

· 论 著 ·

结核分枝杆菌的耐药性测定和复合群的分型^{*}

莫荣新¹, 叶伟南², 李少芳³

(1. 广东省肇庆学院医院检验科 526061; 2. 广东省肇庆市结核病防治所检验科 526020;

3. 广东省肇庆市鼎湖区人民医院门诊部 526070)

摘要:目的 研究结核分枝杆菌的耐药性和复合群的分型。方法 选取广东省肇庆市结核病防治所 2016 年 1—12 月全部住院结核病患者, 去掉相同患者分离的重复菌株, 其他全部列入检测范围。患者标本均由临床科室负责进行采集及送检。结果 该院临床分离的结核分枝杆菌对异烟肼及利福喷丁的耐药率均大于 31.00%, 对利福平及链霉素的耐药率大于 27.00%, 对利福布汀及丁胺卡那霉素耐药率大于 15.00%。616 株结核分枝杆菌中, 药物敏感株 321 株(52.11%), 耐药菌株 292 株(47.89%)。依据单耐药结核、耐多药结核及泛耐药菌的定义, 检测出的结核分枝杆菌中单耐药菌株占 14.29%, 多重耐药菌株占 21.27%, 泛耐药菌株占 11.85%。在 292 株耐药菌株中, 单耐药菌株占 30.14%, 多重耐药菌株占 44.86%, 泛耐药菌株占 25.00%。在检测的所有结核分枝杆菌中, 人结核分枝杆菌占 82.00%, 耐药率达到 29.27%; 牛结核分枝杆菌为 18.00%, 耐药率占 11.11%。结论 该院临床分离出的结核分枝杆菌耐药率处于较高水平, 应根据药敏试验检测结果选取抗结核药物, 控制耐药结核菌株的产生。

关键词: 结核分枝杆菌; 耐药性; 测定; 复合群; 分型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.22.016 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)22-3321-03

Drug resistance detection of Mycobacterium tuberculosis and classification of complex typing^{*}

MO Rongxin¹, YE Weinan², LI Shaofang³

(1. Department of Clinical Laboratory, Hospital of Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Zhaoqing Municipal Institute of Tuberculosis Control, Zhaoqing,

Guangdong 526020, China; 3. Outpatient Department, Dinghu District Peoples' Hospital, Zhaoqing, Guangdong 526070, China)

Abstract: **Objective** To study the drug resistance of Mycobacterium tuberculosis and complex group typing. **Methods** The inpatients with tuberculosis (TB) in the hospital from January to December 2016 were selected. After excluding the repeated bacterial strains isolated from the same patients, the remaining was included into the detection range. The samples from the patients were collected and submitted by the clinical departments. **Results** The resistance rates of clinically isolated strains of Mycobacterium tuberculosis to isoniazid and rifapentin rate were greater than 31.00%; which to rifampin and streptomycin were greater than 27.00%, which to rifabutin and amikacin were greater than 15.00%. In 616 strains of Mycobacterium tuberculosis, 321 (52.11%) strains were drug sensitive strains and 292 strains (47.89%) were drug-resistant strains. According to the defines of single drug resistant, multi-drug resistant and pan-drug resistant Mycobacterium tuberculosis, among Mycobacterium tuberculosis strains detected in this study, single drug resistant strains, multi-drug resistant strains and pan-resistant strains accounted for 14.29%, 21.27% and 11.85% respectively. Among 292 drug resistant strains, single drug resistant strains, multi-drug resistant strains and pan-drug resistant strains accounted for 30.14%, 44.8% and 25.00% respectively. In all detected Mycobacterium, Mycobacterium tuberculosis accounted for 82.00%, its drug resistance rate reached 29.27%, bovine Mycobacterium tuberculosis accounted for 18.00%, the drug resistance rate accounted for 11.11%. **Conclusion** The drug resistance rate of Mycobacterium tuberculosis clinically isolated in this hospital is in a higher level. So the anti-TB drugs should be selected according to the drug sensitivity test results for controlling the generation of drug-resistant tuberculosis strains.

Key words: Mycobacterium tuberculosis; drug resistance; determination; complex group; typing

结核病是由结核分枝杆菌导致的慢性传染性病症, 会对人们的健康产生严重危害^[1-3]。依据全国第 5 次结核病流行病学抽样调查结果显示, 中国结核病年发病患者大约有 130 万例, 处于全球第 2 位; 全球约有 5.5 亿人受到感染, 每年大约 13 万人死于结核病^[4]。鉴于此, 本研究特分析结核分枝杆菌的耐药性和复合群的分型, 以更好地辅助临床治疗, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取广东省肇庆市结核病防治所 2016 年 1—12 月其他全部住院结核病患者, 去掉相同患者分离的重复

菌株, 全部列入检测范围。患者标本均由临床科室负责进行采集及送检, 标本采集使用世界卫生组织推荐的国际通用螺旋盖痰瓶, 集取患者 24 h 内痰液或气管镜灌洗液标本。将标本统一送到广东省肇庆学院医院检验科, 采用罗氏培养系统, 按照《结核病细菌学操作规程》的规范方式实施结核分枝杆菌分离、培养及鉴定, 确定诊断。全部检测及药敏试验均于负压实验室内完成。本研究已获得医院伦理委员会评审通过。

1.2 仪器与试剂 等温扩增法 (LAMP 法): 聚合酶链反应 (PCR) 恒温荧光检测仪及配套试剂由广州迪澳生物科技有限

^{*} 基金项目: 广东省肇庆市科技创新指导类资助项目 (00189901150419047)。

作者简介: 莫荣新, 男, 主管技师, 主要从事临床检验研究。

公司提供。免疫胶体金法:结核分枝杆菌抗原检测试剂盒由杭州创新生物检控技术有限公司生产提供。罗氏培养基培养法:全自动 BACTECTM MGIT960 结核分枝杆菌快速培养分析及配套试剂由美国 Becton Dickinson 公司提供。相关操作均严格遵照试剂盒的说明书步骤进行。

1.3 方法 将全部确定的结核分枝杆菌实施常规药敏试验,选取临床常用的抗结核药物,依照规范的药敏试验方式实施药敏试验。分析药敏试验结果及耐药谱情况,统计结核分枝杆菌的分型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计学软件进行数据处理。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。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 药敏试验结果 本院临床共分离出结核分枝杆菌 616 株,所有结核分枝杆菌对异烟肼及利福喷叮的耐药率均大于 31.00%,对利福平及链霉素的耐药率大于 27.00%,对利福布叮及丁胺卡那霉素耐药率大于 15.00%。见表 1。

表 1 药敏试验结果

抗结核药物	试验株数(<i>n</i>)	耐药株数(<i>n</i>)	耐药率(%)
异烟肼	616	203	32.95
链霉素	616	168	27.27
乙胺丁醇	616	6	0.97
利福平	616	179	29.06
卷曲霉素	616	20	3.25
丁胺卡那霉素	616	96	15.58
丙硫异烟胺	616	96	15.58
对氨基水杨酸钠	616	32	5.19
氧氟沙星	575	37	6.43
左氧氟沙星	493	14	2.84
利福喷叮	616	191	31.01
利福布叮	280	55	19.64
卡那霉素	375	56	14.93

2.2 耐药谱分析结果 在 616 株结核分枝杆菌中,药物敏感株 321 株(52.11%),耐药菌株 292 株(47.89%)。依据单耐药结核、耐多药结核及泛耐药菌的定义,本研究检测出的结核分枝杆菌中,单耐药菌株占 14.29%,多重耐药菌株占 21.27%,泛耐药菌株占 11.85%。在 292 株耐药菌株中,单耐药菌株占 30.14%,多重耐药菌株占 44.86%,泛耐药菌株占 25.00%。

2.3 结核分枝杆菌分型 在检测的所有结核分枝杆菌中,人结核分枝杆菌占 82.00%,耐药率达到 29.27%;牛结核分枝杆菌为 18.00%,耐药率占 11.11%。

3 讨 论

目前,我国结核病年发患者例数大约为 130 万,仅次于印度,位于全球第 2 位。结核分枝杆菌会引发慢性感染,致使患者发生结核病^[6-9]。结核分枝杆菌复合群包含结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌及田鼠分枝杆菌,而结核分枝杆菌是致使人引发结核病的主要菌株,应引起重视。

本研究从 2016 年 1—12 月住院结核病患者痰标本中分离出结核分枝杆菌 616 株,其中 292 株(47.89%)为耐药菌株,表

明结核分枝杆菌的耐药率处于较高水平。异烟肼、利福平及链霉素在临床均为一线抗结核药物,其耐药率分别为 32.95%、29.06%、27.27%,提示一线抗结核药耐药形势较为严峻,继续使用会致使抗结核药物的治疗效果削弱,患者需加大药物剂量或改用其他抗结核药物,延长治疗时间,加大耐药性结核杆菌传播的机会^[9]。我国第 4 次结核流行病学抽样调查结果显示,结核分枝杆菌耐药率中,异烟肼为 17.60%,链霉素为 17.30%,利福平为 16.60%。结核病耐药基线调查结果表明,中国肺结核患者耐多药性为 8.32%。本研究结果表明,临床分离的结核分枝杆菌中,耐药菌构成比高达 47.89%,多重耐药性及泛耐药菌总构成比为 69.86%,耐药结核分枝杆菌对杨喹诺酮类药物的耐药性较低,其对氧氟沙星及左氧氟沙星的耐药率分别为 6.43%和 2.84%,表明在治疗过程当中,尚可选取此类药物。

导致结核分枝杆菌多重耐药及泛耐药菌株增加的因素包括抗结核治疗的依从性较差,患者在症状有好转时擅自停药,间断性不规则用药,错误服药,仅使用某一种药物,有效药物较少,药物使用剂量不足或治疗效果不佳时调整用药单使用另一种药物,合并其他病症而被迫停止用药等。所以,应提升患者对用药的依从性,使用激励及保障制度帮助患者完成疗程。对每例结核患者实施药敏试验,依据以往用药史及药物敏感度测试制订个体化治疗措施,降低耐药患者的发生概率,进而达到控制结核病流行及耐药结核病传染的目的^[10-12]。

综上所述,本院临床分离出的结核分枝杆菌耐药率处于较高水平,需根据药敏试验检测结果选取抗结核药物,控制耐药结核菌株的产生。

参考文献

[1] Momjian R, George M. Atypical imaging features of tuberculous spondylitis: case report with literature review [J]. J Radiol Case Rep, 2014, 8(11): 1-14.

[2] Li Y, Fu YH, Yuan M, et al. Study on the population-genetics of Mycobacterium tuberculosis from Sichuan Basin in China [J]. Chin J Epidemiol, 2015, 36(4): 374-378.

[3] 刘颖丽, 李锦, 刘贤英. IPT 对存在结核分枝杆菌感染的 HIV 感染者/AIDS 患者的预防效果分析 [J]. 中国现代医生, 2016, 54(17): 81-83.

[4] 王赞, 石小俊, 张幼萍, 等. 114 株结核分枝杆菌耐药性分析 [J]. 预防医学, 2016, 28(11): 1131-1132.

[5] 鄢仁晴, 丁泉敏, 闵迅. 结核分枝杆菌感染患者外周血热休克蛋白与诱导型一氧化氮合酶的相关性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(24): 5563-5565.

[6] 吕秋琼, 许文芳, 王琼, 等. 结核分枝杆菌 γ -干扰素释放试验与人类白细胞分化抗原 G 联合检测肺结核的诊断效能评价 [J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(11): 852-856.

[7] 刘珑玲, 陈世玖, 龙航, 等. 快速检测手部非结核分枝杆菌感染的多重聚合酶链反应的方法建立 [J]. 中华医学杂志, 2016, 96(14): 1116-1119.

[8] 陈曦, 李自慧, 潘雨萍, 等. 非结核分枝杆菌的基因组学 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2016, 36(11): 872-879.

[9] 马小军. 国内外非结核分枝杆菌诊治指南比较及临床适用性思考 [J]. 中华内科杂志, 2016, 55(4): 264-266.

[10] 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(下转第 3327 页)

响,本研究基于种族和 HWE 进行了亚组分析。合并结果显示,在亚洲人和欧洲人中 *fas*-1377 G/A 多态性与乳腺癌发病风险无关联。本研究仅纳入 1 篇关于欧洲人的研究,之后需要纳入更多关于欧洲人群的高质量患者-对照研究进行证实;排除对照组人群基因型分布不符合 HWE 的文献后,Meta 分析发现 *fas*-1377 G/A 多态性与乳腺癌的发病风险无关,表明结果较稳定。

针对 *fas*-670 A/G 多态性,本研究纳入 9 篇患者-对照研究,包括 3 932 例患者和 3 976 例对照者。合并结果显示,在 5 种遗传基因模型下 *fas*-670 A/G 多态性与乳腺癌发病风险均无关联,此结果与之前发表的 Meta 分析^[13,15] 结论一致。基于种族进行亚组分析,未发现 *fas*-670 A/G 多态性与乳腺癌发病风险间的关联;基于不符合 HWE 进行亚组分析,发现 *fas*-670 A/G 多态性与乳腺癌的发病风险相关,虽然此结果差异有统计学意义($P<0.05$),但不具有临床意义。

本研究存在局限性:(1)本 Meta 分析检索语言仅为英文和中文,结果纳入 7 英文文献和 4 篇中文文献,除此外无其他语言文献纳入,增加了语言偏倚的风险;(2)本 Meta 分析纳入的多是基于亚洲人群的研究,其中又以对中国人的研究居多,因此,本研究结果在推论到其他人群时需谨慎;(3)尽管本研究进行了亚组分析,但仍具有较大的异质性,故应纳入更多文献,基于多种因素进行 Meta 回归分析,以明确各研究间异质性的来源;(4)乳腺癌是多基因参与、多因素作用的结果,可能存在基因之间、基因与环境之间的交互作用,而本研究并未阐述其交互作用。

总之,基于现有文献的 Meta 分析表明,*fas* 基因启动子区-1377 G/A 和 *fas*-670 A/G 多态性可能与乳腺癌的发病风险无关。由于异质性较大,故需要纳入更多高质量的研究,基于多因素进行 Meta 回归分析,明确各研究间异质性来源,以期得到更为可靠的结论。

参考文献

- [1] Nallapalle SR, Daripally S, Prasad VT. Promoter polymorphism of fasL confers protection against female-specific cancers and those of fas impact the cancers divergently[J]. Tumor Biol, 2015, 36(4): 2709-2724.
- [2] Wang M, Wang Z, Wang XJ, et al. Distinct role of the Fas rs1800682 and FasL rs763110 polymorphisms in determining the risk of breast cancer among Han Chinese females [J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10(1): 2359-2367.
- [3] Xu Y, Deng Q, He B, et al. The diplotype Fas -1377A/-670G as a genetic marker to predict a lower risk of breast cancer in Chinese women[J]. Tumor Biology, 2014, 35

(9): 9147-9161.

- [4] 周丰,周光华,陈璇. Fas 基因启动子区多态性与乳腺癌发病风险的相关性研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2015, 12(2): 4-7.
- [5] 胡英,黄欣,王秀娟,等. Fas-670 基因多态与青海地区乳腺癌风险的关系[J]. 广东医学, 2014, 35(13): 2063-2064.
- [6] 胡英,黄欣,王秀娟,等. Fas-1377 基因多态与青海地区乳腺癌风险的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(28): 22-25.
- [7] 许晔琼,何帮顺,邓齐文,等. Fas/FasL 基因多态性与乳腺癌发生的相关性[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(12): 941-944.
- [8] Hashemi M, Fazaeli A, Ghavami S, et al. Functional polymorphisms of fas and fasL gene and risk of breast cancer-pilot study of 134 cases [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53075.
- [9] Wang W, Zheng Z, Yu W, et al. Polymorphisms of the fas and fasL genes and risk of breast cancer[J]. Oncol Lett, 2012, 3(3): 625-628.
- [10] Zhang B, Sun T, Xue L, et al. Functional polymorphisms in fas and fasL contribute to increased apoptosis of tumor infiltration lymphocytes and risk of breast cancer[J]. Carcinogenesis, 2007, 28(5): 1067-1073.
- [11] Crew KD, Gammon MD, Terry MB, et al. Genetic polymorphisms in the apoptosis-associated genes fas and fasL and breast cancer risk[J]. Carcinogenesis, 2007, 28(12): 2548-2551.
- [12] Zeng J, Fang Y, Li P. fas-1377 A/G polymorphism in breast cancer: a Meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(3): 2575-2581.
- [13] Wang Z, Gu J, Nie W, et al. Quantitative assessment of the association between three polymorphisms in fas and fasL gene and breast cancer risk[J]. Tumour Biol, 2014, 35(4): 3035-3039.
- [14] Li K, Li W, Zou H, et al. Association between fas 1377 G>A polymorphism and breast cancer susceptibility: a Meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(1): 351-356.
- [15] Xu Y, He B, Li R, et al. Association of the polymorphisms in the Fas/FasL promoter regions with cancer susceptibility: a systematic review and Meta-analysis of 52 studies [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e90090.

(收稿日期: 2017-05-06 修回日期: 2017-07-25)

(上接第 3322 页)

- 学杂志, 2016, 37(7): 945-948.
- [11] 陈伟, 成诗明. 我国学生结核分枝杆菌潜伏感染和预防治疗现状[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(1): 21-24.
- [12] 李永文, 李新旭, 邓云峰, 等. 中国开展 Genotype(R) MT-

BDR plus 检测结核分枝杆菌对异烟肼和利福平耐药性的 Meta 分析[J]. 中华传染病杂志, 2016, 34(8): 494-500.

(收稿日期: 2017-05-10 修回日期: 2017-07-29)