

· 临床研究 ·

桂西地区幽门螺杆菌多重耐药现状和治疗方案分析*

李晓华¹, 黄赞松², 黄衍强^{1△}, 周喜汉², 吴明慧², 刘丽², 覃艳春¹, 黄干荣¹
(右江民族医学院: 1. 微生物学与免疫学教研室; 2. 消化疾病研究所, 广西百色 533000)

摘要:目的 了解桂西地区幽门螺杆菌(Hp)多重耐药现状,以选择合适的治疗方案。方法 收集右江民族医学院附属医院 2011 年 5 月至 2012 年 5 月确诊为 Hp 感染患者的胃黏膜标本进行 Hp 分离培养和鉴定,经鉴定获得 115 株 Hp 菌株,采用纸片扩散法测定其对阿莫西林等 5 种抗生素的多重耐药性。结果 Hp 对甲硝唑加克拉霉素耐药的耐药率为 21.74%;对阿莫西林加克拉霉素耐药的耐药率为 8.70%;对甲硝唑加四环素耐药的耐药率为 13.91%;对甲硝唑加左氧氟沙星耐药的耐药率为 1.74%;同时对阿莫西林加左氧氟沙星耐药的耐药率为 0.87%。结论 桂西地区 Hp 对甲硝唑和克拉霉素耐药的耐药率较高,对阿莫西林和左氧氟沙星耐药的耐药率较低,在治疗方案中应选择阿莫西林和左氧氟沙星组合作为一线治疗方案,以提高 Hp 的根除率。

关键词: 螺杆菌, 幽门; 抗菌药; 多重耐药; 临床方案

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.14.006

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)14-1578-02

Status quo of Helicobacter pylori multidrug resistance in west Guangxi area and analysis on treatment schemes*

Li Xiaohua¹, Huang Zansong², Huang Yanqiang^{1△}, Zhou Xihan², Wu Minghui², Liu Li², Qin Yanchun¹, Huang Ganrong¹

(Youjiang Medical College for Nationalities; 1. Department of Microbiology and Immunology;

2. Digestive Disease Research Institute, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: Objective To grasp the status quo of Helicobacter pylori (Hp) multidrug resistance in the west Guangxi area in order to select the suitable treatment schemes. Methods Gastric mucosa biopsy specimens in the patients with Hp infection diagnosed in the affiliated hospital of Youjiang Medical College of Nationalities from May 2011 to May 2012 were collected and performed the Hp culture and identification. 115 strains of Hp were obtained. Their multidrug resistance to amoxicillin, tetracycline, metronidazole, levofloxacin and clarithromycin were determined with K-B diffusion test. Results The multidrug resistance rates to metronidazole plus clarithromycin, amoxicillin plus clarithromycin, metronidazole plus tetracycline, metronidazole plus levofloxacin, and amoxicillin plus levofloxacin were 21.74%, 8.70%, 13.91%, 1.74% and 0.87%, respectively. Conclusion The multidrug resistance rates of Hp to metronidazole plus clarithromycin are higher and which to amoxicillin plus levofloxacin are lower in the west Guangxi area. In the treatment schemes, amoxicillin plus levofloxacin should be selected as the first-line treatment scheme for increasing the Hp eradication rate.

Key words: Helicobacter pylori; antibacterial agents; multidrug resistance; clinical protocols

幽门螺杆菌(Helicobacter pylori, Hp)感染与慢性胃炎、消化性溃疡和胃癌的发生关系密切。目前,导致 Hp 根除治疗失败的原因是多方面的,但 Hp 对抗生素产生耐药是导致根除失败的最主要原因^[1]。为了掌握本地区胃炎及胃溃疡患者 Hp 对甲硝唑等抗生素的多重耐药现状,寻找更合理的治疗方案。本研究于 2011 年 5 月至 2012 年 5 月选择就诊于广西右江民族医学院附属医院的胃炎及胃溃疡患者,从其胃黏膜中分离培养 Hp,并进行耐药性检测。现将检测结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1)菌株来源:选择 2011 年 5 月至 2012 年 5 月在右江民族医学院附属医院胃镜室行胃镜检查并经病理诊断为胃炎、胃溃疡患者共 164 例,用胃镜活检钳采集患者胃黏膜,进行 Hp 培养,菌株经 Hp 快速诊断实验、过氧化氢酶实验和尿素酶实验进行鉴定获得 115 株 Hp 菌株。(2)培养基、试剂及药物:脑心浸液培养基、哥伦比亚血琼脂培养基、螺杆菌添加剂、微需养袋(含厌氧塑料袋、5%氧的小型厌氧产气袋、厌氧

指示剂、厌氧塑料袋封口夹)购自广州迪景微生物科技有限公司;酪蛋白绵羊血(本实验室自制);3%过氧化氢溶液;Hp 快速尿素酶试纸;阿莫西林(10 μg/片)、甲硝唑(5 μg/片)、克拉霉素(15 μg/片)、四环素(30 μg/片)、左氧氟沙星(5 μg/片)药敏纸片购自杭州天和微生物试剂有限公司;HpJ99 标准菌株(中国 Hp 保藏中心惠赠)。

1.2 方法

1.2.1 Hp 培养 利用 Hp 快速尿素酶实验将采集的胃窦部黏膜进行初步筛选,阳性者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。通过无菌操作将采集的胃黏膜和脑心浸液倒入组织研磨器中,研磨成匀浆后再接种与哥伦比亚血琼脂平板,快速放入厌氧塑料袋,同时放入厌氧指示剂及小型厌氧产气袋,最后用厌氧塑料袋封口夹封闭厌氧塑料袋,放置 35 ℃培养 5~7 d^[2]。

1.2.2 涂片染色检查 对分离培养出来的菌落进行革兰染色,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

* 基金项目:广西自然科学基金资助项目(2012GXNSFAA053172);广西教育厅科研立项项目(2010-10);广西高校优秀人才资助项目(2011-40)。作者简介:李晓华(1979~),讲师,硕士研究生,主要从事微生物学与免疫学研究。△ 通讯作者, Tel: 18978602009; Email: hyq77615@163.com。

断为 Hp。

1.2.3 生化鉴定 对初步判断为 Hp 的细菌进行快速尿素酶试验、触酶试验、氧化酶试验。3 个试验结果均为阳性即鉴定该细菌为 Hp^[3]。

1.2.4 药物敏感试验 采用纸片扩散法(K-B法),观察 Hp 对克拉霉素、阿莫西林、甲硝唑、四环素、左氧氟沙星的耐药性。培养基采用哥伦比亚血琼脂培养基,称取 38 g 溶解于 1 000 mL 蒸馏水,制备血琼脂平板。将孵育 4 d 的 Hp 与无菌生理盐水制成菌悬液,校正浓度至 0.5 麦氏浊度(相当于 1.0×10^7 CFU/mL)。用无菌棉签将其均匀涂布于血琼脂平板表面。在室温下平板干燥 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 ℃ 孵育 3~4 d,测量抑菌环大小,记录抑菌圈直径。阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星抑菌环直径大于或等于 17 mm 判定为敏感,直径小于或等于 13 mm 时均判定为耐药;四环素抑菌环直径大于或等于 19 mm 判定为敏感,直径小于或等于 14 mm 时判定为耐药;甲硝唑抑菌环直径大于或等于 10 mm 判定为敏感,直径为 0 时判定为耐药。(参照 CLSI 2009 抗菌药物敏感性执行标准)。使用 Hp J99 标准菌株作为对照。

2 结果

2.1 基本情况 164 例胃炎及胃溃疡患者中,共分离培养 Hp 115 株,分离率为 70.17%。其中胃溃疡患者 112 例,分离 82 株 Hp,分离率为 73.21%;胃炎患者 52 例,分离 33 株,分离率为 63.46%。

2.2 Hp 对 5 种抗生素单药耐药率和多重耐药率情况 115 株 Hp 对 5 种抗生素耐药率和多重耐药率,见表 1。

表 1 115 株 Hp 对 5 种抗生素的耐药情况[n(%)]

抗生素	耐药	抗生素	耐药
甲硝唑	106(92.2)	甲硝唑加克拉霉素	25(21.74)
阿莫西林	28(24.3)	阿莫西林加克拉霉素	10(8.70)
克拉霉素	36(31.3)	甲硝唑加四环素	16(13.91)
四环素	22(19.1)	甲硝唑加左氧氟沙星	2(1.74)
左氧氟沙星	3(2.61)	阿莫西林加左氧氟沙星	1(0.87)

3 讨论

Hp 感染治疗中的重点是 Hp 对抗生素耐药性,因为 Hp 的耐药性是导致 Hp 根除失败的重要原因,所以 Hp 感染的治疗是 Hp 研究领域中的核心问题^[4]。2007 年召开第三次全国 Hp 感染若干问题共识报告会议^[5],达成共识推荐两种方案:标准三联方案和铋剂四联方案。标准三联方案是质子泵抑制剂(PPI)联合克拉霉素、阿莫西林或 PPI 联合克拉霉素、甲硝唑。铋剂四联方案是铋剂联合 PPI、四环素、甲硝唑,世界胃肠病学组织(WGO)共识中表明,其中两种抗生素也可用克拉霉素联合阿莫西林替代。随着标准三联方案根除率的下降,近年陆续出现了一些新的方案,包括序贯疗法,即前 5 d PPI 联合阿莫西林,后 5 d PPI 联合克拉霉素、甲硝唑和左氧氟沙星三联方案,即用左氧氟沙星替代标准三联方案中的克拉霉素。

随着抗生素的广泛应用, Hp 对这些抗生素耐药率正在逐年上升,而 PPI 三联疗法根除失败的主要原因是由于 Hp 对抗生素的耐药性^[5-6]。重庆地区幽门螺杆菌 Hp 临床分离株同时对甲硝唑和克拉霉素耐药达 29.17%,同时对克拉霉素和阿莫西林耐药则为 0^[7]。上海青浦区 Hp 对甲硝唑、阿莫西林、克拉

霉素、左氧氟沙星的双重耐药率分别为:甲硝唑加阿莫西林 6.7%,甲硝唑加克拉霉素 9.2%,甲硝唑加左氧氟沙星 15.8%,阿莫西林加克拉霉素 0.8%,阿莫西林加左氧氟沙星 2.5%^[8]。本课题组研究结果 Hp 对抗生素的耐药率与其他地区的相关研究存在一定差异,这与经济水平、地理分布、时间跨度、当地医生的用药习惯和所采用的药敏实验方法有一定的关系^[9-12]。本课题组研究结果显示,从胃溃疡及胃炎患者中分离的 Hp 对甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素、四环素、左氧氟沙星单药耐药率分别为 92.17%、24.35%、31.30%、19.13%、2.61%,耐药率均高于 2007 年由中华医学消化病学分会 Hp 学组研究结果显示的中国 Hp 耐药率的平均水平^[13]。Hp 对甲硝唑加克拉霉素耐药的耐药率是 21.74%;对阿莫西林加克拉霉素耐药的耐药率是 8.70%;对甲硝唑加四环素耐药的耐药率是 13.91%;对甲硝唑加左氧氟沙星耐药的耐药率是 1.74%;同时对阿莫西林加左氧氟沙星耐药的耐药率是 0.87%。多重耐药中, Hp 对甲硝唑加克拉霉素耐药的耐药率比较高,对阿莫西林和左氧氟沙星耐药的耐药率比较低,根据共识报告推荐的治疗方案,以左氧氟沙星为基础的三联疗法作为根除 Hp 的一线方案,在对喹诺酮类药物敏感或原发耐药率较低地区而对克拉霉素耐药率较高地区,可以选择 7~10 d 左氧氟沙星为基础的三联疗法用于根除 Hp 的一线治疗^[14]。本地区在根除 Hp 的治疗中应该首选左氧氟沙星三联方案,即 PPI 联合左氧氟沙星、阿莫西林或 PPI 联合左氧氟沙星和甲硝唑。

在进行 Hp 根除治疗的患者中,导致菌株耐药的重要原因 是滥用或不合理应用抗生素^[15]。不同地区根除 Hp 应根据患者的适应证和当地的耐药性监测结果选择抗生素,严格遵循治疗方案,规范、合理使用抗生素,提高根除患者 Hp 的根除率。

(志谢:感谢右江民族医学院消化疾病研究所胃镜室尹毅霞等全体科室老师在标本采集过程中给予的支持和帮助。)

参考文献:

[1] 潘秀珍,彭孝纬,彭如洁. 幽门螺杆菌对抗生素耐药研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(8):806-813.
 [2] 黄宏思,黄衍强,黄赞松,等. 胃溃疡及胃炎患者幽门螺杆菌耐药性分析[J]. 中国公共卫生,2010,26(1):59-60.
 [3] 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.
 [4] 胡伏莲. 中国幽门螺杆菌耐药研究现状[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2008,17(7):517-518.
 [5] 中华医学会消化病分会幽门螺杆菌学组/幽门螺杆菌科研协作组. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告[J]. 胃肠病学,2008,13(1):42-46.
 [6] 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.
 [7] 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):669-671.
 [8] 谭鹤龙,刘兵,刘铁梅,等. 上海市青浦区幽门螺杆菌抗生素耐药情况的研究[J]. 胃肠病学,2011,16(1):32-35.
 [9] Glupczynski Y, Mégraud F, Lopez-Brea M, et al. European multicentre survey of in vitro antimicrobial resistance in Helicobacter pylori[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2001,20(11):820-823. (下转第 1582 页)

结。据此设计的传统的术后补充放疗采用 T 形野照射,包括双锁骨上、纵隔、瘤床及胃左贲门旁淋巴结,照射范围大,健康组织损伤大,易发生放射性肺炎、放射性胃炎、放射性纵膈炎等损伤及吻合口狭窄,以及气管损伤等并发症。近年来人们开始探索缩小野照射,即照射双锁骨上区,中上纵膈区,吻合口及瘤床。乔学英等^[14]对 102 例食管癌术后采用大小野放疗的病理对照研究,结果显示两组 1、3、5 年生存率无明显差异,认为适当缩小照射野不会降低生存率。

本研究根据食管癌术后复发淋巴结的规律来探讨预防性放疗的靶区勾画。本研究建议:(1)无论病灶位于哪一段,上纵膈区都是术后复发的最常见部位,本文上纵膈区占 53.7% (87/162),是食管癌术后放疗的重点区域。(2)不同部位食管癌术后靶区勾画范围不一,且术后病理因素是重要参考^[15]。食管上段癌发生锁骨上转移的概率高,本文为 31.6%(6/19),因此,术后必要常规进行锁骨上预防照射,靶区勾画范围应包括颈区,上、中纵膈和吻合口。中段食管癌术后照射范围包括双锁骨上、上纵膈、吻合口及下纵膈。下段食管癌需照射全纵膈、贲门、胃左淋巴引流区,锁骨上淋巴结是否照射需参考术后病理因素。对于术后临床分期为 III 期的胸下段食管癌患者,锁骨上区是重要的预防区域。(3)瘤床复发率甚低,本文仅为 2.0%,故不需常规照射。

本文通过对食管癌术后局部和区域复发规律的总结,拟为食管癌术后预防性照射的靶区勾画提供循证医学依据,但不同靶区范围对复发及生存率的影响需设计更多的前瞻性研究来证实。食管癌术后复发与各医疗单位手术水平及方式关系甚大,规范手术清扫范围,积极探索食管癌术后复发规律,根据不同部位食管癌的复发特点,术后病理因素,肿瘤部位进行术后预防性放疗的靶区设计,对降低术后放疗的并发症,改善患者生存质量有指导意义。

参考文献:

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2008, 62(1):10-29.
- [2] Xiao ZF, Yang ZY, Miao YJ, et al. Influence of number of metastatic lymphnodes on survival of curative resected thoracic esophageal Cancer patients and value of radiotherapy: report of 549 cases [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2005, 62(1):82-90.
- [3] Nemoto K, Ariga H, Kakuto Y, et al. Radiation therapy for loco-regionally recurrent esophageal Cancer after surgery [J]. Radiother Oncol, 2001, 61(2):165-168.

(上接第 1579 页)

- [10] Cabrita J, Oleastro M, Matos R, et al. Features and trends in Helicobacter pylori antibiotic resistance in Lisbon area, Portugal (1990-1999) [J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 46(6):1029-1031.
- [11] 梁晓, 刘文忠, 陆红, 等. 幽门螺杆菌体外诱导耐药试验和耐药率监测 [J]. 中华消化杂志, 2003, 23(3):146-149.
- [12] Duck WM, Sobel J, Pruckler JM, et al. Antimicrobial resistance incidence and risk factors among Helicobacter pylori-infected persons, United States [J]. Emerg Infect Dis, 2004, 10(6):1088-1094.

- [4] Schreiber D, Rineer J, Vongtama D, et al. Impact of post-operative radiation after esophagectomy for esophageal Cancer [J]. J Thorac Oncol, 2010, 5(2):244-250.
- [5] Li H, Zhang Y, Cai H, et al. Pattern of lymphnode metastases in patients with squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus who underwent three-field lymphadenectomy [J]. Eur Surg Res, 2007, 39(1):1-6.
- [6] Kito H, Fukuchi M, Miyazaki T, et al. Surgical treatment for esophageal Cancer [J]. Dig Surg, 2007, 24(1):88-95.
- [7] 罗孔嘉, 傅剑华, 胡祎, 等. 左右胸两种入路治疗胸中段食管鳞癌的手术评价 [J]. 癌症, 2009, 28(12):1260-1264.
- [8] Osugi H, Takemura M, Higashino M, et al. Causes of death and pattern of recurrence after esophagectomy and extended lymphadenectomy for squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus [J]. Oncol Rep, 2003, 10(1):81-87.
- [9] Chen G, Wang Z, Liu XY, et al. Recurrence pattern of squamous cell carcinoma in the middle thoracic esophagus after modified Ivor-Lewis esophagectomy [J]. World J Surg, 2007, 31(5):1107-1114.
- [10] 陈俊强, 潘建基, 陈明强, 等. N₀ 期食管鳞癌术后预防性放疗价值探讨 [J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2009, 18(4):261-264.
- [11] Mariette C, Balon JM, Piessen G, et al. Pattern of recurrence following complete resection of esophageal carcinoma and factors predictive of recurrent disease [J]. Cancer, 2003, 97(7):1616-1623.
- [12] 叶尔佳, 王昊飞, 郑小康, 等. 胸段食管癌术后复发模式与放疗靶区的设计 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2011, 32(4):411-414.
- [13] 汪义纯, 王凡, 孔令玲. 食管癌术后淋巴结转移规律分析 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(8):715-718.
- [14] 乔学英, 周道安, 蔺强, 等. 食管癌术后预防照射范围的临床研究 [J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2006, 15(5):379-382.
- [15] Lu JC, Tao H, Chen ZZ, et al. Prognostic factors of radiotherapy in patients with node-positive thoracic esophageal squamous cell carcinoma after radical surgery [J]. Dis Esophagus, 2009, 22(6):490-495.

(收稿日期:2012-10-08 修回日期:2013-01-22)

- [13] 成虹, 胡伏莲, 谢勇, 等. 中国幽门螺杆菌耐药状况以及耐药对治疗的影响 [J]. 胃肠病学, 2007, 12(9):525-530.
- [14] 王敏, 李健, 肖华鑫, 等. 喹诺酮类抗生素一线根除幽门螺杆菌研究现状 [J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(1):75-77.
- [15] 杨行堂, 张俊杰, 张旖晴, 等. 幽门螺杆菌临床分离株耐药特点分析 [J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(9):1012-1015.

(收稿日期:2012-11-26 修回日期:2013-02-18)