

幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的研究进展

宣世海, 周玉贵, 王惠民

■背景资料

幽门螺杆菌是慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病原因之一, 并与胃癌及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤关系密切, 随着抗生素的广泛使用, *H pylori* 耐药现象日渐严重, 其耐药机制和检测技术也成为研究热点。

宣世海, 王惠民, 南通大学附属医院医学检验中心 江苏省南通市 226001

宣世海, 周玉贵, 江苏省东台市人民医院检验科 江苏省东台市 224200

江苏省医学重点建设学科资助项目, No. XK200723

作者贡献分布: 本文由宣世海与周玉贵综述, 王惠民审校。

通讯作者: 王惠民, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院医学检验中心. whm_jyk@edu.ac.cn

电话: 0513-85052102

收稿日期: 2008-07-08 修回日期: 2008-08-18

接受日期: 2008-08-26 在线出版日期: 2008-09-28

Advance in *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin

Shi-Hai Xuan, Yu-Gui Zhou, Hui-Min Wang

Shi-Hai Xuan, Hui-Min Wang, Department of Central Laboratory, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Shi-Hai Xuan, Yu-Gui Zhou, Department of Detection Laboratory, People's Hospital of Dongtai City, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China

Supported by: the Construction Fund for Key Medical Subjects of Jiangsu Province, No. XK200723

Correspondence to: Dr. Hui-Min Wang, Department of Central Laboratory, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. whm_jyk@edu.ac.cn

Received: 2008-07-08 Revised: 2008-08-18

Accepted: 2008-08-26 Published online: 2008-09-28

Abstract

Helicobacter pylori (*H pylori*) infection is the main cause of chronic active gastritis and peptic ulcer disease, and studies indicated eradication of *H pylori* could promote the healing of peptic ulcer. *H pylori* resistance to clarithromycin, which shows an increasing tendency year by year, is related with mutations of *H pylori* 23S rRNA domain V. Molecular mechanism and detection technology of *H pylori* resistance to clarithromycin have become the focus of current researches. Investigations on *H pylori* resistance to antibiotics are of great significance for the diagnosis and therapy of *H pylori* infection.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Resistance; Mutation; Clarithromycin

Xuan SH, Zhou YG, Wang HM. Advance in *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(27): 3060-3064

■同行评议者

刘改芳, 主任医师, 河北医科大学第三医院消化内科

摘要

幽门螺杆菌(*H pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因素。研究表明, *H pylori*的根治和清除有利于溃疡的治愈。而*H pylori*耐药直接影响*H pylori*的根治和清除, *H pylori*耐大环内酯类药物(克拉霉素)的机制与他的23S rRNA的V区上的点突变有关。随着*H pylori*耐药率的逐年升高, 有关*H pylori*的耐药分子机制和检测技术成为研究热点。因此, 开展*H pylori*耐药的相关研究对*H pylori*的诊断和治疗有重大意义。

关键词: 幽门螺杆菌; 耐药性; 突变; 克拉霉素

宣世海, 周玉贵, 王惠民. 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的研究进展. 世界华人消化杂志. 2008; 16(27): 3060-3064

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3060.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)是寄生于人体胃部的革兰氏阴性杆菌, 是慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病原因之一, 并与胃癌及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤关系密切。 *H pylori*的根治和清除不仅有利于溃疡的治愈, 而且可以防止溃疡的复发。近年来, 随着抗生素的广泛使用, *H pylori*的耐药现象日渐严重, 而*H pylori*的耐药是导致相关疾病治疗失败的主要原因^[1-3]。因此, 研究*H pylori*的耐药情况、耐药机制和检测手段对指导临床用药以及疗效监测显得十分重要。本文就*H pylori*对克拉霉素耐药作一综述。

1 *H pylori*对克拉霉素耐药的流行病学调查

目前用于治疗*H pylori*感染的药物有咪唑类(甲硝唑、替硝唑)、大环内酯类(克拉霉素、阿奇霉素)、β-内酰胺类(阿莫西林)和喹诺酮类。大环内酯类抗生素比如克拉霉素在体外有强大的杀菌作用^[4], 口服生物利用度高, 对酸稳定等优点。因此克拉霉素三联疗法成为首选的根除*H pylori*感染的治疗方案, 其对*H pylori*的根除率要高达80%^[5]。但随着克拉霉素的广泛使用, *H pylori*的耐药菌株也逐渐增多。 *H pylori*对克拉霉素耐药率

在不同的国家和地区情况不尽一致. Kobayashi *et al*^[6]研究发现日本的*H pylori*克拉霉素耐药率从2002年的18.9%上升到2005年的27.7%, 且有明显的性别差异($P < 0.0001$), 其中男性19.2%, 女性27.0%. 他们还发现克拉霉素耐药率有地区差异. Kato *et al*^[7]报道日本儿童的2002年克拉霉素原发耐药率为29.0%, *H pylori*敏感菌株和耐药菌株的根除率分别为89.0%、56.0%. *H pylori*继发耐药率(78%)明显高于原发耐药率($P < 0.01$). Kim *et al*^[8]报道韩国汉城*H pylori*克拉霉素耐药率由1994年的2.5%上升至2003年的13.8%. Toracchio *et al*^[9]对意大利中部研究发现克拉霉素原发耐药率和继发耐药率分别为23.4%、82.3%, 克拉霉素原发耐药多见于女性. Elviss *et al*^[10]报道北威尔士2004年的克拉霉素耐药率为7%, 明显低于欧洲其他地方. Koivisto *et al*^[11]报道芬兰的克拉霉素耐药率仅为2%, 且与有口腔和呼吸道疾病的用药史有关. Boyanova *et al*^[12]认为保加利亚的儿童克拉霉素耐药率和他们的居住地有关, 这种差异可能和当地使用大环内酯类药物有关, 居住在乡村的儿童克拉霉素耐药率为22.7%, 明显高于居住在大城市的儿童耐药率(8.5%). Osato *et al*^[13]分别用E-test和agar dilution方法研究发现美国的克拉霉素原始和继发耐药率分别为12%和10.6%, 性别和年龄对克拉霉素耐药有很大影响. Kaneko *et al*^[14]研究显示在经过多重抗生素(包括克拉霉素)治疗的非结核性呼吸道感染患者的克拉霉素耐药率高达100%, 提示应在进行长期的抗生素治疗前应根除*H pylori*. Onder *et al*^[15]对土耳其110例*H pylori*感染者研究发现, *H pylori*的克拉霉素耐药率为48.2%, 但其耐药率和性别、年龄、大环内酯类药物的使用、居住地、教育状况无相关性. Gościński *et al*^[16]研究发现波兰1997-2001年的克拉霉素原发耐药率8.6%, 治疗8 wk后耐药率达17.6%. 中国地区也存在着地区和年龄的差异, 成虹 *et al*^[17]调查发现北京1999-2000年的克拉霉素耐药率为10.0%, 2000-2001年为18.3%, 存在着上升趋势. 陈洁 *et al*^[18]对浙江地区44例儿童临床分离菌株研究显示克拉霉素耐药率为18.2%, 儿童耐药率高于成人. Hao *et al*^[19]2004年报道中国东北地区克拉霉素耐药率为23.3%.

综上所述: (1)各国家或地区的*H pylori*菌株对克拉霉素原发耐药率不同, 耐药率为2%-48%, 有明显的地域差异. 克拉霉素耐药率在汉城、北京、日本、土耳其呈上升趋势, 在意大利、芬

兰、北威尔士呈相对稳定状态或下降趋势. (2)尽管有报道儿童克拉霉素耐药率高于成人, 但克拉霉素耐药是否存在年龄、性别等差别, 还存在争议. (3)目前多数学者认为, 克拉霉素继发耐药率明显高于原发耐药率, 抗生素(大环内酯类)的用药史与*H pylori*交叉耐药、继发性耐药率的上升有相关性.

2 幽门螺杆菌耐克拉霉素的分子机制

细菌的耐药可分为原发性(天然性)耐药和继发性(获得性)耐药, 原发性耐药是由于细菌缺少对药物敏感的靶位, 或细菌具有天然屏障使药物无法进入菌体. 继发性耐药是指由于抗生素的广泛使用, 细菌获得耐药基因, 从敏感菌株变成耐药菌株. 一般认为*H pylori*的耐药多为继发性耐药.

克拉霉素化学名称是6-甲氧红霉素, 是新一代的大环内酯类药物, 他作用于*H pylori*的23S rRNA可变区(V区), 抑制肽酰转移酶, 抑制细菌蛋白质的合成和肽链延伸, 从而达到抗菌作用. 当*H pylori* 23S rRNA的V区发生点突变, 导致核糖体变构, 使克拉霉素的结合位点也发生改变, 进而导致*H pylori*与的克拉霉素亲和力减弱, 不能阻止细菌的蛋白质合成, 从而产生耐药性. 目前多数学者认为23S rRNA基因的突变是*H pylori*对克拉霉素耐药的主要机制, 其他机制相对较弱. 各国学者^[20-22]对23S rRNA基因的突变进行大量的研究, 证实耐克拉霉素*H pylori*菌株的23S rRNA最常出现A2143G, A2142G, A2144G, A2142C的突变, 也有报道发现G2115A, G2141A, A2144T, T2182C, T2717C突变出现^[22,24]. Elviss *et al*^[20]发现英国中南部耐药菌株以A2143G为主(81.3%). De Francesco *et al*^[21]报道意大利耐药菌株出现的点突变为A2143G(71.0%), A2142G(15.7%), A2142C(13.3%). Kato *et al*^[7]报道日本儿童*H pylori*临床分离株中92%克拉霉素耐药菌株23S rRNA上存在着A2144G突变. Vega *et al*^[23]用PCR-RELP等方法研究发现, 儿童A2143G突变率(80.55%)要高于成人(46.66%)($P < 0.01$), 且伴随高浓度MIC(2-64 mg/L). 成人A2142G突变率(36.66%)高于儿童(5.55%)($P < 0.01$), 且也伴随高浓度MIC. Khan *et al*^[24]报道孟加拉克拉霉素耐药菌株和T2182C突变有关, 但有学者^[25]提出质疑. Hao *et al*^[19]研究报道中国东北部克拉霉素耐药菌株出现G2224A、C2245T、T2289C新的点

■研发前沿

目前, 如何快速、准确检测耐药基因成为研究关键.

■相关报道

胡伏莲在《重视幽门螺杆菌耐药菌株的研究》中对*H pylori*耐药菌株的流行病学、耐药产生机制、耐药与*H pylori*根除失败的关系及如何避免耐药菌株的出现作了详细的分析.

■创新盘点

本文分析了近年来发展的耐药检测方法,并着重对基因芯片的原理及基因芯片应用于检测耐药基因优点和不足着重做了介绍,可供科研及临床工作者参考。

突变。

综上所述, *H pylori*的23Sr RNA V区发生点突变是耐克拉霉素的主要机制,点突变主要以A2143G, A2142G, A2144G, A2142C为主。突变位点、形式存在地区差异,有些新的点突变和克拉霉素耐药的关系尚存在争议,需进一步研究证实。

3 幽门螺杆菌耐药生物学检测方法

*H pylori*耐药的生物学检测方法是取胃黏膜或组织,细菌增殖培养后,进行E-test、琼脂稀释法、纸片扩散法等体外药敏试验。E-test操作简便,但试纸价格昂贵;琼脂稀释法技术要求较高;纸片扩散法简便易行,但结果受多种因素的影响,不够准确。*H pylori*培养要求高,时间长,不适合临床常规开展。

*H pylori*耐药的分子生物学检测方法建立在检测其核糖体23S rRNA点突变的基础上,根据是否需要基因扩增分为:(1)需要用基因扩增产物进行分析的,包括聚合酶链限制性片段长度多态性分析法(PCR-RELP)、DNA测序法(Sequencing)、DNA酶免疫测定法(DNA enzyme immunoassay)、寡核苷酸连接试验(OLA)、3'-端错配反向PCR(3'M-PCR)、实时荧光定量PCR(real-time PCR)、基因芯片法(gene chip)、变性高效液相色谱法(DHPLC)等。(2)不需要用基因扩增产物进行分析的,如荧光原位杂交(FISH)。1996年Versalovic *et al*首先将PCR-RELP用于检查*H pylori* 23S rRNA的A2142G, A2143G的突变,该法以核糖体23S rRNA点突变为基础,通过PCR方法扩增发生突变的区域,由于碱基的变异可能导致酶切点的消失或新的切点的出现,利用特异的限制性内切酶(*Mbo* II, *Bsa* I)对PCR产物进行酶切,电泳分析,然后根据DNA片段长度的差异作出判断。该法简便易行,较为敏感,是检测A-G突变常用的方法,但是该法的准确性受到临床标本以及非*H pylori* DNA扩增产物的影响。Alarcón *et al*^[26]用3'M-PCR可以检测的23S rRNA A2142C的突变,其特点是运用一对特殊的引物。Real-time PCR将杂交技术和实时PCR以及融解曲线分析法三者有机地结合在一起,此方法不易污染,不需酶切,能同时对*H pylori*感染进行定量和耐药性检测,而且适合于大量标本的检查。Elviss *et al*^[27]用Real-time PCR通过对溶解曲线的判断准确快速检测点突变,还比较了3'M-PCR、Real-time PCR、PCR-RELP,认

为用3'M-PCR检测点突变其敏感度和特异度都高于另外两种方法。DHPLC由Oefner于1995年建立,利用杂合双链和纯合双链部分变性温度不同,可以自动检测单碱基置换,小片段插入和缺失。Posteraro *et al*^[28]用DHPLC对PCR扩增产物进行分析,能检测A2142G, A2143G, A2123C, T2182C, C2195T五个位点的突变。临床实践证明, DNA测序则是检测基因突变位点的金标准。

近年来,基因芯片(gene chip)技术发展迅速,已广泛应用于疾病研究、疾病诊断、基因测序、药物筛选等方面。基因芯片技术是建立在基因探针和杂交测序技术的基础上的,其原理是将大量的探针分子固定在支持物上,与标记的样品DNA进行杂交,可根据碱基互补配对的原则确定靶DNA序列,通过激光共聚焦仪扫描,检测杂交信号的强度和分布进行分析。基因芯片可以实现对上千个基因同步检测,国内外学者已经在尝试用该技术检测*H pylori*耐药基因,且对*H pylori*基因进行定性、定量及结构分析的研究。国内郭树斌 *et al*^[29]制备和应用寡核苷酸芯片对*H pylori*感染及其致病性相关的基因型和耐药性同时进行检测,该法将PCR技术与高通量芯片技术相结合,对检测对象的多种生物学信息进行检测,具有快速、高效的特点,具有较高的灵敏度,同时自动化读取手段可确保检测的特异性和客观性,减少人为误差,这对多种基因的比较研究非常有利。但也存在一些问题:样品的制备与标记比较繁琐,芯片的制备较为复杂,仪器昂贵,费用较高等。随着科学技术的不断发展,基因芯片技术也会逐渐成熟和完善,基因芯片技术对*H pylori*耐药的检测有着极为广阔的应用前景。

随着各国学者对*H pylori*耐药检测技术研究的进展,取材方式也经历了一个发展过程:(1)胃镜下取胃组织或黏膜,细菌培养,提取菌株DNA,再进行各种分子生物学方法检测。(2)直接从胃活检标本中提取DNA,省去了培养步骤,快速简便。(3)Chattopadhyay *et al*^[30]报道不需要抽提DNA的实验方法,胃镜下取胃黏膜或组织置于无菌塑料管,加120 mL磷酸盐缓冲液(PBS),剧烈振荡2 min,开水浴15 min后冰上冷却,13 000 g离心1 min,吸取上清液进行PCR扩增。(4)粪便取材,Fontana用巢式PCR方法对粪便进行扩增^[31],产物用*Mbo* II, *Hha* I, *Bsa* I进行酶切,可检测A2142C/G, T2717C, A2143G的突变。粪便取材属非创伤性,但由于粪便中*H pylori*含量较低,杂菌

■应用要点

对*H pylori*患者进行耐药基因的检测,能指导医生合理用药,有利于提高*H pylori*的根除率。

较多, 尤其是粪便中的胆红质, 胆盐及一些重金属离子等可抑制Taq DNA聚合酶的活性, 给实验带来一定的难度, 如何去除抑制物是实验成功的关键。以上取材方式中, 胃镜下取材适用于有内窥镜检查指征的患者, 如十二指肠溃疡、早期胃癌等。粪便取材方便且无痛苦, 无创伤, 尤其适用于对*H pylori*的耐药性的流行病学查, 以建立本地地区的*H pylori*耐药的流行病学资料, 指导临床合理用药。

4 结论

随着抗生素的广泛适用, *H pylori*的耐药率逐渐上升。目前, *H pylori*对克拉霉素耐药的分子机制已基本明确, 有关耐药的检测手段的研究也较多, 但大多数方法费时、繁琐。因此, 研究和建立简便、快速、准确的耐药检测方法, 将对建立流行病学资料和指导临床合理用药有着重要的作用。基因芯片技术可对多种基因同时、快速进行检测, 且具有高通量、高灵敏度的特点, 有着极为广阔的应用前景。

5 参考文献

- 1 Lee JH, Shin JH, Roe IH, Sohn SG, Lee JH, Kang GH, Lee HK, Jeong BC, Lee SH. Impact of clarithromycin resistance on eradication of *Helicobacter pylori* in infected adults. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1600-1603
- 2 Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-1186
- 3 胡伏莲. 重视幽门螺杆菌耐药菌株的研究. *胃肠病学* 2006; 7: 385-387
- 4 Megraud F. *H pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-1384
- 5 Asaka M, Satoh K, Sugano K, Sugiyama T, Takahashi S, Fukuda Y, Ota H, Murakami K, Kimura K, Shimoyama T. Guidelines in the management of *Helicobacter pylori* infection in Japan. *Helicobacter* 2001; 6: 177-186
- 6 Kobayashi I, Murakami K, Kato M, Kato S, Azuma T, Takahashi S, Uemura N, Katsuyama T, Fukuda Y, Haruma K, Nasu M, Fujioka T. Changing antimicrobial susceptibility epidemiology of *Helicobacter pylori* strains in Japan between 2002 and 2005. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 4006-4010
- 7 Kato S, Fujimura S, Udagawa H, Shimizu T, Maisawa S, Ozawa K, Iinuma K. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Japanese children. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 649-653
- 8 Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim N, Kim YJ, Song IS. Distribution of antibiotic MICs for *Helicobacter pylori* strains over a 16-year period in patients from Seoul, South Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4843-4847
- 9 Toracchio S, Marzio L. Primary and secondary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated in central Italy during the years 1998-2002.

- 10 Elviss NC, Owen RJ, Xerry J, Walker AM, Davies K. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance patterns and genotypes in adult dyspeptic patients from a regional population in North Wales. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 435-440
- 11 Koivisto TT, Rautelin HI, Voutilainen ME, Niemelä SE, Heikkinen M, Sipponen PI, Färkkilä MA. Primary *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in the Finnish population. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 1009-1017
- 12 Boyanova L, Gergova G, Koumanova R, Jeleu C, Lazarova E, Mitov I, Kovacheva Y. Risk factors for primary *Helicobacter pylori* resistance in Bulgarian children. *J Med Microbiol* 2004; 53: 911-914
- 13 Osato MS, Reddy R, Reddy SG, Penland RL, Malaty HM, Graham DY. Pattern of primary resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazole or clarithromycin in the United States. *Arch Intern Med* 2001; 161: 1217-1220
- 14 Kaneko F, Suzuki H, Hasegawa N, Kurabayashi K, Saito H, Otani S, Nakamizo H, Kawata K, Miyairi M, Ishii K, Ishii H. High prevalence rate of *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin during long-term multiple antibiotic therapy for chronic respiratory disease caused by non-tuberculous mycobacteria. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 1: 62-67
- 15 Onder G, Aydin A, Akarca U, Tekin F, Ozutemiz O, Ilter T. High *Helicobacter pylori* resistance rate to clarithromycin in Turkey. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 747-750
- 16 Gościński G, Iwańczak B, Przondo-Mordarska A, Grabińska J, Iwańczak F. High level of resistance to metronidazole and clarithromycin in *Helicobacter pylori* isolated from pediatric patients in Poland (1997-2001). *Folia Microbiol (Praha)* 2004; 49: 133-136
- 17 成虹, 胡伏莲. 北京地区幽门螺杆菌的耐药情况及其变化趋势. *中华医学杂志* 2005; 39: 2754-2757
- 18 陈洁, 陈飞波, 余金丹, 陈学军, 李中跃, 章许平. 幽门螺杆菌对克拉霉素、阿莫西林、甲硝唑体外耐药性和敏感性的初步分析. *中华儿科杂志* 2004; 10: 769-771
- 19 Hao Q, Li Y, Zhang ZJ, Liu Y, Gao H. New mutation points in 23S rRNA gene associated with *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin in northeast China. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1075-1077
- 20 Elviss NC, Owen RJ, Breathnach A, Palmer C, Shetty N. *Helicobacter pylori* antibiotic-resistance patterns and risk factors in adult dyspeptic patients from ethnically diverse populations in central and south London during 2000. *J Med Microbiol* 2005; 54: 567-574
- 21 De Francesco V, Margiotta M, Zullo A, Hassan C, Giorgio F, Burattini O, Stoppino G, Cea U, Pace A, Zotti M, Morini S, Panella C, Ierardi E. Prevalence of primary clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains over a 15 year period in Italy. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 783-785
- 22 Toracchio S, Aceto GM, Mariani-Costantini R, Battista P, Marzio L. Identification of a novel mutation affecting domain V of the 23S rRNA gene in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2004; 9: 396-399
- 23 Vega AE, Alarcón T, Domingo D, Martínez MJ, López-Brea M. [Detection of resistance to clarithromycin in clinical isolates of *Helicobacter*

■名词解释

基因芯片(DNA芯片、生物芯片): 指通过微阵列技术将大量的探针分子固定在支持物上与标记的样品分子借助碱基互补原理进行杂交, 通过检测每个探针分子的杂交信号强度而获得样品分子的数量和序列信息。

■同行评价

本综述具有一定的实用性,对临床和研究具有一些帮助。

- pylori from children and adults] *Rev Esp Quimioter* 2003; 16: 53-57
- 24 Khan R, Nahar S, Sultana J, Ahmad MM, Rahman M. T2182C mutation in 23S rRNA is associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* isolates obtained in Bangladesh. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3567-3569
- 25 Burucoa C, Landron C, Garnier M, Fauchère JL. T2182C mutation is not associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 868; author reply 868-870
- 26 Alarcón T, Domingo D, Prieto N, López-Brea M. PCR using 3'-mismatched primers to detect A2142C mutation in 23S rRNA conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 923-925
- 27 Elviss NC, Lawson AJ, Owen RJ. Application of 3'-mismatched reverse primer PCR compared with real-time PCR and PCR-RFLP for the rapid detection of 23S rDNA mutations associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23: 349-355
- 28 Posteraro P, Branca G, Sanguinetti M, Ranno S, Cammarota G, Rahimi S, De Carlo M, Posteraro B, Fadda G. Rapid detection of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* using a PCR-based denaturing HPLC assay. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 71-78
- 29 郭树彬, 刘军波, 陈琳洁, 王升启. 幽门螺杆菌基因分型及耐药检测寡核苷酸芯片的制备及鉴定. *中国医学科学院学报* 2007; 29: 98-102
- 30 Chattopadhyay S, Patra R, Ramamurthy T, Chowdhury A, Santra A, Dhali GK, Bhattacharya SK, Berg DE, Nair GB, Mukhopadhyay AK. Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2821-2824
- 31 Fontana C, Favaro M, Pietroiusti A, Pistoia ES, Galante A, Favalli C. Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in stool samples. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3636-3640

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang *et al*”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣 *et al*^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同角的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.(常务副总编辑:张海宁 2008-09-28)