

海口地区耐药结核病的流行病学特征及其影响因素分析

夏欢, 潘在兴, 洪云, 赵庆珠, 范维丽

中南大学湘雅医学院附属海口医院医学检验科, 海南海口 570100

[中图分类号] R521; R181.3 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1018.2024.0407

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 夏欢, 潘在兴, 洪云, 等. 海口地区耐药结核病的流行病学特征及其影响因素分析[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(8): 973-976.

[收稿日期] 2023-08-01 [录用日期] 2023-12-28 [上线日期] 2024-04-07

[关键词] 结核病; 结核分枝杆菌; 耐药; 基因型; 间隔区寡核苷酸基因分型法

结核病 (tuberculosis, TB) 由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 感染引起, 是一个全球性的健康问题^[1]。近年来, MTB 耐药成为 TB 控制面临的严峻课题^[2], 尤其是耐药 TB (drug-resistant tuberculosis, DR-TB) 患者快速增多和广泛流行^[3]。DR-TB 可导致 TB 的高患病率、高病死率, 造成治疗过程延长和成本增高, 还可在社区人群传播引起暴发流行^[4]。世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 的报告显示, 2022 年全球新发 1060 万例 TB, 其中耐多药/利福平耐药 TB 患者 41 万例 (3.9%), 初治患者中占 3.3%, 复治患者中占 17.0%^[5]。我国在全球耐多药 TB 高负担国家中居第三, 不同省份 MTB 耐药率不同。例如, 2018 年四川省痰涂片阳性 TB 患者耐药率和耐多药率分别为 18.62% 和 6.43%^[6]; 2015—2016 年安徽省则分别为 11.42% 和 7.63%^[7]。海口是地处热带、海岛城市, 2015—2016 年痰涂片阳性肺 TB 患者耐药率和耐多药率分别为 21.0% 和 6.9%^[8], 耐药情况不容乐观^[9]。本研究旨在分析海口地区 DR-TB 患者流行病学特征和 DR-TB 耐药基因分布及其影响因素, 为制定相应的防控策略提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象 回顾性选取 2021 年 10 月 1 日—2022 年 12 月 31 日在海口市人民医院下属结核病防治医院 (原海口市结核病防治所) 新登记的 1000 例痰涂片抗酸杆菌阳性肺 TB 患者。纳入标准: (1) 调查时间段内在监测点 TB 防治机构登记治疗且痰涂片抗酸杆菌阳性的肺 TB 患者; (2) 痰涂片抗酸杆菌阳性结果判

读标准参照《结核病实验室检验规程》^[10]; (3) 患者自愿接受调查并签订知情同意书, 能完成调查问卷。排除在调查前已经开始、调查期间正在接受治疗的初、复治 TB 患者。本研究获海口市人民医院生物医学伦理委员会审批 [2021-(伦审)-345]。

1.2 方法

1.2.1 MTB 培养实验 将痰标本混匀, 加入其 1~2 倍体积 4% NaOH 溶液, 涡旋振荡 30~60 s 后室温静置 15 min, 取 0.1 ml 上述混悬液的上清液接种至酸性罗氏培养管斜面, 置于 37℃ 恒温箱培养并观察结果, 培养管内有抗酸杆菌生长则报告阳性。

1.2.2 菌种鉴定 采用对硝基苯甲酸培养基和噻吩-2-羧酸胍培养基来区别 MTB 和非结核分枝杆菌 (non-tuberculous mycobacteria, NTM)。

1.2.3 药物敏感性试验 采用 WHO 推荐的直接比例法进行。共检测 8 种抗结核药物, 即异烟肼 (isonicotinic acid hydrazide, INH)、利福平 (rifampicin, RFP)、链霉素 (streptomycin, SM)、乙胺丁醇 (ethambutol, EMB)、氧氟沙星 (ofloxacin, OFX)、卡那霉素 (kanamycin, KM)、丙硫异烟胺 (prothionamide, PTH) 和卷曲霉素 (capreomycin, CPM)。耐药百分比 = 含药培养基上生长的菌落数 / 对照培养基上生长的菌落数 × 100%。按照上述方法计算耐药百分比, 若结果 ≥ 1%, 则为受试菌对该抗结核药物耐药; 否则判读为敏感。

1.2.4 耐药评估 耐药类型参考中国防痨协会《耐药结核病化学治疗指南 (2019 年简版)》^[11] 中的评估标准。

[基金项目] 海南省自然科学基金 (822MS203); 海南省卫生健康行业项目 (21A200420)

[作者简介] 夏欢, 硕士研究生, 副主任技师, 主要从事传染病病原体临床免疫学检测方面的研究

1.2.5 MTB菌株基因分型 采用MTB溶解曲线间隔区寡核苷酸分型(melting curve analysis-based Spoligotyping, Mc Spoligotyping)检测试剂盒(购自厦门致善生命科学有限公司)进行检测,操作严格按照说明书进行。

1.3 主要研究变量的概念及定义 相关概念与定义参考中国防痨协会《耐药结核病化学治疗指南(2019年简版)》^[11]。

1.4 统计学处理 采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计数资料以例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。检验均为双侧概率检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株纳入情况 共纳入符合标准的涂阳患者1000例,其中初治患者670例,复治患者330例。经培养、鉴定后纳入耐药性分析的MTB共计891株,其中从初治患者中分离的MTB 596株,复治患者中分离的MTB 295株(82株为培养阴性或污染的菌株,23株为NTM,4株阳性菌株患者信息调查表不完整)。

2.2 MTB耐药情况 891株MTB中,耐药菌株160株,总耐药率18.0%。来自初治患者的耐药菌株共计65株,耐药率10.9%;来自复治患者的耐药菌株共计95株,耐药率32.2%,明显高于初治患者($P<0.001$)。初治患者各耐药类型的耐药率均明显低于复治患者($P<0.05$,表1)。

表1 海口地区不同结核病耐药类型的耐药率[株(%)]

Tab.1 Drug resistance rate of drug-resistant tuberculosis patients in Haikou [cell strain (%)]

耐药类型	来自初治患者的MTB(n=596)	来自复治患者的MTB(n=295)	χ^2	P
单耐药TB	53(8.9)	78(26.4)	48.453	<0.001
多耐药TB	2(0.3)	5(1.7)	4.678	0.043*
耐多药TB	6(1.0)	10(3.4)	6.335	0.012
广泛耐药TB	2(0.3)	5(1.7)	4.678	0.043*
准广泛耐药TB	4(0.7)	7(2.4)	4.687	0.030
利福平耐药TB	61(10.2)	85(28.8)	49.713	<0.001
合计	65(10.9)	95(32.2)	60.752	<0.001

MTB. 结核分枝杆菌; TB. 结核病; *. Fisher确切概率法结果

2.3 耐药和非耐药TB患者基本情况比较 18~60岁的TB患者耐药率明显高于<18岁和>60岁的TB患者($P<0.05$);居住在市区的TB患者耐药率低于非市区患者($P=0.005$);文化水平为高中以下的TB患者耐药率明显高于高中及以上者($P=0.007$);家庭年收入<2万元的TB患者耐药率明显高于家庭年收入 ≥ 2 万

元者($P<0.001$);初治TB患者耐药率明显低于复治患者($P<0.001$);男性TB患者耐药率与女性差异无统计学意义($P>0.05$,表2)。

表2 海口地区耐药和非耐药结核病患者基本情况比较[例(%)]

Tab.2 Comparison of basic data sensitive and drug-resistant tuberculosis patients in Haikou [n(%)]

项目	非耐药结核病患者(n=731)	耐药结核病患者(n=160)	χ^2	P
性别			2.070	0.150
男	516(80.9)	122(19.1)		
女	215(85.0)	38(15.0)		
年龄			9.043	0.009
<18岁	68(93.2)	5(6.9)		
18~60岁	546(80.1)	136(19.9)		
>60岁	117(86.0)	19(14.0)		
现住址			8.056	0.005
市区	308(86.5)	48(13.5)		
非市区	423(79.1)	112(20.9)		
文化水平			7.252	0.007
高中以下	452(79.4)	117(20.6)		
高中及以上	279(86.7)	43(13.4)		
家庭年收入			21.891	<0.001
<2万元	382(76.7)	116(23.3)		
≥ 2 万元	349(88.8)	44(11.2)		
治疗史			60.752	<0.001
初治	531(89.1)	65(10.9)		
复治	200(67.8)	95(32.2)		

2.4 耐药TB患者影响因素的多因素非条件logistic回归分析 建立非条件logistic回归模型,以是否发生耐药作为因变量,赋值1=耐药,0=非耐药;以表2中 $P<0.05$ 的因素作为协变量,以年龄、现住址(非市区=0,市区=1)、文化水平(高中以下=0,高中及以上=1)、家庭年收入(<2万元=0, ≥ 2 万元=1)、治疗史(初治=0,复治=1)作为协变量。logistic回归分析结果显示,年龄18~60岁、现住址非市区、文化水平高中以下、家庭年收入<2万元、复治是TB患者耐药的风险因素($P<0.05$,表3)。

2.5 敏感和耐药MTB菌株的McSpoligotyping基因分型情况 将培养所得的891株MTB菌株经McSpoligotyping试验,得到891个43位二进制码,按1—34间隔区是否缺失分为北京基因型(或称北京家族)和非北京基因型。结果显示,北京基因型561株,其中耐药MTB 116株,耐药率20.7%;非北京基因型330株,其中耐药MTB 44株,耐药率13.3%。北京基因型MTB菌株的耐药率明显高于非北京基因型($\chi^2=7.607$, $P=0.006$)。

表3 海口地区耐药结核病患者影响因素的多因素非条件logistic回归分析结果

Tab.3 Multivariate unconditional logistic regression analysis of tuberculosis patients in Haikou

变量	β	S.E	Walds	P	OR(95%CI)
年龄	0.059	0.024	5.907	0.015	1.060(1.011~1.112)
现住址	1.738	1.191	2.129	0.045	5.687(1.868~9.426)
文化水平	2.437	1.025	5.659	0.017	11.442(1.536~85.239)
年收入	2.933	1.156	6.435	0.011	18.790(1.948~81.238)
治疗史	-3.356	0.998	11.296	0.001	0.053(0.005~0.247)

2.6 MTB基因分型聚类分析 将McSpoligotyping基因分型数据提交至国际数据库MIRU-VNTR plus中进行基因聚类分析。结果显示,731株敏感型MTB共有217种基因型,其中576株分为62个基因簇,成簇率为78.8%;160株耐药型MTB共有105种基因型,其中67株分为12个基因簇,成簇率为41.9%。敏感型MTB菌株的成簇率明显高于耐药型菌株的成簇率($\chi^2=89.085, P<0.001$)。

3 讨论

本研究共收集891株MTB,其中耐药菌株160株,总耐药率18.0%;来自初治患者的耐药菌株65株,耐药率10.91%;来自复治患者的耐药菌株95株,耐药率32.2%,初治患者耐药率明显低于复治患者。进一步分析不同类型的耐药情况,初治患者的MR-TB、PR-TB、MDR-TB、XDR-TB、Pre-XDR-TB、RR-TB的耐药率均明显低于复治患者。2010年国家卫生部公布的“全国结核病耐药基线调查报告(2007—2008年)”显示,我国涂阳TB总耐药率为37.79%(95%CI 34.76%~40.92%),其中初治耐药率为35.16%(95%CI 31.92%~38.55%),复治耐药率为55.17%(95%CI 50.01%~60.21%)^[12]。本研究的海口地区TB总耐药率、初治耐药率、复治耐药率均低于全国平均水平,究其原因,可能与近年来国家及地方的结核病防治政策宣传深入有关。不规范治疗或中断治疗容易导致TB复治,尤其是近几年因新冠疫情导致部分患者被迫中断治疗、停止定期随访及患者的就诊意愿下降等原因,中断服药或不规则服药,可能是复治TB患者耐药率升高的原因,而提高患者治疗的依从性是减少DR-TB流行的有效手段^[13]。研究中,复治患者不同耐药类型的耐药率明显高于初治患者也从侧面印证了这一结论。

本研究的DR-TB影响因素分析结果显示,18~60岁年龄段、现住址非市区、文化水平高中以下、家庭年收入<2万元和复治的TB患者耐药率较高;与我国既往社会影响因素的研究一致^[14]。究其原因,可

能与18~60岁人群是家庭收入的主要来源,而且这类人群活动能力较强、交际范围较广,因而感染和传播的风险更大有关。针对此类人群,应加强监测和宣教,增强其防治TB意识,同时采取相应控制措施,有助于减少DR-TB的发生和传播。本研究中,北京基因型是海口地区主要的MTB家族,与国内其他研究一致^[15]。北京基因型561例,其中耐药菌株116例(20.7%);非北京基因型330例,其中耐药菌株44例(13.3%)。有研究认为北京基因型菌株的成功传播是由于其耐药易导致治疗失败和复发^[16],这一观点与本研究结果一致,本研究中北京基因型菌株的耐药率明显高于非北京基因型。一般认为,MTB菌株的成簇率水平可反映当地近期的TB流行情况,而非成簇病例则可能是因为既往感染的MTB在体内再激活所致^[17]。本研究MTB成簇性分析结果显示,731株敏感型MTB成簇率(78.8%),明显高于160株耐药型MTB成簇率(41.9%),提示海口地区近期传播的主要是敏感菌株,发生大规模耐药菌株传播的风险较低。

综上所述,海口地区TB疫情仍然较严峻,复治TB的耐药率仍然较高;18~60岁、现住址非市区、文化水平高中以下、家庭年收入<2万元等可能是PR-TB发生的危险因素;北京基因型MTB是该地区的主要流行菌株,也是菌株耐药的影响因素之一。降低PR-TB的发生率,需要加强高危人群PR-TB筛查,以尽早发现耐药的传染源;还应尽快推广快速检测技术,加强对北京基因型菌株的监测及防控,以早发现、早治疗,从源头控制DR-TB。

【参考文献】

- [1] Harding E. WHO global progress report on tuberculosis elimination [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(1): 19.
- [2] Lange C, Chesov D, Heyckendorf J *et al.* Drug-resistant tuberculosis: an update on disease burden, diagnosis and treatment [J]. *Respirology*, 2018, 23(7): 656-673.
- [3] 俞珊,李志明,段浩凯,等.不同类型肺结核患者T细胞亚群及血液学指标的差异研究[J]. *解放军医学杂志*, 2023, 48(7): 756-760.
- [4] Liebenberg D, Gordhan BG, Kana BD. Drug resistant tuberculosis: implications for transmission, diagnosis, and disease management [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 943545.
- [5] World Health Organization. Global tuberculosis report 2023[R]. 2023-11-07.
- [6] 高媛,张书,龙波,等.2018年四川省4865例涂阳结核患者耐药分析[J]. *职业卫生与病伤*, 2020, 35(5): 278-284.
- [7] Yao S, Yan J, Li L, *et al.* Determining *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance and risk factors for multidrug-resistant tuberculosis in sputum smear positive tuberculosis outpatients in Anhui Province, China, 2015-2016[J]. *Infect Drug Resist*, 2020, 13: 1023-1032.

- [8] 黄静静. 海南省结核菌耐药状况及影响因素调查研究[R]. 海口: 海南省疾病预防控制中心, 2018-08-08.
- [9] 潘辰慧, 张顺先, 张少言, 等. 耐多药肺结核治疗转归的影响因素分析[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(9): 1040-1047.
- [10] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 30-31.
- [11] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2019年简版)[J]. 中国防痨杂志, 2019, 41(10): 1025-1073.
- [12] 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)[R]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [13] 胡嘉, 刘月园, 叶佳庆. 江西省耐多药结核病流行病学特征及耐多药结核病影响因素分析[J]. 江西医药, 2022, 57(12): 2282-2285, 2290.
- [14] 钟明浩, 闫莉, 李文辉, 等. 2009-2018年东莞市肺结核病流行特征分析[J]. 现代预防医学, 2020, 47(10): 1750-1753.
- [15] 魏淑贞, 赵永, 林建, 等. 2017—2019年福建省结核分枝杆菌分离株基因型特征及其耐药性分析[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(1): 73-78.
- [16] 叶静芬, 方晴, 胡耀仁, 等. 北京基因型耐多药结核分枝杆菌二线抗结核药物耐药基因突变特征分析[J]. 预防医学, 2021, 33(10): 983-987.
- [17] 何建, 胡晓红, 周萍, 等. 结核分枝杆菌McSpoligotyping基因分型在宜昌地区耐多药结核病中的应用研究[J]. 传染病信息, 2022, 35(6): 538-543.

(责任编辑: 蒋铭敏)

