

儿童百日咳混合感染病原学分析及危险因素分析

成 胜 王宇清 尹同进 潘晶晶

[摘要] 目的 分析住院儿童百日咳混合感染病原学情况及混合感染危险因素。方法 选取2016年1月至2019年12月苏州大学附属儿童医院就诊的253例百日咳患儿为研究对象,收集患儿一般资料、实验室检查、临床表现、病原学检测等结果,根据病原分析结果,将患儿分成单纯感染组($n=92$)与混合感染组($n=161$),进一步采用广义估算方程(GEE)找出百日咳混合感染的危险因素。结果 混合感染组中,混合1种病原体103例(63.98%),按检出率高低依次为鼻病毒36例(34.95%)、肺炎支原体17例(16.50%)、肺炎链球菌11例(10.68%);年龄 >6 月($OR=0.450,95\%CI:0.205\sim0.990,P=0.047$)、喘息($OR=0.316,95\%CI:0.151\sim0.662,P=0.002$)、影像学提示斑片影($OR=0.230,95\%CI:0.121\sim0.437,P<0.001$)是住院儿童发生混合感染的危险因素。结论 鼻病毒、肺炎支原体、肺炎链球菌为住院百日咳儿童混合感染前3位病原;年龄 >6 月、喘息、影像学提示斑片影为百日咳混合感染发生的危险因素。

[关键词] 儿童,百日咳;百日咳鲍特菌;混合感染;病原菌
doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2022.11.009

百日咳是一种可预防的严重急性呼吸道传染病。研究^[1]发现,百日咳博德特菌与其他病原的混合感染常使症状加重,还会导致严重的呼吸道症状甚至其他系统并发症,明显增加临床诊治的难度。但目前国内外对于百日咳混合感染的研究报道较少,且对混合感染后是否会加重病情目前仍有不同观点^[1-2]。因此,本研究通过对苏州大学附属儿童医院呼吸科2016至2019年住院治疗的253例百日咳患儿进行多种病原学联合检测,分析百日咳混合感染的病原情况、临床特征、对疾病的影响以及发生的高危因素,为儿童百日咳混合感染的临床诊断与治疗提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析2016年1月至2019年12月苏州大学附属儿童医院呼吸科诊断百日咳住院治疗253例患儿的临床资料,其中男患儿138例,女患儿115例,男女性别比为1.2:1,其中 ≤ 3 月龄69例(27.27%),3~6月龄83例(32.81%),6~12月龄44例(17.39%),12~36月龄34例(13.44%), >36 月龄23例(9.09%)。其中单纯百日咳感染92例,混合其他病原感染161例。纳入标准:①符合百日咳诊断标准^[3],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,鸡鸣样回声,咳嗽后伴有呕吐,

结膜下出血等,且从痰、鼻咽分泌物中培养到百日咳鲍特杆菌或双重聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)检测阳性;②患儿年龄 >28 d。排除标准:患有免疫系统缺陷、染色体异常疾病、气道发育异常、复杂先天性心脏病等者。本研究已通过苏州大学附属儿童医院医学伦理委员会审查(批准文号:2021CS071)。

1.2 方法

1.2.1 标本收集 痰液标本收集采用无菌负压吸痰法,经患儿鼻腔插入8cm左右达到咽部以下,吸取1~2mL气道分泌物然后放入无菌生理盐水中。进行末梢静脉血采集,分别行白细胞计数及其分类、C反应蛋白(C-reactive protein,CRP)、血清肺炎支原体抗体等检查。

1.2.2 百日咳博德特杆菌双重PCR检测 用百日咳鲍特菌ptxA-Pr和IS481基因序列为特异性引物^[4],然后采用实时荧光PCR扩增目的基因,将抽取的分泌物放入离心管中,再加入磷酸缓冲盐溶液,放入离心管中进行震荡、离心,然后将沉淀物加入DNA裂解液进行裂解后离心,选取上清液后进行PCR扩增。取样品的上清液2 μ L直接加入阳性定量参考品于反应管中,置PCR自动循环仪,循环温度设置:95 $^{\circ}$ C循环5min,其中95 $^{\circ}$ C 10s \rightarrow 58 $^{\circ}$ C 20s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 20s,进行35个循环。将溶解曲线设置40 $^{\circ}$ C 10s。荧光定量PCR的结

基金项目:国家自然科学基金面上项目(项目编号:81573167),江苏省社会发展重点项目(项目编号:BE2017657)

作者单位:224001 江苏盐城 南京医科大学盐城临床医学院/盐城市第三人民医院儿内科(成胜,尹同进,潘晶晶)

215003 江苏苏州 苏州大学附属儿童医院呼吸内科(王宇清)

通信作者:王宇清,wang_yu_qing@126.com

果以典型的双S型曲线为阳性。

1.2.3 其他病原检测 直接免疫荧光法检测呼吸道常见7种病毒(腺病毒、副流感病毒1、2、3型、呼吸道合胞病毒、流感病毒A、B型);RT-PCR检测人偏肺病毒、人鼻病毒基因;实时PCR检测博卡病毒、支原体及衣原体基因;细菌鉴定:将1 mL痰标本常规处理后,经过孵育、接种、培养后,然后用菌落特点、革兰染色及显微镜观察等方法对菌类进行判定,以痰标本菌量 $\geq 3+$ 为致病菌。

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0进行统计分析,正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析;偏态分布计量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料以百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。危险因素分析采用广义估算方程(generalized estimating equation, GEE),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 百日咳鲍特菌混合感染阳性检出率及不同性别混合感染检出率 253例百日咳阳性患儿中,单纯百日咳感染92例,混合其他病原感染161例,混合感染检出率为63.63%。男性患儿组混合感染90例,阳性检出率为65.21%,女性患儿组混合感染71例,阳性检出率为61.74%,男女混合感染检出率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.328, P = 0.567$)。

2.2 百日咳鲍特菌混合感染的病原分析

2.2.1 混合感染病原体及混合形式 161例百日咳

混合其他病原感染的患儿中,混合1种病原体103例(63.98%),其中鼻病毒36例(34.95%),肺炎支原体17例(16.50%),肺炎链球菌11例(10.68%),流感嗜血杆菌11例(10.68%),副流感病毒3型7例(6.80%),博卡病毒6例(5.83%),金黄色葡萄球菌感染6例(5.83%),流感病毒A型4例(3.88%),草绿色链球菌1例(0.97%),副流感嗜血杆菌1例(0.97%),呼吸道合胞病毒1例(0.97%),卡他莫拉菌1例(0.97%),偏肺病毒1例(0.97%)。混合2种病原41例(25.47%),混合形式有病毒+细菌、病毒+病毒、病毒+肺炎支原体、细菌+细菌、细菌+肺炎支原体多种组合形式,其中病毒+细菌20例(48.78%),首位为鼻病毒+肺炎链球菌7例(17.07%),病毒+病毒4例(9.76%),病毒+肺炎支原体7例(17.07%),细菌+细菌6例(14.63%),细菌+肺炎支原体4例(9.76%)。混合3种病原体11例(6.83%)、混合4种病原体6例(3.73%)。

2.2.2 混合感染的病原分布情况 混合病毒共102例,其中鼻病毒65例,博卡病毒23例,副流感病毒16例,流感病毒A型4例,呼吸道合胞病毒3例,偏肺病毒2例,腺病毒1例。混合细菌74例,其中肺炎链球菌28例,流感嗜血杆菌27例,金黄色葡萄球菌12例,草绿色链球菌6例,卡他莫拉菌4例,副流感嗜血杆菌2例。混合肺炎支原体43例。

2.2.3 不同年龄组百日咳鲍特菌混合感染的病原检出情况 各年龄组混合病毒、细菌差异无统计学意义($P > 0.05$),混合肺炎支原体发生率随着年龄的增长而增加,差异有统计学意义($\chi^2 = 25.980, P < 0.05$)。见表1。

表1 不同年龄组混合病原检出情况[例(%)]

病原体	≤ 3 月($n=69$)	3~6月($n=83$)	6~12月($n=44$)	12~36月($n=34$)	> 36 月($n=23$)	χ^2 值	P 值
病毒	26(37.68)	26(31.33)	21(47.72)	19(55.88)	10(43.48)	7.422	0.115
细菌	14(20.29)	22(26.51)	18(40.91)	13(38.24)	7(30.43)	7.211	0.123
肺炎支原体	5(7.25)	8(9.64)	8(18.18)	13(38.24)	9(39.13)	25.980	< 0.001

2.3 单纯百日咳鲍特菌感染与混合感染临床特征比较 混合感染组中 > 6 个月的患儿比例、发热、喘息、气促、肺部阳性体征比例、外周血中性粒细胞计数、CRP > 8 mg/L患儿比例高于单纯感染组患儿,差异有统计学

意义($P < 0.05$)。胸部影像学检查比较发现混合感染组多表现为斑片状影,单纯感染组大多表现为肺纹理增深,差异均有统计学意义($P < 0.001$)。见表2。

表2 单纯百日咳鲍特菌感染与混合感染患儿临床特征分析[例(%)]

组别	例数	男患儿	年龄 > 6 个月	发热	喘息	气促	阵发性痉咳
单纯感染组	92	47(51.09)	22(23.91)	7(7.61)	22(23.91)	4(4.35)	89(96.74)
混合感染组	161	90(55.90)	79(87.78)	40(24.84)	90(55.90)	22(13.66)	142(88.20)
χ^2 值		0.546	15.446	11.499	24.281	4.547	4.357
P 值		0.460	< 0.001	0.001	< 0.001	0.033	0.037

续表 2

组别	例数	阵发性青紫	面色涨红	重症百日咳	咳后呕吐	肺部阳性体征	CRP > 8 mg/L
单纯感染组	92	21(22.83)	77(83.70)	7(7.61)	39(42.39)	40(43.48)	6(6.52)
混合感染组	161	26(16.15)	112(69.57)	13(8.07)	59(36.65)	104(64.60)	24(14.91)
χ^2 值		1.726	6.186	0.017	0.814	10.648	3.938
P 值		0.189	0.013	0.895	0.367	0.001	0.047

组别	例数	血常规			肺部 X 线		住院日
		WBC($\times 10^9/L$)	N($\times 10^9/L$)	L($\times 10^9/L$)	肺纹理增粗	斑片状影	
单纯感染组	92	15.53(12.23,20.97)	3.46(2.48,5.16)	10.25(7.33,15.05)	55(59.78)	37(40.22)	10.00(8.00,12.75)
混合感染组	161	15.20(10.86,20.24)	4.23(2.81,6.16)	9.97(5.85,13.39)	36(22.36)	123(76.40)	9.00(7.00,12.00)
Z/ χ^2 值		-0.742	-2.516	-1.180	35.599	32.966	-0.873
P 值		0.458	0.012	0.238	<0.001	<0.001	0.383

注: CPR 为 C 反应蛋白, WBC 为白细胞计数, N 为中性粒细胞计数, L 为淋巴细胞计数。

2.4 百日咳鲍特菌混合感染的危险因素分析 将单纯感染组与混合感染组间比较差异有统计学意义的变量(年龄 > 6 个月、发热、喘息、气促、阵发性痉咳、面色涨红、CRP > 8 mg/L、肺部阳性体征、影像学斑片状阴影、中性粒细胞绝对值)行单因素分析, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。以百日咳患儿混合感染为因变量(单纯感染 = 0, 混合感染 = 1), 将单因素分析有统计学意义的变量纳入 GEE 模型, 协变量进行赋值: 中性

粒细胞绝对值以原值代入, 年龄 > 6 月(否 = 0, 是 = 1), 发热(否 = 0, 是 = 1), 喘息(否 = 0, 是 = 1), 气促(否 = 0, 是 = 1), 阵发性痉咳(否 = 0, 是 = 1), 面色涨红(否 = 0, 是 = 1), 肺部阳性体征(否 = 0, 是 = 1), CRP > 8 mg/L(否 = 0, 是 = 1), 胸部影像斑片影(否 = 0, 是 = 1), 通过模型的参数估计和假设检验结果显示年龄 > 6 月、喘息、胸部影像学提示斑片影是混合感染发生的危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 混合感染危险因素的 GEE 模型

参数	回归系数	标准误	95% CI	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% CI
截距	0.308	0.817	-1.293 ~ 1.908	0.142	0.706	1.360	0.274 ~ 6.741
年龄 > 6 个月	-0.798	0.402	-1.586 ~ -0.010	3.939	0.047	0.450	0.205 ~ 0.990
发热	-0.347	0.531	-1.388 ~ 0.693	0.428	0.513	0.706	0.249 ~ 2.001
喘息	-1.153	0.378	-1.893 ~ -0.413	9.323	0.002	0.316	0.151 ~ 0.662
气促	-0.210	0.631	-1.446 ~ 1.026	0.111	0.739	0.811	0.236 ~ 2.791
阵发性痉咳	1.150	0.791	-0.400 ~ 2.700	2.114	0.146	3.158	0.670 ~ 14.878
面色涨红	0.025	0.445	-0.847 ~ 0.898	0.003	0.955	1.026	0.429 ~ 2.454
肺部阳性体征	-0.123	0.371	-0.850 ~ 0.604	0.110	0.740	0.884	0.427 ~ 1.829
中性粒细胞绝对值	-0.043	0.048	-0.137 ~ 0.051	0.791	0.374	0.958	0.872 ~ 1.053
CRP > 8 mg/L	0.000	0.630	-1.233 ~ 1.234	0.000	0.999	1.000	0.291 ~ 3.436
胸部影像斑片影	-1.468	0.327	-2.109 ~ -0.827	20.131	<0.001	0.230	0.121 ~ 0.437

注: CRP 为 C 反应蛋白。

3 讨论

研究^[1]发现, 百日咳博德特菌混合感染其他病原体常使症状加重, 还会导致严重的呼吸道症状。因此, 临床上混合感染病原尽早明确以及混合感染的高危因素早期识别, 可以为临床合理用药提供理论依据, 优化治疗方案, 进一步提高百日咳的诊治水平。

本研究混合感染的病原最多为混合病毒、依次为细菌、肺炎支原体。2016 年意大利学者研究^[5]发现百日咳混合鼻病毒感染最常见为 15%, 在澳大利亚人群中, 20.7% 的患儿被确定为合并感染, 其中大多数是由

于鼻病毒引起的混合感染^[6], 本研究发现混合病毒中鼻病毒为首位, 可能与鼻病毒季节流行有关。有学者^[7]报道大多数百日咳混合感染是由于呼吸道合胞病毒引起的, 国内深圳地区^[8]也报道呼吸道合胞病毒为住院百日咳混合感染常见病原, 而本研究中仅检出呼吸道合胞病毒 3 例(2.9%), 考虑呼吸道合胞病毒在苏州地区的流行主要集中在冬春季^[9], 而百日咳夏季检出率最高^[10], 存在季节差异, 导致检出率偏低。本研究发现除了混合感染病毒外, 还易合并感染细菌, 常见病原体为肺炎链球菌、流感嗜血杆菌等, 与国内外报道^[6,8]一致。本研究发现混合肺炎支原体在混合病原

体中占有一定比例,可能由于肺炎支原体感染部分患儿可引起痉挛样咳嗽,与百日咳相似,从而更多患儿进行了百日咳的病原学检测,本研究进一步分析发现混合肺炎支原体感染率随着年龄的增长而增加,与肺炎支原体感染率与年龄呈正相关的趋势符合,也与国内^[11]报道结果一致。

本研究发现年龄 > 6 个月患儿混合感染率增加,提示临床医师对该年龄段百日咳患儿需要尽早关注混合感染的问题。百日咳患儿出现喘息等表现时,需考虑混合感染发生的可能,从而加强病原学的检测,与重庆地区的相关报道^[12]相符,考虑混合其他病原体感染后不但引起呼吸道黏膜损伤,而且会激活 B 淋巴细胞,促进气道炎症介质的释放,引起喘息^[13]。本研究发现混合感染肺部阳性体征及胸片影像学为斑片影比例增高,与国内相关报道^[8, 12, 14]均一致,这对临床工作中早期识别混合感染提供一定依据。然而本研究对于炎症指标特点比较发现,混合感染 CRP 较单纯感染高,提示 CRP 对混合感染判断有一定指导意义,西安市儿童医院最新的研究^[15]发现百日咳患儿混合细菌感染风险与降钙素原数值升高成正比,本研究尚未对此炎症指标进行分析,对以后的研究有一定的启发。

综上所述,百日咳患儿混合感染病原以混合鼻病毒、肺炎支原体、肺炎链球菌多见,对于指导临床医生合理使用抗生素提供一定理论依据。年龄 > 6 个月、喘息、影像学提示斑片影为百日咳混合感染发生的危险因素,临床医师应及早识别上述危险因素,采取有效干预措施、治疗手段,优化百日咳诊治方案,减少患儿痛苦。本研究仅为单中心研究,可能存在一定偏倚,而且仅住院儿童为研究对象,未纳入门诊、儿童重症监护室的患儿,因此混合感染率、混合感染病原构成、危险因素等可能存在一定偏倚。

参考文献

- [1] KACZMAREK M C, WARE R S, MCENIERY J A, et al. Epidemiology of pertussis - related paediatric intensive care unit (ICU) admissions in Australia, 1997 - 2013: an observational study[J]. *BMJ Open*, 2016, 6(4): e10386.
- [2] FRASSANITO A, NENNA R, NICOLAI A, et al. Infants hospitalized for Bordetella pertussis infection commonly have respiratory viral coinfections [J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1): 492.
- [3] World Health Organization. Laboratory manual for the diagnosis of whooping cough caused by bordetella pertussis/ Bordetella Parapertussis Update 2014. WHO/IVB/14. 03 [EB/OL]. (2014 - 06 - 14) [2021 - 04 - 16]. http://apps.who.int/iris/bistream/10665/127891/1/WHO_IVB_14.03_eng.pdf?ua=1.
- [4] 马卓妮,王和平,陈小文,等. 双重 PCR 快速检测百日咳杆菌[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2011, 25(2): 121 - 123.
- [5] VITTUCCI A C, SPURI VENNARUCCI V, GRANDIN A, et al. Pertussis in infants; an underestimated disease [J]. *BMC Infect Dis*, 2016, 16(1): 414.
- [6] MARSHALL H, CLARKE M, RASIAH K, et al. Predictors of disease severity in children hospitalized for pertussis during an epidemic [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2015, 34(4): 339 - 345.
- [7] TAO Y, TANG M, LUO L, et al. Identification of etiologic agents and clinical characteristics for patients suspected of having pertussis in a large children's hospital in China [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(18): 443.
- [8] 许美,雷炎玲,谭锐,等. 住院患儿百日咳相关性肺炎 309 例临床分析 [J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(9): 686 - 690.
- [9] ZHI W, XU Q, CHEN Z, et al. Respiratory syncytial virus infection in children and its correlation with climatic and environmental factors [J]. *J Int Med Res*, 2021, 49: 3000605211044593.
- [10] JIANG W, WU M, CHEN S, et al. Viruscoinfection is a predictor of radiologically confirmed pneumonia in children with bordetella pertussis infection [J]. *Infect Dis Ther*, 2021, 10(1): 335 - 346.
- [11] 薛黎明,王宇清,郝创利,等. 儿童百日咳合并感染临床研究 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2018, 33(9): 712 - 716.
- [12] 张光莉,田小银,谷瑞雪,等. 重庆地区重症百日咳患儿临床特点分析 [J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(2): 134 - 139.
- [13] FONSECAATEN M, OKADA P J, BOWLWARE K L, et al. Effect of clarithromycin on cytokines and chemokines in children with an acute exacerbation of recurrent wheezing: a double - blind, randomized, placebo - controlled trial [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006, 97(4): 457 - 463.
- [14] 黄辉,邓莉,肖飞,等. 儿童百日咳发病特点及诊断中联合呼吸道病毒检测的临床意义分析 [J]. *中华儿科杂志*, 2017, 55(8): 580 - 585.
- [15] 彭晓康,刘小乖,李亚绒,等. 合并其他病原感染的百日咳患儿临床特征与炎症指标特点 [J]. *中国妇幼健康研究* 2020, 31(8): 1089 - 1093.

(2021 - 11 - 09 收稿)

(本文编校:张迪,周雪春,闵敏)