

基于呼吸系统健康效应的室内空气微生物研究现状与展望

邓怡^{1,2}, 段梦婕^{2,3}, 郭建国⁴, 胡晓敏⁵, 张晟瑜⁶, 刘荔^{1,2*}

1. 清华大学建筑学院, 北京 100084;
2. 清华大学生态规划与绿色建筑教育部重点实验室, 北京 100084;
3. 清华大学万科公共卫生与健康学院, 北京 100084;
4. 中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京 100021;
5. 中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院医学科学研究中心, 北京 100730;
6. 中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院消化内科, 北京 100730

* 联系人, E-mail: liuli_archi@tsinghua.edu.cn

2022-08-25 收稿, 2022-11-15 修回, 2022-11-17 接受, 2022-11-18 网络版发表

国家重点研发计划(2019YFD1100902)和清华大学万科公共卫生与健康学院科研基金(2022BH001)资助

摘要 室内空气微生物是人体呼吸系统疾病的重要诱因, 明确室内空气微生物与呼吸系统健康效应关系对建立室内健康微生物环境标准具有积极意义. 近十多年, 环境和人类呼吸道健康相关的微生物学深入研究已使人们对微生物的看法从纯粹致病性、传染性的负面作用逐渐转变为潜在保护性、预防性的正面作用. 然而, 目前室内空气微生物与呼吸系统的量化作用机制尚未建立, 现行的公共卫生政策和室内空气微生物控制标准仍倾向于使室内保持尽可能低的微生物浓度, 以防止致病菌传播和人群感染. 本文总结了室内空气微生物与呼吸系统健康效应的相关研究, 指出了基于呼吸道健康效应的室内空气微生物定量表征的关键理论欠缺和技术瓶颈, 并以此为依据, 提出了基于采样工具、统计学工具以及实验工具优化的研究展望, 为未来量化呼吸系统健康效应与室内空气微生物作用的关系、室内空气微生物的表征提供借鉴.

关键词 呼吸道, 健康, 室内空气, 微生物

多样化的来源为建筑室内环境贡献了丰富的微生物, 从而使其成为微生物的巨大储存库. 室内空气中细菌和真菌浓度分别约为 $10^2\sim 10^6$ CFU/m³、 $10^2\sim 10^3$ 孢子/m³[1]. 现代人大约90%的时间在建筑室内度过[2], 成年人每天平均吸入约16000 L室内空气, 每小时即吸入数千个微生物[3]. 基于致病或条件致病微生物引发呼吸系统与非呼吸系统感染和疾病传播的认知, 公共卫生政策制定长久倾向于使室内保持更低的微生物浓度甚至绝对无菌, 国内外的各种空气质量标准通常按建筑类型规

定室内总微生物或特定种类微生物的限值.

但实际上, 深入的研究越来越多地揭示了环境微生物可能存在的正向健康效应. 人体呼出气中高达33.4%的细菌、48.7%的真菌可由建筑室内的空气贡献[4], 室内空气中除了数量占比极低的致病菌, 绝大部分微生物并不会引发疾病. “卫生假说”[5]、“旧友假说”[6]及“生物多样性假说”[7]强调环境与人类微生物群的重叠和相互作用有助于保持人体内部微生物多样性, 可提供重要的免疫调节作用. 流行病学研究亦显示出

引用格式: 邓怡, 段梦婕, 郭建国, 等. 基于呼吸系统健康效应的室内空气微生物研究现状与展望. 科学通报, 2023, 68: 656-670

Deng Y, Duan M J, Guo J G, et al. Research status and prospects of indoor airborne microbiome based on respiratory health effects (in Chinese). Chin Sci Bull, 2023, 68: 656-670, doi: 10.1360/TB-2022-0887

环境微生物总量、多样性与呼吸道疾病风险的负相关性^[8,9]。但建筑环境微生物学仍然停留在低微生物浓度的控制导向,其原因在于相关技术瓶颈使研究者无法建立室内微生物与健康效应的因果关系。

由此,本文着重探讨室内空气微生物对于呼吸道健康的正面作用,并指出呼吸道健康与室内微生物组定量关联研究及基于呼吸道健康效应的室内微生物定量表征所面临的关键理论欠缺、技术障碍及未来的研究方向,以期为室内微生物控制标准的完善和建筑环境的干预提供参考。文献检索步骤及纳入排除标准于补充材料(表S1、表S2、图S1)进行了说明。

1 室内微生物与呼吸道健康

1.1 室内空气微生物对呼吸道菌群的影响

虽然已建立的成熟宿主共生微生物群具有抵抗外来微生物扰动和定殖的能力^[10],但被吸入的空气微生物仍可能通过定殖或非定殖的方式影响呼吸道共生菌群。婴儿出生后生命早期的呼吸道共生菌群通过环境暴露获得^[11]。家庭卧室是婴儿生活的重要环境之一,婴儿气道菌群丰度与床尘中的*Youngiibacter*、*Pseudolabrys*等菌属正相关^[12],暗示被吸入的微生物可通过非定殖的方式改变呼吸道菌群结构。成年人肺部微生物部分来自空气直接吸入^[13]。Zhang等人^[4]发现室内空气对人体呼出气冷凝液中的细菌平均贡献比例为12.96%。室内空气和稳定期哮喘患者的痰液之间共享了80%以上的细菌种类^[14],二者的高度相似性意味着环境微生物可能转移并定殖到呼吸道。整体而言,关于吸入微生物对呼吸道菌群结构组成影响的研究仍较少并局限于相关性的描述,需要更多的研究来回答外源微生物可对呼吸道菌群产生怎样的影响或其可在多大程度上定殖于呼吸道。

室内空气微生物可能通过影响呼吸道菌群发挥健康效应。母亲孕期接触宠物相关微生物可能使新生儿免疫球蛋白E水平下降^[15]。婴儿在地毯上爬行时呼吸区微生物的暴露水平比成人行走时高1.3~3.4倍^[16],其在床面及近地表空气中吸入的微生物有助于塑造呼吸系统免疫功能^[17],并降低哮喘等过敏性疾病的患病率^[18]。成年人病态建筑综合征与室内霉菌、*Polychaeton*、*Gymnopus*和*Microbotryaceae*的生长以及潜在保护性细菌*Scytonema*、*Microcoleus*的减少之间亦存在关联^[19]。

1.2 环境微生物的免疫作用机制

当携带微生物的颗粒进入呼吸道,粒径大于10 μm的颗粒主要沉积在上呼吸道,粒径较小的颗粒可能到达下呼吸道^[20]。呼吸道的黏液层和上皮细胞层构成抵御和清除外来微生物的两道防线。黏液及其中的免疫球蛋白和糖蛋白捕获微生物颗粒、阻止病原体附着和感染^[21]。上皮层的上皮细胞、巨噬细胞和树突状细胞通过分泌抗菌物质、转运并吞噬抗原、诱导调节性细胞的方式进行适应性免疫,并维持免疫耐受和炎症反应间的稳态^[22]。但许多微生物发展出了免疫应答逃避机制以维持其在呼吸道内的生存,包括减少抗菌肽和炎症因子、增加抗炎因子、隐藏在宿主细胞内、分泌蛋白酶和改变自身结构等^[23]。

环境微生物可直接作用于免疫系统(图1)。环境微生物直接免疫作用的机制包括:第一,促进调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)成熟,分枝杆菌即为有效的Treg诱导剂^[6];第二,促进过敏原特异性反应中的免疫由二型免疫(T helper 2 response, Th2)偏离到一型免疫(T helper 1 response, Th1),例如从农场牛棚中分离出的*Acinetobacter lwoffii* F78和*Lactococcus lactis* G121可通过在树突状细胞中诱导Th1极化而减少过敏反应^[24];第三,以γδ细胞增长和Toll样受体4依赖机制诱导抑制性微环境为特征的多组分机制,大肠杆菌即借助此途径抑制过敏性气道炎症^[25]。

环境微生物还可通过影响呼吸道共生菌群发挥免疫作用。环境微生物可在呼吸道内直接定殖,气道和肺的形态、生理状态(pH、炎症等)及免疫多样性等微环境状况影响其定殖^[26],其也可通过与共生菌群竞争对抗或调节免疫系统进而改变宿主-微生物群关系的方式间接导致共生菌群的变化^[17,27],例如,益生菌在呼吸道黏液中可通过产生抗菌剂、竞争受体和结合位点来抑制其他微生物生长,也能调节免疫细胞对微生物的反应、稳定微生物群落组成和调节微生物群落的整体代谢^[28](图1)。而共生菌的定殖和组成对呼吸道结构成熟、免疫成熟和维持免疫稳态至关重要。肺部较高的细菌丰度可促进肺泡发育,乳酸杆菌移植使小鼠肺泡数量增加了1~2倍^[29]。肺部正常共生菌能促进树突状细胞、巨噬细胞和Treg的发育^[30],并通过分泌抗菌分子抑制病原体生长以维持群落内稳态^[27],当发生感染或炎症时,其能够调动T细胞反应、树突状细胞反应进行局部的免疫调节^[31,32]。呼吸道共生菌群的整体多样性

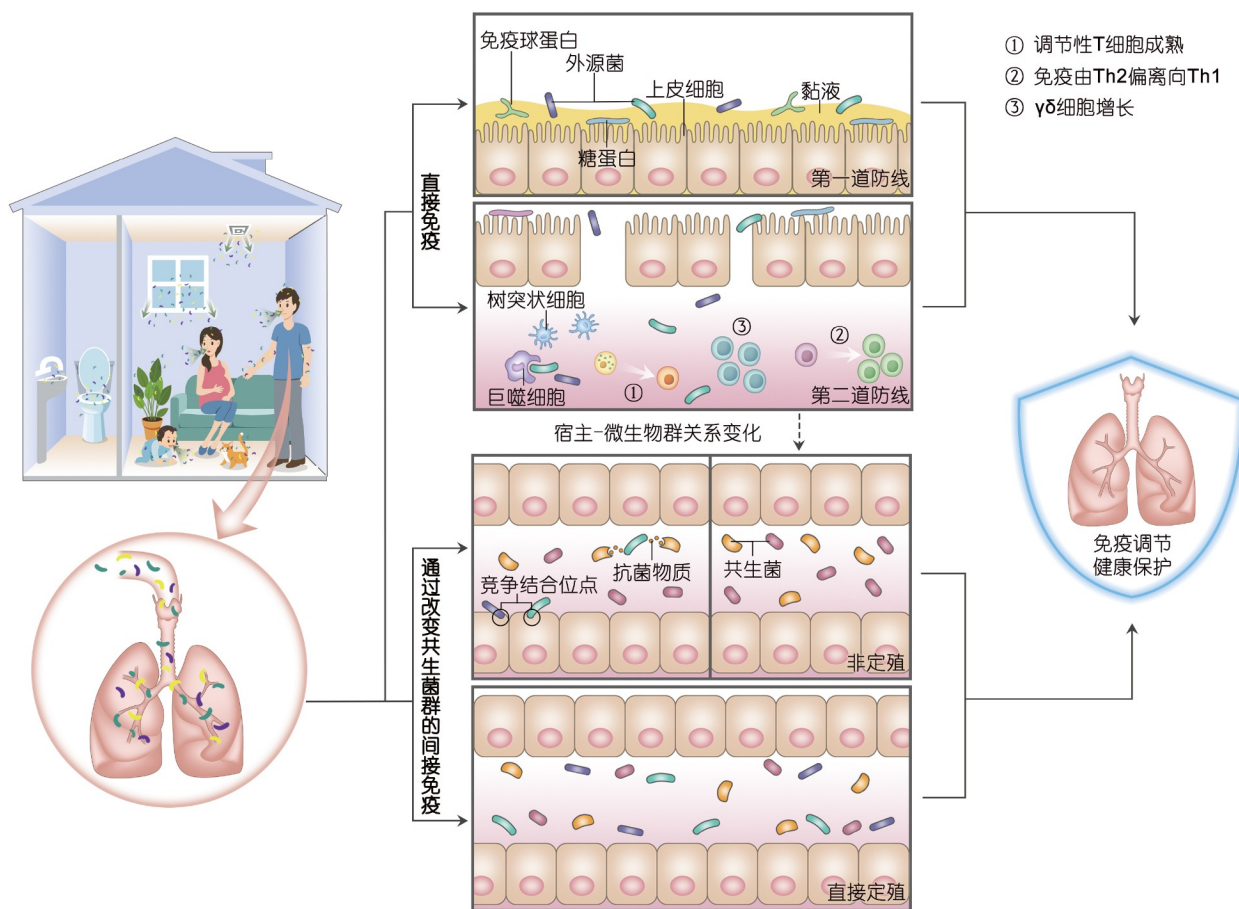


图1 (网络版彩色)室内空气微生物及其引发的人体呼吸道免疫调节
 Figure 1 (Color online) Inhalation exposure to indoor airborne microbiome and the corresponding immune regulation of human respiratory tracts

和特定微生物均在免疫防护中发挥作用^[33]。

1.3 呼吸道菌群失调与呼吸道疾病

缺乏暴露于微生物的免疫调节可能导致慢性呼吸道疾病的增加^[34]，且呼吸道疾病的易感性、发展及严重程度等临床参数与微生物变化相关，患病期间菌群变化特征主要为总体细菌多样性减少、共生细菌数量减少以及潜在致病菌数量增加^[26,35]。慢性阻塞性肺病(慢阻肺)恶化期间，链球菌属等7种潜在致病菌的相对丰度相较稳定期增加了20%以上，并伴随正常共生菌相对丰度同等数量的降低^[36]；囊性纤维化患者肺部细菌数量较健康人高出3~4个数量级，而多样性下降了85%左右^[37]，少数微生物在此期间大量繁殖并占据了主导地位^[38]。哮喘患者细菌负荷较健康人高出1倍以上，大约100个分类群显示出相对丰度增加和支气管高

反应性增加之间的显著线性关系^[39]。呼吸道微生物的改变还可能通过引起脱氧核糖核酸损伤、炎症反应改变、染色体不稳定和异常信号通路激活诱导癌变^[40]。呼吸道菌群失调引起的免疫失调和炎症反应可使微环境发生利于微生物生存的变化^[30,41]，从而形成感染和微生物群紊乱的损伤循环^[26](图2)，持续的炎症反应还可能诱发肺癌。

2 室内空气微生物及其控制

2.1 室内空气微生物的产生及动态变化

建筑室内空气微生物的种类主要分为细菌、真菌和病毒^[47]，其中，细菌和真菌浓度分别约为 $10^2 \sim 10^6$ CFU/m³、 $10^2 \sim 10^3$ 孢子/m³^[1]，病毒在特定环境下被进行特定种类的靶向研究。室内空气微生物的来源包括人

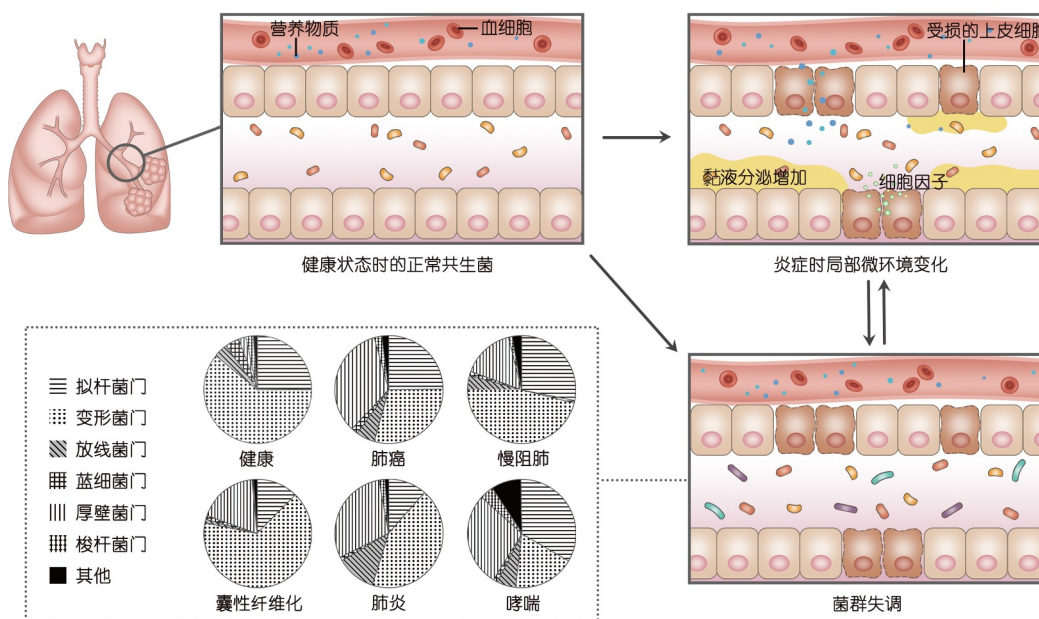


图2 (网络版彩色)炎症、微生物失调的损伤循环。在各种肺部疾病状态时,肺部最常见的6种菌门会产生以厚壁菌门增加、变形菌门减少、放线菌门增加为可能特征的变化^[26,37,38,42-46]

Figure 2 (Color online) Injury cycle caused by inflammation and microbiome dysregulation. Changes in the six most common phyla in the lung, possibly characterized by an increase in *Firmicutes*, a decrease in *Proteobacteria*, and an increase in *Actinomycetes*, in various lung disease states^[26,37,38,42-46]

类、宠物、植物、管道系统、沉降灰尘再悬浮、建筑材料、暖通空调和户外环境八大类^[47](图1)。室内空气微生物样本采集分为沉降灰尘采样和空气采样两大类,沉降灰尘采样反映室内空气微生物长期变化的累积结果,而空气采样则反映实时情况。建筑材料潮湿和暖通空调污染会使霉菌大量繁殖并引发多种呼吸道过敏反应。研究表明被污染的暖通空调系统可使呼吸道特异性风险提高1~2倍^[48];建筑材料被水损坏时,室内灰尘中霉菌数量增加了50%^[49],且建筑材料的类别影响霉菌生长的速度^[50]。宠物对室内微生物的影响体现在丰富度和多样性的提升^[51]。室外空气来源研究侧重描述室外与室内空气微生物在种类丰度、来源评估及时间依从性上的联系^[52,53]。人类微生物排放的研究多数聚焦于与传染性疾病预防相关的病毒排放,少数研究关注了室内健康人各种微生物粒子排放的情况^[54]及微生物负荷随人员数量和活动强度的变化^[52]。虽然植物相关微生物可为室内提供有益细菌和机会致病细菌^[55],但研究的关注点主要为植物对人类心理效应、舒适行为的改善^[56],以及对气态污染物的去除和空气质量的提升^[57],较少与微生物相关联。

室内空气微生物的输入(来源)与输出(过滤、通风和沉积)使其群落保持动态平衡^[58],环境变化将会引起微生物的迅速变化。除了上述来源自身的变化,导致室内空气微生物变化的因素可分为物理因素和化学因素两类。其中,物理因素包括温度、湿度、气流特性、PM_{2.5}和CO₂浓度等^[56,59,60]。Fujiyoshi等人^[61]指出,在进行空气细菌采样的同时,需测量温度、相对湿度、空气交换率和居住者密度这些影响其群落组成和多样性的关键因素。PM_{2.5}是细菌的良好载体,PM_{2.5}浓度的增加将提高室内细菌的浓度和多样性^[59];CO₂浓度衡量居住者密度和通风率,因而其与空气细菌浓度存在一定程度的正相关^[60]。化学因素包括建筑材料、家具和消毒产品等直接释放的或次生的各种化学物质。例如,部分有毒物质除了通过吸入暴露直接影响肺功能、增加呼吸道过敏风险,还将影响室内微生物群落从而产生附加健康损害。Guo等人^[62]发现,甲醛的浓度和暴露时间会影响室内细菌群落,长期暴露于高浓度甲醛将形成对健康危害更大的菌群; *M. avium*等机会致病菌可利用含氯消毒剂产生的游离氯存活^[63]。图3汇总了现有研究中各来源对室内空气细菌的贡献比例,同一微生

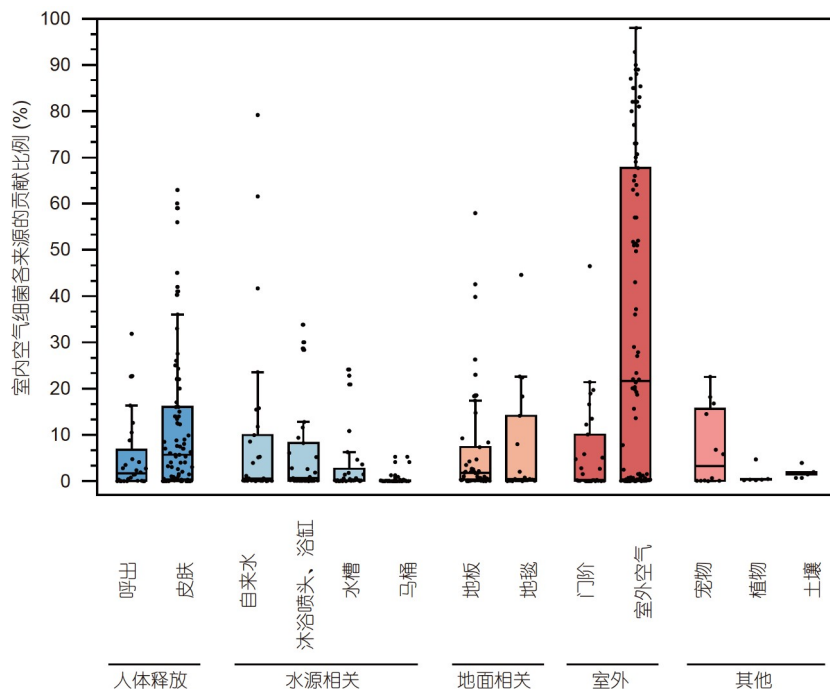


图3 (网络版彩色)室内空气细菌的来源及其贡献比例^[4,52,68-71]
 Figure 3 (Color online) Sources of indoor airborne bacteria and their relative contributing proportion^[4,52,68-71]

物源的贡献比例在不同研究中普遍存在差异,其原因在于两个方面:第一,不同地理位置、环境条件对室内空气微生物构成起到决定性作用;第二,采样及分析方法不同也是影响研究结果的关键因素。

室内空气微生物对健康的利害性受其具体来源影响。植物^[64,65]、宠物^[66,67]相关的微生物可以降低特异性疾病的发病风险——家庭附近植被更多的儿童哮喘发病率降低59%,鼻炎患病风险降低2.7倍^[65];家中养狗使儿童在3岁时患喘息的风险降低51%^[66]。通风使户外多样化的微生物进入室内,进而也可能发挥相似的健康保护作用。但相较之下,潮湿的建材和管道表面、被污染的暖通空调系统中则未发现具备任何特异性或非特异性保护作用的微生物。后续需展开全面、系统的研究来回答建筑室内空气可提供健康保护作用的整体微生物结构组成是怎样的,以及哪些特定菌种发挥了重要的保护作用。

2.2 室内空气微生物控制及其缺陷

纵观室内微生物学的发展,大部分研究集中于致病或条件致病微生物对呼吸道的负面健康效应。从20世纪60年代起,研究人员便开始关注室内微生物的来源和存活规律、量化室内真菌与过敏症状的关联并研

究建筑环境微生物的控制方法^[72],并延续至今。部分微生物借助呼吸由环境向人传播,并引发严重的呼吸系统疾病,其中包括病毒,如非典病毒、新型冠状病毒;细菌病原体,如炭疽杆菌、嗜肺军团菌;真菌病原体,如烟曲霉菌。正基于此,长久以来的公共卫生政策致力于创造最不利于病原微生物生长的室内环境,但由于缺乏特异性的控制措施,现有控制标准和技术规程仅能对室内总微生物或少量特定种类微生物的浓度限值做出规定。欧洲联盟规定的室内细菌和真菌浓度限值均为 1×10^4 CFU/m³^[73],美国职业安全与健康管理局推荐的真菌限值为1000 CFU/m³^[74]。我国《室内空气质量标准》(GB/T 18883-2022)规定的住宅和办公建筑空气细菌限值为1500 CFU/m³^[75],《室内空气微生物污染控制技术规程》(T/CECS 873-2021)中的细菌二级推荐限值、真菌限值分别为1500和1000 CFU/m³^[76],且我国的室内空气微生物浓度限值标准是全世界最严格的标准之一。

成年人每小时吸入数千个微生物^[3],其中基本没有致病菌或致病菌占比很低,在通常情况下不足以致病,而环境微生物暴露对人类健康的影响也不止于此。近十多年,关于环境和人类健康微生物学的深入认识已使研究者对微生物的看法从纯粹致病性、传染性的负

面作用转变为潜在保护性、预防性的正面作用。环境微生物的暴露有助于减少人体微生物多样性的损失、获得有益微生物或降低潜在感染性人类共生菌与非感染性环境获得菌的比例^[77]。同时,我们不应由此忽略有针对性的卫生实践在中断致病微生物传播方面所起的关键作用。据统计,1900年至今,至少有75%的传染病死亡率下降是由于公共卫生措施的施行^[78]。

面对室内空气微生物所具备的双重健康效应,理想的控制策略应当是在针对地域、季节和敏感人群降低病原微生物浓度的同时,增加微生物多样性及有益菌比例。如上文所述,植物、宠物及室外空气可产生具有免疫保护作用的微生物,因而改善室内微生物群落最简单的办法即种植物、养宠物或增加开窗通风。当这些措施由于城市管理政策、地域及气候等原因不易实现时,有学者提出可将来自植物、宠物、土壤的微生物添加至建筑材料中,还可向其中添加可抑制病原体的拮抗微生物,或直接添加微生物代谢物以避免次生健康风险^[79](措施可行性有待基于循证医学或因果机制的研究予以严谨证明)。实际上,虽然微生物移植或益生菌添加在肠道菌群改善和疾病治疗方面已成效显著,但尚未见通过环境微生物调控进行呼吸道菌群调节的报道,其原因在于呼吸道健康与室内微生物组定量关联研究缺乏,无法对基于呼吸道健康效应的空气微生物群落定量化表征,因而针对室内空气微生物浓度、种类、多样性等各方面的人为干预措施缺乏理论依据。

3 理论研究难点、技术瓶颈和研究方向

3.1 理论研究难点

从室内微生物的释放到其在呼吸道特定部位发挥作用的整个过程中,众多节点存在理论空缺:在被吸入前,微生物的源释放强度及在室内空气中的扩散、分布和活性不明确;被吸入后,环境微生物在各部位的沉积及作用机制亦不明确。其中,空气微生物性质的不明确性和微生物产生健康效应时区别于非生物活性空气污染物的特点是研究面临的突出难点,同时也是需要关注的重点。

部分空气微生物种类及性质有待明确。目前的空气微生物采样方法按照原理可分为惯性撞击、过滤阻留、静电沉着和温差迫降(前两类用的较多)^[80]。微生物的检测方法分为培养方法和非培养方法,传统的培养

方法可分离纯化特定菌株,是研究菌种生理、代谢特性最直接有效的方法;随着聚合酶链式反应、高通量测序技术等非培养技术的出现,微生物研究的广度与深度被极大地提高。但环境微生物暴露的多样性和复杂性与现有数据库的数据间存在巨大差距,多种空气微生物还未被确认。据一项个体长期环境暴露研究报告,实验期间3个受试人员接触了超过2500种微生物,但其中43.74%不属于已知物种^[81]。而且环境中多达90%的微生物无法被培养^[82],能够通过培养法在生物气溶胶中测量到的微生物仅占总数的千分之一^[83]。这意味着,目前尚无有效方法用于评估空气中不可培养微生物的致病风险或免疫保护特性。Guo等人^[84]在近期报道了一种以更密切的进化关系反映相似的生物学特征为指导原则的空气微生物风险评估方法,以评估空气细菌引发肺炎的风险。

微生物可在呼吸道内代谢和繁殖。被吸入的微生物部分被杀死和清除,但存活下来的即可能通过繁殖使其数量迅速增多,因而微生物在呼吸道内的作用剂量与暴露剂量可能存在巨大差异。同时,无论微生物是否处于存活状态,其代谢产物都会释放。其中,微生物挥发性有机化合物会引发健康问题^[85],一些细菌分泌物具有抗过敏、调节免疫系统的作用,如分枝杆菌释放的 γ 干扰素可消除气道炎症^[86],而内毒素和过敏原既可能引发免疫反应,又可能提供免疫保护^[87]。

微生物群整体和其中的特定个体均发挥作用。个人在3个月内可接触1000余种环境微生物^[81],一些特定环境微生物在过敏保护和增强耐受方面的重要作用已被证明,如 γ -变形菌以其致病性诱导宿主抗炎细胞因子白介素10表达,通过刺激免疫耐受提供过敏保护作用^[64]。同时,哮喘等特异性疾病患病风险与环境微生物暴露的多样性呈负相关^[8,9];不同类型的菌群对人群细菌性肺炎发病率具有不同的影响^[88]。实际上,不同建筑室内的微生物构成可能十分不同,但在室内人群均不处于明显的疾病状态,“什么是健康的室内空气微生物环境”还是一个难以回答的问题。整体而言,该方面的研究仍处于起步阶段,需要更多的研究来明确微生物的整体多样性、总生物量是否重要,以及其中是否有特定菌种在促进免疫系统发育或导致疾病的易感性或保护性中发挥了更大作用。

微生物在呼吸道内的作用呈现明显的剂量效应和个体差异性。Liddicoat等人^[89]提出的微生物暴露剂量——反应曲线呈现倒“U”形,即中低浓度的一些环境特

定微生物(伴随高度的微生物多样性)激活和增强呼吸道免疫调节与适应性反应,但这些微生物浓度过低或过高(伴随微生物多样性的丧失)则会导致呼吸道暴露缺乏或过度并产生负面健康效应。虽然最佳暴露剂量难以确定甚至不存在,其两侧的剂量反应关系也可能并非确切的正相关,但该曲线提供了不同研究中微生物或其代谢产物健康效应相矛盾的解释视角。而且倒“U”形曲线只是从个体层面提出了环境微生物剂量-反应关系的一种可能性,在细胞或分子层面上,环境微生物浓度和多样性的直接免疫作用、通过影响呼吸道菌群的间接免疫作用是否符合该规律及其作用机制需要后续的研究予以回答。除了作用剂量,受环境、遗传、健康状况等诸多因素的影响,呼吸道菌群具有显著的个体差异性^[90],个体对环境微生物的反应也因呼吸道共生菌群、遗传敏感性和呼吸道疾病状态等的不同而不同^[10,67,89]。环境微生物的暴露时期及持续时间也影响免疫作用的效果,早期刺激是支持免疫调节机制成熟的关键^[34,89]。加之室内微生物受建筑的地理位置、建筑类型、室内环境及设计运营等复杂因素影响^[53,60],个体共生菌群差异、对环境微生物的反应差异以及室内微生物的动态变化三者构成了一个复杂巨系统,为量化室内微生物对呼吸道菌群的调节作用、判断更加“健康”的室内空气微生物类型带来了很大难度。

3.2 技术瓶颈和研究方向

建筑室内空气微生物是否健康的问题,也即基于呼吸道健康效应的室内空气微生物群落表征,最终将落实于呼吸道健康效应和作用机制的量化,健康效应和作用机制研究中理论空白填补和难点突破所面临的技术瓶颈可归纳为采样工具、统计学工具以及实验工具的限制。

3.2.1 采样工具

评估室内空气微生物向呼吸道的转移、回答室内空气微生物可在多大程度上定殖于呼吸道,是作用机制研究面临的首要问题。目前病原体(尤其是病毒)由建筑室内空气传播至人体呼吸道的研究居多^[91],只有个别研究描述了正常微生物在二者间的转移^[4,14]。导致该结果的最重要原因在于,目前虽然空气微生物的采样方法发展较为成熟,已能够满足基本的研究需求,但呼吸道采样通常具有侵入性、高成本、高技术要求的特征,仅被用于呼吸道疾病诊断,对健康人的适用度低,而侵入性小的采样方法采样效率不高。

表1列出了常用的呼吸道微生物采样技术。鼻、咽拭子操作简单、成本低廉,但采样部位受限;取痰法操作简单,但易受到口咽部位微生物的污染且部分特殊菌不易随痰咳出;气管抽吸、支气管抽吸、支气管肺泡灌洗和防污染标本毛刷能避免口咽定殖菌污染且准确收集目标部位分泌物,但成本高且具有侵入性。表1对上述采样方法进行了综合对比及评价,参考依据为各采样方法的优缺点及其在不同疾病诊断中的具体性能指标(表2)。因而,开发侵入性低、采样效率高、成本低廉采样方法的需求迫切。

呼出气冷凝物(exhaled breath condensate, EBC)收集具有无创、操作简单的优点,在被广泛用于生物标志物研究后,逐渐被用于微生物研究^[4,101]。目前已有多种自用或商用的EBC采样器,如Rtube、EcoScreen、Anacon、Turbo DECCS和EBC采样盒,根据自身特点可用于固定场所或短时间大规模人群采样等各种场景^[101]。

目前EBC方法面临的主要问题有:检测结果与广泛使用的采样方法可比性不确定、采样效率低、样本代表性差。研究显示,EBC中细菌的检测结果与支气管肺泡灌洗液中的具有高度相关性^[102],但与痰液中的没有较好相关性^[103];EBC的新型冠状病毒检测灵敏度也很低^[104]。EBC的起源部位、收集和检测方法、脱氧核糖核酸的浓度和稳定性及微生物释放的黏液阻碍等因素造成了EBC与其他采样方法之间的结果差异及EBC中微生物检测的困难^[103]。目前已有针对呼出气溶胶的形成机制及溶质进入呼出气部位的研究^[105],并已发布了EBC样本采集程序和分析技术标准建议以对EBC样本的收集检测进行规范^[106]。研究者也关注从采样技术^[107]和检测技术^[108]两方面解决采样效率低的问题。EBC因不直接在呼吸道内采样、只能采到可被呼出的微生物而存在一定的样本代表性问题,后续的研究需要确定微生物被释放到呼出气的部位及阻碍其最终被呼出的因素,以确定外源微生物的沉积部位、可呼出或呼不出的微生物种类及其原因。

3.2.2 统计学工具

所获呼吸道微生物的样本需要进行内、外源的区分和环境微生物贡献的量化,以判断空气微生物对呼吸道菌群的影响程度。某些微生物由于具有特殊的生态位或来源具备特异性,较容易被识别和区分,如军团菌感染与室内的水系统相关^[109]。但大部分室内的微生物可能不具备来源特异性,需要来源追踪和识别的方法协助进行鉴别。微生物研究广泛使用非度量多维尺

表1 常用呼吸道微生物采样方法对比及综合评价

Table 1 Comparison and comprehensive evaluation of common sampling methods for respiratory tract microbiome

方法	取样量	采样部位	采样效率	侵入性	综合评价 ^{a)}
鼻/咽拭子	刷拭数次	上呼吸道	低	轻微	B
痰液	≥1 mL	下呼吸道	一般	无	A
气管/支气管抽吸	≥1 mL	下呼吸道	高	严重	B
支气管肺泡灌洗	灌洗液60~120 mL, 回收率≥30%	下呼吸道	高	严重	B
防污染标本毛刷	刷拭数次	下呼吸道	一般	严重	C

a) 综合评价由A到C表示推荐程度由高到低

表2 常用呼吸道采样方法在不同疾病诊断中的性能对比

Table 2 Performance comparison of common respiratory tract sampling methods in diagnosis of different diseases

微生物种类	疾病	采样方法	灵敏度/阳性检出率(% ^{a),b)}	特异性(% ^{b)}	参考文献
细菌	呼吸机相关性肺炎	防污染标本毛刷	89(95% CI ^{c)} : 87~93)	94(95% CI: 92~97)	[92]
			82	77	[93]
		支气管肺泡灌洗	61.4(95% CI: 43.7~76.5)	76.5(95% CI: 64.2~85.6)	[94]
			73±18(范围: 42~93)	82±19(范围: 45~100)	[95]
			91	78	[93]
	肺部浸润	气管抽吸	71.1(95% CI: 49.9~85.9)	79.6(95% CI: 66.2~88.6)	[94]
			76±9(范围: 38~82)	75±28(范围: 72~85)	[96]
		痰液	68	84	[97]
			75.7(95% CI: 51.5~90.1)	67.9(95% CI: 40.5~86.8)	[94]
			46	(-)	[98]
流感	支气管抽吸	57			
	防污染标本毛刷	43			
病毒	新型冠状病毒感染	支气管肺泡灌洗	69		
		痰液	68	(-)	[99]
	新型冠状病毒感染	鼻咽拭子 ^{d)}	53		
		痰液	68.1(95% CI: 56.9~79.4)		
		鼻拭子 ^{d)}	62.5(95% CI: 29.0~96.0)		
		鼻咽拭子 ^{d)}	45.5(95% CI: 31.2~59.7)		
		咽拭子 ^{d)}	31.7(95% CI: 27.1~34.1)		
		口咽拭子 ^{d)}	38.9(95% CI: 31.5~46.3)	(-)	[100]
防污染标本毛刷	7.6(95% CI: 5.7~9.6)				
支气管肺泡灌洗	46.2(95% CI: 19.1~73.3)				
		91.8(95% CI: 79.9~103.7)			

a) 灵敏度/阳性检出率: 细菌为灵敏度, 病毒为阳性检出率; b) 各指标计算公式: 灵敏度=被诊断为患病/实际患病, 阳性检出率=被诊断为患病/实际患病, 特异性=被诊断为无病/实际未患病; c) CI, confidence interval, 置信区间; d) 由于所引用的文献未明确说明无菌拭子采样部位及操作细节, 鼻咽拭子、鼻拭子、咽拭子、口咽拭子均为直译

度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)、层次聚类(hierarchical clustering, HC)、主成分分析(principal component analysis, PCA)、主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)比较不同微生物组间

的相似性, 并以解释度进行定量, 但无法给出源对汇的贡献比例. 微生物来源追踪(microbial source tracking, MST)使用适当指示菌发现和表征微生物来源, 但不能应用于标记物不具备来源特异性或多个来源具有相似

标记物浓度的情形。

基于高通量测序技术的MST新工具的出现正在解决上述微生物追踪所面临的问题。Unno等人^[110]报告了由共享操作分类单元定义的源标记方法，其可同时使用多种细菌分类群评估微生物的来源且无需为每个序列分配分类学的分类。Knights等人^[111]开发的SourceTracker方法可同时表征数百甚至数千个标记，从而识别所有微生物来源(包括没有特异性单标记基因的来源)，该方法可对源的比例进行直接估计并对不确定的环境源进行贝叶斯建模。已有学者将SourceTracker法应用于人类呼吸道中环境微生物相对贡献的研究^[3]。除此之外，基于群落的MST方法还包括随机森林、FEAST等^[112]。这些方法在评估环境吸入微生物对呼吸道菌群贡献方面潜力很大。

复杂的作用机制研究和干扰因素量化也需要强大的生物统计学方法作支撑。微生物在呼吸道内的作用因影响因素众多而呈现出很大复杂性。除了个体呼吸道菌群自身差异、个体对环境微生物的反应差异以及室内微生物的动态变化三者所构成的复杂巨系统，室内的空气微生物与非微生物污染物暴露还可能同时发生，形成复杂的“暴露体”，二者的相互作用或干扰剥离也需要考虑。目前生物统计在帮助了解呼吸道微生物组、宿主和环境之间的动态相互作用上发挥的重要作用仍被建筑微生物学研究人员所忽略。未来需要进一步开发统计工具，以更好地捕获微生物组数据的组成特征、评估纵向微生物组数据以确定其随时间的变化，并尝试将各变量间的相关性分析转变为因果性分析。

3.2.3 实验工具

目前关于环境微生物对呼吸道菌群影响及其健康效应的研究，按照研究方法大致可分为以队列研究为代表的循证医学研究^[113]、离体分子或细胞生物实验^[114]以及小鼠动物实验^[29-31]。循证医学将数据、经验和临床判断结合，被广泛用于临床实践并产生了巨大的健康收益，但是当今循证医学过分强调研究方法等级性的做法可能会忽略证据本身的可靠性和准确性^[115]，且高风险的实验以及创伤性的取样在伦理上很难通过。小鼠模型提供了很好的研究起点，但由于身体尺寸、代谢率、生活史和免疫系统之间的物种差异，人类和小鼠模型在暴露于相同物质时可能产生不同的反应^[116]。而离体分子或细胞生物实验在揭示单一作用机制时十分有利，但不能准确反映体内更加复杂的生理微环境。因而，发展更能模拟呼吸系统真实、复杂环

境并揭示体内毒理学反应、分子层面作用机制的方法十分必要。

近年来，“器官芯片”(organ-on-a-chip, OOC)技术发展迅速。OOC通过结合三维组织结构、微流控网络和培养的人体细胞，进行体内生理条件的模拟^[117]。该技术能够提供血管系统、间质液流动等重要的生理线索，从而最大限度地减少体外模型或动物模型的缺点^[118]。OOC易于构建、规模小并且可灵活更改，因而可以制成互连的多OOC系统以更好地模拟人体的整体生理反应^[118]，且现已开发出了具有仿生呼吸机制的肺芯片用来模拟肺部微环境^[119]，这些技术优势及成果使开发集成上呼吸道和下呼吸道的完整呼吸系统OOC成为可能。虽然目前OOC主要用于干细胞、癌症和药物筛选研究，毒理学研究较少，但其发展成为研究室内空气微生物暴露的有力工具的潜力巨大。细胞的培养与选取、芯片材料与组织的兼容性以及非侵入性原位实时分析技术的同步提升是OOC技术目前面临的主要挑战^[117]。

4 总结

(1) 被吸入的建筑室内微生物可引发直接免疫作用，也可通过改变呼吸道共生菌群发挥间接免疫作用。微生物暴露缺乏可能导致慢性呼吸道疾病发病风险增加，且呼吸道疾病的许多临床参数与微生物变化相关。

(2) 室内空气微生物来源广泛，建筑室内微生物学的大部分研究关注致病微生物对呼吸道的负面健康效应。由于缺乏特异性的控制措施，现有控制标准和技术规程仅能对室内总微生物或少量特定种类微生物的浓度限值做出规定。

(3) 部分空气微生物种类及性质不明确，且微生物在发挥健康效应时具备以下显著特点：代谢和繁殖可能使暴露剂量和作用剂量间存在差异；群落的多样性和特定个体的特性均可提供过敏保护作用；健康效应存在明显剂量效应和个体差异。这些是建筑室内微生物学研究面临的突出难点。

(4) 目前的研究局限于揭示环境微生物与呼吸系统健康保护作用间的相关性，而基于呼吸道健康效应的室内空气微生物群落表征的落脚点——呼吸道健康效应及作用机制的量化，受到呼吸道微生物采样、微生物数据深度分析及离体实验准确性的阻碍。

(5) 后续研究需要重点关注并开发低侵入性、高采样效率的呼吸道微生物采样工具，具备复杂来源识

别、干扰因素量化及因果关系判断功能的统计学工具,以及可模拟真实、复杂呼吸道环境并揭示分子层面作用机制的新型实验工具。

随着对环境和人类健康相关微生物学认识的深入,人们逐渐开始关注环境微生物对呼吸系统的免疫调节和健康保护,更佳的室内微生物控制措施应当是在减少致病微生物的同时保持有益且多样化的微生物环境。

室内空气微生物在多大程度上能够定殖或影响呼吸道的菌群,其向呼吸道的转移在什么情况下会导致疾病或对人体有益以及作用机制是什么等问题,将随着高效适用的技术工具开发得以解决,“什么是健康的室内空气微生物环境”也将随之逐渐清晰。明确且量化的机制将作为科学依据指导室内微生物控制标准的改善和实际干预措施的合理使用。

参考文献

- 1 Prussin II A J, Garcia E B, Marr L C. Total concentrations of virus and bacteria in indoor and outdoor air. *Environ Sci Technol Lett*, 2015, 2: 84–88
- 2 Hoppe P, Martinac I. Indoor climate and air quality—Review of current and future topics in the field of ISB study group 10. *Int J Biometeorol*, 1998, 42: 1–7
- 3 Zhou Z C, Liu Y, Lin Z J, et al. Spread of antibiotic resistance genes and microbiota in airborne particulate matter, dust, and human airways in the urban hospital. *Environ Int*, 2021, 153: 106501
- 4 Zhang Y, Shen F, Yang Y, et al. Insights into the profile of the human expiratory microbiota and its associations with indoor microbiotas. *Environ Sci Technol*, 2022, 56: 6282–6293
- 5 Strachan D P. Hay fever, hygiene, and household size. *Br Med J*, 1989, 299: 1259–1260
- 6 Rook G A W, Martinelli R, Brunet L R. Innate immune responses to mycobacteria and the downregulation of atopic responses. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2003, 3: 337–342
- 7 von Hertzen L, Hanski I, Haahntela T. Natural immunity. *EMBO Rep*, 2011, 12: 1089–1093
- 8 Ege M J, Mayer M, Normand A C, et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med*, 2011, 364: 701–709
- 9 Deckers J, Marsland B J, von Mutius E. Protection against allergies: Microbes, immunity, and the farming effect. *Eur J Immunol*, 2021, 51: 2387–2398
- 10 Seedorf H, Griffin N W, Ridaura V K, et al. Bacteria from diverse habitats colonize and compete in the mouse gut. *Cell*, 2014, 159: 253–266
- 11 Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 411–420
- 12 Gupta S, Hjelmsø M H, Lehtimäki J, et al. Environmental shaping of the bacterial and fungal community in infant bed dust and correlations with the airway microbiota. *Microbiome*, 2020, 8: 115
- 13 Dickson R P, Erb-Downward J R, Freeman C M, et al. Bacterial topography of the healthy human lower respiratory tract. *Mbio*, 2017, 8: e02287-16
- 14 Vandenborght L E, Enaud R, Urien C, et al. Type 2-high asthma is associated with a specific indoor mycobiome and microbiome. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147: 1296–1305.e6
- 15 Smejda K, Polanska K, Stelmach W, et al. Dog keeping at home before and during pregnancy decreased the risk of food allergy in 1-year-old children. *Postepy Dermatol Alergol*, 2020, 37: 255–261
- 16 Hyytiäinen H K, Jayaprakash B, Kirjavainen P V, et al. Crawling-induced floor dust resuspension affects the microbiota of the infant breathing zone. *Microbiome*, 2018, 6: 25
- 17 Rook G A. Regulation of the immune system by biodiversity from the natural environment: An ecosystem service essential to health. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 18360–18367
- 18 Lappalainen M H J, Roponen M, Hyvärinen A, et al. Exposure to environmental bacteria may have differing effects on tumour necrosis factor- α and interleukin-6-producing capacity in infancy. *Clin Exp Allergy*, 2008, 38: 1483–1492
- 19 Fu X, Norbäck D, Yuan Q, et al. Association between indoor microbiome exposure and sick building syndrome (SBS) in junior high schools of Johor Bahru, Malaysia. *Sci Total Environ*, 2021, 753: 141904
- 20 Hatch T F. Distribution and deposition of inhaled particles in respiratory tract. *Bacteriol Rev*, 1961, 25: 237–240
- 21 Kiyono H, Fukuyama S. NALT-versus PEYER’S-patch-mediated mucosal immunity. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4: 699–710
- 22 Hasenberg M, Stegemann-Koniszewski S, Gunzer M. Cellular immune reactions in the lung. *Immunol Rev*, 2013, 251: 189–214
- 23 Mues N, Chu H W. Out-smarting the host: Bacteria maneuvering the immune response to favor their survival. *Front Immunol*, 2020, 11: 819

- 24 Debarry J, Garn H, Hanuszkiewicz A, et al. *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119: 1514–1521
- 25 Nembrini C, Sichelstiel A, Kisielow J, et al. Bacterial-induced protection against allergic inflammation through a multicomponent immunoregulatory mechanism. *Thorax*, 2011, 66: 755–763
- 26 Marsland B J, Gollwitzer E S. Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 827–835
- 27 Welp A L, Bomberger J M. Bacterial community interactions during chronic respiratory disease. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 213
- 28 Hemarajata P, Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol*, 2013, 6: 39–51
- 29 Yun Y, Srinivas G, Kuenzel S, et al. Environmentally determined differences in the murine lung microbiota and their relation to alveolar architecture. *PLoS One*, 2014, 9: e113466
- 30 Herbst T, Sichelstiel A, Schaer C, et al. Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 184: 198–205
- 31 Henriksson G, Helgeland L, Midtvedt T, et al. Immune response to *Mycoplasma pulmonis* in nasal mucosa is modulated by the normal microbiota. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31: 657–662
- 32 Larsen J M, Steen-Jensen D B, Laursen J M, et al. Divergent pro-inflammatory profile of human dendritic cells in response to commensal and pathogenic bacteria associated with the airway microbiota. *PLoS One*, 2012, 7: e31976
- 33 Man W H, de Steenhuijsen Piters W A A, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: Gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15: 259–270
- 34 Rivas M N, Crother T R, Arditi M. The microbiome in asthma. *Curr Opin Pediatr*, 2016, 28: 764–771
- 35 Munyaka P M, Khafipour E, Ghia J E. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications. *Front Pediatr*, 2014, 2: 109
- 36 Millares L, Ferrari R, Gallego M, et al. Bronchial microbiome of severe COPD patients colonised by *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33: 1101–1111
- 37 Sze M A, Dimitriu P A, Hayashi S, et al. The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185: 1073–1080
- 38 Gupta S, Shariff M, Chaturvedi G, et al. Comparative analysis of the alveolar microbiome in COPD, ECOPD, Sarcoidosis, and ILD patients to identify respiratory illnesses specific microbial signatures. *Sci Rep*, 2021, 11: 3963
- 39 Huang Y J, Nelson C E, Brodie E L, et al. Airway microbiota and bronchial hyperresponsiveness in patients with suboptimally controlled asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127: 372–381.e3
- 40 Liu N N, Ma Q, Ge Y, et al. Microbiome dysbiosis in lung cancer: From composition to therapy. *npj Precis Onc*, 2020, 4: 33
- 41 Huffnagle G B, Dickson R P, Lukacs N W. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: A two-way street. *Mucosal Immunol*, 2017, 10: 299–306
- 42 Huang D, Su X, Yuan M, et al. The characterization of lung microbiome in lung cancer patients with different clinicopathology. *Am J Cancer Res*, 2019, 9: 2047–2063
- 43 Cheng Y N, Huang W C, Wang C Y, et al. Compared the microbiota profiles between samples from bronchoalveolar lavage and endotracheal aspirates in severe pneumonia: A real-world experience. *J Clin Med*, 2022, 11: 327
- 44 Guan W J, Yuan J J, Li H M, et al. Altered community compositions of Proteobacteria in adults with bronchiectasis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, Volume 13: 2173–2182
- 45 Delhaes L, Monchy S, Freaile E, et al. The airway microbiota in cystic fibrosis: A complex fungal and bacterial community-implications for therapeutic management. *PLoS One*, 2012, 7: e36313
- 46 Millares L, Bermudo G, Pérez-Brocal V, et al. The respiratory microbiome in bronchial mucosa and secretions from severe IgE-mediated asthma patients. *BMC Microbiol*, 2017, 17: 20
- 47 Prussin II A J, Marr L C. Sources of airborne microorganisms in the built environment. *Microbiome*, 2015, 3: 78
- 48 Zuraimi M S. Is ventilation duct cleaning useful? A review of the scientific evidence. *Indoor Air*, 2010, 20: 445–457
- 49 Dales R E, Miller D, McMullen E. Indoor air quality and health: Validity and determinants of reported home dampness and moulds. *Int J Epidemiol*, 1997, 26: 120–125
- 50 Lai Q J, Feng C. Review of mould prediction models for building materials (in Chinese). *Build Sci*, 2022, 38: 206–215, 282 [赖求佳, 冯驰. 建筑材料霉菌生长预测模型综述. *建筑科学*, 2022, 38: 206–215, 282]
- 51 Fujimura K E, Johnson C C, Ownby D R, et al. Man's best friend? The effect of pet ownership on house dust microbial communities. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126: 410–412.e3
- 52 Miletto M, Lindow S E. Relative and contextual contribution of different sources to the composition and abundance of indoor air bacteria in

- residences. *Microbiome*, 2015, 3: 61
- 53 Ye J, Qian H, Zhang J, et al. Concentrations and size-resolved I/O ratios of household airborne bacteria and fungi in Nanjing, Southeast China. *Sci Total Environ*, 2021, 774: 145559
- 54 Qian J, Hospodsky D, Yamamoto N, et al. Size-resolved emission rates of airborne bacteria and fungi in an occupied classroom. *Indoor Air*, 2012, 22: 339–351
- 55 Berg G, Mahner A, Moissl-Eichinger C. Beneficial effects of plant-associated microbes on indoor microbionnes and human health? *Front Microbiol*, 2014, 5: 15
- 56 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Microbiomes of the Built Environment: A Research Agenda for Indoor Microbiology, Human Health, and Buildings*. Washington DC: The National Academies Press, 2017
- 57 Zhang S J, Huang Y T. Research progress on the elimination of indoor formaldehyde pollution by plants (in Chinese). *Ecol Environ*, 2010, 19: 3006–3013 [张淑娟, 黄耀棠. 利用植物净化室内甲醛污染的研究进展. *生态环境学报*, 2010, 19: 3006–3013]
- 58 Adams R I, Bhangar S, Dannemiller K C, et al. Ten questions concerning the microbiomes of buildings. *Build Environ*, 2016, 109: 224–234
- 59 Ye J, Qian H, Zhang J S, et al. Combining culturing and 16S rDNA sequencing to reveal seasonal and room variations of household airborne bacteria and correlative environmental factors in Nanjing, Southeast China. *Indoor Air*, 2021, 31: 1095–1108
- 60 Guo K Q, Qian H, Ye J, et al. Assessment of airborne bacteria and fungi in different-type buildings in Nanjing, a hot summer and cold winter moist Chinese city. *Build Environ*, 2021, 205: 108258
- 61 Fujiyoshi S, Tanaka D, Maruyama F. Transmission of airborne bacteria across built environments and its measurement standards: A review. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2336
- 62 Guo J G, Xiong Y, Kang T, et al. Effect of formaldehyde exposure on bacterial communities in simulating indoor environments. *Sci Rep*, 2021, 11: 20575
- 63 Primm T P, Lucero C A, Falkinham III J O. Health impacts of environmental mycobacteria. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17: 98–106
- 64 Ruokolainen L, von Hertzen L, Fyhrquist N, et al. Green areas around homes reduce atopic sensitization in children. *Allergy*, 2015, 70: 195–202
- 65 Cavaleiro Rufo J, Paciência I, Hoffmann E, et al. The neighbourhood natural environment is associated with asthma in children: A birth cohort study. *Allergy*, 2021, 76: 348–358
- 66 Bufford J D, Reardon C L, Li Z, et al. Effects of dog ownership in early childhood on immune development and atopic diseases. *Clin Exp Allergy*, 2008, 38: 1635–1643
- 67 Platts-Mills T, Vaughan J, Squillace S, et al. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: A population-based cross-sectional study. *Lancet*, 2001, 357: 752–756
- 68 Zhou Y, Lai Y, Tong X, et al. Airborne bacteria in outdoor air and air of mechanically ventilated buildings at city scale in Hong Kong across seasons. *Environ Sci Technol*, 2020, 54: 11732–11743
- 69 Adams R I, Bateman A C, Bik H M, et al. Microbiota of the indoor environment: A meta-analysis. *Microbiome*, 2015, 3: 49
- 70 Wilkins D, Leung M H Y, Lee P K H. Microbiota fingerprints lose individually identifying features over time. *Microbiome*, 2017, 5: 1
- 71 Adams R I, Miletto M, Lindow S E, et al. Airborne bacterial communities in residences: Similarities and differences with fungi. *PLoS One*, 2014, 9: e91283
- 72 Gilbert J A, Stephens B. Microbiology of the built environment. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16: 661–670
- 73 Wanner H U, Gravesen S. *Biological Particles in Indoor Environments: European Collaborative Action*. Luxemburg: Commission of the European Communities, 1993
- 74 Brief R S, Bernath T. Indoor pollution: Guidelines for prevention and control of microbiological respiratory hazards associated with air conditioning and ventilation systems. *Appl Ind Hyg*, 1988, 3: 5–10
- 75 State Administration for Market Regulation, Standardization Administration. GB/T 18883-2022 Indoor Air Quality Standard (in Chinese). Beijing: Standards Press of China, 2022 [国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 18883-2022室内空气质量标准. 北京: 中国标准出版社, 2022]
- 76 China Academy of Building Research. T/CECS 873-2021 Technical Specification for Indoor Airborne Microbial Contamination Control (in Chinese). Beijing: China Architecture & Building Press, 2021 [中国建筑科学研究院有限公司. T/CECS 873-2021室内空气微生物污染控制技术规程. 北京: 中国建筑工业出版社, 2021]
- 77 Mills S, Ross R P. Colliding and interacting microbiomes and microbial communities-consequences for human health. *Environ Microbiol*, 2021, 23: 7341–7354
- 78 Thaler D S, Head M G, Horsley A. Precision public health to inhibit the contagion of disease and move toward a future in which microbes spread health. *BMC Infect Dis*, 2019, 19: 120
- 79 Gilbert J A. How do we make indoor environments and healthcare settings healthier? *Microb Biotechnol*, 2017, 10: 11–13
- 80 Fan X Y, Gao J F. On the sample collection, community analysis and research advances of the airborne microbial communities (in Chinese). *J Saf*

- Environ, 2018, 18: 357–363 [樊晓燕, 高景峰. 空气微生物群落样品采集、解析方法及研究进展. 安全与环境学报, 2018, 18: 357–363]
- 81 Jiang C, Wang X, Li X, et al. Dynamic human environmental exposome revealed by longitudinal personal monitoring. *Cell*, 2018, 175: 277–291. e31
- 82 Locey K J, Lennon J T. Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 5970–5975
- 83 Duquenne P. On the identification of culturable microorganisms for the assessment of biodiversity in bioaerosols. *Ann Work Expos Health*, 2018, 62: 139–146
- 84 Guo J G, Kong Q, Liu C, et al. Evaluating the health risks of pneumonia from airborne bacterial communities using 16s rDNA sequences of pneumonia-related pathogens. *Biomed Environ Sci*, 2021, 34: 265–271
- 85 Araki A, Kawai T, Eitaki Y, et al. Relationship between selected indoor volatile organic compounds, so-called microbial VOC, and the prevalence of mucous membrane symptoms in single family homes. *Sci Total Environ*, 2010, 408: 2208–2215
- 86 Yoshida M, Leigh R, Matsumoto K, et al. Effect of interferon- γ on allergic airway responses in interferon- γ -deficient mice. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166: 451–456
- 87 Celedón J C, Milton D K, Ramsey C D, et al. Exposure to dust mite allergen and endotoxin in early life and asthma and atopy in childhood. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 120: 144–149
- 88 Guo J, Xiong Y, Shi C H, et al. Characteristics of airborne bacterial communities in indoor and outdoor environments during continuous haze events in Beijing: Implications for health care. *Environ Int*, 2020, 139: 105721
- 89 Liddicoat C, Waycott M, Weinstein P. Environmental change and human health: Can environmental proxies inform the biodiversity hypothesis for protective microbial-human contact? *Bioscience*, 2016, 66: 1023–1034
- 90 Cho I, Blaser M J. The human microbiome: At the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 260–270
- 91 Dannemiller K C. Moving towards a robust definition for a “healthy” indoor microbiome. *mSystems*, 2019, 4: e00074–19
- 92 Chastre J, Fagon J Y. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 867–903
- 93 Chastre J, Fagon J Y, Bornet-Lecso M, et al. Evaluation of bronchoscopic techniques for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995, 152: 231–240
- 94 Fernando S M, Tran A, Cheng W, et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia in critically ill adult patients—A systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*, 2020, 46: 1170–1179
- 95 Torres A, El-Ebiary M. Bronchoscopic BAL in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest*, 2000, 117: 198S–202S
- 96 Cook D, Mandell L. Endotracheal aspiration in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest*, 2000, 117: 195S–197S
- 97 Mayhall C G. Nosocomial pneumonia: Diagnosis and prevention. *Infect Dis Clin N Am*, 1997, 11: 427–457
- 98 Rañó A, Agustía C, Jimenez P, et al. Pulmonary infiltrates in non-HIV immunocompromised patients: A diagnostic approach using non-invasive and bronchoscopic procedures. *Thorax*, 2001, 56: 379–387
- 99 Jeong J H, Kim K H, Jeong S H, et al. Comparison of sputum and nasopharyngeal swabs for detection of respiratory viruses. *J Med Virol*, 2014, 86: 2122–2127
- 100 Bwire G M, Majigo M V, Njiro B J, et al. Detection profile of SARS-CoV-2 using RT-PCR in different types of clinical specimens: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*, 2021, 93: 719–725
- 101 Wang L H, Zeng B X, Zhang Y J, et al. Exhaled airborne microorganisms collection from human specimen and its further trials for application: A review of recent studies (in Chinese). *J Environ Health*, 2013, 30: 1125–1127 [王丽华, 曾碧翔, 张以进, 等. 呼出气微生物采集技术及其应用研究进展. 环境与健康杂志, 2013, 30: 1125–1127]
- 102 May A K, Brady J S, Romano-Keeler J, et al. A pilot study of the noninvasive assessment of the lung microbiota as a potential tool for the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest*, 2015, 147: 1494–1502
- 103 Zakharkina T, Koczulla A R, Mardanov O, et al. Detection of microorganisms in exhaled breath condensate during acute exacerbations of COPD. *Respirology*, 2011, 16: 932–938
- 104 Loconsole D, Paola P, Daniele C, et al. Exhaled breath condensate (EBC) for SARS-CoV-2 diagnosis still an open debate. *J Breath Res*, 2022, 16: 027101
- 105 Hunt J. Exhaled breath condensate: An evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 110: 28–34
- 106 Horváth I, Barnes P J, Loukides S, et al. A European Respiratory Society technical standard: Exhaled biomarkers in lung disease. *Eur Respir J*, 2017, 49: 1600965
- 107 McDevitt J J, Koutrakis P, Ferguson S T, et al. Development and performance evaluation of an exhaled-breath bioaerosol collector for influenza virus. *Aerosol Sci Technol*, 2013, 47: 444–451
- 108 Kazeminasab S, Emamalizadeh B, Jouyban-Gharamaleki V, et al. Tips for improving the quality and quantity of the extracted DNA from exhaled breath condensate samples. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2020, 39: 688–698
- 109 Xu Y, Hou C C, Liu H L. Contamination of water samples from centralized air conditioning system and other domestic environment by *Legionella*

- (in Chinese). *J Environ Health*, 2007, 24: 95–97 [徐瑛, 侯常春, 刘洪亮. 集中空调系统及其他生活环境水中军团菌污染状况. *环境与健康杂志*, 2007, 24: 95–97]
- 110 Unno T, Jang J, Han D, et al. Use of barcoded pyrosequencing and shared OTUs to determine sources of fecal bacteria in watersheds. *Environ Sci Technol*, 2010, 44: 7777–7782
- 111 Knights D, Kuczynski J, Charlson E S, et al. Bayesian community-wide culture-independent microbial source tracking. *Nat Methods*, 2011, 8: 761–763
- 112 Mathai P P, Staley C, Sadowsky M J. Sequence-enabled community-based microbial source tracking in surface waters using machine learning classification: A review. *J Microbiol Meth*, 2020, 177: 106050
- 113 Segal L N, Clemente J C, Tsay J C J, et al. Enrichment of the lung microbiome with oral taxa is associated with lung inflammation of a Th17 phenotype. *Nat Microbiol*, 2016, 1: 16031
- 114 Reginald K, Westritschnig K, Linhart B, et al. *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein specifically binds IgE from patients with atopic dermatitis and requires antigen presentation for cellular immune responses. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128: 82–91.e8
- 115 Barnish M, Turner S. The value of pragmatic and observational studies in health care and public health. *Pragm Obs Res*, 2017, 8: 49–55
- 116 Perlman R L. Mouse models of human disease: An evolutionary perspective. *Evol Med Public Health*, 2016, 1: 170–176
- 117 Cho S, Yoon J Y. Organ-on-a-chip for assessing environmental toxicants. *Curr Opin Biotechnol*, 2017, 45: 34–42
- 118 Khademhosseini A, Langer R. A decade of progress in tissue engineering. *Nat Protoc*, 2016, 11: 1775–1781
- 119 Stucki A O, Stucki J D, Hall S R R, et al. A lung-on-a-chip array with an integrated bio-inspired respiration mechanism. *Lab Chip*, 2015, 15: 1302–1310

补充材料

图S1 检索步骤

表S1 检索关键词及组合

表S2 各主题研究方向设置及初步获得文献数量

本文以上补充材料见网络版csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

Summary for “基于呼吸系统健康效应的室内空气微生物研究现状与展望”

Research status and prospects of indoor airborne microbiome based on respiratory health effects

Yi Deng^{1,2}, Mengjie Duan^{2,3}, Jianguo Guo⁴, Xiaomin Hu⁵, Shengyu Zhang⁶ & Li Liu^{1,2*}

¹ Department of Building Science, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

² Laboratory of Eco-Planning & Green Building, Ministry of Education, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

³ Vanke School of Public Health, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

⁴ Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China;

⁵ Department of Medical Research Center, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China;

⁶ Department of Gastroenterology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

* Corresponding author, E-mail: liuli_archi@tsinghua.edu.cn

Indoor environment is an important repository of microbiome. Environmental microbiome can influence immune protection through changing the commensal flora of the respiratory tract. The interaction between environment airborne microbiome and human microbiome contributes to human microbial diversity, provides immunomodulatory effects, and thus reduces the risk of respiratory diseases. Lack of immune modulation acquired through microbial exposure may lead to risk of chronic respiratory diseases. Clinical parameters, such as susceptibility, progression, and severity of respiratory disease, are associated with microbial changes. Chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, asthma, and lung cancers are associated with airway microbial dysbiosis. The changes of microbiome during the disease period are mainly characterized by a decrease in overall bacterial diversity, a decrease in the number of commensal bacteria, and an increase in the number of potential pathogenic bacteria.

Based on the perception that pathogenic or conditional pathogenic microbiome is responsible for the infection and transmission of respiratory and non-respiratory diseases, public health policies have long favored keeping indoors at lower concentrations of microbiome or even absolutely sterile. However, in the past decade, an in-depth understanding of the microbiology of the environment and human health has shifted researchers' view of indoor microbiome from a purely pathogenic and infectious negative role to a potentially protective, preventive positive role. Facing with the dual health effects of indoor airborne microbiome, the ideal control strategy should be to increase the microbial diversity and the proportion of beneficial microbiome, while reducing the concentration of pathogenic microbiome for regions, seasons, and sensitive populations. However, there is still no paradigm shift in built environment microbiology due to technical bottlenecks that prevent researchers from establishing a causal relationship between indoor microbiome and health effects.

Currently, the types and properties of indoor airborne microbiome are yet to be fully screened and understood. The characteristics of indoor microbiome when they exert health effects are yet to quantify, including microbial metabolization and reproduction in the respiratory tract, corresponding protective effects, and dose-response effects and individual variation in health effects. The answer to the question “What is a healthy indoor air microbial environment”, that is, the characterization of indoor airborne microbiome based on respiratory health effects, is hindered by respiratory microbial sampling, in-depth analysis of microbial data, and the accuracy of *in vitro* experiments. Subsequent research needs to focus on the development of the following techniques: Microbial sampling tools with low invasiveness, high efficiency and low cost; statistical tools with complex source identification, interference factor quantification and causal relationship judgment functions; and experimental tools capable of simulating real, complex respiratory environments and revealing molecular mechanisms of action *in vivo*. “What is a healthy indoor air microbial environment” will gradually become clear as these questions are resolved. A clear and quantitative mechanism will serve as a scientific basis to guide the improvement of indoor microbial control standards and the rational use of practical interventions.

respiratory tract, health, indoor air, microbiome

doi: [10.1360/TB-2022-0887](https://doi.org/10.1360/TB-2022-0887)