

·百日咳·专家论坛·

副百日咳鲍特菌感染的临床和分子流行病学特征

李奕嘉¹ 王传清² 付盼²¹重庆医科大学检验医学院,重庆 401331;²复旦大学附属儿科医院,国家儿童医学中心 临检中心细菌室,上海 201102

通信作者:付盼,Email:fup1028@163.com

【摘要】 副百日咳鲍特菌可引起百日咳样疾病,通常表现为呼吸道感染,症状包括咳嗽、发热、喉咙痛、流涕和喉头痛,对于婴儿和免疫系统较弱的个体可能会引起较严重的症状。在接种过疫苗的儿童中,副百日咳鲍特菌感染通常表现为轻度疾病,临床上难以与百日咳鲍特菌感染及其他病毒或细菌感染引起的咳嗽相关疾病区分开来。本文从副百日咳鲍特菌感染的临床感染特征、实验室诊断、分子流行病学特征和传播机制等多方面进行总结和分析,为副百日咳鲍特菌的正确诊治和合理防控提供依据。

【关键词】 副百日咳鲍特菌;百日咳样疾病;临床特征;分子流行病学**基金项目:**国家自然科学基金(82202567)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20240105-00003

Clinical and molecular epidemiological characteristics of *Bordetella parapertussis* infectionLi Yijia¹, Wang Chuanqing², Fu Pan²¹College of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China; ²Laboratory of Microbiology, Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Fudan University, National Children's Medical Center, Shanghai 201102, China

Corresponding author: Fu Pan, Email: fup1028@163.com

【Abstract】 *Bordetella parapertussis* (BPP) can cause pertussis-like illness, which usually presents as respiratory tract infections with symptoms of cough, fever, pharyngodynia, rhinorrhea and laryngodynia. More severe symptoms may be observed in infants and immunocompromised individuals. In vaccinated children, BPP infection usually presents as a mild illness, clinically challenging to distinguish from cough-related illness caused by *Bordetella pertussis*, other viruses or bacteria. In this article, the clinical characteristics, laboratory diagnosis, molecular epidemiology and transmission mechanism of BPP infection are systematically summarized and analyzed, so as to provide theoretical basis for correct diagnosis, treatment and reasonable prevention and control of BPP infection.

【Key words】 *Bordetella parapertussis*; Pertussis-like illness; Clinical characteristics; Molecular epidemiology**Fund program:** National Natural Science Foundation of China(82202567)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20240105-00003

副百日咳鲍特菌(*Bordetella parapertussis*, BPP)是一种通过飞沫传播的革兰阴性菌,通常侵袭呼吸道引发持久的咳嗽,严重影响患者的生活质量。有些幼儿感染 BPP 后,可出现严重的呼吸问题,如咳嗽、呼吸急促和喘鸣,甚至导致呼吸衰竭或死亡。此外,鲍特菌还可引发医院内交叉感染,给院感防控造成的挑战。有研究指出百白破疫苗(diphtheria,

tetanus, and pertussis vaccine, DTaP) 接种对 BPP 感染无交叉免疫作用,Remesh 等^[1]对 46 533 名参与者进行荟萃分析,发现百日咳疫苗接种对 BPP 感染没有显著的保护作用。目前,BPP 感染的案例报道日益增多,尤其是对小年龄段的儿童影响大。2022—2023 年,美国鲍特菌的检出率增加了 8.5 倍,其中 95% 为 BPP,当 BPP 发病率上升时,百日咳鲍特菌

(*Bordetella pertussis*, BP)感染发病率下降^[2]。在摩洛哥拉巴特,从2022年12月起百日咳病例急剧增加,78.2%的病例为3个月以下的婴儿,其中BPP DNA检出率为18.2%^[3]。本文将从BPP感染的临床感染特征、实验室诊断、分子流行病学特征和传播机制等多方面进行总结,以进一步了解其感染特征。

一、BPP 感染的临床表现及实验室诊断

1. 临床表现

BPP感染的临床表现主要包括阵发性痉挛性咳嗽、咳嗽后呕吐和“鸡鸣样”吸气吼声。该疾病多见于2~6岁的学龄前儿童,流行周期为3~5年,不同地区的发病率差异较大^[4-5]。研究发现,患儿在就诊时咳嗽持续7~90 d不等,咳嗽多在夜间加重,较少伴有咳嗽末鸡鸣样回声^[6]。此外,BPP感染还可引起从非特异性上呼吸道疾病到典型百日咳的一系列疾病,给临床诊断带来一定难度。

BPP病例中咳嗽和呼吸困难的严重程度与病程、疫苗接种状况、抗生素治疗、诊断时的年龄等密切相关。Tozzi等^[4]对同一出生队列的儿童进行了长期随访,研究发现接种白喉-破伤风疫苗的儿童咳嗽持续时间中位数较长,为52~61 d,而接种DTaP的儿童咳嗽时间缩短,为29~39 d;接种白喉-破伤风疫苗的儿童痉挛性咳嗽持续时间较长,为20~45 d,而接种DTaP的儿童咳嗽持续时间缩短为14~29 d。可见,疫苗接种能显著缩短咳嗽和痉挛性咳嗽的持续时间。其次,病菌培养阳性患者的咳嗽和痉挛性咳嗽持续时间比培养阴性患者更长,接受抗生素治疗可显著缩短咳嗽和痉挛性咳嗽的持续时间^[4]。此外,年龄与咳嗽持续时间呈正相关,与痉挛性咳嗽持续时间呈负相关,大龄儿童可仅表现为短时间的痉挛性咳嗽^[4]。有百日咳疫苗接种史的人群通常表现为非典型和相对轻微的临床病程,主要表现为长时间持续咳嗽,早期诊断有助于及时治疗^[5]。

2. 实验室诊断及耐药情况

BPP感染可能与轻度咳嗽、流鼻涕等类似感冒症状相关,和BP感染症状非常相似,难以区别,因此实验室诊断显得尤为关键。BPP有多种检测方法:细菌培养虽然是病原学检测的金标准,但培养要求

高,培养周期长,敏感性低,且临床上培养BPP比较困难,因此可通过PCR进行BPP确诊^[7]。2019年一项对全自动Aries鲍特菌检测阵列进行的多中心临床评估发现,可检测出BP和BPP特有的基因序列^[8]。另一项研究中,ELITE InGenius仪器集成了核酸提取、qPCR和结果解释,其检测基于IS481、IS1001、*recA*和*ptxA-Pr*这4个基因靶点,其中IS481和IS1001是筛选靶点,IS481在BP和霍氏鲍特菌(*Bordetella holsii*, BH)的基因组中存在大量拷贝数,而IS1001在BPP的基因组中存在,该仪器适用于BP、BPP和BH的检测和鉴别^[9]。

与BP的治疗标准相同,大环内酯类抗生素也被广泛应用于BPP感染的治疗。目前,BP对大环内酯类药物耐药很普遍^[10],BPP对大环内酯类抗生素耐药的情况较为罕见。研究表明,BPP和BP对大环内酯类抗生素耐药机制不同,其中BP主要由23SrRNA的A2047G突变所致,而BPP对大环内酯类的耐药或是依赖于*mexAB-oprM*外排泵上调表达所致^[11]。华春珍等^[6]采用E-test检测了5株BPP菌株对11种抗菌药物的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),结果显示BPP对红霉素和阿奇霉素的MIC范围分别为(0.250~6.000) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和(0.125~0.500) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。BPP耐药性和致病力的提升,表现在接触红霉素后产生耐药和某些毒力因子促进感染。有研究分别将10株BP、BPP的临床和参考菌株暴露于红霉素15周,BPP菌株在2~7周内对红霉素(MIC>256 mg/L)产生了明显耐药性,而15周后BP菌株对抗生素仍然敏感(MIC: 0.032~0.38 mg/L)。说明红霉素治疗后,BPP菌株比BP菌株更容易产生诱导耐药^[11]。铁饥饿是BPP在感染过程中的阻碍,但是腺苷酸环化酶和O抗原丰度的显著变化可以适应铁饥饿^[12]。这些因素已成为当前医学研究和防控工作的关键挑战。

二、BPP 的分子流行病学特征及传播机制

1. 分子流行病学特征

BPP基因组具有高度遗传多样性,所有菌株中只有50%的泛基因组是保守的,这可能与它们不同的宿主范围、毒力和持久性特征有关^[13]。有研究对

167 株鲍特菌菌株和 469 株 BP 分离株的染色体测序,以获得这些染色体重排的普遍规律。发现基因序列的变化主要由于倒位,且仅在基因组中含有多拷贝插入序列元件的物种中检测到,其中最明显的是 BH 和 BPP^[14]。2012—2015 年伊朗百日咳流行期间,从所有百日咳患者中鉴定出 7 株 BPP 菌株,该基因组 G+C 含量为 65%,基因组大小为 4.7 Mbp。与参考基因组 BPP12822 相比,共发现 81 个单核苷酸多态性和 13 个短插入和短缺失,显示出持续的进化变化^[15]。

BPP 可表达多种毒力因子,包括百日咳毒素、腺苷环化酶毒素、百日咳黏附素(pertactin, PRN)、丝状血凝素、凝集素和脂寡糖等,各毒力基因在不同菌株中可存在差异,影响菌株对宿主的感染能力、疾病严重程度以及疫苗免疫反应^[16]。近年来,法国、澳大利亚等国家报道了不表达 PRN 的 BPP 菌株,且收集的大多数临床分离株均为 PRN 阴性^[17-18],这可能是由于无细胞疫苗(acellular vaccine, ACV)压力所致^[19],表明 PRN 阴性 BPP 在 ACV 压力下具有更好的适应性。而在全细胞疫苗(whole cell vaccine, WCV)接种计划的国家中,例如伊朗,没有发现 PRN 阴性分离株^[20-22]。2012—2015 年伊朗百日咳流行期间,所有 BPP 分离株均表达 PRN,证实了 WCV 不影响该物种在伊朗的表型进化^[15]。因此,了解 BPP 毒力基因在不同菌株中的差异对于制定有效的治疗和预防策略至关重要。

2. 传播的分子机制

BPP 的传播分子机制涉及到病原体与宿主细胞之间的相互作用。BPP 通过多种机制利用宿主细胞表面受体进行细胞黏附,并利用这些机制进行免疫逃避,包括但不限于附着在上皮细胞、灭活 GTP 酶和对免疫细胞产生毒性。

BPP 利用黏附因子和纤维蛋白与气管上皮和肺组织黏附,这不仅有利于细菌在局部繁殖,还能抵御宿主的防御机制,如黏膜纤毛清除率、抗菌肽和炎性细胞反应^[23]。在通过气溶胶飞沫传播后,寄主定植的初始步骤关键取决于细菌黏附素。BPP0974 是一种具有大型重复 RTX 黏附蛋白家族典型结构域

的 BPP 蛋白,BPP0974 被发现与生物膜的形成有关,并参与细菌附着和呼吸上皮细胞内的生存,其在 BPP 的早期宿主定植和发病机制中发挥了作用^[24]。

在 BP 感染中,百日咳毒素通过 ADP 核糖基化其 α 亚基灭活 Gi 家族异三聚体 GTP 酶、Vag8 和脂质 A 联合引起咳嗽。而 BPP 在引起咳嗽的过程中产生的是 Vag8 和脂质 A 脂多糖(lipopoly saccharide, LPS),而不是百日咳毒素。近年来发现,BPP 通过去乳糜酰化其 α 亚基来灭活 Gi 家族异三聚体 GTP 酶,脱酰基自身转运蛋白毒素(deacylating autotransporter toxin, DAT)与 Vag8 和 LPS 一起促进咳嗽的产生,表明 DAT 在 BPP 感染中起着替代百日咳毒素的作用^[25]。

BPP 与极化单层呼吸道上皮细胞相互作用时,先附着于细胞间边界,并通过腺苷酸环化酶毒素破坏紧密连接,使细菌进入上皮细胞基底外膜并附着在其上,获得进入细胞内的机会,既可以生存又可以扩散回细胞外,说明腺苷酸环化酶使 BPP 能够克服上皮屏障,并最终在呼吸道上皮细胞内建立持久的生态位^[26]。腺苷酸环化酶还对巨噬细胞有细胞毒性,能阻止细菌被巨噬细胞摄取,促进被吞噬的细菌在细胞内继续存活,其机制是诱导宿主下调编码抗菌肽、参与细菌胞内杀伤的蛋白质和促炎细胞因子 TNF- α 的基因的转录,同时诱导抗炎细胞因子 IL-10 的上调^[27]。

三、结语

BPP 感染是一种具有传染性的呼吸道疾病,可对婴幼儿和免疫力低下的个体造成威胁。该菌可引起类百日咳样表现,由于目前检测手段有限,临床对该菌的认识较为薄弱,导致 BPP 感染临床诊断和合理治疗受到很大限制。随着分子生物学技术的发展,将大大促进鲍特菌属的正确分类和诊断,有利于相关部门制定科学有效的疾病防控措施,从而正确地诊断、治疗和预防 BPP 引起的感染。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Remesh AT, Alagarasu K, Jadhav S, et al. Pertussis vaccines scarcely provide protection against *Bordetella parapertussis*

- infection in children-a systematic review and meta-analysis [J]. *Vaccines (Basel)*, 2024, 12(3): 253. DOI: 10.3390/vaccines12030253.
- [2] Noble BA, Giudice SS, Jones JD, et al. Reemergence of *Bordetella parapertussis*, United States, 2019-2023[J]. *Emerg Infect Dis*, 2024, 30(5): 1058-1060. DOI: 10.3201/eid3005.231278.
- [3] Bennai RM, Zouaki A, El Amin G, et al. Pertussis outbreak in children hospitalized in Rabat (Morocco)[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2024, 109(2): 116225. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2024.116225.
- [4] Tozzi AE, Ravà L, Ciofi degli Atti ML, et al. Clinical presentation of pertussis in unvaccinated and vaccinated children in the first six years of life[J]. *Pediatrics*, 2003, 112(5): 1069-1075. DOI: 10.1542/peds.112.5.1069.
- [5] Yeshanew AG, Lankir D, Wondimu J, et al. Pertussis outbreak investigation in Northwest Ethiopia: A community based study[J]. *PLoS One*, 2022, 17(2): e0263708. DOI: 10.1371/journal.pone.0263708.
- [6] 华春珍, 谢永平, 周明明, 等. 儿童百日咳鲍特菌感染的临床特征和耐药分析[J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38 (7): 443-446. DOI: 10.3760/cma.j.cn311365-20191120-00384.
- [7] 胡亚红, 姚开虎. 欧洲疾病预防控制中心《百日咳鲍特菌的实验室诊断和分子监测》解读[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2023, 38 (10): 755-759. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20230717-00009.
- [8] Relich RF, Leber A, Young S, et al. Multicenter clinical evaluation of the automated aries *Bordetella* assay[J]. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(2): e01471-01418. DOI: 10.1128/JCM.01471-18.
- [9] Martini H, Soetens O, Demuyser T, et al. Evaluation of the ELITE InGenius and *Bordetella* ELITE MGB Kit for the detection and identification of *B. pertussis*, *B. parapertussis* and *B. holmesii*[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2024, 109(3): 116348. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2024.116348.
- [10] Fu P, Zhou J, Yang C, et al. Molecular evolution and increasing macrolide resistance of *Bordetella pertussis*, Shanghai, China, 2016-2022[J]. *Emerg Infect Dis*, 2023, 30(1): 29-38. DOI: 10.3201/eid3001.221588.
- [11] Fong W, Timms V, Sim E, et al. Genomic and transcriptomic variation in *Bordetella spp.* following induction of erythromycin resistance[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2022, 77(11): 3016-3025. DOI: 10.1093/jac/dkac272.
- [12] Oviedo JM, Surmann K, Gorgojo JP, et al. Shotgun proteomic analysis of *Bordetella parapertussis* provides insights into the physiological response to iron starvation and potential new virulence determinants absent in *Bordetella pertussis*[J]. *J Proteomics*, 2019, 206: 103448. DOI: 10.1016/j.jpro.2019.103448.
- [13] Park J, Zhang Y, Buboltz AM, et al. Comparative genomics of the classical *Bordetella* subspecies: The evolution and exchange of virulence-associated diversity amongst closely related pathogens[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 545. DOI: 10.1186/1471-2164-13-545.
- [14] Weigand MR, Peng Y, Batra D, et al. Conserved patterns of symmetric inversion in the genome evolution of *Bordetella* respiratory pathogens[J]. *mSystems*, 2019, 4(6): e00702-19. DOI: 10.1128/mSystems.00702-19.
- [15] Safarchi A, Saedi S, Tay CY, et al. Genome characteristic of *Bordetella parapertussis* isolated from Iran[J]. *Curr Microbiol*, 2022, 79(10): 314. DOI: 10.1007/s00284-022-03009-x.
- [16] Vinogradov E, King JD, Pathak AK, et al. Antigenic variation among *Bordetella: Bordetella bronchiseptica* strain MO149 expresses a novel o chain that is poorly immunogenic[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(35): 26869-26877. DOI: 10.1074/jbc.M110.115121.
- [17] Toubiana J, Azarnoush S, Bouchez V, et al. *Bordetella parapertussis* bacteremia: Clinical expression and bacterial genomics[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2019, 6(4): ofz122. DOI: 10.1093/ofid/ofz122.
- [18] Xu Z, Octavia S, Luu L, et al. Pertactin-negative and filamentous hemagglutinin-negative *Bordetella pertussis*, Australia, 2013-2017 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25 (6): 1196-1199. DOI: 10.3201/eid2506.180240.
- [19] Hegerle N, Paris AS, Brun D, et al. Evolution of French *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* isolates: Increase of *Bordetellae* not expressing pertactin[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(9): E340-346. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03925.x.
- [20] Safarchi A, Octavia S, Nikbin VS, et al. Genomic epidemiology of Iranian *Bordetella pertussis*: 50 years after the implementation of whole cell vaccine[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8(1): 1416-1427. DOI: 10.1080/22221751.2019.1665479.
- [21] Saedi S, Safarchi A, Moghadam FT, et al. Fha deficient *Bordetella pertussis* isolates in Iran with 50 years whole cell pertussis vaccination[J]. *Iran J Public Health*, 2021, 50(7): 1454-1462. DOI: 10.18502/ijph.v50i7.6636.
- [22] Saedi S, Safarchi A, Noofeli M, et al. Genome diversity and evolutionary characteristics of clinical isolates of *Bordetella pertussis* circulating in Iran[J]. *Iran J Microbiol*, 2020, 12(1): 1-10.
- [23] Carrica M, Gorgojo JP, Lamberti YA, et al. *Bordetella parapertussis* adenylate cyclase toxin promotes the bacterial survival to the encounter with macrophages[J]. *Microb Pathog*, 2023, 174: 105898. DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105898.
- [24] Carrica M, Gorgojo JP, Alvarez-Hayes J, et al. BPP0974 is a *Bordetella parapertussis* adhesin expressed in the avirulent phase, implicated in biofilm formation and intracellular survival [J]. *Microb Pathog*, 2024: 106754. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106754.
- [25] 聂渝, 郑改焕. 百日咳发病机制及合并感染机制研究进展[J]. *临床医学进展*, 2022, 12(6): 5952-5956. DOI: 10.12677/ACM.2022.126859.
- [26] Hiramatsu Y, Nishida T, Ota N, et al. DAT, deacylating autotransporter toxin, from *Bordetella parapertussis* demyristoylates Gαi GTPases and contributes to cough[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(40): e2308260120. DOI: 10.1073/pnas.2308260120.
- [27] Gorgojo JP, Carrica M, Baroli CM, et al. Adenylate cyclase toxin of *Bordetella parapertussis* disrupts the epithelial barrier granting the bacterial access to the intracellular space of epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2023, 18(11): e0291331. DOI: 10.1371/journal.pone.0291331.