

# 空气净化器降低室内尘螨过敏原含量 及其免疫反应性的实验研究

马忠校, 刘晓宇, 杨小猛, 王媛媛, 吴莹莹, 刘志刚

**摘要:**目的 检测开启空气净化器前后室内空气中粉尘螨主要过敏原的含量,探讨粉尘螨经空气净化器不同作用时间后对其抗原免疫反应性的影响。**方法** 实验分组采样:(1)不开空调和空气净化器;(2)开空调、不开空气净化器;(3)同时开空调和空气净化器;(4)开空气净化器、不开空调。用粉尘采样器分别采集室内空气中尘螨过敏原Der f1和Der f2,运用ELISA方法检测4种环境条件下空气中Der f1、Der f2的含量;通过ELISA和免疫印迹方法检测空气净化器作用不同时间(24 h、48 h和72 h)后粉尘螨过敏原免疫反应性的变化。**结果** 20个取样房间在开空调之后室内尘螨过敏原的含量都会增高,而在使用空气净化器后,不管是在空调开启或者关闭的情况下室内空气中Der f1和Der f2都会降低( $P<0.01$ );粉尘螨在空气净化器等离子和静电高压场强作用下,死亡的粉尘螨其免疫反应性均较活螨显著降低( $P<0.01$ ),免疫组化显示其免疫反应性有所降低。**结论** 本实验使用空气净化器能够显著降低室内空气中的尘螨过敏原Der f1、Der f2的浓度,并且通过空气净化器作用后,死亡的粉尘螨免疫反应性显著降低,提示使用空气净化器对过敏性疾病(如哮喘和过敏性鼻炎)具有重要的预防和干预作用。

**关键词:**粉尘螨;空气净化器;过敏原;Der f检测;免疫反应性

中图分类号:R384.4

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2013)02-0133-05

## Experimental research on air cleaner's effect in reducing the level of mites' allergen and immunoreactivity in indoor environment

MA Zhong-xiao, LIU Xiao-yu, YANG Xiao-meng, WANG Yuan-yuan, WU Ying-ying, LIU Zhi-gang

(Allergic Reaction and Immunology Research Institute, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

**ABSTRACT:** This research aims to detect the indoor allergen concentration before and after air cleaner operating and investigate the effects of it on antigen immunoreactivity as time changing. The samplers of dust mite allergens were collected through dust sampler from the four kinds of environments: (1) air conditioner and air cleaner were both turned off; (2) air conditioner was running and air cleaner was turned off; (3) air conditioner and air cleaner were both running; (4) air conditioner was turned off and air cleaner was running. The concentrations of dust mite allergens from four kinds of environments were detected by ELISA. Dust mite allergens were treated by air cleaner in different timing points, and through ELISA and immunoblotting, the changes of dust mite allergen immune activities were determined. Results showed that the concentrations of dust mite allergens were increased in all 20 sample rooms when air conditioners were running. However, when the air cleaner was running, the concentrations of Der f 1 and Der f 2 were reduced whatever the air conditioner was operating or not ( $P < 0.01$ ). The immune activities of dust mite allergen were decreased because of plasma sterilization. In conclusion, the air cleaner in this study could reduce the concentrations of dust mite allergens Der f 1 and Der f 2, and also reduce the immune activities of allergens on the filters by plasma sterilization. Our results indicate that air cleaner plays an essential role in prevention of allergic disorders such as asthma and allergic rhinitis.

**KEY WORDS:** dust mites; air purifier; allergens; Der f test; immunoreactivity

国家863计划项目(No. 2006AA02A231)、国家自然科学基金(No. 81071388、30760082)、深圳市重点实验室组建项目(No. SW201110010)、深圳市科技计划基础研究重点项目(No. 2012016)、南山区科技计划项目(No. KC2012JSYB0003A)联合资助  
通讯作者:刘志刚,Email: lzg@szu.edu.cn

作者单位:深圳大学医学院过敏反应与免疫学研究所,深圳 518060

Supported by the National 863 Program (No. 2006AA02A231), the National Natural Science Foundation of China (No. 81071388 & 30760082), the Key Laboratory Formation Program of Shenzhen City (No. SW201110010),

the Basic Key Research Project of the Science and Technology Plan of Shenzhen City (No. 2012016), and the Science and Technology Plan of Nanshan District, Shenzhen City (No. KC2012JSYB0003A)

Corresponding author: Liu Zhi-gang, Email: lzg@szu.edu.cn

过敏性疾病(变态反应性疾病)被世界卫生组织(WHO)列为21世纪重点防治的三大疾病之一,是当前世界性的重大卫生学问题,世界各国变态反应性疾病的总发病率高达15%~30%,近20年来发病率几乎翻了一倍。据统计,欧盟每年用于过敏性疾病治疗的费用达百亿欧元;在美国全年用于过敏性疾病的治疗费用超过了AIDS和肺结核治疗费用的总和,目前我国过敏性疾病患者达2~3亿人<sup>[1-3]</sup>,故过敏性疾病不仅严重危害个人健康,而且给个人、家庭和社会造成巨大的经济负担。

因此,防螨措施中,除了控制室内物体表面的尘螨外,更重要的是降低室内空气中过敏原的含量。而空气净化器恰好为实现这一目标提供了可能。本实验所研制的空气净化器是一款装有高效消毒过滤系统(disinfecting filtration system, DFS)的空气净化器。该空气净化器主要运用的是等离子杀菌和静电场加强除尘原理,来杀灭和吸附空气中的细菌和病原微生物,达到净化居室空气环境的目的。但本实验采用的空气净化器对降低室内空气中尘螨抗原的浓度以及尘螨过敏原免疫反应性的变化,国内外尚未见报道。

## 1 材料与方法

**1.1 调查点选择** 选择20个卧室装有空调并1个月以上未清洗过空气防尘滤网的家庭和学生宿舍进行采样,且被采集家庭均无哮喘等过敏性疾病患者。

**1.2 实验材料和主要试剂与仪器** 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%±1%)、恒温(27±0.5℃)培养室中隔离培养。47 mm玻纤膜(美国PALL公司),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 f1、Der f2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。

**1.3 样品的采集** 2011年7—9月,分别在深圳大学教工家属区和学生宿舍卧室中央安装粉尘采样器,距离地面约有1.5 m高,粉尘采样器的空气流量20 L/min。实验采样分为以下4组:(1)不开空调和空气净化器;(2)开空调、不开空气净化器;(3)同时开空调和空气净化器;(4)开空气净化器、不开空调。采样前粉尘采样器上装有玻璃纤维膜(孔径为0.3 μm),用来阻留空气中的灰尘微粒。分别采样8 h,两次采样间隔24 h以上,采集时间和方法同上。

**1.4 样品的处理和提取** 每次采样结束后,分别收集采样器上的玻璃纤维膜,用剪刀将其剪碎,置于5~10 mL的注

射器内,加入1 mL(含1%小牛血清蛋白和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。同时收集经空气净化器作用24 h、48 h和72 h时间死亡的粉尘螨(各组200只),在微型玻璃均浆器中,加1 mL PBST进行均浆,离心后取上清,-20℃保存备用。

**1.5 空气中尘螨过敏原含量的测定** 把每份玻纤膜提取液用PBST-BSA(1%)作1:2稀释,按照ELISA试剂盒说明书测定主要过敏原Der f1和Der f2的浓度,主要步骤:分别包被Der f1和Der f2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 f1和Der f2单抗,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(A450值)。以A450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 f1和Der f2含量。

**1.6 粉尘螨主要过敏原的测定** 将上述各组粉尘螨提取液用PBST-0.1%BSA作1:10对比稀释,用ELISA测定粉尘螨Der f1和Der f2的浓度,方法同上。

**1.7 过敏患者血清和免疫组化** 临床收集过敏性疾病尘螨阳性患者血清(Unit-CAP 3级以上)20例,-20℃保存。实验用粉尘螨(活螨)和24 h、48 h和72 h组死亡粉尘螨,固定、包埋和切片,先经3%过氧化氢孵育60 min,灭活内源性酶,然后经PBS清洗,微波煮沸修复抗原,冷却,再加入正常羊血清封闭液室温下作用20 min,去多余液体,不洗。加入PBS稀释(1:8)的尘螨过敏患者阳性血清,37℃下作用60 min,再加入生物素标记的羊抗人IgE抗体(效价1:500)室温下作用60 min,SABC复合物(PBS1:100稀释)室温下作用60 min,经二氨基联苯胺(DAB)显色,二甲苯透明、封片。阴性对照用健康人血清。图像采集在显微镜下(Olympus BX-51),由Olympus DP70数码相机拍摄(日本Olympus公司)完成。

**1.8 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,空气中尘螨主要过敏原浓度的比较采用两样本均数的t检验。

## 2 结 果

**2.1 室内空气中尘螨过敏原浓度的测定** 采用ELISA方法检测采集的空气样品,实验结果如表1和图1、2所示,A,B,C,D代表4种采样方式,分别是:A代表自然状态下采样;B代表开启空调的情况下采样;C代表空调和空气净化器同时开启的情况下采样;D代表只开启空气净化器的情况下采样。

检测结果显示,在打开空调的情况下室内的过敏原Der f1(图1)和Der f2(图2)浓度都增加,与开空调前相比差别有统计学意义( $P<0.05$ )。当使用空气净化器后,室内空气中过敏原Der f1和Der f2浓度则明显减少,空气净化器使用前后室内空气过敏原浓度差别有统计学意义( $P<0.01$ )。

**表1 4种采样方式下室内空气中尘螨过敏原的含量**

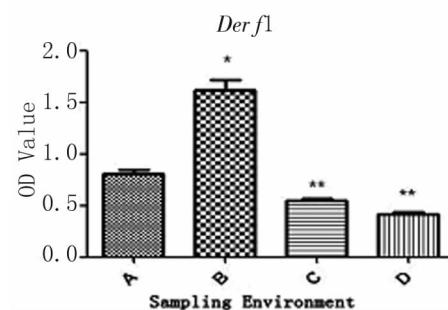
**Tab. 1 Indoor mite allergen levels from different sampling environment**

Different sampling environment	The level of dust mite allergen (OD value)	
	Der f1	Der f2
Before air condition operating	0.81±0.16	0.48±0.18
After air condition operating	1.62±0.34*	0.80±0.28*
Under air cleaner and air condition operating together	0.57±0.01**	0.28±0.04**
Under air cleaner operating	0.48±0.01**	0.22±0.02**

\* : Comparing with the mite allergen level before air conditioner operating,  $P<0.05$ ; \*\* : Comparing with the mite allergen level before air cleaner operating,  $P<0.01$

**2.2 空气净化器作用前后粉尘螨过敏原活性的测定** 分别将活螨和放在空气净化器中作用不同时间(24 h、48 h、72 h)后死亡的粉尘螨各挑取200只,另PBST均浆,提取粉尘螨过敏原,用ELISA进行检测,第0 h组(活螨)与第24 h、48 h、72 h(死亡粉尘螨)有显著性差异( $P<0.01$ ),而24 h、48 h、72 h组之间无显著性差异( $P>0.05$ ),提示粉尘螨经空气净化器等离子和静电高压场强杀灭后,其免疫反应性较活螨显著降低,而不同时间死亡粉尘螨的抗原

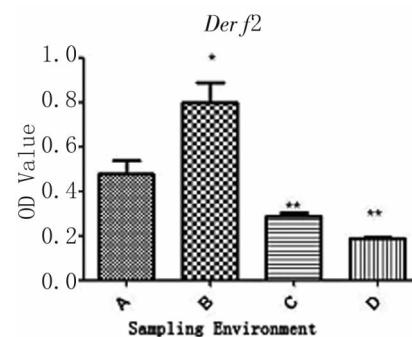
免疫反应性无明显变化。



**图1 空气净化器开机前后室内空气中尘螨过敏原Der f1含量**

**Fig. 1 Der f1 concentration before and after air cleaner operating**

A: Sampling in natural environment; B: Sampling under air condition operating; C: Sampling under air cleaner and air condition operating together; D: Sampling under air cleaner operating



**图2 空气净化器开机前后室内空气中尘螨过敏原Der f2含量**

**Fig. 2 Indoor Der f2 concentration before and after air cleaner operating**

A: Sampling in natural environment; B: Sampling under air condition operating; C: Sampling under air cleaner and air condition operating together; D: Sampling under air cleaner operating

**表2 作用不同时间后粉尘螨过敏原的免疫反应性**

**Tab. 2 Immunoreactivity of dust mite allergen after different reaction time**

Major allergen of dust mite	0 h	24 h	48 h	72 h
Der f1	1.58±0.41*	0.82±0.29	0.75±0.30	0.71±0.027
Der f2	1.15±0.36*	0.69±0.21	0.72±0.25	0.65±0.026

When the immunoreactivity after 24h, 48h and 72h were respectively in comparison with control group (0h), \*  $P<0.05$ ; When the immunoreactivity after 24h, 48h and 72h were respectively in comparison with each other,  $P>0.05$ .

### 2.3 粉尘螨免疫组化抗原定位及免疫反应性观察

将活螨和放入空气净化器中分别处理24 h、48 h、72 h之后死亡的粉尘螨,石蜡包埋,切片,然后选取各个时间组粉尘螨的纵切面,用尘螨过敏病人的血清为一抗,以抗人IgE为二抗,运用免疫组织化学方法,定位粉尘螨主要过敏原。正常粉尘螨抗原存在

于螨体内多个部位,主要包括口咽部、中肠、肠内容物以及生殖腺等处,见图3。

死亡粉尘螨体内过敏原主要集中于肠腔中,其他部位较少。经空气净化器等离子和静电高压场强作用死亡后粉尘螨抗原免疫反应性显著减弱,且各时间段过敏原定位差异不大,见图4。

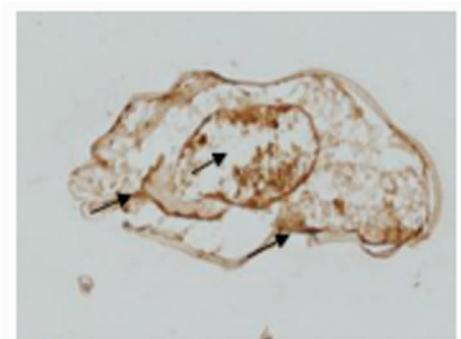


图 3 正常粉尘螨抗原定位结果  
Fig. 3 Antigen location in living mite

### 3 讨 论

尘螨是一种体形微小的节肢动物,其广泛分布于人类的居室和工作环境中,在与人体接触密切的床单、被褥、枕垫、衣服、沙发套和地毯等处生存繁殖,诱发过敏性疾病(如哮喘、过敏性鼻炎等)<sup>[4]</sup>。过敏性疾病主要是指 IgE 介导的 I 型变态反应。过敏性疾病的发病原因错综复杂,主要涉及两个方面:1、具备易发生变态反应的特应性体质;2、环境因素,而环境因素中过敏原是最主要的诱因。目前,“预防策略”已经成为过敏性疾病防治的重要内容<sup>[5]</sup>。

过敏性疾病的预防可分为初级、二级和三级预



图 4 不同作用时间粉尘螨死亡后虫体抗原定位结果

A:24 h;B:48 h;C:72 h

Fig. 4 Antigen location in dead mite treated for serial times

A:24 h;B:48 h;C:72 h

防,初级预防又称病因(发病前期)预防,是最积极的预防措施<sup>[6]</sup>。它是指采取各种措施来控制或消除影响健康的危险因素,使健康人免受致病因素侵害,防患于未然。WAO 2004 年制定了《过敏反应和过敏性哮喘预防指南》,在初级预防中明确提出清除工作环境中的致敏原和强刺激物,而本实验研制的除螨空气净化器,具有显著的杀螨作用(另文报道),同时,还具有降低室内空气中尘螨主要过敏原的浓度。研究表明,降低室内尘螨数量和空气中尘螨抗原浓度,或减少与尘螨的接触时间,可以大大缓解过敏患者的症状,降低尘螨导致的过敏性疾病的发病率<sup>[7]</sup>。如何降低室内环境中尘螨过敏原的数量、避免与尘螨接触而引起的过敏性疾病就显得尤其重要。

目前的防螨措施主要是针对室内家具或者床上用品表面灰尘中的尘螨及其过敏原。如针对枕头、床垫的防螨套被大量的应用,但是人们发现虽然防螨套能够明显降低灰尘中螨数量和螨过敏原,却在减轻过敏患者症状和室内空气中尘螨抗原含量方面效果不一。Zhigang Liu 等国际上首次报道室内空调滤网灰尘中可孳生大量尘螨,在夏季 70%~80% 家庭空调灰尘中有尘螨的孳生、最高达到 2 000 多只螨/克灰尘,并证实通过空调送风可使室内空气

尘螨抗原含量升高,空调送风是导致室内尘螨抗原含量升高的一种重要传播方式<sup>[8]</sup>。因此,防螨措施中,除了控制室内物体表面的尘螨及其过敏原外,更主要的是降低室内空气中过敏原的含量。

国内外研究资料表明近年城市居民每天约 70%~90% 的时间在各种室内环境中度过<sup>[9]</sup>。WHO 研究表明:当室内环境空气中尘螨抗原含量达 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  可致敏,当抗原含量 >10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时可导致哮喘的发作。因此,除螨(防螨)和降低室内空气中尘螨抗原的含量对预防和干预(哮喘等)过敏性疾病至关重要。

本实验研制空气净化器中的等离子是一种指高度电离的气体云<sup>[10]</sup>,等离子的成分包括自由电子、离子、激发态分子原、基态分子原和电磁辐射等,是空气中的水氧气等物质在高压电磁场作用下生成的<sup>[11-12]</sup>。尘螨作为一种低等节肢动物,仅靠基节腺调节体内水份,对环境中湿度极为敏感,故当空气净化器将空气中的大量水分电离成为离子状态时,造成局部相对干燥的环境<sup>[13]</sup>,再加上静电高压场强的共同作用,而使粉尘螨脱水死亡。故本课题研制的空气净化器可降低室内空气中尘螨抗原含量、可预防和干预哮喘的发作,从源头上阻断过敏性疾病的

发生具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] Editorial Office of Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases. How to develop the unique feature on the research of asthma prevention and control—Interview with Professor Zhong Nan-shan, Guangzhou Institute of Respiratory Diseases [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 1997, 20(5): 259-260. (in Chinese)
- 中华结核和呼吸杂志编辑部. 发展我国哮喘防治研究的特色——访广州呼吸疾病研究所钟南山教授[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1997, 20(5): 259-260.
- [2] Liu XY, Wu J, Wang B, et al. Investigation on house dust mite in different geographical regions of China [J]. Chin J Pediatr, 2010, 26(4): 310-314. (in Chinese)
- 刘晓宇, 吴捷, 王斌, 等. 中国不同地理区域室内尘螨的调查研究[J]. 中国人兽共患病学报[J]. 2010, 26(4): 310-314.
- [3] Voorhorst R, Spieksman FT, Varekamp N. House dust atopy and the house dust mite *D. pteronyssinus* and the allergens it produces: Identify with the house dust allergen[J]. J Allergy, 1967, 39: 325-329.
- [4] Bush RK, Portnoy JM. The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases[J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 107 (3 Suppl): S430-S440.
- [5] Custovic A, Simpson BM, Simpson A, et al. Manchester Asthma and Allergy Study: low allergen environment can be achieved and maintained during pregnancy and in early life[J]. J Allergy

Clin Immunol, 2000, 105 (2 Pt 1): 252-258. DOI: 10.1016/S0091-6749(00)90073-3

- [6] Ehnert B, Lau-Schadendorf S, Weber A, et al. Reducing domestic exposure to dust mite allergen reduces bronchial hyperactivity in sensitive children with asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 1992, 90(1): 135-138.
- [7] Liu ZG, Bai Y, Ji KM, et al. Detection of *Dermatophagoides farinae* in the dust of air-conditioning filters[J]. Int Arch Allergy Immunology, 2007, 144 (1): 85-90. DOI: 10.1159/000102619
- [8] Howieson SG, Lawson A, McSharry C, et al. Domestic ventilation rates, indoor humidity and dust mite allergens: are our homes causing the asthma pandemic[J]. Build Serv Eng Res Technol, 2003, 24(3): 137-147.
- [9] Anderson MH. Gas plasma sterilization: innovation in practice [J]. Navy Med, 1989, 80(5): 9-10.
- [10] Crow S, Smith III JH. Gas plasma sterilization: application of space-age technology[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 1995, 16 (8): 483-487.
- [11] Krebs MC, Becasse P, Verjat D, et al. Gas-plasma sterilization: relative efficacy of the hydrogen peroxide phase compared with that of the plasma phase[J]. Int J Pharm, 1998, 160(1): 75-81. DOI: 10.1016/S0378-5173(97)00296-2
- [12] Caputo RA. AbTox Plazlyte plasma sterilization[J]. J Healthc Mater Manage, 1992, 10(8): 46, 48-49.

收稿日期:2012-11-28;修回日期:2012-12-16

### (上接第 132 页)

- [4] Wu T, Grassel C, Levine MM, et al. Live attenuated *Shigella dysenteriae* type 1 vaccine strains overexpressing Shiga toxin B subunit[J]. Infect Immun, 2011, 79(12): 4912-4922. DOI: 10.1128/IAI.05814-11
- [5] Poteete AR, Fenton AC. Genetic requirements of phage λ Red-mediated gene replacement in *Escherichia coli* K-12[J]. J Bacteriol, 2000, 182(8): 2336-2340.
- [6] Silo-Suh LA, Elmore B, Ohman DE, et al. Isolation, characterization, and utilization of a temperature-sensitive allele of a *Pseudomonas* replicon[J]. J Microbiol Methods, 2009, 78(3): 319-324. DOI: 10.1016/j.mimet.2009.07.002
- [7] Liang RB, Liu JH. Scarless and sequential gene modification in *Pseudomonas* using PCR product flanked by short homology regions[J]. BMC Microbiol, 2010, 10: 209. DOI: 10.1186/1471-2180-10-209.
- [8] Huang CJ, Zhou SW, Qian GS, et al. High level expression of elastase from *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Chin J Zoonoses, 2005, 21(4): 294-297. (in Chinese)
- 黄春基, 周世文, 钱桂生, 等. 铜绿假单胞菌弹性蛋白酶的高效表达[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21(4): 294-297.

- [9] Mariencheck WI, Alcorn JF, Palmer SM, et al. *Pseudomonas aeruginosa* elastase degrades surfactant proteins A and D[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003, 28(4): 528. DOI: 10.1165/rcmb.2002-0141OC.
- [10] Schmidtchen A, Frick IM, Andersson E, et al. Proteinases of common pathogenic bacteria degrade and inactivate the antibacterial peptide LL-37[J]. Mol Microbiol, 2002, 46(1): 157-168. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03146.x
- [11] Murphy KC. The lambda Gam protein inhibits RecBCD binding to dsDNA ends[J]. J Mol Biol, 2007, 371(1): 19-24. DOI: 10.1016/j.jmb.2007.05.085
- [12] Poteete AR. What makes the bacteriophage λ Red system useful for genetic engineering: molecular mechanism and biological function[J]. FEMS Microbiol Lett, 2001, 201(1): 9-14. DOI: 10.1016/S0378-1097(01)00242-7
- [13] Tischer BK, von Einem J, Kaufer B, et al. Two-step red-mediated recombination for versatile high-efficiency markerless DNA manipulation in *Escherichia coli* [J]. Biotechniques, 2006, 40 (2): 191-197.

收稿日期:2012-07-17;修回日期:2012-09-19