

中国百日咳实验室检测及质量管理专家共识

中国妇幼保健协会临床诊断与实验医学分会

通信作者:柯江维,Email:kjw0791@163.com

【摘要】 百日咳是一种由百日咳杆菌通过飞沫传播,感染人类引起的急性呼吸道传染病。百日咳的规范化治疗的前提是早期、及时、准确识别感染者,实验室检测及质量管理对诊断和监测百日咳感染具有重要的临床价值。为提高百日咳实验室检测效率及质量,为临床百日咳的诊断和治疗提供规范化数据支持和应用,中国妇幼保健协会临床诊断与实验医学分会组织专家参考国内外相关文献指南,总结梳理百日咳实验室检测及质量管理研究进展,形成本共识。重点阐述实验室检测方法及管理在百日咳诊疗方面的临床应用,使百日咳的实验室检测更有效地服务于百日咳患者诊疗和预后评估。

【关键词】 百日咳; 传染病; 实验室; 质量管理

Consensus of experts on laboratory detection and quality management of pertussis in China

Clinical Diagnosis and Experimental Medicine Branch of China Maternal and Child Health Care Association

Corresponding author: Ke Jiangwei, Email: kjw0791@163.com

【Abstract】 Pertussis is an acute respiratory tract infectious disease caused by *Bordetella pertussis*, which is transmitted through airborne droplets and infects humans. The premise of the standardized treatment of pertussis is to identify infected people early, timely, and accurately. Laboratory testing and quality management have important clinical value for diagnosing and monitoring pertussis. The China Maternal and Child Health Care Association Clinical Diagnosis and Experimental Medicine Branch organized experts to refer to relevant domestic and foreign literature guidelines, summarized the research progress of pertussis laboratory detection and quality management, and then formed a consensus that aims to improve the efficiency and quality of laboratory detection and to provide standardized data support and application for clinical diagnosis and treatment of pertussis. This paper focuses on the clinical application of pertussis laboratory testing methods and quality management, making it effective in providing patients with diagnosis, treatment, and prognosis evaluation.

【Key words】 Pertussis; Communicable diseases; Laboratories; Quality management

百日咳是一种由百日咳杆菌通过咳嗽飞沫空气传播,感染人类引起的流行周期为2~5年的区域性急性呼吸道传染病^[1-3],是我国严格管理的乙类法定传染病。随着全球百日咳再次出现,我国也出现百日咳疫情的反弹,家族聚集性感染、局部暴发

流行、变异及耐药的风险较高^[4-5]。人是百日咳杆菌的唯一感染宿主,人群普遍易感,但主要引起儿童呼吸道疾病,年龄越小,病情越重,易发展为窒息、惊厥以及肺炎、百日咳脑病、心血管系统障碍、营养不良等严重威胁儿童生命健康的并发症,6月

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20231025-00230

收稿日期 2023-10-25 本文编辑 武昱

引用本文:中国妇幼保健协会临床诊断与实验医学分会.中国百日咳实验室检测及质量管理专家共识

[J].中华检验医学杂志,2024,47(5):498-505. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20231025-00230.



中华医学出版社
Chinese Medical Association Publishing House

版权所有 违者必究



龄以下婴幼儿是高危人群^[6]。及时诊断和治疗传染源、接种疫苗保护易感人群是阻断疫情传播最有效的办法^[7]。

我国 2007 年建立《百日咳诊断标准》，对医疗机构百日咳患者的诊断和鉴别诊断进行规范指导。2017 年中华医学会儿科学分会感染学组组织专家编写《中国儿童百日咳诊断及治疗建议》，重点对儿童百日咳的诊断和治疗进行阐述；2021 年中华预防医学会、中华预防医学会疫苗与免疫分会组织专家编写《中国百日咳行动计划专家共识》，重点对百日咳的研究进展、流行病学特点以及免疫进行策略阐述。但目前国内尚缺乏系统的百日咳实验室检测及质量管理方面的指导性文件。为提高百日咳实验室检测效率及质量，为临床百日咳的诊断和治疗提供规范化数据支持和应用，中国妇幼保健协会临床诊断与实验医学分会组织专家参考国内外相关文献指南，总结梳理百日咳实验室检测及质量管理研究进展，形成本共识。重点阐述实验室检测方法及管理在百日咳诊疗方面的临床应用，使百日咳的实验室检测更有效地服务于百日咳患者治疗和预后评估。

一、百日咳的病原学特点

百日咳杆菌归属于鲍特菌属产碱杆菌科，是引起百日咳的唯一病原菌，是一种革兰阴性需氧菌，多为小球、短细棒状或多形性杆菌，无鞭毛和芽孢。营养要求高，适宜在 35~37℃ 的鲍姜（Bordet-Gengou, B-G）或活性炭-马血琼脂（Regan-Lowe, R-L）培养基生长或转运，过氧化氢酶和氧化酶阳性。百日咳杆菌主要致病因子有毒素、表面结构及代谢蛋白等，其中毒素包括百日咳毒素（pertussis toxin, PT）、腺苷酸环化酶毒素（adenylate cyclase toxin, ACT）、皮肤坏死毒素和气管细胞毒素。

表面结构包括丝状血凝素、菌毛、百日咳黏附素、Ⅲ型分泌系统和脂多糖；代谢蛋白主要包括 BrkA、BapC 和 BatB 等^[1, 8]。

二、流行病学特点

百日咳是具有高度传染性的呼吸道疾病，是人群慢性咳嗽的常见原因^[9]。从咳嗽发作前到病程 3 周内，患者均被认为具有传染性，其传染源主要是家庭成员中的患者或者潜伏感染者，通过咳嗽或者打喷嚏形成飞沫进行传播，人群普遍易感。未接种疫苗或低于 6 月龄的婴幼儿百日咳感染率、重症率及死亡率最高，其次是儿童，也可感染青少年或

成人^[6, 10]。

建议 1 百日咳是具有高度传染性，对于疑似感染病例，宜追踪其流行病学史，可对其本人或家庭成员采集标本行实验室检测，进一步辅助临床诊断和治疗。

三、百日咳的病程特征和临床表现

百日咳感染的潜伏期一般为 7~10 d，甚至达 21 d，病程可分为卡他期、发作期和恢复期^[11]。卡他期主要伴有发热、疲劳、流鼻涕和结膜充血等症状，持续约 1~2 周，是该病传染性最强的阶段；发作期的典型特征是阵发性痉挛性咳嗽，常夜间发作，咳后有“鸡鸣”样回声和喘鸣，甚至出现紫绀、发汗或呼吸暂停等症状，持续约 2~6 周；恢复期患者咳嗽频率及其他症状逐渐减轻，持续 2~3 周，也可能反复出现痉咳数月之久^[12-13]。对于具有典型症状的患者，可直接作出临床诊断，具有快速简便等特点，但对于接种过疫苗、青少年及成人，多为非典型病例，仍需要完善实验室相关检查后才能确诊^[14-15]。

建议 2 对于具有典型病程特征和临床表现的病例，可直接作出临床诊断。但非典型病例，则应该进行实验室检测辅助临床诊断。

四、百日咳的实验室检测

实验室检测主要包括病原学、血清学和其他方法学，是百日咳感染者诊断和鉴别诊断最重要的手段和保障，尤其对于临床症状不典型的患者具有重要意义。在选择百日咳实验室检测方法时，应重视方法学的阳性诊断价值或阴性排除诊断价值，因为可靠的阴性排除诊断对临床诊疗具有更高的应用价值。

（一）百日咳实验室检测的对象

百日咳实验室检测对象主要包括如下患者：6 个月以内婴幼儿出现呃逆、喘息、心动过缓或室息的患者；婴幼儿继发肺炎及癫痫患者；3 岁以下儿童出现不明原因生物窒息或阵发性青紫，常无典型痉挛性咳嗽；其他年龄段出现如下症状：上呼吸道感染症状患者；发作性咳嗽；咳嗽后出现呕吐，甚至出现舌系带溃疡或结膜下出血；有疑似百日咳病例密切接触史患者；原因不明的咳嗽或咳嗽后呕吐患者。

建议 3 对于出现上述症状的患者，可行百日咳实验室检测辅助临床诊断和治疗。

（二）百日咳实验室检测的方法学

1. 病原学检测：包括细菌培养和核酸检测。



细菌培养:百日咳杆菌培养是诊断百日咳感染的金标准^[16]。百日咳杆菌是一种革兰阴性需氧菌,营养要求高,适宜温度 35~37℃,培养基有 B-G 或添加胎牛血清白蛋白和胎牛血清的改良 B-G 琼脂平板^[17],以及 R-L 碳培养基,R-L 碳培养基需使用头孢氨苄抑制杂菌生长^[18]。培养无需二氧化碳,但需要足够的湿度,且生长缓慢,初次培养长出细菌后,可分离接种在添加 10% 去纤维马血的碳琼脂平板上,培养 3~5 d,为了提高检出率,有研究认为可延长培养时间至 12 d^[19-20]。典型的菌落呈圆形、颜色灰白、表面光滑、中间高边缘整齐、光泽而有黏稠感的不透明状。不发酵糖类,不形成吡啶,不产生硫化氢,过氧化氢酶和氧化酶阳性。百日咳杆菌的鉴定可观察典型菌落形态、涂片染色菌体形态,通过生化试验、标准血清凝集试验和聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR),也有使用质谱法进行鉴定^[21]。

百日咳杆菌培养法具有较高的特异性,但受培养方法、抗菌药物使用、病程、标本质量、转运条件等多种因素影响,敏感度和阳性率均较低。以临床诊断为金标准时,细菌培养的特异度达 100%,但其敏感度只有 38%^[22]。在百日咳疑似病例中,培养法的阳性率约为 11.82%~21.5%^[23-25]。在病程早期或咳嗽的前 1~4 周,百日咳杆菌培养法具有 100% 的特异度,但敏感度 20%~80% 不等^[26],并随患病年龄增加,敏感度降低^[27]。

建议 4 百日咳杆菌培养法是诊断百日咳感染的金标准,特异度较高,临床应用价值大,尤其是对病程早期(4 周内)或疑似病例应早期进行规范化的病原微生物培养和鉴定。

核酸检测:百日咳杆菌分子生物学检测是通过 PCR 技术对特异性基因序列进行定量或半定量分析的方法学,是百日咳实验室检测的首选推荐试验^[13]。以百日咳典型的临床症状为诊断金标准时,PCR 阳性预测值为 68.1%^[28],也有研究发现常规培养为阴性的病例,PCR 检测出 17.22% 的百日咳杆菌^[29]。一项对 57 份临床标本进行实时荧光 PCR 和普通 PCR 的比较研究中,阳性率分别为 39% 和 33%,其敏感度分别为 100% 和 83%,特异度均 97%^[22]。此外,百日咳实时荧光 PCR 的 Ct 值可作为新生儿和婴儿严重程度的预测指标^[30]。

插入序列(insertion sequence, IS)是具有末端反向重复序列并编码转座酶(tnpA)开放读码框的 DNA 片段,通过介导基因功能的突变或缺失提升

菌群适应能力和竞争力。IS481 和 IS1001 分别以 253 和 22 的拷贝数存在于百日咳杆菌和副百日咳杆菌,而 IS1002 则以 5 个和 9 个拷贝数存在于百日咳杆菌和副百日咳杆菌。IS 序列拷贝数的变化在菌种间具有一定的特异性,是百日咳 PCR 检测的良好靶标,但是 IS 序列的拷贝数变化也会在菌种间相互传递^[31-32]。为了增加 PCR 检测的菌种特异性,有研究以百日咳 IS481 和毒素启动子区基因 ptxP、副百日咳 IS1001 作为靶基因,进行多重实时 PCR 分析,检出率均高于细菌培养法^[33]。多数研究以 IS481 和 IS1001、IS1002、ptxP、ptxS1、BP0283、ptxA、cyaA、prn、recA、carB、bhur 中的一种或多种基因作为诊断和鉴别百日咳杆菌的 PCR 靶基因^[14, 34]。百日咳杆菌的基因组是动态的,菌株间可以相互传递,因此需要合理选择几种靶基因,以增加 PCR 的特异性。

实时荧光 PCR 检测百日咳核酸分子具有较高的特异度和敏感度,是咳嗽持续时间小于 3 周患者的首选诊断方法^[26]。在卡他期和发作期早期(1~4 周),实时荧光 PCR 的敏感度 77%~100%,特异度 88%~97%^[13],敏感度和特异度均明显高于培养法^[35-36]。有研究利用微流控生物芯片平台环介导等温扩增法的即时检测仪器,实现了百日咳实时 PCR 的高敏感度(100%)和特异度(96%)诊断^[37-38]。在有效治疗 21 d 后,仍然可检测到百日咳杆菌 DNA 分子^[14, 39]。也有研究表明 PCR 检测可用于病程超过 4 周的患者,但假阴性率可能增加^[13, 40]。因 PCR 可检测残留分子核酸片段,随着病程延长,部分已经康复的患者也可能出现 PCR 结果阳性。此外,PCR 存在技术要求高、成本贵、易污染等缺点。

建议 5 百日咳杆菌分子生物学检测具有较高的特异度和敏感度,对于卡他期和发作期早期(1~4 周)患者,或年龄<1 岁的婴幼儿,PCR 可作为首选实验室检测方法。宜选择 IS481 和 IS1001、IS1002、ptxP、ptxS1、BP0283、ptxA、cyaA、prn、recA、carB、bhur 基因中的一种或多种作为靶基因,以增加 PCR 检测的特异度和敏感度。

建议 6 对于病程超过 4 周的患者,PCR 检测可以作为重要的辅助手段,但需关注,随着病程延长,部分已经康复的患者也可能出现 PCR 结果阳性。

2. 抗体检测:包括血清学检测和直接荧光抗体检测。

血清学检测:血清学检测是最早用于百日咳临



床诊断的实验室检测方法学,早期主要有补体结合试验和细菌凝集试验,后逐渐被酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)所替代。有研究评估美国 43 种商业 ELISA 试剂盒,发现不同试剂的阳性预测值和阴性预测值的差异较大,以细菌培养和/或 PCR 阳性为标准时,抗 PT IgA、IgG 和 IgM 抗体 ELISA 检测的阳性预测值范围分别为 29%~90%、26%~96%、0~73%,而阴性预测值范围分别为 13%~100%、27%~100% 和 42%~100%^[41]。其中抗 PT IgG 抗体 ELISA 定量是百日咳杆菌感染最特异和敏感的血清学检测方法。但是对感染早期患者、近期接种过疫苗、婴幼儿的诊断价值有限。对于最近接种过疫苗患者,抗 PT IgA (界值 15 IU/ml)和抗 ACT IgG (界值 15 U/ml)检测的准确度为 95% (91.5%~97.1%) 和 87.5% (82.7%~91.1%),敏感度为 92.9% (87.4%~96.0%) 和 83.6% (76.5%~88.8%),特异度为 98% (93.0%~99%)。因 PT 是无细胞百日咳疫苗的抗原成分,接种疫苗使机体产生抗 PT IgA 抗体,而 ACT 作为非疫苗抗原,感染可使机体产生抗 ACT IgG 抗体,两者联合检测可有效提高百日咳血清学诊断效率,并区分疫苗接种和感染^[42]。在 <1 岁的百日咳患者中,约 50% 抗 PT IgA 阳性,且 PCR 阴性患者的抗 PT IgA 阳性比率显著高于 PCR 阳性患者,因此,抗 PT IgA 检测可能有助于 1 岁以下百日咳患者的诊断^[43]。对于病程早期抗 PT IgG 阴性的患者,应该间隔 2~3 周后检测第 2 份血清样本,以增加百日咳的诊断效率,或急性期和恢复期双份标本抗 PT IgG 检测能提高血清学检出率和敏感度^[14]。

建议 7 血清学检测是常用的百日咳实验室诊断方法,其中抗 PT IgG 抗体 ELISA 检测是最常用、最特异和敏感的指标,主要用于百日咳感染中后期的诊断。而抗 PT IgA 检测更适用于 1 岁以下婴幼儿或 1 年内接种过疫苗的患者。

建议 8 对于早期抗 PT IgG 阴性的患者,应该间隔 2~3 周后检测第二份血清样本,或急性期和恢复期双份血清检测,若 IgG 抗体水平升高 4 倍及以上,能显著提升诊断效率。

直接荧光抗体检测(direct fluorescent antibody, DFA):是一种简便的方法学,即直接使用荧光素标记抗体,检测标本中抗原的免疫标记技术,通过荧光显微镜观察荧光种类和强度,检测抗原的种类和数量,已经被广泛用于多种病原体的检测^[44]。百日咳杆菌 DFA 检测具有简便、快捷、成本低等优点,

但因标本采集、处理及结果判读等过程中人为因素影响较大,标准化程度低,检测质量难以保障,其敏感度和特异度均较低,也有研究认为荧光标记用单克隆抗体比多克隆抗体的检测特异性高,但其敏感度无明显变化^[45]。因此,DFA 临床应用价值有限,需结合其他实验室检测方法学,以提高诊断效率^[14]。

建议 9 DFA 具有简便、快捷、成本低等优点,可用于百日咳的快速筛查,但因敏感度和特异度均较低,临床应用价值有限,需结合其他实验室检测方法学,以提高诊断效率。

3. 其他方法学检测:包括外周血细胞分析及形态学检测和其他非常规方法学检测。

外周血细胞分析及形态学检测:百日咳属于细菌感染性疾病,患者多具有感染性疾病的外周血象。研究认为 PT 的 ADP 核糖基化活化是诱导白细胞增的多必要条件,是一种白细胞增多促进因子。PT 一方面可减少淋巴细胞的外渗和归巢,另一方面通过抑制趋化因子受体的功能而促进淋巴细胞从骨髓、脾脏进入循环池,加快胸腺 T 淋巴细胞的成熟和释放,刺激外周血储备池中的淋巴细胞释放到循环池,从而引起淋巴细胞数增加^[46]。在患儿感染的早期,外周血白细胞计数明显升高可达 $(20\sim 50)\times 10^9/L$,痉咳期甚至可达到 $70\times 10^9/L$ 以上。有报道重症百日咳婴儿的白细胞计数增加到 $101.85\times 10^9/L$,淋巴细胞计数为 $36.76\times 10^9/L$ ^[47],白细胞升高以淋巴细胞为主。儿童百日咳患者中,超过 50% 的患者存在淋巴细胞绝对数增多^[48],百分比常可高达 60%~90%。在儿童感染性疾病中,白细胞计数以 $23.5\times 10^9/L$ 为界值时,诊断百日咳的特异度为 96.6%,而淋巴细胞计数以 $17\times 10^9/L$ 为界值时,特异度为 98.3%。伴随淋巴细胞升高的白细胞增多症可作为百日咳辅助诊断的重要实验室指标,且与百日咳的严重程度密切相关^[30, 49-50]。由于未免疫的儿童对百日咳毒素的敏感性更高,更容易出现以上外周血象特点,年长儿及接种过疫苗的百日咳患儿对百日咳毒素的敏感性较低,外周血白细胞计数和淋巴细胞比例大多正常或轻度升高^[51]。

此外,儿童百日咳患者中,12%~56% (平均 31%) 的患儿外周血中存在特征性的小而成熟的裂隙淋巴细胞,该细胞圆形、胞浆量少、深染、清透、无颗粒;胞核染色质浓缩致密、无核仁、核型不规则、存在浅切迹、深切迹或裂缝,呈对称双核或分叶核^[48],过氧化物酶染色阴性。在除外血液系统疾病



或淋巴瘤后,裂隙淋巴细已被用于百日咳的辅助诊断,其数量和百分比与百日咳的严重程度呈正相关^[52]。特征性的裂隙淋巴细胞联合外周血细胞计数升高可为百日咳患儿的早期诊断提供新思路^[53]。

建议 10 外周血细胞分析及形态学检查简单易行,可作为疑似百日咳病例早期常规筛查方法。若表现为淋巴细胞升高为主的白细胞增多症,或合并有特征性裂隙淋巴细胞,对百日咳感染的诊断有重要提示作用。

其他非常规方法学检测:二代测序(next-generation sequencing, NGS)是一种具有检测通量高、灵敏度高、速度快、特异性好的能准确读取核酸序列的分析技术,对感染性病原体快速鉴别具有重要潜在应用价值。已被用于百日咳杆菌的检测和诊断^[54]。并能显著提高百日咳杆菌核酸检测和鉴别效率^[55]。与一代测序相比,NGS对病原体的检出率更高,此外,NGS的敏感性及临床价值也显著高于培养法^[56]。NGS可通过对百日咳毒素(ptxA、ptxC)、菌蛋白(prn)、菌毛(fim2、fim3)以及启动子区(ptxP)的抗原基因组分析,辅助百日咳的诊断、鉴别、防治及疫苗研发^[25]。同时可用于百日咳菌株抗原变异、迁移和缺陷的研究^[57],百日咳疫情中流行菌株监测与溯源^[58],以及百日咳杆菌遗传多样性及进化的分析^[59]。此外,百日咳杆菌蛋白质组学、亚蛋白质组学、免疫蛋白质组学以及宿主-百日咳杆菌相互作用的定量转录组学的分析也可用于百日咳杆菌的检测^[60-61]。

建议 11 NGS是一种对百日咳杆菌检测和鉴别具有重要潜在临床应用价值的新技术,尤其是对于常规方法学无法确诊的疑难病例,可用于百日咳杆菌的基因序列分析,但技术要求高,成本昂贵。

五、百日咳实验室检测的质量管理

实验室检测是辅助百日咳诊疗的重要手段,检测过程的质量管理涉及分析前、分析中及分析后3个方面。实验室应采取合理有效的质量管理方法监控检测工作的全过程,及时发现百日咳实验室检测中出现的问题,通过针对性地采取纠正措施或预防措施,以保证检测结果的准确性。

(一)分析前

百日咳实验室检测的分析前质量管理,主要有标本采集和转运。采集应根据检测目的,在病程早期、症状典型、用药前或有需要时进行。操作应规范化,同时向患者或其家属解释采集的方法和用途,征得患者或家属的理解和配合。鼻腔咽拭子最

适用于病原微生物学和分子生物学的检测。其采集方法是将一次性无菌拭子轻轻插入鼻腔咽后壁,摩擦旋转拭子1圈以上,取出拭子,将拭子放回塑料管中,密封送检^[62]。为了提高检出率,也可以采集下呼吸道标本。用于培养的咽拭子应为涤纶或尼龙材质,避免使用对百日咳杆菌具有抑制作用的棉签拭子,标本宜35~37℃恒温保温运送^[62-63];用-20℃冷冻保存^[63]。静脉血标本主要采用真空采血法,分别采集乙二胺四乙酸二钾抗凝血和普通非抗凝血各1管。抗凝血标本应常温条件下运送和保存,主要用于外周血细胞分析及形态学检测。普通非抗凝血充分凝固后,应及时分离血清,主要用于血清学检测。双份血清标本采集时间间隔14 d^[63]。

(二)分析中

百日咳实验室检测的仪器设备和试剂、检测方法、质量控制、技术标准、检测流程、术语规范等须符合国家卫生主管部门已发布的相关规定及标准。分子生物实验室应获得相应资格证书,技术人员应具有扎实的理论基础,熟练的操作技能,接受培训,获得PCR上岗证,PCR检测的过程中,必须有严格的质量控制和管理体系,避免气溶胶污染,对争议结果需要使用2个不同的技术检测方案进行复查和验证。细菌培养应该严格执行操作规程,注意病程、抗菌药物使用、标本质量、标本转运条件及培养方法等因素对结果的影响。血清学检测需标准化操作,避免交叉污染,定期进行定标曲线校准。外周血细胞计数及形态学分析应注意标本质量,有无凝块、脂血、黄疸、溶血等影响检测结果的异常,应制定复检规则。所有项目均应开展室内质控,设定检测项目的精密度分析质量目标,定期评价质控数包括平均数、标准差、变异系数及累计平均数、标准差及变异系数等,监控检验性能变化趋势,若质控数据发生偏倚时,应采取纠正措施。此外,应定期参加室间质量评价/能力验证计划,以保障实验室检测结果的质量。

(三)分析后

百日咳实验室检测的分析后质量管理,主要包括生物参考区间和结果的审核与发布。实验室应根据程序建立与本实验室服务人群相适应的生物参考区间或结果判读标准,若无法建立参考区间或结果判读标准,可使用行标或试剂说明书给定的参考区间,但使用前应经过验证合格。对于百日咳的结果审核与发布,可在报告中标注检测方法学,实验室人员应与临床医生积极沟通,结合患者的临床



症状,以及检测方法学的优缺点,合理解读和使用检测数据。

建议 12 质量控制的 3 个环节是百日咳检测结果准确性的重要保证,标本采集人员、检测人员、结果解释人员均需引起重视。

六、病例报告

百日咳属于法定传染病,若诊断百日咳疑似病例或百日咳临床病例,责任报告单位和责任疫情报告人应按照《中华人民共和国传染病防治法》等规定,通过中国疾病预防控制中心信息系统进行网络报告。

七、总结与展望

百日咳实验室检测方法学的敏感度和特异度差异较大,临床适用价值不同,应根据患者的症状和病程,合理选择检测方法,也可多种方法学同时使用,以增加临床诊断的准确性。外周血白细胞分析及形态学检测具有简便快速的特点,具有重要筛查价值;DFA 提供了更快速的结果,但是具有敏感度和特异度差的缺点;培养法是诊断百日咳感染的金标准,特异度较高,临床应用价值大,是病程早期或疑似病例重要检测方法;分子生物学检测具有较高的特异度和敏感度,是早期患者或年龄<1 岁的婴幼儿的首选实验室检测方法。血清学检测是常用的百日咳实验室诊断方法,特异度和敏感度较好,但需谨慎用于 1 岁以下婴幼儿或接种过疫苗的患者,不同病程期的双份血清检测临床价值更大。此外,基因测序等新型方法学也逐步成为诊断和鉴别百日咳感染的重要手段。

百日咳疫情依然严峻,尚需更多关于百日咳实验室检测方法学的技术创新和开发,提高实验室检测的特异度和敏感度,为百日咳早期诊断、治疗、鉴别以及用药、疗效评估等提供准确的实验室数据,指导临床获得更加精准的医疗效果。

执笔人:柯江维(江西省儿童医院检验科)、冉飞(贵州省人民医院检验科)、钟龙青(江西省儿童医院检验科)

共识撰写制定组成员(按姓氏拼音排序):白丽霞(山西省儿童医院医务科),陈必全(安徽省儿童医院感染科),陈丽婷(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心海南医院医学遗传与产前诊断中心),陈治中(广西壮族自治区人民医院精准联合检验中心),崔玉霞(贵州省人民医院儿科),邓慧玲(西安市中心医院儿科),顾洁(银川市妇幼保健院儿科),韩磊(银川市妇幼保健院检验科),黄洋(湖北省妇幼保健院儿童呼吸科),侯娟娟(甘肃省庆阳市人民医院精准医学中心),柯江维(江西省儿童医院检验科),李磊(银川市妇幼保健院普儿科),李明(昆明市儿童医院呼吸内科),黎四平(东莞市第八人民医院检验科),李维媛(玉溪市儿童医院

呼吸科),李晓勤(新疆维吾尔自治区妇幼保健院检验科),刘亚敏(天津市第二人民医院感染科),刘志强(江西省儿童医院检验科),龙驹(广西钦州市妇幼保健基因科学与遗传医学实验室),罗如平(湖南省儿童医院感染科),梅世月(河南省儿童医院病理科),莫丽亚(湖南省儿童医院检验中心),潘秋辉(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心检验科),冉飞(贵州省人民医院检验科),孙新(空军军医大学西京医院儿科),佟广辉(辽宁省妇幼保健院中心实验室),王春霞(甘肃兰州市第一人民医院检验科),王洁(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心海南医院中心实验室),魏莲花(甘肃省人民医院检验科),文勃(四川雅安市人民医院呼吸儿科),吴谨淮(厦门大学附属妇女儿童医院儿科),向波(广州医科大学附属第一医院检验科),许红梅(重庆医科大学附属儿童医院感染科),严媚(新疆医科大学第一附属医院儿科中心),杨细媚(江西省儿童医院检验科),张玉珏(甘肃兰州市第一人民医院儿科),赵江阳(广西壮族自治区妇幼保健院检验科),钟龙青(江西省儿童医院检验科),周艳(江西省儿童医院检验科),朱冰(广州医科大学附属妇女儿童医疗中心中心实验室)

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, et al. Pertussis: microbiology, disease, treatment, and prevention[J]. Clin Microbiol Rev, 2016, 29(3): 449-486. DOI: 10.1128/CMR.00083-15.
- [2] Kang L, Cui X, Fu J, et al. Clinical characteristics of 967 children with pertussis: a single-center analysis over an 8-year period in Beijing, China[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2022, 41(1): 9-20. DOI: 10.1007/s10096-021-04336-w.
- [3] Zhang C, Zong Y, Wang Z, et al. Risk factors and prediction model of severe pertussis in infants<12 months of age in Tianjin, China[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1): 24. DOI: 10.1186/s12879-021-07001-x.
- [4] Feng Y, Chiu CH, Heininger U, et al. Emerging macrolide resistance in Bordetella pertussis in mainland China: findings and warning from the global pertussis initiative [J]. Lancet Reg Health West Pac, 2021, 8: 100098. DOI: 10.1016/j.lanwpc.2021.100098.
- [5] Zhang Z, Pan J, Chen M, et al. Seroepidemiology of pertussis in China: a population-based, cross-sectional study[J]. Vaccine, 2021, 19; 39(12): 1687-1692. DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.02.032.
- [6] Lin LN, Zhou JS, Hua CZ, et al. Epidemiological and clinical characteristics of pertussis in children and their close contacts in households: a cross-sectional survey in Zhejiang Province, China[J]. Front Pediatr, 2022, 10: 976796. DOI: 10.3389/fped.2022.976796.
- [7] Wu D, Jing R, Zheng H, et al. Health and economic evaluation of vaccination against pertussis in China: a 40-year analysis[J]. value health, 2023, 26(5): 666-675. DOI: 10.1016/j.jval.2022.10.011.
- [8] de Graaf H, Gbesemete D, Read RC. Chapter controlled



- human infection with *Bordetella pertussis*[[]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2023. DOI: 10.1007/82_2022_260.
- [9] Hon K, Li Y, Leung A, et al. Childhood pertussis is still here: an Asian city's perspectives[[]. *Pediatr Pulmonol*, 2022, 57(4):796-799. DOI: 10.1002/ppul.25839.
- [10] González-López JJ, Álvarez Aldeán J, Álvarez García FJ, et al. Epidemiology, prevention and control of pertussis in Spain: new vaccination strategies for lifelong protection [[]. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*, 2022, 40(4): 195-203. DOI: 10.1016/j.eimce.2021.04.009.
- [11] Daniels HL, Sabella C. *Bordetella pertussis* (Pertussis) [[]. *Pediatr Rev*, 2018, 39(5): 247-257. DOI: 10.1542/pir.2017-0229.
- [12] Chen S, Wang Y, Li A, et al. Etiologies of hospitalized acute bronchiolitis in children 2 years of age and younger: a 3 years' study during a pertussis epidemic[[]. *Front Pediatr*, 2021, 12;9:621381. DOI: 10.3389/fped.2021.621381.
- [13] Kline JM, Smith EA, Zavala A. Pertussis: common questions and answers[[]. *Am Fam Physician*, 2021, 104(2):186-192.
- [14] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory diagnosis of pertussis[[]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(4): 1005-1026. DOI: 10.1128/CMR.00031-15.
- [15] Selbuz S, Çiftçi E, Özdemir H, et al. Comparison of the clinical and laboratory characteristics of pertussis or viral lower respiratory tract infections[[]. *J Infect Dev Ctries*, 2019, 13(9):823-830. DOI: 10.3855/jidc.10558.
- [16] Nguyen V, Simon L. Pertussis: the whooping cough[[]. *Prim Care*, 2018, 45(3): 423-431. DOI: 10.1016/j.pop.2018.05.003.
- [17] Hiramatsu Y, Osada-Oka M, Horiguchi Y. Bordet-Gengou agar medium supplemented with albumin-containing biologics for cultivation of *bordetellae*[[]. *Microbiol Immunol*, 2019, 63(12): 513-516. DOI: 10.1111/1348-0421.12742.
- [18] Miranda C, Porte L, García P. *Bordetella holmesii* in nasopharyngeal samples from Chilean patients with suspected *Bordetella pertussis* infection[[]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(4): 1505; author reply 1506. DOI: 10.1128/JCM.06747-11.
- [19] Rocafort M, Henares D, Brotons P, et al. Exploring the nasopharyngeal microbiota composition in infants with whooping cough: a test-negative case-control study[[]. *PLoS One*, 2021, 16(10):e0259318. DOI: 10.1371/journal.pone.0259318.
- [20] Katzko G, Hofmeister M, Church D. Extended incubation of culture plates improves recovery of *Bordetella* spp[[]. *J Clin Microbiol*, 1996, 34(6): 1563-1564. DOI: 10.1128/jcm.34.6.1563-1564.1996.
- [21] Knuutila A, Harju I, Korhonen S, et al. Vaccine antigen deficiency does not substantially affect the identification of *Bordetella pertussis* strains by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[[]. *J Clin Microbiol*. 2023, 20;61(4):e0166522. DOI: 10.1128/jcm.01665-22.
- [22] Templeton KE, Scheltinga SA, van der Zee A, et al. Evaluation of real-time PCR for detection of and discrimination between *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, and *Bordetella holmesii* for clinical diagnosis[[]. *J Clin Microbiol*, 2003, 41(9): 4121-4126. DOI: 10.1128/JCM.41.9.4121-4126.2003.
- [23] Villuendas MC, López AI, Moles B, et al. *Bordetella* spp. infection: a 19-year experience in diagnosis by culture[[]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2004, 22(4):212-216. DOI: 10.1016/s0213-005x(04)73068-2.
- [24] Liu D, Du Q, Yuan L, et al. Retrospective analysis of bacterial culture-confirmed pertussis cases in Beijing Children's hospital from 2014 to 2019 reveals prevention and control of the grim situation in mainland China[[]. *Expert Rev Vaccines*, 2021, 20(5): 577-583. DOI: 10.1080/14760584.2021.1899822.
- [25] Wu S, Hu Q, Yang C, et al. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* and analysis of vaccine antigen genes from clinical isolates from Shenzhen, China[[]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2021, 20(1): 53. DOI: 10.1186/s12941-021-00458-3.
- [26] Cherry JD, Tan T, Wirsing von König CH, et al. Clinical definitions of pertussis: summary of a global pertussis initiative roundtable meeting, February 2011[[]. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(12): 1756-1764. DOI: 10.1093/cid/cis302.
- [27] Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, et al. Marked difference between adults and children in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs [[]. *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17(3): 365-370. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03255.x.
- [28] Bolotin S, Deeks SL, Marchand-Austin A, et al. Correlation of real time PCR cycle threshold cut-off with *Bordetella pertussis* clinical severity[[]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133209. DOI: 10.1371/journal.pone.0133209.
- [29] Zouari A, Smaoui H, Brun D, et al. Prevalence of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* infections in Tunisian hospitalized infants: results of a 4-year prospective study[[]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 72(4):303-317. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.01.002.
- [30] Thuy Nga DT, Thi Bich Thuy P, Aina A, et al. Association between real-time polymerase chain reaction cycle threshold value and clinical severity in neonates and infants infected with *Bordetella pertussis*[[]. *Pediatr Infect Dis J*, 2022, 41(5): 388-393. DOI: 10.1097/INF.0000000000003471.
- [31] Parkhill J, Sebaihia M, Preston A, et al. Comparative analysis of the genome sequences of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica* [[]. *Nat Genet*, 2003, 35(1):32-40. DOI: 10.1038/ng1227.
- [32] Diavatopoulos DA, Cummings CA, Schouls LM, et al. *Bordetella pertussis*, the causative agent of whooping cough, evolved from a distinct, human-associated lineage of *B. bronchiseptica*[[]. *PLoS Pathog*, 2005, 1(4):e45. DOI: 10.1371/journal.ppat.0010045.
- [33] Grogan JA, Logan C, O'Leary J, et al. Real-time PCR-based detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* in an Irish paediatric population[[]. *J Med Microbiol*, 2011, 60(Pt 6): 722-729. DOI: 10.1099/jmm.0.030049-0.
- [34] Phadke VK, McCracken JP, Kriss JL, et al. Clinical characteristics of hospitalized infants with laboratory-confirmed pertussis in Guatemala[[]. *J Pediatric Infect Dis Soc*, 2018, 7(4): 310-316. DOI: 10.1093/jpids/pix081.
- [35] Al-Hinai H, Al-Rashdi A, Al Azri S. Laboratory performance and clinical correlation of real-time



- polymerase chain reaction as a diagnostic test for *Bordetella pertussis* isolated from patients in Oman[J]. *Oman Med J*, 2022, 37(3):e372. DOI: 10.5001/omj.2022.62.
- [36] Dragsted DM, Dohn B, Madsen J, et al. Comparison of culture and PCR for detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* under routine laboratory conditions[J]. *J Med Microbiol*, 2004, 53(Pt 8): 749-754. DOI: 10.1099/jmm.0.45585-0.
- [37] Dou M, Macias N, Shen F, et al. Rapid and accurate diagnosis of the respiratory disease pertussis on a point-of-care biochip[J]. *EClinicalMedicine*, 2019, 8: 72-77. DOI: 10.1016/j.eclinm.2019.02.008.
- [38] Dou M, Sanchez J, Tavakoli H, et al. A low-cost microfluidic platform for rapid and instrument-free detection of whooping cough[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1065: 71-78. DOI: 10.1016/j.aca.2019.03.001.
- [39] Cimolai N. Pharmacotherapy for *Bordetella pertussis* infection. I. A synthesis of laboratory sciences[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2021, 57(3):106258. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106258.
- [40] Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis/Whooping Cough(*Bordetella pertussis*). Specimen collection and diagnostic testing[EB/OL]. (2022-08-04) <https://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/specimen-collection-diagnosis.html>.
- [41] Pawloski LC, Plikaytis BD, Martin MD, et al. Evaluation of commercial assays for single-point diagnosis of pertussis in the US[J]. *J Pediatric Infect Dis Soc*, 2017, 6(3):e15-e21. DOI: 10.1093/jpids/piw035.
- [42] Subissi L, Rodeghiero C, Martini H, et al. Assessment of IgA anti-PT and IgG anti-ACT reflex testing to improve *Bordetella pertussis* serodiagnosis in recently vaccinated subjects[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(5):645.e1-645.e8. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.10.001.
- [43] Chen Z, Liu X, Zhang Y, et al. Evaluation of serum anti-pertussis toxin IgA antibodies for the diagnosis of *Bordetella pertussis* infection in young children[J]. *J Infect Public Health*, 2023, 16(8): 1167-1173. DOI: 10.1016/j.jiph.2023.05.028.
- [44] Rodrigues AC, Marcusso R, Souza DN, et al. A comparative study of direct fluorescent antibody, mouse inoculation, and tissue culture infection testing for rabies diagnoses [J]. *J Virol Methods*, 2022, 300: 114426. DOI: 10.1016/j.jviromet.2021.114426.
- [45] Tilley PA, Kanchana MV, Knight I, et al. Detection of *Bordetella pertussis* in a clinical laboratory by culture, polymerase chain reaction, and direct fluorescent antibody staining; accuracy, and cost[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2000, 37(1): 17-23. DOI: 10.1016/s0732-8893(00)00117-6.
- [46] Cherry JD. The prevention of severe pertussis and pertussis deaths in young infants[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2019, 18(3): 205-208. DOI: 10.1080/14760584.2019.1581065.
- [47] Tian SF, Wang HM, Deng JK. Fatal malignant pertussis with hyperleukocytosis in a Chinese infant: a case report and literature review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(17):e0549. DOI: 10.1097/MD.00000000000010549.
- [48] Pandey S, Cetin N. Peripheral smear clues for *Bordetella pertussis*[J]. *Blood*, 2013, 122(25): 4012. DOI: 10.1182/blood-2013-05-502724.
- [49] Al Maani A, Al Qayoudhi A, Nazir HF, et al. Pertussis and pertussis like illness: pediatric experience in Oman[J]. *Oman Med J*, 2017, 32(5): 396-402. DOI: 10.5001/omj.2017.75.
- [50] Di Camillo C, Vittucci AC, Antilici L, et al. Pertussis in early life: underdiagnosed, severe, and risky disease. a seven-year experience in a pediatric tertiary-care hospital [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2021, 17(3):705-713. DOI: 10.1080/21645515.2020.1791617.
- [51] Carbonetti NH. Pertussis leukocytosis: mechanisms, clinical relevance and treatment[J]. *Pathog Dis*, 2016, 74(7):ftw087 [pii]. DOI: 10.1093/femspd/ftw087.
- [52] Zhang R, Wang H, Li C, et al. Utility of cleaved lymphocytes from peripheral blood smear in the diagnosis of pertussis[J]. *Int J Lab Hematol*, 2021, 43(1): e26-e27. DOI: 10.1111/ijlh.13340.
- [53] 许秀妆, 章金灿. 裂隙涂片细胞辅助诊断儿童百日咳的临床价值[J]. *中国当代儿科杂志*, 2020, 22(9):996-1000. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2002205.
- [54] Zhang H, Wang X, Xia H, et al. Metagenomics next-generation sequencing assists in the diagnosis of infant pertussis encephalopathy: a case report[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(8): e33080. DOI: 10.1097/MD.00000000000033080.
- [55] Fong W, Rockett R, Timms V, et al. Optimization of sample preparation for culture-independent sequencing of *Bordetella pertussis*[J]. *Microb Genom*, 2020, 6(3): e000332. DOI: 10.1099/mgen.0.000332.
- [56] Flurin L, Wolf MJ, Mutchler MM, et al. Targeted metagenomic sequencing-based approach applied to 2146 tissue and body fluid samples in routine clinical practice[J]. *Clin Infect Dis*, 2022, 75(10):1800-1808. DOI: 10.1093/cid/ciac247.
- [57] Bouchez V, Guillot S, Landier A, et al. Evolution of *Bordetella pertussis* over a 23-year period in France, 1996 to 2018[J]. *Euro Surveill*, 2021, 26(37): 2001213. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.37.2001213.
- [58] Rodríguez-Medina N, Gutiérrez-Ferman J, Villarreal-Treviño L, et al. Genome sequences of *Bordetella pertussis* Isolates from outbreaks in Northeastern Mexico[J]. *Microbiol Resour Announc*, 2023, 12(5):e0009623. DOI: 10.1128/mra.00096-23.
- [59] Bridel S, Bouchez V, Brancotte B, et al. A comprehensive resource for *Bordetella* genomic epidemiology and biodiversity studies[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3807. DOI: 10.1038/s41467-022-31517-8.
- [60] Tefon BE, Özcengiz E, Özcengiz G. Pertussis vaccines: state-of-the-art and future trends[J]. *Curr Top Med Chem*, 2013, 13(20):2581-2596. DOI: 10.2174/15680266113136660189.
- [61] Gregg KA, Wang Y, Warfel J, et al. Antigen discovery for next-generation pertussis vaccines using immunoproteomics and transposon-directed insertion sequencing[J]. *J Infect Dis*, 2023, 227(4): 583-591. DOI: 10.1093/infdis/jiac502.
- [62] 中华医学会儿科学分会呼吸学组呼吸道感染协作组,《中国实用儿科杂志》编辑委员会. 儿童呼吸道感染微生物检验标本采集转运与检测建议(细菌篇)[J]. *中国实用儿科杂志*, 2018, 33(9):663-669. DOI: 10.19538/j.ek2018090602.
- [63] 邓继岗, 王红梅, 田树凤. 儿童百日咳的临床特点及实验室诊断[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2017, 32(22): 1692-1695. DOI: 10.3760/cmaj.issn.2095-428X.2017.22.004.

