

計畫編號：DOH91-DC-1010

行政院衛生署疾病管制局九十一年度科技研究發展計畫

計畫名稱

台灣南部地區 A 群鏈球菌分子流行病學研究

研 究 報 告

執行機構：國立成功大學

計畫主持人：吳俊忠

研究人員：陳維茹

執行期間：91 年 1 月 1 日至 91 年 12 月 31 日

＊本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見＊

目

錄

頁碼

封面

目錄

1

中文摘要

2-3

英文摘要

4-5

前言

6-7

材料與方法

8-10

結果與討論

11-12

結論與建議

13

參考文獻

14-15

圖、表

16-22

中文摘要

A 群鏈球菌是引起人類重要傳染疾病的病原菌之一。目前已有許多證據顯示 M protein 在 A 群鏈球菌的感染中扮演著相當重要的角色，同時不同血清型又與疾病的嚴重度有關。M-proteins 為 A 群鏈球菌由細胞膜向外延伸的 coiled-coil 結構蛋白，由於其 N 端具有高度的變異性，目前已知有超過 100 種以上之血清型。此蛋白因其結構中有部分與人體的組織相類似，可引起自體免疫性疾病—急性風濕熱和急性腎絲球腎炎等，此外，在許多研究報告中顯示 M and M-related proteins 不僅可抑制吞噬作用及阻斷補體系統的功能外，而且亦具有吸附細胞的能力。由於 M proteins 抗原變化性大，目前 M protein 的抗血清型並無法函蓋所有的 M protein，再加上標準鑑定血清組除自製外並無法購得，因此國內至今並無任何有關鏈球菌 M 蛋白血清型之資料。由於 *emm* 基因的鑑定已被認為是足以取代傳統血清型，因此本年度計劃我們收集成大醫院臨床所分離之菌株分析以 DNA 定序 *emm* 基因及脈衝式電泳分析染色體圖譜並與臨床疾病做比較以了解南部地區 A 群鏈球菌流行病學之現況。在 143 株 A 群鏈球菌中脈衝式電泳法可區分 22 種染色體圖譜，而經由 DNA 定序可分為 13 種 *emm* 基因型，包括 *emm1*, *emm4*, *emm7*, *emm9*, *emm12*, *emm13*, *emm25*, *emm50*, *emm58*, *emm71*, *emm75*, *emm77* 及 PT180，其中 *emm1* 佔 50.3% 及 *emm12* 佔 16.8% 較為常見，其他 *emm* 型較少見。*emm1* 基因型有相當高比例會引起壞死性肌膜炎，蜂窩組織炎，菌血症，猩紅熱及上呼吸道感染。73 株 *emm1* 中可分 19 種不同的染色體圖譜，第 1、9 及 21 型之圖譜在猩紅熱病患及上呼吸道感染較為常見。蜂窩組織炎除第 1 型圖譜外，主要在第 12 型染色體圖譜較為常見。壞死性肌膜炎有 8 株分布在 3 種 *emm* 型及 5 種不同的染色體圖譜。目前的研究顯示在南部地區 A 群鏈球菌的感染在基因的圖譜分布上

雖呈現多形性，但主要感染仍以 *emm1* 及 *emm12* 為主。由於臺灣各地不時有猩紅熱之疫情，偶有毒性休克症候群，壞死性肌膜炎或噬肉菌感染之報導。有效的利用染色體圖譜及 *emm* 分型可提供衛生單位做為流行病學之依據並可做為疫情控制之指標。

關鍵詞: A 群鏈球菌，*emm* 基因，流行病學，脈衝式電泳法

英文摘要

Group A streptococcus (GAS) is one of important pathogens in human infections. There are many evidence suggested that the M protein plays as major virulence factor in the streptococcal infection. The serotype of M protein also correlates with the severity of disease. The M protein is responsible for the bacterium's capacity to resist phagocytosis. The coil-coil structure of M protein has their N-terminal ends protruding outwards from the cell. The hypervariable regions of N terminal are highly heterogeneous and encode for the serotype specificity used for the M-typing system developed by Dr. Lancefield in 1928. Currently, more than 100 M serotypes have been named. Producing type-specific M-typing antisera is difficult and specialized; so far M-typing antisera are not cover all known M serotypes; no attempt has ever been made to produce them commercially. In this proposal, M protein gene sequencing, and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) were examined to determine the *emm* gene and chromosomal pattern of GAS from southern Taiwan.

A total of 143 clinical isolates of GAS collected in a university hospital. Twenty two PFGE patterns and 13 *emm* sequence types which included *emm1*, *emm4*, *emm7*, *emm9*, *emm12*, *emm13*, *emm25*, *emm50*, *emm58*, *emm71*, *emm75*, *emm77* and *emm* PT180 were obtained. Harbored by 50.3% and 16.8 % of the 143 isolates, *emm1* and *emm12* were most common, while the *emm* types were rare. High proportions of the isolates associated necrotizing fasciitis, cellulites, bacteremia, scarlet fever and upper respiratory tract infection. The 73 *emm1* isolates displayed 19 different PFGE patterns. One, nine and 21 PFGE patterns were found among the isolates associated with scarlet fever and upper respiratory tract infection. In addition, one PFGE pattern and twelve PFGE pattern were associated with cellulites. Eight isolates of necrotizing fasciitis were distributed in 3 *emm* types and 5 different PFGE patterns. The present

study indicates genomic diversity among GAS isolates and major *emm* types were *emm* 1 and *emm* 12 in southern Taiwan.

Key words: Group A streptococcus, *emm* gene, epidemiology, pulsed field gel electrophoresis

前言

臺灣地區，A 群鏈球菌感染引起之扁桃腺炎、咽喉炎、膿胞疹及蜂窩性組織炎相當常見，但由侵襲性菌株感染且有毒性休克症候群之病例亦偶有發現⁽¹⁻⁵⁾。從最近高雄榮民總醫院的研究報導指出，有 8 個由 A 群鏈球菌感染所引起之毒性休克症候群(STSS) 病例，病人因併發壞死性肌膜炎⁽²⁾，雖然在適當的抗生素和外科治療下，有三位病人仍在入院 72 小時內死亡。台大醫院院內托兒所也爆發一次 A 群鏈球菌感染，導致猩紅熱的疫情報導⁽⁴⁾。而成大醫院也發現兒童罹患水痘併發 A 群鏈球菌感染並引起毒性休克症候群，最後導致病人於入院 4 小時內死亡之病例⁽⁵⁾。如今在台灣各地不時有 A 群鏈球菌感染之病例、依據衛生署疫情報導學齡兒童發生猩紅熱之疫情⁽⁶⁾，1998 年台閩地區至 8 月 29 日止共有 471 例，較 1997 年同期增加 103 例，此外噬肉菌感染之報導也時有所聞，因此如何有效的鑑定及區分 A 群鏈球菌各種不同血清型在防疫體系上為一重要課題。

A 群鏈球菌血清型之鑑定主要以 M 蛋白為主，但目前也有一些型態分型及基因分型的方法應用於 A 群鏈球菌，如：Biotyping⁽⁷⁾，Multilocus enzyme electrophoresis (MEE)⁽⁸⁾，Phage typing⁽⁹⁾，Ribotyping⁽¹⁰⁾，Pulse-field gel electrophoresis (PFGE)⁽¹¹⁾，Random amplification of polymorphic DNA (RAPD)⁽¹²⁾，Restriction enzyme analysis (REA)⁽¹³⁾，及 Vir typing⁽¹⁴⁻¹⁷⁾。由於各種方法均有其限制性，目前仍以 Vir typing 及 M 蛋白定序為主。Vir typing 主要是利用 Vir regulon 中含有高度變異性的 M protein 基因，以 PCR 的方式放大 Vir regulon 的產物約 4-7 kb，再經酵素切割分析其 DNA 片段的多型性，可依其多型性區分不同的 VT types。M 蛋白 DNA 定序法也被美國疾病管制局推薦區分 M 蛋白血清型分法之一。由於國內並無法獲得標準鑑定血清，而且 M protein 的不同血清型主要源自於基因的變異性，因此本計劃

以先前已建立 *emm* DNA 定序法，來分析南部地區所分離之菌株並以脈衝式電泳分析其染色體再與臨床診斷做比較以了解南部地區 A 群鏈球菌流行病學之情形。

材料與方法

Bacteria strains

由南部地區成大附設醫院收集臨床分離之 A 群鏈球菌，共 143 株。所有細菌經由傳統方法(A disc, PYR test)及血清重新確認後，再儲存於-70 °C冰箱。

Extraction of genomic DNA¹¹

取新鮮菌落接種至10 ml TSBY (Tryptic soy broth , Yeast extract)，於 37°C培養箱中隔夜生長，離心取菌體，以10 µg/ml Mutanolysin及5 mg/ml Lysozyme在37°C作用1小時，再以5 % SDS在65°C下作用30 min，之後以phenol-chloroform萃取DNA，最後以酒精沈澱，乾燥後回溶於500 µl TE buffer，保存於4°C。

Polymerase Chain Reaction

偵測 *emm* (for DNA 定序)：不同血清型之 M protein 基因序列，目前均可在 DNA data bank 中查獲。由於 M protein 基因(*emm*)的兩端為 conserved region，依據 Beall et al.¹⁸ 的方法在二端設計 primers (Table 1)，利用 PCR 的方法放大此區域。以 100 ng genomic DNA 作為母股，依序加入 50 pM/primer, 0.1 mM dNTP, 1.25 mM MgCl₂, 1x PC2 buffer 及 1 unit KlenTaq La-16 DNA polymerase (Amersham, USB, Cleveland, Ohio)，於 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT) 作用。以 94°C, 15 sec ; 60°C, 1 min ; 68°C, 6 min 反覆 30 cycles，再以 0.8% agarose gel 電泳確認後，使用 QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Valencia, CA) 純化 *emm* PCR 之產物，約 60 ng 的濃度以

SequiTherm™ Cycle Sequencing Kits (Epicentre technologies, Madison, WI)進行 DNA 定序之分析。並經電腦比對以確認 *emm* 基因型。

PFGE

取新鮮菌落接種至 30 ml TSBY (Tryptic soy broth , Yeast extract), 於 37°C 培養箱中隔夜生長, 離心取菌體, 以 1x TE 沖洗一次, 回溶於 1 ml 1x TE 與 1 ml 之 2.0% low melting agarose (FMC bioproducts, Rockland, ME)均勻混合後, 注入模型內待凝固, 取出置於試管內加入 6 ml lysis buffer(6mM Tris-HCl, 1M NaCl, 100 mM EDTA, 0.5% Sarcosyl) 10 µg/ml Mutanolysin 及 5 mg/ml Lysozyme 在 37°C 作用 16 小時, 再以 10 ml solution C (10% Sarcosyl, 0.5 M EDTA, 10 mg/ml proteinase K)在 65°C 作用 16 h, 以 10 ml 1x TE 加入 1 mM PMSF 於 25°C作用, 最後以 1x TE 清洗及保存於 4°C。以 40 U *Sma* I 分解 agarose-embedded DNA 於 25 °C 作用 18 h。經脈衝式電泳(Gene Navigator, Pharmacia, LKB)分析：在 0.5X Tris-borate-EDTA running buffer 中以 2-35 s 的轉換時間進行 32 h。

脈衝式電泳圖譜之建立

以數位照像系統(Alpha Innotech Corporation)拍照儲存後經 Gel Compar™(Applied Maths, Belgium)處理成一般影像建立資料庫供電腦比對做成樹狀圖, 並以 Tenover et al.¹⁹ 之判讀準則做標準。

M protein 血清型、基因圖譜與疾病相關性之比較

依據上述方法所訂出 A 群鏈球菌臨床菌株之 *emm* 基因型及基因圖譜, 再依臨床醫師所收集之病人疾病診斷分類, 分析 *emm* 基因型與疾病之

相關性或各菌株基因圖譜以基因樹狀圖分析並與臨床疾病之嚴重度做比較。

結果與討論

總共 143 株 A 群鏈球菌之 *emm* 基因型及染色體圖譜被分析，結果顯示於 Table 1。在 143 株中經由 *emm* 基因定序取 5'端前 160 bps 做 *emm* 基因之比對共可分為 13 種基因型包括 *emm1*, *emm4*, *emm7*, *emm9*, *emm12*, *emm13*, *emm25*, *emm50*, *emm58*, *emm71*, *emm75*, *emm77* 及 PT180, 其中 *emm1* 佔 73 株(50.3%)及 *emm12* 佔 23 株(16.8%)較為常見，其它 *emm* 基因型較少見。染色體圖譜分型主要抽取染色體 DNA，經由 *Sma*I 切割後以脈衝式電泳分型在 143 株細菌中共可分為 22 種不同圖譜，其中染色體圖譜 1 最常見佔 34 株(23.8%)，圖譜 13 佔 14 株(9%)次之，其餘圖譜較為少見。*emm1*, *emm4*, *emm9*, *emm12*, *emm25*, *emm58*, , *emm75*, 及 *emm 77*, 均有一種以上之染色體圖譜。而同一染色體圖譜如 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 及 20 型也均有一種以上之 *emm* 基因型。

在 143 株中，24 株由血液所分離，71 株由喉頭檢體，38 株由化膿檢體，另外有 10 株由其它檢體所分離。24 株血液檢體所分離之菌株包括 *emm1* (21 株), *emm4* (1 株), *emm58* (1 株), , *emm77* (1 株)。而由喉頭檢體所分離之 71 株 *emm* 型分別為 *emm1* (31 株), *emm12* (21 株), *emm4* (13 株) , *emm9* (3 株), *emm25* (2 株), 及 *emm50* (1 株)。38 株化膿性檢體主要以 *emm1* 基因型為主其餘較為少見。24 株血液檢體染色體圖譜包含第 1 型 (n=6), 第 2 型 (n=2), 第 3 型 (n=2), 第 10 型 (n=1), 第 12 型 (n=1), 第 13 型 (n=2), 第 14 型 (n=4), 第 15 型 (n=1), 第 19 型 (n=1), 第 20 型 (n=1), 第 22 型 (n=2), 及第 23 型 (n=1)。71 株喉頭檢體染色體圖譜包含第 1 型 (n=24), 第 7 型 (n=3), 第 8 型 (n=4), 第 9 型 (n=5), 第 10 型 (n=2), 第 11 型 (n=1), 第 12 型 (n=1), 第 13 型 (n=9), 第 14 型 (n=2), 第 15 型 (n=2), 第 17 型

(n=3), 第 19 型 (n=2), 第 21 型 (n=8), 第 25 型 (n=2), 及第 26 型 (n=3)。臨床症狀與 A 群鏈球菌 *emm* 基因型及染色體圖譜之相關性列於表二及表三。*emm1* 常見於猩紅熱 40.8% (20/49), 蜂窩組織炎 66.7% (12/18), 壞死性肌膜炎 62.5% (5/8) 及無併發症之上呼吸道感染 52.4% (11/21)。22 種染色體圖譜中, 49 株猩紅熱主要以圖譜第 1 型 36.7% (n=18) 較為常見, 第 13 型 (n=9) 次之, 其餘如第 8 型 (n=1), 第 9 型 (n=3), 第 10 型 (n=2), 第 11 型 (n=1), 第 12 型 (n=1), 第 14 型 (n=1), 第 15 型 (n=2), 第 17 型 (n=2), 第 19 型 (n=1), 第 21 型 (n=5), 第 25 型 (n=1), 及第 26 型 (n=2) 較為少見。

結論與建議

在本次計劃中我們以標準方法建立南部地區 *emm* 基因型及染色體圖譜，許多菌株皆有相同 *emm* 基因型但染色體圖譜卻為不同型顯示南部地區 A 群鏈球菌基因之多行性。但也有多株相同染色體圖譜而 *emm* 基因型卻為不同型，這類菌株未來可進一步用不同方法來確認其基因型。本研究也顯示南台灣地區 A 群鏈球菌之感染主要 *emm1* 及 *emm12* 基因型為主，佔整個 A 群鏈球菌之 67.1%。此結果應可做為衛生當局流行病學參考。

由於近年來台灣地區 A 群鏈球菌之感染相當常見，國內托兒所、小學引起猩紅熱之疫情也時有所聞，因此利用此套系統來鑑定不同 M 蛋白之基因型及脈衝式電泳圖譜建立全國 A 群鏈球菌 *emm* 基因資料以及染色體圖譜，將可提供衛生單位作為疫情控制之指標。

參考文獻

1. Chen YM, Tarng TC, Wang LS: Necrotizing fasciitis with toxic shock-like syndrome, case report. *Chin Med J Taipei* 1990; 46:117-20.
2. Wann SR, Yen MY, Chen YS, et al: Streptococcal toxic shock syndrome in southern Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1995; 94:172-7.
3. Hsueh PR, Wu JJ, Tsai PJ, Liu JW, Chuang YC, Luh KT: Invasive group A streptococcal disease in Taiwan is not associated with the presence of streptococcal pyrogenic exotoxin genes. *Clin Infect Dis* 1998; 26:584-9.
4. Hsueh PR, Teng LJ, Lee PI, et al: Outbreak of scarlet fever at a hospital day care centre: analysis of strain relatedness with phenotypic and genotypic characteristics. *J Hosp Infect* 1997; 36:191-200.
5. Yang YJ, Liu CC, Wang SM, Hang CC, Wu JJ: Streptococcal toxic shock syndrome complicating varicella in children. *J Formos Med Assoc* 1997; 96:749-53.
6. 台閩地區法定傳染病及報告傳染病個案報告表. 疫情報導 1998; 14:334.
7. Bouvet A, Geslin P, Kriz-Kuzemenska P, Blannec V, Devine C, Grimont F: Restricted association between biotypes and serotypes within group A streptococci. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1313-17.
8. Haase AM, Melder A, Mathews JM, Kemp DJ, Adams M: Clonal diversity of *Streptococcus pyogenes* within some M-types revealed by multilocus enzyme electrophoresis. *Epidemiol Infect* 1993; 113:455-62.
9. Skjold SA, Wannamaker LW, Johnson DR, Margolis HS: Type 49 *Streptococcus pyogenes*: phage subtypes as epidemiological markers in isolates from skin sepsis and acute glomerulonephritis. *J Hyg* 1983; 91:71-6.
10. Stanley J, Linton D, Desai M, Efstratiou A, George R: Molecular subtyping of prevalent M serotypes of *Streptococcus pyogenes* causing invasive disease. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2850-5.

11. Musser JM, Kapur V, Szeto J, Pan X, Swanson DS, Martin DR: Genetic diversity and relationships among *Streptococcus pyogenes* strains expressing serotype M1 protein: recent intercontinental spread of a subclone causing episodes of invasive disease. *Infect Immun* 1995; 63:994-1003.
12. Carapetis J, Gardiner D, Currie B, Mathews JD: Multiple strains of *Streptococcus pyogenes* in skin sores of aboriginal Australians. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1471-2.
13. Cleary PP, Kaplan EL, Livdahl C: DNA fingerprints of *Streptococcus pyogenes* are M type specific. *J Infect Dis* 1988; 158:1317-23.
14. Gardiner DL, Sriprakash KS: Molecular Epidemiology of impetiginous group A streptococcal infections in aboriginal communities of northern Australia. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1448-52.
15. Gardiner DL, Goodfellow AM, Martin DR, Sriprakash KS: Group A streptococcal Vir types are M-protein gene (*emm*) sequence type specific. *J Clin Microbiol* 1998; 36:902-7.
16. Gardiner DL, Hartas J, Currie B, Mathews JD, Kemp DJ, Sriprakash KS: Vir typing: a long-PCR typing method for group A streptococci. *PCR Methods Appl* 1995; 4:288-93.
17. Hartas J, Hibble M, Sriprakash KS: Simplification of a locus-specific DNA typing method (Vir typing) for *Streptococcus pyogenes*. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1428-9.
18. Beall B, Facklam R, Thompson T: Sequencing *emm*-specific PCR products for routine and accurate typing of group A streptococci. *J Clin Microbiol* 1996; 34:953-8.
19. Tenover, F.C., Arbeit, O.D, Goering, R.V., Mickelsen, P.A., Murray, B.E., Persing, D.H., and Swaminathan, B. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33:2233-2239.

Table 1. Genotypes, sources, and clinical manifestations of 143 group A streptococcal isolates

PFGE pattern	<i>emm</i> type	Source (Isolate No.)	Clinical status (Isolate No.)	Total isolate No.
1	<i>emm1</i>	Ascites (1), blood (6) Pus (1), sputum (1), TS (20)	BUC (1), cellulitis (2), FUO (1), NF (1) Pelvic inflammatory disease (1), peritonitis (1), rhinorrhea (cough) (1) SF (15), sepsis (1), septic arthritis (1), URI (4)	29
1	<i>emm12</i>	TS (4), pus (1)	Cellulitis (1), SF (4)	5
2	<i>emm1</i>	Blood (1)	BUC (1)	1
2	<i>emm25</i>	Wound (1)	PSGN (1)	1
2	<i>emm58</i>	Wound (2), pus (1), blood (1)	NF (2), NWI (1), cellulitis (1)	4
3	<i>emm1</i>	Wound (1), blood (2), pus (1)	Septic arthritis (1), impetigo (1), lung/liver carcinoma (1), cellulitis (1)	4
3	<i>emm25</i>	Joint fluid (1)	Septic arthritis (1)	1
4	<i>emm1</i>	Pus (1)	Impetigo (1)	1
4	<i>emm25</i>	Pus (1)	Cellulitis (1)	1
5	<i>emm58</i>	Pus (1)	Ecthyma (pyodema) (1)	1

Table 1. Genotypes, sources, and clinical manifestations of 143 group A streptococcal isolates (continue)

7	<i>emm4</i> TS (3), pus (1)	URI (3), neck infection (1)	4
7	<i>emm7</i> Ascites (1)	Appendicitis (1)	1
7	<i>emm75</i> Pus (2), wound (1)	Contact dermatitis with 2nd infection (1), NWI (1), furunculosis (1)	3
8	<i>emm1</i> TS (4), pus (1)	SF (1), URI (3), cellulitis, (1)	5
8	<i>emm71</i> Wound (1)	Skin infection (1)	1
9	<i>emm1</i> Qenital tract (1), wound (1), TS (2)	Bullous impetigo (1), pregnancy (1), URI (2)	4
9	<i>emm9</i> TS (2), sputum (1)	SF (2), intracranial hemorrhage (1)	3
9	<i>emm12</i> TS (1), pus (1)	URI (1), SF (1)	2
10	<i>emm1</i> TS (2), pus (2), urine (1), blood (1)	SF (2), UTI (1), pus (1), bronchopneumonia (1), cellulitis (1)	6
11	<i>emm1</i> TS (1)	SF (1)	1
11	<i>emm75</i> Bullae culture (1)	Cellulitis (1)	1
12	<i>emm1</i> Blood (1), pus (2)	Cellulitis (2), invasive cellulites (1)	3
12	<i>emm12</i> TS (1)	SF (1)	1
12	<i>emm13</i> Wound (1), pus (1)	Skin infection (1), cellulites (1)	2
12	<i>emm25</i> Neck mass (1)	Lymphadenitis (1)	1
13	<i>emm1</i> Joint fluid (1), blood (1)	Cellulitis (2)	2

Table 1. Genotypes, sources, and clinical manifestations of 143 group A streptococcal isolates (continue)

13	<i>emm4</i> TS (7), blood (1), pus (2)	Ludwy's anjina (1), SF (7), erysipela (1), colonization (screening) (1)	10
13	<i>emm12</i> TS (1)	SF (1)	1
13	<i>emm50</i> TS (1)	SF (1)	1
14	<i>emm1</i> Blood (4), I&d (1)	Retropharyngeal abscess (1), NF (3), septic arthritis (1)	5
14	<i>emm9</i> TS (1)	Colonization (screening) (1)	1
14	<i>emm12</i> TS (1)	SF (1)	1
15	<i>emm1</i> TS (1), blood (1)	SF (1), sepsis/liver abscess (1)	2
15	<i>emm12</i> TS (1)	SF (1)	1
17	<i>emm1</i> Wound (2)	Cellulitis (1), infection ulcer (1)	2
17	<i>emm4</i> TS (3)	SF (2), URI (1)	3
17	<i>emm75</i> Wound (1)	Felxor tenosynovitis (1)	1
19	<i>emm1</i> Blood (1)	Septic cellulites (1)	1
19	<i>emm25</i> TS (2), pus (1), wound (1)	URI (1), SF (1), impetigo contagiosum (1), cellulitis (1)	4
19	pt180 Pus (1)	Cellulitis (1)	1
20	<i>emm1</i> Blood (1)	NF (1)	1
20	<i>emm12</i> Pus (1)	URI (1)	1

Table 1. Genotypes, sources, and clinical manifestations of 143 group A streptococcal isolates (continue)

21	<i>emm1</i> TS (1)	URI (1)	1
21	<i>emm12</i> TS (6), tonsils (1)	URI (2), SF (5)	7
21	<i>emm77</i> Pus (1)	Tenderness (1)	1
22	<i>emm1</i> Blood (1)	Sepsis (1)	1
22	<i>emm77</i> Blood (1)	NF (1)	1
23	<i>emm1</i> Blood (1), pus (1)	Tumor ulceration with 2nd infection (1), NWI (1)	2
25	<i>emm12</i> TS (2)	Erythema multiform (1), SF (1)	2
26	<i>emm1</i> Vesicle fluid (1)	Cellulitis (1)	1
26	<i>emm12</i> TS (3)	Acute otitis media (1), SF (2)	3

BUC, bacteremia of unknown cause; TS, throw swab; FUO, fever of unknown origin; NF, necrotizing fasciitis; NWI, nosocomial wound infection; PSGN, poststreptococcal glomerulonephritis; SF, scarlet fever; URI, upperrespiratory tract infection, including pharyngitis, tonsillitis, and mastoiditis; UTI, urinary tract infection.

Table 2. Distributions of group A streptococcal isolates associated with five major clinical manifestations by PFGE patterns

	Isolates no. (%)					
	Scarlet fever	URI	Bacteremia	Cellulitis	necrotizing fasciitis	^a Other
PFGE pattern						
1	18 (52)	5 (14)	1 (2.9)	3 (8.8)	1 (2.9)	6 (17)
2	0 (0)	0 (0)	1(16)	1(16)	2 (32)	2 (32)
3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(20)	0 (0)	4 (80)
4	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(50)	0 (0)	1 (50)
5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
7	0 (0)	3 (37)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (62)
8	1 (16)	3 (50)	0 (0)	1 (16)	0 (0)	1 (16)
9	3 (33)	3 (33)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (33)
10	2 (32)	0 (0)	0 (0)	1(16)	0 (0)	3 (48)
11	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
12	1 (14)	0 (0)	0 (0)	4 (56)	0 (0)	2 (28)
13	9 (64)	0 (0)	0 (0)	2 (14)	0 (0)	3 (21)
14	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (42)	3 (42)
15	2 (66)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (33)

Table 2. Distributions of group A streptococcal isolates associated with five major clinical manifestations by PFGE patterns (continue)

17	2(33)	1 (16)	0 (0)	1 (16)	0 (0)	2 (33)
19	1 (16)	1 (16)	0 (0)	3 (48)	0 (0)	1 (16)
20	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)
21	5 (55)	3 (33)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (11)
22	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(50)	1(50)
23	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
25	1 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50)
26	2 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	1 (25)

^a**Other:** Include impetigo, septic arthritis, pelvic inflammatory disease, rhinorrhea, liver carcinoma, lymphadenitis, retropharyngeal abscess, flexor tenosynovitis, and acute otitis media etc.

Table 3. Distributions of group A streptococcal isolates associated with five major clinical manifestations by *emm* types

	Isolates no. (%)					
	Scarlet fever	URI	Bacteremia	Cellulitis	necrotizing fasciitis	other
<i>emm</i> type						
<i>emm1</i>	20 (27)	11 (15)	2 (2.7)	12 (16)	5 (6.8)	23 (31)
<i>emm4</i>	9 (52)	4 (23)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (23)
<i>emm7</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(100)
<i>emm9</i>	2 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (50)
<i>emm12</i>	16 (69)	5 (21)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (8)
<i>emm13</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	1 (50)
<i>emm25</i>	1 (12)	1 (12)	0 (0)	2 (25)	0 (0)	4 (50)
<i>emm50</i>	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>emm58</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(20)	2 (40)	2 (40)
<i>emm71</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
<i>emm75</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	4 (80)
<i>emm77</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(50)	1(50)
<i>emm pt180</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)