

解没食子酸链球菌感染研究进展

朱聪智¹, 黄洁², 贾小强³

1. 兰州石化总医院检验科, 甘肃 兰州 730060; 2. 兰州石化总医院超声科, 甘肃 兰州 730060;
3. 天水市第三人民医院检验科, 甘肃 天水 741000

关键词: 解没食子酸链球菌; 牛链球菌/马链球菌复合群; 感染

中图分类号: R 378.1+2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)05-0713-03

解没食子酸链球菌 (*Streptococcus gallolyticus*) 属于 D 族链球菌, 早年研究主要针对其生物学分类的争议, 近几年来对其所引起的临床感染案例及感染途径研究在不断增加和深入。鉴于国内尚无其综述性报告, 现就解没食子酸链球菌的生物学分类、表型特征、分子生物学特点、引起临床感染及感染机制最新研究情况综述如下。

1 解没食子酸链球菌生物学分类

1.1 解没食子酸链球菌命名史 解没食子酸链球菌归属于牛链球菌 (*Streptococcus bovis*) 或称为牛链球菌/马链球菌复合群 (*Streptococcus bovis/Streptococcus equinus complex*), 它的生物学分类史是相当复杂的: 早在 30 年前, Coykendall^[1]、Ruoff^[2] 等报道, 依据生物表型不同, 将从人类分离的牛链球菌分为 I 型和 II 型, 区别在于能否发酵甘露醇: 能发酵甘露醇的菌株称生物 I 型, 不能发酵甘露醇的菌株称生物 II 型; 而生物 II 型又分为生物型 II/1 和生物型 II/2: 即将甘露醇阳性和 β-葡糖苷酸酶 (β-glucuronidase) 阴性、α-半乳糖苷酶阳性的菌株称牛链球菌生物 II/1 型; 将甘露醇阴性、β-葡糖苷酸酶和 β-甘露糖苷酶 (β-mannosidase) 阳性的菌株称牛链球菌生物 II/2 型。1990 年 Osawa^[3] 研究发现从树袋熊的排泄物中分离出一种牛链球菌, 能产生单宁酶, 将单宁脱羧而成为没食子酸, 称其为解没食子酸链球菌。随后, 1994 年 Brooker 等研究发现, 在一种野生山羊的瘤胃内分离到一种新的牛链球菌, 也能降解单宁酸, 并命名为羊链球菌 (*Streptococcus caprinus*)。然而, 羊链球菌和解没食子酸链球菌被证实是同一种菌, 而解没食子酸链球菌拥有命名优先权^[4], 故此能降解单宁酸的牛链球菌统一称为解没食子酸链球菌。

1.2 解没食子酸链球菌的亚种 1995 年 Osawa 建议, 依据 DNA 杂交结果, 从人类分离出的牛链球菌生物 I 型和生物 II/2 型都归属于解没食子酸链球菌。最终根据细菌生化特性、DNA-DNA 相关性以及 16sRNA 的序列, Schlegel 等^[5] 建议, 将解没食子酸链球菌分为三个亚种, 即: 解没食子酸亚种 (*S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*)、马其顿亚种 (*S. gallolyticus* subsp. *macedonicus*)、巴氏亚种 (*S. gallolyticus* subsp. *pasteuricus*); 其中解没食子酸亚种是以前的牛链球菌生物 I

型, 巴氏亚种是以前的牛链球菌生物 II/2 型, 而以前称之为牛链球菌生物 II/1 型的菌种命名为婴儿链球菌 (*S. infantarius*), 包括婴儿亚种 (*S. infantarius* subsp. *infantarius*) 和结肠亚种 (*S. infantarius* subsp. *coli*)。目前基本采用上述的分类及命名方法。

2 解没食子酸链球菌表型特征

解没食子酸链球菌三个亚种的表型特征见表 1。

表 1 解没食子酸链球菌各亚种的表型特征

特征	解没食子酸链球菌	解没食子酸链球菌马其顿亚种	解没食子酸链球菌巴氏亚种
	解没食子酸亚种	顿亚种	亚种
在爱德华平板变灰/黑在 Slanetz 平板的颜色	- 粉色	- 粉色	- 粉色
生化实验			
七叶苷	+	-	+
没食子酸盐	+	-	-
α-半乳糖苷酶	+	V	V
β-葡糖苷酶	+	-	+
β-葡糖苷酸酶	-	-	+
β-半乳糖苷酶	-	+	-
β-甘露糖苷酶	V	-	+
V-P 反应	+	+	+
产酸			
淀粉	+	+	-
D(-)-甘露醇	+	-	-
D(+)-糖原	+	-	-
L(+)-阿拉伯糖	-	-	-
乳糖	+	+	+
海藻糖	+	-	+
菊糖	+	-	-
甲基 β-D-吡喃葡萄糖苷	+	-	+
棉子糖	+	-	V

注: “V”为 11%~89% 菌株阳性。

3 解没食子酸链球菌的分子生物学特征

解没食子酸链球菌的亚种鉴定通常用 16srRNA 基因测序鉴定^[6], 采用的 PCR 扩增引物多为 27F (5' = -AGAGTTTGATC-MTGGCTCAG-3') 和 1492R (5' = -TACGGYTACCTTGT-TACGACTT-3')。建议采用的 PCR 程序是 94℃ 5 min, 94℃ 10 s, 55℃ 20 s, 72℃ 90 s, 扩增 30 个循环后, 最终的扩增阶段是 72℃ 10 min。解没食子酸链球菌各亚种 16srRNA 测序的比较列表如下 (表 2)^[7]。也有学者提出在区分鉴定牛链球菌复

合群/马链球菌复合群时, *sodA* 基因比 16srRNA 的基因测序区分能力更强^[8], 故亦有研究采用 *sodA* 基因用作解没食子酸链球菌的亚种区分。

表 2 解没食子酸链球菌各亚种 16sRNA 比较

参考菌株	来源	菌株	序列号
解没食子酸链球菌			
解没食子酸亚种	考拉	ACM3611T	X94337
解没食子酸链球菌马其顿亚种		CCUG 39970T	Z94012
解没食子酸链球菌巴氏亚种	人	CIP107122 T	AF429764
解没食子酸链球菌	山羊	ACM3970	Y10867
解没食子酸链球菌	人和反刍动物	ATCC43143	AF104114
马其顿链球菌	人		AF459431
巴氏链球菌	未知	NEM1205	AJ297217
巴氏链球菌	未知	NEM1202	AJ297216

4 解没食子酸链球菌引起的临床感染

解没食子酸链球菌能引起多种感染, 通常不同亚种引起的感染也不尽相同。近几年多个国家解没食子酸链球菌引起的个案报道逐渐增多, 应予以关注。

4.1 解没食子酸链球菌解没食子酸亚种相关感染 2009 年, Akahane 等^[9]报道了日本第一例由解没食子酸链球菌巴氏亚种引起的腹膜炎, 该病人最初因腹痛入院, CT 检查有腹水和胀气行急诊手术, 并在腹水培养中检出以解没食子酸链球菌巴氏亚种为主的大肠埃希菌、弗劳第枸橼酸杆菌、多形拟杆菌复合菌群, 最终使用氟氧头孢治愈。2013 年, Su 等^[10]报道了中国第一例由解没食子酸链球菌巴氏亚种引起的脾脓肿, 该患者同时患有胰腺癌, 在血液首先检出解没食子酸链球菌巴氏亚种, 先使用了哌拉西林他唑巴坦、阿奇霉素, 后又使用了亚胺培南、万古霉素, 并进行了超声内镜引导下的经皮穿刺置管引流术, 在排出的脾脓肿脓液抽取物亦检出解没食子酸链球菌巴氏亚种, 患者在几次经皮穿刺置管引流术后拒绝抗生素治疗和化疗, 最终于 6 个月后离世。2014 年, Gómez-Alonso 等^[11]报道了西班牙第一例由巴氏亚种引起的脾脓肿相关菌血症。巴氏亚种亦可引起罕见的新生儿败血症感染^[12]。另有研究表明解没食子酸链球菌巴氏亚种还可引起脑膜炎、尿路感染和痔疮等^[13-14]。同时近期研究表明, 巴氏亚种是肝胆疾病的指标^[15]。

4.2 解没食子酸链球菌解没食子酸亚种相关感染 动物和人类均可分离到解没食子酸链球菌解没食子酸亚种, 而两者大相径庭^[16], 其对动物引起的感染常见于如乳腺炎、家禽败血症、乳酸酸中毒等^[17-18]。解没食子酸亚种是人类肠胃中的正常菌落, 有 2.5%~15% 的健康人体内携带该菌^[19-20], 然而它亦是人体机会致病菌, 能引起包括败血症和心内膜炎等的多种感染。近期研究表明, 24% 的链球菌感染性心内膜炎都是由解没食子酸链球菌解没食子酸亚种引起^[21]。除此之外, 有研究表明结肠直肠癌 (CRN) 与解没食子酸链球菌解没食子酸亚种感染之间有很强的联系^[22]。西班牙 Lucus Augusti 大学的研究人员进行了一项病例对照研究以对菌血症与 CRN 之间的联系做出评估^[23]。研究者对 1988 至 2011 年所有的解没食子酸链球菌解没食子酸亚种菌血症进行分析。结果显示

共 109 例 CRN 患者被诊断为解没食子酸亚种菌血症患者。与 196 例对照组人群相比, 解没食子酸亚种菌血症患者的 CRN 流行率更高。研究人员由此得出结论, 与存在症状的年龄匹配的对照人群相比, 解没食子酸亚种感染患者人群中 CRN 的流行率有显著性的增加, 这预示着解没食子酸亚种感染可以作为一种潜在恶性肿瘤发生的强指示因子。最新研究表明, 解没食子酸亚种与脾脏疾病有关。

4.3 解没食子酸链球菌马其顿亚种 解没食子酸链球菌马其顿亚种通常用于乳制品制作和植物性食物发酵, 目前普遍认为其是安全的, 不具备毒性, 然而鉴于该菌与有毒力的种有很近的亲缘关系, 故该菌在食品行业的应用还是严格控制的^[24]。

5 解没食子酸链球菌的感染机制

解没食子酸链球菌获得性致病力研究发现, 解没食子酸链球菌有基因岛 (GI), 该结构可通过水平基因传递从其他链球菌那里得到一些耐药基因或者毒力基因^[24]。对强毒株而言基因岛通常编码毒力因子, 而对用于食物发酵的解没食子酸链球菌菌株而言基因岛编码与发酵起关键作用的因子。以现在研究较为透彻的解没食子酸亚种为例, 解没食子酸亚种常与有潜在致病力的细菌共存, 如无乳链球菌、肠球菌等。在人类的肠胃或者反刍动物的瘤胃里解没食子酸亚种可与这些链球菌通过噬菌体、质粒或转座子等水平基因转移耐药基因或基因岛等^[25]。有研究表明解没食子酸链球菌还可产生功能刺激肽^[26]。上述因素能够促进获得新基因, 抵抗岛或毒力相关区域^[27], 当有多个种群共生于生物膜时上述因素的促进作用更强^[28]。研究证实解没食子酸亚种有“微生物表面成分相认矩阵分子”MSCRAMM 特征体, 包括一个胶原蛋白捆绑的粘附素和菌毛亚基样蛋白^[20]。目前的研究已经能够做到在聚苯乙烯表面为解没食子酸亚种形成生物膜, 然而对其转递和插入的机制还不甚了解^[29-31]。体外研究表明解没食子酸亚种粘附和入侵与胞外基质蛋白、毒力相关蛋白有关^[32-33], 也解释了该菌怎样生物合成荚膜多糖和菌毛样结构^[34]。

综上所述, 解没食子酸链球菌有特定的感染机制, 但仍在进一步研究中。其不仅可用作食品发酵, 亦可引起动物感染, 在临床上是机会感染致病菌, 不同的亚种可引起不同感染性疾病, 包括菌血症、感染性心内膜炎、结肠/直肠癌、腹膜炎、尿路感染等。临床标本分离出的解没食子酸链球菌较为罕见但不容忽视, 目前报道的临床分离菌株应用较先进的 VITEK-MS 质谱仪可以鉴定到种, 一般采用基因测序方法可鉴定到亚种, 望临床医生和临床微生物实验室重视该菌的分离。

参考文献

- [1] Coykendall A. Classification and identification of the viridans streptococci [J]. Clin Microbiol Rev, 1989, 2(3): 315-328.
- [2] Ruoff KL, Miller SI, Garner CV, et al. Bacteremia with Streptococcus bovis and Streptococcus salivarius: clinical correlates of more accurate identification of isolates [J]. J Clin Microbiol, 1989, 27(2): 305.

- [3] Osawa R. Formation of a clear zone on tannin-treated brain heart infusion agar by a *Streptococcus* sp. isolated from feces of koalas[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56(3): 829 – 831.
- [4] Sly LI, Cahill MM, Osawa R, et al. The tannin-degrading species *Streptococcus gallolyticus* and *Streptococcus caprinus* are subjective synonyms[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1997, 47(3): 893 – 894.
- [5] Schlegel L, Grimont F, Ageron E, et al. Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species; description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov., and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* subsp. nov. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003, 53(Pt 3): 631 – 645.
- [6] Collins MD, Hutson RA, Falsen E, et al. *Streptococcus gallinaceus* sp. nov., from chickens[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002, 52(Pt 4): 1161 – 1164.
- [7] Chadfield MS, Christensen JP, Decostere A, et al. Geno-and Phenotypic Diversity of Avian Isolates of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* (*Streptococcus bovis*) and associated diagnostic problems[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(3): 822 – 827.
- [8] Romero B, Morosini MI, Loza E, et al. Reidentification of *Streptococcus bovis* isolates causing bacteremia according to the new taxonomy criteria; still an issue? [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(9): 3228.
- [9] Akahane T, Takahashi K, Matsumoto T, et al. A case of peritonitis due to *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus* [J]. *Kansenshogaku Zasshi*, 2009, 83(1): 56 – 59.
- [10] Su Y, Miao B, Wang H, et al. Splenic abscess caused by *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus* as presentation of a pancreatic cancer[J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(12): 4249 – 4251.
- [11] Gómez-Alonso B, Jiménez-Delgado JD, Tenorio-Abreu A, et al. Splenic abscess related to *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus* bacteremia. First case report in Spain[J]. *Rev Esp Quimioter*, 2014, 27(3): 222 – 224.
- [12] Diehl R, Cottin X, Pérouse de Montclos M, et al. Neonatal bacteremia due to *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus*. *Pasteurianus* [J]. *Arch Pediatr*, 2010, 17(11): 1594 – 1595.
- [13] Nagamatsu M, Takagi T, Ohyanagi T, et al. Neonatal meningitis caused by *Streptococcus gallolyticus* subsp. *Pasteurianus*[J]. *J Infect Chemother*, 2012, 18(2): 265 – 268.
- [14] Smith AH, Sra HK, Bawa S, et al. *Streptococcus bovis* meningitis and hemorrhoids[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(7): 2654 – 2655.
- [15] Gómez-Garcés JL, Gil Y, Burillo A, et al. Diseases associated with bloodstream infections caused by the new species included in the old *Streptococcus bovis* group[J]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2012, 30(4): 175 – 179.
- [16] De Herdt P, Haesebrouck F, Devriese LA, et al. Biochemical and antigenic properties of *Streptococcus bovis* isolated from pigeons[J]. *J Clin Microbiol*, 1992, 30(9): 2432 – 2434.
- [17] Sasaki E, Osawa R, Nishitani Y, et al. ARDRA and RAPD analyses of human and animal isolates of *Streptococcus gallolyticus*[J]. *J Vet Med Sci*, 2004, 12(11): 1467 – 1470.
- [18] Baele M, Vanrobaeys M, Vanechoutte M, et al. Genomic fingerprinting of pigeon *Streptococcus gallolyticus* strains of different virulence by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis[J]. *Vet Microbiol*, 2000, 71(1/2): 103 – 111.
- [19] Burns CA, McCaughey R, Lauter CB. The association of *Streptococcus bovis* fecal carriage and colon neoplasia; possible relationship with polyps and their premalignant potential[J]. *Am J Gastroenterol*, 1985, 80(1): 42 – 46.
- [20] Klein RS, Recco RA, Catalano MT, et al. Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon [J]. *N Engl J Med*, 1977, 297(15): 800 – 802.
- [21] Sillanpää J, Nallapareddy SR, Singh KV, et al. Adherence characteristics of endocarditis – derived *Streptococcus gallolyticus* ssp. *gallolyticus* (*Streptococcus bovis* biotype I) isolates to host extracellular matrix proteins[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2008, 289(1): 104 – 109.
- [22] Arzanauskienė R, Zabiela P, Sakalnikiene M. *Streptococcus bovis* endocarditis – predictor of colonic carcinoma? [J]. *Medicina (Kaunas)* 2003, 39(2): 174 – 176.
- [23] Corredoira-Sánchez J, García-Garrote F, Rabuñal R, et al. Association between bacteremia due to *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* (*Streptococcus bovis* I) and colorectal neoplasia; a case-control study[J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 55(4): 491 – 496.
- [24] Jans C, Meile L, Lacroix C, et al. Genomics, evolution, and molecular epidemiology of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex (SBSEC) [J]. *Infect Genet Evol*, 2015, 33: 419 – 436.
- [25] Kelly BG, Vespermann A, Bolton DJ. Gene transfer events and their occurrence in selected environments[J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(5): 978 – 983.
- [26] Ichihara H, Kuma K, Toh H. Positive selection in the ComC-ComD system of *Streptococcal* Species [J]. *J Bacteriol*, 2006, 188(17): 6429 – 6434.
- [27] Davison J. Genetic exchange between bacteria in the environment [J]. *Plasmid*, 1999, 42(2): 73 – 91.
- [28] Li YH, Lau PC, Lee JH, et al. Natural genetic transformation of *Streptococcus mutans* growing in biofilms[J]. *J Bacteriol*, 2001, 183(3): 897 – 908.
- [29] Hacker J, Carniel E. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity. A Darwinian view of the evolution of microbes [J]. *EMBO Rep*, 2001, 2(5): 376 – 381.
- [30] Vollmer T, Hinse D, Kleesiek K, et al. Interactions between endocarditis-derived *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* isolates and human endothelial cells[J]. *BMC Microbiol*, 2010, 10: 78.
- [31] Bellanger X, Roberts AP, Morel C, et al. Conjugative transfer of the integrative conjugative elements ICES_{T1} and ICES_{T3} from *Streptococcus thermophilus*[J]. *J Bacteriol*, 2009, 191(8): 2764 – 2775.
- [32] Boleij A, Schaeps RM, de Kleijn S, et al. Surface-exposed histone-like protein a modulates adherence of *Streptococcus gallolyticus* to colon adenocarcinoma cells[J]. *Infect Immun*, 2009, 77(12): 5519.
- [33] Vanrobaeys M, Haesebrouck F, Ducatelle R, et al. Adhesion of *Streptococcus gallolyticus* strains to extracellular matrix proteins [J]. *Vet Microbiol*, 2000, 74(3): 273 – 280.
- [34] Vanrobaeys M, De Herdt P, Charlier G, et al. Ultrastructure of surface components of *Streptococcus gallolyticus* (*S. bovis*) strains of differing virulence isolated from pigeons[J]. *Microbiology*, 1999, 145(Pt 2): 335 – 342.