

化脓链球菌致中毒性休克综合征临床分析^{*}

宁兴旺,朱惠斌,钱 纯,邓兰平,谢小兵[△]
(湖南中医药大学第一附属医院医学检验中心,长沙 410007)

摘要:目的 了解化脓链球菌致中毒性休克综合征(STSS)的实验室检查特征,为临床诊治和流行病学调查提供参考依据。
方法 回顾性分析 1 例化脓链球菌感染致 STSS 患者的临床诊治经过和实验室检查数据,对分离株进行 emm 基因分型,并检测其常见超抗原基因。
结果 该患者因左脚趾皮肤溃破致左下肢严重感染,并伴多器官功能衰竭及 STSS。伤口分泌物分离出化脓链球菌,对青霉素敏感。分离株为 emm 1.1 型,携带 speA、speC、speK、ssa 和 smeZ 等 5 种超抗原基因。临床采取清创、负压封闭引流技术(VSD)和青霉素联合克林霉素抗感染等综合治疗,患者痊愈出院。
结论 化脓链球菌致 STSS 可引起严重的临床症状,与其携带多种超抗原基因有关。外科治疗和有效抗感染是保证治疗成功的关键。
关键词:化脓链球菌; 中毒性休克综合征; emm 基因; 超抗原
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.008 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)23-3444-03

Analysis of toxic shock syndrome caused by *Streptococcus pyogenes*^{*}
NING Xingwang, ZHU Huibin, QIAN Chun, DENG Lanping, XIE Xiaobing[△]
(Medical Laboratory Center, the First Hospital of Hunan University of
Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: **Objective** To reveal the laboratory characteristics of toxic shock syndrome (STSS) caused by *Streptococcus pyogenes*, and to provide new evidences for clinical diagnosis and epidemiological investigation. **Methods** We retrospectively reviewed a case with STSS caused by *Streptococcus pyogenes*, including the course of diagnosis and therapy, laboratory data, emm genotyping for the isolate, and the superantigen detection. **Results** The patient suffered from a severe infection on the left lower limb due to skin ulceration of her left toes, accompanied by multiple organ failure and STSS. *Streptococcus pyogenes* strains were isolated from the wound secretion; the isolates were sensitive to penicillin. The genotype was emm1.1, carrying genes for superantigens, including speA, speC, speK, ssa and smeZ. The therapeutic strategy for the patient included debridement, vacuum sealing drainage, and penicillin combined with clindamycin for infection control. The symptoms were improved obviously. **Conclusion** The severe clinical symptoms of STSS caused by *Streptococcus pyogenes* may associate with the superantigen gene carried by the isolate. Surgical treatment and infection control may play a vital role in patients whose features similar with this case.
Key words: *Streptococcus pyogenes*; toxic shock syndrome; emm gene; superantigen

化脓链球菌属于 A 群链球菌,能产生多种致病因子,可导致多种疾病,包括急性咽炎、丹毒、脓疱病、软组织感染、心内膜炎等非侵袭性感染,以及猩红热、坏死性筋膜炎和链球菌致中毒性休克综合征(STSS)等侵袭性感染^[1-2]。STSS 主要临床表现为急性多器官功能损害、凝血功能异常及急性呼吸窘迫综合征等。STSS 主要由链球菌表达的各种毒素介导,化脓链球菌引起 STSS 的主要毒力因子包括 M 蛋白及超抗原(speA、speC、speG、speH、speI、speK、speL、speM、ssa、smeZ 等)^[3]。尽管多项研究已经证实 STSS 的发病与其毒力基因有关^[4],但是其发病的确切机制尚不清楚,目前尚无针对性的阻断疾病进展的治疗措施。本研究拟小结 1 例 STSS 患者临床诊治经过和实验室相关检查数据,并分析分离株的毒力基因与疾病的相关性,为临床诊治 STSS 和流行病学研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女性,63 岁,于入院前 2 日(2017 年 6 月 25 日)自觉左脚第二脚趾痒,随意抓挠后皮肤破损,未及时消毒处理。次日晨起,左脚第二脚趾皮肤变黑,破损处有渗液,左脚面稍肿胀,伴疼痛,皮温高。遂于 6 月 26 日上午由家属送至本院皮肤科就诊。约 4 h 后,患者左脚第二脚趾及脚掌前段

皮肤剥脱,其余所有脚趾、脚面及脚踝均发黑、肿胀,疼痛加剧。患者体温 38.6℃,血压 80/53 mm Hg,呼吸急促,痛苦面容,神志较清。于 6 月 26 日下午 6 点转入重症监护病房后,病情进展迅速,左下肢水肿,皮肤张力增高,无捻发音,并多处大面积瘀斑和脓疱,脓疱未破损。临床拟诊:左下肢溃疡、感染中毒性休克、多器官功能衰竭。相关实验室检查结果见表 1。

表 1 患者实验室检查结果(6 月 26 日下午)

项目	结果	参考范围
血细胞分析		
WBC($\times 10^9/L$)	14.4	3.5~9.5
N(%)	94.7	40.0~75.0
L(%)	2.8	20.0~50.0
RBC($\times 10^{12}/L$)	5.58	3.80~5.10
Hb(g/dL)	120.0	115.0~150.0
凝血功能		
PLT($\times 10^9/L$)	92	125~350

^{*} 基金项目:湖南省教育厅科学研究资助项目(17B195)。
作者简介:宁兴旺,男,主管技师,主要从事细菌耐药监测和耐药机制方面的研究。 [△] 通信作者,E-mail:xxiaobing888@163.com。

续表 1 患者实验室检查结果(6 月 26 日下午)		
项目	结果	参考范围
PT(s)	17.3	11.0~14.5
APTT(s)	32.5	28.0~40.0
FIB(g/L)	4.38	2.00~4.00
FDP(mg/L)	6.82	0.00~5.00
D-dimmer(mg/L)	3 777.28	0.00~1.00
生化检查		
ALT(U/L)	34.6	0.0~33.0
Tbil(μ mol/L)	17.9	0.0~21.0
BUN(mmol/L)	10.3	2.86~8.21
Cr(mmol/L)	204.0	45.0~84.0
K ⁺ (mmol/L)	3.26	3.50~5.10
Na ⁺ (mmol/L)	130.0	136.0~145.0
CK(IU/L)	2 290.0	0.0~170.0
Mb(μ g/L)	1 056.0	0.0~70.0
cTnI(ng/mL)	0.03	0.00~0.01
hs-CRP(mg/L)	221.79	0.00~8.50
PCT(ng/mL)	107.15	0.00~0.05
BNP	13 431.0	0.0~125.0
尿液分析		
尿隐血	+++	—
尿蛋白	++	—
尿白细胞酯酶	+++	—
尿病理管型	+	—

注:WBC 表示白细胞计数;N 表示中性粒细胞百分比;L 表示淋巴细胞百分比;RBC 表示红细胞计数;Hb 表示血红蛋白;PLT 表示血小板计数;PT 表示凝血时间;APTT 表示活化部分凝血活酶时间;FIB 表示纤维蛋白原;FDP 表示纤维蛋白原降解产物;D-dimmer 表示 D-二聚体;ALT 表示谷氨酸氨基转移酶;Tbil 表示总胆红素;BUN 表示血尿素氮;Cr 表示肌酐;K⁺表示血钾;Na⁺表示血钠;CK 表示肌酸激酶;Mb 表示肌红蛋白;cTnI 表示肌钙蛋白 I;hs-CRP 表示超敏 C 反应蛋白;PCT 表示降钙素原;BNP 表示 B 型利钠肽

床旁采样细菌涂片结果为“革兰阳性球菌,可见白细胞吞噬现象”,立即行左下肢切开减压并清创,行负压封闭引流术。6 月 27 日上午,多份床旁接种的哥伦比亚血琼脂平板均为同种细菌生长。采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术(MALDI-TOF-MS)鉴定结果为化脓链球菌,药敏试验结果显示对青霉素敏感。临床调整抗感染方案,选用青霉素与克林霉素联用,同时予以护肝、护心、纠正电解质紊乱等积极治疗。6 月 29 日,患者体温下降,多器官功能趋于正常,病情稳定。7 月 1 日,患者转入整形科,行左脚坏死脚趾切除术,进一步清创。8 月 17 日,患者经过两次植皮术后,康复出院。

1.2 菌株鉴定 标本接种哥伦比亚血琼脂平板于 35 ℃,5% CO₂ 孵箱培养 18 h,对纯培养物做革兰染色直接镜检,触酶试验、CAMP 试验、杆菌肽试验;采用法国生物梅里埃公司 Vitek-MS 鉴定菌株;采用 BAK11w 和 BAK2 为引物做 16S rRNA 测序,测序结果通过网站 <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> 进行比对。

1.3 emm 基因检测 采用 <http://www.cdc.gov/streplab/protocol-emm-type.html> 提供引物检测菌株的 emm 基因,PCR 扩增产物测序后通过 ftp://ftp.cdc.gov/pub/infectious_diseases/biotech/tsemmm/ 进行比对,确定 emm 基因型。

1.4 毒力基因检测 检测常见的超抗原基因(speA、speC、speG、speH、speI、speK、speL、speM、ssa、smeZ)、sla 基因、fbp-15 基因。引物设计见表 2。

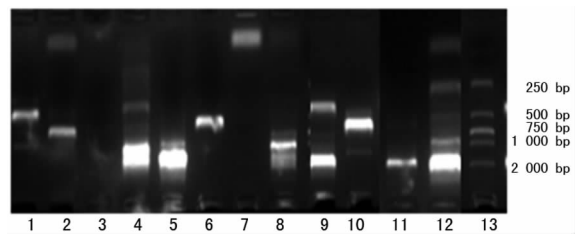
2 结 果

2.1 菌株鉴定结果 哥伦比亚血琼脂平板上可见灰色、不透明、表面光滑、直径约 1.5 mm 的菌落,β 溶血环直径约 4 mm。镜检为革兰阳性球菌,呈链状。触酶阴性,CAMP 试验阴性,杆菌肽敏感,Vitek-MS 鉴定为化脓链球菌。采用 BAK11w 和 BAK2 为引物,该菌株经 16S rRNA 测序证实为化脓链球菌。

2.2 emm 基因分型 于 Genbank 数据库 BLAST 比对结果为 emm1.1 型。

2.3 超抗原基因检测结果 按表 2 设计的引物经 PCR 扩增后,于 5% 琼脂糖凝胶电泳,经分析,本次分离的化脓链球菌携带 speA、speC、spek、ssa、smeZ 等 5 种超抗原基因,见图 1。

表 2 化脓链球菌常见超抗原基因测定引物设计及产物长度			
基因名称	引物 1(5'→3')	引物 2(5'→3')	产物长度(bp)
speA	AGCCAACTTCACAGATCTAGT	TCTAACTTTATAGTCTAATTC	432
speC	TGCTATTTTCATGTATTCTCGT	GTGCCAATTTTCGATTCTGCCG	619
speG	ATTTTGACAATTATCATATTAT	AACTTCATAATGTTTACTATC	570
speH	GTGAATGTCCAGGAAAAAGG	GCATGCTATTAAAGTCTCCATTG	317
speI	AATGAAGGTCCGCCATTTTC	TCTCTCTGTCACCATGTCCTG	516
speK/L	ATCTTTTCATGGGTACG	TTTCATGTTTATTGCC	535
speL/M	GTGTGTCTAATGCCACCGTCT	GGAACATATATGCTCCTAGAT	564
speM	CAGCACCTTCCTCTTTCTCG	GGAAAAAGAGGGACGCAAG	459
smeZ	GGATGAGTGAATAAATCGGTAAAC	AGTCTGGGACGATGATAA	425
ssa	TGGGATCCTTAGAAGTAGATAATA	AAGAATTCTTAGGAGTCAATTTTC	617
sla	CTCTAATAGCATCGGCTACGC	AATGGAAAATGGCACTGAAAG	440
fbp-15	AAAAGGCGATTTGCTGTC	CCCCTAGAGGTGATTGG	180



注:1 表示 speA;2 表示 speC;3 表示 speG;4 表示 speH;5 表示 speI;6 表示 speK;7 表示 speL;8 表示 speM;9 表示 ssa;10 表示 smeZ;11 表示 sla;12 表示 fbp-15;13 表示标记物相对分子质量 2 000

图 1 化脓链球菌超抗原基因 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

3 讨 论

近年来,由化脓链球菌感染导致的死亡在不断增加,尤其是在发展中国家,化脓链球菌感染致死已上升到第 9 位死因^[5-6]。国内关于化脓链球菌的报道,主要集中于对化脓链球菌非侵袭性感染的分子流行病学研究^[7],少见对 STSS 病例及相关毒力基因的报道。

本病例分离的化脓链球菌,来源于伤口,标本直接涂片革兰染色阳性,呈短链状排列。将标本直接涂片革兰染色结果报告给临床,可作为初步报告,临床可调整抗菌药物方案。接种哥伦比亚血琼脂平板经 18~24 h 培养后,可见黏液型菌落生长,经 Vitek-MS 鉴定为化脓链球菌 *S. pyogenes*,及时建议临床依据《热病——桑德福抗微生物治疗指南(第 44 版)》调整抗菌药物方案,使用青霉素联合克林霉素抗感染治疗。质谱鉴定的准确性和高效性,缩短了鉴定结果报告的时间,为及早地针对性抗菌治疗发挥了至关重要的作用。

M 蛋白是化脓链球菌的主要毒素之一,具有抗吞噬作用及介导细菌黏附宿主细胞的功能。目前,根据编码 M 蛋白的 emm 基因分型,化脓链球菌有 200 多个型。emm 基因型的流行有地域特点,在欧美等发达国家,主要以 emm1、emm12、emm28、emm3、emm4 为主,而在非洲等欠发达国家,主要以 emm12、emm75、emm74、emm1、emm3 为主^[7]。从全球来看,由化脓链球菌引起的侵袭性感染,主要以 emm1、emm3、emm12、emm24 为主^[8]。国内由化脓链球菌引起的非侵袭性感染如扁桃体炎等,主要以 emm1、emm12、emm24 为主^[9-10],引起 STSS 的分离株主要以 emm1、emm3、emm12 和 emm24 为主,偶见 emm89 型引起感染的报道^[11]。本病例分离的化脓链球菌为 emm 1.1 型,是国内引起侵袭性感染常见的基因型^[10]。

现有研究发现,化脓链球菌产生的超抗原共有 11 种^[12]。超抗原是由化脓链球菌感染的重要致病因素,其主要功能是能够同时与抗原递呈细胞的 MHC II 分子和 T 细胞受体同时结合,从而启动免疫应答^[13]。本研究分离的化脓链球菌同时携带了 speA、speC、speK、ssa、smeZ 等 5 种超抗原基因,是 emm 1.1 型常见的毒力基因型^[12]。由此推断,本病例由化脓链球菌引起 STSS,并伴随复杂的软组织感染和坏死,以及多器官功能衰竭,与 M 蛋白及超抗原关系密切。

有研究报道,由化脓链球菌引起的 STSS 致死率可达 50% 以上^[14]。综合分析本病例治疗成功的关键因素,由伤口感染化脓链球菌引起的 STSS,尽早选择外科清创及 VSD 引流术,依据病原学报告选择合适的药物抗感染治疗,是避免患者死亡的关键。

参考文献

[1] Ralph AP, Carapetis JR. Group a streptococcal diseases

and their global burden[J]. Current Topics Microbiology Immunology, 2013, 368(1): 1-27.

[2] Henningham A, Barnett TC, Maamary PG, et al. Pathogenesis of group A streptococcal infections[J]. Discovery Medicine, 2012, 13(72): 329-342.

[3] Lamagni TL, Darenberg J, Luca-Harari B, et al. Epidemiology of severe Streptococcus pyogenes disease in Europe [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(7): 2359-2367.

[4] Nelson GE, Pondo T, Toews KA, et al. Epidemiology of Invasive Group A Streptococcal Infections in the United States, 2005—2012[J]. Clin Infect Dis, 2016, 63(4): 478-486.

[5] Sosa ME. Group A Streptococcal Infection in Pregnancy and the Puerperium[J]. J Perinat Neonatal Nurs, 2016, 30(2): 124-130.

[6] WHO. The current evidence for the burden of group A streptococcal diseases [R]. WHO: Geneva, Switzerland; 2005.

[7] Steer AC, Magor G, Jenney AW, et al. emm and C-repeat region molecular typing of beta-hemolytic streptococci in a tropical country; implications for vaccine development[J]. J Clin Microbio, 2009, 47(8): 2502-2509.

[8] Ekelund K, Darenberg J, Norrby-Teglund A, et al. Variations in emm type among group A streptococcal isolates causing invasive or noninvasive infections in a nationwide study[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(7): 3103-3109.

[9] Wang H, Ye L, Yu L, et al. Performance of sequential organ failure assessment logistic organ dysfunction and multiple organ dysfunction score in severe sepsis within Chinese intensive care units [J]. Anaesth Intensive Care, 2011, 39(1): 55-60.

[10] Lu B, Fang Y, Fan Y, et al. High Prevalence of Macrolide-resistance and Molecular Characterization of Streptococcus pyogenes Isolates Circulating in China from 2009 to 2016[J]. Front Microbiol, 2017, 8: 1052.

[11] 王澎, 杨启文, 周翔, 等. 成人酿脓链球菌导致中毒休克综合征临床分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(10): 2251-2253.

[12] Proft T, Fraser JD. Streptococcal Superantigens: Biological properties and potential role in disease[M]. Oklahoma City: University of Oklahoma Health Sciences Center, 2016.

[13] Lamb LE, Sriskandan S, Tan LK. Bromine, bear-claw scratch fasciotomies, and the Eagle effect: management of group A streptococcal necrotising fasciitis and its association with trauma[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(1): 109-121.

[14] Pandey M, Good MF. The quest for GAS vaccine[J]. Onco-target, 2015, 6(33): 34063-34064.

(收稿日期: 2017-05-12 修回日期: 2017-08-03)