

· 论 著 ·

## 桂西地区幽门螺杆菌耐药性影响因素分析\*

黄衍强<sup>1</sup>, 欧平<sup>2</sup>, 黄赞松<sup>3△</sup>, 周喜汉<sup>3</sup>, 李晓华<sup>1</sup>, 韦红玉<sup>1</sup>

(1. 右江民族医学院医学微生物学与免疫学教研室, 广西百色 533000; 2. 贺州学院, 广西 542800; 3. 右江民族医学院附属医院, 广西百色 533000)

**摘要:**目的 了解桂西地区幽门螺杆菌(Hp)对甲硝唑等抗菌药物产生耐药性的影响因素。方法 采集右江民族医学院附属医院 2006 年 1 月至 2008 年 12 月确诊为 Hp 感染患者的胃窦部黏膜标本进行 Hp 分离培养和鉴定, 经鉴定后选择 374 株 Hp 菌株, 采用纸片扩散法测定其对甲硝唑等抗菌药物的敏感性; 利用单因素分析  $\chi^2$  检验及精确概率法分析 Hp 对抗菌药物耐药与患者性别、民族、疾病及年龄的关系。结果 Hp 对甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素的耐药率与患者性别、民族、疾病及年龄的关系差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 Hp 对甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素的耐药与患者性别、民族、疾病及年龄无密切关系。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 耐药性; 桂西

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.19.005

中图分类号: R378; R969.3

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)19-2555-03

## Study on the affecting factors of helicobacter pylori to the drug resistance in west-Guangxi\*

HUANG Yan-qiang<sup>1</sup>, OU Ping<sup>2</sup>, HUANG Zan-song<sup>3△</sup>, et al.

(1. Department of Microbiology and Immunology of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China; 2. Hezhou College, Guangxi 542800, China; 3. Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

**Abstract:** **Objective** To study on the affecting factors of resistance of Helicobacter pylori (Hp) to metronidazole, amoxicillin, clarithromycin in west-Guangxi. **Methods** Gastric mucosa biopsy specimens were taken from the patients in west-Guangxi during 2006—2008. Three hundred seventy-four strains were diagnosed. These strains resistant to metronidazole, amoxicillin and clarithromycin were determined by using K-B diffusion test. The affecting factors of resistance were determined by analyzed the sex, nationality, types of diseases, age of patient. **Results** The data showed that the resistance rates were no statistical significant difference in the sex, nationality, types of diseases, age of patient ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The data show that the resistance rates are not a close relationship with the sex, nationality, types of diseases, age of patient.

**Key words:** helicobacter pylori; drug resistance; west-Guangxi

目前, 幽门螺杆菌(helicobacter pylori, Hp)对抗菌药物的耐药性是影响 Hp 感染根治效果的主要原因, 尤其对甲硝唑、克拉霉素和阿莫西林的耐药率逐年增加。因此, Hp 耐药菌株的研究已引起人们普遍关注<sup>[1]</sup>。为了解桂西地区 Hp 对甲硝唑等抗菌药物产生耐药的因素, 指导临床用药, 克服耐药菌株的产生, 提高根治率, 本研究于 2006 年 1 月至 2008 年 12 月选择右江民族医学院附属医院就诊的胃溃疡及胃炎患者, 从其胃黏膜中分离培养 Hp, 并进行了耐药性观察和耐药影响因素分析, 现将结果报道如下。

**1 对象与方法**

**1.1 对象** (1) 菌株来源: 选择 2006~2008 年在右江民族医学院附属医院就诊并经病理诊断为胃溃疡、胃炎患者共 482 例, 利用胃镜活检钳采集患者胃窦部黏膜, 进行 Hp 培养鉴定。(2) 培养基与试剂: 哥伦比亚血琼脂培养基、脑心浸液培养基、螺杆菌添加剂(广州迪景微生物科技有限公司产品); 酪蛋白绵羊血(本实验室自制); 1% 盐酸二甲苯二胺溶液、1%  $\alpha$ -萘酚-乙醇溶液、3% 过氧化氢溶液; Hp 快速尿素酶试纸; 甲硝唑

(5  $\mu$ g/片)、阿莫西林(10  $\mu$ g/片)、克拉霉素(15  $\mu$ g/片)药敏纸片(杭州天和微生物试剂有限公司产品); 微需氧袋(含 5% 氧的小型厌氧产气袋、厌氧塑料袋、厌氧塑料袋封口夹、厌氧指示剂, 广州迪景微生物科技有限公司产品); Hp J99 标准菌株(中国 Hp 保藏中心赠送)。

**1.2 Hp 培养** 把采集的胃窦部黏膜先利用 Hp 快速尿素酶实验进行筛选, 阳性者则收集保存于脑心浸液培养基中, 把培养基置保温瓶中冷冻送回实验室。在无菌工作台上把采集的胃黏膜和脑心浸液倒置在配制好的哥伦比亚血琼脂培养基中, 使用手术剪刀快速把黏膜组织剪碎, 然后使用 L 棒在哥伦比亚血琼脂培养基表面把黏膜碎粒涂布均匀, 迅速放入厌氧塑料袋, 剪开小型厌氧产气袋, 放入厌氧指示剂, 最后使用厌氧塑料袋封口夹封闭厌氧塑料袋, 放置孵箱 35  $^{\circ}$ C 培养 7 d<sup>[2]</sup>。

**1.3 直接涂片染色检查** 对分离培养出来的菌落进行革兰染色, 染色方法按文献[3], 经过染色镜检发现革兰阴性杆菌或革兰阴性弧菌即初步判断为 Hp。

**1.4 生化鉴定** 对初步判断是 Hp 的细菌进行氧化酶试验、

\* 基金项目: 广西自然科学基金资助项目(0499002); 广西教育厅基金资助项目(2004)。  $\Delta$  通讯作者, 电话: (0776) 2846532; E-mail: huangzansong@hotmail.com。

触酶试验、快速尿素酶试验<sup>[4]</sup>, 3 个试验结果均为阳性者即鉴定该细菌为 Hp<sup>[5]</sup>。

**1.5 药物敏感试验** 采用纸片扩散法(K-B 法)观察 Hp 对甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素的耐药性。称取哥伦比亚血琼脂培养基 38 g, 加入 1 000 mL 蒸馏水, 制备血琼脂平板, 按每个平皿(直径 9 mm)25 mL 进行分装。将孵育 4 d 的 Hp 接种于生理盐水试管中, 校正浓度至 0.5 麦氏浊度(相当于  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL)。用无菌棉签蘸取菌液, 在试管内壁旋转挤去多余菌液后, 在哥伦比亚血琼脂表面均匀涂布接种 3 次, 每次旋转平板 60°, 最后沿平板内缘涂抹 1 周。平板在室温下干燥 3~5 min 后, 用无菌镊子将药敏纸片紧贴于琼脂表面, 放入微需氧袋, 置 35 °C 孵育 3~4 d, 测量抑菌环大小, 记录抑菌圈直径。抑菌环直径大于 10 mm 判定为敏感, 直径为 0 时判定为耐药; 使用 Hp J99 标准菌株作为对照。

**1.6 统计学方法** 应用 SPSS12.0 统计软件进行统计学数据分析, 使用  $\chi^2$  检验及精确概率法。

## 2 结 果

**2.1 Hp 对甲硝唑的耐药与患者年龄、性别、民族及疾病的关系** 共分离培养 Hp 374 株, 其中对甲硝唑耐药 300 株, 耐药菌株与患者年龄、性别、民族及疾病的关系相比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 Hp 对甲硝唑的耐药与患者性别、民族、疾病及年龄的关系[n(%)]

相关因素	耐药(n=300)	敏感(n=74)	合计
性别			
男	143(47.7)	41(55.4)	184
女	157(52.3)	33(44.6)	190
民族			
壮族	166(55.3)	39(52.7)	205
汉族	134(44.7)	35(47.3)	169
疾病			
溃疡	159(53.0)	42(56.8)	201
胃炎	141(47.0)	32(43.2)	173
年龄(岁)			
<30	64(21.3)	17(23.0)	81
30~40	86(28.7)	21(28.4)	107
>40~50	104(34.7)	24(32.4)	128
>50	46(15.3)	12(16.2)	58

**2.2 Hp 对克拉霉素的耐药与患者年龄、性别、民族及疾病的关系** 在分离培养的 374 株 Hp 中, 对克拉霉素耐药 95 株, 耐药菌株与患者年龄、性别、民族及疾病的关系相比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 2。

**2.3 Hp 对阿莫西林的耐药与患者年龄、性别、民族及疾病的关系** 在分离培养的 374 株 Hp 中, 对阿莫西林耐药 49 株, 耐药菌株与患者年龄、性别、民族及疾病的关系相比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 3。

**2.4 Hp 耐药株不同地区分布** 分布在百色市、田阳县、田林县、凌云县者分别为 117、89、86、82 株, 见表 4。

表 2 Hp 对克拉霉素的耐药与患者性别、民族、疾病及年龄的关系[n(%)]

相关因素	耐药(n=95)	敏感(n=279)	合计
性别			
男	43(45.3)	156(55.9)	199
女	52(54.7)	123(44.1)	175
民族			
壮族	49(51.6)	149(53.4)	198
汉族	46(48.4)	130(46.6)	176
疾病			
溃疡	51(53.7)	153(54.8)	204
胃炎	44(46.3)	126(45.2)	170
年龄(岁)			
<30	21(22.1)	65(23.3)	86
30~40	26(27.4)	76(27.2)	102
>40~50	28(29.5)	80(28.7)	108
>50	20(21.1)	58(20.8)	78

表 3 Hp 对阿莫西林的耐药与患者性别、民族、疾病及年龄的关系[n(%)]

相关因素	耐药(n=49)	敏感(n=325)	合计
性别			
男	21(42.9)	176(54.2)	197
女	28(57.1)	149(45.8)	177
民族			
壮族	26(53.1)	172(52.9)	198
汉族	23(46.9)	153(47.1)	176
疾病			
溃疡	25(51.0)	178(54.8)	203
胃炎	24(49.0)	147(45.2)	171
年龄(岁)			
<30	10(20.4)	78(24.0)	88
30~40	12(24.5)	86(26.5)	98
>40~50	16(32.7)	91(28.0)	107
>50	11(22.4)	70(21.5)	81

表 4 桂西地区 4 县 Hp 耐药情况[n(%)]

区域	甲硝唑	阿莫西林	克拉霉素	总计
百色市	95(81.2)	16(13.7)	32(27.4)	117(31.28)
田阳县	72(80.9)	12(13.5)	25(28.0)	89(23.80)
田林县	70(81.4)	11(12.8)	24(27.9)	86(22.99)
凌云县	66(80.5)	11(13.4)	23(28.0)	82(21.93)

## 3 讨 论

Hp 的感染率在不同国家或地区不尽相同<sup>[6~7]</sup>, 耐药率也是一样, 发达国家的耐药率比发展中国家低<sup>[8~9]</sup>。耐药率差异可能与地理分布、民族、经济水平、用药习惯、时间跨度和所采

用的药敏实验方法有一定的关系<sup>[10-11]</sup>。桂西地区处于滇、黔、桂 3 省交界处,属于边远山区,经济发展比较落后;该地区有壮、汉、瑶、苗等民族分布,主要以壮、汉族为主。近几年,由于国家药品采购制度以及抗菌药物使用制度逐渐完善,医师的用药习惯也逐步规范,滥用抗菌药物的现象明显减少,迅速增长的抗菌药物耐药率得到了有效控制<sup>[12]</sup>,但是,由于原发性和继发性耐药的发生,耐药率还是逐年上升。诱导原发性和继发性耐药发生的原因是什么,是否真的与地理分布、民族、经济水平、用药习惯等因素有关?本研究使用了单因素  $\chi^2$  分析 Hp 耐药与性别、民族、疾病及年龄的关系,寻找产生耐药性的影响因素,研究结果显示差异无统计学意义。由此可见,桂西地区人群的性别、民族、疾病及年龄并不是 Hp 耐药产生的主要影响因素。

本研究结果还显示了桂西地区 Hp 耐药菌株的区域分布情况,4 县市各抗菌药物耐药率比较没有超过 1%。原因可能是该地区地理位置、经济情况、卫生条件等因素的影响,各医院医师的治疗方法以及用药习惯比较一致,致使原发性耐药和继发性耐药的发生差异无统计学意义。

#### 参考文献:

- [1] 胡伏莲. 重视 Hp 耐药菌株的研究[J]. 胃肠病学, 2006, 7(3):385.
- [2] 武静, 张碧霞, 赵德军, 等. 产气袋法培养幽门螺杆菌[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(4):283.
- [3] 赵丽娟, 黄衍强. 医学微生物学实验指导与考试指南[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008:153.

(上接第 2554 页)

系列的“分子级联”反应,随着活性氧自由基的增多,导致脂质过氧化、DNA 和蛋白质的氧化以及致炎因子的进一步激活,最终导致纤维化形成<sup>[7-8]</sup>。国内外学者对这些生物因子进行了大量研究,目前比较一致的观点认为血清 TGF- $\beta$ 1 水平可以作为放射性肺损伤的预测因子,与急性放射性肺炎尤其是放射性纤维化密切相关。本实验发现放疗后小鼠血清 TGF- $\beta$ 1 含量呈现逐渐升高过程,与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),这与 Machtay 等<sup>[2]</sup>研究结果类似,只是在发生改变所对应的时相点和含量的高低上有所差别。

#### 参考文献:

- [1] Travis EL, De Luca AM. Protection of mouse lung by WR-2721 after fractionated doses of irradiation[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1985, 11(3):521.
- [2] Machtay M, Scherpereel A, Santiago J, et al. Systemic polyethylene glycol-modified (PEGylated) superoxide dismutase and catalase mixture attenuates radiation pulmonary fibrosis in the C57/bl6 mouse[J]. Radiother Oncol, 2006, 81(2):196.
- [3] 杨明会, 张利军, 冯林春, 等. 小剂量多次照射大鼠放射性

- [4] 俞树荣, 陈拯, 张卓然, 等. 微生物学与微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001:455.
- [5] 张万岱, 萧树东, 胡伏莲, 等. 对幽门螺杆菌若干问题共识意见[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(10):2457.
- [6] 吕琳, 罗红春, 杨致邦, 等. 重庆地区幽门螺杆菌临床株耐药性研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(6):669.
- [7] 代丽萍, 宋春花, 吕全军, 等. 河南新乡县农村居民幽门螺杆菌感染调查[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(7):822.
- [8] Poon SK, Chang CS, Su I, et al. Primary resistance to antibiotics and its clinical impact on the efficacy of Helicobacter pylori lansoprazole based triple therapies[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2002, 16:291.
- [9] Perez AL, Kato M, Nakagawa S, et al. The relationship between consumption of antimicrobial agents and the prevalence of primary Helicobacter pylori resistance[J]. Helicobacter, 2002, 7:306.
- [10] 黄衍强, 赵丽娟, 黄赞松, 等. 桂西地区幽门螺杆菌对克拉霉素的耐药性分析[J]. 中华微生物学与免疫学杂志, 2009, 29(1):37.
- [11] 黄衍强, 黄赞松, 何勇强, 等. 桂西地区壮族人与汉族人幽门螺杆菌的 REP-PCR 分析[J]. 山东医药, 2008, 48(27):85.
- [12] 吕在明, 周长文. 多药联合治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡 128 例分析[J]. 重庆医学, 2008, 37(14):1583.

(收稿日期:2010-04-22 修回日期:2010-06-08)

肺损伤模型的评价[J]. 军医进修学院学报, 2006, 27(6):415.

- [4] 孟玲玲, 冯林春, 石怀银, 等. 苦参碱防治放射性肺损伤的实验观察[J]. 军医进修学院学报, 2008, 29(2):134.
- [5] Szabo S, Ghosh SN, Fish BL, et al. Cellular inflammatory infiltrate in pneumonitis induced by a single moderate dose of thoracic x radiation in rats[J]. Radiat Res, 2010, 173(4):545.
- [6] Kiazimov KI. Pathogenesis, diagnostics and treatment of radiation pneumonitis induced by radiotherapy of lung cancer[J]. Georgian Med News, 2009, 174:115.
- [7] Ghafoori P, Marks LB, Vujaskovic Z, et al. Radiation-induced lung injury. Assessment, management, and prevention[J]. Oncology (Williston Park), 2008, 22(1):37.
- [8] Zhao W, Robbins ME. Inflammation and chronic oxidative stress in radiation-induced late normal tissue injury: therapeutic implications[J]. Curr Med Chem, 2009, 16(2):130.

(收稿日期:2010-05-12 修改日期:2010-06-28)