

## 百日咳实验室检测技术指南

为指导各级医疗机构和其他检测机构规范开展百日咳实验室检测工作，准确识别百日咳确诊病例，确保检测质量，提高检测效率，制定本指南。

### 一、样本采集

(一) 采样人员要求。从事标本采集的技术人员应经过生物安全培训，熟练掌握标本采集方法和操作流程。

(二) 样本采集。样本种类主要有鼻咽拭子、鼻咽吸取液、血清等。卡他期或痉咳期早期患者建议采集鼻咽拭子，持续咳嗽 2—3 周或以上的患者建议开展血清学检测。

### 二、实验室检测

#### (一) 百日咳鲍特菌培养。

1. 菌株分离培养。细菌培养优先采集鼻咽拭子，其次为鼻咽吸取液。采集鼻咽拭子后，可直接接种培养基，也可经增菌培养后接种，增菌可提高培养阳性率。培养基一般为含选择性添加剂的鲍-金培养基（B—G 培养基）或木炭琼脂培养基（R—L 培养基）平板。如不能立即接种，需将鼻咽拭子放入转运管中，4℃ 冷藏运送至实验室，分区划线接种后 35℃—37℃ 培养，每日检查有无疑似菌落，连续观察 3—7 天，若无任何细菌生长痕迹，第 7 天可报告百日咳鲍特菌阴性。若有疑似菌落生长，及时挑取疑似菌落，在不含选择性添加剂的 B—G 培养基或 R—L 培养基平板

上进行纯菌分离培养。

2.结果判定。培养到百日咳鲍特菌，结合临床表现可诊断为百日咳确诊病例。可通过观察菌落形态、革兰染色镜检、生化反应等进行菌落种属鉴定，也可采取特定靶基因核酸检测、基因组测序或质谱检测等方式进行种属鉴定。

### （二）百日咳鲍特菌核酸检测。

1.提取 DNA。核酸检测优先采集鼻咽拭子，其次为鼻咽吸取液，也可使用培养接种后的拭子进行核酸检测。为提高核酸检测阳性率，建议单独采样。将拭子在无菌生理盐水或磷酸盐缓冲液中洗脱，离心去除上清液，沉渣提取 DNA，用于核酸检测；如不能立即提取，可-70℃保存备用。

2.结果判定。国内常用实时荧光 PCR 技术检测百日咳鲍特菌。核酸检测结果阳性，结合临床表现可诊断为百日咳确诊病例。阴性结果应进一步排除假阴性，假阴性的可能原因包括：样本质量差；样本采集时间过早或过晚；样本保存、运输和处理不当；其他原因如 PCR 抑制等。

### （三）血清学检测。

1.适用范围。百日咳鲍特菌血清学检测不适用于婴幼儿、1年内接种含百日咳成分疫苗和既往感染的个体。

2.检测方法和质控。常用的血清学检测方法是酶联免疫吸附试验（ELISA），以双份血清或单份血清的 PT-IgG 抗体为检测指标。检测试剂盒结果 PT-IgG 抗体浓度数据可溯源至国际标准单位。每次检测需同时检测试剂盒提供的阴性和阳性质控品。

3.结果判定。对于百日咳疑似病例或临床诊断病例，具有以下任一项者，可明确诊断：单份血清百日咳鲍特菌 PT-IgG 抗体浓度超过诊断急性感染的标准阈值（试剂盒推荐阈值）；恢复期血清 PT-IgG 抗体滴（浓）度较急性期呈 4 倍及以上升高。

#### （四）全基因组测序。

全基因组测序参照国家致病菌识别网《细菌纯培养物二代基因组测序操作规范》《细菌纯培养物二代加三代基因组测序操作规范》执行。