

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2305003

论著·临床研究

## 幼儿园儿童年龄与肺炎链球菌疫苗 覆盖率间的剂量-反应关系

李亭 邓文君 张景锋 李平原 周俊立 姚振江 叶小华

(广东药科大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系, 广东广州 510310)

**[摘要]** **目的** 了解幼儿园儿童年龄与肺炎链球菌疫苗覆盖率间的潜在关系, 为指导疫苗接种和开发新型蛋白疫苗提供依据。**方法** 采用分层整群随机抽样方法, 抽取佛山市顺德区6所幼儿园中1 830名健康儿童, 进行鼻咽拭子采样并分离鉴定肺炎链球菌。采用基于限制性立方样条的logistic回归模型分析儿童年龄与肺炎链球菌相关疫苗覆盖率间的剂量-反应关系。**结果** 幼儿园儿童鼻咽部肺炎链球菌携带率为22.46% (411/1 830), 常见血清型为6B、19F、15A、23A、34与23F。对于肺炎链球菌结合疫苗 (pneumococcal conjugate vaccine, PCV), PCV10与PCV13血清型覆盖率分别为53.0%、57.9%, 且儿童年龄与PCV10和PCV13血清型覆盖率间存在明显的非线性剂量-反应关系 (均 $P<0.05$ ), 2岁组儿童的PCV10 (88.0%) 和PCV13 (91.1%) 血清型覆盖率均较高。儿童年龄与菌毛基因岛 (pilus islet, PI) 相关基因PI-1、PI-2覆盖率间存在非线性剂量-反应关系 (均 $P<0.05$ ), PI-1 (37.7%) 和PI-2 (16.1%) 覆盖率较低, 且各年龄组儿童的PI-1 (13.0%~58.5%) 和PI-2 (6.0%~29.4%) 覆盖率均较低。候选蛋白疫苗相关的毒力基因 $lytA$  (99.5%)、 $ply$  (99.0%) 覆盖率高。**结论** 幼儿园儿童年龄与PCV10、PCV13血清型覆盖率存在明显的非线性剂量-反应关系, 且2岁组幼儿园儿童具有较高的PCV血清型覆盖率; 毒力基因 $lytA$ 与 $ply$ 的各年龄段高流行使其有望作为候选毒力因子开发新一代重组蛋白疫苗。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (10): 1059-1065]

**[关键词]** 肺炎链球菌; 血清型; 肺炎链球菌结合疫苗; 蛋白疫苗; 儿童

### Dose-response relationship between age and *Streptococcus pneumoniae* vaccination coverage in kindergarten children

LI Ting, DENG Wen-Jun, ZHANG Jing-Feng, LI Ping-Yuan, ZHOU Jun-Li, YAO Zhen-Jiang, YE Xiao-Hua. Department of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, China (Ye X-H, Email: smalltomato@163.com)

**Abstract: Objective** To investigate the potential relationship between age and *Streptococcus pneumoniae* vaccination coverage in kindergarten children, and to provide a basis for guiding vaccination and developing new protein vaccines. **Methods** The stratified cluster random sampling method was used to select 1 830 healthy children from six kindergartens in Shunde District, Foshan City, China, and nasopharyngeal swabs were collected for the isolation and identification of *Streptococcus pneumoniae*. The logistic regression model based on restricted cubic spline was used to analyze the dose-response relationship between age and *Streptococcus pneumoniae* vaccination coverage. **Results** The rate of nasal *Streptococcus pneumoniae* carriage was 22.46% (411/1 830) among the kindergarten children, with the predominant serotypes of 6B, 19F, 15A, 23A, 34, and 23F. The coverage rates of 10-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV10) and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) were 53.0% and 57.9%, respectively, and there was a significant non-linear dose-response relationship between age and the coverage rates of PCV10 and PCV13 ( $P<0.05$ ), with a higher coverage rate of PCV10 (88.0%) and PCV13 (91.1%) in the children aged 2 years. There was a significant non-linear dose-response relationship between age and the coverage rates of pilus islet 1 (PI-1) and pilus islet

[收稿日期] 2023-05-04; [接受日期] 2023-08-30

[基金项目] 国家自然科学基金 (81973069); 广东省基础与应用基础研究基金 (2019A1515010915)。

[作者简介] 李亭, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 叶小华, 女, 教授。Email: smalltomato@163.com。

2 (*PI-2*) ( $P < 0.05$ ), with a lower vaccination coverage rate for *PI-1* (37.7%) and *PI-2* (16.1%). The coverage rates of *PI-1* (13.0%-58.5%) and *PI-2* (6.0%-29.4%) were lower in all age groups. The virulence genes *lytA* (99.5%) and *ply* (99.0%) associated with candidate protein vaccines showed higher vaccination coverage rates. **Conclusions** There is a significant non-linear dose-response relationship between the age of kindergarten children and the coverage rates of PCV10 and PCV13 serotypes, and kindergarten children aged 2 years have a relatively high coverage rate of PCV. The high prevalence of the virulence genes *lytA* and *ply* shows that they are expected to become candidate virulence factors for the development of a new generation of recombinant protein vaccines.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(10): 1059-1065]

**Key words:** *Streptococcus pneumoniae*; Serotype; Pneumococcal conjugate vaccine; Protein vaccine; Child

肺炎链球菌疾病是儿童发病和死亡的最主要原因，特别是侵袭性肺炎链球菌疾病（invasive pneumococcal disease, IPD）给全球儿童造成了严重的疾病负担。肺炎链球菌疾病在5岁以下儿童、65岁以上老年人及具有免疫缺陷病、基础合并症人群中发病率很高<sup>[1]</sup>。肺炎链球菌主要通过呼吸道飞沫定植于鼻咽部并侵入机体正常无菌部位（如血液、脑脊液等），从而导致IPD并引起全身性的严重感染（例如菌血症和脑膜炎）<sup>[2]</sup>。疫苗接种是预防和控制肺炎链球菌感染的最经济、最有效策略。肺炎球菌结合疫苗（pneumococcal conjugate vaccine, PCV）的引入已使全世界IPD发病率显著降低<sup>[3-4]</sup>，但疫苗的广泛使用改变了肺炎链球菌血清型的自然流行规律，致使疫苗覆盖血清型流行率呈下降趋势，而非疫苗覆盖血清型流行率呈上升趋势，这已成为全球日益关注的公共卫生问题<sup>[5]</sup>。世界卫生组织推荐5岁及以下儿童接种10价肺炎链球菌结合疫苗（10-valent pneumococcal conjugate vaccine, PCV10）与13价肺炎链球菌结合疫苗（13-valent pneumococcal conjugate vaccine, PCV13）<sup>[6]</sup>；《肺炎球菌性疾病免疫预防专家共识》（2020版）<sup>[2]</sup>指出，PCV13在较大年龄儿童中（2~6岁）具有较好的免疫原性，因此幼儿园儿童是PCV接种的主要人群，需要持续监测肺炎链球菌的血清型流行状况，以更好地评估结合疫苗的有效性。由于结合疫苗仅局限于特定血清型且生产成本较高，因此新型的、高度保守的蛋白疫苗成为了新一代肺炎疫苗的研究热点。迄今为止，候选蛋白疫苗中具有较大潜力的毒力蛋白主要是自溶素（autolysin A, *lytA*）、肺炎链球菌溶血素（pneumolysin, *ply*）和肺炎链球菌表面蛋白A（pneumococcal surface protein A, *pspA*），以及基于菌毛基因 *rfaA* 与 *sipA* 的蛋白。多项研究表明，上述蛋白质具有多种生物学活性，在肺炎链球菌疾病的发病机制中起重要作用<sup>[3, 7-9]</sup>，这可为研发新型肺炎链球菌蛋白疫苗提供新思路。本研究对广东

省佛山市顺德区幼儿园儿童进行流行病学研究，旨在掌握该地区幼儿园儿童携带肺炎链球菌的血清型流行状况，并探究儿童年龄与肺炎链球菌血清型、基因型覆盖率间潜在剂量-反应关系，为指导儿童疫苗接种与研发新型蛋白疫苗提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2020年10—12月佛山市顺德区幼儿园的健康儿童为研究对象，采用分层整群随机抽样的方法：第一阶段，按经济发展水平和地理分布位置将顺德区分为2层（城镇、农村）；第二阶段，每层按比例采用直接抽选法抽取部分幼儿园，共抽取6所幼儿园，其中城镇和农村各3所，抽中幼儿园中所有符合纳入标准的儿童均参与本次调查。纳入标准：年龄≤7岁的健康幼儿园儿童，且监护人签署知情同意书。排除标准：调查前7 d内患有支气管炎、肺炎等急性感染性疾病；患有血友病等易出血疾病。共调查1 830名儿童。本研究获得广东药科大学伦理委员会批准（批件号：伦理审[2019]第19号），所有儿童监护人在调查前均已签署知情同意书，并于采样前完成问卷调查。

### 1.2 菌株采集与分离鉴定

由经过统一培训的调查员对儿童进行鼻咽拭子采样，首先用生理盐水湿润无菌拭子，然后通过鼻腔慢慢插入鼻咽，遇到阻力后轻轻旋转3~5圈，取出拭子并放置无菌试管中。肺炎链球菌的分离鉴定：将鼻咽拭子样品接种于哥伦比亚血平板，置于35℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养18~20 h，对可疑菌落依次进行溶血试验、Optochin敏感试验与胆汁溶菌试验，以上试验均阳性则可判定为肺炎链球菌阳性。

### 1.3 肺炎链球菌的全基因组测序

将所有肺炎链球菌均进行全基因组测序分析。将经复苏和扩增培养的肺炎链球菌制成菌液，按

照Magen细菌基因组DNA提取试剂盒的操作说明书提取肺炎链球菌DNA,并通过NanoDrop微量紫外分光光度检测计检测所提取DNA的浓度和纯度。将质量合格的肺炎链球菌基因组DNA行进一步质量检测 and 全基因组测序,并进行序列质控、序列拼接及序列物种鉴定。

#### 1.4 血清型分型与基因检测

将拼接好的肺炎链球菌菌株序列上传到PathogenWatch全球基因组监测平台(<https://pathogen.watch/>),该网站使用SeroBA软件对菌株序列进行血清型预测。SeroBA软件是一种能可靠地识别出肺炎链球菌血清型的生物信息学工具,其通过识别cps位点,基于k-mers方法直接从全基因组测序数据中进行肺炎链球菌血清型预测。若菌株缺乏荚膜操纵子,则该菌株被归类为不可分型。使用ABRicate软件对菌株序列菌毛基因(*rfaA*和*sipA*)与毒力基因(*lytA*、*ply*、*pspA*)进行检测。

#### 1.5 相关定义

(1) PCV10: 包含血清型1、4、5、6B、7F、9V、14、18C、19F和23F。(2) PCV13: 在PCV10的基础上增加血清型3、6A、19A。(3) 菌毛基因岛1(*pilus islet 1*, PI-1): 由*rfaA*基因决定的致病岛。(4) 菌毛基因岛2(*pilus islet 2*, PI-2): 由*sipA*基因决定的致病岛。

#### 1.6 统计学分析

使用EpiData 3.1软件建立数据库,调查问卷结果采用双人录入并进行一致性检验。使用STATA 17.0软件和R 4.2.1软件对数据进行统计学分析。计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示;计数资料采用例数和百分率(%)表示;采用基于限制性立方样条(restricted cubic spline, RCS)的logistic回归模型分析年龄与肺炎链球菌疫苗血清型/基因型覆盖率间的剂量-反应关系。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 人口学特征和肺炎链球菌携带率

本研究共调查了1 830名健康儿童,年龄最大为7岁,最小为1岁,平均年龄为(4.5±1.0)岁;

其中男童1 001名(54.70%),女童829名(45.30%)。1 830名幼儿园儿童中,鼻咽部肺炎链球菌携带率为22.46%(411/1 830)。

### 2.2 肺炎链球菌血清型分布和疫苗血清型/基因型覆盖率

411株肺炎链球菌菌株中,共检出22种血清型,11株未能确定血清型。最常见血清型为6B型(133株,32.4%),其次为19F型(55株,13.4%)、15A型(46株,11.2%)、23A型(31株,7.5%)、34型(24株,5.8%)、23F型(18株,4.4%);主要流行的疫苗血清型是6B、19F、23F型,主要流行的非疫苗血清型为15A、23A、34型。PCV10和PCV13血清型覆盖率分别为53.0%(218/411)、57.9%(238/411)。*PI-1*、*PI-2*、*lytA*、*ply*、*pspA*基因型覆盖率分别为37.7%(155/411)、16.1%(66/411)、99.5%(409/411)、99.0%(407/411)、5.4%(22/411)。

### 2.3 儿童年龄与疫苗血清型/基因型覆盖率的关系

儿童年龄与PCV10血清型覆盖率间呈“S”形的剂量-反应关系( $P=0.021$ ),其中2岁组儿童PCV10血清型覆盖率最高(88.0%);儿童年龄与PCV13血清型覆盖率间呈“S”形的剂量-反应关系( $P=0.004$ ),其中2岁组儿童PCV13血清型覆盖率最高(91.1%)。儿童年龄与*PI-1*覆盖率间呈“S”形的剂量-反应关系( $P=0.004$ ),各年龄组儿童*PI-1*覆盖率均较低(13.0%~58.5%);儿童年龄与*PI-2*覆盖率间呈“S”形的剂量-反应关系( $P<0.001$ ),各年龄组儿童*PI-2*覆盖率均较低(6.0%~29.4%)。见表1、图1。对于蛋白疫苗相关的*pspA*基因覆盖率,儿童年龄与其覆盖率间存在线性剂量-反应关系( $P=0.005$ ),随着年龄的增长,覆盖率逐渐升高,但各年龄组*pspA*基因覆盖率均维持在较低水平(1.1%~12.9%)(表1)。对于蛋白疫苗相关的*lytA*、*ply*基因覆盖率,儿童年龄与其覆盖率之间的线性(分别为 $P=0.201$ 、 $P=0.957$ )与非线性(分别为 $P=0.699$ 、 $P=0.739$ )剂量-反应关系均无统计学意义,但在各年龄组中均维持在较高水平(*lytA*: 96.6%~100%; *ply*: 99.0%~99.1%)。

表 1 不同年龄儿童肺炎链球菌疫苗血清型/基因型覆盖率的预测结果 [% (95%CI)]

年龄(岁)	例数	PCV10	PCV13	<i>PI-1</i>	<i>PI-2</i>	<i>pspA</i>
2.0	9	88.0(62.8~97.0)	91.1(68.4~98.0)	58.5(29.4~82.7)	23.2(5.6~60.7)	1.1(0.3~4.2)
2.5	40	72.7(56.1~84.8)	76.5(59.8~87.6)	48.8(34.1~63.9)	12.9(5.9~25.8)	1.6(0.6~4.7)
3.0	60	53.9(44.3~63.1)	56.1(46.5~65.3)	40.8(31.9~50.3)	7.8(4.2~14.0)	2.2(0.9~5.2)
3.5	83	44.2(34.9~53.8)	46.8(37.2~56.5)	34.6(26.4~43.8)	8.0(4.4~14.2)	3.0(1.5~5.9)
4.0	59	53.0(43.1~62.6)	60.1(50.1~69.3)	34.3(25.6~44.1)	18.6(12.1~27.6)	4.1(2.4~6.8)
4.5	56	59.5(51.0~67.6)	67.2(58.9~74.6)	45.7(37.2~54.5)	29.4(21.6~38.5)	5.5(3.6~8.3)
5.0	46	58.2(47.6~68.0)	64.5(54.0~73.7)	49.3(38.7~60.0)	26.7(18.1~37.5)	7.3(4.8~11.0)
5.5	38	50.2(41.0~59.4)	55.0(45.7~64.1)	32.2(23.6~42.2)	15.0(9.1~23.6)	9.8(5.9~15.8)
6.0	20	39.1(25.6~54.5)	42.2(28.2~57.5)	13.0(5.9~26.2)	6.0(1.9~17.3)	12.9(6.8~23.1)

注: [PCV10] 10价肺炎链球菌结合疫苗; [PCV13] 13价肺炎链球菌结合疫苗; [*PI-1*] 菌毛基因岛1; [*PI-2*] 菌毛基因岛2。

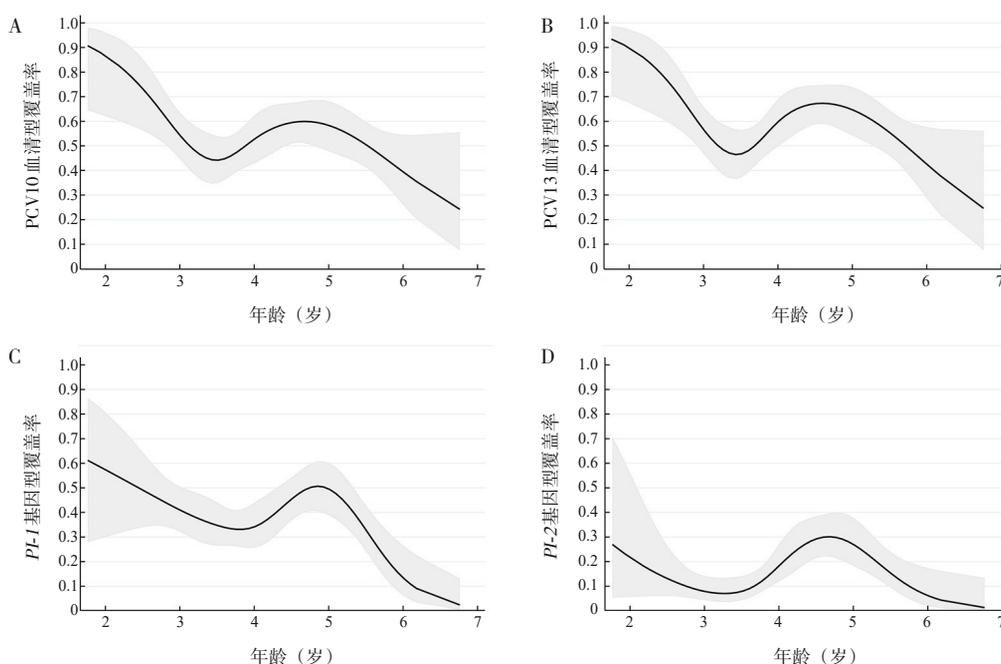


图 1 基于RCS模型分析年龄与肺炎链球菌疫苗血清型/基因型覆盖率的关系 A: 儿童年龄与PCV10覆盖率间存在非线性剂量-反应关系; B: 儿童年龄与PCV13覆盖率间存在非线性剂量-反应关系; C: 儿童年龄与*PI-1*覆盖率间存在非线性剂量-反应关系; D: 儿童年龄与*PI-2*覆盖率间存在非线性剂量-反应关系。图中线条为不同年龄组儿童的疫苗血清型/基因型覆盖率的预测值, 阴影部分为预测值的95%置信区间。

### 3 讨论

肺炎链球菌是幼儿园儿童最主要的条件致病菌, 主要定植在鼻咽部。荚膜多糖 (capsular polysaccharide, CPS) 是肺炎链球菌致病的主要毒力因子, 根据不同菌株CPS抗原的差异性, 可将肺炎链球菌分为100多种血清型<sup>[10]</sup>。本研究结果显示: 幼儿园7岁及以下健康儿童鼻咽部中肺炎链球菌主要血清型为6B、19F、15A、23A和34型, 没有检测出PCV10所包含的额外血清型(1、5和7F型)。我国一项儿童调查研究表明, 成都市5岁及

以下儿童鼻咽部肺炎链球菌主要血清型为19F、6B、19A、6A、23F型<sup>[11]</sup>; 重庆市5岁及以下儿童鼻咽部肺炎链球菌的主要血清型为23F、11B、9A、7C型<sup>[12]</sup>, 本研究中血清型分布与上述研究存在差异。国外一项研究显示, 泰国5岁及以下IPD儿童临床菌株的主要血清型为6B、23F、14、9A、19F型<sup>[13]</sup>; 加拿大18岁及以下IPD儿童临床菌株主要血清型为7F、33F、19A型<sup>[5]</sup>; 美国18岁及以下肺炎儿童临床菌株主要血清型为19A、35B、3、34型<sup>[14]</sup>; 俄罗斯联邦的日托中心6岁及以下健康儿童鼻咽部菌株主要血清型为4、19F、6型<sup>[15]</sup>, 本

研究中血清型分布与上述研究也存在差异。不同研究中血清型分布的差异性可能与地理位置、菌株来源（定植与感染菌株）或采样部位、年龄段不同等因素有关。

本课题组前期研究提示，幼儿园儿童间存在肺炎链球菌的班级内、班级间的交叉传播风险<sup>[16]</sup>。幼儿园儿童具有黏膜免疫系统尚未发育成熟、群体生活且肺炎链球菌携带率高的特点，是肺炎链球菌感染的高危人群。除了加强幼儿园的卫生管理外，接种疫苗也是预防疾病最经济、最有效的手段，PCV是目前为止预防儿童感染肺炎链球菌的最有效疫苗。值得注意的是，虽然结合疫苗所覆盖血清型是基于免疫群体肺炎链球菌的优势血清型分布，但是结合疫苗的使用会致使人群肺炎链球菌的疫苗血清型流行率下降而非疫苗血清型流行率上升<sup>[5]</sup>；且不同地理位置、不同菌株来源、不同年龄段儿童肺炎链球菌疫苗血清型覆盖率也存在较大波动<sup>[2, 4, 11-15]</sup>。因此结合疫苗的接种规划仍依赖于肺炎链球菌血清型分布的准确监测数据，以更好地评估结合疫苗的有效性。本研究中最常见的血清型为PCV10血清型6B、19F、23F与PCV13血清型19A、6A，超过50%的分离株属于血清型6B、19F、23F，这与以往我国医院儿童临床分离株研究结果相似<sup>[17-19]</sup>，提示PCV目前仍能覆盖大部分健康儿童的血清型，但仍需继续监测PCV13中未涵盖的血清型15A、23A与34的高流行率状态。PCV10自2008年在我国上市，并于2017年被PCV13取代。值得关注的是，由于肺炎链球菌疾病发生率高、致残率高、病死率高，所以世界卫生组织将肺炎链球菌疾病列为需“极高度优先”使用疫苗预防的疾病<sup>[2]</sup>；但是，PCV至今仍未纳入我国儿童免疫规划且价格较贵，因此现阶段儿童的接种率仍然较低，导致PCV对预防我国儿童肺炎链球菌相关疾病方面的作用仍较为有限<sup>[20]</sup>。本研究中的幼儿园儿童肺炎链球菌研究结果显示，PCV10与PCV13血清型覆盖率分别为53.0%和57.9%，这与一项我国的系统评价研究结果一致（PCV10和PCV13血清型覆盖率分别为29.7%~62.3%、43.2%~61.4%）<sup>[20]</sup>。以上研究结果表明，PCV10与PCV13可以有效减少疫苗覆盖的血清型菌株导致的肺炎链球菌感染，降低肺炎链球菌疾病负担，但是疫苗的覆盖率仍有待进一步提高。

值得重视的是，疫苗血清型覆盖率随年龄的

动态变化趋势至今仍未明确。本研究的创新之处是：采用基于RCS的logistic回归模型探究儿童年龄与肺炎链球菌疫苗血清型覆盖率间的剂量-反应关系。既往研究主要将年龄划分为若干组段，从而探讨不同年龄段儿童PCV血清型覆盖率的差异性，以及运用趋势 $\chi^2$ 检验揭示是否存在线性趋势<sup>[20-23]</sup>；但是传统趋势 $\chi^2$ 检验无法揭示年龄与疫苗血清型覆盖率之间是否存在非线性剂量-反应关系，更重要的是无法探究是否存在阈值效应或拐点，因此无法最大效度地指导疫苗接种。本研究中RCS模型的分析结果表明：儿童年龄与肺炎链球菌疫苗（PCV10、PCV13）血清型覆盖率呈现明显的非线性剂量-反应关系，表现为先下降后上升再持续下降的“S”型曲线。同时，本研究通过RCS模型预测不同年龄段PCV覆盖情况，结果表明：2岁组儿童的PCV10、PCV13血清型覆盖率较高（分别高达88.0%、91.1%），而6岁组儿童的PCV10、PCV13血清型覆盖率较低（分别为39.1%和42.2%），表明低年龄段儿童的PCV血清型覆盖率明显高于高龄段儿童，这一现象可能与低龄儿童肺炎链球菌高发病率、疫苗免疫对象（即5岁以下儿童）感染菌株的血清型分布有关。值得重视的是，以往研究揭示幼儿园低年龄段儿童肺炎链球菌交叉传播风险明显高于高年龄段<sup>[16]</sup>。因此，考虑低龄幼儿园儿童肺炎链球菌的“高PCV覆盖率”和“高传播风险”两大特征，今后应重视PCV对幼儿园儿童（特别是2岁组儿童）的重要预防作用，可通过主动免疫预防来降低儿童肺炎链球菌感染的发生率。

结合疫苗极大地降低了儿童IPD的发病率，然而由于结合疫苗的选择性压力，全球非疫苗血清型导致的肺炎链球菌疾病显著增加，已成为重要的公共卫生问题<sup>[5]</sup>。而且结合疫苗仅局限于特定血清型，组分复杂导致生产成本较高。与PCV相比，重组蛋白疫苗具有更低的成本和更强的免疫原性，并且不受血清型的限制，因此基于肺炎链球菌毒力因子和表面蛋白的新型蛋白疫苗已成为重要的候选疫苗<sup>[24-25]</sup>。既往文献报道，候选疫苗相关蛋白，例如菌毛结构（PI-1、PI-2）与毒力因子（lytA、ply与pspA）是开发新一代蛋白质疫苗的关键候选靶标<sup>[2-3, 7-9]</sup>。因此，本研究分析了菌毛基因（PI-1、PI-2）与毒力基因（lytA、ply与pspA）在菌株中的流行率，结果表明：年龄与菌毛基因覆盖率呈现明显的非线性剂量-反应关系，

但其在儿童中的总体覆盖率较低 ( $PI-1$  为 37.7%,  $PI-2$  为 16.1%) 且各年龄阶段的覆盖率也均较低 ( $PI-1$  为 13.0%~58.5%,  $PI-2$  为 6.0%~29.4%), 这与柳州市的医院 5 岁以下儿童菌株的研究结果有一定差异<sup>[7]</sup>, 提示  $PI-1$  与  $PI-2$  在人群中的覆盖率具有地区差异性, 这可能与研究对象特征、样本类型等差异有关<sup>[7]</sup>; 年龄与  $pspA$  覆盖率存在线性剂量-反应关系, 但在各年龄段幼儿园儿童中  $pspA$  覆盖率均较低 (1.1%~12.9%); 年龄与  $lytA$ 、 $ply$  覆盖率不存在剂量-反应关系, 但其在幼儿园儿童携带菌株中的流行率分别高达 99.5% 与 99.0%, 这表明毒力基因  $lytA$ 、 $ply$  在佛山市顺德区幼儿园儿童的肺炎链球菌分离株中高度流行, 这与以往发现肺炎链球菌毒力基因  $lytA$ 、 $ply$  在我国西南部地区具有极高流行率一致<sup>[11, 18, 26]</sup>, 提示毒力基因  $lytA$ 、 $ply$  在重组蛋白疫苗的开发中具有很高的应用潜力。

综上所述, 本研究结果表明, 儿童年龄与 PCV10、PCV13 血清型覆盖率呈现明显的非线性剂量-反应关系, 且低年龄段儿童的血清型预测覆盖率明显高于高龄段儿童, 2 岁组幼儿园儿童 PCV10、PCV13 血清型覆盖率均较高, 提示应该重视 PCV 对幼儿园儿童 (特别是 2 岁儿童) 的重要预防作用。同时, 所有年龄组的儿童保持蛋白疫苗候选基因  $lytA$  与  $ply$  的高覆盖率, 为设计新型肺炎链球菌重组蛋白疫苗提供了新的思路。但是, 本研究也存在一定局限性: (1) 采用横断面研究, 只调查了某一区域集中时间儿童疫苗的覆盖情况, 无法对疫苗覆盖的长期动态变化规律进行全面评估。因此在后续研究中可以开展连续多次、更大范围的监测, 评估更大范围幼儿园儿童疫苗血清型、基因型的覆盖规律。(2) 本研究是基于幼儿园儿童进行的集中时间、集体采样研究, 同时课题组既往研究表明幼儿园儿童菌株间存在一定交叉传播风险<sup>[16]</sup>, 此类基于幼儿园儿童的研究设计可能会影响菌株血清型分布, 因此今后可进一步开展社区儿童的肺炎链球菌研究来验证本研究结果。

#### [参 考 文 献]

- [1] 周梦兰, 于淑颖, 杨启文, 等. 肺炎链球菌鼻咽部定植及胞内感染的致病机制研究进展[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(5): 530-533. DOI: 10.3969/j.issn.1003-3734.2020.05.009.
- [2] 中华预防医学会, 中华预防医学会疫苗与免疫分会. 肺炎球菌性疾病免疫预防专家共识 (2020 版) [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(12): 1945-1979. PMID: 33261246. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201111-01322.
- [3] Tan TQ. Pediatric invasive pneumococcal disease in the United States in the era of pneumococcal conjugate vaccines[J]. Clin Microbiol Rev, 2012, 25(3): 409-419. PMID: 22763632. PMID: PMC3416489. DOI: 10.1128/CMR.00018-12.
- [4] Dhoubhadel BG, Morimoto K. Prevention of pneumococcal diseases: the challenge remains[J]. Lancet Glob Health, 2022, 10(10): e1375-e1376. PMID: 36113515. DOI: 10.1016/S2214-109X(22)00374-6.
- [5] Golden AR, Adam HJ, Karlowsky JA, et al. Molecular characterization of predominant *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing invasive infections in Canada: the SAVE study, 2011-15[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(suppl\_7): vii20-vii31. PMID: 29982573. DOI: 10.1093/jac/dky157.
- [6] World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccines in infants and children under 5 years of age: WHO position paper-February 2019[J]. Wkly Epidemiol Rec, 2019, 94(8): 85-103.
- [7] Liu Y, Li W, Dong Q, et al. Non-linear relationships between children age and pneumococcal vaccine coverage: important implications for vaccine prevention strategies[J]. Vaccine, 2021, 39(9): 1392-1401. PMID: 33531198. DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.01.056.
- [8] McDaniel LS, Swiatlo E. If not now, when? Nonserotype pneumococcal protein vaccines[J]. Open Forum Infect Dis, 2021, 8(12): ofab576. PMID: 34934775. PMID: PMC8684483. DOI: 10.1093/ofid/ofab576.
- [9] Zangari T, Zafar MA, Lees JA, et al. Pneumococcal capsule blocks protection by immunization with conserved surface proteins[J]. NPJ Vaccines, 2021, 6(1): 155. PMID: 34930916. PMID: PMC8688510. DOI: 10.1038/s41541-021-00413-5.
- [10] Ganaie F, Maruhn K, Li C, et al. Structural, genetic, and serological elucidation of *Streptococcus pneumoniae* serogroup 24 serotypes: discovery of a new serotype, 24C, with a variable capsule structure[J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(7): e0054021. PMID: 33883183. PMID: PMC8218768. DOI: 10.1128/JCM.00540-21.
- [11] Chen H, Liu C. Molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children with community-acquired pneumonia under 5 years in Chengdu, China[J]. Epidemiol Infect, 2022, 151: e2. PMID: 36515066. PMID: PMC9990402. DOI: 10.1017/S0950268822001881.
- [12] Yu YY, Xie XH, Ren L, et al. Epidemiological characteristics of nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* strains among children with pneumonia in Chongqing, China[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 3324. PMID: 30824811. PMID: PMC6397308. DOI: 10.1038/s41598-019-40088-6.
- [13] Hocknell RE, Cleary DW, Srifeungfung S, et al. Serotype distribution of disease-causing *Streptococcus pneumoniae* in Thailand: a systematic review[J]. Vaccine, 2019, 37(24): 3159-3166. PMID: 31060951. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.04.085.
- [14] Olarte L, Barson WJ, Barson RM, et al. Pneumococcal pneumonia requiring hospitalization in US children in the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine era[J]. Clin Infect Dis,

- 2017, 64(12): 1699-1704. PMID: 28199482.  
DOI: 10.1093/cid/cix115.
- [15] Sidorenko S, Rennert W, Lobzin Y, et al. Multicenter study of serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal isolates from healthy children in the Russian Federation after introduction of PCV13 into the national vaccination calendar[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2020, 96(1): 114914. PMID: 31704066.  
DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114914.
- [16] 余海峰, 邓文君, 李平原, 等. 佛山市学龄前儿童肺炎链球菌的传播模式及影响因素[J]. *中华疾病控制杂志*, 2023, 27(2): 184-190. DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2023.02.010.
- [17] Zhang X, Tian J, Shan W, et al. Characteristics of pediatric invasive pneumococcal diseases and the pneumococcal isolates in Suzhou, China before introduction of PCV13[J]. *Vaccine*, 2017, 35(33): 4119-4125. PMID: 28668572.  
DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.06.046.
- [18] Yan Z, Cui Y, Zhou W, et al. Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* in children living in southwest China and assessment of a potential protein vaccine, rPfbA[J]. *Vaccine*, 2019, 37(5): 721-731. PMID: 30611601.  
DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.12.021.
- [19] Zhao W, Pan F, Wang B, et al. Epidemiology characteristics of *Streptococcus pneumoniae* from children with pneumonia in Shanghai: a retrospective study[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 258. PMID: 31380301. PMCID: PMC6657011.  
DOI: 10.3389/fcimb.2019.00258.
- [20] Chen K, Zhang X, Shan W, et al. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* and potential impact of pneumococcal conjugate vaccines in China: a systematic review and meta-analysis[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2018, 14(6): 1453-1463. PMID: 29451838. PMCID: PMC6037451.  
DOI: 10.1080/21645515.2018.1435224.
- [21] Savulescu C, Krizova P, Valentiner-Branth P, et al. Effectiveness of 10 and 13-valent pneumococcal conjugate vaccines against invasive pneumococcal disease in European children: SpIDnet observational multicentre study[J]. *Vaccine*, 2022, 40(29): 3963-3974. PMID: 35637067. DOI: 10.1016/j.vaccine.2022.05.011.
- [22] Guo MY, Shi XH, Gao W, et al. The dynamic change of serotype distribution and antimicrobial resistance of pneumococcal isolates since PCV13 administration and COVID-19 control in Urumqi, China[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1110652. PMID: 36844410. PMCID: PMC9951612.  
DOI: 10.3389/fcimb.2023.1110652.
- [23] Mokaddas E, Syed S, Albert MJ. The 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) does not appear to provide much protection on combined invasive disease due to the six PCV13 non-PCV7 serotypes 1, 3, 5, 6A, 7F, and 19A in Kuwait during 2010-2019[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2021, 17(11): 4661-4666. PMID: 34435932. PMCID: PMC8828145.  
DOI: 10.1080/21645515.2021.1968216.
- [24] Feldman C, Anderson R. Review: current and new generation pneumococcal vaccines[J]. *J Infect*, 2014, 69(4): 309-325. PMID: 24968238. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.06.006.
- [25] Azarian T, Grant LR, Georgieva M, et al. Association of pneumococcal protein antigen serology with age and antigenic profile of colonizing isolates[J]. *J Infect Dis*, 2017, 215(5): 713-722. PMID: 28035010. PMCID: PMC6005115.  
DOI: 10.1093/infdis/jiw628.
- [26] Yan Z, Cui Y, Huang X, et al. Molecular characterization based on whole-genome sequencing of *Streptococcus pneumoniae* in children living in southwest China during 2017-2019[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 726740. PMID: 34796125. PMCID: PMC8593041. DOI: 10.3389/fcimb.2021.726740.

(本文编辑: 杨丹)

(版权所有©2023 中国当代儿科杂志)