

2014 年长沙市 155 株耐多药结核分枝杆菌耐药结果分析

喻容, 石国民, 马小华, 彭雪峰, 尤倩, 向延根, 范任华

湖南省长沙市中心医院检验科, 湖南 长沙 410006

摘要: **目的** 分析长沙耐多药结核分枝杆菌 (MDR-TB) 菌株对抗结核药物的敏感性, 为防治耐多药结核病提供科学依据。**方法** 采用绝对浓度间接法检测 2014 年长沙市 155 株耐多药结核分枝杆菌临床分离株对一二线抗结核药物的耐药性, 回顾性分析其耐药情况。**结果** 155 例耐多药结核分枝杆菌分离株对一二线抗结核药物耐药率从高到低为: 链霉素 (S) > 乙胺丁醇 (E) > 左氧氟沙星 (OFL) > 对氨基水杨酸钠 (PAS) > 丙硫异酰胺 (TH) > 卡那霉素 (K) = 吡嗪酰胺 (PZA), 耐药率依次为: 70.32%、36.13%、20.65%、12.90%、8.39%、3.87%、3.87%。耐两种药的耐药株达 46 株, 其中以链霉素与乙胺丁醇为主, 其耐药率达 29.68%; 耐三种药的耐药株达 18 株, 其中以链霉素、乙胺丁醇与左氧氟沙星为主, 其耐药率达 11.61%; 耐四种药的耐药株有 5 株, 其中以链霉素、乙胺丁醇、左氧氟沙星及丙硫异酰胺为主, 耐药率为 3.23%; 耐五种药和六种药的各有 1 株和 2 株。**结论** 2014 年长沙市 MDR-TB 对一线甚至二线抗结核药耐药严重, 为 MDR-TB 防治带来巨大挑战。

关键词: 结核分枝杆菌; 耐药性; 耐多药结核分枝杆菌; 一二线抗结核药耐药

中图分类号: R521 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2016)07-0777-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.07.003

Drug resistance of 155 strains of multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Changsha, 2014

YU Rong, SHI Guo-min, MA Xiao-hua, PENG Xue-feng, YOU Qian, XIANG Yan-gen, FAN Ren-Hua

Department of Laboratory, Changsha Central Hospital, Changsha, Hunan 410006, China

Abstract: **Objective** To analyze the sensitivity of multi-drug resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Changsha to antituberculosis drugs, so as to provide evidence for the treatment of multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB).

Methods The absolute concentration indirect method was used to test the drug resistance of 155 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* to first-line and second-line antituberculosis drugs. Their drug resistance was retrospectively analyzed. **Results**

The first-line and second-line antituberculosis drugs with drug resistance rates in descending order in the 155 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* were as follows: streptomycin, ethambutol, levofloxacin, p-aminosalicylic acid, cethionamide, amikacin and pyrazinamide. Their drug resistance rates were 70.32%, 36.13%, 20.65%, 12.90%, 8.39%, 3.87% and 3.87% in turn. 46 strains were detected to be resistant to two drugs, mainly streptomycin and ethambutol, with the drug resistance rate of 29.68%. 18 strains were resistant to three drugs, mainly streptomycin, ethambutol and levofloxacin, with the drug resistance rate of 11.61%. 5 strains were resistant to four drugs, mainly streptomycin, ethambutol, levofloxacin and cethionamide, with the drug resistance rate of 3.23%. One isolate was resistant to five drugs and two to six. **Conclusions** The resistance of multi-drug resistant tuberculosis to first-line and second-line antituberculosis drugs is serious in Changsha in 2014, which brings great challenge to the cure of multi-drug tuberculosis patients.

Key words: Tuberculosis; Drug resistance; Multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*; First-line and second-line antituberculosis drugs

目前全球结核病疫情恶化, 而我国耐多药结核分枝杆菌 (MDR-TB) 的感染是造成结核病疫情居高不下的主要原因之一^[1]。MDR-TB 是指结核病患者至少包括对异烟肼 (INH) 和利福平 (RFP) 同时耐药者^[2], 一

基金项目: 十二五重大专项课题项目 (2013ZX10005004-004)

作者简介: 喻容 (1981-), 男, 湖南常德人, 硕士, 主管技师, 研究方向: 临床微生物学检验及分子生物学检验。

线口服类、氟喹诺酮类药物和二线注射类抗结核药物是现阶段 MDR-TB 治疗方案的核心^[3], 我国不同地区的 MDR-TB 患者对一二线抗结核药物的耐药率差别较大^[4], 因此, 本文对 2014 年 1-12 月期间在湖南省长沙市中心医院培养分离出的 155 株 MDR-TB 菌株进行了一二线抗结核药物的药物敏感试验研究, 以期为本市 MDR-TB 防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 155 株 MDR-TB 菌株标本来源于 2014 年 1-12 月期间长沙市中心医院肺科医院门诊及住院结核感染患者痰标本,结核菌培养及一线药物敏感试验表现为至少同时对异烟肼 (INH) 和利福平 (RFP) 耐药者。155 例患者中,男 101 例,女 58 例,年龄 25~74 岁,平均 (48.7±7.5) 岁;MDR-TB 患者大部分为长沙市居民。

1.1.2 标准菌株和抗结核药物 人型结核分枝杆菌 (H37Rv) 由中国结核病防治临床中心国家参比实验室提供,链霉素 (S)、乙胺丁醇 (E)、左氧氟沙星 (OFL)、对氨基水杨酸钠 (PAS)、丙硫异酰胺 (TH)、卡那霉素 (K)、吡嗪酰胺 (PZA) 一/二线抗结核药粉全部购于美国 Sigma 公司。

1.1.3 试剂 MGIT960 液体培养基, MGIT 生长添加剂 (Growth supplement) 和 MGIT 杂菌抑制剂 (PANTA) 均购置于美国 BD 公司。

1.2 方法

1.2.1 培养 所有标本均经痰抗酸杆菌涂片,对痰涂片阳性的标本采用 MGIT960 培养箱进行 TB 的分离培养并进行菌型鉴定和一线药物的药物敏感性试验确定为耐多药的结核分枝杆菌株。

1.2.2 药敏试验 采用绝对浓度法,对 S、E、OFL、PAS、TH、K、PZA 进行药物敏感性测定。S、E、OFL、PAS、TH、K、PZA 按生物效价准确计算配方,制备方法按《临床技术操作规范结核病分册》^[5]。其浓度见表 1。

表 1 抗结核分枝杆菌药物浓度 (μg/ml)		
药物名称	高浓度	低浓度
链霉素 (S)	100	10
乙胺丁醇 (E)	50	5
吡嗪酰胺 (PZA)	50	30
左氧氟沙星 (OFL)	100	10
对氨基水杨酸钠 (PAS)	100	1
丙硫异酰胺 (TH)	100	25
卡那霉素 (K)	100	10

1.2.3 统计学分析 标本的检测数据结果统计采用 Microsoft Excel,药物敏感性分析使用 WHO 的 SDRTB4 结核病耐药检测软件,统计耐药率。

2 结果

2.1 总体耐药 155 株 MDR-TB 对本次所研究的一二线抗结核药总耐药率为 84.52%,全敏感率为 15.48%。

2.2 单药耐药 155 株 MDR-TB 对一二线抗结核药单药耐药非常严重,耐药率从高到低为:链霉素 (S)>乙胺丁醇 (E)>左氧氟沙星 (OFL)>对氨基水杨酸钠 (PAS)>丙硫异酰胺 (TH)>卡那霉素 (K)=吡嗪酰胺 (PZA),耐药率见表 2。

表 2 155 株 MDR-TB 对 7 种抗结核药物耐药率 (n=155)		
药物	耐药菌株 (株)	耐药率 (%)
S	109	70.32
E	56	36.13
PZA	6	3.87
OFL	32	20.65
PAS	20	12.90
TH	13	8.39
K	6	3.87

表 3 MDR-TB 对不同一二线抗结核药物组合的耐药率 (n=155)		
耐药数量	耐药菌株 (株)	耐药率 (%)
2 种 ^a	46	29.68
3 种 ^b	18	11.61
4 种 ^c	5	3.23
5 种 ^d	1	0.65
6 种 ^e	2	1.29

注: a. S+E: 22 株, S+OFL: 8 株, S+PAS: 4 株, S+TH、E+OFL: 各 3 株, S+K: 2 株, PAS+OFL、E+PZA、E+PAS、S+PZA: 各 1 株。 b. S+E+OFL: 10 株, S+E+PAS、S+E+PZA: 各 2 株, S+PAS+OFL、S+E+TH、PAS+E+TH、S+K+OFL: 各 1 株。 c. S+E+TH+OFL、S+E+PZA+OFL、S+E+PAS+TH、S+E+PAS+OFL、PAS+E+K+TH: 各 1 株。 d. S+E+TH+OFL+PAS: 1 株。 e. S+E+TH+OFL+PAS+K、S+E+TH+OFL+PAS+PZA: 各 1 株。

2.3 交叉耐药 155 株 MDR-TB 对不同一二线抗结核药物组合的药物敏感试验结果表明 MDR-TB 对不同二线抗结核药物组合及不同数量二线抗结核药物组合的耐药率有不同。耐两种药的耐药株达 46 株,其中以链霉素与乙胺丁醇为主,其耐药率达 29.68%;耐三种药的耐药株达 18 株,其中以链霉素、乙胺丁醇与左氧氟沙星为主,其耐药率达 11.61%;耐四种药的耐药株有 5 株,其中以链霉素、乙胺丁醇、左氧氟沙星及丙

硫异酰胺为主,耐药率为 3.23%。耐五种药和六种药的各有 1 株和 2 株。见表 3。

3 讨论

目前全球 MDR-TB 疫情严重,病死率高,2014 年全球结核病报告公布的数据显示,全球 MDR-TB 总体病死率高达 52%^[6]。WHO 资料显示中国现有的耐药结核病患者数占全球 20% 左右,2007-2008 年全国结核病耐药基线调查显示:我国肺结核患者耐多药率为 8.32%,广泛耐药率为 0.68%^[7],耐药状况比较严重,结核病的控制面临着巨大挑战。因此了解长沙市 MDR-TB 的耐情药况尤为重要,可为当地 MDR-TB 防治提供科学依据。

本研究结果显示,本市 MDR-TB 对一二线抗结核药耐药情况严重,155 株 MDR-TB 对本次研究的一二线抗结核药的总耐药率高达 84.52%,而全敏感率仅占 15.48%。在单药耐药方面,MDR-TB 对一线抗结核药链霉素耐药率达 70.32%,对乙胺丁醇耐药率达 36.13%,可能由于患者多为复治患者,已使用过一线抗结核药有关。MDR-TB 对临床常用二线抗结核药敏试验中,左氧氟沙星耐药率最高,为 20.65%,可能与左氧氟沙星应用于其他感染疾病的治疗及过度使用抗生素等有关,其次为对氨基水杨酸耐药率为 12.90%,可能与临床医生在一些治疗效果欠佳的初治肺结核患者中应用力克肺疾(异烟肼+对氨基水杨酸)有关。在交叉耐药方面,首先,研究显示交叉耐药率与药物组合及药物数量有关,对两种药物组合耐药率最高,为 29.68%,其中 S+E 最高,占 14.19%,对三种药物组合耐药率 11.61%,S+E+OFL 最高,占 6.45%;在交叉耐药药物组合中出现频率高通过本研究显示,无论是单药耐药还是交叉耐药,本市 MDR-TB 已对一二线抗结核药耐药严重,而二线抗结核药物被认为是治疗 MDR-TB 的最后一道防线,一旦 MDR-TB 治疗失败,则极易导致泛耐药结核病(XDR-TB)的出现,结核病可能成为可怕的不治之症^[8],XDR-TB 即经体外试验证实结核分枝杆菌除同时对异烟肼、利福平及全部氟喹诺酮类药物耐药外,还对至少 1 种二线抗结核静脉制剂(卷曲霉素、卡那霉素和阿米卡星)耐药^[9]。据相关文献报道,初治患者对二线抗结核药总耐药率低

于复治患者,全敏感率高于复治患者($P<0.05$)^[9],而在一般情况下,结核分枝杆菌耐药突变株自然变异率低,MDR-TB 的产生主要是由于不规律治疗、不合理用药等因素所致^[10],因此,临床应加强实施督导短程化疗(DOTS)策略,使初治涂阳患者在良好的管理下达到高治愈率,另一方面应加强对 MDR-TB 的及时发现并给予综合治疗以阻止其传播。

综上所述,本市来自涂阳肺结核患者的 MDR-TB 对一线抗结核药物的耐药状况非常严重,已没有临床治疗效果,另外,MDR-TB 对二线抗结核药耐药也相当严重,必须引起临床高度重视。目前,在耐多药结核分枝杆菌耐药机制不太明确的情况下,基因突变与耐药的关系尚未完全明确的情况下^[11],建议经验性治疗 MDR-TB 应结合本市耐药监测资料,根据药敏试验结果再制订个体化抗痨方案,防止 XDR-TB 产生。

参考文献

- [1] 李仁龙,林琳.100 株结核分枝杆菌耐药情况分析[J].中国实用医药,2007,2(33):88-89.
- [2] Chiang CY, Yew WW. Multidrug-resistant and extensively drug resistant tuberculosis [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2009,13(3):304-311.
- [3] 谭耀驹,胡族琼,蔡杏珊,等. MDR-TB 诊断试剂盒鉴定广东结核分枝杆菌复合群及 RIF 和 INH 药敏效果分析[J]. 热带医学杂志, 2011,11(7):759-761.
- [4] Wright A, Bai G, Barrera L, et al. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs worldwide, 2000-2004[R]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2006,55:301-305.
- [5] 赵冰,宋媛媛,逢宇,等. 中国耐多药结核分枝杆菌二线抗结核药物敏感性分析[J]. 中国防痨杂志,2013,35(10):831-833.
- [6] Zumla A, George A, Sharma V, et al. The WHO 2014 global tuberculosis report-further to go[J]. Lancet Glob Health, 2015,3(1):e10-e12.
- [7] 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)[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:2-3.
- [8] Marahatta SB. Multi-drug resistant tuberculosis burden and risk factors: an update [J]. Kathmandu Univ Med J(KUMJ), 2010,8(29):116-125.
- [9] 李占英. 耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药单药应用和交叉方案的耐药性研究[J]. 热带医学杂志,2015,15(1):81-83.
- [10] WHO. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis[M]. Geneva: WHO, 2006:361.
- [11] 邓叶华,向延根,马小华,等. 结核分枝杆菌耐利福平和异烟肼分子机制的研究进展[J]. 实用预防医学,2015,22(9):1148-1151.

收稿日期:2015-11-19