

· 论 著 ·

北京地区儿童 A 组链球菌感染临床分离株的 emm 分型研究*

刘医萌, 杨 鹏, 吴双胜, 潘 阳, 卢桂兰, 张代涛, 石伟先, 王全意, 彭晓旻[△]

(北京市疾病预防控制中心/北京市预防医学研究中心, 北京 100013)

摘要:目的 了解 2015 年北京地区分离自呼吸道感染患儿的 A 组链球菌(GAS)emm 型别分布情况。方法 采集 2015 年 5 月至 7 月北京市 16 个区 16 家医院儿科门、急诊临床猩红热病例和咽部感染病例咽拭子标本分离的 GAS 菌株。应用 PCR 扩增联合基因测序技术,测定 emm 型别,并比较不同特征组间的 emm 基因型别差异。结果 从各区医院采集的咽拭子标本中分离 247 株 GAS 菌株。其中来自猩红热患儿 73 株(29.6%, 73/247),咽部感染患儿 174 株(70.4%, 174/247)。共检测到 6 种 emm 基因型, emm12 占 53.4%(132/247), emm1 占 44.1%(109/247), 其他型别(emm22、emm75、emm131、emm241)占 2.5%(6/247)。emm 型别的分布在不同年龄组间存在差异,且差异有统计学意义($P < 0.05$), emm1 在 6~12 岁年龄组中的构成比较高, emm12 在 1~5 岁组中构成比较高。emm 型别在地区、性别、疾病类型间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 2015 年北京地区儿童 A 组链球菌的 emm 基因型中,主要的流行型别为 emm12 和 emm1,其分布不同年龄组间存在差异。

关键词: A 组链球菌; emm 基因; 猩红热; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)24-3368-03

The emm genotype of group A streptococcus isolated from clinical infected children, Beijing*

LIU Yimeng, YANG Peng, WU Shuangsheng, PAN Yang, LU Guilan, ZHANG Daitao,

SHI Weixian, WANG Quanyi, PENG Xiaomin[△]

(Institute of Infectious Disease and Endemic Disease Control, Beijing Centers for Disease Control and Prevention,

The Preventive Medicine Research Center of Beijing, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To reveal the genetic distribution of group A streptococcus progeny(GAS) isolated from children with respiratory tract infection in Beijing in 2015. **Methods** The throat swabs were collected from children with clinical diagnosis of scarlet fever and pharyngeal infection during May to July, 2015. 16 pediatric outpatient departments or pediatric emergency department of hospitals located in 16 districts of Beijing were enrolled in this study. PCR amplification and gene sequencing were employed. The encoding mature M protein gene(emm) distribution in different condition was compared and analyzed. **Results** A total of 247 GAS were isolated, including 73(29.6%, 73/247) isolates from cases with scarlet fever and 174(70.4%, 174/247) isolates from cases with pharyngeal infection. Among all isolates, six genotypes of emm were identified, including emm12(53.4%, 132/247), emm1(44.1%, 109/247) and others(emm22, emm75, emm131 and emm241, 2.5%, 6/247). The significant difference of emm distribution with age was observed in this study; emm1 isolates were dominant in children aged 6-12, whereas emm12 isolates were dominant in children aged 1-5 ($P < 0.05$). While the emm distribution showed no significant difference in groups with different location, gender, and disease pattern ($P > 0.05$). **Conclusion** Emm1 and emm12 were the circulating genotype of GAS in Beijing children, 2015. Moreover, the difference of distribution between emm1 and emm12 was proved in this study.

Key words: group A streptococcus; the emm gene; scarlet fever; children

A 组链球菌(GAS)是引起儿童感染性疾病的重要病原体,又称为酿脓链球菌。GAS 致病谱广泛,可导致儿童感染性疾病,且疾病负担较为严重^[1-2]。M 蛋白基因(emm)是 GAS 的主要毒力因子,虽然 3 端保守,但 5 端高度变异,具有较高的特异性,致使不同型别的 GAS 致病性不同^[3]。所以,了解 GAS 的基因型别对于其流行病学的研究具有重要意义。为了解 2015 年北京市儿童 GAS 菌株 emm 型别及分布特点,本研究对北京市 16 个区县 16 家医院儿科门、急诊患儿分离出的 GAS 菌株进行 emm 分型研究,为及时调整控制策略提供实验室依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 采集 2015 年 5 至 7 月北京市 16 个区 16 家医院儿科门、急诊临床猩红热和咽部感染患儿 2345 份咽拭子分离 GAS 菌株。年龄范围 1~12 岁,平均年龄是(6.11 ± 1.92)岁,以 1~5 岁为学龄前儿童,6~12 岁为学龄儿童。患儿一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 细菌分离培养及鉴定 采集患儿的口腔咽拭子标本,并将其接种到哥伦比亚血平板上(英国 Oxoid 公司产品),然后于 37 °C,体积分数为 5%的 CO₂ 恒温培养箱中孵育 24 h,挑取

* 基金项目:北京市科技新星计划(2011047);北京市卫生系统高层次卫生技术人才项目(2013-3-098)。

作者简介:刘医萌,女,主管技师,主要从事微生物检验方向研究。△ 通信作者, E-mail: xminp@tom.com。

带有透明溶血环的可疑菌落进行分纯,进行革兰染色,利用 VETEK-2 全自动微生物分析系统及 GP 生化卡(法国生物梅里埃公司)进行生化鉴定,利用链球菌 A-F 分群诊断试剂(英国 Oxoid 公司)鉴定为 GAS。

1.2.2 emm 型别检测 采用上海之江生物科技有限公司提供的细菌 DNA 提取试剂,提取 GAS 的 DNA。具体方法:用一次性细菌接种环刮取菌落,混悬于 100 μ L 提取液中,沸水浴 10 min,置于离心机中转速 13 400 r/min,离心 5 min,取上清液用于 PCR 扩增;PCR 扩增产物纯化后进行测序,将得到的测序结果与美国 CDC 数据库进行比对,判断 emm 基因型别。

1.3 统计学分析 采用 Epidata 3.1 软件建立数据库,SPSS20.0 软件进行统计分析。计数资料采用百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 分离出 GAS 菌株 247 株,分离阳性率为 10.5%(247/2345)。来自猩红热患儿 73 株(29.6%,73/247),来自咽部感染患儿 174 株(70.4%,174/247);其中来自学龄前儿童 94 株(38.1%,94/247),来自学龄儿童 153 株(61.9%,153/247);男性患儿 155 株(62.8%,155/247),女性患儿 92 株(37.2%,92/247);城区患儿 120 株(48.6%,120/247),郊区患儿 127 株(51.4%,127/247)。

2.2 emm 基因型别及分布情况 本研究共检测出 6 种 emm 基因型和 16 种 emm 基因亚型。6 种基因型为 emm1、emm12、emm22、emm75、emm131、emm241。其中 emm12 型别 132 株,占 53.4%(132/247),emm1 型别 109 株,占 44.1%(109/247),其他 emm 型别 6 株,占 2.4%(6/247)。emm 基因型别及分布

情况见表 1。

2.3 emm 基因型在不同患儿组间差异 emm 基因型分布在不同病例类型、性别、地区间差异无统计学意义($P > 0.05$)。但 emm 基因型在不同年龄间,emm1 在 6-12 岁(学龄儿童)年龄组中的构成比较高,emm12 在 1~5 岁(学龄前儿童)年龄组中构成比较高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 1 247 株 A 组链球菌的 emm 型别及分布

型别	n(株)	emm 亚型	株数(n)	构成比(%)
emm1	109	emm1.00	95	38.5
		emm1.10	1	0.4
		emm1.25	8	3.3
		emm1.33	2	0.8
		emm1.41	3	1.2
emm12	132	emm12.00	98	39.7
		emm12.15	1	0.4
		emm12.18	1	0.4
		emm12.19	18	7.3
		emm12.30	1	0.4
		emm12.37	9	3.6
		emm12.70	4	1.6
		emm22	3	emm22.90
emm75	1	emm75.00	1	0.4
emm131	1	emm131.00	1	0.4
emm241	1	emm241.00	1	0.4

表 2 不同患儿组 GAS 菌株 emm 型别分布情况[n(%)]

基因型	性别		年龄		地区		患儿类别	
	男	女	1~5 岁	6~12 岁	城区	郊区	猩红热	咽部感染
emm1	66(42.6)	43(46.7)	31(33.0)	78(51.0)	54(45.0)	55(43.3)	31(42.5)	78(44.8)
emm12	86(55.5)	46(50.0)	61(64.9)	71(46.6)	61(50.8)	71(55.9)	42(57.5)	90(51.7)
其他	3(1.9)	3(3.3)	2(2.1)	4(2.6)	5(4.2)	1(0.8)	0(0.0)	6(3.4)
χ^2	0.956		8.154		3.481		4.590	
P	0.620		0.017		0.176		0.101	

3 讨论

本研究显示,2015 年儿童 GAS 优势菌株型别以 emm1 和 emm12 为主。与 2011-2014 年的监测结果及国内大部分地区的研究结果一致^[4-6]。有研究发现,当猩红热高流行年份或病例增多时,一种 emm 基因型别占主导地位,出现低流行年份或低病例水平时,emm 优势型别构成比趋于基本平衡^[7]。台湾的一项研究也表明,emm 的主导型别变化与猩红热流行变化趋势有关^[8]。本研究结果与上述研究相似,2015 年北京市 GAS 菌株 emm1 和 emm12 型别构成比较接近,本年度 GAS 感染病例数量特别是猩红热患儿数量未见高发。

不同年龄段儿童中,感染 GAS 的 emm 基因型别也有所不同。其中,学龄前儿童 emm12 的构成比高于学龄儿童,而学龄前儿童 emm1 的构成比低于学龄儿童。有研究表明,emm12

的分布情况随年龄的增加呈现下降趋势^[9],说明低龄儿童更容易基因感染型别为 emm12 的 GAS 菌株,本研究结果与上述研究相同。本研究发现,015 年北京城区和郊区的 GAS 患儿构成比水平较为平衡,这不同于以往相关研究中报告的城区和郊区的 GAS 构成比存在统计学差异^[10]。既往报道猩红热发病具有周期性,与气象因素等相关,在某个时间段可能出现病例异常增多的现象,要了解北京市城、郊区 GAS 的 emm 型别构成比还能否持续保持平衡,有待继续监测研究^[11]。

H7N9 人感染禽流感、手足口病^[12-13]等其他传染病可引起重症和死亡病例,引起全社会的关注。与之相比,由 GAS 引的猩红热和咽部感染的相关疾病多发于儿童,常在儿童聚集的场所(托幼机构、学校)流行,一般症状较轻,未受到应有的关注。在我国,关于 GAS 侵袭性感染研究较少,进一步加强这方面的

研究刻不容缓。由于 M 蛋白可刺激机体产生保护性抗体,因此成为研究最多的疫苗候选抗原。有研究表明,美国研制的 26 价多肽疫苗在控制 GAS 中发挥了作用,它覆盖了 80%~90% 的北美流行株^[14]。2015 北京市检出的绝大部分 GAS 菌株通过 emm 分型,其中 emm1、emm12、emm22、emm75 都包含在 26 价多肽疫苗中。接种疫苗是预防传染病流行的重要措施,了解本地区 GAS 菌株 emm 基因型分布,有助于 GAS 疫苗的研究和开发^[15]。

综上所述,北京地区 2015 年儿童 A 组链球菌的优势菌型以 emm12 和 emm1 为主。开展 GAS 菌株长期监测,了解本地 emm 基因型别及分布情况,及时调整防控措施和 GAS 的深入研究具有重要意义。

参考文献

- [1] Nayiga I, Okello E, Lwabi P, et al. Prevalence of group A streptococcus pharyngeal carriage and clinical manifestations in school children aged 5–15 yrs in Wakiso District, Uganda[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1):248.
- [2] 卢桂兰, 张代涛, 赵佳琛, 等. 2014 年北京市儿童 A 组链球菌感染分离株超抗原基因谱分析[J]. 中华预防医学杂志, 2015, 49(11):990-994.
- [3] Yang P, Peng XM, Zhang DT, et al. Characteristics of group A Streptococcus strains circulating during scarlet fever epidemic, Beijing, China, 2001 [J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(6):909-915.
- [4] 秦颖, 冯录召, 余宏杰, 等. 2015 年春季夏季全国猩红热疫情流行病学特征分析[J]. 疾病监测, 2015, 30(12):1002-1007.
- [5] 肖海军, 殷晓晴, 张慧莲, 等. 深圳地区儿童 A 群致病性链球菌感染流行现状及 M 蛋白基因分型分析[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6):51-54.
- [6] 彭晓旻, 杨鹏, 吴双胜, 等. 北京地区 2011–2014 年致儿童猩红热 A 组链球菌 emm 基因型别变化特征分析[J].

中华流行病学杂志, 2015, 36(12):1397-1400.

- [7] 王玲, 张玲, 王涛, 等. 淄博市 1956–2014 年猩红热发病趋势和流行特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2016, 20(4):349-352.
- [8] Chuang PK, Wang SM, Lin HC, et al. The trend of macrolide resistance and emm types of group A streptococci from children at a medical center in southern Taiwan[J]. J Microbiol Immunol Infect. 2015, 48(2):160-167.
- [9] 吴双胜, 彭晓旻, 马春娜, 等. 2012 年北京市猩红热病例流行病学和 emm 基因特征[J]. 中华传染病杂志, 2014, 32(6):368-371.
- [10] 李静, 刘爽, 彭晓旻, 等. 2011 年北京市儿童携带 A 组链球菌的 M 蛋白基因分型研究[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(12):1107-1111.
- [11] 王炳翔, 朋文佳, 闫军伟, 等. 猩红热的发病率与气象因素的负二项回归分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2014, 18(2):166-168.
- [12] 邓瑛, 庞星火, 王全意, 等. 人感染 H7N9 禽流感疫情形势与应对策略[J]. 国际病毒学杂志, 2013, 20(4):145-147.
- [13] 霍达, 钱海坤, 李洁, 等. 北京市 2014 年手足口病流行病学特征分析[J]. 国际病毒学杂志, 2016, 23(1):13-16.
- [14] Kuo CF, Tsao N, Hsieh IC, et al. Immunization with a streptococcal multiple-epitope recombinant protein protects mice against invasive group A streptococcal infection[J]. PLoS One, 2017, 12(3):e0174464.
- [15] Otlu BI, Karakurt C, Bauindu Y, et al. Carriage of Streptococcus pyogenes in primary schoolchildren: M-protein types, pyrogenic toxin genes, and investigation of the clonal relationships between the isolates[J]. Mikrobiyol Bul, 2015, 49(3):301-313.

(收稿日期:2017-05-21 修回日期:2017-08-10)

(上接第 3367 页)

- al. Helicobacter pylori in human oral cavity and stomach [J]. Eur J Oral Sci, 2008, 116(56):297-304.
- [13] Miftahussurur M, Yamaoka Y. Diagnostic methods of helicobacter pylori infection for epidemiological studies: critical importance of indirect test validation [J]. Biomed Res Int, 2016, 2016(24):1-14.
- [14] Pourshahidi S, Fakhri F, Ebrahimi H, et al. Lack of association between helicobacter pylori infection and oral lichen planus[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(5):1745-1747.
- [15] Yee J K. Helicobacter pylori colonization of the oral cavity: A milestone discovery [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(2):641-648.
- [16] Jonkers D, Stobberingh E, De Bruine A, et al. Evaluation of immunohistochemistry for the detection of Helicobacter pylori in gastric mucosal biopsies[J]. J Infect, 1997, 35

(2):149-154.

- [17] Adler I, Mui O A, Aguas S, et al. Helicobacter pylori and oral pathology: Relationship with the gastric infection[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(29):9922-9935.
- [18] Attia E, Abdel Fattah NS, Abdella HM. Upper gastrointestinal findings and detection of Helicobacter pylori in patients with oral lichen planus[J]. Clin Exp Dermatol, 2010, 35(4):355-360.
- [19] Azzi L, Carinci F, Gabaglio S, et al. Helicobacter pylori in periodontal pockets and saliva: a possible role in gastric infection relapses [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2017, 31(1):257-262.
- [20] Zheng Y S, Liu M Y, Shu H, et al. Relationship between oral problems and Helicobacter pylori, infection[J]. Arch Oral Biol, 2014, 59(9):938-943.

(收稿日期:2017-05-19 修回日期:2017-08-08)