

文章编号: 1000-7423(2007)-04-0325-04

【实验研究】

室内空调机滤尘网及空气中浮动尘螨变应原的测定

练玉银^{1,2}, 刘志刚^{2*}, 王红玉³, 蔡成郁², 刘晓宇²

【摘要】 目的 检测开空调机前后室内空气中及空调机滤网灰尘中尘螨主要变应原的浓度, 探讨空调机滤网中的尘螨变应原与哮喘发病的关系。方法 采集开空调机前后哮喘患者和健康者家庭卧室空气中的灰尘及空调滤网灰尘, 分别用 ELISA 检测其粉尘螨 1 组变应原 (Der f 1)、屋尘螨 1 组变应原 (Der p 1) 和尘螨 2 组变应原 (Der 2) 的浓度。结果 哮喘患者家庭空调开机前空气中 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度分别为 (0.23 ± 0.13)、(2.62 ± 1.08) 和 (0.93 ± 0.41) ng/m³, 开机后依次为 (0.56 ± 0.25)、(4.74 ± 1.22) 和 (2.33 ± 0.64) ng/m³, 开机前后相比, 三者浓度差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 健康者家庭空调开机前空气中 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度分别为 (0.33 ± 0.11)、(11.5 ± 3.08) 和 (2.1 ± 0.8) ng/m³, 开机后分别为 (0.63 ± 0.23)、(19.8 ± 4.3) 和 (3.6 ± 1.0) ng/m³, 开机前后相比, 三者浓度差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。空调滤网灰尘中 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度, 哮喘患者家庭分别为 (0.52 ± 0.19)、(3.34 ± 0.63) 和 (2.53 ± 0.65) μg/g 灰尘, 健康者家庭分别为 (1.30 ± 0.35)、(5.16 ± 0.92) 和 (3.47 ± 1.13) μg/g 灰尘。空调滤网灰尘中尘螨主要变应原浓度, 健康者家庭和哮喘患者家庭的 Der f 1 和 Der 2 浓度均大于使过敏人群致敏的尘螨主要变应原浓度阈值 2 μg/g 灰尘。结论 空调滤网灰尘中存在尘螨抗原, 是室内尘螨变应原的重要来源之一, 是引起过敏性哮喘的诱因之一。

【关键词】 尘螨; 变应原; 空调; 哮喘; 浮动空气

中图分类号: R384.42

文献标识码: A

Detection of Mite Allergens in the Dust of Filter-Net and Air of Air-Conditioned Room

LIAN Yu-yin^{1,2}, LIU Zhi-gang^{2*}, WANG Hong-yu³, CHAI Cheng-yu², LIU Xiao-yu²

(1 Public Health and General Practices College of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, China; 2 Life Science College of Shenzhen University, Shenzhen 510860, China; 3 Guangzhou Institute of Respiratory Diseases, the First Affiliated Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510120, China)

【Abstract】 **Objective** To detect mite allergens in the dust of air conditioner filter-net and floating air in room. **Methods** Samples were collected from rooms of asthma patient and normal families with or without air conditioner. Der p 1, Der f 1 and Der 2 were determined by two monoclonal antibody-based ELISA. **Results** In asthma patient families, the concentration of airborne Der p 1, Der f 1 and Der 2 was (0.23 ± 0.13), (2.62 ± 1.08), (0.93 ± 0.41) ng/m³, and (0.56 ± 0.25), (4.74 ± 1.22), (2.33 ± 0.64) ng/m³ respectively before and after the air conditioner switched on, all showing a significant difference ($P < 0.05$). In families without asthma patient, the concentration of Der p 1, Der f 1 and Der 2 was (0.33 ± 0.11), (11.50 ± 3.08) and (2.10 ± 0.80) ng/m³, and (0.63 ± 0.23), (19.80 ± 4.30) and (3.60 ± 1.00) ng/m³ respectively before and after the air conditioner switched on, also showing a significant difference ($P < 0.05$). From the filter-net dust of air conditioner in family with allergic asthma patient, the concentration of Der p 1, Der f 1 and Der 2 was (0.52 ± 0.19), (3.34 ± 0.63), (2.53 ± 0.65) μg/g dust, while that of normal families was (1.30 ± 0.35), (5.16 ± 0.92), (3.47 ± 1.13) μg/g dust respectively. The concentration of Der f 1 and Der 2 at both asthma families and normal families was higher than 2 μg/g, an allergen concentration threshold. **Conclusion** Mite allergens exist in the filter-net dust of air conditioner, which may be an important source of indoor allergens and a cause of the increasing prevalence of allergic asthma.

【Key words】 House dust mite; Allergen; Air conditioner; Asthma; Floating air

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30471505, No. 30271226); 国家 863 高技术发展计划 (No. 2002AA214011); 广东省科技计划重点项目 (No. 2003A3080502)

作者单位: 1 广州医学院公共卫生与全科医学院, 广州 510182; 2 深圳大学生命科学学院, 深圳 510860; 3 广州医学院第一附属医院广州呼吸疾病研究所, 广州 510120

* 通讯作者, E-mail: lzg@szu.edu.cn

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30471505, No. 30271226); the National 863 High Technology Program (No. 2002AA214011); the Key Program of Science and Technology, Guangdong Province (No. 2003A3080502).

* Corresponding author, E-mail: lzg@szu.edu.cn

1964 年荷兰医学生物学家 Voorhorst 和 Spijksma 等研究证明尘螨是屋尘中的主要过敏原^[1]。在世界范围内,居室内优势的螨为粉尘螨和屋尘螨^[2],其分泌物、排泄物及虫体的降解产物都是引起过敏性疾病的强过敏原^[3]。尘螨喜好在温暖、潮湿环境中繁衍,以人或动物的皮屑、指甲及毛发等为主要食物,多匿藏于床褥、枕头、地毯、衣服、毛绒玩具或家具内。本研究组在前期研究中发现并证实空调滤网灰尘也是尘螨喜好的栖居场所之一,尘螨变应原可随空调送风过程进入室内。本研究在前期研究工作基础上,分别选择 30 例对尘螨过敏的哮喘患者家庭及健康者家庭进行空调开机前后空气中及空调滤网中灰尘的尘螨主要变应原的检测,选择粉尘螨 1 组变应原(Der f 1)、屋尘螨 1 组变应原(Der p 1)和尘螨 2 组变应原(Der 2,因为粉尘螨和屋尘螨的 2 组变应原交叉性较强,故此试剂盒不分型)等 3 个主要变应原为检测指标,以探讨空调滤网中的尘螨与哮喘发病的关系。

材料与方法

1 调查点选择

从确诊对尘螨过敏的哮喘患者(由广州医学院第一附属医院呼吸疾病研究所确诊)中,选择 30 例家住广州市区、卧室有空调、1 个月以上未清洗过空调滤网的患者家庭进行采样。30 例健康家庭(家庭成员中均无过敏史)为志愿者。

2 主要试剂与实验仪器

47 mm 玻纤膜(美国 PALL 公司, lot No. CB00058), BCF-300 微电脑粉尘采样器(江苏省金坛市亿通电子有限公司), Der f 1、Der p 1 及 Der 2 双抗体夹心 ELISA 试剂盒(英国 Indoor Biotechnologies 公司), Tween-20(美国 Sigma 公司),其他为分析纯试剂。

3 样品的采集

2005 年 7~9 月,分别在上述调查家庭卧室中央处安装玻纤膜采样器,距离地面约 1~1.5 m 高,粉尘采样器的空气流量为 20~21 L/min。先在未开空调的日常情况下进行采样 4 h,共采 2 次,间隔 1 h。相隔 1 d 后的任选 1 d,在开空调情况下(24℃~26℃,送风)进行采样,采集时间与方法同上^[4-6]。采集完空气中尘螨变应原后,将空调过滤网取下,用刷子将

滤网中的灰尘轻柔地刷至托盘中,力求收集到全部灰尘,用分析天秤称重后备用。

4 样品的处理

4.1 空气中尘螨变应原的提取 分别取下采样器里面的玻纤膜,用剪刀将其剪碎,置于 5 ml 或 10 ml 的注射器内,加入 1 ml(含 1%小牛血清蛋白(BSA)和 0.05% Tween-20)磷酸盐缓冲液(PBST),4℃提取过夜,期间振摇。用注射器将玻纤膜中的提取液充分挤压出来,再将提取液 4℃ 3 000×g 离心 30 min,取上清,-20℃保存备用^[4,7]。

4.2 空调滤网灰尘中变应原的提取 因为灰尘中含有其他杂质,会干扰检测。而尘螨变应原颗粒的直径仅 10~40 μm,故提取前先用 60 目标准筛把灰尘中的大颗粒杂质除掉。按 1:10 w/v(w/v 为重量体积比 mg/ml)取筛后灰尘溶于 PBST-BSA(1%)中,4℃震荡过夜。于 4℃ 10 000×g 离心 10 min,取上清,进行检测或-20℃保存备用。

5 空气中尘螨主要过敏原的测定

把每份玻纤膜提取液用 PBST-BSA(1%)作 1:2 稀释,依照 ELISA 说明书测定尘螨主要变应原 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度。主要步骤:分别包被 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 单克隆抗体,4℃过夜,2%小牛血清蛋白封闭过夜,加入待测样品,每孔 100 μl,室温 1 h,洗涤后分别对应加入生物素标记的抗 Der p 1、抗 Der f 1 和抗 Der 2 单克隆抗体,室温 1 h,再加入 HRP 标记的链霉亲和素。四甲基联苯胺(TMB)底物显色,测吸光度(A_{450} 值)。以 A_{450} 值为纵坐标,以蛋白浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算待测标本 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的变应原含量。

6 空调滤网灰尘中尘螨主要过敏原的测定

把每份灰尘提取液用 PBST-0.1%BSA 作 1:10~1:20 对比稀释,用 ELISA 测定尘螨主要变应原 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度,方法同上。

7 统计学分析

用 SPSS11.0 进行统计分析,用 MATLAB 数学分析软件制作标准曲线,空调开机前后空气中尘螨主要变应原浓度的比较采用两样本均数的 t 检验。

结 果

1 空调开机前后空气中尘螨主要变应原浓度

根据标准曲线可得到样品玻纤膜提取液的浓度值(ng/ml),再根据采样的流量、时间及稀释倍数分别将其换算成空气中尘螨主要变应原 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度 (ng/m³)。开空调后,哮喘患者家庭与健康者家庭的尘螨主要变应原 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 浓度均比不开空调时高,且差异有统计学意义($P<0.05$)。健康者家庭中的尘螨主要变应原 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 浓度均比哮喘患者家庭高(表 1)。

表 1 哮喘患者家庭空调开机前后空气中尘螨主要变应原浓度
Table 1 Allergen concentration of the airborne dust in asthma families before and after air conditioning switched on
($\bar{x}\pm s$) (ng/m³, $n=30$)

尘螨主要变应原 Dust mite allergen	开机前浓度 Concentration before air conditioning switched on		开机后浓度 Concentration after air conditioning switched off	
	哮喘家庭 Asthma families	健康家庭 Normal families	哮喘家庭 Asthma families	健康家庭 Normal families
	Der p 1	0.23±0.13	0.33±0.11	0.56±0.25*
Der f 1	2.62±1.08	11.5±3.08	4.74±1.22*	19.8±4.30#
Der 2	0.93±0.41	2.10±0.80	2.33±0.64*	3.60±1.01#

注: *、# 空调开机后空气中 Der p 1, Der f 1, Der 2 浓度分别与开机前差异有统计学意义, $P<0.05$ 。

Note: *, # Concentration of airborne Der p 1, Der f 1 and Der 2 showing statistical difference before and after air-conditioner switched on, $P<0.05$.

2 空调滤网灰尘中尘螨变应原含量的测定

根据标准曲线得到空调滤网灰尘中的浓度值(ng/ml),再根据稀释倍数及检测的灰尘量换算成空调滤网灰尘中 Der p 1、Der f 1 和 Der 2 的浓度 ($\mu\text{g/g}$ 灰尘)。结果见表 2。主要变应原浓度中健康者家庭和哮喘患者家庭的 Der f 1 和 Der 2 浓度均高于使过敏人群致敏的尘螨主要变应原浓度阈值 2 $\mu\text{g/g}$ 灰尘。此外,粉尘螨主要变应原 Der f 1 含量均较屋尘螨主要变应原 Der p 1 高($P<0.01$)。

讨 论

2 $\mu\text{g/g}$ 和 10 $\mu\text{g/g}$ 静尘中尘螨主要变应原是引起尘螨过敏性疾病致敏及引发过敏症状的阈值^[8]。近年来有文献报道更低的浓度即可使过敏人群致敏或发病。

室内浮尘中尘螨变应原的浓度比静尘中尘螨变应原的浓度更能反映其与过敏性疾病之间的密切关系^[9]。但由于空气采样需要专用设备,采集时间长,气流需要在搅动的情况下才可有效采集到尘螨变应原,以及空气中尘螨变应原浓度较低,难以检测等原因,检测空气中尘螨变应原不能作为评价尘螨变

表 2 空调滤网灰尘中尘螨主要变应原浓度
Table 2 Concentration of dust mite allergen in the filter-net dust of air-conditioner
($\bar{x}\pm s$) ($\mu\text{g/g}$, $n=30$)

尘螨主要变应原 Dust mite allergen	哮喘患者家庭 Asthma families	健康者家庭 Normal families
Der p 1	0.52±0.19	1.30±0.35*
Der f 1	3.34±0.63	5.16±0.92*
Der 2	2.53±0.65	3.47±1.13*

注: * 哮喘患者家庭空调滤网灰尘中 Der p 1, Der f 1, Der 2 浓度分别与健康者家庭的差异有统计学意义($P<0.05$)。

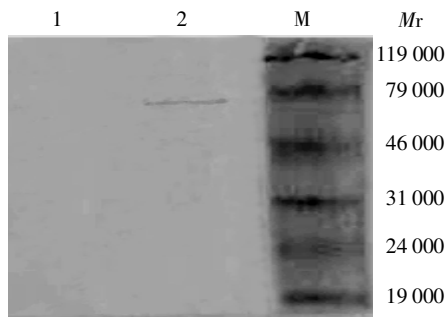
Note: * Concentration of Der p 1, Der f 1 and Der 2, asthma families vs. normal families ($P<0.05$).

应原暴露情况的首选指标^[10]。所以,对于空气中尘螨变应原的测定与致敏或症状的发生之间关系的报道并不多, Peterson 等^[11]报道底特律地区空气中 Der f 1 和 Der p 1 的浓度分别为(9.7±1.1)和(20.7±2.5)ng/m³。在国内尚未见相关报道。

空调使用一段时间后,滤网上就会有許多絮状的附着物,这些附着物是由人体脱落的皮屑、棉质纤维、孢子以及打扫卫生、吸烟等产生的悬浮物等集聚而成。尘螨喜好在这种环境下生长。在华南地区冬天不用空调时,空调滤网依然会沾上灰尘、皮屑等悬浮物。如果不注意滤网的清洁,会给尘螨的虫卵和休眠体提供越冬场所,到次年的 3、4 月份就会重新开始繁殖。1 只活跃的螨每天大约排泄 20 粒粪球[直径为 10~40 μm (平均 24 μm)],这些粪球微粒可在空气中较长时间漂浮,成为变应原暴露^[12]。由于卧室的通风性较差,又是人活动最多的地方,产热产湿量高,皮屑量多,是尘螨生长的理想场所,故卧室地面、床、衣柜等成为富集尘螨变应原之地。在没有空气扰动的情況下,这些变应原一般会以静尘的方式沉降在各种附着物上^[13]。这种情况尤其是在尘螨生长繁殖高峰的月份开空调时,空调滤网中的尘螨变应原颗粒随空调送风吹入室内空气中,使空气中尘螨变应原浓度增高。从本研究结果显示,无论是哮喘患者家庭还是健康者家庭,开空调后空气中尘螨的 3 个主要变应原浓度均显著升高($P<0.05$),且空调滤网灰尘中尘螨抗原含量也较引起致敏的含量(2 $\mu\text{g/g}$ 灰尘)要高。这提示如果忽视对空调机滤网进行定期清洁,那么滤网中沉积的灰尘可能是室内尘螨变应原的重要来源之一,空调滤网灰尘中尘螨变应原的存在可能是引起过敏性疾病的诱因之一。

由于哮喘患者在求医过程中医生会向患者进行有关过敏性疾病知识的宣教,所以一般哮喘患者家庭可能比健康者家庭更注意居家的清洁卫生,致使出现本研究中哮喘患者家庭空气中的尘螨主要变应

(下转第 332 页)



M: 蛋白质标志物, 1: pGEX-4T-1/690 重组蛋白与正常大鼠血清反应, 2: pGEX-4T-1/690 重组蛋白与 PCP 大鼠血清反应。

M: Protein marker, 1: pGEX-4T-1/690 recombinant protein band recognized by normal rat serum, 2: pGEX-4T-1/690 recombinant protein band recognized by PCP rat serum.

图 6 pGEX-4T-1/690 表达产物 Western blotting 分析 (正常大鼠血清和 PCP 大鼠血清检测)

Fig.6 Western blotting analysis of expression products of pGEX-4T-1/690

(detected by normal rat serum and PCP rat antiserum)

本研究克隆了编码 p55 蛋白 184~414 氨基酸残基的基因片段, 并构建 pGEX-4T-1/690 表达载体, 重组蛋白在大肠埃希菌中得到表达。SDS-PAGE 显示, pGEX-4T-1/690 重组质粒转化菌诱导后在约 Mr 62 000 处有 1 条带, 相对分子质量略大于重组蛋白表达的理论值 (GST 编码 Mr 26 000 蛋白, 目的片段编码 Mr 25 000 蛋白, 两者之和为 Mr 51 000)。重组蛋白的迁移率不同可能反映了其不寻常的氨基酸肽链的组成, 不少蛋白在 SDS-PAGE 分析时迁移率异常, 特别是富脯氨酸蛋白^[4,6]。pGEX-4T-1/690 表达了 p55 蛋白富含脯氨

酸的重复序列的特殊结构, 所显示的相对分子质量增大可能与这种特殊结构有关。本研究结果与 Smulian 等^[7]报道的结果基本一致。同时通过 Western blotting 分析, 该蛋白能特异地被抗 GST 单抗 (1:3 000 稀释) 识别, 亦能特异地与 PCP 大鼠血清结合, 且两者识别印迹的分子大小基本一致, 表明重组蛋白具有一定的抗原活性。此融合蛋白的成功表达为进一步开展肺孢子虫 p55 抗原生物学、免疫学特性及疫苗的研究打下基础。

参 考 文 献

[1] Smulian AG, Sullivan DW, Theus SA. Immunization with recombinant *Pneumocystis carinii* p55 antigen provides partial protection against infection; characterization of epitope recognition associated with immunization [J]. *Microbes Infect*, 2000, 2: 127-136.
 [2] Theus SA, Sullivan DW, Walzer PD, et al. Cellular responses to a 55-kiloDalton recombinant *Pneumocystis carinii* antigen [J]. *Infect Immun*, 1994, 62: 3479-3484.
 [3] Smulian AG, Theus SA, Denko N, et al. A 55 kDa antigen of *Pneumocystis carinii*; analysis of the cellular immune response and characterization of the gene [J]. *Mol Microbiol*, 1993, 7: 745-753.
 [4] Zheng M, Shellito JE, Marrero L. CD4⁺ T cell-independent vaccination against *Pneumocystis carinii* in mice [J]. *J Clin Invest*, 2001, 108: 1469-1474.
 [5] Ma L, Kuty G, Jia Q, et al. Characterization of variants of the gene encoding the p55 antigen in *Pneumocystis* from rats and mice [J]. *J Med Microbiol*, 2003, 52: 955-960.
 [6] Ossorio PN, Schwartzman JD, Boothroyd JC. A *Toxoplasma gondii* rhoptry protein associated with host cell penetration has unusual charge asymmetry [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1992, 50: 1-15.
 [7] Smulian AG, Stringer JR, Linke MJ, et al. Isolation and characterization of a recombinant antigen of *Pneumocystis carinii* [J]. *Infect Immun*, 1992, 60: 907-915.

(收稿日期: 2007-03-05 编辑: 高石)

(上接第 327 页)

原浓度及空调滤网灰尘中的尘螨主要变应原浓度均比健康者家庭低的结果。

致谢 本研究得到广州医学院广州呼吸疾病研究所钟南山院士的帮助与指导, 在此表示衷心的感谢!

参 考 文 献

[1] Voorhorst R, Spiekman FTM, Varekamp N. House dust atopy and the house dust mite *D.pteronyssinus* and the allergens it produce: identify with the house dust allergen[J]. *J Allergy*, 1967, 39: 325-329.
 [2] Platts-Mills TAE, Vervloet D, Thomas WR, et al. Indoor allergens and asthma; report of the third international workshop[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1997, 100: S1-S24.
 [3] Chapman MD, Sutherland WM, Platts-Mills TAE. Recognition of two *Dermatophagoides pteronyssinus* specific epitopes on antigen P1 using monoclonal antibodies: Binding to each epitope can be inhibited in sera from mite allergic patients [J]. *J Immunol*, 1984, 133: 2488-2495.
 [4] Green R, Simpson A, Custovic A, et al. The effect of air filtration on airborne dust allergen[J]. *Allergy*, 1999, 54: 484-488.
 [5] de Blay F, Heymann PW, Chapman MD, et al. Airborne dust mite allergens: Comprison of group II allergens with group I

mite allergen and cat-allergen Fel d 1 [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1991, 88: 919-926.

[6] Jerrim KL, Whitmore LF, Hughes JF, et al. Airborne dust and allergen generation dusting with and without spray polish[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 109: 63-67.
 [7] Jeong KY, Jin HS, Oh SH, et al. Monoclonal antibodies to recombinant Der f 2 and development of a two-site ELISA sensitive to major Der f 2 isoallergen in Korea[J]. *Allergy*, 2002, 57: 29-34.
 [8] Platts-Mills TA, Thomas WR, Aalberse RC, et al. Dust mite allergens and asthma; Report of a second international workshop[J]. *Allergy Clin Immunol*, 1992, 89: 1046-1060.
 [9] Hallas TE. The biology of mites[J]. *Allergy*, 1991, 46(Suppl 11): 10-13.
 [10] Platts-Mills TAE, De Weck AL. Dust mite allergens and asthma—a world wide problem[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1989, 83: 416-427.
 [11] Peterson EL, Ownby DR, Kallenbach L, et al. Evaluation of air and dust sampling schemes for Fel d 1, Der f 1, and Der p 1 allergens in homes in the Detroit area [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1999, 104: 348-355.
 [12] Tovey ER, Chapman MD, Platts-mills TAE. Mite faeces are a major source of house dust allergens[J]. *Nature*, 1981, 289: 592-593.
 [13] Schou C. The antigenicity of house mite[J]. *Allergy*, 1991, 46(Suppl): 10-13.

(收稿日期: 2006-08-07 编辑: 盛慧锋)