

# 淮南地区结核分枝杆菌耐药性分析及5年耐药率变迁

邢应如,陈桂景,王永祥

(淮南市东方医院集团肿瘤医院检验科,安徽 淮南 232001)

**[摘要]** 目的:分析淮南地区结核分枝杆菌耐药性特点,为临床用药提供参考。方法:收集2009年1月~2011年9月本院培养分离的166株结核分枝杆菌的药敏结果和患者信息,采用绝对浓度法对培养阳性的结核分枝杆菌进行5种抗结核药物利福平(RFP,50、250 mg/L)、异烟肼(INH,1、10 mg/L)、链霉素(SM,10、100 mg/L)、乙胺丁醇(EMB,5、50 mg/L)和吡嗪酰胺(PZA,25、100 mg/L)的耐药性测定。并与2005年6月~2008年5月本院细菌室分离出的273株结核分枝杆菌的药敏结果比较。结果:2009年1月~2011年9月分离的166株结核分枝杆菌总耐药率50.6%(84株),耐多药率18.1%(30株),5种药物耐药情况为PZA>RFP>SM>INH>EMB,耐药率分别是40.9%、22.9%、20.5%、15.7%、9.6%;初始耐药率45.5%,耐多药率9.1%;获得性耐药率54.0%,耐多药率24.0%。与本地2005年6月~2008年5月比较,INH、EMB、SM的耐药率明显降低( $P<0.05$ )。结论:本地结核菌单药耐药率逐渐降低,总耐药率和耐多药率高于全国平均水平,应加强抗结核药物的耐药性监测,根据药敏结果选择有效化疗方案,防止耐药菌的传播。

**[关键词]** 结核;分枝杆菌;耐药性

**[中图分类号]** R378.91

**[文献标识码]** B

**[文章编号]** 1007-4368(2012)08-1164-04

近年来,全球受结核菌感染的人数已达20亿,其中5000万人感染了耐药结核菌,现症结核病患者中2/3以上有发生耐多药的危险<sup>[1]</sup>。我国人群中结核杆菌耐药趋势总体呈缓慢下降趋势,但与发达国家相比,仍属高耐药水平,面临的形势依然十分严峻<sup>[2]</sup>。耐药性是制约我国结核病控制的主要影响因素之一。对结核分枝杆菌进行耐药性检测,及时了解其耐药情况,不仅可以为临床提供个体用药方案,还可以为结核病防治提供依据和参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

166株(组一)结核分枝杆菌均来自2009年1月~2011年9月在本院结核病防治所确诊的结核病患者。其中男138例,女28例,患者年龄18~85岁,平均年龄53岁;通过调查门诊、住院病历和电话回访了解患者信息,根据病史可分为:①初治患者66例,入选标准是初次发现未经治疗者;②复治患者100例,入选标准是初治失败或治疗的患者再次复发,或查出肺结核后接受不规则、不合理化疗已经超过1个月者。利用本院药敏报告系统,统计出2005年6月~2008年5月本院细菌室分离出的273株(组二)结核分枝杆菌的药敏结果。

法国梅里埃公司的BacT/ALERT 3D全自动分

枝杆菌培养系统及其配套试剂(MP培养瓶和抗生素补充剂等)。改良罗氏培养基、5种一线抗结核药物纯品购于美国Sigma公司。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 细菌培养方法

痰液标本加等量2%NaOH消化处理15 min离心沉淀,体液标本直接离心,取沉淀后的标本0.5 ml左右,加入预先加入抗生素补充剂的分枝杆菌培养瓶内,然后放入3D培养系统内进行培养。取出3D系统显示阳性瓶,离心,涂片,抗酸染色,确认有抗酸杆菌后,该标本判为阳性。

#### 1.2.2 药敏实验

按《结核病诊断细菌学检验规程》制备斜面罗氏药敏培养基,每种药物均设2个浓度,分别为:利福平(RFP)50、250 mg/L,异烟肼(INH)1、10 mg/L,链霉素(SM)10、100 mg/L,乙胺丁醇(EMB)5、50 mg/L,吡嗪酰胺(PZA)25、100 mg/L。

取离心沉淀的阳性标本,无菌生理盐水稀释,与麦氏标准比浊管比浊,配成湿重1 g/L的菌悬液,再用无菌蒸馏水稀释至0.01 g/L,以无菌注射器取菌液0.1 ml分别接种于含药培养基、对照培养基斜面上,置37℃培养,4周观察结果,H37Rv药物敏感株作为质控。

#### 1.2.3 结果判断

对照管上有细菌生长为有效结果,药敏培养基上全无细菌生长或菌落数少于10个视为敏感。质控菌株应无细菌生长。

#### 1.2.4 耐药标准

从未用过抗结核药物治疗或治疗时间<1个月者为初始耐药;曾接受过≥1个月抗结核药物治疗者为获得性耐药;结核菌耐INH、RFP 2种主要抗结核药物或2种以上抗结核药物为耐多药。

#### 1.3 统计学方法

耐药率以百分比表示,两两比较采用卡方检验,经SPSS17.0统计软件处理, $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 166株结核分枝杆菌药敏结果

从临床患者中分离出166株结核分枝杆菌,药敏结果显示耐药株84株,敏感株82株,总耐药率50.6%。耐单药38株(22.9%),耐2种药16株(9.6%),耐多药30株(18.1%)(表1);没有发现耐

INH和RFP 2种抗结核药物的结核菌株,20株耐INH、RFP都伴有其他药物的耐药;去除PIA的4种药物总耐药率31.3%,耐多药率12.0%。5种药物耐药情况为PZA > RFP > SM > INH > EMB,其中耐PZA 68株,耐RFP 38株,耐SM 34株,耐INH 26株,耐EMB 16株;其耐药率分别是40.9%、22.9%、20.5%、15.7%、9.6%(表2)。

### 2.2 初始耐药与获得性耐药情况

66例初治患者耐药株30株,耐药率45.5%,其中耐单药18株,耐2种药6株,耐多药6株,耐药率分别是27.3%、9.1%、9.1%。100例复治患者耐药株54株,耐药率54.0%,其中耐单药20株,耐2种药10株,耐多药24株,耐药率分别是20.0%、10.0%、24.0%。66例初治患者5种药物PZA、RFP、SM、INH、EMB耐药率分别是30.3%、18.2%、18.2%、9.1%、3.0%;100例复治患者5种药物耐药率分别是48.0%、26.0%、22.0%、20.0%、14.0%。获得性耐药株中PZA、RFP、INH的药物高浓度耐药率升高(表1、2)。

表1 166株结核分枝杆菌药敏试验结果

[n(%)]

组别	n	耐单药	耐2种药	耐多药	合计
初始耐药	66	18(27.3)	6(9.1)	6(9.1)*	30(45.5)
获得性耐药	100	20(20.0)	10(10.0)	24(24.0)	54(54.0)
合计	166	38(22.9)	16(9.6)	30(18.1)	84(50.6)
去PZA耐药	166	18(10.8)	14(8.4)	20(12.0)	52(31.3)

与获得性耐药比较,\* $P = 0.015$ 。

表2 166株结核分枝杆菌5种药物不同浓度耐药情况

[n(%)]

药物种类	浓度(mg/L)	初始耐药	获得性耐药	合计
INH	1	6(9.1)	20(20.0)	26(15.7)
	10	2(3.0)	8(8.0)	10(6.0)
RFP	50	12(18.2)	26(26.0)	38(22.9)
	250	6(9.1)	16(16.0)	22(13.3)
EMB	5	2(3.0)	14(14.0)	16(9.6)
	50	2(3.0)	2(2.0)	4(2.4)
SM	10	12(18.2)	22(22.0)	34(20.5)
	100	8(12.1)	10(10.0)	18(10.8)
PZA	25	20(30.3)	48(48.0)	68(40.9)
	100	8(12.1)	28(28.0)	36(21.7)
合计		66	100	166

### 2.3 结核分枝杆菌的耐药变迁

组一与组二比较,抗结核分枝杆菌药物INH、EMB、SM的耐药率明显降低( $P < 0.05$ ),RFP、PZA耐药率略有降低但没有显著差异(表3)。组二5种药物耐药排序为PZA > SM > REF > INH=EMB。

## 3 讨论

本研究表明淮南地区结核菌5种抗结核药物总耐药率50.6%,耐多药率18.1%,去除PZA其余4种药物总耐药率31.3%,耐多药率12.0%,高于文献报

表3 166株结核分枝杆菌与本院2005~2008年结核分支杆菌耐药情况比较

药物种类	浓度(mg/L)	组一(166株)	组二(273株)	$\chi^2$ 值	P值
INH	1	26(15.7)	69(25.3)	5.625	0.018
	10	10(6.0)	16(5.9)	0.003	0.959
RFP	50	38(22.9)	77(28.2)	1.508	0.220
	250	22(13.3)	13(4.8)	10.144	0.001
EMB	5	16(9.6)	69(25.3)	16.165	0.000
	50	4(2.4)	31(11.4)	11.259	0.001
SM	10	34(20.5)	96(35.2)	10.677	0.001
	100	18(10.8)	61(22.3)	9.253	0.002
PZA	25	68(40.9)	67(42.4)*	0.069	0.793
	100	36(21.7)	41(25.9)*	0.812	0.368

\*:检测数158株。

道24.8%、9.1%<sup>[2]</sup>和27.8%、10.7%<sup>[3]</sup>的全国水平。可能原因是本地区以矿区为主,经济相对较落后,文化医疗水平低,患者治疗时间长,督导化疗不彻底,患者依从性差<sup>[4]</sup>,使得耐药菌株感染流行(初始耐药率45.5%)。耐多药肺结核疗程长,治疗难度大,一旦治疗失败将会引起更大的公共卫生问题。政府应进一步加大结核病防治的投入,改善医疗环境,全面推行合理化疗方案和加强贯彻全程督导治疗力度。

本研究测定的5种抗结核药物中,其耐药顺序为:PZA > RFP > SM > INH > EMB,耐药率分别为40.9%、22.9%、20.5%、15.7%、9.6%。PZA在酸性环境中对缓慢生长的细胞内菌群具有灭菌活性,推荐在耐多药结核菌的治疗中全程使用,本研究PZA耐药率为40.9%,应引起临床重视。SM的耐药率较高(20.5%),可能与其除应用于抗结核病外,还用于一般细菌治疗有关,可改用含EMB或卷曲霉素的治疗方案取代含SM的方案,以提高结核菌敏感率。RFP是一线抗结核药物中最有效的药物,RFP耐药常常合并INH耐药。可能与用含RFP、INH的多药联合治疗方案治疗初、复治患者有关。这些一线结核药物单用容易产生耐药,且耐药结核菌对二线抗结核药物的耐药率较高<sup>[5]</sup>,为应对耐药结核菌的传播,世界卫生组织制定了“耐药结核病规划管理指南2008”<sup>[6]</sup>,根据国内的结核菌耐药特点和实践经验,我国也提出了耐药结核病化学治疗原则与对策<sup>[7-8]</sup>,对结核药物作用机制、分类、用药原则、化疗疗程等作了详细的说明。我国根据结核病不同类型给予相应的I类(新发/初治)和II类(复治)标准抗结核化学治疗方案,重视结核菌快速鉴定和药敏结果,根据结核菌药敏结果制订个体化治疗方案,坚持标准化、经验化和个体化方案相结合。这些指南为本地区结核病规范化的治疗提供了依据,已广泛应用于临床一

线治疗,5种药物耐药率与2008年之前比较均降低,INH、EMB、SM的耐药率明显降低,说明本地区结核病规范化治疗取得了一定的成效。

本实验获得性耐药率(54.0%)高于初治耐药率(45.5%),耐多药株达24.0%明显高于初治耐药的9.1%。耐药菌株出现多是不充分或不正确的治疗等人为因素所致<sup>[6]</sup>。结核杆菌有多种耐药机制,陆军等<sup>[9]</sup>研究认为淮南地区结核分支杆菌L型100%耐药,其中不稳定型占78.85%,不稳定型可回复为细菌型,是引起结核病恶化和内源性复发的细菌学根源,耐药株中存在katG、rpoB、rpsL耐药基因突变。目前认为结核菌耐药与多种基因突变相关<sup>[10]</sup>,获得性耐药主要是基因突变,导致抗生素靶位变异或药物在细胞内处于无活性状态。分枝杆菌存在药物主动外排泵的表达,可能是另一种重要的耐药机制<sup>[11-12]</sup>。

综上所述,淮南地区结核菌单药耐药率逐渐降低,但总耐药率和耐多药率高于全国平均水平,政府应加大结核病预防和治疗的投入,各级卫生医疗系统应加强实验室培养和药敏性监测,根据药敏特点调整用药,控制结核流行,减少耐多药菌株的产生。

## [参考文献]

- [1] 施鸿生,王苏民,刘宇红.结核病耐药监测述略[J].中华结核和呼吸杂志,2000,23(7):391-392
- [2] 王倩,闫忠芳,黄淑萍,等.我国结核病耐药状况及其变化趋势分析[J].中国药房,2007,18(2):93-96
- [3] 刘宇红,姜广路,赵立平,等.第四次全国结核病流行病学抽样调查-结核分支杆菌耐药性分析与评价[J].中华结核和呼吸杂志,2002,25(4):224-227
- [4] 陈建,李宁秀,万康林,等.四川和安徽两省结核耐药危险因素分析[J].四川大学学报(医学版),2007,38(1):135-137
- [5] 沈鑫,李静,高谦,等.2009年上海市耐药肺结核患者二线抗结核药物耐药状况调查[J].中华结核和

- 呼吸杂志,2011,34(6):451-453
- [6] World Health Organization.Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis.Emergency update,2008[R].Geneva,WHO,2008:402
- [7] 中国防痨协会.耐药结核病化学治疗指南(2009)[J].中华结核和呼吸杂志,2010,33(7):485-497
- [8] 肖和平.中国耐药结核病的流行现状与治疗对策[J].中华结核和呼吸杂志,2010,33(7):481-482
- [9] 陆军,叶松,李朝品.淮南矿区尘肺结核患者结核分支杆菌L型耐药性及相关基因突变[J].中华劳动卫生职业病杂志,2007,25(6):369-371
- [10] 吴雪琼.耐药性结核分支杆菌的分子生物学研究现状[J].中华结核和呼吸杂志,2006,29(12):837-840
- [11] De Rossi E,Ainsa JA,Riccardi G.Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance;an unresolved question[J].FEMS Microbiol Rev,2006,30(1):36-52
- [12] Colangeli R,Helb D,Sridharan S,et al. The Mycobacterium tuberculosis iniA gene is essential for activity of an efflux pump that confers drug tolerance to both isoniazid and ethambutol [J]. Mol Microbiol,2005,55 (6):1829-1840

[收稿日期] 2012-03-20

## 科技出版物中数字的用法

1. 凡是可以用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。
2. 日期和时刻的表示。需注意年份不能简写,如1997年不能写成97年。
3. 计量或计数单位前的数字应采用阿拉伯数字;多位阿拉伯数字不能拆开转行;小数点前或后超过4位数(含4位)的应从小数点起向左或向右每3位空出适当间隙,不用千分撇“,”;数值的有效数字应全部写出,如“1.50、1.75、2.00”,不能写成“1.5、1.75、2”。
4. 参数与偏差范围的表示:
  - (1) 数值范围:5~10;注意 $3 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ ,不能写成 $3 \sim 8 \times 10^3$ ;
  - (2) 百分数范围:20%~30%,不能写成20~30%;
  - (3) 具有相同单位的量值范围:1.5~3.6 mA不必写成1.5 mA~3.6 mA;
  - (4) 偏差范围:( $25 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 不写成 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,( $85 \pm 2$ )%不能写成 $85 \pm 2\%$ ;
5. 附带尺寸单位的量值相乘写为:50 cm × 80 cm × 100 cm,不能写成 $50 \times 80 \times 100 \text{ cm}$ ,或 $50 \times 80 \times 100 \text{ cm}^3$ 。

(本刊编辑:接雅俐)