

# 耐药肺结核患者的耐药特征及其外周血 T 淋巴细胞亚群检测分析

卢作民\*

(南宁市第四人民医院, 南宁 530001)

**摘要:目的** 分析耐药肺结核患者耐药特征及外周血 T 淋巴细胞亚群的检测。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2024 年 10 月肺结核患者 320 例, 采集其外周血, 分析对结核杆菌耐药、非耐药及不同耐药类型患者间  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  淋巴细胞计数及  $CD_4^+/CD_8^+$  差异。**结果** 非耐药及异烟肼、利福平、乙胺丁醇、异烟肼 + 利福平耐药分别为 58 例 (18.13%)、80 例 (25.00%)、74 例 (23.13%)、29 例 (9.38%)、79 例 (24.69%); 各组患者性别、年龄及复发率差异无统计学意义。非耐药组初诊患者占比高于异烟肼、利福平和异烟肼 + 利福平组 ( $P < 0.05$ ), 合并感染率低于利福平、乙胺丁醇组 ( $P < 0.05$ ); 乙胺丁醇耐药组合并感染率高于异烟肼和异烟肼 + 利福平组 ( $P < 0.05$ ); 与非耐药组比较, 耐药组  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  T 细胞计数及  $CD_4^+/CD_8^+$  降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与异烟肼组比较, 异烟肼 + 利福平组  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$  T 细胞计数均降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论** 耐药性肺结核患者的免疫功能较非耐药患者明显下降, 且多重耐药对免疫抑制的影响更显著。

**关键词:** 肺结核; 耐药特征; T 淋巴细胞亚群; 异烟肼; 利福平; 乙胺丁醇

## 0 引言

肺结核是由结核分枝杆菌感染引起的一种慢性传染性疾病。随着抗结核药物的广泛使用和诊疗技术的不断进步, 肺结核的发病率在部分地区有所下降, 但耐药性肺结核的流行日益严重。多药耐药结核和广泛耐药结核的出现, 导致肺结核的治疗周期延长、治愈率下降<sup>[1-2]</sup>。外周血 T 淋巴细胞亚群, 尤其是  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$  和  $CD_8^+$  T 细胞, 是反映机体细胞免疫状态的核心指标之一, 在抗结核感染中具有重要作用<sup>[3]</sup>。已有研究表明, 耐药性肺结核患者的免疫功能可能较非耐药患者存在更明显的紊乱, 但针对不同耐药特征患者免疫状态的差异性分析仍需进一步研究<sup>[4]</sup>。本研究拟对 320 例肺结核患者进行耐药特征分析, 同时检测其外周血 T 淋巴细胞亚群, 探索耐药性肺结核患者的免疫功能变化, 以期对耐药性肺结核的诊疗和预后评估提供科学依据, 并为优化治疗策略提供数据支持。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2024 年 10 月我院收治的肺结核

患者 320 例, 男性患者 245 例, 女性患者 75 例, 年龄 16~91 岁, 平均(52.33±15.97)岁。纳入标准: ①符合肺结核诊断标准, 抗酸杆菌镜检阳性, 影像学检查可见活动型肺结核影像学特征<sup>[5]</sup>。②痰培养临床分离菌株均进行药敏实验。③患者对本研究知情同意。排除标准: ①合并恶性肿瘤或心、肝、肾功能不全; ②合并其他感染性疾病; ③近 3 月有免疫抑制剂治疗史; ④妊娠、哺乳期妇女。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 耐药性分析

采集患者的痰、灌洗液、胸腹水等样本立即送检, 进行结核分枝杆菌分离培养, 采用质谱法鉴定结核分枝杆菌复合群, 对鉴定结果为阳性的菌株进行药敏实验, 采用微孔板微量肉汤稀释法测结核分枝杆菌复合群耐药性<sup>[6]</sup>。将异烟肼、利福平、乙胺丁醇分别用 7H9 肉汤培养基(含 10% OADC 生长添加剂)稀释至最大工作浓度, 随后在 96 孔板上进行倍比稀释, 每孔 100  $\mu$ L。在每孔中加入 100  $\mu$ L 的菌悬液(1 麦氏浊度, 含 10% OADC 生长添加剂的 7H9 肉汤培养基 20 倍稀释), 37  $^{\circ}$ C, 5%  $CO_2$  培养 14 d, 观察最小抑菌浓度(MIC)。异烟肼、利

基金项目: 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z-A20221218)。

\* 通信作者: 卢作民, 副主任技师, 研究方向为微生物检验。E-mail: 335757276@qq.com

福平、乙胺丁醇的浓度范围分别为 0.025~25.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.125~128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.2~204.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，耐药临界值分别为 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

### 1.2.2 外周血 T 淋巴细胞亚群检测分析

用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管采集患者静脉血，采用流式细胞术检测外周血 T 淋巴细胞亚群<sup>[7]</sup>。在外周血中加入荧光素标记抗体，室温避光孵育 20 min，在流式细胞仪上检测  $\text{CD}_3^+$ 、 $\text{CD}_4^+$ 、 $\text{CD}_8^+$  T 细胞计数，并计算  $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 。

### 1.3 统计学方法

统计学分析采用 SPSS 25.0 软件，符合正态性检验的计量资料用  $(\bar{x} \pm s)$  表示，多组间比较用单因素方差分析，两两比较用 LSD-*t* 检验，不符合正态性检验的计量资料用  $M(P_{25}, P_{75})$  表示，两组间比较用 Mann-Whitney 检验，多组间比较用 Kruskal-Wallis 检验，计数资料用  $n(\%)$  表示，组间比较用  $\chi^2$  检验， $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 肺结核患者耐药情况

在 320 例肺结核患者中，非耐药患者 58 例(18.13%)，

异烟肼耐药 80 例(25.00%)，利福平耐药 74 例(23.13%)，乙胺丁醇耐药 29 例(9.38%)，异烟肼 + 利福平耐药 79 例(24.69%)。据此分为 5 组。

### 2.2 肺结核患者一般资料分析

5 组肺结核患者性别、年龄及复发率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )，非耐药组初诊患者占比高于异烟肼组、利福平组和异烟肼 + 利福平组( $P < 0.05$ )。非耐药组初诊患者合并感染率低于利福平组、乙胺丁醇组( $P < 0.05$ )，乙胺丁醇组合并感染率高于异烟肼组和异烟肼 + 利福平组( $P < 0.05$ )，以上与乙胺丁醇组比较，差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )，见表 1。

### 2.3 肺结核患者外周血 T 淋巴细胞亚群分析结果

与非耐药组比较，耐药组患者  $\text{CD}_3^+$ 、 $\text{CD}_4^+$ 、 $\text{CD}_8^+$  T 细胞计数及  $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$  降低，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )，见表 2。

### 2.4 耐药肺结核患者外周血 T 淋巴细胞亚群分析结果

与异烟肼组比较，异烟肼 + 利福平组者  $\text{CD}_3^+$ 、 $\text{CD}_4^+$  T 细胞计数均降低，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )，见表 3。

表 1 肺结核患者一般资料

组别	<i>n</i>	男/女	年龄/岁	初诊 <i>n</i> (%)	复发 <i>n</i> (%)	合并感染 <i>n</i> (%)
非耐药组	58	48/10	51.48±16.82	45(77.59)	4(6.90)	9(15.79)
异烟肼组	80	55/25	55.76±15.83	43(53.75)*	9(11.25)	21(26.25)#
利福平组	74	57/17	50.18±15.97	42(56.76)*	5(6.76)	23(31.08)*
乙胺丁醇组	29	21/8	55.87±12.68	17(58.62)	1(3.45)	15(51.72)*
异烟肼 + 利福平组	79	64/15	50.15±16.14	41(51.90)*	8(10.13)	18(22.78)#

注：与非耐药组比较，\* $P < 0.05$ ；与乙胺丁醇组比较，# $P < 0.05$ 。

表 2 肺结核患者外周血 T 淋巴细胞亚群分析结果

组别	<i>n</i>	$\text{CD}_3^+$ (个/mL)	$\text{CD}_4^+$ (个/mL)	$\text{CD}_8^+$ (个/mL)	$\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$
非耐药组	58	1023.00(745.75, 1405.50)	667.00(510.00, 919.00)	350.00(221.75, 474.00)	1.72(1.43, 2.48)
耐药组	262	785.00(579.00, 1007.00)	451.00(343.00, 612.00)*	300.00(199.00, 392.00)	1.61(1.12, 2.07)*

注：与非耐药组比较，\* $P < 0.05$ 。

表 3 耐药肺结核患者外周血 T 淋巴细胞亚群分析结果

组别	<i>n</i>	$\text{CD}_3^+$ (个/mL)	$\text{CD}_4^+$ (个/mL)	$\text{CD}_8^+$ (个/mL)	$\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$
异烟肼组	80	851.50(683.25, 1162.50)*	520.00(385.25, 710.25)*	304.00(224.00, 423.00)	1.74(1.36, 2.15)
利福平组	74	767.00(569.00, 1002.00)	458.50(361.00, 606.00)	313.50(193.50, 327.50)	1.67(1.10, 2.16)
乙胺丁醇组	29	842.50(570.00, 1179.25)	460.00(343.00, 624.00)	327.50(198.75, 473.25)	1.35(1.01, 1.90)
异烟肼 + 利福平组	79	667.00(510.00, 919.00)	393.00(237.00, 504.00)	265.00(198.00, 370.00)	1.50(0.91, 1.95)

注：与异烟肼 + 利福平组比较，\* $P < 0.05$ 。

## 3 讨论与结论

本研究，在 320 例肺结核患者中，非耐药患者 58 例(18.13%)，异烟肼耐药 80 例(25.00%)，利福平耐药 74 例

(23.13%)，乙胺丁醇耐药 29 例(9.38%)，异烟肼 + 利福平耐药 79 例(24.69%)，与徐静等<sup>[8]</sup>报道的肺结核高危耐药人群的耐药结果相近，表明当前肺结核耐药形势较为严峻。本研究还发现，非耐药患者的初诊比例显著高于耐药

组, 乙胺丁醇耐药患者合并感染率最高。周欢等<sup>[9]</sup>发现合并人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的肺结核患者的初始耐药比例更高, 与本研究结果相近。本研究发现, 非耐药患者的初诊率较高, 可能与初诊患者尚未经抗结核治疗, 且多为社区性感染, 菌株对抗结核药物敏感性更高相关。乙胺丁醇耐药患者可能病程较长, 且多次接受抗结核治疗, 治疗期间机体免疫能力降低, 增加合并感染的风险。

T淋巴细胞在结核感染的免疫应答中起关键作用,  $CD_3^+$  T细胞是所有T细胞的标志性细胞群,  $CD_4^+$  T细胞通过分泌干扰素- $\gamma$ 等细胞因子, 激活巨噬细胞并抑制结核分枝杆菌的复制,  $CD_8^+$  T细胞则可通过细胞毒性效应直接杀伤感染细胞<sup>[10]</sup>。在本研究中, 与非耐药患者相比, 耐药性肺结核患者的 $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$ 和 $CD_8^+$  T细胞计数以及 $CD_4^+/CD_8^+$ 比值显著降低, 这表明耐药肺结核患者的机体免疫功能降低。分析认为, 耐药性肺结核持续的病原刺激可能导致免疫系统过度激活, 从而引起免疫细胞的耗竭<sup>[11]</sup>。此外, 耐药性肺结核的病程往往较长, 慢性炎症状态可能通过分泌炎症因子抑制T细胞活性, 导致免疫状态持续恶化。及时诊断和规范治疗是保护机体免疫功能的重要因素。非耐药患者的菌株对抗结核药物敏感, 或病程较短、病情较轻, 在一定程度上维持了相对正常的免疫状态。

本研究中, 异烟肼+利福平耐药患者的 $CD_3^+$ 和 $CD_4^+$  T细胞计数较单药耐药患者显著降低, 表明多重耐药的肺结核患者机体免疫功能更为低下。既往研究报道, 耐药菌株的基因突变不仅影响药物敏感性, 还可能改变其毒力, 从而进一步加剧机体免疫系统的损伤<sup>[12]</sup>。异烟肼和利福平的耐药可能反映治疗的失败, 患者通常病情较重, 肺部病灶广泛, 而治疗效果差可能进一步影响机体的免疫功能恢复。此类患者因治疗周期长和成功率低, 心理压力可能更大, 而慢性应激状态会通过下调免疫调节功能加重免疫抑制<sup>[13]</sup>。耐药性肺结核患者的免疫功能紊乱, 提示当前抗结核治疗可能不足以改善其预后, 未来的治疗策略可以考虑联合应用免疫调节剂, 以恢复患者的免疫平衡<sup>[14]</sup>。此外,  $CD_4^+$  T细胞计数和 $CD_4^+/CD_8^+$ 比值的监测可以作为耐药性肺结核患者病情评估和治疗效果判断的重要指标。

综上所述, 耐药性肺结核患者的免疫功能较非耐药患者明显下降, 且多重耐药对免疫抑制的影响更为显著。本研究为耐药性肺结核的诊疗和预后评估提供了重要参考, 同时也为未来的综合治疗策略提出了新方向。但由于本研究样本量有限, 未能全面分析自然杀伤细胞、单核细胞等其他免疫细胞的变化。此外, 具体的分子机制仍需通过动物实验和分子生物学研究进一步验证。未来研究应结合基

因组学和免疫组学技术, 深入探索耐药性肺结核的免疫调控机制, 以便为个性化治疗提供更科学的依据。

## 参考文献

- [1] WHO. Global Tuberculosis Report 2024 [M]. Geneva: World Health Organization, 2024.
- [2] DOMÍNGUEZ J, BOEREE M J, CAMBAU E, *et al.* Clinical implications of molecular drug resistance testing for *Mycobacterium tuberculosis*: A 2023 TBnet/RESIST-TB consensus statement [J]. *The Lancet Infectious Disease*, 2023, 23(4): e122-e137.
- [3] 俞珊, 李志明, 段浩凯, 等. 不同类型肺结核患者T细胞亚群及血液学指标的差异研究[J]. *解放军医学杂志*, 2023, 48(7): 756-760.
- [4] 高瑜, 仵倩红, 胡萍, 等. 非耐药和耐多药肺结核患者外周血T淋巴细胞亚群动态变化及临床意义[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2022, 22(6): 661-663+667.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断标准: WS 288—2017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [6] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群指南: WS/T 360—2011 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [8] 徐静, 姜爽爽, 郑海伦, 等. 290例耐药肺结核高危人群耐药情况及治疗结果分析[J]. *中国防痨杂志*, 2023, 45(3): 323-327.
- [9] 周欢, 余黄鹏. 人类免疫缺陷病毒合并结核分枝杆菌感染患者的病原菌分布特征及药敏性[J]. *中国当代医药*, 2024, 31(13): 88-91.
- [10] 陈志祥, 艾克拜尔, 陈存存, 等. 结核T细胞斑点试验联合外周血T淋巴细胞亚群检测在临床诊断中的价值[J]. *贵州医药*, 2024, 48(11): 1683-1686.
- [11] 韩建芳, 胡锦涛, 卢春丽, 等. 耐药结核病患者营养状态评估及营养支持前后免疫指标对比[J]. *黑龙江医药*, 2023, 36(2): 326-329.
- [12] 周莹宇, 付雷, 张炜焱, 等. 不同耐药类型结核分枝杆菌毒力变化的初步研究[J]. *中国防痨杂志*, 2021, 43(9): 952-960.
- [13] 唐文慧, 张伟, 应会领. 药物治疗联合心理干预对肺结核伴抑郁情绪患者的疗效分析[J]. *国际精神病学杂志*, 2023, 50(5): 1147-1150.
- [14] 顾晓峰, 蔡春葵, 许岩. 免疫药物联合利奈唑胺治疗耐药性肺结核的临床疗效[J]. *当代医学*, 2024, 30(1): 62-65.