

沙眼衣原体对阿奇霉素耐药的研究进展^{*}

陈文韬^{1,2}, 郑碧英¹, 薛耀华² 综述, 郑和平^{2△} 审校

(1. 广东医科大学, 广东东莞 523808; 2. 广东省皮肤性病防治中心/广东省皮肤病医院, 广州 510091)

关键词: 沙眼衣原体; 阿奇霉素; 耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.18.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)18-2592-03

沙眼衣原体是一类严格专性细胞内寄生的原核微生物,具有特殊的生长周期,发病率每年以 10% 的速度递增,已经超过淋病、梅毒,在全球范围内成为性传播疾病的主要病原体。2010 年全球沙眼衣原体新感染病例数约 2.15 亿(约占总人口的 3%)^[1]。美国疾病预防控制中心估计,美国每年约有 280 万新发沙眼衣原体病例出现^[2]。沙眼衣原体广泛的传播与其常为无症状感染有关,无症状持续性感染常引起男性前列腺炎、附睾炎和不育症,女性盆腔炎、慢性输卵管炎,导致异位妊娠、不孕、早产和死胎等;还可传播给胎儿,引起新生儿结膜炎和肺炎以及并发症,如 Reiter 综合征等,故沙眼衣原体感染已成为危害公共健康的严重问题。阿奇霉素作为世界卫生组织、美国疾病预防控制中心以及我国推荐的首选药物,因其使用方便、疗效显著而被广泛接受,早期临床治疗有效率达到 97%^[3-4]。然而,近年来沙眼衣原体感染经规范化治疗后复发的报道越来越多,而临床治疗失败是感染复发的重要原因。临床治疗失败常与病原体耐药有关,本文针对沙眼衣原体对阿奇霉素耐药的研究进展做如下综述。

1 阿奇霉素治疗沙眼衣原体感染情况

阿奇霉素是大环内酯类抗菌药物,通过结合于病原体核糖体 50S 亚基,抑制肽链的延伸达到抑制蛋白合成的目的,进而影响生物被膜合成,高效、广泛的组织分布能力和长半衰期使得其成为治疗沙眼衣原体的有效药物。阿奇霉素单次口服治疗方案较多,西环素 7 d 的治疗因其简单、易接受而广泛使用。

沙眼衣原体感染临床表现复杂,迁延难愈。近年来临床阿奇霉素治疗沙眼衣原体感染复发的报道越来越多。英国报道,16~24 岁女性中每年复发感染率 29.9%,美国则达 34%^[5-6]。衣原体感染经规范治疗后的复发成为常见的问题,与此同时,阿奇霉素对沙眼衣原体感染的治疗有效率也有所下降。近期 meta 分析显示,阿奇霉素对沙眼衣原体的治疗有效率为 94.3%,相较于早期 97% 的治疗有效率已有所降低^[4,7]。而 Schwebke 等^[8]检测阿奇霉素治疗非淋菌性尿道炎发现,对沙眼衣原体有效清除率仅为 77.4%。

造成临床沙眼衣原体感染复发原因复杂,而临床治疗失败是感染复发的重要原因,这不仅导致进一步的传播,而且可能导致上行感染进而引起严重的并发症。临床上抗菌药物疗程不足、病原体载量过大可影响阿奇霉素对沙眼衣原体感染的治疗效果,但规范化治疗未能治愈沙眼衣原体感染,且阿奇霉素的治疗有效率降低提示沙眼衣原体对阿奇霉素出现耐药现象。

2 持续性感染与阿奇霉素耐药

早期研究发现,细菌耐药的可能机制为产生灭活抗菌药物

的酶、改变药物作用靶点、细胞膜通透屏障和抗菌药物主动外排等,但尚未有研究报道沙眼衣原体对阿奇霉素耐药存在以上机制。然而,有研究发现沙眼衣原体具有特殊的生长状态(持续性感染),该状态可在体外由外界刺激因素如 IFN- γ 、青霉素、热休克以及营养缺乏等诱导产生,使衣原体处于相对静止代谢状态,当外界刺激因素去除,衣原体将恢复正常的生长周期进行繁殖。衣原体进入宿主细胞内形成包涵体,正常成熟的包涵体常含有正常大小的始体以及大量即将释放的原体,而持续性感染下的包涵体形状不规则,内部由体积变大而电子密度低的始体所占据,原体少见或不见,即异形包涵体^[9-10]。在该状态下,沙眼衣原体更加耐受抗菌药物。持续性感染或为沙眼衣原体特殊的耐药机制。

沙眼衣原体持续性感染对阿奇霉素治疗效果影响重大。Wyrick 等^[11]用青霉素诱导沙眼衣原体持续性感染,分别加入阿奇霉素培养 24、48 和 72 h 仍旧不能清除沙眼衣原体。持续性感染下沙眼衣原体更加耐受阿奇霉素作用且对阿奇霉素敏感性降低。Zheng 等^[12]使用 McCoy 细胞对沙眼衣原体进行培养,采取不同时间点加入阿奇霉素的方式抑制沙眼衣原体生长,在感染细胞 8 h 后加入阿奇霉素抑制沙眼衣原体生长可发现其最小抑菌浓度(MIC)增加,越晚加入抗菌药物则 MIC 增加越多,而此时镜下可见异形包涵体。

有研究表明,持续性感染同样存在于体内感染,由阿莫西林诱导的衣原体持续性感染小鼠模型,这种含有异形包涵体的衣原体感染使阿奇霉素在小鼠治疗上出现了更高的失败率^[13]。临床实践中发现有部分患者原体的清除率并不令人满意,即使用敏感药物和多疗程治疗,也不能将衣原体完全清除,甚至仍有 4.81% 的病例呈长达 1 年顽固阳性^[14]。4 例妇女感染相同基因型的衣原体 2~5 年以上,期间复发 3~10 次;100 例女患者中有 11 例妇女经过 3 年的阿奇霉素正规治疗后,仍旧存在相同基因型的衣原体感染^[15-16]。阿奇霉素治疗后的患者尿道和宫颈处标本,经过电镜观察可出现典型的异形包涵体。这也提示持续性感染在临床上存在且影响阿奇霉素的治疗效果。临床上大约 10%~15% 的患者,在治疗期间出现再感染和持续性感染,故并非所有感染衣原体的患者都会出现持续性感染^[17]。这种持续性感染状态如何影响阿奇霉素治疗的机制目前仍不清楚。

3 基因突变与阿奇霉素耐药

有研究发现,23S rRNA 基因点突变可引起淋球菌、梅毒对大环内酯类抗菌药物耐药,在衣原体上同样有类似的突变。Misyurina 等^[18]进行 6 株临床耐药沙眼衣原体的药敏试验,其

^{*} 基金项目:广东省科技厅资助项目(2013B021800169);广东省医学科研基金项目(B2013050);广东省自然科学基金资助项目(2015A030313895)。

[△] 通讯作者, E-mail: zhphf@hotmail.com。

中有 4 株菌株对红霉素、交沙霉素和阿奇霉素均耐药,基因检测发现 23S rRNA 基因上 A2058C 和 T2611C 突变,为首次发现沙眼衣原体对大环内酯类抗菌药物耐药的 23S rRNA 基因突变位点。Zhu 等^[19]用亚抑菌浓度诱导了沙眼衣原体对红霉素、阿奇霉素和交沙霉素耐药,发现了在耐药株存在 A2057G、A2059G 和 T2611C 位点的突变,其中 A2057G 和 A2059G 在沙眼衣原体上首次发现。

沙眼衣原体耐药株不仅出现 23S rRNA 基因的改变,研究者也发现在核糖体蛋白 L4 基因以及 L22 基因上有改变。Binnet 等^[20]分离出了 1 株对阿奇霉素的敏感性有 8 倍降低的 L2 型沙眼衣原体,其核糖体 L4 蛋白 rplD 基因上的 1 个点突变使编码谷氨酰胺的密码子编码成赖氨酸。Misyurina 等^[18]在沙眼衣原体耐药株上发现 L22 核糖体蛋白基因上出现 3 个突变: Gly52(GGC)→Ser(AGC)、Arg65(CGT)→Cys(TGT)和 Val77(GTC)→Ala(GCC); Zhu 等^[19]在 L4 蛋白基因检测发现了 Pro109(CCG)→Leu(CTG)和 Pro151(CCG)→Ala(GCC)的 2 个突变,但均未能解释其在阿奇霉素耐药上的作用。

然而, Bhengraj 等^[21]用阿奇霉素和强力霉素敏感性降低的沙眼衣原体菌株感染 HeLa229 细胞,取其核酸对沙眼衣原体 23S rRNA、L4 和 L22 基因进行扩增测序,其结果与标准菌株进行比较并未发现有任何基因上的突变。Jiang 等^[22]对临床阿奇霉素耐药株进行分析,发现大部分耐药株出现了 23S rRNA 基因上的突变,而有部分耐药株无任何基因改变,这提示基因突变并不能完全解释沙眼衣原体对阿奇霉素的耐药现象。

4 小 结

沙眼衣原体的耐药现象引起学者广泛的关注,耐药基因突变以及持续性感染尚未能完全解释沙眼衣原体对阿奇霉素的耐药现象,由于沙眼衣原体生长周期的特殊性,其耐药机制尚未完全阐明。临床实践中药物选择的重要参考依据是体外抗菌药物敏感性测定,但由于沙眼衣原体作为严格的细胞内寄生菌,迄今国内外尚未建立 1 种标准化药敏试验方案用于方法学和药敏结果解释。有学者曾以 MIC 大于常规用药时的血药浓度和组织浓度作为判定衣原体对抗菌药物耐药的标^[23]。有研究发现,5 d 疗程的阿奇霉素治疗方案相对于疾病预防控制中心推荐的单次口服方案显得更为有效^[24]。针对持续或反复感染的非淋菌性尿道炎治疗,如果首次使用阿奇霉素治疗,那么随后的治疗推荐使用“多西环素每天 2 次,每次 100 mg”与“甲硝唑每天 2 次,每次 400~500 mg”联合用 1 周的方案^[25]。临床上对于沙眼衣原体感染的治疗,应依据药物敏感性进行足量、尽可能缩短疗程或联合几种抗菌药物等方式用药,应避免病原体长期处于抗菌药物压力而导致耐药,从而造成治疗失败。

体内研究以及耐药基因研究结果等均有助于更好地了解沙眼衣原体对阿奇霉素耐药的^[26]形成机制。随着对沙眼衣原体耐药机制的不断研究,必将有助于更有效的沙眼衣原体感染治疗。

参考文献

[1] Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al. Years lived with disability(YLDs) for 1 160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of disease study 2010 [J]. *Lancet*, 2012, 380 (9859):2163-2196.

[2] Centers for Disease Control and Prevention. STD Trends

in the United States 2010 National Data for Gonorrhea, Chlamydia, and Syphilis[J/CD]. Available online at: <http://www.cdc.gov/std/stats10/tables/trends-table.htm> (accessed November 1, 2015).

[3] Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010 [J]. *MMWR Recommendations and Reports*, 2010, 59 (No. RR-12):1-109.

[4] Lau CY, Qureshi AK. Azithromycin versus doxycycline for genital chlamydial infections: a meta-analysis of randomized clinical trials[J]. *Sex Transm Dis*, 2002, 29(9): 497-502.

[5] Scott Lamontagne D, Baster K, Emmett L, et al. Incidence and reinfection rates of genital chlamydial infection among women aged 16-24 years attending general practice, family planning and genitourinary medicine clinics in England: a prospective cohort study by the Chlamydia Recall Study Advisory Group[J]. *Sex Transm Infect*, 2007, 83(4):292-303.

[6] Batteiger BE, Tu W, Ofner S, et al. Repeated Chlamydia trachomatis genital infections in adolescent women[J]. *J Infect Dis*, 2010, 201(1):42-51.

[7] Kong FY, Tabrizi SN, Law M, et al. Azithromycin versus doxycycline for the treatment of genital chlamydia infection: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 59(2):193-205.

[8] Schwabke JR, Rompalo A, Taylor S, et al. Re-evaluating the treatment of nongonococcal urethritis: emphasizing emerging pathogens-a randomized clinical trial[J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52(2):163-170.

[9] Hammerschlag MR, Kohlhoff SA. Treatment of chlamydial infections[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2012, 13(4):545-552.

[10] Schoborg RV. Chlamydia persistence-a tool to dissect chlamydia-host interactions[J]. *Microbes Infect*, 2011, 13 (7):649-662.

[11] Wyrick PB, Knight ST. Pre-exposure of infected human endometrial epithelial cells to penicillin in vitro renders Chlamydia trachomatis refractory to azithromycin[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(1):79-85.

[12] Zheng H, Xue Y, Bai S, et al. Association of the in vitro susceptibility of clinical isolates of chlamydia trachomatis with serovar and duration of antibiotic exposure[J]. *Sex Transm Dis*, 2015, 42(3):115-119.

[13] Phillips-Campbell R, Kintner J, Schoborg RV. Induction of the Chlamydia muridarum stress/persistence response increases azithromycin treatment failure in a murine model of infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(3):1782-1784.

[14] 王生, 刘全忠. 沙眼衣原体持续感染的研究进展[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2015, 22(5):403-405.

[15] Dean D, Suchland RJ, Stamm WE. Evidence for long-term cervical persistence of Chlamydia trachomatis by omp1 genotyping[J]. *J Infect Dis*, 2000, 182(3):909-916.

[16] Smith A, Munoz B, Hsieh YH, et al. OmpA genotypic evi-

- dence for persistent ocular Chlamydia trachomatis infection in Tanzanian village women[J]. Ophthalmic Epidemiol, 2001, 8(2/3): 127-135.
- [17] Lee YS, Lee KS. Chlamydia and male lower urinary tract diseases[J]. Korean J Urol, 2013, 54(2): 73-77.
- [18] Misyurina OY, Chipitsyna EV, Finashutina YP, et al. Mutations in a 23S rRNA gene of Chlamydia trachomatis associated with resistance to macrolides[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(4): 1347-1349.
- [19] Zhu H, Wang HP, Jiang Y, et al. Mutations in 23S rRNA and ribosomal protein L4 account for resistance in Chlamydia trachomatis strains selected in vitro by macrolide passage[J]. Andrologia, 2010, 42(4): 274-280.
- [20] Binet R, Maurelli AT. Frequency of development and associated physiological cost of azithromycin resistance in Chlamydia psittaci 6BC and C. trachomatis L2[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(12): 4267-4275.
- [21] Bhengraj AR, Srivastava P, Mittal A. Lack of mutation in macrolide resistance genes in Chlamydia trachomatis clinical isolates with decreased susceptibility to azithromycin[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 38(2): 178-179.
- [22] Jiang Y, Zhu H, Yang LN, et al. Differences in 23S ribosomal RNA mutations between wild-type and mutant macrolide-resistant isolates[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(3): 1189-1193.
- [23] 杨丽娜, 江勇, 刘全忠. 泌尿生殖道沙眼衣原体对大环内酯类药物的体外药敏研究[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2010, 9(5): 298-299.
- [24] Unemo M, Endre KM, Moi H. Five-day Azithromycin treatment regimen for Mycoplasma genitalium infection also effectively eradicates chlamydia trachomatis[J]. Acta Derm Venereol, 2015, 95(6): 730-732.
- [25] Moi H, Blee K, Horner PJ. Management of non-gonococcal urethritis[J]. BMC Infect Dis, 2015, 15: 294.
- (收稿日期: 2016-02-19 修回日期: 2016-05-03)
- 综 述 •

2 型糖尿病不同发展阶段及筛查检验项目的探讨

牛新海, 高小煊 综述, 殷菁华 审校
(江苏省镇江市丹徒区人民医院检验科 212028)

关键词: 糖尿病; 高危人群; 胰岛素抵抗; 胰岛细胞受损
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.18.034 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2016)18-2594-02

糖尿病是常见病、多发病, 预计到 2025 年糖尿病患者将达 3.8 亿, 其中 90% 以上为 2 型糖尿病, 呈现流行态势。目前, 我国约有 3 200 万糖尿病患者, 患者总数为全世界第 2 位, 且有逐年增高趋势。报道显示, 糖尿病具有遗传易感性, 在环境因素的触发下发病。胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷是 2 型糖尿病的主要病理基础。2 型糖尿病患者由于胰岛素分泌不足或胰岛生物作用受损, 使得长期存在的高血糖, 浸润各种组织, 导致糖尿病一系列的并发症, 比较突出的如眼病、肾病、糖尿病足等。糖尿病实验室检查项目有多种, 其中常规项目有血糖、尿液分析、糖化血红蛋白(HbA1c)、胰岛素、C 肽等。

1 糖尿病的进展

1.1 前期阶段为糖尿病的“高危人群”阶段 高危人群是指具有高危行为的人群, 2 型糖尿病高危人群是指可能或即将发生 2 型糖尿病的危险人群^[1]。高危人群中 2 型糖尿病发病原因很多, 主要有遗传因素、精神因素、感染因素、妊娠因素、基因因素, 其中遗传因素和环境因素尤为重要。正常人群要警惕步入高危人群阶段, 要提前预防和筛查, 不干预每年 10% 转化为临床 2 型糖尿病, 即进入 2 型糖尿病早期阶段: 胰岛素抵抗时期^[2-4]。筛查项目参考范围: 年龄 ≥ 45 岁; 体质量指数 (BMI) ≥ 24 kg/m²; 血压 ≥ 140/90 mm Hg; 三酰甘油 (TG) > 2.2 mmol/L 或高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) < 0.93 mmol/L; 常年不参加体力活动 (如久坐人群); 糖尿病家族史 1 级亲属; 妊娠糖尿病或巨大胎儿生产史 (胎儿出生体质量 ≥ 4 kg); 长期使用特殊药物 (如糖皮质激素、利尿剂)。

1.2 胰岛素抵抗阶段 胰岛素抵抗是指胰岛素外周靶组织, 对内源性或外源性胰岛素的敏感性和反应性降低, 不能产生其相应生物学效应的一种病理状态。研究表明, 胰岛素的降血糖

作用, 是脂肪细胞接收信号, 分泌瘦素、脂联素等激素引起信号反应, 以此达到降低血糖^[5-6]。同时在一些刺激下, 脂肪细胞还可分泌抵抗素, 可以诱发和增强胰岛素抵抗, 降低胰岛素的敏感性。而肥胖者, 由于脂肪细胞变大, 单位面积上的胰岛素受体相对减少, 信号接受不充分, 细胞分泌瘦素、脂联素等激素相对减少, 因此, 细胞对胰岛素的敏感度下降, 则出现胰岛素抵抗^[7]。另有文献报道, 该时期胰岛 β 细胞体积减少, 胰岛 β 细胞分泌增加, 为保持血糖正常, 所以胰岛不得不分泌更多的胰岛素^[8]。此阶段虽血糖正常, 但血中胰岛素水平高, 由抵抗原因来看, 这类人群主要是高危人群转化而来, 尤其高危人群中的体质量超重者。研究表明, 中国人的胰岛素抵抗作用明显, 因此, 如果能够尽早检测胰岛素和 C 肽的释放试验, 及早发现胰岛素分泌量的变化, 配合医嘱, 控制饮食, 加强运动改善胰岛素抵抗, 以此控制胰岛素到正常水平, 或阻止进入下一阶段^[9]。由于 C 肽和胰岛素等的生成和释放, 且比胰岛素稳定, 检测时不受外源性干扰, 因此, C 肽近年被广泛应用于判断胰岛 β 细胞功能^[10]。筛查项目参考范围: 空腹血糖 < 6.1 mmol/L, 糖负荷后 2 h 血糖 (2 hPG) < 7.8 mmol/L, 空腹胰岛素 1.03 ~ 23.46 mU/L, 空腹 C 肽 0.30 ~ 3.73 μg/L。

1.3 胰岛细胞受损阶段 胰岛细胞受损阶段, 即糖调节受损阶段^[11]。分为空腹血糖受损、糖耐量受损及同时具有空腹血糖受损和糖耐量受损 3 种类型, 是正常糖代谢与糖尿病之间的一种异常糖代谢调节受损的阶段。检测主要通过血糖和糖耐量试验, 测定患者空腹血糖、餐后 2 h 血糖, 及给予 75 g 葡萄糖, 检测胰岛素或 C 肽释放。该时期主要由于早期没能很好控制, 胰岛素抵抗持续高水平, 胰岛细胞形态改变, 导致胰岛素的代偿分泌向失代偿改变, 逐渐分泌减少, 满足不了人体各种