

结核分枝杆菌 486 株耐药特征及变化趋势分析

郑文颖, 史丹丹, 王玉邦, 林子帆

【关键词】 结核病; 结核分枝杆菌; 耐药特征

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.10.022

【中图分类号】 R52 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)10-1342-04

耐药结核病是结核病防控的一个难点,其是指对一种或一种以上的抗结核药物产生了耐药性,如对结核病治疗一线药物中两个最有效药物(异烟肼和利福平)同时耐药,称为耐多药结核病(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)。2018年以来,MDR-TB以及广泛耐药结核病(extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB)成为结核病预防控制的关键难题^[1-2]。2022年,我国结核病新发患者数约为74.8万,其中MDR-TB/利福平耐药结核病(rifampicin-resistant tuberculosis, RR-TB)患者约为3万人^[1]。近年来,象山县第一人民医院医疗健康集团共分离结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)486株,本研究拟探讨其耐药特征及变化趋势,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2018年9月至2023年9月象山县第一人民医院医疗健康集团(宁波市结核病定点医院)收治的疑似结核病患者(包括初治和复治)5496例,患者标本先由全自动分枝杆菌培养监测仪BACTEC MGIT 320进行分离培养,报告阳性后进行初步菌型鉴定,排除非结核分枝杆菌386份,污染123份,阴性4352份,再排除重复158份,纳入研究阳性菌株共486株。本研究获得象山县第一人民医院医疗健康集团伦理委员会批准,豁免/免除知情同意。

1.2 相关定义 初治是指有下列情况之一:(1)从未因结核病应用过抗结核药物,(2)正在进行标准化治疗方案规则用药而未满疗程,(3)不规则化疗未1个月。

复治是指有下列情况之一:(1)因结核病不合理或不规则用抗结核药物治疗 ≥ 1 个月,(2)初治失败和复发患者。单耐药MTB:仅对1种一线抗结核药物耐药。任一耐药MTB:对任何1种及以上抗结核药物耐药。多耐药MTB:对1种以上的一线抗结核药物耐药,但不包括同时对异烟肼和利福平耐药。耐多药MTB:对包括利福平、异烟肼同时在内的至少2种以上的一线抗结核药物耐药^[3-4]。

1.3 方法

1.3.1 仪器与试剂 BACTEC MGIT 320系统、BBL MGIT Supplement Kit添加剂、BBL MGIT分枝杆菌生长指示培养管(7ml)、BACTEC MGIT 320 SIRE Kit药敏试剂(美国Becton, Dickinson and Company)^[5]。MTB抗原MPB 64检测试剂盒(胶体金法)(杭州创新生物检控技术有限公司)。

1.3.2 检测方法 按照BACTEC MGIT 320系统标准操作规程,采用碱消化方法,NaCl+2%NaOH前处理液对标本进行处理,接种0.5ml处理后的标本至BBL MGIT培养管中,置于MGIT 320培养仪培养,报告阳性后取出,采用MTB抗原MPB64胶体金法检测菌株抗原,同时抗酸染色镜检,从而进行初步鉴定。药敏试验则严格按照BACTEC MGIT 320系统标准操作规程,采用美国临床实验室标准化委员会(national committee for clinical laboratory standards, NCCLS)推荐的比例法(method of proportion, MOP),分别对链霉素(S)、异烟肼(I)、利福平(R)及乙胺丁醇(E)4种一线抗结核药物进行药物敏感性实验,药敏试验判断临界度为1%,操作后每支药敏管内含100 μ l药物、800 μ l SIRE营养添加剂及500 μ l液体培养菌液,4~13d后仪器读取^[6]。

作者单位: 315700 宁波, 象山县第一人民医院医疗健康集团

通信作者: 郑文颖, Email: wenyng810426@126.com

1.4 质量控制 药敏试验质控菌株为 H37Rv, 来源于中国疾病预防控制中心, 实验室每年室内质控均合格。

1.5 数据方法 数据录入 Excel 2013 软件, 建立并整理数据库, 使用 SPSS 25.0 统计软件分析, 率的比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 2018—2023 年各年度分离 MTB 株为 13、87、136、84、82 及 84 株。486 例 MTB 患者, 大多为初治患者; 男女性别比为 3.05 : 1; 以 20 ~ 59 岁青壮年以及 60 岁以上老年人为主; 农民和农民工人群占 82.5%, 见表 1。

2.2 4 种一线药物耐药情况 486 株 MTB 4 种一线药物全敏感 388 株 (79.8%), 总耐药率 (任一耐药率) 20.2%, 任一耐药率由高到低分别是 I (15.4%)、S (13.0%)、R (5.3%) 及 E (3.2%); 单耐药率 8.4%, 多耐药率 7.0%, 耐多药率 4.7%。其中任一耐药中耐 I、耐 S、耐 R 和耐多药在初治患者和复治患者中差异均有统计学意义 ($\chi^2 \geq 4.33$, 均 $P < 0.05$), 见表 2。

2.3 耐药谱特征分析 共有 11 种耐药谱, 其中耐药谱系占比较高的有 S+I (30.6%)、S+I+R (18.4%)、I (18.4%) 及 S (12.2%), 见表 3。2018—2023 年单耐药、耐多药和多耐药病例分布情况见图 6。

2.4 不同分组总耐药和耐多药情况比较 初治和复治患者总耐药率及耐多药率差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 不同年龄及户籍分组耐多药率差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 见表 4。

3 讨论

本研究结果显示, 分离出的 486 株 MTB 总耐药率 20.2%, 低于浙江省的 30.88%^[7] 和宁波市的 35.17%^[8], 高于宁海县 17.36%^[9], 与北仑区 20.1%^[10] 接近; 耐多药率 4.7%, 低于浙江省 5.02%^[7] 和宁波市 13.93%^[8], 低于宁海县 6.39%^[9] 和北仑区 7.4%^[10]。初治耐药率直接反映一个地区耐药 MTB 近期传播严重程度。本研究结果显示, 初治总耐药率 18.6%, 低于浙江省 29.22%^[7] 和宁波市 28.01%^[8], 高于宁海县 10.10%^[9]。本研究复治患者的总耐药率、耐多药率均

表 1 486 例结核分枝杆菌患者基本特征

分类	例数	构成比 (%)
收治方式		
初治	414	85.2
复治	72	14.8
性别		
男	366	75.3
女	120	24.7
年龄 (岁)		
< 20	7	1.4
20 ~ 39	123	25.3
40 ~ 59	159	32.7
≥ 60	197	40.5
痰涂片		
阳性	159	32.7
阴性	327	67.3
户籍		
本地人口	354	72.8
流动人口	132	27.2
职业		
农民和农民工	401	82.5
其他	85	17.5

表 2 486 株结核分枝杆菌的药敏情况

药敏结果	初治 (n=414)	复治 (n=72)	合计 (n=486)	χ^2 值	P 值
全敏感	337(81.4)	51(70.8)	388(79.8)	4.25	< 0.05
任一耐药	77(18.6)	21(29.2)	98(20.2)		
耐 I	58(14.0)	17(23.6)	75(15.4)	4.33	< 0.05
耐 S	48(11.6)	15(20.8)	63(13.0)	4.64	< 0.05
耐 R	18(4.3)	8(11.1)	26(5.3)	5.54	< 0.05
耐 E	15(3.6)	1(1.4)	16(3.2)	0.96	> 0.05
单耐药	33(8.0)	8(11.1)	41(8.4)	0.78	> 0.05
耐 I	14(3.3)	4(5.5)	18(3.7)	0.81	> 0.05
耐 S	9(2.2)	3(4.2)	12(2.5)	1.01	> 0.05
耐 R	2(0.5)	1(1.4)	3(0.6)	0.82	> 0.05
耐 E	8(1.9)	0(0)	8(1.6)	1.41	> 0.05
多耐药	28(6.8)	6(8.3)	34(7.0)	0.23	> 0.05
耐多药	16(3.8)	7(9.7)	23(4.7)	4.66	< 0.05

注: S 为链霉素, I 为异烟肼, R 为利福平, E 为乙胺丁醇

表3 98株耐药结核分枝杆菌的耐药谱情况

药敏结果		初治(n=77)	复治(n=21)	合计(n=98)	χ^2 值	P 值	株(%)
耐 1 种药	S	9(11.7)	3(14.3)	12(12.2)	0.15	> 0.05	
	I	14(18.2)	4(19.0)	18(18.4)			
	R	2(2.6)	1(4.8)	3(3.1)			
	E	8(10.4)	0	8(8.2)			
耐 2 种药	S+I	24(31.2)	6(28.6)	30(30.6)	0.44	> 0.05	
	S+R	0	0	0			
	S+E	0	0	0			
	I+R	1(1.3)	0	1(1.0)			
	I+E	3(3.9)	0	3(3.1)			
	R+E	0	0	0			
耐 3 种药	S+I+R	12(15.6)	6(28.6)	18(18.4)	2.25	> 0.05	
	S+I+E	1(1.3)	0	1(1.0)			
	S+R+E	0	0	0			
	I+R+E	1(1.3)	1(4.8)	2(2.0)			
耐 4 种药	S+I+R+E	2(2.6)	0	2(2.0)	0.55	> 0.05	

注:S为链霉素,I为异烟肼,R为利福平,E为乙胺丁醇

表4 不同分组总耐药率及耐多药率比较

分组	例数	总耐药	χ^2 值	P 值	耐多药	χ^2 值	P 值	例(%)	
治疗	初治	414	77(18.6)	4.25	16(3.8)	4.66	< 0.05	< 0.05	
	复治	72	21(29.2)						7(9.7)
性别	男	366	73(19.9)	0.04	16(4.4)	0.42	> 0.05	> 0.05	
	女	120	25(20.8)						7(5.8)
年龄	0~19岁	7	1(14.3)	1.80	1(14.3)	18.40	> 0.05	< 0.05	
	20~39岁	123	25(20.3)						14(11.4)
	40~59岁	159	37(23.3)						4(2.5)
	≥60岁	197	35(17.8)						4(2.0)
涂片	涂阳	159	35(22.0)	0.50	7(4.4)	0.05	> 0.05	> 0.05	
	涂阴	327	63(19.3)						16(4.9)
户籍	本地户籍	354	73(20.6)	0.16	10(2.8)	10.52	> 0.05	< 0.05	
	流动人口	132	25(18.9)						13(9.8)
职业	农民和农民工	401	87(21.7)	3.33	18(4.5)	0.30	> 0.05	> 0.05	
	非农人群	85	11(12.9)						5(5.9)

高于初治者(均 $P < 0.05$),与黄静静等^[11]的研究结果一致。

本研究中 MTB 对 4 种一线抗结核药物存在 11 种耐药谱,任一耐药中耐 S、I、R 及 E 率由高到低分别为 I(15.4%)、S(13.0%)、R(5.3%)及 E(3.2%),与杭州市^[12]耐药顺位结果相似;但与大连市(I > R > S > E)^[13]和佳木斯市(S > I > R > E)^[14]不同,说明不同地区耐药状况和耐药谱存在差异。复治患者的任一耐 I、S 及 R 和耐多药率均高于初治患者,与吴亦斐等^[15]的研究结果相符。复治患者耐药率较高的原因有:(1)患者治疗不规范,依从性差,中断或间歇治疗^[16],MTB 耐药基因易发生突变;(2)就医次数增加,交叉感染机会增加等。因此,及时发现初治肺结

核患者,并早期、联合、全程、适量、规范用药,减少其复发及耐药性的发生,可以有效防治 MDR-TB^[16]。

本研究结果显示,流动人口耐多药率高于本地人口,说明流动人口可能是 MDR-TB 发生的危险因素^[17]。从年龄分析,40 岁以下人群耐多药率高于 40 岁及以上人群,说明青中年是 MDR-TB 高发人群^[18],与文献^[19]报道的以老年人为主并不相同。分析其原因可能与本地区处于沿海地区,外来务工人员较多,以中青年为主,人口流动大。提示今后应加强对流动人口尤其是中青年流动人口的宣教和管理,将有助于降低耐药结核病发生;此外,由于流动人口结核患者的初治化疗在原籍地完成的比例较高,因此居住地和原籍地结核病防控管理机构的信息互通就

显得尤为重要。本研究结果显示,2018—2023年单耐药、耐多药和多耐药率无明显变化趋势,说明仍需加强管理,加强对高危人群的主动筛查和健康体检,降低流动人口的治疗费用等,从而降低耐药率^[19]。

综上所述,象山县MTB总体耐药率和耐多药率较低,但是耐药病例数并不少,仍需要进行防治双重把关,积极开展快速培养和药敏检测技术,做到早发现、早诊断及早治疗。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2023[R]. Geneva: World Health Organization, 2023.
- [2] World Health Organization. Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis[R]. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [3] 肺结核诊断 WS 288—2017[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(7): 642-652.
- [4] 结核病分类 WS 196—2017 Classification of tuberculosis[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(4): 367-368.
- [5] 陈清清, 蒋燕成, 林玉玲, 等. 泉州市某三甲医院 2016—2021 年 1 473 例结核患者耐药分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2022, 28(5): 108-110.
- [6] 蒋泓宇, 胡朝辉, 郭硕平, 等. MGIT320 液体快速培养与罗氏培养在检测结核分枝杆菌及耐药性中的比较[J]. 现代实用医学, 2017, 29(4): 530-532.
- [7] TABRIZ N S, SKAK K, KASSAYEVA L T, et al. Efficacy of the xpert MTB/RIF assay in multidrug-resistant tuberculosis[J]. Microb Drug Resist, 2020, 26(8): 997-1004.
- [8] 林律, 平国华, 车洋, 等. 宁波市 2014 年-2016 年结核分枝杆菌耐药情况分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(14): 2115-2117.
- [9] 郑静静, 顾敏霞, 王斌, 等. 宁海县 2016 年-2018 年结核病涂阳患者菌株耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(22): 2720-2721, 2724.
- [10] 施露梅, 叶鸿雁, 谢红意, 等. 北仑区 229 株结核分枝杆菌的耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(3): 273-274, 278.
- [11] 黄静静, 柯羊羽, 侯萍, 等. 海南省 2018—2022 年结核分枝杆菌耐药监测分析[J]. 中国热带医学, 2024, 24(1): 102-106.
- [12] 范大鹏, 岳永宁, 张艳, 等. 2014—2018 年杭州市肺结核患者的耐药情况及其影响因素分析[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(1): 72-79.
- [13] KOHLI M, SCHILLER I, DENDUKURI N, et al. Xpert MTB/RIF Ultra and Xpert MTB/RIF assays for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2021, 1(1): CD012768.
- [14] 刘翠玉, 历素萍, 潘宝山, 等. 2017—2020 年黑龙江省佳木斯市肺结核患者耐药情况分析[J]. 疾病监测, 2021, 36(10): 1052-1056.
- [15] 吴亦斐, 赵刚, 陈淑丹, 等. 肺结核病原体和易感因素及结核分枝杆菌优势耐药谱分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(6): 480-486.
- [16] APRILIANA W D, WAHYUNI H Y, UMAR I A, et al. Multidrug-Resistant tuberculosis[J]. Clin Chim Acta, 2024, 559: 119701.
- [17] 魏淑淑, 高琦, 曹云贤, 等. 我国耐多药结核病危险因素的茶萃分析[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2022, 45(12): 1221-1230.
- [18] 胡冬梅, 徐彩虹, 赵雁林. 2018—2021 年全国流动人口肺结核流行特征分析[J]. 热带病与寄生虫学, 2023, 21(2): 78-81, 107.
- [19] PILLAY S, STEINGART K R, DAVIES G R, et al. Xpert MTB/XDR for detection of pulmonary tuberculosis and resistance to isoniazid, fluoroquinolones, ethionamide, and amikacin[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2022, 5(5): CD014841.

收稿日期: 2024-06-24

(本文编辑: 钟美春)