浙 江 大 学 学 报 (医 学 版)
JOURNAL OF ZHEJIANG UNIVERSITY(MEDICAL SCIENCES)

http://www.zjujournals.com/med DOI:10.3724/zdxbyxb-2021-0282

疾病监测与健康管理 ·专题报道·

西安市与上海市婴儿感染百日咳鲍特菌基因型比较

张娟胜[1],林 晨[2],常 玲[1],王小强[1],魏晓光[1],李 浩[1]

1. 西安市疾病预防控制中心,陕西 西安 710054
2. 上海市浦东新区疾病预防控制中心,上海 200136

[摘 要] **目的**:探讨西安市与上海市临床分离百日咳鲍特菌的基因型特征。**方法**:收集2018—2019年在西安市和上海市哨点监测医院和社区采集的1岁以下疑似百日咳患儿的鼻咽拭子,经分离培养所得百日咳鲍特菌采用多位点抗原序列分型(MAST)和多位点可变数目串联重复序列分析(MLVA)方法分析其基因型。**结果**:共采集到疑似百日咳患儿鼻咽拭子1200份,经分离培养得到百日咳鲍特菌60株,其中西安市34株,上海市26株。西安市百日咳鲍特菌的主要MAST型别为*prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1*(32/34,94.12%),而上海市百日咳鲍特菌的主要MAST型别为*prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1*(13/26,50.00%)和*prn2/ptxP3/ptxA1/fim3-1/fim2-1*(11/26,42.31%),两市百日咳鲍特菌MAST型别分布差异有统计学意义(χ^2=18.642,P<0.01)。西安市百日咳鲍特菌以MT195(13/34,38.24%)、MT55(10/34,29.41%)、MT104(9/34,26.47%)型别居多,而上海市百日咳鲍特菌以MT27型为主(12/26,46.15%),两市百日咳鲍特菌MLVA型别分布差异有统计学意义(χ^2=15.866,P<0.01)。**结论**:西安市与上海市临床分离婴儿感染百日咳鲍特菌基因型存在差异,应进一步加强中国百日咳鲍特菌基因型演变的监测。

[关键词] 百日咳;百日咳鲍特菌;基因型;多位点抗原序列分型;多位点可变数目串联重复序列分析

[中图分类号] R516.6 [文献标志码] A

Genotypes of *Bordetella pertussis* isolated from infants in Xi'an and Shanghai

ZHANG Juansheng[1], LIN Chen[2], CHANG Ling[1], WANG Xiaoqiang[1], WEI Xiaoguang[1], LI Hao[1] (*1. Xi'an Center for Disease Control and Prevention, Xi'an 710054, China; 2. Shanghai Pudong New Area Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200136, China*)

收稿日期:2021-09-15 **接受日期**:2021-12-20

基金项目:西安市科技计划项目[201805101YX9SF35(2)];西安市卫生科研人才项目(J201801016)

第一作者:张娟胜,主管技师,主要从事传染病学与病原微生物检验研究;E-mail:1042123295@qq.com;https://orcid.org/0000-0001-6236-1520

通信作者:林 晨,医师,主管技师,主要从事传染病学研究;E-mail:247372205@qq.com;https://orcid.org/0000-0003-2084-1133

Corresponding author: LIN Chen, E-mail: 247372205@qq.com, https://orcid.org/0000-0003-2084-1133

[**Abstract**] **Objective**: To compare the genotypes of *Bordetella pertussis* isolated from infants in Xi'an and Shanghai. **Methods**: Samples were collected by nasopharyngeal swab from infants aged <1 year hospitalized with suspected pertussis in Xi'an and Shanghai during 2018 and 2019. *Bordetella pertussis* was isolated, and multilocus antigen sequence typing (MAST) and multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) were used to analyse the genotypes. **Results**: A total of 1200 samples were collected from infants suspected of pertussis and 60 strains of *Bordetella pertussis* were isolated, including 34 strains in Xi'an and 26 strains in Shanghai. There were significant differences in the MAST types between Xi'an and Shanghai (χ^2=18.642, P<0.01); the *prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1* strains dominated in Xi'an (32/34, 94.12%), while the dominated MAST types in Shanghai were *prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1* (13/26, 50.00%) and *prn2/ptxP3/ptxA1/fim3-1/fim2-1* (11/26, 42.31%). The composition of MLVA type of pertussis strains was also significantly different between Xi'an and Shanghai (χ^2=15.866, P<0.01); the MT195 (13/34, 38.24%), MT55 (10/34, 29.41%) and MT104 (9/34, 26.47%) strains dominated in Xi'an, while the MT27 (12/26, 46.15%) strain was most common in Shanghai. **Conclusion**: There are differences in molecular types of *Bordetella pertussis* isolated from infants with suspected persussis in Xi'an and Shanghai, indicating that further monitoring of *Bordetella pertussis* is necessary for better understanding the pathogen evolution in China.

[**Key words**] Pertussis; *Bordetella pertussis*; Genotype; Multilocus antigen sequence typing; Multilocus variable-number tandem repeat analysis

[**缩略语**] 百日咳毒素A亚基(pertussis toxin A subunit,ptxA);百日咳毒素P亚基(pertussis toxin P subunit,ptxP);百日咳鲍特菌黏附素(pertactin,prn);菌毛(fimbriae,fim);多位点可变数目串联重复序列分析(multilocus variable-number tandem repeat analysis,MLVA);多位点抗原序列分型(multilocus antigen sequence typing,MAST);聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR);可变数目串联重复序列(variable number of tandem repeats, VNTR)

百日咳是由百日咳鲍特菌引起的急性呼吸道传染病,可导致儿童和成人持续性咳嗽。尽管百日咳是一种疫苗可预防的疾病,且中国儿童百日咳疫苗接种率超过99%,但百日咳在儿童、青少年和成人中发病仍然比较普遍,尤其是近十年来,国外百日咳发病率出现抬头趋势,我国陕西、天津等地也出现了百日咳"复现"的现象[1-4]。引起这种"复现"现象的因素有很多,其中人群免疫力随年龄增长而下降和流行株通过基因突变发生进化是造成百日咳"死灰复燃"的主要原因[5]。因此,监测百日咳的发病进展并且调查其基因型的变化非常重要。

有研究认为,无细胞百白破疫苗诱导的选择性压力导致了百日咳流行菌株抗原相关基因出现突变,从而呈现多态性[6]。我国目前使用的无细胞百白破疫苗由多种纯化的百日咳抗原组成,包括*ptxA*、*ptxP*、*prn*、*fim2*和*fim3*等。然而,在过去一二十年中,百日咳流行菌株对疫苗相关抗原基因

型已出现适应性变化[7]。有研究发现，流行菌株的*ptxA*基因主要为*ptxA1*型，不同于疫苗株的*ptxA2*型[5-6]；在美国等国也出现了比*ptxP1*型百日咳鲍特菌产生更多百日咳毒素的*ptxP3*型菌株，并逐渐取代*ptxP1*型菌株成为流行菌株[8]。在MLVA型别方面，欧美国家所用疫苗株Tohama Ⅰ为MT83型，而当下流行菌株以MT27型为主[9]。

MAST和MLVA是目前应用最广泛的分析百日咳鲍特菌基因型的方法[10-11]。我们选取了中国西部代表城市西安市与东部发达城市上海市，使用MAST和MLVA方法分析临床分离的百日咳鲍特菌基因型特征，以期更好地了解我国当下百日咳鲍特菌流行的基因型，为改进百日咳的防治和疫苗研制提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源及标本处理

收集2018—2019年在西安市和上海市哨点监测医院和社区采集的1岁以下疑似百日咳患儿的鼻咽拭子，其中西安市哨点监测点为西安交通大学附属儿童医院、西安市雁塔区大雁塔社区卫生服务中心和西安市未央区徐家湾社区卫生服务中心；上海市哨点监测点为上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心和上海交通大学医学院附属仁济医院东院。对疑似百日咳患儿采集鼻咽拭子的同时对其百日咳疫苗接种情况进行调查。采集到的鼻咽拭子使用DNA提取试剂盒（德国Qiagen公司）提取细菌DNA，实时荧光定量PCR试剂盒（深圳生科原生物股份有限公司）检测百日咳特异性*IS481*、*ptxP*基因。*IS481*和*ptxP*双阳性样本接种至15%羊血炭琼脂平板（英国Oxoid公司），于37 ℃培养3~5 d。挑选可疑菌落，经生化试验和特异性抗血清玻片凝集试验得纯化的分离株，保存于30%甘油、-70 ℃，备用。本研究通过西安市疾病预防控制中心医学伦理委员会审批。

1.2 菌株MAST分析

对百日咳鲍特菌抗原基因（*ptxA*、*ptxP*、*prn*、*fim2*和*fim3*）进行扩增并测序，所得等位基因提交至pubmlst网站（https://pubmlst.org/）进行序列比对[12-13]。选取百日咳鲍特菌标准菌株ATCC9797和本实验室保存的等位基因已知菌株13038作为对照。

1.3 菌株MLVA分析

对百日咳鲍特菌的六个可变数目位点（VNTR1、VNTR3a、VNTR3b、VNTR4、VNTR5和VNTR6）进行扩增并测序，所得各位点可变数目串联重复数提交至MLVA数据库（http://www.mlva.net/）得到菌株的MLVA型别[13-14]。以百日咳标准株ATCC9797作为参考菌株。

1.4 统计学方法

使用SPSS 20.0软件进行数据处理。采用χ^2检验分析患儿疫苗接种情况，采用Fisher确切概率法分析西安市和上海市百日咳鲍特菌基因型构成差异，$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 菌株分离结果及患儿疫苗接种情况

本研究共采集到疑似百日咳患儿鼻咽拭子标本1200份，其中西安市620份，包括西安交通大学附属儿童医院460份（38.33%）、西安市雁塔区大雁塔社区卫生服务中心80份（6.67%）和西安市未央区徐家湾社区卫生服务中心80份（6.67%）；上海市580份，包括上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心300份（25.00%）和上海交通大学医学院附属仁济医院东院280份（23.33%）。经特异性基因检测筛选，得*IS481*和*ptxP*双阳性标本148份，经分离培养获得百日咳鲍特菌60株，其中西安市34株，上海市26株。

60株百日咳鲍特菌来源患儿疫苗接种情况见表1。结果提示，西安市和上海市百日咳患儿疫苗接种情况无明显差异（$\chi^2=0.663$，$P=0.718$）。

2.2 菌株MAST型别比较

西安市分离百日咳鲍特菌抗原基因中，*prn*有3个等位基因（*prn1*、*prn2*和*prn9*），*ptxP*有2个等位基因（*ptxP1*和*ptxP3*），*ptxA*、*fim2*和*fim3*各有1个等位基因（分别为*ptxA1*、*fim2-1*和*fim3-1*），共获得3种抗原序列型别。上海市分离百日咳鲍特菌抗原基因中，*prn*有3个等位基因（*prn1*、*prn2*和*prn4*），*ptxP*有2个等位基因（*ptxP1*和*ptxP3*），*fim3*有2个等位基因（*fim3-1*和*fim3-4*），*ptxA*和*fim2*各有1个等位基因（分别为*ptxA1*和*fim2-1*），共获得4种抗原序列型别。两市菌株抗原序列型别分布见表2，差异有统计学意义（$\chi^2=18.642$，$P<0.01$）。结果提示，西安市百日咳鲍特菌的主要MAST型别为*prn1*/*ptxP1*/*ptxA1*/*fim3-1*/*fim2-1*，而上海市百日咳鲍特菌的主

表 1　60株百日咳鲍特菌来源患儿疫苗接种情况一览
Table 1　Status of pertussis vaccination of 60 children with *Bordetella pertussis* infection

[*n*(%)]

地　市	*n*	疫苗接种情况			疫苗类型
		未到接种月龄	未全程免疫	全程免疫	
西安市	34	16(47.06)	11(32.35)	7(20.59)	无细胞百白破疫苗(武汉生物制品研究所有限责任公司)
上海市	26	10(38.46)	11(42.31)	5(19.23)	无细胞百白破疫苗(武汉生物制品研究所有限责任公司)、五联疫苗(法国巴斯德生物制药有限公司)、四联疫苗(北京民海生物科技有限公司)

表 2　西安市与上海市分离百日咳鲍特菌MAST型别比较
Table 2　Comparison of MAST results of *Bordetella pertussis* isolates in Xi'an and Shanghai

[*n*(%)]

MAST型别	西安市	上海市
prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1	32(94.12)	13(50.00)
prn9/ptxP3/ptxA1/fim3-1/fim2-1	1(2.94)	0(0.00)
prn2/ptxP3/ptxA1/fim3-1/fim2-1	1(2.94)	11(42.31)
prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-4/fim2-1	0(0.00)	1(3.85)
prn4/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1	0(0.00)	1(3.85)

MAST:多位点抗原序列分型.

要MAST型别为*prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1*和*prn2/ptxP3/ptxA1/fim3-1/fim2-1*。

2.3　菌株MLVA型别比较

西安市分离百日咳鲍特菌共得到4种MLVA型别,分别为MT195、MT55、MT104和MT27。上海市分离百日咳鲍特菌共得到5种MLVA型别,分别为MT195、MT55、MT104、MT27和MT10。两市菌株MLVA型别分布见表3,差异有统计学意义(χ^2=15.866,P<0.01)。结果提示,西安市百日咳鲍特菌以MT195、MT55、MT104型别居多,且三者所占比例不相上下;而上海市MT27型占据优势,MT195、MT55和MT104型别相对较少。

表 3　西安市与上海市分离百日咳鲍特菌MLVA型别分布比较
Table 3　Comparison of MLVA results of *Bordetella pertussis* isolates in Xi'an and Shanghai

[*n*(%)]

MLVA型别	西安市	上海市
MT195	13(38.24)	4(15.38)
MT104	9(26.47)	3(11.54)
MT55	10(29.41)	6(23.08)
MT27	2(5.88)	12(46.15)
MT10	0(0.00)	1(3.85)

MLVA:多位点可变数目串联重复序列分析.

3　讨　论

近年来,我们通过主动监测发现西安市百日咳发病率较高[10,15],上海市和天津市等百日咳发病率也出现抬头趋势[4,16]。已有研究表明,百日咳流行株通过基因突变发生进化,从而与疫苗株基因不同,这是造成百日咳"死灰复燃"的主要原因[5,17]。因此,监测百日咳的发病进展并调查其基因型变化十分重要。为更好地了解我国当下不同地区流行百日咳鲍特菌的基因型,我们对2018—2019年收集的来自西安市和上海市的60株百日咳鲍特菌进行了基因型特征分析。

在我国,用于百日咳疫苗生产的菌株包括P3slO株、18323株和CS株,其中P3slO株、18323株用于全细胞百日咳疫苗生产,而CS株用于无细胞百日咳疫苗的生产。2012年以前,我国全细胞和无细胞百日咳疫苗均有使用,但全细胞百日咳疫苗由于其不良反应较多而逐渐停用。自2012年以后,我国几乎全部使用无细胞百日咳疫苗。目前,国内大型百日咳疫苗生产企业包括成都生物制品研究所有限责任公司、武汉生物制品研究所有限责任公司和云南沃森生物技术股份有限公司等,国外百日咳疫苗生产企业包括法国巴斯德生物制药有限公司等。在本研究中,西安市使用的百日咳疫苗为武汉生物制品研究所有限责任公司生产的无细胞百白破疫苗(共纯化无细胞百日咳疫苗);而上海市使用的百日咳疫苗为武汉生物制品研究所有限责任公司生产的无细胞百白破疫苗和北京民海生物科技有限公司的四联疫苗(共纯化无细胞百日咳疫苗),以及法国巴斯德生物制药有限公司生产的五联疫苗(纯化无细胞百日咳疫苗)。共纯化无细胞百日咳疫苗比纯化无细胞百日咳疫苗含有更多的蛋白抗原,因此可以提供更强的保护力[18]。

目前,百日咳鲍特菌抗原基因型相关研究结

果显示,国内外百日咳鲍特菌*ptxA*、*fim3*和*fim2*基因分别以*ptxA1*、*fim3-1*、*fim2-1*为优势型别,*prn1*和*ptxP*基因型我国以*prn1*和*ptxP1*检出率较高,而国外尤其是发达国家以*prn2*和*ptxP3*更为多见[12,19]。在本文资料中,西安市和上海市分离百日咳鲍特菌*ptxA*、*fim3*、*fim2*基因与先前研究结果一致,绝大部分分别为*ptxA1*、*fim3-1*和*fim2-1*型,而*prn*和*ptxP*的分布存在差异。西安市百日咳鲍特菌以*prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1*型别为主,而上海市*prn1/ptxP1/ptxA1/fim3-1/fim2-1*与*prn2/ptxP3/ptxA1/fim3-1/fim2-1*型别平分秋色,与发达国家接近。发达国家于1940—1960年开始陆续接种百日咳疫苗[20],上海市也从1960年开始接种百日咳疫苗[21],而西安市从1978年才开始接种。从时间点来看,上海市引进并接种百日咳疫苗比西安市更早,人群免疫状态更接近发达国家,这可能是上海市当下流行百日咳鲍特菌基因型更接近发达国家的原因之一。此外,我国共纯化无细胞百日咳疫苗于2006年开始免费使用,而纯化无细胞百日咳疫苗(法国巴斯德生物制药有限公司)作为进口疫苗于2011年才开始使用,而且费用较高,在中国发达地区如上海市使用较多而西部欠发达地区如西安市使用较少[22]。已有研究表明,*ptxP3*型百日咳鲍特菌相比*ptxP1*型菌株生产更多的百日咳毒素而毒性更强[8,18],也更容易感染接种纯化无细胞百日咳疫苗的患儿。这可以从一定程度解释上海市*ptxP3*型百日咳鲍特菌分离率高于西安市的原因。

我国有关百日咳MLVA型别的研究较少,Xu等[23]研究了1950—2007年我国临床分离百日咳鲍特菌的MLVA型别,结果显示主流MLVA型别呈动态变化。我们前期的研究显示陕西省MT195型数量最多[11],而发达国家MT27型已逐渐进化为主流菌株[9,24]。本文资料显示,西安市与上海市临床分离百日咳鲍特菌MLVA型别构成不同,西安市以MT195、MT55、MT104型别居多,且三者所占比例接近,而上海市MT27型占据优势,MT195、MT55和MT104型别相对较少。已有研究显示,MT27型百日咳鲍特菌对红霉素均敏感,而MT195/MT104/MT55型菌株对红霉素耐药[11]。红霉素的滥用可能为MT195/MT104/MT55型百日咳鲍特菌的传播提供了有利条件。研究显示,经济水平和对抗菌药物认知水平的高低是家长是否自行购买并储存抗菌药物的重要影响因素[25-26]。本研究虽未对西安市与上海市居民抗菌药物服用情况进行系统调查,但上海市人群对抗菌药物的使用可能有更多的理性认知,故随意服用抗菌药物从而导致体内菌株耐药的情况可能会少于西安市,这可能是上海市百日咳鲍特菌的MLVA型别与西安市不同的原因之一。此外,西安市与上海市百日咳鲍特菌基因型的差异与两地的气候、生活和饮食习惯等差异可能也存在一定的相关性。

综上所述,西安市与上海市临床分离百日咳鲍特菌MAST型别和MLVA型别分布存在差异,提示应进一步加强我国不同地区百日咳鲍特菌基因型演变及耐药性监测,从而为改进我国百日咳疫苗策略提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] ZHANG Q, ZHENG H, LIU M, et al. The seroepidemiology of immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin in China: a cross sectional study[J]. **BMC Infect Dis**, 2012, 12(1): 138.

[2] BURNS D L, MEADE B D, MESSIONNIER N E. Pertussis resurgence: perspectives from the working group meeting on pertussis on the causes, possible paths forward, and gaps in our knowledge[J]. **J Infect Dis**, 2014, 209(suppl 1): S32-S35.

[3] 张娟胜, 李 芳, 栾 阳, 等. 百日咳鲍特菌23S rRNA位点变异AS-PCR检测方法建立[J]. **中国公共卫生**, 2018, 34(6): 923-926.
ZHANG Juansheng, LI Fang, LUAN Yang, et al. Development and evaluation of a detection method for 23S rRNA mutation of *Bordetella pertussis* with allele-specific PCR[J]. **Chinese Journal of Public Health**, 2018, 34(6): 923-926. (in Chinese)

[4] 郭丽茹, 张 维, 苏 旭, 等. 2012—2017年天津市百日咳鲍特菌耐药情况分析[J]. **疾病监测**, 2018, 33(7): 59-63.
GUO Liru, ZHANG Wei, SU Xu, et al. Analysis on drug resistance of *Bordetella pertussis* isolated in Tianjin[J]. **Disease Surveillance**, 2018, 33(7): 59-63. (in Chinese)

[5] ELOMAA A, HE Q, MINH N N T, et al. Pertussis before and after the introduction of acellular pertussis vaccines in Finland[J]. **Vaccine**, 2009, 27(40): 5443-5449.

[6] 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.

[7] SAADATIAN-ELAHI M, PLOTKIN S, MILLS K H G, et

al. Pertussis: biology, epidemiology and prevention[J]. **Vaccine**, 2016, 34(48): 5819-5826.

[8] QUEENAN A M, CASSIDAY P K, EVANGELISTA A. Pertactin-negative variants of *Bordetella pertussis* in the United States[J]. **N Engl J Med**, 2013, 368(6): 583-584.

[9] BARKOFF A M, MERTSOLA J, PIERARD D, et al. Surveillance of circulating *Bordetella pertussis* strains in Europe during 1998 to 2015[J]. **J Clin Microbiol**, 2018, 56(5): 01998.

[10] XU Z, WANG Z, LUAN Y, et al. Genomic epidemiology of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in China[J]. **Emerging Microbes Infects**, 2019, 8(1): 461-470.

[11] 张娟胜, 魏晓光, 王小强, 等. 百日咳鲍特菌红霉素耐药株与敏感株的基因型别分析[J]. **中华微生物学和免疫学杂志**, 2020, 40(12): 893-897.
ZHANG Juansheng, WEI Xiaoguang, WANG Xiaoqiang, et al. Genotype analysis of erythromycin-resistant and -sensitive *Bordetella pertussis*[J]. **Chinese Journal of Microbiology and Immunology**, 2020, 40(12): 893-897. (in Chinese)

[12] 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.

[13] SCHOULS L M, VAN DER HEIDE H G J, VAUTERIN L, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of dutch *Bordetella pertussis* strains reveals rapid genetic changes with clonal expansion during the late 1990s[J]. **J Bacteriol**, 2004, 186(16): 5496-5505.

[14] LITT D J, NEAL S E, FRY N K. Changes in genetic diversity of the *Bordetella pertussis* population in the United Kingdom between 1920 and 2006 reflect vaccination coverage and emergence of a single dominant clonal type[J]. **J Clin Microbiol**, 2009, 47(3): 680-688.

[15] DU Q, WANG X, LIU Y, et al. Direct molecular typing of *Bordetella pertussis* from nasopharyngeal specimens in China in 2012—2013[J]. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, 2016, 35(7): 1211-1214.

[16] FU P, WANG C, TIAN H, et al. Bordetella pertussis infection in infants and young children in Shanghai, China, 2016—2017: clinical features, genotype variations of antigenic genes and macrolides resistance[J]. **Pediatr Infect Dis J**, 2019, 38(4): 370-376.

[17] MIYAJI Y, OTSUKA N, TOYOIZUMI-AJISAKA H, et al. Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008—2010 pertussis epidemic in Japan[J/OL]. **PLoS One**, 2013, 8(10): e77165.

[18] XU Y, TAN Y, ASOKANATHAN C, et al. Characterization of co-purified acellular pertussis vaccines[J]. **Hum Vaccines ImmunoTher**, 2015, 11(2): 421-427.

[19] LI L, DENG J, MA X, et al. High prevalence of macrolide-resistant *Bordetella pertussis* and *ptxP1* genotype, mainland China, 2014—2016[J]. **Emerg Infect Dis**, 2019, 25(12): 2205-2214.

[20] MOOI F R, VAN LOO I H, KING A J. Adaptation of Bordetella pertussis to vaccination: a cause for its reemergence?[J]. **Emerg Infect Dis**, 2001, 7(3): 526-528.

[21] ZHANG L, XU Y, ZHAO J, et al. Effect of vaccination on *Bordetella pertussis* strains, China[J]. **Emerg Infect Dis**, 2010, 16(11): 1695-1701.

[22] WANG Z, LUAN Y, DU Q, et al. The global prevalence ptxP3 lineage of *Bordetella pertussis* was rare in young children with the co-purified aPV vaccination: a 5 years retrospective study[J]. **BMC Infect Dis**, 2020, 20(1): 615.

[23] XU Y, ZHANG L, TAN Y, et al. Genetic diversity and population dynamics of *Bordetella pertuss* is in China between 1950—2007[J]. **Vaccine**, 2015, 33(46): 6327-6331.

[24] BART M J, HARRIS S R, ADVANI A, et al. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination[J/OL]. **mBio**, 2014, 5(2): e01074.

[25] 许雁南, 王晓敏, 周旭东. 杭州市流动人口抗生素知识与行为及其影响因素研究[J]. **中国社会医学杂志**, 2021, 38(5): 5.
XU Yannan, WANG Xiaomin, ZHOU Xudong. Study on antibiotic-related knowledge, behavior and influencing factors among migrant population in Hangzhou[J]. **Chinese Journal of Social Medicine**, 2021, 38(5): 5. (in Chinese)

[26] 杨 琼. 下城区儿童家长抗生素合理使用知识及其影响因素研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
YANG Qiong. A study on the rational use of antibiotics and its influential factors in children's parents in Xiacheng district[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018. (in Chinese)

[本文编辑 沈 敏 余 方]