

张敬, 刘殿卿, 黄菲, 等. 呼吸道感染细菌联合疫苗制备及其免疫效果评价[J]. 中南医学科学杂志, 2024, 52(1): 40-44.

· 基础医学 ·

DOI:10.15972/j.cnki.43-1509/r.2024.01.009

呼吸道感染细菌联合疫苗制备及其免疫效果评价

张敬¹, 刘殿卿², 黄菲³, 李欣¹, 卢东¹

1. 唐山市中心血站检验科, 河北唐山 063000; 2. 唐山市妇幼保健院检验科, 河北唐山 063000;

3. 唐山市工人医院检验科, 河北唐山 063000

[摘要] **目的** 探讨呼吸道感染细菌联合疫苗对免疫效果的影响。**方法** 分离培养6种呼吸道感染细菌(溶血性链球菌、流感嗜血杆菌B型、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及肺炎克雷伯菌), 制成联合疫苗。根据联合疫苗质量浓度分为对照组(生理盐水)、低水平组(0.1 g/L疫苗)、中水平组(0.3 g/L疫苗)及高水平组(0.5 g/L疫苗)。各组疫苗作用于人外周血单个核细胞, 检测外周血单个核细胞增殖活性、淋巴细胞表型的变化及细胞因子水平。各组疫苗作用于SPF级小鼠, 测定各组小鼠迟发型超敏反应、脾脏指数、胸腺指数、巨噬细胞吞噬指数及血清溶血素含量。**结果** 人外周血各组单个核细胞增殖活性、 γ 干扰素、白细胞介素-2水平均随时间延长而升高, 且在相同时间, 联合疫苗质量浓度越高, 各指标水平越高($P < 0.05$)。与对照组比较, 低、中、高水平组单个核细胞CD4⁺、CD19⁺水平升高, CD8⁺水平降低, 且随着联合疫苗质量浓度越高, 各指标水平变化越明显($P < 0.05$)。与对照组小鼠比较, 低、中、高水平组小鼠迟发型超敏反应、脾脏指数、胸腺指数、吞噬指数、溶血素水平升高, 且随着联合疫苗质量浓度越高, 各指标水平越高($P < 0.05$)。**结论** 呼吸道感染细菌联合疫苗有利于提高细胞及体液免疫能力, 且联合疫苗质量浓度为0.5 g/L时, 可获得的免疫效果最佳。

[关键词] 呼吸道感染; 细菌联合疫苗; 免疫效果

[中图分类号] R392

[文献标识码] A

Preparation and immune efficacy evaluation of respiratory tract infection bacterial combination vaccine

ZHANG Jing¹, LIU Dianqing², HUANG Fei³, LI Xin¹, LU Dong¹

1. Department of Laboratory, Tangshan Blood Stations, Tangshan 063000, Hebei, China; 2. Department of Laboratory, Tangshan Maternal and Child Health Care Hospital, Tangshan 063000, Hebei, China; 3. Department of Laboratory, Tangshan Workers' Hospital, Tangshan 063000, Hebei, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of respiratory infection bacterial combination vaccine on immune efficacy.

Methods Six types of respiratory tract infection bacteria (*Streptococcus hemolyticus*, *Haemophilus influenzae* type B, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*) were isolated and cultured to produce bacterial vaccines. According to the mass concentration of the combined vaccine, they were divided into the control group (physiological saline), low-level group (0.1 g/L vaccine), medium level group (0.3 g/L vaccine) and high-level group (0.5 g/L vaccine).

Each group of vaccines was acted on human peripheral blood mononuclear cells in vitro, and the proliferation activity of mononuclear cells, changes in lymphocyte phenotype, and cytokine levels were detected. Each group of vaccines was acted on SPF grade mice in vivo, the delayed type hypersensitivity response, spleen index, thymus index, phagocytic index, and serum hemolysin content of each group of mice were measured.

Results The proliferative activity of mononuclear cells, levels of interferon- γ and interleukin-2 in human peripheral blood of all groups were increased with the increase of time, and with higher mass concentration of combined vaccine, the levels of all indicators were higher in the same time ($P < 0.05$). Compared with the control group, the levels of CD4⁺ and CD19⁺ of mononuclear cells in the low, medium and high-level groups were increased, while the levels of CD8⁺ were decreased, with higher mass concentration of the combined vaccine, the variation of each index level was more obvious ($P < 0.05$). Compared with the control group, the delayed type hypersensitivity response, spleen index, thymus index, phagocytosis index and hemolysin optical density of mice in low, medium and high-level groups were increased, and the levels of each index were increased with the higher the mass concentration of combined vaccine ($P < 0.05$). **Conclusion** The bacterial combined vaccine for respiratory tract infection can improve the cellular and humoral immunity, and the best immune effect can be obtained when the concentration of the combined vaccine is 0.5 g/L.

[KEY WORDS] respiratory infections; bacterial combination vaccines; immune effect

[收稿日期] 2023-02-15

[修回日期] 2023-10-28

[基金项目] 河北省卫生健康委医学科学研究课题(20201552)

[作者简介] 张敬, 硕士, 主管检验师, 研究方向为免疫检验, E-mail 为 zhangjingleng2022@163.com。

呼吸道感染包含细菌感染及病毒感染,病毒感染占比较高,经病毒感染后的患儿继发细菌感染风险也较高^[1-2]。兰菌净、泛福舒及必思添等细菌溶解产物为临床常用疫苗,但这类疫苗菌种均来自国外,并非中国呼吸道感染的常见菌种,因此可能并不完全适用于中国人群^[3-4]。另外,进口疫苗价格较为昂贵,不利于普及,从而对疫苗接种率造成影响,因此制备适用于中国小儿呼吸道感染疾病的疫苗具有重要意义。研究表明,溶血性链球菌、流感嗜血杆菌 B 型、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及肺炎克雷伯菌均为中国呼吸道感染的常见病菌^[5-6]。本研究采用以上 6 种常见病菌制成联合疫苗,并探讨其对免疫效果的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器

CCK-8 试剂(上海经科化学科技有限公司), RPMI-1640 培养基(美国赛默飞世尔科技有限公司),细胞分离液(北京金克隆生物技术有限公司),多聚甲醛(北京金克隆生物技术有限公司), γ 干扰素(interferon- γ , INF- γ)及白细胞介素(interleukin, IL)-2 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司),蛋白胨溶液(上海源叶生物科技有限公司),75% 乙醇(苏州嘉鼎化学科技有限公司),10% 鸡红细胞悬液(南京泽维尔生物科技有限公司),磷酸盐缓冲液(上海之礼生物科技有限公司),2,4-二硝基氟苯(山东西亚化学科技有限公司)。超声波破碎仪(北京星越天成科技有限公司),生物安全柜(青岛海尔医用低温科技有限公司),高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂),平板离心机(苏州盛斯尔机械制造有限公司),高压消毒器(上海三申医疗器械有限公司),二氧化碳(CO_2)孵育箱(天津开关照明厂),全自动酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),分光光度计(南京菲勒仪器有限公司),光学显微镜(日本奥林巴斯公司),流式细胞仪(美国贝克曼库尔特有限公司)。

1.2 血液、菌种及动物

血液及菌种均由本院提供,其中血液标本为健康儿童外周血,菌种标本为痰液样本,取自反复呼吸道感染的患儿。40 只 SPF 级小鼠购自北京华阜康公司,雌雄各 20 只,6~8 周龄,体质量 18~22 g。纳入标准:①患儿满足《反复呼吸道感染的临床概

念和处理原则》^[7] 诊断标准;②患儿存有反复呼吸道感染的既往史;③患儿年龄 5~13 岁。

1.3 细菌联合疫苗制备

从痰液样本中将菌种分离培养,生理盐水冲洗所获菌种(溶血性链球菌、流感嗜血杆菌 B 型、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及肺炎克雷伯菌);采用超声波破碎仪分别将不同细菌破碎;将蛋白质沉淀后透析,采用分光光度计测量蛋白水平,并以细菌蛋白作为抗原;将所获细菌蛋白与 0.9% 生理盐水混合,制备成联合疫苗。根据联合疫苗质量浓度分为对照组(生理盐水)、低水平组(0.1 g/L 疫苗)、中水平组(0.3 g/L 疫苗)及高水平组(0.5 g/L 疫苗)^[8]。

1.4 体外实验

1.4.1 单个核细胞悬液制备 取 20 mL 外周血样本,抗凝,20 mL 磷酸盐缓冲液混匀;将混匀液均匀置于细胞分离液表面;梯度离心 20 min,2 000 r/min;收集白膜层,采用 RPMI-1640 培养基洗涤 3 次,每次离心 10 min,2 000 r/min;去除上清液,经 RPMI-1640 培养基吹打,制成所需单个核细胞悬液。

1.4.2 单个核细胞增殖活性测定 取 96 孔平板培养板,采用 RPMI-1640 培养基将单个核细胞悬液调至 1×10^6 个/mL,并依次每孔接种 100 μL ;加入相应质量浓度(0.1、0.3、0.5 g/L)联合疫苗,同时设置等体积阴性对照孔;完成后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 及 5% CO_2 的孵育箱中,分别在培养 24、48、72 h 时,向每孔内加入 10 μL CCK-8 试剂,继续培养 4 h;采用全自动酶标仪检测 450 nm 处光密度值,反映细胞增殖活性。

1.4.3 单个核细胞淋巴细胞表型变化测定 取 24 孔平板培养板及单个核细胞悬液,采用 RPMI-1640 培养基将单个核细胞悬液调至 5×10^6 个/mL,依次每孔接种 2.0 mL;每孔标号,依次为 1~48 号,将 1~12 号设置为对照组,13~24 号设置为低水平组,24~36 号设置为中水平组,37~48 号设置为高水平组。低、中、高水平组每孔滴加 0.1 mL 的 0.1、0.3、0.5 g/L 联合疫苗,对照组每孔加入 0.1 mL 的 RPMI-1640 培养基。连续培养 6 天,将细胞悬液取出,离心 5 min,1 500 r/min;采用磷酸盐缓冲液洗涤;加入相应荧光素标记的抗 CD4、抗 CD8 及抗 CD19 抗体,随后在避光环境下孵育 30 min;孵育结束后以磷酸盐缓冲液洗涤 2 次;采用 1% 多聚甲醛固定,流式细胞仪检测 CD4^+ 、 CD8^+ 及 CD19^+ 。

1.4.4 细胞因子测定 在测定单个核细胞增殖

活性前,取上清液 50 μL ,随后继续培养,并在第 2、第 4、第 8 天采用 INF- γ 及 IL-2 试剂盒测定 INF- γ 及 IL-2 含量。

1.5 体内实验

1.5.1 造模处理 将 40 只 SPF 级小鼠分为 4 组,每组 10 只,且雌雄各一半,根据所用联合疫苗质量浓度分为对照组、低水平组、中水平组及高水平组^[8];全部小鼠适应性喂养 10 天,随后低水平组、中水平组及高水平组小鼠每天上午灌服 0.2 mL 对应质量浓度的联合疫苗,对照组则在相同时间灌服 0.2 mL 生理盐水;灌服 10 天后处死全部小鼠。

1.5.2 迟发型超敏反应测定 各组小鼠处理 9 天后,取 50 μL 1% 的 2,4-二硝基氟苯涂抹于小鼠右耳前后两面,随后左耳涂抹等量丙酮-橄榄油;24 h 后处死小鼠,采用 8 mm 打孔器分别在左右耳同一部位打下圆耳片,并进行称重;肿胀度=右耳质量-左耳质量。

1.5.3 脾脏指数及胸腺指数测定 对处死小鼠称重,完成后取出脾脏及胸腺,清理表面血液后,对脾脏及胸腺进行称重;脾脏(胸腺)指数=脾脏(胸腺)质量/小鼠体质量。

1.5.4 巨噬细胞吞噬功能测定 各组小鼠处理 7 天后,将 1% 蛋白胨溶液注射至小鼠腹腔,1 次/天,3 天。第 3 天注射结束后,间隔 24 h,并将 10% 的鸡红细胞悬液 1 mL 注射至小鼠腹部,30 min 后处死小鼠,并再次向小鼠腹腔注射 2 mL 生理盐水;揉按小鼠腹腔 1 min,将腹腔内液体混匀;混匀后取 1 mL 腹腔液;将所取腹腔液均匀涂抹于载玻片,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱孵育 30 min,固定,染色,冲洗,晾干后于显微镜下观察。吞噬指数=鸡红细胞被吞噬数/巨噬细胞数。

1.5.5 血清溶血素含量测定 各组小鼠灌注联合疫苗 3 天后,小鼠腹部注射 1 mL 10% 鸡红细胞悬液。免疫结束后,处死小鼠并摘取其眼球取血;离心,取血清,生理盐水稀释 500 倍;将 10% 鸡红细胞悬液、1 mL 稀释血清在同一试管内混匀;将混匀液作为对照;取混匀液,放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴下 30 min,冰浴;离心后取上清液,采用酶标仪在波长为 540 nm 处测量光密度(optical density,OD)值。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理与分析。计量资料采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,计数资料采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 联合疫苗对人外周血单个核细胞增殖活性的影响

各组单个核细胞增殖活性均随时间延长而升高,并且在相同时间内,联合疫苗质量浓度越高,单个核细胞增殖活性越高($P<0.05$;表 1)。

表 1 联合疫苗对人外周血单个核细胞增殖活性 OD 值的影响

分组	24 h	48 h	72 h
对照组	0.050 $\pm$ 0.001	0.054 $\pm$ 0.001 ^a	0.057 $\pm$ 0.002 ^{ab}
低水平组	0.069 $\pm$ 0.004 ^c	0.103 $\pm$ 0.004 ^{ac}	0.197 $\pm$ 0.007 ^{abc}
中水平组	0.084 $\pm$ 0.004 ^{cd}	0.137 $\pm$ 0.004 ^{acd}	0.236 $\pm$ 0.005 ^{abcd}
高水平组	0.091 $\pm$ 0.003 ^{cde}	0.174 $\pm$ 0.005 ^{acde}	0.323 $\pm$ 0.005 ^{abcde}

注:a 为 $P<0.05$,与同组 24 h 比较;b 为 $P<0.05$,与同组 48 h 比较;c 为 $P<0.05$,与对照组同时间比较;d 为 $P<0.05$,与低水平组同时间比较;e 为 $P<0.05$,与中水平组同时间比较。

2.2 联合疫苗对单个核细胞淋巴细胞表型的影响

与对照组比较,低、中、高水平组单个核细胞 CD4⁺、CD19⁺水平升高,CD8⁺水平降低,且随着联合疫苗质量浓度升高,各指标水平变化越明显($P<0.05$;表 2)。

表 2 联合疫苗对单个核细胞淋巴细胞表型的影响

分组	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD19 ⁺
对照组	2.63 $\pm$ 0.31	2.79 $\pm$ 0.25	2.48 $\pm$ 0.32
低水平组	3.51 $\pm$ 0.33 ^a	2.41 $\pm$ 0.15 ^a	3.17 $\pm$ 0.26 ^a
中水平组	4.44 $\pm$ 0.42 ^{ab}	2.22 $\pm$ 0.11 ^{ab}	4.09 $\pm$ 0.24 ^{ab}
高水平组	5.22 $\pm$ 0.34 ^{abc}	2.10 $\pm$ 0.14 ^{abc}	4.88 $\pm$ 0.27 ^{abc}

注:a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与低水平组比较;c 为 $P<0.05$,与中水平组比较。

2.3 联合疫苗对细胞因子的影响

各组 INF- γ 及 IL-2 水平均随时间延长而升高,并且在相同时间内,联合疫苗质量浓度越高,INF- γ 及 IL-2 水平越高($P<0.05$;表 3)。

2.4 联合疫苗对小鼠各免疫性指标水平影响

与对照组比较,低、中、高水平组肿胀度、脾脏指数、胸腺指数、吞噬指数及血清溶血素水平均升高,且随着联合疫苗质量浓度升高而升高($P<0.05$;表 4)。

表 3 联合疫苗对细胞因子的影响

分组	INF- γ			IL-2		
	第 2 天	第 4 天	第 8 天	第 2 天	第 4 天	第 8 天
对照组	3.98 $\pm$ 0.13	5.25 $\pm$ 0.80 ^a	7.22 $\pm$ 0.10 ^{ab}	3.05 $\pm$ 0.09	6.40 $\pm$ 0.17 ^a	9.05 $\pm$ 0.16 ^{ab}
低水平组	6.09 $\pm$ 0.15 ^c	9.10 $\pm$ 0.19 ^{ac}	16.50 $\pm$ 0.78 ^{abc}	7.40 $\pm$ 0.17 ^c	10.98 $\pm$ 0.13 ^{ac}	19.80 $\pm$ 0.38 ^{abc}
中水平组	7.88 $\pm$ 0.14 ^{cd}	11.54 $\pm$ 0.29 ^{acd}	19.78 $\pm$ 0.38 ^{abcd}	9.05 $\pm$ 0.12 ^{cd}	14.34 $\pm$ 0.2 ^{acd}	21.67 $\pm$ 0.41 ^{abcd}
高水平组	9.02 $\pm$ 0.13 ^{cde}	15.09 $\pm$ 0.13 ^{acde}	26.74 $\pm$ 0.46 ^{abcde}	10.45 $\pm$ 0.22 ^{cde}	18.00 $\pm$ 0.23 ^{acde}	28.17 $\pm$ 0.34 ^{abcde}

注:a 为 $P<0.05$,与同组第 2 天比较;b 为 $P<0.05$,与同组第 4 天比较;c 为 $P<0.05$,与对照组同时间比较;d 为 $P<0.05$,与低水平组同时间比较;e 为 $P<0.05$,与中水平组同时间比较。

表 4 联合疫苗对小鼠各免疫性指标水平的影响

分组	肿胀度/mg	脾脏指数	胸腺指数	吞噬指数	血清溶血素(OD 值)
对照组	3.21 $\pm$ 1.11	4.82 $\pm$ 0.22	1.49 $\pm$ 0.33	0.32 $\pm$ 0.01	0.201 $\pm$ 0.016
低水平组	4.23 $\pm$ 0.73 ^a	5.24 $\pm$ 0.25 ^a	1.99 $\pm$ 0.23 ^a	0.41 $\pm$ 0.03 ^a	0.232 $\pm$ 0.013 ^a
中水平组	4.36 $\pm$ 0.71 ^{ab}	5.58 $\pm$ 0.30 ^{ab}	2.36 $\pm$ 0.30 ^{ab}	0.52 $\pm$ 0.05 ^{ab}	0.238 $\pm$ 0.021 ^{ab}
高水平组	5.16 $\pm$ 0.71 ^{abc}	6.04 $\pm$ 0.40 ^{abc}	2.68 $\pm$ 0.36 ^{abc}	0.63 $\pm$ 0.04 ^{abc}	0.258 $\pm$ 0.019 ^{abc}

注:a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与低水平组比较;c 为 $P<0.05$,与中水平组比较。

3 讨 论

中国呼吸道感染发病率较高,且儿童发病率高
于成人,临床上常采用抗菌药物进行治疗,但导致
各类致病菌耐药性均有所升高^[9-10]。因此需采用有
效的预防措施以降低呼吸道感染发病率。接种疫
苗为预防疾病的重要措施,但目前中国所接种疫苗
主要为进口疫苗,因其价格较为昂贵,从而影响接
种率,同时预防效果亦需经过大量实验研究^[11-12]。

本次研究采用溶血性链球菌、流感嗜血杆菌 B
型、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及
肺炎克雷伯菌等中国呼吸道感染常见的 6 种病菌制
成联合疫苗,从而对预防中国呼吸道感染疾病更具
有针对性。本研究结果显示,单个核细胞增殖活性
随联合疫苗质量浓度与培养时间的增加而升高,说
明在本次实验所用质量浓度区间,质量浓度升高可
提高单个核细胞增殖活性。由于单个核细胞可通
过吞噬病原体及产生细胞因子等方式参与免疫反
应,故当单个核细胞增殖活性越高则反映机体对免
疫刺激具有较强应答功能^[13-14]。王国征等^[15]研
究表明,单个核细胞增殖活性越高,则利于促进细胞
因子分泌,而本研究亦发现各组 INF- γ 及 IL-2 水
平均随时间延长而升高,并且在相同时间内,联合
疫苗质量浓度越高,INF- γ 及 IL-2 水平越高。INF- γ
具有调节免疫反应、增强抗菌能力和促进细胞毒性
的功能,并且其不仅可以调节细胞免疫,亦参与体
液免疫调节过程中^[16]。IL-2 可促进 T 细胞的增殖、

分化及生存,同时亦可刺激 B 细胞增殖及抗体产
生,从而增强体液免疫效应^[17]。因此,当 INF- γ 及
IL-2 水平升高时,则提示联合疫苗能增强淋巴细胞
活性,利于调动免疫功能,并起到预防呼吸道感染
作用。另外,CD4⁺及 CD8⁺均为 T 细胞表面产物,
CD19⁺为 B 细胞表面产物,三者均参与了细胞及体
液免疫,当 CD4⁺及 CD19⁺水平升高及 CD8⁺水平降
低,则可表明机体免疫功能越高^[18-19]。本研究结果
显示,随着联合疫苗质量浓度的增加,小鼠体内
CD4⁺及 CD19⁺水平均增加,CD8⁺水平降低;提示接
种联合疫苗质量浓度越高,对细胞及体液免疫调节
能力越强,小鼠免疫功能越高。

迟发型超敏反应由 T 细胞介导,可对免疫功能
进行衡量,因此当肿胀度越高,则提示迟发型超敏
反应程度越高,免疫功能越强^[20]。脾脏及胸腺可
调节免疫细胞以应对感染等,当脾脏指数及胸腺指
数升高,则提示免疫反应增强^[21]。吞噬指数可反
映巨噬细胞等免疫细胞对外来病菌吞噬及清除能
力。溶血素参与了机体对抗感染及清除病菌的免疫
反应^[22],因此当血清溶血素水平升高,则代表机体
的免疫反应越高。本研究结果显示,随着接种联合
疫苗质量浓度的增加,小鼠的肿胀度、脾脏指数、
胸腺指数、吞噬指数、血清溶血素水平均升高;提
示接种联合疫苗质量浓度越高,小鼠的体液免疫功
能越强。

综上,呼吸道感染细菌联合疫苗有利于提高细
胞及体液免疫能力,且在呼吸道感染细菌联合疫苗
质量浓度为 0.5 g/L 时,可获得的免疫效果最佳。

[参考文献]

- [1] 梁武华, 梁敏煜, 周海燕. 玉林市 2017—2019 年新生儿呼吸道感染细菌感染分布及多重耐药菌耐药调查[J]. 中南医学科学杂志, 2022, 50(4): 560-563.
- [2] 吴征, 马晓燕, 韦红. 儿童支原体肺炎治愈后反复呼吸道感染与血清维生素 A、E、D 水平的相关性[J]. 川北医学院学报, 2022, 37(9): 1115-1119.
- [3] CLAASSEN-WEITZ S, LIM K Y L, MULLALLY C, et al. The association between bacteria colonizing the upper respiratory tract and lower respiratory tract infection in young children: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Microbiol Infect, 2021, 27(9): 1262-1270.
- [4] DIGGIKAR S, PAUL A, RAZAK A, et al. Respiratory infections in children born preterm in low and middle-income countries: a systematic review[J]. Pediatr Pulmonol, 2022, 57(12): 2903-2914.
- [5] LIU Y R, AI T, FAN Y H, et al. Etiological distribution of pertussis-like syndrome in 756 children in Chengdu[J]. Transl Pediatr, 2021, 10(4): 984-989.
- [6] 杨新军, 辜依海, 黄建玲. 2017—2019 年某院儿童肺炎链球菌感染的耐药性及基因分型[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(8): 1249-1253.
- [7] 张波. 反复呼吸道感染的临床概念和处理原则[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(62): 194.
- [8] 张敬, 朱丽华, 张庆波. 呼吸道感染细菌联合疫苗体外实验研究[J]. 实用预防医学, 2015, 22(6): 746-748.
- [9] 刘如安. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌下呼吸道感染患者临床特征及危险因素分析[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(2): 141-145.
- [10] CHONG W H, SAHA B K, ANANTHAKRISHNAN R, et al. State-of-the-art review of secondary pulmonary infections in patients with COVID-19 pneumonia[J]. Infection, 2021, 49(4): 591-605.
- [11] 李柔, 凌飞翔, 马礼兵. 疫苗在呼吸道感染性疾病的应用及研究现状[J]. 实用医学杂志, 2023, 39(1): 6-11.
- [12] CHEN L L, CHUA G T, LU L, et al. Omicron variant susceptibility to neutralizing antibodies induced in children by natural SARS-CoV-2 infection or COVID-19 vaccine[J]. Emerg Microbes Infect, 2022, 11(1): 543-547.
- [13] KAJIHARA A, MORITA T K Y I, KATO Y, et al. The proliferative activity levels of each immune cell population evaluated by mass cytometry are linked to the clinical phenotypes of systemic lupus erythematosus[J]. Int Immunol, 2023, 35(1): 27-41.
- [14] XIE X W, CHENG X L, WANG G X, et al. Single-cell transcriptomes of peripheral blood cells indicate and elucidate severity of COVID-19[J]. Sci China Life Sci, 2021, 64(10): 1634-1644.
- [15] 王国征, 肖瀚, 吴远彬, 等. 急性白血病 KG1a 细胞抗原对外周血单个核细胞杀伤活性和 T 细胞受体 V α β T 细胞增殖的影响[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(16): 2189-2194.
- [16] LIU Y, YANG S Q, ZHOU Q, et al. Nanobubble-based anti-hepatocellular carcinoma therapy combining immune check inhibitors and sonodynamic therapy[J]. Nanoscale Adv, 2022, 4(22): 4847-4862.
- [17] 陈开澜, 杨李, 宋娜, 等. EB 病毒感染继发噬血细胞综合征患儿外周血 T 淋巴细胞亚群及细胞因子水平变化[J]. 山东医药, 2022, 62(26): 21-24.
- [18] 范慧娟, 宋淳. 肝细胞癌患者外周血 CD100 的表达变化及其对 T 淋巴细胞的功能调控[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(1): 128-136.
- [19] CHONG E A, ALANIO C, SVOBODA J, et al. Pembrolizumab for B-cell lymphomas relapsing after or refractory to CD19-directed CAR T-cell therapy[J]. Blood, 2022, 139(7): 1026-1038.
- [20] 程慧, 黄德红, 李林, 等. 双叶清肺止咳糖浆止咳药效学及对大鼠感染后支气管模型 BALF 中 P 物质、CGRP、NGF 的影响[J]. 亚太传统医药, 2023, 19(1): 34-37.
- [21] 李贵轲, 江斌, 李焱, 等. 美廉净凝胶对白假丝酵母菌致小鼠阴道炎的药效学研究[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(5): 505-510.
- [22] LIU C Y, RUAN S R, HE Y, et al. Broad-spectrum and powerful neutralization of bacterial toxins by erythroliposomes with the help of macrophage uptake and degradation[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(11): 4235-4248.

(此文编辑 蒋湘莲)