

# 居室内毒素含量与儿童过敏性哮喘相关性调查

胡东 张荣波 吴静

**【摘要】** 目的 了解居室内毒素含量对儿童过敏性哮喘患病率的影响。方法 向安徽省安庆、淮南地区 2986 名 8 或 12 岁在校儿童父母发放哮喘标准调查表,动态浊度法检测儿童床铺尘内毒素含量,放射性变应原荧光酶免疫吸附实验(RAST-FEIA)检测其血清中特异性 IgE(sIgE)含量。结果 最终具有完整资料儿童为 904 人,居室内毒素含量与儿童过敏性哮喘患病率呈负相关( $OR = 0.48, 95\% CI: 0.32 \sim 0.72, P < 0.05$ ),与过敏性致敏呈负相关( $OR = 0.65, 95\% CI: 0.49 \sim 0.94, P < 0.05$ ),与非过敏性哮喘及哮喘无显著相关。与正常人群相比,过敏性致敏、哮喘、哮喘者的内毒素水平显著升高( $M-W U 15 138.0, P < 0.01; M-W U 4858.0, P < 0.01; M-W U 4041.0, P < 0.01$ )。结论 居室内毒素的早期暴露可能是预防儿童过敏性哮喘及致敏产生的保护因素之一。

**【关键词】** 哮喘;内毒素;暴露

**Study on the relations between concentration of endotoxin in dwelling and atopic asthma in school-age children** HU Dong, ZHANG Rong-bo, WU Jing. School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of endotoxin concentration in dwellings on the prevalence of atopic asthma in children. **Methods** Standardized questionnaires of asthma were distributed to the parents of 2986 school children aged between 8 and 12 years and endotoxin content in children's mattress was measured by a kinetic limulus assay. A radioallergosorbent technique — fluorescence enzyme immunoassay(RAST-FEIA) was used to measure the level of specific IgE in serum. **Results** Complete data was available for 904 children with males more than females. There were both negative associations seen between endotoxin levels and both atopic asthma ( $OR = 0.48, 95\% CI: 0.32-0.72, P < 0.05$ ) and atopic sensitization ( $OR = 0.65, 95\% CI: 0.49-0.94, P < 0.05$ ) but not with non-atopic asthma and wheeze. Comparing with normal people, patients with atopic sensitization, atopic wheeze and atopic asthma had a higher levels of endotoxin ( $M-W U: 15 138.0, P < 0.01, M-W U: 4858.0, P < 0.01, M-W U: 4041.0, P < 0.01$ ). **Conclusion** Exposure to endotoxin in early lives of children might have a protective effect on atopic asthma and sensitization.

**【Key words】** Asthma; Endotoxin; Exposure

儿童哮喘近年来发病率持续升高;多种环境因素被认为在哮喘或变态反应的形中起重要作用,对其解释亦存在多种假说。“卫生假说”认为现代社会清洁程度的提高是过敏性疾病增多的重要原因之一<sup>[1]</sup>。内毒素是革兰阴性菌细胞壁成分,遍布自然环境中,是卫生水平的重要标志之一。作为强效免疫调节剂,内毒素一方面能诱导气道炎症,另一方面通过活化 Th1 细胞,从而抑制以 Th2 免疫为主的特异性疾病的产生<sup>[2,3]</sup>。农场儿童因与动物的长期接触,处于较高水平的内毒素暴露,具有较低的哮喘或

过敏性病症发病率<sup>[4,5]</sup>。因此,本调查目的为分析居室内毒素水平与过敏性哮喘患病率间的相关性。

## 对象与方法

1. 对象:2004 - 2005 年在安徽省安庆、淮南地区向 2986 名 8 或 12 岁小学生父母发放哮喘标准调查问卷,包括国际儿童哮喘与过敏性的研究 (ISAAC)核心问题<sup>[6]</sup>,进行横断面调查,收回有效问卷 2576 份(86.3%, 2576/2986)。取得其父母、所在学校及儿童本人同意后,采集儿童血液样本及其床铺尘样本,最终获得完整资料为 904 人。

2. 器材:CAP 酶免疫荧光检测仪及 sIgE 检测 Kit(pharmacia Diagnostic AB, Uppsala, Sweden),真

作者单位:232001 淮南,安徽理工大学医学院病原生物学及免疫学教研室

空吸尘器(飞利浦-1018),尘样收集管(Indoor Biotechnologies),脂多糖标准品(*E. coli* O55:B5, SIGMA),细菌内毒素动态浊度仪(ATI-320, Lab Kinetics),鲎试剂(浙江安度斯公司)。

3. 方法:

(1)尘样本采集<sup>[7]</sup>:选用同一型号真空吸尘器对儿童所用床铺近枕巾处2 m<sup>2</sup>吸尘2 min,置于尘样本收集管内,-20℃保存。浸液:取100 mg尘样加入1 ml去内毒素水快速振荡1.5 h,取上清液并用去内毒素水稀释100倍。

(2)内毒素检测:取尘样浸液100 μl加入玻璃管中,按动态浊度法鲎试剂盒说明书进行检测,标准曲线浓度为(0.05-0.5-5-50 EU/ml),每一样品做平行两管,取平均值用于计算内毒素水平(单位:EU/m<sup>2</sup>)。

(3)sIgE 检测:采集血样后,离心取血清于-20℃保存。CAP system FEIA 检测其 sIgE 水平;蒿草花粉(*w6*)、草花粉(*w22*)、屋尘螨(*der p1*)、粉尘螨(*der f1*)、狗皮屑(*dog dander*)、卵蛋白(OVA),在包被有特异变应原的 CAP(活化亲水性溴化氢多聚物胶囊)中加入待检血清,孵育30 min、洗板,加入β-半乳糖苷酶标记的抗-IgE抗体,孵育、洗板,再加入底物4-甲基伞桂β-半乳糖苷酶,以终止液终止反应,测定吸光度值(A)。检测标准:0.35、0.70、3.5 KU/L。

(4)调查问卷:问卷包含有 ISAAC 核心问题,如患病率、症状、潜在影响因子等<sup>[8,9]</sup>。若儿童父母的报告有医生诊断或反复性的哮喘症状或梗阻性强直性支气管炎,则归类为哮喘儿童<sup>[10]</sup>;若在最近12月内至少有一次哮喘发作,归类为哮喘儿童;若至少有一种sIgE≥3.5 KU/L,归类为过敏性致敏儿童;若有哮喘且至少有一种sIgE≥0.35 KU/L,归类为过敏性哮喘;若有哮喘且至少有一种sIgE≥0.35 KU/L,归类为过敏性哮喘;若仅有哮喘,而所有sIgE≤0.35 KU/L,归类为非过敏性哮喘;若仅有哮喘,而所有sIgE≤0.35 KU/L,归类为非过敏性哮喘。

(5)统计学分析:采用 CAP 0.35、0.70、3.5 KU/L级别限度值,将过敏性致敏分成3个区间,其过敏性致敏发生率的比较采用χ<sup>2</sup>检验。因内毒素含量数据呈非对称分布,且差距较大,所以用最大值(Max)、最小值(Min)及几何平均值(GM)表示,数据间比较采用 Wilcoxon Mann-Whitney test (M-W)。logistic 回归法分析内毒素水平(log<sub>10</sub>转换)升高对各种症状或疾病产生的危险度(OR),调整因素包括:年龄(1=8岁,2=12岁),性别(1=女,

2=男),地区(1=安庆,2=淮南),父母文化程度(0=≤初中三年级,1=>初中三年级),自出生后居室变化(未变=0,变=1),父母特应性(无=0,有=1)等。P<0.05具有统计学意义。采用 SPSS 12.0软件分析。

结 果

1. 问卷结果:具有完整数据904人,其概况见表1,男生略多于女生。

表1 904名研究对象概况

| 变 量                  | 人 数 | 百分比(%) |
|----------------------|-----|--------|
| 地区                   |     |        |
| 安庆                   | 470 | 52.0   |
| 淮南                   | 434 | 48.0   |
| 性别(女)                | 404 | 44.7   |
| 年龄(岁)                |     |        |
| 8                    | 474 | 52.4   |
| 12                   | 430 | 47.6   |
| 父母文化程度(≥初中三年级)       | 379 | 41.9   |
| 自出生后居室未变             | 502 | 55.5   |
| 父母过敏性                | 271 | 30.0   |
| 过敏性哮喘                | 44  | 4.9    |
| 过敏性致敏(sIgE≥3.5 KU/L) | 167 | 18.5   |
| 过敏性哮喘(最近12个月)        | 48  | 5.3    |
| 非过敏性哮喘               | 17  | 1.9    |
| 非过敏性哮喘               | 31  | 3.4    |

2. 过敏性致敏:依据 CAP 不同的分类值,将过敏性致敏分为3级:I级(>0.35 KU/L, <0.70 KU/L),II级(≥0.70 KU/L, ≤0.35 KU/L),III级(≥3.5 KU/L)。具体发生率见表2,致敏者的各类sIgE水平主要集中在III级区,3级过敏性致敏发生率差异具有统计学意义,特别是一些致敏性强的变应原,如 *w6*、*der p1*、*der f1*。

表2 904名研究对象致敏发生率(%)

| sIgE 水平                    | >0.35 KU/L        | I 级             | II 级             | III 级             |
|----------------------------|-------------------|-----------------|------------------|-------------------|
| 至少1种 <sup>a</sup>          | 211/904<br>(23.3) | 7/211<br>(3.3)  | 37/211<br>(17.5) | 167/211<br>(79.1) |
| 至少2种 <sup>a</sup>          | 128/904<br>(14.2) | 11/128<br>(8.6) | 35/128<br>(27.3) | 82/128<br>(64.1)  |
| 单个                         |                   |                 |                  |                   |
| <i>w6</i> <sup>a</sup>     | 104/895<br>(11.6) | 8/104<br>(7.7)  | 26/104<br>(25.0) | 70/104<br>(67.3)  |
| <i>w22</i> <sup>a</sup>    | 47/889<br>(5.3)   | 5/47<br>(10.6)  | 17/47<br>(36.2)  | 25/47<br>(53.2)   |
| <i>der p1</i> <sup>a</sup> | 123/893<br>(13.8) | 9/123<br>(7.3)  | 27/123<br>(22.0) | 87/123<br>(70.7)  |
| <i>der f1</i> <sup>a</sup> | 114/891<br>(12.8) | 9/114<br>(7.9)  | 30/114<br>(26.3) | 75/114<br>(65.8)  |
| <i>dog dander</i>          | 7/884<br>(0.8)    | 0/7<br>(0.0)    | 2/7<br>(28.6)    | 5/7<br>(71.4)     |
| OVA                        | 5/886<br>(0.6)    | 2/5<br>(40.0)   | 3/5<br>(60.0)    | 0/5<br>(0.0)      |

注:括号外数据分母为检测人数,分子为致敏人数;<sup>a</sup>3级区间比较 P<0.01

3. 内毒素暴露: 儿童床铺尘内毒素水平范围较大(16~184 754 EU/m<sup>2</sup>, GM: 3824 EU/m<sup>2</sup>), 各种人群内毒素暴露水平如表 3 所示, 过敏性致敏、哮喘及哮喘组内毒素水平明显低于正常人群(M-W U: 15 138.0,  $P < 0.01$ ; M-W U: 4858.0,  $P < 0.01$ ; M-W U: 4041.0,  $P < 0.01$ )。

4. 内毒素水平与过敏性症状及过敏性疾病间的相关性: 内毒素含量与过敏性致敏、过敏性哮喘及哮喘呈显著负相关性(表 4)。

表3 904 名研究对象内毒素水平

| 组 别    | 内毒素含量(GM, Min~Max)              |
|--------|---------------------------------|
| 过敏性致敏  | 934.3(18~15 509) <sup>a</sup>   |
| 过敏性哮喘  | 590.9(30~14 750) <sup>a</sup>   |
| 过敏性哮喘  | 546.0(43~14 662) <sup>a</sup>   |
| 非过敏性哮喘 | 6690.5(127~80 614) <sup>b</sup> |
| 非过敏性哮喘 | 8231.1(130~81 960) <sup>b</sup> |
| 正常人群   | 4473.7(16~184 754)              |

注: 与正常人群比较: <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P > 0.05$

表4 log<sub>10</sub>-内毒素与过敏性致敏、过敏性症状及疾病间相关性

| 症状与疾病              | OR 值(95% CI) <sup>b</sup>       |
|--------------------|---------------------------------|
| 过敏性致敏 <sup>a</sup> | 0.65(0.49~0.94) <sup>c</sup>    |
| 过敏性哮喘              | 0.49(0.31~0.83) <sup>c</sup>    |
| 过敏性哮喘              | 0.48(0.32~0.72) <sup>c</sup>    |
| 非过敏性哮喘             | 1.214(0.774~1.905) <sup>d</sup> |
| 非过敏性哮喘             | 1.315(0.674~2.565) <sup>d</sup> |

注: <sup>a</sup>至少一种 sIgE ≥ 3.5 KU/L; <sup>b</sup>校正因素: 年龄、性别、地区、父母特异性、父母教育程度、出生后居室变化; <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; <sup>d</sup> $P > 0.05$

### 讨 论

过敏性哮喘是个体遗传特征与环境因素共同作用的结果, 以气道炎症、间歇性气道阻塞、黏液大量分泌、气道高反应及 IgE 水平明显升高为特征<sup>[11]</sup>。全球哮喘防治协议(GINA)指出, 最近 20 年哮喘及其他过敏性疾病发病率呈普遍上升趋势, 基因的自然突变是一个缓慢的过程, 因此过敏性疾病发生率上升很大程度上与环境因素改变有关。诸多研究显示农场生活或与家畜接触能明显防止个人过敏性产生<sup>[4,5,12]</sup>, 其重要原因是因频繁的细菌或细菌成分暴露产生的保护作用, 即“卫生假说”<sup>[1,13,14]</sup>。此假设认为微生物及其成分通过诱导机体 Th1 型免疫的上调, 从而抑制变应原特异性 Th2 细胞活性及 Th2 型免疫, 而过敏性疾病大多显示 Th2 型优势免疫。

细菌内毒素作为革兰阴性菌细胞壁成分, 具有强烈免疫调节及促炎作用<sup>[2,3,15]</sup>, 同时作为屋尘组成成分广泛存在于各种环境中<sup>[16]</sup>, 农场屋尘中的细菌

内毒素含量明显高于城市, 而其儿童过敏性哮喘患病率却显著降低<sup>[4]</sup>。除对儿童过敏性疾病的保护作用, 细菌内毒素对成人过敏性致敏似乎也有保护作用<sup>[12]</sup>, 其机制可能是脂多糖(LPS)与其受体, APC(抗原提呈细胞)表达的 CD14 结合, 诱导 IL-12 分泌显著升高, 从而诱导 Th1 型免疫上调<sup>[12,17]</sup>。LPS 还可通过非 IL-12 依赖性途径抑制过敏性哮喘的炎症反应及气道高反应, 在 IL-12 基因敲除小鼠哮喘模型中发现, LPS 可通过 TLR4 依赖性途径刺激 NO 合成酶 2(NOS2)活化, 从而抑制 Th2 型免疫及气道高反应<sup>[11]</sup>。

本研究显示居室环境细菌内毒素水平与儿童过敏性致敏、过敏性哮喘及哮喘患病率呈显著负相关, 且不受儿童的年龄(8 或 12 岁)、性别、地域、父母的文化程度与过敏性、出生后居室的变换等因素的干扰, 提示环境微生物及其产物的暴露对过敏性疾病的发生有保护作用, 即支持“卫生假说”。为了获得较大样本及检验年龄因素对 logistic 回归分析的影响, 本调查选取了 8 或 12 岁具较大年龄差距的在校儿童。细菌内毒素水平与非过敏性哮喘及哮喘未显示相关性, 且这两组人群的内毒素水平似有升高的趋势, 但未有显著性。采用 CAP 0.35、0.70、3.5 KU/L 3 个级别限度值, 发现过敏性致敏例数集中于Ⅲ级区(>3.5 KU/L), 尤其是对于一些致敏性强的变应原, 如 w6, der p1, der f1, 因此, 本研究采用 3.5 KU/L 作为致敏判定标准, 在保证诊断准确性的同时, 亦有效的控制假阴性的干扰, 与细菌内毒素水平呈显著负相关。

由于本研究是横断面调查, 因此不能完全反映细菌内毒素的逐年暴露水平同过敏性致敏、过敏性哮喘及哮喘间的相关性, 然而微生物及其产物的暴露对过敏性疾病的保护作用应该是一种长期作用的结果, 甚至是形成对变应原的耐受<sup>[18]</sup>。因此, 需要进一步的前瞻性队列研究对本研究进行证实。

### 参 考 文 献

- [1] Erkan F, Gul A, Tasali E. Pulmonary manifestations of Behcet's disease. Thorax, 2001, 56(7): 572-578.
- [2] Gereda JE, Leung DYM, Thatayatikom A, et al. Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. Lancet, 2000, 355(9216): 1680-1683.
- [3] Cohn L, Homer RJ, Niu N, et al. T helper 1 cells and interferon gamma regulate allergic airway inflammation and mucus production. J Exp Med, 1999, 190(9): 1309-1318.
- [4] Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, et al. And the ALEX Study Team. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. Lancet, 2001, 358

- (9288):1129-1133.
- [5] Riedler J, Eder W, Oberfeld G, et al. Austrian children living on a farm have less hay fever, asthma and allergic sensitization. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30(2):194-200.
- [6] Asher MI, Keil U, Anderson HR, et al. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J*, 1995, 8(3):483-491.
- [7] 张荣波, 胡东, 李朝品. 工作场所与居室粉螨变应原含量相关性研究. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(4):396-397.
- [8] Ronmark E, Jonsson E, Platts-Mills T, et al. Different pattern of risk factors for atopic and nonatopic asthma among children — report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Study. *Allergy*, 1999, 54(9):926-935.
- [9] Backlund AB, Perzanowski MS, Platts-Mills T, et al. Asthma during the primary school ages — prevalence, remission and the impact of allergic sensitization. *Allergy*, 2006, 61(5):549-555.
- [10] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华医学会中华儿科杂志编辑委员会. 儿童支气管哮喘防治常规(试行). *中华儿科杂志*, 2004, 42(2):100-106.
- [11] Rodriguez D, Keller AC, Faquim-Mauro EL, et al. Bacterial lipopolysaccharide signaling through Toll-like receptor 4 suppresses asthma-like responses via nitric oxide synthase 2 activity. *J Immunol*, 2003, 171(2):1001-1008.
- [12] Gehring U, Bischof W, Schlenvoigt G, et al. INGA study group. Exposure to house dust endotoxin and allergic sensitization in adults. *Allergy*, 2004, 59(9):946-952.
- [13] 王长征. 哮喘发病的“卫生假说”及有关的争议. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2005, 4(5):397-398.
- [14] Fresko I, Yurdakul S, Hamuryundan V, et al. The management of Behcet's syndrome. *Ann Med Interne*, 1999, 150(7):576-581.
- [15] Douwes J, Pearce N, Heederik D. Does environmental endotoxin exposure prevent asthma? *Thorax*, 2002, 57(1):86-90.
- [16] Park JH, Spiegelman DL, Burge HA, et al. Longitudinal study of dust and airborne endotoxin in the home. *Environ Health Perspect*, 2000, 108(11):1023-1028.
- [17] Kips JC, Brusselle GJ, Joos GF, et al. Interleukin-12 inhibits antigen-induced airway hyperresponsiveness in mice. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 153(2):535-539.
- [18] West MA, Heagy W. Endotoxin tolerance: a review. *Crit Care Med*, 2002, 30 Suppl 1:S64-73.

(收稿日期:2006-09-05)  
(本文编辑:尹廉)

## · 疾病控制 ·

### 某部队军营内一起肺炎支原体感染暴发调查

陆月明 韩易 秦玉波 丁小丽

2006年6月,驻上海某部队军营内发生一起肺炎支原体呼吸道感染暴发,13例患者均为男性战士,年龄18~21岁,病例居住在同一幢四层楼内,一至四层楼各有9、2、1和1例,该楼共住442人。一和二、三和四层楼的战士生活起居与训练都在一起,均无野外居住或禽类接触史。2006年6月9日和12日分别有8例和5例因发热入院。入院后即进行血清凝集试验、上呼吸道常见病原体IgM抗体检测(西班牙Bircell公司试剂盒);咽漱液进行PCR常规检测上呼吸道病原体核酸(上海宝生生物技术有限公司试剂盒);检测均由上海市疾病预防控制中心完成。入院时和治疗中对全部病例进行胸部X线和螺旋CT扫描检查。应用SPSS 13.0统计软件进行分析。

13例发热患者中,多数以咽痛和干咳症状为主,有1例出现右颈部淋巴结肿痛。检查发现咽部充血明显,两肺听诊均未闻及干湿性罗音。入院时血常规显示白细胞数平均为 $(5.71 \pm 1.89) \times 10^9/L$  [ $(2.7 \sim 10.2) \times 10^9/L$ ];中性粒细胞百分比为50.8%~79.3% ( $61.84\% \pm 8.19\%$ );血清凝集试验都在1:40以下。上呼吸道常见病原体检测有4例肺炎支原体IgM抗体阳性,1例同时合并副流感病毒血清1、2、3型IgM抗体阳性。咽漱液PCR检测1例为肺炎支原体阳性。13例患者中10例有胸部影像异常改变,胸部CT扫描表现

为多发或单发性斑片状密度增高影像,仅1例出现右下叶后外基底段大片模糊影像,内可见空气支气管征;有4例两肺同时存在病变。13例病程中最高体温40.2℃,经阿齐霉素静脉治疗4d内体温均降为正常。干咳症状最短的在治疗3d后消失,最长的持续10d。在治疗1周后,大部分患者胸部CT扫描提示病变明显吸收。肺炎支原体呼吸道感染在社区、学校和人群密集地区较为多见<sup>[1]</sup>,调查显示,此次暴发发生于春夏交替季节,患者密切接触,经呼吸道传染;发病从一层楼开始,随后二、三和四层楼陆续出现发热病例。肺炎支原体感染症状较少,多表现为发热和干咳,胸部检查均未发现阳性体征,与患者的主诉和胸部影像学改变不相一致。肺炎支原体感染的胸部影像学早期显示肺部纹理增深及网状状阴影,发生肺实质病变后可见到边缘模糊小斑片状或类圆形阴影。人体感染肺炎支原体后,可产生特异性抗体IgM和IgG,IgM抗体出现较早,一般在感染后1周出现,检测血清IgM抗体有助于明确诊断。另外对咽漱液进行分子生物学方法检测,也有助于确诊。

(致谢:上海市疾病预防控制中心对病原体的检测)

#### 参 考 文 献

- [1] 刘又宁,陈民均,赵铁梅,等. 中国城市成人社区获得性肺炎665例病原学多中心调查. *中华结核和呼吸杂志*, 2006, 29(1):3-7.

(收稿日期:2006-12-06)

(本文编辑:尹廉)

作者单位:200052 上海,解放军第455医院急诊科(陆月明、秦玉波),干部科(韩易);空军上海后勤训练基地门诊部(丁小丽)