

惠州市耐药结核病筛查结果分析

李晓芬 韩珍 柯晓明

【作者单位】516001 广东省惠州市结核病防治研究所防治科（李晓芬），实验室（韩珍），惠州市疾病预防控制中心（柯晓明）

【第一作者】李晓芬，女，1981年12月2日，广东药学院预防医学专业本科毕业、疾病控制主管医师、研究方向是结核病防治、13422929967。

【通讯作者】李晓芬，疾病控制主管医师、244062218@qq.com。

【基金项目】中国全球基金结核病项目（CHN-S10-G14-T）
2013年惠州市科技计划项目（医疗卫生），项目编号2013Y107

摘要 目的 了解惠州市肺结核患者的耐药筛查以及耐药情况。**方法** 对2009年至2014年6月全球基金结核病防治项目实施期间全市涂阳肺结核患者的耐药检测结果进行分析。**结果** （1）全市登记涂阳患者耐药筛查率21.66%。其中初治涂阳患者筛查率18.80%；复治涂阳患者筛查率41.56%。（2）涂阳患者耐药率46.63%、耐多药率16.34%。初、复治涂阳患者耐药率38.37%、71.30%和耐多药率7.96%、41.36%。初、复治涂阳患者耐药率、耐多药的差异有统计学意义（ $\chi^2=105.75$, $P<0.01$ 和 $\chi^2=197.95$, $P<0.01$ ）。（3）对4种一线抗结核药物的耐药顺位（耐药率）由高至低是S（32.0%）、H（25.49%）、R（21.02%）和E（15.29%），耐多药以耐4种药物的最多（8.39%），其次是耐HR（3.14%）、耐HRE（2.35%）以及耐HRS（2.27%）。**结论** 惠州市结核病患者耐药筛查率较低，对1291例菌株的耐药分析显示耐药率、耐多药率偏高。今后应继续加大耐药结核病筛查力度、加强结核病实验质量控制，提高全市耐药结核病防治效果。

关键词: 结核；耐药筛查；分枝杆菌；耐药

Analysis on the screening results of drug-resistant tuberculosis in Huizhou City

LI Xiao-fen, HAN Zhen, KE Xiao-ming

Anti-tuberculosis Institute of Huizhou City, Huizhou, Guangdong 510610, China

Abstract: Objective To explore the screening results of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Huizhou City. **Methods** The drug-resistant data of pulmonary tuberculosis cases enrolled in the Global Fund Project from 2009 to 2014 in Huizhou City were analyzed. **Results** The overall drug resistance screening rate of the smear-positive pulmonary tuberculosis patients in Huizhou City was 21.66%, with 18.80% for new patients and 41.56% for retreatment patients. The overall drug-resistant rates and the multidrug-resistant rates of the smear-positive pulmonary tuberculosis patients were 46.63% and 16.34% respectively. Statistical difference could be found between new patients and retreatment patients not only in drug resistant rate (38.37% vs. 71.30%, $\chi^2=105.75$, $P<0.01$), but also in multidrug resistant rate (7.96% vs. 41.36%, $\chi^2=197.95$, $P<0.01$). The drug-resistant spectrum in descending sequence was streptomycin (S, 32.0%), isoniazide (H, 25.49%), rifampicin (R, 21.02%) and ethambutol (E, 15.29%). The multidrug-resistant spectrum in descending sequence was HRES (8.39%), HR (3.14%), HRE (2.35%) and HRS (2.27%). **Conclusions** The resistance screening rate of the smear-positive pulmonary tuberculosis patients in Huizhou City is low. The overall drug-resistant rate and multidrug-resistant rate are relatively high in the 1,291 cases. Improving the drug resistant screening and intensifying the quality control of tuberculosis laboratory are strongly recommended to facilitate tuberculosis control in Huizhou City.

Key words: Pulmonary tuberculosis; Mycobacterium tuberculosis; Drug resistance; Screening

结核病是严重危害人类健康和生命安全的疾病，自 20 世纪 90 年代以来，全球结核病疫情回升，其中耐多药结核病是疫情回升的主要原因之一。耐药结核，特别是耐多药、广泛耐药由于治疗费用高、治疗难度大等原因，成为目前结核病防治工作面临的重大挑战之一。近年来，惠州市年均登记治疗的活动性肺结核患者约 4000 例。根据全省结核病耐药性基线调查结果计算，全市约有耐药患者 656 例、耐多药患者 196 例、广泛耐药 56 例。为了解惠州市肺结核患者抗结核药物的耐药情况，现对全市 2009 年至 2014 年送检的涂阳肺结核患者的抗结核药物耐药情况分析如下：

资料和方法

1 资料来源 2009 年至 2014 年全市送检的涂阳肺结核患者的痰结核杆菌培养和抗结核药物敏感性试验结果。

2 实验室方法

2.1 线性探针法 (Hain) 快速耐药检测

通过对痰标本前处理、痰标本 DNA 提取、菌株 DNA 提取、PCR 扩增、杂交和结果判读等步骤对通过检测 *rpoB* 基因、*katG* 基因和 *inhA* 基因的最常见突变检测对利福平、异烟肼的抗药性。

2.2 分枝杆菌分离培养 (改良罗氏培养法) 以及药物敏感性测定 (比例法)。

培养物经涂片染色确定为抗酸杆菌后，即可进行菌种初步鉴定，以区别结核分枝杆菌复合群 (结核分支杆菌和牛分支杆菌) 和非结核分枝杆菌。采用改良罗氏培养基进行分枝杆菌药物敏感性测定 (比例法)，含 4 种药物：异烟肼 (isoniazide, H)、利福平 (rifampicin, R)、乙胺丁醇 (ethambutol, E)、链霉素 (streptomycin, S)。

3. 分析方法 采用 Excel2003、SPSS19.0 等方法对数据进行分析，以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

4. 相关定义

单耐药 (monoresistance)：结核杆菌对一种抗结核药物耐药。

多耐药 (polyresistance)：结核杆菌对不包括同时耐异烟肼、利福平在内的一种以上的抗结核药物耐药。

耐多药 (Multidrug resistance, MDR)：结核杆菌至少对异烟肼、利福平耐药。

任一耐药：结核病患者感染的结核分枝杆菌在体外被证实对任何 1 种 (1 种或 2 种以上) 抗结核药物耐药。

结果

1. 耐药筛查情况

2009 年至 2014 年 6 月全市登记涂阳肺结核患者 8680 例，其中登记进行耐药筛查 1880 例，筛查率 21.66%。其中初治涂阳患者登记 7590 例，筛查 1427 例，筛查率

18.80%；复治涂阳患者登记 1090 例，筛查 453 例，筛查率 41.56%（见表 1）。

表 1 惠州市涂阳肺结核患者耐药筛查情况

时间	初治涂阳			复治涂阳			小计		
	登记例数	筛查例数	筛查率	登记例数	筛查例数	筛查率	登记例数	筛查例数	筛查率
2009 年	1466	14	0.95%	256	38	14.84%	1722	52	3.02%
2010 年	1433	30	2.09%	232	58	25.00%	1665	88	5.29%
2011 年	1394	300	21.52%	246	109	44.31%	1640	409	24.94%
2012 年	1368	418	30.56%	189	141	74.60%	1557	559	35.90%
2013 年	1339	463	34.58%	99	79	79.80%	1438	542	37.69%
2014 年 1-6 月	590	202	34.24%	68	28	41.18%	658	230	34.95%
合计	7590	1427	18.80%	1090	453	41.56%	8680	1880	21.66%

2. 培养和药敏情况

进行耐药筛查的 1880 例患者中，16 例进行快速耐药检测筛查，1864 例进行传统培养和药敏试验。进行传统培养的 1864 例中，污染 71 例，污染率 3.81%；培阴 518 例，培阴率 27.79%；培阳 1275 例，培阳率 68.40%（见表 2）。

表 2 惠州市涂阳肺结核患者耐药检测情况

分类	快速检测	传统							小计
		培养	污染	污染率	培阴	培阴率	培阳	培阳率	
初治涂阳	6	1421	52	3.66%	408	28.71%	961	67.63%	1427
复治涂阳	10	443	19	4.29%	110	24.83%	314	70.88%	453
合计	16	1864	71	3.81%	518	27.79%	1275	68.40%	1880

3. 耐药情况

3.1 耐药率

进行耐药筛查的 1291 例患者中，耐 1 种或 1 种以上药物的 602 例，耐药率 46.63%；耐多药 211 例，耐多药率 16.34%。其中初治涂阳 967 例，耐药 371 例、耐药率 38.37%，耐多药 77 例、耐多药率 7.96%；复治涂阳 324 例，耐药 231 例、耐药率 71.30%，耐多药 134 例，耐多药率 41.36%。初、复治涂阳患者耐药率、耐多药的差异有统计学意义（ $\chi^2=105.75$, $P<0.01$ 和 $\chi^2=197.95$, $P<0.01$ ），见表 3。

表 3 惠州市初复治涂阳患者耐药情况

县区	初治涂阳					复治涂阳					小计				
	例数	耐药例数	耐药率	耐多药例数	耐多药率	例数	耐药例数	耐药率	耐多药例数	耐多药率	例数	耐药例数	耐药率	耐多药例数	耐多药率
惠城区	264	101	38.26%	17	6.44%	179	142	79.33%	99	55.31%	443	243	54.85%	116	26.19%
惠阳区	155	48	30.97%	7	4.52%	31	19	61.29%	5	16.13%	186	67	36.02%	12	6.45%
博罗县	203	84	41.38%	21	10.34%	34	22	64.71%	9	26.47%	237	106	44.73%	30	12.66%
惠东县	284	123	43.31%	24	8.45%	66	40	60.61%	15	22.73%	350	163	46.57%	39	11.14%
龙门县	61	15	24.59%	8	13.11%	14	8	57.14%	6	42.86%	75	23	30.67%	14	18.67%
合计	967	371	38.37%	77	7.96%	324	231	71.30%	134	41.36%	1291	602	46.63%	211	16.34%

3.2 对一线抗结核药物的耐药情况

3.2.1 16 例快速耐药检测的患者，初治涂阳 6 例，复治涂阳 10 例。初治涂阳 H 敏感 R 敏感、H 耐药 R 敏感各占 3 例；复治涂阳 H 耐药 R 耐药最多，有 5 例，H 耐药 R 敏感、H 敏感 R 耐药各有 2 例以及 H 敏感 R 敏感 1 例，见表 4。

表 4 16 例快速检测患者的耐药情况

分类	快速耐药检测				小计
	H 敏感 R 敏感	H 敏感 R 耐药	H 耐药 R 敏感	H 耐药 R 耐药	
初治涂阳	3	0	3	0	6
复治涂阳	1	2	2	5	10
合计	4	2	5	5	16

3.2.2 传统培养和药敏试验的 1275 例涂阳患者对 4 种抗结核药物的任一耐药有 590 例，总耐药率为 46.27%，由高至低依次是 S（32.0%）、H（25.49%）、R（21.02%）和 E（15.29%），但初、复治患者的耐药顺位和耐药率不同：初治涂阳患者耐药率由高至低是 S（27.78%）、H（16.65%）、R（12.59%）和 E（9.37%）；复治涂阳患者则是 H（52.55%）、R（46.82%）、S（44.90%）和 E（33.44%）。耐多药患者 206 例，耐多药率为 16.16%，耐多药以耐 4 种药物的最多（8.39%），其次分别是耐 HR（3.14%）、耐 HRE（2.35%）以及耐 HRS（2.27%）。初治涂阳耐多药 77 例、耐多药率 5.42%，耐药顺位和耐药率依次是耐 4 种药物（3.95%）、耐 HRE（1.46%）、耐 HRS（1.35%）以及耐 HR（1.25%）；复治涂阳耐多药 129 例、耐多药率 41.08%，耐药顺位和耐药率依次是耐 4 种药物（21.97%）、耐 HR（8.92%）、耐 HRE（5.10%）以及耐 HRS（5.10%），见表 5。

表 5 1275 例涂阳患者的耐药谱

耐药情况	新患者		复治		合计	
	耐药例数	耐药率	耐药例数	耐药率	耐药例数	耐药率
耐≥1 种药物	368	38.29	222	70.70	590	46.27
任意耐 H	160	16.65	165	52.55	325	25.49
任意耐 R	121	12.59	147	46.82	268	21.02
任意耐 E	90	9.37	105	33.44	195	15.29
任意耐 S	267	27.78	141	44.90	408	32.00
单耐药	215	22.37	63	20.06	278	21.80
耐 H	35	3.64	19	6.05	54	4.24
耐 R	23	2.39	8	2.55	31	2.43
耐 E	7	0.73	7	2.23	14	1.10
耐 S	150	15.61	29	9.24	179	14.04
耐 2 种药物	74	7.70	51	16.24	125	9.80
耐 HR	12	1.25	28	8.92	40	3.14

耐 HE	7	0.73	2	0.64	9	0.71
耐 HS	29	3.02	10	3.18	39	3.06
耐 RE	3	0.31	1	0.32	4	0.31
耐 RS	16	1.66	7	2.23	23	1.80
耐 ES	7	0.73	3	0.96	10	0.78
耐 3 种药物	41	4.27	39	12.42	80	6.27
耐 HRE	14	1.46	16	5.10	30	2.35
耐 HES	12	1.25	5	1.59	17	1.33
耐 HRS	13	1.35	16	5.10	29	2.27
耐 RES	2	0.21	2	0.64	4	0.31
耐 4 种药物	38	3.95	69	21.97	107	8.39
耐多药	77	8.01	129	41.08	206	16.16

讨论

2009 年至 2014 年 6 月全球基金项目实施期间，全市登记涂阳患者 8680 例、耐药筛查 1880 例，耐药筛查率 21.66%。其中初治涂阳患者登记 7590 例、筛查 1427 例，筛查率 18.80%；复治涂阳患者登记 1090 例、筛查 453 例，筛查率 41.56%。造成涂阳患者的耐药筛查率低的原因包括：1、2013 年以前县区未开展痰培养工作，痰标本需冰箱保存并专人专车送上级单位进行检测，受到留痰困难、冷藏保存、运输周期长、结果反馈历时长、确诊患者追踪难等因素影响导致送检率不高；2、项目实施期间经历项目暂停、整合，影响了筛查工作的开展。目前，我国大部分登记涂阳患者的痰标本均未常规开展培养和药敏检测，许多耐药患者未能及时发现，从治疗开始就已经处在治疗转归不佳的风险之中。[1]因此，提高患者的耐药筛查率，根据药敏试验结果调整临床治疗方案，是保证治疗效果重要措施，也是全球基金项目结束后全市结核病防治工作面临的有待解决的问题。

2009 至 2014 年 6 月全市进行传统培养的 1864 例中，培阳 1275 例，培阳率 68.40%，培阳率偏低，影响因素包括 1、由于第一次阳性痰标本没采用螺旋盖痰盒，县区通常留取涂阳患者第二次痰标本送检，导致涂片阳性标本与培养标本不一致；2 培养受第二次留取痰标本质量、抗结核治疗的影响；3、部分痰样因保存时间长、运输过程翻侧倒置等原因造成干涸、污染，无法完成检测；4、县区开展痰培养初期由于操作技术不成熟造成一部分标本培养失败。2013 年下半年县区开展痰培养后，培阳率已得到提高，但还应继续加强结核病实验室质量控制，保证检验工作的质量。

1291 例患者耐药筛查结果显示总耐药率 46.63%，耐多药率 16.34%，高于全国结核病耐药性基线调查报告[2]结果（耐药率 37.79%，耐多药率 8.32%）以及全国第五次结核病流行病学抽样调查资料汇编[3]结果（耐药率 36.8%，耐多药率 6.8%），这与培养患者的入选条件有关，由于痰标本留取困难、送检麻烦、检测时间长、确诊患者追踪难、纳入项目治

疗周期长等原因,造成临床医生倾向于送检治疗效果不佳、慢性排菌者或者高度怀疑耐药、耐多药以及依从性好、容易沟通的患者的痰标本,导致耐药率和耐多药率的偏高。从耐药顺位上看,不管初治还是复治,S和H两种药的耐药率都排在前列,这和孟凡亮等[4]的研究结果一致,可能与20世纪80年代中期以前,肺结核患者化疗方案主要以S和H为主有关。

综上所述,深入开展结核病耐药性的长期监测既是结核病控制工作的一项重要内容,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[5]。结合全市耐药筛查率低、耐药率高等实际情况,下一步应继续提高全市结核病实验室的检测水平,建立抗结核药物筛查体系,开展本地区耐药菌株的监测,根据药敏结果有针对性、分层次分别制定个体化治疗方案,提高治疗效果、减少耐药结核的产生和传播,有效控制结核病的流行[6]。

参考文献

- [1]尹建军,陈亮,许桌卫,等.广东省近10年抗结核药物耐药谱的发展变化分析.中国防痨杂志.2011,33(11):718-721.
- [2]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.
- [3]王宇.全国第五次结核病流行病学调查资料汇编.北京:军事医学科学出版社.2011.
- [4]孟凡亮,刘庆福,李建之,等.泰安市结核病防治院2011年痰培养阳性肺结核就诊患者的耐药状况分析.中国防痨杂志.2012,34(11):736-739.
- [5]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.
- [6]谢运娥,萧瑞球.结核患者对健康教育需求的调查与分析[J].临床肺科杂志,2007.12(5):502.