

위암환자에서 분리된 *Helicobacter pylori*의 항생물질에 대한 감수성과 저항성 균에 대한 항생제 병합요법의 효과

고신대학교 의과대학 미생물학교실

송 감 영 · 장 명 응

=Abstract=

Antibiotic Susceptibility of *Helicobacter pylori* and the Combination Effect of Antibiotics on the Antibiotic-Resistant *H. pylori* Strains

Gap-Young Song and Myung-Woong Chang

Department of Microbiology, Kosin University College of Medicine,
Pusan 602-702, Korea

The purpose of this study was to evaluate the existence of amoxicillin, clarithromycin, and metronidazole resistance *Helicobacter pylori* and to determine the in-vitro MIC of two and three kinds of antibiotic concomitant administration in the isolates. The antimicrobial agents tested against 169 *H. pylori* included metronidazole, amoxicillin, ciprofloxacin, clarithromycin, omeprazole, josamycin, erythromycin, and tetracycline. MIC of each antimicrobial agents was determined by broth microdilution method.

The 169 strains of *H. pylori* were isolated from biopsy specimens of patients with gastric cancer. MIC₅₀ of clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, omeprazole, erythromycin, josamycin, tetracycline, and ciprofloxacin was 2.0, 1.0, 4.0, 8.0, 0.5, 0.5, and 0.5 µg/ml, respectively. MIC₉₀ of clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, omeprazole, erythromycin, josamycin, tetracycline, and ciprofloxacin was 64.0, 64.0, 32.0, 16.0, 8.0, 2.0, and 1.0 µg/ml, respectively. *H. pylori* isolates were detected in the following resistance rates: 34.3% to clarithromycin, 31.9% to metronidazole, 20.7% to amoxicillin, 12.4% to erythromycin, and 10.1% to josamycin. The prevalence of the antibiotic resistant strains of *H. pylori* were detected 18.1% for two kind of antibiotics and 9.6% for three kind of antibiotics, and 3.9% for four kind of antibiotics. The MIC₉₀ of clarithromycin-, metronidazole-, and amoxicillin-resistant *H. pylori* was decreased under the 1 µg/ml by the two or three kind of antibiotic concomitant administration in-vitro.

These results suggest that two or three antibiotics concomitant administration could be more effective for the treatment of clarithromycin-, amoxicillin-, metronidazole-, and josamycin-resistant *H. pylori* strains.

Key Words: Antibiotic-resistant *H. pylori*, Antibiotics combination

접수 : 2000년 1월 27일, 게재결정 : 2000년 1월 27일

Corresponding author: 장명응, 고신대학교 의과대학 미생물학교실, 602-702, 부산시 서구 암남동 34

전화: 051-240-6421, FAX: 051-241-5458, e-mail: mchang@ns.kosinmed.or.kr

서 론

Helicobacter pylori (*H. pylori*)는 위점막 상피세포에 부착 서식하며^{18,34}, 만성 B형위염^{13,36}, 위궤양^{16,19,20,31}, 위암^{27,28} 등의 원인 균으로 주목되고 있는 병원성 세균이다. 우리 나라에서는 건강한 사람이나 위, 십이지장 질환 환자에서 이 균의 분리빈도가 외국인에 비하여 높다고 보고^{1,2}되고 있으므로, 이 균에 의한 감염자의 치료뿐만 아니라, 보건자의 치료에도 관심을 가져야 할 것으로 생각된다. 이를 위해서는 국내에서 분리되는 이 균의 여러 가지 항생물질에 대한 감수성 검사가 이루어져야 한다. 그러나, 이 균은 배양조건이 까다롭기 때문에 국제적으로도 정확한 항생물질 감수성 검사법이 지금까지 확립되지 못하고 있어 보고자에 따라 차이가 있다²⁹. 현재, 이 균에 대한 항생물질 감수성 검사법으로는 micro-dilution법, agar dilution법, disk diffusion법, Epsiloneter (E)법 등이 많이 이용되고 있다^{7,15,29}. 또한, *H. pylori*는 위 점막 표층의 점액하에 서식하는 균이므로 항생물질로 치료를 할 경우, 경구적으로 투여한 약제가 균이 서식하는 장소까지 어느 정도 침투하는지, 장관 점막으로 흡수된 약제가 혈류를 통하여 어느 정도 감염 국소의 조직 부위에 도달하게 될 것인가는 약제에 따라 다르다. 따라서 시험관 내에서의 결과와 생체 내에서의 결과가 일치하지 않을 수도 있다³. 그러므로 어떤 약제는 시험관 내에서 최저발육저지농도는 낮으나 생체 내에서 균을 제거하는 효과가 없는 것이 있을 수 있다. Graham 등²¹은 항생물질이 *H. pylori*의 제거에 효과를 나타내지 못하는 원인으로 항생물질에 저항성 균인 경우, 약제의 상호작용, 약제에 대한 불활화 효소가 있는 경우, 환경적인 요인이 있는 경우 등을 들고 있다. 따라서 치료효과를 증대시키기 위하여는 상승작용이나 상가작용이 있는 약제를 병용하는 것이 바람직하다고 하고 있다. *H. pylori*에 의한 감염증의 치료에는 metronidazole이나 5-nitroimidazoles 등의 항생물질과 bismuth제제의 병용요법이 주로 이용되고 있으며^{13,26}, 이 약제들과 함께 omeprazole과 같은 수소이온 펌프억제제를 병용하고 있다^{23,30}. 그러나 metronidazole이나 clarithromycin 등의 약제에 저항성인 균들이 이미 분리 보고되고 있어 이들 약제에 의한 치료에 어려움이 있다^{6,33}. 따라서, 환자로부터 분리되는 균

의 각종 항생물질에 대한 감수성 유무를 확인하는 것은 환자의 치료에 매우 중요한 약제의 선택에 도움을 줄 수 있다^{17,37}.

국내에서 *H. pylori*에 대한 항생제 감수성 검사는 이 등²의 보고 이외에는 그 예를 찾아보기 어려우며, 이 등²도 metronidazole과 clarithromycin 등의 항생제는 검사를 하지 않았으므로 국내에서 분리된 *H. pylori* 균주의 metronidazole과 clarithromycin 등의 항생제에 대한 저항성 균주의 분리에 대한 보고는 없었다.

이에, 본 연구에서는 위암환자에서 분리된 *H. pylori* 169균주에 대하여 erythromycin, tetracycline, amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, ciprofloxacin, omeprazole, josamycin 등의 약제에 대한 감수성 검사를 실시하여 각 약제에 대한 저항성 균의 출현빈도를 알아보고, 이들 약제 저항성 균주에 대하여 항생제를 두 가지 또는 세 가지로 병용하였을 때 각 균의 MIC의 차이를 비교함으로써 국내에서 항생물질에 저항성인 *H. pylori*의 효과적인 치료를 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 항생물질 감수성 검사 대상 *H. pylori* 균주

위암환자에서 분리 동정하여 -80℃에서 보존하였던 *H. pylori* 균주를 5% 말혈청이 첨가된 BHI blood agar에 접종하여 Anaeropack Campylo jar (Mitsubishi Gas Chem. Co., Japan)에 넣어 37℃에서 5~7일간 배양하여 집락이 형성된 169균주를 실험 대상으로 하였다^{3,38}. 대조균주로는 일본 교린대학 의학부 미생물학교실의 Kamiya 교수로부터 분양받은 *H. pylori* TK1023, TK1025, TK1029, KR2067, KR2008 등의 6균주를 사용하였다²⁴. 이들 균주는 5% fetal calf serum이 첨가된 BHI 액체 배지에 접종하여 3일간 배양하였다. 배양된 균액은 McFarland No. 0.5로 혼탁도를 조절한 후에 이를 액체배지로 100배 희석하여 접종 균액으로 사용하였다³⁸.

2. 사용된 항생물질

본 연구에 사용된 항생물질로는 metronidazole (MTZ, 한국통프랑로라, 한국), tetracycline (TC, Sigma, USA), ciprofloxacin (CPF, 제일제당, 한국), erythromycin (EM, 제일제당, 한국), clarithromycin (CAM, 한국셀시바-가이거, 한국), amoxicillin

Table 1. MICs of antimicrobial agents against 6 reference strains of *H. pylori* isolated from Japan by microdilution method

Antibiotics	Minimum inhibitory concentration (MIC: µg/ml)					
	KR1008	KR2067	TK1025	TK1028	TK1029	TK1054
Erythromycin	32	32	16	32	32	32
Metronidazole	4	4	4	2	2	8
Clarithromycin	2	2	0.5	1	1	1
Ciprofloxacin	1	2	1	0.5	0.5	0.5
Tetracycline	0.5	0.12	0.25	0.25	0.25	0.12
Amoxicillin	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Josamycin	0.06	0.12	0.12	0.25	0.06	0.06
Omeprazole	2	2	1	0.5	0.25	0.12

(AMPC, 삼진제약주, 한국), omeprazole (OMP, 한미제약, 한국), josamycin (JM, Yamanouchi, Japan) 등을 사용하였다.

3. 항생물질에 대한 감수성 검사

상기 항생물질들에 대한 *H. pylori*의 최저발육 저지농도 (MIC)를 알아보기 위하여, 각 항생물질의 농도가 256 µg/ml 되도록 phosphate buffered solution (PBS)에 녹인 후에, 5% fetal calf serum과 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (Sigma, USA)가 40 µg/ml 농도로 첨가된 BHI 액체배지에, 각 항생물질의 최고 농도가 64 µg/ml 되도록 첨가한 후 2배 계단희석법으로 0.06 µg/ml 농도까지 희석하였다²⁵⁾. 각 항생물질이 농도별로 함유된 배지 200 µl씩을 96 well plate에 두 계열씩 분주하였다. 준비된 각 균주의 배양균액 20 µl씩을 각 항생물질이 함유된 각 well에 접종하고, Anaeropack Campylo jar에서 4일과 7일간 배양한 후 균의 증식 유무는 배지의 색깔변화로 확인하였다. 즉, 균이 증식하면 무색의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride를 붉은색의 수용성 triphenylformazan으로 환원되므로, 배지의 색깔이 무색에서 적색으로 변하게 된다³³⁾. 따라서, 배지의 색깔이 적색으로 변하지 않는 각 항생물질의 최저희석배수를 MIC로 판정하였다. MIC에 의한 감수성과 저항성 균은 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS: 1998)¹⁵⁾의 판정기준과 Piccolomini 등²⁹⁾의 보고를 기준으로 판정하였다^{4,15)}. 즉, omeprazole은 MIC ≥ 32.0 µg/ml, amoxicillin은 MIC ≥ 16.0 µg/ml, metro-

nidazole과 clarithromycin은 각각 MIC ≥ 8.0 µg/ml, erythromycin과 ciprofloxacin은 각각 MIC ≥ 4.0 µg/ml, tetracycline과 josamycin은 각각 MIC ≥ 2.0 µg/ml일 때 저항성으로 판정하였다^{4,7,15,29)}.

4. 두가지 이상 약제의 병용 효과

상기 약제 중에서 AMPC+CAM, OMP+CAM, AMPC+CPF, JM+AMPC 등의 두가지 약제의 병용과 OMP+JM+CPF, AMPC+CAM+MTZ, AMPC+CAM+OMP, AMPC+CAM+JM 등의 3가지 약제의 병용에 대한 *H. pylori*의 MIC 변화를 관찰하였다.

결 과

1. 대조균인 일본 분리균주의 MIC

일본에서 분리된 *H. pylori* 균주의 erythromycin에 대한 MIC범위는 6균주 모두가 16~32 µg/ml로 저항성이었고, metronidazole에는 대한 MIC범위는 한 균주 (TK1054)가 8 µg/ml로 중등도의 저항성 균주이었으나, 5균주는 2~4 µg/ml로 감수성이었으며, clarithromycin과 ciprofloxacin에는 6균주 모두가 0.5~2 µg/ml로 감수성이었으며, tetracycline, amoxicillin, josamycin 등에는 6균주 모두의 MIC범위가 0.06~0.5 µg/ml로 감수성이었으며, omeprazole에는 6균주 모두가 0.12~2.0 µg/ml로 감수성이었다 (Table 1).

Table 2. MICs of six antibiotics against *Helicobacter pylori* isolates by microdilution method

Antimicrobial agent	Range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)
Clarithromycin (CAM)	0.06~64<	2.0	64.0<
Amoxicillin (AMPC)	0.06~64	1.0	64.0<
Metronidazole (MTZ)	0.06~64	4.0	32.0
Omeprazole (OMP)	0.12~64	8.0	16.0
Erythromycin (EM)	0.25~64	2.0	8.0
Josamycin (JM)	0.06~64	0.5	2.0
Tetracycline (TC)	0.06~64	0.5	1.0
Ciprofloxacin (CPF)	0.06~64	0.5	1.0

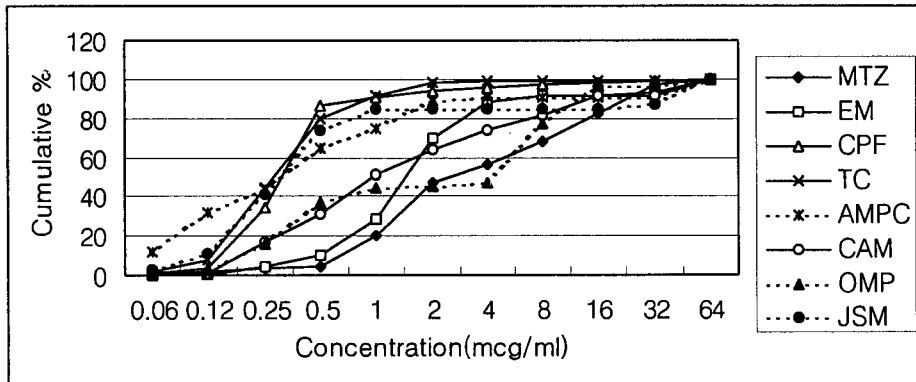


Figure 1. Cumulative percentages of MICs for single antibiotics against *H. pylori* isolates.

2. 환자에서 분리된 *H. pylori*의 항생물질에 대한 MIC

위암환자에서 분리된 *H. pylori* 169균주의 clarithromycin에 대한 MIC의 범위는 0.06~64.0 µg/ml이었으며, MIC₅₀은 2.0 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 64.0 µg/ml이었으며, amoxicillin에 대한 MIC의 범위는 0.06~64 µg/ml이었으며 MIC₅₀은 1.0 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 64.0 µg/ml이었다. Metronidazole에 대한 MIC의 범위는 0.06~64 µg/ml이었으며, MIC₅₀은 4.0 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 32.0 µg/ml이었다. Omeprazole에 대한 MIC범위는 0.12~64.0 µg/ml이었으며, MIC₅₀은 8.0 µg/ml, MIC₉₀은 16.0 µg/ml이었다. Erythromycin에 대한 MIC의 범위는 0.25~64 µg/ml이었으며, MIC₅₀은 2 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 8.0 µg/ml이었다. Josamycin에 대한 MIC범위는 0.06~64.0 µg/ml이었으며, MIC₅₀은

0.5 µg/ml, MIC₉₀은 2.0 µg/ml이었다. Tetracycline에 대한 MIC의 범위는 0.06~64 µg/ml이었으며, MIC₅₀은 0.5 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 1.0 µg/ml이었다. Ciprofloxacin에 대한 MIC의 범위는 0.06~64 µg/ml이었으며, MIC₅₀은 0.5 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 1.0 µg/ml이었다 (Table 2, Fig. 1).

3. 항생물질에 저항성인 *H. pylori*의 분리율

H. pylori 169균주 중 31.9%가 Metronidazole과 erythromycin에, 저항성 균주이었으며, clarithromycin에는 분리균의 23.1%가, josamycin에는 15.4%가, amoxicillin에는 11.2%가, ciprofloxacin에는 분리균의 6.5%가, omeprazole에는 3.5%가, tetracycline에는 분리균의 2.4%가 저항성 균주이었다 (Table 3, Fig. 1).

4. 다제 저항성 *H. pylori*의 분포

분리된 *H. pylori* 169균주 중 두가지 약제에 저항성인 균주는 30균주 (17.8%)이었으며, 이들 중에는 amoxicillin과 clarithromycin에 저항성인 균주가 14균주 (8.3%), metronidazole과 erythromycin에 저항성인 균주가 7균주 (4.1%), erythromycin과 ciprofloxacin 또는 metronidazole과 ciprofloxacin 또는 clarithromycin과 omeprazole에 저항성인 균주가 각각 2균주 (1.3%)이었다. 세 가지 약제에 저항성인 균주는 18균주 (10.7%)이었으며, 이들 중에는 metronidazole과 amoxicillin과 ciprofloxacin에 저항성인 균주가 10균주 (5.9%)이었으며, metronidazole과 erythromycin과 ciprofloxacin에 저항성인 균주가 4균주 (2.4%)이었으며, clarithromycin과 omeprazole과 josamycin에 저항성인 균주는 2균주 (1.3%)이었으며, clarithromycin과 amoxicillin과 josamycin에 저항성인 균주는 2균주 (1.3%)이었다. 네 가지 약제에 저항성인 균주는 6 (3.6%)로 metronidazole과 erythromycin과 ciprofloxacin과 tetracycline에 저항성인 균주와 clarithromycin과 metronidazole과 erythromycin과 josamycin에 저항성인 균주와 clarithromycin과 amoxicillin과 erythromycin과 josamycin에 저항성인 균주가 각각 2균주 (1.3%)이었다 (Table 4).

Table 3. Frequency of antibiotics resistant *Helicobacter pylori* isolates

Antibiotics	Resistant	
	Breakpoint of MIC (µg/ml)	Number (%)
Clarithromycin	≥8	58 (34.3)
Metronidazole	≥8	54 (31.9)
Amoxicillin	≥16	35 (20.7)
Erythromycin	≥4	21 (12.4)
Josamycin	≥2	17 (10.1)
Ciprofloxacin	≥4	6 (3.6)
Omeprazole	≥16	5 (3.0)
Tetracycline	≥2	4 (2.4)

ithromycin과 omeprazole에 저항성인 균주가 각각 2균주 (1.3%)이었다. 세 가지 약제에 저항성인 균주는 18균주 (10.7%)이었으며, 이들 중에는 metronidazole과 amoxicillin과 ciprofloxacin에 저항성인 균주가 10균주 (5.9%)이었으며, metronidazole과 erythromycin과 ciprofloxacin에 저항성인 균주가 4균주 (2.4%)이었으며, clarithromycin과 omeprazole과 josamycin에 저항성인 균주는 2균주 (1.3%)이었으며, clarithromycin과 amoxicillin과 josamycin에 저항성인 균주는 2균주 (1.3%)이었다. 네 가지 약제에 저항성인 균주는 6 (3.6%)로 metronidazole과 erythromycin과 ciprofloxacin과 tetracycline에 저항성인 균주와 clarithromycin과 metronidazole과 erythromycin과 josamycin에 저항성인 균주와 clarithromycin과 amoxicillin과 erythromycin과 josamycin에 저항성인 균주가 각각 2균주 (1.3%)이었다 (Table 4).

5. Clarithromycin에 저항성인 *H. pylori*에 대한 항생물질의 병용 효과

Clarithromycin에 저항성인 *H. pylori* 58균주 중 clarithromycin+omeprazole의 병용시 MIC₅₀은 1.0 µg/ml, MIC₉₀은 8 µg/ml이었으며, amoxicillin+clarithromycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 1.0 µg/ml이었으며, amoxicillin+josamycin의 병용

Table 4. Multiple drug resistance of *H. pylori* isolates

Multiple resistant	Antibiotics	No. (%) of resistant strains	Total No. (%)
2	AMPC, CAM	14 (8.3)	30 (18.1)
	MTZ, EM	7 (4.1)	
	CAM, JM	3 (1.8)	
	EM, CPF	2 (1.3)	
	MTZ, CPF	2 (1.3)	
	CAM, OMP	2 (1.3)	
3	MTZ, AMPC, CPF	10 (5.9)	18 (10.9)
	MTZ, EM, CPF	4 (2.4)	
	CAM, OMP, JM	2 (1.3)	
	CAM, AMPC, JM	2 (1.3)	
4	MTZ, EM, CPF, TC	2 (1.3)	6 (3.9)
	CAM, MZT, EM, JM	2 (1.3)	
	CAM, AMPC, EM, JM	2 (1.3)	

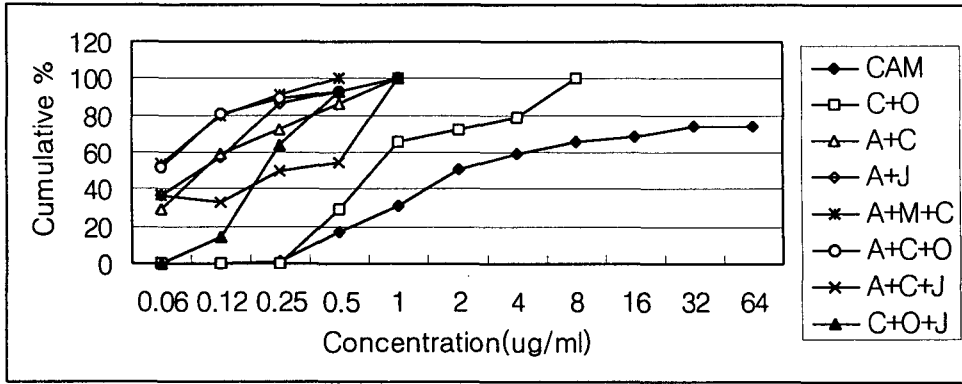


Figure 2. Cumulative percentages of MIC in combination of antibiotics against clarithromycin resistant *H. pylori* isolates.

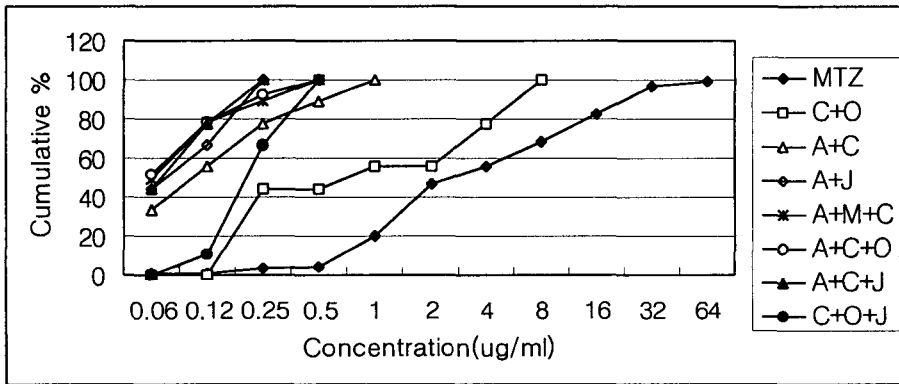


Figure 3. Cumulative percentages of MIC in combination of antibiotics against metronidazole resistant *H. pylori* isolates.

시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었다. 한편, AMPC+MTZ+CAM의 병용시 MIC₅₀은 0.06 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+OMP의 병용시 MIC₅₀은 0.06 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+JM 또는 CAM+OMP+JM의 병용시 MIC₅₀은 각각 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 각각 0.5 µg/ml이었다 (Fig. 2).

6. Metronidazole에 저항성인 *H. pylori*에 대한 항생물질의 병용 효과

Metronidazole에 저항성인 *H. pylori* 54균주에 대하여 clarithromycin+omeprazole의 병용시 MIC₅₀은 1.0 µg/ml, MIC₉₀은 8 µg/ml이었으며, amoxicillin+clarithromycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 1.0 µg/ml이었으며, amoxicillin+josamycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었

다. 한편, AMPC+MTZ+CAM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+OMP의 병용시 MIC₅₀은 0.06 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, CAM+OMP+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었다 (Fig. 3).

7. Amoxicillin에 저항성인 *H. pylori*에 대한 항생물질의 병용 효과

Amoxicillin에 저항성인 *H. pylori* 35균주에 대하여 clarithromycin+omeprazole의 병용시 MIC₅₀은 1.0 µg/ml, MIC₉₀은 16 µg/ml이었으며, amoxicillin+clarithromycin의 병용시 MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 1.0 µg/ml이었으며, amoxicillin+josamycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었

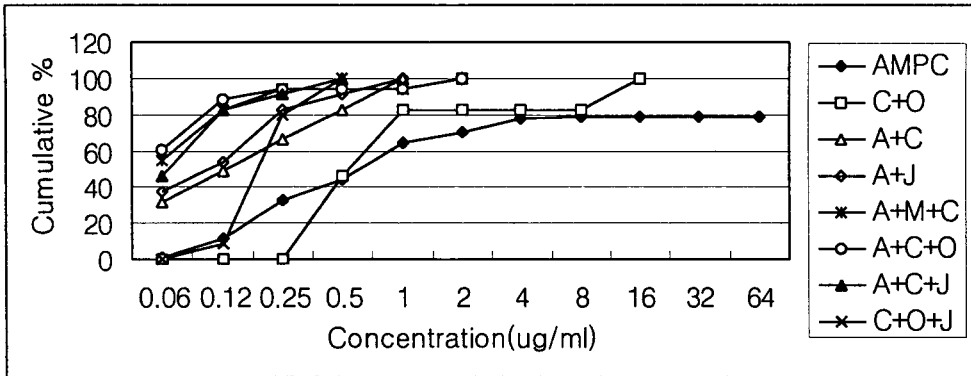


Figure 4. Cumulative percentages of MIC in combination of antibiotics against amoxicillin resistant *H. pylori* isolates.

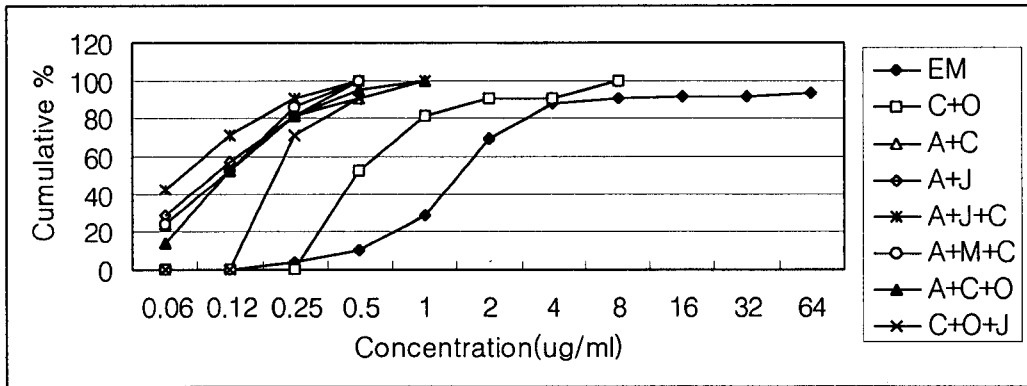


Figure 5. Cumulative percentages of MIC in combination of antibiotics against erythromycin resistant *H. pylori* isolates.

다. 한편, amoxicillin에 저항성인 균주에 대하여 AMPC+MTZ+CAM 및 AMPC+CAM+OMP의 병용시 MIC₅₀은 각각 0.06 µg/ml, MIC₉₀은 각각 0.25 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, CAM+OMP+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었다 (Fig. 4).

8. Erythromycin에 저항성인 *H. pylori*에 대한 항생물질의 병용 효과

Erythromycin에 저항성인 *H. pylori* 21균주에 대하여 clarithromycin+omeprazole의 병용시 MIC₅₀은 0.5 µg/ml, MIC₉₀은 2.0 µg/ml이었으며, amoxicillin+clarithromycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, amoxicillin+josamycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었

다. 한편, erythromycin에 저항성인 균주에 대하여 AMPC+MTZ+CAM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+OMP의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, CAMP+OMP+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었다 (Fig. 5).

9. Josamycin에 저항성인 *H. pylori*에 대한 항생물질의 병용 효과

Josamycin에 저항성인 *H. pylori* 21균주에 대하여 clarithromycin+omeprazole의 병용시 MIC₅₀은 8.0 µg/ml, MIC₉₀은 16.0 µg/ml이었으며, amoxicillin+clarithromycin의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, amoxicillin+josamycin의 병

Table 5. Susceptibility of *H. pylori* isolates to the combination type of antibiotics

Combination of antibiotics	Range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)
AMPC+CAM*	0.06~64.0	1.0	16.0
OMP+CAM	0.12~16.0	0.5	4.0
AMPC+CPF	0.03~1.0	0.12	0.5
JM+AMPC	0.03~2.0	0.12	0.25
OMP+JM+CPF	0.06~1.0	0.25	0.5
AMPC+CAM+MTZ	0.03~2.0	0.12	0.5
AMPC+CAM+OMP	0.03~2.0	0.12	0.5
AMPC+CPF+JM	0.03~0.5	0.12	0.25

*Abbreviation is as same as Tabel 2

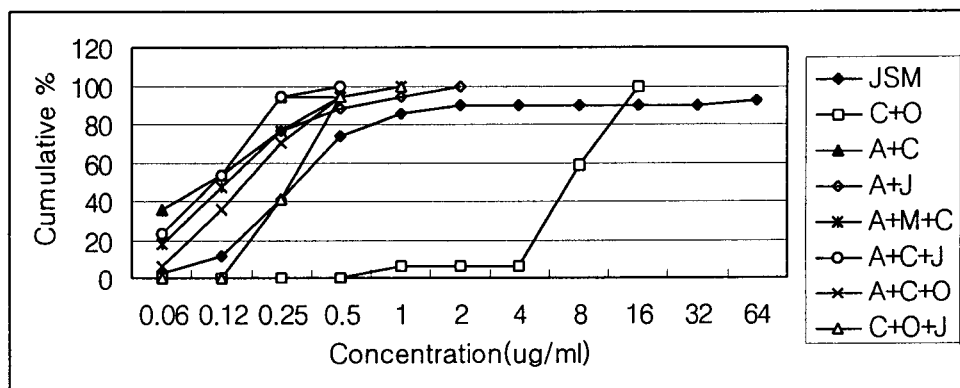


Figure 6. Cumulative percentages of MIC in combination of antibiotics against josamycin resistant *H. pylori* isolates.

용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 1.0 µg/ml이었다. 한편, josamycin에 저항성인 균주에 대하여 AMPC+MTZ+CAM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.125 µg/ml이었으며, MIC₉₀은 0.25 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+OMP의 병용시 MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, CAM+OMP+JM의 병용시 MIC₅₀은 0.5 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었다 (Fig. 6).

10. 두 가지 이상의 항생물질 병용시 MIC의 변화

Amoxicillin과 clarithromycin의 병용시 MIC범위는 0.06~64.0 µg/ml, MIC₅₀은 1.0 µg/ml, MIC₉₀은 16.0 µg/ml이었으며, omeprazole과 clarithromycin

을 병용한 경우에 MIC의 범위는 0.12~16.0 µg/ml, MIC₅₀은 0.5 µg/ml, MIC₉₀은 4.0 µg/ml이었으며, amoxicillin과 ciprofloxacin을 병용한 경우에는 MIC범위가 0.03~1.0 µg/ml, MIC₅₀은 0.12 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, josamycin과 amoxicillin을 병용한 경우에 MIC범위는 0.03~2.0 µg/ml, MIC₅₀은 0.12 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml로 이들 두 가지 약제들은 병용 효과가 있었다. AMPC+CAM+MTZ을 병용하였을 경우 MIC범위는 0.03~2.0 µg/ml, MIC₅₀은 0.12 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, OMP+JM+CPF을 병용한 경우에 MIC의 범위는 0.06~1.0 µg/ml, MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, AMPC+CAM+OMP을 병용한 경우에는 MIC범위가 0.03~2.0 µg/ml, MIC₅₀은 0.12 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며, AMPC+

CPF+JM을 병용한 경우에 MIC범위는 0.03~0.5 µg/ml, MIC₅₀은 0.12 µg/ml, MIC₉₀은 0.25 µg/ml로 이들 세가지 약제들은 병용 효과가 있었다 (Table 5).

고 찰

*H. pylori*의 항생물질에 대한 감수성 검사를 Vasquez 등³³⁾의 color indicator를 이용한 agar-mini-well (24 well) format법을 변형하여, color indicator는 그대로 이용하고 96 well microdilution법으로 하였다. Microdilution법과 M E-test로 10균주에서 감수성 검사를 실시하여 각각의 MIC를 비교한 예비실험에서 MIC의 범위가 두 방법에서 유사한 결과를 얻을 수 있었으므로 본 연구에서는 96 well microdilution법 만으로 실험을 하였다.

본 연구 결과에서 macrolide계 항생물질인 clarithromycin에 대하여는 분리된 균주의 34.3%가 저항성 균주이었으며, 이는 Piccolomini 등²⁹⁾은 71균주 중에서 6%의 균주가 clarithromycin에 저항성이었다는 보고 보다는 높았으나, Vasquez 등³³⁾의 clarithromycin에 저항성인 균주가 50%이었다는 보고 보다는 낮았다. 본 연구에서 대조균주로 사용한 일본에서 분리된 균주는 모두 clarithromycin에는 감수성이었다. 藤岡³⁸⁾은 clarithromycin에 저항성 균은 없다고 보고하였다. 그러나, 국내에서 이미 clarithromycin에 저항성인 *H. pylori* 균주가 분리되고 있다는 것은 중요한 문제이다.

*H. pylori*에 의한 감염증 환자의 치료에 일반적으로 많이 사용되는 약제가 metronidazole이지만, 최근에 외국에서 metronidazole에 저항성 균주의 분리율이 11~90%로 국가와 보고자에 따라 차이가 많다¹³⁾. 본 연구의 결과에서 분리된 *H. pylori*의 31.9%가 metronidazole에 저항성 균주였으며, 이는 이탈리아에서 Piccolomini 등²⁹⁾의 E test에서 32%와 유사하였으나, 미국에서 DeCross 등⁷⁾의 18.4%라는 보고나, Weel (네델란드) 등³⁵⁾의 24% 보다는 높았으며, Ching (홍콩) 등⁹⁾의 53.5%, Vasquez (미국) 등³³⁾은 61%, Banatvala 등⁵⁾은 방글라데시 90%, 기타 나라 67%, 영국에서는 여자 54%, 남자에서 37% 보다는 낮은 결과였다¹¹⁾. 대조균주로 사용한 일본에서 분리된 균주는 모두 metronidazole에 감수성이었다. 따라서, 국내의 일부 제한된 지역의 결과이기는 하지만 본 연구에서 분리되는 *H. pylori* 균주의 약 30% 정도가 치료제로 많이 사용되고 있는 metronidazole에 저항성이라는 점에 관심

을 가져야 할 것으로 생각된다.

본 연구 결과에서 분리된 균주의 20.7%가 amoxicillin에 저항성 균이었다. Fedorak 등¹⁴⁾과 Dore 등^{8~10)}도 amoxicillin에 내성인 *H. pylori*를 분리하였다고 보고하였으나, Piccolomini 등²⁹⁾과, Glupczynski 등¹⁷⁾과 藤岡³⁸⁾은 amoxicillin에 내성인 균주는 없었다고 보고하였으며, 대조균주로 사용한 일본에서 분리된 균주는 모두 amoxicillin에는 감수성이었다. Amoxicillin에 저항성인 *H. pylori*의 분리 보고는 국가에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

본 연구의 결과에서 외국에서는 소수 보고된 amoxicillin에 저항성인 균의 분리빈도가 국내에서는 20%로 높다는 것은 중요한 문제라고 생각된다.

본 연구 결과에서 erythromycin에 대한 저항성 균주는 12.4%이었으며, 이는 Piccolomini 등²⁹⁾은 71균주 중에서 8%의 균주가 erythromycin에 내성이었다는 보고 보다 높았으며, 본 연구에서 대조균주로 사용한 일본에서 분리된 균주는 모두 erythromycin에 내성 균주이었다. Erythromycin이 *H. pylori*의 치료에 주로 이용되지는 않지만 erythromycin에 내성인 균주가 12.4%이라는 점도 항생물질을 사용할 때 다른 질병의 치료시 erythromycin을 많이 이용함으로써 교차내성이 일어날 수 있는 가능성이 있으므로 간과할 수 없는 문제로 생각된다. *H. pylori*의 macrolide계 항생물질에 대한 감수성은 균주나 나라와 지역이나 인종에 따라 차이가 있는 것으로 보고되고 있다¹¹⁾.

본 연구 결과에서 josamycin에 저항성인 균주가 10.1%이었으나, 일본 분리균주는 모두 감수성이었다. Josamycin에 대한 감수성 검사 보고는 찾아보기 어려워 비교할 수 없었다.

본 연구 결과에서 ciprofloxacin에 대하여는 분리된 균주의 3.6%가 내성 균주이었으며, 이는 Piccolomini 등²⁹⁾은 71균주에서 ciprofloxacin에 내성인 균주는 없었다고 보고하였으며, 대조균주로 사용한 일본에서 분리된 균주는 모두 ciprofloxacin에 감수성인 점으로 보아, 국내에서 분리된 균주에는 이미 ciprofloxacin에 내성인 균주가 분리된다는 것은 중요한 문제라고 생각된다.

본 연구 결과에서 tetracycline에 대하여는 분리균의 2.4%가 내성 균주이었으며, 이는 Piccolomini 등²⁹⁾은 71균주에서 tetracycline에 내성인 균주가 6%이었다는 보고보다는 낮았으나, Vasquez 등³³⁾의

tetracycline에 내성인 균주는 없었다는 보고 보다는 높았다. 대조균주로 사용한 일본에서 분리된 균주는 모두 tetracycline에는 감수성이었다. 또한 분리균주 중에서 분리빈도는 높지 않으나 2가지, 3가지, 4가지의 항생제에 저항성인 균이 분리되었다는 것은 이들 균의 치료에 있어서 관과할 수 없는 문제라고 생각된다.

Clarithromycin에 저항성인 균주에 대한 항생물질의 병용 효과에서 CAM+OMP를 병용하였을 경우 MIC가 64.0 µg/ml에서 8.0 µg/ml로 감소하였으며, AMPC+CAM, AMPC+JM, AMPC+MTZ+CAM, AMPC+CAM+OMP, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등의 2, 3가지 항생제를 병용하면 모든 균주의 MIC를 1 µg/ml 이하로 낮출 수가 있었으며, AMPC+MTZ+CAM의 병합이 가장 효과적으로 MIC를 0.5 µg/ml 이하로 낮출 수 있었다.

Metronidazole에 저항성인 균주에 대한 항생물질의 병용 효과에서 CAM+OMP를 병용하였을 경우 MIC가 64.0 µg/ml에서 8.0 µg/ml로 감소하였으며, AMPC+CAM, AMPC+JM, AMPC+MTZ+CAM, AMPC+CAM+OMP, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등의 2, 3가지 항생제의 병용으로 모든 균주의 MIC를 1 µg/ml 이하로 낮출 수가 있었으며, AMPC+JM, AMPC+CAM+JM의 병합이 가장 효과적으로 MIC를 0.25 µg/ml로 낮출 수 있었다.

Amoxicillin에 저항성인 균주에 대한 항생물질의 병용 효과에서 CAM+OMP를 병용하였을 경우 MIC가 64.0 µg/ml에서 16.0 µg/ml로, AMPC+CAM+OMP의 병용시 MIC가 2.0 µg/ml로 감소하였으며, AMPC+CAM, AMPC+JM, AMPC+MTZ+CAM, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등의 2, 3가지 항생제의 병용으로 모든 균주의 MIC를 1 µg/ml 이하로 낮출 수가 있었으며, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM의 병용이 가장 효과적으로 MIC를 0.5 µg/ml 이하로 낮출 수 있었다.

Erythromycin에 저항성인 균주에 대한 항생물질의 병용 효과에서 CAM+OMP를 병용하였을 경우 MIC가 64.0 µg/ml에서 8.0 µg/ml로 감소하였으며, AMPC+CAM, AMPC+JM, AMPC+MTZ+CAM, AMPC+CAM+OMP, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등의 2, 3가지 항생제의 병용으로 모든 균주의 MIC를 1 µg/ml 이하로 낮출 수가 있었으며, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM의 병용이 가장 효과적으로 MIC를 0.5 µg/ml 이하로 낮출 수 있었다.

Josamycin에 저항성인 균주에 대한 항생물질의 병용 효과에서 CAM+OMP를 병용하였을 경우 MIC가 64.0 µg/ml에서 16.0 µg/ml로, AMPC+JM 병용시는 MIC가 2.0 µg/ml로 감소하였으며, AMPC+CAM, AMPC+MTZ+CAM, AMPC+CAM+OMP, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등의 2, 3가지 항생제의 병용으로 모든 균주의 MIC를 1 µg/ml 이하로 낮출 수가 있었으며, AMPC+CAM+JM의 병용이 가장 효과적으로 MIC를 0.5 µg/ml 이하로 낮출 수 있었다. 그러나 시험관내에서 병용 효과를 보고한 문헌은 찾아보기 어려워 비교할 수는 없었으나, Huang 등²⁹⁾은 CAM+MTZ+OMP, AMPC+CAM+OMP의 병용치료를 90% 이상의 환자를 치료할 수 있었다고 하였으며, Tytgat 등³²⁾은 clarithromycin 단독 투여로는 54%의 제균효과를 보였으나, 2, 3가지 항생물질의 병용으로 80~90% 이상의 제균효과를 볼 수 있었다고 보고하였다. Clarithromycin, amoxicillin, metronidazole 등에 저항성인 *H. pylori* 균주를 AMPC+CAM, AMPC+JM, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등을 병합하여 투여하면 MIC를 감수성의 범위로 낮출 수 있음을 관찰한 본 연구의 결과는 상기 연구자들의 결과를 실험적으로 증명한 결과라고 생각된다. 이와 같이 *H. pylori* 감염환자의 치료시에는 먼저 환자로부터 분리된 균에 대한 항생물질 감수성 검사를 실시하여, 저항성인 균주들에 대하여는 감수성인 2, 3가지 항생물질을 병용함으로써 효과적인 치료 가능할 것으로 생각된다.

결 론

위암환자의 생검 조직으로부터 *H. pylori*를 분리 동정하고, 분리된 169균주를 대상으로 6종류의 항생물질에 대한 감수성 검사를 microdilution 법으로 실시하고, clarithromycin, metronidazole, amoxicillin에 저항성인 균주에 대하여 두 가지 이상의 항생물질을 병용하였을 경우 MIC의 변화를 관찰하고, amoxicillin에 저항성인 균주의 특성을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

위암환자로부터 분리된 *H. pylori*에 대한 clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, omeprazole, erythromycin, josamycin, tetracycline, ciprofloxacin의 MIC₅₀은 각각 2.0, 1.0, 4.0, 8.0, 2.0, 0.5, 0.5, 0.5 µg/ml이었다. 분리된 *H. pylori*에 대한 clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, omeprazole, ery-

thromycin, josamycin, tetracycline, ciprofloxacin의 MIC₉₀은 각각 64.0, 64.0, 32.0, 16.0, 8.0, 2.0, 1.0, 1.0 µg/ml이었다. 분리된 균주의 각 항생물질에 대한 저항성 균주의 분포는 clarithromycin에 34.3%, metronidazole에 31.9%, amoxicillin에 20.7%, erythromycin에 12.4%, josamycin에 10.1% 순 이었다. 분리된 균주의 두 가지 항생물질에 저항성인 균주는 모두 18.1%, 세 가지 항생물질에 저항성인 균주는 모두 9.6%, 네 가지 항생물질에 저항성인 균주는 모두 3.9%이었다. Clarithromycin, metronidazole, amoxicillin에 저항성인 균주는 두 가지나 세 가지 항생물질을 병용하므로써 MIC₉₀를 1 µg/ml 이하로 낮출 수 있었다.

이상의 결과로써 위암환자에서 분리된 *H. pylori* 균주 중에는 clarithromycin, metronidazole, amoxicillin, erythromycin, josamycin 등에 저항성인 균주와 2~4가지의 항생물질에 저항성인 균주도 있었으나, 이들 항생제 저항성 균주들을 AMPC+CAM, AMPC+JM, AMPC+CAM+JM, CAM+OMP+JM 등의 2~3가지 항생제를 병용하면 MIC를 감수성 균주의 범위로 낮출 수 있음을 알 수 있었다. 그러나 *H. pylori*의 주된 치료제에 저항성 균주의 출현율이 높은 것에는 관심을 가져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 이광호, 조명제, 김종배, 최상경, 김영채: 위 내시경 생검체에서 분리한 *Helicobacter pylori*의 미생물학적 특성. 대한미생물학회지 **23**: 17-26, 1988.
- 2) 이광호: *Helicobacter pylori* 감염의 세균학적 특성. 대한의사협회지 **40**: 1154-1172, 1997.
- 3) 장명웅, 송갑영, 차형수: 인삼 추출물 등이 *Helicobacter pylori*의 vacuolating toxin 생성에 미치는 영향. 대한미생물학회지 **32**: 539-551, 1997.
- 4) 정운섭: *Helicobacter pylori*의 metronidazole 감수성 시험. 항생제 내성 소식 **6(2)**: 5-6, 1998.
- 5) Banatvala N, Davies GR, Abdi Y, et al: High prevalence of *Helicobacter pylori* metronidazole resistance in migrants to east London: relation with previous nitronidazole exposure and gastroduodenal disease. *Gut* **35**: 1562-1566, 1994.
- 6) Ching CK, Leung KP, Yung RWH, et al: Prevalence of metronidazole resistant *Helicobacter pylori* strains among Chinese peptic ulcer disease patients and normal controls in Hong Kong. *Gut* **38**: 675-678, 1996.
- 7) DeCross AJ, Marshall BJ, McCallum EW, et al: Metronidazole susceptibility testing for *Helicobacter pylori*: Comparison of disk, broth, and agar dilution methods and their clinical relevance. *J Clin Microbiol* **31**: 1971-1974, 1993.
- 8) Dore MP, Graham DY, Sepulveda AR, Real G, Osato MS: Sensitivity of amoxicillin-resistant *Helicobacter pylori* to other penicillins. *Antimicrob Agents Chemother* **43**: 1803-1804, 1999.
- 9) Dore MP, Piana A, Carta M, Atzei A, Are BM, et al: Amoxycillin resistance is one reason for failure of amoxycillin-omeprazole treatment of *H. pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* **12**: 635-639, 1998.
- 10) Dore MP, Osato MS, Realdi G, Mura I, et al: Amoxycillin tolerance in *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* **43**: 47-54, 1999.
- 11) Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ: *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* **10**: 720-741, 1997.
- 12) Edwards DI: Nitronidazole drugs- action and resistance mechanisms. 1. Mechanisms of resistance. *J Antimicrob Chemother* **31**: 201-210, 1993.
- 13) Erdem N, Ersoez G, Avdin A, et al: Does *Helicobacter pylori* infection have a role in primary Sjogren's syndrome. *Gut* **39**(Supp 3): A58, 1996.
- 14) Fedorak R, Archambault A, Flamm R, Osato M, Stampler D: Antimicrobial susceptibility of *H. pylori* in Canada to three key antibiotics: metronidazole, clarithromycin, and amoxycillin. *Gastroenterol* **112**: A115(Abtract), 1997.
- 15) Ferraro MJ, Craig WA, Eliopoulos G, et al: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighth informational supplement. *NCCLS* **18(1)**: 10-13, 1998.
- 16) Forman D, Newell DG, Fullerton F, et al: Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer, evidence from a prospective investigation. *BMJ* **302**: 1302-1305, 1991.
- 17) Glupczynski Y, Burette A, Koster E, et al: Metro-

- nidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Lancet* **335**: 976-977, 1990.
- 18) Goodwin CS, McCulloch RK, Armstron JA, Wee SH: Unusual cellual fatty acids and distinctive ultra-structure in a new spiral bacterium (*Camphylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *J Med Microbiol* **19**: 257-267, 1985.
- 19) Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ: *Camphylobacter pyloridis*, gastritis and peptic ulceration. *J Clin Pathol* **39**: 353-365, 1986.
- 20) Graham DY, Klein PD: *Camphylobacter pyloridis* gastritis. The past, the present and speculations about the future. *Am J Gastroenterol* **82**: 283-286, 1991.
- 21) Graham DY, Lew GM, Malaty HM, et al: Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. *Gastroenterol* **102**: 493-496, 1992.
- 22) Huang JQ, Hunt RH: Eradication of *Helicobacter pylori*. Problems and recommendations. *J Gastroenterol Hepatol* **12**: 590-598, 1997.
- 23) Jonkers D, van den Broek E, van Dooren I, Thijs C, et al: Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* **43**: 837-839, 1999.
- 24) Kamiya S, Taniguchi I, Yamamoto T, et al: Evaluation of rapid urease test for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *Eur J Epidemiol* **9**: 450-462, 1993.
- 25) Kamiya S, Kai M, Ozawa A, et al: Characteristics of vacuolating toxin produced by *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* **6**(Suppl. 1): 23-27, 1994.
- 26) Marshall BJ, Armstron JA, Fracis GJ, et al: Antimicrobial action of bismuth in relation to *Camphylobacter pyloridis* colonization and gastritis. *Digestion* **37**(Suppl 2): 16-30, 1987.
- 27) Nomura A, Stemmenman GN, Chyou PH, et al: *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* **325**: 1132-1136, 1991.
- 28) Parsonet J, Fiedman GD, Vandersteen DP, et al: *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastic carcinoma. *N Engl J Med* **325**: 1127-1131, 1991.
- 29) Piccolomini R, Bonaventura G, Catamo G, et al: Comparative evaluation of the E test, agar dilution, and broth microdilution of testing susceptibilities of *Helicobacter pylori* strains to 20 antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* **35**: 1842-1846, 1997.
- 30) Sjoestroem JE, Fryklund J, Huhler T, Larsson H: In vitro antibacterial activity of omeprazole and its selectivity for *Helicobacter spp.* are dependent on incubation conditions. *Antimicrob Agents Chemother* **40**: 621-626, 1996.
- 31) Tee W, Lambert JR, Dwyer B: Cytotoxin production by *Helicobacter pylori* from patients with upper gastrointestinal tract diseases. *L Clin Microbiol* **33**: 1203-1205, 1993.
- 32) Tytgat GNJ, Noach LA: *Helicobacter pylori* eradication. In Hunt RH, Tytgat GNJ. eds. *Helicobacter pylori*. Basic mechanism to clinical cure. Dordrecht: Kluwer Acad Publ. pp 550-569, 1994.
- 33) Vasquez A, Valdez Y, Gimán RH, et al: Metronidazole and clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* determined by measuring MICs of antimicrobial agents in color indicator egg yolk agar in a miniwell format. *J Clin Microbiol* **34**: 1232-1234, 1996.
- 34) Warren TR, Marshall B: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* **I**: 1273-1275, 1983.
- 35) Weel JFL, Hulst RWM, Gerrits Y, et al: Heterogeneity in susceptibility to metronidazole among *Helicobacter pylori* isolates from patients with gastritis or peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol* **34**: 2158-2162, 1996.
- 36) Wotherspoon AC: *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell lymphoma. *Lancet* **338**: 1175-1176, 1991.
- 37) 佐藤貴一, 龍本拓哉, 木平 健, 等: *Helicobacter pylori*의治療總論. *Helicobacter pylori*의最新知見. 日本消化器病學會編, 中山書店, 東京, pp265-273, 1995.
- 38) 藤岡利生: 各種藥劑의 *Helicobacter pylori*에對する抗菌活性. *Helicobacter pylori*感染症. 那須 藤, 藤岡利生, 中外醫學社, 東京, pp 184-190, 1995.