

2011年越南耐多药结核病患者中二线抗结核药物的耐药率

Hoa Binh Nguyen,^{ab} Nhung Viet Nguyen,^{ac} Huong Thi Giang Tran,^d Hai Viet Nguyen^e and Quyen Thi Tu Bui^f

通讯作者: Nguyen Binh Hoa (电子邮箱: nguyenbinhhoat@yahoo.com)

背景: 广泛耐药结核病 (XDR-TB) 是一个新发的全球公共卫生问题。世界卫生组织估计在全球耐多药结核病 (MDR-TB) 患者中有9.7%为XDR-TB。本研究的目的是了解越南第四次全国抗结核药物耐药调查中发现的MDR-TB患者中二线抗结核药物的耐药率。

方法: 使用按容量比例概率方法选择80个诊治结核病的机构。对4种主要的一线抗结核药物开展药物敏感性试验 (药敏试验) 以鉴定MDR-TB患者。对MDR-TB患者的菌株进行二线药物 (氧氟沙星、阿米卡星、卡那霉素、卷曲霉素) 的药敏试验以鉴定早期XDR患者和XDR患者。

结果: 共有1629例涂阳结核病患者适合进行培养和药敏试验。其中, 有1312例患者获得了一线药物的药敏试验结果, 发现91例 (6.9%) 耐多药结核病患者。在这些患者中, 84例获得了二线药敏试验结果。其中, 15例 (17.9%) 对氧氟沙星耐药, 有6.0%对卡那霉素和卷曲霉素耐药。5例 (6.0%) MDR-TB患者符合XDR-TB的标准。

结论: 本次调查首次估计了越南MDR-TB患者中XDR-TB的比例, 为制定本地有关二线药敏试验的政策提供了重要信息。当地有关结核病预防、早期诊断和使用有效方案治疗的政策和规划是非常重要的。

结核病是传染病中的一个主要致死原因。世界卫生组织估计2014年全球有960万人发展为结核病, 150万人死于结核病^[1]。越南在22个结核病高负担国家中位列第12位^[1]。越南在2007年开展了第一次全国结核病患病率调查, 结果显示15岁及以上成人中, 细菌学阳性的结核病患病率为307/10万, 痰涂片阳性 (涂阳) 的结核病患病率为197/10万^[2]。

抗结核药物的耐药性是全球结核病控制的一个公共卫生威胁^[1,3,4]。全球新发结核病患者中耐多药结核病 (MDR-TB) 患者的比例为3.3%^[4], 在曾治疗过的结核病患者中比例为20%, 2014年约有48万例^[1]。越南是27个MDR-TB高负担国家之一, 估计2014年新发MDR-TB患者的比例为4.0%, 复治患者中MDR-TB的比例为23%^[1,5]。根据越南第四次全国抗结核药物耐药调查和2015年世界卫生组织全球结核病报告, 估计越南已登记的结核病患者中MDR-TB患者为5100例^[1,5]。

2009年, 越南国家结核病规划实施了耐药结核病的规划管理, 为MDR-TB患者进行诊断并提供二线抗结

核药物的治疗。目前, 耐药结核病的规划管理已被纳入总的国家结核病控制规划中, 获得了用于MDR-TB患者管理的额外资金和技术支持。被发现并纳入MDR治疗的MDR-TB患者数量已从2009年的101例增长到了2015年的2131例。这些患者占越南估计的5100例MDR-TB患者的42%, 远高于全球估计的比例 (26%)^[1]。然而, 为了实现MDR-TB患者都纳入治疗的国家目标, 这些成就仍然需要进一步提升。

广泛耐药结核病 (XDR-TB) 是一个新的全球公共卫生问题^[1,3]。世界卫生组织估计全球MDR-TB患者中有9.7%为XDR-TB^[1]。MDR-TB和XDR-TB的出现和传播对于结核病控制活动是一个巨大的挑战, 因为与其他类型的结核病相比, MDR-TB和XDR-TB患者的治疗更加昂贵, 有更多的药物不良反应, 成功率更低, 死亡率更高^[1,3,4,6]。

2011年, 越南国家结核病规划开展了第四次全国抗结核药物耐药调查, 评估了全国抗结核药物耐药的负担^[5]。本研究中, 我们对一线抗结核药物进行了药物敏感性试验 (药敏试验) 以估计MDR-TB的患病率,

^a 越南国家结核病控制规划, 越南, 河内

^b 国际结核病和肺部疾病联合会, 实施性研究中心, 法国, 巴黎

^c 越南结核病和肺部疾病协会, 越南, 河内

^d 卫生部, 国际合作部门, 越南

^e 河内医科大学, 越南

^f 河内公共卫生学院, 越南

Submitted: 15 April 2016; Published: 8 June 2016

doi: 10.5365/wpsar.2016.7.2.002

也对二线抗结核药物（氧氟沙星、阿米卡星、卡那霉素、卷曲霉素）进行了药敏试验。我们的目的是了解在越南第四次全国抗结核药物耐药调查中发现的所有MDR-TB患者的XDR-TB患病率。

方法

研究对象、样本量和抽样方法

越南第四次全国抗结核药物耐药调查的研究设计、抽样策略、样本量计算和分析的全部细节在别处已有描述^[5]。简单地说，这是一个横断面调查，使用按容量比例概率抽样方法，以新涂阳结核患者的登记数量为基础，评估越南结核病患者中MDR-TB的患病率。本次调查从全国所有负责诊断和登记治疗结核患者的地区级结核病机构中选择80个机构开展调查。在研究对象招募期间，所选机构中新登记治疗的（包括新的和以前治疗过的）涂阳结核病患者符合入选条件。所需样本量为1612例新涂阳结核病患者；因此，每个机构中需要从2011年6月至12月的6个月期间纳入至少22个新涂阳结核病患者。在此期间，所有被诊断的以前治疗过的涂阳结核病患者也纳入本次调查。

数据收集和实验室流程

数据收集和实验室流程已经在别处进行了详细描述^[5]。简单地说，通过与结核病患者进行面对面的访谈，收集有关年龄、性别、区域、以前结核病治疗史、症状和HIV状态的信息。每名患者收集2份痰标本进行培养和药敏试验。样本要在收集后的48小时内通过冷藏箱（2-8°C）运送到有结核病培养能力和设备的2个国家/区域级实验室和5个省级实验室。使用4%NaOH对本标本进行净化，把0.1mL的混合剂接种到两个Ogawa试管中（按照修正的Petroff法）^[7]。然后把分离的菌株送往2个国家实验室进行鉴定和药敏试验，在罗氏培养基上使用比例法对4个药物（异烟肼、利福平、乙胺丁醇和链霉素，临界浓度分别为0.2、40、2和4 μg/ml）进行药敏试验。也在罗氏培养基上使用比例法对所有二线抗结核药物（氧氟沙星、阿米卡星、卡那霉素、卷曲霉素，根据世界卫生组织标准，临界浓度分别为2、30、40和40 μg/ml）进行药敏试验^[8]。

为了确保药敏试验的质量，遵照世界卫生组织结核病耐药监测指南，在2个国家级医院分离的所有MDR-TB患者的样本都要送去进行重复检测，即要通过2个国家级和区域级实验室之间的交叉核对^[9]。由澳大利亚阿德莱德的参比实验室为本研究提供培养和药敏试验的质量保证。

结核患者的定义

我们遵循世界卫生组织推荐的耐药结核患者的定义^[5]：

- MDR-TB：至少对异烟肼和利福平耐药的结核分枝杆菌引起的结核病；
- 早期XDR-TB：对异烟肼和利福平耐药，以及对3种注射用药物（卡那霉素、阿米卡星和卷曲霉素）中任一种或对氟喹诺酮类药物耐药的结核病；
- XDR-TB：在MDR-TB基础上，对任一种氟喹诺酮类药物耐药和至少对一种二线注射用药物（阿米卡星、卡那霉素和/或卷曲霉素）耐药。

数据管理和分析

所有数据都来自越南第四次全国抗结核药物耐药调查的调查数据库和实验室数据库。数据分析使用Stata软件（版本为12 SE，Stata公司，学院站，德克萨斯州，美国）。我们计算了对二线抗结核药物（基于如前所述的4种二线抗结核药物）耐药的MDR-TB患者的数量和比例。计算了95%可信区间（CI），显著性水平为 $P \leq 0.05$ 。

研究方案通过越南国家肺科医院伦理审查委员会的批准。

结果

本次调查从2011年6月1日至12月31日在80个结核病机构中开展，共纳入1840例涂阳结核病患者。患者招募期结束后，因为在7个培养实验室中的1个实验室发现了实验室污染问题，因此排除了9个机构。共有1552例已经被培养的样本纳入分析。其中，诊断为涂阳和培养阳性结核病的总人数为1341例，1312例患者有药敏试验结果。共报告了91例MDR-TB患者，包括在1105例新发结核病患者中发现的46例MDR-TB患者（4.2%，95%CI：2.5-5.4）和在195例曾经治疗过的结核病患者中发现的45例MDR-TB患者（23.1%，95%CI：16.7-29.9）。表1显示了91例MDR-TB患者的人口学特征。这些病例的中位年龄为46.2岁（范围为20-80岁）；27.5%的病例在20-34岁年龄组。在91例MDR-TB患者中，78.0%为男性，65.9%是越南南部区域的居民。

表1. 2011年越南第四次全国抗结核药物耐药调查MDR-TB患者的特征 (n=91)

特征	例数	%
性别		
男	71	78.0
女	20	22.0
年龄组 (岁)		
20 - 34	25	27.5
35 - 44	14	15.4
45 - 54	25	27.5
55 - 64	17	18.7
65 - 80	10	11.0
在越南的居住区域		
北部	16	17.6
中部	15	16.5
南部	60	65.9
结核病史		
无结核病史	46	50.5
曾患过结核病	45	49.5

TB: 结核病

对一线抗结核药物的耐药模式

按照定义, 所有91例MDR-TB患者都对异烟肼和利福平耐药 (表2)。而且, 50例MDR-TB患者 (54.9%; 95%CI: 44.5 - 65.4) 对乙胺丁醇耐药, 84例 (92.3%; 95%CI: 86.7 - 97.9) 对链霉素耐药, 47例 (51.6%; 95%CI: 41.2 - 62.1) 对乙胺丁醇和链霉素均耐药。在46例新发MDR-TB患者中, 29例 (63.0%; 95%CI: 48.6 - 77.5) 对乙胺丁醇耐药, 44例 (95.7%; 95%CI: 89.5 - 100.0) 对链霉素耐药, 27例 (58.7%; 95%CI: 43.9 - 73.5) 对乙胺丁醇和链霉素均耐药。在45例重复治疗的患者中, 21例 (46.7%; 95%CI: 31.5 - 61.8) 对乙胺丁醇耐药, 40例 (88.9%; 95%CI: 79.3 - 98.4) 对链霉素耐药, 20例 (44.4%; 95%CI: 29.3 - 59.5) 对乙胺丁醇和链霉素均耐药。

对二线抗结核药物的耐药模式

在91例MDR-TB患者中, 84例 (92.3%) 有二线药敏试验结果。早期XDR的总比例为17.9% (95%CI: 9.4 - 26.2)。在新患者 (n=41) 中早期XDR的比例为19.5% (95%CI: 6.8 - 32.1), 在曾治疗过的患者 (n=43) 中为16.3% (95%CI: 4.7 - 27.8)。还有5例患者 (6.0%, 95%CI: 0.8 - 11.1) 被诊断为XDR-TB, 包括2例新患者 (4.9%, 95%CI: 0 - 11.8) 和3例曾治疗过的患者 (7.0%, 95%CI: 0 - 14.9)。

表3显示了5名XDR-TB患者的特征。他们全为男性且为HIV阴性。XDR-TB患者的中位年龄为48岁, 最小年龄为23岁, 最大年龄为63岁。XDR结核分枝杆菌菌株来源于越南中部 (n=2) 和南部 (n=3) 区域。

讨论

我们观察到MDR-TB患者的二线抗结核药物耐药水平很高。我们的结果支持其他研究展示的数据^[4,6,10-14]。在本研究中, MDR-TB患者中XDR-TB的总比例仍然低于全球平均估计水平^[1]。虽然其他地方的MDR-TB患者中XDR-TB的比例变化幅度从5%到21%^[4,6,10-14], 但是James等报道在印度MDR-TB患者中XDR-TB的比例高达60%^[15]。这可能是由于患者转诊的偏倚造成的, 因为该研究是在转诊到三级保健医院的患者中开展的。

我们认为XDR-TB的主要原因是滥用作为二线抗结核药物的抗生素。(在结核病高负担国家中可以在药店中购买到氟喹诺酮类药物和其他二线药物)^[16]。此外, 也由于医务人员未能提供充分的治疗以及结核病患者全程治疗的依从性较低所致。在越南, 2010年至2012年有1380例MDR-TB患者纳入治疗, 有372例 (27%) 未能完成治疗。(在越南的不同地区这个比例变化很大。) 失访是主要的不良治疗结局, 可能是由于治疗期较长所致^[17]。

MDR-TB和XDR-TB是结核病控制失败的指标。有几个原因会导致这种情况发生: (1) 医务人员可能没有为结核病患者提供充分的药物治疗方案; (2) 结核病患者可能未遵从一个合适的治疗方案; (3) 药物质量可能较差; (4) MDR-TB和XDR-TB在社区传播。在越南, 抗结核药物 (包括一线和二线药物) 不需要医疗处方即可购买。约有一半的私人药店愿意为结核病患者或者寻求结核病药物的人们提供这些药物^[18]。我们发现对氧氟沙星耐药的比例很高 (9.4 - 26.2%), 这与其他研究结果相似^[10,13,14,19,20]。这可能是由于接受治疗的结核病患者以前已经使用过氧氟沙星。高比例的早期XDR-TB患者可能意味着药物的不合理使用, 尤其是包括氧氟沙星在内的氟喹诺酮类药物。氧氟沙星是用于呼吸道感染和其他细菌感染的最常见的处方抗生素, 在某些情况下, 在越南不需要处方即可在本地药店购买到^[16]。这些药物的易得和不当使用增加了耐药结核病发生的风险。

本研究中, 所有对卡那霉素耐药的结核病患者也都对卷曲霉素耐药, 这与其他研究结果一致^[21,22]。由于卷曲霉素很昂贵, 因此它在越南并不能随便买到,

表2. 2011年越南第四次全国抗结核药物耐药调查MDR-TB患者的抗结核药物的耐药模式

	检测人数	总计	检测人数	新患者	检测人数	曾治疗过的患者
		耐药人数 n (% , 95% CI)		耐药人数 n (% , 95% CI)		耐药人数 n (% , 95% CI)
一线药物						
乙胺丁醇	91	50 (54.9; 44.5 - 65.4)	46	29 (63.0; 48.6 - 77.5)	45	21 (46.7; 31.5 - 61.8)
链霉素	91	84 (92.3; 86.7 - 97.9)	46	44 (95.7; 89.5 - 100)	45	40 (88.9; 79.3 - 98.4)
异烟肼	91	91 (100)	46	46 (100)	45	45 (100)
利福平	91	91 (100)	46	46 (100)	45	45 (100)
二线药物						
阿米卡星	84	1 (1.2; 0 - 3.6)	41	0 (0)	43	1 (2.3; 0 - 7.0)
卷曲霉素	84	5 (6.0; 0.8 - 11.1)	41	2 (4.9; 0 - 11.8)	43	3 (7.0; 0 - 14.9)
卡那霉素	84	5 (6.0; 0.8 - 11.1)	41	2 (4.9; 0 - 11.8)	43	3 (7.0; 0 - 14.9)
氧氟沙星	84	15 (17.9; 9.4 - 26.2)	41	8 (19.5; 6.8 - 32.1)	43	7 (16.3; 4.7 - 27.8)
早期XDR-TB	84	15 (17.9; 9.4 - 26.2)	41	8 (19.5; 6.8 - 32.1)	43	7 (16.3; 4.7 - 27.8)
XDR-TB	84	5 (6.0; 0.8 - 11.1)	41	2 (4.9; 0 - 11.8)	43	3 (7.0; 0 - 14.9)
阿米卡星+卷曲霉素+卡那霉素+氧氟沙星	84	1 (1.2; 0 - 3.6)	41	0 (0)	43	1 (2.3; 0 - 7.0)
卷曲霉素+卡那霉素+氧氟沙星	84	5 (6.0; 0.8 - 11.1)	41	2 (4.9; 0 - 11.8)	43	3 (7.0; 0 - 14.9)

CI, 可信区间; TB, 结核病; XDR-TB, 广泛耐药结核病

表3. 2011年越南第四次全国抗结核药物耐药调查XDR-TB患者的特征

病例	年龄	性别	居住区域	曾治疗过结核病	HIV状态	一线抗结核药物的耐药模式	二线抗结核药物的耐药模式
1	23	男	中部	否	阴性	H; R; S	CM; KM; OFL
2	53	男	中部	是	阴性	E; H; R; S	CM; KM; OFL
3	63	男	南部	是	阴性	E; H; R; S	CM; KM; OFL
4	46	男	南部	否	阴性	E; H; R; S	CM; KM; OFL
5	48	男	南部	是	阴性	E; H; R; S	AM; CM; KM; OFL

AM, 阿米卡星; CM, 卷曲霉素; E, 乙胺丁醇; FLDs, 一线抗结核药物; H, 异烟肼; KM, 卡那霉素; OFL, 氧氟沙星; R, 利福平; SLDs, 二线抗结核药物; S, 链霉素; TB, 结核病

也不常用。Maus等在美国开展的一个研究报道了卡那霉素和卷曲霉素之间的交叉耐药^[21]。该研究描述了由于rrs基因突变导致的对卷曲霉素和卡那霉素耐药的菌株。从使用卡那霉素治疗的结核病患者中分离到的菌株对卡那霉素和卷曲霉素耐药，而且对卷曲霉素的耐药水平随着对卡那霉素的耐药水平而发生变化^[21]。为了确认越南的卡那霉素和卷曲霉素之间的交叉耐药，需要对MDR-TB患者的rrs基因开展进一步研究。

本研究存在一些局限性。首先，机构的选择是基于2003年登记的新涂阳结核病患者，并不是近期的数据。不过，登记的结核病患者分布从2003年至2011

年依然相当稳定^[5]。第二，本研究没有包括私立卫生机构；因此，我们不能估计在私立机构中MDR-TB的负担。虽然存在这些不足，但本研究的样本总体上可代表越南的所有患者。

结论

本调查首次估计了越南MDR-TB患者中XDR-TB的比例。这些结果为临床医生和本地政策制定者以及国际卫生机构提供了关于开展二线药敏试验的重要信息。当地以结核病预防、早期诊断和使用有效方案治疗为主的结核病政策和规划是非常重要的。

利益冲突

无

经费

无

致谢

感谢国家结核病规划委员会；感谢所有参与调查的国家级、区域级、省级、地区级和社区级的工作人员以及所有参与本研究的患者。我们也诚挚地感谢来自荷兰海牙的KNCV结核病基金会的Edine W Tiemersma博士，她为数据管理和校验提供了支持，以及感谢来自澳大利亚阿德莱德的分枝杆菌参比实验室的Richard Lumb，他在本研究中为培养和药敏试验的质量保证提供了支持。

参考文献

1. *Global tuberculosis report 2015*. Geneva, World Health Organization 2015 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1, accessed 16 May 2016).
2. Hoa NB et al. National survey of tuberculosis prevalence in Viet Nam. *Bulletin of World Health Organization*, 2010, 88(4):273–280. doi:10.2471/BLT.09.067801 pmid:20431791
3. *Anti-tuberculosis drug resistance in the world, Report No. 4: The WHO/IUATLD global project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance*. Geneva, World Health Organization, 2008 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43889/1/WHO_HTM_TB_2008.394_eng.pdf?ua=1&ua=1, accessed 16 May 2016).
4. *Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response*. Geneva, World Health Organization, 2010 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44286/1/9789241599191_eng.pdf?ua=1&ua=1, accessed 16 May 2016).
5. Nhung NV et al. The fourth national anti-tuberculosis drug resistance survey in Viet Nam. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2015, 19(6):670–675. doi:10.5588/ijtld.14.0785 pmid:25946357
6. Poudel A et al. Characterization of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Nepal. *Tuberculosis (Edinburgh)*, 2013, 93(1):84–88. doi:10.1016/j.tube.2012.10.007 pmid:23146281
7. *Guidelines on Standard Operating Procedures for Laboratory Diagnosis of HIV-Opportunistic Infections*. New Delhi, World Health Organization Regional Office for South-East Asia, 2001 (http://apps.searo.who.int/PDS_DOCS/B0189.pdf, accessed 16 May 2016).
8. *Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs*. Geneva, World Health Organization, 2008 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70500/1/WHO_HTM_TB_2008.392_eng.pdf, accessed 16 May 2016).
9. *Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. Fourth edition*. Geneva, World Health Organization Document, 2009 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44206/1/9789241598675_eng.pdf, accessed 16 May 2016).
10. Paramasivan CN et al. First- and second-line drug resistance patterns among previously treated tuberculosis patients in India. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2010, 14(2):243–246. pmid:20074419
11. Migliori GB et al. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in the West. Europe and United States: epidemiology, surveillance, and control. *Clinics in Chest Medicine*, 2009, 30(4):637–665, vii. doi:10.1016/j.ccm.2009.08.015 pmid:19925959
12. Li X et al. Population-based surveillance of extensively drug-resistant tuberculosis in Shandong Province, China. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2012, 16(5):612–614. pmid:22410186
13. Hu Y et al. Prevalence and genetic characterization of second-line drug-resistant and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Rural China. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 2013, 57(8):3857–3863. doi:10.1128/AAC.00102-13 pmid:23733477
14. Punga VV et al. Prevalence of extensively drug-resistant tuberculosis in Vladimir and Orel regions, Russia. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2009, 13(10):1309–1312. pmid:19793439
15. James P et al. MDR- and XDR-TB among suspected drug-resistant TB patients in a tertiary care hospital in India. *Clinical Respiratory Journal*, 2011, 5(1):19–25. doi:10.1111/j.1752-699X.2009.00184.x pmid:21159137
16. Wells WA et al. Size and usage patterns of private TB drug markets in the high burden countries. *PLoS One*. 2011 05 04;6(5):e18964. doi:10.1371/journal.pone.0018964 pmid:21573227
17. Phuong NTM et al. Management and treatment outcomes of patients enrolled in MDR-TB treatment in Viet Nam. *Public Health Action*, 2016, 21;6(1):25–31. doi:10.5588/pha.15.0068 pmid:27051608
18. Vu DH et al. Suspected tuberculosis case detection and referral in private pharmacies in Viet Nam. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2012, 16(12):1625–1629. doi:10.5588/ijtld.12.0295 pmid:23131260
19. Iqbal R et al. The First and Second Line Anti TB Drug Resistance Pattern in Lahore. Pakistan. *The Journal of Medical Research*, 2012, 51(1).
20. Agrawal D et al. Increasing incidence of fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mumbai, India. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2009, 13(1):79–83. pmid:19105883
21. Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 2005, 49(8):3192–3197. doi:10.1128/AAC.49.8.3192-3197.2005 pmid:16048924
22. Jugheli L et al. High levels of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs among prisoners with pulmonary tuberculosis in Georgia. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2008, 12(5):561–566. pmid:18419893