

· 临床药学 ·

广东云浮地区幽门螺旋杆菌临床分离菌株耐药状况分析及其应对策略

张瑞辉, 潘维来, 赵国栋, 冯伟杰, 钟天文 (云浮人民医院 / 南方医科大学附属云浮医院, 云浮 527300)

摘要 **目的:** 分析广东云浮地区幽门螺旋杆菌 (Hp) 临床分离菌株对常规治疗药物的耐药情况, 观察补救疗法的疗效, 为临床治疗幽门螺旋杆菌感染提供理论依据, 探究根治幽门螺旋杆菌感染的应对策略。**方法:** 选自2013年6月-2016年6月我院确诊为Hp感染的当地患者420例。本研究对420例Hp阳性患者进行Hp分离及阳性培养, 共成功分离357组, 在体外行药敏试验, 探究幽门螺旋杆菌对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、及左氧氟沙星等一种或多种常用抗生素的敏感性。将所有Hp阳性患者按不同治疗方案平均且随机分为3组, 记为I组、II组、III组, 应用三联疗法规范治疗后, 按照统计学方法计算Hp根除率, 若Hp未根除, 则给予四联疗法, 记为IV组, 经积极规范治疗后, 计算Hp根除率。**结果:** 初治3个组 (I、II、III组) Hp根除率中的I组、II组间根除率差异无统计学意义 ($P>0.05$), I组、III组间差异较大 ($P<0.05$); IV组Hp根除率明显高于初治3个组, 第IV组与I、II、III组根除率差异有统计学意义 ($P<0.05$); 对所有Hp阳性患者进行Hp分离及阳性培养, 根据统计分析, Hp对甲硝唑耐药率明显高于对左氧氟沙星、阿莫西林和克拉霉素的耐药率, 具有统计学意义 ($P<0.05$); Hp对克拉霉素耐药率明显高于对左氧氟沙星和阿莫西林的耐药率, 具有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论:** 研究显示Hp对甲硝唑和克拉霉素的耐药性较高, 为临床治疗幽门螺旋杆菌感染提供了一定的理论依据。

关键词: 幽门螺旋杆菌; 耐药; 补救治疗; 甲硝唑; 克拉霉素; 阿莫西林; 左氧氟沙星; 呋喃唑酮

中图分类号: R573 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)04-0447-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.04.017

Analysis of Drug Resistance Status of Helicobacter Pylori Strain Clinically Isolated in Yunfu District of Guangdong Province and the Corresponding Strategies

Zhang Ruihui, Pan Weilai, Zhao Guodong, Feng Weijie, Zhong Tianwen (Yunfu People's Hospital/Yunfu Hospital Affiliated to Southern Medical University, Yunfu 527300, China)

Abstract Objective: To analyze the drug resistance status of Helicobacter pylori (Hp) strain clinically isolated to conventional drugs in Yunfu District of Guangdong Province and observe efficacy of remedial therapy, so as to provide a theoretical basis for clinical treatment of Helicobacter pylori infection and explore the corresponding strategies to eradication of Hp infection. **Methods:** There were a total of 420 patients diagnosed with Hp infection in our hospital from June 2013 to June 2016. In this study, Hp isolation and positive culture were carried out in 420 Hp positive patients. 357 successfully isolated groups were conducted drug sensitivity test in vitro in order to

explore the sensitivity of Hp to one or more commonly used antibiotics, such as metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and levofloxacin. Hp positive patients were randomly and averagely divided into three groups, recorded as group I, group II, and group III. After standardized treatment of the patients with triple therapy, the eradication rate of Hp was calculated according to the statistical method. If Hp was not eradicated, the quadruple therapy was used and recorded as group IV and the eradication rate of Hp was calculated again after standardized treatment. **Results:** There was no significant difference in the eradication rate between group I and group II ($P > 0.05$) in the first 3 groups (group I, group II, and group III) but there was significant difference in the eradication rate between group I and group III ($P < 0.05$). The Hp eradication rate of Group IV was significantly higher than that of the first three groups. There was significant difference in the eradication rate between group IV and the first 3 groups (group I, group II, and group III) ($P < 0.05$). According to the statistical analysis, the resistance rate of Hp to metronidazole was significantly higher than that of levofloxacin, amoxicillin and clarithromycin ($P < 0.05$). The resistance rate of Hp to clarithromycin was significantly higher than that of levofloxacin and amoxicillin ($P < 0.05$). **Conclusion:** The study found out that the Hp was highly resistant to clarithromycin and metronidazole, providing a theoretical basis for clinical treatment of Hp infection.

Keywords: Helicobacter pylori; drug resistance; remedial therapy; metronidazole; clarithromycin; amoxicillin; levofloxacin; furazolidone

幽门螺杆菌 (helicobacterpylori, Hp) 感染是胃肠疾病发生的常见因素之一, 可导致慢性胃炎、消化性溃疡甚至胃癌等疾病^[1], 也可导致胃肠外疾病。因此, 自 Hp 发现以来的 20 余年^[2], 人们对根治 Hp 进行了不停的探索。然而, 由于抗生素的广泛应用甚至滥用, Hp 产生了耐药性, 部分患者应用传统的三联疗法已不能取得预期效果, 无法根除幽门螺杆菌^[3]。广东省云浮地区 Hp 阳性患者的三联疗法根治率较低, 符合国际三联疗法根治率下降的趋势^[4], 标准的三联疗法的根除率低于 70%, 含铋剂的四联疗法对 Hp 的根除率相对较高; Hp 的耐药性也逐年增高, Hp 耐药情况基本符合全国 Hp 耐药的平均水平^[5]。因此, 云浮人民医院针对当地 Hp 感染情况, 探究第二、三线的补救治疗, 以达到根除 Hp 的目的。

1 资料与方法

1.1 Hp 感染的治疗

1.1.1 病例选择标准

碳 13 尿素呼气试验或血清抗体检查出现阳性结果后, 可明确诊断为 Hp 感染。

选自 2013 年 6 月 -2016 年 6 月云浮人民医院确诊为 Hp 感染的当地患者 420 例。其中男性 248 例, 女性 172 例。年龄大部分在 18~70 岁范围, 平均 (43.44 ± 12.31) 岁。Hp 耐药菌株可分为原发性和继发性^[6-7]。原发性耐药是指未经抗生素治

疗的 Hp 所产生的耐药性; 继发性耐药是指经抗生素治疗后, Hp 产生的耐药性。三联疗法很容易导致继发性耐药^[8-9]。临床上经治疗后所获得的 Hp 有原发性耐药菌株, 也有继发性耐药菌株, 情况相对复杂。因此本次试验初始对象主要为未经治疗的 Hp 阳性患者, 且需经患者同意并签署知情同意书。研究对象的选择标准^[10]如下: 1) Hp 阳性的慢性胃炎, 消化道溃疡患者; 2) 排除药物影响: 治疗前 2 周使用过抗生素、铋剂、H₂受体拮抗剂 (H₂RA) 和质子泵抑制剂 (PPI) 者; 患者同时服用非甾体抗炎药 (NSAID) 或酗酒; 对实验药物过敏者; 3) 身体状况良好, 无其他严重疾病的干扰。排除妊娠或哺乳期妇女; 4) 患者精神状态良好, 排除精神病、严重神经官能症以及不能合作者; 5) 若治疗期间症状加重或存在严重不良反应, 及时终止实验。

1.1.2 Hp 感染诊断

经胃镜检查、快速尿素酶实验及血清抗体检查阳性后, 可明确诊断为 Hp 感染。

1.1.3 治疗与根除判断

将 357 例 Hp 阳性患者随机平分为 3 组, 记为 I、II、III 组, 应用三联疗法 (选用 1 种 PPI 或者胶体果胶铋加 2 种抗菌药) 规范治疗后, 按照统计学方法计算 Hp 根除率 [Hp 根除率 = (本组 Hp 根除患者人数 / 本组总人数) × 100]; 若 Hp 未根除,

则给予四联疗法(选用1种质子泵抑制剂+胶体果胶铋+2种抗菌药),记为IV组,于规范治疗后计算Hp根除率。本次实验三联疗法: I组采用奥美拉唑(20 mg, bid)、阿莫西林(1 g, bid)、克拉霉素(0.5, bid),疗程为7天; II组采用奥美拉唑(20 mg, bid)、阿莫西林(1 g, bid)、甲硝唑(0.5 g, bid),疗程为7天; III组采用奥美拉唑(20 mg, bid)、阿莫西林(1 g, bid)、左氧氟沙星(0.2 g, bid),疗程为14天; 四联疗法: 第一阶段服用四联药物14天,即奥美拉唑(20 mg, bid)、阿莫西林(1 g, bid)、甲硝唑(20 mg, bid)、胶体果胶铋(200 mg, qid, 分别于3餐前1小时及睡眠前服用); 第二阶段单服胶体果胶铋(200 mg, qid, 分别于3餐前1小时及睡眠前服用)14天。各组患者在其它方面无明显差异,具有可比性。Hp根除的指标: 停止治疗4周后,尿素呼气试验阴性。

1.2 Hp耐药性测定

1.2.1 Hp分离与培养

利用胃镜获取幽门螺杆菌,接种于培养基,培养3~10天,环境要求: 微需氧条件、湿度>95%、37℃恒温。传代增菌后,进行菌株鉴定。

1.2.2 体外药敏试验

采用折点敏感试验法,测定最低抑菌浓度(MIC)。判断标准见表1。

1.3 统计学方法

应用SPSS 21.0版软件对本次研究所得数据进行统计学处理,计数资料用率(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为数据差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 初治3个组Hp根除率比较

初治3个组(I、II、III组)Hp根除率分别为64.7%(77/119)、52.9%(63/119)、83.2%(99/119), I、II组间根除率差异无统计学意义($P > 0.05$), I、III组间根除率差异较大($P < 0.05$)。详见表2。

2.2 初治组与四联疗法组Hp根除率的比较

以初治3个组为对照组,3组根除率的均值为67.0%(80/119); 经过初治后仍未根除Hp的患者有39例,对其进行四联疗法,记为实验组(IV组)。经计算可知IV组Hp根除率为82.1%(32/38),明显高于初治3组,IV组与I、II、III组的平均根除率的差异具有统计学意义($P < 0.05$)。详见表3。

表1 美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)制定的药物敏感试验标准(MIC/mg·L⁻¹)

药物	敏感	正常	耐药
甲硝唑	< 8	8 ~ 32	> 32
左氧氟沙星	< 0.5	0.5 ~ 2	> 2
阿莫西林	< 0.5	0.5 ~ 2	> 2
克拉霉素	< 0.5	0.5 ~ 2	> 2

注: 若Hp对2种抗生素耐药称双重耐药; 对3种或3种以上抗生素耐药称多重耐药。

表2 初治3个组的Hp根除率比较

统计学结果	I组	II组	III组	均值
Hp根除率/%	64.7 (77/119)	52.9 (63/119)	83.2 (99/119)	67.0 (80/119)
χ^2	--	3.40	10.56	--
P	--	$P > 0.05^*$	$P < 0.05^{**}$	--

注: *与I组相比, $P > 0.05$; **与I组相比, $P < 0.05$ 。

表3 初治组 Hp 平均根除率与四联疗法组 Hp 根除率的比较

统计学结果	对照组 (初治组)	实验组 (四联疗法组)
Hp 根除率 /%	67.0 (80/119)	82.1 (32/39)
χ^2		4.26
<i>P</i>		<i>P</i> < 0.05

2.3 Hp 对药物的敏感性

对所有 Hp 阳性患者进行病原菌的分离培养, 成功分离出 357 组 Hp, 其中对甲硝唑的耐药率为 72.55% (259/357)、对克拉霉素耐药率为 26.05% (93/357)、对左氧氟沙星耐药率为 6.44% (23/357)、对阿莫西林耐药率为 7.00% (25/357), 多重耐药率为 16.53% (59/357)。根

据统计结果可知, Hp 对甲硝唑耐药率明显高于 Hp 对左氧氟沙星、阿莫西林和克拉霉素的耐药率, 具有统计学意义 (*P* < 0.05), Hp 对克拉霉素耐药率明显高于对左氧氟沙星和阿莫西林的耐药率, 具有统计学意义 (*P* < 0.05), 各组患者在其它方面无明显差异, 具有可比性。治疗处理前, 两组患者的一般情况无显著差异 (*P* > 0.05)。详见表 4。

表4 Hp 对药物的敏感性 (n%)

统计学结果	甲硝唑	克拉霉素	左氧氟沙星	阿莫西林
耐药率 /%	72.55 (259/357)	26.05 (93/357)	6.44 (23/357)	7.00 (25/357)
χ^2	1.90	1.85	1.77	1.96
<i>P</i>	<i>P</i> < 0.05	<i>P</i> < 0.05	<i>P</i> < 0.05	<i>P</i> < 0.05

3 讨论

Hp 感染导致的慢性胃炎、消化道溃疡、胃癌、低度恶性胃黏膜相关淋巴组织等疾病困扰着全球约半数人口, 我国也是 Hp 感染高发的国家, 感染率高达 56.22%^[11]。长期以来, 全球大多数国家采用 PPI+2 种抗生素的三联疗法。然而, Hp 的根治率日益低下, 引起了人们的重视。本次研究发现广东省云浮地区 Hp 阳性患者的三联疗法根治率较低, 与国际三联疗法根治率下降的趋势^[4]基本一致。此次研究发现, 在使用三联疗法初治的三组患者中, 适当增加疗程的 III 组的 Hp 根除率明显较疗程为仅 7 天的 I 组、II 组高, 这一结果为今后在药物及治疗方案不变的情况下, 采取适当增加疗程来根治 Hp 感染类疾病提供了依据。目前, 我国部分地区 Hp 对抗生素的耐药情况: 北京地区 Hp 对甲硝唑的耐药率为 90.4%, 对克拉霉素的耐药率为 25.1%, 对阿莫西林的耐药率为 11.5%; 上海地区 Hp 对甲硝唑的耐药率为 70.4%, 对克拉霉素的耐

药率为 12.1%, Hp 的耐药性呈逐年增高的趋势。本次研究结果为 Hp 对甲硝唑的耐药率为 72.55%, 对克拉霉素的耐药率为 26.05%, 对左氧氟沙星的耐药率为 6.44%, 对阿莫西林的耐药率为 7.00%, 说明广东省云浮地区 Hp 耐药情况基本符合全国 Hp 耐药的平均水平^[5], 因此可通过对此地区的研究间接反映全国 Hp 耐药情况, 对 Hp 感染的治疗具有指导意义。

经研究发现, Hp 感染久治不愈的原因主要是由于药物的诱导、过度用药及药物选择性压力使 Hp 变异产生了耐药性^[12-13]。在一线方案治疗失败后, 有 1/3 ~ 1/2 的 Hp 对所用抗生素产生继发性耐药。继发性耐药的产生可能造成患者补救治疗的失败, 使患者反复感染, 甚至出现对多种抗生素耐药的菌株。Hp 对常用抗生素耐药率的高低可能与当地 Hp 感染患者自身的整体素质, 如收入水平、受教育程度等方面有关, 也可能与当地医疗卫生条件及医疗水平有关。患者整体素质越高, 医疗卫生

条件越好, Hp 耐药率就相对越低^[14]。通过本次研究结果我们可以看出, Hp 对甲硝唑的抗药性最强且相对其他药物来说比较普遍。这与甲硝唑价格较低, 应用普遍有一定关系。首先甲硝唑一直作为治疗 Hp 的主要药物, 另外, 在妇科疾病等其他领域也经常应用甲硝唑。此外, 我们也可以观察到 Hp 对克拉霉素的耐药率也相对较高, 其属于大环内酯类抗生素, 因具有较强的杀菌作用及抗菌谱广不仅被用于 Hp 的根除治疗, 也常被用于其他感染性疾病, 国内外相关研究显示: Hp 23Sr RNA 基因 V 区上的点突变导致大环内酯类抗生素与核糖体的结合力下降, 是 Hp 对大环内酯类抗生素产生耐药的主要原因^[15]。因此, 目前临床应尽量避免使用甲硝唑和克拉霉素治疗 Hp 感染, 提倡使用左氧氟沙星联合阿莫西林的三联疗法, 此三联根治方案经研究证明对 Hp 阳性患者的治愈率较高, 可达 90% 以上^[16]。有资料^[5]说明, 将传统的三联疗法的疗程从 7 天延长到 14 天, 也可提高 Hp 根除率。本实验 III 组治愈率明显高于 I 组 ($P < 0.05$), 与以往研究结果相符。但疗程延长也存在不足之处, 会造成患者经济负担加重, 导致部分患者无法接受此种治疗方法。

本次研究结果说明标准的三联疗法的根除率平均值低于 70%, 含铋剂的四联疗法对 Hp 的根除率相对较高, 二者差异显著, 具有统计学意义 ($P < 0.05$)。因此针对 Hp 产生的抗药性的变化, 我们也应科学合理地调整治疗方案, 建立有效的应对策略。调整 Hp 的一线治疗方案, 如将以铋剂为基础的四联治疗方案作为选择性应用的一线治疗方案, 若患者对某种抗生素耐药 $> 40\%$, 则不建议应用该药, 而应用含铋剂的四联疗法; 深入研究根治 Hp 的第二、三线治疗, 以铋剂为基础的四联治疗方案仍是最好的选择, 此外, 有研究^[17]表明应用中西医结合治疗等有助于提高 Hp 的根治率; 避免选择耐药率较高的抗生素, 尽量选择耐药率较低的抗生素, 如阿莫西林、四环素和呋喃唑酮, 且最好在 Hp 根除治疗前应询问患者既往抗生素的使用情况, 有条件最好做药敏试验, 制定个体化治疗方案; 提高患者用药依从性, 防止不按疗程服药等因素导致患者 Hp 根除治疗失败和反复感染; 目前, 利用基因芯片检测 H.pylori 耐药相关突变位点的技术已逐渐成熟^[18], 且重复性与灵敏度理想,

结果准确可靠, 具有重要的临床应用价值, 可以为临床选择 Hp 根除治疗方案提供依据, 提高根除率; 此外, 也应严格加强对抗生素使用的管理, 防止滥用抗生素, 建立健全规范化治疗程序, 这不仅有利于 Hp 感染的治疗, 对其他微生物感染的治疗、防止其耐药性的产生也有一定的积极意义。

参考文献:

- [1] Shin J Y, H R Lee, D C Lee, Increased Arterial Stiffness in Healthysubjects with High-normal Glucose Levels and in Subjects with Pre-diabetes[J]. CardiovascDiabetol, 2011, 3 (12): 30-34.
- [2] 张万岱. 中西医结合提高幽门螺杆菌根除率的探讨 [J]. 医学与哲学, 2012, 33 (5B): 12-13.
- [3] 杜军, 汤海涛, 刘晓燕, 等. 109 例幽门螺杆菌培养阳性患者耐药情况及临床治疗分析 [J]. 安徽医药, 2014, 18 (8): 1453-1456.
- [4] 吴李培, 周玉贵, 王敏, 等. 幽门螺杆菌对常用抗菌药物的耐药性研究 [J]. 检验医学与临床, 2015, 12 (17): 2503-2504.
- [5] Lahner E, Helicobacter Pylori Infection and Drugs Malabsorption[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (30): 10331-10337.
- [6] 刘文忠, 萧树东. 幽门螺杆菌新国际共识解读 [J]. 胃肠病学, 2012, 17 (1): 1-4.
- [7] 池肇春. 幽门螺杆菌耐药现状与耐药后治疗进展 [J]. 中国医师进修杂志, 2013, 36 (28): 1-3, 7.
- [8] 王莉, 谢会忠, 刘友斌, 等. 幽门螺杆菌感染的密度和在胃黏膜层不同深度的定植对其致病性和抗生素耐药的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24 (3): 347-354.
- [9] 刘文忠, 谢勇, 成虹, 等. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告 [J]. 胃肠病学, 2012, 51 (10): 832-837.
- [10] 黄继平, 黄艳娟, 袁小刚, 等. 深圳地区幽门螺杆菌耐药状况分析及耐药对治疗的影响 [J]. 实用医学杂志, 2015, 31 (14): 2382-2384.
- [11] 刘素杰, 田明英, 王惠玲, 等. 舒适护理在妇科腹腔镜围手术期中的应用 [J]. 现代医药医生, 2011, 8 (1): 123-124.
- [12] 高文, 胡伏莲, 成虹, 等. 国产药物组成的四联疗法对胃炎及十二指肠溃疡患者幽门螺杆菌感染根除效

- 果的前瞻性多中心随机对照研究[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(4): 260-264.
- [13] 高红军, 岳志刚, 郑敏, 等. 一种肿瘤相关抗原在食管鳞状细胞癌中的鉴定与表达[J]. 中国医学科学院学报, 2012, 34(3): 244-248.
- [14] 张平辉. 患者整体素质和医疗资源对幽门螺旋杆菌耐药率的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2012, 20(12): 537-538.
- [15] Abadi AT, Taghvaei T, Ghasemzadeh A, et al. High Frequency of A2143G Mutation in Clarithromycin-Resistant Helicobacter Pylori Isolates Recovered from Dyspeptic Patients in Iran[J]. Saudi J Gastroenterol, 2011, 17(6): 396-399.
- [16] 叶晖, 张学智. 中西医结合治疗耐药幽门螺杆菌感染策略初探[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(8): 891-892.
- [17] 刘苓, 胡林, 刘娅琳, 等. 贵州省幽门螺杆菌临床菌株的抗生素耐药现状[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2012, 21(8): 702-705.
- [18] 方静, 柴海娜, 徐磊, 等. 幽门螺旋杆菌耐药相关基因突变检测芯片的建立[J]. 胃肠病学, 2011, 16(9): 539-543.

(收稿日期 2016年8月5日 编辑 邹宇玲)