

幽门螺杆菌抗生素耐药机制研究进展

李云振¹ 胡伟鹏² 高宏志^{2*} 王明席^{1*}

(1. 华侨大学 生物医学学院 分子药物研究院 分子药物教育部工程研究中心 分子诊断与基因治疗实验室
福建 厦门 361021)

(2. 福建医科大学附属第二医院 科研中心 福建 泉州 362000)

摘要: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染可引起消化性溃疡、胃粘膜相关淋巴组织淋巴瘤和胃癌。随着抗生素耐药性的问题越来越严重, 耐药机制的研究也不断深入。分子检测方法, 尤其是核酸检测技术, 可高效、快速、准确地检测幽门螺杆菌抗生素耐药基因及突变, 对幽门螺杆菌感染的临床治疗发挥重要的指导作用, 同时也可对幽门螺杆菌抗生素耐药性进行大规模及时有效监控。本文讨论了关于幽门螺杆菌抗生素耐药机制并着重总结了相关耐药基因及突变。

关键词: 幽门螺杆菌, 抗生素耐药机制, 耐药基因

Progress in research on antibiotic resistance mechanisms of *Helicobacter pylori*

LI Yun-Zhen¹ HU Wei-Peng² GAO Hong-Zhi^{2*} WANG Ming-Xi^{1*}

(1. Laboratory of Molecular Diagnosis and Gene Therapy, Engineering Research Center of Molecular Medicine, Ministry of Education, Institute of Molecular Medicine, School of Biomedical Sciences, Huaqiao University, Xiamen, Fujian 361021, China)

(2. Research Center of Fujian Medical University 2nd Affiliated Hospital, Quanzhou, Fujian 362000, China)

Abstract: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection can cause peptic ulcer disease, gastric mucosa associated lymphoid tissue lymphoma (GMALTL) and even gastric cancer. With increasing problem of antibiotic resistance, study on mechanisms of which is promoted deeply. Molecular detection methods, especially the nucleic acid detection technologies, can be used to detect antibiotic resistance genes or mutations efficiently, rapidly and accurately, hence guiding the clinical treatment of *H. pylori* infection and helping to investigate antibiotic resistance rate timely and effectively in a large area. In this review, *H. pylori* antibiotic resistance mechanisms of the most commonly used antibiotics were discussed and associated resistance genes or mutations were emphatically reviewed.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Antibiotic resistance mechanisms, Antibiotic resistance genes

基金项目: 福建省科技厅重大项目(No. 2012Y4009); 厦门市科学技术局计划项目(No. 3502Z20123036); 福建省自然科学基金(No. 2012Y4009); 福建省教育厅资助课题(No. JA09118); 泉州市科技项目(No. 2010Z87)

*通讯作者: 高宏志: ✉: hongzhi_gao@hotmail.com

王明席: Tel: 86-592-6162998; ✉: mxwang@hqu.edu.cn

收稿日期: 2013-10-15; 接受日期: 2013-12-24; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-01-09

自从1983年,沃伦和马歇尔首次在胃活检样本中成功培养出人类致病菌幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*),关于该致病菌的研究已经使人类对上消化道疾病有了重新认识,并使该类病人的治疗方式彻底改变^[1-2]。目前,幽门螺杆菌是公认的消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤和胃癌的主要致病因素^[3],治疗该类疾病的常规方法是应用抗生素根除幽门螺杆菌^[2]。

目前,临床上可根除幽门螺杆菌的抗生素种类

和数目并不多,但耐药性却越来越严重,这是目前幽门螺杆菌感染治疗失败的重要原因^[4],幽门螺杆菌抗生素耐药性也一直是研究热点。本文对幽门螺杆菌常用抗生素的耐药机制进行了讨论总结(图1),并着重回顾了耐药相关基因及突变形式(表1),这有助于探索新的分子检测方法,尤其是核酸检测技术,以便高效、快速、准确地检测幽门螺杆菌抗生素耐药性,并及时指导大规模耐药性监控,最终更好地辅助幽门螺杆菌感染的临床治疗。

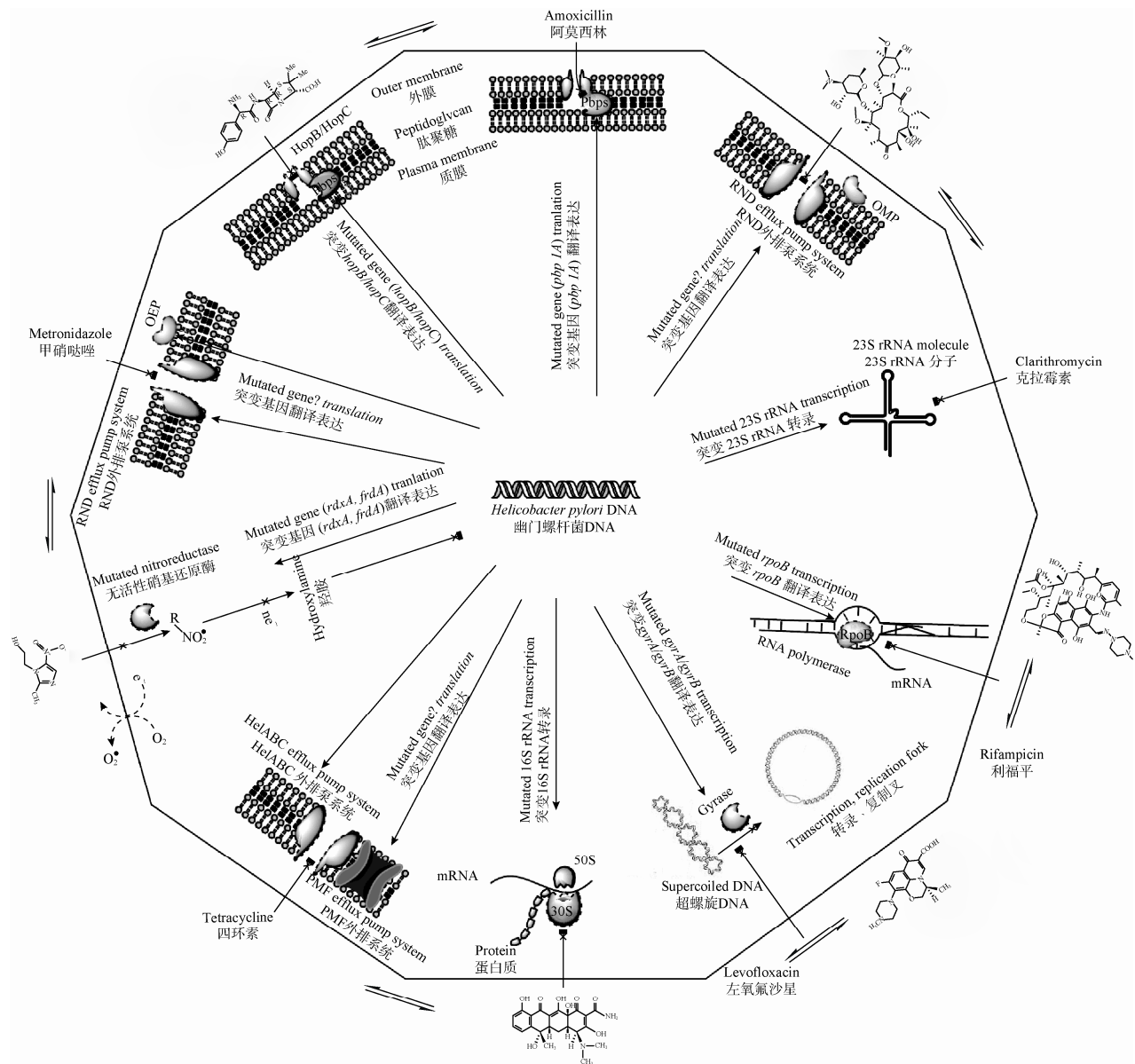


图1 幽门螺杆菌抗生素耐药机制示意图

Figure 1 Schematic representation of mechanisms of *H. pylori* antibiotic resistance

表 1 幽门螺杆菌耐药机制及突变汇总
Table 1 Summary of antibiotic resistance mechanisms and mutations for *H. pylori*

抗生素 Antibiotics	抗生素类别 Antibiotic classification	耐药机制 Antibiotic resistance mechanisms	主要耐药性突变 Major antibiotic resistance mutations
Clarithromycin	Macrolides	23S rRNA mutations Others	A2142G, A2142C, A2143G
Metronidazole	Nitromidazoles	<i>rdxA</i> mutations Other (<i>frxA</i> , <i>fdxB</i> etc.) mutations	No specific mutations
Amoxicillin	Beta lactams	Mutations in the <i>pbp1A</i> Others	Ser414Arg, Thr556Ser, Asn562Tyr, Thr593Ala
Levofloxacin	Fluoroquinolones	<i>gyrA</i> mutations Other (<i>gyrB</i> etc.) mutations	Asn87Lys, Asn87Tyr, Asp91Gly, Asp91Asn, Asp91Tyr, Ala88Val
Tetracycline	Tetracyclines	16S rRNA mutations Others	AGA926-928TTC, AGA926-928 double and single mutations
Rifampicin and rifabutin	Rifampicins	<i>rpoB</i> mutations	525-545 codons, 585 codon

1 一线治疗药物

1.1 克拉霉素

该药物属于大环内酯类抗生素,其抗菌作用依赖于其与 23S rRNA 分子 V 功能域内转肽酶的结合而抑制细菌蛋白质合成。23S rRNA 基因 V 功能域内发生的点突变会降低克拉霉素与肽酰基转移酶环的亲合力,抑制克拉霉素与 23S 核糖体亚基的结合,从而引起克拉霉素耐药性^[5]。

与克拉霉素耐药性密切相关的 23S rRNA 基因突变包括 A2143G、A2142G 和 A2142C,其中 A2143G 占大多数,这些突变事件可占克拉霉素耐药产生原因的 80%–90%^[6]。其他突变较为罕见,如 A2115G、G2141A、T2717C、T2182C、T2289C、G2223A、C2245T、C2611A,除了少数可导致低程度耐药外,多数突变与克拉霉素耐药临床相关性未得到公认^[7-9]。

大环内酯类抗生素耐药产生的另一机制涉及外排泵系统,该机制与幽门螺杆菌的多重耐药性有密切联系。幽门螺杆菌含有 4 个基因簇编码 RND (Resistance nodulation cell division superfamily, RND)外排泵系统,通过注射特定外排系统抑制剂 (Efflux pump inhibitors, EPI),如苯丙氨酸-精氨酸-β 萘酰胺(Phe-arg-β-naphthylamide, PAβN),能够抑制这些 RND 外排泵系统对抗生素的外排,降

低抗生素最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)^[10]。另外,由于质子泵抑制剂 (Proton pump inhibitor, PPI)与 EPI 结构相似,除了抑制深部胃酸分泌, PPI 也可抑制幽门螺杆菌的 RND 外排系统^[11],进而可提高幽门螺杆菌的抗生素敏感性,这具有临床意义。近来对克拉霉素耐药菌株和敏感菌株的肌氨酸不溶性外膜蛋白质 (Outer membrane proteins, OMP)进行的蛋白质组比较分析发现,在耐药菌株中铁调控膜蛋白、尿素酶 B、EF-Tu 多蛋白复合体、OMP 表达下调,同时跨膜蛋白 HopT (BabB), HofC 和 OMP31 表达上调,蛋白质免疫印迹和实时定量 PCR 的实验结果也证实了上述结果,表明外膜蛋白组成变化可能是另一新的幽门螺杆菌克拉霉素耐药机制^[12]。

1.2 甲硝哒唑

甲硝哒唑作为药物前体,需在靶细胞中经一个或两个电子转移过程激活,被还原产生硝基阴离子自由基、亚硝基衍生物和羟胺,破坏 DNA 螺旋结构。该电子转移过程由电子传递链组件(如硝基还原酶)执行,同时细胞内氧化还原电位有效值需为足够小的负数以使甲硝哒唑作为电子的接受者。该过程在厌氧菌中尤其活跃,因而甲硝哒唑对该类菌的抗菌效果突出。需氧菌由于细胞内高氧化还原电位会产生固有耐药性。当甲硝哒唑在有氧环境下对抗厌氧菌时,氧作为还原性甲硝哒唑电子的最后接

受者,可引起甲硝唑的失活和氧自由基的产生,后者也可破坏 DNA 结构。而在耐药菌株中,该杀菌作用可被超氧化物歧化酶和过氧化氢酶系统的反应所中和,且甲硝唑还可增加这种酶系统的活性^[13]。在微需氧菌幽门螺杆菌中,氧的角色颇具争议。氧可被硝基还原酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)清除,后者具有潜在的氧化酶活性,可确保低氧化还原电位或氧含量,从而使抗生素维持在激活状态^[14];氧也可能作为 NAD(P)H 的还原底物甲硝唑的强力竞争者,在有氧条件下,后者可被前者竞争掉^[15]。尽管如此,硝基还原酶对甲硝唑的还原反应是甲硝唑对幽门螺杆菌的主要作用机制。至于甲硝唑耐药机制,*rdxA* 基因突变引起 NAD(P)H 硝基还原酶的活性丧失,是引起幽门螺杆菌甲硝唑耐药的主要机制^[16],同时由 *frxA*、*fdxB* 等基因编码的其他硝基还原酶的失活也可引起幽门螺杆菌甲硝唑耐药性^[17]。

总体上讲,目前甲硝唑的耐药机制还比较复杂,有待于深入研究。首先,*rdxA* 基因中的突变分布分散,缺乏规律,同时突变形式多种多样^[18],而 *rdxA*、*frxA* 突变的检测不能准确预测幽门螺杆菌甲硝唑耐药性^[19];其次,幽门螺杆菌甲硝唑耐药性可能涉及除硝基还原酶之外的影响因素;最后,关于 *rdxA* 基因突变和耐药性的关系,大部分研究仅限于 DNA 水平。研究表明,转录和翻译水平上的研究也是有必要的^[20]。总之,通过生物分子检测手段评估甲硝唑耐药性具有很大难度。在基因水平、转录水平甚至翻译水平对 *rdxA* 基因和 *frxA* 基因变异进行综合地检测或许会更好预测幽门螺杆菌甲硝唑耐药性。

最后,外排系统的作用近来得到了更多关注。在幽门螺杆菌中除发现了多种外膜外排蛋白(Outer membrane efflux protein, OEP)外,最近一项研究从转录水平来评估 RND 泵家族对甲硝唑耐药的影响^[21],结果显示,甲硝唑的增加可引起 RNA 家族相关基因的表达上调,说明外排泵系统可能引起临床幽门螺杆菌甲硝唑耐药性。

1.3 阿莫西林

阿莫西林通过与具有糖基转移酶和酰基转氨酶活性的青霉素结合蛋白(Penicillin binding proteins, PBPs)紧密结合,进而抑制细胞壁的合成,使处于生长和分裂中的细菌溶解。已经发现幽门螺杆菌表达 3 种高分子量的 PBPs (PBP1-3)和 6 种低分子量的 PBPs。阿莫西林耐药性涉及不同的机制。其中,青霉素结合蛋白基因(*pbp 1A*)突变是幽门螺杆菌阿莫西林耐药的常见机制,可引起中低水平的耐药性^[22]。位于或临近 PBP 1A 转氨酶功能域中的 3 个关键序列(SXXK、SXN 和 KTG)的突变可降低 PBPs 与阿莫西林的亲和性。此外,其他青霉素结合蛋白基因(*pbp2*, *pbp3*)的突变也可能都与阿莫西林耐药有关,可加剧幽门螺杆菌对阿莫西林的耐药性^[23]。近年来内酰胺酶产生引起的幽门螺杆菌阿莫西林耐药性也有报道,该耐药机制通常会引起高水平耐药^[24],而且该耐药基因可进行水平传播,对其进行实时监控变得尤为重要。

幽门螺杆菌阿莫西林耐药性相关突变包括:(1) 替换突变: Thr556Ser、Asn562Tyr、Thr593Ala、Ser414Arg、Ala69Val、Thr438Met、Ser402Gly、Glu406Ala、Ser417Thr、Thr555Ser、Asn561Tyr、Ala369Thr、Val374Leu、Leu423Phe;(2) 插入突变: 464+Glu;(3) 无义突变: Tyr637*^[22,25-26]。绝大多数突变位于或临近 PBPs 第二和第三个关键序列。其中 PBP1 SKN 关键序列附近的 Ser414Arg,位于 PBP1 KTG 关键序列中心的 Thr556Ser 以及临近 PBP1 KTG 关键序列的 Asn562Tyr 和 Thr593Ala,是比较重要的常见替换突变,是幽门螺杆菌阿莫西林耐药的主要原因。其他替换突变例如 Ala369Thr、Val374Leu、Leu423Phe 等,插入突变 464+Glu 以及无义突变 Tyr637*,对阿莫西林耐药性可能具有强化作用^[23,25]。

此外,膜通透性降低或阿莫西林外排泵系统也可能是高水平阿莫西林耐药的机制。*hopB* 和 *hopC* 基因编码的“孔蛋白”狭窄通道调节小分子溶质的渗透。*hopB* 的点突变和 *hopC* 的缺失突变引起菌株

内阿莫西林的积累减少而耐药^[27]。来自 RNA 水平的研究也表明, 使用抗生素可引起多个“孔蛋白”编码基因表达上调(*omp25*)或表达下调(*omp32*), 进而导致膜通透性的改变^[28]。

2 二线治疗或补救治疗药物

2.1 左氧氟沙星

氟喹诺酮类药物通过与 DNA 促旋酶结合而发挥杀菌作用。该促旋酶是维持 DNA 螺旋结构的必需酶, 由 *gyrA* 基因编码的 2 个 A 亚单位和由 *gyrB* 编码的 2 个 B 亚单位组成四聚体结构。*gyrA* 喹诺酮类药物耐药性决定域(Quinolone resistance determining regions, QRDR)上的点突变可阻止抗生素与促旋酶的结合, 引起抗生素耐药^[29]。

与氟喹诺酮类药物耐药性相关的突变^[30-35]包括, 单突变: Asn87Lys、Thr87Tyr、Thr87Ile、Asn87Tyr、Asp91Gly、Asp91Asn、Asp91Tyr、Asp91His、Ala88Val、Ala88Pro、Asp86Asn、Ala129Thr; 双重突变: Asp91 & Ala97Val、Asn87Lys & Asp91Tyr、Asn87Lys & Asp91Gly、Asn87Lys & Val107Ile。其中最常见, 同时也是最重要的是(1) 91 氨基酸处(Asp91Gly、Asp91Asn、Asp91Tyr); (2) 87 氨基酸处(Asn87Lys、Asn87Tyr); 和(3) 88 氨基酸处(Ala88Val)。91 和 87 氨基酸处的突变可在绝大多数左氧氟沙星耐药株中发现; 其中 87 氨基酸处的突变对 MIC 值影响最大。Asp86Asn 较罕见, 且常与 87 和 91 氨基酸处的突变存在关联, 因而对 MIC 值的影响相对不明显^[30]。双重突变也较少见, 可能对耐药性具有强化作用。值得注意的是, 最近的研究已确定 *gyrB* 上的突变(Glu463Lys)是引起幽门螺杆菌氟喹诺酮类耐药的另一新机制, 说明了检测和监控该基因的必要性^[35]。

2.2 四环素

四环素可在 30S 核糖体亚基水平上抑制密码子与反密码子的连接, 阻止氨酰 tRNA 与受位点结合, 抑制蛋白质的合成。四环素耐药性主要由 16S rRNA 基因四环素初级结合位点(*tet-1*)的点突

变引起^[36]。

绝大多数报道的点突变涉及幽门螺杆菌 16S rRNA 基因 926-928 碱基处的替换突变^[36-38]。其中重要的点突变是 AGA926-928TTC, 该突变使四环素与核糖体的亲和力降低 24%-52%^[38]。耐药性水平与 AGA926-928 三个碱基突变的数量也呈一定比例关系。单个和两个点突变分别引起低水平和中等水平的 MIC, 而高耐药水平则由 AGA926-928 的三重突变引起^[39]。此外, 研究表明嘌呤碱基对耐药性的产生起着主导性作用, 三联体 AGA 中间的鸟嘌呤 G 碱基突变可引起较高的 MIC, 原因可能是富嘧啶序列与四环素的构象不兼容, 导致亲和力降低^[40]。

幽门螺杆菌四环素耐药性还涉及其他因素^[38,41-42]。其中, 关于四环素的外排系统已经有相关报道, 包括外排泵 HefABC 和依赖质子动力(Proton motive force, PMF)的外排系统^[41]。当使用 PMF 抑制剂如 CCCP (氰化物 M-氯苯胺)时, 可导致幽门螺杆菌对四环素的 MIC 发生不同程度的降低。尽管如此, 关于其他外排泵家族的作用仍需要进一步的研究^[11,41-42]。

3 三线治疗或补救治疗药物

利福平和利福布汀通过与 DNA 依赖性 RNA 聚合酶 β 亚基结合, 抑制转录过程而发挥杀菌作用。利福平/利福布汀耐药性与 *rpoB* 基因的突变有关, 后者编码 RNA 聚合酶 β 亚基^[43]。

突变位置可分为 4 个区域: 525-545 密码子、585 密码子、49 密码子、701 密码子^[44]。其中前两个区域的突变较常见, 包括: Leu525Pro、Gln527Lys、Gln527Arg、Asp530Val、Asp530Asn、His540Tyr、His540Asn、Ser545Leu、Ile586Asn、Ile586Leu^[45-46], 其他突变较罕见。

4 总结与展望

关于幽门螺杆菌抗生素耐药性的研究已经很多, 同时也明确了很多耐药机制。尽管如此, 从耐药机制研究到幽门螺杆菌抗生素耐药性分子检测

的临床应用仍面临很多问题。首先,目前,甲硝唑和阿莫西林耐药机制的复杂性仍然使分子检测方法难以发挥作用。进一步明确和细化不同耐药机制及其相关基因和突变形式,应作为其耐药机制深入研究的重要内容;其次,作为抗生素耐药机制研究的重要组成部分,外排泵系统或细胞膜通透性改变引起幽门螺杆菌抗生素耐药性所涉及的主要相关基因和突变有待于确定和验证;最后,目前关于具体突变形式与临床幽门螺杆菌抗生素耐药水平定量关系的研究仍很少。另外,如何实现对多种抗生素进行高效、快速、全面性和综合性地耐药性分析也是未来应用分子检测方法检测幽门螺杆菌抗生素耐药性的重要课题。

参考文献

- [1] Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis[J]. Lancet, 1983, 321(8336): 1273-1275.
- [2] Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report[J]. Gut, 2007, 56(6): 772-781.
- [3] Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2006, 19(3): 449-490.
- [4] Graham DY, Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance[J]. Gut, 2010, 59(8): 1143-1153.
- [5] Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996, 40(2): 477-480.
- [6] Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing[J]. Gut, 2004, 53(9): 1374-1384.
- [7] Kim JM, Kim JS, Kim N, et al. Gene mutations of 23S rRNA associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from Korean patients[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 18(9): 1584-1589.
- [8] Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, et al. Novel mutation in 23S rRNA that confers low-level resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2008, 52(9): 3465-3466.
- [9] Hao Q, Li Y, Zhang ZJ, et al. New mutation points in 23S rRNA gene associated with *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin in northeast China[J]. World Journal of Gastroenterology, 2004, 10(7): 1075-1077.
- [10] Hirata K, Suzuki H, Nishizawa T, et al. Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2010, 25(Suppl 1): S75-S79.
- [11] Zhang Z, Liu ZQ, Zheng PY, et al. Influence of efflux pump inhibitors on the multidrug resistance of *Helicobacter pylori*[J]. World Journal of Gastroenterology, 2010, 16(10): 1279-1284.
- [12] Smiley R, Bailey J, Sethuraman M, et al. Comparative proteomics analysis of sarcosine insoluble outer membrane proteins from clarithromycin resistant and sensitive strains of *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Microbiology, 2013, 51(5): 612-618.
- [13] Jorgensen MA, Manos J, Mendz GL, et al. The mode of action of metronidazole in *Helicobacter pylori*: futile cycling or reduction?[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1998, 41(1): 67-75.
- [14] Smith MA, Edwards DI. Oxygen scavenging, NADH oxidase and metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1997, 39(3): 347-353.
- [15] Olekhovich IN, Goodwin A, Hoffman PS. Characterization of the NAD(P)H oxidase and metronidazole reductase activities of the *rdxA* nitroreductase of *Helicobacter pylori*[J]. FEBS Journal, 2009, 276(12): 3354-3364.
- [16] Goodwin A, Kersulyte D, Sisson G, et al. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* is due to null mutations in a gene (*rdxA*) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase[J]. Molecular Microbiology, 1998, 28(2): 383-393.
- [17] Kim SY, Joo YM, Lee HS, et al. Genetic analysis of *Helicobacter pylori* clinical isolates suggests resistance to metronidazole can occur without the loss of functional *rdxA*[J]. Journal of Antibiotics (Tokyo), 2009, 62(1): 43-50.
- [18] Solca NM, Bernasconi MV, Piffaretti JC. Mechanism of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*: comparison of the *rdxA* gene sequences in 30 strains[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000, 44(8): 2207-2210.
- [19] Bereswill S, Krainick C, Stahler F, et al. Analysis of the *rdxA* gene in high-level metronidazole-resistant clinical isolates confirms a limited use of *rdxA* mutations as a marker for prediction of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*[J]. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2003, 36(3): 193-198.
- [20] Chisholm SA, Owen RJ. Mutations in *Helicobacter pylori rdxA* gene sequences may not contribute to metronidazole resistance[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003, 51(4): 995-999.
- [21] Mehrabadi JF, Sirous M, Daryani NE, et al. Assessing the role of the RND efflux pump in metronidazole resistance of *Helicobacter pylori* by RT-PCR assay[J]. Journal of Infection in Developing Countries, 2011, 5(2): 88-93.
- [22] Okamoto T, Yoshiyama H, Nakazawa T, et al. A change in PBPI is involved in amoxicillin resistance of clinical isolates of *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2002, 50(6): 849-856.
- [23] Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, et al. Mutations in penicillin-binding proteins 1, 2 and 3 are responsible for amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008, 61(5): 995-998.

- [24] Tseng YS, Wu DC, Chang CY, et al. Amoxicillin resistance with beta-lactamase production in *Helicobacter pylori*[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2009, 39(9): 807-812.
- [25] Gerrits MM, Godoy AP, Kuipers EJ, et al. Multiple mutations in or adjacent to the conserved penicillin-binding protein motifs of the penicillin-binding protein 1A confer amoxicillin resistance to *Helicobacter pylori*[J]. Helicobacter, 2006, 11(3): 181-187.
- [26] Matteo MJ, Granados G, Olmos M, et al. *Helicobacter pylori* amoxicillin heteroresistance due to point mutations in *pbp-1A* in isogenic isolates[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008, 61(3): 474-477.
- [27] Co EM, Schiller NL. Resistance mechanisms in an in vitro-selected amoxicillin-resistant strain of *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(12): 4174-4176.
- [28] Godoy AP, Reis FC, Ferraz LF, et al. Differentially expressed genes in response to amoxicillin in *Helicobacter pylori* analyzed by RNA arbitrarily primed PCR[J]. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2007, 50(2): 226-230.
- [29] Tankovic J, Lascols C, Sculo Q, et al. Single and double mutations in *gyrA* but not in *gyrB* are associated with low- and high-level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(12): 3942-3944.
- [30] Cattoir V, Nectoux J, Lascols C, et al. Update on fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: new mutations leading to resistance and first description of a *gyrA* polymorphism associated with hypersusceptibility[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2007, 29(4): 389-396.
- [31] Wang LH, Cheng H, Hu FL, et al. Distribution of *gyrA* mutations in fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* strains[J]. World Journal of Gastroenterology, 2010, 16(18): 2272-2277.
- [32] Chung JW, Lee GH, Jeong JY, et al. Resistance of *Helicobacter pylori* strains to antibiotics in Korea with a focus on fluoroquinolone resistance[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2012, 27(3): 493-497.
- [33] Garcia M, Raymond J, Garnier M, et al. Distribution of spontaneous *gyrA* mutations in 97 fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* isolates collected in France[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2012, 56(1): 550-551.
- [34] 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.
- [35] Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, et al. Fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: role of mutations at position 87 and 91 of *GyrA* on the level of resistance and identification of a resistance conferring mutation in *GyrB*[J]. Helicobacter, 2012, 17(1): 36-42.
- [36] Gerrits MM, de Zoete MR, Arents NL, et al. 16S rRNA mutation-mediated tetracycline resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002, 46(9): 2996-3000.
- [37] Lawson AJ, Elviss NC, Owen RJ. Real-time PCR detection and frequency of 16S rDNA mutations associated with resistance and reduced susceptibility to tetracycline in *Helicobacter pylori* from England and Wales[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2005, 56(2): 282-286.
- [38] Wu JY, Kim JJ, Reddy R, et al. Tetracycline-resistant clinical *Helicobacter pylori* isolates with and without mutations in 16S rRNA-encoding genes[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(2): 578-583.
- [39] Gerrits MM, Berning M, Van Vliet AH, et al. Effects of 16S rRNA gene mutations on tetracycline resistance in *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(9): 2984-2986.
- [40] Nonaka L, Connell SR, Taylor DE. 16S rRNA mutations that confer tetracycline resistance in *Helicobacter pylori* decrease drug binding in *Escherichia coli* ribosomes[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(11): 3708-3712.
- [41] Anoushiravani M, Falsafi T, Niknam V. Proton motive force-dependent efflux of tetracycline in clinical isolates of *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Medical Microbiology, 2009, 58(Pt10): 1309-1313.
- [42] Suzuki RB, Almeida CM, Speranca MA. Absence of *Helicobacter pylori* high tetracycline resistant 16S rDNA AGA926-928TTC genotype in gastric biopsy specimens from dyspeptic patients of a city in the interior of Sao Paulo, Brazil[J]. BMC Gastroenterology, 2012, 12: 49.
- [43] Heep M, Beck D, Bayerdorffer E, et al. Rifampin and rifabutin resistance mechanism in *Helicobacter pylori*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999, 43(6): 1497-1499.
- [44] Heep M, Odenbreit S, Beck D, et al. Mutations at four distinct regions of the *rpoB* gene can reduce the susceptibility of *Helicobacter pylori* to rifamycins[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000, 44(6): 1713-1715.
- [45] Glocker E, Bogdan C, Kist M. Characterization of rifampicin-resistant clinical *Helicobacter pylori* isolates from Germany[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007, 59(5): 874-879.
- [46] Heep M, Lehn N, Brandstatter B, et al. Detection of rifabutin resistance and association of *rpoB* mutations with resistance to four rifamycin derivatives in *Helicobacter pylori*[J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2002, 21(2): 143-145.