

论著·临床研究

流感嗜血杆菌阳性住院患儿回顾性流行病学调查

胡俊¹ 王晓蕾¹ 许峰³ 谢江¹ 刘华伟² 杨莉莉² 郭元彪²

(重庆医科大学附属成都第二临床学院 / 成都市第三人民医院 1. 儿科; 2. 检验科, 四川 成都 610031;
3. 重庆医科大学附属儿童医院 PICU, 重庆 400014)

[摘要] **目的** 研究住院患儿流感嗜血杆菌(Hi)感染的基本临床特征及耐药动态。**方法** 回顾性断面调查2011年6月至2013年5月间成都市第三人民医院0~17岁住院患儿痰液和咽拭子Hi分离情况。**结果** 共分离出Hi 117株, 111例患儿纳入调查, 其中102例为呼吸系统感染(91.9%), 其他疾病9例(8.1%)。支气管肺炎及肺炎患儿Hi检出率为50.8%(30/59), 急性喉气管支气管炎50.0%(2/4), 毛细支气管炎34.6%(9/26), 急性支气管炎24.2%(32/132), 喘息性支气管炎17.9%(5/28), 疱疹性咽峡炎19.0%(4/21), 急性上呼吸道感染11.8%(9/76), 急性扁桃体炎8.2%(7/85), 新生儿肺炎5.6%(3/54)。两个调查年度间阿莫西林克拉维酸(15% vs 23%, $P=0.010$)和氯霉素(25% vs 8%, $P=0.015$)耐药率差异有统计学意义。 β -内酰胺酶阴性氨苄西林耐药菌株(BLNAR)和 β -内酰胺酶阳性阿莫西林克拉维酸耐药菌株(BLPACR)两年间均有增长, 分别从12%增加到21%, 13%增加到19%, 但差异未达统计学意义($P>0.05$)。**结论** Hi在0~17岁儿童呼吸道感染中扮演着重要角色; BLNAR和BLPACR呈增长趋势将使临床面临更加严峻的抗菌素选择压力。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(6): 596-601]

[关键词] 流感嗜血杆菌; 感染; 流行病学; 耐药性; β -内酰胺酶; 儿童

Epidemiological survey of Haemophilus influenzae-positive hospitalized children: a retrospective analysis

HU Jun, WANG Xiao-Lei, XU Feng, XIE Jiang, LIU Hua-Wei, YANG Li-Li, GUO Yuan-Biao. Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital of Chengdu Chongqing Medical University/Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610031, China (Wang X-L, Email: WXL3721@163.com)

Abstract: Objective To investigate the basic clinical characteristics and drug resistance of Haemophilus influenzae (Hi) infection in hospitalized children in the past two years. **Methods** A retrospective cross-sectional study was conducted to analyze Hi strains isolated from the sputum and pharyngeal swabs of children aged 0-17 years who were hospitalized in the Third People's Hospital of Chengdu between June 2011 and May 2013. **Results** A total of 117 strains were isolated from 111 hospitalized children. There were 102 cases (91.9%) of respiratory infection and 9 cases (8.1%) of other diseases. The positive rates of Hi in children with bronchopneumonia or pneumonia (50.8%, 30/59) and in children with acute laryngotracheobronchitis (50.0%, 2/4) were relatively high, followed by in children with capillary bronchitis (34.6%, 9/26), in children with acute bronchitis (24.2%, 32/132), in children with herpangina (19.0%, 4/21), in children with asthmatoïd bronchitis (17.9%, 5/28), in children with acute upper respiratory tract infection (11.8%, 9/76), in children with acute tonsillitis (8.2%, 7/85), and in children with neonatal pneumonia (5.6%, 3/54). There were significant differences in the rates of resistance to amoxicillin-clavulanate (15% vs 23%; $P=0.010$) and chloramphenicol (25% vs 8%; $P=0.015$) between the two survey years. The frequency of β -lactamase-nonproducing-ampicillin-resistant (BLNAR) strains and β -lactamase-producing-amoxicillin/clavulanate-resistant (BLPACR) strains increased from 12% to 21% and from 13% to 19% respectively during the two survey years ($P>0.05$). **Conclusions** Hi plays an important role in the respiratory tract infection of children aged 0-17 years. The increasing trend of BLNAR and BLPACR rates makes it harder for antibiotic selection in clinical practice.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(6): 596-601]

Key words: Haemophilus influenzae; Infection; Epidemiology; Drug resistance; β -Lactamase; Child

[收稿日期] 2014-08-29; [接受日期] 2015-01-06

[基金项目] 四川省科技厅应用基础研究项目(2013JY0121)。

[作者简介] 胡俊, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 王晓蕾, 女, 主任医师。

流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*, Hi) 是引起儿童细菌性结膜炎、结膜炎-耳炎症候群、细菌性鼻窦炎、下呼吸道感染的常见病原菌^[1]。在常规接种 Hib 联合疫苗前, Hib 是侵入性 Hi 的主要亚型和 5 岁以下儿童细菌性脑膜炎的最常见病因^[2], 严重感染可以导致患儿致残或死亡。文献报道, 自 20 年前 Hib 结合疫苗问世以来 Hib 感染迅速下降, 且几乎没有出现能取代 Hib 重要位置的其他亚群感染^[1,3]。随着 Hib 感染的下降, 全球范围内对 Hi 的关注程度也随之降低, 每千篇病原学文章中与 Hi 相关文章比例从 1991 年的 18.4% 降至 2009 年的 7%^[4]。实际上, 不可分型流感嗜血杆菌 (non-typeable *Haemophilus influenzae*, NTHi) 可能正在悄然取代 Hib 成为重要的儿童呼吸道感染病原菌, 但并未得到应有的关注^[1]。本课题组前期在一项针对儿童下呼吸道感染病原菌的研究中发现 Hi 在 2001~2006 年成都地区儿童下呼吸道感染病原菌中排列第一, 占下呼吸道感染病原菌的 21%^[5]。同期分子分型研究发现其中 NTHi 占 99.6%^[6-8]。既往国内对儿童 Hi 感染临床流行病学背景以及同一地区、长时间跨度的病原菌耐药动态少有系统报道。为追踪同一地区近两年 0~17 岁住院患儿 Hi 阳性分离者的基本临床流行病学特征及 β -内酰胺酶阴性氨苄西林耐药 (β -lactamase-nonproducing-ampicillin-resistant, BLNAR) 和含有多重耐药机制的 β -内酰胺酶阳性阿莫西林克拉维酸耐药 (β -lactamase-producing-amoxicillin/clavulanate-resistant, BLPACR) 菌株等耐药动态, 本课题组以本地区一家综合性三甲医院为研究现场进行回顾性断面调查, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以成都市第三人民医院住院患儿痰液或咽拭子标本 Hi 分离阳性者为研究对象进行回顾性断面调查。

1.2 数据库建立

进入医院微生物室信息系统, 以 Hi 为关键词检索 2011 年 6 月 1 日至 2013 年 5 月 31 日 0~17 岁住院患儿痰液或咽拭子标本 Hi 分离阳性住院患

儿的基本信息, 查阅电子病历并建立数据库。儿科疾病诊断标准参照《诸福棠实用儿科学》^[9], 儿童社区获得性肺炎 (community-acquired pneumonia, CAP) 诊断标准和分度标准采用中华医学会儿科学分会呼吸学组 2013 年修订的“儿童社区获得性肺炎管理指南 (2013 修订)”^[10] 标准。

1.3 标本采集

痰液采集通过一次性鼻导管或气管插管负压吸取痰液; 咽拭子采集方法为左手用压舌板压住患儿舌头, 待患儿发“啊-”音时, 右手持无菌拭子擦拭双侧咽扁桃体及咽后壁 (避免触及舌部), 将拭子头浸入采集液中。痰液和咽拭子采样合格标准为: 涂片细胞学检查显示中性粒细胞 >25 个/低倍视野 ($\times 100$ 倍), 鳞状上皮细胞 <10 个/低倍视野 ($\times 100$ 倍), 或白细胞/鳞状上皮细胞 $\geq 10^{[11]}$ 。

1.4 流感嗜血杆菌培养和鉴定

操作严格按照“全国临床检验操作规程”第 2 版进行。将质控合格的痰及咽拭子标本常规接种于哥伦比亚血琼脂平板、嗜血杆菌巧克力平板及麦康凯平板, 血平板培养基为 5% 脱纤维绵羊血; 嗜血杆菌巧克力平板另加 2.5 U/mL 去甲万古霉素。挑取嗜血杆菌巧克力平板上湿润、光滑、易乳化的菌落, 用 V 因子、X 因子及 V+X 因子纸片行 Hi 初筛实验, 再用 NH 鉴定卡进一步鉴定。培养基及因子纸片均购自英国 OXOID 公司, NH 鉴定卡购自美国 Thermo Scientific 公司。

1.5 药物敏感试验

用法国生物梅里埃 ATB 药敏卡进行药敏试验。用 ATCC49247 Hi 标准菌株进行质控, 标准菌株购自卫生部临检中心, 药敏结果判断依据美国临床实验室标准化研究所 (CLSI) 2012 年标准执行^[12]。

1.6 β -内酰胺酶测定

用英国 OXOID 公司提供的头孢硝基噻吩显色反应法检测。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析, 计数资料以例数和百分率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

2011年6月至2013年5月0~17岁住院患儿送检痰液和咽拭子标本分离出Hi 117株,排除同一患儿同一时段和不同时段采集多份标本分离出的Hi菌株6株,Hi分离阳性患儿共111例纳入调查,男63例,女48例。年龄段分布:0~28 d 7例(6.3%),29 d~1岁32例(28.8%),2~3岁37例(33.3%),4~6岁25例(22.5%),7~17岁10例(9.0%)。时间分布:1~12月分别为12例、2例、12例、10例、22例、10例、5例、3例、4例、7例、18例和6例,时间分布趋势见图1,纳入调查的24个月均有Hi检出,两个年度的共同检出高峰均在5月和11月。

2.2 Hi菌株分离与疾病分布

117株Hi中痰液分离87株(74.4%),咽拭子30株(25.6%),不同疾病病原学送检情况及Hi阳性检出情况见表1。111例Hi阳性患儿中呼

吸道感染性疾病102例(91.9%),其他疾病9例(8.1%)。其中以支气管肺炎及肺炎患儿Hi检出率最高,急性喉气管支气管炎阳检率次之,其他依次为毛细支气管炎、急性支气管炎、喘息性支气管炎、疱疹性咽峡炎、急性上呼吸道感染、急性扁桃体炎等,新生儿肺炎检出率最低。上述疾病患儿出院总数为622例,病原学检查511例,病原学送检率82.2%,Hi总阳检率21.7%。本组未发现脑膜炎病例,肺炎患儿Hi检出率达到51%,27例CAP中10例重症肺炎均存在不同程度的意识障碍和呼吸困难,2例患儿出现呼吸衰竭,全部患儿胸片均显示不同程度的肺浸润表现。

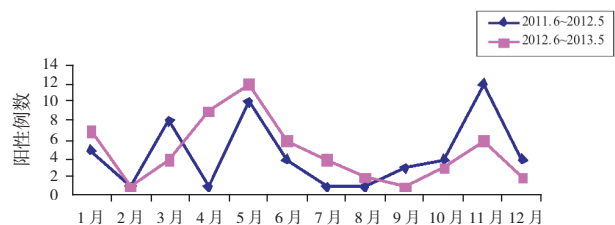


图1 Hi阳性检出月份分布

表1 主要诊断与Hi阳检率

出院主要诊断	出院人数	病原学检查人数	病原学送检率(%)	Hi阳性(人数)	Hi阳检率(%)
急性上呼吸道感染	107	76	71.0	9	11.8
急性扁桃体炎	104	85	81.7	7	8.2
疱疹性咽峡炎	24	21	87.5	4	19.0
急性支气管炎	154	132	85.7	32	24.2
毛细支气管炎	28	26	92.9	9	34.6
喘息性支气管炎	33	28	84.8	5	17.9
急性喉气管支气管炎	6	4	66.7	2	50.0
支气管肺炎、肺炎	75	59	78.7	30 ^a	50.8
新生儿上呼吸道感染	—	—	—	1	—
新生儿肺炎	54	54	—	3 ^b	5.6
新生儿脓疱疹	—	—	—	1	—
新生儿高胆红素血症	4	4	100	2	50.0
幼儿急疹	6	5	83.3	2	40.0
手足口病	20	13	65.0	2	15.4
传染性单核细胞增多症	7	4	57.1	1	25.0
诊断不明	—	—	—	1	—

注: a示包括重症肺炎9例; b示包括新生儿重症肺炎1例; —为非主要诊断。

2.3 基础疾病与主要合并症

患儿基础疾病和主要合并症见表2,常见基础疾病依次为支气管哮喘或咳嗽变异性哮喘、先天性心脏病,常见合并症依次为腹泻病、中耳炎、

化脓性腮腺炎、鼻窦炎、结膜炎等。分别有1例合并胸膜炎,1例合并新生儿败血症,5例患儿从痰液或咽拭子中分离出其他病原菌,包括肺炎链球菌3例,金黄色葡萄球菌2例。全部患儿治愈

或好转出院，无一例死亡。

2.4 菌株产酶与耐药情况

Hi 阳性检出者中剔除药敏试验结果不全 6 例，共 105 例纳入统计分析。第一年度 Hi 产 β -内酰胺酶的产酶率为 44% ($n=52$)，第二年度为 42% ($n=53$)，两年间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.079$, $P=0.778$)。两年间 Hi 菌株耐药率比较见表 3，除阿莫西林克拉维酸 ($P=0.010$) 和氯霉素 ($P=0.015$) 外，余差异无统计学意义。 β -内酰胺酶阴性氨苄西林耐药菌株 (BLNAR) 和 β -内酰胺酶阳性阿莫西林克拉维酸耐药菌株 (BLPACR) 两年间均有增长，分别从 12% 增加到 21%，13% 增加到 19%，但差异未显示出统计学意义，见表 4。

表 2 患儿基础疾病与主要合并症 ($n=111$)

基础疾病与主要合并症	例数	百分率 (%)
支气管哮喘或咳嗽变异性哮喘	14	13
先天性心脏病	6	5
中耳炎	2	2
化脓性腮腺炎	1	1
过敏性鼻炎	1	11
鼻窦炎	1	1
结膜炎	1	1
腹泻病	11	10
胸膜炎	1 ^a	1
新生儿败血症	1 ^b	1

注：a 系毛细支气管炎患儿合并；b 系临床诊断，未得到血培养证实。

表 3 Hi 菌株耐药率 [n (%)]

年度	例数	氨苄西林	阿莫西林克拉维酸	头孢克洛	头孢呋辛	头孢噻肟	氧氟沙星	SMZ	四环素	氯霉素	利福平
2011 年 6 月 ~ 2012 年 5 月	52	29(56)	8(15)	21(40)	15(29)	29(56)	11(21)	41(79)	9(17)	13(25)	2(4)
2012 年 6 月 ~ 2013 年 5 月	53	33(62)	12(23)	24(45)	11(21)	4(8)	8(15)	39(74)	7(13)	4(8)	0
χ^2 值		0.458	6.705	0.457	0.922	—	0.650	0.401	0.342	5.892	—
P 值		0.499	0.010	0.499	0.337	1.000	0.420	0.527	0.559	0.015	0.243

表 4 Hi 菌株耐药表型变化 [n (%)]

年度	例数	BLNAR	BLPAR	BLNACR	BLPACR
2011 年 6 月 ~ 2012 年 5 月	52	6(12)	23(44)	1(2)	7(13)
2012 年 6 月 ~ 2013 年 5 月	53	11(21)	22(42)	2(4)	10(19)
χ^2 值		1.643	0.079	—	0.565
P 值		0.200	0.778	1.000	0.452

注：BLNAR: β -内酰胺酶阴性氨苄西林耐药；BLPAR: β -内酰胺酶阳性氨苄西林耐药；BLNACR: β -内酰胺酶阴性阿莫西林克拉维酸耐药；BLPACR: β -内酰胺酶阳性阿莫西林克拉维酸耐药。

3 讨论

近 20 年来，多个国家的监测数据显示 NTHi 侵入性感染发生率因年龄不同和地域不同有所差异。美国 1989 年 Hi 侵入性感染 80% 为 Hib、17% 为 NTHi 导致，2008 年 3% 为 Hib、68% 为 NTHi；1999~2008 年间 NTHi 年发生率是 0.99/10 万，发生率最高是 1 岁内婴儿 (5.87/10 万) 和 >65 岁的成人 (4.09/10 万) [13]。1992~2006 年，14 个将 Hi 常规进行血清型鉴定的国家监测数据显示与上年同比侵入性非 Hib 型感染性疾病上升 3.5% 且主要由 NTHi 引起，NTHi 感染占 97% [14]。确诊下呼

吸道感染病原菌标本目前公认最可靠的方法是经胸廓细针穿刺活检，但临床上并不被常规采用，因此，通常采用其他非直接诊断标本采样，如血液、痰液和支气管肺泡灌洗液 (broncho-alveolar lavage, BAL) 培养 [1]。研究认为尽管下呼吸道感染患儿痰和 BAL 培养常被鼻咽部微生物污染，但此类标本按标准流程收集仍能够提供有价值的下呼吸道微生物定植的信息 [15-16]。20%~94% 的 CAP 患儿合格痰液标本和 BAL 中被检出 NTHi [17-19]。过去认为会厌炎是特有的侵入性 Hib 疾病 [1]，本组病例未见会厌炎诊断病例，但 4 例急性喉气管支气管炎住院患儿中 2 例检出 Hi，患儿存在不同程度的喉梗阻，

是否属于 Hi 侵入性感染尚需在前瞻性研究中进一步证实。值得注意的是,本研究有 7 例新生儿患儿,其中高胆红素血症合并败血症 1 例未得到血培养证实,另 1 例重症肺炎合并心肌损害和脑病患儿临床经过险恶。国外文献报道新生儿 NTHi 侵入性感染发生率为 1.6~4.9/1000 活产婴^[20-22],多数新生儿 NTHi 侵入性感染病例缺乏典型表现,病情进展迅猛并伴随着高病死率,早产儿暴发病例通常在 24 h 内死亡。因此新生儿 Hi 感染应引起临床医师高度警惕。

NTHi 气道定植是引起气道感染和组织损伤的主要病因^[23],国外文献报道顽固的细菌性支气管炎在 <5 岁的儿童常见,以慢性咳嗽为特征且临床难以辨别^[24-25],而顽固性细菌性支气管炎患儿痰液 Hi 阳性检出率达到 81%^[26]。本研究中毛细支气管炎、急性支气管炎和喘息性支气管炎住院患儿 Hi 阳性占有相当的比例,是否属于继发或原发性细菌性支气管炎尚需进一步研究证实。NTHi 是引起慢性化脓性中耳炎、鼻窦炎的重要原因,也是儿童细菌性结膜炎和结膜炎耳炎症候群的常见病原菌^[27-28],本研究中呼吸系统感染合并中耳炎、鼻窦炎、结膜炎仅各 1 例,诊断率偏低,推测与我国儿童呼吸道感染患儿未常规进行耳镜检查导致中耳炎和鼻窦炎临床诊断率低有关。

β -内酰胺酶仍然是 Hi 耐 β -内酰胺类药物的主要机制,过去 10 年中全球大多数地区菌株 β -内酰胺酶阳性率在 10%~25% 之间,而部分亚洲国家和地区则达到 55%^[1]。本研究中产 β -内酰胺酶 Hi 菌株较本课题组 2004~2006 年报道的 40.2% 略有增加^[5];氨苄西林耐药率较上一调查年度有所上升,与 2004~2006 年间同地区的 40.6% 相比增长了 21.66%^[5];除头孢噻肟耐药率持续保持在较低水平并较 2004~2006 年间同一地区的 12.5% 下降近 1 倍外,头孢呋辛和头孢克洛耐药率两年间差异无统计学意义^[5],上述 β -内酰胺类耐药率的变化与产 β -内酰胺酶菌株的变化不完全保持一致,菌株耐药机制的变化尚待进一步的前瞻性研究证实。

1984 年前全球未分离到 BLNAR 和对 β -内酰胺类药物耐药的非 β -内酰胺酶依赖性中介 (BLNAI) 菌株,1990 年代 BLNAR 开始小幅上升,但 2000 年以后 BLNAR 和 BLNAI 菌株在不同国家和地区快速增长^[1]。本研究中 BLNAR 从上一年度

的 12% 增长至 21%,明显高于 2010 年杭州 1.32% 和厦门 2.99% 的增长幅度^[29-30],也略高于 Ito 等^[31]报道 2007 年日本 NTHi 菌株的 17.6%。BLNAR 基因型对多种抗菌素耐药,其耐药机制主要是青霉素结合蛋白改变致 β -内酰胺类抗菌素与其结合能力降低以及外膜蛋白通透性改变致抗菌药物进入菌体内减少导致耐药发生^[32]。多重耐药机制菌株 BLPACR 的出现和蔓延与 BLNAR 及 BLNAI 类似,由于 BLPACR 除存在 β -内酰胺酶耐药机制外,尚存在与 BLNAR 类似的 PBP_s 基因突变。本研究中 BLPACR 菌株从上一年度的 13% 增长至 19%。由于 BLPACR 菌株对阿莫西林克拉维酸以及其他常用口服抗菌药物有更高的耐药率,BLPACR 菌株的增长将导致更加严峻的临床问题。各本地区临床抗生素监管或抗生素的调整使用,菌株耐药基因突变等都是影响 BLNAR 和 BLPACR 变化趋势的关键因素,两者均呈现增长趋势使相应抗菌素敏感率降低值得持续监测和进一步探讨。

综上,Hi 在 0~17 岁儿童呼吸道感染性疾病中扮演着重要角色,BLNAR 和 BLPACR 呈现增长趋势将使临床面临更加严峻的抗生素选择压力。

[参 考 文 献]

- [1] Van EJ, Slack MPE, Ladhani S, et al. Non-typeable *Haemophilus influenzae*, an under-recognised pathogen[J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(12): 1281-1292.
- [2] Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates[J]. *Clin Microbiol Rev* 2000, 13(2): 302-317.
- [3] Gessner BD, Adegbola RA. The impact of vaccines on pneumonia: key lessons from *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines[J]. *Vaccine*, 2008, 26(suppl 2): B3-B8.
- [4] NTHi-Watch. NTHi-Watch[DB/OL]. <http://nthi-watch.griffith.edu.au/> (accessed Jan 10, 2013).
- [5] 黄成, 王晓蕾, 张砺, 等. 2001~2006 年成都市儿童医院常见下呼吸道感染病原菌分布及耐药性检测[J]. *中国当代儿科杂志*, 2008, 10(1): 17-20.
- [6] 田国忠, 李学春, 张砺, 等. 流感嗜血杆菌表型和脉冲场凝胶电泳分型研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2009, 29(1): 79-83.
- [7] 田国忠, 邵祝军, 张砺, 等. 多重聚合酶链反应检测流感嗜血杆菌[J]. *中华流行病学杂志*, 2008, 29(8): 806-809.
- [8] Tian GZ, Zhang L, Li MC, et al. Genotypic Characteristics of *Haemophilus influenzae* Isolates from Pediatric Pneumonia Patients in Chengdu City, Sichuan, China[J]. *J Microbiol*, 2009, 47(4): 494-497.

- [9] 董声焕, 张亚梅, 刘玉秀, 等. 呼吸系统疾病 [M]// 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 (上册). 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1139-1265.
- [10] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南 (2013 修订) (下) [J]. 中华儿科杂志, 2013, 5(11): 856-862.
- [11] Murdoch DR, O'Brien KL, Driscoll AJ, et al. Laboratory methods for determining pneumonia etiology in children[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(Suppl 2): S146-S152.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. 2012, M100-S22.
- [13] MacNeil JR, Cohn AC, Farley M, et al. Current epidemiology and trends in invasive *Haemophilus influenzae* disease-United States, 1989-2008[J]. Clin Infect Dis, 2011, 53(12): 1230-1236.
- [14] Ladhani S, Slack MPE, Heath PT, et al. Invasive *Haemophilus influenzae* disease, Europe, 1996-2006[J]. Emerg Infect Dis 2010, 16(3): 455-463.
- [15] Courcol RJ, Damien JM, Ramon P, et al. Presence of alveolar macrophages as a criterion for determining the suitability of sputum specimens for bacterial culture[J]. Eur J Clin Microbiol, 1984, 3(2): 122-125.
- [16] Klein DW, Beasley PA, Ilstrup DM, et al. Can microscopic screening be used to determine the suitability of sputum for culture of *Haemophilus* species?[J]. Am J Clin Pathol, 1986, 86(6): 771-773.
- [17] Chiang WC, Teoh OH, Chong CY, et al. Epidemiology, clinical characteristics and antimicrobial resistance patterns of community-acquired pneumonia in 1702 hospitalized children in Singapore[J]. Respiriology, 2007, 12(2): 254-261.
- [18] De Schutter I, De Wachter E, Crokaert F, et al. Microbiology of bronchoalveolar lavage fluid in children with acute nonresponding or recurrent community-acquired pneumonia: identification of nontypeable *Haemophilus influenzae* as a major pathogen[J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(12): 1437-1444.
- [19] Ingarfield SL, Celenza A, Jacobs IG, et al. The bacteriology of pneumonia diagnosed in Western Australian emergency departments[J]. Epidemiol Infect, 2007, 135(8): 1376-1383.
- [20] Falla TJ, Dobson SR, Crook DW, et al. Population-based study of non-typable *Haemophilus influenzae* invasive disease in children and neonates[J]. Lancet, 1993, 341(8849): 851-854.
- [21] Heath PT, Booy R, Azzopardi HJ, et al. Non-type b *Haemophilus influenzae* disease: clinical and epidemiologic characteristics in the *Haemophilus influenzae* type b vaccine era[J]. Pediatr Infect Dis J, 2001, 20(3): 300-305.
- [22] Gkentzi D, Slack M, Ladhani S. The burden of nonencapsulated *Haemophilus influenzae* in children and potential for prevention[J]. Curr Opin Infect Dis, 2012, 25(3): 266-272.
- [23] Clancy RL, Dunkley M. Acute exacerbations in COPD and their control with oral immunization with non-typeable *Haemophilus influenzae*[J/OL]. Front Immunol, 2011, 2: 7.
- [24] Marchant JM, Masters IB, Taylor SM, et al. Utility of signs and symptoms of chronic cough in predicting specific cause in children[J]. Thorax, 2006, 61(8): 694-698.
- [25] Marchant JM, Masters IB, Taylor SM, et al. Evaluation and outcome of young children with chronic cough[J]. Chest, 2006, 129(5): 1132-1141.
- [26] Donnelly D, Critchlow A, Everard ML. Outcomes in children treated for persistent bacterial bronchitis[J]. Thorax, 2007, 62(1): 80-84.
- [27] Block SL, Hedrick J, Tyler R, et al. Increasing bacterial resistance in pediatric acute conjunctivitis (1997-1998)[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(6): 1650-1654.
- [28] Bingen E, Cohen R, Jourenkova N, et al. Epidemiologic study of conjunctivitis-otitis syndrome[J]. Pediatr Infect Dis J, 2005, 24(8): 731-732.
- [29] 程薇, 钱利强, 华春珍, 等. 儿童呼吸道标本分离的流感嗜血杆菌耐药模式研究 [J]. 检验医学, 2010, 25(3): 192-195.
- [30] 徐和平, 马晓波, 郑燕青, 等. 厦门地区呼吸道感染患儿嗜血杆菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 检验医学与临床, 2011, 8(16): 1927-1930.
- [31] Ito M, Hotomi M, Maruyama Y, et al. Clonal spread of beta-lactamase-producing amoxicillin-clavulanate-resistant (BLPACR) strains of non-typeable *Haemophilus influenzae* among young children attending a day care in Japan[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2010, 74(8): 901-906.
- [32] Ubukata K, Shibasaki Y, Yamamoto K, et al. Association of aminoacid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(6): 1693-1699.

(本文编辑: 王庆红)