

• 临床研究 •

儿童化脓链球菌感染分离株超抗原基因特征研究

曾 英, 高 飞, 华 夏, 谭琪琳, 陈显堂, 黄灼宏, 艾晓兰[△]

(广州医科大学附属妇女儿童医疗中心检验科, 广东 广州 511300)

[摘要] **目的** 探讨儿童咽拭子分离的化脓链球菌(GAS)超抗原基因分布特征。**方法** 收集 2019 年该中心收治的具有上呼吸道感染或猩红热样红斑表现患儿咽部 GAS 临床分离株 95 株作为研究对象,通过聚合酶链反应和电泳方法检测菌株的 12 种超抗原基因(speA、speB、speC、speF、speG、speH、speI、speJ、speK、speL、smeZ 和 ssa),分析其分布特征。**结果** speA、speB、speC、speF、speG、speH、speI、speJ、speK、speL、smeZ、ssa 超抗原基因检出率分别为 50%、96%、95%、100%、84%、60%、55%、40%、7%、2%、100%、98%,共检测到 26 种超抗原基因谱。**结论** 2019 年儿童来源的 GAS 超抗原基因 speB、speC、speF、speG、smeZ、ssa 检出率较高,speK、speL 检出率较低,speA、speJ、speH、speI 检出率中等,超抗原基因之间的分布存在一定的联系。

[关键词] 儿童; 化脓链球菌; 感染; 超抗原; emm 基因

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2025.09.030

中图法分类号:R378.1+2;R729

文章编号:1009-5519(2025)09-2158-03

文献标识码:A

**Study on superantigen gene characteristics of Streptococcus
pyogenes Isolates from Pediatric Infections**

ZENG Ying, GAO Fei, HUA Xia, TAN Qilin, CHEN Xiantang, HUANG Zhuohong, AI Xiaolan[△]

(Department of Clinical Laboratory, Women and Children's Medical Center Affiliated
to Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511300, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the distribution characteristics of superantigen genes in Group A Streptococcus (GAS) isolated from pediatric pharyngeal swabs. **Methods** A total of 95 clinical strains of GAS in pharynx of the children with upper respiratory tract infection or scarlet fever-like erythema were collected from the Women and Children's Medical Center Affiliated to Guangzhou Medical University as the research object. Twelve superantigen genes (speA, speB, speC, speF, speG, speH, speI, speJ, speK, speL, smeZ, ssa) were detected by polymerase chain reaction and electrophoresis, and their distribution characteristics were analyzed. **Results** The detection rates of superantigen genes of speA, speB, speC, speF, speG, speH, speI, speJ, speK, speL, smeZ and ssa were 50%, 96%, 95%, 100%, 84%, 60%, 55%, 40%, 7%, 2%, 100%, 98%, respectively. A total of 26 superantigen gene profiles were detected. **Conclusion** In 2019, the detection rates of GAS superantigen genes speB, speC, speF, speG, smeZ and ssa from children in Guangzhou were high, the detection rates of speK and speL were low, and the detection rates of speA, speJ, speH and speI were moderate. There was a certain correlation between the distribution of superantigen genes.

[Key words] Children; Streptococcus pyogenes; Infection; Superantigen; Emm genotypes

A 组链球菌也称为化脓链球菌(GAS),是一种常见革兰阳性菌,对儿童感染性疾病具有明显影响。GAS 是导致儿童急性咽扁桃体炎、脓疱疮、猩红热的主要病原体。GAS 还可能进一步导致败血症、坏死性筋膜炎、链球菌感染中毒休克综合征等严重并发症。此外,GAS 感染还可能成为风湿热、链球菌感染后肾炎等后续疾病的诱因。GAS 的致病力与多种致病因子有关,其中主要有 emm 基因编码的 M 蛋白,以及超抗原、溶血素、蛋白酶、透明质酸酶、链激酶等,其中超抗原是这类细菌产生的一种特殊毒素,能极强地激

活大量 T 淋巴细胞,导致异常的免疫应答,并在 GAS 感染中起到关键的作用^[1]。为研究广州市儿童感染 GAS 的超抗原基因谱,本研究收集了 95 株 GAS 临床分离株进行了超抗原基因检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集 2019 年本中心收治的具有上呼吸道感染或猩红热样红斑表现患儿咽部 GAS 临床分离株 95 株作为研究对象。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 严格按试剂说明书提取 GAS

DNA,置于-20℃冰箱备用,提取的 DNA 用于超抗原基因的扩增。

1.2.2 超抗原基因检测 通过聚合酶链反应(PCR)扩增 12 种超抗原基因,12 种超抗原基因引物序列来自既往文献报道^[2],所有 PCR 引物来自华大基因公司合成,PCR 试剂来自 takara。PCR 反应体系:1 μL DNA 模板,正向和反向引物各 1 μL,Taq 酶 0.5 μL,Buffer 2.5 μL,dNTP 2 μL,17 μL 蒸馏水。PCR 反应条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 40 s,退火 1 min,72℃延伸 90 s,共 30 个循环,最后 72℃延伸 5 min。12 个超抗原基因 speA、speB、speC、speF、speG、speH、speI、speJ、speK、speL、smeZ、ssa 的退火温度分别为 50、58、50、57、50、59、59、55、50、60、55、60℃。将 PCR 扩增后的产物 5 μL 置于含有 GoldView 核酸染色剂的 15 g/L 琼脂糖凝胶上,然后在 0.5×TAE 缓冲液中进行电泳,条件设定为 120 V 持续 30 min,最后在紫外光下对凝胶成像以获取图像结果。

1.3 数据处理 应用 Excel2021 软件进行数据分析,计数资料以率或构成比表示,采用描述性统计分析。

2 结 果

2.1 一般资料 95 例患儿中男 62 例(65.3%),女

33 例(34.7%);年龄 1~10 岁,中位年龄 7 岁。不同性别、年龄患儿菌株分布见表 1。

2.2 超抗原基因分布情况 speA、speB、speC、speF、speG、speH、speI、speJ、speK、speL、smeZ、ssa 超抗原基因检出率分别为 50%、96%、95%、100%、84%、60%、55%、40%、7%、2%、100%、98%。48 株携带 speA 的菌株中同时携带 speJ 的菌株 34 株(70.8%),57 株携带 speH 的菌株中同时携带 speI 的菌株 52 株(91.2%),34 株同时携带 speA、speJ 的菌株中同时不携带 speH、speI 的菌株 28 株(82.4%),其余超抗原基因之间未发现类似情况。

2.3 超抗原基因谱分布情况 共检测到 26 种超抗原基因谱,分别命名为 Profile1~26,其中最常见者为 Profile1,即 speB、speC、speF、speG、speH、speI、smeZ 和 ssa,共 28 株,占 29.5%,其次为 Profile2,即 speA、speB、speC、speF、speG、speJ、smeZ 和 ssa,共 21 株,占 22.1%。最多的是携带 11 个超抗原基因 2 株[2.1%(2/95)],最少的是携带 4 个超抗原基因 1 株[1.1%(1/95)],携带 8 个超抗原基因的菌株最多[53.7%(51/95)],其次为 7 个超抗原基因 21 株[22.1%(21/95)]。见表 2。

表 1 不同性别、年龄患儿菌株分布

年龄(岁)	男		女		合计	构成比(%)
	<i>n</i>	构成比(%)	<i>n</i>	构成比(%)		
<3	2	2.1	0	0	2	2.1
3~<6	31	32.6	14	14.7	45	47.3
6~12	29	30.5	19	20.0	48	50.5
合计	62	65.3	33	34.7	95	100.0

表 2 超抗原基因谱分布情况(*n*=95)

基因谱	超抗原基因												<i>n</i>	构成比(%)
	speA	speB	speC	speF	speG	speH	speI	speJ	speK	speL	smeZ	ssa		
Profile1	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	28	29.5
Profile2	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	+	21	22.1
Profile3	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	7	7.3
Profile4	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	+	4	4.2
Profile5	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	3	3.2
Profile6	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	3	3.2
Profile7~26													29	30.5

注: + 表示阳性; — 表示阴性。

3 讨 论

本研究结果显示,95 例患儿以男性多见,中位年龄 7 岁,6~12 岁患儿占比最高,3~<6 岁患儿其次,说明学龄期儿童更容易受到 GAS 的感染,可能与学龄期儿童活动范围扩大、接触人群增多,以及学校等集体场所的交叉感染风险增加有关。男性患儿更多

见可能与男孩通常更活跃、户外活动更多有关,增加了接触病原体的机会^[3]。此外,学龄期和学龄前期儿童的免疫系统尚未完全发育成熟,对病原体的抵抗力相对较弱,也是导致该年龄段感染率较高的原因之一。

本研究通过检测 12 种超抗原基因发现,speB、

speC、speF、speG、smeZ、ssa 检出率较高, speK、speL 检出率很低, speA、speJ、speH、speI 检出率中等, 其中 speB、speC、speF、speG、smeZ、ssa、speK、speL 检出率与国内一些地区 GAS 超抗原基因基本一致^[1,4]。而 speA、speJ、speH、speI 检出率具有一定差异。既往研究表明。超抗原基因 speB、speF、speG、smeZ、speJ 由染色体基因编码^[5-6], 相对于由噬菌体携带的超抗原基因其不太容易丢失或变化, 有些研究也将 speB、speF 作为 PCR 反应的阳性对照^[7]。本研究结果显示, speB、speF、speG、smeZ 检出率分别为 96%、100%、84%、100%, 与国内外研究结果基本一致, 且不同的研究结果表明, speB、speF、speG、smeZ 基因在不同地区和时间点的检出率均相对较高, 表明其在 GAS 菌株中的普遍性, 而 speJ 虽然也由染色体编码, 但检出率只有 40%, 可能是由于 speJ 最初源自一种温和噬菌体, 并整合进了细菌的染色体中, 然而, 在后续的基因组传代过程中发生了丢失, 从而造成了较低的检出率^[4]。

speA、speC、speH、speI、speK、speL、ssa 由噬菌体编码^[5-6]。本研究结果显示, speA、speH、speI 检出率分别为 50%、60%、55%, 且本研究发现, speA 与 speJ 具有一定的共检出率, speH 与 speI 具有一定的共检出率, 且两对超抗原基因之间存在一定的排斥性, 而其他超抗原基因之间未发现类似关联。既往研究表明, speA 与 speJ 主要存在于 emm1 型别中, speH 与 speI 主要存在于 emm12 型别中, 且 speH 与 speI 存在于同一噬菌体中, 并且这 2 段基因的位置非常接近, 这也解释了 speH 与 speI 同时出现的高频率^[2,4,8]。此外, 也证实 emm 基因编码的 M 蛋白可通过选择性影响噬菌体的进入, 进而影响 speA 与 speJ、speH 与 speI 的存在。同样, 由噬菌体编码的 speC、ssa 检出率较高, 分别为 95%、98%, 而 speK、speL 检出率较低, 分别为 7%、2%。既往研究表明, speC、ssa 在大多数 GAS 流行菌株中广泛存在^[9-10]。说明其在 GAS 感染中具有重要作用, 可能与其他超抗原基因协同参与了细菌的致病过程。而 speK、speL 在大多数 GAS 流行菌株中广泛缺失, 表明携带这 2 种超抗原基因的噬菌体在 GAS 菌株的传播中受到了一定的限制。这种分布差异反映了 GAS 在进化过程中对不同超抗原基因的适应性选择, 当然实验方法和检测技术的不同, 以及不同地区、人群、标本来源也会导致检出率有所差异。

GAS 导致的疾病和临床表现多样, 其中超抗原基因在其致病过程中扮演着至关重要的角色。有研究表明, speA 的存在与侵袭性感染, 特别是血液感染呈正相关^[11-12]。speC 基因在从咽部获得的菌株中更为常见, 当 GAS 与人类咽部细胞共同培养时会诱导出噬菌体 CS112 及 speC^[11]。可能也是本研究中 speC

高检出率的原因之一。另外, speA 和 speC 编码的致热外毒素也是诱发发热反应和皮肤红斑反应的主要因素^[13-15]。除 speA 外, speJ 和 smeZ 也有文献报道与侵袭性感染有关, ssa 则与侵袭性感染呈负相关^[16]。speK、speL、speM 与急性风湿热有密切联系^[17], speK、speL 的低检出率可能提示研究对象并发急性风湿热的风险较低。

综上所述, 学龄期儿童更易受 GAS 感染, 男性患儿多见。超抗原基因在 GAS 菌株中分布有差异, 染色体编码基因检出率普遍性高, 噬菌体编码基因检出率有变化。这些基因的分布特征对理解 GAS 的致病机制和 GAS 疫苗开发提供了理论依据。

参考文献

[1] 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.

[2] MEISAL R, ANDREASSON I K, HØIBY E A, et al. Streptococcus pyogenes isolates causing severe infections in Norway in 2006 to 2007: emm types, multilocus sequence types, and superantigen profiles[J]. J Clin Microbiol, 2009, 48(3): 842-851.

[3] 苏伟, 刘彦, 刘盈, 等. 北京地区猩红热样红斑患儿咽部 A 族链球菌分离株的 emm 基因型和超抗原分布特征[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(21): 1651-1654.

[4] 马春娜, 彭晓旻, 吴双胜, 等. 北京市 2015—2017 年猩红热及咽部感染患者 A 组链球菌超抗原基因特征研究[J]. 中华流行病学杂志, 2018, 39(10): 1375-1380.

[5] LIN J N, CHANG L L, LAI C H, et al. Emergence of streptococcus pyogenes emm102 causing toxic shock syndrome in southern Taiwan during 2005—2012[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e81700.

[6] LI H, ZHOU L, ZHAO Y, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of group a streptococcus recovered from patients in Beijing, China[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1): 507.

[7] 高外外, 禹定乐, 王文建. 深圳市 2016 年至 2018 年猩红热 A 族链球菌 emm 基因型及基因组多态性分析[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(21): 1655-1659.

[8] COMMONS R, ROGERS S, GOODING T, et al. Superantigen genes in group A streptococcal isolates and their relationship with emm types[J]. J Med Microbiol, 2008, 57(Pt 10): 1238-1246.

[9] PLAINVERT C, DOLOY A, LOUBINOUX J, et al. Invasive group A streptococcal infections in adults, France (2006—2010)[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18 (7): 702-710.

[10] CHIANG-NI C, LIU Y S, LIN C Y, et al. Incidence and effects of acquisition of the Phage-Encoded ssa superantigen gene in invasive group a streptococcus[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 685343.

(下转第 2166 页)

础免疫组儿童家长的阻碍因素^[18]。儿童家长一般缺乏对疫苗安全性评估知识,无法专业看待接种疫苗后的一般反应,进而产生担忧^[19]。提示应加强疫苗安全性宣传,做好接种前知情告知,引导儿童家长正确看待疫苗的一般反应,消除疫苗犹豫。

本研究尚存在不足之处,如调查地区选择接种率较高的县级,未纳入城区,覆盖面不均衡,调查对象存在选择偏倚,结果外推的准确性受到影响,需后续完善相关调查。

综上所述,安徽省阜阳市儿童家长 PCV13 接种意愿受知晓率、疫苗价格、家庭情况、认知行为等因素影响,应针对 PD 有害性及 PCV13 安全、有效性开展健康教育,同时,探索更加科学、合理的 PCV13 支付机制,降低儿童家长的经济负担,从而提升其接种意愿和依从性。

参考文献

[1] 林婉靖,邵雪君,张钧,等.接种 13 价肺炎球菌结合疫苗对就诊儿童肺炎链球菌血清型和耐药性的影响[J]. 中华疾病控制杂志,2022,26(5):565-570.

[2] 中华预防医学会疫苗与免疫分会.主要慢性病人群流感疫苗和肺炎球菌疫苗接种专家共识[J]. 中国疫苗和免疫,2021,27(6):711-742.

[3] 中华预防医学会,中华预防医学会疫苗与免疫分会.肺炎球菌性疾病免疫预防专家共识(2020 版)[J]. 中国疫苗和免疫,2021,27(1):1-47.

[4] 宁桂军,尹遵栋.中国肺炎球菌病疾病负担研究进展[J]. 中国公共卫生,2018,34(11):1453-1455.

[5] 王楠,黎祺,李军宏,等.世界卫生组织 194 个成员国疫苗纳入国家免疫规划现状[J]. 中国疫苗和免疫,2021,27(2):214-220.

[6] LIU L J,ZHANG Z N,ZHANG X X,et al. Coverage of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine among children 0~15 months of age-9 provinces,China,2019—2021[J]. China CDC Wkly,2023,5(17):379-384.

[7] 王文畅,王华庆.中国非免疫规划疫苗接种现状和影响因

素浅析[J]. 中国疫苗和免疫,2020,26(1):93-97.

[8] 王馨,谷芳,杨顺玉.婴幼儿二类疫苗现况及相关影响因素[J]. 河南医学研究,2021,30(25):4726-4729.

[9] 孙文学,王金萍,徐若愚,等.潍坊市<3 月龄儿童家长 13 价肺炎球菌多糖结合疫苗支付意愿和影响因素[J]. 中国疫苗和免疫,2023,29(5):584-588.

[10] 张梦溪,徐双飞,熊海燕.贵州省基于离散选择实验的 13 价肺炎球菌结合疫苗的选择偏好研究[J]. 中国卫生资源,2023,26(1):35-41.

[11] SHEN K L,WASSERMAN M,LIU D D,et al. Estimating the cost-effectiveness of an infant 13-valent pneumococcal conjugate vaccine national immunization program in China[J]. PLoS One,2018,13(7):e0201245.

[12] 许敏鸿,叶翠萍,叶燕华,等.广州市从化区 0~3 岁儿童二类疫苗接种现状及影响因素分析[J]. 预防医学情报杂志,2020,36(7):854-858.

[13] 雷美艳,梁慧婷,徐淑珍,等.儿童家长对第二类疫苗接种意愿影响多因素 Logistic 分析及干预对策研究[J]. 医学食疗与健康,2021,19(13):189-190.

[14] 朱林飞,任瑶,孙焯祥.二孩政策下宁波市鄞州区儿童 13 价肺炎疫苗接种情况分析[J]. 现代实用医学,2021,33(9):1171-1172.

[15] 毕萌.中国 0—3 岁儿童家长非免疫规划疫苗接种意愿影响因素研究[D]. 北京:中国医学科学院,2023.

[16] 张肇南,宋祎凡,李力,等.中国三个省 12-23 月龄儿童 13 价肺炎球菌多糖结合疫苗未全程接种影响因素的病例对照研究[J]. 中国疫苗和免疫,2024,30(5):538-543.

[17] 唐智峰,董晓莲,陈胜玉.儿童监护人对儿童接种非免疫规划疫苗意愿及行为的影响因素分析:基于健康信念理论[J]. 中国农村卫生事业管理,2023,43(12):907-912.

[18] 卢丽琴,王晓华,龙文燕,等.我国近年来疫苗犹豫研究进展[J]. 上海预防医学,2023,35(9):928-934.

[19] 关百初,陆佳,梅克雯,等.上海市闵行区 0~6 岁儿童家长非免疫规划疫苗接种决策关键信息及获取途径分析[J]. 中国预防医学杂志,2022,23(5):386-393.

(收稿日期:2024-11-25 修回日期:2025-04-15)

(上接第 2160 页)

[11] JING H B,NING B A,HAO H J,et al. Epidemiological analysis of group A streptococci recovered from patients in China[J]. J Med Microbiol,2006,55(Pt 8):1101-1107.

[12] KHAN R M A,ANWAR S,PIRZADA Z A,et al. Streptococcus pyogenes strains associated with invasive and non-invasive infections present possible links with emm types and superantigens[J]. Iran J Basic Med Sci,2020,23(1):133-139.

[13] 吴双胜,彭晓旻,马春娜,等.北京市猩红热患者 A 组链球菌 M 蛋白基因型别与超抗原基因特征的相关性研究[J]. 中华传染病杂志,2015,33(10):611-614.

[14] LI H,ZHOU L,ZHAO Y,et al. Epidemiological analysis of group A Streptococcus infections in a hospital in Bei-

jing,China[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2020,39(12):2361-2371.

[15] 阴杰莹,张维,杨东靖,等.2012—2016 年天津市猩红热患儿 A 组链球菌病原学特征分析[J]. 中华预防医学杂志,2018,52(10):1045-1049.

[16] 曾婷,王全意,吴琼,等.儿童 A 族 β 溶血链球菌的主要毒力特征[J]. 中华实用儿科临床杂志,2014,29(16):1235-1239.

[17] 彭晓旻,刘爽,杨鹏,等.2011 年北京地区儿童病例 A 组链球菌超抗原基因特征研究[J]. 中华流行病学杂志,2014,35(3):299-302.

(收稿日期:2025-01-27 修回日期:2025-05-20)