

中国 b 型流感嗜血杆菌研究历程

姜敏 杨永弘

【关键词】 b 型流感嗜血杆菌; 感染
Research of *Haemophilus influenzae* type b in China JIANG Min, YANG Yong-hong. Beijing Children's Hospital Affiliated to Capital University of Medical Sciences, Beijing 100045, China
【Key words】 *Haemophilus influenzae* type b; Infection

流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*, Hi), 尤其是 b 型 (Hib) 是引起儿童细菌性感染的主要病原体之一。过去的 60 年中, 很多国家已广泛开展了对 Hib 各方面的研究, 1980 年代开始研制 Hib 疫苗进行预防相关疾病。1996 年 WHO 将 Hib 蛋白结合疫苗引入各国扩大的计划免疫, 至 2004 年 9 月, 全球有 94 个国家 (包括美洲、欧洲大部和澳洲) 将这种疫苗纳入国家计划免疫, 另有 15 个国家在全球疫苗与免疫联盟 (GAVI) 资助下使用这种疫苗, 占全球所有国家和地区使用的一半。而我国尚未列入其中, 原因之一是对 Hib 感染性疾病的认识还不够充分和深入。回顾我国有关 Hib 研究的整个历程, 查询自 40 年代起至今中国学者关于 Hib 在国内外杂志发表的文章, 现将主要内容总结如下。

1. 小儿 Hib 感染性疾病:

(1) Hib 脑膜炎: 我国学者在 20 世纪四五十年代就已对 Hi 引起的感染性疾病有所认识, 如 1943 年樊培禄等^[1]首次在成都报告了 2 例 Hi 脑膜炎, 1948 年陈翠贞, 赵政^[2]在上海报告 2 例。50 年代有关 Hi 脑膜炎的个例报道及治疗探索相继增多, 1957 年欧阳旭明, 丁载道^[3]报告了上海市传染病医院 3 年半中住院患儿 120 例 [1953 年 13 例, 1954 年 14 例, 1955 年 31 例, 1956 年 (半年) 43 例], 作者认为病例数逐年增加可能是培养技术的提高, 而不是发病绝对数的增多。本组患儿年龄偏小 (89.2% < 1 岁, 98.4% < 2 岁); 季节分布以秋季为多, 夏季较少; 作者注意到不合理使用抗生素当时就已存在 (120 例中有 92 例使用抗生素超过 3 种), 提出抗生素使用后对细菌培养的影响, 以及培养技术的重要性。并发现涂片误差可达 24.5%, 这在当时的条件下是非常难得的文献资料, 提示我国 Hi 疾病在 50 年代并不少见。1958 年丁载道, 王惠珍^[4]除报告 Hi 脑膜炎病例, 还评价了磺胺、氯霉素、链霉素以及金霉素对 Hi 脑膜炎的治疗效果。在当时原因不明的细菌性脑膜炎高达 38.1%、流行性脑脊髓膜炎占很大比例的情况下, 报道的 Hi 脑膜炎比例已占小儿化脓性脑膜炎的 11%。并有学者提出抗生素对脑脊液培养有影响, 需结合脑脊液涂片、血培养诊断方法以提高诊断阳性率的观点, 迄今仍有指导意义。这个阶段限于医院条件只能发现 Hi, 但不能分型。

但在随后的近 30 年时间, 国内有关该方面的研究几乎停滞。直到 80 年代末, 有关 Hib 脑膜炎的研究进入了一个崭新的阶段。北京儿童医院开展了对流免疫电泳 (CIE) 对儿童 Hib 脑膜炎的检测, 1991 年沈叙庄等^[5]应用 CIE 方法对 128 例细菌性脑膜炎患儿血、尿、脑脊液等标本进行常见病原菌抗原检测, 并结合细菌学检查结果进行分析。Hib 脑膜炎占本组细菌性脑膜炎的 28.9%。1992 年陆达林等^[6]对 53 例化脓性脑膜炎患儿的脑脊液应用 CIE 进行检测, 86.7% 明确病原, 其中 Hib 占 45.28%。并证明 CIE 检测抗原阳性率 (89.4%) 明显优于常规检查细菌的方法 (15%~35%, $P < 0.01$)。杨永弘等^[7]开展了前瞻性的 Hib 脑膜炎发病率的研究, 1990-1992 年我国合肥地区 Hib 脑膜炎占小儿细菌性脑膜炎的 51.7%, 结合人口资料进行分析, 3 年中小儿 Hib 脑膜炎发病率 15 岁以下儿童为 4.81/10 万, 5 岁以下儿童为 10.66/10 万, 病死率为 9.7%, 存活患儿 21.4% 留有精神和神经系统并发症和后遗症。2001 年聂大平等^[8]应用巢式 PCR 的方法检测细菌性脑膜炎患儿的脑脊液, Hib 的阳性率高达 47.9%, 明显高于反向被动血凝法检测的阳性率 25%。以上研究表明 Hib 脑膜炎在小儿细菌性脑膜炎中占有相当重要的地位。

(2) Hib 肺炎: 从 1950 年开始, 国内对病毒性肺炎的研究成绩卓著, 但对细菌性肺炎认识还不足。国外常见的 Hib 肺炎, 国内几乎无报道。那么我国小儿 Hib 肺炎的发病率果真如此低吗? 病原检测的手段至关重要。尽管肺穿刺细菌学检查是最可靠而被认为是“金标准”, 但很难被医师及患儿接受, 而咽培养结果一般不能反映下呼吸道病情。呼吸道深部痰培养, 以及通过纤维支气管镜检取标本培养亦较为可靠, 但有技术问题, 也易引起污染。细菌性肺炎菌血症在临床上只是一过性, 加之国内存在抗生素滥用和细菌培养方法上的一些问题尚待解决, 血培养结果几乎全部为阴性, 国外最多只有 5%~10% 的阳性结果。抗体检测是回顾性的, 且有个体差异。细菌抗原检测用于小儿肺炎病原学诊断近年来发展较快。血和尿抗原阳性虽然不能肯定病原菌来自肺部, 但可表示体内有相应细菌感染。

1993 年顾岑等^[9]对 22 例临床确诊为 Hib 肺炎的患儿, 用 CIE 方法对患儿尿进行 Hib 抗原检测, 结果全部是阳性, 而血标本只有 2 例阳性, 血清 Hib 特异抗体 (SIg) 包括 IgG、IgA、IgM 与 IgG 亚类升高者 19 例, 占 86%。作者认为鉴于我国目前各大小医院门诊滥用抗生素现象相当严重, 对细菌培养带来很大困难, 取尿做抗原检测, 方法简便, 又不受应用抗生素的影响, 值得推广, 如能同时进行特异抗体的检测, 对明确 Hib 的病原学诊断意义重大。1993 年 Yang 等^[10]采用 CIE 的方法对 100 例肺炎患儿的尿和胸腔积液进行 Hib 的检

作者单位: 100045 首都医科大学附属北京儿童医院内科

测,有 29 例 Hib 阳性(占 29%)。1998 年刘秀云等^[11]对 70 例肺炎患儿的血、尿进行 Hib 外膜蛋白(OMP)抗原和抗体的检测,结果 Hib 感染占 34.3%。2000 年王亚娟等^[12]采用血培养及常用的抗原、抗体检测方法对 102 例急性下呼吸道感染儿童进行常见病原分析,Hib 阳性率 13.7%,不定型 Hi(NTHi)为 2.9%。王亚亭等^[13]应用 Hib 寡糖-人血清白蛋白结合抗原和 Hib 全菌为抗原测定其相应抗体。53 例肺炎患儿中 Hib 抗体阳性 7 例(占 13.2%)结合其他血清细菌学检测和培养结果,Hib 占 32 例细菌性肺炎患儿的 21.9%,血培养却没有阳性结果。接着国内应用分子生物学手段对 Hib 的检测也迅速发展起来。2001 年陈志敏等^[14]应用聚合酶链反应技术鉴别 Hib 和非 b 型 Hi,结果表明肺炎患儿痰标本的 Hib 阳性率 22.9%,明显高于健康儿童(0%),而非 b 型 Hi 阳性率 20.5%,与健康儿童(16.2%)的差异无统计学意义。以上资料显示 Hib 在我国儿童呼吸道感染的细菌病原学中的地位不容忽视。

2. Hib 的实验室检测及分型方法:由于 Hib 培养阳性率低,血清分型存在交叉反应及试剂质量的问题。国内自 1990 年前后开始探索 Hib 抗原、抗体及分子生物学等方面的检测。1989 年曹玉璞等^[15]应用乳胶凝集试验(LA)和反向被动血凝试验(RPHA)对细菌性脑膜炎患儿的脑脊液、血清、尿液进行 b 型荚膜多糖(PRP)抗原检测,表明 RPHA 的敏感性和特异性较好,但 LA 法简便、快速,更适于推广应用。1992 年沈赛尔等^[16]应用葡萄球菌 A 蛋白协同凝集试验(SCT)检测 Hib PRP 抗原,可测荚膜多糖纯化抗原灵敏度为 25 ng/ml,特异性为 100%。1990 年 Yang 等^[10]应用 CIE 法对细菌性脑膜炎、肺炎患儿的脑脊液、血、尿及胸腔积液进行 Hi PRP 抗原检测,可测 PRP 纯化抗原灵敏度为 5~10 ng/ml,特异性为 100%。1999 年刘秀云等^[17]应用 ELISA 检测 Hib OMP 特异抗体,认为该方法可提高细菌病原的诊断率。同时在分子生物学检测方面也有很大的发展,聂大平等^[18]应用巢式 PCR 对肺炎、化脓性脑膜炎患儿鼻咽深部分泌物、胸腔积液和脑脊液的 Hib 检测。另外反向杂交技术对常见社区获得性肺炎致病菌进行基因诊断在国内也相继展开。

2002 年张鸿文等^[19]对福州地区健康学龄前儿童鼻咽部携带 Hi 进行生物学及血清分型,并探讨与季节的关系。Hi 的生物分型没有明显季节差异,血清分型在秋季 Hib 的携带率最高,为 6.9%。冬季 NTHi 的携带率最高,为 17.1%。2004 年华春珍等^[20]对 247 株 Hi 血清分型,NTHi 153 株,占 61.9%,可分型 94 株,占 38.1%。可分型中 d 型达 90.4%,b 型仅 1.1%。总之,分子生物学技术的发展,使 Hib 的分型与检测进入了一个新的历史时期,无论在敏感性、特异性方面,还是在检测时间及方法难易程度上都得到了改善。

3. Hib 抗生素耐药研究:细菌耐药给感染性疾病的控制带来了现存的和潜在的危机,影响临床治疗效果。不同的细菌对不同抗生素的耐药机制不同。在治疗 Hib 感染时,要注意判断细菌的耐药性,采用敏感的抗生素进行治疗。2002 年

张泓等^[21]对 446 份呼吸道感染儿童鼻咽拭子标本分离 100 株 Hi,Hib 22 株占 22%,100 株 Hi 产酶率为 10%,Hib 中产酶 7 株,产酶率 31.8%。第二代头孢菌素、阿莫西林/克拉维酸、阿奇霉素的耐药率为 0%,氯霉素、氨苄西林的耐药性分别为 8.2%、10%。四环素、复方新诺明的耐药率分别是 27.8%、54.6%。Hib 的产酶率明显高于非 Hib。2003 年张泓等^[22]又对 812 例下呼吸道感染患儿的鼻咽分泌物进行 Hi 的分离培养,Hi 的分离率 24.7%,Hib 占 19%,平均产酶率 9%,其中 Hib 产酶率 36.8%,明显高于非 Hib 产酶率 2.5% ($P < 0.01$)。Hi 对第 2、3 代头孢类抗生素、阿莫西林/克拉维酸均十分敏感,对氯霉素、氨苄西林的耐药性分别为 11.5%、9.5%。对四环素、复方新诺明的耐药率分别是 16.1%、45.6%。综合国内的报告,各地 Hib 耐药情况差异非常大。产生这种差异的原因考虑与地区、对象、检测时间、检测方法的不同有关。国外的研究已经发现,在多中心的监测项目中,方法上的很小差异可以导致结果非常大的差别。建立中心参考实验室,采用符合国际标准的检测方法进行规范化监测,并进行全程质量控制,对获取可靠的细菌数据非常重要。

4. Hib 带菌研究:Hib 在健康儿童鼻咽部的定植是一个动态过程,定植菌消失或获得的原因可能与局部黏膜免疫状况和传播有关。不同地区、不同年代、不同人群 Hi 和/或 Hib 的携带率也不同,也与所用分型抗血清的质量有关。健康儿童鼻咽部 Hi 携带率上海市为 20.9%~37.9%,福州市 10.93%~37.25%,北京市 32.2%~37.0%。2002 年赖国祥等^[23]对福州市健康儿童鼻咽部 Hi 调查发现,Hi 携带率以冬季最高(36.7%),秋季次之(18.0%)。Hi 分离株血清分型秋季 Hib 携带率最高(6.9%),冬季以 NTHi 为主,占 17.1%,Hib 携带率 5.4%。可见健康儿童鼻咽部 Hi 定植菌携带率及菌型有季节变迁现象,以冬、秋季 Hi 携带率较高。

5. Hib 感染性疾病的流行病学:有人认为细菌的特殊毒性和宿主的易感性对 Hib 疾病仅有较小的影响^[24],其发病率在不同人群的差异应归于其他因素,其中社会经济因素可能最重要,它可增加该病传播的机会。而其他微生物的同时感染(特别是病毒和支原体属)与 Hib 互相影响增强了传播机会。国内有关 Hib 的流行病学及分子流行病学的研究相对较少,但对国外 Hib 疾病的流行病学信息做了很多总结和分析。2003 年胡翼云等^[25]应用脉冲电场凝胶电泳对呼吸道感染儿童鼻咽部分离的 4 株耐药 Hib 进行基因分型研究,并印证了 PFGE 在细菌分子流行病学中的应用价值。

6. 健康儿童 Hib 抗体水平:1999 年袁曾麟等^[26]对我国人群中抗 b 型 Hi 多糖抗体水平进行调查,从 7 个省市收集 1596 份不同年龄组健康人群血清标本,用放射免疫法检测抗 Hib-PRP 自然抗体水平。甘肃、贵州、江西等地区 5 岁以下婴幼儿平均抗体水平 $< 0.1 \mu\text{g/ml}$ 。上海、广西、黑龙江等地区相对较高。脐血平均抗体含量为 $0.36 \mu\text{g/ml}$,6 月龄至 5 岁儿童平均抗体含量为 $< 0.15 \mu\text{g/ml}$,6 岁至成人则达 $1 \sim 1.5 \mu\text{g/ml}$ 。认为中国人群对 Hib 疾病的群体免疫力不高,6 月龄至 5 岁儿童自

然抗体水平最低,为 Hib 疾病的高危人群。苏华等^[27]对黑龙江省婴幼儿 300 份血清 Hib 多糖抗体水平监测,人群抗体阳性率平均为 42.00%,Hib-PRP 抗体几何平均滴度(GMT)为 0.18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。Hib-PRP 抗体年龄期分布:出生后抗体稍高,4~6 月龄降至最低,8 月龄后抗体阳性率和 GMT 随年龄增长而逐渐增高,各地抗体水平也存在差异。

7. Hib 疫苗的效果评价:国内很多学者通过对国外 Hib 疫苗信息的学习,提高了 Hib 疫苗的认识,熟练掌握了 Hib 疫苗接种的适应症、禁忌症和接种方法。我国从 1996 年开始引进 Hib 疫苗,并对 Hib 疫苗接种安全性及免疫原性进行研究。1998 年曹玉华等^[28]对河北省遵化市某村 48 名 6~12 月龄健康婴儿,接种 Hib 疫苗后进行接种反应及血清学效果观察。只有 1 人(2.1%)有接种部位红晕,2 人体温升高,48 小时后恢复正常。免疫后 1 个月抗体水平明显提高,100%受试者抗体含量 $\geq 0.15 \mu\text{g}/\text{ml}$,GMT 由免疫前的 0.087 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提高至 18.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。第 2 针免疫后 1 个月,80.9%的受试者抗体含量 $\geq 10 \mu\text{g}/\text{ml}$,GMT 为 22.52 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。2000 年蔡平等^[29]对苏州市 2545 名 1~5 岁儿童 Hib 疫苗的接种情况和未接种原因做了调查,全身反应和局部反应分别为 1.07% 和 1.50%。人们对 Hib 危害的认识,医务人员的宣传及疫苗的价格是影响 Hib 疫苗推广的重要因素。2002 年陶志华等^[30]对平湖市某农村儿童接种 Hib 疫苗免疫接种情况调查,5038 名儿童接种后,全身反应率为 1.18%,局部反应率为 1.28%。2003 年张云等^[31]对北京市朝阳区、东城和丰台 3 个区 944 名不同月龄的婴幼儿进行了观察,不良反应率为 2.96%,临床表现轻微。国内另有接种 Hib 结合疫苗发生过过敏性紫癜 1 例报道。

WHO 指出全世界每年有 300 万例的 Hib 感染,其中死亡 6 万例(2%),在发达国家以脑膜炎为主,在发展中国家以肺炎为主。20 年来我国死亡原因分析表明,肺炎占第一位,脑膜炎也是我国儿童致死和致残的主要原因。鉴于 Hib 疾病的严重性和 Hib 菌苗的有效性,在我国积极开展 Hib 疾病知识的宣传和预防接种工作具有极其重要的意义。我们倡导要重视儿科感染性疾病^[32],关注儿童疫苗的应用,尤其 Hib 疫苗在我国还未列入常规免疫计划,这需要我国广大医务工作者携手合作,从 Hib 感染的各方面深入研究,为 Hib 疫苗的推广使用奠定基础。

我国老一辈儿科工作者从 20 世纪 40 年代初就对 Hib 感染性疾病开始关注,80 年代末国内学者对 Hib 从细菌学到分子生物学,从基础到临床各方面做了大量研究工作,为我国 Hib 感染性疾病的诊断、治疗和预防做出了巨大贡献。但我们也应看到,关于 Hib 的研究还有很多问题需要解决,如全国范围内 Hib 在儿童呼吸道感染及细菌性脑膜炎中地位的准确评估;Hib 分子生物学及分子流行病学方面的深入研究;Hib 疫苗知识的普及、宣传;Hib 抗生素敏感性监测的系统性与规范性及多中心耐药监测网络的建立等。这需要临床医生、微生物学家和预防医学工作者的合作,期望在不久的将来,我国在 Hib 感染性疾病这一领域取得更大的发展。

参 考 文 献

- 1 樊培培,罗安甫,张绎尊. 儿童之细菌性脑膜炎. 中华医学, 1943,29:41-51.
- 2 陈萃贞,赵政. 流行性感冒杆菌脑膜炎. 中华医学杂志,1948, 34:127-130.
- 3 欧阳旭明,丁载道. 流行性感冒杆菌脑膜炎 120 例临床分析. 中华儿科杂志,1957,8:1-5.
- 4 丁载道,王惠珍. 合霉素治疗细菌未明化脓性脑膜炎的观察. 中华儿科杂志,1958,9,453-455.
- 5 沈叙庄,杨永弘,张桂荣,等. 细菌性脑膜炎 128 例病因学分析. 中华传染病杂志,1991,9:230-232.
- 6 陆达林,刘子美,欧阳玲,等. 53 例小儿细菌性脑膜炎有关病原研究. 实用儿科临床杂志,1993,8:367-369.
- 7 杨永弘,冷志勤,陆达林,等. 合肥市小儿 b 型流感嗜血杆菌性脑膜炎的发病调查. 中华医学杂志,1998,78:251-253.
- 8 聂大平,李东,刘敏,等. 聚合酶链反应检测细菌性脑膜炎患儿脑脊液中 b 型流感嗜血杆菌. 中华传染病杂志,2001,19:110-111.
- 9 顾岑,张芸,江载芳,等. 22 例嗜血流感嗜血杆菌肺炎临床与实验室研究. 临床儿科杂志,1993,2:160-162.
- 10 Yang YH, Jiang ZF, Chen XN, et al. Countercurrent immunoelectrophoresis for diagnosis of acute bacterial pneumonia in Chinese children. Chinese J Med (English), 1993,106:105-109.
- 11 刘秀云,江载芳,杨永弘,等. 流感嗜血杆菌 b 型与急性呼吸道感染关系的研究. 中华儿科杂志,1998,36:27-28.
- 12 王亚娟,姚德秀,燕润菊,等. b 型流感嗜血杆菌在急性下呼吸道感染中的地位. 中华医学杂志,2000,80:373-374.
- 13 王亚娟,杨永弘,胡允文,等. 小儿 b 型流感嗜血杆菌肺炎的血清学检测及意义. 临床儿科杂志,2002,20:613.
- 14 陈志敏,汪天林,尚世强,等. 复合聚合酶链反应技术在流感嗜血杆菌和 b 型流感嗜血杆菌联合检测中的意义. 浙江医学,2001,23: 269-271.
- 15 曹玉璞,戴仲东,郑晓天,等. 肺炎链球菌和流感嗜血杆菌脑膜炎快速诊断方法的研究. 中华儿科杂志,1989,27:96-98.
- 16 沈赛尔,孙萌,刘杰. 应用 SPA 协同凝集试验快速检测 b 型流感嗜血杆菌抗原. 上海医学检验杂志,1992,7:39-41.
- 17 刘秀云,江载芳,杨永弘. 急性下呼吸道感染时 Hib OMP 特异抗体测定的意义. 北京医学,1999,21:30-32.
- 18 聂大平,李冬,刘敏,等. 用套式 PCR 检测 b 型流感嗜血杆菌. 预防医学文献信息,1998,4:213-214.
- 19 张鸿文,叶礼燕,陈新民,等. 健康学龄前儿童咽部流感嗜血杆菌生物学和血清型及其与季节关系的研究. 中国实用儿科杂志, 2002,17:164-166.
- 20 华春珍,俞惠民,尚世强,等. 流感嗜血杆菌 8 株分离株的血清型和耐药模式研究. 中华儿科杂志,2004,42:854-858.
- 21 张泓,李万华,孔菁,等. 呼吸道感染儿童鼻咽拭中流感嗜血杆菌的分离培养及药敏. 上海医学检验杂志,2002,17:208-210.
- 22 张泓,陆权,李万华,等. 小儿急性呼吸道感染流感嗜血杆菌耐药性研究. 临床儿科杂志,2003,21:17-19.
- 23 赖国祥,张鸿文,叶礼燕,等. 福州市健康儿童口咽部流感嗜血杆菌带菌情况调查. 中华流行病学杂志,2002,23:108-110.
- 24 胡国强,朱建新,胡艳芬,译. b 型流感嗜血杆菌疾病的流行病学. 国外医学流行病学传染病学分册,1992,19:272-273.
- 25 胡翼云,高薇,余桑洁,等. 流感嗜血杆菌脉冲电场凝胶电泳法分型. 临床儿科杂志,2003,21:13-16.
- 26 袁曾麟,李凤祥,李亚楠,等. 我国人群中抗 b 型流感嗜血杆菌多糖抗体水平的调查. 中华流行病学杂志,1999,20:42-44.
- 27 苏华,王华庆,郑仁淑,等. 黑龙江省婴幼儿 b 型流行性感冒嗜血杆菌多糖抗体水平监测. 中国计划免疫,2000,6:226-228.
- 28 曹玉华,李连敬,李凤祥,等. 流感嗜血杆菌结合疫苗安全性及免疫原性考察. 中国生物制品杂志,1998,11:54-56.
- 29 蔡平,宓惠宏,邵梦篪,等. 推广 b 型流行性感冒杆菌疫苗免疫接种的可行性调查. 中国计划免疫,2000,6:296-298.
- 30 陶志华,姚凤燕,陈菊华,等. 平湖市农村儿童 b 型流感嗜血杆菌疫苗免疫接种情况调查. 预防医学文献信息,2002,8:封 2.
- 31 张云,范钦颖,陈小梅,等. b 型流感嗜血杆菌结合疫苗的安全性观察. 中华流行病学杂志,2003,24:1160.
- 32 杨永弘,沈叙庄. 重视儿科感染性疾病,关注疫苗与抗生素的合理应用. 中华儿科杂志,2002,40:193-195.

(收稿日期:2006-03-21)

(本文编辑:张林东)