·综　述·

幽门螺杆菌致病性及耐药性研究

杜　刚[1]，左强强[2]综述，冯　琴[2]审校

（1. 克拉玛依市中心医院检验科，新疆克拉玛依 834000；2. 新疆克拉玛依市第二人民医院检验科，新疆克拉玛依 834009）

关键词：幽门螺杆菌；　致病性；　耐药性；　预防；　治疗

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.041　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1673-4130(2015)20-3018-03

幽门螺杆菌（HP）与消化道疾病如慢性活动性胃炎、十二指肠溃疡、胃溃疡、胃十二指肠黏膜相关性淋巴瘤以及胃癌等密切相关，并被世界卫生组织（WHO）癌症相关研究组织归为Ⅰ类致癌原[1]。随着研究的深入，HP 不仅与胃肠疾病，特别是胃癌关系密切，还可能与一些胃肠外疾病如呼吸、造血系统疾病、心血管系统疾病等有关[2]。对于 HP 感染者，大约 10%～20%会发生消化性溃疡，1%～2%会发生胃癌及淋巴瘤，由于其可以引起从慢性非萎缩性胃炎-萎缩性胃炎-化生-异形增生-癌变的典型病程，约有 60%～80%的消化性溃疡由 HP 感染引起，而且在功能性消化性不良中发挥了重要作用。因此，有关 HP 感染的问题是全世界临床医师关心的问题之一。流行病学调查结果显示经济发达地区感染率较经济落后地区低，胃癌的发病率也低。Sonnenberg 等[3]利用中心实验室数据库对美国居民共 78 985 人的活检资料进行回顾性分析，结果显示 HP 感染率仅为 7.5%。我国属于 HP 染率较高的发展中国家。在一项由我国 HP 科研协作组于在 2002～2004 年进行的一项 HP 流行病学调查，包括 19 个省市自治区、39 个研究中心共 26 341 人，显示总感染率为 56.22%，间接粪-口传播和生活条件是重要危险因素，多数儿童期即被传染[4]。体内实验大都显示出根除 HP 的胃炎、消化溃疡的实验组比对照组在治愈率、预后等方面具有显著差异，体外实验也从细胞分子水平观测到了 HP 具有的强大的对 Wnt/β-catenin 等蛋白信号途径的异常激活作用，从而引起 β-catenin 蛋白向细胞核内的移位，上调了其下游 LEF/TCF 依赖的靶基因 CyclinD、c-myc、c-jun 和 axin2 的表达，调控了细胞的周期、凋亡，促进了细胞增殖、迁移和肿瘤的生成[5-6]。但是对于不同型别的 HP 感染在致病性、耐药性及针对性治疗方面尚缺乏大规模分子实验及临床统计数据，进而影响了根除指征的确定及根除成功率。由于现在对 HP 分子结构功能的研究已日趋完善，本文重点阐述当前 HP 感染在检测、预防、治疗及耐药方面的相关研究进展。

1　HP 感染的实验室检查

采用特异性、敏感性好的方法检测 HP 对胃肠内和胃肠外相关疾病早期诊断、治疗和流行病学预防具有重要意义。目前已相继开发了多种方法用于 HP 感染的诊断。依据取材有无创伤性，可将 HP 的诊断方法分为两类。（1）侵入性的检测：指依赖胃镜取材的检测方法，此方法准确率高，但存在活检标本采样有损伤性和病灶分布不均的缺点。（2）非侵入性的检测：指不依赖胃镜的检测方法，其准确率稍差，但为无创操作，患者易接受，且一般不受病灶分布不均的影响，尤其 C14 或 C13 呼气试验是针对分布在胃中的活动性 HP 感染进行全面的实时半定量分析，为今后发展的方向。

侵入性检测方法虽然特异性高，尤其是细菌培养和组织病理学检测可以达到 100%，可以作为诊断 HP 感染的“金标准”，而快速尿素酶实验的特异性和敏感性也在 90%以上，可以作为侵入性检测的首选方法，目前，内镜活检及培养实验是公认的确诊方法，由于其具有创伤性，尚没有大规模普及，但是随着 HP 耐药性升高以及与胃癌关系的不断阐明，在 HP 感染率高及胃癌高发地区，尤其在中国，内镜活检及药敏试验将成为临床治疗的一项重要参考指标。

非侵入性检测包括 C14 或 C13 呼气试验、粪便 HP 抗原的检测等。非侵入性试验仅能获得有无 HP 感染的信息，而不能确定存在的胃、十二指肠器质性疾病，因此主要用于根除 HP 治疗后的复查。而根据新的共识，对于 45 岁以上的无特殊症状患者、45 岁以下有消化不良患者以及主动要求检测的患者，HP 感染的检测首选非侵入性检测，不主张开始就采用侵入性检测。这一点由于医疗环境问题，国内尚无法达到，主要原因包括国内儿童 HP 感染率较高、医患关系紧张，东亚型 HP 菌株的致癌力强于西方型，国内内镜技术成熟且成本低廉。

尿素呼气试验（UBT）是一种简便、快速、敏感性、特异性高，可以较好地显示 HP 胃肠感染状况的检查方法，可对胃 HP 感染密度作半定量评估，并且能够克服由于 HP 在胃内灶状分布造成的取样误差。C13 放射性核素相对稳定，可用于儿童和孕妇；C14 检测成本较低，更适合于成人。目前国际上特别推荐 UBT，认为单项试验就能够评估抗 HP 治疗后的疗效，是目前共识中首选推荐的检查方法。但该试验在胃部分切除术后的患者中应用时，由于患者胃部排空过快，胃酸减少及胆汁等抑制等使得产尿素酶（Ure）的非 HP 生长过度，可造成假阴性和假阳性。

HP 抗原试验用于粪便检测，是近年新开发的一种 HP 检测方法，可以快速、简便地收集标本，该实验采用了多克隆抗 HP 抗体检测抗原，因此具有特异性和敏感性高的优点，而且，阳性也可以反映活动性感染。在抗 HP 治疗前的检测准确率与 C14 或 C13-UBT 相当，与 UBT 相比，该试验的另一个优点是其检测不受胃部手术的影响。此联合检测的优势极大地促进了非侵入性检测的敏感性和准确性，为其在 HP 根除治疗前后的应用及替代侵入性检测提供了进一步的依据。此项检查在最新共识中已列为与 UBT 并列的首选检查方法[7]。

2　HP 感染的预防

HP 感染的预防分为三级预防，其中一级预防包括 HP 疫

作者简介：杜刚，女，主任检验技师，主要从事临床微生物及免疫的研究。

苗的应用,是公认的最为理想的方法,已成为当今世界研究竞争的热点领域。由于我国是 HP 高感染率的国家,超过一半的人口其中包括有相当多的儿童被感染,且 HP 菌株是致癌毒性更强的东亚型,因此按照攻毒模型,我国急需 HP 疫苗一类的一级预防措施。

HP 疫苗的产生,大致有以下优势。(1)解决经济水平较落后、人口相对密集造成的流行。(2)先有针对性地阻断尚未获得感染儿童的感染机会,减少接种范围,逐渐提高受保护人群的范围,提高效益比。(3)减少抗菌药物+质子泵抑制剂(PPI)或铋剂的根除治疗带来的越来越严重的耐药和反复感染的问题。(4)随着基因组学和蛋白质组学的发展,疫苗的有效性和安全性问题正在不断解决,成本也在迅速降低。(5)最重要的是可以显著减少我国胃癌的发病率,特别是发病年龄较发达国家早等一系列问题。(6)临床上多用三联或者四联疗法治疗 HP 感染。尽管该方案均能有效地清除已感染的 HP,但存在再次感染、诱导耐药菌株流行、药物不良反应、费用较高和患者依从性差等问题。

近年来,HP 研究的国际热点正在转向 HP 疫苗的研究。第一种较为成熟的方法是 HP 全菌体灭活疫苗。HP 全菌体疫苗主要成分为菌体超声破碎物和甲醛溶液灭活的全菌体。疫苗研究早期,主要应用 HP 全菌体粗制抗原免疫小鼠,可以产生高效的局部黏膜免疫应答。Raghavan 等[8]应用甲醛灭活后的 HP SS1 全菌体与霍乱毒素免疫 C57BL/6 小鼠,发现其能有效抑制 HP 感染并控制再次感染。但是 HP 全菌体粗制抗原成分复杂,存在不良反应较大,并且由于 HP 是微需氧型细菌,对培养的氧浓度、温度、湿度和营养条件要求苛刻,仍然难以大量获得。

第二种方法是亚单位疫苗,随着生物工程技术的发展,亚单位疫苗正在应用到越来越多的人类微生物感染的防治中去。Ure、热休克蛋白、空泡毒素、细胞毒素相关蛋白 A、过氧化氢酶和黏附素(HpaA)等相关亚单位疫苗,特别是 UreA 和 UreB 亚单位疫苗的优势明显。其中 Ure 和 HpaA 是 HP 侵袭和生存的关键[9-10]。Ure 由 A、B 两个亚单位组成,暴露在细胞表面,其能在胃内强酸性环境下,于细菌周围形成“氨云”,有效地抵抗胃酸破坏,Ure 浓度丰富,为全菌体蛋白的 5%～10%,同时能较广泛的表达于细菌菌体表面,具有相对分子质量较大、颗粒状结构等优势,因此成为 HP 疫苗中新的保护性抗原之一。Liu 等[11]将 Ure 重组的伤寒沙门菌 SL3261 株,口服免疫小鼠,12 周后发现胃黏膜中出现大量的 IgA 抗体,血清中出现大量的 IgG,以及 C-干扰素等保护性细胞因子的分泌,成功地控制了胃黏膜炎症的发展。Smythies 等[12]将 HP UreB 基因替代脊髓灰质炎病毒的衣壳基因,将重组后的病毒免疫接种小鼠,同样使得小鼠获得了抗感染的能力。Huang 等[13]构建了外膜蛋白 OMP 和 HpaA 的双价疫苗,以大肠杆菌无毒突变体联合口服小鼠感染模型,结果显示可以显著减少小鼠胃部 HP 的菌载量。

相关的临床试验也显示出了其有效性。有研究以 Ure 加大肠杆菌不耐热毒素(LT),经口服接种于已感染 HP 的 26 名志愿者,均可产生明显抗 Ure IgA,虽然志愿者 66%的出现腹泻,但尚能耐受。Antex Biologics 灭活全菌疫苗于 2000 年开始进行临床观察,接受免疫的志愿者同时产生了全身和黏膜免疫应答,同时有较好的安全性[14]。考虑到 LT 佐剂的毒性作用,人们采用减毒的突变体 LTR192G,与灭活的全菌体口服免疫感染和未感染者,结果在最大剂量的情况下(2×10^5 个 HP),免疫应答增强且腹泻发生率为 18%[15]。发达国家的相关疫苗的研究开发已有了重要的进展,至于为何迟迟没有正式上市,可能与 HP 疫苗的成本较高和不良反应较强、单一保守的亚单位疫苗的免疫原性不高、缺乏良好的免疫佐剂及黏膜免疫和全身免疫之间的关系及机制特点尚无法获得准确的阐明等原因阻碍了各型疫苗的转化效率。由于大多数 HP 感染可以根除,因此在疫苗大规模接种之前,采用各种措施预防和根除 HP 感染尽可能早地终止根除-耐药-复发的恶性循环便成为了全世界各国医师面临的首要任务。

3　HP 感染的治疗

HP 耐药是导致治疗失败的主要原因,目前国内 HP 耐药性已十分普遍,尤其是甲硝唑、克拉霉素在大部分地区已不再将其作为首选药物,其他药物的耐药性则呈现出较大的地域差异性和时间差异性,而目前 HP 多重耐药问题也不断出现。在一项对 6 280 例胃镜检查患者的 HP 培养及多重耐药性分析中发现,对甲硝唑和克拉霉素双重耐药率达到 15%,对甲硝唑、克拉霉素和左氧氟沙星多重耐药率达到 12.8%[16],对于 HP 耐药性的分子机制主要是药物作用的相关靶点的基因突变导致。因此,通过基因检测将成为今后根除失败患者的分析及调整治疗的手段,成为个体化治疗的重要依据。三联疗法和四联疗法为当前根除 HP 感染的常用方案,由于耐药率的不断上升,三联疗法的根除率已经明显下降,四联疗法逐渐被国际广泛采用,面对部分地区新的耐药率上升的问题,新的根除方案如序贯疗法、开发新型抗菌药物以及配合益生菌治疗的研究都有明显的进展。对于标准三联疗法,除少数国家和地区尚能保持在 80%以上,日本和欧洲大部分国家已经低于 80%,中国的 HP 根除率已明显低于 80%[17],因此,作为标准三联疗法选用的克拉霉素、阿莫西林或甲硝唑,由于日益严重的耐药性问题,新的共识中将克拉霉素耐药率大于 20%的地区的一线用药定为含铋剂的或不含铋剂的四联疗法(伴同疗法和序贯疗法),而耐药率为 15%～20%的地区改为可以不行药敏试验而选用标准三联疗法或含铋剂四联疗法。当一线、二线用药失败后,三线用药则必须根据药敏试验选用,因为此时患者极有可能多重耐药,但是,根据药敏试验的治疗在一系列共识中推荐级别均不高,主要原因可能是目前药敏试验推广难度较大,存在成本与效益比问题以及缺少大量具有显著意义的临床实验数据。

含铋剂的四联疗法,即 PPI 加铋剂和两种抗菌药物,能有效提高 HP 根除效果且成本较低,减少抗菌药物的联合,为二线、三线的用药提供了重要的选择机会,采用该四联疗法连续治疗 10 d,其根除率可达到 90%以上,目前,国际及国内共识均将其推荐为一线治疗方案[17-19]。

总之,最新的共识已将根除 HP 感染作为预防胃癌的最有效的策略[20],当前我国的 HP 感染率及胃癌发生率较高,但是我国的耐药性问也日益严重,严重影响了根除治疗的效果,并可能造成复发耐药的后果,增加治疗成本,故此较为合理的方式是根据最新共识,将具有胃癌高危因素的人群、HP 相关消化性疾病、功能性消化不良慢性胃炎患者和要求根除治疗的患者均列为 HP 根除对象,尽可能行内镜活检及药敏试验以避免漏检胃癌患者及提高根除治疗的成功率,还应配合相关措施保护儿童免受 HP 的感染。通过合理治疗以及 HP 疫苗研发和应用,可以逐步降低 HP 在我国的感染率以及 HP 相关疾病带

来的问题，并逐渐减少与发达国家的差距。目前各种实验进展的临床转化速度越来越快，例如在基因工程疫苗方面的新一代核酸疫苗，以及利用基因工程技术将保护性抗体大规模生产用以口服被动治疗，或者将安全有效的保护性抗原通过转基因植入植物当中，利用植物的真核细胞系统进行有效地加工后，通过日常饮食可有效地刺激胃肠黏膜免疫，再配合全身免疫可以达到长期预防和治疗的效果均有潜力成为替代当前高耐药根除疗法的候选方案。令人欣慰的是一些新型的治疗方式已经获得了理想的实验效果，在进一步改进和验证后，希望能早日向临床转化，以解决抗菌药物耐药带来的严重问题。

参考文献

[1] Achyut BR, Ghoshal UC, Moorchung N, et al. Transforming growth factor-B1 and matrix metalloproteinase-7 promoter variants induce risk for Helicobacter pylori-associated gastric precancerous lesions[J]. DNA Cell Biol, 2009, 28(6): 295-301.

[2] 黎莉，杨卫文，杨景林. 幽门螺杆菌感染与胃肠外疾病的关系[J]. 河北联合大学学报：医学版，2013，15(2)：182-184.

[3] Sonnenberg A, Lash RH, Genta RM. A National study of Helicobactor pylori infection in gastric biopsy specimens[J]. Gastroenterology, 2010, 139(6): 1894-1901.

[4] 张万岱，胡伏莲，萧树东，等. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查[J]. 现代消化及介入诊疗，2010，15(5)：265-270.

[5] Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways[J]. Trends Cell Biol, 2009, 19(3): 119-129.

[6] Nagy TA, Wroblewski LE, Wang D, et al. β-Catenin and p120 mediate PPARδ-dependent proliferation induced by helicobacter pylori in human and rodent epithelia[J]. Gastroenterology, 2011, 141(2): 553-564.

[7] 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.

[8] Raghavan S, Hjulstrom M, Homlgren J, et al. Protection against experimental Helicobacter pylori infection after immunization with inactivated H. pylori whole-cell vaccines[J]. Infect Immun, 2002, 70(11): 6383-6388.

[9] Strugatsky D, Mcnulty R, Munson K, et al. Structure of the proton-gated urea Channel from the gastric pathogen Helicobacter pylori[J]. Nature, 2013, 493(7431): 255-258.

[10] Flach CF, Svensson N, Blomquist M, et al. A truncated form of HpaA is a promising antigen for use in a vaccine against Helicobacter pylori[J]. Vaccine, 2011, 29(6): 1235-1241.

[11] Liu X, Hu J, Zhang X, et al. Oral immunization of mice with attenuated Samlonella typhmiurium expressing Helicobac ter pylori-urease B subunit[J]. ChinMed J, 2002, 115(10): 1513-1516.

[12] Smythies LE, Novak MJ, Waites KB, et al. Poliovirus replicons encoding the B subunit of Helicobacter pylori urease protect mice against H. pylori infection[J]. Vaccine, 2005, 23(7): 901-909.

[13] Huang X, Xu B, Duan G, et al. The rOmp22-HpaA fusion protein confers protective immunity against helicobacter pylori in mice [J]. Curr Microbiol, 2013, 67(4): 487-492.

[14] Giudice GD. Helivax Antex Biologics[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2001, 2(7): 896-899.

[15] Summerton NA, Welch RW, Bondoc L, et al. Toward the development of a stable, freeze-dried formulation of Helicobacter pylori killed whole cell vaccine adjuvanted with a novel mutant of Escherichia coli heat-labile toxin[J]. Vaccine, 2010, 28(5): 1404-1411.

[16] 冀子中，金夏，韩丰，等. 2 311 株分离自不同年龄段患者的幽门螺杆菌的多重耐药性分析[J]. 中华消化杂志，2013，33(12)：826-830.

[17] 徐采朴. MaastrichtⅣ共识报告有关幽门螺杆菌感染治疗的新策略[J]. 现代消化及介入诊疗，2013，(3)：189-192.

[18] 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.

[19] 甘伙烨，彭铁立，赵琳丽，等. 标准三联疗法四联疗法及序贯疗法根除幽门螺杆菌的疗效观察[J]. 山西医药杂志，2014，43(3)：258-260.

[20] 中华医学会消化病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]. 内科理论与实践，2013，51(1)：54-60.

(收稿日期：2015-04-08)

·综　　述·

KPC 型碳青霉烯酶的研究现状与进展

朱天成 综述，陶庆春△ 审校

(北京中医药大学第三附属医院检验科，北京 100029)

关键词：碳青霉烯酶；　肺炎克雷伯菌；　耐药机制；　基因型

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.042　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2015)20-3020-05

随着抗菌的药物的滥用，临床上耐药细菌不断出现，给感染性疾病的诊断与治疗带来了严重的困难，严重威胁广大人民群众的身体健康，给公共卫生事业带来了严峻挑战。然而 KPC 型碳青霉烯酶的流行让碳青霉烯类抗菌药物作为革兰阴性菌的最后一道防线的地位受到严重威胁，所以有必要对 KPC 型碳青霉烯酶进行综述，增进对耐药菌传播机制与流行情况的了解，以指导临床用药与科研。

1　KPC 型碳青霉烯酶的流行病学

1.1　KPC 型碳青霉烯酶的发现　KPC 型碳青霉烯酶于 1996 年首次在美国本土被发现，首见于北卡罗来纳州的 1 株肺炎克雷伯菌中，该细菌对美罗培南与亚胺培南不敏感，但是克拉维酸可以抑制其大部分活性[1]。共有 3 种碳青霉烯酶通过等电聚焦电泳实验被发现，即 TEM-1，SHV-29，KPC-1。通过质粒转染接合实验发现：对亚胺培南、美罗培南、超广谱头孢菌素和

作者简介：朱天成，男，硕士研究生在读，主要从事临床微生物学研究。　△　通讯作者，E-mail：taoqc@sohu.com。