· 临床研究检验论著 ·

174 株耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药耐药情况分析

李心德

(深圳市盐港医院, 广东深圳 518083)

摘要:目的 分析该院耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药的耐药情况,为耐多药结核病的治疗提供参考。方法 采用回顾性分析法分析 2011 年 5 月至 2013 年 5 月结核病患者痰标本培养及药敏结果资料,对比分析耐多药分枝结核杆菌对 5 种二线药物耐药比率。结果 初治耐多药结核分枝杆菌对二线耐药情况如下:耐药顺次由高到低依次为左氧氟沙星、对氨基水杨酸、丙硫异烟胺、阿米卡星及卷曲霉素的耐药比率分别为 17.7%、14.5%、12.9%、8.1%及 3.2%,耐两种的比率为 4.8%,耐 3 种及 3 种以上的比率均为 3.2%;复治情况的耐药顺次同初治顺次,但耐药比率不同,分别为 50.0%、33.9%、25.9%、21.4%和 16.1%,耐 2 种的比率为 16.1%,耐 3 种为 13.4%,耐 3 种以上的为 12.5%。初治与复治的各种情形耐药比率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 该院耐多药结核杆菌耐药比率低于国内平均水平,复治病例耐药比率高于初治。

关键词:分枝杆菌,结核; 抗药性,多药; 微生物敏感性试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)13-1732-03

Analysis of resistance to second-line drugs in 174 strains of multidrug resistance mycobacterium tuberculosis

Li Xinde

(Shenzhen Municipal Yangang Hospital, Shenzhen, Guangdong 518083, China)

Abstract:Objective To analyze the resistance to second-line anti-TB drugs in multi-drug resistant mycobacterium tuberculosis to provide reference for the treatment of multi drug resistant tuberculosis. **Methods** The data of the sputum culture and the drug sensitivity results from May 2011 to May 2013 were analyzed by the retrospective analysis method. The drug resistant rates of multi-drug resistant mycobacterium tuberculosis to 5 kinds of second-line anti-TB drug were compared. **Results** The resistance rates of multi-drug resistant mycobacterium tuberculosis in the initial treatment to the second-line anti-TB drugs of levofloxacin, para aminosalicylic acid, protionamide, amikacin and capreomycin in sequence from high to low were 17.7%, 14.5%, 12.9%, 8.1% and 3.2% respectively. The resistance rate to two kinds of anti-TB drugs was 4.8%, which to 3 kinds and more than 3 kinds of anti-TB drugs were all 3.2%. The sequence of the drug resistance rates in the retreatment was same as to that in the initial treatment. But the resistance rates were different, which to levofloxacin, para aminosalicylic acid, protionamide, amikacin and capreomycin were 50.0%, 33.9%, 25.9%, 21.4% and 16.1% respectively. The resistance rate to 2 kinds of anti-TB drugs was 16.1%, which to 3 kinds and more than 3 kinds of anti-TB drugs were 13.4% and 12.5% respectively. There were statistical significant differences in the drug resistance rate between the retreatment and the initial treatment in all various circumstances(all $P < 0.05$). **Conclusion** The drug resistance rate of multi-drug resistant mycobacterium tuberculosis in our hospital is lower than the average level in our country and the drug resistance rate in the retreatment is higher than that in the initial treatment.

Key words:mycobacterium tuberculosis; drug resistance, multiple; microbial sensitivity tests

结核病(tuberculosis, TB)是一种严重危害人类健康的传染病,是一个主要的全球公共卫生问题,是目前世界单一致病菌所致疾病中病死率最高的传染病之一^[1]。各种抗结核分枝杆菌的药物在 20 世纪相继问世,使结核病的治愈成为可能,然而,由于用药不规范、药物滥用、菌株的变异及新药研发缺乏等因素,在治疗结核病的过程中出现了结核分枝杆菌的耐药性问题,而耐药问题现已成为制约控制结核病传播的重要因素^[2]。我国属于全球 22 个结核病高负担国家之一,位居第二位,拥有 16% 的结核患者,其中至少有 27.8% 的患者对一种一线药物耐药,尤其是耐多药结核病(multidrug resistance mycobacterium tuberculosis, MDR-TB)菌株导致的结核病是有效控制结核病的严重障碍之一,给结核病的防治工作带来很大的影响^[3]。为了解本院耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药物的

耐药情况,研究者收集 2011 年 5 月至 2013 年 5 月本院分离出的同时对利福平和异烟肼耐药的耐多药结核分枝杆菌 174 株,采用回顾性分析方法对耐多药分枝结核杆菌对二线抗结核药物的耐药情况进行分析,为 MDR-TB 患者的规范治疗和更好管理提供参考,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 来源于 2011 年 5 月至 2013 年 5 月本院住院及门诊肺结核患者,收集并记录标本培养结果及药敏结果资料。病例资料入选标准符合以下条件:(1)痰标本经处理后,采用固体培养(L-J 培养基)和液体培养基(Bactec-MGIT 960)快速培养后,分离的阳性菌株,经硝苯甲酸、噻吩二羧酸肼菌种鉴别试验,排除非结核分枝杆菌,确定为结核分枝杆菌,并作抗结核常规一线药物敏感性试验。(2)筛选出耐多药结核菌菌株病

例资料。MDR 定义为分离出的结核分枝杆菌体外药敏试验至少同时对利福平及异烟肼耐药。符合以上的分离菌株共 174 株, 初治者 62 株, 复治者 112 株。初治患者为从未接受过抗结核治疗或曾接受过小于 1 个月抗结核治疗的患者。复治患者为: (1) 初治失败的患者; (2) 规则用药满疗程后痰菌又复阳的患者; (3) 不规律化疗大于 1 个月的患者; (4) 慢性排菌患者。

1.2 药敏检测 药敏操作程序参照相关文献关于结核病耐药监测项目^[4], 采用比例法检测。Bactec-MGIT 960 快速培养基及培养液由美国 BD 公司提供。药敏试验药物纯品由英国 Sigma 公司提供, 分别对左氧氟沙星(LFX)、阿米卡星(AK)、卷曲霉素(CM)、丙硫异烟胺(Pto)、对氨基水杨酸(PAS)等 5 种药物进行敏感试验。药物纯品加入基础培养基的终浓度为: LFX 5 μg/mL, AK 105 μg/mL, CM 10 μg/mL, PAS 1 μg/mL, Pto 2.5 μg/mL。

1.3 质量控制 每批试验均以结核分枝杆菌标准菌株(H37Rv)作为对照, 以考核结果的可靠性, H37Rv 菌株由北京国家结核病参比实验室提供。本实验室药敏试验已经通过国家结核病参比实验室熟练度测试并合格。

1.4 判断标准^[5] 在对照培养基生长旺盛的前提下, 含药培养基与对照培养基上的菌落进行比较, 大于等于 1 为耐药, 反之为敏感。

1.5 统计学处理 采用世界卫生组织细菌耐药性检测中心推荐的 WHONET 5.4 软件进行分析。并采用 SPSS 19.0 软件, 应用描述性统计分析, 计数资料以百分率表示, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

初治及复治对二线药耐药情况及比较, 初治耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药耐药情况如下: 耐药顺次由高到低依次为左氧氟沙星、对氨基水杨酸、丙硫异烟胺、阿米卡星及卷曲霉素, 耐药比率分别为 17.7%、14.5%、12.9%、8.1% 及 3.2%, 耐 2 种的比率为 4.8%, 耐 3 种及 3 种以上的比率均为 3.2%; 复治情况分别为 50.0%、33.9%、25.9%、21.4% 和 16.1%, 耐 2 种的比率为 16.1%、耐 3 种为 13.4%, 耐 3 种以上的为 12.5%。初治与复治各种情形耐药比率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 具体见表 1。

表 1 174 例耐多药结核分枝杆菌对二线抗结核药物耐药情况及比较

耐药情况	初治(62株)		复治(112株)		χ^2	P
	耐药(n)	耐药比(%)	耐药(n)	耐药比(%)		
LFX	11	17.7	56	50.0	17.53	0.000
PAS	9	14.5	38	33.9	7.63	0.006
Pto	8	12.9	29	25.9	4.02	0.045
AK	5	8.1	24	21.4	5.13	0.023
CM	2	3.2	18	16.1	6.47	0.011
耐 2 种	3	4.8	18	16.1	4.75	0.029
耐 3 种	2	3.2	15	13.4	4.68	0.031
3 种以上	2	3.2	14	12.5	4.11	0.043

3 讨 论

结核病是一种严重危害人类健康的慢性传染病, 是全球人

类重大的公共卫生问题。据世界卫生组织统计研究报告显示, 随着各地耐药监测项目的开展, 耐多药结核病病例报告数近年来逐渐上升, 耐多药结核菌株是目前结核病的流行疫情居高不下的主要原因^[6]。耐药结核病的流行和传播给结核病治疗和控制带来严峻挑战, 已使结核病成为传染病的头号杀手, 而广泛耐药结核病的发现, 更对全球公共卫生构成了极大的威胁。世界卫生组织最新报告显示, 截止 2011 年 3 月在世界 69 个国家证实了广泛耐药结核病的存在, 越来越多广泛耐药结核病病例陆续在其他国家发现^[7]。我国的耐多药结核病例总数在全世界排名第 2 位, 是结核病高负担国家之一, 耐药结核分枝杆菌给结核病的治疗带来了困扰。我国结核病流行病学抽样调查表明我国涂片阳性肺结核患者的耐多药率已达 10.7%, 广泛耐药率为 0.68%^[8]。近年来耐多药结核病的流行、广泛耐药结核病的出现增加了我国结核病防治工作的困难, 已成为我国严重的公共卫生和社会问题, 耐药结核病防治已成为我国结核病防治的重要工作之一。而耐多药结核病患者的治疗更多地依赖于二线抗结核药物, 二线药物的使用及耐药监控对于临床治疗和结核病控制工作十分重要^[9]。为此, 2011 年 5 月至 2013 年 5 月研究者对本院临床分离出的耐多药结核分枝杆菌菌株对二线抗结核药物敏感性情况进行回顾分析。资料分析结果显示, 2 年内分离出耐多药结核菌株共 174 株, 初治患者分离出 62 株, 复治者分离出 112 株。初治耐多药结核分枝杆菌对二线耐药情况是耐药顺序由高到低依次为左氧氟沙星、对氨基水杨酸、丙硫异烟胺、阿米卡星及卷曲霉素, 耐药比分别为 17.7%、14.5%、12.9%、8.1% 及 3.2%。耐 2 种的为 4.8%, 耐 3 种及 3 种以上的均为 3.2%; 而复治分离菌株对二线耐药情况时: 耐药顺次同初治, 但耐药比不同, 依次为 50.0%、33.9%、25.9%、21.4% 和 16.1%, 耐 2 种的为 16.1%、耐 3 种为 13.4%, 耐 3 种以上的为 12.5%。初治与复治各种情况耐药比率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 即复治耐药比率高于初治。由于本院药敏试验没有做卡那霉素和丁胺卡那霉素的耐药试验, 没有进行广泛耐药结核菌株统计, 分析结果显示本院药敏结果尚未发现全耐药菌株。我院耐多药结核杆菌对左氧氟沙星的耐药比为最高, 复治达 50%, 初治达 17.7%, 低于既往国内平均水平^[10]。分析原因可能有以下几点: (1) 既往喹诺酮类药物应用过于泛滥; (2) 抗结核治疗之前曾使用喹诺酮类药物; (3) 初治或复治患者在抗结核过程中使用喹诺酮类药物不合理、方案不正确及用量不足等。我院耐药比低于平均水平可能与抗菌药物管理及临床医生用药习惯等有关。另结果显示, 耐多药分离菌株呈现多种不同机制的药物耐药, 复治患者耐药情况更复杂、治疗更困难, 这就要求研究者对于耐多药的分枝杆菌结核病的治疗应采取联合治疗、足量、足疗程治疗。

总之, 目前二线抗结核药物是治疗耐多药结核病的最后一道防线, 如果不慎, 耐多药结核病对二线药物治疗效果不佳, 就意味着耐多药结核病进展为广泛耐药结核病, 那就成为可怕的不治之症, 且对自己、家人及社会危害极大。因此, 临床工作中应严格管理二线抗结核药物的使用及加强耐药监控对于临床治疗和结核病控制工作具有重要的意义。在耐多药结核病治疗中, 喹诺酮类药物和二线注射类抗结核药(下转第 1748 页)

2.2 不同年龄段血清维生素 D 水平 SSc 组 56 例患者中,男 12 例,女 42 例,其中小于 30 岁组 10 例,30~50 岁组 40 例,大于 50 岁组 6 例;对照组 60 例中,男 30 例,女 30 例,其中小于 30 岁组、30~50 岁组和大于 50 岁组段均为 20 例。两组不同年龄段间血清维生素 D₂、维生素 D₃、总维生素 D 水平比较,差异均无明显的统计学意义($P>0.05$),见表 2。

3 讨 论

SSc 主要累及皮肤、骨、关节、消化系统、肺部、心脏及肾脏等部位。维生素 D 具有调节免疫的过程,影响免疫器官效应作用;当体内维生素 D 缺乏时,免疫功能会受到一定的损害,导致 SSc 机体功能受损加剧。

维生素 D 是人体重要的营养素,同时又具有类激素样的作用,在骨代谢方面发挥着重要的作用。反映维生素 D 营养状况的最理想的指标是血清 25-羟基维生素 D 水平,测定血清 25-羟基维生素 D 水平可以了解维生素 D 的营养情况^[2]。维生素 D 在体内能够调节抑菌肽、抗菌肽及 β -防御素 2 的产生,这几个分子都与天然免疫密切相关,其中抑菌肽在对抗多种微生物如病毒、细菌、衣原体、支原体及真菌方面都有明显的作用。SSc 中肺脏受累普遍存在,且一旦累及,呈进行性发展,对治疗反应不佳。维生素 D 通过抗氧化及免疫调节等途径在肺部的防治上有积极的作用。维生素 D 能够刺激心肌收缩蛋白的合成,提高血钙浓度,有效治疗左室功能不全及预防心力衰竭。因此,血清维生素 D 浓度的高低涉及 SSc 累及多种危险因素。

从表 2 可看出,56 例各年龄段 SSc 患者的血清维生素 D 浓度明显低于对照组,总维生素 D 和维生素 D₃ 水平差异有统计学意义($P<0.05$),提示维生素 D 浓度降低者大多抵抗力明

显降低,容易患 SSc。进一步的研究分析发现,维生素 D 维持较高水平的体检者,SSc 发病率较低,表明血清维生素 D 水平与 SSc 患病率呈负相关关系。

目前,SSc 仍然是威胁人们健康的重要疾病,制订更好的 SSc 防治措施,减少传统治疗造成的不良反应至关重要。1,25-二羟维生素 D₃ 可通过多种途径调节机体免疫功能,根据机体的免疫状态,通过增强或抑制免疫功能来发挥调节免疫状态的作用^[3]。来自多个国家的超过 80 项研究结果显示^[4],在没有进行食物强化的情况下依靠普通食物,不能提供充足的维生素 D。免疫调节作用不足,导致了 SSc 累及因子活跃,进一步说明了血清维生素 D 水平与 SSc 存在相关性,而多因素所导致的维生素 D 浓度改变,可以对 SSc 的发病和进展产生重要影响。

参考文献

[1] 中华医学会风湿病学分会. 系统性硬化病诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病杂志, 2011, 15(2): 256-259.
 [2] Brannon PM, Yetley EA, Barley RL, et al. Summary of mundtable dis. cll8 on on vitamin D research needs[J]. Am J Clin Nutr, 2008, 88(2): 587-592.
 [3] 姜彬. 1,25-2 羟基维生素 D₃ 的免疫学作用及其临床应用[J]. 现代免疫学, 2010, 30(1): 85-88.
 [4] Whiting SJ, Calve MS. Dietary recommendations for vitamin D; A critical need for functional end points to establish an estimated average requirement[J]. J Nutr, 2005, 135(2): 304-309.

(收稿日期: 2014-02-08)

(上接第 1733 页)

物是耐多药结核病治疗方案的核心,对耐多药结核菌株开展二线抗结核药物敏感性监测,掌握本地区耐多药结核杆菌菌株耐二线抗结核药的情况,特别是耐注射用阿米卡星和喹诺酮类药物的敏感情况,对开展耐多药结核病控制工作,确定合理、规范的治疗方案具有非常重要的意义。

参考文献

[1] 徐东芳,王庆,陈根旺. 599 株结核分枝杆菌耐药性结果分析[J]. 安徽医药, 2011, 15(1): 117-119.
 [2] 胡远莲,何广学,刘志敏,等. 我国二线抗结核药物使用现状调查研究[J]. 中国防痨杂志, 2009, 32(3): 123-128.
 [3] 姜世闻,胡屹,张慧,等. 耐药结核病的流行简况[J]. 中国防痨杂志, 2010, 33(3): 351-353.
 [4] 王洁,陆俊梅,黄晓辰,等. 微量 MIC 检测判断结核分枝杆菌药敏的方法学研究[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(4): 315-319.

[5] 潘学琴,徐东方,王东萍,等. 251 株耐多药结核分枝杆菌二线药耐药结果分析[J]. 安徽医药, 2011, 16(9): 1339-1340.
 [6] 秦伟. 结核分枝杆菌的耐药机制与治疗进展[J]. 中国医药指南, 2013, 11(4): 458-459.
 [7] 刘一典,桂徐蔚,景玲,等. 耐多药结核分枝杆菌临床分离株 30 株对氟喹诺酮类及二线注射类抗结核药敏感性的分析[J]. 中华临床医师杂志, 2013, 7(2): 122-125.
 [8] 王生伟,李敏,陈晓红,等. 结核分枝杆菌对氨基糖苷类和喹诺酮类药物耐药性调查[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(12): 1721-1723.
 [9] 郭颖,许钦龙. 110 株结核分枝杆菌二线药敏结果分析[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(8): 1279-1280.
 [10] 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)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 3.

(收稿日期: 2014-02-18)

误 差

误差指测量值与真值之差,也指样本指标与总体指标之差。包括系统误差、随机测量误差和抽样误差。系统误差指数据收集和测量过程中由于仪器不准确、标准不规范等原因,造成观察(检测)结果呈倾向性的偏大或偏小,是可避免或可通过研究设计解决的。随机测量误差指由于一些非人为的偶然因素使观察(检测)结果或大或小,是不可避免的。抽样误差指由于抽样原因造成样本指标与总体指标的差异,是不可避免但可减少的。