

幽门螺杆菌临床分离株耐药特点分析

杨行堂, 张俊杰, 张旖晴, 余远怀, 陈锡美, 王志荣

■背景资料

*H pylori*是胃炎、消化性溃疡及胃黏膜相关组织淋巴瘤的重要致病因素,也是胃癌发生的I类致病因子。因此,近年来根除*H pylori*治疗备受重视,抗生素广泛使用,导致日益严重的*H pylori*抗生素耐药现象。

杨行堂, 张俊杰, 张旖晴, 余远怀, 陈锡美, 王志荣, 同济大学附属同济医院消化科, 同济大学消化疾病研究所 上海市200065

上海市科委科技发展基金项目, No. 044119647

通讯作者: 王志荣, 200065, 上海市新村路389号, 同济大学附属同济医院消化内科, 同济大学消化疾病研究所。

wzr62@yahoo.com.cn

电话: 021-56050408

收稿日期: 2007-01-02 接受日期: 2007-01-20

Characteristics of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strain isolated from patients

Xing-Tang Yang, Jun-Jie Zhang, Yi-Qing Zhang, Yuan-Huai Yu, Xi-Mei Chen, Zhi-Rong Wang

Xing-Tang Yang, Jun-Jie Zhang, Yi-Qing Zhang, Yuan-Huai Yu, Xi-Mei Chen, Zhi-Rong Wang, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital of Tongji University; Institute of Digestive Diseases, Tongji University, Shanghai 200065, China

Supported by Shanghai Foundation for the Development of Science and Technology, No. 044119647

Correspondence to: Zhi-Rong Wang, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital of Tongji University; Institute of Digestive Diseases, Tongji University, 389 Xincun Road, Shanghai 200065, China. wzr62@yahoo.com.cn

Received: 2007-01-02 Accepted: 2007-01-20

Abstract

AIM: To analyze the resistance of clinical isolated *H pylori* strain to common antibiotics.

METHODS: *H pylori* strains were obtained by inoculating the specimens of 61 patients in the selective media for 96 hours at 37°C under microaerophilic conditions. Kirby-Bauer test was performed to detect the drug sensitivity of the 61 isolated *H pylori* strains to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and furazolidone.

RESULTS: The antibiotic resistant rates of *H pylori* strains to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and furazolidone were 54.1%, 37.7%, 41.0% and 45.9%, respectively, and there were no significant difference among them ($P > 0.05$). The resistance *H pylori* strains to metronidazole was related to the sex of patients ($P = 0.037$), and

the resistance of *H pylori* strains to metronidazole, clarithromycin and amoxicillin was closely related to the history of antibiotic usage ($P = 0.028$; $P = 0.034$; $P = 0.005$). No significant relationship existed between the antibiotic resistance of *H pylori* in the type of disease and the age of patients ($P > 0.05$).

CONCLUSION: *H pylori* has high resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, and furazolidone, which is associated with the history of antibiotic application, but not with the disease category and age of patients.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Antibiotics; Drug resistance

Yang XT, Zhang JJ, Zhang YQ, Yu YH, Chen XM, Wang ZR. Characteristics of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strain isolated from patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(9):1012-1015

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*H pylori*)对常用抗生素的耐药特点。

方法: 将来自不同患者的胃镜活检标本分别涂布接种幽门螺杆菌培养基后37°C微需氧环境下培养96 h, 得61株*H pylori*临床分离株。对其采用Kirby-Bauer法行甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、呋喃唑酮4种抗生素药敏试验, 并分析其特点。

结果: *H pylori*临床分离株对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、呋喃唑酮4种抗生素的耐药率分别为54.1%, 37.7%, 41.0%和45.9%。4种抗生素耐药率比较无统计学差异($P > 0.05$)。甲硝唑耐药存在性别差异($P = 0.037$)。甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林耐药与患者用药史相关($P = 0.028$; $P = 0.034$; $P = 0.005$)。4种抗生素耐药与患者疾病类型及年龄无关($P > 0.05$)。

结论: 4种抗生素耐药率均较高。耐药率与用药史相关, 与疾病类型及年龄未见相关性。

关键词: 幽门螺杆菌; 抗生素; 耐药

杨行堂, 张俊杰, 张旖晴, 余远怀, 陈锡美, 王志荣. 幽门螺杆菌临床分离株耐药特点分析. 世界华人消化杂志 2007;15(9):1012-1015

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1012.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*H pylori*)是胃炎、消化性溃疡的重要致病因素, WHO于1994年将其列为胃癌 I 类致病因子, 并与胃淋巴瘤的发生密切相关. 故 *H pylori* 感染的治疗受到重视. 根除 *H pylori* 的抗生素广泛使用, 随之产生抗生素耐药现象也日益突出. 为进一步了解 *H pylori* 对常用抗生素的耐药情况, 指导临床合理选用抗生素, 本研究对 *H pylori* 临床株行药敏试验并对耐药特点进行分析.

1 材料和方法

1.1 材料 61例 *H pylori* 培养阳性病例来自我院胃镜检查患者, 其中男40例, 女21例, 平均年龄40岁; 胃溃疡9例, 十二指肠球部溃疡21例, 胃炎31例; 3 mo内使用过甲硝唑的22例、克拉霉素的17例、阿莫西林的26例、呋喃唑酮的22例. *H pylori* 培养基及琼脂分别购自上海市疾病预防控制中心及Sigma公司; 药敏纸片购自英国Oxid公司; *H pylori* 临床株来自本院胃镜活检标本经培养分离得到.

1.2 方法 对胃镜检查快速尿素酶试验阳性患者, 活检取材胃窦小弯侧组织标本, 立即床边酒精灯旁接种于 *H pylori* 培养基上, 然后转至具换气功能含50 mL/L O₂, 100 mL/L CO₂, 850 mL/L N₂, 湿度95%以上的微需氧培养罐中, 培养96 h. 由菌落外观、革兰氏染色镜下形态、尿素酶、氧化酶、过氧化物酶试验等进行 *H pylori* 培养结果综合判定; 共得来自61例 *H pylori* 培养阳性患者的61株 *H pylori* 临床分离株. 采用Kirby-Bauer法进行药敏试验. 将甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、呋喃唑酮4种抗生素的药敏纸片置于接种 *H pylori* 菌液后数分钟的 *H pylori* 培养皿中, 菌液浓度为0.5麦氏标准浊度, 纸片放入到培养开始控制在15 min内, 37℃微需氧环境孵育96 h, 取出平板, 观察抑菌圈大小. 参考相关文献[1-3]并根据该实验情况制定药敏结果判定标准, 分为高度敏感: 抑菌圈直径≥15 mm, 中度敏感: 10 mm≤抑菌圈直径<15 mm, 低度敏感: 6 mm<抑菌圈直径<10 mm, 不敏感: 无抑菌圈. 统计时将无效、低敏算作耐药, 中敏和高敏定为敏感.

表 1 抗生素耐药率的比较

项目	甲硝唑 (%)	克拉霉素 (%)	阿莫西林 (%)	呋喃唑酮 (%)	P值
耐药	33(54.1)	23(37.7)	25(41.0)	28(45.9)	0.288
敏感	28(45.9)	38(62.3)	36(59.0)	33(54.1)	

表 2 抗生素耐药与疾病类型关系(n)

疾病类型	甲硝唑		克拉霉素		阿莫西林		呋喃唑酮	
	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感
球部溃疡	14	7	9	12	10	11	12	9
胃溃疡	6	3	3	6	2	7	4	5
胃炎	13	18	11	20	13	18	12	19
P值	0.164		0.829		0.427		0.494	

表 3 抗生素耐药与性别的关系(n)

抗生素	男		女		P值
	耐药	敏感	耐药	敏感	
甲硝唑	26	15	7	13	0.037
克拉霉素	18	23	5	15	0.153
阿莫西林	14	27	11	9	0.120
呋喃唑酮	22	19	6	14	0.082

统计学处理 实验数据采用SAS8.0统计软件包行卡方检验.

2 结果

2.1 抗生素耐药率的比较 甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、呋喃唑酮的耐药率分别是54.1%, 37.7%, 41.0%, 45.9%. 4种抗生素耐药率相比较差异无统计学意义($P>0.05$, 表1).

2.2 抗生素耐药与疾病类型的关系 4种不同抗生素的耐药情况与疾病类型关系进行比较, 未见抗生素耐药与疾病类型有统计学相关($P>0.05$, 表2).

2.3 抗生素耐药与性别的关系 4种不同抗生素的耐药情况在男、女性间进行比较, 结果发现除甲硝唑耐药在男、女间存在统计差异($P<0.05$)外, 其余抗生素耐药未见和性别有统计学相关性, $P>0.05$ (表3).

2.4 抗生素耐药与年龄的关系 4种不同抗生素的耐药情况与患者年龄的关系进行比较, 结果未见有统计学差异($P>0.05$), 即未见相关性(表4).

2.5 抗生素耐药与用药史的关系 4种不同抗生素

■创新盘点

既往虽见一些有关 *H pylori* 耐药情况的文献报道, 但大多仅涉及耐药率或某一些方面的报道, 本文除对 *H pylori* 对常用抗生素耐药率的情况进行分析外, 尚对 *H pylori* 临床分离株的抗生素耐药与疾病类型、性别、年龄、用药史等因素的关系进行了分析, 以期对 *H pylori* 抗生素耐药研究及临床治疗提供参考.

■应用要点

本文对*H pylori*临床分离株行药敏实验并分析其耐药特点,以便临床更好的了解和认识*H pylori*临床分离株目前的耐药情况,并为临床根除*H pylori*时规范使用抗生素、制定合理用药方案、研制开发新的抗*H pylori*药物的必要性等提供了很好的临床依据。

表 4 抗生素耐药和年龄的关系(n)

抗生素		年龄组(岁)							P值
		16-19	19-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-73	
甲硝唑	耐药	2	6	8	9	3	4	1	0.870
	敏感	4	2	9	4	6	2	1	
克拉霉素	耐药	0	6	7	4	2	3	1	0.130
	敏感	5	3	13	8	7	1	1	
阿莫西林	耐药	3	6	7	5	1	2	1	0.330
	敏感	4	3	11	7	9	1	1	
呋喃唑酮	耐药	3	7	6	6	3	2	1	0.625
	敏感	5	2	10	6	7	3	0	

表 5 抗生素耐药和用药史的关系(n)

	近期用药史	耐药	敏感	P值
甲硝唑	无	17	22	0.028
	有	16	6	
克拉霉素	无	13	31	0.034
	有	10	7	
阿莫西林	无	9	26	0.005
	有	16	10	
呋喃唑酮	无	16	23	0.309
	有	12	10	

耐药情况与近期用药史(3 mo之内)的关系进行比较,结果显示,除呋喃唑酮耐药未见与近期用药史有统计差异($P>0.05$),其余3种抗生素耐药均和近期用药史有统计学相关($P<0.05$,表5)。

3 讨论

自1983年澳大利亚学者Warren和Marshall首次从胃炎患者的胃黏膜中分离出*H pylori*至今,国内外大量研究证实,*H pylori*为慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡的主要致病因素,流行病学调查证实,*H pylori*与胃癌发病机制关系密切,也是胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤的重要致病因子。WHO于1994年将其列为胃癌的I类致病因子。因此抗*H pylori*治疗备受关注,但抗生素广泛使用或者滥用抗生素使得*H pylori*耐药现象也日益突出^[4-7]。

该研究显示,61例*H pylori*临床株对于临床上常用甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素及呋喃唑酮4种抗生素均出现较高耐药率,与国内外一些文献报道基本一致^[8-10]。*H pylori*对4种抗生素的耐药与近期用药史有关,主要为滥用或不合理应用抗生素导致根治失败产生的继发耐药,这

和Toracchio *et al*^[4]研究一致。日本学者Taneike *et al*^[5]报道由*H pylori*家族聚积性传播感染的日本儿童对克拉霉素耐药率高达42.9%,其感染多来自和其父母相同*H pylori*品系,但父母的耐药率为零,也远高于该国成人患者该药的11.1%的耐药率,可能与过去10 a来该类药在儿科感染,尤其呼吸道感染中应用增加有关。*H pylori*对克拉霉素耐药的分子基础可能与抗生素选择性压力下23SrRNA肽酰转移酶基因点突变及0mp31耐药基因有关^[5,11-12]。研究结果显示*H pylori*临床株对甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素及呋喃唑酮耐药率比较无统计学差异;对甲硝唑的耐药率相对较高,且与性别有关;男性的耐药率高于女性,与此前Glupczynski *et al*^[13]报道相反。既往有关*H pylori*对甲硝唑的耐药率为女性高于男性,认为可能与该药较广泛用于妇科疾病治疗、致细菌的硝基还原酶rdxA及frxa基因突变有关^[14]。本研究观察的病例数相对较少,男性病例数多于女性,故认为甲硝唑耐药可能属于继发耐药,而并非真正与性别相关。有报道*H pylori*耐药与患者年龄有关^[15]。该研究未见*H pylori*对抗生素耐药与患者年龄有相关性。*H pylori*耐药和疾病类型间关系的报道较少。Lui *et al*^[16]研究结果显示,感染*H pylori*的非溃疡性功能性消化不良(non-ulcer dyspepsia, NUD)及消化性溃疡者的甲硝唑耐药率分别为56.4%, 19.8%;前者的耐药率明显高于后者。本研究并未发现*H pylori*耐药与患者的疾病类型有关。其结果的不同是否与样本大小、样本群体来源不同等有关,有待进一步研究证实。

总之,临床分离株*H pylori*对常用抗生素的耐药率较高,可能与滥用及不合理用药有关。日益增高的*H pylori*耐药率给临床根治*H pylori*感染带来许多困难。如何规范施用抗生素、制定

合理的抗*H pylori*治疗方案、研制及开发新的抗*H pylori*药物, 有效根除*H pylori*感染, 将是有关*H pylori*感染临床治疗的研究重点。

4 参考文献

- 1 管远志, 王艾琳, 李坚. 医学微生物学实验技术. 第1版. 北京: 化学工业出版社, 2006: 105-146
- 2 胡文华, 徐采朴. 幽门螺杆菌菌株的7种药物体外药敏试验研究. 第三军医大学学报 1996; 18: 457-458
- 3 Yakoob J, Fan X, Hu G, Liu L, Zhang Z. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* in the Chinese population. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 981-985
- 4 Toracchio S, Marzio L. Primary and secondary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated in central Italy during the years 1998-2002. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 541-545
- 5 Taneike I, Goshi S, Tamura Y, Wakisaka-Saito N, Matsumori N, Yanase A, Shimizu T, Yamashiro Y, Toyoda S, Yamamoto T. Emergence of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* (CRHP) with a high prevalence in children compared with their parents. *Helicobacter* 2002; 7: 297-305
- 6 McMahon BJ, Hennessy TW, Bensler JM, Bruden DL, Parkinson AJ, Morris JM, Reasonover AL, Hurlburt DA, Bruce MG, Sacco F, Butler JC. The relationship among previous antimicrobial use, antimicrobial resistance, and treatment outcomes for *Helicobacter pylori* infections. *Ann Intern Med* 2003; 139: 463-469
- 7 Perez Aldana L, Kato M, Nakagawa S, Kawarasaki M, Nagasako T, Mizushima T, Oda H, Kodaira J, Shimizu Y, Komatsu Y, Zheng R, Takeda H, Sugiyama T, Asaka M. The relationship between consumption of antimicrobial agents and the prevalence of primary *Helicobacter pylori* resistance. *Helicobacter* 2002; 7: 306-309
- 8 郝庆, 李岩, 张智杰, 刘勇, 王晓. 沈阳地区幽门螺杆菌耐药情况的研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 480-481
- 9 Godoy AP, Ribeiro ML, Benvengo YH, Vitiello L, Miranda Mde C, Mendonca S, Pedrazzoli J Jr. Analysis of antimicrobial susceptibility and virulence factors in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *BMC Gastroenterol* 2003; 3: 20
- 10 Wu H, Shi XD, Wang HT, Liu JX. Resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazole, tetracycline and amoxycillin. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 121-123
- 11 郝庆, 李岩, 高红, 张显忠. 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的分子基础. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1485-1487
- 12 姜葵, 何利华, 赵飞, 王邦茂, 张建中. 一种新的幽门螺杆菌克拉霉素耐药相关基因. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1516-1519
- 13 Glupczynski Y, Megraud F, Lopez-Brea M, Andersen LP. European multicentre survey of *in vitro* antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 820-823
- 14 Marais A, Bilardi C, Cantet F, Mendz GL, Megraud F. Characterization of the genes *rdxA* and *frxA* involved in metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Res Microbiol* 2003; 154: 137-144
- 15 Meyer JM, Silliman NP, Wang W, Siepmann NY, Sugg JE, Morris D, Zhang J, Bhattacharyya H, King EC, Hopkins RJ. Risk factors for *Helicobacter pylori* resistance in the United States: the surveillance of *H. pylori* antimicrobial resistance partnership (SHARP) study, 1993-1999. *Ann Intern Med* 2002; 136: 13-24
- 16 Lui SY, Yeoh KG, Ho B. Metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* is more prevalent in patients with nonulcer dyspepsia than in peptic ulcer patients in a multiethnic Asian population. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5011-5014

■同行评价

本文报告了61例患者*H pylori*阳性耐药检测结果, 相关报道不多, 有一定的临床意义。

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献。第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验; (2)采集数据; (3)分析/解释数据。第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章; (2)对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析; (2)获取研究经费; (3)行政、技术或材料支持; (4)指导; (5)支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者。世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者。(世界胃肠病学杂志社2007-03-28)