

• 论 著 •

尘螨疫苗免疫治疗对过敏性哮喘小鼠气道 抗铜绿假单胞菌感染能力的影响*

陈书恩^{1,2}, 赵 丹^{1,3}, 周明德^{1,2}, 陈 相^{1,2}, 刘志伟^{1,2}, 杨小猛^{4△}, 张秀明^{1,5}

- (1. 广东省深圳市罗湖医院集团医学检验中心, 广东深圳 518000; 2. 广东省深圳市罗湖区妇幼保健院检验科, 广东深圳 518019; 3. 广东省深圳市罗湖区慢性病防治院检验科, 广东深圳 518023; 4. 广东省深圳市罗湖区妇幼保健院人力资源部, 广东深圳 518019; 5. 广东省深圳市罗湖区人民医院医学检验科, 广东深圳 518000)

摘 要:目的 探讨尘螨疫苗免疫治疗对过敏性哮喘小鼠气道抗铜绿假单胞菌感染能力的影响。方法 取 24 只 BALB/c 小鼠随机分为 4 组(非哮喘组、非哮喘感染组、哮喘感染组和哮喘感染治疗组), 每组 6 只。建立粉尘螨过敏性哮喘小鼠模型, 采用尘螨疫苗进行过敏原特异性免疫治疗, 并经鼻感染铜绿假单胞菌。取小鼠肺组织及支气管肺泡灌洗液(BALF)分析小鼠肺部炎症状况; 取小鼠肺组织匀浆进行铜绿假单胞菌选择性培养, 并分析小鼠肺组织及 BALF 沉渣细菌载量; 免疫荧光组织化学染色分析小鼠气道上皮细胞 β 防御素 3(MBD-3) 的表达水平, 聚合酶链反应检测 MBD-3 的 mRNA 水平, 并对以上数据进行统计学处理。结果 哮喘感染治疗组小鼠肺部炎症浸润比哮喘感染组轻, 哮喘感染治疗组小鼠 BALF 中的炎性细胞低于哮喘感染组($P < 0.05$)。哮喘感染治疗组小鼠肺组织及 BALF 细菌菌落数低于哮喘感染组($P < 0.05$)。哮喘感染组 MBD-3 表达水平低于非哮喘感染组和哮喘感染治疗组($P < 0.05$), 而哮喘感染治疗组和非哮喘感染组 MBD-3 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 尘螨疫苗免疫治疗可能通过上调 MBD-3 的表达来降低哮喘小鼠气道铜绿假单胞菌感染的严重程度, 从而增强过敏性哮喘小鼠气道抗铜绿假单胞菌感染能力。

关键词: 过敏原特异性免疫疗法; 尘螨疫苗; 抗菌宿主防御; β 防御素 3

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.23.002

中图法分类号: R392.3

文章编号: 1673-4130(2020)23-2821-06

文献标识码: A

Effect of dust mite vaccine immunotherapy on the ability of airway to resist *Pseudomonas aeruginosa* infection in allergic asthma mice*

CHEN Shu'en^{1,2}, ZHAO Dan^{1,3}, ZHOU Mingde^{1,2}, CHEN Xiang^{1,2},
LIU Zhiwei^{1,2}, YANG Xiaomeng^{4△}, ZHANG Xiuming^{1,5}

- (1. Medical Laboratory Center of Shenzhen Luohu Hospital Group, Shenzhen, Guangdong 518000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Luohu District Maternity and Child Healthcare Hospital, Shenzhen, Guangdong 518019, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Luohu District Chronic Disease Prevention and Treatment Hospital, Shenzhen, Guangdong 518023, China; 4. Department of Human Resources, Shenzhen Luohu District Maternity and Child Healthcare Hospital, Shenzhen, Guangdong 518019, China; 5. Department of Medical Laboratory, Shenzhen Luohu District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of dust mite vaccine immunotherapy on the ability of airway to resist *Pseudomonas aeruginosa* infection in allergic asthma mice. **Methods** Twenty four BALB/c mice were randomly divided into 4 groups (non-asthmatic group, non-asthmatic infection group, asthma infection group and asthma infection treatment group), six in each group. The mouse models of dust mite allergic asthma were established, and the dust mite vaccine was used for allergen-specific immunotherapy, and *Pseudomonas aeruginosa*

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(91442118、31328014); 广东省深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201601062)。

作者简介: 陈书恩, 男, 主任技师, 主要从事医学免疫、遗传和分子生物学检验诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: youngoer@fox-mail.com。

本文引用格式: 陈书恩, 赵丹, 周明德, 等. 尘螨疫苗免疫治疗对过敏性哮喘小鼠气道抗铜绿假单胞菌感染能力的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(23): 2821-2825.

nosa was infected through the nose. The lung tissues and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of mice were taken to analyze the lung inflammation, and the lung tissue homogenates were taken for selective culture of *Pseudomonas aeruginosa*, and the bacterial load of mouse lung tissue and BALF sediment was analyzed. Immunofluorescence histochemical staining was used to analyze the expression level of mouse beta defensin-3 (MBD-3) in mouse airway epithelial cells, and the mRNA level of MBD-3 was detected by polymerase chain reaction, and the above data was analyzed statistically. **Results** The lung inflammation infiltration in the asthma infection treatment group was less than that in the asthma infection group, and the inflammatory cells in the BALF of the asthma infection treatment group were lower than those in the asthma infection group ($P < 0.05$). The number of bacterial colonies in lung tissue and BALF of asthma infection treatment group were lower than those in the asthma infection group ($P < 0.05$). The expression level of MBD-3 in the asthma infection group was lower than that in the non-asthma infection group and the asthma infection treatment group ($P < 0.05$), but there was no statistically significant difference in MBD-3 expression between the asthma infection treatment group and the non-asthma infection group ($P > 0.05$). **Conclusion** Immunotherapy with dust mite vaccine may reduce the severity of *Pseudomonas aeruginosa* infection in airway of asthma mice by up-regulating the expression of airway MBD-3, thereby enhancing the ability of airway to resist *Pseudomonas aeruginosa* infection in allergic asthmatic mice.

Key words: allergen specific immunotherapy; dust mite vaccine; antibacterial host defense; beta defensin 3

先天性免疫系统是宿主防御的第一道防线,由固有免疫屏障、固有免疫细胞和固有免疫分子组成^[1]。抗菌肽(AMP)是重要的固有免疫分子,具有广谱抗菌活性,包括防御素和 cathelicidins 两大主要的 AMP 家族^[2-3]。气道上皮细胞是先天性肺部免疫系统的组成部分,能分泌 β 防御素等多种 AMP^[4]。以往研究发现采用 β 防御素治疗严重联合免疫缺陷小鼠,可以降低其皮下组织中的细菌水平^[5]。

过敏性哮喘是一种以肺嗜酸性粒细胞浸润和气道高反应性为特征的 IgE 介导的慢性炎症性疾病^[6]。难治性哮喘是气道感染的危险因素,过敏性气道炎症抑制了气道抗菌宿主防御机制^[7-8]。过敏原特异性免疫疗法 (ASIT) 是目前治疗过敏性哮喘的唯一有效方法。然而,尚不清楚采用尘螨疫苗免疫治疗是否影响气道抗菌宿主防御反应。因此,本研究拟建立粉尘螨过敏性哮喘小鼠模型,并采用尘螨疫苗免疫治疗,探讨尘螨疫苗免疫治疗对哮喘小鼠气道上皮细胞 β 防御素 3 (MBD-3) 表达的调节作用,从而为治疗哮喘提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料来源 24 只雌性 BALB/c 小鼠 (16~22 g、6~8 周龄) 购自广东省实验动物中心,饲养于深圳大学医学院无特定病原体 (SPF) 级动物实验室。所有动物实验都获得了深圳大学动物伦理委员会批准。

1.2 试剂与仪器 铜绿假单胞菌由深圳市罗湖区妇幼保健院临床微生物室提供。粉尘螨由深圳大学医学院过敏反应与免疫学研究室提供,于恒湿 (相对湿度 75% $\pm$ 1%)、恒温 (27 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 培养室中隔离培养。兔抗小鼠 MBD-3 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司,FTIC 标记的羊抗兔 IgG 二抗购自丹麦 Envision 公司,RPMI-1640 培养液购自美国 Sigma 公司,SYBR

反转录-聚合酶链反应试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司,苏木精-伊红 (HE) 染液、瑞氏染液和革兰染液购自珠海贝索公司。DM3000LED 型荧光显微镜为德国徕卡公司产品,ABI 7500 型 PCR 仪为美国应用生物系统公司产品。MBD-3 荧光染色强度分析软件为 ImageJ 1.48v。

1.3 尘螨疫苗制备 将研钵、匀浆器洗净烘干备用。称取 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存的粉尘螨 4 g,倒入研钵中,用液氮充分研磨成粉末,转移到匀浆器中,加入 5 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS) 和适量的蛋白酶抑制剂,冰上操作,充分匀浆 2 h,然后 4 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 2 h。4 $^{\circ}\text{C}$ 12 000 r/min 离心 5 min,吸取中间层蛋白,避免吸到最上层的脂质和沉淀。再按照上述方法离心 2~3 次,直到溶液完全澄清。用 BCA 法测定蛋白浓度,以 PBS 为稀释液配制蛋白终浓度为 5 g/L 的溶液,经 0.22 μm 的无菌滤膜过滤,以去除杂质和细菌,-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.4 粉尘螨过敏性哮喘小鼠模型的建立和实验方案 BALB/c 小鼠随机分为 4 组,每组 6 只,即非哮喘组、非哮喘感染组、哮喘感染组和哮喘感染治疗组。在第 0、7 和 14 天,哮喘感染组和哮喘感染治疗组每只小鼠用 50 μg 尘螨疫苗加 2 mg 明矾进行腹腔内致敏。从第 28 天 (每 2 天,总共 3 次给药) 开始,分别用等体积 PBS (哮喘感染组)、0.1 g 尘螨疫苗 (哮喘感染治疗组) 对小鼠进行舌下给药。完成最终免疫 7 d 后,哮喘感染治疗组每天再用 50 μg 尘螨疫苗对小鼠进行鼻内攻击,持续 7 d;采用 PBS 同样方法处理非哮喘组和非哮喘感染组。用乙醚麻醉非哮喘感染组、哮喘感染组和哮喘感染治疗组小鼠,然后在鼻内感染 1×10^7 个菌落的铜绿假单胞菌,非哮喘组小鼠接受等量 PBS。24 h 后处死小鼠,取支气管肺泡灌洗液 (BALF)、肺组织备用。

1.5 组织病理学分析和免疫荧光组织化学 室温下将肺组织固定在 4% 冷甲醛溶液中 24 h, 石蜡包埋, 制备成厚度为 5 μ m 的系列切片。一部分切片用 HE 染色, 光学显微镜检查组织学变化。另一部分切片脱蜡、再水合。用 0.3% 过氧化氢封闭内源过氧化物酶活性, 室温下孵育 10 min。用枸橼酸盐 (pH=6) 在 95 $^{\circ}$ C 水浴中进行抗原回收, 持续 40 min。将切片与抗 MBD-3 的兔多克隆抗体 (1:300) 在 37 $^{\circ}$ C 孵育 45 min, 然后再应用 FTIC 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (1:500) 37 $^{\circ}$ C 孵育 45 min。最后, 在荧光显微镜下观察荧光强度, 采用 ImageJ 1.48v 软件分析得到相对荧光强度。

1.6 瑞氏染色和革兰染色 收集小鼠 BALF, 4 $^{\circ}$ C、400 $\times$ g 离心 3 min。除去上清液并加入 100 μ L PBS 以重悬样品。取悬浮液涂片, 一部分涂片用瑞氏染液染色, 在光学显微镜高倍视野 (HP) 下计数涂片中炎症细胞的数量。另一部分涂片用革兰染液染色, 在光学显微镜油镜视野下计数涂片中革兰阴性杆菌的数量。

1.7 细菌的定量 无菌操作将肺组织取出, 称重, 并在 RPMI 1640 培养液中匀浆, 将悬浮液接种在铜绿假单胞菌选择性平板上, 37 $^{\circ}$ C 孵育 24 h 后, 计数细菌菌落形成单位 (CFU)。

1.8 MBD-3 mRNA 表达水平检测 参照试剂盒说明书, 用 Trizol 试剂从小鼠肺组织中提取总 RNA, 采用 cDNA 合成试剂盒制备相应的 cDNA。反转录-聚合酶链反应的引物如下: MBD-3, 上游引物 5'-GCATTTGGCAACTCGTCAG-3' 和下游引物 5'-TGGAGGCAAAATCTGGTGT-3'; 内参照 β -肌动蛋白, 上游引物 5'-CCTGACTGACTACCTCATGAAG-3' 和下游引物 5'-CGACCATCCTCCTCTCTGATAG-3'。在 ABI-7300 型 PCR 仪上采用 SYBR 绿色聚合酶链反应试剂盒完成反转录聚合酶链反应。反应条件为

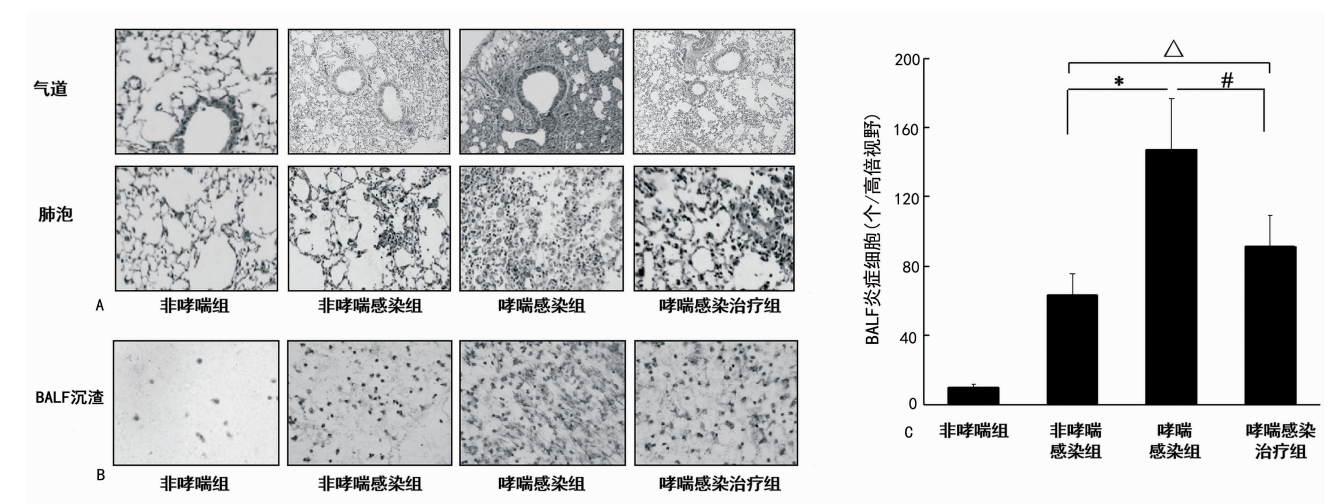
cDNA 合成和变性: 45 $^{\circ}$ C、40 min, 95 $^{\circ}$ C、5 min; PCR 扩增: 35 个循环, 94 $^{\circ}$ C、30 s, 60 $^{\circ}$ C、45 s, 72 $^{\circ}$ C、2 min。熔解曲线法分析验证反应产物, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 MBD-3 对 β -肌动蛋白的相对 mRNA 水平。

1.9 统计学处理 采用 SPSS19.0 对数据进行分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 正态性检验采用 Shapiro-Wilktest 法, 多组间比较采用方差分析, 组间两两比较采用 SNK- q 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

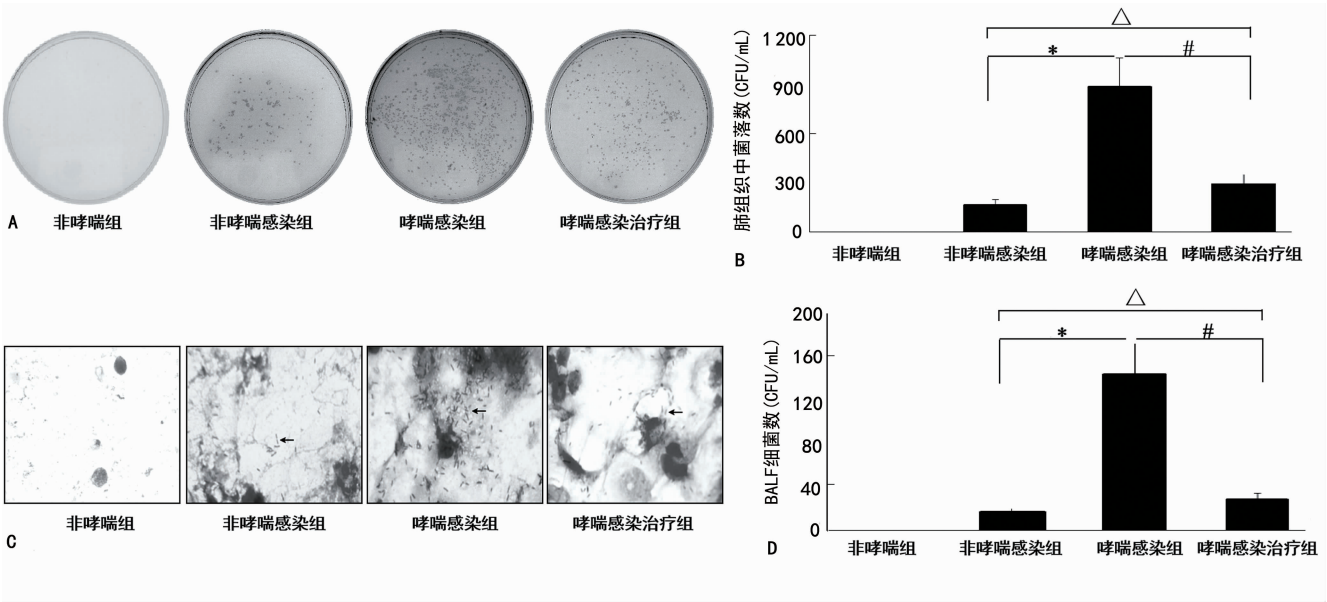
2.1 4 组小鼠肺部炎症比较 4 组小鼠肺组织 HE 染色显示哮喘感染治疗组小鼠肺部中性粒细胞浸润比哮喘感染组小鼠轻, 见图 1A。BALF 沉渣瑞氏染色涂片的中性粒细胞计数比较, 哮喘感染组高于哮喘感染治疗组 ($q=107.334, P<0.05$)、非哮喘感染组 ($q=143.112, P<0.05$) 和非哮喘组 ($q=250.447, P<0.05$), 哮喘感染治疗组高于非哮喘感染组 ($q=35.778, P<0.05$) 和非哮喘组 ($q=143.113, P<0.05$), 非哮喘感染组高于非哮喘组 ($q=107.334, P<0.05$), 见图 1B、C。

2.2 4 组小鼠肺组织匀浆及 BALF 中细菌载量比较 小鼠肺组织匀浆培养, 显示哮喘感染组细菌菌落数高于非哮喘感染组 ($q=1252.234, P<0.05$) 和哮喘感染治疗组 ($q=1010.732, P<0.05$), 哮喘感染治疗组高于非哮喘感染组 ($q=241.502, P<0.05$), 非哮喘组小鼠肺组织匀浆培养后细菌菌落数为 0, 见图 2A、B。小鼠 BALF 沉渣涂片进行革兰染色, 哮喘感染组细菌菌落数高于非哮喘感染组 ($q=250.447, P<0.05$) 和哮喘感染治疗组 ($q=205.724, P<0.05$), 哮喘感染治疗组高于非哮喘感染组 ($q=44.723, P<0.05$), 非哮喘组 BALF 沉渣细菌数为 0, 见图 2C、D。



注: A 为小鼠气道和肺组织切片 HE 染色 ($\times 200$); B 为 BALF 离心沉淀, 沉渣涂片, 瑞氏染色 ($\times 400$); C 为每 HP 平均细胞计数 (个/高倍视野)。哮喘感染组与非哮喘感染组、哮喘感染组与哮喘感染治疗组、哮喘感染治疗组与非哮喘感染组比较, * $\# \Delta P<0.05$ 。

图 1 4 组小鼠肺部炎症情况

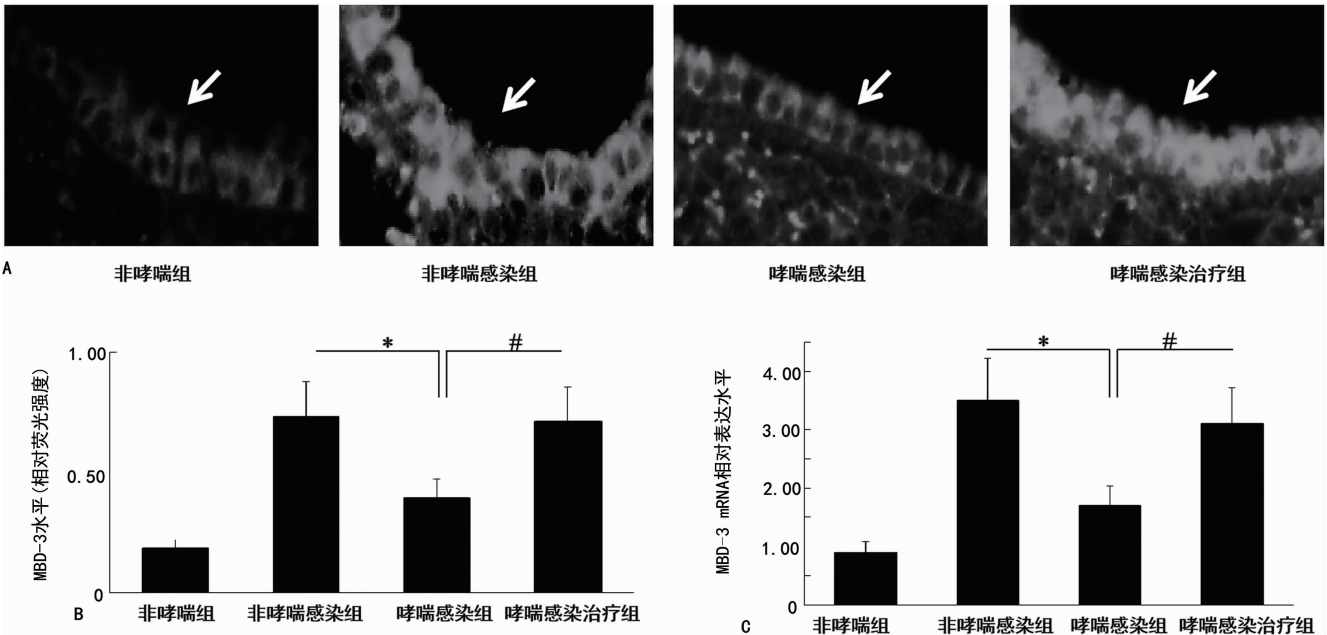


注:A 为 4 组小鼠肺组织匀浆在铜绿假单胞菌选择性血琼脂平板上培养后形成的细菌菌落;B 为 4 组小鼠 BALF 沉渣涂片的革兰染色结果,箭头所示为铜绿假单胞菌;C 为 4 组小鼠肺组织匀浆培养细菌菌落计数结果;D 为 4 组小鼠 BALF 细菌菌落计数结果。哮喘感染组与非哮喘感染组、哮喘感染组与哮喘感染治疗组、哮喘感染治疗组与非哮喘感染组比较, *[#] $P<0.05$ 。

图 2 4 组小鼠肺组织均浆及 BALF 中铜绿假单胞菌载量

2.3 4 组 MBD-3 表达水平比较 结果显示,非哮喘感染组和哮喘感染治疗组 MBD-3 均高表达,两组的 MBD-3 表达水平差异无统计学意义($q=1.789, P>0.05$);哮喘感染组 MBD-3 的表达水平低于非哮喘感染组($q=60.823, P<0.05$)和哮喘感染治疗组($q=$

$59.034, P<0.05$),见图 3A、B。4 组 MBD-3 的 mRNA 水平比较,哮喘感染组低于非哮喘感染组($q=28.623, P<0.05$)和哮喘感染治疗组($q=26.834, P<0.05$),哮喘感染治疗组和非哮喘感染组比较差异无统计学意义($q=1.789, P>0.05$),见图 3C。



注:A 为免疫荧光组织化学法($\times 200$)分析 4 组 MBD-3 的表达和定位(图中白色部分即为 MBD-3 荧光);B 为 ImageJ 1.48v 软件分析 4 组 MBD-3 表达的荧光强度;C 为 qPCR 法分析 4 组 MBD-3 的 mRNA 水平。哮喘感染组与非哮喘感染组、哮喘感染组与哮喘感染治疗组比较, *[#] $P<0.05$ 。

图 3 免疫荧光组织化学法和 qPCR 法检测 MBD-3 的表达水平

3 讨 论

过敏性哮喘是我国常见的一种复杂的慢性炎症性气道疾病。气道总是暴露在微生物环境中,气道感

染是最常见的疾病。以往研究表明,过敏性气道炎症能抑制气道抗菌宿主防御反应,同时,气道感染和细菌定植在难治性哮喘中发挥重要作用^[9]。铜绿假单

胞菌感染是慢性肺部感染的危险因素,也是患者肺部感染发病率和病死率的主要决定因素^[10]。

ASIT 是世界卫生组织认可的治疗过敏性哮喘的唯一有效方法^[11]。其中调节性 T 细胞(Treg)是哮喘患者 ASIT 的重要免疫调节细胞,Treg 数量不足和(或)功能低下是发生尘螨过敏性哮喘的重要因素。Treg 能够直接抑制 Th2 反应和肥大细胞、嗜碱性粒细胞、粒细胞和嗜酸性粒细胞的活化。采用尘螨疫苗免疫治疗的 ASIT 可抑制加重的 Th2 型免疫反应,并上调 Treg 的数量和功能,从而减轻或缓解哮喘的严重程度^[12]。然而,尘螨疫苗免疫治疗能否影响哮喘患者的抗微生物宿主防御反应仍不清楚。本研究发现,铜绿假单胞菌感染哮喘小鼠的肺部炎症明显比铜绿假单胞菌感染正常小鼠严重,其细菌载量也显著高于铜绿假单胞菌感染正常小鼠。然而,采用尘螨疫苗免疫治疗时,铜绿假单胞菌感染哮喘小鼠的肺部炎症明显减轻,并且铜绿假单胞菌载量显著降低。因此,本研究结果提示,铜绿假单胞菌感染加重了哮喘小鼠的肺部炎症,而尘螨疫苗免疫治疗能够增强哮喘小鼠的抗微生物宿主防御反应。

先天性免疫是机体发育和进化过程中形成的自然免疫防御系统,是宿主抵御微生物入侵的第一道防线,由固有免疫屏障、固有免疫细胞和固有免疫分子组成^[13]。AMP 是重要的固有免疫分子,具有广谱杀菌作用,包括防御素和 cathelicidins 两大主要的 AMP 家族。防御素是一个重要的内源性 AMP 家族,能够快速、非特异性地杀死入侵的病原体^[14]。作为先天性免疫的多功能效应分子,防御素是固有免疫系统的关键成分,在体外可杀死或抑制细菌、真菌和包膜病毒等大多数微生物^[15]。人 β 防御素 2(HBD-2)是气道先天性免疫的主要成分,是第一个由炎症和细胞因子诱导表达的人防御素。HBD-2 在皮肤、黏膜和气道黏膜的抗感染免疫中起重要作用^[16]。本研究发现,哮喘感染组小鼠 MBD-3(HBD-2 的同源物)的表达水平显著低于非哮喘感染组小鼠;在接受尘螨疫苗免疫治疗后,哮喘感染组小鼠 MBD-3 的表达上调,与非哮喘感染组小鼠比较差异无统计学意义。因此,本研究结果提示,铜绿假单胞菌感染能抑制哮喘 MBD-3 的表达,而尘螨疫苗免疫治疗能够上调哮喘小鼠气道中被抑制的 MBD-3 的表达。

4 结 论

本研究表明,尘螨疫苗免疫治疗可能通过上调 MBD-3 的表达,来降低哮喘小鼠气道铜绿假单胞菌感染的严重程度;这些发现提示,除上调宿主特异性免疫应答外,尘螨疫苗免疫治疗还可能增强哮喘小鼠气

道抗菌宿主防御反应。

参考文献

- [1] KUBES P, JENNE C. Immune Responses in the Liver [J]. Annu Rev Immunol, 2018, 36: 247-277.
- [2] GREBER K E, DAWGUL M. Antimicrobial peptides under clinical trials[J]. Curr Top Med Chem, 2017, 17(5): 620-628.
- [3] SIERRA J M, FUSTÉ E, RABANAL F, et al. An overview of antimicrobial peptides and the latest advances in their development[J]. Expert Opin Biol Ther, 2017, 17(6): 663-676.
- [4] HOSTANSKA K, MELZER J, AMON A, et al. Suppression of interleukin (IL)-8 and human beta defensin-2 secretion in LPS-and/or IL-1 β -stimulated airway epithelial A549 cells by a herbal formulation against respiratory infections (BNO 1030) [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(2): 228-233.
- [5] GUANÍ-GUERRA E, NEGRETE-GARCÍA M C, MONTES-VIZUET R, et al. Human β -defensin-2 induction in nasal mucosa after administration of bacterial lysates[J]. Arch Med Res, 2011, 42(3): 189-194.
- [6] MASTRORILLI C, POSA D, CIPRIANI F, et al. Asthma and allergic rhinitis in childhood; what's new[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2016, 27(8): 795-803.
- [7] UDDIN M, WATZ H, MALMGREN A, et al. NETopathic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease and severe asthma[J]. Front Immunol, 2019, 10: 47.
- [8] MICHAUDET C, MALATY J. Chronic cough: evaluation and management[J]. Am Fam Physician, 2017, 96(9): 575-580.
- [9] PATTARONI C, WATZENBOECK M L, SCHNEIDEGGER S, et al. Early-life formation of the microbial and immunological environment of the human airways[J]. Cell Host Microbe, 2018, 24(6): 857-865.
- [10] WINSTANLEY C, O'BRIEN S, BROCKHURST M A. Pseudomonas aeruginosa evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections[J]. Trends Microbiol, 2016, 24(5): 327-337.
- [11] BESH O, BESH D, SORKOPUD O, et al. ASIT as the component of bronchial asthma's therapy can improve the adherence to the treatment[J]. Wiad Lek, 2018, 71(4): 849-854.
- [12] EL-QUTOB D, RECHE P, SUBIZA J L, et al. Peptide-based allergen specific immunotherapy for the treatment of allergic disorders[J]. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov, 2015, 9(1): 16-22.
- [13] WERFEL T, ALLAM J P, BIEDERMANN T, et al. Cellular and molecular immunologic mechanisms in patients with atopic dermatitis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2016, 138(2): 336-349.

力增强,也可自行清除定植菌^[17]。然而,若去定植运用不当,会造成菌群失调,同时抗菌药物过度使用也会造成 MDR 的产生。

4 结 论

ICU 和 EICU 的 MDR 定植较为严重,WBC、CRP、PCT 水平和胞内菌及对比监测可以作为医务人员鼻咽部定植菌判定指标。在今后的研究中,要逐步增加其他部位定植菌的监测,才能更好的保证医务人员、患者和环境的健康。

参考文献

- [1] 周华,周建英,俞云松.多重耐药革兰阴性杆菌感染诊治专家共识解读[J].中华内科杂志,2014,53(12):984-987.
- [2] DE JONGE E,DE BOER M G J,VAN ESSEN E H R,et al. Effects of a disinfection device on colonization of sink drains and patients during a prolonged outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit[J]. J Hosp Infect,2019,102(1):70-74.
- [3] MODY L,FOXMAN B,BRADLEY S,et al. Longitudinal assessment of multidrug-resistant organisms in newly admitted nursing facility patients: implications for an evolving population[J]. Clin Infect Dis,2018,67(6):837-844.
- [4] CHEN C C,PASS S E. Risk factors for and impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization in patients in a medical intensive care unit[J]. Am J Infect Control,2013,41(11):1100-1101.
- [5] 张静,瞿介明.早发与晚发医院获得性肺炎致病原的构成与治疗策略[J].中华结核和呼吸杂志,2008,31(3):238-240.
- [6] 曹慧玲,杭鸣,赵苏琰,等.痰涂片检出白细胞吞噬细菌在下呼吸道感染诊断中的价值[J].检验医学,2018,33(2):115-118.
- [7] SIEGEL S J,WEISER J N. Mechanisms of bacterial colonization of the respiratory tract[J]. Annu Rev Microbiol,2015,69:425-444.
- [8] MACESIC N,GOMEZ-SIMMONDS A,SULLIVAN S B,et al. Genomic surveillance reveals diversity of multidrug-resistant organism colonization and infection:a prospective cohort study in liver transplant recipients[J]. Clin Infect Dis,2018,67(6):905-912.
- [9] KANNAN A,YANG Z,KIM M K,et al. Dynamic switch-

ing enables efficient bacterial colonization in flow[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2018,115(21):5438-5443.

- [10] KAZEMIAN H,BOURBOUR S,BEHESHTI M,et al. Oral Colonization by nosocomial pathogens during hospitalization in intensive care unit and prevention strategies [J]. Recent Pat Antiinfect Drug Discov,2017,12(1):8-20.
- [11] GALLAHER J R,BANDA W,LACHIEWICZ A M,et al. Colonization with multidrug-resistant enterobacteriaceae is associated with increased mortality following burn injury in sub-saharan africa[J]. World J Surg,2018,42(10):3089-3096.
- [12] PALING F P,WOLKEWITZ M,BODE L G M,et al. *Staphylococcus aureus* colonization at ICU admission as a risk factor for developing *S. aureus* ICU pneumonia[J]. Clin Microbiol Infect,2017,23(1):49. e9-49. e14.
- [13] BHAUMIK J,MUKHOPADHYAY A,GHOSH A,et al. Postoperative infection rate and clinical outcome after oncosurgery for endometrial carcinoma in a patient population with high prevalence of multidrug-resistant organism colonization and multiple comorbidities [J]. Infect Control Hosp Epidemiol,2018,39(9):1140-1141.
- [14] SUGAWARA G,YOKOYAMA Y,EBATA T,et al. Preoperative biliary colonization/infection caused by multidrug-resistant (MDR) pathogens in patients undergoing major hepatectomy with extrahepatic bile duct resection [J]. Surgery,2018,163(5):1106-1113.
- [15] RUIZ-GAITAN A,MARTÍNEZ H,MORET A M,et al. Detection and treatment of *Candida auris* in an outbreak situation:risk factors for developing colonization and candidemia by this new species in critically ill patients[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2019,17(4):295-305.
- [16] DAVIDO B,BATISTA R,FESSI H,et al. Fecal microbiota transplantation to eradicate vancomycin-resistant resistant enterococci colonization in case of an outbreak[J]. Med Mal Infect,2019,49(3):214-218.
- [17] 郭立华,沈秀丽,刘锋.多重耐药定植菌与医院感染的关系及去定植措施的效果研究[J].中华医院感染学杂志,2018,28(15):2249-2252.

(收稿日期:2020-04-10 修回日期:2020-10-04)

(上接第 2825 页)

- [14] HOLLY M K,DIAZ K,SMITH J G. Defensins in viral infection and pathogenesis[J]. Annu Rev Virol,2017,4(1):369-391.
- [15] LI H,VELIVELLI S L S,SHAH D M. Antifungal potency and modes of action of a novel olive tree defensin a-

gainst closely related ascomycete fungal pathogens[J]. Mol Plant Microbe Interact,2019,32(12):1649-1664.

- [16] WANG G. Human antimicrobial peptides and proteins [J]. Pharmaceuticals(Basel),2014,7(5):545-594.

(收稿日期:2020-05-26 修回日期:2020-06-26)