

辅助诊断技术,为结核病的有效防控及减少结核分枝杆菌耐药提供参考。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年7—12月西安市胸科医院收治的初治肺结核患者478例,均未进行过抗结核治疗或治疗时间<1个月,痰培养结核分枝杆菌阳性并完成药敏试验;排除标准:伴有严重心血管疾病、免疫系统疾病及糖尿病者。所有患者中男316例,女162例;年龄6~91岁,中位年龄36岁( $Q_1$  31岁,  $Q_4$  62岁);常住人口450例,流动人口28例;城镇居民211例,农村居民267例。

1.2 痰培养及药敏试验 采用美国BD公司BACTEC MGIT 960系统进行痰培养及药敏试验,其中药敏试验采用美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐的比例法(method of proportion, MOP),检测药物包括4种一线抗结核药物(包括异烟肼、利福平、乙胺丁醇及链霉素)和7种二线抗结核药物(包括左氧氟沙星、利福喷丁、莫西沙星、对氨基水杨酸钠、卷曲霉素、丙硫异烟胺、阿米卡星),判断临界值为1%。

1.3 耐药类型判断标准 结核分枝杆菌对1种一线抗结核药物耐药定义为单耐药结核病(MR-TB),对1种以上一线抗结核药物耐药但不包括同时对异烟肼和利福平耐药定义为多耐药结核病(PR-TB),至少同时对异烟肼和利福平耐药定义为耐药多药结核病(MDR-TB),对异烟肼和利福平耐药同时对氟喹诺酮类药物及二线抗结核药物(卷曲霉素、卡那霉素、丁胺卡那霉素)中的至少1种耐药定义为广泛耐药结核病(XDR-TB)。本研究将出现MR-TB、PR-TB、MDR-TB、XDR-TB中的任1种者统称为耐药肺结核。

1.4 耐药相关因素 于患者就诊时采用标准问卷收集其人口学特征,包括性别、年龄、人口类型、受教育程度、家庭人均月收入、身高、体质量并计算体质指数(BMI),以 $BMI < 18.5 \text{ kg/m}^2$ 为偏瘦, $18.5 \sim 23.9 \text{ kg/m}^2$ 为正常, $24.0 \sim 27.9 \text{ kg/m}^2$ 为超重/肥胖;分析患者临床特征,包括咳嗽时间、咯血或血痰、双肺受累肺野数及肺结核患者接触史;所有患者进行胸部X射检查并由专业医师判断双肺受累情况,以第2、4肋骨前端下缘水平线为界,将双肺分为上、中、下3野,记录双肺受累肺野数。

1.5 耐药基因检测及辅助诊断技术 (1)采用基因芯片法检测利福平耐药相关 rpoB 基因、异烟肼耐药相关 katG/inhA 基因突变情况,所用仪器为晶芯 RTisochipTM-A 恒温扩增微流控芯片核酸分析仪(博奥生物集团有限公司生产)。(2)采用荧光探针法进行双通道聚合酶链反应(PCR),扩增结核分枝杆菌 DNA 片段并采用恒温扩增法检测结核分枝杆菌 RNA, TB-SAT 试剂盒购自上海仁度生物科技有限公司,所用仪器为 ThermoFisher 生产的 Veriti 仪,以扩增 CT 值  $\geq 40$  为阳性。(3)采用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行结核感染 T 细胞检测,结核分枝杆菌免疫反应检测值 [TB (T-N)]  $\geq 14$  为阳性, TB-IGRA 试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司。(4)采用蛋白芯片法检测结核抗体三项,包括 LAM 抗体、38DKa 抗体及 16DKa 抗体, TB03A 试剂盒购自南京大渊生物技术工程有限责任公司。

1.6 统计学方法 采用 EpiData 3.1 软件建立数据库并双人双机录入数据,采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用两独立样本  $t$  检验;计数资料以百分数表示,采用  $\chi^2$  检验或 Fisher's 确切概率法;采用 Kappa 值判断耐药基因检测与药敏试验的一致性, Kappa 值  $\leq 0.20$  为一致性极低, 0.21~0.40 为一致性一般, 0.41~0.60 为一致性中等, 0.61~0.80 为一致性较高, 0.81~1.00 为几乎完全一致;初治肺结核患者耐药的危险因素分析采用多因素 Logistic 回归分析(逐步法)。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 耐药情况 478 例患者中 126 例耐药,耐药率为 26.4%。478 例患者中对一线抗结核药物异烟肼耐药 64 例 (13.4%), 利福平耐药 33 例 (6.9%), 乙胺丁醇耐药 20 例 (4.2%), 链霉素耐药 75 例 (15.7%); 对二线抗结核药物左氧氟沙星耐药 28 例 (5.9%), 利福喷丁耐药 28 例 (5.9%), 莫西沙星耐药 23 例 (4.8%), 对氨基水杨酸钠耐药 21 例 (4.4%), 卷曲霉素耐药 7 例 (1.5%), 丙硫异烟胺耐药 2 例 (0.4%), 阿米卡星耐药 2 例 (0.4%); MR-TB 50 例 (10.5%), MDR-TB 30 例 (6.3%), XDR-TB 21 例 (4.4%), 其他 25 例 (5.2%)。

2.2 耐药危险因素 不同耐药情况患者男性比例、人口类型、家庭人均月收入、BMI、咯血或血痰发生情况、肺结核患者接触史比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 不同耐药情况患者年龄、受教育程度、咳嗽时间  $\geq 3$  周者所占比例、双肺受累肺野数比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 见表 1)。将年龄(赋值:  $< 30$  岁 = 0,  $30 \sim 59$  岁 = 1,  $\geq 60$  岁 = 2)、受教育程度(赋值: 初中及以下 = 0, 高中/中专 = 1, 大学及以上 = 2)、咳嗽时间  $\geq 3$  周(赋值: 否 = 0, 是 = 1)、双肺受累肺野数(赋值: 1~5 个 = 0, 6 个 = 1)作为自变量,将药敏试验结果(赋值: 敏感 = 0, 耐药 = 1)作为因变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示年龄、双肺受累肺野数是初治肺结核患者耐药的危险因素 ( $P < 0.05$ , 见表 2)。

表 2 初治肺结核患者耐药相关因素的多因素 Logistic 回归分析结果  
Table 2 Multivariate Logistic regression analysis on related factors of drug resistance in untreated patients with pulmonary tuberculosis

变量	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR (95%CI)
年龄 (以 $< 30$ 岁为对照)					
30~59 岁	0.687	0.248	7.706	0.006	1.988 (1.224, 3.231)
$\geq 60$ 岁	0.645	0.313	4.242	0.039	1.906 (1.032, 3.521)
双肺胸片受累肺野数	0.713	0.231	9.534	0.002	2.040 (1.298, 3.209)

2.3 耐药基因检测结果 478 例患者中 210 例行利福平耐药相关 rpoB 基因、异烟肼耐药相关 katG/inhA 基因检测,结果显示利福平耐药相关 rpoB 基因突变诊断初治肺结核患者耐药的灵敏度为 83.3%, 特异度为 99.0%, 阳性预测值为 83.3%, 阴性预测值为 99.0%, Kappa 值为 0.823; 异烟肼耐药相关 katG/inhA 基因突变诊断初治肺结核患者耐药的灵敏度为