

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.005

View this article at: https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.005

101例胃黏膜幽门螺杆菌感染耐药基因突变分析

娄丽萍¹, 张文迪²

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所, 武汉 430030;

2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 武汉 430030)

[摘要] 目的: 比较荧光定量PCR方法与免疫组织化学法检测胃黏膜活检样本中幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *Hp*)感染率, 评估荧光定量PCR方法检测*Hp*对克拉霉素和左氧氟沙星耐药性的可行性。方法: 分别通过荧光定量PCR方法与免疫组织化学法检测101例胃黏膜*Hp*感染情况, 并比较两种方法检测*Hp*的阳性率, 然后通过荧光定量PCR法检测*Hp*阳性样本中23S rRNA和GYRA的基因突变情况, 再用Sanger测序法分析23S rRNA基因与GYRA基因突变类型。结果: 101例胃黏膜样本中PCR法检测出*Hp*阳性70例(69.31%), *Hp*阴性31例(30.69%); 免疫组织化学法检测出*Hp*阳性68例(67.33%), *Hp*阴性33例(32.67%); 两种方法检测*Hp*阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。70例荧光定量PCR法检测*Hp*阳性样本中克拉霉素耐药30例(42.25%), 左氧氟沙星耐药15例(21.13%), 其中有8例(11.27%)对克拉霉素与左氧氟沙星双重耐药, 克拉霉素与左氧氟沙星敏感型33例(47.14%)。结论: 荧光定量PCR方法与免疫组织化学法检测*Hp*均具备较好的阳性检出率, 荧光定量PCR法不仅可以检测*Hp*感染还能进行抗*Hp*相关抗生素的耐药性检测, 具有快速、准确的特点, 对指导个体化治疗具有临床意义。

[关键词] 幽门螺杆菌; 克拉霉素; 左氧氟沙星; 耐药; 荧光定量PCR

Gene mutation and drug resistance analysis for 101 cases of gastric *Helicobacter pylori* infection

LOU Liping¹, ZHANG Wendi²

(1. Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030;

2. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract **Objective:** To compare the infection rate of *Helicobacter pylori* (*Hp*) in gastric mucosal biopsy samples by fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry, and to evaluate the feasibility of fluorescence quantitative PCR in detecting the resistance of *Hp* to clarithromycin and levofloxacin. **Methods:** A total of 101 cases of *Hp* infection in gastric mucosa were detected by fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry, and the infection rates of the 2 methods were compared. Then, 23S rRNA and gyrA gene mutations in *Hp* positive samples were detected by fluorescence quantitative PCR, and the mutation types of 23S rRNA gene and gyrA gene were analyzed by Sanger sequencing. **Results:** Among 101 gastric mucosa samples, 70

收稿日期 (Date of reception): 2022-03-06

通信作者 (Corresponding author): 张文迪, Email: wdzhang@outlook.com

cases (69.31%) were *Hp* positive and 31 cases (30.69%) were *Hp* negative by PCR; 68 cases (67.33%) were *Hp* positive and 33 cases (32.67%) were *Hp* negative by immunohistochemistry. There was no significant difference in the positive rate of *Hp* between the 2 methods ($P>0.05$); Among 70 *Hp* positive samples detected by fluorescence quantitative PCR, 30 cases were clarithromycin resistant (42.25%), 15 cases were levofloxacin resistant (21.13%), of which 8 cases (11.27%) were dual resistant to both clarithromycin and levofloxacin. Besides, 33 cases were sensitive to clarithromycin and levofloxacin (47.14%). **Conclusion:** Both fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry have a good positive rate in the detection of *Hp*. Fluorescence quantitative PCR can not only detect *Hp* infection, but also reveal the drug resistance of anti *Hp* related antibiotics. PCR shows good rapidity and accuracy, with great clinical significance in guiding individualized treatment.

Keywords *Helicobacter pylori*; clarithromycin; levofloxacin; resistance; real-time PCR

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *Hp*)是胃癌发生的决定性因素之一^[1]。胃癌占有所有癌症的5.5%, 每年造成70万人死亡^[2], 是最常见的与感染相关的癌症类型之一, 而超过60%的胃癌病例是由*Hp*感染引起的^[3]。*Hp*的治疗主要采用四联疗法: 铋剂、质子泵抑制剂联合2种抗生素, 但是*Hp*的抗生素耐药性是临床实践中根除*Hp*失败的主要原因^[4]。因此, 早期发现*Hp*并检测其耐药性有助于医疗人员合理选择抗生素, 提高治疗成功率且避免抗生素滥用。目前传统的*Hp*耐药性检测的临床方法是药物敏感性测试, 由于药物敏感性测试需要体外培养*Hp*, 需要苛刻的细菌培养条件, 很难在临床上推广使用^[5]。克拉霉素和左氧氟沙星作为常用抗生素, 耐药率高并呈逐年上升趋势^[6]。目前已经明确克拉霉素耐药主要是*Hp* 23S rRNA基因V区A2143G、A2142G突变所导致^[7], 左氧氟沙星耐药主要是*Hp* GYRA基因喹诺酮耐药决定区(QRDR)发生突变所导致, 以第87、91位氨基酸变化最为常见^[8]。本研究将对荧光定量PCR方法与免疫组织化学法检测*Hp*感染率进行比较, 并通过荧光定量PCR法检测*Hp*阳性样本中*Hp* 23S rRNA和GYRA基因突变, 最后通过Sanger测序法检测23S rRNA基因与GYRA基因突变类型, 以此评估*Hp*分子生物检测法的可行性, 推进*Hp*耐药性检测方法的改进和实施, 为临床上精准实施个体化治疗提供思路。

1 对象与方法

1.1 对象

2020年10月至2021年3月华中科技大学同济医学院附属同济医院(以下简称我院)病理科收到的胃镜胃黏膜标本101例。其中男69例, 女32例; 年龄2~81(中位54)岁。本研究已获得我院医学伦理委员会批准(审批号:

TJ-IRB20220446)。

1.2 主要仪器及用途

AUTOSTAINER 720免疫组织化学仪(美国Thermo Scientific公司)用于*Hp*的免疫组织化学染色, 核酸提取仪MagCore HF16(芮宝生物医药科技有限公司)用于核酸提取, 实时荧光定量PCR仪Mx3000P(美国安捷伦公司)用于*Hp*感染、*Hp* 23S rRNA和GYRA基因突变检测, 通用PCR仪Veriti96(美国应用生物系统公司, ABI)用于PCR扩增产物的SAP-ExoI酶解纯化及纯化产物的测序反应, 基因测序仪3500DX(美国应用生物系统公司, ABI)用于Sanger法基因测序。

1.3 主要试剂

*Hp*抗体试剂(北京中杉金桥生物技术有限公司, 货号: ZA-0127, 工作液无需稀释)为免疫组织化学法检测*Hp*的一抗, UltraVision Quanto Detection System(Lab Vision Corporation)为免疫组织化学法检测*Hp*的二抗, 赛默飞世尔的全自动染色仪Lab Vision Autostainer 720用于免疫组织化学的全自动染色, MagCore Genomic DNA Tissue C401试剂盒(芮宝生物医药科技有限公司)用于提取组织样本, *Hp*核酸检测试剂盒(荧光PCR法)(北京新基永康生物科技有限公司)检测*Hp*感染, 测序反应通用试剂盒(幽门螺杆菌23S rRNA基因突变检测)(北京新基永康生物科技有限公司)检测克拉霉素耐药情况, 测序反应通用试剂盒(幽门螺杆菌GYRA基因突变检测)检测左氧氟沙星耐药情况。

1.4 方法

1.4.1 荧光定量PCR法检测*Hp*感染

分别将101例胃黏膜活检石蜡包埋组织切10片5 μm 厚的蜡卷放入离心管中, 按照说明书提

取相应DNA。PCR扩增包括*Hp*的UreA基因(*Hp*的尿素酶基因4个开放性读框之一)和内标RNP基因(人上皮细胞中广泛存在的核糖核酸酶P基因)扩增反应。配置反应液后分别加入样本和3个外标对照品(阳性对照、阳性临界对照、阴性对照),混匀离心后置于ABI Prism 7500全自动荧光定量PCR仪样品槽中进行扩增。扩增条件为:94℃ 3 min, 94℃ 15 s, 58℃ 40 s, 40个循环。实时采集FAM/VIC荧光信号,仪器软件系统自动绘制出扩增曲线。根据荧光背景信号确定阈值后,得到未知样本的阈值循环(Ct值),从而实现*Hp* DNA的定性检测。结果质量控制:*Hp*阴性对照需在FAM和VIC两种荧光素下荧光信号均无明显增长,并无明显S型扩增曲线;*Hp*阳性对照需在FAM和VIC两种荧光素下荧光信号均有明显增长,有典型的S型曲线,且Ct值应在18.00~24.00之间;*Hp*临界阳性对照需在FAM和VIC两种荧光素下荧光信号均有明显增长,有典型的S型曲线,且Ct值<35.00;要求在同一实验中的同一荧光素下设置相同的Threshold,并满足以上3条质控要求。否则,实验结果不成立;所有临床样本的内标反应都应是阳性,即Ct值≤35.00,否则该样本结果不成立。判读标准:满足质控条件下,待检样本的FAM荧光Ct值≤35.00为阳性,Ct值>35.00或Undetermined为阴性。

1.4.2 免疫组织化学法检测 *Hp* 感染

分别将101例胃黏膜活检石蜡包埋组织进行*Hp*免疫组织化学染色。4 μm切片,85℃烤片30 min、常规脱蜡至水、EDTA修复液中高压修复90 s(喷气后计时),过氧化氢中浸泡10 min,过水后放入PBS溶液中,然后放入全自动免疫组织化学仪中进行染色(一抗孵育40 min, linker 20 min, HRP 30 min, DAB 10 min),最后苏木素复染。判读标准:观察胃黏膜黏液层、表面上皮、小凹上皮和腺管上皮表面的*Hp*,“无”判读为阴性,“轻、中、重度”均判断为阳性。无:特殊染色片上未见*Hp*;轻度:见或小于标本全长1/3有少数*Hp*;中度:*Hp*分布超过标本全长1/3而未达2/3或连续性、薄而稀疏地存在于上皮表面;重度:*Hp*成堆存在,基本分布于标本全长。肠化生黏膜表面通常无*Hp*定植、宜在非肠化生处寻找。

1.4.3 荧光定量 PCR 法检测 *Hp* 阳性样本克拉霉素耐药

分别将荧光定量PCR法检测*Hp*阳性样本DNA按照测序反应通用试剂盒(幽门螺杆菌23S rRNA基因突变检测)说明书配液、加样,阳性对照和阴性对照同时进行检测,然后采用荧光定量PCR法检测*Hp* 23S

rRNA基因2 142~2 143位点,不区分突变类型。扩增条件为:95℃ 5 min, 95℃ 10 s, 60℃ 45 s, 40个循环。在内标合格的情况下(VIC通道Ct值≤35),进行耐药突变分析。FAM检测通道为A2143G、A2142G耐药突变,只要FAM通道Ct值≤35,则报告样本为23S rRNA基因突变检测阳性即克拉霉素耐药;如果FAM通道检测结果阴性,则报告样本为23S rRNA基因突变检测阴性即克拉霉素敏感。

1.4.4 荧光定量 PCR 法检测 *Hp* 阳性样本左氧氟沙星耐药

分别将荧光定量PCR法检测*Hp*阳性样本DNA按照测序反应通用试剂盒(*Hp* GYRA基因突变检测)说明书配液、加样,阳性对照和阴性对照同时进行检测,然后采用荧光定量PCR法检测*Hp* GYRA基因87、91位氨基酸的A260T、T261G、T261A、G271A、G271T和A272G位点,不区分突变类型。扩增条件为:95℃ 5 min预热,95℃ 10 s, 60℃ 45 s, 40个循环。在内标VIC通道≤35的情况下,最后综合反应液的检测结果,只要FAM通道≤35,则报告样本为GYRA基因突变检测阳性即左氧氟沙星耐药。

1.4.5 Sanger 测序法检测克拉霉素与左氧氟沙星耐药基因突变类型

将荧光定量PCR检测为克拉霉素和或左氧氟沙星耐药样本进行Sanger测序。测序结果分析:采用Chromas软件得到Sanger测序峰图,对每个样本的23S rRNA与GYRA基因序列进行分析,给出耐药性,突变判定为耐药,未突变判定为敏感。

1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件分析数据。各变量之间的关系用配对 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 荧光定量 PCR 法与免疫组织化学法检出 *Hp* 阳性率比较

101例胃黏膜样本PCR法检测出*Hp*阳性70例(69.31%),*Hp*阴性31例(30.69%);免疫组织化学法检测出*Hp*阳性68例(67.33%),*Hp*阴性33例(32.67%)。两种方法检测*Hp*阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.001$;表1,图1~3)。

2.2 荧光定量 PCR 法检测克拉霉素与左氧氟沙星耐药

70例荧光定量PCR法检测*Hp*阳性样本中克

拉霉素耐药30例(42.25%), 左氧氟沙星耐药15例(21.13%), 其中有8例(11.27%)对克拉霉素与左氧氟沙星双重耐药, 克拉霉素与左氧氟沙星敏感型33例(47.14%; 表2, 图4、5)。

2.3 Sanger 测序法检测克拉霉素与左氧氟沙星耐药基因突变类型

Sanger测序法对上述37例克拉霉素和或左氧氟

沙星耐药样本进行检测。在29例测序成功的含23S rRNA基因突变样本中, 25例为A2143G纯合突变, 3例为A2143G杂合突变, 1例为A2142G纯合突变。15例测序成功的含GYRA基因突变样本中, T261A杂合突变7例, A260T纯合突变、T261G纯合突变、T261G杂合突变、T261A纯合突变、G271A纯合突变、G271A杂合突变、A272G杂合突变、G271A/A272G杂合突变各1例(图6~10)。

表1 免疫组织化学法与荧光定量PCR法检测出Hp阳性率比较

Table 1 Comparison of infection rate of *Hp* by immunohistochemistry and fluorescence quantitative PCR

免疫组织化学法	PCR法/[例(%)]		合计/[例(%)]	χ^2	P
	<i>Hp</i> (+)	<i>Hp</i> (-)			
HP(+)	68 (67.33)	0 (0.00)	68 (67.33)	92.17	>0.05
HP(-)	2 (1.98)	31 (30.69)	33 (32.67)		
合计	70 (69.31)	31 (30.69)	101 (100.00)		

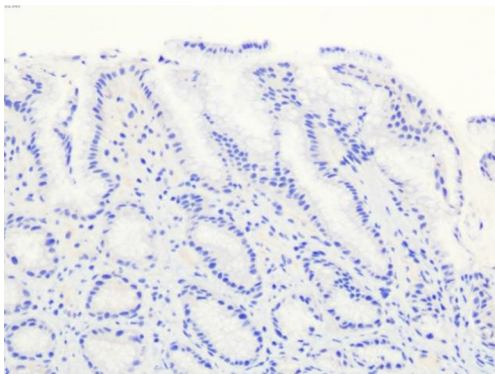


图1 免疫组织化学法检测Hp感染阴性(×400)

Figure 1 Negative infection for *Hp* by immunohistochemistry (×400)

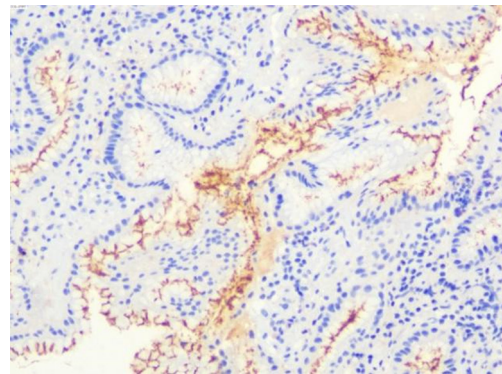


图2 免疫组织化学法检测Hp感染阳性(×400)

Figure 2 Positive infection for *Hp* by immunohistochemistry (×400)

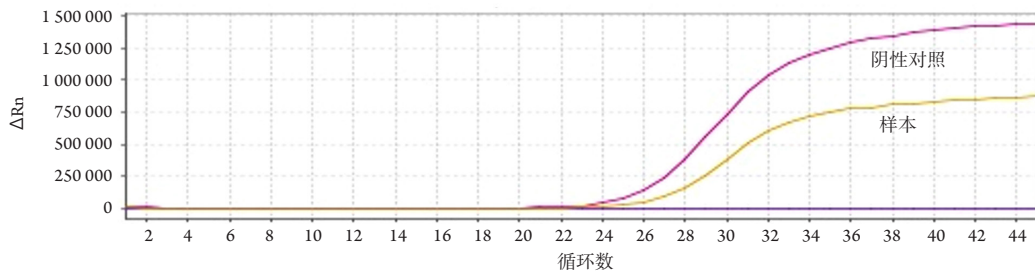


图3 荧光定量PCR法检测Hp感染阳性

Figure 3 Positive infection for *Hp* by fluorescence quantitative PCR

表2 荧光定量PCR法与Sanger测序法检测克拉霉素与左氧氟沙星耐药情况

Table 2 The resistance of clarithromycin and levofloxacin by fluorescence quantitative PCR and Sanger sequencing

组别	耐药/[例(%)]		
	克拉霉素	左氧氟沙星	克拉霉素与左氧氟沙星
荧光定量PCR法	30 (42.25)	15 (21.13)	8 (11.27)
Sanger法	29 (40.85)	15 (21.13)	8 (11.27)

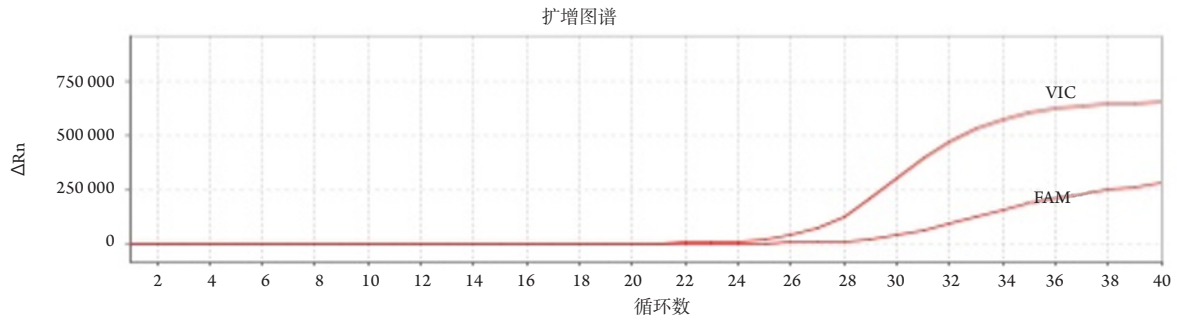


图4 23S rRNA基因突变检测阳性，克拉霉素耐药

Figure 4 Positive for 23S rRNA gene mutation test, indicating clarithromycin resistance

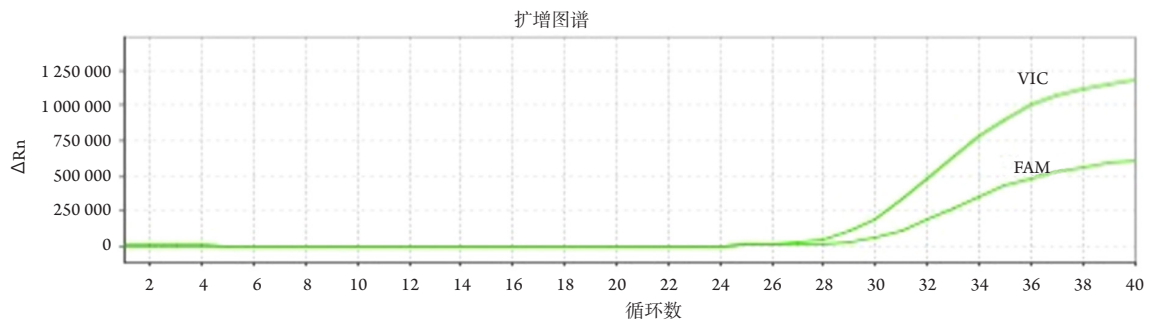


图5 GYRA基因突变检测阳性，左氧氟沙星耐药

Figure 5 Positive for GYRA gene mutation test, indicating levofloxacin resistance

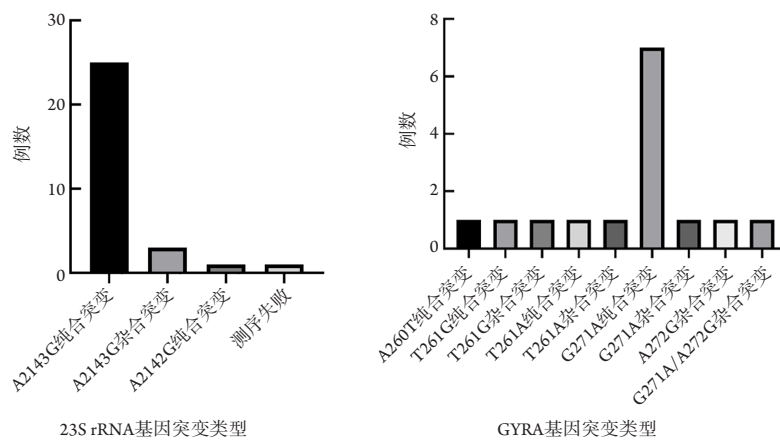


图6 Sanger测序法检测23S rRNA及GYRA基因突变类型

Figure 6 Mutation types of 23S rRNA and GYRA gene by Sanger sequencing

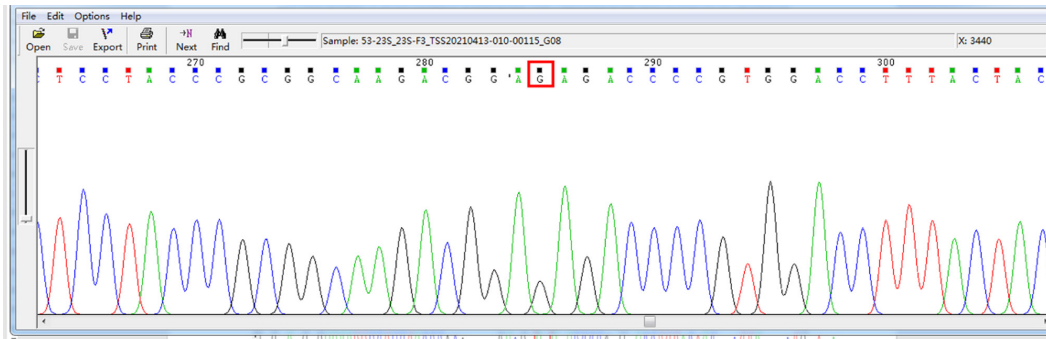


图7 23S rRNA基因A2143G纯合型突变

Figure 7 A2143G homozygous mutation of 23S rRNA gene

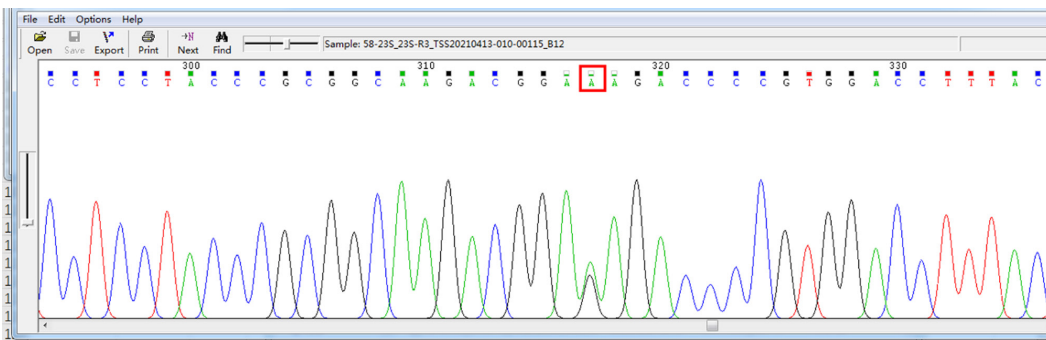


图8 23S rRNA基因A2143G杂合型突变

Figure 8 A2143G heterozygous mutation of 23S rRNA gene

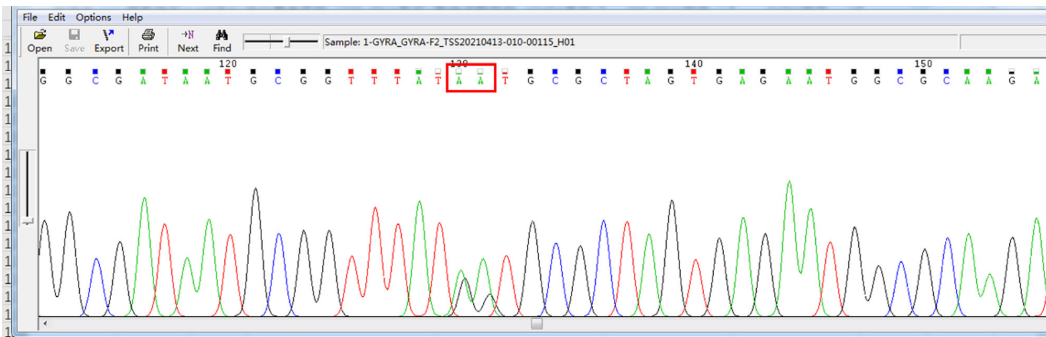


图9 GYRA基因G271A/A272G杂合型突变

Figure 9 G271A/A272G heterozygous mutation in GYRA gene

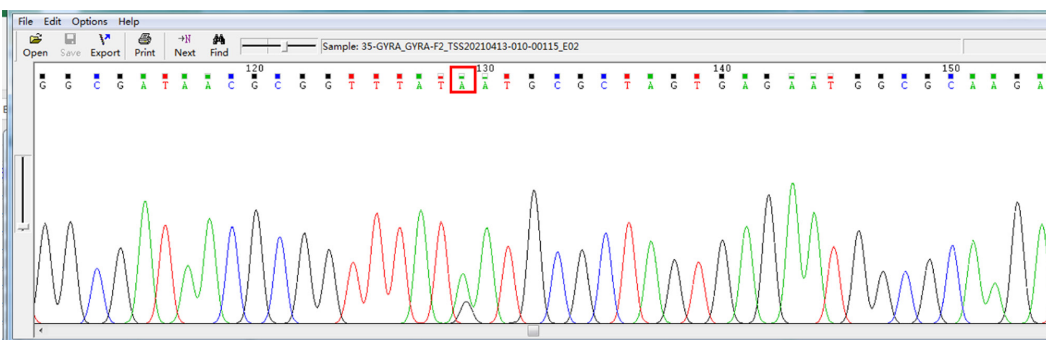


图10 GYRA基因G271A杂合型突变

Figure 10 G271A heterozygous mutation in GYRA gene

3 讨论

*Hp*是目前所知能够在人胃中生存的唯一微生物。检测胃黏膜活检样本中*Hp*的方法主要有革兰氏染色、HE染色、姬姆萨(Giemsa)染色、美蓝染色、WS染色、免疫组织化学染色。有研究^[9]表明免疫组织化学染色敏感度、特异度、准确度高,阳性较易判断;也有研究^[10]认为PCR方法是检测*Hp*的金标准;荧光定量PCR法可替代免疫组织化学法对胃黏膜活检标本进行*Hp*检测^[11]。因此,本研究旨在比较荧光定量PCR方法与免疫组织化学法检测胃黏膜活检样本中*Hp*感染率的区别,发现PCR法检测阳性率为69.31%,免疫组织化学法检测阳性率为67.33%,两种方法具有良好一致性,临床上两种方法均可以选择。但是101例样本中2例免疫组织化学法检出*Hp*阴性,而荧光定量PCR法检出*Hp*阳性,最终经过Sanger测序方法检测,1例检测到*Hp* 23S rRNA基因突变,1例检测到23S rRNA基因与GYRA基因均突变。说明免疫组织化学法还是存在少量漏检情况,荧光定量PCR法检测*Hp*结果敏感性更高。

*Hp*感染是胃溃疡、慢性胃炎和胃癌的关键诱发因素之一。对抗菌药物的耐药率增高是*Hp*根除失败的主要原因^[12]。根据一项WHO所有地区的大型数据分析(178个研究,66142个分离株,65个国家/地区),克拉霉素和左氧氟沙星的原发和继发耐药率现已达到惊人水平($\geq 15\%$)^[13]。因此,在使用*Hp*根除方案之前急需更快速的耐药性检测方法。本研究中克拉霉素耐药率42.25%,左氧氟沙星耐药率为21.13%,克拉霉素与左氧氟沙星双重耐药率为11.27%。耐药率较高的原因可能为我院为大型综合医院,大部分患者在来我院之前可能进行过治疗。

*Hp*对克拉霉素的抗性机制与23S核糖体RNA(rRNA)V域上的突变有关,突变主要集中在A2142C和A2143G两个位点^[14],突变会导致多肽转移酶的局部损伤并降低药物组合的有效性,从而导致*Hp*对大环内酯抗生素(例如克拉霉素)的耐药。在本研究中,在29例测序成功的含23S rRNA基因突变样本中,A2143G和A2142G两种突变均被检获,其中以A2143G突变为主(28/29),尤其是A2143G纯合突变(25/29)最为多见,A2142G突变较少(1/29)。有1例荧光定量PCR检测为克拉霉素耐药,但测序未测出,考虑可能与这例*Hp*含量过低有关。GYRA基因属于细菌裂解酶,是维持DNA

螺旋结构的必要酶,在DNA复制、重组和转录中扮演重要角色,GYRA基因突变可以阻止抗生素和酶的结合,是*Hp*对喹诺酮(例如左氧氟沙星)耐药的主要原因^[15]。GYRA基因突变热点区域为87、91位氨基酸的A260T、T261G、T261A、G271A、G271T和A272G位点^[16-17]。本研究中,GYRA基因突变类型较多,以T261A杂合突变为主。

本研究使用Sanger测序法检测37例由PCR法检测为克拉霉素和/或左氧氟沙星耐药的样本,其中36例均测出23S rRNA基因或GYRA基因的明确突变类型。但是由于其他微生物也可能存在这两个基因的突变^[18-19],因此检测到的突变可能不是*Hp*突变,从而出现假阳性的情况,这也是本次实验的不足之处。

虽然病理科应用荧光定量PCR法检测*Hp*感染及检测*Hp*对克拉霉素和左氧氟沙星耐药性方面的应用比较少,但是本研究表明在检测*Hp*感染方面,荧光定量PCR法比免疫组织化学法更准确;在对克拉霉素和左氧氟沙星耐药性检测方面也有方便、快速、准确的优势。

参考文献

1. Abdi E, Latifi-Navid S, Zahri S, et al. Risk factors predisposing to cardia gastric adenocarcinoma: Insights and new perspectives[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(13): 6114-6126.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
3. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(12): 3030-3044.
4. Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, et al. The global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 43(4): 514-533.
5. Zhang XY, Shen WX, Chen CF, et al. Detection of the clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa by the amplification refractory mutation system combined with quantitative real-time PCR[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(4): 1633-1640.
6. 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, 12(43): 1243-1247. ZHOU Chenglin, YANG Yang, DONG Surong, et al. Progress in drug resistance mechanism and gene detection of *Helicobacter pylori*[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2020, 43(12): 1243-1247.
7. Zhen-Hua Z, De-Qiang H, Yong X, et al. Characterization of 23S rRNA gene mutation in primary and secondary clarithromycin-resistant

- Helicobacter pylori* strains from East China[J]. Turk J Gastroenterol, 2013, 24(1): 5-9.
8. Boyanova L, Nikolov R, Gergova G, et al. Two-decade trends in primary *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Bulgaria[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 67(4): 319-326.
 9. 刘洪波, 祁晓莉, 张勇, 等. 免疫组化染色在幽门螺杆菌病理检测中的优势与意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(3): 341-342.
 - LIU Hongbo, QI Xiaoli, ZHANG Yong, et al. The advantages and significance of immunohistochemical staining in the pathological detection of *Helicobacter pylori*[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2018, 34(3): 341-342.
 10. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: what should be the gold standard?[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(36): 12847-12859.
 11. 张睿祺, 张哲, 陈东, 等. 荧光定量PCR法与免疫组织化学法检测胃黏膜活检标本中幽门螺杆菌感染的比较[J]. 中华病理学杂志, 2020, 49(9): 934-937.
 - ZHANG Ruiqi, ZHANG Zhe, CHEN Dong, et al. Comparison of detection of *Helicobacter pylori* infection in gastric mucosal biopsy samples by real-time PCR and immunohistochemical stain[J]. Chinese Journal of Pathology, 2020, 49(9): 934-937.
 12. 吕涛, 倪丽, 陈川, 等. 基于综合抗性基因数据库研究介导幽门螺杆菌对克拉霉素和左氧氟沙星耐药的易感基因[J]. 中华消化杂志, 2022, 42(2): 103-110.
 - LÜ Tao, NI Li, CHEN Chuan, et al. Study on the susceptibility genes that mediate the resistance of *Helicobacter pylori* to clarithromycin and levofloxacin based on comprehensive antibiotic research database comparison[J]. Chinese Journal of Digestion, 2022, 42(2): 103-110.
 13. Savoldi A, Carrara E, Graham D Y, et al. Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: A systematic review and meta-analysis in World Health Organization Regions[J]. Gastroenterology, 2018, 155(5): 1372-82 e17.
 14. Marques AT, Vitor JMB, Santos A, et al. Trends in *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin: From phenotypic to genomic approaches[J]. Microb Genom, 2020, 6(3): e000344.
 15. Jim HS, Park JY, Permeth-Wey J, et al. Genetic predictors of fatigue in prostate cancer patients treated with androgen deprivation therapy: Preliminary findings[J]. Brain Behav Immun, 2012, 26(7): 1030-1036.
 16. Lee JW, Kim N, Nam RH, et al. Mutations of *Helicobacter pylori* associated with fluoroquinolone resistance in Korea[J]. Helicobacter, 2011, 16(4): 301-310.
 17. Secka O, Berg D E, Antonio M, et al. Antimicrobial susceptibility and resistance patterns among *Helicobacter pylori* strains from The Gambia, West Africa[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(3): 1231-1237.
 18. 王倩, 徐新明, 胡蕊, 等. 福氏志贺菌QRDR基因gyrA, parC及毒力基因ipaH的多重PCR检测[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(1): 22-26.
 - WANG Qian, XU Xinming, HU Rui, et al. Multiplex PCR detection of QRDR genes gyrA, parC and virulence gene ipaH of *Shigella flexneri*[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2019, 39(1): 22-26.
 19. 林贺, 薛苗, 汪怀周, 等. 4株利奈唑胺不敏感粪肠球菌的23S rRNA基因突变分析[J]. 检验医学, 2018, 33(5): 452-456.
 - LIN He, XUE Miao, WANG Huaizhou, et al. Study of 23S rRNA gene mutation in 4 clinical isolates of linezolid non-sensitive *Enterococcus faecalis*[J]. Laboratory Medicine, 2018, 33(5): 452-456.

本文引用: 娄丽萍, 张文迪. 101例胃黏膜幽门螺杆菌感染耐药基因突变分析[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(9): 2084-2091. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.005

Cite this article as: LOU Liping, ZHANG Wendi. Gene mutation and drug resistance analysis for 101 cases of gastric *Helicobacter pylori* infection[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2022, 42(9): 2084-2091. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.005