



ISSN 1673-6990
CN 11-5437/R

The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease

国际结核病与肺部疾病杂志 中文版

The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease

2010 年 9 月 第 5 卷 第 3 期

论著

- 93 越南城市地区年轻人患结核病的增加未影响人群结核感染危险率的降低
T. N. Buu, H. T. Quy, N. C. Qui, et al.
- 101 结核病治疗过程中乙型肝炎病毒感染能预测肝毒性吗? 制定一个初步的预测规律
L. de Castro, P. E. A. A. do Brasil, T. P. Monteiro, et al.
- 110 南非夸祖鲁纳塔尔农村地区以社区为基础的耐多药结核病治疗
T. Heller, R. J. Lessells, C. G. Wallrauch, et al.

短篇论著

- 116 印度既往接受过抗结核治疗患者的一线 and 二线抗结核药耐药谱
C. N. Paramasivan, F. Rehman, F. Wares, et al.

科学发展动态

- 120 耐药结核分枝杆菌的传染性、生殖适应性和进化
S. Borrell, S. Gagneux
- 130 耐药结核病的诊断:检测的可靠性和即时性
A. Van Deun, A. Martin, J. C. Palomino

ISSN 1673-6990



9 771673 699105

· 中国防痨协会主办 ·

国际结核病与肺部疾病杂志

中文 版

The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease
(CHINESE VERSION)

季刊	第 5 卷	第 3 期	2010 年 9 月 20 日出版
Quartly	Volume 5	Number 3	September 20, 2010

主 管：中国科学技术协会

主 办：中国防痨协会

编 辑：国际结核病与肺部疾病杂志中文版
编辑委员会
100035, 北京市西城区东光胡同 5 号
电话：(010) 62257257

主 编：王黎霞

出 版：国际结核病与肺部疾病杂志
中文版编辑部
100035, 北京市西城区东光胡同 5 号
电话：(010) 62257257

印 刷：北京集惠印刷有限责任公司

发 行：中国防痨协会

定 价：每期 10 元，全年 40 元

中国统一连续出版物号：ISSN 1673-6990

国际标准连续出版物号：CN 11-5437/R

责 任 编 辑：范永德

Responsible Institution
China Association for Science and Technology

Sponsor
Chinese Anti-Tuberculosis Association

Editing
Editorial Board of the International Journal of
Tuberculosis and Lung Disease (Chinese Version)
No. 5 Dongguang Hutong, Xicheng District
Beijing, 100035, China
Tel: 0086-10-62257257

Editor-in-chief: Wang Lixia

Publishing
Editorial Department of the International Journal
of Tuberculosis and Lung Disease (Chinese Version)
No. 5 Dongguang Hutong, Xicheng District
Beijing, 100035, China
Tel: 0086-10-62257257

Printing
Beijing Jihui Printing Co., Ltd.

CSN
ISSN 1673-6990
CN 11-5437/R

Editor: Fan Yongde

国际结核病与肺部疾病杂志

中文版

季刊

第5卷

第3期

2010年9月20日出版

目次

论著

93 越南城市地区年轻人患结核病的增加未影响人群结核感染危险率的降低

T. N. Buu, H. T. Quy, N. C. Qui, N. T. N. Lan, D. N. Sy, F. G. J. Cobelens

101 结核病治疗过程中乙型肝炎病毒感染能预测肝毒性吗? 制定一个初步的预测规律

L. de Castro, P. E. A. A. do Brasil, T. P. Monteiro, V. C. Rolla

110 南非夸祖鲁纳塔尔农村地区以社区为基础的耐多药结核病治疗

T. Heller, R. J. Lessells, C. G. Wallrauch, T. Bärnighausen, G. S. Cooke, L. Mhlongo, I. Master, M. L. Newell

短篇论著

116 印度既往接受过抗结核治疗患者的一线 and 二线抗结核药耐药谱

C. N. Paramasivan, F. Rehman, F. Wares, N. Sundar Mohan, S. Sundar, S. Devi, P. R. Narayanan

科学发展动态

120 耐药结核分枝杆菌的传染性、生殖适应性和进化

S. Borrell, S. Gagneux

130 耐药结核病的诊断:检测的可靠性和即时性

A. Van Deun, A. Martin, J. C. Palomino

The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease

The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease

Editors-in-Chief **Tuberculosis** Nulda Beyers, University of Stellenbosch, Tygerberg, South Africa
Lung Disease Moira Chan-Yeung, University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China

Associate Editors

NADIA AÏT-KHALED (Algeria)	FERUANDO HOLGUIN (USA)	SHAMIM QAZI (Switzerland)
ISABELLA ANNESI-MAESANO (France)	MICHAEL IADEMARCO (USA)	MARY REICHLER (USA)
HELEN AYLES (Zambia)	WANIS IBRAHIM (Qatar)	RENÉE RIDZON (USA)
MARGARET BECKLAKE (Canada)	S K JINDAL (India)	HANS L RIEDER (Switzerland)
MAARTEN BOSMAN (The Netherlands)	PETER KAZEMBE (Malawi)	I D RUSEN (Canada)
KEN CASTRO (USA)	SANG JAE KIM (Korea)	AKIHIRO SEITA (Egypt)
PATRICK CHAULK (USA)	AFRANIO KRITSKI (Brazil)	TOM SHINNICK (USA)
CHEN-YUAN CHIANG (Taiwan)	UMESH LALLOO (South Africa)	BABIS SISMANIDIS (UK)
HOOSEN COOVADIA (South Africa)	KEIR LEWIS (UK)	TIM STERLING (USA)
PETER D O DAVIES (UK)	ROBERT LODDENKEMPER (Germany)	WAN CHENG TAN (Canada)
KEVIN M DE COCK (USA)	CARL LOMBARD (South Africa)	JEAN-FRANÇOIS TESSIER (France)
CHRIS DYE (Switzerland)	DAVID MANNINO (USA)	SALLY THEOBALD (UK)
DONALD A ENARSON (Canada)	GUY MARKS (Australia)	CHARLES THOEN (USA)
PIERRE ERNST (Canada)	MARC MENDELSON (South Africa)	ARNAUD TRÉBUCQ (France)
MARCOS ESPINAL (Dominican Republic)	CAROLE MITNICK (USA)	MUKUND UPLEKAR (India)
ANNE FANNING (Canada)	JOHN F MURRAY (USA)	MARIEKE VAN DER WERF (The Netherlands)
VICTORINO FARGA (Chile)	ALWYN MWINGA (Zambia)	ARMAND VAN DEUN (Belgium)
STEPHEN GILLESPIE (UK)	MELANIE NEWPORT (UK)	ANDREW VERNON (USA)
STEVE GRAHAM (Australia)	ANDREW NUNN (UK)	ROBERT J WILKINSON (UK)
TONY HARRIES (UK)	ARIEL PABLOS-MENDEZ (Mexico)	BRIAN WILLIAMS (Switzerland)
ROGELIO HERNANDEZ PANDO (Mexico)	MADHUKAR PAI (Canada)	PAN-CHYR YANG (Taiwan)
ANNEKE HESSELING (South Africa)	CHRISTIAN PERRONNE (France)	JEAN-PIERRE ZELLWEGER (Switzerland)

Expert statistical review panel Larry Moulton (USA)

Ex-officio members (The Union)

President of The Union, Michael Iseman (Emeritus, USA)

Manuscripts and correspondence

MANAGING EDITOR	CLARE PIERARD	DIRECTOR OF PUBLICATIONS	NILS E BILLO
TECHNICAL EDITOR	IRENE ROY	MEMBERSHIP/SUBSCRIPTIONS	membership@theunion.org
EDITORIAL ASSISTANT	SARAH WATSON		
EDITORIAL OFFICE	The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union) 68 boulevard Saint Michel, 75006 Paris, France Tel: (+33 1) 44 32 03 60 Fax: (+33 1) 43 29 90 83 e-mail: journal@theunion.org website: www.theunion.org		

AIMS AND SCOPE. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* is the official journal of The Union. The Journal's main aim is the continuing education of physicians and other health personnel, and the dissemination of the most up-to-date information in the field of tuberculosis and lung health. It publishes original articles and commissioned reviews not only on the clinical and biological and epidemiological aspects, but also-and more importantly-on community aspects; fundamental research and the elaboration, implementation and assessment of field projects and action programmes for tuberculosis control and the promotion of lung health. The Journal welcomes articles submitted on all aspects of lung health, including public health-related issues such as training programmes, cost-benefit analysis, legislation, epidemiology, intervention studies and health systems research.

DISCLAIMER. Any opinions expressed or policies advocated do not necessarily reflect those of The Union.

SUBSCRIPTION INFORMATION. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* is published monthly by The Union. *Individual membership*: 240€. *Electronic membership*: low- and low-middle-income countries 20€; high-middle and high-income countries 65€. *Institutional subscriptions*: 300€. *All payments to*: Membership Services, The Union, 68 boulevard Saint Michel, 75006 Paris, France. e-mail: membership@theunion.org. *Sample copies (libraries)*, *Missing issues*, *Address changes*: contact Membership Services.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS. Instructions on the submission of manuscripts can be obtained from the Editorial Office or the Union website www.theunion.org.

ADVERTISING SALES. Contact Clare Pierard, The Union, at journal@theunion.org.

EXCESS PAGE CHARGE. All articles over required length will be charged 100€ per excess page (see Instructions to authors).

FULL TEXT VERSION ONLINE. The full text version of the Journal is published online as of Volume 1, 1997. Free access to back issues. Access for 2007 is free to Union members and subscribers. Address: www.theunion.org (link) or www.ingentaconnect.com

INDEXING AND ABSTRACTING SERVICES. The Journal is indexed and/or abstracted in the following media: Index Medicus, Medline, Medlars, Excerpta Medica/EMBASE, SciSearch®, Medical Documentation Service®, ISI Alerting Services, Current Contents®/Clinical Medicine, the Science Citation Index®, and the SIIC databases.

ISSN 1027-3719 Copyright © The Union 2010. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of The Union.

© This paper meets the requirements of ANSI/NISO Z39.48-1992 (Permanence of Paper)

越南城市地区年轻人患结核病的增加未影响人群结核感染危险率的降低

Decrease in risk of tuberculosis infection despite increase in tuberculosis among young adults in urban Vietnam

T. N. Buu,* H. T. Quy,* N. C. Qui,* N. T. N. Lan,* D. N. Sy,[†] F. G. J. Cobelens^{‡§}

* Pham Ngoc Thach Tuberculosis and Lung Disease Hospital, Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh Province, [†]National Tuberculosis Program and Central Tuberculosis and Lung Disease Hospital, Ha Noi City, Vietnam; [‡]KNCV Tuberculosis Foundation, The Hague, [§]Centre for Poverty-related Communicable Diseases, Centre for Infection and Immunity Amsterdam, Academic Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands

摘要

目的：评价越南年轻成年人的结核病登记率增加是否造成结核病在大众人群中传播的增加。

方法：使用 1996—2005 年间县/区级结核病防治机构常规报告的数据计算出新涂阳结核登记率的趋势。对 6~9 岁儿童进行结核菌素调查，使用其结果计算结核年感染危险率的趋势。

结果：自 1996 年至 2006 年间，15~24 岁年龄组结核病登记率的年增长率为 4.3%，且城市地区的年增长率（6.7%）比农村地区（1.7%）更高。城市地区的结核年感染危险率从 1992 年的 2.4% 下降到 1998 年的 1.2% 和 2005 年的 0.9%；

农村地区的结核年感染危险率从 1991 年的 0.7% 上升到 1997 年的 1.2%，之后下降到 2006 年的 0.9%。

结论：在胡志明省，年轻成年人结核病登记率升高，但同时儿童结核年感染危险率下降。这说明年轻成年人的结核病登记率变化趋势反映了在这一年龄段从结核菌感染发展成为结核病患者的比例升高了，以及/或在这一年龄段的结核病传播增加了，但不能说结核病在全人群中的传播增加了。

关键词：结核感染率；病例登记；越南城市地区

全球结核病控制的目标是涂阳肺结核患者发现率达 70%，治愈率达 85%¹。数学模型预测：这些目标的实现将快速降低结核病的死亡率、患病率和传播；当这些目标连续维持 8 年时，结核病的发病率会逐渐降低一半²。秘鲁的实践结果对这一预测给予了强有力的证实。自 1997 年以来，在实现这些目标多年以后，秘鲁新发涂阳结核病的登记率已出现下降³，并也因此于 2000 年成为第一个摆脱结核病高负担的国家⁴。

越南于 1997 年率先实现世界卫生组织的结核病控制目标⁵。然而，并没有迹象表明发病率的下降⁶⁻⁸。值得一提的是：在越南，中老年人的结核病登记率已下降，而年轻成年人的结核病登记率却

上升了⁶。这一情形在胡志明省（越南的主要城市地区）^{6,8}也已经显现。

最近的研究表明：在胡志明省结核病登记率的升高，只有部分原因是由于 15~24 岁男性人群的艾滋病病毒（HIV）感染流行所造成^{7,9}。2006 年，估计胡志明省 15~49 岁人群的 HIV 感染率为 1.2%，占越南 HIV 感染者和艾滋病病人总数的 20%。另外一种解释是：登记率的升高可能是由于近期结核病在全人群中传播的增加，从而首先表现在最年轻人群中患者比例的增加¹⁰。一般说来，儿童结核年感染危险率（ARTI）可以反映结核病在全人群中传播的水平¹⁰。在胡志明省的城市地区开展了一项针对学校学生的结核菌素调查，分析结果

显示：在 1986—1998 年间，年结核感染危险率每年增加 1%⁷。

本文将新发涂阳结核病登记率变化趋势与 1991—2006 年间开展的结核菌素调查结果进行比较，评价胡志明省年轻成年人结核病登记率的升高是否反映出结核病在全人群中传播的增加。

方 法

研究地点

胡志明省地处越南南部，面积 2 094 km²，分为 24 个行政区，其中 19 个为城区。城区的特点是居住条件拥挤、工业化进程快、就业机会多；其余为农村地区。根据 1999 年人口普查的结果，该省的人口数为 5 037 155。其中，70% 的人口居住在人口密度较高的城市地区（城市地区人口密度为 8 516 人/km²，而农村地区人口密度为 520 人/km²）。来自其他省的未登记注册的移居人口数量正在攀升，特别是在城市地区。至 2006 年，由于工业区的扩大，一些农村地区事实上已经变成了半城市化地区。自 1989 年起，DOTS 策略已覆盖全人口。

患者登记率

使用县/区级结核病防治机构在 1996—2006 年常规报告的数据来计算新发涂阳结核病患者登记率（case notification rates, CNRs）。由于 1996 年前病人发现的变化很大，因此认为使用 1996 年以前的患者登记率不能可靠地反映结核病的发病率¹¹。将患者按年龄分为 3 个年龄组：15~24 岁，25~54 岁和 ≥55 岁。人口基数源自 3 次人口普查（1994、1999 和 2004 年）；其余年份（1996—1998、2000—2003 和 2005—2006 年）的人口基数是根据假设的标准人口增长指数推算得出。依据 1996 年对城市和农村地区的划分，分别计算城市和农村地区的患者登记率。我们直接以 1999 年人口普查的年龄和性别标准作为本研究的标准，也应用了 Poisson 回归分析来评估各年龄组患者登记率的变化趋势。

结核年感染危险率

在胡志明省，大约每隔 5 年进行 1 次结核菌素调查，调查方法相同。按城市和农村地区划分后，随机抽取学校，从而获得与本地区人口成比例的一定数量的未接种卡介苗的儿童。将被选学校的一、二年级学生全部纳入，并按照学生们的年龄和性别

列表。在结素调查期间，检验卡痕并记录在案。根据国际指南，使用加入吐温 80 的 PPD-RT23（丹麦哥本哈根的国家血清研究所生产）2 个结核菌素单位进行结核菌素试验（采用曼托皮试法，Mantoux method）¹²⁻¹³。1998 年，在 1 次城市地区的结核菌素调查中，使用了同样的结核菌素，但强度降低为 1 个结素单位。

调查方案得到国家结核病与呼吸疾病研究所（现改名为医院，在河内）所属的研究理事会的批准。

许多孩子出现直径为中等大小的硬结，可能是非结核分枝菌交叉反应的表现。在这种情况下，只能大概地估算结核菌感染率¹⁴⁻¹⁵。因此，我们以硬结 ≥15 mm 儿童的比例来估算感染率。由于 ≥15 mm 这一界值对确定结核菌感染具有低敏感性和高特异性¹⁶，从而导致每个单个调查对年结核感染危险率的变化趋势提供一个没有偏倚的估算¹⁷。我们还运用已在其他地区广泛应用的“镜像法”来验证趋势估算的稳定性^{7,18-19}。因为在越南南部地区，接受结核菌素皮试的涂阳结核病患者硬结直径大小的中位数为 19 mm⁷，所以我们用 15、17、19 和 21 作为“镜像法”的标准。

越南的卡介苗接种政策是所有婴儿在出生时接种。结核感染率通常是由无卡痕儿童的结核菌素皮试（TST）结果来估算的¹³。然而，出生时接种了卡介苗，将对其学龄期的结核菌素皮试结果产生一些影响²⁰⁻²²；而且，不是所有的儿童在接种卡介苗后都会留有典型的卡痕²³⁻²⁵。在越南，卡介苗接种覆盖率较高，且逐年增长。因此，接种了卡介苗而无卡痕儿童的比例也在增加。对于这些儿童的结素皮试结果为不正常的程度尚不得而知。因此，我们在比较不同结素调查结果时不考虑卡痕的情况。

使用 Epi Info 6.0（美国佐治亚洲亚特兰大疾病控制与预防中心）建立数据库，将结核菌素皮试数据进行计算机双录入，并与原始数据进行核查；使用 Excel 2003（美国华盛顿州雷德蒙德微软公司）和 Stata 8.0（美国得克萨斯州大学城 Stata 公司）进行数据分析。

年结核感染危险率的定义：在一个自然年里，感染或再感染结核菌的人口比例，其计算公式为：

年结核感染危险率 = 1 - (1 - 结核自然感染率)^{1/平均年龄}

平均年龄计算时将最后的生日年龄加上 0.5 岁。对城市和（半）农村地区的结核年感染危险率

分别进行估算。

2 次感染危险率估算之间的平均年变化或年增长设为 B， $ARTI_i$ 为 i 年 (Y_i) 的结核年感染危险率， $ARTI_j$ ，在 j 年 (Y_j) 的结核年感染危险率，数据来源于结核菌素调查，计算公式如下：

$$B=1-(ARTI_j/ARTI_i)^{1/T}$$

公式中 $T(2 \text{ 次结素调查的间隔期间})=Y_j-Y_i$

增长 0.9%。这一增长主要发生在高度城市化地区（每年增长 2.5%）；相反，在（半）农村地区每年却下降 2.0%（表 1、2 和图 1）。

在 15~24 岁年龄组，患者登记率升高最为明显（每年升高 4.3%）。其中，男性每年升高 6.6%，女性为 1.2%；城区每年升高 6.7%，而（半）农村地区为 1.7%。

24~54 岁年龄组，患者登记率每年升高 0.9%。其中，男性升高 1.7%，而女性则降低 1.3%；城市地区每年升高 1.9%，（半）农村地区则每年下降 1.2%。

患者登记率

自 1996 年起，患者登记率呈上升趋势，每年

表 1 1996—2006 年胡志明省城市与农村地区按年龄、性别分组的人口数、新涂阳患者报告数和新涂阳患者登记率									
地区，性别，年份	15~24 岁			25~54 岁			≥55 岁		
	人口 ^a	新涂阳报告数	新涂阳登记率 (1/10 万) ^b	人口 ^a	新涂阳报告数	新涂阳登记率 (1/10 万) ^b	人口 ^a	新涂阳报告数	新涂阳登记率 (1/10 万) ^b
城市									
男性									
1996	337 142	232	69	745 767	1 478	198	128 916	305	237
1997	339 907	236	69	760 357	1 486	195	131 439	282	215
1998	342 693	255	74	775 721	1 709	220	134 012	307	229
1999	345 503	263	76	791 912	1 819	230	136 635	329	241
2000	348 336	285	82	808 988	1 665	206	139 309	308	221
2001	351 192	379	108	827 012	1 832	222	142 036	346	244
2002	354 071	462	130	846 051	1 964	232	144 816	318	220
2003	356 974	499	140	866 176	2 002	231	147 650	283	192
2004	358 875	474	132	850 616	2 263	266	148 287	322	217
2005	361 817	439	121	870 570	2 155	248	151 189	379	251
2006	364 618	468	128	884 785	2 227	252	153 768	359	233
女性									
1996	374 771	134	36	837 353	448	54	203 694	202	99
1997	379 402	160	42	853 912	441	52	206 309	185	90
1998	384 089	156	41	871 173	499	57	208 958	214	102
1999	388 834	154	40	889 175	503	57	211 640	202	95
2000	393 638	183	46	907 959	469	52	214 358	177	83
2001	398 501	157	39	927 567	512	55	217 110	203	94
2002	403 424	192	48	948 047	480	51	219 897	201	91
2003	408 409	213	52	969 447	531	55	222 720	192	86
2004	410 858	237	58	958 819	544	57	224 055	200	89
2005	415 934	213	51	980 393	534	54	226 932	194	85
2006	420 646	250	59	996 893	562	56	229 594	180	78
农村地区									
男性									
1996	153 924	94	61	314 705	658	209	63 154	302	478
1997	164 763	93	56	396 587	706	178	64 778	260	401
1998	175 956	93	53	488 383	797	163	66 442	253	381

续表 1

地区，性别，年份	15~24 岁			25~54 岁			≥55 岁		
	人口 ^a	新涂阳报告数	新涂阳登记率 (1/10 万) ^b	人口 ^a	新涂阳报告数	新涂阳登记率 (1/10 万) ^b	人口 ^a	新涂阳报告数	新涂阳登记率 (1/10 万) ^b
1999	172 422	100	58	290 421	776	267	64 470	258	400
2000	194 443	114	59	338 333	817	241	66 906	266	398
2001	217 633	169	78	390 575	964	247	69 420	256	369
2002	242 050	201	83	447 650	1063	237	72 014	272	378
2003	267 753	259	97	510 130	1092	214	74 689	267	357
2004	283 318	248	88	556 660	1239	223	78 371	283	361
2005	311 193	245	79	628 080	1328	211	81 229	289	356
2006	340 687	328	96	713 371	1388	195	84 556	291	344
女性									
1996	151 355	61	40	292 275	238	81	81 928	111	135
1997	155 796	50	32	344 021	227	66	88 306	129	146
1998	160 337	67	42	400 547	240	60	94 935	162	171
1999	158 438	89	56	290 941	241	83	90 653	129	142
2000	195 914	62	32	342 455	237	69	95 759	116	121
2001	236 597	96	41	398 522	284	71	101 034	137	136
2002	280 738	107	38	459 619	269	59	106 480	121	114
2003	328 610	119	36	526 280	268	51	112 104	115	103
2004	347 813	122	35	572 784	305	53	117 357	124	106
2005	401 349	110	27	648 398	296	46	123 317	142	115
2006	459 776	137	30	737 081	375	51	129 719	161	124

a) 标准人口数是以 1999 年人口普查数作为参考
b) 按年龄和性别调整的患者登记率是以 1999 年人口数和患者登记数作为参考

表 2 1996—2006 年越南胡志明省按地区、性别和年龄分组的新涂阳结核病患者登记率按年龄进行调整的趋势

年龄性别	年登记率		
	全省 % (95%CI)	城区 % (95%CI)	农村 % (95%CI)
所有	0.9 (0.6~1.1)	2.5 (2.2~2.8)	-2.0 (-2.4~1.5)
所有男性	1.9 (1.6~2.2)	3.1 (2.7~3.5)	-0.1 (-0.5~0.4)
所有女性	-1.3 (-1.8~0.8)	0.8 (-0.1~1.4)	-5.1 (-5.8~4.3)
15~24 岁	4.3 (3.7~5.0)	6.7 (5.8~7.6)	1.7 (0.5~2.9)
男性	6.6 (5.8~7.5)	7.6 (6.8~9.0)	5.9 (4.3~7.5)
女性	1.2 (-0.03~2.3)	4.7 (3.2~6.1)	-3.6 (-5.4~1.7)
25~54 岁	0.9 (0.6~1.2)	2.1 (1.7~2.5)	-1.2 (-1.7~0.7)
男性	1.7 (1.4~2.1)	2.6 (2.2~3.0)	0.5 (-0.1~1.0)
女性	-1.3 (-2.0~0.7)	0.3 (-0.5~1.2)	-4.7 (-5.7~3.6)
≥55 岁	-1.2 (-2.6~0.2)	-0.5 (-1.3~0.3)	-3.0 (-3.9~2.1)
男性	-0.9 (-1.7~0.2)	0.0 (-1.0~1.0)	-2.3 (-3.4~1.2)
女性	-2.1 (-3.1~1.0)	-1.7 (-3.0~0.4)	-3.2 (-4.7~1.6)

CI=可信区间

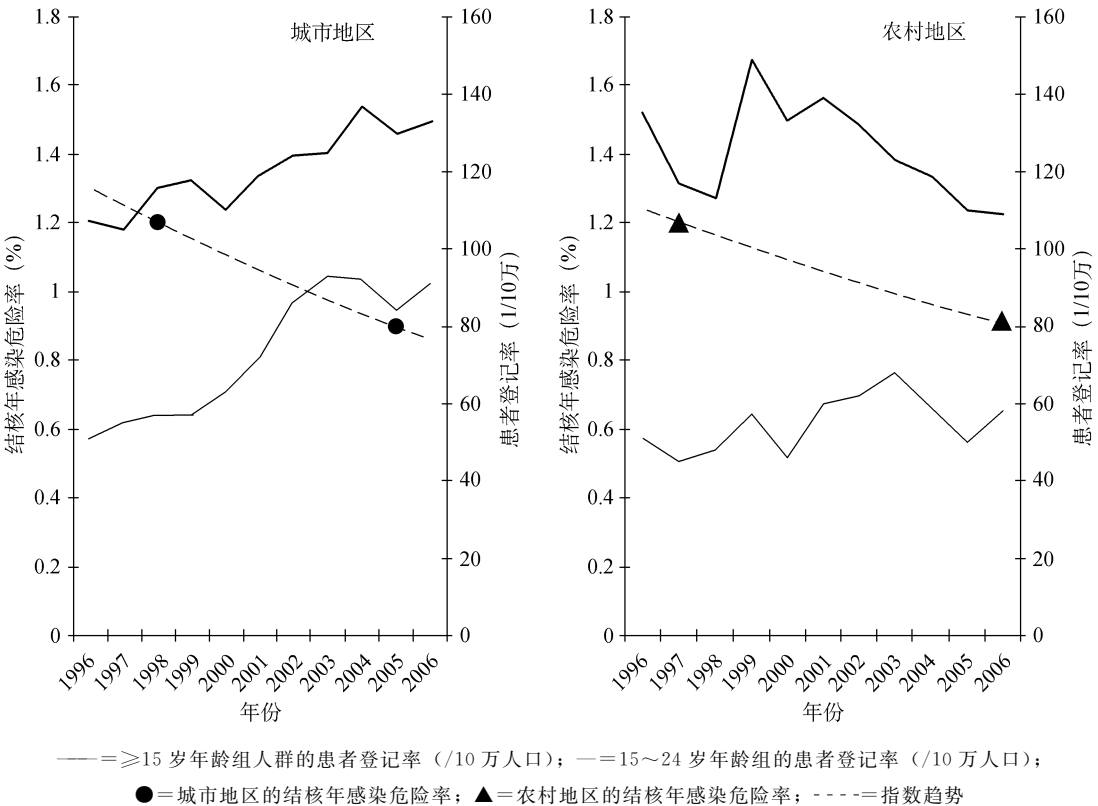


图 1 1999—2006 年越南胡志明省新涂阳肺结核患者登记率变化趋势和 6~9 岁儿童结核年感染危险率变化趋势（不考虑是否接种卡介苗）

表 3 1991—2006 年越南胡志明省 6~9 岁儿童以硬结直径 15 mm 为界值的结核年感染危险率（不考虑卡介苗接种情况）

地区， 调查年份	学校总数	儿 童			15 mm 为界值	
		总数		平均年龄	感染率（%）	年感染危险率
城市						
1992	16	5 180	5 091 (98.3)	7.3	16.3	2.4 (2.0~2.8)
1998	31	10 383	10 358 (99.7)	7.8	9.2	1.2 (1.0~1.4)
2005	33	15 332	15 012 (97.9)	6.8	6.1	0.9 (0.8~1.1)
农村地区						
1991	29	8 948	8 891 (99.36)	7.4	5.1	0.7 (0.6~0.8)
1997	23	8 080	7 876 (97.5)	7.6	9.1	1.2 (1.0~1.4)
2006	22	9 511	9 222 (96.9)	7.9	7.0	0.9 (0.8~1.0)

≥55 岁年龄组，患者登记率每年下降 1.2%。其中，城市和农村地区均呈下降趋势，每年分别下降 0.5%和 3.0%；男性和女性也均呈下降趋势，分别为 0.9%和 2.1%。

年结核感染危险率

城市地区，98.6%的儿童符合分析的条件（即纳入 30 895 名儿童，其中 30 461 名符合分析条件）；农村地区则为 97.9%（纳入 26 539 名儿童，

其中 25 989 符合分析条件）（表 3）。如果以硬结直径 15 mm 为界值，则在城市地区，1992 年的结核感染率为 16.3%，1998 年为 9.2%，2005 年为 6.1%。由这些感染率来推算结核年感染危险率，则分别为 2.4%、1.2%和 0.9%（1992—1998 年间的平均年递降率为 11.9%；1998—2005 年间的平均年递降率为 4.0%；1992—2005 年间的总体平均年递降率为 7.6%）。在（半）农村地区，结核年感染危险率从

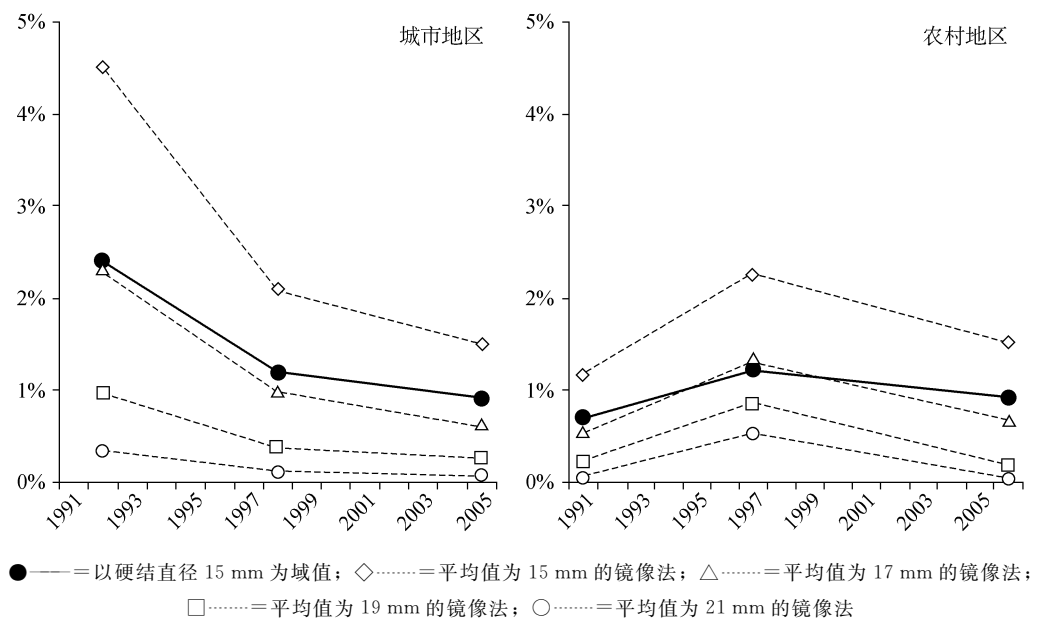


图2 1999—2006年越南胡志明省6~9岁儿童的结核年感染危险率变化趋势
(不考虑卡介苗接种情况,且结核感染及感染率的定义不同)

1991年的0.7%上升到1997年的1.2% (平均年增长率为8.9%); 然后,又下降到2006年的0.9% (平均年递减率为3.4%。平均来看, (半)农村地区的结核年感染危险率的年增长率为1.7% (表3)。

当采用“镜像法”,以结核菌素皮试不同硬结直径 (即15、17、19和21 mm) 为界值时,结核年感染危险率的变化趋势相似 (图2)。

讨 论

本研究发现新涂阳结核病患者的登记率变化趋势与结核年感染危险率的趋势并不一致 (图1)。这种不一致性最初表现在城市地区,但在 (半)农村地区的年轻成年人中,患者登记率也呈现这一现象。我们所观察到的患者登记率的增加主要是在15~24岁年龄组的增加,这一分布特点在越南其他地区也有报告^{6,28}。

一个早期的研究显示,如果没有HIV的流行,胡志明省1997—2002年间15~34岁年龄组的结核病患者登记率将从每年上升1.6%转为每年下降2.2%⁹。因此,在胡志明省,年轻人中结核病登记率升高的部分原因似乎是由于感染HIV的结核病患者增加 (即HIV感染促使结核菌感染者发展成为结核病患者,从而增加了结核病患者人数)。尽管如此,但这不是年轻人 (特别是男性) 结核病登记率趋势与中老年人 (特别是女性) 结核病登记率趋势不同的全部原因。

一般认为,年轻人的结核病发病率趋势能够反映结核感染的趋势¹⁰。因为年轻人很少有远期的结核潜伏感染,绝大多数为近期感染。因此,在胡志明省,近期年轻人中结核病患者登记率的增加能够反映近期结核病在人群中传播的增加,即结核感染的增加,且对全部和绝大部分人口产生影响。如果这个推断成立,那么我可以预见:在结核病患者登记率增加的阶段 (1997—2006年),儿童的结核年感染危险率与以往相比也应增加。然而,我们看到的却是儿童结核年感染危险率的降低,而不是升高,这表明年轻人中结核病的增多并未反映出近期结核病在人群中传播的增加。但这仍可以归因于结核病传播的增加,只是这一传播限定在对特定年龄组人群的影响。结核病在特定年龄组人群中传播的增加,其可能的原因包括城市流动人口和快速的城市化,即年轻的城市移民聚集在拥挤的住所和工厂中,生活和工作条件差²⁸。

此外,还应考虑队列人群。在城市地区,我们看到1992年的儿童结核年感染危险率非常高;而到了2000—2005年,这一组儿童的年龄刚好是15~24岁。20世纪80年代末期正值严重经济危机,由于更多地暴露于结核病,因此这些儿童的年感染危险率高似乎是合情合理的。然而,如果年轻人的结核病登记率升高是由于其童年时期的高感染危险率所引起的队列效应,那么我们期望以往调查所得到的结核年感染危险率明显低。1986年在城市地区做过1次类似的调查⁷。使用相同的结核感

染率定义对所有数据进行了再分析,确实发现结核年感染危险率低(1.4%)。但是,那次调查使用的是1个结核菌素单位(TU)而不是2个结核菌素单位的RT23。因此,这一数值被低估了(未显示数据)。

对于这样的一种队列效应可能会引起的争议是:结核菌感染者在其一生中估计有5%~15%的可能性发展成为结核病患者,而且50%~59%发生在感染后的最初5年¹⁰。因此,儿童时期感染率的增加并不能解释10~15年后这一队列人群结核病发病率的增加。然而,发病率与年龄密切相关²⁹,观察到的结核病患病率可能与发病率不同。数学模型显示:在结核病发病率较高的地区(例如越南),如果儿童时感染了结核菌,那么近75%的病例发生在感染的5年以后³⁰。如果这样的一个队列效应确实能够解释越南近期年轻人中的结核病患病人数增加的现象,那么可以预见这一增长的趋势将停止,并在未来几年转为下降。

我们的研究存在局限性。用于计算患者登记率的分子(即人口数)来源于胡志明省的官方人口普查,其中不包括未登记的流动人口,而这部分流动人口估计占全部城市人口的20%;因此,患者登记率可能被高估了。

尽管结核菌素调查仍是评价结核病流行趋势的重要工具³¹,但确定结核菌感染率非常困难,特别是在非结核分枝杆菌感染率高发地区和儿童接种卡介苗的地区^{18,32-33}。然而,对结核年感染危险率趋势的估算特别依赖于结核感染的定义³⁴。在我们的研究中,使用基于镜像法的4个不同的定义,我们确实获得了相似的变化趋势,以有力地支持了我们的发现。

我们使用的结核病患者登记率是基于县/区级上报的数据,所以仅限于在公共卫生机构(县/区结核病防治机构和中央级结核病医院)登记治疗的涂阳患者。然而,在胡志明省,估计有近30%的涂阳结核病患者在私人医疗机构诊断和治疗³⁵。所以,我们的数据可能低估了结核病患者的实际诊断率。

使用1个结核菌素单位的RT23在城市地区开展的结核菌素调查(例如1998年的调查),无论采用哪一个界值,其发现结核感染的敏感性可能均会低于使用2个结核菌素单位的调查¹²⁻¹³。因此,与1992年和2005年的调查结果相比,1998年调查获得的结核年感染危险率被低估了。然而,即便是对1998年的结核年感染危险率估算有一些提高,也

不会影响我们的结论;事实上,如果1998年的结核年感染危险率提高一些,则更加符合年感染危险率成指数下降的趋势(图2)。

结 论

自1996年以来,胡志明省年轻成年人的结核病登记率明显升高,同时伴随儿童结核年感染危险率下降。这表明:年轻成年人中结核病登记率升高的趋势不是由于近期结核病在人群中传播的增加所造成的;更可能的原因则包括HIV感染的增加使得更多的结核菌感染者发展成为结核病患者和/或在这一年龄组内结核病传播的增加,例如人口流动及快速城市化。同时,还要考虑20世纪80年代末高结核感染率的影响而引起的队列效应。

(范永德 译 王雪静 审校)

(本文编辑:李树萍)

References

- 1 Ravigione MC, Uplekar MW. WHO's new Stop TB strategy. *Lancet* 2006; 367: 952-955.
- 2 Dye C, Gamett GP, Sleeman K, et al. Prospects for worldwide tuberculosis control under the WHO DOTS strategy. *Lancet* 1998; 352: 1886-1891.
- 3 Suarez P, Watt CJ, Alarcon E, et al. The dynamics of tuberculosis in response to 10 years of intensive control effort in Peru. *J Infect Dis* 2001; 184: 473-478.
- 4 World Health Organization. WHO report 2002. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO/CDS/TB/2002.295. Geneva, Switzerland; WHO, 2002.
- 5 World Health Organization. Global tuberculosis control: WHO report 1999. WHO/TB/99.259. Geneva, Switzerland; WHO, 1999.
- 6 Vree M, Bui DD, Dinh NS, et al. Tuberculosis trends, Vietnam. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 796-797.
- 7 Huong NT, Duong BD, Co NV, et al. Tuberculosis epidemiology in six provinces of Vietnam after the introduction of the DOTS strategy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 963-969.
- 8 National Tuberculosis Programme of Vietnam. Evaluation of tuberculosis epidemic in Vietnam. Hanoi, Vietnam; World Health Organization, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, KNCV, Vietnam NTP, 2005.
- 9 Buu TN, Houben RM, Quy HT, et al. HIV and tuberculosis in Ho Chi Minh City, Vietnam, 1997-2002. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 1463-1469.
- 10 Rieder HL. Epidemiologic basis of tuberculosis control. Paris, France; International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1999.
- 11 Huong NT, Duong BD, Co NV, et al. Establishment and development of the National Tuberculosis Control Programme in Vietnam. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9: 151-156.
- 12 Ten Dam HG. Surveillance of tuberculosis by means of tuberculin surveys. WHO/TB/85.145; 1-17. Geneva, Switzerland; WHO, 1985.
- 13 Arnadottir T, Rieder HL, Trébucq A, Waaler HT. Guidelines for conducting tuberculin skin test surveys in high prevalence countries. *Tubercle Lung Dis* 1996; 77 (Suppl 1): 1-20.

- 14 Nyboe J. The efficacy of the tuberculin test. An analysis based on results from 33 countries. *Bull World Health Organ* 1960; 22: 35—37.
- 15 Roelsgaard E, Iversen E, Blocher C. Tuberculosis in tropical Africa. *Bull World Health Organ* 1964; 30: 459—518.
- 16 Berkel GM, Cobelens FGJ, De Vries G, et al. Tuberculin skin test: estimation of positive and negative predictive values from routine data. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9: 310—316.
- 17 Rothman KJ, Greenland S. *Modern epidemiology*. 2nd ed. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Raven, 1998. Decrease in ARTI in urban Vietnam 295 search Unit progress report no 1; the transmission of tubercle bacilli; its trend in a human population. *Bull Int Union Tuberc* 1969; 42: 1—104.
- 18 Rieder HL. Methodological issues in the estimation of the tuberculosis problem from tuberculin surveys. *Tubercle Lung Dis* 1995; 76: 114—121.
- 19 Egwaga SM, Cobelens FG, Muwinge H, et al. The impact of the HIV epidemic on tuberculosis transmission in Tanzania. *AIDS* 2006; 20: 915—921.
- 20 Alavi SM, Sefidgaran GH. Tuberculin survey among schoolaged children in Ahvaz, Iran, 2006. *Int J Infect Dis* 2008; 12: 406—409.
- 21 Sleiman R, Al-Tannir M, Dakdouki G, et al. Interpretation of the tuberculin skin test in bacille Calmette-Guérin vaccinated and non-vaccinated school children. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 134—138.
- 22 Ifezulike CC, Ezechukwu CC, Egbonu I, et al. Tuberculin reaction among healthy BCG vaccinated primary school children in Nnewi, South Eastern Nigeria. *Niger J Clin Pract* 2005; 8: 4—9.
- 23 Roth A, Sodemann M, Jensen H, et al. Vaccination technique, PPD reaction and BCG scarring in a cohort of children born in Guinea-Bissau 2000—2002. *Vaccine* 2005; 23: 3991—3998.
- 24 Sedaghatian MR, Shana'a IA. Evaluation of BCG at birth in the United Arab Emirates. *Tubercle* 1990; 71: 177—180.
- 25 Karalliedde S, Katugaha LP, Uragoda CG. Tuberculin response of Sri Lankan children after BCG vaccination at birth. *Tubercle* 1987; 68: 33—38.
- 26 Styblo K. *Epidemiology of tuberculosis. Selected papers*. Vol 24. The Hague, The Netherlands: KNCV, 1991.
- 27 Styblo K, Meijer J, Sutherland I. *Tuberculosis Surveillance Re-*
- 28 Duc LV, Vree M, Sy DN, et al. Steep increases in tuberculosis notification among young men in industrialised districts of Danang, Vietnam. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 567—570.
- 29 Comstock GW, Livesay VT, Woolpert SF. The prognosis of a positive tuberculin reaction in childhood and adolescence. *Am J Epidemiol* 1974; 99: 131—138.
- 30 Vynnycky E, Fine PE. Lifetime risks, incubation period, and serial interval of tuberculosis. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 247—263.
- 31 Borgdorff MW. Annual risk of tuberculous infection-time for an update? *Bull World Health Organ* 2002; 80: 501—502.
- 32 Rieder HL. Annual risk of infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J* 2005; 25: 181—185.
- 33 Neuenschwander BE, Zwahlen M, Kim SJ, et al. Determination of the prevalence of infection with *Mycobacterium tuberculosis* among persons vaccinated against bacillus Calmette-Guérin in South Korea. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 654—663.
- 34 Nagelkerke NJ, Borgdorff MW, Kalisvaart NA, et al. The design of multi-stage tuberculin surveys: some suggestions for sampling. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 314—320.
- 35 Lonnroth K, Tran TU, Thuong LM, et al. Can I afford free treatment? Perceived consequences of health care provider choices among people with tuberculosis in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Soc Sci Med* 2001; 52: 935—948.

结核病治疗过程中乙型肝炎病毒感染能预测
肝毒性吗？制定一个初步的预测规律

Can hepatitis B virus infection predict tuberculosis treatment
liver toxicity? Development of a preliminary prediction rule

L. de Castro, P. E. A. A. do Brasil, T. P. Monteiro, V. C. Rolla

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundao Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

摘要

背景：结核病治疗过程中肝毒性的出现常常导致抗结核治疗的中断，或调整为较弱的治疗方案。
目的：评估乙型肝炎病毒（HBV）感染者和未感染者在接受抗结核治疗过程中出现肝毒性的风险，从而制定出一套临床可遵循的预测规律。
设计：采用前瞻性观察随访的研究方法。对接受抗结核治疗的 154 例患者的临床资料进行分析，采用粗风险比率估算并应用 Cox 比例风险模型分析。
结果：平均随访日为 187 d，粗风险比率显示种族、人类免疫缺陷病毒感染（HIV）、多个性伴侣、高效联合抗病毒治疗以及结核病的临床类型可

能是出现肝毒性的预测因子。虽然无统计学意义，但 HBV 感染和其他性传播疾病仍显示为相当大的相对危险度。Cox 风险比例模型显示以下为出现肝毒性的高危因素：白种人、多个性伴侣、基础谷丙转氨酶升高以及结核病的临床类型。虽然缺乏精确的证据，但通过 HBV 表面抗原检测证实为活动性乙型肝炎的患者，仍预示可能出现肝毒性。
结论：通过以上信息，我们可以根据分值绘制出列线图来估算每一个患者的生存概率和事件发生的中位时间。
关键词：结核；乙型肝炎病毒；抗结核药物；药物毒性；列线图；HIV

据估算全球已有 20 亿人口感染了乙型肝炎病毒（HBV），HBV 感染已成为全球人类健康的一个主要问题。目前，有超过 3.5 亿人口属于慢性感染，每年死亡 1~2 百万¹。由于人类免疫缺陷综合症（AIDS）与乙型肝炎通过途径传播相似，因此，感染人类免疫缺陷病毒（HIV）的患者常常伴有 HBV 的感染。结核病（TB）是 AIDS 的主要临床表现形式，HIV 感染广泛流行地区，结核病患者数持续上升²。曾有文献估计在 TB 患者、或在 TB/HIV 双重感染患者中 HBV 感染广泛流行³。
随着高效联合抗病毒治疗（HAART）的出现，HIV 患者生存率以及他们的生活质量得到了改善。HAART 时代之后⁴，多数机会性疾病的发生率显著下降，但对 TB 的影响只有通过长期的观

察似乎才明显⁵⁻⁷。患者同时应用 HAART 和抗结核药物使结核病发病率和病死率下降⁸，然而 TB 和 HIV 联合治疗⁹导致的包括肝毒性¹⁰不良反应发生率的发生，使得实际的治疗意义受到局限。
几项研究已提示 HBV 感染是结核病治疗中出现肝毒性的一个危险因素。抗结核和/或抗病毒治疗（ART）后出现的肝酶升高常常导致治疗的中断¹⁰⁻¹⁴。
本研究旨在估计一组 HBV 感染者和非感染者在抗结核治疗过程中肝毒性的发生率。同时，在 Cox 比例风险模型分析基础上，制定一个初步的预测评分（临床预测规律）。

Correspondence to: P E A A do Brasil, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Funda 玆 o Oswaldo Cruz, Avenida Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro 21040-360, RJ, Brazil. Tel: (+55) 21 3865 9613. Fax: (+55) 21 2590 9988. e-mail: pedro.brasil@ipecc.fi ocruz.br

研究人群和研究方法

设计与背景

这项前瞻性随访观察研究在巴西里约热内卢的奥斯瓦尔多克鲁斯的感染性疾病参比中心实施，该中心为感染了包括 TB 和 HIV 的感染性疾病的住院和门诊患者提供治疗。这项研究在 2003 年 9 月 22 日通过了伦理委员会和审查委员会的批准，在国家系统登记（登记号 0013.0.009.000—03）。

患者人群

2003—2005 年登记的患者作为研究对象，入选标准：（1）在本研究所或其他机构已证实为痰结核分枝杆菌抗酸染色涂片或痰培养阳性，且至少在过去 30 天内未接受治疗；（2）医学记录存在肝炎相关的血清学检查结果；（3）入选阶段已经治疗或开始治疗（4）签署知情同意书。排除标准：（1）后来被证实为误诊而停止抗结核治疗的患者；（2）病例上少于 2 次访视记录的患者；（3）妊娠妇女；（4）医学记录缺少 HIV 血清学检查结果；（5）年龄 <18 岁。

资料收集

结核治疗组由 3~5 名内科医生（根据时间而定）、1 名护士和 1 名试验室人员组成。所有患者均遵循一个标准化的临床评价设计，并且被分为两部分：（1）基线评估和；（2）医学随访评估。巴西卫生部推荐的体质量 >45 kg 结核患者采用的结核治

疗方案为利福平（RMP：600 mg/day）、异烟肼（INH：400 mg/day）和吡嗪酰胺（PZA：2 g/day），体质量 <45 kg 者根据体质量调整用药。吡嗪酰胺至少应用两个月。对于合并 HIV 感染并且目前正接受 HAART 治疗的患者，首先选择含依法韦伦（EFZ）的联合抗病毒方案，HAART 治疗前抗结核治疗 30~60 d。

临床设计要求初访时行临床和实验室评估，然后在第 15 d 和第 30 d 再随访，以后每月随访 1 次直到治疗结束。治疗结束后还要每隔 6 个月行 2 次最终访视。

分别在基线、抗结核治疗 15、30 d 和其后的每个月监测谷丙转氨酶（ALT）。如果助理医师认为有必要的前提下，可更频繁的监测 ALT。所有可能有意义的临床和实验室数据都要在有医学记录。这些数据从病历中摘取后完成临床研究表格。

结果

能发生的结果是结核治疗导致的肝毒性。依据国际医学科学委员会（CIOMS）的标准，当 ALT 值高于正常上限（ALT ≥45 IU/L）的 2 倍，或者对于基础 ALT >90 IU/L 的患者而言，ALT 至少升高 2 倍者被认定为血清 ALT 水平升高。

暴露

根据属性（表 1）或计量（表 2）临床资料探讨引起肝毒性的可能预测因素：酗酒，通过 CAGE 调查问卷¹⁵来定义；吸烟（二进制），是由患者本

表 1 基线特征和二分类变量的粗比较

变 量	<i>n</i>	%	毒性 风险	95%置信 区间	RR	95%置信 区间	<i>P</i> ^a
性别							
男	99	64.3	0.22	0.15~0.31	1.53	0.73~3.20	0.249 1
女	55	35.7	0.15	0.08~0.26	1.00		
种族							
白种人	72	46.8	0.26	0.18~0.38	1.97	1.00~3.85	0.042 5
非白种人	82	53.3	0.13	0.08~0.23	1.00		
HIV							
阳性	60	39.0	0.32	0.21~0.44	2.71	1.39~5.28	0.002 3
阴性	94	61.0	0.12	0.07~0.20	1.00		
HBsAg							
阳性	6	3.9	0.50	0.19~0.81	2.74	1.15~6.54	0.054 2
阴性	148	96.1	0.18	0.13~0.25	1.00		
抗 HBc							
阳性	50	32.5	0.22	0.13~0.35	1.20	0.62~2.33	0.584 1
阴性	104	67.5	0.18	0.12~0.27	1.00		

续表 1

变 量	<i>n</i>	%	毒性 风险	95%置信 区间	RR	95%置信 区间	<i>P</i> ^a
抗 HBs							
阳性	42	27.3	0.10	0.04~0.22	0.41	0.15~1.11	0.056 1
阴性	112	72.7	0.23	0.16~0.32	1.00		
抗 HCV							
阳性	9	5.8	0.11	0.02~0.44	0.56	0.09~3.64	0.513 5
阴性	145	94.2	0.20	0.14~0.27	1.00		
居住地							
市区	107	69.5	0.19	0.12~0.27	0.88	0.45~1.73	0.709 2
郊区	47	30.5	0.21	0.12~0.35	1.00		
饮酒							
有	25	16.2	0.24	0.12~0.43	1.29	0.59~2.83	0.533
无	129	83.8	0.19	0.13~0.26	1.00		
吸烟							
有	46	29.9	0.17	0.09~0.31	0.85	0.41~1.78	0.669 2
无	108	70.1	0.20	0.13~0.29	1.00		
家庭收入							
0~3 倍最低工资水平	24	15.6	0.13	0.04~0.31	0.60	0.20~1.83	0.347 3
>3 倍最低工资水平	130	84.4	0.21	0.15~0.29	1.00		
教育							
高中或以上	45	29.2	0.18	0.09~0.31	0.88	0.42~1.83	0.731 7
中学或以下	109	70.8	0.20	0.14~0.29	1.00		
家中人口							
>4	21	13.6	0.24	0.11~0.45	1.27	0.55~2.94	0.589 9
1~4	133	86.4	0.19	0.13~0.26	1.00		
家庭房间							
>3	20	13.0	0.20	0.08~0.42	1.03	0.40~2.64	0.949 9
<3	134	87.0	0.19	0.14~0.27	1.00		
婚姻状况							
已婚	66	42.9	0.17	0.10~0.27	0.77	0.40~1.51	0.445 1
单身	88	57.1	0.22	0.14~0.31	1.00		
性取向							
同性或双性恋	29	18.8	0.31	0.17~0.49	1.85	0.95~3.60	0.081 2
异性恋	125	81.2	0.17	0.11~0.24	1.00		
多个性伴侣							
是	52	33.8	0.37	0.25~0.50	3.39	1.75~6.58	0.000 1
无	102	66.2	0.11	0.06~0.18	1.00		
静脉注射毒品							
是	4	2.6	0.00	0.00~0.49	NA	NA	0.318 9
无	150	97.4	0.20	0.14~0.27	1.00		
输血史							
是	11	7.1	0.27	0.10~0.57	1.44	0.52~4.02	0.498 3
无	143	92.9	0.19	0.13~0.26	1.00		
HAART							
是	49	31.8	0.31	0.20~0.45	2.14	1.14~4.02	0.017 2
无	105	68.2	0.14	0.09~0.22	1.00		
性传播疾病							
是	28	18.2	0.32	0.18~0.51	1.93	0.99~3.75	0.061 4
无	126	81.8	0.17	0.11~0.24	1.00		
TB 临床类型							
肺外/播散结核	55	35.7	0.31	0.20~0.44	2.35	1.24~4.48	0.007 6
肺结核	99	64.3	0.13	0.08~0.21	1.00		

a) 无效假设 RR = 1。

RR=风险比；HIV = 人类免疫缺陷病毒；HBsAg=乙型肝炎表面抗原；HBc=乙型肝炎核心抗体；HBs=乙型肝炎表面；HCV=丙型肝炎；NA=未指定；HAART=高效联合抗病毒治疗；STD=性传播疾病；TB=结核

表 2 基线特征和连续变量的粗比较

变量， 结果	<i>n</i>	平均数	SD	t-检验 <i>P</i> 值	中位数	分位数 10	分位数 90
年龄							
总数	154	39. 08	12. 63		38	24	56
有	30	37. 90	10. 47	0. 517 4	36	28	50
无	124	39. 36	13. 12		38	24	56
CD4+							
总数	45	201	175		160	38	420
有	18	202	209	0. 978 0	134	45	442
无	27	201	153		171	39	387
HIV 病毒载量							
总数	42	217 407	646 899		12 250	0	349 000
有	17	272 284	889 633	0. 517 4	1 400	0	316 000
无	25	180 090	428 586		27 000	0	422 000
ALT							
总数	154	42	20		37	26	63
有	30	51	28	0. 066 9	42	31	105
无	124	40	17		37	26	62
AST							
总数	154	29	21		22	13	51
有	30	35	20	0. 076 4	29	17	63
无	124	28	21		22	13	47
AP							
总数	154	133	87		105	76	197
有	30	137	110	0. 786	102	80	210
无	124	132	81		106	76	193
GGT							
总数	154	99	103		64	27	212
有	30	113	112	0. 425 9	72	41	177
无	124	95	101		64	25	212
胆红素							
总数	154	0. 49	0. 34		0. 40	0. 20	0. 90
有	30	0. 52	0. 45	0. 675 9	0. 40	0. 20	0. 90
无	124	0. 48	0. 31		0. 40	0. 20	0. 90

SD = 标准差；有 = 有肝毒性；无 = 无肝毒性；HIV = 人类免疫缺陷病毒；ALT = 谷丙转氨酶；AST = 天冬氨酸转氨酶；AP = 碱性磷酸酶；GGT = γ 谷氨酰转肽酶

人报告的近期吸烟史定义；收入，由患者报告的工资水平是否达到或超过最低工资水平的 3 倍来定义；多个性伴侣，如果一年内有两个或以上性伴侣为“是”，否则为“无”；性传播疾病（STDs；二进制），除 HIV 和肝炎外，诊断 STDs 的为“是”，如梅毒、人类 T 淋巴细胞病毒、疱疹或生殖器溃疡，否则为“无”；结核病临床类型：是指肺结核

或肺外/播散性结核（有证据证明 2 个或 2 个以上部位感染了 TB）；HBV，是指血清中检测到乙肝病毒表面抗原（HbsAg）。

分析

在 95%可信区间（95%CI）的风险评估采用 Wilson（二项式）法¹⁶。用 Wald 方法检验粗风险

比率（相对危险度 [RR]）以及其 95%CI 值。对每个 RR 进行独立性假设检验（无效假设 RR = 1）¹⁶。用假设检验（t-检验）来比较连续变量。采用总体 Kaplan-Meier 方法分析，并用 95%CI 绘制各自的累积风险曲线¹⁷，然后采用生存数据 Cox 比例风险模型分析。采用 ART 时间变量进行时间相关 Cox 分析。但是，并没有与该比例假设相拟合的模型。通过不同的巢式 Cox 模型进行检验，显著性意义临界值 0.05。模型中引入的所有变量都要通过比例（Schoenfeld 残差）和函数形式（Martingale 残差）检验。为了帮助读者预测或估计一项可能事件的中位值，从拟合 Cox 模型中又绘制了列线图¹⁸。这就应用图表说明了出现肝毒性的风险评分。所有分析都使用了 R（Epi 软件工具包，生存和设计）¹⁹。

结 果

初筛的 395 例患者中，有 241 例符合一项或更多的排除标准，主要为医学记录中缺少 HBV 血清学结果；最终分析了 154 例患者。

基线特征

所有入选病例研究开始时给予 RMP、INH 和 PZA 的统一抗结核方案。入选患者男女比例为 2：1，白种人与非白种人的比例也是 2：1。所有患者中有 40% 合并 HIV 感染，患者年龄分布在 18~79 岁间，平均年龄为 39.1 岁（标准误差 [SD] 为 12.6，见表 2）。

活动性 HBV（HBsAg）感染率为 4%，其中 TB 患者中感染 1%，TB-HIV 患者中感染 8.3%。有 50 例患者（32%）乙肝核心抗原（HBcAg）抗体阳性，同 HBsAg 一样，HBcAg 抗体在 HIV 感染者的率为 50.6%，明显高于 TB-HIV 合并感染患者的 20.2%。丙型肝炎病毒（HCV）在入选病例中的患病率为 6%（其中 10% 发生于 HIV 阳性患者中，3% 发生于 HIV 阴性患者中），其他的基线特征见表 1。

在抗结核治疗开始时，HIV 感染者中约半数（n=29）的患者已接受 HAART 的治疗。26 名患者由于未用过抗逆转录治疗，或者因为以前接受非推荐的与利福平联合使用的的抗逆转录药物治疗，在开始抗逆转录病毒治疗（ARVs）时方案有所改变。表 3A 中列出了最常使用的是包括依法韦伦（EFZ）的联合治疗方案。对于初次治疗的 HIV 患者，临床常规是先给予 30 天的抗结核治疗后，再

给予 ART 治疗。表 3B 显示的是抗结核治疗开始后 ART 治疗的变化。不是所有的患者在抗结核治疗期间都行 ART，有 1 例患者由于非肝源性不耐受原因而中断治疗。

表 3 HIV 患者的抗病毒治疗

	n	%
A 组 诊断结核时已在使用的药物		
AZT 3TC EFZ	13	21.7
AZT 3TC LOP	1	1.7
AZT 3TC NFV	2	3.3
AZT 3TC RTV IDV	1	1.7
AZT 3TC RTV SQV	2	3.3
d4T 3TC EFZ	5	8.3
d4T 3TC IDV	1	1.7
d4T 3TC RTV SQV	1	1.7
d4T DDI LOP	1	1.7
d4T DDI NFV	1	1.7
ddI 3TC NFV	1	1.7
无 ARV	31	51.7
总数	60	100
B 组 抗结核治疗开始时调整治疗方案组		
AZT 3TC EFZ	18	69.2
AZT 3TC RTV SQV	4	15.4
AZT 3TC TNF RTV SQV	1	3.9
D4T 3TC EFZ	1	3.9
ddI TNF RTV SQV	1	3.9
无 ARV	1	3.9
总数	26	100

HIV=人类免疫缺陷病毒；TB=结核；AZT=齐多夫定；3TC=拉米夫定；EFZ=依法韦伦；LOP=洛匹那韦；NFV=那非那韦；RTV=利托那韦；IDV=茚地那韦；SQV=沙奎那韦；d4T=司他夫定；ARV=抗逆转录；TNF=泰诺福韦；ddI=地丹诺昔

肝毒性发生率

肝毒性的总发生粗率为 19.5%，总的 Kaplan-Meier 曲线和累计风险如图 1 所示。数据证实治疗的第 2 个和第 3 个月发生肝毒性风险显著增加，其后较稳定。研究者对结束抗结核治疗的非 HIV 感染者进行了约 180 d 的随访。平均随访时间为 187 d（中位时间为 209 d，范围为 3~731 d）。

合并 HBV 感染增加 TB 治疗相关的肝毒性的假设虽然在 95% 的区间无统计学意义，但表 1 所

示粗相对危险度 (RR2.74) 还是支持了原始假设。增加肝毒性的因素显示为: HIV 感染 (RR2.53), 白种人 (RR2.16), 多个性伴侣 (RR3.20), 应用 HAART (RR2.00), STDs (RR2.02) 和肺外 (或播散性) 结核 (RR2.55)。初始 ALT 虽然无统计学意义, 但 P 值接近于界定临界值 0.05。

预测评分

通过比较几个预测因素的组合, 确立了包括 5 个适合本项研究变量的一个模型 (表 4)。HBV 感染并未增加模型的预测效果, 但是通过粗风险率观察证实, HBsAg 携带者具有高风险率而被纳入模型。最初作为预测子的 HIV、HAART 和 STDs,

在引入多个性伴侣这个因素后, 被剔除。最初并未作为预测因素的初始 ALT 值, 后来发现其增加了该模型的预测能力而被引入到模型中。最终模型由以下影响因素组成 (表 4): 种族 (白种人 RR 2.43), 多个性伴侣 (是, RR 3.20), 结核病临床类型 (肺外结核/播散结核, RR 2.42), HBsAg RR 2.91, 初始 ALT (ALT 每增加 1 个单位风险率增加 1.6%, RR 1.01)。

在列线图 (图 2、3) 的基础上建立了预后评分, 图表显示出个体病例预测的行为。举例关于如何使用列线图: 假设一个白种人的患者, 从“白种人”处的上行线画一垂直线并记点数 (44 点)。同

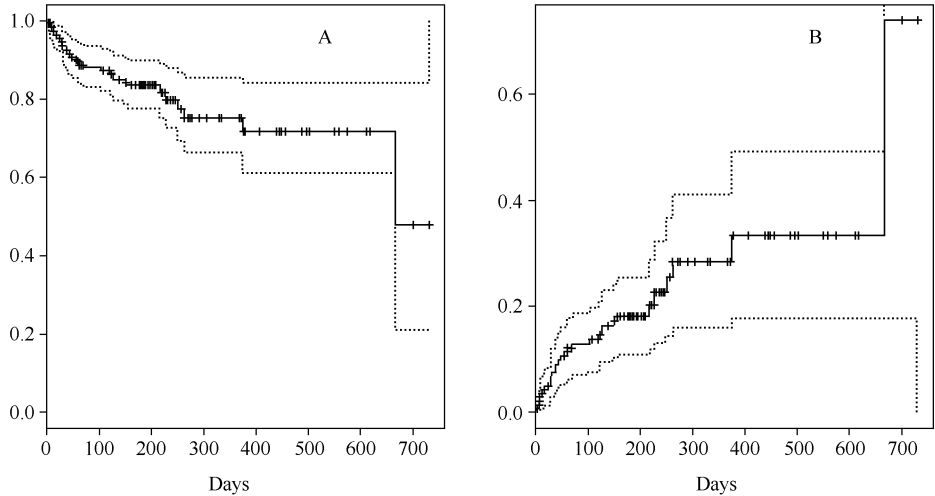
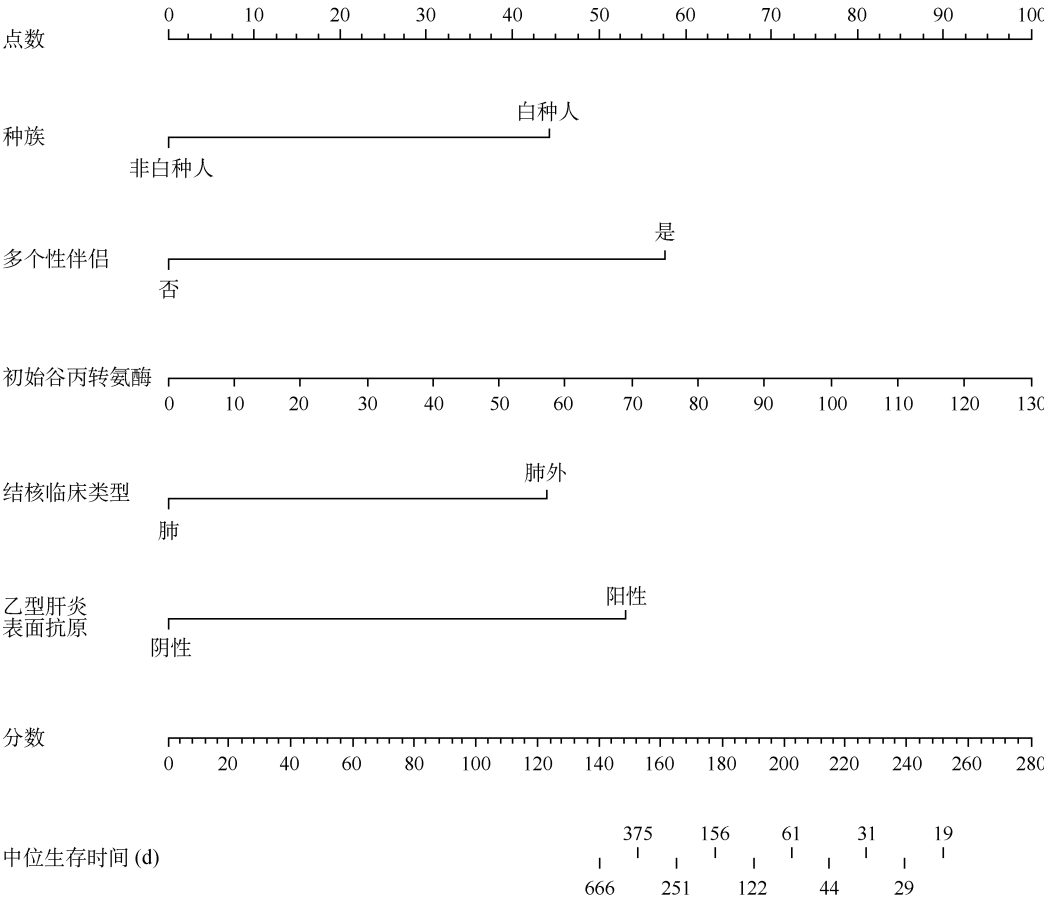


图 1 总体肝毒性的 Kaplan-Meier (A) 和累计 (B) 风险曲线及其 95%可信区间。

表 4 抗结核治疗下肝毒性最终 Cox 回归模型结果 (n=154)

	回归系数	校正风险率	SE (coef)	z	P 值
种族: 白种	0.89	2.44	0.40	2.24	0.025 02
多个性伴侣: 是	1.16	3.20	0.39	2.97	0.002 98
ALT	0.02	1.02	0.01	2.06	0.039 37
肺外 TB	0.88	2.42	0.42	2.13	0.033 30
HBsAg: 阳性	1.07	2.91	0.73	1.46	0.144 90
			Exp (-coef)	95%CL	
种族: 白种		2.44	0.41	1.12~5.31	
多个性伴侣: 是		3.20	0.31	1.49~6.90	
ALT		1.02	0.99	1.00~1.03	
肺外 TB		2.42	0.41	1.07~5.46	
HBsAg: 阳性		2.91	0.34	0.69~12.27	
R2		0.17 (最大可能性 = 0.83)			
LR		28.37 on 5 df, P=3.082e-05 ^a			
Wald 检验		28.37 on 5 df, P=3.085e-05 [*]			
分值 (log-rank) 检验		31.27 on 5 df, P=8.266e-06 [*]			

a) 假设检验的 P 值是看其系数与 1 是否不同。SE=标准误差; z=正态分布值; ALT=谷丙转氨酶 TB=结核; HBsAg=乙型肝炎病毒表面抗原; exp (-coef) =反之亦然校正风险比参考值; 95%CL=95%校正风险比的 95%可信区间; LR=似然比; df=自由度



从患者的特征向上行线画一垂直线，然后将点数相加，如此将 5 个特征的所有的
点数相加后，从“分数”行向“中位生存时间”行画一垂直线

图 2 评估抗结核治疗下肝毒性患者的中位生存时间列线图

一个患者如果有多个性伴侣，从“是”向上行线画另一条垂直线（58 点）；他/她有肺结核（0 点）和初始 ALT 值 45（35 点）；同一个病人 HBsAg 阳性（52 点），相加后总点数为 189 点。为了证明这一分数能代表事件的中位时间，从“评分”行向“中位生存时间”画一垂直线。图 3 列出了相同的列线表，但以特定时间的中位生存概率代替了中位生存时间。

讨论与结论

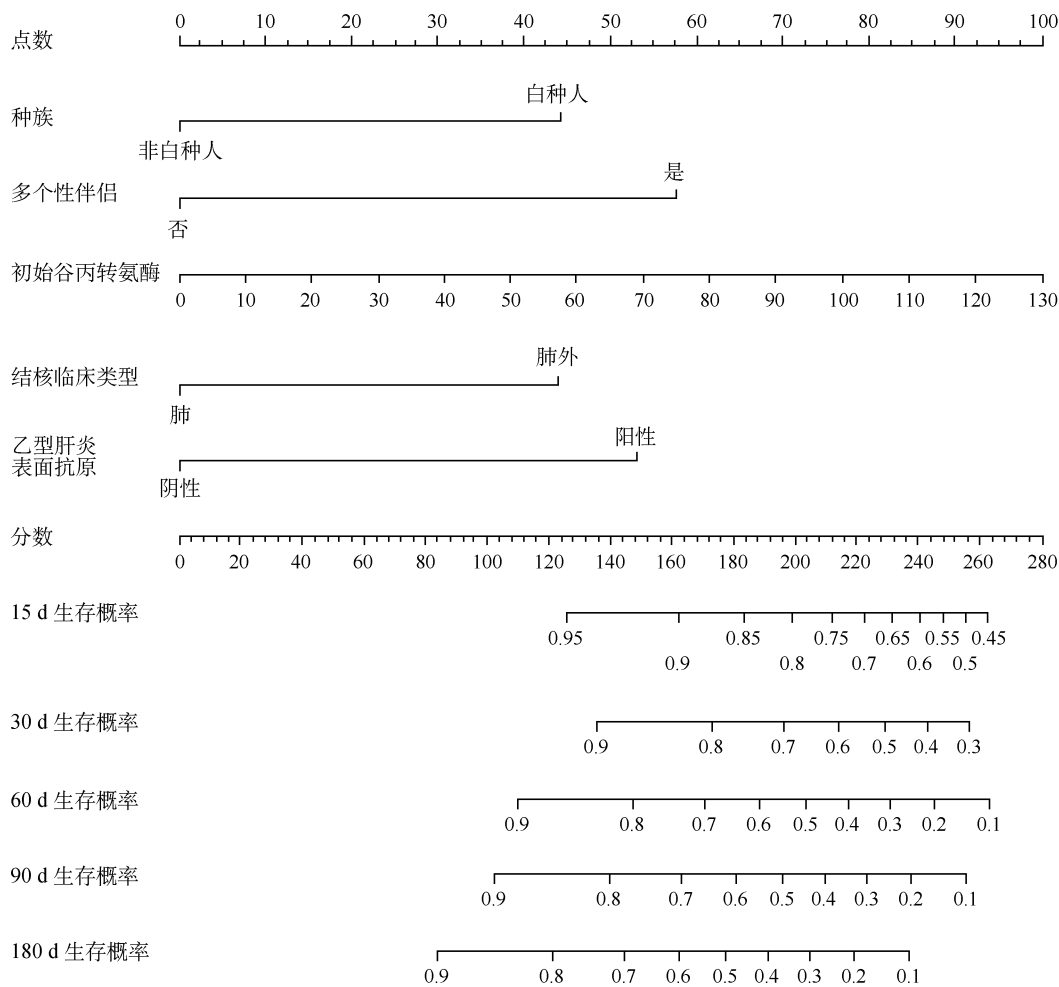
与普通人群相比，这组患者中 HIV 患病率较高，甚至高于结核病患者们的发生率（约 15%）²。然而，我们研究所以前估算的 HIV 的患病率约 40%，且在过去的 10 年里一直比较稳定。由于研究所是转诊中心，治疗一些特殊患病群体，所以我们认为这个发病率有些高。

多个性伴侣的影响是个意外的发现，它的影响要高于 HAART 和 HIV。它可能代表 HIV 和其他性传播疾病引起的系统的临床表现，或者可以代表

很难准确估算的静脉滥用药物因素。

我们中心曾做过 TB 患者中 HBV 感染的高患病率和其他临床特征方面的研究³，结果与本次研究相似。这之后，便将 TB 患者肝炎的血清学检测列入常规治疗方案的范畴。从巴西不同地区获得的数据显示在 HIV 患者中 HBsAg 发病率在 3.8%~8.5% 区间，抗核心抗体（抗-HBc）在 39%~45% 区间²⁰⁻²⁶。这些结果与本研究结果相近。但既往研究中未见关于 TB 患者或 TB-HIV 患者中 HBV 感染情况的比较数据。

肝毒性可能导致残疾或死亡，中断和延长治疗会削减治疗效果，甚至会导致住院治疗。在 TB 患者中，肝毒性的发生率在 2%~28% 间²⁷。在 HAART（无 TB）患者中发生率 2%~18%。本研究显示联合应用抗结核治疗和 HAART 是出现肝毒性的风险，与已发表的单纯抗结核治疗的毒性风险未见不同。这些发现至关重要，因为内科医师可能因此作为依据来做决定，是选择更强有力且有肝毒性的药物组合（如利福平、异烟肼和吡嗪酰胺）。



从患者的特征向上行线画一垂直线，然后将点数相加，如此将 5 个特征的所有的点数相加后，从“分数”行向“生存概率”行画一垂直线。这就是患者达到一定治疗天数后未发生事件的概率

图 3 评估抗结核治疗下肝毒性患者的生存概率列线图

胺)，还是选择肝毒性和药效都相对小的药物组合（如氧氟沙星、链霉素和乙胺丁醇）。与 WHO 推荐的剂量相比²，在巴西和其他国家推荐的高剂量的抗结核药物的治疗问题以前也是人们关注的重点。但在本研究使用的抗结核药物的剂量并未增加肝毒性。

然本研究有实际应用价值，但必须考虑其局限性。本研究结果可能不能直接用于其他情况。以前被认为的肝毒性的影响因素²⁷⁻³⁰ 此次未做分析，可能导致了混杂的产生。再则小样本量可能影响了研究结果：（1）样本量削弱了 HCV、HBV 和 HIV 的预测能力；（2）模型的有效性不能通过重组样本方法或将样本一分为二的方式来验证。而且，不同临床方案预测规律的检验，对于结果的有效性和普遍实用性证实是非常有必要的³¹。

本研究的主要发现如下：（1）在抗结核治疗前

可预测出现肝毒性的可能性；（2）白种人、肺外（或播散性）结核、多个性伴侣、HBsAg 以及初始 ALT 的升高是肝毒性的预测因素；（3）与已被广泛接受的观点相比^{28,27}，HCV 和 HIV（或 HAART）并不是肝毒性的预测因素。

（韩喜琴 译 初乃惠 校 刘宇红 审）
（本文编辑：范永德）

Acknowledgements

The authors thank D Kiselica for English review and CA Schmaltz for lending a data set to compare different analysis strategies.

References

1 Maddrey WC. Hepatitis B-an important public health issue. Clin Lab 2001; 47: 51-55.
2 World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO report 2008. WHO/

- HTM/TB/2008. 393. Geneva, Switzerland; WHO, 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008/pdf/fullreport.pdf Accessed November 2009.
- 3 Blal CA, Passos SRL, Horn C, et al. High prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with and without HIV in Rio de Janeiro, Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 41–43.
- 4 Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338: 853–860.
- 5 Tseng S, Jiang DD, Hoi H, Yang S, Hwang K. Impact of HAART therapy on co-infection of tuberculosis and HIV cases for 9 years in Taiwan. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80: 675–677.
- 6 Muga R, Ferreros I, Langohr K, et al. Changes in the incidence of tuberculosis in a cohort of HIV-seroconverters before and after the introduction of HAART. *AIDS* 2007; 21: 2521–2527.
- 7 Miranda A, Morgan N, Jamal L, et al. Impact of antiretroviral therapy on the incidence of tuberculosis: the Brazilian experience, 1995–2001. *PLoS ONE* 2007; 2: e826.
- 8 Santoro-Lopes G, de Pinho AMF, Harrison H, Schechter M. Reduced risk of tuberculosis among Brazilian patients with advanced human immunodeficiency virus infection treated with highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2002; 34:543–546.
- 9 Breen RAM, Swaden L, Ballinger J, Lipman MCI. Tuberculosis and HIV co-infection: a practical therapeutic approach. *Drugs* 2006; 66: 2299–2308.
- 10 Wong WM, Wu PC, Yuen MF, et al. Anti-tuberculosis drug related liver dysfunction in chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 2000; 31: 201–206.
- 11 Pan L, Jia Z, Chen L, Fu E, Li G. Effect of anti-tuberculosis therapy on liver function of pulmonary tuberculosis patients infected with hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2005;11: 2518–2521.
- 12 Hoffmann CJ, Charalambous S, Thio CL, et al. Hepatotoxicity in an African antiretroviral therapy cohort: the effect of tuberculosis and hepatitis B. *AIDS* 2007; 21: 1301–1308.
- 13 Patel PA, Voigt MD. Prevalence and interaction of hepatitis B and latent tuberculosis in Vietnamese immigrants to the United States. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1198–1203.
- 14 Sulkowski MS, Thomas DL, Mehta SH, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. *Hepatology* 2002; 35: 182–189.
- 15 Masur J, Monteiro MG. Validation of the CAGE alcoholism screening test in a Brazilian psychiatric inpatient hospital setting. *Braz J Med Biol Res* 1983; 6: 15–18.
- 16 Rothman KJ, Greenland S, eds. *Modern epidemiology*. 3rd ed. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 1998.
- 17 Pan W, Chappell R. A Nonparametric estimator of survival functions for arbitrarily truncated and censored data. *Lifetime Data Anal* 1998; 4: 187–202.
- 18 Lubsen J, Pool J, van der Does E. A practical device for the application of a diagnostic or prognostic function. *Methods InfMed* 1978; 17: 127–129.
- 19 R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria; Department of Statistics and Mathematics, WU Wien, 2009. <http://cran.r-project.org/doc/manuals/refman.pdf> Accessed November 2009.
- 20 Zago A M, Machado TF, Cazarim FL, Miranda A E. Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually-transmitted disease clinic in Vitória, Brazil. *Braz J Infect Dis* 2007; 11: 475–478.
- 21 Tovo CV, Dos Santos DE, de Mattos AZ, et al. [Ambulatory prevalence of hepatitis B and C markers in patients with human immunodeficiency virus infection in a general hospital]. *Arq Gastroenterol* 43: 73–76. [Portuguese]
- 22 Miranda AE, Figueiredo NC, Schmidt R, Page-Shafer K. A population-based survey of the prevalence of HIV, syphilis, hepatitis B and hepatitis C infections, and associated risk factors among young women in Vitória, Brazil. *AIDS Behav* 2008;12 (Suppl): S25–S31.
- 23 de Almeida Pereira RAR, Mussi ADH, de Azevedo e Silva VC, Souto FJD. Hepatitis B virus infection in HIV-positive population in Brazil: results of a survey in the state of Mato Grosso and a comparative analysis with other regions of Brazil. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 34.
- 24 Braga WSM, da Costa Castilho M, dos Santos ICV, Moura MAS, Segurado AC. Low prevalence of hepatitis B virus, hepatitis D virus and hepatitis C virus among patients with human immunodeficiency virus or acquired immunodeficiency syndrome in the Brazilian Amazon basin. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 519–522.
- 25 Monteiro MRDCC, do Nascimento MMP, Passos ADC, Figueiredo JFDC. [Seroepidemiological survey of hepatitis B virus among HIV/AIDS patients in Belém, Pará, Brasil]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37 (Suppl 2): S27–S32. [Portuguese]
- 26 Souza MGD, Passos ADC, Machado AA, Figueiredo JFDC, Esmeraldino LE. [HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37:391–395. [Portuguese]
- 27 Tostmann A, Boeree M, Aarnoutse R, et al. Anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *JGastroenterol Hepatol* 2008; 23: 192–202.
- 28 Yew W, Leung C. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. *Respirology* 2006; 11: 699–707.
- 29 Possuelo L, Castelan J, De Brito T, et al. Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 673–681.
- 30 Hoffmann CJ, Charalambous S, Martin DJ, et al. Hepatitis B virus infection and response to antiretroviral therapy (ART) in a South African ART program. *Clin Infect Dis* 2008; 47:1479–1485.
- 31 Steyerberg EW. *Clinical prediction models: a practical approach to development, validation, and updating*. 1st ed. New York, NY, USA: Springer, 2008

南非夸祖鲁纳塔尔农村地区以社区为基础的耐多药结核病治疗

Community-based treatment for multidrug-resistant tuberculosis in rural KwaZulu-Natal, South Africa

T. Heller,^{*} R. J. Lessells,[†] C. G. Wallrauch,[†] T. Bärnighausen,^{†‡} G. S. Cooke,^{†§} L. Mhlongo,^{*,†} I. Master,[¶] M. L. Newell^{†#}

^{*} Hlabisa Hospital, Hlabisa, KwaZulu-Natal, [†]Africa Centre for Health and Population Studies, University of KwaZulu-Natal, Somkhele, KwaZulu-Natal, South Africa; [‡]Department of Global Health and Population, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA; [§] Department of Infectious Diseases, Imperial College, London, UK; [¶] King George V Hospital, Durban, KwaZulu-Natal, South Africa; [#] Centre for Paediatric Epidemiology and Biostatistics, Institute of Child Health, University College London, London, UK

摘要

地点：南非夸祖鲁纳塔尔赫拉比萨卫生服务分区。

目的：描述纳入区级结核病防治规划的以社区为基础的耐多药结核病（MDR-TB）治疗管理模式的建立，并评价此模式下患者早期治疗转归是否可以与传统的住院治疗关怀模式相比。

设计：将2008年3—12月间在社区管理模式（CM）下开始接受耐多药结核病治疗的患者与2001年1月至2008年2月间在传统住院治疗关怀模式（TM）下开始接受耐多药结核病治疗的患者进行对比。运用Mantel-Cox long-rank检验在Kaplan-Meier生存曲线中比较2组患者开始治疗的时间、痰涂片和痰培养阴转的时间。

结果：共纳入50例CM患者和57例TM患者；50例CM患者中有39例（78.0%）为人类免疫缺陷病毒（HIV）阳性。CM患者开始治疗的中位时间是84 d，TM患者开始治疗的中位时间是106.5 d（ $P=0.002$ ）。CM患者痰涂片阴转的中位时间比TM患者短（59 d对92 d， $P=0.055$ ），痰培养阴转的中位时间也是如此（85 d对119 d， $P=0.002$ ）。

结论：以社区为基础的耐多药结核病治疗管理模式在南非农村地区现有的结核病防治规划中是可行的，应在资源允许的地区进行推广。

关键词：结核；耐药；HIV

过去几年间，南非的结核病合并人类免疫缺陷病毒（HIV）感染疫情明显升高^{1,2}，同时伴有耐多药结核病（MDR-TB，即同时耐异烟肼和利福平）和严重耐药结核病（XDR-TB，即MDR-TB患者对任一种氟喹诺酮类药物和至少一种二线注射剂同时耐药）的出现^{3–5}。南非的夸祖鲁-纳塔尔（KZN）地区正处在这些相互纠缠的疾病疫情的中心，即HIV患病率和发病率较高^{6–8}，结核病年发病率为1 094/10万⁹。在2006和2007年，该地区每年实验室确诊的耐多药结核病患者数超过2 000

例¹⁰。

在南非，对耐多药结核病患者的管理传统上采用集中治疗管理模式，患者至少在省级专科医院接受强化期治疗¹¹。住院治疗的目的是对复杂的药物治疗方案进行监控，提高治疗依从性，以及防止耐药结核病在社区中传播。然而，事实上并没有证据表明住院治疗能够减少耐药结核病在社区的传播；相反，在常规规划条件下，由于诊断和治疗延迟，患者在住院前几个月已经具有传染性¹²。而且，住院治疗会导致患者之间和医患之间的院内感染危险

增高¹³⁻¹⁵。住院治疗还存在经济和社会成本问题，患者在住院期间常常远离家庭，这可能会导致患者从规划治疗中丢失¹⁶。耐多药结核病患者的住院治疗费用估计占南非国家结核病防治规划预算的一半¹⁷；当前的集中治疗关怀管理模式不足以承担耐多药结核病负担。因此，迫切需要扩展和评估以社区治疗为基础的管理模式（CMs）^{18,19}。

以社区为基础的耐药结核病治疗管理并不是一个新的概念，其他地区（主要是在秘鲁）已报导了这一模式的成功²⁰⁻²¹。然而，在这些研究中，绝大多数患者为 HIV 阴性，而南非的 HIV 合并感染率较高，这为结核病防治规划增加了额外的挑战^{4,5}。一些公立-私立合作伙伴及非政府组织已经在南非开展了以社区为基础的治疗管理项目，但这些项目的可持续性始终是个令人担忧的问题^{22,23}。本文描述了南非夸祖鲁-纳塔尔省赫拉比萨地区在现有结核病防治规划部门内建立以社区为基础的耐多药结核病治疗管理模式的经验。

方 法

背景

在夸祖鲁-纳塔尔，绝大多数耐多药结核病和严重耐药结核病患者均在仅有 160 张床位的德班英王乔治五世医院（KGH）接受治疗。根据国家指南，对经培养确诊的耐多药结核病和严重耐药结核病患者给予个体化治疗方案¹¹。最常用的耐多药结核病治疗方案为 6 个月的卡那霉素（KM）、氧氟沙星（OFX）、乙硫异烟胺（ETH）、环丝氨酸（CS）、乙胺丁醇（EMB）和吡嗪酰胺（PZA），随后为 12~18 个月的 OFX+ETH+CS+EMB+PZA。患者为住院治疗，至少住到痰培养阴转方可出院，继而转为门诊治疗，每月进行临床随访。

赫拉比萨医院是一个拥有 300 张床位的区级医院，设有一个 40 张床位的结核病房（包括耐药结核患者的隔离病房），于 2008 年进来了重新装修；下设 16 个初级卫生保健（PHC）诊所，为夸祖鲁-纳塔尔北部农村地区的 22.8 万人口提供卫生医疗服务。赫拉比萨位于德班北部约 250 公里，到英王乔治五世医院约 3 h 路程。2008 年，该地区的结核病登记率为 1 700/10 万（信息来自与 Umkhanyakude 区卫生办公室结核病防治规划人员的交流），且 76% 的结核病患者合并 HIV 感染²⁴。当地结核病防治规划遵循国家指南，对如下患者进行痰培养和药敏试验（DST）：既往治疗未成功（包括中断、失败、复发）、治疗强化期末或疗程结束时

痰涂片仍呈阳性，以及临床上高度怀疑结核病的涂阴患者²⁵。

由于以医院为基础的集中治疗模式的限制性，特别是许多患者不能及时住进英王乔治五世医院接受治疗，因此于 2008 年 3 月建立了以社区为基础的治疗模式。其具体做法如下：赫拉比萨医院的结核病内科医生到英王乔治五世医院参观学习，接受有关耐药结核病管理的培训；学会数据收集，即在标本收集后 6 周在省级计算机化的实验室信息系统中查找患者的培养结果；如证实为耐药结核病患者，则将其转诊到英王乔治五世医院门诊进行评估和启动治疗，然后回到赫拉比萨医院，住院治疗 4 周。若观察无合并症，则选择距离患者住所最近的初级卫生保健诊所继续接受直接面视下督导服药治疗。要求患者每月到英王乔治五世医院进行随访，如出现并发症，则随时到赫拉比萨医院诊治。

分析

将 2008 年 3—12 月期间开始接受以社区为基础耐多药结核病治疗的耐多药肺结核患者纳入该研究，并将 2001 年至 2008 年 2 月期间在传统的以医院为基础治疗模式下接受耐多药结核病治疗的全部患者作为对照组纳入。在结核病防治规划中，常规药敏试验包括利福平（RFP）、异烟肼（INH）、乙胺丁醇（EMB）、链霉素（SM）、环丙沙星（CFX）和卡那霉素（Km）。在本研究的分析中，耐多药结核病的定义为：结核分枝杆菌对利福平和异烟肼耐药，但对环丙沙星和卡那霉素敏感。如果患者为以下情况，则从分析中排除：其他耐药谱（包括严重耐药、准严重耐药或单耐药）、无药敏试验结果或从其他医疗机构迁入。患者的人口学、临床和实验室资料来源于赫拉比萨医院和英王乔治五世医院的结核病防治规划数据库。在以社区为基础的治疗管理模式中，有关患者的 CD4 细胞计数和抗逆转录病毒治疗（ART）的进一步信息则从赫拉比萨艾滋病治疗和关怀规划数据库中获得。使用 χ^2 检验对 2 组的基线特征进行比较。

用于效果评价的主要测量项目是：治疗开始的时间（从获得诊断性痰培养结果到开始耐多药结核病治疗的天数）、痰涂片和痰培养阴转的时间（从开始治疗到获得连续两次痰涂片或痰培养阴转结果中第一次结果的天数）²⁶。在治疗开始时间的分析中，排除了 3 例（ $n=13$ ）未注明获得诊断性痰培养结果日期的患者；在痰涂片阴转分析中，排除了 23 例（ $n=23$ ）治疗前为痰涂片阴性的患者及 4 例

(*n* = 4) 在治疗开始后无痰涂片数据的患者；在痰培养阴转分析中，排除了 11 例 (*n* = 11) 治疗前为痰培养阴性的患者及 4 例 (*n* = 4) 在治疗开始后为痰培养数据的患者。

利用 Mann-Whitney U 检验比较 2 组的治疗开始时间。在 Kaplan-meier 生存分析中，使用 Mantel-Cox long-rank 检验比较 2 组的痰涂片和痰培养阴转时间。以不同的治疗管理模式类别（传统的医院模式和社区模式）、性别、HIV 感染状况和结核菌耐药谱作为独立变量进行痰涂片和痰培养阴转时间的 Cox 回归分析。3 例患者因体质量的基线数据缺失而未纳入此回归分析中。为避免高估传统医院模式相对于社区模式的痰涂片和痰培养阴转时间，在 kaplan-Merier 和 Cox 回归分析中传统医院模式组对患者的随访观察时间不超过社区模式组的最长观察时间（250 天）。所有的分析均使用 SPSS15.0（SPSS 公司，美国 IL 芝加哥）和 STATA 10（Stata 公司，美国德克萨斯州大学城，TX，USA）。

本研究得到赫拉比萨医院伦理委员会和夸祖鲁纳塔尔卫生部门的批准。

结 果

自 2001 至 2008 年间，共有 134 例患者在赫拉比萨卫生分中心接受耐药肺结核治疗，其中社区管理模式 57 例，传统医院管理模式 77 例。7 例患者从社区管理模式组中排除（3 例为从其他机构迁入，2 例为严重耐药结核病，2 例为利福平单耐药），20 例从传统医院管理模式组中排除（16 例无耐药结果，3 例为严重耐药结核病，1 例为利福平单耐药）。所以，社区管理模式组中的 50 例患者和传统医院管理模式组中的 57 例患者最终纳入分析。

患者的基线特征见表 1。社区管理组中结核病患者的已知 HIV 感染状况比例和 HIV 阳性比例均高于传统医院组。2 组 CD4 细胞计数的中位数没有显著差异，但社区管理组中已开始抗病毒治疗的比例高于传统医院组（表 1）。社区管理模式组中的 15 例患者在开始耐多药结核病治疗时尚未开展抗病毒治疗，其中的 7 例（46.7%）随后开始了抗病毒治疗，2 例（13.3%）在抗病毒治疗开始前死亡，6 例（40.0%）在分析时还未开始抗病毒治疗。

表 1 TM 组与 CM 组的基线特征

患者特征	TM 组 (<i>n</i> = 57)	CM 组 (<i>n</i> = 50)	<i>P</i> ^a
女性，%	52.6	54	0.887
体质量，千克，中位数 [IQR] ^b	52.0 [46.0~59.0]	51.0 [46.0~57.5]	0.686
HIV 状况， <i>n</i> (%)			
阳性	30 (52.6)	39 (78.0)	0.004
阴性	17 (29.8)	10 (20.0)	
未知	10 (17.5)	1 (2.0)	
CD4 细胞计数，个细胞/立方毫米			
中位数 [IQR]	256 [94~350]	151 [80~235]	0.626
<350， <i>n</i> / <i>N</i> (%)	8/11 (72.7)	35/38 (92.1)	0.117
<200， <i>n</i> / <i>N</i> (%)	5/11 (45.5)	25/38 (65.8)	0.298
抗病毒治疗， <i>n</i> / <i>N</i> (%) ^c	9/30 (30.0)	24/39 (61.5)	0.015
结核分枝杆菌耐药谱， <i>n</i> (%)			
RMP+INH	15 (26.3)	20 (40.0)	0.003
RMP+INH+EMB	6 (10.5)	1 (2.0)	
RMP+INH+SM	26 (45.6)	29 (58.0)	
RMP+INH+EMB+SM	10 (17.5)	—	

a) χ^2 检验。
b) TM 组 2 例患者和 CM 组 1 例患者的数据丢失。
c) 耐多药结核病治疗开始时给予抗病毒治疗。
TM=传统治疗模式；CM=以社区为基础的治疗模式；IQR=四分位间距；HIV=人类免疫缺陷病毒；RMP=利福平；INH=异烟肼；EMB=乙胺丁醇；SM=链霉素

社区管理组 ($n=48$) 开始耐多药结核病治疗时间的中位数为 84 d (95% 可信区间 78.7 ~ 93.3), 而传统的医院管理组 ($n=46$) 为 106.5 d (95% 可信区间为 88.6 ~ 151.1), $P=0.002$ 。社区管理组 ($n=32$) 痰涂片阴转时间的中位数为 59 d (95% 可信区间为 34.9 ~ 83.1), 传统的医院管理组 ($n=48$) 为 91 d (95% 可信区间为 72.2 ~ 119.8), $P=0.055$ 。社区管理组 ($n=39$) 痰培养阴转时间的中位数为 85 d (95% 可信区间为 68.0 ~ 102.0), 传统的医院管理组 ($n=53$) 为 119 d (95% 可信区间为 106.1 ~ 131.9), $P=0.002$ 。见痰涂片和痰培养阴转时间的 Kaplan-Merier 分析图。

在多因素 Cox 回归分析中, 当控制了性别、体质量、HIV 感染状况和耐药谱等因素时, 传统的医院管理组的痰涂片阴转时间比社区管理组长 (调整危险比 [aHR] = 1.78, $P=0.062$), 痰培养阴转时间亦如此 (调整危险比 = 1.82, $P=0.026$)。

2 组的 6 个月治疗转归情况见表 2。社区管理组有 4 例患者死亡, 其中 1 例死亡是由于病情严重, 发生在第 1 个月的住院治疗期间; 其他 3 例死亡则均发生在出院后。无关于这些死亡情况的进一步详细资料。传统的医院管理组最终的治疗转归如下 (排除了正在接受治疗的 16 例患者): 治愈 ($n=23$, 56.1%), 失败 ($n=2$, 4.9%), 丢失 ($n=8$, 19.5%), 死亡 ($n=8$, 19.5%)。

在社区管理组中观察到 3 例严重药物不良反应: 2 例患者为精神不良反应 (环丝氨酸所致), 1 例发生了史-约综合症 (乙硫异烟胺所致)。所有这些不良反应均发生在治疗的 1 个月后, 因此患者又返回赫拉比萨医院接受住院治疗; 停止服用引起不良反应的药物后, 3 例患者均得以恢复。

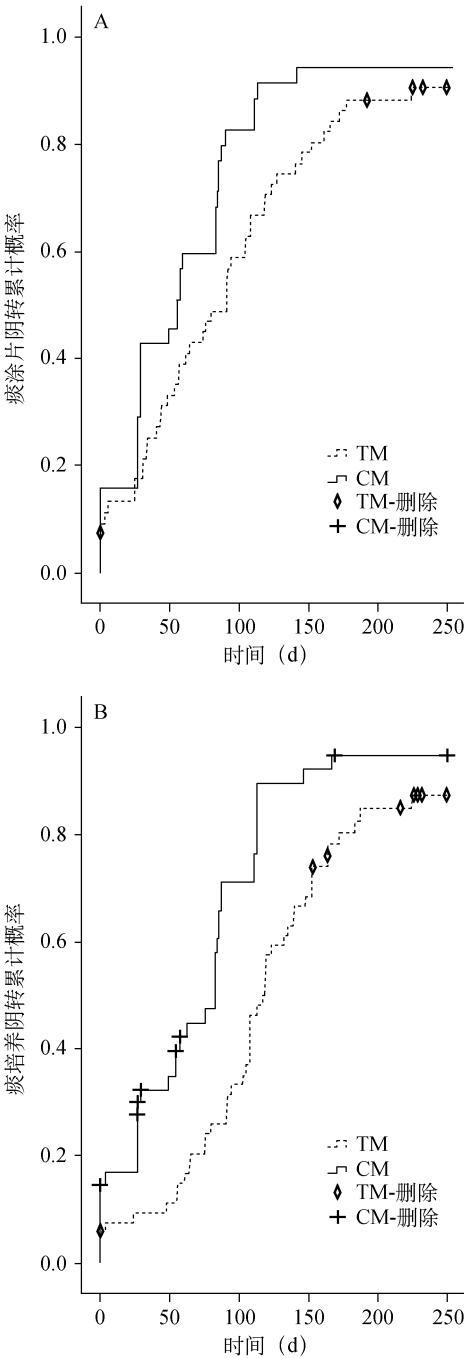
表 2 2 组患者的 6 个月治疗转归

治疗转归	TM 组 ($n=57$)	CM 组 ($n=46$) ^a	P^b
	n (%)	n (%)	
在治	52 (91.2)	39 (84.8)	0.438
死亡	4 (7.0)	4 (8.7)	
丢失	1 (1.8)	1 (2.2)	
迁出	—	2 (4.3)	

a) 在分析数据时, CM 组中有 4 例患者因治疗时间尚未达到 6 个月而被排除。

b) χ^2 检验。

TM=传统治疗模式; CM=以社区为基础的治疗模式



A) 痰涂片阴转时间 B) 痰培养阴转时间 (CM 组中最长的观察时间为 250 d, TM 组中 250 d 以上的数据被删除)。TM=传统治疗模式; CM=以社区为基础的治疗模式

图 Kapan-Merier 曲线图

讨 论

耐药结核病疫情和 HIV 疫情的日趋严重是当前南非国家结核病防治规划的巨大挑战。医院的基础设施是为治疗少量耐药结核病患者而设计, 故已不能满足需求, 因此考虑建立以社区为基础的治疗

管理模式。许多年前，赫拉比萨已报告了耐多药结核病患者，但近几年这个地区的 TB/HIV 双重感染疫情快速增长²⁷。我们的研究结果表明：发展以社区为基础的治疗模式是可行的，即在现有的结核病防治规划结构中，依靠具有知识和技能的技术人员，以门诊治疗为基础，患者可以得到安全的管理。

对耐药结核病患者给予住院治疗的主要原因是：需要管理和监控复杂的、具有不良反应的耐药结核病治疗方案，以及减少耐药结核病在社区的传播。但对耐药结核病治疗管理的知识和技能可通过培训及处理大量的临床患者来获得。绝大多数药物不良反应的特征明显（例如环丝氨酸引起的精神症状），我们的研究表明这些不良反应可以在区级医院管理²⁸。耐药结核病的传播在社区和卫生医疗机构均可发生，因此各级应加强感染控制策略²⁹。多数患者在治疗的第 1 个月末痰涂片仍为阳性，因此在其出院后可能会造成结核病的传播。遗憾的是我们的分析中未包括患者接触者识别和检查的数据。因此，需要进下一步的研究，以确定耐药结核病在社区的传播方式，设计结核病筛查和密切接触者随访的最佳策略³⁰。

耐药结核病的早期高死亡率，说明患者需要给予早期治疗。在夸祖鲁-纳塔尔农村地区开展的另一项研究表明，耐多药结核病患者存活时间（从收集痰标本开始）的中位数为 60 d³¹。我们的结核病防治规划数据显示：2008 年 3—12 月期间，在获得培养和药敏试验结果时，33% 的耐多药结核病患者已死亡，16% 的患者已无法追踪。因此，在本研究分析中，社区管理模式组仅纳入了所有实验室确诊耐多药结核病患者中的 50%，在这种情况下很可能存在显著的生存偏倚。由此，也强调了在更为快速地识别、诊断和转诊耐多药结核病患者方面还需要做大量工作。

尽管只有痰培养阴转时间具有统计学差异，但早期结果还是鼓舞人心的，即社区管理模式组的痰涂片和培养阴转时间均有所缩短。治疗 2 月末痰培养阴转则预示耐多药结核病患者会有一个良好的最终治疗转归；本研究痰培养阴转的中位时间（85 天）与拉脱维亚一个 DOTS-Plus 项目报导的中位时间相似（83 天）³²。我们没有患者肺部病变严重程度和空洞的可靠数据，而这些是与痰菌阴转时间显著相关的因素³²，故本研究未能对涂片和培养阴转时间的相关因素进行深入研究。所有患者都做了卡那霉素和环丙沙星药敏试验，但我们没有其他二

线药的药敏试验数据。CD4 细胞计数的差异不能解释治疗转归的差别，但抗病毒治疗在社区管理模式组中的更为普遍地应用对提高双重感染患者的治疗转归可能起到一定积极作用。为制定针对艾滋病合并耐多药结核病患者合理策略提供依据，需要开展进一步的研究，尤其是对 CD4 细胞计数高于目前抗病毒治疗标准的患者是否给予抗病毒治疗。我们正在试图通过初级卫生保健系统提供整合的 TB/HIV 关怀服务，有证据表明这是可行的³³。

我们的研究存在着回顾性对照研究固有的局限性。特别是传统的医院管理模式组，该队列包括了当地卫生服务人员缺乏时期和艾滋病防治规划扩展当地实验室建设之前纳入的患者。这就意味着历史队列会出现重要变量的数据不完整（例如 CD4 细胞计数），这可能会混淆结果，这种理论偏倚的方向可能是未知的。我们确实考虑过选择另一种研究设计，例如使用本地区另一家医院的同期队列。然而，其他潜在的混杂因素也会存在，包括不同的转诊系统、不同的结核病防治规划的实施，以及不同的抗病毒治疗规划。由于时间紧迫，以及需要为制定政策提供数据依据，经过平衡，我们选择了上述方法。

结论：以社区为基础的治疗管理模式能够使耐多药结核病患者尽快得到治疗，且对早期治疗转归无不利影响。本研究的数据提示：在南非农村地区，以社区为基础的治疗管理模式既可行又安全；而且，在资源条件允许的地方，应扩展结核病防治规划，并与艾滋病治疗关怀规划进行整合。

（弭凤玲 译 王雪静 审校）
（本文编辑：张晓进）

References

- 1 Chaisson RE, Martinson NA. Tuberculosis in Africa-combating an HIV-driven crisis. *N Engl J Med* 2008; 358:1089—1092.
- 2 Nunn P, Reid A, De Cock KM. Tuberculosis and HIV infection; the global setting. *J Infect Dis* 2007; 196 (Suppl 1): S5—S14.
- 3 Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006; 368: 1575—1580.
- 4 Wells CD, Cegielski JP, Nelson LJ, et al. HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis-the perfect storm. *J Infect Dis* 2007; 196 (Suppl 1): S86—S107.
- 5 Andrews JR, Shah NS, Gandhi N, Moll A, Friedland G. M ultidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis; implications for the HIV epidemic and antiretroviral therapy rollout in South Africa. *J Infect Dis* 2007; 196 (Suppl 3): S482—S490.
- 6 Welz T, Hosegood V, Jaffar S, Bätzing-Feigenbaum J, Herbst K, Newell M L. Continued very high prevalence

- of HIV infection in rural KwaZulu-Natal, South Africa; a population-based longitudinal study. *AIDS* 2007; 21: 1467–1472.
- 7 Bärnighausen T, Tanser F, Gqwede Z, Mbizana C, Herbst K, Newell ML. High HIV incidence in a community with high HIV prevalence in rural South Africa: findings from a prospective population-based study. *AIDS* 2008; 22: 139–144.
- 8 Bärnighausen T, Tanser F, Newell ML. Lack of a decline in HIV incidence in a rural community with high HIV prevalence in South Africa, 2003–2007. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; 25: 405–409.
- 9 Health Systems Trust, Government of South Africa. Health statistics—incidence of TB (all types) (per 100 000). Durban, South Africa: Health Systems Trust, 2008. www.hst.org.za/healthstats/16/data Accessed November 2009.
- 10 Erasmus L, Koornhof H, Coetzee G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa from data extracted from the NHLS Corporate Data Warehouse. *Comm Dis Surveill Bull* 2008; 6: 8–13.
- 11 Department of Health, Government of South Africa. The management of multidrug resistant tuberculosis in South Africa. 2nd ed. Pretoria, South Africa: Department of Health, 1999.
- 12 Yagui M, Perales MT, Asencios L, et al. Timely diagnosis of MDR-TB under program conditions: is rapid drug susceptibility testing sufficient? *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 838–843.
- 13 Andrews JR, Gandhi NR, Moodley P, et al. Exogenous reinfection as a cause of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in rural South Africa. *J Infect Dis* 2008; 198: 1582–1589.
- 14 Escombe AR, Moore DAJ, Gilman RH, et al. The infectiousness of tuberculosis patients co-infected with HIV. *PLoS Med* 2008; 5: e188.
- 15 Cox HS, Sibilia C, Feuerriegel S, et al. Emergence of extensive drug resistance during treatment for multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2008; 359: 2398–2400. Outcomes of community MDR-TB treatment 425.
- 16 Baleta A. Forced isolation of tuberculosis patients in South Africa. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 771.
- 17 World Health Organization. Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO report 2009. WHO/HTM/TB/2009.411. Geneva, Switzerland: WHO, 2009.
- 18 Padayatchi N, Friedland G. Decentralised management of drug-resistant tuberculosis (MDR-and XDR-TB) in South Africa: an alternative model of care. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12: 978–980.
- 19 Scano F, Vitoria M, Burman W, Harries AD, Gilks CF, Havlir D. Management of HIV-infected patients with MDR-and XDR-TB in resource-limited settings. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12: 1370–1375.
- 20 Mitnick C, Bayona J, Palacios E, et al. Community-based therapy for multidrug-resistant tuberculosis in Lima, Peru. *N Engl J Med* 2003; 348: 119–128.
- 21 Mitnick CD, Shin SS, Seung KJ, et al. Comprehensive treatment of extensively drug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2008; 359: 563–574.
- 22 Médecins Sans Frontières, Provincial Government of the Western Cape Department of Health. A patient-centred approach to drug-resistant TB treatment in the community: a pilot project in Khayelitsha, South Africa. Johannesburg, South Africa: Médecins Sans Frontières, 2009. <http://www.msf.org.za/viewnews.php?n=261> Accessed December 2009.
- 23 Seung KJ, Omatayo DB, Keshavjee S, Furin JJ, Farmer PE, Satti H. Early outcomes of MDR-TB treatment in a high HIV-prevalence setting in Southern Africa. *PLoS ONE* 2009; 4: E7186.
- 24 Wallrauch C, Heller T, Kekane EM, et al. Practical TB/HIV integration: experience from Hlabisa sub-district in northern KwaZulu-Natal. Abstract 271. Durban, South Africa: 4th South African AIDS Conference, 2009.
- 25 Department of Health, Government of South Africa. The South African National Tuberculosis Control Programme practical guidelines. Pretoria, South Africa: Department of Health, 2004.
- 26 World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Emergency update 2008. WHO/HTM/TB/2008.402. Geneva, Switzerland: WHO, 2008.
- 27 Davies GR, Pillay M, Sturm AW, Wilkinson D. Emergence of multidrug-resistant tuberculosis in a community-based directly observed treatment programme in rural South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 799–804.
- 28 Nathanson E, Gupta R, Huamani P, et al. Adverse events in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: results from the DOTS-Plus initiative. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 1382–1384.
- 29 World Health Organization. WHO policy on TB infection control in health care facilities, congregate settings and households. WHO/HTM/TB/2009.419. Geneva, Switzerland: WHO, 2009.
- 30 Bayona J, Chavez-Pachas AM, Palacios E, Llaro K, Sapa R, Becerra MC. Contact investigations as a means of detection and timely treatment of persons with infectious multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7 (Suppl 3): S501–S509.
- 31 Gandhi NR, Shah NS, Andrews JR, et al. HIV co-infection in multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis results in high early mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 80–86.
- 32 Holtz TH, Sternberg M, Kammerer S, et al. Time-to-sputum culture conversion in multidrug-resistant tuberculosis: predictors and relationship to treatment outcome. *Ann Intern Med* 2006; 144: 650–659.
- 33 Gandhi NR, Moll AP, Lalloo U, et al. Successful integration of tuberculosis and HIV treatment in rural South Africa: the Sizong'oba study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 50: 37–43.

印度既往接受过抗结核治疗患者的一线 and 二线抗结核药耐药谱

First-and second-line drug resistance patterns among previously treated tuberculosis patients in India

C. N. Paramasivan,* F. Rehman,[†] F. Wares,[‡] N. Sundar Mohan,^{††} S. Sundar,[†] S. Devi,[†] P. R. Narayanan[†]

* Foundation for Innovative New Diagnostics, Geneva, Switzerland; [†] Tuberculosis Research Centre, Indian Council of Medical Research, Chennai, [‡] Office of the World Health Organization Representative to India, New Delhi, India

摘要

本文对 2001—2004 年间，全印度 2 816 例复治失败结核病患者痰培养和药物敏感试验结果，在 Chennai 的结核病研究中心进行了回顾性分析。其中 1 498 例（53%）被确诊为患有耐多药结核病（MDR-TB），671 例（44.8%）至少耐一种二线抗结核药，分别为：490 例（32.7%）耐乙硫异烟胺，245 例（16.4%）耐氧氟沙星，169 例（11.3%）耐卡那霉素；69 例（4.6%）为广泛耐药结核病（XDR-TB）。尽管本结果是从高度选择的、不具代

表性的患者人群中获得，但耐多药结核病患者中的二线抗结核药耐药率（包括 XDR 率）如此之高仍值得关注。因此，以高质量的 DOTS 服务来预防 M/XDR-TB 的产生，仍是目前的首要任务。此外，也需要尽快扩展在修改后的国家结核病控制规划（RNTCP）下的高质量规划管理，以及更加规范规划之外对二线抗结核药的使用。

关键词：耐药；既往治疗过的结核病；印度

DOTS 策略是世界卫生组织向全球推荐的遏制结核病策略（Stop TB）中的重要组成部分，其主要目的是预防耐多药结核病（MDR-TB，即同时耐异烟肼和利福平）的产生。因为耐多药结核病更难治愈，需要更长的治疗期，治疗费用更高，治疗方案的毒不良反应更大¹⁻²。据世界卫生组织/国际防痨联盟共同出版的第四次全球抗结核药物耐药监测报告和全球耐药监测项目估算，2006 年全球共产生近 49 万耐多药肺结核患者，仅印度就占了 11 万³。2006 年，广泛耐药结核病（XDR-TB）被定义为在 MDR-TB 的基础上对任何一种氟喹诺酮类药物和三种二线注射类药物（卷曲霉素、卡那霉素、阿米卡星）中至少一种耐药⁴。

迄今为止，来自印度具有代表性的有关耐药结核病的数据非常有限，既没有公开发表的具有代表

性的二线药耐药数据，也没有关于广泛耐药结核病患病率的估算³。本文中的调查对象是 2001—2004 年间在全印度选择的患者，将其痰标本送到印度南部 Chennai 的结核病研究中心，进行耐药谱的回顾性分析（包括二线抗结核药）。

共收到 3 173 例患者的痰标本，其中 75% 来源于三级政府卫生机构和医院。所有标本均来自至少接受过 1 次抗结核治疗的患者，其中很多都是长期排菌的肺结核患者。然而，有关患者的临床病史和 HIV 状况等资料在本次回顾性研究中无法获得。

在罗氏（Löwenstein-Jensen）培养基上，采用标准方法对痰标本进行分离培养，2 816 例（89%）患者为培养阳性。随后，对培养阳性菌株进行了药物敏感性试验（简称药敏试验，DST）。除了对一线抗结核药（包括异烟肼、利福平、乙胺

丁醇、链霉素) 进行药敏试验以外, 还对二线抗结核药也做了药敏试验, 包括卡那霉素、乙硫异烟胺和氧氟沙星。对异烟肼、利福平和乙胺丁醇的药敏试验是采用国际推荐的绝对浓度法, 对链霉素则采用比例法⁵⁻⁶。使用室内质量控制 (IQC) 方法对所有药敏结果进行质控; 一线药的药敏试验接受了世界卫生组织 (WHO) 跨国参比实验室 (SNRL) 的熟练度测试。在过去 10 年间, 室内质控的药敏试验结果与跨国参比实验室的熟练度测试结果始终保持非常好的一致性。

在 2 816 株有药敏结果的菌株中, 2 108 株 (75%) 对 7 种抗结核药物中的任意一种耐药 (表 1), 即可能耐一种药, 也可能同时耐多种药。其耐药率从高到低排列依次为: 异烟肼 1 902 株 (67%), 利福平 1 529 株 (24%), 链霉素 1 214 株 (43%), 乙胺丁醇 841 株 (30%), 乙硫异烟胺 692 株 (25%), 氧氟沙星 272 株 (9.7%), 卡那霉素 184 株 (6.5%) (表 1)。

在 2 002 株至少耐一种一线抗结核药的菌株中, 1 040 株 (52%) 至少同时耐一种二线抗结核药 (181 株耐卡那霉素, 597 株耐乙硫异烟胺, 262 株耐氧氟沙星)。在其余 814 株对一线抗结核药敏感的菌株中, 108 株 (13%) 至少耐一种二线抗结核药 (3 株耐卡那霉素, 10 株耐乙硫异烟胺, 95 株耐氧氟沙星) (表 2)。

在全部菌株中, 1 498 株至少同时耐异烟肼和利福平 (即 MDR-TB, 表 1)。其中, 671 株 (45%) 同时至少耐一种二线抗结核药 (169 株耐卡那霉素, 占 11.3%; 490 株耐乙硫异烟胺, 占 32.7%; 245 株耐氧氟沙星, 占 16.4%; 表 3)。在 MDR-TB 患者中共发现 69 例 (4.6%) XDR-TB。

讨 论

由于研究对象是有选择性的, 主要是治疗失败和慢性结核病患者, 因此 53% 的耐多药率不足为怪。在既往接受过抗结核治疗的患者中, 耐多药率高可能是由于化疗方案不合理、患者治疗依从性差, 以及药品质量差。在印度, 未执行国家结核病控制规划的公立和私立医疗机构能够获得所有一线和二线抗结核药, 且通常不合理地使用。2006 年, 药厂售出的 75% 的一线抗结核药和 100% 的二线抗结核药是由这些医疗机构购买和使用的, 且绝大多

使用不合理⁷。

最令人担忧的是耐氧氟沙星 (16.4%) 和耐卡那霉素 (11.3%), 以及广泛耐药 (4.6%)。由于耐二线药, 特别是广泛耐药, 可以设想其治疗结果会比耐多药结核病更糟糕⁸⁻⁹。尽管本文中的数据不能代表国家结核病控制规划中复治患者的二线药耐药谱, 但这些数据提示: 国家结核病控制规划中对耐多药结核病患者的标准治疗方案* 可能对耐 1~2 种二线药的非广泛耐药和/或广泛耐药患者有

表 1 分离菌株的耐药种类

耐药种类	菌 株	
	数量	百分比%
检测的菌株总数	2 816	100
对所有 7 种药物均敏感	708	25.1
耐任一种药		
异烟肼	1 902	67.5
利福平	1 529	54.3
乙胺丁醇	841	29.9
链霉素	1 219	43.3
卡那霉素	184	6.5
乙硫异烟胺	692	24.6
氧氟沙星	272	9.7
合计	2 108	74.9
单耐药		
异烟肼	157	5.6
利福平	16	0.6
乙胺丁醇	1	<0.1
链霉素	57	2
卡那霉素	2	0.1
乙硫异烟胺	94	3.3
氧氟沙星	8	0.3
合计	335	11.9
耐药种类数		
1	335	11.9
2	428	15.2
3	496	17.6
4	459	16.3
5	257	9.1
6	92	3.3
7	41	1.5
耐多药菌株数		
仅耐异烟肼+利福平	355	12.6
耐异烟肼+利福平+其他一种药	561	19.9
耐异烟肼+利福平+2 种及以上药	582	20.7
合 计	1 498	53.2

* 6 (或 9) 个月卡那霉素+乙硫异烟胺+环丝氨酸+氧氟沙星+吡嗪酰胺+乙胺丁醇, 随后是 18 个月的乙硫异烟胺+环丝氨酸+氧氟沙星+乙胺丁醇

表 2 一线和二线抗结核药耐药谱交叉表

对一线药耐药	对二线药耐药			
	数量	卡那霉素	乙硫异烟胺	氧氟沙星
耐一种药				
异烟肼	196	3	36	3
利福平	21	0	2	3
乙胺丁醇	1	0	0	0
链霉素	65	0	8	0
耐两种药				
异烟肼+利福平	355	8	81	24
异烟肼+乙胺丁醇	32	0	5	1
异烟肼+链霉素	136	8	37	5
利福平+乙胺丁醇	3	0	0	0
利福平+链霉素	3	0	1	0
乙胺丁醇+链霉素	2	0	0	1
耐三种药				
异烟肼+利福平+乙胺丁醇	176	11	64	25
异烟肼+利福平+链霉素	385	36	115	46
异烟肼+乙胺丁醇+链霉素	40	0	16	1
利福平+乙胺丁醇+链霉素	5	1	0	3
耐四种药				
异烟肼+利福平+乙胺丁醇+链霉素	582	114	230	150
耐任一种药	2 002	181	597	262
对四种药全敏感				
异烟肼+利福平+乙胺丁醇+链霉素	814	3	95	10
合计（%）	2 816	184（6.5）	692（24.6）	272（9.7）

表 3 耐多药结核患者对二线抗结核药耐药情况

耐药种类	数量	百分比%
耐一种药		
乙硫异烟胺	326	21.8
氧氟沙星	109	7.3
卡那霉素	58	3.9
耐两种药		
乙硫异烟胺+氧氟沙星	67	4.5
卡那霉素+乙硫异烟胺	42	2.8
卡那霉素+氧氟沙星	14	0.9
耐三种药		
卡那霉素+乙硫异烟胺+氧氟沙星	55	3.7
合计	671	44.8
广泛耐药结核病（XDR-TB）		
耐多药+卡那霉素+氧氟沙星（有或无乙硫异烟胺）	69	4.9

效或无效。最近南非的一个研究表明，如果耐多药结核病患者对广泛耐药结核病的一个标志性药物（氧氟沙星或卡那霉素）也耐药，那么在管理不善的情况下，很可能发展成为广泛耐药结核病¹⁰。

国家结核病控制规划中的很大一部分复治患

者，既往不是在国家结核病控制规划下接受治疗，而是来自私立医疗机构和未实施国家结核病控制规划、未提供 DOTS 治疗的公立机构。这些机构常常使用氟喹诺酮类药物为患者提供治疗¹¹。如果使用管理不规范，结核菌很可能在 1 周之内对氧氟沙

星产生耐药¹²。因此,应对氟喹诺酮类药物的普遍供应和滥用给予重视。在印度孟买,报道了结核病和耐多药结核病患者中的高氟喹诺酮类药物耐药的情况¹³。作者认为这是由于在社区中,氟喹诺酮类药物被普遍地滥用于治疗结核病和其他感染的结果。

从现有数据来看,尽管印度的耐多药率相对较低(新涂阳肺结核患者的耐多药率为0.5~3.3%,复治涂阳患者为12~17%),但将这些率转换为耐多药结核病患者绝对数,则是巨大的,目前估算为11万³。尽管国家结核病控制规划的主要工作仍是继续实施基本DOTS,以预防耐药的产生,但也正在扩展对已有的耐多药结核病患者提供管理服务。目前,依照世界卫生组织的指南^{2,14},国家结核病控制规划正在8个省开展耐多药结核病诊断、治疗(使用针对耐多药结核病患者标准治疗方案)和管理工作。国家结核病控制规划计划以分阶段的方式扩展对耐多药结核病患者治疗管理,即到2012年,对所有既往接受过抗结核治疗的涂阳患者,在将其纳入国家结核病控制规划,接受复治治疗方案治疗时进行耐药筛查;另外,将复治失败的患者也列为筛查对象。

国家结核病控制规划扩展对耐多药结核病的诊疗服务时,如果被纳入的患者有如此高的二线药耐药率,则将对耐多药结核病标准化疗方案构成潜在威胁。因此,迫切需要限制和规范喹诺酮类和其他二线抗结核药物在规划之外(无论是公立还是私立医疗机构)的使用。总之,为有效地发现和治疗耐多药/广泛耐药结核病,还需要新的二线抗结核药治疗方案和快速诊断试验方法。

(赵津 译 王雪静 审校)

(本文编辑: 张晓进)

Acknowledgements

The authors are grateful to LS Chauhan, DDG (TB), Central TB Division, Ministry of Health, Government of India, for carefully reviewing this document and the Director Gen-

eral, Indian Council of Medical Research, for generously allowing this evaluation to be carried out.

References

- 1 World Health Organization. Framework for effective tuberculosis control. WHO/TB/94.179. Geneva, Switzerland; WHO, 1994.
- 2 World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Emergency update 2008. WHO/HTM/TB/2008.402. Geneva, Switzerland; WHO, 2008.
- 3 World Health Organization. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394. Geneva, Switzerland; WHO, 2008.
- 4 World Health Organization. Report of the meeting of the WHO Global Task Force on XDR-TB. Geneva, Switzerland, 9–10 October 2006. WHO/HTM/TB/2007.375. Geneva, Switzerland; WHO, 2007.
- 5 Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. Bull World Health Organ 1969; 41: 21–43.
- 6 Sulochana S, Rahaman F, Paramasivan CN. In vitro activity of fluoroquinolones against *Mycobacterium tuberculosis*. J Chemother 2005; 17: 169–173.
- 7 Global Alliance for TB Drug Development. Pathway to patients: charting the dynamics of the global TB drug market. New York, NY, USA: Global Alliance for TB Drug Development, 2007.
- 8 Leimane V, Riekstina V, Holtz T H, et al. Clinical outcome of individualized treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia: a retrospective cohort study. Lancet 2005; 365: 318–326.
- 9 Jassal M, Bishai WR. Extensively drug-resistant tuberculosis. Lancet Infect Dis 2009; 9: 19–30.
- 10 Mlambo CK, Warren RM, Poswa X, Victor TC, Duse AG, Marais E. Genotypic diversity of extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) in South Africa. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 99–104.
- 11 Sisodia RS, Wares F, Sahu S, Chauhan LS, Zignol M. Source of re-treatment cases under the Revised National TB Control Programme in Rajasthan, India, 2003. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 1373–1379.
- 12 Wang JY, Hsueh PR, Jan IS, et al. Empirical treatment with a fluoroquinolone delays the treatment for tuberculosis and is associated with a poor prognosis in endemic areas. Thorax 2006; 61: 903–908.
- 13 Agrawal D, Udhwadia ZF, Rodriguez C, Mehta A. Increasing incidence of fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mumbai, India. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13: 79–83.
- 14 Central TB Division, Directorate General of Health Services, Ministry of Health & Family Welfare. RNTCP Q1 2009 performance report. New Delhi, India; CTD, 2009.

科技发展动态系列
耐药结核病 江振源编辑
本系列中的第 2 篇

耐药结核分枝杆菌的传染性、生殖适应性和进化

Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

S. Borrell, S. Gagneux

Division of Mycobacterial Research, Medical Research Council National Institute for Medical Research, London, UK

摘要

数学模型预测：未来耐多药（MDR）以及和广泛耐药（XDR）结核（TB）流行将在很大程度上取决于传播效率或耐药结核分枝杆菌较药物敏感菌株的相对适应性。比较耐药菌株和敏感菌株传播的分子流行病学研究产生了互相矛盾的结果：耐多药菌株和对药物全部敏感的菌株相比，传播性可高 10 倍以上或低 10 倍以下。使用实验模式生物完成的研究工作已经突出显示：细菌耐药的生物学复杂程度在标准的结核病传播的流行病学研究过程中通常不被考虑。最近使用结核分枝杆菌进行的实验研究表明，在这种生物中药物耐受可能同样复杂。

例如，结核分枝杆菌耐药菌株的相对适应性可以受到特定的耐药突变以及菌株遗传背景的影响。此外，补偿进化已经显示出在其他细菌中减轻耐药相关的适应性缺陷，可能是结核分枝杆菌耐药性出现和传播的重要因素。然而需要开展更多的工作，以了解这一病原菌耐药性相关的详细的分子机制和进化力量。这种知识的提高将能够更好地进行流行病学预测，有助于新工具和新策略的开发，以抗击耐药结核病。

关键词：进化，基因分型，抗生素，毒力，遗传性

耐多药（MDR）和广泛耐药（XDR）结核病（TB）在世界许多地区都是紧迫的公共卫生问题。最近的调查表明，广泛耐药结核病至少在 50 个国家存在¹。2006 年的估算显示当年有近 50 万耐多药结核病病例发生²。虽然 50 万例是一个大数目，但相对 2006 年估算的 920 万新发结核病病例而言，这一数字又相对较小³。然而，耐多药和广泛耐药结核病将快速地增加，造成全球大流行，这可能发生吗？对这一重要问题的答案取决于对耐药结核病

出现以及蔓延的各种因素的正确理解。这与结核病控制规划质量和社会经济问题被认为是预测耐药结核病的重要相关因素。与此相反，耐药结核病出现和蔓延的内在生物因素仍在很大程度上不明了。长期以来一个引起大量争论的问题是：目前的结核病耐药问题，主要是在病人个体治疗中获得的（继发耐药），还是由耐药菌株直接传播的（原发耐药）。一个相关的问题是，耐药结核分枝杆菌菌株是否与药物敏感菌株具有相同的传播能力。根据普遍的看

Correspondence to: Sebastien Gagneux, Division of Mycobacterial Research, MRC National Institute for Medical Research, The Ridgeway, Mill Hill, London NW7 1AA, UK. Tel: (+44) 20 8816 2399. Fax: (+44) 20 8816 2564. e-mail: gagneux@nimr.mrc.ac.uk

法，耐药细菌在获得耐药性之后，其毒力和传播能力降低，就这一点来说，耐药菌蒙受一种“适应性成本”（下文进一步讨论）。但是，这个观点似乎过于简单。

本文综述了有关研究的发现，包括从实验、理论和流行病学观点的论题。我们特别关注了耐多药和广泛耐药结核病，因为这些耐药对病人的治疗结果最有影响。我们的结论是，对于耐药结核分枝杆菌“传染性”，现有的证据仍是不确切的，需要更多的研究。

相对适应性和药物耐受性

“传染性”、“传播能力”和“毒力”是曾经交替使用的意指传染性因子播散的术语。实际上这些概念与达尔文的病原微生物适应性有关。达尔文的适应性理论，通常被称为“适者生存”。在传染病流行病学中，反映病原体的生殖适应性的相关变量是第 2 代病例数，这一变量表示为基本繁殖率， R_0 ⁴。除了第 2 代病例绝对数外（即绝对适应性），一种更有用的变量是“相对适应性”，即将某一特定病原变异的成功与另一成功变异相比较。例如，一种药物耐受细菌菌株的适应性可以与敏感菌株的适应性进行相对的表达。除了相对适应性的流行病学变量外，相对适应性的差异也可以通过实验计量。很多关于这个问题的研究已经在生物模式上完成，也越来越多地病原菌上完成（全面地回顾，可见 Andersson 和 Hughes 文献⁶）。一种广为应用的计量细菌相对适应性的试验方法是竞争性适应性分析，即将两种感兴趣的细菌以等比例混合，在一个共同的环境中共同竞争有限的资源。这一实验的环境可以是一个简单的培养瓶，也可以更加复杂，如一个共感染小鼠。在竞争性实验结束时，药物耐受菌的适应性被表示为药物耐受变异相对药物敏感株所经历的代数。

从这些实验研究的一般结果看，药物耐受性的生态学和进化后果是复杂的⁶。图 1 说明了药物耐受性演化的一些关键特征，以及它们如何能够影响耐药性细菌的相对适应性。细菌药物耐受性的获得往往带有成本，即在没有药物的情况下细菌生长降低。这是因为抗生素一般是针对重要的、高度保守的基因。这些靶标的突变是生物对给定药物产生耐受性的机制，这将导致药物活性被干扰或阻止⁷。然而，这些突变也会经常（但并不总是）影响这些基因的正常功能，造成耐药菌株生长减少。这种细菌生长减少通常被称为“适应成本”^{6,8}。药物耐受演

化的复杂性，与耐药突变能够对菌株适应性产生不同影响这一事实有关。虽然获得耐药的决策因素往往与适应性的丢失相关，但是所谓“低成本或无成本”突变已在各生物系统中被报告（图 1）^{6,8}。此外，虽然耐药菌株常常遭受最初的适应性降低，但是随着时间的推移，通过获得一个或多个辅助位点的突变，能够改进或回复这些菌株的适应性；这一过程被称为“补偿性进化”⁹。重要的是，这一过程甚至在没有药物压力的情况下也会出现。因此，补偿性进化的后果之一是：在去除抗生素的条件下，也可以导致药物耐受性在群中的稳定。

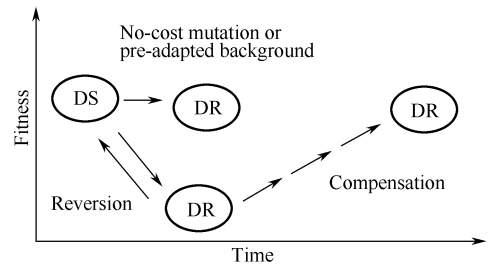


图 1 药物耐受性的演化及其对细菌适应性的影响

一个药物敏感细菌（DS）获得一个耐药（DR）的决定因素，往往（但并不总是）导致在适应性降低。当药物压力去除，能够发生药物敏感性状态的恢复。但是，补偿性进化更有可能，既使在缺乏药物压力的情况下，因为在细菌的基因组中存在更多的进化靶标；真正的回复，只有通过原来的耐药突变确切位置的突变回复才能发生。

结核分枝杆菌的实验研究

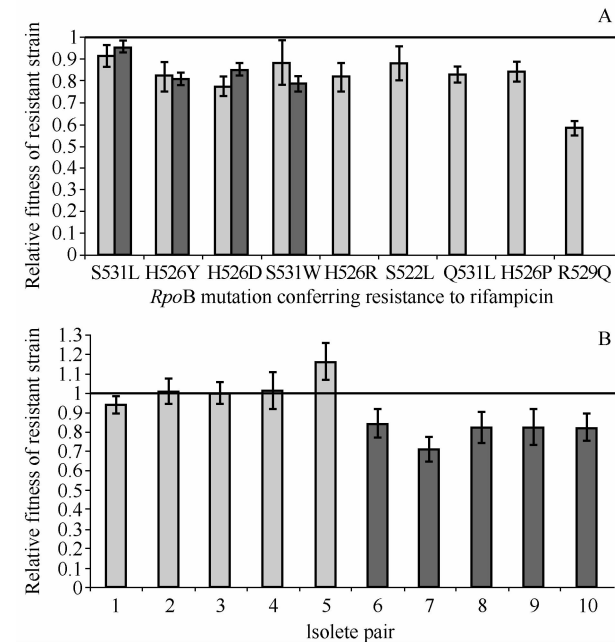
有几项研究用实验的方法研究药物耐受对结核分枝杆菌相对适应性和毒力的影响。20 世纪 50 年代，Middlebrook 和 Mitchison 在豚鼠体内比较了不同的异烟肼（INH）耐药临床分离菌株的毒性，发现许多（但不是全部）菌株显示出其毒力相对于药物敏感株降低¹⁰⁻¹¹。随后在小鼠中的工作证实结核分枝杆菌耐药菌株显示出一个毒力范围¹²。最常见的结核分枝杆菌获得异烟肼耐药性的机制是通过过氧化氢酶基因 *katG* 的突变⁷。功能性 *katG* 是 INH 转化为其生物活性形式所必须的。消除 *katG* 活性的突变导致高水平的异烟肼耐药。另一方面，*katG* 保护结核分枝杆菌在感染过程中对抗氧化压力，且 *katG* 活性的失去通常导致异烟肼耐药菌株毒力的降低。然而，一个特殊的 *katG* 突变—*katG* S315T，导致异烟肼活性降低，但是在小鼠体内仍然维持 *katG* 的活性和毒性¹³。换句话说，*katG*

S315T 突变引起异烟肼耐药结核分枝杆菌不显著的适应性缺陷，因此可以被认为是“无成本”突变（图 1）。临床环境中 *katG* S315T 突变是导致异烟肼耐药最常见突变的事实进一步支持了上述概念^{7,14}。

与此相似，导致对其他抗结核药物耐受的不同突变也被发现与菌株适应性的变异效应有关。对于耻垢分枝杆菌的实验研究表明，临床结核分枝杆菌分离株中，“适应性成本”最少的链霉素（SM）耐药突变最为常见¹⁵⁻¹⁶。几项研究已经使用竞争适应性分析来评价在结核分枝杆菌利福平耐药突变的适应性影响。再次发现导致利福平耐药的 RNA 聚合酶基因 *rpoB* 基因的不同突变，对细菌适应性的影响不同¹⁷⁻¹⁹。在 Gagneux 等人的研究中，作者发现菌株遗传背景也能够影响独有的 *rpoB* 基因突变适应效应（图 2A）¹⁸。重要的是，尽管所有实验诱导的利福平耐药菌株普遍地与适应性成本有关（图 2A），但是一些临床菌株相较 RMP 敏感的原代菌株，其适应性没有缺失（图 2B）。这些发现提示，在临床分离株中，最初的适应性缺陷降低也许是延长治疗过程中补偿进化的结果。*rpoB* S531L 突变，与实验室菌株最低适应成本和临床菌株非适应性缺失相关，是全球临床菌株最常见的 RMP 耐药突变基因¹⁸。相反地，显示最高的适应性成本的 *rpoB* 基因突变（图 2A），在任何临床菌株中从未观察到。

总之，对 INH、SM 或 RMP 耐药菌株的实验研究结果提示，在临床上，对于药物耐药突变存在强的选择压力，从而引起最小适应缺失²⁰。虽然这些发现支持毒力和竞争适应性分析能够预测耐药结核病流行病学的观点，但是这些研究尚未捕获结核分枝杆菌生命周期的整体复杂性。例如，与宿主间传播有关的问题，与仅仅在培养基中生长或在动物模型中的毒性不同，是难以用实验方法测出的。因此，强烈需要在临床背景中，开展以人群为基础的耐药性传播的研究。

尽管在其他细菌中已经对几个补偿进化的机制进行了描述⁹，但结核分枝杆菌中，关于这一课题的工作却很少。一个对于异烟肼耐药株的补偿机制已经提出，即缺乏功能性的 *katG* 酶。缺乏 *katG* 活性的临床菌株与编码一烷基过氧化氢还原酶的 *ahpC* 启动子突变有关。据显示，*ahpC* 表达上调可以部分弥补 *katG* 活性的缺乏²¹。然而，*ahpC* 启动子突变在临床上是很罕见的，有 *ahpC* 启动子突变，但无 *katG* 基因突变菌的报道²²。因此，*ahpC*



A 实验室衍生株。与 RMP 敏感的原代菌株相比，所有实验室 RMP 耐药菌竞争适应性显著降低，具有统计学意义。定义原代敏感菌株的相对适应性为 1（黑线，偏差柱指示 95% 的可信区间）。但是差别仍然存在于那些包含不同的 RMP 耐药突变或不同基因背景菌株（亮灰柱指示来源于临床菌 CDC1551 的菌株，黑灰柱指示来源于临床菌 T85 的菌株，T85 属于北京基因型）之间。B 临床分离株配对。5 个临床 RMP 耐药株中，相比于配对的来自相同病人的 RMP 敏感分离菌株，4 个具有 *rpoB* S531L 突变（亮灰柱）而没有适应缺失。相反地，所有具有其他 *rpoB* 突变的临床菌株（黑灰柱），与它们 RMP 敏感的对应该菌株相比，适应性缺陷具有统计学显著性。RMP = 利福平

图 2 体外 RMP 耐药结核分枝杆菌竞争性适应成本（摘自 Gagneux 等¹⁸）

基因突变对于异烟肼耐药的作用和相关性仍然存在争议⁷。最近的一项研究，采用新一代高通量 DNA 序列分析比较一株药物敏感菌株、一株耐多药菌株和一株广泛耐药结核分枝杆菌菌株的基因组，广泛耐药株与最近引起南非 KwaZulu-Natal 广泛耐药结核病爆发的菌株属同一家族（见 Jassal 和 Bishai¹）。人们希望通过分析密切相关的菌株，药物敏感和耐药菌株之间一些关键的基因差别，包括公认的补偿性突变将得以显现。这一分析显示，只有极少数耐药突变能够从药物敏感株中分离出来。虽然针对两种药物耐药菌株的一些具体变化能代表公认的补偿性突变，但需要更多的工作来证实这种可能性。

数学模型

除了实验研究外，理论方法已被广泛用于研究耐药性细菌的出现和蔓延。对于结核病，数学模型

已经用来研究疾病的自然历史的各个方面（详情见Cohen 等的综述²³）。例如，数学模型已被用来研究耐多药结核分枝杆菌如何在接受结核病治疗的个体内被选择，或什么类型的干预可以限制耐药结核病在社区的蔓延。在理论上很多地强调了对耐药结核未来蔓延的预测。

如上所述，相对适应性的概念可以应用于实验和流行病学的条件。在流行病学方面，药物耐受病原菌生殖适应性的降低反映在与敏感菌相比，产生的二代病例较少，对应基础生殖率 R_0 降低²³。早期的针对预测耐药结核病未来传播的数学模型假设药物耐受普遍与细菌的适应性降低相关^{4,24-25}。预测结果是耐多药结核仍将是一个局部问题⁴。更近的一些模型允许耐药菌株的相对适应性有所变异，如之前所讨论的，得出了非常不同的结论²⁶⁻²⁷。例如，Cohen 和 Murray 的模型发现，即使当耐多药菌株的平均相对适性较低、存在完善的结核病控制规划的条件下，从长远来看，一个小亚群的相对适应的耐多药菌群可能从药物敏感菌以及适应性低的耐多药菌中胜出²⁷。

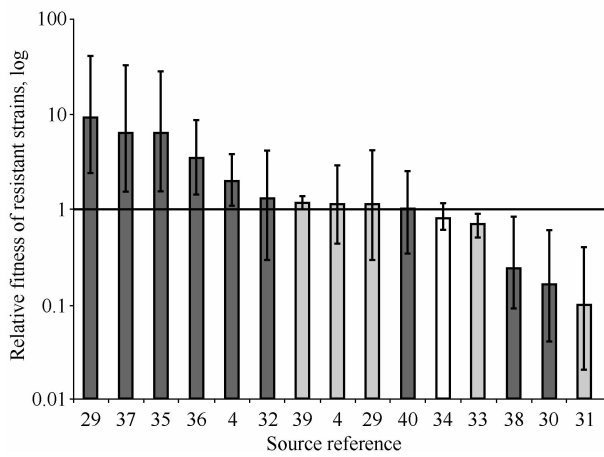
综上所述，已有的实验和理论证据表明，耐药菌株的相对适应性是提示 MDR 和 XDR 未来流行的关键参数之一。那么这方面的证据如何与目前耐药结核分枝杆菌传播的流行学证据相比较？

流行病学研究

各种结核分枝杆菌基因分型分子工具已经得到发展²⁸。多年来这些工具已被应用于结核病传播的分子流行病学研究。根据标准的概念，病人的分离株若某一特定基因型或 DNA “指纹” 相同，可以认为具有流行病学联系和并代表有活动性结核病的传播（即它们是成簇的结核病病例），而具有差别的或“独特的” DNA 图谱的菌株则被认为反映潜伏感染的再燃。基因型成簇的比例可以作为结核病正在传播的近似的估计。按照这一方法，进行了一些研究比较药物耐受和药物敏感菌株基因型成簇率的相对比例。这个比例可以被转化为上述讨论过的实验研究中使用的相对适应性参数。

在图 3 中，我们收集了关于分子流行病学适应性估算的综述和最近的研究⁴⁻⁵。总体而言，对耐多药结核病的相对适应性的估算相差很大，从一项来自俄罗斯的研究发现，与完全敏感的菌株相比，适应性几乎高达 10 倍，而墨西哥研究显示适应性大约低 10 倍³⁰；其他还有研究报告，耐多药菌株不会导致任何的 2 代病例³¹。耐多药菌株相对适应性高度

变异的原因可能与研究设计和设置不同、样本大小不同以及方法学不同有关。结核病控制规划的质量也可能有关。例如，与耐药病人相比，标准的DOTS策略很可能会更加有效地降低药物敏感患者的传染期，这可能使在临床条件下测量相对适应性变得复杂化⁴。有趣的是，在墨西哥，完善的DOTS规划已经显示出同时降低药物敏感和药物耐受结核病的发病率³²。而另一方面在秘鲁，DOTS规划已很好地建立了多年，但耐多药结核病的发病率仍在升高²。这些形成鲜明对比的观察结果使得问题的复杂性更加突出，我们只有获得更全面的关于全球耐药结核病趋势的数据，才能进一步解读这一问题。



（引用的数据来自文献 4 和 29—40）。白色柱显示异烟肼单耐 katG S315T 突变菌株的相对适应性。相对适性对应药物耐受和药物敏感菌株基因型成簇率的不同，根据 Dye et al 的文献⁴ 进行计算。黑线表示平均适应性和误差 95% 的可信区间

图 3 分子流行病学研究中 MDR（深灰柱）和异烟肼单耐药（浅灰色柱）菌的相对适应性

除了方法学、社会经济和环境因素，图 3 中显示的 MDR 适应性变异可能也反映出生物的异质性。到目前为止，分子流行病学研究很少考虑到在结核病传播中药物耐药突变可能的变异效应。在荷兰的研究表明，即使异烟肼耐药菌株整体展示一种明显低水平的流行病学成簇率，拥有无成本 katG S315T 突变的菌株在传播中降低不明显(图 3)^{33-34,41}。在旧金山的一个研究也发现异烟肼耐药菌株传播的统计学显著性差异依赖特异的耐药赋予突变。虽然具有 katG S315T 突变的一些菌株造成成功传播，但是拥有任何其他 katG 突变的菌株（即突变可能废除酶活性）不产生任何 2 代病例²²。所有这些研究均在结核病控制规划完善的地区开展。然而，一个亚群的耐药菌株传播并产生 2 代病例。这些发现提示

在耐药结核病传播中的药物耐药突变的不同效应。

原发耐多药和广泛耐药结核病传播的证据

不论耐药结核分枝杆菌较敏感菌的相对传播，另一个关键问题是目前的耐药结核病问题有多少应归咎于原发（即传播地），以及多少应归咎于继发（即获得地）耐药²。人类免疫缺陷病毒（HIV）合并感染一直被认为是耐多药结核病重要的危险因素。许多耐多药和广泛耐药结核病在艾滋病阳性个体中的医院暴发已被报导，包括药物敏感结核病在标准治疗期间耐多药或广泛耐药菌混杂的再感染病例⁴²。关于艾滋病毒和耐多药物结核病之间的相互关联，已经提出了几个可能的解释（讨论见 Dye 等和 Cohen 等²³）。在这一综述的内容中，一个有趣的可能解释是，由于他们假设适应性降低，耐多药菌株也许不太可能在免疫缺陷病人之外繁殖。在此我们决定药特别回顾目前已经发表的 HIV 阴性个体中耐多药结核病传播的证据。我们只考虑那些

通过适当的分子流行病学技术证实耐多药结核病传播、以及病人的 HIV 阴性状况由实验室确诊的研究。在最初确定的 442 项研究中，只有 12 项满足所有的纳入标准（表 1）。令人惊讶的是，尽管进行结核病传播分子流行病学研究的工具十分丰富，但在近 20 年中，总共仅报道了近 300 项实验室确认的在 HIV 阴性个体中 MDR 菌传播的事例。相比之下，以个体人群为基础的关于结核病传播的分子流行病学研究却在一个地区报道了数千成簇的药物敏感结核病病例^{33,41}。我们认识到我们的入选标准相当严格，结果可能错过了流行病学证据确凿的原发耐药或混杂的再感染病例。在这里我们想强调的是，从科学的角度来看，由分子方法证实的耐多药结核病在 HIV 阴性个体中原发性传播的确凿证据是非常有限的，我们需要更多的包括分子数据在内研究，以了解在一般人群中原发耐多药结核病的真实情况。

表 1 在 HIV 阴性个体中耐多药结核分枝杆菌传播的证据

年份	参考文献 ^a	城市，国家	研究设置	HIV-阴性 %	涉及到传播的病例 <i>n</i>
1995	Shaferet al. ⁴⁴	纽约，美国	医院	33	3
1999	Van Rie et al. ⁴⁵	开普敦，南非	社区	100	16
2000	Fandinho et al. ³⁵	里约热内卢，巴西	医院	100	23
2001	Sofi a et al. ⁴⁶	法国	家庭	100	3
2002	Quitugua et al. ⁴⁷	德克萨斯和墨西哥州，美国	社区	100	85
2003	Palmero et al. ⁴⁸	布宜诺斯艾利斯，阿根廷	家庭，社区和医院	100	36
2005	Samper et al. ⁴⁹	西班牙	社区	100	38
2005	Mardassi et al. ⁵⁰	突尼斯	社区	100	18
2005	Oeltmann et al. ⁵¹	泰国	难民	100	20
2006	Kodmon et al. ⁵²	匈牙利	社区	100	21
2007	Umubyeyi et al. ⁵³	卢旺达	医院	100	3
2007	Vazquez-Gallardo et al. ⁵⁴	加利西亚，西班牙	医院	100	30

a) 通过 PubMed 搜索鉴定相关的研究 (*n* = 142) (2009 年 3 月进入)，使用的检索词为‘结核病’，‘药物耐受’和传播。只有以英文发表的文献才被考虑。如果文献包含分子流行病学和实验室确诊的 HIV 数据，则文献被包括在内。如果传播仅发生在 HIV 阳性病人，或分子流行病学资料仅单独地根据低通量技术（例如 spoligotyping），则文献被排除。HIV = 人类免疫缺陷病毒

表 2 广泛耐药结核分枝杆菌传播的证据

年份	参考文献 ^a	国家	研究设置	HIV-阳性 %	在该研究中广泛耐药病例的总数 <i>n</i>	成簇的广泛耐药菌株数 <i>n</i> / <i>N</i> (%)
2006	Gandhi et al. ⁴³	南非	医院	100	53	39/46 (85)
2006	Masjedi et al. ⁵⁵	伊朗	家庭/社区	25	12	12/12 (100)
2008	Mlambo et al. ⁵⁶	南非	医院/社区	ND	41	15/41 (37) ^b
2008	Cox et al. ⁴²	乌兹别克斯坦	医院	ND	10	7/10 (70)

a) 通过 PubMed 搜索鉴定相关的研究 (*n* = 20) (2009 年 3 月进入)，使用的检索词为“结核病”、“广泛耐药”和“传播”。只收集那些通过分子流行病学证实的广泛耐药菌株的研究

b) 分子流行病学资料由 spoligotyping 方法获得。XDR=广泛耐药；HIV=人类免疫缺陷病毒；ND=没有资料提供

表 3 在已发表的研究中北京基因型结核分枝杆菌与耐多药之间的联系

年份	参考文献 ^a	国家/地区	研究设置	北京菌株/总菌株数 <i>n</i> / <i>N</i> (%)	耐多药菌株/北京菌株总数 <i>n</i> / <i>N</i> (%)	OR (95%CI)	<i>P</i> 值 ^b
2001	Pfyffer et al. ⁶²	阿塞拜疆共和国	监狱	46/65 (70.8)	28/46 (60.9)	3.4 (1.0~12.7)	<0.05
2001	Kruuner et al. ³⁶	爱沙尼亚	社区	61/209 (29.2)	34/61 (55.7)	17.0 (5.3~54.9)	ND
2002	Toungoussova et al. ²⁹	俄罗斯	社区	53/119 (44.5)	23/53 (43.4)	11 (3.4~37.0)	<0.001
2005	Park et al. ⁶³	韩国	社区	569/743 (76.6)	190/569 (33.4)	1.8 (1.1~2.9)	<0.01
2005	Kovalev et al. ⁶⁴	俄罗斯	社区	50/92 (54.3)	19/50 (38.0)	9.1 (2.3~43.1)	<0.001 ^c
2005	Cox et al. ⁶⁵	乌兹别克斯坦	社区	190/382 (49.7)	51/190 (26.8)	4.8 (2.5~9.6)	<0.001
2005	Drobniewski et al. ⁶⁶	俄罗斯	监狱/社区	586/880 (66.6)	216/586 (36.9)	2.4 (1.9~3.0)	<0.001
2006	欧洲结核病控制协调活动 ⁶⁷	西欧	社区	253/7340 (3.5)	3/253 (1.0)	4.2 (1.2~14.7) ^d	<0.001
		东欧	社区	248/564 (44)	126/248 (51.0)	11.2 (6.9~18.3)	<0.001
		东南亚	社区	366/1027 (35.6)	29/366 (8.0)	3.3 (1.74~6.4)	<0.001
2007	Nikolayevskyy et al. ⁶⁸	乌克兰	社区	89/231 (38.5)	31/89 (34.8)	1.43 (1.08~1.9)	ND
2007	Sun et al. ⁶⁹	新加坡	社区	328/598 (54.9)	31/328 (9.5)	2.66 (1.28~5.5)	<0.01
2009	Mokrousov et al. ⁷⁰	俄罗斯	社区	41/90 (45.6)	28/41 (68.3)	5.8 (2.2~16.6)	<0.001
2009	Phyu et al. ⁷¹	缅甸	社区	99/310 (32)	21/99 (21.2)	3.2 (1.34~7.67) ^e	<0.01

a) 通过 PubMed 搜索鉴定相关的研究 (*n* = 190) (2009 年 3 月进入)，使用的检索词为‘结核病’，‘药物耐受’和‘北京’。如果文献提供与非北京株和全敏感菌株比较时，北京株与耐多药具有显著统计学关联的研究被收录

b) χ^2 检验分析比例

c) 双侧的 Fisher’s 确切概率检验

d) 计算西欧的非移民

e) 北京基因型与其他主要谱系在该地区地比较；根据以前 TB 治疗调整

MDR=耐多药；OR=比值比；CI=可信区间；ND=没有资料；比值比从原文中拷贝，但 *P* 值根据提供的资料未计算

另外一个重要的问题是耐药突变是否可以显示为菌株适应性的累积效应。很可能由于细菌获得多种药物的耐药突变（即细菌经历耐药性的放大），他们的适应性缺失将增加。广泛耐药结核分枝杆菌目前被定义为耐受两种一线药物，异烟肼和利福平，另外耐受至少一种喹诺酮类和注射二线药物¹。这样，广泛耐药菌株至少在 4 个关键酶上存在突变，共同影响广泛耐药菌株成长的生理特性。在现实中，许多这些广泛耐药株耐受更多的药物，每增加药物耐药的突变便潜在地增加了适应性负担。虽然补偿进化也许能够减少少数耐药突变的效应，但对于高度耐药的广泛耐药菌株，适应性缺失的程度

有限，可能得到补偿，这是一个有趣的推测。目前尚没有研究揭示这种可能性。然而，最近的几份报告都强调合并 HIV 感染的广泛耐药结核病人病死率高，提示至少在免疫功能降低的情况下，广泛耐药结核是可以进展的¹。广泛耐药结核病的爆发与医院传播有关，但还不清楚广泛耐药株在一般人群中如何传播。为了复习目前有关广泛耐药传播的证据，我们分析了所有已报告的分子流行病学确诊的广泛耐药传播的病例研究，以下纳入标准与那些前面所述类似。概括如表 2，只有 4 项研究具有书面报告的实验室证实的广泛耐药菌株的传播。其中 3 项研究涉及到医院爆发，而且很高比例的病例为

HIV 合并感染。“XDR”这个术语是新近才出现的，这使得我们在综述过程中的搜索量受到限制。再次强调的一点是目前所公布的关于广泛耐药结核病传播的科学证据是非常有限的，需要更多的研究。

菌株谱系相关性

根据前面章节中讨论的证据，很显然在适应性和耐药菌株中，其部分的异质性可能与耐药突变的不同影响有关。除了这些直接影响，在其他细菌中的研究表明菌株的遗传背景可能明显地影响特定药物耐药突变的适应性效果（图 1）。例如，在体内进行的空肠弯曲杆菌的实验显示，特异的喹诺酮类药物在 DNA 旋转酶基因 *gyrA* 的耐药突变降低了一些喹诺酮类耐药菌株相对适应性，但当转移进另一背景的菌株后，增加了菌株的适应性⁵⁷。

在结核分枝杆菌中，不同菌株在动物模型中显示出不同的免疫源性和毒力（见 Gagneux 和 Small⁵⁸）。也有越来越多的证据，菌株的多样性可以影响人类感染和疾病的结果⁵⁹。从全球收集的菌株基因组分析，提示结核分枝杆菌具有亲缘地理（phylo-geographic）的群结构，其中不同菌株谱系与特定的地理区域相关联^{58,60}。最近的一项理论研究发现，即使结核病控制质量相同，与无菌株多样性的菌群相比，免疫性差别的相似菌群具有更高的药物耐受的风险⁶¹。除了免疫学效应，属于不同谱系的菌株其不同的遗传背景也对耐药进化具有一定作用。结核分枝杆菌北京基因型与耐药性相关。我们在这里收集所有的关于 MDR 和北京基因型相关联的证据。表 3 总结了所有已经发表的研究，显示北京菌株与其他菌株和敏感结核比较，与耐多药结核病有显著关联。在符合我们纳入标准的 12 项研究中（表 3），9 个研究是在前苏联，三个研究在东南亚国家完成。北京基因型和耐药之间的联系显得尤为强烈，并且在这两个地理区域是一致的。虽然在这些地区结核病控制策略（例如在俄罗斯监狱里）质量不佳也很可能是耐药问题的原因，但是很难想象在结核病控制中怎样的差异会以谱系依赖的方式影响耐药的出现。此外，北京基因型和耐药的关联显示于不同的国家和大陆，而在这些地区结核病控制措施有可能是不同的，这一事实提示这种关联是一种生物学效应。

几个生物学因素可能与北京菌株和药物耐受之间的联系有关。根据一个假设，北京菌株可能表现出突变率增加，即一种被成为突变表型的现象⁷²。这个概念是基于已在北京株 DNA 修复基因发现了

几个错义突变的事实⁷³。这些突变能够导致更高的总体突变率，并加速获得药物耐受性。然而，迄今为止唯一的研究测定菌株谱系的自发突变率，体外试验发现北京株和其他菌株谱系之间的突变率无差别⁷⁴。此外，如果北京株的自发突变率相较于其他菌株有所提升，则人们预期北京株全基因组范围地积聚突变。然而，根据最近的一项研究比较 108 株中的 89 个基因的 DNA 序列，没有发现这样一个积累的证据⁷⁵。反而是北京菌株能够较好地忍受药物耐药突变的适应性效应。换言之，北京菌株的背景可能对耐药性的适应效应“预先适应”（图 1）。为了支持这一观点，一项观察临床菌株体外生长的研究发现，相对于非北京菌株，有些属于北京基因型的耐药菌株相对于它们配对的药物敏感菌株无生长缺失⁷⁶。此外，在旧金山的研究显示，北京菌株明显与异烟肼耐药突变相关，该突变可能去除 *katG* 的活性。由于在感染过程中 *katG* 有助于保护细菌对抗氧化压力，*katG* 的缺失通常造成毒性减弱¹³。来自旧金山的发现提示，北京菌株可能对完整的 *katG* 依赖性较低，也许因为它们一般对氧化压力较不敏感，或能更好地弥补 *katG* 活性的损失。

未来研究的领域

如本综述中所述，以我们目前对结核病耐药的理解，还不能有信心地预测耐多药和广泛耐药结核病的未来。我们的无知是特别与所涉及的生物因素有关。因此，迫切需要我们提高我们对结核病耐药性各个方面的了解。尤其重要的一点涉及到分子诊断的发展，这有可能显著提高和加快耐药结核病的诊断¹。虽然许多药物的耐药突变在结核分枝杆菌中已被确定⁷⁷，对许多临床菌株而言，耐药机制及相关耐药突变仍然不明，特别在那些抗二线药物中。除了提高我们对原发耐药决定因素的理解外，我们需要更多地学习假定补偿机制在结核分枝杆菌中的运作。例如，在前苏联的一些国家流行的一些 MDR 北京菌株可以说是最成功的结核分枝杆菌耐药菌株⁶⁵。促成这个成功的分子和进化机制是什么？从本综述发现的另一个重要问题是：与敏感结核相比，当前耐多药和广泛耐药结核病传播的流行病学证据是什么，这一问题尚无结论。这可以部分解释为结核分枝杆菌基因比人们通常认为的更多样⁷⁵，并且耐药菌株较药物敏感菌株更能够展示适应异质性。未来耐药结核病传播的流行病学研究应该包括更广泛的菌株资料，包括特异的药物耐药突

变以及菌株基因的背景信息。这些变量，以及它们的相互作用，可能在特异的药物耐受变异的成功传播中扮演重要角色。

理论研究也需要扩大。数学模型是基于许多经验证据设定的特定假设和模型参数²³。不过，虽然很多关于药物耐受的生态和进化复杂性已由模式生物获得，但是对应的耐多药和广泛耐药结核病的数据仍然很少。尽管如此，新近的一些回顾性研究表明，类似现象在结核分枝杆菌中发生。虽然结核病传播动力学的数学模型越来越多地吸收这部分复杂性⁶¹，但是药物耐受生物学的一些重要特征还没有被阐述。例如，补偿进化的效应以及随着时间的推移提高药物耐受菌株的适应性尚未被探讨。此外由基因和表型异质群构成细菌的种，其中一些能够展示突变率增加或表型耐药，所有都可以促进基因编码耐药的发展^{72,78}。

最后，对于相关的分子信息，目前耐药监测数据非常有限，因为常规药敏试验（DST）是依赖表型的实验。广泛采用分子为基础的检测将有助于生成有价值的在世界不同地区关于各种耐药等位基因频率的有价值的数据。此信息对于开发和评价新的以分子为基础的药敏试验工具，以及较好地理解耐药对全球结核分枝杆菌的蔓延的影响至关重要。

结 论

抗结核药物已使用了几十年，而今天的结核病例中只有小部分是耐多药或广泛耐药²⁻³。因此，总体而言，全球结核病控制在限制耐多药和广泛耐药结核病的出现和全球传播上是相当成功的。然而在其他地方耐药问题仍日益增加。重要的问题是这些趋势在未来会如何？耐药结核病是一种复杂的现象。虽然良好的结核控制措施能够限制新的耐药菌株的出现，但是现有耐药菌株的长期存在，以及与由它引起的将来耐多药和广泛耐药结核病的流行还是个未知数。需要更多的研究来解决这些重要问题。

（李为民 译 刘宇红 审校）

（本文编辑：范永德）

Acknowledgements

The authors thank C Dye, D Young and I Comas for useful comments and critical review of the manuscript. Work in their group is supported by the Medical Research Council, UK, and US National Institutes of Health grants HH-SN266200700022C and AI034238.

References

1 Jassal M, Bishai WR. Extensively drug-resistant tubercu-

- losis. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 19—30.
- 2 World Health Organization. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report no 4. WHO/HTM/TB/2008.394. Geneva, Switzerland; WHO, 2008.
- 3 World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO/HTM/TB/2008.393. Geneva, Switzerland; WHO, 2008.
- 4 Dye C, Williams BG, Espinal MA, Ravigliione MC. Erasing the world's slow stain: strategies to beat multidrug-resistant tuberculosis. *Science* 2002; 295: 2042—2046.
- 5 Cohen T, Sommers B, Murray M. The effect of drug resistance on the fitness of *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 13—21.
- 6 Andersson D, Hughes D. Effects of antibiotic resistance on bacterial fitness, virulence and transmission. In: Baquero F, Nom bela C, Cassell GH, Gutierrez-Fuentes JA, eds. *Evolutionary biology of bacterial and fungal pathogens*. Washington DC, USA: ASM Press, 2008: pp 307—318.
- 7 Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. *Tubercle Lung Dis* 1998; 79: 3—29.
- 8 Andersson DI, Levin BR. The biological cost of antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 489—493.
- 9 Maisnier-Patin S, Andersson DI. Adaptation to the deleterious effects of antimicrobial drug resistance mutations by compensatory evolution. *Res Microbiol* 2004; 155: 360—369.
- 10 Middlebrook G, Cohn ML. Some observations on the pathogenicity of isoniazid-resistant variants of tubercle bacilli. *Science* 1953; 118: 297—299.
- 11 Mitchison DA. Tubercle bacilli resistant to isoniazid: virulence and response to treatment with isoniazid in guinea pigs. *BMJ* 1954; 128—130.
- 12 Orday DJ, Sonnenberg MG, Donahue SA, Belisle JT, Orme IM. Drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* exhibit a range of virulence for mice. *Infect Immun* 1995; 63: 741—743.
- 13 Pym AS, Saint-Joanis B, Cole ST. Effect of katG mutations on the virulence of *Mycobacterium tuberculosis* and the implication for transmission in humans. *Infect Immun* 2002; 70: 4955—4960.
- 14 Cohen T, Becerra MC, Murray MB. Isoniazid resistance and the future of drug-resistant tuberculosis. *Microb Drug Resist* 2004; 10: 280—285.
- 15 Bottger EC, Springer B, Pletschette M, Sander P. Fitness of antibiotic-resistant microorganisms and compensatory mutations. *Nat Med* 1998; 4: 1343—1344.
- 16 Sander P, Springer B, Prammananan T, et al. Fitness cost of chromosomal drug resistance-conferring mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1204—1211.
- 17 Billington OJ, McHugh TD, Gillespie SH. Physiological cost of rifampin resistance induced in vitro in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1866—1869.
- 18 Gagneux S, Long CD, Small PM, Van T, Schoolnik GK, B ohannan BJ. The competitive cost of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 2006; 312: 1944—1946.
- 19 Mariam DH, Mengistu Y, Hoffner SE, Andersson DI. Effect of rpoB mutations conferring rifampin resistance on fitness of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1289—1294.
- 20 Bottger EC, Springer B. Tuberculosis: drug resistance, fitness and strategies for global control. *Eur J Pediatr* 2008; 167: 141—148.
- 21 Sherman DR, Mdluli K, Hickey MJ, et al. Compensatory ahpC gene expression in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 1996; 272: 1641—1643.
- 22 Gagneux S, Burgos MV, DeRiemer K, et al. Impact of bacterial genetics on the transmission of isoniazid-resist-

- ant *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathog 2006; 2: e61.
- 23 Cohen T, Dye C, Colijn C, Murray M. Mathematical models of the epidemiology and control of drug-resistant TB. Expert Rev Resp Med 2009 (in press).
- 24 Dye C, Espinal MA. Will tuberculosis become resistant to all antibiotics? Proc Biol Sci 2001; 268: 45–52.
- 25 Blower SM, Gerberding JL. Understanding, predicting and controlling the emergence of drug-resistant tuberculosis: a theoretical framework. J Mol Med 1998; 76: 624–636.
- 26 Blower SM, Chou T. Modeling the emergence of the ‘hot zones’: tuberculosis and the amplification dynamics of drug resistance. Nat Med 2004; 10: 1111–1116.
- 27 Cohen T, Murray M. Modeling epidemics of multidrug-resistant *M. tuberculosis* of heterogeneous fitness. Nat Med 2004; 10: 1117–1121.
- 28 Mathema B, Kurepina NE, Bifani PJ, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights. Clin Microbiol Rev 2006; 19: 658–685.
- 29 Tounghousova OS, Sandven P, Mariandyshev AO, Nizovtseva NI, Bjune G, Caugant DA. Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia. J Clin Microbiol 2002; 40: 1930–1937.
- 30 Garcia-Garcia ML, Ponce de Leon A, Jimenez-Corona ME, et al. Clinical consequences and transmissibility of drug-resistant tuberculosis in southern Mexico. Arch Intern Med 2000; 160: 630–636.
- 31 Burgos M, DeRiemer K, Small PM, Hopewell PC, Daley CL. Effect of drug resistance on the generation of secondary cases of tuberculosis. J Infect Dis 2003; 188: 1878–1884.
- 32 DeRiemer K, Garcia-Garcia L, Bobadilla-del-Valle M, et al. Does DOTS work in populations with drug-resistant tuberculosis? Lancet 2005; 365: 1239–1245.
- 33 van Soolingen D, Borgdorff MW, de Haas PE, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997. J Infect Dis 1999; 180: 726–736.
- 34 van Soolingen D, de Haas PE, van Doorn HR, Kuijper E, Rinder H, Borgdorff MW. Mutations at amino acid position 315 of the *katG* gene are associated with high-level resistance to isoniazid, other drug resistance and successful transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in The Netherlands. J Infect Dis 2000; 182: 1788–1790.
- 35 Fandinho FC, Kritski AL, Hofer C, et al. RFLP patterns and risk factors for recent tuberculosis transmission among hospitalized tuberculosis patients in Rio de Janeiro, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg 2000; 94: 271–275.
- 36 Kruuner A, Hoffner SE, Sillastu H, et al. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia. J Clin Microbiol 2001; 39: 3339–3345.
- 37 Alland D, Kalkut GE, Moss AR, et al. Transmission of tuberculosis in New York City. An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods. N Engl J Med 1994; 330: 1710–1716.
- 38 Godfrey-Faussett P, Sonnenberg P, Shearer SC, et al. Tuberculosis control and molecular epidemiology in a South African gold-mining community. Lancet 2000; 356: 1066–1071.
- 39 Snider DE Jr, Kelly GD, Cauthen GM, Thompson NJ, Kilburn JO. Infection and disease among contacts of tuberculosis cases with drug-resistant and drug-susceptible bacilli. Am Rev Respir Dis 1985; 132: 125–132.
- 40 Teixeira L, Perkins MD, Johnson JL, et al. Infection and disease among household contacts of patients with multidrug-resistant tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2001; 5: 321–328.
- 41 van Doorn HR, de Haas PE, Kremer K, Vandenbroeck-Grauls CM, Borgdorff MW, van Soolingen D. Public health impact of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains with a mutation at amino-acid position 315 of *katG*: a decade of experience in The Netherlands. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 769–775.
- 42 Cox HS, Sibilila K, Feuerriegel S, et al. Emergence of extensive drug resistance during treatment for multidrug-resistant tuberculosis. N Engl J Med 2008; 359: 2398–2400.
- 43 Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. Lancet 2006; 368: 1575–1580.
- 44 Shafer RW, Small PM, Larkin C, et al. Temporal trends and transmission patterns during the emergence of multidrug-resistant tuberculosis in New York City: a molecular epidemiologic assessment. J Infect Dis 1995; 171: 170–176.
- 45 van Rie A, Warren RM, Beyers N, et al. Transmission of a multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain resembling *H3N2* among noninstitutionalized, human immunodeficiency virus-seronegative patients. J Infect Dis 1999; 180: 1608–1615.
- 46 Sofia M, Maniscalco M, Honore N, et al. Familial outbreak of infectiousness of drug-resistant *M. tuberculosis* 1465 disseminated multidrug-resistant tuberculosis and meningitis. Int J Tuberc Lung Dis 2001; 5: 551–558.
- 47 Quitugua TN, Seaworth BJ, Weis SE, et al. Transmission of drug-resistant tuberculosis in Texas and Mexico. J Clin Microbiol 2002; 40: 2716–2724.
- 48 Palmero D, Ritacco V, Ambroggi M, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in HIV-negative patients, Buenos Aires, Argentina. Emerg Infect Dis 2003; 9: 965–969.
- 49 Samper S, Iglesias MJ, Rabanaque MJ, et al. Systematic molecular characterization of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from Spain. J Clin Microbiol 2005; 43: 1220–1227.
- 50 Mardassi H, Namouchi A, Haltiti R, et al. Tuberculosis due to resistant Haarlem strain, Tunisia. Emerg Infect Dis 2005; 11: 957–961.
- 51 Oeltmann JE, Varma JK, Ortega L, et al. Multidrug-resistant tuberculosis outbreak among US-bound Hmong refugees, Thailand, 2005. Emerg Infect Dis 2008; 14: 1715–1721.
- 52 Kodmon C, Niemann S, Lukacs J, Sor E, David S, Somoskovi A. Molecular epidemiology of drug-resistant tuberculosis in Hungary. J Clin Microbiol 2006; 44: 4258–4261.
- 53 Umubyeyi AN, Shamputa IC, Rigouts L, et al. Molecular investigation of recurrent tuberculosis in patients from Rwanda. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11: 860–867.
- 54 Vazquez-Gallardo R, Anibarro L, Fernandez-Villar A, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in a low-incidence region shows a high rate of transmission. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11: 429–435.
- 55 Masjedi MR, Farnia P, Sorooch S, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis: 2 years of surveillance in Iran. Clin Infect Dis 2006; 43: 841–847.
- 56 Mlambo CK, Warren RM, Poswa X, Victor TC, Duse AG, Marais E. Genotypic diversity of extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) in South Africa. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 99–104.
- 57 Luo N, Pereira S, Sahin O, et al. Enhanced in vivo fitness of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter jejuni* in the absence of antibiotic selection pressure. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 541–546.
- 58 Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. Lancet Infect Dis 2007; 7: 328–337.
- 59 Nicol MP, Wilkinson RJ. The clinical consequences of strain diversity in *Mycobacterium tuberculosis*. Trans R Soc Trop Med Hyg 2008; 102: 955–965.

- 60 Gagneux S, Deriemer K, Van T, et al. Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 2869–2873.
- 61 Basu S, Orenstein E, Galvani AP. The theoretical influence of immunity between strain groups on the progression of drug-resistant tuberculosis epidemics. *J Infect Dis* 2008; 198: 1502–1513.
- 62 Pfyffer GE, Strassle A, van Gorkum T, et al. Multi-drug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 855–861.
- 63 Park YK, Shin S, Ryu S, et al. Comparison of drug resistance genotypes between Beijing and non-Beijing family strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Korea. *J Microbiol Methods* 2005; 63: 165–172.
- 64 Kovalev SY, Kamaev EY, Kravchenko MA, Kurepina NE, Skorniakov SN. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9: 746–752.
- 65 Cox HS, Kubica T, Doshetov D, Kebede Y, Rüscher-Gerdes S, Niemann S. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia. *Respir Res* 2005; 6: 134.
- 66 Drobniowski F, Balabanova Y, Nikolayevsky V, et al. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence and the dominance of the Beijing strain family in Russia. *JAMA* 2005; 293: 2726–2731.
- 67 European Concerted Action on New Generation Genetic Markers and Techniques for the Epidemiology and Control of Tuberculosis. Beijing/W genotype *Mycobacterium tuberculosis* and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 736–743.
- 68 Nikolayevskyy VV, Brown TJ, Bazhora YI, Asmolov AA, Balabanova YM, Drobniowski FA. Molecular epidemiology and prevalence of mutations conferring rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains from the southern Ukraine. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 129–138.
- 69 Sun YJ, Lee AS, Wong SY, et al. Genotype and phenotype relationships and transmission analysis of drug-resistant tuberculosis in Singapore. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 436–442.
- 70 Mokrousov I, Otten T, Zozio T, et al. At Baltic crossroads: a molecular snapshot of *Mycobacterium tuberculosis* population diversity in Kaliningrad, Russia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 55: 13–22.
- 71 Phyu S, Stavrum R, Lwin T, Svendsen OS, Ti T, Grewal H M. Predominance of *Mycobacterium tuberculosis* EAI and Beijing lineages in Yangon, Myanmar. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 335–344.
- 72 Chopra I, O'Neill AJ, Miller K. The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resist Updat* 2003; 6: 137–145.
- 73 Dos Vultos T, Mestre O, Rauzier J, et al. Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS ONE* 2008; 3: e1538.
- 74 Werngren J, Hoffner SE. Drug-susceptible *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype does not develop mutation-conferred resistance to rifampin at an elevated rate. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1520–1524.
- 75 Hershberg R, Lipatov M, Small PM, et al. High functional diversity in *Mycobacterium tuberculosis* driven by genetic drift and human demography. *PLoS Biology* 2008; 6: e311.
- 76 Tounghousova OS, Caugant DA, Sandven P, Mariandyshv AO, Bjune G. Impact of drug resistance on fitness of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing genotype. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 42: 281–290.
- 77 Sandgren A, Strong M, Muthukrishnan P, Weiner BK, Church GM, Murray MB. Tuberculosis drug resistance mutation database. *PLoS Med* 2009; 6: e2.
- 78 Dhar N, McKinney JD. Microbial phenotypic heterogeneity and antibiotic tolerance. *Curr Opin Microbiol* 2007; 10: 30–38.
- 79 Dye C. Doomsday postponed? Preventing and reversing epidemics of drug-resistant tuberculosis. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 81–87.

科学发展动态系列
耐药结核病 江振源编辑
本系列中的第 3 篇

耐药结核病的诊断：检测的可靠性和即时性

Diagnosis of drug-resistant tuberculosis: reliability and rapidity of detection

A. Van Deun, *† A. Martin, * J. C. Palomino*

* Mycobacteriology Unit, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium; † International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, Paris, France

摘要

随着耐多药结核病（MDR-TB）的出现，全球都迫切需要快速药敏试验方法。国家结核病防治规划（NTPs）可能发现很难从各种变化多样的快速检测方法中选择合适的方法。我们对最重要的方法进行综述，讨论他们的优点和缺点，侧重那些可以替代商品化系统的方法，以及基因检测技术。表型和基因型药敏试验之间的关系仍然存在问题，原因是除了对以前已研究标准化的表型的药物敏感试验外，我们关于耐药性突变的认识仍不充分。由于某些耐药菌株生长延迟，以快速生长为基础的药敏试验准确性较差。

为了实现理想的耐药监测和耐多药结核病的管理，同时使实验室的工作不超负荷，需要慎重考虑检测的适应症和可疑者的界定，同时良好的显微镜

依旧非常重要并且是个挑战。迄今研究较少的醋酸荧光素活性染色技术可能提供解决办法，协调早期检测和对快速药敏试验的合理的预选择。

关于方法的选择，从覆盖所有人群的前景出发，应该考虑方法的适用性和敏感性。只有推广简单、低要求的方法，或者中心化的基因型药敏试验替代，但要确保标本运输程序简单才是可行的。由于不需要原代分离培养物，药敏试验结果报告时间的轻微差别相对不重要。没有任何一种检测是绝对准确的，合理的预选择可能允许使用准确度稍差但是简单的筛查方法。传统的药敏试验将依旧是用来确诊和流行病学检测必须的。

关键词：结核；异烟肼；利福平；耐药；快速药敏试验

结核分枝杆菌传统的比例法、绝对浓度法或抗性比率法药敏试验都很复杂并且很耗时，使用最常用的罗氏培养基培养，从痰标本收集到报告结果的时间至少需要 6 周¹。在工业化国家，使用商品化的肉汤培养基为基础的快速药敏检测方法已经成为标准。随着耐多药结核病和广泛耐药结核病的出

现，在欠发达的低收入和中等收入国家结核病规划中，快速药敏试验的需求也越来越显著。中等收入国家有良好的基础设施，可靠的通信设备，较多的技术合格实验室和维护人员。尽管这些因素允许先进技术在中低收入国家得以广泛使用，但是似乎这些国家比低收入国家更加受到昂贵的后续成本的限

制，因为低收入国家往往可能得到资金捐助方的大量捐款，而对于维持性费用的担忧相对少些。目前已经出现各种变化多样的快速检测方法，根据我们的经验，国家结核病防治规划往往很难选择一个最适当的检测方法，本文旨在提供一些指导。

我们首先概括那些最重要的可选方法，而不去深入讨论最近发表文献的特别细节，并忽略那些报道很少、或似乎已经被放弃的方法。这些方法分为表型和基因型检测，除了从检测方法之间的关联上，我们还从结核病控制的远景方面讨论他们各自的优点。本文充分讨论了可以替代商品化系统的有效替代技术，讨论了同时获得快速且可靠的结果的困难，最后就国家结核病防治规划中，使用合适的快速药物敏感试验方法提出了我们的观点。

抗结核药物耐药性表型检测

表型药物敏感试验是基于药物对细菌繁殖或新陈代謝作用影响的检测，是与不暴露于药物作用的对照组进行对比。直接检测试验样本代谢的方法很快，预计在 1~2 d 内能够获得结果。生长为基础的药物敏感试验只能直接用痰进行快速检测，没有初期培养的必要性，并且使用更灵敏的生长监测而不是直接用肉眼观察。这可以通过显微镜观察菌落，或通过监测氧气消耗、放射性二氧化碳产量、结核分枝杆菌特殊酶的活性、或者培养瓶中大气压力的变化来实现。此外，可以使用液体培养基获得更快的培养生长。但是由于具有更高的污染以及产生气溶胶的风险，必须在二级生物学安全柜和 2~3 级的实验室中进行。

分枝杆菌生长指示管

手动和自动分枝杆菌生长指示管系统 (MGIT)，BACTEC™ MGIT960 (BD 诊断系统，Sparks, MD, USA) 是基于液体培养基的商业化检测，其最初的引进是用于分枝杆菌生长的快速检测。这是目前世界卫生组织推荐的唯一用于耐药监测的快速表型检测方法。几项研究评估了手动和自动模式对一线和二线抗结核药物的药敏试验，均取得良好结果^{2,3}。手动 MGIT 仍是一个很有趣的选择，对二线抗结核药物卡那霉素和氧氟沙星具有很好的结果^{4,5}。

自动 MGIT 要求很高。它非常灵敏，同时污染和非结核性分枝杆菌分离率也相应增加⁶。应该指出的是，在 BACTEC MGIT960 自动系统中，只有试管读数是自动的。准备、接种和鉴定的操作

程序与手动 MGIT 系统相同。由 BACTEC MGIT960 报告的阳性，必须经过抗酸染色显微镜检查证实，而且必须进行结核分枝杆菌复合群的快速鉴定。因此，全部的工作量并不低于使用传统的慢速的方法。BACTEC MGIT960 的一个缺点是需要连续的、稳定的电力供应来保证细菌培养器的温度恒定以及防止数据丢失，故通常需要一台备用发电机。技术支持和维修也是很重要的，一些价格昂贵的试剂到货后只有半年甚至更短的保质期。所以需要持续关注试剂供应的管理。

显微镜观察肉汤培养基—药物敏感性试验

显微镜观察肉汤培养基—药物敏感试验 (MODS) 是一种“室内”液体培养的方法，依赖于对索状生长（结核分枝杆菌生长特征）的观察⁷。将去污染处理的痰样本接种到 24 孔含有或不含抗结核药物的 7H9 液体培养基中，放入密封袋中。将这些培养板在二氧化碳环境中孵育，并且每天使用倒置显微镜观察，不进行固定或染色。已有对 MODS 一线抗结核药物的药敏试验的评估，在直接检测的大约 12 d 之后⁸，得到很好的结果，尤其是对“利福平”和“异烟肼”。对于乙胺丁醇和链霉素，有个异常的发现，与其他方法的一致性上稍微差强人意。MODS 的其他优点是比固体琼脂培养方法快速，比自动液体培养方法费用低。潜在的难题包括二氧化碳的补充、以及在接种和平板处理过程中预防污染和交叉污染的技术要求。除了在生物安全柜外进行 24 孔液体培养基操作带来的生物安全担忧以外，倒置显微镜也是必须的，这些因素可能会限制 MODS 的使用仅在参比实验室水平。单纯依赖于生长速度和未染色的微菌落形态学，可能会导致与非结核性分枝杆菌特别是龟分枝杆菌的混淆，尤其是在非结核分枝杆菌较为流行的环境和患者群中，例如在经过标准化一线药物治疗的老年患者和复发患者中。

玻片药物敏感试验

这可能最古老的药物敏感试验技术，在 1941 年引进的⁹。在液体培养基孵育大约 10 d 后，萁-尼氏法染色剂处理的痰涂片在 100 倍放大条件下观察微菌落的生长。关于这个方法的少数出版物一致认为是很好的方法，包括 Dickinson 和 Mitchison 的证实¹⁰⁻¹²。我们已经报道了玻片药物敏感试验在孟加拉共和国对于耐多药结核具有很高的预测性，并将这一方法用于耐多药结核标准化治疗管理¹³⁻¹⁴。

只有利福平,卡那霉素和一种氟喹诺酮药物连续进行了试验,加入 500 $\mu\text{g/ml}$ 对硝基苯甲酸对非结核性分枝杆菌病进行鉴别¹⁵。这个方法与 MODS 类似,但是对设备要求更少。这种方法同样很安全,更多的是在酸性涂片显微镜检查的水平操作¹⁶,因为它不涉及痰的强处理、密封很好、用结实的标准瓶代替开放的带孔培养板,开瓶之前将成熟的培养物高温杀死。对硝基苯甲酸鉴定和萘-尼式抗酸染色使它比 MODS 能更多地发现潜在的错误。因此玻片药物敏感试验适合推广使用,在孟加拉共和国相同项目中也证明了这种可能性。在我们实验室经过罗氏比例法培训后的六个月,评价了近 300 个常规测试的样本在 4 个实验室的结果,利福平敏感性在耐药预测值微 88% 时达到 93%,在非结核性分枝杆菌患病率微 24% 的条件下,从耐多药菌株中正确区分非结核性分枝杆菌的能力达 94%。(孟加拉国 达米恩基金会 未公布结果)

然而,玻片药物敏感试验原则上仅能应用与显微镜检查阳性或者轻微阳性的痰标本,而且需要丰富的经验才可能达到较高的准确性。质量保证是一个很大的挑战,因为无法使用对照菌株。

玻片药物敏感试验有希望获得对利福平耐药的早期的、非中心化的、易推广的诊断。如果附属属于一个耐多药结核治疗中心,它可以允许更加快速的管理决策,例如治疗开始和宣布失败,或广泛耐药的早期隔离。

微菌落方法

也被称为薄层琼脂法 (TLA),微菌落方法是在 Middlebrook 7H11/7H10 琼脂上完成的。它最初是为了使用传统的显微镜快速检测分枝杆菌微菌落,据报道它的检测敏感性完全比得上和 BAC-TEC™ MGIT 960¹⁷。Robledo 等人的研究中,评估了一种新的薄层琼脂法应用模式,可以直接对痰液样本同时诊断结核病与利福平和异烟肼耐药¹⁸。薄层琼脂法对于涂片阳性标本能够在 13 d 内检测耐多药结果,对涂阴标本需要 38 d,结果可与传统的药物敏感试验相媲美。然而,这项研究的样本量很少,需要更多的研究来确认此方法的准确性。

薄层琼脂法使用普通的标准显微镜,并具备其他优势诸如可以通过对硝基苯甲酸抑制和微菌落形态鉴别结核分枝杆菌的生长。固体培养基平板的操作方法非常简单,而且能够避免处理液体培养基的危险。单板薄层琼脂法快速而且简单,可以同时检测结核以及对利福平和异烟肼的耐药性,但是还需

要更多的评估。这种方法的缺点是需要反复使用显微镜观察培养板的工作量大、以及需要二氧化碳培养箱。

氧化还原指示剂比色方法

比色分析试验在含药和不含药的培养基中加入结核菌生长后氧气减少的指示剂。由于培养物生长导致的氧气消耗产生的颜色变化很容易通过视觉观察来解释。这种试验可以在微量滴定板或培养管中完成,在分离细菌后 8 d 之内检测出抗结核药物的最低抑菌浓度 (MICs)¹⁹。

各种氧化还原指示已经提出,使用阿尔玛蓝、3-(4,5-二甲基 噻唑-2-yl)-2,5-二甲基四唑溴化物 (MTT) 和刃天青产生最可靠和准确的结果²⁰。刃天青和二甲基四唑溴化物也被用于二线药物的药敏试验^{21,22}。在七个中等收入和低收入国家实验室中进行的一个涉及多学科研究中心的研究中,氧化还原指示剂的方法得出了很好的结果,对耐多药结核病检测的总体准确率达到 97%,最近在一项在全球范围内包括不同国家的 22 个研究的荟萃分析共同均证实了其高准确性²⁰。

氧化还原指示剂比色分析法不需要特殊的设备,能够在低收入国家内推广,并且其结果类似 MGIT 系统。MICs 的测定在对某种特定药物的耐药性方面可以提供更多信息。这种试验方法的另一个优点是能够在短时间内分离筛选大量菌株。在微量滴滴定板上使用液体培养基的生物安全问题是该方法的一个问题,可以通过使用密封培养管来降低风险。

硝酸盐还原酶测定

硝酸盐还原酶测定 (NRA) 是基于结核分枝杆菌将硝酸盐分解为亚硝酸盐,在 Griess 反应后经过视觉观察到红色,该方法早期用于结核分枝杆菌传统生化鉴定。在一个荟萃分析中,硝酸盐还原酶测定在对临床标本的异烟肼和利福平耐药性中显示了高的敏感性和特异性²³。在最近对一线药物和氧氟沙星耐药性检测评价中,该测定显示出与标准的比例法有很好的一致性²⁴。利福平和异烟肼药物敏感试验在中、低收入国家环境中均获得令人鼓舞的结果,直接针对痰样本的硝酸盐还原酶测定的第一个研究表明其具有很好的推广前景^{25,26}。硝酸盐还原酶测定方法最大的一个优点是它在标准的罗氏培养基中完成,这对结核实验室是非常熟悉的,不需要增加其他的设备,因而扩大了其应用范围。试

验结果非常容易通过颜色变化进行解释。因为试验是在固体培养基和密闭培养管中进行的，固生物安全不是问题。硝酸盐还原酶测定的一个局限是，它不能用于罕见的硝酸还原酶阴性的结核分枝杆菌菌株以及牛分枝杆菌。

基于分枝杆菌噬菌体的方法

分枝杆菌噬菌体在分枝杆菌内特异性感染和复制。已经提出了一些基于噬菌体的试验方法，通过检测噬菌体在暴露于药物的结核分枝杆菌内的复制来完成药敏试验。

商品化的 FASTPlaque 试验（生物技术实验室有限公司，伊普斯维奇，英国）是基于最初由 Wilson 等人描述的结核分枝杆菌快速药敏试验，快速生长的分枝杆菌通过噬菌体裂解形成噬菌斑孔洞²⁷。试验结果在两天之内就可以肉眼判读。几项关于 FASTPlaque 试验的研究评估和使用室内噬菌体方法对利福平的耐药性试验取得了不同的结果²⁸。最近的一项荟萃分析表明，目前使用噬菌体法的证据主要集中在从培养物中检测利福平耐药，其灵敏度高但特异度不稳定且略低²⁹。这些方法直接用于痰液标本时，缺乏准确性的证据。问题包括在一些研究中不能解释的假耐药、高污染率和不确定的结果。培养使用的设备依然是必需的。包含制真菌素、唑青霉素、氨曲南的抗菌补充物的新一代 FASTPlaque 试验，似乎能够降低污染，但是仍然需要更多证据证明³⁰。

荧光素酶报告噬菌体分析是的依赖感染的结核分枝杆菌在转寄因的噬菌体内包含荧光素酶基因，在存在的细胞三磷酸腺苷酸和底物荧光素的情况下可以产生光亮。这个试验只需要两天时间，而且上述荟萃分析研究报告，使用培养菌株的 7 个研究中，，敏感性为 100%，特异性 89%~100%²⁹。由于工程噬菌体和检测方式需要摄影胶片或光度计，这项技术没有在临床诊断实验室得到广泛推广，并且看起来更适合应用于有能力和专门技术的科研实验室。商品化产品的开发已经被放弃。

最近有关于荧光分枝杆菌噬菌体的描述³¹。这些工程噬菌体提供结核分枝杆菌一种噬菌体荧光标记基因，可以使用荧光显微镜或流式细胞仪进行检测。临床前评价表明，在不到一天时间内可同时增加利福平或链霉素和噬菌体药物敏感试验。荧光只在敏感菌株受抑制，而在耐药菌株即使经过多聚甲醛固定，仍能保持完整，从而保证更高的生物安全。现在对这种检测方法的有效性进行评价还言之

过早，尽管它看起来还是很有希望的。

耐药的基因型检测

分子或基因型的药物敏感试验依赖于鉴定导致耐药的杆菌基因组变异。最主要的问题是对一些药物的特异性突变还不是很清楚，这或许可以解释为什么对于证明表型耐药的菌株基因型检测经常失败，因为一些突变与耐药的因果关系尚不清楚³²⁻³⁴。此外，导致耐药的突变可能因为地理位置的不同而不同，可能与特定菌株的分布有关，例如，北京株或者广泛耐药结核病^{35,36}。根据我们的经验，一些罕见的突变在复发患者（重复）中发生频率高于治疗失败患者。我们对耐药的基因学知识也可能存在偏差。首先，几乎所有人口的研究都是在先经过了菌株表型药物敏感性试验的预选择。其次，对于表型药物敏感试验的临界点，是根据可能敏感株和可能耐药株种群之间的最明显差别点确定的，而对于药物的临床作用的预测不准确^{37,38}。就像 Mitchison 指出的那样，使用这种判别方法选择高耐药性的菌株可能会产生一些错误³⁹。对于利福平这样的药物，表型药敏试验的临界耐药点对于涵盖所有临床耐药来讲可能过高，其结果对治疗有明显的影响。这可能可以解释关于一些 *rpoB* 基因突变（例如，*leu511pro* 和 *leu533pro*）意义的矛盾观点⁴⁰⁻⁴²。关于比例法的最初描述建议检测第二个（低浓度）的利福平来提高精确度。其他药物的临界耐药浓度可能太低，正如异烟肼耐药和使用异烟肼的矛盾争论提示的那样，尽管存在 *inhA* 突变，但仍证明有临床活性⁴³。在乙胺丁醇这类药物中，在表型耐药的菌株中经常不能发现没有突变，在不同的实验室和方法之间经常看到差别很大的结果⁴⁴。乙胺丁醇和 amoxycyclavulanic acid 的协同作用已被报道，甚至在认为对乙胺丁醇耐药的菌株⁴⁵。在慢性患者菌株中用高临界浓度药敏试验选择的菌株，乙胺丁醇耐药相关 *embB* 突变被系统检测⁴⁶，然而对于其他菌株只有 30%~68% 的准确³³。

技术与必要条件

所有分子检测均始于样本中目标基因的提取和扩增。用于扩增后检测突变的方法已经经过反复评价⁴⁶⁻⁵⁰。

DNA 测序，能够直观的观察扩增目标 DNA 完整的核苷酸排序，可作为参考技术，因为它可提供最完整准确的信息。它经常可以识别野生/突变

混合株和多突变菌株。可以避免沉默突变引起的假耐药诊断。尽管具备 DNA 测序所必须的人员和设备的临床实验室不多，但参考或商品化服务都是可以获得的。

线性探针技术（LPA）尽管已经发展了大约 15 年⁵¹⁻⁵³，并以其快速、准确，相对低的技术要求和简易的标本运输等优势，成为世界卫生组织推荐的药敏试验方法，之后成为国家结核控制规划的热门话题。该项技术是基于从样本 DNA 扩增产物的反相杂交到固定在条带上的一系列到在 DNA 探针。探针与样本 DNA 结合，然后通过条带酶颜色反应显示为可见条带，并与提供的模板进行比较。最初的 INNO-LiPA Rif. TB（Innogenetics, Ghent, 比利时）只有四种突变和五种野生型的探针，包含四种最常见的突变和核心区第一簇结核分枝杆菌 *rpoB* 编码的全部野生型 DNA 序列。出现突变条带即可提供氨基酸水平的鉴定。而野生型条带的缺失表明被特殊条带覆盖区域的突变，不能提供有关其本质的准确信息。Geno Type MTBDR-plus kit（Hain Life-science, Nehren, 德国）检测同样的利福平突变。探针检测除了鉴定结核分枝杆菌外，还增加了最常见的异烟肼耐药位于 *katG* 和 *inhA* 启动子区域的相关突变的检测。最近一项关于 LiPA 的综述发现，大多数对于菌株的研究中 LIPA 的灵敏度和特异性超过 95% 和 100%⁵⁴。同时，我们的实验室也报告了大量的针对痰标本的试验，证实其结果与利福平表型药物敏感试验完全一致⁵³。最近关于从菌株和痰标本的 GenoType 的报告显示，两种药物的敏感性和特异性的显著变化，可能与不同的研究人群和/或金标准有关⁵⁵⁻⁵⁸。有趣的是，其灵敏度也取决于耐药谱，从耐多药结核中的接近 91%，到异烟肼/利福平单耐药的 56%/70%⁵⁹。一种新的线性探针检测，Geno Type MT-BDRs 1 检测，已经为乙胺丁醇和主要二线抗结核药物进行了研发。有关与 DNA 测序结果良好关联性的报道，与表型药敏试验比较，氧氟沙星灵敏度达到 89%，阿米卡星灵敏度达到 75%，对卷曲霉素灵敏度达到 87% 的，而对乙胺丁醇耐药只有 38% 的灵敏度⁶⁰。尚未评估卡那霉素和最新一代的氟喹诺酮耐药性，因此，本试验的临床作用尚不完全清楚。

Garcia de Viedma 综述，实时多聚合酶链反应（PCR）通过监测各种标记的探针的荧光增加，检测成功扩增的杂交信号⁴⁸。不同研究表明，尽管灵敏度低，合理设计的探针能够准确检测痰液和菌株

中的利福平耐药，同时也能检测异烟肼和氟喹诺酮类耐药⁶¹⁻⁶²。实时聚合酶链反应（PCR）主要的优点是单管系统，因为永远不需要再次打开试管，能够避免扩增 DNA 的交叉污染。所需设备远比线性探针检测（LPA）需要的设备昂贵，但并不特定应用于该试验，其应用在参比实验室中逐渐增加，即便是对于低收入国家也是如此。相比于该方法的良好表现，市场上试剂盒的价格更受到关注，已经出现了有关的报道⁶³。

已经研发出几种检测结核病耐药基因芯片（DNA 生物芯片）的试剂盒。该项技术依赖于扩增的荧光标记的靶 DNA 结合到一系列寡核苷酸探针，后者固定在准确定位的聚丙烯酰胺凝胶垫或玻璃载体的点上。荧光取决于探针和样品 DNA 之间的同源性程度，从而可以通过比较在芯片不同位置上，探针荧光强度与野生型探针的不同来鉴定突变。这种模式允许同时检测多种药物的耐药性，也可以检测临床样本。已经有几种芯片商品化，主要是针对利福平和异烟肼。到目前为止，评估报告仍旧很少，并且不总是令人满意。主要的问题似乎是完全覆盖所有可能的突变，这也可能因环境不同而不同^{64,65}。

其他检测系统也在被使用。除了价格因素以外，使用高效液相色谱分析（HPLC）检测变性聚合酶链反应（PCR）产物已经被描述为理想的高通量筛选的方法⁴⁰。关于利福平药物敏感性试验的第一份报告显示了令人鼓舞的结果。敏感度还可以进一步改进，而考虑到所有 *leu511pro* 突变造成的假耐药，该方法的特异性可能被低估了。主要的障碍是昂贵的高效液相色谱分析设备，这是在细菌学实验室很少有的。

基因型检测的优点和缺点

对于所有药物敏感试验方法，基因型技术能够最快地提供结果，可能只需要几个小时的时间。然而，良好的后勤保障对于实现快速诊断至关重要。标本不需要含有活的杆菌，这使得运输更安全，并且能保证药物敏感试验的敏感性。虽然是高科技，这些方法也可以非常容易获得。灭活的标本很容易使用便宜的、一次性的包装材料以普通邮递方式运输。

线性探针检测需要的基础设施、设备和培训相对简单，即使在低收入国家，结核病参比实验室都能够满足条件，而需要较高技术或者设备的分子检测可能在学术或者商业机构进行。只有 DNA 提取

应该在 2 级实验室完成，所需的设备和技术并非只特异性地针对结核病。尽管需要适当的试剂或者试剂盒，一般分子实验室可以很轻松的进行灭活后结核菌样本或者 DNA 样本提取物的常规检测。如果有一个运作良好的参比和反馈系统，这种自动化的中央设施可以服务一个非常大的区域。主要障碍可能仍然是大多数测试中高昂的重复发生的费用。

基因型的测试主要风险是大规模交叉污染，因此要求分离工作区、精确的技术、严格的内部控制和特殊的预防技术^{66,67}。这些要求可能会限制一些不够成熟的试验的非中心化推广使用，例如线性探针检测 (LPA)，和分子灯塔技术比较，缺乏固定的预防机制。分子药物敏感试验失败的原因可能是由于临床样本中存在聚合酶抑制剂、或样本含菌量少或者样本涂片阴性。然而，对于耐药性检测，这些方法敏感性低的缺点可能被该方法可以忽略不计污染率或不生长率所抵消，后两者是表型药敏试验常见的失败原因。Barnard 和同事们报道对涂片阳性的标本使用分子检测的成功率为 97%，而使用表型药物敏感试验检测的成功率为 87%⁵⁵。基因型药敏试验可能会出现假敏感结果，因为已知的突变不能覆盖全部的表型耐药。此外，利福平的覆盖范围不全面，只有 rpoB 核心区域的第一簇是常规检查的靶位，而第二簇、第三簇和在其他突变也可能与利福平的耐药性相关⁶⁸。导致基因型药物敏感试验错误的不常见原因包括混合菌株（野生菌/突发突变/多突变菌）、沉默突变即只有核苷酸的变化而没有氨基酸的变化、还取决于所使用的技术。总的来说，对于多数可靠的技术和药物（利福平），这些来源的错误可能说明了 5% 假敏感和 1% 假耐药性的结果。

耐药性检测：快速还是可靠？

结核药物耐药性检测是否能够既快速又高度准确？这是一个问题。利福平的基因型药物敏感试验可能比快速表型检测方法精确。除了已经提出的对传统方法临界耐药界限的怀疑，一些突变只有达到适应成本并且生长不良的情况下才显现⁶⁹。尤其，如果它们不是高耐药，在药物中的生长可能很难显示出来。根据我们的经验，即使是对利福平或者异烟肼，并且是经过在罗氏培养基上孵育 6 周后，特需要经过重复测试并使用高 10 倍或 100 倍的接种物才可能显现菌株的真正特性。尽管这对于所有快速药敏试验是正确的，但当生长较少不能触发可以识别的检测信号时具有更大的危险（例如，比色分

析法检测）。此外，相对灵活的、自动化的技术，例如 MGIT 似乎更容易漏掉这些菌株⁷⁰。也有人建议在 9 个跨国参比实验室之间进行对比研究，对包含 12 个承载这些突变的菌株平板使用各种不同的标准方法检测⁷¹。所有的检测通过 BACTEC (MGIT 或者辐射测量) 都是敏感的，除了一种或者两种在罗氏和琼脂培养基上的比例法是耐药的。在国家参比实验室，同一平板的菌株通过 Alamar 蓝比色分析和 MODS 技术检测都一致是敏感的。(M Joloba, 个人交流) 虽然通常认为非常少见，在跨国参比实验室平板上错过的仅仅 3 个突变 (leu511pro, his526leu and leu-533pro) 在香港系统样本检测中达到 22% 的 rpoB 突变⁴⁰。关于他们的频率和临床重要性有待进一步的研究，明智的做法是不将这些菌株与对利福平完全敏感菌株混合起来。

结核病控制的快速药物敏感试验

国家结核病防治规划开展药敏试验用于耐药性监测和耐多药结核病的管理（表）。速度慢、可能更准确、成本较低的传统方法更适合用于监测。在对第一次复治的患者进行连续的耐药监测的同时，也可以对一些耐多药结核病提供早期诊断。

快速药物敏感试验有助于进一步减少治疗延迟，但是基于临床和涂片依据的最佳的指征和时机仍然是非常重要的。这可能是两方面的问题。长期过分强调涂片阴转和治愈的目标、缺乏有组织的耐多药结核治疗以及忽视常规的抗酸杆菌显微镜检查质量保证，不能检测出较晚的阴转和治疗失败。这种情况不要引入快速药物敏感试验，而应优先考虑加强正确的教育培训和督导。相反，如果显微镜检查质量很好，加上晚期检测排除死菌，可能使快速药敏试验不那么有效，尤其在低耐多药结核病的情况下。在这种情况下，使用乙酰乙酸荧光素染色预筛选（食品药品监督管理局）可能提供一种解决方案。14 进一步确认是必要的，但是到目前为止，这种技术已被罗氏培养和玻片药敏试验高度评价。该技术要求很少，随着荧光发光二极管显微镜的出现，美国食品及药物管理局冻存的一些敏感试剂可能是限制该技术广泛使用的主要原因。

国家规划应该选择什么样的快速药敏试验方法？需要考虑的因素应该适合当地的情况，包括初次投入以及重复花费及其维护、获得结果的时间，预测值的可靠性、以及将来集中或者推广使用的可及性。

表 不同环境药物敏感试验的可能指标和策略

指标	取样对象和方法	检测药物种类	环境
国家规划评价	连续抽样，只对初次复治患者	利福平（异烟肼）	低收入国家
国家规划评价＋标准耐多药结核病管理	连续抽样，针对所有的复治患者	利福平、异烟肼、氧氟沙星、卡那霉素	低和某些中等收入国家
监测＋国家规划评价＋个体化的耐多药管理	新涂阳患者的定期监测＋所有复治患者的连续抽样	利福平、异烟肼、乙胺丁醇、链霉素、氧氟沙星，卡那霉素（吡嗪酰胺）	中等收入国家
法定＋监测＋个体化管理	所有的患者	所有药物	发达国家

类似 MGIT 和分子技术等方法，需要的人力、设备和基础设施（主要是安全等级和可靠的电力供应）超过发展国家的一般水平，只可以在少数示范中心使用。如果不是仅对少量样本进行分析，那么昂贵、敏感的设备 and 辅助材料产生的持续的高昂花费也将成为问题。

一旦没有捐助经费，即使中等收入国家也会发现只有富人才能支付这些检查。基因型药敏试验，由于其标本运输简单、适合大批量操作、检测成本低（例如样本，通过变性 dHPLC）等优势，可以平衡有关“高科技”的异议，可以在少数参比机构中应用。良好的机构、后勤保证和交流始终是耐药结核病管理的必要部分，而长距离的标本运送、以及结果反馈的及时性可能产生新的挑战。

依赖于细菌生长的方法比基于代谢和基因型的方法慢。基于生长的药敏试验方法报告速度有 1～2 周的差别，但这一差别对从首次确认可疑者到耐多药结核病治疗开始之间的总体延迟相关性不大。这种方法存在由于菌落生长不良而报告错误结果的风险，可能产生错误的导向。非常快的、直接溶菌噬菌体药敏试验似乎失败率很高，而大多数基因型检测方法并不是这样，这些方法与活力和生长问题相关性不大。

药敏试验的预测值很大程度上依赖于利福平（或者二线药物）耐药的流行率，在世界的大部分地方依旧较低。对于随机调查来讲，药敏试验的高特异性和敏感性非常重要，而慢速、传统的方法可能是最适合的。然而，对于耐多药结核病的管理，使用快速诊断筛查可疑者，减低危险菌株的传播是最重要的。耐药率的提高可能与预筛选的标准有关。由于没有任何技术是 100% 准确的，具有高敏感性、明确切点的、不低估利福平耐药的快速诊断方法可能是最好的选择。所有基于生长的表型药敏试验具有漏掉生长不良的耐多药菌株的风险，但是这可能比玻片药敏试验的风险小，因为玻片药敏试验即使对于少量的细菌也是依赖于视觉观察。

适合推广使用的敏感方法应该达到理想的覆盖。理想的方法应该也是安全的、简单的和有效的。尽管关于本文描述的几个技术的多中心评价和验证研究的相关报道发表了很多，然而在实际使用中的情况的报道很少。之前的一些方法在此讨论较少，因为使用平板方法（比色法药敏试验、MODS），需要更高水平的安全性。而任何对于菌株和液体培养物的间接药敏试验，需对活菌培养物进一步操作，均需要生物安全 2～3 级水平的实验室。只有 NRA 和玻片药敏试验对生物安全的要求低，便于推广使用²⁶。基于可见生长物观察的快速表型方法更加健全，因此比使用其他生长检测技术更适合推广。

在实际中，往往不只需要一种方法。快速表型药敏试验可能只能在部分人群中实行，可以运输标本进行基因型检测作为补充。除了对快速、相对易出错的试验加强质量保证外，慢速的、传统的表型药物敏感试验应该继续用于流行病学监测。

（徐彩红 译 刘宇红 审校）
（本文编辑：张晓进）

References

1 Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mitchison DA, Rist N, Smelev NA. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. Bull World Health Organ 1969; 41: 21–43.

2 Palomino JC, Martin A, Von Groll A, Portaels F. Rapid culturebased methods for drug-resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*. J Microbiol Methods 2008; 75: 161–166.

3 Piersimoni C, Olivieri A, Benacchio L, Scarparo C. Current perspective of drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated nonradiometric system. J Clin Microbiol 2006; 44: 20–28.

4 Bastian I, Rigouts L, Palomino JC, Portaels F. Kanamycin susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* using Mycobacterium Growth Indicator Tube and colorimetric method. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1934–1936.

5 Martin A, Von Groll A, Fissette K, Palomino JC, Varaine F, Portaels F. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to second-line drugs by use of the manual Mycobacterium Growth Indicator Tube System. J Clin

- Microbiol 2008;46: 3952—3956.
- 6 Anthony RM, Cobelens FGJ, Gebhard A, et al. Liquid culture for *Mycobacterium tuberculosis*: proceed, but with caution. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13: 1051—1053.
- 7 Caviedes L, Lee TS, Gilman RH, et al. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by microscopic observation of broth cultures. J Clin Microbiol 2000; 38: 1203—1208.
- 8 Moore DAJ, Evans CAW, Gilman RH, et al. Microscopic observation drug-susceptibility assay for the diagnosis of TB. N Engl J Med 2006; 355: 1539—1550.
- 9 Bernard E, Kreis B. Microculture sur lames du bacille de Koch dans le sang humain. Utilisation du sang conservé pour déterminer la streptomycine-résistance. Ann Inst Pasteur 1949; 77: 653—656.
- 10 Dickinson JM, Allen BW, Mitchison DA. Slide culture sensitivity tests. Tubercle 1989; 70: 115—121.
- 11 Dissmann E. The slide-culture as a rapid method for determination of the resistance of tubercle bacilli to chemotherapeutic agents. Bull Int Union Tuberc 1961; 31: 79—84.
- 12 Purohit SD, Gupta ML, Chauhan A, Nanavati V. A new medium for rapid slide culture of tubercle bacilli. Indian J Pathol Microbiol 1993; 36: 370—375.
- 13 Van Deun A, Hamid Salim MA, Kumar Das AP, Bastian I, Portaels F. Results of a standardised regimen for multidrug-resistant tuberculosis in Bangladesh. Int J Tuberc Lung Dis 2004; 8: 560—567.
- 14 Hamid Salim A, Aung KJM, Hossain MA, Van Deun A. Early and rapid microscopy-based diagnosis of true treatment failure and MDR-TB. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 1248—1254.
- 15 Giampaglia CMS, Martins MC, Chimara E, et al. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* from other mycobacteria with p-nitrobenzoic acid using MGIT960. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11: 803—807.
- 16 Kim SJ, Lee SH, Kim IS, Kim HJ, Kim SK, Rieder HL. Risk of occupational tuberculosis in National Tuberculosis Programme laboratories in Korea. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11: 138—142.
- 17 Martin A, Fissette K, Varaine F, Portaels F, Palomino JC. Thin layer agar compared to BACTEC MGIT 960 for early detection of *Mycobacterium tuberculosis*. J Microbiol Methods 2009; 78: 107—108.
- 18 Robledo J, Mejia GI, Paniagua L, Martin A, Guzmán A. Rapid detection of rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* by the direct thin-layer agar method. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 1482—1484.
- 19 Franzblau SG, Witzig RS, McLaughlin JC, et al. Rapid, low technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay. J Clin Microbiol 1998; 36: 362—366.
- 20 Martin A, Portaels F, Palomino JC. Colorimetric redox-indicator methods for the rapid detection of multidrug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 175—183.
- 21 Morcillo N, Di Giulio B, Testani B, Pontino M, Chirico C, Dolmann A. A microplate indicator-based method for determining the susceptibility of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* to antimicrobial agents. Int J Tuberc Lung Dis 2004; 8: 253—259.
- 22 Martin A, Camacho M, Portaels F, Palomino JC. Resazurin microtiter assay plate testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibilities to second-line drugs: rapid, simple, and inexpensive method. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3616—3619.
- 23 Martin A, Panaiotov S, Portaels F, Hoffner S, Palomino JC, Ångeby K. The nitrate reductase assay for the rapid detection of multidrug resistant *M. tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2008; 62: 56—65.
- 24 Martin A, Palomino JC, Portaels F. Rapid detection of off oxacin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* by two low-cost colorimetric methods: resazurin and nitrate reductase assays. J Clin Microbiol 2005; 43: 1612—1616.
- 25 Shikama ML, Ferro e Silva R, Villela G, et al. Multi-centre study of nitrate reductase assay for rapid detection of rifampicin-resistant *M. tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13: 377—380.
- 26 Asencios L, Yale G, Yagui M, et al. Programmatic implementation of rapid DST for *Mycobacterium tuberculosis* in Peru. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 743—749.
- 27 Wilson SM, Al-Suwaidi Z, McNerney R, Porter J, Drobniewski F. Evaluation of a new rapid bacteriophage-based method for the drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. Nature Med 1997; 3: 465—468.
- 28 Albert H, Heydenrych A, Mole R, Trollip A, Blumberg L. Evaluation of FASTPlaqueTB-RIFTM, a rapid, manual test for the determination of rifampicin resistance from *Mycobacterium tuberculosis* cultures. Int J Tuberc Lung Dis 2001; 5: 906—911.
- 29 Pai M, Kalantri S, Pascopella L, Riley LW, Reingold AL. Bacteriophage-based assays for the rapid detection of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a meta-analysis. J Infection 2005; 51: 175—187.
- 30 Mole R, Trollip A, Abrahams C, Bosman M, Albert H. Improved contamination control for a rapid phage-based rifampicin resistance test for *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol 2007; 56: 1334—1339.
- 31 Piuri M, Jacobs WR, Hatfull GF. Fluoromycobacteriophages for rapid, specific, and sensitive antibiotic susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One 2009; 4: 4870.
- 32 Ramaswami S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. Tubercle Lung Dis 1998; 79: 3—29.
- 33 Zhang Y, Telenti A. Genetics of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. In: Hatfull G F, Jacobs W R, Jr, eds, Molecular genetics of mycobacteria. Washington DC, USA: ASM Press, 2000; pp 235—254.
- 34 Sandgren A, Strong M, Muthukrishnan P, Weiner BK, Church GM, Murray MB. Tuberculosis drug resistance mutation database. PLoS Med 2009; 6: e2.
- 35 Hillemann D, Kubica T, Rüsche-Gerdes S, Niemann S. Disequilibrium in distribution of resistance mutations among *Mycobacterium tuberculosis* Beijing and non-Beijing strains isolated from patients in Germany. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1229—1231.
- 36 Ano H, Matsumoto T, Suetake T, et al. Relationship between the isoniazid-resistant mutation katGS315T and the prevalence of MDR-/XDR-TB in Osaka, Japan. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 1300—1305.
- 37 Mitchison DA. What is drug resistance? Tubercle 1969; 50(Suppl): S44—S47.
- 38 Mitchison DA. Drug resistance in tuberculosis. Eur Respir J 2005; 25: 376—379. Rapid and reliable DST 139
- 39 Mitchison DA. Standardisation of sensitivity tests (Correspondence). Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2: 69.
- 40 Yip CW, Leung KL, Wong D, et al. Denaturing HPLC for high-throughput screening of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 625—630.
- 41 Ohno H, Koga H, Kohno S, Tashiro T, Hara K. Relationship between rifampin MICs and rpoB mutations of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 1053—1056.
- 42 Moghazeh SL, Pan X, Arain T, Stover CK, Musser JM, Kreiswirth BN. Comparative antimycobacterial activities of rifampin, rifapentine, and KRM-1648 against a collection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates with known rpoB mutations. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 2655—2657.
- 43 Frieden TR, Fine Sherman L, Maw KL, et al. A multi-

- institutional outbreak of highly drug-resistant tuberculosis. *JAMA* 1996; 276: 1229–1235.
- 44 Madison B, Robinson-Dunn B, George I, et al. Multi-center evaluation of ethambutol susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by agar proportion and radio-metric methods. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3976–3979.
 - 45 Abate G, Miörner H. Susceptibility of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* to amoxycillin in combination with clavulanic acid and ethambutol. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 735–740.
 - 46 Umubyeyi AN, Shamputa IC, Rigouts L, et al. Molecular investigation of recurrent tuberculosis in patients from Rwanda. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 860–867.
 - 47 Palomino JC. Molecular detection, identification and drug resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 56: 103–111.
 - 48 Garcia de Viedma D. Rapid detection of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a review discussing molecular approaches. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 349–359.
 - 49 Pai M, Kalantri S, Dheda K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part II. Active tuberculosis and drug resistance. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6: 423–432.
 - 50 Shamputa IC, Rigouts L, Portaels F. Molecular genetic methods for diagnosis and antibiotic resistance detection of mycobacteria from clinical specimens. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 2004; 112: 728–752.
 - 51 De Beenhouwer H, Lhiang Z, Jannes G, et al. Rapid detection of rifampicin resistance in sputum and biopsy specimens from tuberculosis patients by PCR and line probe assay. *Tubercle Lung Dis* 1995; 76: 425–430.
 - 52 Traore H, Fissette K, Bastian I, Devleeschouwer M, Portaels F. Detection of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from diverse countries by a commercial line probe assay as an initial indicator of multidrug resistance. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 481–484.
 - 53 Traore H, Van Deun A, Chola Shamputa I, Rigouts L, Portaels F. Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA and rifampin resistance in clinical specimens from tuberculosis patients by line probe assay. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 4384–4388.
 - 54 Morgan M, Kalantri S, Flores L, Pai M. A commercial line probe assay for the rapid detection of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and metaanalysis. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 62.
 - 55 Barnard M, Albert H, Coetzee G, O'Brien R, Bosman ME. Rapid molecular screening for multidrug-resistant tuberculosis in a high-volume public health laboratory in South Africa. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 787–792.
 - 56 Hillemann D, Rüsche-Gerdes S, Richter E. Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for rifampicin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2635–2640.
 - 57 Brossier F, Veziris N, Truffot-Pernot C, Jarlier V, Sougakoff W. Performance of the genotype MTBDR line probe assay for detection of resistance to rifampin and isoniazid in strains of *Mycobacterium tuberculosis* with low- and high-level resistance. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3659–3664.
 - 58 Balabanova Y, Drobniewski F, Nikolayevsky V, et al. An integrated approach to rapid diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance using liquid culture and molecular methods in Russia. *PLoS One* 2009; 4: e7129.
 - 59 Evans J, Stead MC, Nicol MP, Segal H. Rapid genotypic assays to identify drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in South Africa. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 11–16.
 - 60 Hillemann D, Rüsche-Gerdes S, Richter E. Feasibility of the Geno Type? MTBDRsl Assay for fluoroquinolone, amikacin/capreomycin, and ethambutol resistance testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1767–1772.
 - 61 Lin SYG, Probert W, Lo M, Desmond E. Rapid detection of isoniazid and rifampin resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex from cultures or smear-positive sputa by use of molecular beacons. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4204–4208.
 - 62 van Doorn HR, An DD, de Jong MD, et al. Fluoroquinolone resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis* with locked nucleic acid probe real-time PCR. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12: 736–742.
 - 63 Helb D, Jones M, Story E, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin-resistance using on-demand, near patient technology. *J Clin Microbiol* 2009. (epub ahead of print)
 - 64 Caoili JC, Mayorova A, Sikes D, Hickman L, Plikaytis BB, Shinnick T. Evaluation of the TB-biochip oligonucleotide microarray system for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2378–2381.
 - 65 Shimizu Y, Dobashi K, Yoshikawa Y, et al. Five anti-tuberculosis drug-resistance genes detection using array system. *J Clin Biochem Nutr* 2008; 42: 228–234.
 - 66 Noordhoek GT, Kolk AHJ, Bjuene G, et al. Sensitivity and specificity of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*: a blind comparison study among seven laboratories. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 277–284.
 - 67 Noordhoek GT, Mulder S, Wallace P, van Loon AM. Multicenter quality control study for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by nucleic amplification methods. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 295–301.
 - 68 Heep M, Rieger U, Beck D, Lehn N. Mutations in the beginning of the rpoB gene can induce resistance to rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1075–1077.
 - 69 Gagneux S, Davis Long C, Small PM, Van T, Schoolnik GK, Bohannon BJM. The competitive cost of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 2006; 312: 1944–1946.
 - 70 Traore H, Ogbwang S, Mallard K, et al. Low-cost rapid detection of rifampicin resistant tuberculosis using bacteriophage in Kampala, Uganda. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2007; 6: 1.
 - 71 Van Deun A, Barrera L, Bastian I, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains with highly discordant rifampin susceptibility test results. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3501–3506.