

## 1995 年臺灣地區之百日咳

### 摘 要

1995 年臺灣地區共有 26 例百日咳陽性案例，其中有 12 例為培養陽性，14 例為有臨床症狀且與菌株培養陽性案例有流行病學之相關性。此 26 例陽性案例之性別、年齡、發病月份、居住地及疫苗注射狀況如下：確定病例中男性 10 例(38.5%)，女性 16 例(61.5%)。年齡分布以一歲以下及 5-9 歲最多，各有 8 例，1-4 歲有 2 例，25-29 歲者 1 例，30-34 歲者 5 例，35-39 歲者 2 例。除 3 月、4 月及 9 月外，其他各月均有病例發生，其中以 5-8 月最多，共有 17 例(佔 65.4%)。地理分布以臺北縣 9 例最多，臺北市 7 例次之，彰化縣 6 例再次之。26 例確定病例中，20 例有家庭聚集現象。16 例確定病例接受了訪查，其中 3 例成人無法確認預防接種記錄，7 例嬰兒(6 例未滿 2 個月，1 例為 3 個月大)均未接受預防注射，3 例志者完成 4 劑 DPT(白喉百日咳及破傷風三合一)疫苗注射，1 例僅完成 2 劑，2 例(分別為 4 個月大及 6 歲)僅完成一劑 DPT 注射。

### 前 言

百日咳最早是在 1679 年由辛德漢(Sydenham)提出。百日咳是一種急性的呼吸道感染，英文名稱為 pertussis，意思是強烈的咳嗽。如果光看中文名稱，會使人以為病人一定會連續咳嗽一百天。其實，百日咳的平均病程為六至八

週，也就是約五十天左右。所以被稱為百日咳，主要是強調咳嗽的時間極長，並非一定要咳一百天。綜合中文與英文的字義，即可明白此疾病之兩個重要特點：即不但會使人咳嗽咳得很厲害而擾人，而且會持續很久。

百日咳大部份是由百日咳桿菌(*Bordetella pertussis*)所引起的，其他較少見的病原菌包括副百日咳桿菌(*Bordetella parapertussis*)及支氣管膿毒桿菌(*Bordetella bronchiseptica*)與腺病毒等。此三者均可引起類似的臨床症狀，統稱為類百日咳症。不過一般提到百日咳時，通常指的是最常見的百日咳桿菌感染。百日咳典型病程分卡他性(catarrhal)期、陣發咳嗽(paroxysmal coughing)期、及恢復(convalescent)期。臨床症狀具有陣發性咳嗽，哮聲(whoop)或咳後嘔吐(post-tussive)等特徵<sup>(1,2)</sup>。百日咳菌對環境抵抗力不強，易被化學消毒劑、乾燥、高溫所破壞。在培養基上長成之菌落經數代培養後會產生變異性，甚而喪失毒素產生能力<sup>(3,4)</sup>。

國內百日咳之血清學檢驗有多所教學醫院例行性進行，但菌株之分離培養與鑑定，由於不易進行，目前只有行政院衛生署預防醫學研究所從事。1995年國內百日咳確定病例較多，且發生醫院內醫護人員感染的例子。本報告特別將1995年國內百日咳病之確定病例加以分析，包括患者之年齡分佈、性別、發病之月份、發生地點以及家庭聚集情形等。為瞭解疫苗之效力，也對16例接受調查之陽性患者做疫苗接種之分析。同時16例患者之症狀也進行調查。

## 材料與方法

### 一、檢體之收集

由於百日咳部份患者呈不顯性感染，或有些診所醫師可能因檢驗設備不足或送驗管道不暢通，而疏於檢驗。行政院衛生署預防醫學研究所於各大型醫院(如臺大醫院、臺北榮總、臺北長庚、林口長庚、基隆長庚、國泰醫院、馬偕醫院、新光醫院、三軍總醫院、國軍八〇四醫院、臺北醫學院附設醫院、臺北市立婦幼醫院、忠孝醫院、仁愛醫院、和平醫院、中興醫院、陽明醫院、省立臺北醫院、省立桃園醫院、亞東醫院、羅東博愛醫院)，或地區兒科內科診所，存放採檢Regon-Lowe 運送培養基，針對咳嗽持續6天以上之門診病人，迅速

採集鼻咽深部檢體及血清，由專人傳送，或以預先貼足郵資信封快遞寄送實驗室，進行百日咳菌體及血清學檢驗。

## 二、百日咳細菌檢驗<sup>(5)</sup>

鼻咽腔或咳氣中菌體分離鑑定：

1. 新鮮檢體或輸送檢體接種到 Bordet-Gengou 培養基(內加 15 %脫纖馬血及 Cephalixin)，置 37°C 培養 3-5 天，每天觀察並挑選可疑菌落，作革蘭氏染色，過氧化酵素試驗(catalase test)，氧化酵素試驗(oxidase test)，及直接螢光鏡檢。
2. 符合革蘭氏染色(革蘭氏陰性、菌落小之球桿菌)、過氧化酵素試驗及氧化酵素試驗均為陽性之菌落，再繼續接種 MacConkey 平板，Mueller-Hinton 平面血液平板，於 37°C 過夜培養，觀察生長發育情形，百日咳菌在此三種培養基應皆不生長。
3. 生化試驗及生長發育符合百日咳菌特性之菌落，再以特異性 Phase I 血清(Difco Laboratories, Detroit Michigan, USA)玻片凝集測試以及剛果紅吸附試驗，以確認其為 Phase I。

## 三、血清學檢驗

血清學檢驗是百日咳臨床診斷的重要輔助檢驗，將患者血清檢體進行百日咳菌 IgA 及 IgM 之 EIA 檢驗(MELJA Diagnostik GmbH, Kassel, Germany)方法如下：

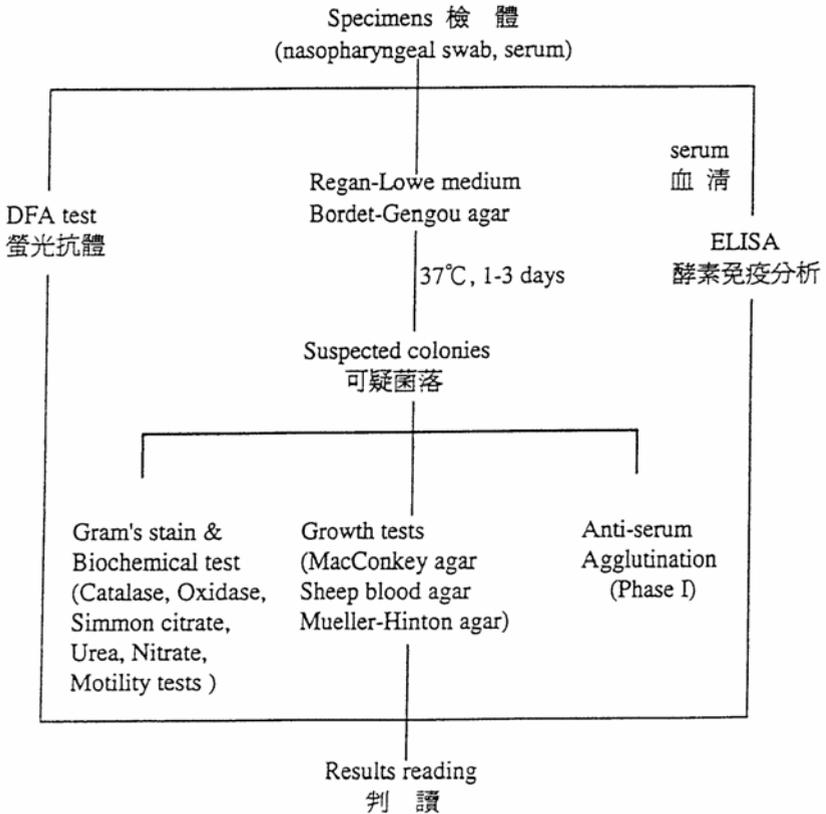
1. 將患者血清與樣品稀釋液以 1 : 100 之比例混合，以樣品稀釋液當作空白試驗。
2. 未稀釋之 IgA, IgM 陽性對照血清以及陰性對照血清和稀釋後之患者血清各取 100 $\mu$ L 放入微量盤內，作二重覆，將之覆蓋放入 37°C 培養箱 1 小時。
3. 取出倒掉內容物以 300  $\mu$ L 之洗淨液清洗三次，再各加入稀釋之 Anti-IgA - AP 及 Anti-IgM-AP(1 : 50)，覆蓋後放入 37°C 培養箱 1 小時，再加上以 300 $\mu$ L 之洗淨液清洗三次，再加上 100 $\mu$ L 新鮮配置之基質(pnpp)，將之覆蓋放入 37°C 培養箱 30 分鐘。
4. 取出以 1 M NaOH 溶液停止基質反應，經混合後放入 ELISA 判讀機以 405

nm 判讀吸光值。

四、聚合酵素鏈反應(Polymerase chain Reacdon , PCR)檢驗<sup>(6)</sup>

1. 100μL 反應混合液(50mM KCl , 10 mM Tris-HCl pH 8.3 , 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> , 0.01 %(v / v)geladn , 200μM deoxyribonucleotides , 20pmol primers , 2.5 U Taq polymerase , 5 μL chromosomal DNA)
2. 變性條件: 94°C , 30 秒, 煉和條件: 52°C , 10 秒, 引子之延伸 72°C 10 秒, 共 30 cycles 。
3. 降回室溫後, 電泳分析產物。

圖一 百日咳菌之分離及鑑定方法



## 結果與討論

### 一、細菌檢驗結果

在全年送驗 168 個疑似患者(包括 85 個報告病例及陽性案例之接觸者)的 182 件鼻咽拭子檢體中,有 14 件(12 例)為培養陽性。

所有菌株經玻片凝集試驗及剛果紅吸附試驗,確認本研究所分離之全部菌株確為 phase I 。

### 二、血清學檢驗結果

在全年送驗 168 個疑似患者的 209 件血清檢體中,有 84 件(61 例)為抗體陽性其中 IgA 陽性者 78 件(58 例); IgM 陽性者 18 件(13 例)。

### 三、陽性案例分析

#### 1. 陽性案例之性別及年齡分佈

根據美國疾病管制及預防中心(Center for Disease Control and Prevention, CDC)及衛生署之規定,百日咳陽性病例定義為百日咳菌培養陽性或有臨床症狀,雖未培養出百日咳菌,但與百日咳菌培養陽性病患流行病學之相關性。

1995 年臺灣地區共有 85 名百日咳報告病例(每十萬人口報告病例數為 0.41),比 1994 年的 51 例多 68.6 %。所有報告病例均採取檢體送驗,經實驗室檢驗或流行病學相關性研判的確定病例有 26 例(每十萬人口確定病例數為 0.12),為 1994 年確定病例數 6 例的 4.3 倍。其中有 12 例為培養陽性,14 例為有臨床症狀且與菌株培養陽性案例有流行病學之相關性者。在 26 例確定病例中男性 10 例(佔 38.5 %),女性 16 例(佔 61.5 %)。

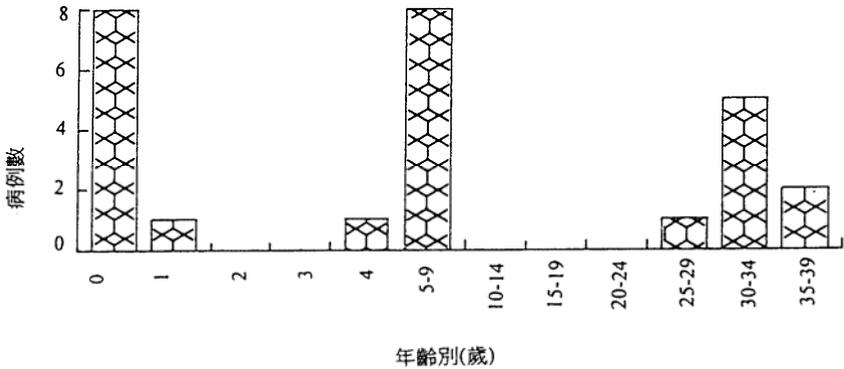
年齡分佈以 1 歲以下及 5-9 歲最多,各有 8 例,1-4 者歲有 2 例,25-29 歲者 1 例,30-34 歲者 5 例,35-39 歲者 2 例。詳如圖二。

#### 2. 病例發生月份及地理分佈

一年十二月中臺灣地區百日咳病發病情形如圖三所示。除三月、四月及九月外,其他各月均有病例發生,其中以五至八月最多,共有 17 例(佔 65.4 %)。地理分佈方面、以臺北縣 9 例最多,臺北市 7 例次之,彰化縣 6 例再次之。

#### 3. 病例之聚集情形

圖二 臺灣地區 1995 年百日咳確定病例年齡分佈圖



26 例確定病例中，20 例有家庭聚集現象(來自 8 戶不同家庭)。另在 1995 年 5 至 7 月間，臺北市某醫院內發生一件疑似流行事件，先後有 5 例病例被確認，(其中包含 2 例未滿週歲之嬰兒，1 例家長及 2 例醫護人員)。

#### 4. 預防接種情形

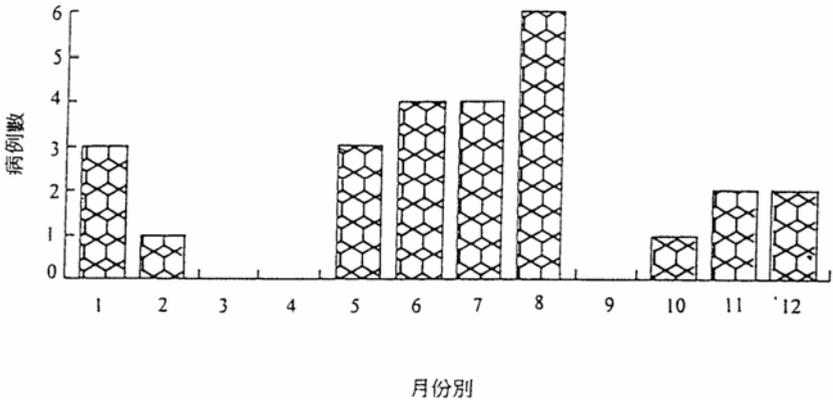
16 名確定病例接受了訪查，其中 3 例成人無法確認預防接種記錄，7 例嬰兒(6 例未滿 2 個月，1 例為 3 個月大)均未接受預防注射，3 例患者完成 4 劑 DPT(白喉百日咳及破傷風三合一)疫苗注射，1 例僅完成 2 劑，2 例(分別為 4 個月大及 6 歲)僅完成一劑 DPT 注射。

#### 5. 症狀

症狀方面，16 例接受調查的病例中，10 例(62.5%)有陣發性咳嗽，3 例

(18.5%)有哮聲(whoop), 3 例(18.8%)有發紺, 7 例(43.8%)曾有嘔吐的現象, 其中以未滿一歲的嬰兒較常見到前述症狀。

圖三 臺灣地區 1995 年百日咳確定病例月份分佈圖



#### 四、討論

##### 1. 分離菌株之特性

本研究所分離之百日咳菌其生化試驗結果為氧化酵素試驗(+), 過氧化酵素試驗(+), 尿素酵素試驗(-), 運動性試驗(-), 檸檬酸利用性(-), 硝酸鹽還原性(-) a 在生長試驗上, 血液平面、MacConkey 平面、Mueller -Hinton 平面都不生長。再利用 PCR 方法去增幅百日咳菌的特異性 Porin 基因片段, 結果所有百日咳菌株都確實出現特有的 159 bp 產物, 結果顯示分離菌株確為百日咳菌。

百日咳菌在實驗培養基上會逐漸由強致病力的 Phase I 菌轉變成無致病力的 Phase IV 菌。在經特異性 Phase I 血清玻片凝集測試後顯示所有百日咳菌株皆為 Phase I。又前人研究指出，Phase I 百日咳菌株在固相培養基上長成的菌落會有吸附剛果紅等染料現象，所有菌株在進行剛果紅吸附試驗後也呈現相似結果，故知本研究所分離之全部菌株確為 phase I。

## 2. 採取檢體及檢驗技術之探討

美國疾病管制中心認為百日咳的確認案例需包括咳嗽至少持續 2 週以上，有陣發性咳嗽、哮聲或咳後嘔吐等臨床症狀而無其他明顯病因，且須經實驗室自臨床檢體分離出百日咳菌者。1988 年 Steketee 等人表示，百日咳菌的陽性分離率與發病時間有關，在第三週為 25 % 陽性率，第四週為 14 %，第五週為 0%<sup>(7)</sup>。不過 Farizo 等表示，百日咳患者在抗生素治療時可能呈細菌培養陰性，但若未經完整持續治療，則有可能再變成細菌培養陽性。然而由於百日咳菌是挑惕不易培養生長且採檢困難的細菌，因此有多件臨床醫師診斷為百日咳之病例但卻分離不到菌體，顯示仍有必要研究與改進檢驗方法，以提高檢驗之陽性率。

行政院衛生署預防醫學研究所為提高百日咳菌之檢出率，在培養基之選擇、培養條件之探討以及如聚合酵素鏈反應法檢測百日咳菌等，均曾進行深入之研究。好的檢驗技術也要適當採檢時機、適當採集檢體方法以及使用適當運送培養基等條件配合，在衛生署防疫處支援下，預防醫學研究所每年均配製 Regon-Low。運送培養基，連同印有採檢方法之信封(如圖四)，寄給各大醫院及曾送驗之診所。去年由上述醫院及診所送來之檢體約佔全年所送檢體一半(鼻咽拭子檢體 86 件)。以上努力已使百日咳菌之檢出率較往年增加不少。由於百日咳菌的陽性分離率與發病時間有關，在發病後三週以上即不易檢出，為提高檢出率，醫師採檢時間之配合極為重要。

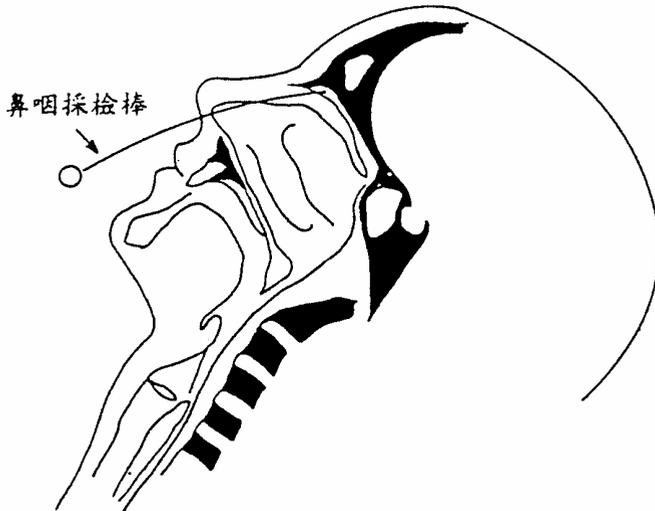
## 3. 國內外百日咳病例之比較

Fariz 。等人統計分析美國 1980-1989 年間的 27,826 個百日咳案例，在患者年齡分佈上，有 49.9 % 案例是發生在 1 歲以下嬰兒，有 21.2 % 案例是發生在 1 - 4 歲小孩。國內 1 歲以下嬰兒之案例佔 30.8 %，1-4 歲小孩則佔 7.7 %，似乎比美國低，可能與家長及醫護人員受感染的流行事件有關。成人受感染，使幼兒所佔比例相對降低。

#### 圖四 行政院衛生署預防醫學研究所寄放於醫院印有採檢方法之信封

預防醫學研究所提供百日咳檢驗

1. 百日咳會造成嬰幼兒呼吸道疾病，且因高傳染性而列為報告傳染病，診治醫師須填傳染病報告單向衛生單位報告。
2. 衛生署預防醫學研究所提供百日咳案件免費檢驗服務，請多加利用。送驗前請先電話(02)785-7556 細菌組，洽領百日咳採檢專用鼻咽拭子。
3. 完整的百日咳檢驗過程包括鼻咽深部拭子及血清(1 -2 mL)檢驗，鼻咽拭子是作分離鑑定百日咳菌，血清是作血清抗體分析，請同時採取送驗。
4. 請依圖示正確採取鼻咽深部檢體，採檢後拭子請插入輸送培養基內，12 小時內能送達預防醫學研究所者請常溫輸送即可，否則請冰冷輸送，血清檢體請冷凍輸送，以防力價改變，增加誤差。



美國病例在季節分佈則發現有 57 % 是發生在 6 -10 月間；1990 年 Gan 及 Murphy 則表示在 1967 -1986 年間，美國德州達拉斯的 182 例嬰兒百日咳患者中，48.4 % 是發生在 5 — 8 月間。此與國內同時期佔 65.4 % 不謀而合。

在百日咳患者的性別上，Farzo 等也發現 5 歲以上患者中，女性的發生率

高於男性，5 歲以下小孩則無明顯性別差異<sup>(4)</sup>。國內 26 例陽性案例中，男性佔 10 例(38.5%)，此亦與美國之情形接近。

### 參考文獻

1. Baron S , Jenings PM. Medical Microbiology , 13th Ed., Churchill Livingstone Inc., New York , 1991 : 432 - 440.
2. Mandell GL , Douglas RG , Bennett JE. Principle and Practice of Infectious Disease , 3rd Ed., Churchill Livingstone Co., New York , 1990 : 1756 -1760.
3. Murray PR , Drew WL , Kobayashi GS , et al. Medical Microbiology , CV Mosby Co., London , 1990 : 149-152.
4. Fraizo KM , Cochi ST , Zell ER. Epidemiological features of pertussis in the United States , 1980-1989. Clin Infect Dis 1992 ; 14 : 708 -719.
5. Marcon MJ. Bordetella. In : Murray PR , Baron EJ , Pfaller MA , et al eds. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Am Soc Microbil , Washington , D.C., 1995 : 566 -573.
6. Houard SC , Hackel C , Herzog A , et al. Specific identification of Bordetella pertussis by the polymerase chain reaction. Res Microbiol 1989 ; 140 : 477-87.
7. Steketee RW , Burstyn DG , Wassilak SGF , A comparison of laboratory and clulcal methods for diagnosis pertussis in an outbreak in a facillty for the developmentally disabled. J Infect Dis 1988 ; 157 : 441—449.
8. Pan TM , Lee YS , Chou SI , et al. Characterization of Bordetella pertussis isolated in Taiwan. NSC Report(NSC 83-0412-B-043B-001).

**撰稿者：**潘子明<sup>1</sup>、邱秀櫻<sup>1</sup>、李永盛<sup>1</sup>、賴明和<sup>2</sup>、趙秀琳<sup>2</sup>、王志銘<sup>3</sup>、許須美<sup>3</sup>

1 .行政院衛生署預防醫學研究所細菌組

2 .行政院衛生署檢疫總所疫情組

3 .行政院衛生署防疫處