

# 一例携带非致病性无毒力白喉杆菌 癌症患者的病例报告

贺晴<sup>1</sup>, 侯水平<sup>1</sup>, 李洪玲<sup>2</sup>, 陆剑云<sup>1</sup>

1.广州市疾病预防控制中心,广东 广州 510440; 2.广州市越秀区疾病预防控制中心,广东 广州 510055

**摘要:** **目的** 通过调查广州市某口腔专科医院 1 例携带非致病性无毒力白喉杆菌癌症患者,进一步了解白喉杆菌携带者的临床特征和传播规律。 **方法** 收集病例的临床诊疗经过资料,采集病例右眼及面部瘰口分泌物,应用梅里埃 API Coryne 棒状杆菌生化鉴定卡对该菌株进行生化鉴定,并对该菌株的 16S rRNA 基因及白喉毒素基因 *tox* 基因的 A 和 B 亚基及其表达调控基因 *dtxR* 进行聚合酶链反应(PCR)扩增。 **结果** 患者近期未出现发热、恶心、呕吐等不适,否认含白喉类疫苗免疫史,右眼分泌物及瘰口分泌物培养菌株为白喉杆菌。广州市疾病预防控制中心实验室的菌种生化鉴定、表达调控基因 *dtxR* 和白喉毒素基因 *tox* 基因扩增结果显示该菌株为无毒力的白喉杆菌。 **结论** 广州市仍有发生白喉病例的可能,需加强对人群白喉抗体水平的监测,加强人群白喉杆菌携带率的监测。

**关键词:** 白喉毒素基因; 表达调控基因 *dtxR*; 白喉杆菌

**中图分类号:**R378.7<sup>+</sup>1 **文献标识码:**B **文章编号:**1006-3110(2019)11-1363-03 **DOI:**10.3969/j.issn.1006-3110.2019.11.022

白喉是由白喉杆菌引起的急性呼吸道传染病,主要感染咽、喉等部位,可有发热、乏力、食欲减退、恶心、呕吐等全身症状,扁桃体、咽喉壁可覆盖白色假膜;皮肤、眼结膜、耳、外阴、新生儿脐部、食管等处偶尔可发生白喉。白喉杆菌的致病物质主要为白喉毒素,其产毒素的能力是由含有毒素基因编码序列的噬菌体溶原感染引起的。人类为白喉杆菌的唯一宿主,患者及有毒菌株带菌者为唯一传染源。1963 年我国逐步开展百白破混合制剂的预防接种工作,1978 年实施计划免疫,百白破疫苗开始作为国家计划免疫的疫苗在儿童中接种。1950 年广东省开展白喉类毒素预防接种,1960 年开始使用百白混合制剂;1984 年开始全面使用精制吸附百白破混合制剂,由于广东省白喉发病有向大年龄组推移趋势,1991 年广东省开始对小学生进行白破疫苗的加强免疫。由于以上免疫规划工作的实施,白喉发病率大大下降,广州市报告的最后一例白喉病例是 1991 年(来源广州市传染病年报)。2018 年 11 月 21 日,广州市某口腔专科医院在 1 例患者的右眼及面部瘰口分泌物中检出白喉棒状杆菌,现报告如下。

## 1 对象与方法

**基金项目:**广州市卫生和计划生育科技项目(20181A011056, 20181A011051)

**作者简介:**贺晴(1987-),女,硕士,主管医师,研究方向:疫苗可预防传染病的防控。

**通信作者:**陆剑云, E-mail:258506273@qq.com。

**1.1 病例来源** 2018 年 11 月 21 日,广州市疾病预防控制中心(以下简称“疾控中心”)接越秀区疫情报告,辖区内某口腔专科医院在 1 例患者的右眼及面部瘰口分泌物中检出白喉棒状杆菌,遂派出专业技术人员对该病例进行流行病学调查,并将检测机构于 11 月 20 日分离的白喉杆菌标本送至广州市疾控中心实验室进行生化鉴定。

**1.2 流行病学方法** 采用全国白喉疑似病例个案调查表对其进行个案调查,同时收集相关病历资料,并对密切接触者调查。

**1.3 仪器与试剂** API Coryne 棒状杆菌生化鉴定卡(法国生物梅里埃公司),DNA 提取试剂盒(天根生化科技北京公司),聚合酶链反应(PCR)扩增仪(美国 Applied Biosystems 生物公司),PCR MIX(天根生化科技北京公司),电泳仪及拍照系统(美国 Bio-RAD 公司),荧光 PCR 试剂盒(深圳生科源生物公司)。

**1.4 实验方法** 测序采用通用引物 27f 和 1492r 进行扩增并对菌株的 16S rRNA 基因进行测序,将获得的序列在美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库中,采用 BLAST 进行核酸序列比对分析,初步获得该菌的属信息。应用梅里埃 API Coryne 棒状杆菌生化鉴定卡进行生化鉴定,并对白喉毒素基因 *tox* 基因的 A 和 B 亚基及其表达调控基因 *dtxR* 进行 PCR 扩增,同时对白喉毒素力基因还使用了荧光 PCR 试剂盒进行检测。引物分别按照文献<sup>[1]</sup>合成的 *dtxR*(正向引物 GGGACTA-

CAACGCAACAAGAA, 反向引物 CAACGGTTTGGCTA-ACTGTA), *tox A* 基因(正向引物 *tox2F*:GAAAACTTTTCTTCGTACCAC, 反向引物 *tox4r*:TGCCGTTTGATGAAATTCTTC), *tox B* 基因(正向引物 *tox6f*:ATACTTC-CTGGTATCGGTAGC; 反向引物 *tox7r*:GCACACCATTACCAACATAAAC)。

## 2 结果

**2.1 病例概况** 患者男性,61 岁,江西人,自诉 2003 年因右上颌窦中分化鳞状细胞癌行手术治疗与放化疗,自治疗结束以来渐出现右眼失明,张口受限。2018 年 11 月 12 日因“右上颌恶性肿瘤术后放化疗后右上颌塌陷、张口受限 10 多年”入院治疗。医院查体显示右眼周无红肿出现,但右眼眼球正常结构及功能消失,存在炎症感染的可能。约 1 月前右眼下皮肤脓疱脱落后破损与口内相通。病人神志清楚,精神状态良好,体力情况良好,食欲正常,体温 36.6℃,无乏力、恶心、呕吐等症状。

**2.2 流行病学调查及处置** 患者户籍及现住址均为江西上饶,赴穗看病,否认含白喉类疫苗免疫史。密切接触者 3 名成人,近期未发现发热、乏力、食欲减退、恶心呕吐等症状,接报后嘱其服用抗生素预防,并对患者所在病房进行消毒通风处理。经过最长潜伏期 7 d 的医学观察,患者及 3 名密切接触者未出现任何症状,同时也无新增病例。

**2.3 实验室检测** 11 月 18 日、19 日、20 日血常规结果分别显示白细胞  $25.22 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞 92.8%,白细胞  $23.11 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞 91.5%,白细胞  $13.52 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞 72.9%。12 日医院对右眼分泌物及瘘口分泌物进行采样并送第三方检测机构进行检测。20 日第三方机构检测报告单显示,右眼分泌物中白喉杆菌、热带假丝酵母培养阳性,瘘口分泌物中白喉杆菌、多杀巴斯德菌培养阳性。22 日第三方机构将培养出的白喉杆菌标本送至广州市疾控中心实验室进行菌种的生化鉴定。16S rRNA 基因的测序结果与 NCBI 数据库的核酸序列比对结果显示该菌株为白喉杆菌,菌株经梅里埃公司 API Coryne 棒状杆菌生化卡鉴定提示该菌株 97% 是白喉棒状杆菌,其表达调控基因 *dtxR* 的 PCR 扩增结果为阳性,白喉毒素基因 *tox* 基因的 A 和 B 亚基的 PCR 扩增结果和荧光 PCR 试剂盒检测结果均为阴性。以上结果提示该菌株为无毒力的白喉杆菌。

## 3 讨论

白喉杆菌在人群中引起的临床症状各异,除了咽喉痛、吞咽困难和声音嘶哑等典型的症状外,还可引起神经和心肌的损害<sup>[1]</sup>。在加拿大、英国、巴西等地均报道过无毒力白喉杆菌的检出,而无毒力白喉杆菌的临床表现也多种多样。部分无毒力的白喉杆菌携带者无发热、咽痛、全身不适、毒血症等临床症状,仅存在浅表性的皮肤溃疡<sup>[2-3]</sup>;Becky 等<sup>[4]</sup>报道了英国苏格兰地区三例健壮青年因无毒力白喉杆菌引起了持续咽痛、喉咙疼痛及炎症;无毒力白喉杆菌同样也可导致严重的侵入性疾病,例如心内膜炎、菌血症、肺炎等<sup>[5-6]</sup>。

较国外报道,我国暂未报道无毒力白喉杆菌导致的出现咽喉部临床症状或侵入性疾病的病例,无毒力白喉杆菌所导致的疾病极有可能被低估。

2010 年广州市大学城某医院的 1 例鼻咽癌患者的鼻腔分泌物中检出白喉棒状杆菌<sup>[7]</sup>,与本案例相同,2010 年检出菌株也为无毒力白喉杆菌、无任何临床症状、检出人群同样也为老年癌症患者。这两例相似的病例,是否提示此杆菌在免疫力低下或存在免疫缺陷的老年人群中的定植率较高? 仍需作进一步研究。

目前我国使用的百日咳-白喉-破伤风疫苗(百白破疫苗)仅适用于 3 月龄~5 岁儿童,白破疫苗仅适用于 6~11 岁,12 岁及以上青少年及成人暂无可用于预防白喉的疫苗。含白喉成分疫苗在人群中均显示出较好的保护效果<sup>[8]</sup>,经过含白喉类疫苗的基础免疫及加强免疫,儿童人群具有较高的抗体水平<sup>[9-10]</sup>,可形成有效的免疫屏障,控制白喉发生。但人群的血清流行病学显示,年龄与白喉 IgG 抗体滴度呈负相关,大年龄组人群白喉抗体水平低<sup>[11-13]</sup>,易成为白喉杆菌的携带者。

广州市已连续 27 年无白喉病例发生;2003 年和 2007 年起广东省和我国无白喉病例报告。但部分非洲国家及中国周边国家还存在白喉病例的暴发与流行,仅 2016 年,各国向世界卫生组织报告了约 7 100 例白喉病例<sup>[14]</sup>。广州市与全球贸易、交流频繁,输入性白喉病例仍有发生的可能。人群中存在无毒力白喉杆菌的定植,文献曾报道携带白喉毒力基因的噬菌体可将无毒白喉杆菌转化为产毒株和强毒株<sup>[15]</sup>,一旦引入携带白喉毒力基因的噬菌体,即有可能出现产毒株定植于居民的呼吸道,造成社区的流行。

广州市存在发生输入性白喉病例和无毒力白喉杆菌转化为产毒株和强毒株的可能。即使在现在的免疫规划时期,广州市 4 剂次百白破疫苗接种率高达 99%,但 12 岁及以上青少年及成人暂无可用于预防白喉的