

初、复治患者结核分枝杆菌临床分离株对抗结核药物耐药性的分析

郑 扬 赵雁林

摘 要 **目的** 了解专科医院初复治患者的结核分枝杆菌耐药率及耐药谱。**方法** 研究随机选取了来自首都医科大学附属北京胸科医院的 500 株涂片阳性的初复治肺结核患者痰标本,分离培养后对 15 种抗结核药物包括利福平异烟肼(INH)、利福平(RFP)、链霉素(Sm)、乙胺丁醇(EMB)、括吡嗪酰胺(PZA)、阿米卡星(Am)、卡那霉素(Km)、卷曲霉素(Cm)、氧氟沙星(Ofx)、左氧氟沙星(Lfx)、莫西沙星(Mfx)、对氨基水杨酸(PAS)、丙硫异烟胺(Pto)、利奈唑胺(Lzd)、乙硫异烟胺(Eto)通过 MEGIT 960 进行药物敏感试验。**结果** 实验纳入的 500 例结核分枝杆菌样本,菌种鉴定结果显示 71 株为 NTM,另外有 12 株培养污染。其余 417 例菌株进行 4 种一线抗结核药物(包括 INH、RFP、Sm、EMB)的耐药表型实验,耐药率为 47.2% (95% CI:42.5% ~ 52.0%),MDR 耐药率为 28.2% (95% CI:24.4% ~ 33.1%)。复治病例的总耐药率和 MDR 耐药率的病例发生率均显著高于初治患者($P=0.000$)。417 株结核分枝杆菌在完成 4 种一线抗结核耐药表型实验后,采用数字表法按照一定比例筛选了全敏感和耐药株共 150 例,进行后续 11 种抗结核药物(包括 PZA、Am、Km、Cm、Ofx、Lfx、Mfx、PAS、Pto、Lzd、Eto)的耐药表型实验,5 例发生污染,剩余 145 例结核分枝杆菌对 PZA、Am、Km、Cm、Ofx、Lfx、Mfx 的复治患者耐药率均显著高于初治患者($P<0.05$),对于 PAS、Pto、Lzd、Eto 4 种药物,初复治患者间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 本研究发现初复治患者结核分枝杆菌耐药率较高,应进一步加强结核病患者管理。

关键词 结核 药敏试验 复治病例

中图分类号 R1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.04.007

Drug Resistance Pattern of the Mycobacterium tuberculosis among Retreatment and New Cases. Zheng Yang, Zhao Yanlin. National Tuberculosis Reference Laboratory, National Center for Tuberculosis Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Abstract **Objective** To investigate the incidence of drug resistance among new and retreatment TB patients from special hospital. **Methods** Totally 500 smear positive TB patients from June 2013 to December 2014 in Beijing Chest Hospital were enrolled. Phenotypic susceptibilities to cultured isolates were analyzed in 15 anti tuberculosis drugs by MGIT 960, include Isoniazid (INH), Rifampicin (RFP), Streptomycin (STR), Ethambuto (EMB), Kanamycin (Km), Amikacin (Am), Capreomycin (Cm), Ofloxacin (Ofx), Levofloxacin (Lfx), Moxifloxacin (Mfx), Paza-aminosalicylate (PAS), Protionamide (Pto), Linezolid (Lzd), Ethionamide (Eto), Pyrazinamide (PZA). **Results** A total of 500 TB cases were enrolled. 71 samples among these were NTM infection and 12 samples were contaminated. The rest of 417 of cases infected with Mycobacterium, and the rate of drug resistance was 47.2% (192/417) and the MDR rate was 28.2% (120/417). The retreatment was significantly higher than that of the new in any drug resistance rate and MDR rate ($P=0.000$). 100 of the retreatment isolates and 50 of the new isolates with Mycobacterium were selected to do the drug susceptibility test in 11 subsequent anti tuberculosis drugs (include: PZA, Am, Km, Cm, Ofx, Lfx, Mfx, PAS, Pto, Lzd, Eto). Five cases were contaminated, and in the rest of the cases, 48 was the new and 97 was the retreatment. The rate of the drug resistance to PZA, Am, Km, Cm, Ofx, Lfx, Mfx for the retreatment were significantly higher than the new ($P<0.05$). The rate of drug resistance to PAS, Pto, Lzd and Eto for the new and retreatment were no markedly differential in statistics. **Conclusion** This study further confirmed the rate of drug resistance in retreatment cases is higher, and the management of tuberculosis patients should be further strengthened.

Key words Tuberculosis ; Drug susceptibility testing ; Retreatment patient

基金项目:国家科技重大专项基金资助项目(2014ZX10003002)

作者单位:102206 北京,中国疾病预防控制中心、国家结核病参比实验室

通讯作者:赵雁林,电子信箱:zhaoyanlin@chinatb.org

结核病是世界范围内主要的传染病杀手,2015 年 WHO 全球结核病报告指出,2014 年有 960 万例罹患结核病,150 万例死于该疾病^[1]。95% 以上的结核病死亡发生在低收入和中等收入国家,它还是导致 15~44 岁女性死亡的 5 大原因之一。全世界约有 3.7% 的新发结核病患者和 20% 复治结核病患者为 MDR-TB。约 9% 的 MDR-TB 还对两种其他类别药物具有耐药性,或者患有广泛耐药结核病。根据我国 2007 年全国结核病耐药基线调查中显示,复治肺结核 MDR-TB 的感染率为 25.6%,远高于初治肺结核患者感染率的 5.7%,肺结核患者耐药疫情十分严重^[2]。本研究随机选取了来自首都医科大学附属北京胸科医院的涂片阳性的初复治肺结核患者痰标本,通过耐药表型实验,了解专科医院初复治患者的结核分枝杆菌耐药率及耐药谱,为临床制定合理的化疗方案及结核病患者管理提供依据。

对象与方法

1. 研究对象:2014 年 6~12 月,本研究连续纳入来自首都医科大学附属北京胸科医院 500 例涂片阳性住院肺结核患者,其中初复治患者 266 例,复治患者 234 例。采集患者痰标本运输至中国疾病预防控制中心结核病参比实验室进行菌株鉴定和培养,菌种鉴定结果显示 71 株为 NTM,另外有 12 株培养污染。其余 417 株生长良好的菌株在其对数生长期时,进行 4 种一线抗结核药物包括 INH、RFP、Sm、EMB 的药物敏感度试验。为进一步了解二线药物及其他抗结核药物的耐药流行情况,对 417 株结核分枝杆菌在完成 4 种一线抗结核耐药表型实验后,采用数字表法按照一定比例筛选了全敏感和耐药株共 150 例,进行后续 6 种二线抗结核药物(包括 Am、Km、Cm、Ofx、Lfx 和 Mfx)的耐药表型实验;另外对于 4 种已列为耐药治疗方案,或 WHO 有推荐浓度的抗结核药物 PAS、Pto、Lzd 和 Eto 也同时进行了药物敏感试验(以下简称药敏试验),其中 5 株在药敏试验过程中发生污染,剩余 145 株。

2. 实验方法:(1) 菌株培养和菌种鉴定:①中和离心法进行分离培养操作步骤:在生物安全柜内将约 2~5ml 痰标本置于相应的离心管中。视标本性向前处理管内加入 1~2 倍体积 NALC-NaOH 混合溶液,并开始计时 15min 后在涡旋振荡器上涡旋振荡 10~20s,直至痰标本充分液化。将离心管室温静置 15min;向离心管中加入磷酸盐缓冲液至 45ml,然后旋紧离心管螺旋盖。到低温冷冻离心机进行离心,设

定制冷温度 8~10℃,3000×g 离心 15~20min;取出离心管,弃去上清液,加入 1ml 磷酸盐缓冲液,混匀后用无菌滴管均匀接种于培养基上。每支培养基接种 0.10~0.15ml(约 2~3 滴);将培养基放置在斜面放置架上,保持培养基斜面水平向上,放置于恒温培养箱内,36±1℃ 培养。24h 后,将培养管直立放置,36±1℃ 条件下继续孵育;②胶体金法进行菌种鉴定操作步骤:生长良好的菌株取少量菌落,放入已装有 7H9 培养基(2~3ml)的磨菌瓶中;涡旋震荡 2~3min 将菌块打散后,静置 20min。将前处理好的菌液,加约 100μl 至样本孔中后进行结果判读,如果测试孔“T”和指控孔“C”同时出现粉红色条带,为阳性结果,鉴定为结核分枝杆菌;如果只有指控孔“C”出现粉色条带,为阴性结果,鉴定为非结核分枝杆菌。(2) MGIT 960 液体药敏试验:BACTEC™ MGIT™ 960SIRE 药敏试剂盒包含 INH、RFP、Sm、EMB 和 PZA 5 种一线药物的冻干粉。其他药物按照表 1 储藏药液浓度进行配制。实验按照操作手册进行^[3]。

表 1 BACTEC™ MGIT™ 960SIRE 液体培养管
药物类型及配制浓度

药物名称	储液药物浓度 (μg/ml)	每管添加的药液 (μl)	培养管中药物终 浓度(μg/ml)
Km	207.5	100	2.5
Am	83	100	1.0
Cm	207.5	100	2.5
Ofx	166	100	2.0
Lfx	124.5	100	1.5
Mfx	41.5/166	100	0.5/2.0
PAS	332	100	4.0
Pto	207.5	100	2.5
Lzd	83	100	1.0
Eto	415	100	5.0

3. 试剂和仪器:(1) 主要试剂:BD MGIT™ TBc Identificaton Test devices(美国 BD 公司,245159);BACTEC™ MGIT™ 960 药敏试剂盒(Sire, PZA)及配套的增菌剂(美国 BD 公司 245123);BBL™ MGIT™ 7ml 培养管(美国 BD 公司 245122);MGIT PZA 培养管及配套增菌剂(美国 BD 公司 245128);Ofloxacin(公司 Sigma 公司,08757-10G);Levofloxacin(美国 Sigma 公司,28266-10G);Moxifloxacin(美国 Sigma 公司,32477-50MG);Kanamycin disulfate(美国 Sigma 公司,K4000-50G);Amikacin sulfate salt(美国 Sigma 公司,A3650-5G);Capreomycin sulfate(美国 Sigma 公司,C4142-25G);Para-aminosalicylic acid

sodium salt, PAS (美国 Sigma 公司, 09415 - 50g); 2 - Propyl - thioisonicotinamide (英国 Fluorochem 公司, 023862); Linezolid (美国 Sigma 公司, PZ0014 - 25MG); Ethionamide (美国 Sigma 公司, E6005 - 25G)。(2)主要仪器:浊度测定仪(美国 BD 公司); BACTEC™ MGIT™ 960(美国 BD 公司)。

4. 统计学方法:应用 SPSS 16.0 进行数据的统计学处理,初复治患者耐药情况间的比较采用 χ^2 检验,

以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况:在 417 例肺结核患者中,其中男性 307 例,女性 110 例,患者年龄 15 ~ 89 岁(中位年龄 54 岁);初治患者为 233 例,复治患者为 184 例。抗酸染色痰涂片镜检结果显示,在不同级别的镜检组中,1 ~ 8 条/300 个视野的总耐药率明显低于其他组别。详见表 2。

表 2 417 株结核分枝杆菌基本耐药情况 [n(%)]

分类	例数 (n=417)	敏感 (n=220)	MDR (n=120)	其他耐药类型 (n=77)	χ^2	P
性别					1.14	0.128
男性	307(73.6)	163(74.1)	84(70.0)	60(78.0)		
女性	110(53.4)	57(25.9)	36(30.0)	17(22.0)		
年龄(岁)					25.05	0.000
15 ~ 29	83(19.9)	41(18.6)	27(22.5)	15(19.5)		
30 ~ 44	99(23.7)	37(16.8)	42(35.0)	20(26.0)		
45 ~ 59	122(29.3)	60(27.3)	36(30.0)	26(33.8)		
60 ~ 74	56(13.4)	40(18.2)	11(9.2)	5(6.5)		
≥ 75	57(13.7)	42(19.1)	4(3.3)	11(14.3)		
抗酸染色镜检					16.94	0.005
1 ~ 8 条/300 个视野	21(5.0)	13(5.9)	4(3.3)	4(5.2)		
+	123(29.5)	70(31.8)	23(19.2)	30(39.0)		
++	116(27.8)	66(30.0)	32(26.7)	18(23.4)		
+++	107(25.7)	56(25.5)	38(31.7)	13(16.9)		
++++	50(12.0)	15(6.8)	23(19.2)	12(15.6)		
患者类型					55.02	0.000
初治	233(55.9)	158(71.8)	33(27.5)	42(54.5)		
复治	184(44.1)	62(28.2)	87(72.5)	35(45.5)		

2. 4 种一线抗结核药物耐药情况:417 例肺结核患者中,对 4 种一线抗结核药物全部敏感的菌株 220 株,占总数的 52.8% (95% CI:48.0% ~ 57.5%)。任意耐药株为 197 例,总耐药率为 47.2% (95% CI:42.5% ~ 52.0%)。MDR 菌株 120 例,MDR 耐药率为 28.8% (95% CI:24.4% ~ 33.1%)。其中初治患者 233 例,复治患者 184 例;初、复治病例的总耐药率分别为 32.8% (95% CI:25.8% ~ 37.7%) 和 66.3% (95% CI:59.5% ~ 73.1%),两组比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 17.51, P = 0.000$)。

男、女性组别在 MDR 耐药率间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。不同年龄组别在 MDR 耐药率之间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 25.05, P = 0.000$),而 MDR 在 30 ~ 44 岁年龄组病例最多,占 MDR 总病例数的 35%。不同涂片镜检阳性级别之间 MDR 耐药率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.94, P = 0.005$)。在 MDR 菌株中,初治和复治患者在 MDR 菌株中所占的比例为

27.5% 和 72.5%,MDR 主要来源于复治肺结核患者。各组别的具体病例数及所占比例见表 2。初、复治 MDR 耐药率分别为 14.2% (95% CI:9.7% ~ 18.6%) 和 47.3% (95% CI:40.1% ~ 54.5%),两组间差异存在统计学意义 [$OR = 5.4(3.4 \sim 8.7), \chi^2 = 30.01, P = 0.000$]。

3. 结核病患者耐药组合构成:在 197 例耐药结核病患者中,INH 的总耐药率为 88.8% (175/197),在耐 INH 的菌株中,MDR 所占比例为 68.6% (120/175),并且以联合耐药为主要的耐药类型。RFP 的总耐药率为 64.5% (127/197),在耐 RFP 的菌株中,MDR 占主要优势,所占比例高达 94.5% (120/127),联合耐药为主要的耐药类型。另外,耐药数量差异较大的耐药组合类型分析显示,在复治患者中 INH、RFP、Sm 以及 EMB 4 种药物联合耐药的病例数为 41 例,而初治患者中为 12 例,两者之间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 20.81, P = 0.000$);INH、RFP 和 Sm 3 种药物

联合耐药时,初、复治患者的耐药数分别为 13 例和 27 例,两者差异有统计学意义($\chi^2 = 8.02, P < 0.005$)。INH、RFP 和 EMB 3 种药物联合耐药时,

初、复治的病例数分别为 3 例和 8 例,两者差异有统计学意义($\chi^2 = 26.34, P = 0.000$)。各耐药组合的具体分布见表 3。

表 3 初复治患者中不同耐药组合的分布特征

分类	总数(<i>n</i> = 417)		初治(<i>n</i> = 233)		复治(<i>n</i> = 184)	
	<i>n</i> (%)	95% CI	<i>n</i> (%)	95% CI	<i>n</i> (%)	95% CI
全敏感	220(52.8)	48.0% ~ 57.5%	158(67.8)	61.8% ~ 73.8%	62(33.7)	26.9% ~ 40.5%
耐药株	197(47.2)	42.5% ~ 52.0%	75(32.2)	26.2% ~ 38.2%	122(66.3)	59.5% ~ 73.1%
单耐						
INH	19(4.6)	2.6% ~ 6.6%	8(3.4)	1.1% ~ 5.8%	11(6.0)	2.6% ~ 9.4%
RFP	4(1.0)	0.0% ~ 1.9%	1(0.4)	0.0% ~ 1.3%	3(1.6)	0.0% ~ 3.5%
Sm	13(3.1)	1.4% ~ 4.8%	10(4.3)	1.7% ~ 6.9%	3(1.6)	0.0% ~ 3.5%
EMB	2(0.5)	0.0% ~ 1.1%	1(0.4)	0.0% ~ 2.0%	1(0.5)	0.0% ~ 1.6%
MDR						
INH + RFP	16(3.8)	2.0% ~ 5.7%	5(2.1)	0.3% ~ 4.0%	11(6.0)	2.6% ~ 9.4%
INH + RFP + Sm	40(9.6)	6.8% ~ 12.4%	13(5.6)	2.6% ~ 8.5%	27(14.7)	9.6% ~ 19.8%
INH + RFP + EMB	11(2.6)	1.1% ~ 4.2%	3(1.3)	0.0% ~ 2.7%	8(4.3)	1.4% ~ 7.3%
INH + RFP + Sm + EMB	53(12.7)	9.5% ~ 15.9%	12(5.2)	2.3% ~ 8.0%	41(22.3)	16.3% ~ 28.3%
其他耐药组合						
INH + Sm	28(6.7)	4.3% ~ 9.1%	16(6.9)	3.6% ~ 10.1%	12(6.5)	3.0% ~ 10.1%
INH + EMB	6(1.4)	0.3% ~ 2.6%	5(2.1)	0.3% ~ 4.0%	1(0.5)	0.0% ~ 1.6%
RFP + Sm	2(0.5)	0.0% ~ 1.1%	0(0.0)	0.0% ~ 0.0%	2(1.1)	0.0% ~ 2.6%
RFP + EMB	1(0.2)	0.0% ~ 0.7%	0(0.0)	0.0% ~ 0.0%	1(0.5)	0.0% ~ 1.6%
INH + Sm + EMB	2(0.5)	0.0% ~ 1.1%	1(0.4)	0.0% ~ 2.0%	1(0.5)	0.0% ~ 1.6%

4. 15 种抗结核总体耐药性实验结果:(1) 总体耐药情况:145 株结核分枝杆菌中,全敏感株有 58 株,占 40.0% (95% CI:32.0% ~ 48.0%);耐药株 87 例,总耐药率为 60.0% (95% CI:52.0% ~ 68.0%), 其中是 MDR 且不为 XDR 的菌株 20 例,另有 19 例 XDR 菌株;其他耐药类型的耐药株共 48 例。具体分布特征见表 4。(2) 初、复治结核患者 XDR 耐药情况:研究所确定的 19 例 XDR 菌株全部属于复治肺结核患者。初、复治 XDR 组间差异有统计学意义($\chi^2 = 8.89, P < 0.005$)。(3) 其余抗结核药物的耐药情况:PZA 对 145 株结核分枝杆菌的耐药率为 26.9%。FQNs 对 145 株结核分枝杆菌的平均耐药率为 15%, 其中以 CM 的耐药率最高,为 22.1%。INJs 对 145 株结核分枝杆菌的平均耐药率为 27.6%, OFX, LFX 和 MFx 3 种药物的耐药率相似。另外, PTO、PAS、Lzd 和 ETO 的耐药率分别为 17.9%、15.2%、5.5% 和 33.1%。具体例数和分布情况见表 4。(4) 其余抗结核药物对初、复治患组耐药情况分析:PZA 在初治患者中的耐药率为 12.5% (6/48),在复治患者中的耐药率为 34.0% (33/97),初、复治组差异存在统计学意义($\chi^2 = 4.65, P < 0.05$)。6 种二线抗结核药物(包括 Am、Km、Cm、Ofx、Lfx 和 Mfx)在初、复治组差异也

有统计学意义($P < 0.05$),复治患者的耐药率显著高于初治患者。而 Pto、PAS、Lzd 和 Eto 4 种抗结核药物在初、复治组差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 5。

讨 论

本研究所采集到的样本来源于首都医科大学附属北京胸科医院。该医院是一家收治结核病的三级甲等专科医院,收治的结核患者中包括初复治、单耐药、多耐药、耐多药及严重耐多药等各种类型的结核病,本次研究结果显示,结核病专科医院结核患者的耐药形势严峻。MDR 和 XDR 耐药率高于我国 2007 年耐药检测数据^[2]。

初治患者中的耐药水平是反应一个地区耐药结核分枝杆菌传播严重程度的一项重要指标。对于复治患者,目前认为产生耐药的主要原因是对抗结核药物的不规范使用,因此复治患者中的耐药水平也可从一个侧面反映抗结核药物的使用情况。2014 年世界卫生组织(WHO)全球结核病报告指出,初治患者 MDR 耐药率上升到 3.5% (95% CI:2.2% ~ 4.7%), 复治患者 MDR 耐药率达到 20.5% (95% CI:13.6% ~ 27.5%)^[1]。我国 2007 年耐药监测中显示初治患者

表 4 145 例结核分枝杆菌样本耐药分布特征

耐药类型	总数 (n = 145)		初治 (n = 48)		复治 (n = 97)	
	n (%)	95% CI	n (%)	95% CI	n (%)	95% CI
全敏感	58 (40.0)	32.0% ~ 48.0%	26 (54.2)	40.1% ~ 68.3%	32 (33.0)	23.6% ~ 42.3%
MDR (不包 XDR)	20 (13.8)	8.2% ~ 19.4%	5 (10.4)	1.8% ~ 19.1%	15 (15.5)	8.3% ~ 22.7%
XDR	19 (13.1)	7.6% ~ 18.6%	0 (0.0)	0.0% ~ 0.0%	19 (19.6)	11.7% ~ 27.5%
其他耐药类型	48 (33.1)	25.4% ~ 40.8%	17 (35.4)	21.9% ~ 48.9%	31 (32.0)	22.7% ~ 41.2%
任意耐药						
INH	65 (44.8)	36.7% ~ 52.9%	15 (31.3)	18.1% ~ 44.4%	50 (51.5)	41.6% ~ 61.5%
RFP	39 (26.9)	19.7% ~ 34.1%	5 (10.4)	1.8% ~ 19.1%	34 (35.1)	25.6% ~ 44.5%
Sm	49 (33.8)	26.1% ~ 41.5%	11 (22.9)	11.0% ~ 34.8%	38 (39.2)	29.5% ~ 48.9%
EMB	22 (11.0)	5.9% ~ 16.1%	3 (6.3)	0.0 ~ 13.1%	19 (13.4)	6.6% ~ 20.2%
PZA	39 (26.9)	19.7% ~ 34.1%	6 (12.5)	3.1% ~ 21.9%	33 (34.0)	24.6% ~ 43.4%
Km	20 (13.8)	8.2% ~ 19.4%	2 (4.2)	0.0% ~ 9.8%	18 (18.6)	10.8% ~ 26.3%
Am	13 (9.0)	4.3% ~ 13.6%	0 (0.0)	0.0% ~ 0.0%	13 (13.4)	6.6% ~ 20.2%
Cm	32 (22.1)	15.3% ~ 28.8%	3 (6.3)	0.0% ~ 13.1%	29 (29.9)	20.8% ~ 39.0%
Ofx	42 (29.0)	21.6% ~ 36.3%	4 (8.3)	0.5% ~ 16.2%	38 (39.2)	29.5% ~ 48.9%
Lfx	38 (26.2)	19.0% ~ 33.4%	6 (12.5)	3.1% ~ 21.9%	32 (33.0)	23.6% ~ 42.3%
Mfx	40 (27.6)	20.3% ~ 34.9%	6 (12.5)	3.1% ~ 21.9%	34 (35.1)	25.6% ~ 44.5%
Pto	26 (17.9)	11.7% ~ 24.2%	6 (12.5)	3.1% ~ 21.9%	20 (20.6)	12.6% ~ 28.7%
PAS	22 (15.2)	9.3% ~ 21.0%	8 (16.7)	6.1% ~ 27.2%	14 (14.4)	7.4% ~ 21.4%
Lzd	8 (5.5)	1.8% ~ 9.2%	2 (4.2)	0.0% ~ 9.8%	6 (6.2)	1.4% ~ 11.0%
Eto	48 (33.1)	25.4% ~ 40.8%	15 (31.3)	18.1% ~ 44.4%	33 (34.0)	24.6% ~ 43.4%

表 5 初、复治患者中 11 种药物耐药率对比结果 [n (%)]

药物	初治 (n = 48)	复治 (n = 97)	χ^2	P
Km	2 (4.2)	18 (18.6)	4.44	0.035
Am	0 (0.0)	13 (13.4)	48.59	0.000
Cm	3 (6.3)	29 (29.9)	8.92	0.003
Ofx	4 (8.3)	38 (39.2)	9.02	0.003
Lfx	6 (12.5)	32 (33.0)	4.34	0.037
Mfx	6 (12.5)	34 (35.1)	4.97	0.026
PZA	6 (12.5)	33 (34.0)	4.65	0.031
Pto	6 (12.5)	20 (20.6)	1.03	0.311
PAS	8 (16.7)	14 (14.4)	0.09	0.763
Lzd	2 (4.2)	6 (6.2)	0.05	0.819
Eto	15 (31.3)	33 (34.0)	0.06	0.812

MDR 耐药率为 5.7% (95% CI:4.5% ~ 7.0%),复治患者 MDR 耐药率为 26% (95% CI:22% ~ 30%)^[2]。对于本研究收集到的 417 例结核样本,初复治患者 MDR 的耐药率为 14.2% (95% CI:9.7% ~ 18.6%) 和 47.3% (95% CI:40.1% ~ 54.5%),远高于全球及我国 MDR 耐药率。专科医院样本来源会大大高估 MDR 耐药的总体水平,如在全球结核病负担国家中排名第 8 位的巴西,Eliana 于 2001 ~ 2003 年在一家医院收集到的 217 例结核分枝杆菌患者,MDR 耐药率为 14.3% (31/217),远远高于 1996 ~ 1997 年 WHO 在巴西监测的数据,MDR 耐药率为 2.1%^[4]。

此外,北京市胸科医院主要收治难治结核病患者,患者的就诊选择也会大大提高 MDR 耐药率。

本研究 417 例结核分枝杆菌样本中,初治患者为 233 例,复治患者为 184 例;初复治患者的总耐药率分别为 31.8% (95% CI:25.8% ~ 37.7%) 和 66.3% (95% CI:59.5% ~ 73.1%),MDR 耐药率分别为 14.2% (95% CI:9.7% ~ 18.6%) 和 47.3% (95% CI:40.1% ~ 54.5%),复治患者的总耐药率和 MDR 耐药率均显著高于初治患者 (P = 0.000),与国外文献报道一致^[5]。尽管复治患者发生耐多药的危险性显著高于初治患者已被文献证实,但各地区报告的危险度 (OR) 差异较大,OR 值为 3.2 ~ 26.9,例如 2003 年 Migliori 等^[6]发表的研究中指出,意大利复治病例发生耐多药的 OR 值为 26.9 (11.8 ~ 61.5)。2005 年 Ruddy 等^[7]关于俄罗斯耐药风险的研究中指出,复治病例发生耐多药的 OR 值为 3.2 (2.2 ~ 4.8)。而在 2000 年 Helbling 等发表的关于波兰获得性耐药的研究中,OR 值为 12.5 (7.4 ~ 21.0)^[8]。本研究中复治患者发生耐多药的危险性是初治患者的 5.4 倍。OR 值的差异可能与各地区影响复治患者发生耐多药的因素有关,这些因素包括治疗时间长短,服药规范程度,患者依从性等方面^[1]。

本研究中涉及的其他相关因素包括性别、年龄和

抗酸染色分类。男、女性组别在 MDR 率间差异无统计学意义。而在不同年龄组别间, 45 ~ 59 岁年龄组的病例数最多, 不同年龄组别在 MDR 耐药率之间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 25.05, P = 0.000$), MDR 耐药率在 30 ~ 44 岁年龄组病例最多, 占 MDR 总病例数的 35%。研究结果与我国 2007 年耐药监测数据相似^[2]。抗酸染色痰涂片镜检结果显示, 不同级别的镜检组间 MDR 耐药率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.94, P = 0.005$), 这可能是由于 1 ~ 8 条/300 个视野组 MDR 耐药率明显低于其他组别, 目前没有文献支持这一结论, 有待于今后进一步研究。

对于进行了 15 种药物敏感试验的 145 例结核分枝杆菌中, 复治患者对于二线药物的耐药率显著高于初治患者。PZA 和 6 种二线抗结核药物 (包括 Am、Km、Cm、Ofx、Lfx 和 MfxX) 在初、复治患者组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 Pto、PAS、Lzd 和 Eto 4 种抗结核药物在初、复治患者组比较差异无统计学意义。对二线抗结核药物产生耐药性会直接导致 XDR-TB 的产生。研究所确定的 19 例 XDR 菌株全部属于复治患者。XDR 耐药率在初复治患者组间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.89, P < 0.005$)。但更值得警示的是, 比 XDR-TB 更为危险也更为致命的全耐药结核分枝杆菌 (totally drug-resistant tuberculosis, TDR-TB) 最近在全球一些地区已被证实发现, 对抗结核药物的耐药性研究已迫在眉睫^[9,10]。

从初、复治患者 MDR 耐药率及 OR 值分析显示, 复治患者更易发展为 MDR 耐药。因此重视和加强 DOTS 策略, 避免初治患者为复治患者而发展为 MDR 耐药, 同时应加强对复治患者的耐药监测, 根据药敏结果合理选择治疗药物组合。而初治患者较高的 MDR 耐药率也在一定程度上反映了耐药结核病的传播和流行仍未得到有效的控制。而二线抗结核药物发生耐药的主要原因和社会人口特征及临床特征有关, 例如流动人口和医疗保障的缺乏。曾接受过一、二线抗生素治疗的患者也更易对二线药物产生耐药性。因此, 复治患者的对二线药物的高耐药性也在一定程度上反应了卫生机构对药物管理的疏忽。例如喹诺酮类药物现广泛的用于呼吸道感染和其他细菌感染的治疗中, 并且出现了可以在药店中随意出售的

现象, 容易的获取途径和不规范的使用会加大造成耐药结核的风险^[11]。

本研究的局限性在于由于样本主要收集于专科医院, 初复治患者耐药率并不能代表疾病的地区流行性情况。其次, 本研究中未收集到患者二线药物的用药情况, 因此治疗史尚不明确, 无法分析其临床特征与耐药的相关性。

参考文献

- 2015 Global tuberculosis report. World Health Organization, 2015: 1-6
- Zhao Y, Xu S, Wang L, Chin DP, *et al.* National survey of drug-resistant tuberculosis in China [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366 (23): 2161-2170
- 赵雁林. 中国结核病防治规划分枝杆菌分离培养标准化操作程序集质量保证手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 59-75
- Matos ED, Lemos AC, Bittencourt C, *et al.* Anti-tuberculosis drug resistance in strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients in a tertiary hospital in Bahia [J]. *Braz J Infect Dis*, 2007, 11 (3): 331-338
- Joseph MR, Shoby CT, Amma GR, *et al.* Surveillance of anti-tuberculosis drug resistance in Ernakulam District, Kerala State, South India [J]. *NT J Tuberc Lung Dis*, 2007, 11 (4): 443-449
- Migliori GB, Centis R, Fattorini L, *et al.* Monitoring the quality of laboratories and the prevalence of resistance to antituberculosis drugs: Italy, 1998-2000 [J]. *Eur Respir J*, 2003, 21 (1): 129-134
- Ruddy M, Balabano Va Y, Graham C, *et al.* Rates of drug resistance and risk factor analysis in civilian and prison patients with tuberculosis in Samara Region, Russia [J]. *Thorax*, 2005, 60 (2): 130-135
- Zwolska Z, Augustynowicz-Kopec E, Klatt M. Primary and acquired drug resistance in Polish tuberculosis patients: results of a study of the national drug resistance surveillance programme [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2000, 4 (9): 832-838
- Migliori GB, De Iaco G, Besozzi G, *et al.* First tuberculosis cases in Italy resistant to all tested drugs [J]. *Euro Surveill*, 2007, 12 (5): E070517.1
- Velayati AA, Farnia P, Masjedi MR, *et al.* Totally drug-resistant tuberculosis strains: evidence of adaptation at the cellular level [J]. *Eur Respir J*, 2009, 34 (5): 1202e3
- Hu Y, Hoffner S, Wu L, *et al.* Prevalence and genetic characterization of second-line drug-resistant and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Rural China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57 (8): 3857-3863

(收稿日期: 2016-08-25)

(修回日期: 2016-09-02)