

· 综述 ·

百日咳的研究现状

徐颖华 张庶民

【关键词】百日咳; 急性呼吸道传染病

Current state on pertussis research XU Ying-hua, ZHANG Shu-min. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China

【Key words】Pertussis; Acute respiratory infectious disease

百日咳(pertussis)是由百日咳杆菌引起的一种严重急性呼吸道传染病,传染性较强,人群普遍易感,其中尤以婴幼儿多见,是严重威胁人类健康的主要传染病之一。尽管现在世界上绝大多数国家实施百日咳疫苗的免疫接种,使百日咳感染率和病死率大大下降,但据世界卫生组织(WHO)统计报道^[1],现在全世界每年仍有 3500 万的百日咳患者,高达 29.4 万的儿童死于百日咳及其并发症,且 90% 的病例来自不发达国家和发展中国家。因此百日咳越来越引起人们的重视。本文从百日咳的流行病学、病原学、实验室诊断学、治疗以及预防几方面对国内外百日咳的研究现状进行综述。

1. 百日咳的流行病学:百日咳的主要传染对象是 6 岁以下的婴幼儿,1 岁以内的婴幼儿发病率约占总发病率的 50%。发达国家报告发病率在进行疫苗接种后下降了 95%~99%,病死率低于 0.5%。然而即便是在发达国家或百日咳疫苗接种率很高的国家,近年来发病率也有上升的趋势,局部地区还有爆发性流行,即所谓的“百日咳再现(re-emerge)”^[2]。在发展中国家,百日咳临床发病中 4%~15% 与气候和年龄有关,社区研究报告病死率为 3%,医院内研究报告为 15%,由于缺乏明确的临床诊断指标及医生素质原因,报告病例可能只占总病例的一部分^[3,4]。值得注意的是,已接种疫苗的青少年和成人患病的人数逐渐增多,血清学检测证实有持续性咳嗽的门诊成年人约 12%~26% 感染过百日咳,31%~32% 的长期咳嗽患者有感染的血清学证据。但他们的临床表现的症状并不典型,在临床极易误诊,而且研究表明这些人往往是婴幼儿百日咳的重要传染源^[5,6]。

中国自 1978 年实施计划免疫、普及儿童百白破疫苗接种以来,百日咳发病率与死亡率大幅度下降,发病率由 20 世纪六七十年代的 100/10 万~200/10 万,降至目前 1/10 万以下,且流行范围逐步缩小。1997 年发病率为 0.75/10 万,死亡率在 0.001/10 万左右。尽管成人百日咳病例所占比例逐渐增加,但目前仍以儿童发病为主,95% 以上的病例仍集中在 15

岁以下,其中 7 岁以下占 80%,60% 左右的病例 < 5 岁,有病例报告的县占全国总县数的 30% 左右,农村发病率高于城市^[5,7]。

2. 百日咳的病原学:人类是百日咳杆菌的惟一宿主,该菌能寄居在健康青少年和成人的上呼吸道、气管、支气管和肺部的上皮细胞纤毛丛间。百日咳杆菌在其生长过程中可产生外毒素和内毒素,以及其他许多具有抗原性的生物活性物质。这些活性物质在百日咳杆菌致病和引起宿主免疫反应方面起重要作用^[8]。

(1)百日咳毒素(pertussis toxin, PT):PT 是百日咳杆菌致病的主要毒力因子,同时也是其所产生的诸多生物活性物质中惟一不受争议的保护性抗原。在鲍特氏菌属中,百日咳杆菌是惟一能产生 PT 的细菌。PT 是由 S1、S2、S3、S4 和 S5 等 5 个亚单位以 1:1:1:2:1 的比例组成,相对分子质量(M_r)为 117×10^3 ,为一个典型的“A-B 核糖基转移酶”模式的细菌毒素。A 部分由毒性亚基 S1 构成,S1 主要具有识别 PT 生物学活性的功能,PT 的大部分酶活性是 S1 的作用,例如促淋巴细胞增多、激活胰岛素细胞、簇集 CHO 细胞生长和组胺致敏等,而 B 部分由 S2、S3、S4(2 个)和 S5 组成,参与与真核细胞表面受体结合及毒性 S1 亚基的跨膜运输^[9]。

(2)丝状血凝素(filamentous hemagglutinin, FHA):FHA 是由鲍特氏菌属百日咳杆菌产生的一种具有粘附作用的表面蛋白质分子,因对红细胞有凝集作用而得名。FHA M_r 为 220×10^3 左右。FHA 与百日咳杆菌粘附和定居在呼吸道器官的上皮细胞有关,也是百日咳杆菌致病的重要毒力因子,同时还具有较强免疫原性,能刺激机体免疫系统产生特异的保护性抗体^[10]。目前在一些国家 FHA 已被作为无细胞百日咳疫苗的主要组分之一。

(3)百日咳粘着素(pertactin, Prn):Prn 为一种非纤毛性的凝集原,存在于百日咳杆菌表面,它在百日咳杆菌侵袭宿主呼吸系统上皮细胞的感染粘附过程发挥着重要的作用。Prn 也具有较强免疫原性。在欧美一些国家已把 Prn 作为无细胞百日咳疫苗组分之一^[11]。

(4)凝集原(agglutinogens, AGGs):百日咳杆菌有 AGGs 达 8 种之多,其中 6 种是百日咳杆菌所特有的。百日咳杆菌以 1、2、3 AGGs 为主,其他几种 AGGs 为辅。研究证实 AGGs 2 和 3 在细菌感染过程中对宿主支气管细胞有粘附作用,所以,AGGs 也是百日咳杆菌的致病因子之一^[12]。一些国家的临床试验报道,百日咳菌体疫苗中 AGGs 的效价与小鼠的免疫应答和疫苗对儿童的免疫保护性之间有着良好的相关性。

作者单位:100050 北京,中国药品生物制品检定所血清室

通讯作者:张庶民

因此 WHO 推荐在百日咳疫苗生产中应选用含有 2、3 型 AGGs 的菌株,目前世界上一些国家生产的无细胞百日咳疫苗中含有 AGGs 2 或 3,或者两者均有^[13]。

(5)其他生物活性物质:包括脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、腺苷酸环化酶毒素(adenylate cyclase toxin, ACT)、皮肤坏死毒素(dermonecrotic toxin, DT)和气管细胞毒素(tracheal cytotoxin, TC)^[13,14];这些生物活性物质在百日咳的致病机制中也发挥重要作用。

百日咳发病一般可分为粘附阶段、局部阶段和全身性阶段 3 个阶段^[14],百日咳杆菌经呼吸道感染宿主,通过产生各种毒力因子如 FHA、Prn 和 AGGs 粘附在纤毛细胞,在局部生长繁殖,分泌 PT、TCT、ACT 等各种毒素,引起局部病变,分泌物增加,产生临床症状,随着细菌进一步繁殖生长,尽管百日咳杆菌不侵入血液,但其产生的毒素可进入血液,作用于全身,引起发热、白细胞增多、组胺致敏性增强及胰岛素分泌增加致使血糖降低等一系列全身性临床症状。由于一直未能建立一个理想的百日咳症状的动物模型,因而至今对百日咳的致病机制尚不十分清楚。

3. 百日咳的实验室诊断及治疗:现用于诊断百日咳感染的实验室检测方法主要包括比较传统的细菌学检测方法、免疫学检测方法和基于现代分子生物学技术的基因检测方法^[15]。

细菌学检测方法特异性非常高,被认为是百日咳诊断的“黄金标准”(gold standard)。但其阳性检出率低,易受多种因素的影响。而且该法的实验周期太长,灵敏度低,只有 15%~30%,方法也不易标准化^[16],因此,仅适合病程早期的诊断,远不能满足临床需要。目前国内外应用于临床诊断的血清学检测主要是检测抗百日咳杆菌的 IgG 与 IgA,检测方法多为酶联免疫吸附法(ELISA)。一般取疑似患者急性期与恢复期 2 份血清标本,当后者抗体效价比前者升高 ≥ 4 倍时才有诊断意义。倘若单份血清中抗 PT-IgG ≥ 100 U/ml 时,也认为有诊断意义^[17]。随着生物技术的发展,在 20 世纪 90 年代就有人将聚合酶链反应(PCR)技术应用于百日咳感染的检测。由于 PCR 是先将标本中的核酸特异成分扩增复制后再进行检测,其敏感性较直接检测核酸大大提高。近几年在国外已将荧光定量 PCR 用于百日咳感染诊断。该法是在普通 PCR 反应系统中加入一条特异性荧光标记的寡核苷酸探针,此方法不仅具有普通 PCR 方法的高灵敏度,而且由于荧光探针的应用可以通过光电传导系统直接探测 PCR 扩增过程中荧光信号的变化以获得定量结果,同时还具有 DNA 杂交的高特异性和光谱技术的高精确性,大大提高检测方法的敏感性和特异性。并且由于反应与检测在同一仪器内实施,大大减少了污染的机会,缩短反应的时间,快速的给出定量检测结果^[18,19]。百日咳的实验室诊断方法的研究在我国研究的较少,目前中国药品生物制品检定所血清室成功研制出荧光定量 PCR 检测百日咳杆菌方法。

百日咳杆菌对许多抗生素敏感,但疗效与用药的迟早有

关,若在百日咳的潜伏期和卡他期开始治疗,可以缩短病程、减轻病情,效果最好,其中以红霉素效果最佳^[20]。有人采用普鲁卡因和链霉素喷雾吸入治疗百日咳,也取得良好效果^[21]。因为百日咳的病程相对较长,也有人采用中西医结合疗法,能明显改善患者症状,缩短病程,具有很好的疗效。由于皮质激素可被用于减轻百日咳症状,多年来用于治疗百日咳,但鉴于其有严重的不良反应,因此仅限于病情较为严重的百日咳患者^[22]。由于 PT 在百日咳发病过程中的重要作用,有研究报道对于严重的婴儿百日咳采用静脉点滴抗 PT 免疫球蛋白进行了临床试验,结果表明效果较好,患者无不良反应^[23]。

4. 预防:百日咳疫苗是预防百日咳最有效也是最经济的手段,百日咳疫苗包括全细胞百日咳疫苗和无细胞百日咳疫苗。

(1)全细胞百日咳疫苗(whole cell pertussis vaccine, WPV):WPV 在 20 世纪 30 年代首次临床证实具有免疫保护作用,并用于免疫,迄今已使用了近 70 年,在控制和降低儿童百日咳发病方面发挥了巨大作用,其优点在于价格低,有效性已经确认,只要达到一定的接种覆盖面,就可有效预防百日咳的流行。但该制品存在一些缺点:副反应较大,安全性还存在一定问题,以至于在日本、英国均有抵制疫苗接种情况的出现^[24,25]。由于接种率下降,导致百日咳流行出现反弹,鉴于此种情况,日本于 80 年代率先研制并使用了以 PT 和 FHA 为主要有效成分的全细胞百日咳疫苗。

(2)无细胞百日咳疫苗(acellular pertussis vaccine, APV):APV 主要是通过提取纯化,去掉一些无用且引起副反应的毒性物质,如 HLT、LPS、TCT 和 ACT,而保留具有保护性免疫作用的抗原成分,其主要有效成分为 PT、FHA、Pertactin、AGG2 和 AGG3 等。不同厂家生产的疫苗成分各成分间的比例有所不同,但一般均含有 PT。在我国疫苗中的成分主要是 PT 和 FHA^[25]。

APV 接种后也发生诸如红肿、热疼等疫苗接种反应,但与全细胞相比,其副反应发生率、严重程度均大大低于全细胞百日咳疫苗。因此,在发达国家,如美国、英国、日本、德国、瑞士等国均已全部采用 APV 作为常规免疫用疫苗^[26]。由于 APV 的免疫效果好、副反应小等优点决定着其将逐渐替代全细胞疫苗,为了使无细胞疫苗更快的代替 WPV,应加强 APV 的质量控制与标准参考品的研制,进行 APV 的实验评价指标和免疫接种后的血清学指标及疫苗的临床免疫保护水平之间的研究,完善副反应监测体系,建立一个比较健全和可靠的疫苗评价标准^[27]。

(3)免疫程序:目前,大多数国家使用 WHO 推荐的免疫程序,在婴儿出生后 6 个月内完成 3 针注射,但各国稍有差异,在中国,婴儿在出生后的第 3、4、5 个月完成接种,在 1 岁半至 2 岁之间进行一针加强免疫。在美国,婴儿在出生后第 2、4、6、15-18 个月进行 4 针接种,在 4~6 岁进行加强免疫。在欧洲,60% 以上国家实施 2~6 月龄婴儿进行 3 次百日咳疫

苗接种。而爱尔兰、马耳他、西班牙和挪威等国家将百日咳疫苗 3 针接种放在 10~12 月龄婴儿中。多数国家,在婴幼儿 2 岁时进行第 4 针加强免疫。也有在学龄前进行加强^[28,29]。

自 20 世纪以来,全世界大多数国家在预防百日咳方面取得了很大的成就,有效地控制了百日咳的流行,但从 90 年代起,在疫苗覆盖率高的发达国家仍出现发病率上升甚至百日咳局部暴发,其中成人百日咳所占的比率有较大的增加,因此使用高效疫苗,采用适当的免疫程序,对未免疫儿童、青少年和成人适时进行基础免疫或者加强免疫,提高免疫接种率,是控制百日咳流行的惟一有效的措施。

然而,目前在百日咳杆菌的致病机理和机体对百日咳杆菌的免疫方面,仍存在着很多尚待研究和解决的问题,例如理想的百日咳疾病动物模型的建立、百日咳的免疫机理的阐明及疫苗的持久性的研究等一系列问题。相信在 21 世纪这些问题会随着生物技术的快速发展和世界各国研究人员的共同努力,一定会得到解决。

参 考 文 献

- World Health Organization. The world health report. Working group on the standardization and control of pertussis vaccine, WHO Geneva, 2003.
- Campins M, Cheng HK, Forsyth K, et al. Recommendations are needed for adolescent and adult pertussis immunization: rationale and strategies for consideration. *Vaccine*, 2001, 20: 614-620.
- Black S. Epidemiology of pertussis. *Pediatr Infect Dis J*, 1997, 16: s85-s89.
- Wang J, Yang Y, Li J, et al. Infantile pertussis rediscovered in China. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8: 859-861.
- 张兴录, 杨志伟, 周军, 等. 我国近年百日咳流行病学特点分析. *中国计划免疫*, 2000, 2: 93.
- Lee GM, Lebaron C, Murphy TV, et al. Pertussis in adolescents and adults: should we vaccinate? *Pediatrics*, 2005, 115: 1675-1684.
- 陶沁, 陈圣俊, 王华刚, 等. 贵州省 1997 年局部地区百日咳爆发流行给人们的启示. *中华流行病学杂志*, 1998, 19: 375.
- Carbonetti NH, Artamonova GV, Andreassen C, et al. Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin provide a one-two punch for establishment of *Bordetella pertussis* infection of the respiratory tract. *Infect Immun*, 2005, 73: 2698-2703.
- Halperin SA, Issekutz TB, Kasina A. Modulation of *Bordetella pertussis* infection with monoclonal antibodies to pertussis toxin. *J Infect Dis*, 1991, 163: 355-361.
- Ozcengiz E, Kilinc K, Buyuktanir O, et al. Rapid purification of pertussis toxin (PT) and filamentous hemagglutinin (FHA) by cation-exchange chromatography. *Vaccine*, 2004, 22: 1570-1575.
- Hijnen M, Mooi FR, van Gageldonk PG, et al. Epitope structure of the *Bordetella pertussis* protein P. 69 pertactin, a major vaccine component and protective antigen. *Infect Immun*, 2004, 72: 3716-3723.
- Smith AM, Guzman CA, Walker MJ. The virulence factors of *Bordetella pertussis*: a matter of control. *FEMS Microbiol Rev*, 2001, 25: 309-333.
- Kerr JR, Matthews RC. *Bordetella pertussis* infection: pathogenesis, diagnosis, management, and the role of protective immunity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000, 19: 77-88.
- Locht C. Molecular aspects of *Bordetella pertussis* pathogenesis. *Int Microbiol*, 1999, 2: 137-144.
- Frank-Michael C, Müller JE, Hoppe CH, et al. Laboratory diagnosis of pertussis: state of the art in 1997. *J Clin Microbiol*, 1997, 35: 2435-2443.
- Mike JL, Curt JT, Karla SL, et al. Comparison of PCR, culture, and direct fluorescent-antibody testing for detection of *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol*, 1999, 37: 2872-2876.
- Baughman AL, Bisgard KM, Edwards KM, et al. Establishment of diagnostic cutoff points for levels of serum antibodies to pertussis toxin, filamentous hemagglutinin, and fimbriae in adolescents and adults in the United States. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004, 11: 1045-1053.
- Lynne MS, Marlene KH, Shawn M, et al. Multiplex lightcycler PCR assay for detection and differentiation of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* in nasopharyngeal specimens. *J Clin Microbiol*, 2002, 40: 96-100.
- Mäkinen J, Mertsola J, Viljanen MK, et al. Rapid typing of *Bordetella pertussis* toxin gene variants using lightcycler real-time PCR and fluorescence resonance energy transfer hybridization probe melting curve analysis. *J Clin Microbiol*, 2002, 40: 2213-2216.
- Dodhia H, Miller E. Review of the evidence for the use of erythromycin in the management of persons exposed to pertussis. *Epidemiol Infect*, 1998, 120: 143-149.
- 刘伟, 侯岩松. 药物喷雾法治疗百日咳的疗效分析. *黑龙江医药科学*, 2002, 25: 6.
- Tozzi AE, Celentano LP, Ciofi degli Atti ML, et al. Diagnosis and management of pertussis. *CMAJ*, 2005, 172: 509-515.
- Bruss JB, Malley R, Halperin S, et al. Treatment of severe pertussis: a study of the safety and pharmacology of intravenous pertussis immunoglobulin. *Pediatr Infect Dis J*, 1999, 18: 505-511.
- Lugauer S, Heininger U, Cherry JD, et al. Long-term clinical effectiveness of an acellular pertussis component vaccine and a whole cell pertussis component vaccine. *Eur J Pediatr*, 2002, 161: 142-146.
- World Health Organization. Department of vaccine and other biologicals: Informal consultation on the control of pertussis with whole cell and acellular vaccines. The World Health Organization report. WHO Geneva, 1999.
- Sato Y, Sato H. Development of acellular pertussis vaccines. *Biologicals*, 1999, 27: 61.
- Robbins JB, Schneerson R, Trollfors B. Pertussis in developed countries. *Lancet*, 2002, 360: 657-658.
- Scuffham PA, McIntyre PB. Pertussis vaccination strategies for neonates — an exploratory cost-effectiveness analysis. *Vaccine*, 2004, 22: 2953-2964.
- Girard DZ. Which strategy for pertussis vaccination today? *Paediatr Drugs*, 2002, 4: 299-313.

(收稿日期: 2005-09-01)

(本文编辑: 尹廉)