

Rapportering 2011

Referentiecentrum voor *Helicobacter pylori*

Referentiecentrum

Laboratorium voor Microbiologie	CHU UCL Mont-Godinne	Av Docteur Gaston Therasse 1	5530 Yvoir
Tel.: 081 42 32 00	Fax: 081 42 32 04	E-mail: secretariat.labo-mont.godinne@uclouvain.be	

1. Samenvatting van de hoofdactiviteiten in 2011

In 2011 verrichtte het NRC voor *Helicobacter pylori* culturen van maag- en darmbiopsieën van 1896 stalen die afkomstig waren van 1625 patiënten (mediane leeftijd 52,1 jaar; range 5 en 91 jaar). De klinische monsters zijn toegezonden door 15 diensten voor digestieve endoscopieën (9 in Wallonië, 3 in Brussel, 3 in Vlaanderen) en 4 centra verbonden aan een ziekenhuis (3 in Wallonië, 1 in Brussel); samen vertegenwoordigen zij meer dan 90% van alle klinische stalen die naar het NRC voor *Helicobacter pylori* zijn verstuurd. Bij 6 patiënten met een negatieve cultuur voor *H. pylori* zijn moleculaire tests verricht (PCR-RT + opsporing van de mutaties geassocieerd met de resistentie tegen fluoroquinolonen en tegen macroliden op een maagbiopsie) (vaststelling van positieve *H. pylori* met 2 gevallen van fluoroquinoloneresistentie, 1 geval van claritromycine-resistentie en 3 gevallen van gevoeligheid voor quinolonen en claritromycine). Er zijn serologische tests (opsporing van totale Ig, IgG en IgA antilichamen) voor 185 patiënten verricht alsook opsporingen van specifieke antigenen van *H. pylori* op feces van 17 patiënten.

Het is opmerkelijk dat de aanvragen voor de opsporing van antigenen van *H. pylori* in feces sterk zijn gedaald sinds de invoering van de terugbetaling van de test in de nomenclatuur van het RIZIV in 2011.

Het valt echter op te merken dat conform het principe van de conventie van de NRC alleen de niet-terugbetaalde tests door het RIZIV in het financiële activiteitenrapport zijn opgenomen (namelijk de MIC-bepaling uitgevoerd bij meer dan drie antibiotica (max. 3 in de nomenclatuur van het RIZIV) evenals de genamplificatietechnieken door de moleculaire methode voor de opsporing van *H. pylori* en de opsporing van mutaties geassocieerd met de resistentie (macroliden, quinolonen). De moleculaire methoden multiplex real time PCR en PCR-hybridisatie op nitrocellulose-membraan worden rechtstreeks op een maagbiopsie verricht of vertrekkende van bacteriële kolonies geïsoleerd uit de cultuur (in geval van een antibiogramresultaat met moeilijke interpretatie of indien de bacteriële cultuur niet meer (opnieuw) groeit).

2. Overzicht van de activiteiten

De activiteit van het NRC voor *Helicobacter pylori* is vooral gericht op de microbiologische diagnose (cultuur/antibiogram, PCR voor de identificatie en de detectie van mutaties (chromosoomgenen) geassocieerd met de resistentie tegen antibiotica (macroliden, fluoroquinolonen), de detectie van antigenen in feces en de serodiagnose).

Het NRC wordt regelmatig bevraagd door laboratoria voor klinische biologie en klinici (gastro-enterologen) voor aanbevelingen inzake diagnoses, voor de interpretatie van resultaten en voor therapeutisch advies. Het laboratorium voor microbiologie van het NRC voor *Helicobacter pylori* ontvangt en vormt regelmatig technologen en biologen op (Belgische of buitenlandse) die hun technieken voor culturen en antibiogrammen voor *H. pylori* wensen te verbeteren of in hun laboratorium willen implementeren. Het NRC wordt bij elke nieuwe uitgave door het redactiecomité van de "Sanford Guide to Antimicrobial Therapy – Belgian Edition" gevraagd voor zijn expertise op het gebied van de epidemiologische surveillance van de resistentie van *H. pylori* tegen antibiotica en voor de revisie en eventuele actualisatie van de schema's van therapeutische aanbevelingen die in de gids zijn opgenomen. Het NRC werkt bovendien samen met de Groupe d'Etude Français d'Helicobacter (GEFH) en op Europees niveau met de European Helicobacter Study Group (EHSG) in het kader van multicentrische studies voor de surveillance van de antibioticaresistentie of voor de evaluatie/standaardisatie van methodes en/of diagnostie technieken.

In 2012 zijn de resultaten gepubliceerd van een surveillancestudie van de antibioticaresistentie van *H. pylori* in verschillende Europese landen en de correlatie waargenomen tussen het resistentiepercentage en de antibioticacconsumptie in de verschillende landen (F. Mégraud et al., Gut 2012 ; IF :10.6). Het Belgisch NRC was vertegenwoordigd als *senior author* en mede-hoofdonderzoeker van deze opdracht. De opdracht is vermeld in het activiteitenrapport van 2011 omdat de analyse van de gegevens en de redactie van het artikel hoofdzakelijk in dat jaar zijn gerealiseerd.

3. Epidemiologische karakteristieken

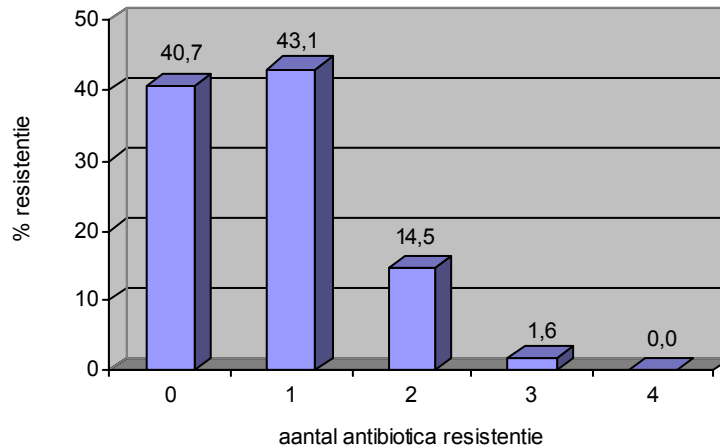
Voor 2011 bedroeg het percentage positieve culturen 16,5% (313 van de 1896 uitgevoerde culturen waren positief). Het percentage positieve culturen van *H. pylori* schommelt elk jaar tussen de 15 en 20%. De prevalentie van *H. pylori* in de algemene bevolking vermindert jaarlijks progressief (in de periode 1990-2000 bedroeg het gemiddelde prevalentiepercentage nog 25-30%), parallel met de daling van de incidentie van ulceratieve maag- en darmziekten in de bevolking. Het valt echter op te merken dat het infectiepercentage met *H. pylori* significant hoger ligt in de buitenlandse bevolkingsgroepen (patiënten geboren in een ander land dan België) dan in de autochtone bevolking (gegevens niet voorgesteld).

Een deel van de daling van het percentage positieve culturen voor *H. pylori* kan ook worden toegeschreven aan de inname van geneesmiddelen tegen secreties (vooral inhibitoren van de protonpomp), frequent toegediend bij patiënten die een endoscopie van de bovenste spijsverteringswegen ondergaan en waarvan het inhiberende bacteriostatische effect op de groei van *H. pylori* bekend is (wanneer deze behandelingen ten minste 2 weken vóór de afname van een biopsie niet worden onderbroken).

Voor gerapporteerde resistentiepercentages onderscheiden we de **primaire resistentie** (waargenomen resistentiepercentage bij afwezigheid van een bekende of vermoedelijke blootstelling van de patiënt) tegen een specifieke behandeling met het oog op de uitroeiing van de infectie met *H. pylori* en de **secundaire resistentie** of resistentie waargenomen na de mislukking van de uitroeiing van de infectie bij patiënten die vooraf een specifieke behandeling tegen *H. pylori* toegediend hebben gekregen.

Het is van belang om dit onderscheid te maken omdat de primaire resistentiepercentages gerapporteerd in de bevolking een rechtstreekse impact hebben op de keuze van de probabilistische eerstelijnsbehandelingen toegediend bij gebrek aan microbiologische stalen.

Figuur 1: Aantal antibiotica waarvoor primaire resistentie wordt vastgesteld



Er wordt een **primaire resistentie** vastgesteld in bijna 60% van de geteste stammen van *H. pylori*. Deze resistentie treft in de meeste gevallen een enkele antibioticaklasse (zie tabel 1). Er is evenwel resistentie tegen twee antibiotica vastgesteld bij 36 patiënten (hetzij 14,5% van de gevallen). Deze dubbele resistentie betreft meestal levofloxacin en metronidazol (n=22), levofloxacin en claritromycine (n=12) en minder vaak metronidazol en claritromycine (n=2). Resistentie tegen drie verschillende klassen van antibiotica is gerapporteerd voor isolaten van *H. pylori* bij 4 patiënten (1,6%). Deze twee- of drievoudige resistenties suggereren dat de resistentie naar alle waarschijnlijkheid het gevolg is van niet-gedocumenteerde voorgaande behandelingen voor infecties met *H. pylori* hetzij andere intercurrente infecties (chronische respiratoire infecties of recidiverende urinaire infecties).

Tabel 1: Evolutie van de primaire resistentiepercentages van *H. pylori* tegen antibiotica in België

Antibiotica	2009	2010	2011
	N = 354 % resistentie	N = 393 % resistentie	N = 254 % resistentie
Amoxicilline	1,1	1,0	1,2
Claritromycine	15,5	20,9	18,4
Metronidazole	28,0	33,6	32,0
Levofloxacin	25,8	20,4	24,0
Tetracycline	0,0	0,0	0,4

khpylori_t1

Evolutie van de primaire resistentie van *H. pylori* tegen antibiotica. Gegevens verzameld op basis van de resultaten van antibiogrammen die van januari 2009 tot december 2011 in het laboratorium voor microbiologie van de Cliniques UCL in Mont-Godinne zijn uitgevoerd. Resultaten na uitsluiting van dubbels (een enkele stam per patiënt) en stammen van *H. pylori* geïsoleerd uit maagbiopsieën afkomstig van patiënten die al zijn behandeld voor een infectie met *H. pylori* (secundaire resistentie).

De stammen zijn hoofdzakelijk afkomstig van 5 ziekenhuizen (4 in Wallonië en 1 in Brussel).

De antibiogrammen zijn uitgevoerd met behulp van de diffusiemethode met schijfjes in gelose en de MIC door de E-testmethode, volgens de aanbevelingen van de European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG). De interpretatie van de MIC-resultaten is verricht volgens de aanbevelingen van EUCAST (Clinical Breakpoint Table v. 2.0, geldig vanaf 2012-01-01).

De primaire resistentie van *H. pylori* tegen antibiotica treft hoofdzakelijk metronidazol, claritromycine (kruisresistentie tegenover alle macroliden) en levofloxacin (kruisresistentie tegenover alle fluoroquinolonen). De resistenties tegen deze drie antibioticaklassen hebben een grote impact in de kliniek en verminderen in grote mate de efficiëntie van de therapeutische schema's met deze moleculen. Dit is vooral het geval voor de resistentie tegen macroliden (vermindering van de doeltreffendheid van de behandelingen met gemiddeld > 50% in geval van resistentie), het effect van de resistentie tegen metronidazol is minder opvallend (25% vermindering van de doeltreffendheid van de behandelingen).

Resistentie tegen penicillinen en tetracyclinen is heel zeldzaam ($\leq 1\%$) en de klinische impact ervan is niet duidelijk aangetoond. Globaal genomen blijven de waargenomen resistentieniveaus tijdens de laatste drie jaar stabiel, ondanks enkele lichte schommelingen. Rekening houdend met de omvang van de steekproef, het beperkte karakter (lokaal) van de surveillance en de aanwezigheid van bias bij de selectie van de patiënten (diensten voor endoscopie verbonden aan een ziekenhuis, leidend tot een groter risico op het rekruteren van al behandelde patiënten die in tweede lijn door hun behandelende arts zijn doorverwezen), laten deze percentages echter niet toe om ze naar de algemene bevolking te extrapoleren. Transversale prevalentiestudies, doelgericht georganiseerd in stadspraktijken voor endoscopieën van gastro-enterologen, zouden de resistentiepercentages van *H. pylori* in de algemene populatie waarschijnlijk juist weerspiegelen maar de invoering en uitvoering van dergelijke studies is extreem complex (afwezigheid van de routinematige uitvoering van culturen van *H. pylori*).

Er moeten echter enkele kanttekeningen worden gemaakt bij de primaire antibioticaresistentie van *H. pylori*.

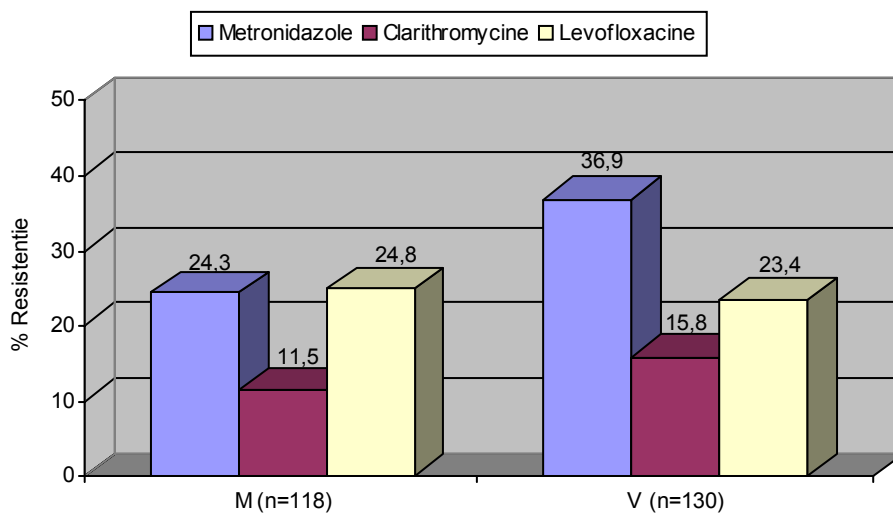
Een hoog resistentiepercentage tegen macroliden (om en bij de 15-20%) vormt een contra-indicatie voor het gebruik van de empirische eerstelijnsbehandeling (associatie amoxicilline + claritromycine + inhibitor van de protonpomp (IPP) omdat de doeltreffendheid van dit therapeutische systeem slechts leidt tot 60-70% uitroeiing in geval van resistentie tegen claritromycine tegenover 90% of meer als de stam gevoelig is. De niet-constante activiteit van claritromycine op *H. pylori* suggereert dat de herziening van therapeutische algoritmes in België nodig kan zijn met bvb. een alternatieve therapeutische eerstelijns (bv. sequentiële behandeling IPP + amoxicilline gedurende 5 dagen gevolgd door een behandeling door IPP + claritromycine + metronidazol gedurende 5 dagen, quadritherapie op basis van bismutzout + tetracycline + metronidazol + IPP gedurende 10 dagen of associatie amoxicilline + levofloxacin + IPP gedurende 10 dagen).

Een recente multicentrische studie uitgevoerd in verschillende Europese landen heeft aangetoond dat de resistentiepercentages tegen macroliden en fluoroquinolonen op significante wijze varieerden tussen landen en globaal genomen hoger lagen in de Zuid en Centraal-Europese landen (in verhouding tot de Noord-Europese landen waar de resistentiepercentages lager waren).

Het resistentieniveau was voor beide antibioticaklassen nauw verbonden met de consumptiegraad in de algemene bevolking in de jaren voordien. Vooral het hoge resistentieniveau van *H. pylori* tegen levofloxacin (Portugal is een van de landen met de hoogste resistentiepercentages in Europa) was op een heel significante manier geassocieerd met een grotere consumptie van fluoroquinolonen (in het bijzonder die van de derde generatie, zoals levofloxacin en moxifloxacin).

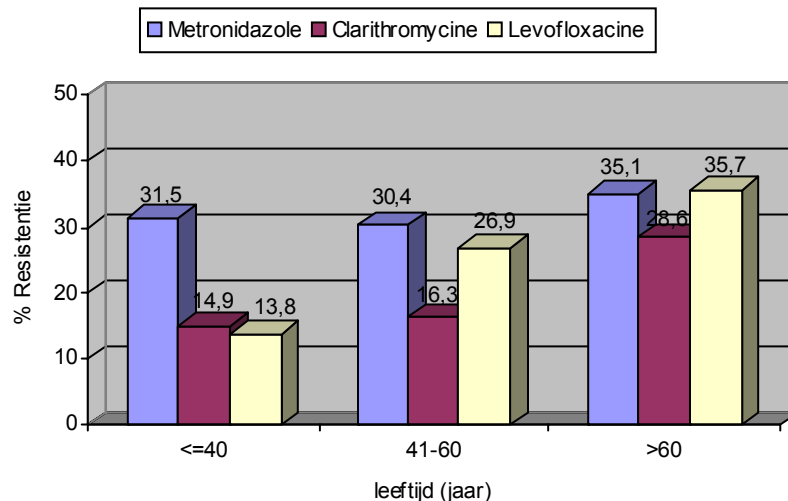
De hoge resistentiepercentages van *H. pylori* tegen fluoroquinolonen (meer dan 20%) is een contra-indicatie voor het systeem met amoxicilline/levofloxacin/IPP als therapeutisch alternatief voor de eerstelijnsbehandeling in België.

Figuur 2: Primaire resistentie van *H. pylori* tegen antibiotica volgens het geslacht van de patiënten



Het resistentiepercentage tegen metronidazol lag significant hoger ($p=0,03$) bij vrouwen dan bij mannen (36,9% versus 24,3%; $p=0,03$). Voor de twee andere antibiotica is geen enkel significant verschil in de resistentie in functie van het geslacht waargenomen. In de studies is er bijna altijd een hoger resistentiepercentage tegen nitromidazol bij vrouwen vastgesteld; dit kan waarschijnlijk worden toegeschreven aan een hoger niveau van blootstelling van vrouwen door voorschrijving van nitromidazolen voor de behandeling van geslachtsinfecties (bv. trichomoniasen).

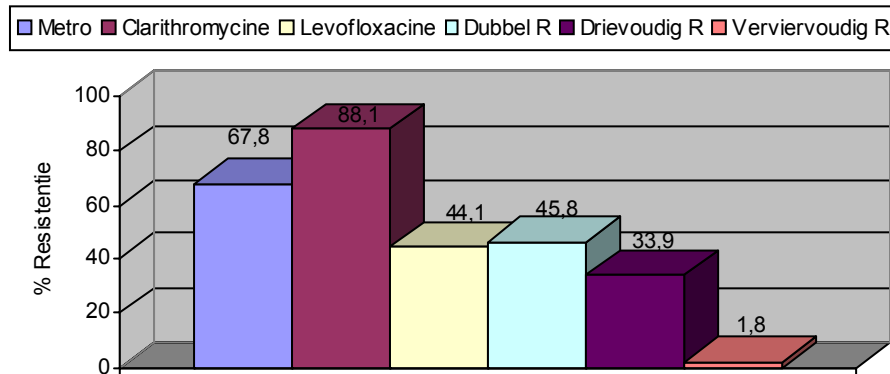
Figuur 3: Primaire resistentie van *H. pylori* tegen antibiotica volgens de leeftijd van de patiënten



Het resistentiepercentage tov. levofloxacin nam significant toe in functie van de leeftijd ($p=0,007$). Voor metronidazol en claritromycine waren de verschillen volgens de leeftijdsgroepen van de patiënten niet significant. Het frequentere gebruik van fluoroquinolonen bij personen op leeftijd (voor de behandeling van chronische respiratoire infecties en/of recidiverende urinaire infecties) zou het hogere resistentiepercentage tegen levofloxacin in de oudere leeftijdsgroepen kunnen verklaren.

Er is geen enkel resistentieverschil waargenomen volgens de nationaliteit en/of het geboorteland van de patiënten (België versus andere landen). Deze informatie ontbrak echter in meer dan 50% van de gevallen, waardoor de betrouwbaarheid van de statistische analyse gering is. Uit de meerderheid van de epidemiologische surveillanciestudies blijkt dat het resistentiepercentage tegen metronidazol in het algemeen hoger ligt bij patiënten geboren in het buitenland (Zuid en Centraal-Europa versus West-Europa, Afrika, Azië versus Europa).

Figuur 4: Secundaire resistentie van *H. pylori* tegen antibiotica



De percentages voor secundaire resistentie (na de mislukking van de behandeling voor de uitroeiing van infecties met *H. pylori*) liggen heel hoog en variëren van 50 tot meer dan 80% afhankelijk van antibiotica. De hoogste resistentiepercentages na behandeling werd vastgesteld voor claritromycine. Rekening houdend met de heel hoge frequentie van het opduiken van de resistentie tegen macroliden, is het formeel gecontra-indiceerd om opnieuw een behandeling op basis van macroliden toe te dienen in geval van een eerder mislukte behandeling met claritromycine.

De hoge twee- en drievoudige resistentie na behandeling suggereert ook dat de tweede- en derdelijnsbehandelingen moeten worden aangepast in functie van de resultaten van de cultuur en het antibiogram.