DOI:10.12138/j.issn.1671－9638.20264532

·论著·

2023—2025 年温州地区百日咳流行病学及百日咳鲍特菌基因特征研究

李海燕,洪程基,朱欣琰,吴思思,黄意茹,楼辉煌,李　毅
[温州市疾病预防控制中心(温州市卫生监督所),浙江 温州　325000]

[**摘　要**] **目的**　分析 2023—2025 年温州地区百日咳流行病学特征、全基因组测序的分子分型、耐药位点、系统发育分析及耐药相关突变,为当地百日咳防控提供依据。**方法**　收集 2023—2025 年温州市呼吸道疾病监测哨点医院的百日咳疑似病例标本,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测,对阳性标本进行分离培养与全基因组测序,开展多位点序列分型(MLST)、抗原基因分型及 23S rRNA 基因突变分析,并基于单核苷酸多态性(SNP)构建系统发育树。**结果**　共纳入 5 221 例疑似病例,qPCR 阳性率为 17.14%,成功分离 114 株百日咳鲍特菌,qPCR 阳性标本中培养阳性率为 12.74%。2023—2025 年温州地区呼吸道疾病监测哨点医院百日咳疑似病例的 PCR 阳性率逐年下降;发病人群以 4～12 岁学龄儿童为主,呈现明显后移特征。114 株分离菌株 MLST 均为 ST2 型,优势毒力基因型以 *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2 为主(95.61%),所有菌株均携带 23S rRNA A2047G 突变。系统发育分析显示,温州菌株与欧美流行株亲缘关系较近,与国内疫苗株及其他地区菌株遗传距离较远,形成独立分支。**结论**　2023—2025 年温州地区百日咳疫情呈现高峰后回落、发病年龄后移的特征。流行菌株以 ST2 型为主,毒力相关抗原基因型与疫苗株不同,且呈现与国际流行株趋同并具有一定区域聚集性的特征。未来需持续加强分子流行病学监测,为防控策略调整与新型疫苗研发提供更多数据支撑。

[**关　键　词**]　百日咳鲍特菌;全基因组测序;疫苗株;多位点序列分型;抗原基因型;百日咳
[**中图分类号**]　R181.3^{+}2

Epidemiology of pertussis and genetic characteristics of *Bordetella pertussis* in Wenzhou, 2023－2025

Li Haiyan, Hong Chengji, Zhu Xinyan, Wu Sisi, Huang Yiru, Lou Huihuang, Li Yi
(*Wenzhou Center for Disease Control and Prevention* [*Wenzhou Health Supervision Institute*], *Wenzhou* 325000, *China*)

[**Abstract**] **Objective**　To analyze the epidemiological characteristics of pertussis and the molecular typing, antimicrobial resistance-associated loci, phylogenetic relationships, and resistance-associated mutations of *Bordetella pertussis* based on whole-genome sequencing in Wenzhou from 2023 to 2025, and to provide evidence for local pertussis prevention and control. **Methods**　Specimens were collected from suspected pertussis cases at respiratory disease surveillance sentinel hospitals in Wenzhou from 2023 to 2025 and tested by real-time quantitative PCR (qPCR). qPCR-positive specimens were subjected to bacterial isolation and culture, and the isolates underwent whole-genome sequencing. Multilocus sequence typing (MLST), antigen gene typing, and 23S rRNA gene mutation analysis were performed, and a phylogenetic tree was constructed based on single-nucleotide polymorphisms (SNPs). **Results**　A total of 5,221 suspected cases were enrolled, with a qPCR positive rate of 17.14%. A total of 114 *Bordetella pertussis* isolates were successfully recovered, and the culture positive rate among qPCR-positive specimens was 12.74%. The PCR positivity rate among suspected pertussis cases at respiratory disease surveillance sentinel hospitals in Wenzhou decreased annually in 2023－2025. Cases occurred mainly among school-aged children

[收稿日期]　2026－05－08
[基金项目]　温州市科技计划项目(Y20240752)
[作者简介]　李海燕(1995－),女(汉族),浙江省温州市人,主管技师,主要从事感染性疾病的病原生物学研究。
[通信作者]　李毅　　E-mail:zjwzliyi@126.com

(4－12 years), showing a significant shift towards older age groups. All 114 isolates were identified as ST-2 by MLST. The predominant virulence-associated antigen genotype was *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2, accounting for 95.61% of the isolates. All isolates carried the 23S rRNA A2047G mutation. Phylogenetic analysis revealed that the Wenzhou isolates were more closely related to the epidemic strains circulating in Europe and North America but were genetically more distant from domestic vaccine strains and isolates from other regions of China, forming an independent branch. **Conclusion** The pertussis epidemic in Wenzhou from 2023 to 2025 was characterized by a post-peak decline and a shift toward older age groups. The circulating isolates were ST-2, with virulence-associated antigen genotypes differing from those of vaccine strains, and exhibited convergence with internationally circulating strains as well as a certain degree of regional clustering. Continued molecular epidemiological surveillance is needed to provide further data support for adjusting prevention and control strategies and developing novel vaccines.

[**Key words**] *Bordetella pertussis*; whole-genome sequencing; vaccine strain; multilocus sequence typing; antigen genotype; pertussis

百日咳是由百日咳鲍特菌(*Bordetella pertussis*, Bp)感染引起的一种以阵发性痉挛性咳嗽为典型特征并伴随多种并发症的急性上呼吸道疾病,严重危害儿童健康。近 20 年来,即使在疫苗接种率较高的美国、英国和澳大利亚等发达国家,百日咳的发病率仍呈现上升趋势[1],我国也面临着“百日咳再现”的严峻挑战[2]。中国疾病预防控制中心报告[3-4]显示,我国百日咳报告病例数自 2023 年 10 月起激增,至 2024 年 6 月全国报告的百日咳病例数已达 2023 年同期的 55 倍,发病率居高不下,疫情防控形势非常严峻。百日咳再现成因复杂,疫苗驱动的菌株进化和抗原变异可能是重要原因之一。长期的疫苗选择压力可导致细菌抗原变异,例如,Prn 蛋白缺陷株在免疫压力下呈现更强的定植能力和竞争优势,并成为美国、澳大利亚的主要优势菌株[5-7]。同时,百日咳毒素(pertussis toxin, PT)的启动子突变可增加 PT 的表达量,使 *ptx*P3 等位型菌株成为全球优势菌株,我国携带 *ptx*P3 等位型的 Bp 菌株占比也从 13.5%升至 93.0%[8]。此外,23S rRNA 基因 A2047G 突变导致 Bp 对大环内酯类抗生素耐药,从而增加临床治疗难度[9]。目前,温州地区 Bp 菌株的分子流行病学特征尚不明确。因此,本研究通过分析 2023—2025 年温州地区百日咳的流行病学特征,并对临床分离株开展全基因组测序,系统解析其核心基因组特征、抗原相关基因型及耐药相关突变的分布特征,以期精准追溯百日咳暴发的传播来源与传播途径,为温州地区百日咳的预防控制、临床诊疗和疫情预警提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　标本来源和菌株分离　2023—2025 年采集温州市呼吸道疾病监测哨点医院的百日咳疑似病例标本并收集患者相关临床信息。百日咳疑似病例根据临床诊断及现行《百日咳诊断标准》(WS 274—2007)[10]中所提供的诊断依据,即当地有百日咳流行、存在与百日咳患者密切接触史、无预防接种史或患者具有典型病例或不典型病例相应的临床表现进行判断,鼻咽拭子及支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)的采集参考该标准中的方法执行。对聚合酶链反应(PCR)阳性标本开展 Bp 菌株的分离、鉴定及纯化培养,共获得 114 株菌株。本研究经温州市疾病预防控制中心(温州市卫生监督所)伦理委员会批准(伦理批件号:LISC-2026-06),采用回顾性检测剩余临床标本的方式,故豁免受试者知情同意。

1.2　主要仪器和试剂　核酸提取仪(西安,天隆),荧光定量 PCR 仪(美国,Thermo Fisher Scientific),基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(德国,Bruker)。Bp 核酸检测试剂盒(中国,深圳亿立方),木炭培养基(英国,OXOID),鲍特菌选择添加剂(英国,OXOID),无菌脱纤维羊血(中国,青岛海博)。

1.3　核酸检测及菌株分离、培养、鉴定　采集的标本提取核酸后进行荧光定量 PCR 检测。将核酸阳性标本分区接种于选择性木炭培养基,置于 37 ℃、5% CO_2 条件下培养 3～10 d,使用无菌接种环挑取细小、圆形、凸起、银灰色单菌落进行微生物质谱鉴定分析,将鉴定结果为 Bp 的菌株采用磁珠保存法,于－80 ℃保存备用。

1.4 全基因组测序及数据分析

1.4.1 文库构建及全基因组测序 刮取新鲜菌落并悬浮于 1 mL 纯水中，100 ℃煮沸灭活，外送至苏州微次元生物科技公司进行测序。具体步骤如下：电泳检测 DNA 纯度和完整性后，通过酶切将细菌基因组 DNA 碎片化为 200～300 bp 碱基短片段，使用文库制备试剂盒制备文库，使用 Qubit 4.0 荧光计和 Nano Drop 2000 超微量分光光度计进行定量和插入片段大小检测，使用 qPCR 进行文库浓度定量后在 Illumina HiSeq X 平台开展全基因组测序，测序策略为双端 150 bp，目标测序深度 100×。应用 FastQC v0.12.1、Fastp v0.24.0、QUAST v5.3.0 及 CheckM v1.2.2 对原始测序读段进行质量过滤并应用 SPAdes v4.0.0 完成基因组从头组装（*de novo*）。

1.4.2 多位点序列分型（multilocus sequence typing，MLST）、Bp 抗原序列分型（*Bordetella pertussis* antigen sequence typing，BPagST）、Ⅲ型分泌系统分型（type Ⅲ secretion system typing，T3SS type）情况分析 将拼接获得的序列上传至博德特菌株分型数据库（https://bigsdb.pasteur.fr/bordetella/），依次开展 MLST、BPagST、T3SStype 分析。

1.4.3 抗原基因型的确定和 23S rRNA 基因突变分析 从全基因组测序结果中筛选出 Bp 分离株的 *ptx*A、*ptx*C、*ptx*P、*prn*、*fim*2、*fim*3、*tcf*A、23S rRNA 基因序列。应用 BioEdit 5.0.9 软件并采用 Clustal W 法将基因序列与 GenBank 中各毒力抗原基因相关的等位基因标准序列进行比对分析，确定其等位基因型。参考 GenBank 中 Tohama I（登录号：ASM19571v1）、CS 疫苗株（登录号：ASM21297v1）的 23S rRNA 基因序列，通过对比判断 Bp 分离株是否发生 23S rRNA 基因 A2047G 位点突变。

1.4.4 单核苷酸多态性（single-nucleotide polymorphisms，SNP）进化树构建 将本研究中的 114 株菌株和公共数据库中的 84 株菌株（共计 198 株）纳入分析。应用 Snippy 4.6.0 将 Bp 菌株基因组比对至标准菌株 Tohama I，获得全基因组 SNP 数据。应用 IQ-TREE 3.0.1 基于 SNP 结果构建系统进化树。最后应用 iTOL（https://itol.embl.de/）对系统发育树进行可视化处理。

1.4.5 百日咳鲍特菌参考株 在 NCBI、博德特菌株分型数据库搜索并下载百日咳鲍特菌菌株全基因组数据，纳入标准：元数据完整，CheckM 评估基因组完整度≥95%，污染率≤5%。菌株覆盖亚洲、欧洲、北美洲、南美洲 4 个大洲、23 个国家，分离时间范围为 1994—2019 年（跨度 26 年）；百日咳国际疫苗标准菌株 Tohama I（GCF_000195715.1），用于后续系统发育分析与分子特征比对。

1.5 统计学方法 应用 Excel 2007 整理数据，计数资料以频数（百分比）[*n*（%）]表示。应用 SPSS 27.0 统计学软件，采用 χ^2 检验比较组间差异，多组率数据经 χ^2 检验有统计学意义时，采用 *Bonferroni* 校正法进行组间两两比较，$P \leqslant 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 百日咳流行病学特征及菌株分离情况

2023—2025 年温州地区共收集百日咳疑似标本 5 221 份，其中住院严重急性呼吸道感染（severe acute respiratory infection，SARI）病例 BALF 524 份，门急诊流感样病例（influenza-like illness，ILI）鼻咽拭子 4 697 份，总体核酸阳性率为 17.14%（895 份）。百日咳流行病学特征分析结果显示，不同性别患者的核酸阳性率差异无统计学意义（$\chi^2 = 0.588$，$P = 0.443$）；但在不同标本类型、检测年份及年龄段间，核酸阳性率差异均有统计学意义（χ^2 值分别为 112.589、563.225、214.325，均 $P < 0.001$）。PCR 检测结果显示，2023—2025 年各年份核酸阳性率分别为 38.51%、21.28%、0.44%，差异有统计学意义（$\chi^2 = 563.225$，$P < 0.001$）。*Bonferroni* 校正两两比较显示，2023 与 2024 年、2024 与 2025 年核酸阳性率差异均有统计学意义（均 $P < 0.001$），且逐年下降。不同年龄段感染分析显示，7～12 岁儿童核酸阳性率最高，为 23.95%（386/1 612），其次为 4～6 岁组（22.59%），12 岁及以下儿童核酸阳性病例占全部核酸阳性病例的 92.63%（829/895）。将核酸阳性标本接种于选择性木炭培养基，分离培养得到 Bp 114 株，培养阳性标本均为鼻咽拭子，以 2024 年培养阳性率最高，为 16.51%（104/630），男女培养阳性率相差较小，分别为 13.49%（63/467）、11.92%（51/428）；将年龄再次细分后显示，13～17 岁青少年培养阳性率最高，为 14.29%（4/28），≥18 岁组培养阳性率明显下降，为 7.89%（3/38），见表 1。

表 1 2023—2025 年温州地区百日咳流行病学特征及菌株分离情况

Table 1 Epidemiological characteristics of pertussis and isolation of *Bordetella pertussis* strains in Wenzhou, 2023－2025

项目	监测例数（n=5 221，例）	核酸阳性［n=895，例(%)］	培养阳性*［n=114，例(%)］
年份			
2023 年	670	258(38.51)	10(3.88)
2024 年	2 961	630(21.28)	104(16.51)
2025 年	1 590	7(0.44)	0(0)
性别			
男	2 785	467(16.77)	63(13.49)
女	2 436	428(17.57)	51(11.92)
标本类型			
鼻咽拭子	4 697	892(18.99)	114(12.78)
BALF	524	3(0.57)	0(0)
年龄段(岁)			
≤3	1 443	98(6.79)	12(12.24)
4～6	1 527	345(22.59)	46(13.33)
7～12	1 612	386(23.95)	49(12.69)
13～17	287	28(9.76)	4(14.29)
≥18	352	38(10.80)	3(7.89)

注：* 表示核酸检测阳性者中培养阳性。

2.2 Bp 菌株 MLST、BPagST、T3SStype 分型情况分析 基因序列比对结果显示，114 株分离菌株 MLST 均为 ST2 型；T3SStype 均为 ST3 型；BPagST 分为 110 株 ST4 型，3 株 ST37 型，1 株 ST8 型。

2.3 23S rRNA 基因突变分析 将本研究 114 株 Bp 临床分离株的序列与标准菌株 Tohama I、国内疫苗株 CS 的 23S rRNA 基因序列进行比对，结果显示，Tohama I 和 CS 疫苗株的 2047 位点均为碱基 A，而本研究中 114 株菌株均发生了 A2047G 突变。

2.4 毒力相关抗原基因型分布 7 个与百日咳疫苗和毒力相关基因的等位基因（*ptx*A、*ptx*C、*ptx*P、*prn*、*fim*2-1、*fim*3-1、*tcf*A2）检出情况和频率见表 2。本研究 114 株菌株的 *ptx*A、*fim*2、*fim*3、*tcf*A 基因型一致，为 *ptx*A1、*fim*2-1、*fim*3-1、*tcf*A2，毒力基因型差异主要见于 *prn*、*ptx*C、*ptx*P。*prn* 基因共有 19 种等位基因型，本研究仅检测到 *prn*1、*prn*2、*prn*9 这 3 种型别，其中 *prn*2 为主要等位型，占 95.61%；*ptx*C 基因中 *ptx*C2 占 96.49%；*ptx*P 基因中 *ptx*P3 占 96.49%。

2.5 毒力相关抗原基因型组合情况 114 株菌株可分为 3 种基因型组合，其中主要毒力抗原基因型组合为 *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2，占 95.61%，其次为 *ptx*A1/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2，占 3.51%。本研究所有分离株的毒力相关抗原基因型组合与中国疫苗株 CS（*ptx*A2/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2）均不匹配，见表 3。从年份分布看，*ptx*A、*fim*2、*fim*3、*tcf*A 在 2023—2024 年分离株中均检测到一种等位基因型；比较 2023 年与 2024 年分离株的 *ptx*C、*ptx*P、*prn* 分布，结果显示，*ptx*C2、*ptx*P3、*prn*2 为优势等位基因型，分布差异均无统计学意义（均 $P>0.05$）；*ptx*C1、*ptx*P1、*prn*1、*prn*9 等位基因未在 2023 年的分离株中检出，仅见于 2024 年。

表 2 114 株 Bp 分离株的毒力相关抗原基因型分布

Table 2 Distribution of virulence-associated antigen genotypes among 114 *Bordetella pertussis* isolates

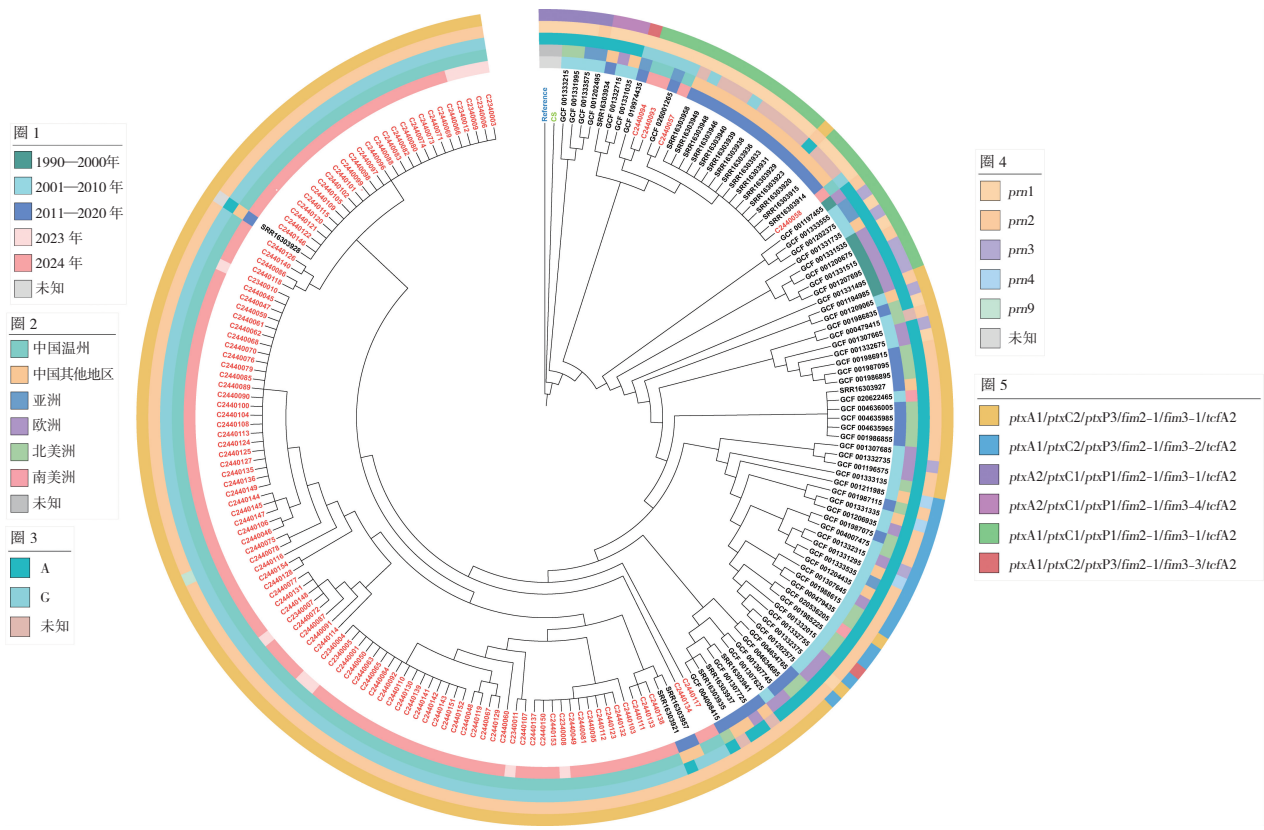
毒力基因	检出等位基因	株数(%)
prn	*prn*1	4(3.51)
	*prn*2	109(95.61)
	*prn*9	1(0.88)
*ptx*C	*ptx*C1	4(3.51)
	*ptx*C2	110(96.49)
*ptx*P	*ptx*P1	4(3.51)
	*ptx*P3	110(96.49)
*ptx*A	*ptx*A1	114(100)
*fim*2	*fim*2-1	114(100)
*fim*3	*fim*3-1	114(100)
*tcf*A	*tcf*A2	114(100)

表 3 114 株 Bp 分离株的毒力相关抗原基因型组合情况［株(%)］

Table 3 Distribution of virulence-associated antigen genotype combinations among 114 *Bordetella pertussis* isolates (No. of isolates［%］)

毒力抗原基因型组合	2023 年	2024 年	合计
*ptx*A1/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2	0(0)	4(3.51)	4(3.51)
*ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2	10(8.77)	99(86.84)	109(95.61)
*ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*9/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2	0(0)	1(0.88)	1(0.88)

2.6　基于 SNP 的菌株分子溯源分析　以标准菌株 Tohama Ⅰ作为外群，对本研究分离获得的 114 株 Bp 菌株及全球公共数据库收录的 84 株参考菌株进行全基因组 SNP 位点筛查与系统发育进化分析。结果表明，全球范围内，Bp 菌株优势抗原基因型组合由 *ptx*A2/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1 逐渐转变为 *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2，温州本地优势基因型与近年来部分国际参考菌株相似。温州地区 Bp 临床分离株亲缘关系紧密，在进化树上聚集为独立进化分支，其毒力基因型高度保守，以 *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2 为优势基因型；该类菌株与标准菌株 Tohama Ⅰ、疫苗株 CS 遗传距离较远，与欧洲、美洲等地分离株亲缘关系更近。此外，温州地区检出 4 株 *ptx*A1/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1 型菌株，其系统发育位置与既往分离株高度相近。见图 1。



注：温州地区 114 株 Bp 分离株、标准菌株 Tohama Ⅰ、疫苗株 CS 以及 84 株参考菌株分别以红色、蓝色、绿色和黑色为标识。

图 1　温州地区 114 株 Bp、标准菌株 Tohama Ⅰ及全球公共数据库收录的 84 株参考菌株基于 Bp 全基因组 SNP 的系统进化树

Figure 1　Phylogenetic tree based on whole-genome SNPs of 114 *Bordetella pertussis* isolates from Wenzhou, the Tohama Ⅰ reference strain, and 84 reference strains from global public databases

3　讨论

随着全球无细胞百日咳疫苗(acellular pertussis vaccine, aP)的广泛应用，“百日咳再现”日渐成为一个不容忽视的全球性公共卫生问题。近年来，我国北京、上海、浙江、广东等多地相继出现百日咳局部聚集流行，百日咳疫情防控形势严峻，防控工作面临诸多挑战[11-12]。

本研究结果显示，5 221 例百日咳疑似病例中，核酸检测阳性率为 17.14%，895 例核酸检测阳性病例中，细菌培养阳性率为 12.74%，均低于湖南、北京等地区既往报道[13-14]结果，推测与标本采集时间、冷链运输质量、患者就诊时的病程及采样前抗菌药物预处理等因素有关。国内监测数据[15-16]显示，百日咳具有 3～5 年的自然流行周期，2023—2024 年我国出现百日咳流行高峰，2024 年全国报告病例数达到近年峰值，2025 年疫情发展趋于平缓，病例数较 2024 年同期下降 80%。本研究中，温州地区 2023 年百日咳检出率达 38.51%，为 3 年中最高水

平；2024 年百日咳检出率降至 21.28%，但仍维持较高流行强度；2025 年降至 0.44%，疫情显著回落。其下降趋势一方面符合百日咳周期流行的规律，另一方面可能与当地强化疫苗接种、规范临床抗菌药物使用等综合防控措施密切相关。

既往研究[17]表明，6 月龄以下婴幼儿是 Bp 感染的高风险人群，但近年来学龄期儿童发病率呈明显上升趋势。上海的研究[18]表明，2020 年前百日咳主要在婴幼儿中确诊，2020 年后 5～10 岁学龄儿童报告发病率显著上升。中国北方研究[8]数据显示，3～14 岁儿童病例比例在 2019—2023 年显著升高，学龄期儿童为主要发病群体之一。本研究共纳入 4～12 岁儿童 3 139 例，其中 PCR 阳性 731 例，占全部 PCR 阳性病例的 81.68%，与前述上海和北京等地区的研究显示的发病年龄分布特征相似，提示温州地区百日咳同样呈现发病年龄后移的现象。可能原因包括：一方面，学龄儿童活动范围广，且临床症状较为轻微，易发生漏诊或误诊，使既往该年龄段发病率被低估；另一方面，aP 疫苗诱导的免疫保护强度随时间衰减，也可能促使温州地区百日咳发病年龄后移。

本研究 MLST 结果表明，温州地区 114 株 Bp 临床分离株均为 ST2 型，该优势型别与北京、河北、大连等国内多地流行菌株分型一致，也契合全球百日咳主要流行基因型别特征[11,19-20]，但国际疫苗株 Tohama I 和国内疫苗株 CS 均为 ST1 型，表明与疫苗株相比，温州 Bp 流行株的 ST 型已经发生改变。毒力抗原基因型分析结果显示，本研究中所有 Bp 分离株均携带 *ptx*A1 基因型，未检出国际疫苗株 Tohama I 和国内疫苗株 CS 所携带的 *ptx*A2 型，提示 *ptx*A1 已经完全取代 *ptx*A2 成为温州地区的主要基因型。这一进化趋势与国内河北、山东及欧洲地区的监测[20-22]结果一致，反映全球范围内 Bp 菌株的共同进化特征。Mooi 等[23]研究表明，*ptx*P 基因作为 PT 的调控基因，与百日咳菌株的致病性密切相关，且携带 *ptx*P3 的菌株毒力更强。近年我国 *ptx*P 基因分布呈现南北差异，南方 Bp 流行株以 *ptx*P3 型为优势克隆，而北方多以 *ptx*P1 为主[20]。本研究结果显示，温州地区 2023—2024 年 *ptx*P3 型占比高达 96.49%，与深圳的监测[27]结果相符，进一步提示高毒力的 *ptx*P3 型克隆已在我国沿海地区成为优势菌株。此次研究中，2024 年检出 4 株 *ptx*P1 型菌株，而 2023 年全部为 *ptx*P3 型，这一差异可能与 2023 年分离菌株样本量较小，导致 *ptx*P1 未检出有关，也不排除温州地区人口流动频繁，*ptx*P1 菌株由北方流行区域输入的可能。

百日咳黏附素（pertactin，Prn）是 aP 疫苗的核心抗原组分之一，*prn* 基因多态性和 *Prn* 缺陷株的传播提示，Bp 可能通过抗原变异或缺失逃逸疫苗诱导的免疫选择压力[20]。本研究中共检测出 3 种 *prn* 基因型，2023 年仅检出 *prn*2 型，2024 年新增 *prn*1、*prn*9 等位基因型，*prn*2 仍为温州地区优势基因型。目前温州地区未检测出 *prn* 缺陷株，但随着监测年份增加，*prn* 基因多态性持续上升，与山东的监测[21]结果相符，提示疫苗免疫压力驱动下 *prn* 基因持续发生抗原漂移，在后续监测中仍需时刻关注 *prn* 基因的多态性，警惕 *prn* 缺陷株的出现。此外，温州地区 *fim*2、*fim*3 及 *tcf*A 基因呈现高度保守性，所有菌株均携带上述等位基因。

温州地区 Bp 菌株的毒力基因型呈现高度保守性。研究结果显示，温州地区优势基因型为 *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2/*fim*2-1/*fim*3-1/*tcf*A2，占比高达 95.61%，与上海地区（*ptx*A1/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1 及 *ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*2）、北京地区（*ptx*A1/*ptx*C2/*ptx*P3/*prn*150）的主要基因型存在差异[18,24]。这一差异反映了在当前疫苗选择压力下，不同地区 Bp 菌株可能存在不同的演化特征，提示我国不同地区百日咳流行特征具有异质性，需要开展多方位、持续性监测，为优化国内百日咳防控策略提供依据。

红霉素、阿奇霉素等大环内酯类抗生素是临床治疗和预防百日咳的首选药物。目前已证实，23S rRNA 中 V 区 A2047G 位点突变是介导 Bp 对大环内酯类药物耐药的重要分子机制之一，也是我国 Bp 流行株耐药的主导机制。*ptx*P1 基因型菌株对大环内酯类药物耐药，而 *ptx*P3 基因型菌株多为敏感菌株，但北京[19]、广东[25]等地检测结果显示，国内主要流行株 *ptx*P3 基因型 Bp 菌株已出现对大环内酯类药物耐药。本研究结果显示，温州地区 Bp 菌株均携带 23S rRNA A2047G 突变，且 *ptx*P3 基因型是温州地区的优势菌株，该分子特征与国内多地区百日咳的流行演变趋势一致，表明温州地区 Bp 流行株在疫苗选择压力与临床抗菌药物压力的共同作用下，持续发生适应性变异，耐大环内酯类药物的 *ptx*P3 基因型菌株已经占据主要地位，耐药谱已发生显著转变。

温州地区“百日咳再现”与监测敏感性提升、耐药菌株的出现等密切相关，aP 疫苗的选择压力是菌

株进化的关键影响因素。当前，国际主要流行株的基因型为 *ptx*A1/*ptx*P3/*prn*2，与我国疫苗株 CS *ptx*A2/*ptx*P1/*prn*1 的抗原基因型存在显著差异[11]。本研究结果显示，温州地区 Bp 分离株与北美、欧洲等国际流行株亲缘关系较近，而与国内其他地区菌株在系统发育树上分属不同分支。可能原因包括：一方面，温州作为沿海地区商贸中心城市，人群跨境流动较其他城市更为频繁，存在跨境输入的可能；另一方面，百日咳菌株在本地人群中持续传播并适应进化，易形成区域优势克隆株。进化树结果进一步显示，2019 年之前中国地区的主要基因型为 *ptx*A1/*ptx*C1/*ptx*P1/*prn*1，与温州地区优势型别存在显著差异，表明近年来国内 Bp 向着高毒力、抗原性偏离 aP 疫苗组分进化，抗原漂移可显著削弱现有疫苗的保护效果，是目前全球“百日咳再现”的重要原因之一[7,26]。本研究结果证实，温州地区 Bp 呈现出与国际流行株趋同、与国内其他地区菌株分化的独特进化特征，疫苗免疫选择压力与区域人群流动可能共同推动了菌株的进化。

综上所述，本研究显示，温州地区的百日咳流行呈现发病年龄后移特征，疫苗相关毒力基因显著变异，流行株以 *ptx*P3 等位型为主，且普遍携带 23S rRNA A2047G 耐药相关突变，后续需持续开展病原学监测、精准掌握本地流行株进化规律。本研究通过分析温州地区 Bp 临床分离株的分子特征，可为百日咳防控策略的优化和新型疫苗的研发提供参考。

作者贡献声明：李海燕设计实施实验，分析数据并撰写论文；洪程基、朱欣琰、吴思思、黄意茹参与临床资料收集、核酸检测及菌株分离鉴定；楼辉煌负责测序分析；李毅统筹课题并完成论文定稿。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] de Cellès M D, Magpantay F M G, King A A, et al. The pertussis enigma: reconciling epidemiology, immunology and evolution[J]. Proc Biol Sci, 2016, 283(1822): 20152309.

[2] World Health Organization. Pertussis-number of reported cases [EB/OL]. [2026 - 02 - 28]. https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/pertussis-number-of-reported-cases.

[3] 黎丹，孔庆福，秦颖，等. 2024 年 5 月中国需关注的突发公共卫生事件风险评估[J]. 疾病监测，2024，39(5)：527 - 530.
Li Dan, Kong Qingfu, Qin Ying, et al. Risk assessment of public health emergencies concerned in China, May 2024[J]. Disease Surveillance, 2024, 39(5): 527 - 530.

[4] 陆步来，秦颖，刘凤凤，等. 2024 年 6 月中国需关注的突发公共卫生事件风险评估[J]. 疾病监测，2024，39(6)：673 - 676.
Lu Bulai, Qin Ying, Liu Fengfeng, et al. Risk assessment of public health emergencies concerned in China, June 2024[J]. Disease Surveillance, 2024, 39(6): 673 - 676.

[5] Liu Ying, Yu Daojun, Wang Kaixuan, et al. Global resurgence of pertussis: a perspective from China[J]. J Infect, 2024, 89(5): 106289.

[6] Belcher T, Dubois V, Rivera-Millot A, et al. Pathogenicity and virulence of *Bordetella pertussis* and its adaptation to its strictly human host[J]. Virulence, 2021, 12(1): 2608 - 2632.

[7] Ma Longhuan, Caulfield A, Dewan K K, et al. Pertactin-deficient *Bordetella pertussis*, vaccine-driven evolution, and reemergence of pertussis[J]. Emerg Infect Dis, 2021, 27(6): 1561 - 1566.

[8] Hu Yahong, Lin Zhou, Du Qian, et al. Sharp rise in high-virulence *Bordetella pertussis* with macrolides resistance in Northern China[J]. Emerg Microbes Infect, 2025, 14(1): 2475841.

[9] Ivaska L, Barkoff A M, Mertsola J, et al. Macrolide resistance in *Bordetella pertussis*: current situation and future challenges[J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(11): 1570.

[10] WS 274—2007 百日咳诊断标准[S].
WS 274 - 2007 Diagnostic criteria for pertussis[S].

[11] 侯君，郎兴莹，陈玉凤，等. 大连市 2023 年 7 株百日咳鲍特菌临床分离株全基因特征分析[J]. 华南预防医学，2026，52(1)：74 - 78.
Hou Jun, Lang Xingying, Chen Yufeng, et al. Whole-genome characteristics analysis of 7 clinical *Bordetella pertussis* isolates from Dalian in 2023[J]. South China Journal of Preventive Medicine, 2026, 52(1): 74 - 78.

[12] 张交生，邓继岿，杨永弘. 百日咳鲍特菌毒力抗原基因型及其耐药性流行现状[J]. 中华传染病杂志，2019，37(4)：254 - 256.
Zhang Jiaosheng, Deng Jikui, Yang Yonghong. Virulence antigen genotypes and drug resistance status of *Bordetella pertussis*[J]. Chinese Journal of Infectious Diseases, 2019, 37(4): 254 - 256.

[13] 刘利君，王凤双，李颖，等. 2021—2023 年北京市某区基于实验室检测的百日咳主动监测结果分析[J]. 首都公共卫生，2025，19(5)：326 - 329.
Liu Lijun, Wang Fengshuang, Li Ying, et al. Analysis of active surveillance results of pertussis based on laboratory detection in a district of Beijing, 2021 - 2023[J]. Capital Journal of Public Health, 2025, 19(5): 326 - 329.

[14] Lin Xiaojuan, Zou Jun, Yao Kaihu, et al. Analysis of antibiotic

sensitivity and resistance genes of *Bordetella pertussis* in Chinese children[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(2): e24090.

[15] Liu Jue, Lu G, Qiao Jie. Global resurgence of pertussis in infants[J]. BMJ, 2025, 391: r2169.

[16] Christie C D C. Resurgence of pertussis: whopping the '100-day cough[J]. Curr Opin Pediatr, 2025, 37(5): 508-516.

[17] Rodrigues C, Bouchez V, Soares A, et al. Resurgence of *Bordetella pertussis*, including one macrolide-resistant isolate, France, 2024[J]. Euro Surveill, 2024, 29(31): 2400459.

[18] Fu Pan, Zhou Jinlan, Yang Chao, et al. Molecular evolution and increasing macrolide resistance of *Bordetella pertussis*, Shanghai, China, 2016-2022[J]. Emerg Infect Dis, 2024, 30(1): 29-38.

[19] 庄吉, 李臻, 侯悦, 等. 北京市朝阳区百日咳鲍特菌分离株药物敏感性和抗原基因型研究[J]. 中华全科医学, 2026, 24(2): 214-216, 230.
Zhuang Ji, Li Zhen, Hou Yue, et al. Study on drug sensitivity and antigenic genotypes of *Bordetella pertussis* isolates in Chaoyang District, Beijing[J]. Chinese Journal of General Practice, 2026, 24(2): 214-216, 230.

[20] 贾肇一, 郑飞, 张洪斌, 等. 2019—2020 年河北省百日咳鲍特菌分离株基因多样性分析[J]. 中国疫苗和免疫, 2024, 30(4): 415-420.
Jia Zhaoyi, Zheng Fei, Zhang Hongbin, et al. Genetic diversity of *Bordetella pertussis* strains isolated during 2019-2020 in Hebei province[J]. Chinese Journal of Vaccines and Immunization, 2024, 30(4): 415-420.

[21] 黄寿瑞, 陈永昌, 魏小玲, 等. 山东省 2014—2022 年百日咳鲍特菌抗原基因型特征[J]. 中国热带医学, 2025, 25(11): 1461-1466.
Huang Shourui, Chen Yongchang, Wei Xiaoling, et al. Characteristics of antigen genotypes of *Bordetella pertussis* in Shandong Province, 2014-2022[J]. China Tropical Medicine, 2025, 25(11): 1461-1466.

[22] van Gent M, Heuvelman C J, van der Heide H G, et al. Analysis of *Bordetella pertussis* clinical isolates circulating in European countries during the period 1998-2012[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015, 34(4): 821-830.

[23] Mooi F R, van Loo I H M, van Gent M, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence[J]. Emerg Infect Dis, 2009, 15(8): 1206-1213.

[24] Zhou Guilan, Li Ying, Wang Hairui, et al. Emergence of erythromycin-resistant and pertactin- and filamentous hemagglutinin-deficient *Bordetella pertussis* strains-Beijing, China, 2022-2023[J]. China CDC Wkly, 2024, 6(20): 437-441.

[25] 李振翠, 马炜森, 王安娜, 等. 广东省两个地区 2021—2022 年百日咳鲍特菌分离株的抗菌药物敏感性和抗原基因型[J]. 中国疫苗和免疫, 2023, 29(5): 498-502.
Li Zhencui, Ma Weisen, Wang Anna, et al. Antimicrobial susceptibility and antigen genotypes of *Bordetella pertussis* strains isolated in two prefectures of Guangdong province in 2021-2022[J]. Chinese Journal of Vaccines and Immunization, 2023, 29(5): 498-502.

[26] Miguelena Chamorro B, De Luca K, Swaminathan G, et al. *Bordetella bronchiseptica* and *Bordetella pertussis*: similarities and differences in infection, immuno-modulation, and vaccine considerations[J]. Clin Microbiol Rev, 2023, 36(3): e0016422.

[27] 徐良彩, 李玲玲, 许玉成, 等. 2024 年广东省深圳市一起幼儿园百日咳暴发疫情的病原学特征分析[J]. 疾病监测, 2026, 41(2): 235-240.
Xu Liangcai, Li Lingling, Xu Yucheng, et al. Etiological characteristics of a pertussis outbreak in a kindergarten in Shenzhen, Guangdong, 2024[J]. Disease Surveillance, 2026, 41(2): 235-240.

（本文编辑：翟若南）

本文引用格式：李海燕，洪程基，朱欣琰，等. 2023—2025 年温州地区百日咳流行病学及百日咳鲍特菌基因特征研究[J]. 中国感染控制杂志，2026，25(10)：1452-1459. DOI：10.12138/j.issn.1671-9638.20264532.

Cite this article as: Li Haiyan, Hong Chengji, Zhu Xinyan, et al. Epidemiology of pertussis and genetic characteristics of *Bordetella pertussis* in Wenzhou, 2023-2025[J]. Chin J Infect Control, 2026, 25(10): 1452-1459. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20264532.