

4种抗生素抗幽门螺杆菌临床分离株的特点

杨行堂, 刘占举

杨行堂, 同济大学附属第十人民医院急诊科 上海市 200072
刘占举, 同济大学附属第十人民医院消化科 上海市 200072
杨行堂, 主治医师, 主要从事幽门螺杆菌与胃黏膜病变关系的研究。

作者贡献分布: 此课题由杨行堂与刘占举共同设计; 研究过程由杨行堂完成; 论文写作由杨行堂与刘占举共同完成。

通讯作者: 刘占举, 教授, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属上海市第十人民医院消化科。zhanjuliu@yahoo.com
电话: 021-66301164

收稿日期: 2014-06-12 修回日期: 2014-07-20

接受日期: 2014-08-07 在线出版日期: 2014-09-18

Antimicrobial activities of four antibiotics against clinical isolates of *Helicobacter pylori*

Xing-Tang Yang, Zhan-Ju Liu

Xing-Tang Yang, Department of Emergency Medicine, the Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, the Tenth people's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, the Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuliu@yahoo.com

Received: 2014-06-12 Revised: 2014-07-20

Accepted: 2014-08-07 Published online: 2014-09-18

Abstract

AIM: To analyze the antimicrobial activities of four antibiotics against the clinical isolates of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to provide a reference for reasonably choosing antibiotics to eradicate *H. pylori*.

METHODS: The sensitivity of 65 clinical isolates of *H. pylori* to clarithromycin, amoxicillin, levofloxacin and furazolidone was analyzed using Kirby-Bauer disk diffusion test. Characteristics of drug sensitivity were analyzed.

RESULTS: The average diameters of inhibition zones for clarithromycin, amoxicillin, levofloxacin and furazolidone against clinical isolates of *H. pylori* were 17.246 mm ± 1.263 mm, 16.492 mm ± 1.263 mm, 14.246 mm ± 1.26 mm, 16.661 mm ± 1.263 mm, respectively, and the correspond-

ing effective rates were 73.8%, 78.5%, 75.4% and 80%, respectively. There were no significant differences in the average diameters of inhibition zones or the effective rates among the four antibiotics ($P > 0.05$). There were no relationships between antimicrobial activities of antibiotics against clinical isolates of *H. pylori* and ^{14}C urea breath test, sex or disease category ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Clarithromycin, amoxicillin, levofloxacin and furazolidone exhibit comparable antimicrobial effects against clinical isolates of *H. pylori*.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Antibiotics; Resistance

Yang XT, Liu ZJ. Antimicrobial activities of four antibiotics against clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(26): 4041-4044
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4041.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i26.4041>

摘要

目的: 探讨根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)常用的4种抗生素对*H. pylori*临床分离株体外抗菌特点, 为临床根除治疗*H. pylori*感染合理选择抗生素提供参考。

方法: 采用Kirby-Bauer法对65例*H. pylori*临床分离株分别行克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星、呋喃唑酮抗*H. pylori*药敏实验, 并分析其抗菌特点。

结果: 克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星、呋喃唑酮4种抗生素平均抑菌圈直径分别为17.246 mm ± 1.263 mm、16.492 mm ± 1.263 mm、14.246 mm ± 1.263 mm、16.661 mm ± 1.263 mm, 抗*H. pylori*有效率分别为73.8%、78.5%、75.4%、80.0%, 无论平均抑菌圈直径还是有效率分别相比较, 均无统计学差异($P > 0.05$)。抗菌活性与 ^{14}C 呼气试验结果、性别、疾病类型等均无相关性($P > 0.05$)。

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡等重要的致病因素, 是胃癌的I类致病因子, 并与胃黏膜相关淋巴瘤的发生密切相关, *H. pylori*根除治疗受到高度重视, 但亦由此产生了日益严重的抗生素耐药情况。

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

■研发前沿

不合理用药等治疗所致*H. pylori*抗生素耐药情况较为突出,具体耐药机制尚不明确,对常用抗*H. pylori*抗生素抗菌特点进行分析显得十分必要。

结论: 4种抗生素抗*H. pylori*效果相当,且与¹⁴C呼气试验结果、性别、疾病类型等均未见相关性。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 抗生素; 耐药

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)高耐药率给临床根治*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*感染及有关*H. pylori*耐药基因方面的研究将是有关*H. pylori*感染临床治疗的重点研究方向之一。

杨行堂, 刘占举. 4种抗生素抗幽门螺杆菌临床分离株的特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(26): 4041-4044 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4041.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i26.4041>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是胃炎、消化性溃疡的重要致病因素之一,世界卫生组织(World Health Organization, 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。为进一步了解根除*H. pylori*常用抗生素的抗*H. pylori*活性情况,指导临床合理选用抗生素,本研究对*H. pylori*临床株行4种抗生素药敏试验,并分析4种抗生素的抗菌特点。

1 材料和方法

1.1 材料 65例*H. pylori*培养阳性病例来自同济大学附属第十人民医院胃镜检查患者,其中¹⁴C呼气试验阴性22例、阳性43例,男41例,女24例,溃疡31例,非溃疡34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5%O₂, 10%CO₂, 85%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、过氧化物酶试验结果进行菌株鉴定。采用Kirby-Bauer法进

行药敏试验。将克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星、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[1,2]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。

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0统计软件包行方差分析及 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4种抗生素平均抑菌圈直径大小比较 4种抗生素平均抑菌圈直径大小相比较,克拉霉素平均抑菌圈直径最大(17.246 mm±1.263 mm),呋喃唑酮次之(16.661 mm±1.263 mm),再者阿莫西林(16.492 mm±1.263 mm),左氧氟沙星最小(14.246 mm±1.263 mm),但差别无统计学意义($P=0.329>0.05$)。

2.2 4种抗生素抗*H. pylori*有效率比较 克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星、呋喃唑酮抗*H. pylori*有效率分别为73.8%、78.5%、75.4%、80.0%。4种抗生素抗*H. pylori*有效性相比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

2.3 4种抗生素抗*H. pylori*有效性与¹⁴C呼气试验结果的关系 4种抗生素抗*H. pylori*有效性在¹⁴C呼气试验阴、阳性结果间相比较,未见抗*H. pylori*有效性与¹⁴C呼气试验阴、阳性结果有统计学相关($P>0.05$)(表2)。

2.4 4种抗生素抗*H. pylori*有效性与性别的关系 4种抗生素抗*H. pylori*有效性在男、女性病间进行比较,未见抗*H. pylori*有效性与性别具有相关性($P>0.05$)(表3)。

2.5 4种抗生素抗*H. pylori*有效性与疾病类型的关系 4种不同抗生素的抗*H. pylori*有效率与疾病类型关系进行比较,未见抗生素抗*H. pylori*有效性与疾病类型具有相关性($P>0.05$)(表4)。

3 讨论

*H. pylori*是一种革兰氏阴性微需氧螺杆菌,通常感染人及人以外的灵长目动物的胃组织,目前全世界约超过一半的人受其感染。*H. pylori*是胃

■相关报道

目前大部分学者认为,抗*H. pylori*抗生素均出现广泛耐药,根据本地区抗生素抗*H. pylori*活性特点合理选用抗*H. pylori*药物非常重要。

表 1 4种抗生素抗幽门螺杆菌有效性比较 ($n = 65, n(\%)$)

有效性	克拉霉素	阿莫西林	左氧氟沙星	呋喃唑酮	P值
敏感	48(73.8)	51(78.5)	49(75.4)	52(80)	0.833
耐药	17(26.2)	14(21.5)	16(24.6)	13(20)	

■创新盘点

对常用抗生素的体外抗*H. pylori*的特点如抗生素抗*H. pylori*与¹⁴C呼气试验结果的关系进行了探讨。

表 2 4种抗生素抗幽门螺杆菌有效性与¹⁴C呼气试验结果的关系 ($n = 65$)

¹⁴ C呼气 试验	克拉霉素		阿莫西林		左氧氟沙星		呋喃唑酮	
	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药
阴性	13	9	17	5	21	1	19	3
阳性	35	8	34	9	28	15	33	10
P值	0.075		1.000		0.070		0.516	

表 3 4种抗生素抗幽门螺杆菌有效性与性别的关系

抗生素	男($n = 41$)		女($n = 24$)		P值
	敏感	耐药	敏感	耐药	
克拉霉素	31	10	17	7	0.772
阿莫西林	31	10	19	5	1.000
左氧氟沙星	34	7	15	9	0.080
呋喃唑酮	32	9	20	4	0.753

表 4 抗生素抗幽门螺杆菌有效性与疾病类型关系 ($n = 65$)

疾病类型	克拉霉素		阿莫西林		左氧氟沙星		呋喃唑酮	
	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药
消化性溃疡	24	7	25	6	21	10	24	7
非消化性溃疡	24	10	26	8	28	6	28	6
P值	0.583		0.768		0.250		0.759	

炎、消化性溃疡的重要致病因素, WHO于1994年将其定为胃癌的 I 类致病因子, 并与胃黏膜相关组织淋巴瘤的发生密切相关. 因此, *H. pylori* 的根除治疗受到高度重视, 但由于抗生素的滥用和不合理应用, 导致了日益严重的*H. pylori* 耐药现象发生^[3-6]. 该研究通过对4种常用抗生素的抗*H. pylori*特点进行分析, 旨在为临床抗*H. pylori*治疗时, 合理选择抗生素提供参考.

该研究显示, 克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星及呋喃唑酮对65例*H. pylori*临床株平均抑菌圈直径和有效率分别相比较, 平均抑菌圈直径以克拉霉素最大, 其余依次为呋喃唑酮、阿莫西林、左氧氟沙星, 但差别无统计学意义($P>0.05$); 有效率以呋喃唑酮最优为80%, 其余依次为阿莫西林、左氧氟沙星、克拉霉素, 但差

别也无统计学意义($P>0.05$). 本研究尚显示4种抗生素抗*H. pylori*临床株的有效性与¹⁴C呼气试验结果未见相关性. 此外, 本研究也未发现4种抗生素抗*H. pylori*有效性与患者的疾病类型及性别有关, 这与我们此前研究结果相一致^[1]. 另外, 研究显示22(22/65)例¹⁴C呼气试验结果阴性的患者成功培养分离出*H. pylori*临床株, 据此有理由认为¹⁴C呼气试验结果阴性并不能完全排除*H. pylori*现症感染. 此外, 研究显示*H. pylori*对常用抗生素的耐药率较高, 克拉霉素为26.2%、阿莫西林21.5%、左氧氟沙星24.6%、呋喃唑酮20%, 与我们此前研究^[1]及相关研究^[7-10]一致, 克拉霉素耐药可能与*H. pylori* *CagA*基因阳性、*VaCA s1m1*基因型及23S rRNA的A2143突变有关^[11-13], 阿莫西林耐药与*H. pylori* PBP1结合蛋

■应用要点

本文为临床合理选用抗*H. pylori*药物提供参考.

■同行评价

本文选题准确
结果可靠,具有一定
临床指导意义。

白的多位点突变有关^[14],左氧氟沙星耐药与*H. pylori gyrA*基因突变有关^[15],目前尚未见有关呋喃唑酮的耐药相关基因研究报道,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*感染及有关*H. pylori*耐药基因方面的研究将是有关*H. pylori*感染临床治疗的重点研究方向之一。

志谢: 感谢同济大学附属第十人民医院急诊科及消化科各位老师们在研究过程中给予帮助和支持。

4 参考文献

- 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: 1012-1015
- 杨行堂, 林永辉, 张俊杰, 郭丽坤, 葛艳丽, 王志荣. 甘草活性成分抗幽门螺杆菌实验研究. 同济大学学报(医学版) 2013; 34: 26-30
- Vilaichone RK, Gumnarai P, Ratanachu-Ek T, Mahachai V. Nationwide survey of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Thailand. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 77: 346-349 [PMID: 24094837 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.08.010]
- Boyanova L, Ilieva J, Gergova G, Evstatiev I, Nikolov R, Mitov I. Living in Sofia is associated with a risk for antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: a Bulgarian study. *Folia Microbiol (Praha)* 2013; 58: 587-591 [PMID: 23580173 DOI: 10.1007/s12223-013-0251-9]
- Wueppenhorst N, Stueger HP, Kist M, Glocker EO. High secondary resistance to quinolones in German *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 1562-1566 [PMID: 23463210 DOI: 10.1093/jac/dkt061]
- Picoli SU, Mazzoleni LE, Fernández H, De Bona LR, Neuhauss E, Longo L, Prolla JC. Resistance to amoxicillin, clarithromycin and ciprofloxacin of *Helicobacter pylori* isolated from Southern Brazil patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2014; 56: 197-200 [PMID: 24878996]
- Rasheed F, Campbell BJ, Alfizah H, Varro A, Zahra R, Yamaoka Y, Pritchard DM. Analysis of Clinical Isolates of *Helicobacter pylori* in Pakistan Reveals High Degrees of Pathogenicity and High Frequencies of Antibiotic Resistance. *Helicobacter* 2014 May 14. [Epub ahead of print] [PMID: 24827414 DOI: 10.1111/hel.12142]
- Khademi F, Faghri J, Poursina F, Esfahani BN, Moghim S, Fazeli H, Adibi P, Mirzaei N, Akbari M, Safaei HG. Resistance pattern of *Helicobacter pylori* strains to clarithromycin, metronidazole, and amoxicillin in Isfahan, Iran. *J Res Med Sci* 2013; 18: 1056-1060 [PMID: 24523796]
- An B, Moon BS, Kim H, Lim HC, Lee YC, Lee G, Kim SH, Park M, Kim JB. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* strains and its effect on *H. pylori* eradication rates in a single center in Korea. *Ann Lab Med* 2013; 33: 415-419 [PMID: 24205490 DOI: 10.3343/alm.2013.33.6.415]
- Cuadrado-Lavín A, Salcines-Caviedes JR, Carrascosa MF, Mellado P, Monteagudo I, Llorca J, Cobo M, Campos MR, Ayestarán B, Fernández-Pousa A, González-Colominas E. Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* to six antibiotics currently used in Spain. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 170-173 [PMID: 21965436 DOI: 10.1093/jac/dkr410]
- Bustamante-Rengifo JA, Matta AJ, Pazos A, Bravo LE. In vitro effect of amoxicillin and clarithromycin on the 3' region of *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 6044-6054 [PMID: 24106405 DOI: 10.3748/wjg.v19.i36.6044]
- Sakinc T, Baars B, Wüppenhorst N, Kist M, Huebner J, Opferkuch W. Influence of a 23S ribosomal RNA mutation in *Helicobacter pylori* strains on the in vitro synergistic effect of clarithromycin and amoxicillin. *BMC Res Notes* 2012; 5: 603 [PMID: 23110798 DOI: 10.1186/1756-0500-5-603]
- Abadi AT, Taghvaei T, Ghasemzadeh A, Mobarez AM. High frequency of A2143G mutation in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* isolates recovered from dyspeptic patients in Iran. *Saudi J Gastroenterol* 2011; 17: 396-399 [PMID: 22064338 DOI: 10.4103/1319-3767.87181]
- Nishizawa T, Suzuki H, Tsugawa H, Muraoka H, Matsuzaki J, Hirata K, Ikeda F, Takahashi M, Hibi T. Enhancement of amoxicillin resistance after unsuccessful *Helicobacter pylori* eradication. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3012-3014 [PMID: 21486961 DOI: 10.1128/AAC.00188-11]
- Garcia M, Raymond J, Garnier M, Cremniter J, Burucoa C. Distribution of spontaneous *gyrA* mutations in 97 fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* isolates collected in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 550-551 [PMID: 22064536 DOI: 10.1128/AAC.05243-11]

编辑 田滢 电编 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

