

• 综 述 •

疫苗衍生脊髓灰质炎病毒所致病例的临床研究进展

秦彦综述, 谢晓红, 刘恩梅[△]审校

(重庆医科大学附属儿童医院呼吸科, 重庆 400014)

关键词: 疫苗衍生脊髓灰质炎病毒; 口服脊灰减毒活疫苗; 临床进展

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)10-1263-03

脊髓灰质炎(脊灰)是由 3 种脊灰病毒血清型(I、II、III 型)引起的以肢体麻痹为主要临床表现的急性肠道传染病。在脊灰疫苗问世之前,几乎所有儿童都会感染脊灰病毒。但随着脊灰灭活疫苗(IPV)及口服脊灰减毒活疫苗(OPV)的研制成功及推广使用,尤其在 1988 年 OPV 被纳入扩大免疫规划后,世界卫生组织(WHO)的 6 大区域中已有 3 个区域被证实为无脊灰野病毒株区域,中国也被证实脊灰病例数减少了 99%。但在 2000 年时,从海地 2 例急性迟缓性麻痹(AFP)病例中分离出脊灰疫苗衍生病毒,至此,OPV 在安全性方面存在的问题受到了人们的关注。过去报道较多的是疫苗相关麻痹型脊灰(VAPP)病例,而近年来,继续使用 OPV 所发生的疫苗衍生脊灰病毒(VDPV)所致的相关病例越来越受到人们的关注。全球已报告多起疫苗相关性脊髓灰质炎事件,最早发生在埃及、海地岛,近年来发生于印度、埃塞俄比亚等地^[1]。中国贵州省^[2]、广西省^[3]及台湾^[4]等地先后均有报道发生。现就近年来对 VDPV 相关病例的临床研究做一简要综述。

1 VDPV 相关病例的定义

VDPV 是指机体接种 OPV 后,由于疫苗病毒是减毒活疫苗,其在体内复制过程中易发生碱基变异,与原始 Sabin 疫苗株病毒相比,VP1 区全基因序列的差异介于 1%~15%。如果发生大于或等于 2 例相关的 VDPV 病例时,则称为 VDPV 循环(cVDPVs)。病毒基因的变异,可导致神经毒力的回复,可引起受种者或受种者接触者发病,出现脊灰症状,导致急性迟缓性麻痹(AFP)^[5],此类患者则称为 VDPV 相关病例。

2 VDPV 相关病例发病机制的探讨

2.1 与疫苗本身性质有关

2.1.1 疫苗组病毒基因组突变 OPV 是 1956 年 Sabin 等研制成功的口服脊髓灰质炎减毒活疫苗,其实通过组织培养传代和克隆筛选减毒等经典方法而得到的,包括 Sabin I、II、III 型。OPV 通过口服接种,与自然感染类似,可产生体液免疫应答和肠道黏膜免疫反应,从而使接种者产生脊灰抗体,降低病毒传播效率。OPV 中 Sabin II 型减毒疫苗株常与 VDPV 有关,因为在 Sabin II 型中有些决定神经毒力的位点是突变热点,如 II 型中的 nt2909 位点。近年来,国内外已有研究认为对 II 型神经毒力的回复突变起关键作用的位点是: Sabin II 型疫苗株的 A-481(5c 末端)和 U-2909 (VP3 的第 143 位编码氨基酸为 Ile)^[6],张勇等^[7]研究发现,其中 nt2909 位点就是一突变热点。在他的研究对象中,II 型病毒中 84.2% 的毒株在 nt2909 这个位点都发生了突变,其中 14 株变化形式为 T2909A, 54 株变化形式为 T2909C, 1 株变化形式为 T2909G。说明这个位点受的选择压力较大,很容易发生突变,同时也会带来一系列神经毒力等方面的回复,从而引起 VDPV。是否存在其他各型的更多

的突变热点,需要更多的实验研究证明。

2.1.2 疫苗株病毒基因重组 除上述基因突变外,OPV 发生变异的另外一个重要的机制为脊灰疫苗株之间的基因重组。据我国对重组株的分析,既有自然界野病毒与疫苗病毒的重组,又有不同型别的疫苗株病毒的基因重组,比如 I/II 之间^[8], I/III 型之间。值得注意的是,近年有报道提示,脊灰与其他肠道病毒之间也会出现基因重组,比如肠道病毒的 C 型^[9]。大量研究资料表明,重组株多为 Sabin I 型和 III 型之间的重组。2005 年,马达加斯加发现的 5 例脊灰病毒株之间的重组均为 II 型与 III 型之间的重组。1997~1999 年,贵州、云南 AFP 病例中发现的疫苗重组脊灰病毒(VRPV),多为 II 型和 III 型的重组株^[10]。2001~2008 年,从中国 9 名 AFP 病例中及 1 名健康儿童中发现的重组株,均为 II 型和 III 型的重组株^[11]。重组株的神经毒力通常高于疫苗株,且能在一定范围内传播。但是否高于突变株,还需要试验证明。

2.2 与机体免疫缺陷有关 免疫缺陷患者,尤其是 B 淋巴细胞免疫缺陷患者,接种 OPV 后,由于这些患儿机体不能产生足够的抗体反应,疫苗病毒可在体内长期存在,并多次复制,这使得疫苗病毒更容易产生突变或重组。当排除的病毒 VP1 区核苷酸差异大于 1% 时,就引起了 VDPV,称作免疫缺陷疫苗衍生脊灰病毒(iVDPV)。免疫缺陷者脊灰自然感染发病率和 VDPV 发病率均比正常人高,其发生率约为正常接种者的 1 万倍,且 1 岁内免疫缺陷患者是发生 VDPV 最危险的人群。在原发性免疫缺陷患者中,变异型免疫缺陷病(Common Variable Immunodeficiency, CVID)、低丙种球蛋白血症、X 连锁无丙种球蛋白血症(xLA)、重症联合免疫缺陷病(SCID)^[12] 更容易出现 VDPV,因此,一般不主张服用 OPV。这些患者接种或者接触了 OPV 后,不仅增加了发生 VDPV 相关病例的危险性,而且可延长或形成慢性病毒复制和排毒^[13],从而增加引起 iVDPV 循环的危险性。有研究证明,能够产生免疫力的接种疫苗者排毒时间一般约为 4~8 周,但 B 淋巴细胞免疫缺陷者排毒时间可持续几年,偶尔可超过 10 年^[14]。de Silva 等^[13] 的临床研究发现,10.2% PID 患者可持续排毒,排出的病毒有脊灰疫苗株 III 型, II 型,及 VDPV2 和 VDPV3。最长排毒时间达 11 月,且在其父母的粪便中也检测到脊灰疫苗株病毒。某些继发性免疫缺陷的患者,尤其是 HIV 感染患者,也属于疫苗相关性脊髓灰质炎的高危人群:有文献报道, HIV 感染患者对脊灰疫苗病毒 II、III 型完全不能产生抗体反应,对 II 型能产生较弱的抗体反应^[15],同样应尽可能避免接种或者接触 OPV。但 HIV 患者的排毒时间与其他原发性免疫缺陷患者的排毒时间没有统计学差异,且均在 4 周内停止排毒, HIV 感染并不是长期慢性排毒的高风险因素^[16]。另外,也有关于肛周脓肿患儿

的 VDPV 个案病例报道^[17]。可以设想,在阻断脊灰野病毒传播之后,从理论上讲脊灰病毒持续排毒的人群(如 PID 患者)可将其传播给接触者和一般人群,当人群免疫力低下时,或在某些 OPV 覆盖率低下的地区,将有可能引起 iVDPV 在人群中的广泛循环,甚至引起由 iVDPV 造成的脊灰爆发。

3 VDPV 相关病例的临床特点

3.1 地区分布特点 VDPV 相关病例主要发生在中低收入国家,尤其是人群脊灰抗体水平低的地区。首起被发现的 VDPV 病例发生在位于拉丁美洲西印度群岛中海地岛的海地^[18]。通过 AFP 病例主动搜索,2000 年 7 月至 2001 年 9 月,共发现 21 例确诊脊灰病例,从病例及其接触者中共分离到 31 株 VDPV。自此以后,全球各地均有所发生,菲律宾 2001 年共发生 3 例 cVDPVs^[19],马达加斯加岛 2002 年共发生 5 例 cVDPVs^[20],印度尼西亚 2005 年共发生 46 例 cVDPVs,一直到近年,2009~2010 年期间,印度共发生 12 例 cVDPVs,埃塞俄比亚共发生 6 例 cVDPVs^[1]。2004 年及 2006 年,我国在贵州、广西分别发现 3 例及 7 例 cVDPVs^[2-3]。

3.2 人群分部特点 Chi 等^[4]报道中,男女比例为 1.2:1。其发生年龄平均数为 17 个月(0.7 个月至 11.8 岁之间)。Wassilak 等^[21]报道中,平均年龄为 27 个月,男女比例为 2:1。这些研究提示 VDPV 病例患者在性别上比较差异无统计学意义,通常为婴幼儿。主要发生在以下 3 种人群中:(1)OPV 受种者;全程受种者,未全程受种者均可;(2)与 OPV 受种者接触而未受种的人;(3)免疫缺陷个体。

3.3 与 OPV 接种次数的关系 绝大多数免疫系统正常的 cVDPVs 发病在 4 次服用 OPV 后。伊朗 1995~2008 年 6 例 cVDPVs 中,4 例发生在 4 次服苗后,1 例在 2 次服苗后,还有 1 例未服苗^[12]。尼日利亚 2005~2010 年 315 例 cVDPVs 中,4 次服用后发病的占 43%,1~2 次服苗后发病的占 37%,未服苗发病的占 20%。但在 2000~2005 年台湾地区报道中,绝大多数 cVDPVs 发病在首次服苗后^[21]。但需注意,合并有免疫缺陷等基础疾病的 cVDPVs 则较多发病在首次或 2 次服苗后,其原因还不清楚。在 2005 年,西班牙报道 1 例免疫缺陷的患儿,发生在 2 次服苗后^[8]。

3.4 型别分布特点 大量研究资料表明,VDPV 病例主要由 Sabin II 型引起,II 型为优势病毒株,其次是 I 型。自 1988 年首例报道到 2010 年间,全球共报道 474 例 cVDPVs,其中 II 型占 388 例,I 型有 78 例,III 型 8 例^[1]。在中国,张勇等^[7]报道,1999~2002 年从 AFP 病例中分离的脊灰病毒中,II 型比 I 型和 III 型多,差异具有显著的统计学意义,是优势病毒株。其原因并不完全清楚,可能与 II 型病毒有相当活跃的突变位点及在肠道内停留时间较长等原因有关。

3.5 主要临床症状 与野毒株引起的脊髓灰质炎并无明显差异。最大的差别在于 cVDPVs 发生在服用 OPV 后或与 OPV 受种者接触的人,从其粪便标本中、呼吸道抽吸物中或者脑脊液中只分离到脊灰疫苗株病毒或者 VDPV,即可确诊。另需注意的是,感染初期症状常不典型,表现为:发热(67.8%)、咳嗽(48.2%)、流涕(27.4%)及腹泻(26.9%),因此在疾病早期常被误诊为下呼吸道感染和急性胃炎^[4]。病程中可合并心肌肉损害,在 Chi 等^[4]的研究中有一例患者死于心肌损害。

4 降低疫苗相关性脊髓灰质炎发生率的策略研究

采用 IPV 与 OPV 联合免疫策略或 IPV 单独接种策略在 80%~90%的受种者中,OPV 和 IPV 都能安全有效的诱导出针对麻痹型脊灰的长期保护力,而 OPV 有发生 cVDPVs 和

iVDPV 的风险。所以不少无脊灰流行的发达国家,已停止使用相对便宜的 OPV,改用 IPV 与 OPV 联合免疫策略或单用 IPV 策略来减少 cVDPVs 的发生率。如美国从 1997 年开始实行“顺序接种程序”,即 2、4 月龄各接种 1 剂 IPV,18~24 月龄和 4~6 岁时再服 2 次 OPV,认为可使 cVDPVs 减少 50%以上^[22]。2000 年又进一步提出美国儿童脊灰疫苗常规免疫应全部使用 IPV,而 OPV 只在某些特殊情况下使用,而后美国至今再无 VDPV 相关病例的报道^[23]。近年来,德国、韩国也相继提出与美国相同的常规免疫策略^[24]。近年来,日本也在加快本国 IPV 的研制,以求尽早实现 IPV 单独接种的免疫策略^[25]。至 2007 年已有 32 个国家完全使用 IPV,11 个国家使用 IPV 和口服脊灰疫苗(OPV)相结合的序贯程序。IPV 在发达国家和发展中国家的使用效果是完全肯定的。WHO 在 2010 年时建议:发生 WVP 输入或传播风险为“高等”或“中等”的国家采用 OPV 接种(包括出生时立即接种)。只有在 WPV 输入或传播的风险均最低的国家,才可以考虑以单独接种 IPV 来代替单独接种 OPV(或 IPV-OPV 序贯接种)。

我国目前主要使用的疫苗仍是 OPV,主要是因为其免疫效果好、价格低、接种方法简单等优点,而 IPV 价格昂贵,接种方法相对复杂。但使用 OPV 后,不可避免的会产生 cVDPVs 和 iVDPV。也就是说,只要继续使用 OPV,就不能根除脊灰,这与全球消灭脊灰目标相悖。在实现无脊灰目标的后期阶段,我国可考虑借鉴国外成功的经验,再结合我国的具体情况,制定出关于 IPV 使用的策略。现在仍然没有有效的抗脊灰病毒药物,脊灰仍然只能以疫苗预防为主。作为一线的临床医生,在我国完善脊灰疫苗免疫策略之前,在 OPV 接种过程中,应提高警惕,仔细询问儿童病史。已确诊以上几类原发性免疫缺陷的患儿,必须停止接种。而继发性免疫缺陷患儿或者免疫低下的患儿,接种时应慎重,接种后应密切观察,随访。

参考文献

- [1] Nathanson N, Kew OM. From emergence to eradication: the epidemiology of poliomyelitis deconstructed[J]. *Am J Epidemiol*, 2010, 172(11):1213-1229.
- [2] Liang X, Zhang Y, Xu W, et al. An outbreak of poliomyelitis caused by type 1 vaccine-derived poliovirus in China[J]. *J Infect Dis*, 2006, 194(5):545-551.
- [3] Yan D, Li L, Zhu S, et al. Emergence and Localized Circulation of a Vaccine-Derived Poliovirus in an Isolated Mountain Community in Guangxi, China[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(9):3274-3280.
- [4] Chi CY, Tseng FC, Liu DP, et al. Investigations of clinical isolations of oral poliovirus vaccine strains between 2000 and 2005 in southern Taiwan[J]. *J Clin Viro*, 2009, 45(2):129-134.
- [5] Kew OM, Sutter RW, de Gourville EM, et al. Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication [J]. *Annu Rev Microbiol* 2005, 59:587-635.
- [6] Macadam AI, Pollard SR, Ferguson G, et al. The 5' noncoding region of the type 2 poliovirus vaccine strain contains determinants of attenuation and temperature sensitivity[J]. *Virology*, 1991, 181(2):451-458.
- [7] 张勇, 严冬梅, 赵蓉, 等. 中国急性弛缓性麻痹病例脊髓灰质炎疫苗病毒分离株中优势株的基因特征及形成原因浅析[J]. *中国计划免疫*, 2006, 12(3):371-378.
- [8] Avellón A, Cabrerizo M, De Miguel T, et al. Paralysis Case and Contact Spread of Recombinant Vaccine-derived Poliovirus, Spain [J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(11):1807-1809.

[9] Arita M, Zhu SL, Yoshida H, et al. A Sabin 3-derived poliovirus recombinant contained a sequence homologous with indigenous human enterovirus species C in the viral polymerase coding region [J]. J Viro, 2005, 79(20):12650-12657.

[10] 张礼璧, 叶绪芳. 脊髓灰质炎疫苗重组株病毒在我国的循环及其致病性[J]. 中国计划免疫, 2001, 7(3):125-128.

[11] Zhang Y, Zhu S, Yan D, et al. Natural type 3/type 2 intertypic vaccine-related poliovirus recombinants with the first crossover sites within the VP1 capsid coding region[J]. PLoS One, 2010, 5(12):e15300.

[12] Shahmahmoodi S, Mamishi S, Aghamohammadi A, et al. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in immunodeficient children, Iran, 1995-2008[J]. Emerg Infect Dis, 2010, 16(7):1133-1136.

[13] de Silva R, Gunasena S, Ratnayake D, et al. Prevalence of prolonged and chronic poliovirus excretion among persons with primary immune deficiency disorders in Sri Lanka[J]. Vaccine, 2012, 30(52):7561-7565.

[14] Alexander Jr JP, Gary Jr HE, Pallansch MA. Duration of poliovirus excretion and its implications for acute flaccid paralysis surveillance; a review of the literature[J]. J Infect Dis, 1997, 175: S176-182.

[15] Chitsike I, van Furth R. Paralytic poliomyelitis associated with live oral poliomyelitis vaccine in child with HIV infection in Zimbabwe; case report[J]. Bmj, 1999, 318(7187):841-843.

[16] Manirakiza A, Picard E, Ngbale R, et al. OPV strains circulation in HIV infected infants after National Immunisation Days in Bangui, Central African Republic[J]. BMC Res Notes, 2010, 3:136.

[17] Higashigawa M, Maegawa K, Honma H, et al. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in an infant with perianal abscesses[J]. J Infect Chemother, 2010, 16(5):356-359.

[18] Update C. Outbreak of poliomyelitis-Dominican Republic and Haiti, 2000-2001[J]. MMWR, 2001, 50(39):855-856.

[19] Shimizu H, Thorley B, Paladin FJ, et al. Circulation of type 1 vaccine-derived poliovirus in the Philippines in 2001[J]. J Viro, 2004, 78(24):13512-13521.

[20] Rousset D, Rakoto-Andrianarivelo M, Razafindratsimandresy R, et al. Recombinant vaccine-derived poliovirus in Madagascar[J]. Emerg Infect Dis, 2003, 9(7):885-887.

[21] Wassilak S, Pate MA, Wannemuehler K, et al. Outbreak of type 2 vaccine-derived poliovirus in Nigeria: emergence and widespread circulation in an underimmunized population[J]. J Infect Dis, 2011, 203(7):898-909.

[22] Prevots DR, Strebel PM. Poliomyelitis prevention in the United States: new recommendations for routine childhood vaccination place greater reliance on inactivated poliovirus vaccine[J]. Pediatr Ann, 1997, 26(6):378-383.

[23] Alexander LN, Seward JF, Santibanez TA, et al. Vaccine policy changes and epidemiology of poliomyelitis in the United States [J]. JAMA, 2004, 292(14):1696-1701.

[24] Knolle H, Egli A, Candrian U. The perspective of global eradication of poliomyelitis[J]. Gesundheitswesen, 2004, 66(1):1-6.

[25] Hosoda M, Inoue H, Miyazawa Y, et al. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in Japan[M]. Lancet, 2012, 379(9815):520.

(收稿日期:2013-01-29)

• 综 述 •

鲍曼不动杆菌耐碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制研究进展

张黎黎 综述, 张莉萍 审校

(重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

关键词: 鲍氏不动杆菌; 碳青霉烯类; 耐药机制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 10. 030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)10-1265-04

鲍曼不动杆菌(Aba)是氧化酶阴性,无动力,无芽胞的革兰阴性非发酵菌。广泛分布于土壤、水体、下水道、医院环境和人体皮肤表面,它作为一种条件致病菌,对住院患者,特别是对重症监护室患者发病率和病死率有重大影响^[1]。随着抗菌药物的广泛使用,特别是碳青霉烯类抗菌药物的应用,耐碳氢霉烯类抗菌药物的鲍曼不动杆菌(CRAB)的报道逐年增加,国内外均报道有 CRAB 克隆株引起的暴发流行。Aba 对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性与其复杂的耐药机制密切相关,包括:(1)产生灭活酶;(2)外膜通道蛋白表达下调或缺失;(3)靶位蛋白的改变;(4)主动外排系统过度表达;(5)生物膜的形成。现对其各种机制尤其是灭活酶和生物膜的形成综述如下。

1 灭活酶的形成

鲍曼不动杆菌主要形成修饰酶、甲基化酶及水解酶。目前主要发现与碳青霉烯类抗菌药物耐药的相关酶包括: Ambler 分类中的 A、B、D 三类酶。

1.1 A 类酶 A 类碳青霉烯酶主要包括 NMC、IMI、SME 和

KPC 酶。这些酶都可水解广谱 β -内酰胺类抗菌药物(包括碳青霉烯类、头孢菌素类、青霉素类和氨基糖苷),并可被克拉维酸和他唑巴坦抑制,但其中的 SME、NMC 和 IMI 还未在鲍曼不动杆菌中有过报道^[2]。另外 GES 酶虽然最初归为超广谱 β -内酰胺酶家族,但随着新变异型的发现,证实其具有弱的但可测得的亚胺培南水解作用^[3]。这些酶都属于功能 2f 群碳青霉烯酶。

1.2 B 类酶 B 类酶包括 IMP(IMP-1、IMP-2、IMP-4、IMP-5、IMP-6、IMP-8 和 IMP-11), VIM (VIM-1、VIM-2、VIM4 和 VIM-11), SIM 和 NDM 四类。其活性位点为二价金属阳离子(主要是锌离子),故又被称为金属 β -内酰胺酶(metallo- β -lactamases, MBLs),其遗传位点也位于质粒上,对 β -内酰胺类抗菌药物具有广泛的水解作用,能被乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抑制。尽管 MBLs 在鲍曼不动杆菌中的检测不如 D 类酶 OXA 型碳青霉烯酶常见,但它对碳青霉烯的水解活性明显更强。

作者简介: 张黎黎,女,在读硕士研究生,主要从事鲍曼不动杆菌耐碳青霉烯类抗生素的耐药机制研究。