

• 专家共识 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2026.12.001

百日咳鲍特菌感染的检测和分型溯源专家共识(2025)*

廖春艳¹,顾万江^{1▲},段刚^{1△},胡黎黎²,刘美真³,袁梦⁴,贾肇一⁵,
王文斟¹,李志峰¹,马青⁶,罗争⁷,梁疆莉⁸,贾燕⁹,
黎明¹⁰,孔令汉¹¹,王有为¹²,龚志华¹³,乔昕¹⁴,蒲郑君¹⁵

1. 重庆市疾病预防控制中心(重庆市预防医学科学院)微生物检测所,高致病性病原微生物重庆市重点实验室,重庆 400707;2. 重庆市疾病预防控制中心(重庆市预防医学科学院)纪检室,重庆 400707;
3. 广东省疾病预防控制中心病原微生物检验所,广东广州 511430;4. 广东省深圳市南山区疾病预防控制中心(深圳市南山区卫生监督所)微生物检验科,广东深圳 518054;5. 河北省疾病预防控制中心细菌病防治与消毒所,河北石家庄 050021;6. 贵州省疾病预防控制中心实验中心细菌科,贵州贵阳 550004;7. 重庆市九龙坡区石桥铺街道社区卫生服务中心行政办公室,重庆 400039;
8. 中国医学科学院·北京协和医学院医学生物学研究所,云南昆明 650115;9. 重庆医科大学公共卫生学院卫生检验教研室,重庆 400016;10. 四川省成都市疾病预防控制中心微生物检验科,四川成都 610041;11. 重庆市万州区疾病预防控制中心微生物检验科,重庆 404100;12. 四川省医学科学院·四川省人民医院临床医学检验中心,四川成都 610031;13. 重庆市两江新区两路社区卫生服务中心,重庆 401120;14. 江苏省疾病预防控制中心营养与食品安全所,江苏南京 210009;15. 重庆市江津区疾病预防控制中心(重庆市江津区卫生监督所)微生物检验科,重庆 402260

摘要:百日咳是由百日咳鲍特菌引发的急性呼吸道传染病,人是该菌的唯一宿主,该病严重威胁人群健康,尤其是婴幼儿生命安全。近年来全球出现“百日咳再现”现象,我国自 2018 年起报告百日咳发病率呈逐年上升趋势,至 2024 年全国发病数激增,疫情防控形势严峻。现行检测标准滞后,分型溯源技术缺乏统一规范,影响疫情精准防控。该共识整合国内外研究进展,系统阐述了百日咳鲍特菌的标本采集、实验室检测、药物敏感性试验、分型溯源技术及生物安全要求,并提出了针对性的健康防控建议,以期为百日咳的精准诊断、流行病学监测和科学防控提供参考。

关键词:百日咳鲍特菌; 实验室检测; 分型溯源; 分子分型; 全基因组测序; 专家共识
中图分类号:R516.6;R446.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2026)12-1585-09

Expert consensus on detection and molecular typing for traceability of
Bordetella pertussis infection (2025)*

LIAO Chunyan¹,GU Wanjiang^{1▲},DUAN Gang^{1△},HU Lili²,LIU Meizhen³,YUAN Meng⁴,
JIA Zhaoyi⁵,WANG Wenzhen¹,LI Zhifeng¹,MA Qing⁶,LUO Zheng⁷,LIANG Jiangli⁸,JIA Yan⁹,
LI Ming¹⁰,KONG Linghan¹¹,WANG Youwei¹²,GONG Zhihua¹³,QIAO Xin¹⁴,PU Zhengjun¹⁵

1. Microbiological Testing Laboratory,Chongqing Center for Disease Control and Prevention (Chongqing Academy of Preventive Medicine),Chongqing Key Laboratory of Highly Pathogenic Microorganisms,Chongqing 400707,China;2. Discipline Inspection Office,Chongqing Center for Disease Control and Prevention (Chongqing Academy of Preventive Medicine),Chongqing 400707, China;3. Institute of Pathogenic Microbiology,Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention,Guangzhou,Guangdong 511430,China;4. Department of Microbiology Laboratory, Shenzhen Nanshan District Center for Disease Control and Prevention (Shenzhen Nanshan District Health Supervision Institute),Shenzhen,Guangdong 518054,China;5. Institute of Bacterial Disease Prevention and Control and Disinfection,Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention,

* 基金项目:重庆市科卫联合医学科研重点项目(2025ZDXM016)。
作者简介:廖春艳,女,副主任技师,主要从事微生物方向的研究。△ 通信作者,E-mail:954442155@qq.com。▲ 共同通信作者,E-mail:171760774@qq.com。
引用格式:廖春艳,顾万江,段刚,等.百日咳鲍特菌感染的检测和分型溯源专家共识(2025)[J].检验医学与临床,2026,23(12):1585-1592.

Shijiazhuang, Hebei 050021, China; 6. Department of Bacteriology, Experimental Center, Guizhou Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guiyang, Guizhou 550004, China; 7. Administrative Office, Shiqiaopu Street Community Health Service Center of Jiulongpo District, Chongqing 400039, China; 8. Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences • Peking Union Medical College, Kunming, Yunnan 650115, China; 9. Department of Hygienic Testing, School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 10. Department of Microbiology Laboratory, Chengdu Center for Disease Control and Prevention, Chengdu, Sichuan 610041, China; 11. Department of Microbiology Laboratory, Wanzhou District Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 404100, China; 12. Clinical Medical Laboratory Center, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610031, China; 13. Lianglu Community Health Service Center of Liangjiang New Area, Chongqing 401120, China; 14. Institute of Nutrition and Food Safety, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing, Jiangsu 210009, China; 15. Department of Microbiology Laboratory, Jiangjin District Center for Disease Control and Prevention (Jiangjin District Health Supervision Institute), Chongqing 402260, China

Abstract: Pertussis is an acute respiratory infectious disease caused by *Bordetella pertussis*, with humans serving as the sole host of this bacterium. The disease poses a serious threat to population health, particularly endangering the lives of infants and young children. In recent years, a global resurgence of pertussis has been observed. Since 2018, the reported incidence rate of pertussis in China has shown an upward trend year by year, and a sharp increase in the number of national cases occurred in 2024, indicating a severe epidemic prevention and control situation. The current testing standards lag behind practical needs, and there is a lack of unified specifications for typing and traceability techniques, which impairs precise epidemic prevention and control. This consensus integrates domestic and international research advances and systematically elaborates on specimen collection, laboratory testing, antimicrobial susceptibility testing, typing and traceability techniques, and biosafety requirements for *Bordetella pertussis*. Targeted health prevention and control recommendations are also proposed, aiming to provide a reference for the precise diagnosis, epidemiological surveillance, and scientific prevention and control of pertussis.

Key words: *Bordetella pertussis*; laboratory testing; typing and traceability; molecular typing; whole genome sequencing; expert consensus

百日咳是《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病,主要通过飞沫传播,传染性极强。我国自 1978 年将百白破联合疫苗纳入免疫规划后,该病发病率持续下降,但近年来受疫苗保护效力衰减、病原体变异等因素影响,全球“百日咳再现”问题凸显^[1-2]。我国 2018—2022 年百日咳流行病学数据显示,报告发病率呈逐年上升趋势,2024 年全国报告发病数超 49 万例,疫情防控形势严峻。实验室检测是百日咳诊断的核心环节,而现行《百日咳诊断标准》(WS 274-2007)^[3]所用检测方法已无法完全满足现代防控需求,现有指南对检测、鉴定的介绍不够全面,且未涉及分型溯源技术^[4-6]。

病原菌分型溯源是开展流行病学监测、追踪传染源、明确传播链的关键手段。为推动百日咳防控工作规范化、科学化,本共识编写组联合国内微生物检测、传染病防控、生物安全管理等多领域专家,参考世界卫生组织(WHO)、美国疾病预防控制中心等机构的技术方案^[7-8],结合我国实际情况,制定本共识。本共识由重庆市疾病预防控制中心(重庆市预防医学科学

院)、广东省疾病预防控制中心、深圳市南山区疾病预防控制中心、重庆医科大学公共卫生学院、四川省医学科学院·四川省人民医院等多家疾病预防控制机构、高校、医疗机构、科研院所的专家共同发起制定,成立了由 19 位相关领域专家组成的工作组。本共识于 2025 年 1 月启动,2025 年 12 月定稿,适用于各级疾病预防控制机构、医疗机构、高校及相关科研单位的技术人员,旨在为百日咳鲍特菌的检测、分型溯源提供标准化技术支撑。

1 百日咳鲍特菌的生物学特性与流行特征

1.1 生物学特性 百日咳鲍特菌属于鲍特菌属,革兰阴性短小杆菌,无芽孢、无鞭毛,专性需氧。该菌主要致病因子包括百日咳毒素、腺苷酸环化酶毒素、丝状血凝素、气管细胞毒素等。与人类感染相关的鲍特菌还包括副百日咳鲍特菌、霍氏鲍特菌及支气管败血鲍特菌^[8],其生物学特性与百日咳鲍特菌存在差异,检测过程中需注意区分。人是百日咳鲍特菌的唯一宿主,该菌黏附、定植于人呼吸道上皮细胞。百日咳鲍特菌致病力与其产生的百日咳毒素、丝状血凝素、

黏附素、菌毛等毒力因子有关。百日咳鲍特菌最适生长的温度为 35~37℃,对生长营养条件需求较高,体外较难培养。百日咳鲍特菌对外界理化因素抵抗力较弱,体外存活时间短。该细菌对热及紫外线敏感,加热至 56℃作用 30 min,日光照射 1 h,干燥 3~5 h 均可灭活;75%乙醇、含氯消毒剂、过氧化氢、过氧乙酸等常用消毒剂可有效灭菌。

1.2 流行特征 百日咳呈全球性分布,人群普遍易感,尤其是未完成全程免疫的 6 月龄以下婴儿,感染后病情较重且病死率较高。传播途径以飞沫传播为主,患者咳嗽、打喷嚏时产生的飞沫经呼吸道吸入可导致感染。我国百日咳流行具有明显季节性,多集中在冬春季,但近年来季节性特征逐渐弱化。传染源主要为百日咳患者,感染百日咳鲍特菌的父母或其他同住人员是婴幼儿感染最主要的传染源。症状出现后 3 周内的患者传染性最强,部分轻症患者和无症状感染者也可能成为传染源^[5]。随着分子生物学技术的发展,研究者发现百日咳鲍特菌存在抗原基因变异和耐药性变化,其中大环内酯类耐药菌株的出现给治疗带来挑战。

2 标本采集与处理

2.1 标本类型 对百日咳疑似病例,应及时采集标本进行实验室检测,以尽快明确感染情况。标本分为呼吸道标本和血清标本 2 类,呼吸道标本用于病原体分离培养和核酸检测,血清标本用于血清学检测。

2.1.1 呼吸道标本 优先采集鼻咽拭子,婴幼儿或不便采集鼻咽拭子的病例可采集鼻咽吸取液,采集量不少于 0.5 mL,置于防渗漏细菌采样管中。

2.1.2 血清标本 采用无菌操作采集静脉全血,分离血清后用于抗体检测。

2.2 采集要求

2.2.1 采样人员 需经生物安全培训和专业技术培训,熟练掌握采集流程。

2.2.2 采样拭子 推荐使用涤纶、尼龙、植绒或人造丝材质拭子。棉拭子会抑制细菌生长,藻酸钙拭子会影响核酸检测,不宜使用。

2.2.3 采集方法 采集鼻咽拭子时,采样人员一只手持扶被采集人员的头部,另一只手执拭子。拭子进、出鼻腔的过程应保持平稳,避免捻动以防刺激鼻道;仅在拭子触及鼻腔后壁停留 3 s 后,再轻轻捻动 3~5 次后缓缓取出。

2.3 采样时间

2.3.1 病原体分离培养 需在咳嗽症状出现 2 周内采集呼吸道标本,此时细菌分离阳性率最高。

2.3.2 核酸检测 咳嗽症状出现 4 周内采集呼吸道标本,3 周后检测阳性率开始逐渐降低。

2.3.3 血清学检测 咳嗽症状出现 2~12 周内采集血清标本,8 周后抗体浓度开始下降;回顾性研究需采

集急性期和恢复期双份血清。

2.4 标本保存与运输

2.4.1 培养用标本 采集后立即无菌接种于鲍姜氏培养基(B-G)或木炭琼脂培养基(R-L);或放入 R-L 转运管。2~8℃冷藏运送,24 h 内接种;无法及时接种的标本需置于 R-L 转运培养基中,-80℃超低温保存。

2.4.2 核酸检测标本 新鲜标本可直接检测,如需保存可置于-20℃或-80℃冰箱中,避免反复冻融。

2.4.3 血清标本 全血标本室温放置 2 h 或 4℃过夜后 1 000×g 离心 20 min 分离血清,可立即检测或放置于≤-20℃冰箱中保存待测,避免反复冻融。

共识 1: 应科学选择百日咳鲍特菌检测的标本类型,严格规范标本采集、保存与转运流程。呼吸道标本(鼻咽拭子、鼻咽吸取液等)用于病原体分离培养和核酸检测,血清标本用于血清学检测;采集时需使用特定材质的拭子,避免棉拭子和藻酸钙拭子;病原体分离培养标本需在咳嗽症状出现 2 周内采集,核酸检测标本不晚于 4 周,血清学检测标本宜在 2~12 周采集;培养用标本需及时接种或按规定温度冷藏/冷冻保存,核酸检测和血清标本需避免反复冻融。

3 实验室检测方法

3.1 初步鉴定 按照《百日咳诊断标准》(WS 274-2007)^[3]附录 B 的要求,进行生长实验、染色镜检、菌落形态观察、生化反应及血清凝集等初步鉴定。百日咳鲍特菌在 B-G 培养基或 R-L 培养基中培养 3~5 d 后,形成光滑、凸起、灰白色、边缘整齐的菌落,菌落周围可出现狭窄溶血环。

3.2 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)检测 通过分析细菌特征蛋白指纹图谱进行种属鉴定。将菌落样品与基质溶液混合点样,激光辐射后形成特性质谱图,与标准蛋白指纹图谱数据库比对实现快速鉴定。该方法鉴定准确率为 90%~95%^[9],部分研究显示准确率可达 100%^[10],具有快速、操作简单的优势,适用于常见细菌及难培养菌种包括百日咳鲍特菌的鉴定^[11]。

3.3 核酸检测

3.3.1 靶基因选择 常用靶基因包括 IS481、IS1001、ptxA-Pr、ptxA、IS1002 等(表 1),不同靶基因在鲍特菌属不同菌种中存在交叉,推荐采用多靶基因组合以提高检测特异度和灵敏度^[12]。

3.3.2 聚合酶链反应(PCR) PCR 技术成熟、灵敏度高、特异性强,早在 1993 年便已应用于百日咳的暴发检测^[13]。核酸提取:采用水煮法或商业化核酸提取试剂盒。引物序列:常用引物包括 IS481、ptxA、IS1001 等基因的特异性引物,引物序列及反应条件^[12]见表 2。

扩增条件:95℃预变性 5 min;94℃变性 30 s、

54~62 ℃退火 30 s、72 ℃延伸 30 s,30 个循环;72 ℃延伸 5 min。结果判定:扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,出现与目的片段大小一致的特异性条带为阳性。

3.3.3 实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR) qPCR 是 WHO 和美国疾病预防控制中心推荐的检测方法,

具有灵敏度高、特异性强、快速简便的特点。针对鲍特菌 IS481、ptxA、IS1001、hIS1001 等基因设计特异性引物和探针,可区分百日咳鲍特菌、副百日咳鲍特菌、霍氏鲍特菌、支气管败血鲍特菌。常用引物和探针序列^[12]见表 3。

表 1 鲍特菌 PCR 相关常用靶基因及意义

靶基因	意义	百日咳 鲍特菌	副百日咳 鲍特菌	霍氏 鲍特菌	支气管 败血鲍特菌
IS481	高拷贝数靶基因	+	—	+	+
IS1001	高拷贝数靶基因	—	+	+	+
ptxA-Pr	单拷贝靶基因,基于特异性引物探针可较好检测百日咳鲍特菌	+	+	—	+
ptxA	单拷贝靶基因	+	+	—	+
IS1002	低拷贝数靶基因	+	+	—	—

注:十代表具有该靶基因;一代表无该靶基因。

表 2 百日咳/副百日咳鲍特菌 PCR 常用引物序列

目标基因	引物名称	引物序列(5′-3′)	退火温度(℃)	产物大小(bp)
IS481	BP-F	ATCTGCTGCACATCGACATC	60	119
	BP-R	CGATGGCCACGAAGACGAAGTC		
IS481	BPNEST1	CGCGTGCCCTTCACCGACAT	54	205
	BPNEST2	GGGCGGTAAGGTCGGGTAAA		
ptxA	BPPTS1-F	GGCACCATCAAAACGCAGAGGGG	62	872
	BPPTS1-R	ATTACCGGAGTTGGGCGGGGCTG		
IS1001	IS1001F47	TTGACGGCAGGTATTTGACA	55	983
	IS1001R1030	CCAGAGCCGTTTGAGTTCGT		

注:F 表示正向引物;R 表示反向引物;IS481 基因选用 2 对常用引物。

表 3 百日咳鲍特菌 qPCR 常用引物和探针序列

目标基因	引物名称	序列(5′-3′)	功能及备注
IS481	BP-F	CAAGGCCGAACGCTTCAT	百日咳鲍特菌相对特异基因,可在霍氏鲍特菌及少量支气管败血鲍特菌中存在少量拷贝
	BP-R	GAGTTCTGGTAGGTGTGAGCGTAA	
	BP-pb	CAGTCGGCCTTGCGTGAGTGGG	
ptxA	ptxA-F	CGCCAGCTCGTACTTC	百日咳鲍特菌、副百日咳鲍特菌、支气管败血鲍特菌相对特异基因
	ptxA-R	GATACGGCCGGCATT	
	ptxA-pb	AATACGTCGACAC“T”TATGGCGA	
IS1001	pIS-F	TCGAACGCGTGGAATGG	副百日咳鲍特菌相对特异基因
	pIS-R	GGCCGTTGGCTTCAAATAGA	
	pIS-pb	AGACCCAGGGCGCACGCTGTC	
hIS1001	BHIS-F	GGCGACAGCGAGACAGAATC	霍氏鲍特菌相对特异基因
	BHIS-R	GCCGCCTTGGCTCACTT	
	BHIS-pb	CGTGCAGATAGGC “ T ” TTTAGCTT-GAGCGC	

注:F 表示正向引物;R 表示反向引物;探针序列 5′端荧光标记可视需要自行选择;“T”标记表示荧光淬灭基团标注位置;有“T”标记的探针 3′末端须磷酸化。

扩增条件:50 ℃ UNG 酶消化 2 min;95 ℃预变性 10 min;95 ℃变性 15 s、60 ℃退火延伸 1 min,45

个循环。结果判定:根据荧光信号阈值循环数(Ct 值)判定,Ct 值<cut-off 值为阳性,Ct 值>cut-off 值为阴

性, Ct 值在 cut-off 值附近(灰区)需重复检测。

3.4 药物敏感性试验 大环内酯类抗菌药物是治疗百日咳的经典首选药物。1995 年美国亚利桑那州 1 株耐红霉素菌株的发现拉开了大环内酯耐药百日咳(MRBP)的序幕^[14]。2013 年我国山东地区报道 2 例红霉素耐药鲍特菌^[15], 之后 MRBP 的报道在我国日益增多。上海、河北地区等 MRBP 占比甚至超过 90%^[16-17]。目前国际、国内都还没有百日咳鲍特菌药物敏感性试验的标准方法和统一的折点标准, 参考文献^[15, 18-19]方法, 本共识推荐使用浓度梯度琼脂扩散试验(E-test 法)检测大环内酯类抗菌药物的最低抑菌浓度(MIC), 红霉素等大环内酯类抗菌药物 MIC 值 $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ 即判定为耐药, 其他抗菌药物参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)对流感嗜血杆菌的折点标准判定^[17, 19]。

共识 2: 百日咳鲍特菌的药物敏感性试验应优先关注大环内酯类抗菌药物耐药性, 因缺少标准方法和统一的折点标准, 推荐使用 E-test 法检测 MIC, MIC 值 $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ 即判定为耐药; 其他抗菌药物参照 CLSI 对流感嗜血杆菌的折点标准。

3.5 血清学检测 血清学检测不适用于 1 年内接种过含百日咳成分疫苗的个体、婴幼儿或既往感染者。对于咳嗽 2~12 周的百日咳疑似病例, 可采集患者血清标本检测百日咳毒素 IgG 抗体浓度(滴度)^[4-6]。单份血清测定值大于试剂盒推荐用于诊断急性感染的阈值, 或是恢复期血清百日咳毒素 IgG 浓度较急性期增长 ≥ 4 倍, 可确诊为百日咳感染。注意每次检测应同时测定可溯源至 WHO 百日咳国际标准品 06/140 的校准品, 以便于结果的校正及批间质控。

共识 3: 细菌分离培养是百日咳鲍特菌检测的传统方法和“金标准”, MALDI-TOF MS 可实现快速种属鉴定, 核酸检测(PCR、qPCR)是高灵敏度、高特异度的核心检测技术。推荐采用多靶基因组合策略提高核酸检测准确性, qPCR 为 WHO 和美国疾病预防控制中心推荐方法; 血清学检测需结合疫苗接种史和感染时长综合判读, 单份血清百日咳毒素 IgG 抗体浓度达标或恢复期较急性期增长 ≥ 4 倍可确诊。

4 分型溯源方法

病原菌的分子分型是指根据细菌核苷酸序列或其他生物大分子的差别判断不同分离菌株是否同一起来源。在同一暴发中的不同分离菌株应该是相同或极少变异的。对不同分离菌株进行分型, 可识别暴发、追踪传染源、确定传播链和流行范围、发现特殊的菌株, 甚至关联国际、国内的相关菌株。病原菌的分子分型是开展细菌感染流行病学监测, 暴发溯源的重要方法, 可通过基因相似性精准追踪传染源和传播途径, 也可揭示细菌种群遗传多样性, 构建系统发育树。

4.1 脉冲场凝胶电泳(PFGE) PFGE 是一种分离

大片段 DNA 的方法, 被报道于 1984 年^[20], 通过限制性内切酶裂解细菌 DNA, 在交变电场作用下分离成不同大小片段位点, 经过 BioNumerics 等软件进行聚类分析, 确定菌株的亲缘关系, 进行分型鉴定。美国疾病预防控制中心以 PFGE 为主要分型技术建立了全球化的细菌传染病实验室监测网络 PulseNet。作为传统分型, PFGE 分辨力和准确性高, 重现性好, 流程标准化, 被认为是传统细菌分型溯源的“金标准”^[21]。有研究以 2000 年为界, 将百日咳鲍特菌菌株按分离时间分为 2 组, 使用 PFGE 分型后发现不同时期流行的百日咳鲍特菌具有不同的分型^[22]。因 PFGE 技术操作复杂, 耗时长, 加之近几年全基因组测序(WGS)技术的快速发展, PFGE 已逐渐被 WGS 取代。

4.2 多位点可变数目串联重复序列分析(MLVA)

MLVA 是一种基于 PCR 的分型方法, 通过区分基因组 DNA 上不同的可变数目串联重复序列(VNTR)的重复数对细菌进行分型, 是仅次于 PFGE 的二代分子分型方法, 也是美国疾病预防控制中心《疫苗可预防疾病监测手册》百日咳鲍特菌的分型方法之一^[23]。对百日咳鲍特菌的 VNTR1、VNTR2、VNTR3、VNTR4、VNTR5、VNTR6 6 个可变数目位点进行扩增、毛细管电泳, 得到各位点的可变序列串联重复数, 提交至 MLVA 数据库(<http://www.mlva.net/>), 即可得到百日咳鲍特菌的 MLVA 分型^[24]。MLVA 操作简单、分辨率高、稳定性好、数据客观, 可用于实验室间结果比较。

4.3 多位点序列分型(MLST) MLST 被报道于 1998 年, 用于脑膜炎奈瑟菌的克隆关系鉴定^[25]。MLST 是基于测序的分型方法, 经过 PCR 扩增 7 个管家基因片段并测定其核苷酸序列, 通过菌株等位基因编号排列得到等位基因谱, 从而得到菌株的序列型(ST 型)。测定 *adk*、*fumC*、*glyA*、*tyrB*、*icd*、*pepA*、*pgm* 7 个管家基因的等位基因序列可对百日咳鲍特菌进行 ST 分型。同一 ST 型或仅极个别等位基因不同的菌株为密切相关菌株, 适用于菌株的克隆关系鉴定和流行病学监测。

4.4 多位点抗原序列分型(MAST) MAST 是一种基于多个抗原编码基因的序列变异对病原体进行分型的方法, 可监测百日咳鲍特菌关键抗原的遗传变异, 追踪传播链。百日咳鲍特菌疫苗相关的抗原基因主要包括 *ptxP*、*ptxA*、*ptxC*、*prn*、*fim2*、*fim3*、*tcfA*, 可将扩增测序得到的等位基因提交至 pubmlst 网站进行序列比对^[24], 也可使用 HS-BLASTN 软件^[26]将百日咳鲍特菌菌株基因组序列与各抗原基因分型标准序列进行比对, 得到菌株的抗原基因型。随后可将其与国内疫苗株 CS 或国际疫苗株 Tohama I 比较, 分析抗原变异情况, 以此监测抗原遗传变异情况, 为疫苗研究设计提供参考, 同时用于传播链追踪。

4.5 多级基因组分型(MGT) MGT 是近几年发展起来的基于 MLST 的新型细菌分型方法,利用不断扩大的连续 MLST 方案,从 7 个基因的连续 MLST 逐步发展到连续核心基因组多位点序列分型(cgMLST)、wgMLST,以便在更高、更精准的分辨率水平上检测遗传亲缘关系^[27]。MGT 为百日咳鲍特菌菌株提供了 MGT1~MGT5 共 5 种由低到高的分辨率,MGT1 与 MLST 结果一致,MGT2 可以代表疫苗抗原等位基因类型,MGT3 可以描述菌株百日咳毒素 ptxP3 的进化,而 MGT4 可以识别独立的 prn 缺陷谱系和大环内酯类耐药谱系,MGT5 则为区分小尺度时空流行病学提供了高分辨率,通过 MGTdb 网站可获得分离株 MGT 结果^[28]。

4.6 cgMLST 近年发展起来的 cgMLST 通过全基因组测序(WGS)分析菌株成百上千个核心基因的等位基因,同传统 MLST 的数据分析方法一样,使用 BIGSdb 网站通过基因比对搜寻核心基因组中等位基因差异,并赋予 1 组等位基因编号来进行分型^[29]。与传统的 MLST 相比,cgMLST 具有更高的分辨率,已广泛用于百日咳鲍特菌的分型溯源和生物多样性研究^[30-31]。

4.7 WGS 2020 年以来,下一代测序技术(NGS)飞速发展,病原菌纯菌株的 WGS 已成为一种常规使用的检测技术。WGS 需分离获得百日咳鲍特菌纯菌株后才能开展,其二代测序质量要求:双端测序,测序读长不低于 150 bp;下机数据 Q20 $\geq$ 95%,Q30 $\geq$ 85%,Q20 高质量数据量不少于 1 Gb;拼接完成后基因组覆盖度不低于 95%,Contig 数量少于 100 个。

推荐分析流程:下机数据使用 Fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>)^[32] 软件过滤低质量序列和接头污染序列,通过 SPAdes (<https://github.com/ablab/spades>)^[33] 等软件进行基因组组装;kraken2 (<https://github.com/DerrickWood/kraken2>)^[34] 等工具进行物种鉴定,或通过 FastANI (<https://github.com/ParBLiSS/FastANI>)^[35]、JSpeciesWS (<https://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/>)^[36]、GGDC (<https://ggdc.dsmz.de/>)^[37] 等计算平均核苷酸一致性(ANI)、数字 DNA-DNA 杂交(dDDH)确认种属,ResFinder (<http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>)^[38] 进行耐药基因预测、Virulence Factors of Pathogenic Bacteria (VFDB) (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>)^[39] 进行毒力基因预测;若待测菌株与百日咳鲍特菌模式菌株的 dDDH 值 $>70\%$,ANI 值 $>95\%$,则表明其与模式菌株为同种;推荐采用最大似然法构建系统进化树(自展值 $>70\%$,重复次数 1 000 次)进行溯源分析。

4.8 全基因组探针捕获测序 百日咳鲍特菌属于苛养菌,菌株分离率低,获得纯菌株难度高,对无法分离培养到纯菌的临床标本,推荐使用全基因组探针捕获

测序技术进行基因组测序。全基因组探针捕获测序基于探针与目标核酸捕获相结合,通过互补核酸探针与目标 DNA 片段的特异性杂交,有效富集复杂基因组标本中的目标序列,可以实现无需培养,直接从标本中筛选百日咳鲍特菌基因组,靶向富集后实现 WGS^[40],有效弥补了 WGS 在低丰度标本检测及目标区域深度分析中的不足。推荐对经百日咳鲍特菌荧光 PCR 检测结果为阳性,且 Ct 值 ≤ 32 的标本开展基因捕获测序。

在标本处理上,需确保核酸提取纯度($A_{260}/A_{280}=1.8\sim 2.0$),避免蛋白质残留影响杂交效率。该技术在百日咳鲍特菌抗原变异监测、耐药机制解析及暴发疫情中同源性分析等场景有广泛的应用前景。

共识 4: 分型溯源技术应根据防控需求选择,WGS 为当前高分辨率分型首选方法,需满足特定测序质量要求,通过系统进化树构建实现精准溯源;全基因组探针捕获测序可用于无法分离纯菌的临床标本,适用于低丰度标本检测及抗原变异、耐药机制分析;MLVA、MLST 等方法操作简便,可用于常规流行病学监测和菌株亲缘关系初步判定;PFGE 作为传统“金标准”,仍可用于特定场景下的分型验证。

5 生物安全要求

根据《人间传染的病原微生物目录》,百日咳鲍特菌属于第 3 类病原微生物,标本检测及活菌操作需在生物安全二级(BSL-2)实验室进行,操作人员需符合二级防护标准。不含活菌的分子生物学、免疫学等非感染性实验,可在生物安全一级(BSL-1)实验室开展^[41]。实验过程严格遵守生物安全相关规定,防止交叉污染和实验室感染。

共识 5: 百日咳鲍特菌实验室操作需严格遵守生物安全分级要求,活菌操作及标本检测应在 BSL-2 实验室进行,操作人员需落实二级防护;非感染性实验可在 BSL-1 实验室开展;实验全程需执行无菌操作,防止交叉污染和实验室感染。

6 健康干预和防控建议

遵循“预防为主、防治结合、精准防控、快速处置”原则,加强适龄儿童全程疫苗接种,充分利用新媒体和传统媒体广泛开展百日咳防控知识科普宣传,使公众增强防护意识,养成良好习惯。开展多渠道监测预警,加强血清抗体、实验室主动监测等专项调查,重点关注月子中心、托幼机构、中小学校等重点场所。坚持“早发现、早治疗”,及时规范治疗患者,遏制疫情扩散蔓延,降低重症和死亡风险。

7 结 语

随着微生物检测技术的快速发展,百日咳鲍特菌的检测已从传统培养方法向高灵敏度、高特异度的分子生物学方法转变,分型溯源技术也从表型分型向基

因组分型迈进。本共识系统规范了百日咳鲍特菌的标本采集、检测鉴定、分型溯源等技术流程,为流行病学调查、传染源追踪、疫情防控和疫苗研发提供技术支持。

本共识推荐的分型溯源方案旨在为公共卫生实践提供强有力的支撑:在传染病疫情监测、防控层面,通过 WGS、全基因组探针捕获测序等检测新技术,结合 MLVA、MLST 等分子分型方法,能在百日咳疫情早期从分子生物学角度快速锁定传染源,明确传播范围,指导密切接触者的管理与重点场所管控,有效遏制疫情扩散;同时通过菌株分子遗传特征的精准分析,快速识别跨区域传播链与聚集性疫情关联,为研判疫情流行趋势、调整防控策略提供准确的实验室数据支撑。该方案充分参考国内外成熟技术路径与我国防控实践,其标准化流程可直接对接各级疾控机构的疫情处置工作,为精准防控提供操作性强的实验室技术手段。

在技术推广层面,本共识兼顾了不同层级医疗机构的实际需求:基层医疗机构可依托 qPCR、血清学检测等操作简便、成本可控的检测技术,完成百日咳疑似病例初筛与基础检测;地市级及以上疾控机构、三甲医院可深入开展 WGS、cgMLST 等分子检测技术,承担区域内百日咳鲍特菌菌株分型溯源、耐药监测与疫情溯源等核心任务。同时,本共识明确了各技术的操作规范与结果判读标准,降低了技术推广的门槛;通过加强跨机构技术培训、建立区域技术协作网络与数据共享平台,可促进基层机构技术能力提升,实现检测与分型技术在不同层级机构的梯度推广与高效联动,形成覆盖全国的百日咳防控技术支撑体系。

未来,随着研究的深入和技术的革新,需持续关注百日咳鲍特菌的基因型变异、耐药性变迁及疫苗保护效果变化,及时更新、完善检测和分型技术方案,进一步提升我国百日咳防控的科学化、精准化水平。

共识 6:应持续监测百日咳鲍特菌基因型变异、耐药性变迁及疫苗保护效果变化,动态优化检测和分型技术方案;加强各级疾控机构、医疗机构及科研单位的技术协作,推广标准化检测流程,推动分型溯源数据共享,提升全国百日咳防控的科学化、精准化水平。

利益冲突 所有参与制定该共识的专家组成员及撰写该共识的编写组成员均声明无实际或潜在的利益冲突。

作者贡献 本共识由共识专家组共同发起。全体作者参与了共识主题的讨论、证据评价、推荐意见形成、稿件撰写或重要内容修订,并均已审阅和批准最终稿,同意对本文内容负责。

参考文献

[1] 张倩,吴丹,郑徽,等. 中国 2022 年百日咳流行病学特征[J]. 中国疫苗和免疫,2024,30(1):34-38.

[2] 吴丹,郑徽,李明爽,等. 中国 2018—2021 年百日咳流行病学特征[J]. 中国疫苗和免疫,2022,28(6):638-643.

[3] 中华人民共和国卫生部. 百日咳诊断标准: WS 274-2007[S]. 北京:人民卫生出版社,2007.

[4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 百日咳诊疗方案(2023 年版)[J/CD]. 新发传染病电子杂志,2024,9(3):86-88.

[5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 百日咳防控方案(2024 年版)[J/CD]. 新发传染病电子杂志,2024,9(3):89-97.

[6] 中华医学会感染病学分会儿科感染学组,国家卫生健康委能力建设和继续教育儿科专委会感染组. 中国百日咳诊疗与预防指南(2024 版)(节选)[J]. 浙江实用医学,2024,29(2):170-179.

[7] CDC. Laboratory testing for pertussis[EB/OL]. (2024-04-02) [2025-02-19]. <https://www.cdc.gov/pertussis/php/laboratories/>.

[8] WHO. Laboratory manual for the diagnosis of whooping cough caused by Bordetella pertussis/Bordetella parapertussis-Updated 2014[EB/OL]. (2014-06-04) [2025-02-19]. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-IVB-14.03>.

[9] DUPONT C, SIVADON-TARDY V, BILLE E, et al. Identification of clinical coagulase-negative staphylococci, isolated in microbiology laboratories, by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and two automated systems[J]. Clin Microbiol Infect, 2010, 16(7):998-1004.

[10] 李振,汪丙松,王昭俐,等. 质谱法与聚合酶链式反应检测法检测百日咳鲍特菌[J]. 中国临床医生杂志,2020,48(1):92-94.

[11] 中国临床微生物质谱共识专家组. 中国临床微生物质谱应用专家共识[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(10):2641-2648.

[12] 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所,国家致病菌识别网中心实验室. 国家致病菌识别网实验室监测技术手册(2024 版)[M]. 北京:国家致病菌识别网中心实验室,2024.

[13] EWANOWICH C A, CHUI L W, PARANCHYCH M G, et al. Major outbreak of pertussis in northern Alberta, Canada: analysis of discrepant direct fluorescent-antibody and culture results by using polymerase chain reaction methodology[J]. J Clin Microbiol, 1993, 31

- (7):1715-1725.
- [14] LEWIS K, SAUBOLLE M A, TENOVER F C, et al. Pertussis caused by an erythromycin-resistant strain of *Bordetella pertussis*[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 1995, 14(5):388-391.
- [15] ZHANG Q, LI M, WANG L, et al. High-resolution melting analysis for the detection of two erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* strains carried by healthy schoolchildren in China[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2013, 19(6): E260-E262.
- [16] 胡海贇, 张婷, 宋之君, 等. 2024 年某院 4 770 例百日咳患儿流行病学特征及病原体耐药率分析[J]. *中国临床药学杂志*, 2026, 35(1):51-55.
- [17] 何宝花, 贾肇一, 郑飞, 等. 河北省 62 株百日咳鲍特菌抗菌药物敏感性分析[J]. *医学动物防制*, 2025, 41(10):996-999.
- [18] LU X, LI W, CHEN X, et al. Molecular epidemiology and genomic features of *Bordetella pertussis* in Tianjin, China, 2023[J]. *BMC Microbiol*, 2025, 25(1):534.
- [19] 雷炎玲, 王红梅, 张交生, 等. 百日咳患儿及密切接触者的细菌培养和药物敏感性检测[J]. *儿科药学杂志*, 2021, 27(4):37-39.
- [20] SCHWARTZ D C, CANTOR C R. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis [J]. *Cell*, 1984, 37(1):67-75.
- [21] 刘淳婷, 田慧, 赵苏晔, 等. 百日咳鲍特菌脉冲场凝胶电泳分子分型方法的优化和应用[J]. *中国疫苗和免疫*, 2022, 28(3):282-287.
- [22] 欧金玲, 姚开虎, 袁林, 等. 百日咳杆菌的分子流行病学研究[J]. *临床儿科杂志*, 2010, 28(9):836-839.
- [23] CDC. Laboratory Support for Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases [EB/OL]. (2024-03-11)[2025-02-19]. https://www.cdc.gov/surv-manual/php/table-of-contents/chapter-22-laboratory-support.html?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt22-lab-support.html&cdreference_80.
- [24] 张娟胜, 林晨, 常玲, 等. 西安市与上海市婴儿感染百日咳鲍特菌基因型比较[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2022, 51(1):47-52.
- [25] MAIDEN M C, BYGRAVES J A, FEIL E, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(6):3140-3145.
- [26] 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.
- [27] PAYNE M, KAUR S, WANG Q N, et al. Multilevel genome typing: genomics-guided scalable resolution typing of microbial pathogens[J]. *Euro Surveill*, 2020, 25(20):1900519.
- [28] PAYNE M, ZHENG X, HU D L, et al. Genomic epidemiology and multilevel genome typing of *Bordetella pertussis*[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2023, 12(2):2239945.
- [29] MAIDEN M C J, JANSEN VAN RENSBURG M J, BRAY J E, et al. MLST revisited: the gene-by-gene approach to bacterial genomics[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(10):728-736.
- [30] BRIDEL S, BOUCHEZ V, BRANCOTTE B, et al. A comprehensive resource for *Bordetella* genomic epidemiology and biodiversity studies [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):3807.
- [31] CABAL A, SCHMID D, HELL M, et al. Isolate-based surveillance of *Bordetella pertussis*, Austria, 2018 — 2020 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2021, 27(3):862-871.
- [32] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17):i884-i890.
- [33] PRJIBELSKI A, ANTIPOV D, MELESHKO D, et al. Using SPAdes de novo assembler[J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2020, 70(1):e102.
- [34] WOOD D E, LU J, LANGMEAD B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2[J]. *Genome Biol*, 2019, 20(1):257.
- [35] HERNÁNDEZ-SALMERÓN J E, MORENO-HAGELSIEB G. FastANI, mash and dashing equally differentiate between *Klebsiella* species [J]. *Peer J*, 2022, 10:e13784.
- [36] RICHTER M, ROSSELLÓ-MÓRA R, OLIVER GLÖCKNER F, et al. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison [J]. *Bioinformatics*, 2016, 32(6):929-931.
- [37] AUCH A F, KLENK H P, GÖKER M. Standard operating procedure for calculating genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs[J]. *Stand Genomic Sci*, 2010, 2(1):142-148.

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2026.12.002

中老年人群肺功能与认知障碍的关联及抑郁症状和日常活动能力在二者中的中介作用*

杨正婷¹, 邓颖¹, 李一影¹, 卢文婷¹, 闫俊岚¹, 柴琪¹, 蔡云石^{2△}

四川大学华西医院:1. 全程与共病管理中心;2. 肝移植中心, 四川成都 610041

摘要:目的 探讨中老年人群肺功能与认知障碍发生风险的关联,并评估抑郁症状及日常活动能力的中介作用。**方法** 选取中国健康与养老追踪调查(CHARLS)2011 年收集的数据,纳入的样本量为 9 859 例,根据是否有认知障碍分为认知障碍组、非认知障碍组。同时,根据呼气峰值流量占预计值百分比(PEF% pred)的四分位数将研究对象分为 4 组:Q1 组(PEF% pred≤58.21%)、Q2 组(PEF% pred>58.21%~78.51%)、Q3 组(PEF% pred>78.51%~96.48%)、Q4 组(PEF% pred>96.48%)。比较认知障碍组和非认知障碍组的基线资料。比较不同 PEF% pred 四分位数组的认知情况。采用多因素 Logistic 回归模型检验 PEF% pred 及不同四分位数 PEF% pred 与认知障碍发生风险之间的关联,并进一步评估不同预设亚组人群中 PEF% pred 与认知障碍发生风险之间的关系及交互作用。采用限制性立方样条(RCS)回归分析探索 PEF% pred 与认知障碍发生风险之间是否存在非线性剂量-反应关系。采用 Bootstrap 法评估抑郁症状、日常活动能力的中介效应。**结果** 认知障碍组 1 476 例、非认知障碍组 8 383 例。认知障碍组 PEF% pred 明显低于非认知障碍组($P<0.05$)。Q1、Q2、Q3 组各 2 465 例,Q4 组 2 464 例。Q1 组的情景记忆评分、心智状态评分和认知功能总分均显著低于 Q2、Q3 及 Q4 组,而认知障碍发生率显著高于其余 3 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。PEF% pred 升高是发生认知障碍的保护因素($OR=0.992, 95\%CI:0.990\sim0.995, P<0.001$)。与 Q1 组相比,Q2、Q3、Q4 组发生认知障碍的风险分别降低了 17.8%($OR=0.822, 95\%CI:0.696\sim0.972, P=0.022$)、30.5%($OR=0.695, 95\%CI:0.582\sim0.831, P<0.001$)、43.3%($OR=0.567, 95\%CI:0.471\sim0.683, P<0.001$)。RCS 回归分析发现,PEF% pred 与认知障碍发生风险呈线性关联($P_{总}<0.001$),无非线性关联($P_{非线性}=0.893$)。亚组分析结果显示,PEF% pred 与认知障碍发生风险的关联在不同年龄、性别、居住地、退休情况、吸烟史、饮酒史、教育程度、做饭或取暖使用固体燃料情况、合并慢性肺病、心脏疾病情况亚组人群中具有统计学意义($P<0.05$)。交互作用分析显示,在不同年龄、居住地、饮酒史、做饭或取暖使用固体燃料情况、BMI 亚组存在交互作用($P<0.05$)。在肺功能与认知功能的关系中,日常活动能力($\beta=0.034, 95\%CI:0.023\sim0.046$)及抑郁症状($\beta=0.039, 95\%CI:0.026\sim0.053$)起到了显著的中介作用,中介效应占比分别为 6.182%、7.091%。日常活动能力和抑郁症状在肺功能与认知功能之间存在链式中介效应($\beta=0.016, 95\%CI:0.012\sim0.021$),中介效应占 2.909%。**结论** 随着 PEF% pred 升高,中老年人认知障碍的发生风险逐渐下降,这种关联存在人群异质性,在中年、居住地为城市、无不良生活习惯、BMI 更高的群体中更为显著。维持良好的肺功能可能有助于延缓认知功能下降,其部分机制是通过保持日常活动独立性和减轻抑郁症状实现的。

关键词:肺功能; 认知功能; 日常活动能力; 抑郁; 中介效应

中图法分类号:R749.1;R592;R443

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2026)12-1593-12

Association between pulmonary function and cognitive impairment in middle-aged and elderly populations and the mediating roles of depressive symptoms and activities of daily living*

YANG Zhengting¹, DENG Ying¹, LI Yiyi¹, LU Wenting¹, YAN Junlan¹, CHAI Qi¹, CAI Yunshi^{2△}

1. Integrated Care Management Center; 2. Liver Transplant Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: Objective To investigate the association between lung function and the risk of cognitive impairment in middle-aged and older adults, and to assess the mediating effects of depressive symptoms and activities

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(82303220);国家科技重大专项(2024ZD0523904)。

作者简介:杨正婷,女,研究实习生,主要从事慢性病的全程健康管理研究。△ 通信作者,E-mail:caiyunshimd@gmail.com。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1167.r.20260518.0946.002\(2026-05-19\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1167.r.20260518.0946.002(2026-05-19))

引用格式:杨正婷,邓颖,李一影,等.中老年人群肺功能与认知障碍的关联及抑郁症状和日常活动能力在二者中的中介作用[J].检验医学与临床,2026,23(12):1593-1604.