

• 论 著 •

影响结核分枝杆菌耐药的临床相关因素分析^{*}

万东勇, 胡永芳, 陈天刚[△]

(重庆市公共卫生医疗救治中心医学检验科 400036)

摘要:目的 研究影响结核分枝杆菌耐药的相关因素,为控制和预防结核病提供参考和依据。方法 回顾性分析 2015 年 6 月至 2016 年 6 月在该院接受治疗的结核病患者 387 例,收集患者的年龄、性别等资料并进行对比分析。采用比例法对临床分离菌株进行药敏试验,观察比较不同患者菌株耐药性。采用单因素非条件 Logistic 回归分析结核分枝杆菌耐药的相关因素。结果 387 例结核病患者中,总耐药率为 43.82%,其中单耐药率、多耐药率和泛耐药率分别为 13.41%、24.74%和 5.66%;初治耐药率为 56.11%,复治耐药率为 30.88%;不同患者在合并糖尿病中的耐药情况差异无统计学意义($P>0.05$);不同患者在性别、吸烟史、结核病治疗史的耐药情况比较差异有统计学意义($P<0.05$);男性患者的耐药率高于女性患者,差异有统计学意义($P<0.05$);合并糖尿病的患者耐药率高于未合并糖尿病的患者,但差异无统计学意义($P>0.05$);有吸烟史的患者耐药率高于无吸烟史的患者,差异有统计学意义($P<0.05$);无结核病治疗史患者耐药率低于有结核病治疗史的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。单因素非条件 Logistic 回归分析显示,有结核病治疗史是结核病患者发生耐药的危险因素。结论 有结核病治疗史和有吸烟史是结核病患者发生耐药的危险因素,不同患者产生耐药的影响因素存在差异,因此在临床中应加强对耐药结核病的预防控制。

关键词:结核分枝杆菌; 耐药; 回归分析

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.22.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)22-3309-03

Analysis of clinical related factors of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*^{*}

WAN Dongyong, HU Yongfang, CHEN Tiangang[△]

(Department of Medical Laboratory, Chongqing Municipal Public Health Medical Rescue Center, Chongqing 400036, China)

Abstract: **Objective** To investigate the related factors of drug-resistant of *Mycobacterium tuberculosis*, and to understand the drug resistance rate in the patients treated in this hospital and the potential risk factors of *Mycobacterium tuberculosis* infection to provide reference and basis for the prevention and treatment of tuberculosis (TB). **Methods** The retrospective analysis was performed on 387 cases of TB receiving the therapy in this hospital from June 2015 to June 2016, and the data such as age and gender were collected for conducting the comparative analysis. The drug susceptibility test of clinically isolated bacterial strains was conducted by adopting the proportion method; the drug resistance of different strains was observed and compared. The univariate non-conditional Logistic regression analysis was adopted to analyze the drug resistance related factors of *Mycobacterium tuberculosis*. **Results** Among 387 cases of TB, total drug resistance rate was 43.82%, in which the single drug resistance rate, the multi-drug resistance rate and pan-drug resistance rates were 13.41%, 24.74% and 5.66% respectively; the initial treatment drug resistance rate was 56.11%. The re-treatment drug resistant rate was 30.88%; the drug resistance situation had no statistical difference among different patients with complication diabetes ($P>0.05$); the drug resistance had no statistical difference in gender, smoking history, TB treatment history among different patients ($P<0.05$); the drug resistance rate of male patients was higher than that of female patients, the difference was statistically significant ($P<0.05$); the drug resistant rate in the patients with complicating diabetes was higher than that in the patients without complicating diabetes, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$); the drug resistant rate in the patients with smoking history was higher than that in the patients without smoking history, difference was statistically significant ($P<0.05$); the drug resistant rate in the patients without TB treatment history was lower than that in the patients with TB treatment history, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The univariate non-conditional Logistic regression analysis showed that the TB treatment history was the risk factor for TB patients developing drug resistance. **Conclusion** The TB treatment history and smoking history are the risk factors of drug resistance occurrence in TB patients. The influence factors in different patients generating drug resistance exist difference, therefore clinic should strengthen the prevention and control of drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*; drug resistance; regression analysis

结核分枝杆菌是引起结核病的病原菌。结核病是常见并可致命的传染病,由结核分枝杆菌感染而引起,主要临床表现

为咳嗽、咳痰、呕吐、腹胀、体质量下降等。近年来,耐药结核病的进一步发展增加了其医治的难度,使结核病患者的人群数量

^{*} 基金项目:重庆市卫生计生委中医药管理局科研计划资助项目(2008-2-293)。

作者简介:万东勇,男,副主任技师,主要从事临床检验方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:459362738@qq.com。

不断增加^[1-2]。本研究旨在探讨影响结核分枝杆菌耐药的相关因素,了解结核患者的耐药率及结核分枝杆菌感染的潜在危险因素,为控制和治疗结核病提供参考和依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2015 年 6 月至 2016 年 6 月在本院接受治疗的结核病患者 387 例;患者中男 266 例,女 121 例,男女比例为 2.1 : 1.0;新分离结核分枝杆菌阳性 426 例,其中结核复合群 387 例,非结核分枝杆菌 39 例;初治患者 68 例,复治患者 319 例;糖尿病患者 18 例;有吸烟史 196 例;患者年龄 8~87 岁,平均(42.45±5.53)岁;平均病程为(3.41±1.16)年。纳入标准:(1)患者经病原学和(或)影像学诊断,符合结核病诊断标准;(2)患者自愿参加本次调查研究,并签署同意书。排除标准:(1)患者在交流、沟通方面有明显障碍;(2)肾功能不全或具有肝脏疾病的患者;(3)妊娠期患者。

1.2 方法 收集患者的年龄、性别、糖尿病情况、吸烟史、结核病治疗史等资料并进行对比分析。临床标本采用 Ziehl-Neelsen 抗酸染色和罗琼培养基进行结核分枝杆菌培养,采用 BD960 仪器进行培养。采用比例法和临床分离菌株进行药敏试验。

1.3 观察指标 (1)吸烟史:有规律吸烟史,目前正在吸烟或既往有规律吸烟史。(2)治疗史:曾服用抗结核药物进行抗痨治疗。(3)耐药菌判定标准:药物终水平分别为链霉素 4 μg/mL、异烟肼 0.2 μg/mL、利福平 40 μg/mL、乙胺丁醇 2 μg/mL,以耐药率大于 1%判断该菌为耐药菌。(4)相关因素判定:观察比较不同患者菌株耐药性,采用 Logistic 回归分析判定结核分枝杆菌耐药的相关因素。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行分析和处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用单因素非条件 Logistic 回归分析,计算比值比(OR 值)和 95%置信区间(95%CI)进行相关性评估。以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株耐药性分析 387 例结核病患者中,总耐药率为 43.82%,其中单耐药率、多耐药率和泛耐药率分别为 13.41%、24.74%和 5.66%;初治耐药率为 56.11%,复治耐药率为 30.88%。

2.2 不同性别、年龄等患者耐药情况分析 数据显示,是否患糖尿病的患者其耐药情况差异无统计学意义(*P* > 0.05);患者在不同性别、吸烟史、治疗史的耐药情况比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

2.3 结核病耐药的相关因素 男性患者耐药 125 例(46.99%),高于女性患者的 43 例(35.54%),差异有统计学意义[OR=0.56,95%CI=0.42~0.94,*P*=0.010];合并糖尿病患者耐药 159 例(43.09%),未合并糖尿病患者耐药 10 例(55.56%),差异无统计学意义(OR=1.69,95%CI=1.34~2.48,*P*=0.110);有吸烟史患者耐药 96 例(48.98%),高于无吸烟史患者的 71 例(37.17%),差异有统计学意义(OR=1.59,95%CI=1.21~2.09,*P*=0.000);无结核病治疗史患者耐药 21 例(30.88%),低于有结核病治疗史患者的 179 例(56.11%),差异有统计学意义(OR=2.88,95%CI=2.35~3.05,*P*=0.000)。单因素非条件 Logistic 回归分析显示,有结核病治疗史和有吸烟史是结核病患者发生耐药的危险因素。

表 1 不同性别、年龄患者耐药情况分析[<i>n</i> (%)]					
因素	<i>n</i>	耐药率			合计
		SDR	MDR	XDR	
性别					
男	266	36(13.53)	71(26.69)	18(6.78)	125(46.99) *
女	121	16(13.22)	24(19.83)	3(2.48)	43(35.54)
糖尿病					
否	369	44(11.92)	93(25.20)	22(5.96)	159(43.09) #
是	18	8(44.44)	2(11.11)	0(0.00)	10(55.56)
吸烟史					
无	191	23(12.04)	39(20.42)	9(4.71)	71(37.17) △
有	196	28(28.15)	55(28.06)	13(6.63)	96(48.98)
结核病治疗史					
无	68	18(26.47)	3(4.41)	0(0.00)	21(30.88) ▽
有	319	80(25.08)	99(31.03)	0(0.00)	179(56.11)

注:与性别因素“女”比较,**P* < 0.05;与糖尿病因素“是”比较,#*P* > 0.05;与吸烟史因素“有”比较,△*P* < 0.05;与治疗史因素“有”比较,▽*P* < 0.05;SDR 表示对单一某种药物耐药;MDR 表示同时对异烟肼和利福平耐药;XDR 表示除耐多种药物外,对任何氟喹诺酮类药物、3 硫酸卷曲霉素、卡那霉素和阿米卡星中至少 1 种具耐药性

3 讨论

近年来,随着城市化进程的加快及人口流动的频繁,结核病的发病率逐渐上升,引起了医学界的重视。第 4 次全国结核病流行病学调查结果表明,结核病耐多种药物和获得性耐药比例均有大幅度提高,提示结核耐药的形势较为严峻^[3]。遏制耐药结核病蔓延需深入了解抗结核药物和结核分枝杆菌耐药机制,并对其作出适当的药物调整。因此,探讨影响结核分枝杆菌耐药的因素显得尤为重要^[4]。由于患者能够对治疗结核药物产生相关性,导致治疗的方案发生变化,因此,早日判断出结核分枝杆菌耐药性特征,明确结核分枝杆菌耐药的影响因素,对于耐药患者的意义较为重大。本研究探讨结核分枝杆菌耐药的相关因素,旨在为临床治疗结核病患者提供经验和依据。

本研究 387 例患者中,男性患者的耐药率高于女性患者,差异有统计学意义(*P* < 0.05),与学者研究结果相似^[5]。其原因可能与患者的生活习惯相关。与女性患者比较,男性患者在日常生活中不太注重自身的卫生状况(如在日常生活中喝酒、不爱洗澡等),导致男性患者的菌类增加、免疫力下降,进而导致患者的耐药率升高。

本研究中,有吸烟史患者耐药率高于无吸烟史患者,差异有统计学意义(*P* < 0.05),表明抽烟会增加患者的耐药性。其原因可能是吸烟导致肺功能受损,使患者肺部的免疫能力下降,结核分枝杆菌耐药性增强。多项研究表明,有结核病治疗史是结核分枝杆菌产生耐药性的危险因素之一。本研究中验证了该结论。单因素非条件 Logistic 回归分析显示,有结核病治疗史是结核病患者发生耐药的危险因素,原因可能是患者结核病治疗时间至少需要 6 个月,若患者接受不规律治疗及其次数越多,产生耐多种药物的可能性就越大。此外,患者接受不规律治疗会导致耐药结核分枝杆菌被筛选,导致患病率和耐药率均较高。

(下转第 3312 页)

购于亚能生物技术(深圳)有限公司。

1.3 方法 毛细管电泳法:采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管抽取 3 mL 静脉血,颠倒混匀防止血液凝固。试验前,将 Sebia Capillarys 2 型毛细管电泳仪开机预热 30 min,将试剂置于室温复温 30 min。将全血标本按照 Sebia Capillarys 2 型毛细管电泳仪说明书操作,使用厂家原配 HbA2 质控品先行室内质控,仪器处于良好运行状态时进行检测。电泳各条带水平分别以电泳所得 Hb 条带的峰值为 100% 时所占比例表示。以标本电泳出现 HbH、HbCS 和 Hb Bart's 条带初步判定为 HbCS-H 病。地贫基因检测采用深圳亚能生物技术有限公司提供的试剂,采用跨越断裂点聚合酶链式反应(GAP-PCR)检测国内常见的 3 种缺失型 α 地贫($\alpha\alpha/^{-SEA}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{4.2}$)。采用聚合酶链反应(PCR)反向点杂交技术(RDB)检测 3 种常见的 α 地贫点突变(α^{CS} 、 α^{QS} 、 α^{WS})和 17 种常见的 β 点突变。

2 结果

在 104 361 例毛细管电泳筛查中,出现 CS 条带 296 例(0.28%),包括 5 种表现形式:CS 型、CS+H+Bart's 型、CS+H 型、CS+HbE 型、CS+异常 Hb 条带型。单纯 CS 型 259 例(87.5%),CS+H+Bart's 型 24 例(8.1%),CS+H 型 2 例,其他类型 11 例。选择电泳仅出现 CS 条带者 30 例进行非缺失型 α 基因检测,均检出 α^{CS} 突变基因,其中,CS 条带水平最低者仅为 0.3%。另选 30 例无 CS 条带者作为对照,均未能检测到 CS 基因。

地贫基因检测 11 366 例,检出地贫基因携带者 4 472 例,其中 α 地贫基因携带者 1 781 例(39.7%);SEA 携带 844 例,占 α 地贫基因的 47.4%。

26 例确诊 HbCS-H 病患者;成年人 13 例,年龄均大于 21 岁;小于 11 岁儿童 13 例,4 例年龄小于 7 个月,最小年龄仅为 2 个月。所有患者均表现小细胞低色素特征,轻度贫血 1 例,中度贫血 20 例,重度贫血 5 例。采用毛细管电泳法,24 例检测出 HbH、Hb Bart's、HbCS 条带,基因型均为 $^{-SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ 。2 例电泳仅出现 HbH、CS 条带,基因型均为 $^{-SEA}/\alpha^{CS}\alpha$,此 2 例患者均表现为中度贫血。

3 讨论

HbCS-H 病患者一般呈中度或重度贫血表现,父母双方分别携带有 SEA 和 CS 基因,其子女就有 25.0% 的概率成为 HbCS-H 病患者^[3]。而 SEA 尤其是单纯 CS 基因携带者的血细胞异常情况通常都比较轻微甚至无异常,容易被忽略。

随着科学技术的进步,既往 Hb 电泳采用的传统琼脂糖电泳方法逐渐被分辨率更高的毛细管电泳方法所取代。毛细管电泳法能有效分离出 HbCS 条带,可为发现 HbCS 并进一步进行 α^{CS} 点突变基因确诊提供重要依据^[4]。本研究从 296 例电泳出现 HbCS 被检测者中选择取 30 例含 HbCS 条带者进行基因

检测,全部检测到 α^{CS} 点突变基因,其中电泳 CS 条带水平最低者仅为 0.3%。另选取 30 例未见 HbCS 条带的标本作为对照,均未检测到 α^{CS} 点突变基因,电泳和基因的敏感度和特异度均达到 100%。

本研究确诊的 26 例 HbCS-H 病患者中 25 例为中度或重度贫血。尽管毛细管电泳出现 HbCS、Hb Bart's、HbH 等多条异常条带,提示 HbCS-H 病,但可能由于接诊医师对地贫电泳结果解读认识有限,进行基因检测时仅选取了作为常规应用的 α 缺失型和 β 突变型,而遗漏了 α 点突变基因检测,致使基因检测结果仅提示检出 SEA 而不能确诊 HbCS-H 病。本研究 26 例患者因其贫血程度与基因表现显然不符,在排除其他因素引起的贫血后,笔者为患者加做了 α 点突变检测,证实基因携带为 SEA 和 CS,使其 HbCS-H 病得到确诊。

地贫筛查首先选择进行 Hb 电泳分析,毛细管电泳因其能明确分辨 HbCS 条带,可为医师提供发现 CS 基因携带的依据。当电泳出现 HbCS 条带时,如果是生育前地贫筛查,就应该进一步进行 α 点突变基因检测,一旦确定携带有 CS 基因,就要特别关注其配偶是否携带 SEA 基因。结果证实夫妻双方分别带有 CS 和 SEA 基因,提示这对夫妻有 25.0% 的概率生出 HbCS-H 病患儿,必须适时进行产前诊断^[5],以明确胎儿是否患 HbCS-H 病,早期做出胎儿去留决策。

地贫防治难,防控地贫重症患儿的出生是工作重点。HbCS-H 病因贫血较重,危害患者健康。筛查和诊断主要依赖先进的检测方法,同时也要提升产前筛查医务人员对电泳筛查报告单的解读能力。合理选用基因检测项目对防范 HbCS-H 病地贫患儿出生有重要意义。

参考文献

- [1] Ip HW, So CC. Diagnosis and prevention of thalassemia [J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2013, 50(6): 125-141.
- [2] Martin A, Thompson AA. Thalassemias [J]. Pediatr Clin North Am, 2013, 60(6): 1383-1391.
- [3] 朱春江, 丁晖, 郑海青, 等. 桂北地区 166 例 HbH 患者儿血液学 [J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(4): 267-268.
- [4] 李友琼, 黄慧嫔, 覃桂芳, 等. 毛细管电泳在 Hb CS-H 病中的诊断价值 [J]. 检验医学, 2013, 28(11): 1034-1037.
- [5] Mo Zongping, Yu Changshun, Hu Zhaohui, et al. A novel deletion of 2.8 kb removing the entire alpha 2-globin gene observed in a Chinese patient with Hb H [J]. Clin Lab, 2012, 58(11/12): 1309-1312.

(收稿日期:2017-04-29 修回日期:2017-07-18)

(上接第 3310 页)

综上所述,有结核病治疗史和有吸烟史是结核病患者发生耐药的危险因素;不同患者产生耐药的影响因素存在差异,临床中应加强对耐药结核病的预防控制。

参考文献

- [1] 边学峰, 孙强, 孟庆跃, 等. 耐多药肺结核治疗现状 [J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.
- [2] 范大鹏, 陈光, 吴盛海, 等. 723 例结核病住院患者结核分枝杆菌耐药性分析 [J]. 浙江预防医学, 2013, 25(12): 42-44.

- [3] 于梅, 车洋, 平国华, 等. 2007—2010 年宁波市结核病耐药趋势及影响因素 [J]. 中华传染病杂志, 2012, 30(1): 48-52.
- [4] 宋艺, 万李, 陈双双, 等. 中国 6 个省份结核分枝杆菌耐药状况及影响因素分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(7): 945-948.
- [5] 王海东, 谢艳光, 闫兴录, 等. 耐多药肺结核相关因素探讨 [J]. 中国防痨杂志, 2011, 33(2): 109-112.

(收稿日期:2017-04-22 修回日期:2017-07-08)