

• 临床检验研究论著 •

梅州市首次 C 群流行性脑脊髓膜炎聚集性病例病原学分析

陈志青¹, 刘美真², 蔡芳华¹, 曾丽珍¹, 古汉福³, 肖胜传¹

(1. 梅州市疾病预防控制中心, 广东梅州 514071; 2. 广东省疾病预防控制中心, 广东广州 510300; 3. 梅州市人民医院, 广东梅州 514031)

摘要:目的 对梅州市首次 C 群流行性脑脊髓膜炎(流脑)聚集性病例进行病原学分析。方法 对梅州市首次 C 群流脑聚集性病例进行流行病学调查, 标本采集, 菌株分离、鉴定、血清学分群及药物敏感性检测, 并进行多位点序列分型(MLST)分析。结果 梅州市首次从 2 例流脑病例中分离到 2 株 C 群脑膜炎奈瑟菌(Nm), 第 2 例病例脑脊液标本 PCR 检测出 C 群 siaD 基因阳性。第 2 例及 17 例密切接触者咽拭子标本均未检出脑膜炎奈瑟菌。菌株对环丙沙星、茶啉酸、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑耐药, 但对头孢噻肟、头孢曲松、美罗培南、阿奇霉素、咪诺霉素、氯霉素、利福平、青霉素、氨苄西林敏感。首例患者分离菌株 MLST 分型为 ST-4821 型。结论 此为近年梅州市首次报告的 C 群流脑聚集性疫情, 提示应加强对 C 群奈瑟菌的监测, 密切关注 C 群流脑的发病及流行趋势。

关键词: 脑膜炎, 脑膜炎球菌性; 聚合酶链反应; 奈瑟球菌, 脑膜炎, 血清 C 群

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)13-1662-02

Etiological analysis of the first gathered cases of epidemic cerebrospinal meningitis caused by serogroup C neisseria meningitis in Meizhou city

Chen Zhiqing¹, Liu Meizhen², Cai Fanghua¹, Zeng Lizhen¹, Gu Hanfu³, Xiao Shengchuan¹

(1. Center for Disease Control and Prevention of Meizhou City, Meizhou, Guangdong 514071, China;

2. Center for Disease Control and Prevention of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510300, China;

3. People's Hospital of Meizhou City, Meizhou, Guangdong 514031, China)

Abstract: Objective To analyze the etiology of first gathered cases of epidemic cerebrospinal meningitis (ECM) caused by serogroup C neisseria meningitis (Nm) in Meizhou city. **Methods** The first gathered cases of serogroup C ECM in Meizhou city were analyzed by epidemiological investigation, specimens collecting, strains isolation, identification, serological grouping, antimicrobial susceptibility test and Multilocus sequence typing (MLST). **Results** Two serogroup C Nm strains were isolated from two cases in Meizhou city first. Nothing isolated from the second case and 17 close contacts. PCR identified siaD(C) gene was positive from the second case cerebrospinal fluid. The strain resistant to ciprofloxacin, nalidixic acid, trimethoprim/sulfamethoxazole, but sensitive to cefotaxime, ceftriaxone, meropenem, azithromycin, cefminox, chloramphenicol, rifampin, penicillin and ampicillin. MLST of the first strain was type ST-4821. **Conclusion** This is the first gathered cases of ECM caused by serogroup C Nm in Meizhou city. Serogroup C Nm monitoring, serogroup C ECM incidence and prevalence trend should be strengthened.

Key words: meningitis, meningococcal; polymerase chain reaction; neisseria meningitidis, serogroup C

流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)是由脑膜炎奈瑟菌(Nm)引起的急性呼吸道传染病,其主要临床表现为突发高热、剧烈头痛、频繁呕吐、皮肤黏膜瘀点、瘀斑及脑膜刺激征,严重者可有败血症休克和脑实质损害,危及生命。根据荚膜多糖可将 Nm 分为 A、B、C 等 13 个血清群,以往中国流行菌株以 A 群为主,但近些年 B 群和 C 群有增多趋势,个别省份发生过 C 群引起的局部流行^[1]。

近年来梅州市流脑发病率均维持在较低水平,但散发疫情和局部暴发仍时有发生。2012 年 1 月梅州市某学校发生一起 3 例流脑的聚集性疫情,根据流行病学特征、临床表现、实验室检测结果,按照《全国流行性脑脊髓膜炎监测方案》判断为一起 C 群流脑聚集性病例,这是梅州市近年首次报告 C 群流脑。现将病原学分析情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 3 例病例(首例病例温××,男,14 岁,初二<12>班学生,2012 年 1 月 7 日发病;第 2 例,梁×,男,13 岁,初一<10>班学生,1 月 9 日发病;第 3 例,陈×,男,14 岁,初一<10>班学生,1 月 12 日发病)脑脊液标本、血液标本及培养物。17 例密切接触者(同班、同宿舍者)咽拭子标本。患者脑脊液

进行乳胶凝集试验(乳胶凝集试验方法按产品说明书进行)、PCR 检测;脑脊液及血培养物直接接种血平板进行分离培养;分离到的患者菌株纯化培养后进行生化鉴定、血清分型、多位点序列分型(MLST)分析和药敏分析。密切接触者咽拭子标本直接接种在 5% 羊血巧克力平板,放置 5% CO₂, 37 ℃ 培养 48 h,观察平板菌落生长,挑取平板上可疑菌落进行鉴定。

1.2 试剂 分离培养用 5% 羊血巧克力平板,购自广东环凯微生物科技有限公司;诊断血清购自 REMEL 公司;API NH 生化鉴定条购自法国梅里埃公司;乳胶凝集试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司;Premix Taq DNA 聚合酶购自宝生物工程(大连)有限公司;基因组 DNA 提取及纯化试剂盒购自荷兰 Qia-gen 公司;药敏纸片购自英国 Oxiod 公司;E-test 纸片购自瑞典 AB Biodisk 公司;流脑分群鉴定 PCR 引物、MLST 分型 7 个管家基因 PCR 引物均由上海生工公司合成。

1.3 检测方法

1.3.1 PCR 检测 首例患者菌株悬液及第 2、3 例患者脑脊液按试剂盒说明书提取 DNA, -30 ℃ 冰箱保存待检。SiaD (C) 基因引物系列: siaD(C)-F 5'-TCA AAT GAG TTT GCG AAT AGA AGG T-3', SiaD(C)-R 5'-CAA TCA CGA TTT

GCC CAA TTG AC-3'。扩增及检测条件:92 ℃ 30 s,55 ℃ 40 s,72 ℃ 30 s,37 个循环。PCR 反应产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,6 V/cm,1 000 bp DNA Ladder 作参照。

1.3.2 MLST 分型 7 个基因分别是:abcZ、adk、aroE、fumC、gdh、pdhC 及 pgm,参照 PubMLST(www. pubmlst. org)公布的 N. meningitis 标准方案进行,循环条件:94 ℃ 2 min,94 ℃ 45 s,58 ℃ 45 s,72 ℃ 60 s,29 个循环;72 ℃ 5 min。PCR 产物委托华大基因有限公司进行测序。7 个基因测序结果与 PubMLST 数据库进行比对,获得各基因位点的等位基因数值,并形成相应的等位基因谱,判断其序列型(ST)。

1.3.3 药敏检测 根据 2011 年 1 月美国临床实验室标准化协会(CLSI)制定的 Nm 药敏标准 M02 及 M07 对菌株进行体外药敏试验。选取的抗菌药物为头孢噻肟、头孢曲松、美罗培南、阿奇霉素、咪诺霉素、环丙沙星、萘啶酸、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、氯霉素、利福平、青霉素和氨苄西林。对青霉素和氨苄西林采用 E-test 法测定最低抑菌浓度(MIC),对余抗菌素采用纸片法测定。

2 结 果

2.1 分离培养与鉴定结果 首例病例从血液标本培养出脑膜炎奈瑟菌,第 3 例病例从脑脊液培养出脑膜炎奈瑟菌各 1 株,经常规鉴定,均为 C 群脑膜炎奈瑟菌。第 2 例及 17 例密切接触者咽拭子标本均未检出脑膜炎奈瑟菌。第 2 例、第 3 例病例脑脊液标本,乳胶凝集试验 C 群呈强阳性。首例病例的培养菌株送广东省疾病预防控制中心微检所作进一步确认和分型。

2.2 PCR 检测结果 首例病例分离株 DNA 提取物经 PCR 检测,Nm 属特异性 crgA 基因及 C 群 siaD 基因均为阳性。第 2 例、第 3 例病例脑脊液标本 DNA 提取物 PCR 检测 C 群 siaD 基因均阳性。

2.3 MLST 分析结果 首例病例分离株成功扩增出流脑 7 个看家基因 abcZ、adk、aroE、fumC、gdh、pdhC 及 pgm。7 个看家基因测序结果与 PubMLST 数据库进行比对,获得各看家基因位点的等位基因数值分别为 222、3、58、275、30、5 及 255,为 ST-4821 型,属于 ST-4821 COMPLEX 克隆系。

2.4 药敏检测结果 根据 2011 年美国 CLSI 抗微生物药物敏感性试验的 Nm 抑菌环直径解释标准和相对应 MIC 折点值进行判断,两株病人分离株对头孢噻肟、头孢曲松、美罗培南、阿奇霉素、咪诺霉素、氯霉素、利福平、青霉素、氨苄西林敏感。E-test 法测定,两株菌青霉素的 MIC 均为 0.023 μg/mL,氨苄西林的 MIC 均为 0.023 μg/mL。但两株菌对环丙沙星、萘啶酸、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑均耐药。

3 讨 论

本次疫情在 1 周内同一学校里共发生 3 例病例,从第 1 例

病例血液、第 3 例病例脑脊液标本中分别分离出 C 群 Nm;第 2 例患者未分离到菌株,但脑脊液 DNA 提取物 PCR 检测,C 群 siaD 基因也为阳性。根据流行病学调查及实验室检测结果,确认为近年梅州市首次报告的 C 群流脑聚集性疫情。

菌株 MLST 分型结果显示,梅州市报告的首例 C 群 Nm 为 ST-4821 型,与安徽省的流行菌株一致^[2]。随着 2005 年 ST-4821 克隆系在安徽出现暴发,全国多个省市陆续出现发病情况^[3],因此在今后的流脑防控工作中,应引起高度重视。

本次的分离菌株对环丙沙星、奈啶酸、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑产生不同程度耐药,与浙江省报道的相一致^[4],但对头孢噻肟、头孢曲松、美罗培南、阿奇霉素、咪诺霉素、氯霉素、利福平、青霉素、氨苄西林敏感。流脑病人菌株、健康携带者菌株可表现出不同的耐药性特征,在选择抗菌药物进行流脑病人治疗以及流脑流行季节人群预防性服药时,应分别对流脑病人、健康人群菌株进行药物敏感性监测,以提高药物治疗、预防性服药的敏感性和针对性^[5]。

研究显示,广东省流脑患者及健康人群携带菌株中,C 群、B 群流脑菌株的比例呈上升趋势,流脑流行菌群正在发生从 A 群到 C 群、B 群的变化^[6]。鉴于人群对 C 群 Nm 普遍易感,存在 C 群流脑流行或暴发的可能,应加强对 C 群 Nm 的监测,密切关注 C 群流脑的发病及流行趋势,及早采取 A+C 群流脑疫苗接种为主的综合措施加以预防^[7]。

参 考 文 献

- [1] 李军宏,王晓军,梁晓峰.我国流行性脑脊髓膜炎的流行概况与预防控制[J]. 疾病监测,2005,20(4):169-170.
- [2] Shao Z J, Li W, Ren J, et al. Identification of a new Neisseria meningitis serogroup C clone from Anhui province, China[J]. Lancet, 2006,367(9508):419-423.
- [3] 邓小玲,管大伟,黎薇,等. MLST 分型技术应用于脑膜炎奈瑟菌的分子流行病学研究[J]. 华南预防医学,2008,34(3):10-14.
- [4] 朱水荣,徐宝祥,张政,等. 浙江省 2005~2007 年流行性脑脊髓膜炎病原学监测及分子分型研究[J]. 中国疫苗和免疫,2008,14(6):489-493.
- [5] 徐丽,邵祝军,李马超,等. 脑膜炎奈瑟菌对 12 种抗菌药物体外敏感性检测[J]. 中国计划免疫,2006,12(1):53-55.
- [6] 刘美真,柯昌文,张万里,等. 广东省流行性脑脊髓膜炎流行菌群变化趋势分析[J]. 国际医药卫生导报,2012,18(8):1057-1060.
- [7] 李漫时,宋立志,肖作奎,等. 山东省首例 C 群流行性脑脊髓膜炎死亡病例病原学分析[J]. 中国疫苗和免疫,2008,14(6):499-500.

(收稿日期:2012-12-01)

(上接第 1661 页)

- [7] Lofrus JM, Naylor AR, Goodalls, et al. Increase Matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques: A potential role in acute plaque disruption[J]. stroke,2000,31(1):40-47.
- [8] 吕连智,韩春华,杨文东. 急性脑梗死患者血清 MMP-9、NSE 和 S-100B 蛋白水平变化及临床价值的研究分析[J]. 实用心脑血管病杂志,2012,20(6):977-978.
- [9] 朱卫香,刘彦敏,韩亚军,等. 缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、Hs-CRP 与脑梗死体积及神经功能缺损的关系[J]. 神经内分泌与免疫,2012,04:341-343.

- [10] 罗小春,万梅珍,韦国强,等. 脑梗死患者血清中 MMP-9 表达的临床意义[J]. 浙江临床医学,2009,11(11):1157-1159.
- [11] 朱焰,裴红霞,戴金洪. MMP-9、TIMP-1 水平与急性脑梗死关系的研究[J]. 实用预防医学,2009,16(6):1892-1894.
- [12] Mnotaner J, Aivare Z, Sabin J, et al. Matirx metlaloperteinase expression is related to hemorrhagic transfomation after cardioembolic stroke[J]. Stroke,2001,32(12):2762-2766.

(收稿日期:2012-12-08)