

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

彭晓旻 杨鹏 吴双胜 卢桂兰 石伟先 赵佳琛 崔淑娟
张代涛 潘阳 郭靖 王全意

【摘要】 目的 了解北京地区致儿童猩红热A组链球菌(GAS)*emm*基因型别分布,并探讨其型别变化与猩红热病例的关系。**方法** 收集2011—2014年5—7月北京市36家医院临床诊断为猩红热病例咽拭子GAS分离菌株,采用PCR联合测序方法对分离菌株进行*emm*分型,选取中国疾病监测信息报告管理系统中北京市猩红热病例报告数据进行分析。**结果** 共采集咽拭子标本2 161份,分离GAS菌株762株,阳性率为35.3%(762/2 161)。检测到7个*emm*型别,其中*emm*12型占69.4%(529/762),*emm*1型占29.8%(227/762),其他5种*emm*型别(11、22、75、89、128)占0.8%(6/762)。分析各年份*emm*型别构成比:2011年*emm*12型82.2%(295/359),*emm*1型16.7%(60/359),其他型(11、22、89)1.1%(4/359);2012年*emm*12型77.3%(123/163),*emm*1型23.9%(39/163),*emm*75型0.6%(1/163);2013年*emm*12型50.7%(38/75),*emm*1型49.3%(37/75);2014年*emm*12型44.2%(73/165),*emm*1型55.2%(91/165),*emm*128型0.6%(1/165)。不同年份*emm*型别构成比变化的差异有统计学意义($P<0.001$)。2011、2012年*emm*12为主导菌型,2014年主导型别转换为*emm*1型。2011—2014年报告猩红热病例分别为6 152、2 908、2 048和3 918例,以2011年报告例数最多,2014年比2013年报告病例数增加91.31%。2011年GAS分离株*emm*型别存在年龄差异,其中1~5岁组分离的*emm*12型高于>5岁组($P<0.05$)。2011、2013年分离GAS菌株存在地区差异,2011年*emm*1型分离株为城区高于郊区($P<0.05$),2013年*emm*1型为郊区高于城区($P<0.05$)。**结论** 2011—2014年北京地区GAS菌株优势菌型为*emm*12和*emm*1型;不同年份*emm*12、*emm*1变换成为主导菌型;*emm*主导菌型变化与猩红热病例变化趋势有关。

【关键词】 猩红热; A组链球菌; *emm*基因; 儿童

***emm* types of mutation in scarlet-fever-related group A streptococcal, among children in Beijing, 2011–2014** Peng Xiaomin, Yang Peng, Wu Shuangsheng, Lu Guilan, Shi Weixian, Zhao Jiachen, Cui Shujuan, Zhang Daitao, Pan Yang, Guo Jing, Wang Quanyi. Institute for Infectious Disease and Endemic Disease Control, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China

Corresponding author: Wang Quanyi, Email:bjcdexm@126.com

This work was supported by grants from the Science and Technology New Star Plan of Beijing (No. 2011047) and the Beijing Health System High Level Health Technology Talent Cultivation Plan (No. 2013–3–098).

【Abstract】 Objective To understand the distribution of *emm* gene types related to group A streptococcus-caused scarlet fever among children in Beijing and to analyze the relationship between the mutation of the *emm* types and scarlet fever. **Methods** Nasopharyngeal swab samples were collected from the scarlet fever cases diagnosed in 36 hospitals in Beijing to isolate the GAS strains from May to July, between 2011 and 2014. Genotyping of *emm* gene was performed with PCR and N-terminal gene fragments of M protein were sequenced. Data of all the scarlet fever cases in Beijing that reported through the National Notifiable Infectious Disease Surveillance System (NNIDSS), were gathered and analyzed. **Results** Among the collected 2 161 nasopharyngeal swabs, 762 GAS strains were identified (35.3%). In addition, 7 *emm* types were detected, in which *emm*12 accounted for 69.4%(529/762), *emm*1 accounted for 29.8% (227/762), and other five types (*emm* 11, 22, 75, 89, and 128) accounted for 0.8% (6/762), respectively. Compared with the *emm* types detected between 2011 and 2014, *emm*12, *emm*1 and other types accounted for 82.2% (295/359), 16.7% (60/359) and

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.12.018

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)

作者单位:100013北京市疾病预防控制中心传染病地方病控制所

通信作者:王全意, Email:bjcdexm@126.com

1.1% (4/359, including *emm11*, 22 and 89) in 2011 respectively. *emm12*, *emm1* and *emm75* accounted for 77.3% (123/163), 23.9% (39/163) and 0.6% (1/163) respectively in 2012. *emm12* and *emm1* accounted for 50.7% (38/75) and 49.3% (37/75) in 2013 while *emm12*, *emm1* and *emm128* accounted for 44.2% (73/165), 55.2% (91/165) and 0.6% (1/165) respectively in 2014. The differences of the constitution of *emm* types from 2011 to 2014 appeared statistically significant ($P < 0.001$). In 2011 and 2012, major type appeared as *emm12*, but in 2014, *emm1* became predominant. A total of 6 152 cases were reported in 2011, while 2 908, 2 048 and 3 918 cases were reported in 2012, 2013 and 2014 respectively. Age specific differences were noticed in the distribution of *emm* types GAS strains in 2011, with the number of *emm12* strains detected higher in 1-5 year olds than in age group >5 years ($P < 0.05$). There were area specific differences in distribution of *emm* types of GAS strains seen in 2011 and 2013. In 2011, the number of *emm1* strains detected in urban area was higher than in suburb area ($P < 0.05$). However, in 2013, the number of *emm1* strains detected in suburb area was seen higher than in urban area ($P < 0.05$). **Conclusion** GAS with *emm12* and GAS *emm1* appeared interchangeably predominant in Beijing from 2011 to 2014. Changes in predominant *emm* types seemed also related to the trends of incidence rates on scarlet fever.

【Key words】 Scarlet fever; Group A streptococcus; *emm* gene; Child

猩红热是由A组链球菌(GAS)引起的急性呼吸道传染病,为我国法定报告乙类传染病。2011年4月香港地区出现猩红热暴发,其中2例儿童因中毒休克综合征死亡^[1],同年在北京、上海等地也出现病例大幅增加和猩红热暴发^[2-3]。M蛋白是GAS的主要毒力因子,决定GAS型特异性。编码M蛋白的*emm*基因(encoding mature M protein gene)具有5'端可变、3'端保守的特点,经PCR扩增及测序获*emm*基因的5'端可变区序列,通过与相关数据库比对,可确定*emm*型及亚型,以了解当地GAS的*emm*型别分布和流行趋势及其调整应对的控制策略。为此本研究分析2011—2014年北京地区致猩红热GAS菌株*emm*型别分布及变化特点。

资料与方法

1. 菌株和病例来源:自2011年起于北京市每年猩红热高发的5—7月在全市范围内开展病原学监测。16个区/县每个至少选取2家报告猩红热病例较多的医院作为监测哨点,共计36家医院,采集儿科门/急诊临床诊断为猩红热病例(按中华人民共和国卫生行业标准WS 282-2008)咽拭子标本。病例监测数据选取中国疾病预防控制中心《疾病监测信息报告管理系统》中北京市2011—2014年1—12月的猩红热病例报告数据。

2. 菌株分离鉴定:将咽拭子标本接种哥伦比亚血琼脂平板,划线分离,37℃ 5% CO₂孵箱中培养过夜,挑取具有β溶血可疑菌分纯后进行革兰染色, VETEK-2仪器及GP生化卡生化鉴定为酿脓链球菌,A~F血清分群试剂鉴定为A群。

3. *emm*分型:分离的GAS菌株按照美国疾病预防控制中心网站(<http://www.cdc.gov/streplab/protocol-emmm-type.html>)方法,提取待测菌DNA后经通用引

物PCR扩增,扩增产物测序,测序序列通过与网站数据库比对实现GAS的*emm*分型。通用引物序列:上游引物1:5'-TATT(C/G)GCTTAGAAAATTAA-3',下游引物:5'-GCAAGTCTCTCAGCTTGTTT-3'。反应体系为50 μl,包括水37 μl,缓冲液5 μl,dNTP 1.5 μl,引物1、2各0.5 μl,Taq酶0.5 μl,5 μl DNA模板。PCR反应条件:95℃预变性5 min,95℃变性20 s,50℃退火45 s,72℃延伸90 s,30个循环;72℃延伸5 min。PCR产物纯化及测序委托上海英潍捷基生物技术有限公司完成。

4. 统计学分析:数据分析采用SPSS 16.0软件,Excel 2007软件绘制图表。显著性分析采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 一般特征:2011—2014年北京市报告猩红热病例数分别为6 152、2 908、2 048和3 918例,最高为2011年,其次为2014年,2013年最低。2014年病例数较2013年增加91.31%,高于2007—2010年(非流行年份)平均水平,低于病例大幅增加的2011年。36家医院共采集疑似猩红热咽拭子样本2 161份,分离GAS菌株762株,阳性率为35.3%(762/2 161),2011—2014年分别为359、163、75和165株(表1)。

2. *emm*基因型别及分布:762株GAS共分为7个(1、11、12、22、75、89和128)*emm*基因型别。其中99.2%(756/762)为*emm1*(227株)和*emm12*(529株),其他*emm*基因型别占0.8%(6/762),分别为*emm11*(2株)及*emm22*、75、89、128(各1株)。*emm*亚型22种,其中*emm1*型下5种亚型,*emm12*型下17种亚型。主要亚型为*emm1.0*(213株)和*emm12.0*(450株)占87.0%(663/762);其他*emm*亚型占12.2%(93/762)。不同年份亚型型别有变化,每年出现3~8种*emm*亚

型,以 $emm12$ 型下的亚型型别较多(表2)。

表1 2011—2014年北京地区分离的致猩红热 GAS菌株分布特征

特征	2011年	2012年	2013年	2014年
性别				
男	232	107	49	102
女	127	56	26	63
年龄(岁)				
1~	160	72	30	49
>5	199	91	45	116
地区				
城	217	80	46	86
郊	142	83	29	79
合计	359	163	75	165

注:表内数据为菌株数

表2 2011—2014年北京地区致猩红热 GAS菌株 emm 基因型、亚型分布

型及亚型	2011年 (n=359)	2012年 (n=163)	2013年 (n=75)	2014年 (n=165)	合计 (n=762)
$emm1$					
1.0	59(16.4)	36(22.1)	34(45.3)	84(50.9)	213(28.0)
1.24	0	0	1(1.3)	0	1(0.1)
1.25	1(0.3)	0	2(2.7)	6(3.6)	9(1.2)
1.33	0	2(1.2)	0	1(0.6)	3(0.4)
1.63	0	1(0.6)	0	0	1(0.1)
$emm12$					
12.0	251(69.9)	112(68.7)	25(33.3)	62(37.6)	450(59.1)
12.10	14(3.9)	1(0.6)	0	0	15(2.0)
12.11	1(0.3)	0	0	0	1(0.1)
12.12	2(0.6)	0	0	0	2(0.3)
12.19	21(5.8)	8(4.9)	3(4.0)	0	32(4.2)
12.2	0	0	0	4(2.4)	4(0.5)
12.21	1(0.3)	0	0	0	1(0.1)
12.23	3(0.8)	0	0	0	3(0.4)
12.29	0	0	2(2.7)	0	2(0.3)
12.37	2(0.6)	0	0	5(3.0)	7(0.9)
12.38	0	0	4(5.3)	0	4(0.5)
12.4	0	0	0	2(1.2)	2(0.3)
12.55	0	1(0.6)	0	0	1(0.1)
12.58	0	1(0.6)	0	0	1(0.1)
12.62	0	0	1(1.3)	0	1(0.1)
12.69	0	0	2(2.7)	0	2(0.3)
12.7	0	0	1(1.3)	0	1(0.1)
$emm11$	2(0.6)	0	0	0	2(0.3)
$emm22$	1(0.3)	0	0	0	1(0.1)
$emm75$	0	1(0.6)	0	0	1(0.1)
$emm89$	1(0.3)	0	0	0	1(0.1)
$emm128$	0	0	0	1(1.2)	1(0.1)

注:括号外数据为菌株数,括号内数据为构成比(%)

3. 不同年份 emm 型别构成及变化:2011年 $emm12$ 占 82.2%(295/359), $emm1$ 占 16.7%(60/359), $emm11$ 、22、89 占 1.1%(4/359);2012年 $emm12$ 占 77.3%(123/163), $emm1$ 占 23.9%(39/163), $emm75$ 占 0.6%(1/163);2013年 $emm12$ 占 50.7%(38/75), $emm1$ 占 49.3%(37/75), 无其他型别;2014年 $emm12$ 占 44.2%(73/165), $emm1$ 占 55.2%(91/165), $emm128$ 占 0.6%(1/165)。2011—2014年 emm 基因型别构成比

变化差异有统计学意义($P<0.001$)。见图1。

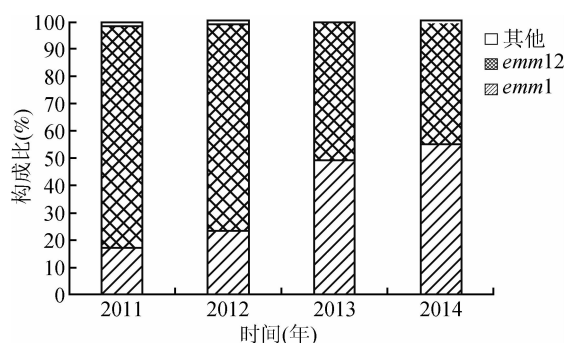


图1 2011—2014年北京地区致猩红热 GAS菌株 emm 基因型别构成

4. 不同年份 emm 型别感染人群特征分布:监测期间只有2011年 emm 基因型存在年龄差异,1~5岁组感染 $emm12$ 型高于>5岁组,差异有统计学意义($P<0.05$);2011年城区人群感染 $emm1$ 型高于郊区,而2013年城区人群感染 $emm1$ 型又低于郊区,两年份不同地区人群间的差异有统计学意义($P<0.05$),2012和2014年 emm 基因型别差异无统计学意义($P>0.05$);2011—2014年 emm 基因型分布的性别差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

讨论

基于PCR的 emm 基因分型技术已成为 GAS 分型金标准^[4]。 emm 基因数据库已命名200余种 emm 基因型和1000多种 emm 基因亚型。尽管 emm 基因型别多,但一个国家和地区不同年份出现的主要流行型别不会太多,且各国和地区流行的型别也不尽相同^[5-8]。本研究2011—2014年北京地区致猩红热 GAS 菌株 emm 基因型别少而相对集中,主导型别仅为 $emm12$ 、 $emm1$ 两种,占99.2%;其他5种型别(11、22、75、89、128)仅占0.8%,与我国既往报道 $emm1$ 、 $emm12$ 为主要优势基因型相同^[9-11],但与国外报道不同^[12],说明 emm 基因型分布存在地理差异。

北京地区2011年 $emm12$ 为主导基因型,2014年主导型别转换, $emm1$ 成为主导基因型。台湾地区2001—2012年在不同年间 $emm12$ 、 $emm1$ 、 $emm4$ 变换为主导基因型^[13],本文监测结果与其相似。猩红热的传染源是其病例和带菌者,当2011年猩红热以 $emm12$ 基因型作为主导菌株流行时,人群对该型别菌株免疫力逐渐增加,此时 $emm1$ 基因型菌株被抑制,但针对 $emm1$ 基因型菌株的易感人群却逐渐累积增多,由于易感人群未接种疫苗,经过一定时间,造成 $emm1$ 主导基因型的猩红热再次发病,即本文分析

表3 2011—2014年北京地区致猩红热 GAS 菌株 *emm* 基因人群分布特征

特征	2011年			χ^2 值	P值	2012年			χ^2 值	P值	2013年			χ^2 值	P值	2014年			χ^2 值	P值
	<i>emm1</i>	<i>emm12</i>	其他型			<i>emm1</i>	<i>emm12</i>	其他型			<i>emm1</i>	<i>emm12</i>	其他型			<i>emm1</i>	<i>emm12</i>	其他型		
性别	男	43 (18.5)	186 (80.2)	3(1.3)	1.809	0.405	22 (20.6)	84 (78.5)	1(0.9)	2.380	0.304	24 (49.0)	25 (51.0)	0.007	0.933	59 (57.8)	42 (41.2)	1(1.0)	1.536	0.464
	女	17 (13.4)	109 (85.8)	1(0.8)			17 (30.4)	39 (69.6)	0			13 (50.0)	13 (50.0)			32 (50.8)	31 (49.2)	0		
年龄组(岁)	1~	19 (11.9)	138 (86.2)	3(1.9)	6.126	0.047	15 (20.8)	57 (79.2)	0	1.542	0.463	13 (43.3)	17 (56.7)	0.720	0.396	24 (49.0)	25 (51.0)	0	1.628	0.443
	>5	41 (20.6)	157 (78.9)	1(0.5)			24 (26.4)	66 (72.5)	1(1.1)			24 (53.3)	21 (46.7)			67 (57.8)	48 (41.4)	1(0.8)		
地区	城	39 (18.0)	178 (82.0)	0	6.635	0.036	21 (26.3)	58 (72.5)	1(1.2)	1.574	0.455	16 (34.8)	30 (65.2)	10.077	0.002	46 (53.5)	39 (45.3)	1(1.2)	1.058	0.589
	郊	21 (14.8)	117 (82.4)	4(2.8)			18 (21.7)	65 (78.3)	0			21 (72.4)	8 (27.6)			45 (57.0)	34 (43.0)	0		
合计	60	295	4	-	-	39	123	1	-	-	37	38	-	-	91	73	1	-	-	

注:括号外数据为菌株数,括号内数据为百分率(%)

中出现的2011—2014年 *emm12* 基因型流行逐渐减少,而 *emm1* 基因型流行逐渐增加。这也在一定程度上解释了既往报道北京地区猩红热发病具有周期性和在某个时间出现病例异常增高的现象^[14]。但目前 *emm* 基因主导型别转换的时间周期尚不清楚。

本次分析发现2011—2014年北京地区 *emm* 基因型别构成比变化与相关年份猩红热病例变化存在一定关系。当2011年病例大幅增加达最高峰时, *emm12* (82.2%, 相比 *emm1* 型仅占 16.7%) 以绝对优势作为主导流行菌型;随着2012年病例数下降, *emm12* 下降至 77.3% (*emm1* 相对上升至 23.9%);2013年病例数降至最低时, *emm12* 和 *emm1* 构成比基本持平;随着2014年病例数增加(超过2012年但不及2011年), *emm* 型别转换, *emm1* 型成为主导菌型。发现当猩红热高流行年份或病例数增多时,一种 *emm* 基因型占据优势主导地位,如2011年北京、香港、上海等地区报道猩红热流行和暴发,均是以 *emm12* 为主导基因型^[1-3]。低流行年份或病例低水平时,如2013年, *emm* 型别构成比趋于基本平衡,台湾地区一项研究也表明 *emm* 主导型别变化与猩红热流行变化趋势有关^[13]。

分析中还发现2011年北京地区1~5岁组 *emm12* 高于>5岁组,除了与2011年当地以 *emm12* 高流行年份有关外,也证实了既往报道的 *emm12* 型随年龄增加呈下降趋势,低年龄组人群来源的 GAS 更容易表现 *emm12* 型^[15]。2011年和2013年出现城、郊区来源上 *emm* 基因型别差异,除该两年份分别是当地病例数最高和最低年份外,是否存在其他因素还有待商榷。

综上所述,2011—2014年北京地区致猩红热流行 GAS 菌株优势菌型为 *emm12* 和 *emm1*;不同年份 *emm12*、*emm1* 变换成为主导菌型;*emm* 主导菌型变化与猩红热病例变化趋势有关。

参 考 文 献

- [1] Hsieh YC, Huang YC. Scarlet fever outbreak in Hong Kong, 2011 [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2011, 44(6):409-411.
- [2] Yang P, Peng X, Zhang D, et al. Characteristics of group A *Streptococcus* strains circulating during scarlet fever epidemic, Beijing, China, 2011 [J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(6):909-915.
- [3] Chen M, Yao W, Wang X, et al. Outbreak of scarlet fever associated with *emm12* type group A *Streptococcus* in 2011 in Shanghai, China [J]. Pediatr Infect Dis, 2012, 31(9):158-162.
- [4] Zheng MH, Zhang JZ. A review on the advancement and application of group A *Streptococcus* genotyping [J]. Chin J Epidemiology, 2008, 29(8):840-842. (in Chinese) 郑明寰, 张建中. A组链球菌基因分型方法最新进展及应用[J]. 中华流行病学杂志, 2008, 29(8):840-842.
- [5] Shulman ST, Tanz RR, Dale JB, et al. Seven-year surveillance of North American pediatric group A streptococcal pharyngitis isolates [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(1):78-84.
- [6] Tanaka D, Gyobu Y, Kodama H, et al. *emm* typing of group A *Streptococcus* clinical isolates: identification of dominant types for throat and skin isohtes [J]. Microbiol Immunol, 2002, 46(7):419-423.
- [7] Ho PL, Johnson DR, Yue AW, et al. Epidemiologic analysis of invasive and noninvasive group A streptococcal isolates in Hong Kong [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(3):937-942.
- [8] O' Brian KL, Beall B, Barrett NL, et al. Epidemiology of invasive group A *Streptococcus* disease in the United States, 1995-1999 [J]. Clin Infect Dis, 2002, 35(3):268-276.
- [9] Wu PC, Lo WT, Chen SJ, et al. Molecular characterization of group A streptococcal isolates causing scarlet fever and pharyngitis among young children: a retrospective study from a northern Taiwan medical center [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2014, 47(4):304-310.
- [10] Liang Y, Liu X, Chang H, et al. Epidemiological and molecular characteristics of clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* collected between 2005 and 2008 from Chinese children [J]. J Med Microbiol, 2012, 61(Pt 7):975-983.
- [11] Liang Y, Shen X, Huang G, et al. Characteristics of *Streptococcus pyogenes* strains isolated from Chinese children with scarlet fever [J]. Acta Paediatr, 2008, 97(12):1681-1685.
- [12] Shea PR, Ewbank AL, Gonzalez-Lugo JH, et al. Group A *Streptococcus emm* gene types in pharyngeal isolates, Ontario, Canada, 2002-2010 [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(11):2010-2017.
- [13] Chiou CS, Wang YW, Chen PL, et al. Association of the shuffling of *Streptococcus pyogenes* clones and the fluctuation of scarlet fever cases between 2000 and 2006 in central Taiwan [J]. BMC Microbiol, 2009, 9:115.
- [14] Qian HK, Yang P, Zhang Y, et al. Spatial-temporal scan statistic on scarlet fever cases in Beijing, 2005-2010 [J]. Dis Surveill, 2011, 26(6):435-438. (in Chinese) 钱海坤, 杨鹏, 张奕, 等. 2005—2010年北京猩红热发病时空扫描分析[J]. 疾病监测, 2011, 26(6):435-438.
- [15] Jaggi P, Tanz RR, Beall B, et al. Age influences the *emm* type distribution of pediatric group A streptococcal phary isolates [J]. Pediatr Infect Dis, 2005, 24(12):1089-1092.

(收稿日期:2015-03-17)

(本文编辑:张林东)