

北京地区 2011 年至 2016 年迁延性咳嗽患儿中百日咳的检出率

赵阳 伏瑾 肖飞 李莉 张宝元 李岩伟 韩雪莲 崔小岱 端青 米荣

【摘要】 目的 了解迁延性咳嗽或慢性咳嗽患儿中百日咳感染的状况。**方法** 以 2011 年至 2016 年首都儿科研究所中心实验室为检测中心,对北京市十余家医院符合入组条件的 1 318 例患儿进行百日咳相关检查,采集疑诊百日咳患儿呼吸道分泌物及咽拭子标本及患儿咳嗽 2 周后血标本。多重 PCR 检测博德特百日咳杆菌,实时 PCR 检测百日咳杆菌核酸。**结果** 1 318 例患儿中,男 820 例,女 498 例,百日咳检测阳性 534 例,其中百日咳杆菌阳性率为 81.3%(434/534),百日咳杆菌-IgG 抗体阳性率为 31.8%(170/534),百日咳杆菌及百日咳杆菌-IgG 抗体阳性率均为 13.1%(70/534)。2011 年至 2016 年检测例数从 103 例增加到 460 例,阳性例数从 29 例增加到 194 例。阳性患儿中年龄 <1 岁婴儿 466 例,占 87.3%。第一季度百日咳患儿 65 例,第二季度 151 例,第三季度 205 例,第四季度 113 例。进一步分析 268 例首都儿科研究所附属儿童医院住院患儿,其中 90.7% 为散居儿童,未进行免疫患儿 185 例(69.0%),部分免疫 71 例(26.5%),完成全程免疫 12 例(4.5%)。百日咳住院患儿中,重症患儿占 21.6%,死亡 2 例(0.8%),其余均好转出院。**结论** 百日咳发病呈上升趋势,夏秋季发病为多,婴儿百日咳感染率高。百日咳杆菌是迁延性及慢性咳嗽患儿中的重要致病源。

【关键词】 百日咳; 流行病学; 聚合酶链反应

基金项目: 2015 年病原微生物生物安全国家重点实验室开放课题(SKLPBS1528)

The detection rate of pertussis in children and infants with persistent cough in Beijing during 2011–2016

Zhao Yang*, Fu Jin, Xiao Fei, Li Li, Zhang Baoyuan, Li Yanwei, Han Xuelian, Cui Xiaodai, Duan Qing, Mi Rong.* Neonatal Department, Children's Hospital affiliated to Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China

Corresponding author: Mi Rong, Email:mi_rong1111@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the prevalence of pertussis in infants and children with persistent cough in Beijing during 2011-2016. **Methods** The eligible infants and children from over ten hospitals who were suspected to have pertussis from 2011 to 2016 were enrolled for detection. Nasopharyngeal secretions and blood samples were collected. Multiplex-PCR was performed for *Bordetella pertussis* and real-time PCR was performed for nucleic acid of *Bordetella pertussis*. **Results** A total of 1 318 eligible cases were enrolled, including 820 males and 498 females. Pertussis was detected positive in 534 cases, including 81.3% (434/534) of *B. pertussis* positive cases and 31.8% (170/534) of IgG positive cases. There were 13.1% (70/534) had double positive for bacteria and antibodies. From 2011 to 2016, the enrolled patients were increased from 103 cases per year to 460 cases per year, and the test positive patients were increased from 29 cases to 194 cases. Among the pertussis patients, 466 (87.3%) cases were younger than one year old. From the first quarter to the fourth quarter of the year, There were 65 cases, 151 cases, 205 cases, and 113 cases, respectively. In further analysis of the 268 cases from Children's Hospital affiliated to Capital Institute of Pediatrics, 90.7% of the patients who had whooping cough were scattered children; 185 cases (69.0%) of the patients had not begun programmed immunization, 71 cases (26.5%) did not complete programmed immunization and 12 cases (4.5%)

completed the programmed immunization. Of all the inpatients, 21.6% were critical ill, 0.8% (2 cases) dead, and the remaining patients were recovered and discharged. **Conclusions** The prevalence of pertussis is increasing, especially in summer. Infants are the most susceptible population. *Bordetella pertussis* is one of the most important pathogen that can induce persistent and chronic cough.

【Key words】 Whooping cough; Epidemiology; Polymerase chain reaction

Fund program: State Key Laboratory Open Program of Biological Safety of Pathogenic Microorganisms in 2015 (SKLPBS1528)

百日咳是由博德特百日咳杆菌感染引起的急性呼吸系统传染病,典型的百日咳临床上以阵发性痉挛性咳嗽、伴咳嗽后鸡鸣样吼声为主要表现,小婴儿百日咳多不典型,可出现咳嗽后面色潮红、青紫、呕吐,结膜出血、呼吸暂停等,也可能仅表现为青紫、呼吸暂停,心率下降,重症百日咳多发生于小婴儿,病死率高。

近年来,全球范围内百日咳发病率出现上升趋势,在疫苗覆盖率很高的发达国家,也出现了百日咳流行的报道。首都儿科研究所自 2011 年开始对迁延性咳嗽或疑诊百日咳患儿进行了持续监测,现对 2011 年至 2016 年百日咳感染情况报告如下。

对象与方法

一、研究对象

2011 年 4 月 1 日至 2016 年 12 月 31 日首都儿科研究所附属儿童医院门诊及病房就诊及收治的疑诊百日咳的患儿 1 016 例,北京地区其他 15 家医院疑诊百日咳患儿 302 例,总计 1 318 例。

入组标准:①有迁延性咳嗽(咳嗽 2 周以上),并且至少有以下症状之一者,阵发性(痉挛性)咳嗽,咳嗽后伴有呕吐,伴有结膜下出血,吸气性吼声;②新生儿或小婴儿出现原因不明的阵发性青紫或呼吸暂停。排除①先天性气道发育异常或畸形;②胃食管返流;③鼻后滴漏综合征;④早产儿慢性肺疾病。本研究为前瞻性研究,方案获首都儿科研究所伦理委员会批准,入组者征得患儿监护人知情同意。

百日咳诊断标准参照文献[1]:临床疑似百日咳,PCR 或实时荧光定量 PCR 检测博德特百日咳杆菌阳性;或恢复期血清特异性抗体比急性期抗体效价呈 4 倍及以上的增长,或单份血清百日咳毒素 IgG 抗体 >80 000 U/L 为现症感染。

重症百日咳诊断标准参照文献[2]:临床确诊百日咳且符合下列表现之一者,①呼吸衰竭;②百日咳脑病;③肺动脉高压;④白细胞计数增高($\geq 60 \times 10^9/L$);⑤反复呼吸暂停和(或)心率下降。

二、研究方法

1. 临床资料收集:收集患儿的病史,疫苗接种

史,临床表现,实验室检查,治疗,预后等临床资料。

2. 标本采集:采集疑诊百日咳患儿、有咳嗽病史患儿家庭成员的呼吸道分泌物及咽拭子标本。门诊采集年龄 >1 岁患儿鼻咽拭子或呼吸道分泌物,年龄 <1 岁患儿呼吸道分泌物,住院患儿于入院后次日晨收集呼吸道分泌物。采集患儿咳嗽 2 周后血标本。

3. 博德特百日咳杆菌多重 PCR 检测:试剂购自天根生化科技北京有限公司。细菌总 DNA 提取按照细菌基因组总 DNA 提取试剂盒操作说明进行。选择百日咳杆菌插入序列 IS481 基因片断和百日咳毒素启动子区域 PT 基因片断作为靶基因,引物序列由金唯智生物科技(北京)有限公司合成。PCR 扩增总反应体系为 25 μ L,参照试剂盒配置 20 μ L 反应体系,最后加入 5 μ L 模板。凝胶电泳检测扩增产物,紫外观察扩增产物条带并拍照记录。

实时 PCR 检测百日咳杆菌核酸,试剂购自上海之江生物科技股份有限公司,采用 PCR 结合 Taqman 技术,对百日咳杆菌的特异性 DNA 核酸片段进行扩增。标本(鼻咽拭子及痰液)按照试剂盒说明进行处理,取上清液 4 μ L 行 PCR, H₂O 作为阴性对照。将反应管置于实时荧光定量 PCR 仪,37 $^{\circ}$ C 2 min;94 $^{\circ}$ C 2 min;93 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 60 s,循环 40 次,反应体系为 40 μ L。

荧光通道检测选择:选用 FAM 和 VIC 通道。按试剂盒要求的质量控制进行,绘制标准曲线。每次检测设定阳性对照及内部对照。

4. 血清百日咳抗体检测:ELISA 试剂盒为德国 VIRION/SERION 公司产品。百日咳抗体 $\geq 30\ 000$ U/L 为阳性,百日咳抗体 >80 000 U/L 为现症感染。

结 果

一、百日咳检出情况

1 318 例患儿中,男 820 例,女 498 例,百日咳检测阳性 534 例,其中百日咳杆菌阳性率为 81.3% (434/534),百日咳杆菌-IgG 抗体阳性率为 31.8% (170/534),百日咳杆菌及百日咳杆菌-IgG 抗体均

阳性 13.1%(70/534)。

6 年间以 2014 年阳性率最高,占 50.8%。而病例数 2016 年最高,为 194 例。见表 1。

表 1 2011 年至 2016 年百日咳检测结果(例)

年份	检测例数	百日咳阳性	百日咳杆菌-IgG 阳性	两者均阳性	阳性总数	阳性率(%)
2011 年	103	23	11	5	29	28.2
2012 年	138	41	0	0	41	29.7
2013 年	73	25	0	0	25	34.3
2014 年	262	112	43	22	133	50.8
2015 年	282	86	44	18	112	39.7
2016 年	460	147	72	25	194	42.2

2011 至 2016 年北京地区其他医院送检病例数逐年增加,从 2011 年的 5 例增加到 2016 年的 145 例,6 年间共计 302 例,占 22.9%(302/1 318);送检标本的阳性率也呈上升趋势,各年度阳性例数分布见表 2。

表 2 2011 至 2016 年检测标本来源及阳性例数分布(例)

年份	本院住院	本院门诊	外院送检
2011 年	24	3	2
2012 年	30	6	5
2013 年	18	4	3
2014 年	91	16	26
2015 年	56	14	42
2016 年	49	87	58

二、百日咳患儿年龄、性别、季节分布

534 例百日咳患儿中,3~6 月龄 172 例(32.2%),且呈逐年增高趋势,年龄 < 1 岁婴儿共 466 例(87.3%),年龄 > 6 岁 15 例(2.8%)。2011 年和 2012 年,1~2 月龄患儿百日咳检出率明显升高,分别达到 20.7%(6/29)、39.0%(16/41)。2011 至 2016 年百日咳患儿发病年龄分布见图 1。

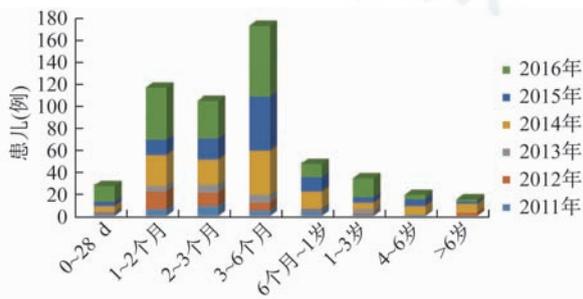


图 1 2011 至 2016 年百日咳患儿发病年龄分布

百日咳患儿男性高于女性,男性患儿占 59.4%(317/534),女性患儿占 40.6%(217/534)。2011 至 2016 年男性患儿分别为 18、25、15、81、61 和 117 例,女性患儿分别为 11、16、10、52、51 和 77 例。

百日咳全年均可发病,以第二、三季度为高发季节,2011 至 2016 年,第一季度百日咳患儿 65 例,第二

季度 151 例,第三季度 205 例,第四季度 113 例。2011 至 2016 年百日咳患儿发病季节分布见图 2,因 2011 年 4 月开始本研究,故 2011 年第一季度数据空缺。

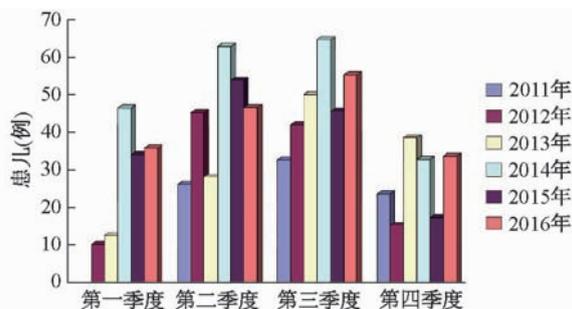


图 2 2011 至 2016 年百日咳患儿发病季节分布

三、百日咳患儿免疫状况及转归

对首都儿科研究所附属儿童医院资料完整的 268 例患儿进一步分析发现,未进行百白破疫苗免疫患儿 185 例,占 69.0%,部分免疫 71 例,占 26.5%,完成全程免疫 12 例,占 4.5%。268 例百日咳患儿免疫状况见表 3。

表 3 2011 至 2016 年 268 例百日咳患儿免疫状况(例)

年份	未免疫	部分免疫	完全免疫
2011 年	18	6	0
2012 年	25	5	0
2013 年	16	2	0
2014 年	61	24	6
2015 年	37	16	3
2016 年	28	18	3

268 例患儿中,散居 243 例,占 90.67%,托幼 25 例,占 9.3%,家长提供明确百日咳接触史者仅 6 例,占 2.2%,提供有咳嗽患者接触史 45 例,占 17.0%。

268 例患儿中,重症病例 68 例,占 21.6%。治疗后好转 213 例(79.5%),确诊后转传染病专科医院 41 例(15.3%),死亡 2 例(0.7%)。其中 1 例为 28 d 新生儿,第 13 天发病,其父母、哥哥均为百日咳感染,先于患儿发病,患儿合并重度白细胞增多症、百日咳肺炎及呼吸衰竭、多脏器功能衰竭;另 1 例为 3 月龄患儿,迁延性咳嗽,同时合并重症肺炎, H1N1 感染,呼吸衰竭,多脏器功能衰竭。

讨 论

本研究结果显示,2011 至 2016 年每年的送检标本及百日咳检测阳性患儿均呈上升趋势,夏秋季为高发季节,与文献报道一致^[3-4],说明百日咳杆菌与其他呼吸道病原的流行季节有所不同。本组资料中有 1 例低龄婴儿发生流感病毒及百日咳的混合感染,出现呼吸衰竭而死亡。因此对于迁延性咳嗽小婴儿或重症感染患儿不符合单一病原感染者应及时完善相应检查以明

确诊。

本研究资料显示,百日咳患儿中 1 岁以下婴儿占 87.3%,6 月龄以下婴儿占 78.5%,尤其以 3 月龄以下小婴儿为多,占 6 年来阳性病例 46.3%。2 例死亡患儿均为 3 月龄以下小婴儿。本研究入组患儿中婴儿占多数,检测婴儿百日咳病例占比高。文献报道,各年龄段人群均有发病,部分文献显示老年人也呈现发病高峰^[5-6]。本组资料纳入儿童及青少年较少,未出现这两个年龄段的发病峰值,儿童及青少年百日咳表现不典型,可能由于此年龄段患儿已接受过百日咳免疫接种,仅表现为迁延性或慢性咳嗽,临床识别困难,而门诊并未对迁延性或慢性咳嗽儿童进行百日咳的主动监测。

一项天津地区百日咳流行病学调查显示,<6 月龄患儿从 2005 年的 24.14% 上升到 2008 年的 59.64%,15 岁以上的青少年、成人患者从 2008 年前的 0 上升到 2010 年的 40%^[7]。本组男性患儿多于女性,这可能与男性患儿更容易受到家庭关注而就诊有关,但可能存在研究偏倚。

婴幼儿接种百白破疫苗后 3~4 周,可诱导产生 IgG 抗体,从而提供保护作用。1~3 剂基础免疫后,保护性抗体水平增高,第 4 剂疫苗加强免疫后抗体水平达到高峰。但随着年龄增长,IgG 抗体水平逐渐降低,对百日咳感染的保护作用减弱。母亲的百日咳抗体可通过胎盘传递给胎儿,由于新生儿及小婴儿百日咳感染后病情严重,病死率高,美国免疫实施咨询委员会推荐未接种百白破疫苗的孕妇,尽可能在妊娠 27~36 周注射百白破疫苗。未接种百白破疫苗的孕妇,其配偶、家庭成员、婴儿看护人应注射疫苗,最好在接触新生儿前 2 周完成接种。文献报道,母亲在孕期接种疫苗的新生儿在生命早期感染百日咳的风险低^[8]。本研究结果显示,未免疫患儿所占比例偏高。

目前,我国大多数医院对百日咳仍以临床诊断为主,使一些不典型百日咳被漏诊。因百日咳临床表现多样,可以无任何症状,也可能因获得免疫保护表现为轻微咳嗽,或者未接种疫苗而出现典型症状。新生儿、小婴儿、青少年及成人百日咳因症状不典型而误诊率较高,因此诊断需要实验室的确证。实验室检测方法包括博德特百日咳杆菌培养、百日咳杆菌双目标基因 PCR、ELISA 检测博德特百日咳杆菌特异性抗体。其中百日咳杆菌双目标基因 PCR 或百日咳杆菌实时 PCR 敏感度及特异度较高^[9]。我国推荐培养及血清抗体检测,而国外及 WHO 推荐 PCR 检测。目前,传统 PCR 已逐渐被实时 PCR 取代,该方法可在数小时内完成,且因其扩增和结果分析在封闭系统内进行,降低了

污染风险,因使用目标基因(如 IS481、IS1001),提高了检测的敏感度。

近年来,我国百日咳发病率呈上升趋势,临床医师应重视低龄婴儿不典型百日咳,诊断时应将临床表现与实验室检查结合。特别是新生儿和小婴儿发生百日咳时,可能不表现典型的咳嗽,出现痉挛性咳嗽、呼吸暂停或窒息,甚至可能发生惊厥或死亡。对于重症百日咳小婴儿,通过免疫提供的有效保护尚有困难,因此孕期的免疫及蚕茧策略可使婴儿达到完全免疫保护,有些发达国家已经采用此种策略。死亡的百日咳患儿多合并肺炎,几乎所有的百日咳死亡病例均存在白细胞增多及淋巴细胞增多症,多数有肺动脉高压的证据。

总之,小婴儿百日咳重症发生率高,未免疫及未完全免疫婴儿更易发生,母亲妊娠期接种或蚕茧策略可使婴儿在生后获得保护。

志谢 首都儿科研究所流行病学学吕岩玉,首都儿科研究所附属儿童医院新生儿康利民、王晓颖、胡晓明等

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部. WS274-2007 百日咳诊断标准[S]. (2007-04-17)[2018-06-09]. 北京:中华人民共和国卫生部,2007.
- [2] Paddock CD, Sanden GN, Cherry JD, et al. Pathology and pathogenesis of fatal *Bordetella pertussis* infection in infants [J]. Clin Infect Dis, 2008,47(3):328-338. DOI:10.1086/589753.
- [3] 殷大鹏,王华庆,曹玲生,等. 中国 2004~2006 年百日咳流行病学分析[J]. 中国计划免疫,2007,13(3):245-247. DOI:10.3969/j.issn.1006-916X.2007.03.015.
- [4] 刘铁诚,宋凯军,张先慧,等. 2005-2015 年济南百日咳流行状况[J]. 中华预防医学杂志,2017,51(9):858-860. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2017.09.017.
- [5] WHO. Pertussis vaccines: WHO position paper [J]. Wkly Epidemiol Rec, 2010,85(40):385-400.
- [6] Guiso N, Gallais JL, Gavazzi G, et al. Incidence of pertussis in subjects aged 50 years and older in France in 2013-2014 [J]. Med Mal Infect, 2018,48(1):30-36. DOI:10.1016/j.medmal.2017.09.002.
- [7] 张颖,黄海涛,刘勇,等. 天津市社区人群百日咳发病监测及传播特征研究 [J]. 中国疫苗和免疫,2011,17(3):209-211,257.
- [8] Committee on Obstetric Practice, Immunization and Emerging Infections Expert Work Group. Committee Opinion No. 718: update on immunization and pregnancy: tetanus, diphtheria, and pertussis vaccination [J]. Obstet Gynecol, 2017,130(3):e153-e157. DOI:10.1097/AOG.0000000000002301.
- [9] Lanotte P, Plouzeau C, Burucoa C, et al. Evaluation of four commercial real-time PCR assays for detection of *Bordetella* spp. in nasopharyngeal aspirates [J]. J Clin Microbiol, 2011,49(11):3943-3946. DOI:10.1128/JCM.00335-11.

(收稿日期:2018-06-09)

(本文编辑:李欣)