

· 猪链球菌感染 ·

高致病性猪链球菌感染及我国防制工作中存在的问题

徐建国 景怀琦 叶长芸 杜华茂

猪链球菌(*Streptococcus suis*)是链球菌属中的一个种,有 35 个血清型,最常见对人和动物致病的为 2 型,属动物源性病原体,呈世界性分布,自 20 世纪 50 年代以来,荷兰、英国、加拿大、澳大利亚、新西兰、比利时、巴西、丹麦、西班牙、德国、日本和中国台湾省等先后有报道,不仅给世界养猪业造成很大威胁,还严重危害人的生命安全^[1-3]。在以往的文献中,往往把猪链球菌称为“不常从人的临床标本中分离的链球菌”,很少引起人间感染。自 1968 年首次报道猪链球菌感染的人间病例后,全世界共报告 200 余例人间感染。1998-1999 年我国江苏和浙江省部分县市的猪群中先后两次爆发猪链球菌感染,从业人员也有数十人发病,并先后从患者和病猪中分离出该菌 2 型菌株。2005 年 7-8 月,四川省等地发生了一起前所未有的猪链球菌 2 型菌株爆发性感染,报告患者 214 例,死亡 39 例。主要特点是潜伏期短,发病急,重症患者病情凶险,病死率高。8 月份以后在其他几个省份也发现猪链球菌感染病例,并分离到该病原菌。

一、猪链球菌及其感染

1954 年首次从病猪分离出 1 株 α 溶血性链球菌,1966 建议命名为猪链球菌,1968 鉴定为荚膜 2 型猪链球菌。曾经一度把猪链球菌分为 D 群。后来发现其 D 和 R 群的抗原非常相似,但又有区别,鉴定为 D 群是交叉反应的原因。猪链球菌 2 型属于 R 群,而 1 型属于 S 群。具有医学意义的是从人体分离的菌株迄今为止都是 R 群^[4]。

1. 菌株特征:可用 API 生化鉴定系统的 api-strep 手工鉴定条进行鉴定,该方法可直接鉴定到种。普通实验室可以重点做 V-P 试验,七叶苷水解试验,6.5% NaCl 生长试验,45℃、10℃ 生长试验,

胆汁耐受(麦康凯培养基)等试验。如结果依次为阴性、阳性、阴性、阴性、阴性、阴性,可初步判定为猪链球菌^[5]。同时送相关实验室做进一步鉴定。具有参考价值的鉴定项目包括①生长特性:该菌株在 10℃、45℃、6.5% NaCl、pH 9.6、麦康凯培养基条件下不生长;②生化试验:V-P(-)、马尿酸盐(-)、甘露醇(-)、甘露糖(-)、山梨醇(-)、阿拉伯糖(-)、核糖(-)、七叶苷(+)、乳糖(+)、精氨酸(+)、葡萄糖(+)、海藻糖(+)、淀粉(+)、棉子糖(+/-)。

2. 毒力因子:目前公认比较重要的毒力因子有荚膜多糖、溶菌酶释放相关蛋白、细胞外蛋白因子和溶血素等。

(1)荚膜多糖(capsular):Charland 等^[6,7]发现使用转座子 Tn916 获得 2 株荚膜多糖基因缺失株,与出发菌株相比,缺失株的疏水性增强,对鼠和猪的巨噬细胞敏感,易被从血液中清除,对小鼠和猪没有致病性。Smith 等发现参与荚膜多糖合成的基因簇共 14 个 ORF,将 ORF2B、ORF2EF 插入失活后得到基因缺失株,缺失株对猪肺泡巨噬细胞敏感,经鼻腔接种不能引起发病。

(2)溶菌酶释放相关蛋白(muramidase-released protein, MRP)和细胞外蛋白因子(extracellular factor, EF):除荚膜多糖外这两种蛋白是最常用于评价猪链球菌毒力的指标。Vecht 等^[8]比较 180 株来自病猪、健康猪和人的猪 2 型链球菌的蛋白图谱发现,从病猪体内分离的菌株特有相对分子质量为 110×10^3 和 136×10^3 的蛋白条带,前者被命名为 EF,后者是 MRP。在这 180 株菌中存在三种表型:MRP⁺EF⁺、MRP⁺EF⁻、MRP⁻EF⁻。从病猪分离的菌株 77% 为 MRP⁺EF⁺,从健康猪中分离的菌株 86% 为 MRP⁻EF⁻,据此认为 EF 和/或 MRP 在猪 2 型链球菌的致病作用中起重要作用,并可视作菌株的毒力标记。悉生猪为模型的实验发现,缺少上述毒力基因的菌株没有致病性^[9]。

(3)猪链球菌溶血素(suilysin):又称猪溶素,相对分子质量为 54×10^3 。猪溶素蛋白的N端氨基酸序列与链球菌溶血素O、李氏杆菌溶血素O等有较高的同源性。用纯化的猪溶素制备的疫苗免疫小鼠可以完全抵抗2型强毒菌株的攻击,说明猪溶素亦是一种重要的致病因子。猪溶素可能在猪链球菌侵入和裂解细胞的过程中发挥着重要作用。将猪溶素基因灭活使用动物实验发现,猪溶素可能参与抗感染反应^[10]。

3. 致病机理:猪感染猪链球菌后表现为急性出血性败血症、心内膜炎、脑膜炎、关节炎、哺乳仔猪下痢和孕猪流产,人感染猪链球菌的临床表现为脑膜炎、心内膜炎、关节炎、肺炎、中毒性休克综合征(STSS)。但是发病机理目前尚不清楚。

小白鼠、大鼠、豚鼠、兔和猪(SPF或悉生猪)是最常用于猪2型链球菌病理学及传染病学研究的实验动物。Kay^[11]用豚鼠为模型的研究发现,细菌可能是依赖其产生的外毒素突破耳蜗管屏障,进入耳蜗导致耳蜗脓毒症,从而导致听力丧失,而不是损伤第八颅神经。Sanford, Tilker^[12-14]发现猪链球菌可造成心脏和中枢神经的损伤。历时4年的试验发现,在48头尸检猪中,6头发生纤维素性及脓性心包炎,21头发生出血性坏死性心肌炎,21头为瓣膜性心内膜炎。心肌炎以点状或弥漫出血坏死为特征,同时有嗜中性粒细胞、单核细胞浸润及血栓形成。瓣膜性心内膜炎病例的心瓣膜已变成一个粗糙的组织,上面覆盖有纤维蛋白、炎性细胞、坏死组织碎片和大量细菌。脑膜充血和脑脊液中度增加是中枢神经系统最常见的病变,脑膜及脉络丛水肿,有纤维蛋白和炎性粒细胞沉积,脑和脑室及脊髓和脊髓腔的血管周围有嗜中性粒细胞和单核细胞浸润。

在自然条件下,猪2型链球菌可经母猪、饲喂器具、伤口或者猪仔间唇-唇直接接触而传播。Berthelot-Herault等^[15]的实验证明,猪2型链球菌能经空气传播。经静脉接种试验猪,6天后距离40 cm外的同舍猪出现相同临床表现,在扁桃腺分离到相同的病原体。提示猪链球菌2型可经血液到达扁桃腺,从鼻腔排出,经空气传播给其他猪,定植于扁桃腺而入血。

4. 高危人群:猪链球菌病多发生在从事猪屠宰、养殖、加工和销售人员的。发病前多有和病猪或病死猪(肉)的密切接触史,因此有学者认为猪链球菌感染是一种职业病。

二、高致病性猪链球菌

猪链球菌2型菌株广泛存在于猪的呼吸道中,猪活体扁桃腺拭子检查检出率多数在50%以上,但一般认为,猪群是否会发生猪链球菌病与其带菌率的高低并无直接的关系。究其原因可能与不同的2型菌株的致病力存在明显差异有关,而这种差异与各菌株的毒力因子是直接相关的。因此,我们应该把高致病性猪链球菌和非致病性的猪链球菌区别开来。

据对从荷兰分离到的180株猪链球菌2型菌株的MRP与EF分析发现,从病猪体内分离的菌株有80%为MRP⁺EF⁺表现型,相反,从健康猪扁桃腺中分离的菌株仅2%为该表现型,而有86%表现为MRP⁻EF⁻。在用不同的表现型菌株感染小猪时发现,MRP⁺EF⁺的表现型菌株可以引起典型的脑膜炎及多发性关节炎,而MRP⁻EF⁻的表现型菌株对猪则没有致病力^[8]。

何孔旺等^[16]报道,正常猪群中猪链球菌2型的带菌率普遍较高,为31.6%~77.0%,平均为40.9%。疫区与非疫区猪群的2型菌带菌率差异不明显,但毒力因子MRP和EF的阳性率在疫区与非疫区有明显差异,来自非疫区的2型菌株除极少数表现为mrp⁺ef⁻或mrp⁻ef⁺外(各为5%),绝大多数(90%)都表现为对猪无毒力的mrp⁻ef⁻表现型,无一株表现为mrp⁺ef⁺。相反来自疫区的所有2型菌株均为对猪有强毒力的mrp⁺ef⁺表现型。此结果提示,虽然正常猪群中猪链球菌2型的带菌率与猪群中是否爆发该病并无直接关系,但重要的是mrp⁺ef⁺表现型菌株的出现比率。

Luque等^[17]从来源于142头猪(88头病猪、54头健康猪)的猪链球菌中检测毒力蛋白MRR、EF,把菌株分成了5种表型:MRP⁺EF⁺,MRP⁺EF⁻,MRP⁻EF⁺,MRP⁺EF⁺,MRP⁺EF⁻。84%的病猪都属于MRP⁺EF⁺,说明这两种蛋白在毒力菌株间维持毒力、传播、扩散都起了重要作用。

三、目前我国需要开展的研究工作

虽然我国政府积极地调动各方面的力量和技术,有效地控制了此次疫情,但也暴露出许多需要解决的问题。

1. 缺乏有效的病原学、免疫学、临床诊断方法和技术:在新发传染病发生时,不解决病原学诊断的问题,就无法进行有效的诊疗,也无法采取有效的控制和预防措施。此次疫情发生时,虽然在较短的时间

内明确了病原,给疫情处理指明了方向,但是具体到患者个体,仍主要依靠细菌培养和鉴定。而这种传统的方法,特别是药敏试验,需要数天的时间,这样不利于潜伏期短、病程短、病情凶险的患者的治疗。缺乏快速、有效的病原学、免疫学和临床诊断方法,已经严重影响感染患者的治疗。

2. 病原菌是否发生了变异:自 1968 年报道人间猪链球菌感染以来,全世界共报告了 200 余病例。我国 1998 年江苏省、2005 年四川省发生了例数较多的人间感染,且发生休克型患者的比例较高,病死率亦较高。因此,国外一些学者和世界卫生组织专家一度认为可能有其他病原体的参与,如禽流感病毒等。那么,导致此次疫情的病原体是否发生了变异,是否具有和以往分离的病原体不同的特征,成为关注的问题。

3. 猪携带猪链球菌的比率、特点和人间感染的关系:业已明确,猪链球菌的宿主是猪,人接触了病猪和病死猪(肉)后,通过皮肤破损等途径感染。但是,猪链球菌广泛存在于猪的呼吸道,猪活体扁桃腺带菌率可高达 50% 以上。但是,猪携带的链球菌 2 型菌株的致病力存在明显差异。因此,了解我国不同地区猪携带猪链球菌的比率和特点,可有效解答为什么部分省份人间感染病例较多的问题,对有效预防和控制人间感染有决定性意义,但目前我国缺乏有关资料。

4. 建立猪链球菌分子分型技术平台:和其他新发传染病一样,猪链球菌感染造成的问题是多省份、多国家、没有地域界限。因此,需要建立可供远程分析、信息共享的标准化猪链球菌分子分型分析平台,用于爆发性流行调查、传染源和传播途径的追踪,有助于我国和世界各国的信息交流和疫情处理。猪链球菌常用的分子分型方法包括 2 种:细菌染色体酶切片段脉冲场凝胶电泳分析(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)和多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)^[18-20]。PFGE 分析主要是用 Sma I 酶切。我们发展的 PulseNet China 技术平台已经能够适应应急的需要。但是,国际上尚没有猪链球菌的 PFGE 数据库,难以将我们的菌株和国外菌株进行比较。在此次四川省疫情爆发后,MLST 的网络数据库已经于 8 月份开通,任何实验室可提交自己的数据进行比较。但是,数据库的菌株数目很少,仅有 200 余株^[21]。

5. 我国猪链球菌感染现状调查和病例分析:

2005 年前我国已经发生了多起猪链球菌感染和数十例报告。2005 年四川省疫情发生后,也有广东、广西、广州、江西等地发生了人间感染。但不同地区的发病人数和病死率有明显不同,其原因不明。因此,需要开展我国猪链球菌感染的种类、地区分布、致病性、流行规律的调查研究,包括病原菌分离、血清流行病学调查、传播途径调查等。

6. 猪链球菌感染的产生机理和预警技术研究:人间感染是由猪携带的猪链球菌引起的。那么,研究导致猪链球菌疫情出现的生态学因素、预警指标,探讨疫情发生和发展趋势,可为了解和防制猪链球菌感染提供新的思路、策略和理论依据。

7. 开展猪链球菌抗生素耐药性的研究和追踪,致病机理和预防治疗措施的研究。

8. 几点思考:

(1) 虽然猪链球菌 2 型的分离率很高,但不是所有的猪链球菌 2 型对人或动物都是致病性的,必须区分高致病性和非致病的猪链球菌。

(2) 根据 1999 年资料,全世界活猪存栏 90 363.7 万头,猪肉总产量 8980.8 万吨;我国活猪存栏 43 020.4 万头,占世界总头数的 47.6%;猪肉产量 4006.7 万吨,占世界猪肉产量的 44.6%;我国猪肉占肉类总产量的 67.4%,人均食用猪肉量 36.83 kg,为世界猪肉生产第一大国。而四川省又是我国最大的生猪生产基地之一,其猪肉产量占全国总产量的 11.5%。因此,在今后相当长的一段时间里,我们必须重视猪链球菌感染的问题。

(3) 传染病的病原体众多。我们无法预测何时何地会发生何种传染病,因此要全面应对,不能留有死角。猪链球菌疫情爆发给我们又上了一课。从国家的层面考虑,对某一种可能引起人类发病的传染性病原体,我们都应该有技术和人才的储备,针对罕见传染病开展研究,建立不常见病原体的专业研究队伍和技术储备,防患于未然。

参 考 文 献

- 1 Hui AC, Ng KC, Tong PY, et al. Bacterial meningitis in Hong Kong: 10-years' experience. Clin Neurol Neurosurg, 2005, 107: 366-370.
- 2 Kay R, Cheng AF, Tse CY. *Streptococcus suis* infection in Hong Kong. QJM, 1995, 88: 39-47.
- 3 胡晓抒,朱凤才,汪华,等. 人感染猪链球菌综合征研究. 中华预防医学杂志, 2000, 34: 150-152.
- 4 Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. Clin Microbiol Rev, 2002, 15: 613-630.

- 5 Tarradas C, Arenas A, Maldonado A, et al. Identification of *Streptococcus suis* isolated from swine: proposal for biochemical parameters. J Clin Microbiol, 1994, 32: 578-580.
- 6 Charland N, Kobisch M, Martineau-Doize B, et al. Role of capsular sialic acid in virulence and resistance to phagocytosis of *Streptococcus suis* capsular type 2. FEMS Immunol Med Microbiol, 1996, 14: 195-203.
- 7 Charland N, Harel J, Kobisch M, et al. *Streptococcus suis* serotype 2 mutants deficient in capsular expression. Microbiology, 1998, 144 Pt 2: 325-332.
- 8 Vecht U, Wisselink HJ, Jellema ML, et al. Identification of two proteins associated with virulence of *Streptococcus suis* type 2. Infect Immun, 1991, 59: 3156-3162.
- 9 Vecht U, Wisselink HJ, van Dijk JE, et al. Virulence of *Streptococcus suis* type 2 strains in newborn germfree pigs depends on phenotype. Infect Immun, 1992, 60: 550-556.
- 10 Lun S, Perez-Casal J, Connor W, et al. Role of suilyisin in pathogenesis of *Streptococcus suis* capsular serotype 2. Microb Pathog, 2003, 34: 27-37.
- 11 Kay R. The site of the lesion causing hearing loss in bacterial meningitis: a study of experimental streptococcal meningitis in guinea-pigs. Neuropathol Appl Neurobiol, 1991, 17: 485-493.
- 12 Sanford SE, Tilker ME. *Streptococcus suis* type II-associated diseases in swine; observations of a one-year study. J Am Vet Med Assoc, 1982, 181: 673-676.
- 13 Sanford SE. Gross and histopathological findings in unusual lesions caused by *Streptococcus suis* in pigs. II. Central nervous system lesions. Can J Vet Res, 1987, 51: 486-489.
- 14 Sanford SE. Gross and histopathological findings in unusual lesions caused by *Streptococcus suis* in pigs. I. Cardiac lesions. Can J Vet Res, 1987, 51: 481-485.
- 15 Berthelot-Herault F, Gottschalk M, Labbe A, et al. Experimental airborne transmission of *Streptococcus suis* capsular type 2 in pigs. Vet Microbiol, 2001, 82: 69-80.
- 16 何孔旺, 倪艳秀, 王继春, 等. 猪链球菌 2 型的分子流行病学研究. 中国人兽共患病杂志, 2002, 18: 45-47.
- 17 Luque I, Tarradas C, Astorga R, et al. The presence of muramidase released protein and extracellular factor protein in various serotypes of *Streptococcus suis* isolated from diseased and healthy pigs in Spain. Res Vet Sci, 1999, 66: 69-72.
- 18 Berthelot-Herault F, Marois C, Gottschalk M, et al. Genetic diversity of *Streptococcus suis* strains isolated from pigs and humans as revealed by pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol, 2002, 40: 615-619.
- 19 Vela AI, Goyache J, Tarradas C, et al. Analysis of genetic diversity of *Streptococcus suis* clinical isolates from pigs in Spain by pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol, 2003, 41: 2498-2502.
- 20 King SJ, Leigh JA, Heath PJ, et al. Development of a multilocus sequence typing scheme for the pig pathogen *Streptococcus suis*: identification of virulent clones and potential capsular serotype exchange. J Clin Microbiol, 2002, 40: 3671-3680.
- 21 Aanensen DM, Spratt BG. The multilocus sequence typing network: mlst. net. Nucleic Acids Res, 2005, 33 (web server issue): w728-w733.

(收稿日期: 2005-08-22)

(本文编辑: 张林东)

· 疾病控制 ·

城市流动人口中确诊麻风病一例报告

徐志鑫 马树波 唐雅清

患者男性, 49 岁, 出生地重庆市乌山县。该患者自 1991 年外出打工, 1998 年自觉“足底痒痛”, 1999 年病情加重, 上述症状发展至“两腿膝盖以上”。6 年间曾四处求医, 均未得到及时诊断和正确治疗, 2002 年曾在重庆市某医院被诊断为“荨麻疹”, 用药后疗效不明显。2004 年 12 月与女儿一家来京, 在昌平区某镇工地看仓库。患者于 2005 年 3 月 22 日到北京市某医院就诊, 门诊查体: 体温 37℃, 面部皮损浸润边缘不清晰, 颈部可见蚕豆大小溃疡, 已结痂, 头部毛发及双眉外 1/3 脱落, 结膜充血, 鼻软骨破坏, 鼓腮, 躯干可见铜钱大斑丘疹, 压之不褪色, 呈弥漫分布, 双侧对称。双膝以下皮肤可见鱼鳞样变, 足底角质层增厚, 双膝以下及双肘以下痛温触觉基本丧失。耳后、头颈部、胸腹部和背部出现多处片状破损, 有液体渗出。实验室检查: 血、尿常规正常, 血沉 90 mm/h, 类风湿因子阳性, ALT 196 U/L。3 月 30 日皮损病理检查: 抗

酸染色麻风杆菌 6⁺, 确诊为瘤性麻风病。

该患者既往无系统性疾病史, 否认麻风病接触史(当地有麻风病例的发生), 但是发病前曾在广东、四川、海南等地建筑公司从事室内装修工作, 接触人员复杂广泛, 传染源追查较困难, 传播途径不详。

麻风病在我国流行已有 2000 多年历史, 长期以来被视为可致畸残和难以治愈的疾病。由于新发病例在流动人口较频繁的大城市比较少见, 发现患者有一定难度, 因此造成了该病例的误诊, 为城市的卫生防病工作造成了极大的隐患, 当前应加强流动人口较多的大城市各医院临床医务人员麻风病知识的培训, 加强港口及车站的卫生检疫工作, 建立特殊、非常见病例、疑难流行病的应急诊断机制, 在大城市中确定 1~2 所应急诊断中心, 做到早发现、早隔离、早治疗, 以保护城市居民和流动人口的身体健康。

(收稿日期: 2005-06-30)

(本文编辑: 张林东)