



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2021.11.006

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.11.006

· 论著 ·

福建省闽东地区幽门螺杆菌感染及耐药性分析

夏宁宁 黄丽静 吴以龙 谢晶晶 林吟 黄兆许 陈津津

【摘要】 目的 调查福建闽东地区¹³C-尿素呼气试验(¹³C-UBT)阳性患者幽门螺杆菌(Hp)培养结果及常用抗生素的耐药性。方法 选取2019年1月~2020年8月因上消化道症状查¹³C-UBT结果阳性并行胃镜检查的患者930例,取其胃活检标本进行Hp分离培养,使用常用的6种抗菌药物对Hp分离菌株进行体外药敏试验,比较不同性别、年龄和疾病状态患者的Hp阳性情况,再分析比较不同年龄段Hp耐药情况。结果 930例¹³C-UBT阳性患者中,Hp阳性率为55.3%(514/930),18~64岁组Hp培养阳性率最高(87.2%),其次为65~79岁组(12.1%),≤17岁组及≥80岁组Hp培养阳性率最低,不同年龄组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。消化性溃疡组Hp阳性率高于非消化性溃疡组(70.0%比50.6%, $P < 0.01$)。在成功分离的514株Hp菌株中,总体耐药率高达98.6%,单药耐药率为42.8%,甲硝唑的耐药率最高,为97.3%,然后依次为左氧氟沙星42.6%、克拉霉素39.1%、阿莫西林0.2%,未发现对四环素及呋喃唑酮耐药的菌株;双重耐药率为31.3%(甲硝唑+左氧氟沙星组合的耐药率最高),多重耐药率为24.7%(甲硝唑+左氧氟沙星+克拉霉素组合的耐药率最高)。≤20岁、21~30岁、31~40岁、41~50岁、51~60岁、61~70岁、≥71岁年龄段患者的多重耐药发生率分别为0%、4.5%、14.7%、16.9%、24.8%、42.1%、64.7%,组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 ¹³C-UBT阳性患者的Hp阳性率为55.3%,Hp阳性与年龄、消化性溃疡有关。福建省闽东地区Hp对甲硝唑、左氧氟沙星、克拉霉素的耐药率明显高于国内外平均水平,且随着年龄增长,多重耐药的发生率上升,建议根据细菌培养药敏结果选择Hp根除方案,否则可基于本地区抗生素耐药背景下选择最优方案。

【关键词】 幽门螺杆菌; ¹³C-尿素呼气试验; 培养; 抗菌药物; 耐药性

【中图分类号】 R573.3

【文献标识码】 A

Analysis of Helicobacter pylori infection and drug resistance in Eastern Fujian Xia Ningning, Huang Lijing, Wu Yilong, Xie Jingjing, Lin Yin, Huang Zhaoxu, Chen Jinjin. Department of Gastroenterology, the Affiliated Fuding Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuding 355200, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the results of Helicobacter pylori (Hp) culture and antibiotic resistance in patients with positive ¹³C urea breath test (¹³C-UBT) in eastern Fujian Province. **Methods** A total of 930 patients with upper gastrointestinal symptoms and with positive ¹³C-UBT did gastroscopy inspectors were selected from January 2019 to August 2020. Gastric mucosa was biopsy via gastroscopes and Hp was isolated and cultured. Six types of common antibiotics were used to analyze the sensitivity of isolated Hp strains in vitro. The positive rates of Hp in patients with different gender, age and disease status were compared. Hp resistance in different age groups were analyzed and compared. **Results** Among 930 patients with positive ¹³C-UBT, the positive rate of Hp culture was 55.3% (514/930). The highest positive rate of Hp culture was in 18-64 years old group (87.2%), followed by 65-79 years old group (12.1%). The positive rate of Hp culture in ≤17 years old group and ≥80 years old group was the lowest, and the difference between different age groups was statistically significant ($P < 0.05$). The positive rate of Hp in peptic ulcer group was higher than that in non peptic ulcer group (70.0% v. s. 50.6%, $P < 0.01$). Among the 514 Hp strains successfully isolated, the overall drug resistance rate was 98.6%, the single drug resistance rate was 42.8%. Metronidazole resistance rate was the highest (97.3%), followed by levofloxacin (42.6%), clarithromycin (39.1%), amoxicillin (0.2%). The double drug resistance rate was 31.3% (the combination of metronidazole and levofloxacin had the highest

基金项目:福建省卫生健康科研人才培养项目(2019-CX-50)

作者单位:355200 福建福鼎,福建中医药大学附属福鼎医院消化内科

通讯作者:吴以龙, E-mail: wuyilong921@163.com

resistance rate), and the multi-drug resistance rate was 24.7% (the combination of metronidazole, levofloxacin and clarithromycin had the highest resistance rate). The incidence of multi-drug resistance in patients ≤ 20 years old, 21-30 years old, 31-40 years old, 41-50 years old, 51-60 years old, 61-70 years old, and ≥ 71 years old were 0%, 4.5%, 14.7%, 16.9%, 24.8%, 42.1% and 64.7%, and the difference among the groups was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** The positive rate of Hp culture in patients with positive ^{13}C -UBT was 55.3%, which was related to age and peptic ulcer. The drug resistance rate of Hp to metronidazole, levofloxacin and clarithromycin in Eastern Fujian was significantly higher than the average level at home and abroad, and with the increase of age, the incidence of multiple drug resistance increased. It is suggested to choose Hp eradication program according to the results of bacterial culture drug sensitivity, otherwise, it is better to choose the optimal scheme based on the background of local antibiotic resistance.

[Key words] Helicobacter pylori; ^{13}C urea breath test; Culture; Antibiotics; Drug resistance

幽门螺杆菌(Hp)感染是目前临床上常见的感染性疾病,全球50%以上人口均有感染,我国Hp感染率为40%~90%,平均为59%^[1]。Hp广泛存在于患者的胃、十二指肠等部位,与慢性胃炎、消化性溃疡及胃癌等上消化道疾病相关,已被定为I类致癌原^[2-4],因此Hp感染的治疗是Hp研究领域的重点。根除Hp的方案很多,目前以含质子泵抑制剂、铋剂及两种抗生素的四联疗法最为常见,其中常用的抗菌药物包括甲硝唑、克拉霉素、左氧氟沙星、阿莫西林、四环素、呋喃唑酮等^[5]。然而随着抗菌药物的临床使用增多,抗生素耐药率上升,导致Hp根除率下降,不利于患者预后。此外,相关研究资料显示,Hp对抗生素的耐药率存在地区性差异。例如,在上海和湖北地区,Hp对甲硝唑的耐药率高达100%,而山东地区则为50%^[6]。可见,若在Hp根除方案选择前获得当地抗生素耐药背景,对临床上抗生素方案的选择具有重要指导意义。Hp感染的检测方法有侵入性方法[包括组织学检测、快速尿素酶试验(RUT)、Hp培养和聚合酶链反应(PCR)检测]和非侵入性方法[包括尿素呼气试验(UBT)、Hp粪便抗原(HpSA)和血清学检测]两类^[7]。UBT是最常用的非侵入性方法,但不能获得相关抗生素药物敏感性结果。本研究通过分析 ^{13}C -尿素呼气试验(^{13}C -UBT)阳性患者的Hp培养结果及对抗生素的耐药情况,旨在为临床上 ^{13}C -UBT阳性Hp感染患者的治疗方案选择提供参考依据。

对象与方法

1. 对象:收集2019年1月~2020年8月因上消化道症状于我院行 ^{13}C -UBT结果阳性且行胃镜检查及胃黏膜活组织采集患者930例,男503例,女427例,年龄11~93岁,平均年龄(51.04 ± 12.91)岁。纳入标准:(1)有消化道症状,如腹痛、腹胀、反酸、嗝气、恶心等;(2)4周内未使用抗生素、铋剂、 H_2 受体拮抗剂或质子泵抑制剂;(3)行 ^{13}C -UBT后行胃镜检查,并同意取胃黏膜活检组织标本进行Hp培养及药敏试验。排除

标准:(1)妊娠期或哺乳期;(2)合并严重心、肝、肾功能损伤;(3)有出血、穿孔、幽门梗阻、恶性肿瘤并发症;(4)不能正确表达主诉,如患有精神病、严重神经官能症。(5)不能获得一般资料。其中Hp培养阳性患者514例,Hp培养阴性患者416例,对Hp培养阳性标本进行抗生素药物敏感试验。根据2020年联合国世界卫生组织最新年龄划分标准将Hp阳性患者按年龄分为 ≤ 17 岁组(未成年组,2例)、18~64岁组(青年组,448例)、65~79岁组(中年组,62例)、 ≥ 80 岁组(老年组,2例);再根据疾病状态将所有患者分为消化性溃疡组(357例)和非消化性溃疡组(157例),比较不同性别、年龄段和疾病状态患者的Hp阳性情况。本研究获得我院医学伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

2. 方法

(1) ^{13}C -UBT:严格按照呼气试验流程对患者进行 ^{13}C -UBT,防止呼气不规范造成的结果误判。患者空腹或禁食2h,受试前漱口,用约20ml凉饮用水送服尿素(^{13}C)胶囊1粒后,静坐30min后向集气袋内吹气,收集气体并在仪器上进行检测和判断结果。

(2)Hp培养及鉴定: ^{13}C -UBT阳性患者行胃镜检查,对胃黏膜活检标本进行Hp分离培养。将充分研磨后的胃黏膜标本接种于含5%脱纤维绵羊血的平板上,并置于37℃三气培养箱中,培养3~7天,观察平板上菌落生长情况。可疑菌落经涂片镜检观察细菌形态符合Hp,且尿素酶、氧化酶和过氧化氢酶试验均阳性的菌株判定为Hp阳性。

(3)培养菌株的抗生素药物敏感试验:采用琼脂稀释法,对患者胃黏膜中Hp阳性菌株的抗生素耐药性进行检测。将6种不同抗菌药物溶液分别加入琼脂稀释至相应的临界点耐药浓度,倾注平板;用移液器加2 μl 菌悬液于平板上,待其干燥后,置于37℃三气培养箱中,培养3天后判读药敏结果,若接种点有细菌生长,则该菌株判读为耐药。耐药判定标准设定为^[8]:克拉霉素1 $\mu\text{g}/\text{ml}$,左氧氟沙星2 $\mu\text{g}/\text{ml}$,甲硝唑8 $\mu\text{g}/\text{ml}$,

阿莫西林 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 呋喃唑酮 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 四环素 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。以 Hp NCTC 11637 作为质控菌株。

3. 统计学处理:应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计数资料以例数和构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 930 例患者 Hp 培养情况:本研究共纳入 930 例患者进行胃黏膜组织分离培养,经过试验鉴定有 514 例成功分离出菌株, Hp 阳性率为 55.3% (514/930)。其中男性占 54.1% (278/514), 女性占 45.9% (236/514), 男性与女性 Hp 培养阳性率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。不同年龄段患者中, 18 ~ 64 岁组 Hp 阳性率最高, 为 87.2% (448/514), 其次为 65 ~ 79 岁组, Hp 阳性率为 12.1% (62/514), ≤ 17 岁组及 ≥ 80 岁组 Hp 培养阳性率最低, 均为 0.4% (2/514), 不同年龄组间 Hp 培养阳性率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。消化性溃疡组的 Hp 阳性率高于非消化性溃疡组 [70.1% (157/224) 比 50.6% (357/706)], 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2. 514 株 Hp 的抗生素药物敏感试验结果:成功分离的 514 株 Hp 菌株总体耐药率为 98.6% (507/514), 单药耐药率为 42.8% (220/514)。Hp 对甲硝唑、左氧氟沙星、克拉霉素、阿莫西林、四环素、呋喃唑酮的耐药率分别为 97.3% (500/514)、42.6% (219/514)、39.1% (201/514)、0.2% (1/514)、0% (0/514)、0% (0/514)。

3. 514 株 Hp 的抗生素多重耐药情况:共有 160 株 (31.3%, 160/514) Hp 对 2 种抗生素同时耐药, 其中耐药率最高的组合为甲硝唑 + 左氧氟沙星 (16.9%, 87/514), 然后依次为甲硝唑 + 克拉霉素 (13.8%, 71/514)、左氧氟沙星 + 克拉霉素 (0.4%, 2/514)。共有 127 株 (24.7%, 127/514) Hp 对 3 种抗生素同时耐药, 其中甲硝唑 + 左氧氟沙星 + 克拉霉素组合耐药率最高 (24.5%, 126/514)。

4. 不同年龄段患者的 Hp 耐药率比较:将年龄段进一步细分为 ≤ 20 岁、21 ~ 30 岁、31 ~ 40 岁、41 ~ 50 岁、51 ~ 60 岁、61 ~ 70 岁、 ≥ 71 岁进一步研究抗菌药物与年龄的关系, 结果显示, 各年龄段的克拉霉素耐药、左氧氟沙星耐药、单一耐药、多重耐药患者比例比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 且高龄患者的左氧氟沙星和多重耐药情况更严重。见表 1。

讨 论

Hp 感染是导致慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴瘤等疾病的重要病因, 也是胃癌发生的重要危险因素之一^[9]。研究表明, Hp 感染患者体内细胞空泡毒素、尿素酶和细胞毒素相关蛋白的表达水平明显增加, 可导致胃黏膜损伤^[10], 根除 Hp 可治愈溃疡, 并能够阻止胃癌的发展。

本研究结果显示, Hp 培养阳性率从高到低分别为青年组、中年组、老年组及未成年组 (87.2% > 12.1% > 0.4% = 0.4%), 差异有统计学意义, 这与国内外报道中青年人群 Hp 感染率高于老年人群的结果一致^[3-4]。此外, 本研究还发现消化性溃疡组 Hp 阳性率明显高于非消化性溃疡组, 提示 Hp 培养阳性率与患者年龄、不同疾病状态存在明显关联。

¹³C-UBT 是通过口服 ¹³C-尿素后, 利用同位素比值质谱仪对底物的最终代谢产物 ¹³CO₂ 进行检测, 是临床上最常用的非侵入性检测方法, 具有 Hp 检测准确性相对较高、操作方便和不受 Hp 在胃内灶性分布的限制等优点, 但无法获得抗生素的药敏结果。Hp 分离培养需要在胃镜介导下进行取材, 属于侵入性检测方法, 是诊断 Hp 感染的“金标准”, 但由于受到 Hp 在胃内呈灶性分布的影响, 培养结果可能出现假阴性。本研究纳入的 930 例 ¹³C-UBT 阳性患者进行胃镜下 Hp 分离培养, Hp 阳性率仅为 55.3%, 考虑导致 Hp 培养敏感性偏低的原因可能与 Hp 在胃内的分布、操作医生的水平、活检部位的选择等多种因素有关^[11]; 另外, UBT 在操作过程中标本采集的时间和次数、进行胃排空的时间、患者有无服用尿素酶等均会导致结果出现

表 1 不同年龄段患者 Hp 耐药率比较 [例, (%)]

年龄(岁)	例数	甲硝唑	克拉霉素	左氧氟沙星	阿莫西林	四环素	呋喃唑酮	均敏感	单一耐药	双重耐药	多重耐药
≤ 20	4	4(100.0)	3(75.0)	1(25.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(100.0)	0(0)
21 ~ 30	22	20(90.9)	8(36.4)	3(13.6)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4.5)	12(54.5)	8(36.4)	1(4.5)
31 ~ 40	75	75(100.0)	23(30.7)	18(24.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	45(60.0)	19(25.3)	11(14.7)
41 ~ 50	136	128(94.1)	45(33.1)	54(39.7)	0(0)	0(0)	0(0)	4(2.9)	60(44.1)	49(36.1)	23(16.9)
51 ~ 60	165	162(98.2)	59(36.4)	73(44.2)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.2)	73(44.2)	49(29.7)	41(24.8)
61 ~ 70	95	94(98.9)	52(54.7)	57(60.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	27(28.4)	28(29.5)	40(42.1)
≥ 71	17	17(100.0)	11(64.7)	13(76.5)	1(5.9)	0(0)	0(0)	0(0)	3(17.6)	3(17.6)	11(64.7)
P 值		0.178	0.003	<0.001	0.084	-	-	0.271	0.001	0.145	0.001

一定偏差;当患者进行试验时呼气用力过大时,也可能使药液从集气袋溢出,对检测结果造成一定影响^[12]。因此,在今后的研究可进行多点活检取材以提高 Hp 培养阳性率及规范 UBT 操作,减少不必要的影响因素以提高 UBT 结果的准确性。

目前国内外抗 Hp 治疗的最主要方案是质子泵抑制剂、铋剂联合两种抗生素,但随着 Hp 对抗生素的耐药性逐渐增长, Hp 的根除率下降,可见抗生素耐药是导致 Hp 根除失败的主要原因,而相关抗生素的滥用及不规范的治疗方案是导致 Hp 产生耐药的重要原因。在不同国家和地区, Hp 对抗生素的耐药性存在差异。在我国, Hp 对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星的整体耐药率分别为 88.3%、22.6%、2.7% 及 19.3%^[6,12]。本研究成功分离的 514 株 Hp 菌株中,总体耐药率高达 98.6%,其中 Hp 对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星耐药率分别为 97.3%、39.1%、0.2%、42.6%,显示 Hp 对甲硝唑、克拉霉素、左氧氟沙星的耐药率明显高于我国的整体耐药率,其中甲硝唑的耐药率最高。克拉霉素是根除 Hp 治疗最有效的抗生素之一,克拉霉素治疗失败的原因主要是由于原发耐药的产生,继发耐药不明显,且有报道显示其原发耐药率目前已达到 20% 以上^[13]。国外共识认为,当 Hp 对克拉霉素耐药率达到 15%~20% 时,该地区为克拉霉素高耐药地区,治疗方案中则不宜选用克拉霉素^[14]。本研究结果显示,福建省闽东地区为克拉霉素高耐药地区,如果临床医生凭借经验用药而选用克拉霉素,可能导致 Hp 根除失败,因此,临床上如若不能取得抗生素药物敏感试验结果,对于克拉霉素高耐药地区,该药则不建议作为首选抗菌药物。本研究还发现左氧氟沙星的耐药率高于克拉霉素,导致左氧氟沙星耐药率高的原因可能由于本地区为沿海地区,而喹诺酮类药物常用于水产业。因此,为提高 Hp 根除率,最好选择根据药敏试验结果进行 Hp 个体化治疗。我们还发现双重耐药率最高的组合为甲硝唑+左氧氟沙星,耐药率为 16.9%,多重耐药率最高的组合为甲硝唑+左氧氟沙星+克拉霉素,耐药率为 24.5%,这可能与患者经济水平、用药习惯、依从性等因素有关。我们还进一步研究了患者年龄与抗生素均敏感、单一耐药、双重耐药、多重耐药的的关系,结果发现单一耐药、多重耐药与年龄存在关联,尤其随着年龄增长,多重耐药的发生率逐渐上升,这也为本地区抗生素的选择带来巨大困难。

国内外文献研究均显示 Hp 个体化治疗明显优于

传统经验治疗^[15-16],但多数医院还不具备开展此类个体化治疗的条件。潘杰等^[17]研究结果显示,根据耐药背景选择治疗方案的 Hp 根除率与个体化治疗方案的 Hp 根除率无明显差异,且均超过 Hp 根除等级系统中 85% 的接受率。可见,对于高耐药地区,若无法采取个体化治疗,基于本地区抗生素耐药背景下选择 Hp 根除方案可能成为一个更好的备选治疗方案。因此,了解一个地区的耐药背景对本地区的 Hp 根除治疗十分重要。本研究通过对本地区 Hp 分离培养药敏结果获得常用抗生素耐药情况,可为¹³C-UBT 阳性、Hp 培养阴性等患者的 Hp 根除治疗提供临床参考。

参 考 文 献

- [1] Li L, Ke Y, Yu C, et al. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Chinese children; A multicenter retrospective study over 7 years [J]. *Helicobacter*, 2017, 22(3):18-22.
- [2] 中华医学会. 幽门螺杆菌感染基层诊疗指南(2019 年) [J]. *中华全科医师杂志*, 2020, 19(5):397-402.
- [3] Graham DY. *Helicobacter pylori* Update: Gastric Cancer, Reliable Therapy, and Possible Benefits [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(4):719-731.
- [4] Fock KM. Review article: the epidemiology and prevention of gastric cancer [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2014, 40(3):250-260.
- [5] 张薇, 吴李培, 宣世海. 东台地区幽门螺杆菌多重耐药现状和相关基因突变的分析 [J]. *实用预防医学*, 2019, 26(3):364-367.
- [6] 刘文忠. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告 [J]. *胃肠病学*, 2017, 37(6):364-378.
- [7] 李勋, 蔡英茂, 金仁仙, 等. Kawamura 分类法在评价幽门螺杆菌感染和胃炎中的价值 [J]. *临床内科杂志*, 2019, 36(4):247-249.
- [8] 周成林, 杨洋, 董苏荣, 等. 幽门螺杆菌的耐药机制及基因检测研究进展 [J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(12):1243-1247.
- [9] Vakil N, Megraud F. Eradication therapy for *Helicobacter pylori* [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(3):985-1001.
- [10] 杨成, 崔梅花. 幽门螺杆菌致病因子及其致病机制研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(10):8.
- [11] 张加坤, 谢春明, 白植斌, 等. 胃黏膜多部位联合取样在幽门螺杆菌培养与根除中的应用价值 [J]. *中国基层医药*, 2019, 26(2):208-210.
- [12] 朱文杰. 探讨碳 14 尿素呼气试验检测 HP 感染对消化道疾病的临床价值 [J]. *中国现代药物应用*, 2018, 12(5):39-40.
- [13] 洪军波, 刘东升, 汪安江, 等. 幽门螺杆菌根除效果的影响因素及机制研究进展 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(16):2593-2594.
- [14] Malfertheiner P, Megraud F, O' Morain CA, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht IV/Florence Consensus Report [J]. *Gut*, 2012, 61(5):646-664.
- [15] 汪平凡, 张高松, 高虎云, 等. 药敏实验指导及个体化治疗幽门螺杆菌感染的临床探讨 [J]. *中国医药指南*, 2014, 12(25):242-243.
- [16] Su P, Li Y, Li H, et al. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in the Southeast Coastal Region of China [J]. *Helicobacter*, 2013, 18(4):274-279.
- [17] 潘杰, 周晴接, 吴建胜, 等. 幽门螺杆菌高耐药地区基于人群耐药背景的幽门螺杆菌根除方案效果评价 [J]. *中华消化内镜杂志*, 2016, 33(11):743-746.

(收稿日期:2020-12-26)

(本文编辑:张一冰)