemiologic utility of secondary typing methods for differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* isolates[J]. J Clin Microbiol,2003,41(6):2683-2685.

[6] 王宇. 全国第五次结核病流行病学抽样调查资料汇编[M]. 北京:军事医学科学出版社,2011:7-50.

[7] Millet JP, Moreno A, Fina L,et al. Factors that influence current tuberculosis epidemiology[J]. Eur Spine J, 2013, 22(4):S539-S548.

[8] Narasimhan P,Wood J, MacIntyre CR, et al. Risk factors for tuberculosis[J]. Pulm Med,2013, 2013(9):828939.

[9] Kirenga BJ, Ssengooba W, Muwonge C,et al. Tuberculosis risk factors among tuberculosis patients in Kampala, Uganda: implications for tuberculosis control[J]. BMC Public Health,2015,15:13.

[10] 周远忠,申旭波,石修权,等. 黔北某市肺结核发现延迟原因及应对措施探讨[J]. 现代预防医学,2009,36(23):4462-4469.

[11] 周远忠,罗毅,申旭波,等. 经济社会因素对“涂阳肺结核病人密切接触者检查”工作的影响[J]. 遵义医学院学报,2013,36(4):83-86.

[12] 王晶,吕江华,姚丽丹,等. 2006-2015 年新疆肺结核患者发现情况分析[J]. 实用预防医学,2018,25(1):19-22.