

浙江省台州地区2010—2013年幽门螺杆菌常用抗生素耐药监测

杨天敢 黎宏章 陈娇娥 曾万里 毛珺梁 张志华 杨军华
杨宁敏 屠苗颖 张建中

【摘要】 目的 了解浙江省台州地区幽门螺杆菌(HP)对常用抗生素的耐药谱。方法 收集2010年1月至2013年12月台州市4家医院住院及门诊39 099例胃镜检查患者的胃黏膜标本,进行HP分离培养;采用平板掺入法检测分离株对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、庆大霉素、左氧氟沙星和呋喃唑酮的耐药性。结果 共获得HP临床分离株13 038株,耐药检测显示,HP对甲硝唑的耐药率>93%,对阿莫西林、庆大霉素和呋喃唑酮的耐药率<0.5%。对左氧氟沙星和克拉霉素的耐药率较高,于2011年达到高点,此后耐药率逐年降低($P<0.01$);左氧氟沙星和克拉霉素的联合耐药率在2011年达到最高($P<0.01$),此后明显下降,但2013年与2012年相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 台州地区HP分离株对甲硝唑的耐药率最高,对阿莫西林、庆大霉素和呋喃唑酮耐药率较低,临床治疗应选用阿莫西林、庆大霉素和呋喃唑酮。左氧氟沙星和克拉霉素耐药率有下降趋势,但两药的联合耐药率未出现降低,多耐药株的出现及其原因应引起重视。

【关键词】 幽门螺杆菌; 抗生素; 耐药

Epidemiological study on antibiotic resistance among *Helicobacter pylori* in Taizhou district, Zhejiang, 2010–2013 Yang Tiangan¹, Li Hongzhang¹, Chen Jiaoe¹, Zeng Wanli¹, Mao Junliang², Zhang Zhihua³, Yang Junhua⁴, Yang Ningmin⁵, Tu Miaoying⁵, Zhang Jianzhong^{6,7}. 1 Sanmen People's Hospital of Zhejiang, Sanmen 317100, China; 2 The First People's Hospital of Wenling; 3 Xianju People's Hospital of Zhejiang; 4 The Second People's Hospital of Yuhuan; 5 Zhiyuan Medical Inspection Institute of Hangzhou; 6 State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention; 7 Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases
Corresponding author: Zhang Jianzhong, Email: zhangjianzhong@icdc.cn

This work was supported by grants from the National Science and Technology Support Projects for the "Twelfth Five-Year Plan" of China (No. 2012BAI06B02), Science and Technology Program of Zhejiang Province Public Technology Social Development Project (No. 2010C33035), Zhejiang Medical and Health Science and Technology Plan (No. 2012KYB248) and Zhejiang Medical Association Clinical Research Fund (No. 2013ZYC-A145).

【Abstract】 Objective To study the infection status of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and sensitivity to commonly used antibiotics in Taizhou district, Zhejiang province. **Methods** 39 099 cases aged between 5 and 95 years old (mean as 48.42 years) were involved during January 2010 to December, 2013 for this study. Sex ratio was 1 : 0.95. Yearly distribution of the number of cases were 5 031, 6 709, 11 902 and 15 457 in 2010, 2011, 2012 and 2013, respectively. Gastric mucosal specimens were collected and *H. pylori* strains were isolated and cultured in the same platform in Zhiyuan Medical Inspection Institute of Hangzhou. Resistance tests of all the *H. pylori* isolates were performed to 6 commonly used antibiotics: metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, gentamicin, levofloxacin and furazolidone with the agar dilution method. The antibiotic resistance rates of *H. pylori* strains isolated during year 2010–2013 and the changing trends were analyzed. **Results** Resistance

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.06.019

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划(2012BAI06B02);浙江省公益技术研究社会发展项目(2010C33035);浙江省医药卫生科技计划项目(2012KYB248);浙江省医学会临床科研基金(2013ZYC-A145)

作者单位:317100 浙江省三门县人民医院(杨天敢、黎宏章、陈娇娥、曾万里);温岭市第一人民医院(毛珺梁);仙居县人民医院(张志华);玉环县第二人民医院(杨军华);杭州致远医学检验所(杨宁敏、屠苗颖);中国疾病预防控制中心传染病预防控制所/感染性疾病诊治协同创新中心(张建中)

通信作者:张建中, Email: zhangjianzhong@icdc.cn

rates to levofloxacin and clarithromycin kept at higher level and the highest was in 2011 and then decreased in both 2012 and 2013 ($P < 0.01$). The resistance rates to both levofloxacin and clarithromycin reached the highest in 2011 ($P < 0.01$), and decreased thereafter, with no significant change in 2013 to 2012 ($P > 0.05$). **Conclusion** Antibiotic resistance rate against metronidazole for HP isolate was highest. Resistance rate against amoxicillin and furazolidone, gentamicin was low. Clinical treatment should choose amoxicillin and furazolidone, gentamicin. The resistance rates to levofloxacin and clarithromycin had been seen at a significantly downward trend since 2011. However, the combined resistance rates to levofloxacin and clarithromycin did not seem to reduce since 2012.

[Key words] *Helicobacter pylori*; Antibiotic; Drug resistance

幽门螺杆菌(HP)为慢性胃炎、消化性溃疡和胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤(MALT)的重要病因,与胃癌发生密切相关^[1-4]。1994年WHO国际癌症机构(LARC)正式将HP列为第一类致癌因子,且越来越多的研究表明根除HP可显著降低胃癌发生率。近十几年来,由于HP耐药率不断增高,HP根除治疗一线方案由二联疗法相继变为三联疗法、四联疗法或序贯治疗^[1-5],但根除率仍不断下降,特别是在我国,在耐药率严重的许多大中城市,目前HP根除率只有70%左右。根据HP国内外的临床共识,当某些抗生素耐药率过高时应采用基于HP耐药性测定的个体根除方案。目前我国甲硝唑、克拉霉素和左氧氟沙星等一线药物的耐药率已远远超过警戒线。随着多耐药和难治性HP感染病例不断增加,应考虑实施基于人群的HP耐药性检测方案。为此,本研究在2010年对临床分离株幽门螺杆菌进行6种常用抗生素(左氧氟沙星、甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、庆大霉素和呋喃唑酮)耐药性检测的基础上^[6],于2011—2013年采集样品,进行HP菌株分离和耐药性检测,并对连续4年的耐药水平及变化特征进行分析,以期制定我国各地人群HP耐药监测方案和基于人群HP耐药检测的根除方案提供参考。

资料与方法

1. 研究对象:2010—2013年浙江省三门县人民医院、温岭市第一人民医院、仙居县人民医院和玉环县第二人民医院在严格伦理学审查和患者知情同意的前提下,随机收集39 099例住院及门诊胃镜检查患者(患有胃炎、胃溃疡和胃癌)胃黏膜标本,年龄5~95岁,平均48.42岁,性别比为1:0.95。2010—2013年分别有5 031、6 709、11 902和15 457例纳入本研究。

2. 样本采集与菌株分离:胃黏膜的采集、运输和HP的分离培养、鉴定按参考文献[7]进行,全部标本集中送至杭州致远医学检验所进行HP分离培养、鉴定。选取菌落形态典型、经涂片镜检菌体形

态符合且氧化酶、过氧化氢酶和尿素酶菌试验阳性的HP,在增菌培养后收取菌苔,采用生理盐水稀释调整浓度至2个麦氏单位,用于后续抗生素敏感性检测。

3. 抗生素敏感性检测:采用平板掺入法^[7,8],将6种不同抗生素溶液分别加入琼脂中稀释成相应的临界点耐药浓度,倾注平板;用移液器吸取2 μ l已配制好的菌悬液按顺序将不同菌株接种于抗生素平皿上,待其干燥后,置于微需氧(5% O₂、10% CO₂、85% N₂和湿度>80%)环境下培养72 h后判读药敏结果;若接种点有菌生长则该菌株判读为耐药。临界点耐药值的设定标准为:甲硝唑8 μ g/ml、克拉霉素1 μ g/ml、阿莫西林2 μ g/ml、庆大霉素16 μ g/ml、左氧氟沙星2 μ g/ml和呋喃唑酮2 μ g/ml^[7-10]。实验均重复2次,以NCTC11637作为质控菌株。

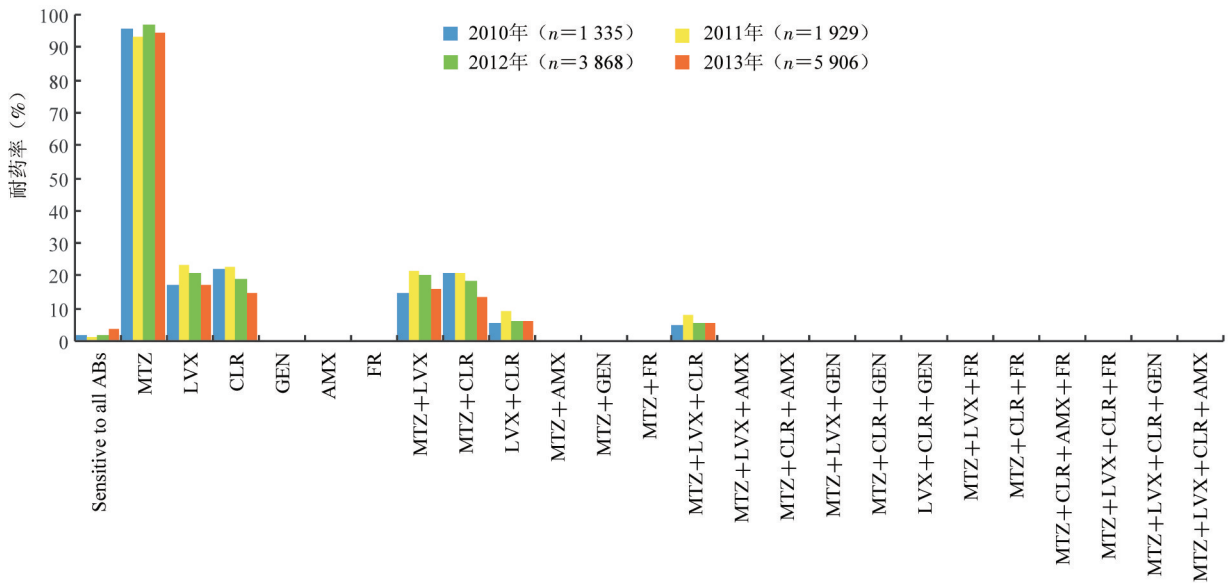
4. 统计学分析:应用SPSS 18软件,采用 χ^2 检验对组间HP耐药率差异进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. HP培养:共39 099份胃黏膜标本进行HP培养,对可疑菌落经涂片镜检形态典型,尿素酶试验、过氧化氢酶和过氧化物酶试验阳性者确定为HP,共获得HP临床分离株13 038株,其中自2010—2013年人群标本分别分离获得HP菌株1 335、1 929、3 868和5 906株。

2. 药敏试验:13 038株HP的药敏试验结果见图1、表1。结果显示,HP对甲硝唑的耐药率一直高于93%;对阿莫西林、庆大霉素和呋喃唑酮的耐药率低于0.5%;对左氧氟沙星和克拉霉素的耐药率持续处于较高水平,于2011年达到高点,此后耐药率逐年降低(左氧氟沙星组 $\chi^2 = 51.538$,克拉霉素组 $\chi^2 = 99.168$, $P < 0.01$),见图2。

与左氧氟沙星和克拉霉素单一药物的耐药率自2011年后逐渐下降相对应,左氧氟沙星和克拉霉素的联合耐药率在2011年达到最高($\chi^2 = 25.978$, $P <$



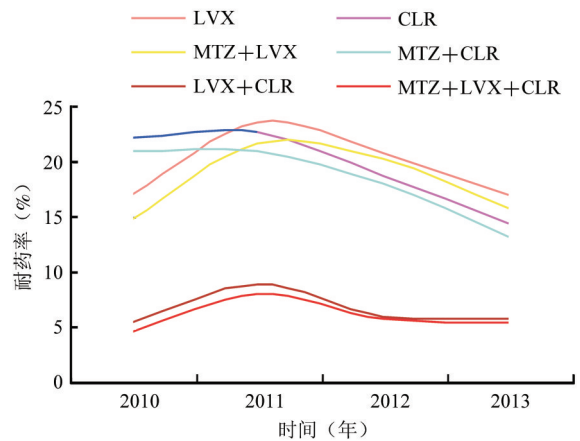
注:MTZ:甲硝唑; LVX:左氧氟沙星; CLR:克拉霉素; AMX:阿莫西林; GEN:庆大霉素; FR:呋喃唑酮

图1 2010—2013年台州地区HP菌株对不同抗菌药物及其组合的耐药率

表1 2010—2013年台州地区HP菌株对6种抗菌药物的药敏试验

抗菌药物	耐药率(%)			
	2010年 (n=1 335)	2011年 (n=1 929)	2012年 (n=3 868)	2013年 (n=5 906)
MTZ	95.51	93.16	96.92	94.65
LVX	17.08	23.54	20.86	17.07
CLR	22.17	22.81	18.77	14.43
GEN	0	0.26	0	0
AMX	0.30	0.16	0	0
FR	0.15	0.10	0	0
MTZ+LVX	14.83	21.72	20.29	15.87
MTZ+CLR	20.97	21.10	18.12	13.34
LVX+CLR	5.47	8.97	6.07	5.94
MTZ+AMX	0.30	0.16	0	0
MTZ+GEN	0	0.21	0	0
MTZ+FR	0.15	0.10	0	0
MTZ+LVX+CLR	4.71	8.14	5.82	5.54
MTZ+LVX+AMX	0	0	0	0
MTZ+CLR+AMX	0.22	0.16	0	0
MTZ+LVX+GEN	0	0.16	0	0
MTZ+CLR+GEN	0	<0.1	0	0
LVX+CLR+GEN	0	<0.1	0	0
MTZ+LVX+FR	<0.1	0.10	0	0
MTZ+CLR+FR	<0.1	<0.1	0	0
MTZ+CLR+AMX+FR	0	0	0	0
MTZ+LVX+CLR+FR	0	<0.1	0	0
MTZ+LVX+CLR+GEN	0	0	0	0
MTZ+LVX+CLR+AMX	0	0	0	0
合计	1.80	1.18	2.12	3.47

注:同图1



注:同图1

图2 2010—2013年台州地区HP菌株耐药率变化

0.01),此后明显下降,但2013年与2012年相比,差异无统计学意义($\chi^2=0.073, P>0.05$)。

甲硝唑的耐药率持续处于高水平,与其他单一或2种抗生素的耐药率组合并未明显影响其他抗生素耐药率的变化趋势。

讨论

克拉霉素和左氧氟沙星是目前应用最广泛的一线抗HP药物。本研究显示,该两种药物单独使用时的耐药率已经超过了经验用药的可接受范围,联合用药同时耐药的菌株仍超过5%,虽然这两种药物的高耐药率在2012年后有明显下降趋势,但联合耐药率仍很高,这将造成多耐药性HP菌株和难治性HP感染病例出现。根据“第四次全国幽门螺杆菌

菌感染处理共识报告”,不可避免地由高耐药人群的初次与补救治疗中,使用这两种易产生耐药的抗生素。但这两种药物是在临床用于根除HP的策略存在问题,还是使用背景因素造成高耐药率,值得进一步探讨。

由于甲硝唑曾为治疗HP感染的一线药物,目前HP对甲硝唑的耐药极其普遍。据Su等^[7]报道,HP对甲硝唑的耐药率在我国东南沿海省份达93.5%~96.5%,明显高于发达国家。本研究对固定人群4年的耐药率连续监测数据显示,始终处于93%以上的超高耐药水平,并未观察到降低趋势;鉴于该药价格低廉,且国内外普遍认为存在实验室药敏结果与临床用药根除结果严重背离的现象,提示甲硝唑的耐药判断标准有待修正,并有望使目前处于低甲硝唑耐药水平的大量菌株成为含甲硝唑方案的使用对象,对我国具有重要的公共卫生意义。

本研究显示,阿莫西林、庆大霉素和呋喃唑酮的HP耐药率持续处于很低水平,为达到良好的HP根除效果和降低多耐药菌株的出现,应在根除方案中注重对此类药物的选择和效果评价;特别是以不被肠道吸收为特征的庆大霉素,因在80年代末90年代初我国HP治疗中的优良表现和当前的低耐药率^[11],其在HP根除治疗方案中的独特位置值得重视。

参 考 文 献

- [1] Chinese Society of Gastroenterology, Chinese Study Group on *Helicobacter pylori*. Fourth Chinese National Consensus Report on the management of *Helicobacter pylori* infection [J]. Chin J Intern Med, 2012, 51(10): 832-837. (in Chinese)
中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 中华内科杂志, 2012, 51(10): 832-837.
- [2] Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, et al. *Helicobacter pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline[J]. J Gastrointest Liver Dis, 2011, 20(3): 299-304.
- [3] Fock KM, Katelaris P, Sugano K, et al. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(10): 1587-1600.
- [4] 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.
- [5] Couturier MR, Marshall BJ, Goodman KJ, et al. *Helicobacter pylori* diagnostics and treatment: could a lack of universal consensus be the best consensus? [J]. Clin Chem, 2014, 60(4): 589-594.
- [6] Li HZ, Yang TG, Zeng WL, et al. Analysis on antibiotic resistance of 1 030 *Helicobacter pylori* strains isolated in hospital in Taizhou area, Zhejiang province [J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32(6): 636. (in Chinese)
黎宏章, 杨天敢, 曾万里, 等. 浙江省台州地区 1 030 株幽门螺杆菌临床分离株耐药性分析[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(6): 636.
- [7] 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.
- [8] Liu GD, Xu XW, He LH, et al. Primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from Beijing children [J]. Helicobacter, 2011, 16(5): 356-362.
- [9] Qiu CQ. The efficacy of the treatment of chronic gastritis with gentamicin [J]. J Pract Med, 1989, 18(5): 49-50. (in Chinese)
邱春强. 庆大霉素治疗慢性胃炎的疗效观察[J]. 实用医学杂志, 1989, 18(5): 49-50.
- [10] Zhou LY, Zhang JZ, Chen MH, et al. A comparative study of sequential therapy and standard triple therapy for *Helicobacter pylori* infection: a randomized multicenter trial [J]. Am J Gastroenterol, 2014, 109(4): 535-541.
- [11] Megraud F, Coenen S, Versporten A, et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption [J]. Gut, 2013, 62(1): 34-42.

(收稿日期: 2014-05-12)

(本文编辑: 王岚)