



幽门螺杆菌研究进展*

丁云菲 李安明

(中科院成都生物研究所 成都 610041)

关键词 幽门螺杆菌; 特征; 分离; 检测; 治疗

中图法分类号 R378.99 : R573.6

ADVANCES IN RESEARCH OF *HELICOBACTER PYLORI*

DING Yunfei & LI Anming

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041)

Abstract *Helicobacter pylori* is an important pathogenic microorganism for chronic active gastritis and peptic ulcers, probably causing gastric cancer. With many characteristics, this organism colonizes the surface of the human stomach and worldwide transmits from human to human via the fecal-oral or the oral-oral route. Several kinds of methods are currently available for diagnosis of *H. pylori* infection and isolation of *H. pylori*. Some measures of treatment and prevention are necessary to decline the incidence of *H. pylori* infection and upper gastrointestinal tract disease.

Keywords *Helicobacter pylori*; characteristics; isolation; diagnosis; treatment

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)是1982年Warren和Marshall等人^[1]在培养人体胃粘膜活检组织样品时发现的,当时名为幽门弯曲杆菌(*Campylobacter pylori*);以后随着各方面研究的深入,Goodwin等^[2]1989年建立了螺杆菌属(*Helicobacter*),才将*C. Pylori*正式命名为*H. pylori*.*H. pylori*是人类慢性活动性胃炎(B型胃炎)及胃、十二指肠溃疡的重要病原菌,并且是肠型胃癌的诱发因素之一.因而,引起世界范围内对*H. pylori*进行了广泛的研究,并获得医学,微生物学,生物化学,分子生物学等方面的数据和资料,对*H. pylori*的微生态环境与致病机理,临床症状和流行病学,以及检测,治疗手段有了一定的了解.

1 *H. pylori* 的生物学特征

1.1 菌体形态

*H. pylori*是一种弯曲,S形或波形,稍微螺旋的革兰氏阴性细菌.若暴露于空气中或延长培养时,则变为球形.这种形态为该菌的一种休眠状态,抵御不良环境的影响,当环境条件适宜时,可恢复生长;若在体外给予充足的营养和适当的培养条件进行培养,需要4~6周才恢复生长^[3].

在活体组织上的*H. pylori*的菌体多呈3个弯曲的螺旋形;在体外培养基上生长的菌体为稍弯曲的杆状;而在较老的培养物中细菌形态则成为短杆状或类球状^[4].通过电镜观察,*H. pylori*菌体有1~5根端生带鞘鞭毛,末端有终球;且菌体表面附着一层厚而密集的细丝状物质.这些结构特点使*H. pylori*具有运动性,可粘附于胃粘膜上皮,避开胃酸的损伤,从而能在酸性环境中生存^[5].

1.2 菌落形态

*H. pylori*在Skirrow选择性培养基平板上,微需氧环境下培养48h后,出现针尖大小,无色透明菌落;72h后,发展成为*d* = 1 mm左右的灰白色,扁平菌落,可扩散生长如水滴,也可以凸起成独立的菌落^[6].

收稿日期:1998-10-27 接受日期:1999-04-12

*中国科学院成都地奥科学基金(DASF)资助

在厌氧罐内微量氧的气相条件下,在心脑浸液或 PYG 琼脂平板上 37 ℃ 培养 4 ~ 6 d 的菌落, $d = 1 \text{ mm}$ 左右,圆形,凸起,表面光滑,边缘整齐,豆汁黄,半透明^[4].

1.3 生长条件

在 *H. pylori* 的最初分离^[1]中发现, *H. pylori* 的生长需要 5% ~ 20% 的 O_2 和 5% ~ 20% 的 CO_2 ,在固体培养基上生长需要最大的湿度(培养基保持湿润是 *H. pylori* 生长的重要条件^[6];至少需要 98% 的湿度^[7])和正铁血红素才能得到最好的生长.它的最适生长温度是 37 ℃,在 30 ℃ 时也可生长,25 ℃ 和 42 ℃ 不生长.

在以后的研究中人们还发现, *H. pylori* 的生长繁殖呈溶菌酶依赖性,在分离培养时,外源溶菌酶有利于 *H. pylori* 维持其独特的菌体形态,溶菌酶是 *H. pylori* 生长的重要因子^[8];在中性 pH 条件下菌体生长最好,而在 pH 3 的液体培养基中不能生长^[9];摇动培养时可提高菌体的生长率,在 pH 5 的条件下,尿素可支持野生型菌株的生长,但在 pH 7 的条件下则可显示出毒性效应^[10].另外, *H. pylori* 对 O_2 和 CO_2 的需要与其丙酮酸代谢有关,并且在 10% 的 CO_2 ,6% 的 O_2 和 84% 的 N_2 的微需氧气相条件下,表现出最好的生长^[7,11,12].

1.4 对人胃特殊的适应性

虽然 *H. pylori* 在猪,猫,狗中有实验性感染,但它仅在人体上有自然感染. *H. pylori* 定居在胃型粘膜上,最初发现于胃窦,在十二指肠上也有发现. *H. pylori* 是螺旋形的菌体,且带鞭毛,便于运动,容易穿透粘液层,定居在胃上皮细胞表面^[13].通过电子显微镜已观察到 *H. pylori* 是通过粘附柱脚紧密粘附于胃上皮细胞.目前已证实有“粘附素”或“定居抗原因子”的存在,包括有类似于脲酶的一种蛋白质^[14],一种 $M_r = 31 \times 10^3$ 的粘附素^[15],一种类似于菌毛 $M_r = 19.6 \times 10^3$ 的蛋白质^[16]和一种原纤维血细胞凝集素^[17].另外, *H. pylori* 能够产生蛋白酶和脂酶,磷脂酶等粘液溶解酶以提高它穿透粘液层的能力^[18]. *H. pylori* 的一个最大的特性就是能分泌脲酶到细胞外,可把环境中的尿素分解成 CO_2 和 NH_3 , NH_3 和 H_2O 反应形成 NH_4^+ 以中和胃酸,提高环境中的酸碱度^[19], *H. pylori* 从而受到保护,能定居在酸性环境的胃中.另外, *H. pylori* 可通过其自身的过氧化氢酶逃避宿主的各种免疫应答^[9];还产生抑制胃酸分泌的蛋白质来保护自身^[20].

1.5 *H. pylori* 的生物型及血清型

有文献^[21]报道,根据酯酶(esterase)(C4),脂肪酶(lipase)(C8)和苯酚-As-B1-磷酸水解酶(Naphthol-As-B1-phosphohydrolase)3种酶,利用 APIZYM 法可将 *H. pylori* 分为3个主要的生物型:生物型 I 型,II 型和 III 型. I 型3种酶均为阴性;II 型酯酶阴性,苯酚-As-B1-磷酸水解酶阳性,有的菌株显示脂肪酶阳性;III 型3种酶均为阳性.另外, *H. pylori* 的血清型主要有6个^[22].

2 *H. pylori* 的分子生物学特征

最初分离得到 *H. pylori* 时,测定了它的 DNA 中含有 $x(\text{G} + \text{C}) = 36\% \sim 37\%$ ^[1].近年来,对 *H. pylori* 遗传本质的研究已取得重大进展,包括 *H. pylori* 基因组多样性,对 *H. pylori* 多种有意义抗原及其代谢产物相关基因的克隆与表达等的研究.

H. pylori 的基因组大约为 $(1.60 \sim 1.73) \times 10^6 \text{ bp}$,多呈单环状,但不同菌株有所不同. *H. pylori* 基因组具有高度多样性,而同一菌株的限制性酶切图谱相对恒定.除基因组外,有的 *H. pylori* 还含有一个或多个质粒^[23],有的 *H. pylori* 中含有噬菌体^[24].在 *H. pylori* 耐药基因扩散中可能起重要作用的 *H. pylori* 自然转化现象也有报道^[25].

Clayton 等^[26]首先克隆出 *H. pylori* 脲酶基因 *ureA*, *ureB*,并进行了 M_r 测定及序列分析.脲酶基因在 *Campylobacter jejuni* 中的暂时性表达由 Labigne 等人实验成功^[27],该基因组中有四个开放阅读框架(ORF),排列顺序为 *ureC*, *ureD*, *ureA* 和 *ureB*.在 *ureA* 和 *ureB* 结构基因的下游还存在另外四个 ORF^[28],分别为 *ureE*, *ureF*, *ureG* 和 *ureH*,被证明是 *Escherichia coli* 表达 *H. pylori* 脲酶基因所必需的.随后,1993 年 Mobley 等^[29]报道获得了 *H. pylori* 脲酶基因在 *E. coli* 中的高效表达.

与 *H. pylori* 细胞毒素产生相关的基因(*cagA*),已由 Tummura 等^[30]运用 PCR,核酸合成等技术克隆成功,并报道了对使人上皮细胞空泡化的细胞毒素基因 *vacA* 的克隆.这些基因编码产生的蛋白质毒素在胃炎,胃溃疡

疡的形成中发挥着重要的作用^[31]。

另外,前文中阐述的 *H. pylori* 的鞭毛,粘附素等的分子生物学研究也取得了进展,1989 年,Geis 等^[33]在世界上第一次提纯 *H. pylori* 鞭毛蛋白质,并确定了 M_r 。在此基础上,鞭毛基因 *flaA*^[33],*flaB*^[34] 分别实现了克隆化。而粘附素亚单位编码基因^[35],*recA* 基因^[36]等也已克隆成功。

在 *H. pylori* 感染的基础与临床研究中,PCR 技术,核酸探针技术,限制性片长多样性分析,限制性酶切图谱等分子生物学技术已显示出重要的应用价值。贾继辉等^[37]研究 *H. pylori*-L 型的分子生物学性状,对 *H. pylori* 再感染及慢性胃炎复发的原因作出了进一步的说明。1997 年, Jean-F. Tomb 等^[38]报道了对 1 株有 1 667 867 bp 的环状基因组的 *H. pylori* 菌株 DNA 序列的详尽分析,从而对 *H. pylori* 生存的特殊适应性及致病机理等方面有了更为完整、清楚的解释。

3 *H. pylori* 的医学特征

3.1 *H. pylori* 的致病机理

已知 *H. pylori* 有许多适应于在人胃中生存的特殊的生物学特征。带鞘的端生鞭毛,不仅使它能够避开胃酸的损伤,及其它微生物和局部免疫的排斥,且使它能在胃粘液中灵活地运动,从而获得适宜的生长繁殖条件^[2]。另外,对 *H. pylori*-L 型的研究^[37,39],发现 *H. pylori* 的多形性可保护它免受环境中脱水作用的影响,从而对抗生素有更强的抵抗力,使治疗后再感染。

H. pylori 定居在胃上皮细胞表面,通过产生大量的各种因子造成定居部位的病变。Lambert 等^[40]对这些因子进行了总结。

(1)脲酶

H. pylori 的脲酶是一种 $M_r = 500 \sim 699 \times 10^3$ 的蛋白质,有高基质亲和性,可能集中在细菌外膜和周质区。它水解尿素,产物可提高环境中的酸碱度^[19]。氨有直接的细胞毒素效应^[41],对真核哺乳动物细胞有毒,能降低胃粘膜电位差,阻滞 H^+ 由粘膜向胃腔内分泌,促进 H^+ 逆向扩散,使胃上皮组织变形^[42],促进细菌的粘附。还有研究表明,脲酶可激活单核吞噬细胞,诱发炎症^[43]。Mendz 和 Hazell^[44]对 *H. pylori* 尿素循环的详尽分析,进一步说明了脲酶的致病机理。

脲酶的存在有利于对 *H. pylori* 的保护作用,已通过悉生动物模型得到证实^[45]。而不能合成脲酶的 *H. pylori* 变异株,不能定居在胃粘膜上皮^[40]。

(2)磷脂酶和蛋白酶

H. pylori 的磷脂酶能降解粘液,趋化炎细胞和降低膜的疏水性,破坏胃粘液层的保护作用^[46];而 *H. pylori* 产生的胞外蛋白酶^[18],能裂解糖蛋白的聚合结构,也破坏了胃粘液屏障,使胃上皮细胞直接与胃腔内的酶,胆汁,药物等接触,从而形成了糜烂和溃疡。

(3)细胞毒素

大多数 *H. pylori* 表达炎症 $M_r = 120 \times 10^3$ 的蛋白质,是一种细胞毒素,由 *cagA* 编码^[47]。而感染了 *cagA* + 菌株的患者表现出更为严重的胃炎,并且更可能发展为溃疡或胃癌^[48]。有的 *H. pylori* 菌株还产生一种可使多种人上皮细胞空泡化的细胞毒素,在胃炎,胃溃疡的形成中起着重要的作用^[49]。

(4)免疫学因子

H. pylori 感染会引起机体产生特异的体液免疫和细胞免疫。体液免疫将产生一些特异性 IgG, IgA 抗体^[50];细胞免疫则是一些淋巴细胞的作用。*H. pylori* 能刺激 T 淋巴细胞产生 IL-2, IL-4, TNF- α , IL-6 及可溶性 CD8 等因子,这些因子的释放,可激活嗜中性细胞,与 *H. pylori* 引起的炎症相联系,与粘液功能的改变有关^[51]。

另外, *H. pylori* 能合成一种 M_r 略小于 3 000 的趋化因子,热稳定,耐酸,在 *H. Pylori* 感染引起的炎症反应中起重要作用^[52];还能产生 paf,导致细胞趋化,血管通透性增加,对胃的损伤有重要作用^[53]。

3.2 *H. pylori* 感染的流行病学

H. pylori 感染在世界各地均较为常见。慢性胃炎 *H. pylori* 的检出率为 50% ~ 70%,其中有活动性病变者

可达 90% 以上;60% ~ 80% 的胃溃疡和 70% ~ 100% 的十二指肠溃疡患者伴有 *H. pylori* 阳性胃窦炎;在无症状的人体中,*H. pylori* 感染率随着年龄的增长而升高^[40].

目前,*H. pylori* 的传染源和传播途径尚不清楚,自然界中也无其确定的宿主.世界上约大半 40 岁和 40 岁以上的人口被 *H. pylori* 感染,故可合理地推测人是 *H. pylori* 的自然宿主.

H. pylori 在人与人之间传播,在被感染家庭成员中分离到同一株 *H. pylori*^[54].*H. pylori* 可能通过口-口途径或粪-口途径传播,它已在牙缝,唾液和粪便中被检测到^[55].利用 PCR 技术检测到胃液和唾液中的 *H. pylori* DNA^[56].在使用筷子,实行共餐制的澳大利亚华裔中,*H. pylori* 感染的流行率很高^[57].这些都是 *H. pylori* 传播方式的间接证据.另外,通过内窥镜导致 *H. pylori* 感染的医学传播有更普遍的危险^[40].

在不同地区,不同种族,不同人群或同一人群的不同个体之间,*H. pylori* 的感染率差别很大.*H. pylori* 感染主要发生在童年时期,与卫生,环境条件,生活标准,社会经济地位及信仰,道德标准等有关.例如差的口腔卫生,就容易被 *H. pylori* 感染,特别是在有被感染的家庭成员中.在发达国家里,生活条件改善,十二指肠溃疡和胃癌的发生率相对降低.

3.3 *H. pylori* 感染的临床症状

H. pylori 是人体 B 型胃炎的病原.所有与窦型胃炎有关的疾病都与 *H. pylori* 感染紧密联系.Marshall 等^[58]提出,*H. pylori* 感染后首先引起患者胃窦腔炎,然后导致粘膜屏障的损害,继而遭受胃酸和胃蛋白酶的消化,形成胃溃疡.

H. pylori 与十二指肠溃疡病有关^[40].*H. pylori* 感染明显改变和损伤了粘液对粘膜的保护作用,及上皮细胞,胃血液流动和胃泌素细胞的功能^[59].粘液的改变多因细菌产物(酶,细胞毒素等)及发炎过程的作用.*H. pylori* 感染及其引起的炎症效应减少了胃,十二指肠屏障的完整性.近年的工作表明,一种 *H. pylori* $M_r = 128 \times 10^3$ 蛋白质(*cagA* 基因编码)的出现可能是增加溃疡疾病发生率的一个标志.

另外,*H. pylori* 感染还可能导致胃癌^[60].60% ~ 100% 胃癌患者被诊断为有 *H. pylori* 感染.*H. pylori* 感染与慢性萎缩性胃炎的后期发展相联系,而胃癌与萎缩性胃炎联系.在发达国家,*H. pylori* 感染的早期获得在社会经济地位低的阶层中最普遍,且胃癌最流行.胃癌与 *H. pylori* 盛行的地理学研究表明,两者的发展有一个相关的平行线性关系.从研究胃癌发生的动物模型也发现,*H. pylori* 感染对胃癌的发展起着预定作用.没有被 *H. pylori* 感染可能会发生胃癌,但大量被感染者发生癌变,其机理尚不清楚,*H. pylori* 与癌变不同阶段之间的关系需要进一步研究.

在通过治疗成功地根除了 *H. pylori* 以后的跟踪调查中发现,有再感染的危险^[61].再感染的原因尚不清楚.口腔可能是该菌的主要宿主,可能是再感染的一个重要来源^[62].

4 *H. pylori* 的分离培养和保藏

H. pylori 是人体胃肠的寄生菌,通过 PCR 技术已从牙缝,唾液,胃液及活检组织块,粪便中检测到该菌,也有从这些部位样品中分离到的报道^[1,55,56].

根据 *H. pylori* 的生存条件,提供一个微好氧,最适温度 37 °C,中性,营养丰富,的环境,*H. pylori* 就能进行良好的生长繁殖.现应用的培养基主要有 Chocolate 琼脂^[1,63],Skirrow 培养基^[1,64],牛心脑浸液(+5% ~ 7% 兔血抗生素琼脂)^[4],BHIA(+7% 马血或 5% 胎牛血清)^[65],PYG^[5],TSA(+5% 羊血)^[63],EYAA(7.5% 卵黄抗菌素琼脂)^[66].

实验室每 5 d 移种一次作暂时保存.长期保存则用 3d 的培养物悬浮于 25% 葡萄糖的牛心脑浸液,真空干燥后,在 -20 °C 保存^[6].注意 *H. pylori* 对氧敏感,如置于空气中 2 ~ 3 h,则不能传代.

另外还有以下几种保藏方法:(1)50% 卵黄水^[68],可在 -30 °C 保存 6 个月,100% 成活;室温保存 3 个月,80% 成活;(2)1% 蛋白胨液 + 25% 甘油^[65],在 -70 °C 长期保存;(3)布氏肉汤 + 10% 甘油^[63],在 -70 °C 长期保存;(4)兔全血或 199 加 50% 胎牛血清^[67],于 -70 °C 条件下保存 *H. pylori* 48h 的新鲜培养物,存活期可达 6 ~ 22 个月.

5 *H. pylori* 的检测手段

H. pylori 感染的诊断是特殊的,可以使用侵入性和非侵入性的手段,包括组织学检查,微生物学检查,PCR 检测 *H. pylori* DNA,血清学试验和快速脲酶试验等技术。

5.1 组织学检查

用相差显微镜直接观察患者胃粘膜组织碎片悬液,可观察到黑色的弯曲状或“S”状的菌株^[68]。

另外,把患者胃粘膜组织切片,染色后,可观察到组织中的 *H. pylori* 菌体。近年来应用于 *H. pylori* 检测染色法的有:Warthin-Starry 银染色^[69],革兰氏染色法^[70],Giemsa 染色法^[71],苏木精-伊红染色法^[70]以及丫啶橙染色法^[72]。

5.2 微生物学检查

将胃粘膜组织碎片制成的悬液,在 Chocolate 血琼脂上,37℃,微需氧环境下进行培养,3d 后观察是否有 *H. pylori* 的特异菌落形成^[68]。也可接种在 Skirrow 选择性培养基上,根据随时间生长出的菌落形态,结合菌体形态的观察,革兰氏染色,生理生化特征的鉴定及抗生素敏感试验和脲酶试验所获结果综合判定是否有 *H. pylori* 的存在^[6]。

在以上两项检查中,有可能出现假阴性的情况,应检查:(1)内窥镜方面:含漱时不慎吞入利多卡因,活检前用过二甲硅油,病人服过铋剂或抗生素,胃内有甲氰咪呱或雷尼替丁(ranitidine),活检钳沾有戊二醛或活检标本中不含窦型上皮;(2)微生物学方面:标本在室温中置 3 h 以上,培养基不新鲜或太干,或培养罐中湿度不够;(3)组织学方面:标本取自主要含肠上皮化生组织和泌酸粘膜,以致菌数太少或银染欠佳^[6]。

5.3 脲酶诊断法

H. pylori 能够产生大量的脲酶,水解尿素引起酸碱度的变化^[19]并释放 CO₂^[73]。通过测定 pH 值的变化及 CO₂ 量,可检测 *H. pylori* 的存在。

5.4 PCR 检测法

利用 PCR 技术省时,灵敏度高,特异性强,对原始材料质量要求低等特点,可以对变形,死亡或数量极少的 *H. pylori* 进行迅速地检测与分型^[74,75]。

PCR 技术不仅作为非侵入性方法诊断 *H. pylori* 感染,还可作为流行病学调查工具,确定细菌感染的来源及传播途径。另外,研究 *H. pylori* 的遗传学特征,进行细菌致病因子基因的分离、克隆,然后确定与 *H. pylori* 毒素决定因子表达有关的基因,有助于更深入地了解 *H. pylori* 的致病机制。

5.5 血清学诊断

感染了 *H. pylori* 的患者血清中将产生特异性的 IgG, IgA, 则通过酶联免疫吸附试验(ELISA)分析即可检测出 *H. pylori*^[76]。

另据报道,使用 ELISA 分析检测唾液中 *H. pylori* IgG 抗体的敏感性和特异性要高于检测血清中的 *H. pylori* IgG 抗体,达 90%。而用 Western 印迹法(免疫印迹法)检测尿中 *H. pylori* IgG 抗体,也有 95.9% 的敏感性和 90% 的特异性^[77]。

6 对 *H. pylori* 感染的治疗^[40]

我们知道 *H. pylori* 感染与生活条件有关,因此,对感染了 *H. pylori* 的患者应该注意隔离治疗及公共卫生。

另外, *H. pylori* 对多种抗生素敏感,可考虑使用抗生素来根除 *H. pylori*,如 CBS 可治疗消化性溃疡;庆大霉素对伴随 *H. pylori* 感染的十二指肠溃疡有良好的治疗效果。而口服抗菌剂根除 *H. pylori* 的方法较困难,因为 *H. pylori* 有种种特性:在胃里有快而好的分散性;其大小与所带电荷适合于允许粘液渗透;能够通过胃粘膜的吸收或分泌;很好的抗性,如不活跃的球形;及其本身具有的和获得的对抗菌剂的抗性,等等,都是决定治疗效果的重要因素。而药物在酸性环境下是否会失去活性,能否穿透粘液层在局部达到有效的杀菌浓度,药物的理化特性如 pKa,脂溶性以及在胃内 pH 范围的活性和稳定性,也是重要的因素。所以建议使用两种或两种以上的抗生素来进行治疗是必要的。而在了解 *H. pylori* 的致病机理及抗菌剂的药理,药效的基础上进行治疗,将

得到最佳的治疗效果。

7 结 语

H. pylori 在世界范围内有普遍的感染,它是慢性活动性胃炎的主要病因,在消化性溃疡,特别是十二指肠溃疡的发病中可能起重要作用,与非溃疡性消化不良和胃癌也有一定的关系。*H. pylori* 诱导的胃炎与粘膜主要功能结构改变有关。胃炎的发病率与 *H. pylori* 的感染率均随年龄的增长而增高。一旦被 *H. pylori* 感染,则可能成为该菌的终生宿主。*H. pylori* 的传播主要是人-人之间通过粪-口或口-口途径,在家庭内通过密切接触可造成传播,内窥镜检查也可传播 *H. pylori*。影响 *H. pylori* 传播的因素可能与文化,人种及生活条件有关。由 *H. pylori* 感染引起的疾病类型与获得感染的年龄,细菌因子(如细胞毒素),遗传因素及环境条件有关,初次感染 *H. pylori* 年龄较早的人群,胃癌的发病率也高。

目前,有多种诊断 *H. pylori* 感染的方法,进行科学研究,最好同时使用几种检测手段,至少应选择其中两种,取长补短,提高准确性。由于 *H. pylori* 在胃内分布不均匀,提倡多点取材。

根除 *H. pylori* 可使胃粘膜完全转变为正常状态,胃炎逐渐缓解,至最终消失,并伴随溃疡敏感性的降低。有效的抗菌治疗可以改变十二指肠溃疡的自然病程,根除 *H. pylori* 是防止溃疡复发的重要措施。在体外药敏试验中,很多抗生素对 *H. pylori* 有良好的抗菌活性,但在体内则大多无效,如红霉素,螺旋霉素等。选择有效的药物固然重要,但药物的剂型,剂量,服药方法,配伍和疗程等因素也影响疗效。当前在治疗中使用 CBS 和两种抗生素联合治疗的效果最好。但仍有复发的可能性,若长期进行这样的治疗,还会带来一定的副作用。因此,研制 *H. pylori* 疫苗或用基因工程构建减毒菌株与 *H. pylori* 致病菌株竞争,对防治 *H. pylori* 感染是有前途的。

参考文献

- 1 Marshall BJ, Royce H, Annear DI, Goodwin CS, Pearman JW, Warren JR, Armstrong JA. Original isolation of *Campylobacter pylori* dis from human gastric mucos. *Microbios Letters*. 1984,25:83 ~ 88
- 2 Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collind MD, Sly L, McConnell W, Harper WES. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int J Syst Bacteriol*. 1989,39:397 ~ 405
- 3 Bode G, Malfertheiner P, Ditschuneit H. Coccoid forms of *H. pylori* are viable. *Italian J Gastroenterol*. 1991,23(Suppl 2):35 ~ 36
- 4 Ling DW(凌代文), Feng RE(冯瑞娥), Zhu CHR(朱昌仁), Yang ZhX(杨昭徐), Study of the Biological Characteristics of *Campylobacter pylori*. *Microbiology(微生物学通报)*. 1989,16(1):7 ~ 10
- 5 Wang YP(王远萍), Yang ZhM(杨志梅), Li J(李健), Zhang ShZh(张尚志), Comparative Study of *Campylobacter pyloridis* and *Campylobacter jejuni* Under Electron Microscope. *J WCUMS(华西医科大学学报)*. 1990,21(4):390 ~ 393
- 6 陈聪敏,王文凤编著. 厌氧菌及其感染. 上海医科大学出版社. 1989:62 ~ 67
- 7 Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR, Waters TE, Sanderson CR, Easton L. Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pylori* dis from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J Clin Pathol*. 1985,38:1127 ~ 1131
- 8 Wang ZX(王正祥), Chen HJ(陈红菊), Shen HF(申厚凤), Wu Y(吴岩), Lysozyme is an important factor for growth of *Helicobacter pylori*. *Microbiology(微生物学通报)*. 1996,23(5):285 ~ 288
- 9 Hazell ST, Evans DJ, Jr., Graham DY. *Helicobacter pylori* catalase. *J Gen Microbiol*. 1991,137:57 ~ 61
- 10 Sjöström JE, Larsson H. Factors affecting growth and antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori*: effect of pH and urea on the survival of a wild-type strain and a urease-deficient mutant. *J Med Microbiol*. 1996,44:425 ~ 433
- 11 Burns BP, Hazell SL, Mendz GL. Acetyl-CoA carboxylase activity in *Helicobacter pylori* and the requirement of increased CO₂ for growth. *Microbiology*. 1995,141:3113 ~ 3118
- 12 Narikawa S, Imai N, Yamamoto M, Suzuki T, Yanagawa A, Mizushima Y. Oxygen and carbon dioxide requirements of *Helicobacter pylori* (a note). *Acta Microbiological Immunological Hungarica*. 1995,42(4):367 ~ 371
- 13 Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pylori* dis and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis*. 1986,153:658 ~ 663
- 14 Fauchere JL, Blaser BJ. Adherence of *Helicobacter pylori* cells and their surface components to Hela cell membranes. *Microb Pathogen*.

- 1990,9:427 ~ 439
- 15 Evans DJ, Jr., Evans DG, Kirkpatrick SS, Graham DY. Characterization of the *Helicobacter pylori* urease and purification of its subunits. *Microb Pathogen*. 1991,10:15 ~ 26
- 16 Doig P, Austin JW, Kostrzynsk AM, Trust TJ. Production of a conserved adhesin by the human gastroduodenal pathogen *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*. 1992,174:2539 ~ 2547
- 17 Evans DG, Evans DJ, Jr., Moulds JJ, Graham DY. N-acetylneuraminylactose-binding fibrillar hemagglutinin of *Campylobacter pylori*: a putative colonization factor antigen. *Infect. Immun*. 1988,56:2898 ~ 2906
- 18 Tanaka N, Kuwatama H, Nakajima M. Digestion of human gastric mucus by extracellular *Helicobacter pylori* enzyme. *Jap J Clin Med*. 1993,51:93 ~ 95
- 19 Mobley HLT, Hu L-T, Foxall PA. *Helicobacter pylori* urease: properties and role in pathogenesis. *Scand J Gastroenterol*. 1991,26 (Suppl 187):39 ~ 46
- 20 Cave DR, Vargas M. Effect of a *Campylobacter pylori* protein on acid secretion by parietal cells. *Lancet*. 1989,2(8656):187 ~ 189
- 21 Kung JSL, Ho B, Chan SH. Biotyping of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol*. 1989,29:203 ~ 206
- 22 Danielsson D, Blomberg B, Jernert G, Kosunen TU. Heterogeneity of *Campylobacter pylori* as demonstrated by co-agglutination testing with rabbit antibodies. *Scand J Gastroenterol*. 1988,23(Suppl 142):58 ~ 63
- 23 Tjia TN, Harper WES, Goodwin CS, Grubb WB. Plasmids in *Campylobacter pyloridi*. *Microbios Letters*. 1987,36:7 ~ 11
- 24 Schmid EN, Recklinghausen GV, Ansorg R. Bacteriophages in *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori*. *J Med Microbiol*. 1990,32:101 ~ 104
- 25 Nednskov-Sørensen P, Bukholm G, Bøvre K. Natural competence for genetic transformation in *Campylobacter pylori*. *J Infect Dis*. 1990,161:365 ~ 366
- 26 Clayton CL, Pallen MJ, Kleantous H, Wren BW, Tabagchali S. Nucleotide sequence of two genes from *Helicobacter pylori* encoding for urease subunits. *Nucleic Acids Res*. 1990,18(2):362
- 27 Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. *J Bacteriol*. 1991,173:1920 ~ 1931
- 28 Cussac V, Ferrero RL, Labigne A. Expression of *Helicobacter pylori* urease genes in *Escherichia coli* grown under nitrogen-limiting condition. *J Bacteriol*. 1992,174(18):2466 ~ 2473
- 29 Hu LT, Mobley HLT. Expression of catalytically active recombinant *Helicobacter pylori* urease at wild-type levels in *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 1993,61:2563 ~ 2569
- 30 Tummura MKR, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun*. 1993,61(5):1799 ~ 1809
- 31 Tummuru MKR, Cover TL, Blaser MJ. Mutation of the cytotoxin-associated *cagA* gene does not affect the vacuolating cytotoxin activity of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*. 1994,62:2609 ~ 2613
- 32 Geis G, Leying H, Suerbaum S, Mai U, Opferkuch W. Ultrastructure and chemical analysis of *Campylobacter pylori* flagella. *J Clin Microbiol*. 1989,27:436 ~ 441
- 33 Leying H, Suerbaum S, Geis G, Haas R. Cloning and genetic characterization of a *Helicobacter pylori* flagellin gene. *Mol Microbiol*. 1992,6:2863 ~ 2874
- 34 Suerbaum S, Josenhans C, Labigne A. Cloning and genetic characterization of the *Helicobacter pylori* and *Helicobacter mustelae* *flaB* flagellin genes and construction of *H. pylori* *flaA*- and *flaB*-negative mutants by electroporation-mediated allelic exchange. *J Bacteriol*. 1993,175:3278 ~ 3288
- 35 Evans DG, Karjalainen TK, Evans DJ, Jr., Graham DY, Lee CH. Cloning, nucleotide sequence, and expression of a gene encoding an adhesin subunit protein of *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*. 1993,175:674 ~ 683
- 36 Thompson SA, MJ Blaser. Isolation of the *Helicobacter pylori* *recA* gene and involvement of the *recA* region in resistance to low pH. *Infect Immun*. 1995,63(6):2185 ~ 2193
- 37 Jia JH(贾继辉), Shen JL(沈继龙), Lou Zh(娄峥), Huang GL(黄谷良), Lin TF(林特夫). Study on the Molecular Biological Characteristics of *Helicobacter pylori* L-Form. *Chin J Microbiol Immunol* (中华微生物学和免疫学杂志). 1995,15(2):95 ~ 98
- 38 Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann TD, Ketchum KA, Klenl HP, Gill S, Dougherty BA,

- Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, Mckenney K, Fitzgerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Wathley L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. 1997,**388**(7):539 ~ 547
- 39 Jia JH(贾继辉), Huang GL(黄谷良), Lin TF(林特夫). Study on the ultrastructure of *Helicobacter pylori* L-form. *Chin J Microbiol Immunol* (中华微生物学和免疫学杂志). 1996,**16**(1):19 ~ 21
- 40 Lambert JR, Lin SK, Aranda-Michel J. *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol*. 1995,**30**(Suppl 208):33 ~ 46
- 41 Smoot DT, Mobley HLT, Chippendale GR, Lewison JF, Resau JH. *Helicobacter pylori* urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. *Infect Immun*. 1990,**58**:1992 ~ 1994
- 42 Sommi P, Ricci V, Fiocca R, Romano M, Ivey KJ, Cova E, Solcia E, Ventura U. Significance of ammonia in the genesis of gastric epithelial lesions induced by *Helicobacter pylori*: an in vitro study with different bacterial strains and urea concentrations. *Digestion*. 1996,**57**:299 ~ 304
- 43 Harris PR, Mobley HLT, Perez-perez GI, Blaser MJ, Smith PD. *Helicobacter pylori* urease is a potent stimulus of mononuclear phagocyte activation and inflammatory cytokine production. *Gastroenterol*. 1996,**111**:419 ~ 425
- 44 Mendz GL, Hazell SL. The urea cycle of *Helicobacter pylori*. *Microbiology*. 1996,**142**:2959 ~ 2967
- 45 Fox JG, Lee A, Otto G, Taylor NS, Murphy JC. *Helicobacter felis* gastritis in gnotobiotic rats: an animal model of *Helicobacter pylori* gastritis. *Infect Immun*. 1991,**59**(3):785 ~ 791
- 46 Slomiany BL, Nishikawa H, Piotrowski J, Okazaki K, Slomiany A. Lipolytic activity of *Campylobacter pylori*: effect of sofalcone. *Digestion*. 1989,**43**:33 ~ 40
- 47 Covacci A, Censini S, Bugnoli M, Petracca R, Burroni D, Macchia G, Massone A, Papini E. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993,**90**:5791 ~ 5795
- 48 Crabtree JE, Taylor JD, Wyatt JI, Heatley RV, Shallcross TM, Tompkins DS, Rathbone BJ. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. *Lancet*. 1991,**338**:332 ~ 335
- 49 Leunk RD, Johnson PT, David BC, Kraft WG, Morgan DR. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol*. 1988,**26**:93 ~ 99
- 50 Rathbone BJ, Wyatt JI, Worsley BW, Shires SE. Systemic and local antibody responses to gastric *Campylobacter pylori* in non-ulcer dyspepsia. *Gut*. 1986,**27**:642 ~ 647
- 51 Crabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, Wyatt JI. Mucosal tumour necrosis factor α and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut*. 1991,**32**(12):1473 ~ 1477
- 52 Craig PM, Territo MC, Karnes WE, Walsh JH. *Helicobacter pylori* secretes a chemotactic factor for monocytes and neutrophils. *Gut*. 1992,**33**(8):1020 ~ 1023
- 53 Denizot Y, Sobhani I, Rambaud J-C, Lewin M, Thomas Y, Benveniste J. Paf-acether synthesis by *Helicobacter pylori*. *Gut*. 1990,**31**(11):1242 ~ 1245
- 54 Tee W, Lambert JR, Smallwood R, Schembri M, Ross BC, Dwyer B. Ribotyping of *Helicobacter pylori* from clinical specimens. *J Clin Microbiol*. 1992,**30**:1562 ~ 1567
- 55 Simor AE, Shames B, Drumm B, Sherman P, Low DE, Penner JL. Typing of *Campylobacter pylori* by bacterial DNA restriction endonuclease analysis and determination of plasmid profile. *J Clin Microbiol*. 1990,**28**:83 ~ 86
- 56 Madinier IM, Fosse TM, Monteil RA. Oral carriage of *Helicobacter pylori*: a review. *J Periodontol*. 1997,**68**:2 ~ 6
- 57 Valentine JL, Arthur RR, Mobley HL, Dick JD. Detection of *Helicobacter pylori* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1991,**29**:689 ~ 695
- 58 Marshall BJ, Warren JR, Francis CJ, Langton SB, Goodwin CS, Blincow ED. Rapid urease test in the management of *Campylobacter pylori*-dis-associated gastritis. *Am J Gastroenterol*. 1987,**82**:200 ~ 210
- 59 Cover TL, Dooley CP, Blaser MJ. Characterization of human serologic response to proteins in *Helicobacter pylori* broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. *Infect Immun*. 1990,**58**:603 ~ 610
- 60 Goldstone AR, Quirke P, Dixon MF. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *J Pathol*. 1996,**179**:129 ~ 137

- 61 Forbes GM, Glaser ME, Cullen DJE, Warren JR, Chistiansen KJ, Marshall BJ, Collins BJ. duodenal ulcer treated with *Helicobacter pylori* eradication: seven-year follow-up. *Lancet*. 1994,**343**:258 ~ 260
- 62 Costas M, Owen RJ, Bickley J, Morgan DR. Molecular techniques for studying the epidemiology of infection by *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol*. 1991,**26**(Suppl 181):20 ~ 32
- 63 Buck GE., Smith JS. Medium supplementation for growth of *Campylobacter pylori* dis. *J Clin Microbiol*. 1987,**25**:597 ~ 599
- 64 Wang ZX(王正祥). Long-term Storage of *Helicobacter pylori*. *Microbiology*(微生物学通报).1991,**18**(2):118
- 65 Hachem CY, Clarridge JE, Evans DG, Graham DY. Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol*. 1995,**48**:714 ~ 716
- 66 Wu KY(吴开宇), Wu P(吴平), Pan XZ(潘秀珍), Chen XQ(陈秀琼), Wu F(吴芳), Fu D(傅丹). An Egg-Yolk Medium for Culture and Keeping the strains of *Helicobacter pylori*. *Microbiology*(微生物学通报). 1992,**19**(2):112 ~ 113
- 67 Wang TZH(王同展), Pan Ysh(潘跃舜), Cui SY(崔树玉), Yang JY(杨剑影), Jin ZY(金肇英). Preservation of *Helicobacter pylori*. *Microbiology*(微生物学通报). 1995,**22**(5):312 ~ 313
- 68 Pinkard KJ, Harrison B, Capstick JA, Medley G, Lamber JR. Detection of *Campylobacter pylori* dis in gastric mucosa by phase contrast microscopy. *J Clin Pathol*. 1986,**39**:112 ~ 113
- 69 Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983,**1**:1273 ~ 1275
- 70 The gastrointestinal physiology working group. Rapid identification of pyloric *Campylobacter* in peruvians with gastritis. *Dig Dis Sci*. 1986,**31**:1089 ~ 1095
- 71 Yang H(杨红), Xu WY(胥维勇), Li K(李科), Yang Q(杨群).改良 Giemsa 染色法在幽门螺杆菌检测的应用. *Chinese Journal of Stochemistry and Cytochemistry*(中国组织化学与细胞化学杂志). 1996,**5**(1):101
- 72 Walters LL, Budin RE, Paull G. Acridine-orange to identify *Campylobacter pyloridis* in formalin fixed, paraffin-embedded gastric biopsies^[Letter]. *Lancet*. 1986,**1**:42
- 73 Peura DA, Pambianco DJ, Dye KR, Lind C, Frierson HF, Hoffman SR, Combs MJ, Guilfoyle E, Marshall BJ. Microdose 14C-urea breath test offers diagnosis of *Helicobacter pylori* in 10 minutes. *Am J Gastroenterol*. 1996,**91**(2):233 ~ 238
- 74 Long BG(龙北国), Gu HY(古惠英), Yang L(杨林), Li SY(李仕英), Zhang WB(张文炳), Wang JR(王金锐). Rapid detection of *Helicobacter pylori* with the polymerase chain reaction. *Chin J Microbiol Immunol*(中华微生物学和免疫学杂志). 1994, **14**(1):280 ~ 281
- 75 Furuta T, Kaneko E, Suzuki M, Arai H, Futami H. Quantitative study of *Helicobacter pylori* in gastric mucus by competitive PCR using synthetic DNA fragments. *J Clin Microbiol*.1996,**34**(10):2421 ~ 2425
- 76 Zhang QB(张启波), Zhang SJ(张树基), Jia BQ(贾博琦). The Serodiagnosis of *Campylobacter pylori* Infection. *Chinese Journal of Internal Medicine*(中华内科杂志). 1990,**29**(8):457 ~ 460
- 77 Alemohammad MM, Foley TJ, Cohen H. Detection of immunoglobulin G-antibodies to *Helicobacter pylori* in urine by an enzyme immunoassay method. *J Clin Microbiol*. 1993,**31**:2174 ~ 2177