

## 279 株结核分枝杆菌耐药情况分析

陈连勇, 马利, 茹浩浩, 王金玉, 许琳  
(云南省疾病预防控制中心, 云南昆明 650022)

**[摘要] 目的** 了解目前云南省结核病耐药情况, 为临床治疗及制定策略提供依据. **方法** 采用世界卫生组织推荐的比例法对临床分离的结核分枝杆菌菌株进行 INH、RFP、EMB、SM 4 种一线抗结核药物的药敏试验.

**结果** 301 株分枝杆菌分离株中 279 株 (92.7%) 为结核杆菌复合群, 结核分枝杆菌的总体耐药率为 31.5% (88/279), 其中初始耐药率为 27.3%, 获得性耐药率为 44.3%; 结核杆菌对 INH、RFP、EMB 和 SM 的耐药率分别为 19.7%、10.8%、12.9% 和 19.0%, 耐多药率为 9.3%. 总体耐药情况与云南省既往数据以及全国水平基本持平.

**结论** 结核病控制工作任重道远. 应及早发现耐药结核病患者并给予规律治疗, 同时应把耐药趋势的追踪和耐药监测作为结核病防治规划的重要组成部分并定期观察.

**[关键词]** 结核病; 结核分枝杆菌; 耐药

**[中图分类号]** R378.91+1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 01-0047-04

## Analysis on Resistance Status of 279 Strains of *Mycobacterium tuberculosis*

CHEN Lian-yong, MA Li, RU Hao-hao, WANG Jin-yu, XU Lin  
(Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming Yunnan 650022, China)

**[Abstract] Objective** The purpose of the study was to understand the resistance status of *Mycobacterium tuberculosis* to anti-tuberculosis drug in Yunnan province, and to provide evidence for tuberculosis (TB) control.

**Methods** The proportional method was used in drug sensitivity test according to the guidelines recommending by WHO.

**Results** Of 301 mycobacterial isolates, 279 (92.7%) strains were *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC). The total drug resistance rate was 31.5% (88/279), the initial drug resistance rate of *M. tuberculosis* was 27.3%, and the acquired drug resistance rate was 44.3%. The drug resistance rates to INH, RFP, EMB and SM were 19.7%, 10.8%, 12.9% and 19.0%, respectively. The multi-drug resistance (MDR) rate was 9.3%.

**Conclusion** The drug resistant rate of *M. tuberculosis* is still high in Yunnan province, and TB control is still a long way to go. Early detection and regular treatment should be done for MDR patients. Drug resistance monitoring as an important part of TB control programs should be regular observation and research.

**[Key words]** Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Drug resistance

结核病旧称“痨病”, 是一种由结核分枝杆菌引起的严重危害人类健康的慢性传染病, 也是全球关注的公共卫生问题. 为了控制结核病, 云南省自 2002 年起开始全面启动现代结核病控制策略 (DOTS 策略), 对传染性肺结核病人实行医务人员

面视下的免费抗结核治疗. 然而, 随着结核病防治工作的深入开展, 目前云南省结核病控制面临耐药结核特别是耐多药结核病的重大挑战. 为了解云南省目前结核病耐药情况, 将云南省疾病预防控制中心 2008 年 1 月至 2009 年 12 月门诊及住

**[基金项目]** 卫生部国外贷款办公室世行贷款 / 英国赠款中国结核病控制项目实施性研究课题 (卫贷办便函[2006]185 号 编号:003 号)

**[作者简介]** 陈连勇 (1974~), 男, 江西吉安市人, 医学硕士, 主管技师, 主要从事结核病防治工作.

**[通讯作者]** 许琳. E-mail: xulinth@hotmail.com

院肺结核病人痰标本 301 例进行分离培养, 对阳性菌株分别做菌型鉴定和药物敏感性测定, 现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

结核杆菌标准株 (H37RV) 由中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心国家参比实验室提供; 分枝杆菌分离株为收集云南省疾病预防控制中心 2008 年 1 月至 2009 年 12 月的门诊及住院肺结核病人的痰标本 301 例, 经分离培养后获得。

### 1.2 试剂

酸性罗氏培养基、改良罗氏培养基和含药培养基均购自珠海贝索生物技术有限公司。

### 1.3 培养方法

分枝杆菌培养和药敏试验方法参照《结核病诊断实验室检验规程》<sup>[1]</sup>, 痰标本用 4% NaOH 前处理, 然后分别接种在 2 支酸性罗氏培养基上培养分离分枝杆菌, 培养阳性的菌株做菌型鉴定和药物敏感性试验。

### 1.4 菌型鉴定

操作方法参照《结核病诊断实验室检验规程》<sup>[1]</sup>, 阳性培养物先经对硝基苯甲酸 (PNB) 和噻吩-2-羧酸肼 (TCH) 鉴别培养基生长试验, 进行人型与牛型、结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌的菌型鉴定。

### 1.5 药物敏感性试验

采用世界卫生组织 / 国际防痨和肺病联合会 (WHO/IUATLD) 推荐的比例法<sup>[1,2]</sup>。用磨菌管法磨菌, 并逐步稀释, 配成  $10^{-2}$  mg/mL 和  $10^{-4}$  mg/mL 的结核分枝杆菌菌悬液。用接种环分别沾取  $10^{-2}$  mg/mL 和  $10^{-4}$  mg/mL 的菌悬液 0.01 mL, 接种至对照及含药培养基斜面。所用对照和基础培养基为无淀粉改良罗氏培养基, 分别对异烟肼 (INH)、利福平 (RFP)、链霉素 (SM)、乙胺丁醇 (EMB) 4 种药做药物敏感性试验。4 种含药培养基内药物的终浓度分别为: INH 0.2  $\mu$ g/mL, RFP 40  $\mu$ g/mL, SM 4  $\mu$ g/mL, EMB 2  $\mu$ g/mL。37℃ 恒温培养箱培养, 至四周后观察结果并记录培养基上菌落生长情况, 计算耐药百分比。耐药百分比 <1% 者报告为敏感,  $\geq 1\%$  为耐药。

### 1.6 质量控制

每批药敏试验用 H37RV 作为敏感对照, 检测含药培养基质量, 若高稀释度菌液 (10~4 mg/mL) 在对照培养基上生长的菌落数少于 20 个菌落, 则

从对照管传代培养, 重复试验。

## 1.7 统计学处理

采用统计软件 R6.0 对研究对象进行  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 菌种鉴定

共对 301 株分枝杆菌分离株进行了菌型鉴定和药敏试验。经 PNB 和 TCH 鉴别培养基进行菌型鉴定, 其中 279 株 (92.7%) 为结核分枝杆菌复合群, 22 株 (7.3%) 为非结核分枝杆菌 (NTM)。

### 2.2 初始及获得性耐药

279 株结核分枝杆菌中, 191 株 (68.46%) 对 INH、RFP、EMB、SM 四种抗结核药全部敏感, 而对任一种或一种以上抗结核药物耐药的 88 株, 耐药率为 31.5%。其中初始耐药率为 27.3%, 获得性耐药率为 44.3% (表 1), 获得性耐药高于初始耐药 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 对不同抗结核药物的耐药情况

结核分枝杆菌对 INH 的耐药率最高 (19.7%), 而对 RFP 的耐药率最低 (10.8%), 耐药率波动在 10.8%~19.781% 之间。耐多药率 (同时耐 INH 和 RFP, MDR) 为 9.3%, 其中获得性耐多药率显著高于初始耐多药 ( $P < 0.01$ )。结核分枝杆菌对各种抗结核药物的初始耐药及获得性耐药情况见表 2。

### 2.4 不同性别、年龄、职业和民族人群的耐药情况

对 279 株结核分枝杆菌作进一步分析, 其中男性耐药率为 33.3%, 女性为 28.4%, 男女耐药率无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

在不同年龄组中, 以 20~40 岁年龄组耐药率最高 (33.9%),  $\leq 20$  岁年龄组耐药率最低, 但不同年龄组之间耐药率无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

与来自其他民族的结核病患者耐药相比, 来自汉族结核病患者感染的结核分枝杆菌耐药率要高, 但两者之间耐药率无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。同样, 农民和其他职业结核病患者所感染的结核分枝杆菌耐药率也无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 具体耐药情况见表 3。

## 3 讨论

耐药结核病的增多与传播已成为全球结核病发病率急骤上升的原因之一, 特别是耐多药肺结核的发生对结核病的控制造成了极大的威胁<sup>[3]</sup>。耐药结

表 1 结核分枝杆菌初始及获得性耐药情况

Tab. 1 The initial and acquire drug resistance of *M.tuberculosis*

类别	检测数 (株)	敏感数 (株)	耐任一种或一种以上抗结核药物数 (株)	耐药率 (%)
初始耐药	209	152	57	27.3
获得性耐药	70	39	31	44.3*
合计	279	191	88	31.5

与初始耐药比较, \* $P < 0.05$ .

表 2 结核分枝杆菌对不同药物的耐药情况

Tab. 2 The drug resistance of *M.tuberculosis* to different drugs

耐药种类	初始耐药 (株)			获得性耐药 (株)			总体耐药 (株)		
	检测数 (株)	耐药数 (株)	耐药率 (%)	检测数 (株)	耐药数 (株)	耐药率 (%)	检测数 (株)	耐药数 (株)	耐药率 (%)
INH	209	28	13.4	70	27	38.6**	279	55	19.71
RFP	209	9	4.3	70	21	30.0**	279	30	10.8
EMB	209	14	6.7	70	22	31.4**	279	36	12.9
SM	209	36	17.2	70	17	24.3**	279	53	19.0
MDR	209	8	3.8	70	18	25.7**	279	26	9.3

与初始耐药比较, \*\* $P < 0.01$ .

表 3 不同性别、年龄、民族和职业结核病患者耐药情况

Tab. 3 The drug resistant of TB patients with different genders, ages, nationalities and occupations

项目	检测数 (n)	耐药数 (n)	耐药率 (%)	$\chi^2$	$P$
性别					
男	177	59	33.3		
女	102	29	28.4	0.511	0.47
年龄组 (岁)					
≤20	12	3	25.0		
20~40	127	43	33.9		
40~60	79	26	32.9		
>60	61	16	26.2	1.419 3	0.70
民族					
汉族	233	76	32.6		
其它	46	12	26.1	0.486 5	0.49
职业					
农民	243	74	30.5		
其它	36	14	38.9	0.679 7	0.409 7

核病防治是目前结核病控制面临的重大挑战之一。及时掌握结核病疫情和结核杆菌耐药情况, 对开展结核病耐药菌监测具有非常重要的意义。结核杆菌耐药根据其产生的原因不同可分为原发性耐药和获得性耐药, 而原发耐药是耐药结核病产生的重要原因<sup>[4]</sup>。原发耐药需严格掌握既往用药情况, 较难准确获得。目前常用初始耐药率来代替<sup>[5]</sup>。笔者对本室分离的 301 株分枝杆菌分离株进行了菌型鉴定和药敏试验, 结果显示, 在 279 株结核杆菌中, 总体

耐药率、初始耐药率和获得性耐药率分别为 31.5%、27.3% 和 44.3%, 此结果与我省既往研究结果<sup>[6,7]</sup>基本一致 ( $P > 0.05$ )。与 2000 年全国结核流调 (27.8%、18.6% 和 46.5%)<sup>[8]</sup>数据相比, 初始耐药率略高于全国结核流调数据 ( $P < 0.05$ ), 而获得性耐药率、总体耐药率和耐多药率均与 2000 年全国结核流调数据基本一致 ( $P > 0.05$ )。与 2008 年全国耐药基线调查结果<sup>[9]</sup>相比, 除总体耐药率略低于全国水平外, 初始耐药率、获得性耐药率及耐多

药率与全国基本一致 ( $P > 0.05$ )。虽然本研究仅是对到本中心就诊的病例的研究,但也从一个侧面反映了云南省结核耐药形势不容乐观,必须加强结核病的防治力度。

本研究显示,在不同职业与民族方面,耐药率也无显著性差异,这可能与研究对象主要来源于农民和汉族人群,其它职业人群和民族病例较少等原因有关,但具体原因还有待今后的进一步研究<sup>[10-13]</sup>。

通过本次对云南省的药敏检测结果分析表明,云南省的结核杆菌的耐药率依然处于高水平,提示结核病控制工作依然任重道远。及早发现耐药病人,坚持早期、联合、规律、适量及全程的原则,加强医务人员的责任心,提高患者依从性,提高初治肺结核的治疗成功率,减少耐药菌株发生,对于结核病控制具有十分重要的意义。更重要的是,应把耐药趋势的追踪和耐药监测作为结核病防治规划的重要组成部分,进行定期观察、研究,为制定决策提供科学依据。

#### [参考文献]

- [1] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006: 46 - 65.
- [2] WHO/IUATLD. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis [M]. Geneva: WHO, 1997: 2 - 12.
- [3] 郑蓉蓉, 张向东, 黄成基. 875株结核分枝杆菌耐药情况分析[J]. 现代预防医学, 2008, 35(23): 4 697 - 4 698.

- [4] 梅建, 薛桢, 沈鑫, 等. 原发耐药是耐药结核病产生的重要原因[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(2): 75 - 78.
- [5] 屠德华. 耐药性结核病的流行病学特征和意义[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1998, 20(6): 327 - 328.
- [6] 李琳, 华建昭, 许琳, 等. 云南省结核分枝杆菌地方菌株耐药监测[J]. 实用预防医学, 2006, 13(3): 642 - 643.
- [7] 华建昭, 许琳, 李琳. 云南省结核分枝杆菌耐药性监测研究[J]. 实用预防医学, 2006, 13(4): 911 - 912.
- [8] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2002, 24(2): 65 - 108.
- [9] ZHAO Y, XU S, WANG L, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China [J]. N Engl J Med, 2012, 366(23): 2 161 - 2 170.
- [10] 夏乾峰, 文阳安, 涂植光, 钱士匀, 覃西. 靶向巨噬细胞表达抗菌肽PR39基因抗胞内结核分枝杆菌的研究[J]. 海南医学院学报, 2011, 17(3): 292 - 295.
- [11] 张悦宁, 陈慧敏, 邬强. 结核分枝杆菌rmlA基因的生物信息学分析[J]. 海南医学院学报, 2012, 18(2): 145 - 148.
- [12] 蔡群芳, 邬强, 刘珊, 等. 结核分枝杆菌fbpB基因植物表达载体的构建及鉴定[J]. 海南医学院学报, 2012, 18(3): 289 - 291.
- [13] 李晓荣, 华树成. 聚合酶链反应-单链构象多态性技术鉴别结核分枝杆菌利福平耐药基因[J]. 海南医学院学报, 2007, 13(6): 527 - 529.

(2013 - 12 - 09 收稿)

(上接第 36 页)

教学内容, 提高机能学实验的综合性, 增强学生的临床意识。

#### [参考文献]

- [1] 金惠铭, 王建枝主编. 病理生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 30 - 46.
- [2] 杨黎黎. 以家兔为对象的高钾血症模型的制备方法[J]. 实验科学与技术, 2011, 9(2): 91 - 93.
- [3] 王晓晴, 杨建宇主编. 医学机能学实验教材[M]. 昆明: 云南大学出版社, 2009: 130 - 135.
- [4] 董雅洁, 陈锴峰, 王经纬, 等. 高钾血症实验动物模型的制备及其应用的进展 [J]. 承德医学院学报, 2009, 26(3): 300 - 303.

- [5] 王洋帆, 程军, 曾强志. 心电图对高钾血症的鉴别意义[J]. 中国医学创新, 2009, 6(24): 128 - 129.
- [6] RYAN WONG, RUPALI BANKER, PAUL ARONOWITA. Electrocardiographic changes of severe hyperkalemia [J]. Hospital Medicine, 2011, 6(4): 240 - 243.
- [7] ANJA LEHNHARDT, MARKUS J, KEMPER, et al. Diagnosis and management of hyperkalemia [J]. Pediatr Nephrol, 2011, 26(3): 377 - 384.
- [8] 赵雨晶, 陈雪, 安英, 等. 机能实验中高钾血症实验的改进[J]. 吉林医药学院学报, 2009, 26(3): 210.

(2013 - 12 - 14 收稿)